

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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

UNIVERSITE BLIDA 1

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

Thème

**Etude de comportement d'une collection du pois (*Pisum spp.*)
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

BEN MIRA ZITOUNI Rahma

HERIDA Nedjma

Soutenu devant le jury :

AMMAD F.	M.C.B.	U. Blida 1	Présidente
BENCHABANE M.	Professeur	U. Blida 1	Promoteur
MEKHADLI D.	Doctorante	U. Blida 1	Co-promotrice
BENOUSAID N.	M.A.A	U. Blida 1	Examinatrice
YALA A.	Doctorante	U. Blida 1	Invitée

ANNEE UNIVERSITAIRE 2015/2016

Remerciements

Nous devons remercier, en premier lieu, ALLAH le tout puissant de nous avoir donnés le courage, la force et la volonté pour bien mener ce travail.

Au terme de ce travail, nous adressons nos gratitudes et nous remercions énormément nos encadreurs **Pr. BENCHABANE M.** et **M^{lle} MEKHALDI D.** qui ont dirigé ce travail, ça ne sera pas suffisant pour leurs exprimer toute nos reconnaissances pour la confiance, la disponibilité et la générosité qu'ils nous ont accordée pour faire avancer ce travail.

Nous tenons à remercier **M^{me} AMMAD F.** pour nous avoir honorés en acceptant d'être présidente de jury. Nous exprimons nos vifs remerciements à **M^{me} BENOUSSAID N.** et **M^{lle} YALA A.** d'avoir accordé leurs temps pour examiner et enrichir ce travail.

Nos remerciements vont également au personnel du laboratoire de Mycologie, en particulier à **FADIL Djamila**, ingénieur du laboratoire, pour sa disponibilité et ses encouragements durant toute l'expérimentation.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenu et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

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 vous que je suis devenu ce que je suis, merci Papa et je t'aime également.

A mes chers frères Mouhamed et Houssemeddine, et à mes très chères sœurs Basma et maroua

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

A ma très chère amie et bímome Rahma que j'ai passé de très beaux moments de ma vie avec elle je t'aime ma chérie

A mes très chères copines avec qui j'ai partagé le bon et le mauvais durant toute l'année : Amína, Nassima, Salíha, Fatma, Hadda et Roufaída

Nedjma

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude :

A ma mère et mon père pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué ; avec tous les moyens et au prix de toutes les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard, pour le sens du devoir qu'ils m'ont enseigné depuis mon enfance.

A mes chères frères Houcine et Lahcen

A ma très chère sœur Yasmine

A mon amie et binôme Nedjma

A mes copines Saliha, Hadda et Fatma

A tous mes collègues de la promotion 2015 /2016

Rahma

Abstract:

Behavior study of a collection of pea (*Pisum spp.*) toward the Fusarium wilt

Our work focuses on the study of behavior of a collection of 27 genotypes of pea (*Pisum spp.*) toward two strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* (Fop) (R1: 1 race and R2F42: race 2), the causal agent of fusarium wilt of peas.

The experiment was conducted in semi -controlled conditions of (greenhouse). Plants of different genotypes were inoculated with the root immersion technique in the fungal suspension of the two strains of the pathogen . Both Fop strains have caused typical symptoms of fusarium wilt (yellowing ,leaf curling , wilting, drying out and vascular discoloration) . To assess the progress and development of the disease, we studied three different parameters: The rate of infection, VIS (Visual Index of Severity) and AUDPC (Area Under Disease Progress Curve) The analysis of variance of these parameters showed very highly significant ($p = 0.000$) between the 27 tested genotypes and between the two strains of Fop used. The responses of 27 genotypes were differential between strains of Fop. According to the values of the infection rate in the interaction with R1, 952 genotype is considered resistant recording a value of 26.1 %, while the 2076 genotype was most sensitive with a value of 86.15 %. Interacting with race 2, all genotypes were sensitive, with the exception of M. Kelvedon genotype, which recorded a value of 21.42%.

Depending on the values of AUDPC, the R2F42 strain was more virulent than the pathogenic strain R1, recording the highest values .

Keywords : behavior, *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, pea (*Pisum spp.*), resistant, susceptible

Résumé

Etude de comportement d'une collection du pois (*Pisum spp.*) vis-à-vis de la fusariose vasculaire

Notre travail porte sur l'étude de comportement d'une collection de 27 génotypes du pois (*Pisum spp.*) vis-à-vis de deux souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* (*Fop*) (R1 : race 1 et R2F42 : race 2), agent causal de la fusariose vasculaire du pois.

L'expérimentation a été menée dans des conditions semi contrôlés (sous serre). Les plantes des différents génotypes ont été inoculés par la technique d'immersion des racines dans la suspension fongique des deux souches du pathogène. Les deux souches de *Fop* ont pu causer des symptômes typiques de la fusariose vasculaire (jaunissements, enroulement des feuilles, flétrissement, dessèchement et décoloration des tissus vasculaires). Pour évaluer la progression et le développement de la maladie, nous avons étudié trois paramètres différents : Le taux d'infection, le VIS (*Visual Index of Severity*) et l'AUDPC (*Area Under Disease Progress Curve*). L'analyse de la variance de ces paramètres a mis en évidence des différences très hautement significatives ($p=0,000$) entre les 27 génotypes étudiés et entre les deux souches de *Fop* utilisées. Les réponses des 27 génotypes ont été différentielles selon les souches de *Fop*. Suivant les valeurs du taux d'infection, et en interaction avec R1, le génotype 952 est considéré comme résistant en enregistrant une valeur de 26,1% tandis que le génotype 2076 a été le plus sensible avec une valeur de 86,15%. En interaction avec la race 2, tous les génotypes ont été susceptibles, à l'exception du génotype Merveille de Kelvedon qui a enregistré une valeur de 21,42 %.

Selon les valeurs d'AUDPC, la souche R2F42 été plus virulente que la souche R1 du pathogène, en enregistrant les valeurs les plus élevées.

Mots clés : comportement, *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, pois (*Pisum spp.*), résistant, susceptible.

ملخص

دراسة سلوك مجموعة انماط من البازلاء (*Pisum spp.*) تجاه الذبول الفوزاري

يركز هذا البحث على دراسة سلوك مجموعة مكونة من 27 نمط من البازلاء (*Pisum spp.*) بالتفاعل مع سلالتين من *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* (R1 و R2F42) ، العامل المسبب لمرض الذبول الفوزاري للباذلاء.

التجربة أجريت في ظروف خاضعة للرقابة الجزئية (بيت زجاجي). تم حقن النباتات بتقنية غمر الجذور في معلق فطري لسالتين من *Fop*. تسببت كلتا السلالتين في ظهور اعراض الذبول الفوزاري على مختلف انماط البازلاء المدروسة (اصفرار، إتفاف الورقة، الذبول، جفاف وتغير لون الأنسجة الوعائية). لتقييم تقدم وتطور المرض، درسنا ثلاث مقاييس مختلفة : نسبة الخطورة، *VIS (Visual Index of Severity)* و *AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve)* (منحنى تطور المرض). تحليل ANOVA لهذه المعايير بين وجود فروق جد معبرة ($p = 0.000$) بين 27 نمط للباذلاء التي تم اختبارها وبين السلالتين المسببتين للمرض. كانت ردود 27 نمط متباينة بالتفاعل مع السلالتين المرصتين. وفقا لقيم معدل الإصابة، وبالتفاعل مع R1 ، يعتبر النمط 952 مقاوم مسجلا قيمة 26.1 % ، في حين أن النمط 2076 كان الأكثر حساسية بقيمة 86.15 % . بالتفاعل مع السلالة 2، كانت جميع الأنماط الوراثية جد حساسة، باستثناء نمط *Merveille de Kelvedon* الذي سجل قيمة 21.42 % . اعتمادا على قيم *AUDPC*.

كانت السلالة R2F42 أكثر شراسة من السلالة R1 المسببة للمرض، مسجلة القيم الأكثر ارتفاعا.

كلمات مفتاحية: السلوك، *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* ، البازلاء ، (*Pisum spp.*) ، مقاومة ، حساسة.

Table des matières

Introduction

Chapitre I. Synthèse bibliographique	3
1. Généralités sur la culture du pois	3
1.1. Historique et origine	3
1.2. Taxonomie	4
1.3. Description botanique	5
1.4. Ecologie et croissance	7
1.5. Utilisation	8
1.6. Production et importance économique	8
1.6.1. Dans le monde	8
1.6.2. En Algérie	9
1.7. Ressources génétique	10
1.8. Sélection et amélioration génétique	10
1.9. Facteurs limitant la production	12
1.9.1. Stress abiotiques	12
1.9.2. Stress biotiques	13
1.9.2.1. Ravageurs et parasites	13
1.9.2.2. Principales maladies bactériennes et virales	14
1.9.2.3. Principales maladies fongiques	14
2. La fusariose vasculaire du pois	15
2.1. Historique de la maladie	15
2.2. Description de la maladie	17
2.3. Agent causal	17
2.4. Processus d'infection	19
2.5. Transmission de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i>	20
2.6. Interaction hôte – pathogène	20
2.7. Mécanismes parasitaires	22

2.7.1.	Les enzymes de dégradation de la paroi cellulaire	22
2.7.2.	Production de toxines	22
2.7.3.	Autres mécanismes	23
2.8.	Symptômes de la maladie	23
2.9.	Contrôle de la maladie	24
2.9.1.	Lutte culturale	24
2.9.2.	Lutte chimique	25
2.9.3.	Lutte biologique	25
2.9.4.	Lutte génétique	25
Chapitre II. Matériels et méthodes		27
1.	Matériel végétal	27
2.	Souches de <i>Fusarium oxysporum f.sp. pisi</i>	28
3.	Prégermination des graines	28
4.	Préparation de l'inoculum	29
5.	Inoculation des plantules	30
6.	Traitement appliqués	31
7.	Paramètres étudiés	32
7.1.	Suivi symptomatologique	32
7.2.	Taux d'infection	32
7.3.	Sévérité de la maladie	33
7.4.	Courbe des aires de propagation de la maladie	34
8.	Analyses statistiques	34
Chapitre III. Résultats et discussion		35
1.	Description symptomatologique	35
1.1.	Symptômes externes	35
1.1.1.	Partie aérienne	35
1.1.2.	Partie racinaire	38
1.2.	Symptômes internes	39
2.	Taux d'infection	40

3.	Indice visuel de la sévérité	42
4.	Courbe des aires de progression de la maladie (AUDPC)	45
5.	Discussion générale	48

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

ANOVA	<i>Analysis Of Variance</i>
AUDPC	<i>Area Under Disease Progress Curve</i>
CWDEs	<i>Cell Wall Degading Enzymes</i>
EDS	Eau Distillé Stérile
FAO	<i>Food and Agriculture Organization on the United Nations</i>
Fop	<i>Fusarium oxysporum f. sp. pisi</i>
f. sp.	Forme spéciale
G	Grossissement
IAS	<i>Institute of Sustainable Agriculture (Cordoba, Spain)</i>
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinases</i>
MAS	<i>Marker Assisted Section</i>
Mb	Méga base
min.	minute
ml	millilitre
mm	millimètre
PDA	<i>Potato Dextrose Agar</i>
PDB	<i>Potato Dextrose Broth</i>
pH	potentiel d'hydrogène
QTLs	<i>Quantitative Trait Locus</i>
rpm	Rotation par minute
spp.	Espèces
ssp.	Sous espèce
VIS	<i>Visual Index of Severity</i>

Listes des figures et tableaux

Figures	Pages
Figure 1 : Structure d'une plante du pois (Boyeldieu, 1991).	5
Figure 2 : Différents types morphologiques de feuilles du pois (Cousin, 1997).	6
Figure 3 : Schéma général d'une plante de pois (Unip <i>et al.</i> , 2005).	7
Figure 4 : Collections du matériel génétique du pois (Smýkal <i>et al.</i> , 2013).	11
Figure 5 : Caractéristiques morphologiques de <i>Fusarium oxysporum</i> (Fourie <i>et al.</i> , 2011).	18
Figure 6 : Cycle infectieux de <i>Fusarium oxysporum</i> (Agris, 2005).	19
Figure 7 : Symptômes de la fusariose vasculaire du pois (Hagedorn, 1991 ; Bani, 2015).	24
Figure 8 : Semences des génotypes du pois étudiés.	27
Figure 9 : Culture des deux souches de <i>Fop</i> utilisées.	28
Figure 10 : Graines germées du pois.	29
Figure 11 : Transfert des graines germées dans la perlite stérile.	29
Figure 12 : Préparation de l'inoculum	30
Figure 13 : Procédure d'inoculation des plantes du pois.	30
Figure 14 : Echelle de l'évaluation des symptômes de la fusariose vasculaire (Bani <i>et al.</i> , 2012).	33
Figure 15 : Symptômes de la fusariose vasculaire dus aux deux souches de <i>Fop</i> sur le génotype 944.	35
Figure 16 : Symptômes de jaunissement, de nécrose et d'enroulement causés par les souches de <i>Fop</i> utilisées.	36
Figure 17 Réactions des génotypes 1996, 1160 et 944, 10 jours après leur inoculation avec les souches R1 et R2F42 de <i>Fop</i> par rapport aux témoins (EDS).	37
Figure 18 : Aspect des racines du génotype 223.	38
Figure 19 : Aspect des racines du génotype 801.	38
Figure 20 : Racines du génotype 223 sous loupes binoculaire (G : x2.5).	39
Figure 21 : Racines du génotype 801 sous loupes binoculaire (G : x2.5).	39
Figure 22 : Valeurs des taux d'infection des 27 génotypes de pois 31 jours après leur inoculation avec la souche R1 de <i>Fop</i> .	41

Figure 23 : Valeurs des taux d'infection des 27 géotypes de pois 31 jours après leur inoculation avec la souche R2F42 de <i>Fop</i> .	41
Figure 24 : Cinétique de taux d'infection de quelques géotypes étudiés.	42
Figure 25 : Valeurs VIS des 27 géotypes de pois 31 jours après leur inoculation avec la souche R1 de <i>Fop</i> .	43
Figure 26 Valeurs VIS des 27 géotypes de pois 31 jours après leur inoculation avec la souche R2F42 de <i>Fop</i> .	43
Figure 27 : Cinétique des VIS de quelques géotypes étudiés.	44
Figure 28 : Valeurs d'AUDPC des 27 géotypes du pois inoculés avec la souche R1 de <i>Fop</i> .	45
Figure 29 : Valeurs d'AUDPC des 27 géotypes du pois inoculés avec la souche R1 de <i>Fop</i> .	46
Figure 30 : Valeurs minimales et maximales d'AUDPC correspondant aux 27 géotypes étudiés du pois.	47
Figure 31 : Valeurs minimales et maximales d'AUDPC correspondant aux deux souches de <i>Fop</i> .	47
Tableau 1 : Les différents traitements appliqués.	31

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 (Rubiales *et al.*, 2012).

Le pois (*Pisum* spp.) est classé 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 anciens cultivars et génotypes (Smýkal *et al.*, 2008).

Le rendement mondial moyen par hectare a été de 1,72 tonne. Les petits pois sec sont cultivées et commercialisés dans près de 100 pays, mais la production est concentrée au Canada, en Russie et en Chine. Conjointement, ces trois pays produisent plus de la moitié de la production mondiale des pois secs (FAOSTAT, 2013).

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 est parmi les maladies les plus importantes affectant les légumineuses à grains à travers le monde (Kraft *et al.*, 1998). L'agent causal *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* (*Fop*) est un pathogène destructeur des champs du pois et qui a été rapporté dans tous les pays où le pois est cultivé (Kraft et Pflieger, 2001). Ce pathogène tellurique peut survivre sous forme de chlamydospores à paroi épaisse, qui restent viables dans le sol pendant plus de 10 ans (Kraft, 1994). Cette maladie 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).

La lutte contre les maladies causées par des champignons telluriques se base essentiellement sur l'intégration des différentes méthodes de gestion. Parmi ces méthodes, l'utilisation des cultivars résistants est largement connue comme la méthode la plus sûre, la plus économique et la plus efficace pour protéger les cultures (Ciancio et Mukerji, 2008).

Devant cette situation, et dans le but d'améliorer la résistance du pois à la fusariose vasculaire, 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 dans leur adaptation aux stress biotiques et abiotiques (Redden *et al.*, 2005 ; McPhee, 2007).

Dans ce concept, notre travail a pour objectif d'étudier le comportement d'une collection de pois (*Pisum* spp.) vis-à-vis de la fusariose vasculaire, dans des conditions d'expérimentation semi-contrôlées sous serre.

Chapitre I.

Synthèse bibliographique

1. Généralités sur la culture du pois

1.1. Historique et origine

Le pois (*Pisum* spp.) est la deuxième légumineuse alimentaire la plus importante dans le monde entier après le haricot (*Phaseolus vulgaris*). La demande croissante de matière première riches en protéines pour l'alimentation animale ou de produits intermédiaires pour la nutrition humaine, a conduit à un plus grand intérêt à cette culture (FAOSTAT, 2015). Les premières traces de culture du pois datent du début du Néolithique dont elle a accompagné les céréales dans l'apparition de l'agriculture au Proche-Orient. Il était un aliment de base dans l'Antiquité et au Moyen Âge en Europe et dans le bassin méditerranéen (Benoît *et al.*, 2006).

Diverses découvertes archéologiques indiquent que la culture du pois s'est initiée durant la préhistoire. Smartt (1990) dans son livre « *Légumineuses à graines: évolution et ressources génétiques* », a indiqué que les pois remontent à 7000-6000 ans avant Jésus Christ. Erskine *et al.* (1994) ont mentionné que les pois bien que rares à l'emplacement néolithique de Jarmo, Irak (6750 ans avant Jésus Christ), étaient très répandus à celui d'Erbaba en Turquie (5800-5400 ans avant Jésus Christ). En Europe, les plus anciennes traces du pois découvertes dans les excavations d'Aggetelek en Hongrie et aussi en Suisse datant de l'âge de pierre (Fourmont, 1956). Par ailleurs, les pois exhumés des logements dans le lac Bourget en France sont supposés dater de l'âge du bronze, (1000-2000 ans avant Jésus Christ) (Gibanlt, 1912). Theophrastus (1961), dans son livre « Enquête sur les plantes » traduit en anglais, a également cité l'existence de traces du pois bien avant l'an 300 avant Jésus Christ. Il a décrit plusieurs espèces de légumineuses et

particulièrement de « pois » et a indiqué que des pois ont été employés en tant que fourrage et nourriture humaine.

Le pois a été largement utilisé dans les études d'hybridation et il était le modèle de choix pour la découverte des lois de l'hérédité par Mendel, ce qui lui rend une partie de la fondation de la génétique moderne. La FAO considère l'Ethiopie et l'Asie occidentale comme centres de diversification, avec des centres secondaires dans le sud de l'Asie et la région méditerranéenne. Actuellement, on trouve *Pisum sativum* dans tous les pays tempérés et dans la plupart des hautes terres tropicales (comme exemple l'Afrique centrale (partie) et orientale (en Ethiopie)) (Brink et Belay, 2006). *Pisum sativum* ssp. *elatius* et *P. sativum* ssp. *sativum* se trouvent naturellement en Europe, au nord-ouest de l'Asie et au sud d'Afrique, tandis que *P. fulvum* est limitée seulement au Moyen-Orient. *Pisum abyssinicum* se trouve en Ethiopie et au Yémen (Maxted et Ambrose, 2001).

1.2. Taxonomie

Pisum fait partie de la famille des *Fabaceae*, de la sous-famille des *Papilionaceae* et de la tribu des *Vicieae*. Une grande diversité morphologique a été observée entre les plantes sauvages du pois. De nombreuses espèces de pois furent donc initialement décrites par les botanistes pour différencier ces plantes suivant leurs caractéristiques morphologiques comme par exemple *Pisum formosum*, *P. transcausicum*, *P. abyssinicum*, *P. aethiopicum*, *P. arvense* et *P. sativum* qui est l'espèce la plus répandue (Fourmont, 1956). Les études postérieures combinant les caractères morphologiques et génétiques regroupèrent ces espèces en trois espèces principales: *P. abyssinicum*, *P. fulvum* et *P. sativum*. Cette dernière est divisée en sous-espèces, telles que *P. sativum* ssp. *sativum*, *P. sativum* ssp. *elatius*, *P. sativum* ssp. *humile*, *P. sativum* ssp. *arvense*, *P. sativum* ssp. *transcausicum* et *P. sativum* ssp. *hortense* (Smartt et Hymowitz, 1985).

P. 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. sativum* 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 (*Pisum* spp.) est une légumineuse herbacée de la famille des papilionacées ou fabacées. Cette plante annuelle, représentée en Figure 1, porte des fruits sous forme de gousses. Dans sa partie souterraine, la plante du pois est constituée d'un système racinaire à pivot peu développé, ayant des racines secondaires. Sur ces racines peuvent se développer des nodosités, lieu de la symbiose entre la plante et des bactéries du sol qui permet la fixation de l'azote atmosphérique. La partie aérienne est constituée d'une tige principale et de ramifications issues des bourgeons latéraux. C'est une plante à fécondation autogame, donnant des gousses portant un nombre variable de graines dont le maximum est une caractéristique variétale (Geves, 1995).

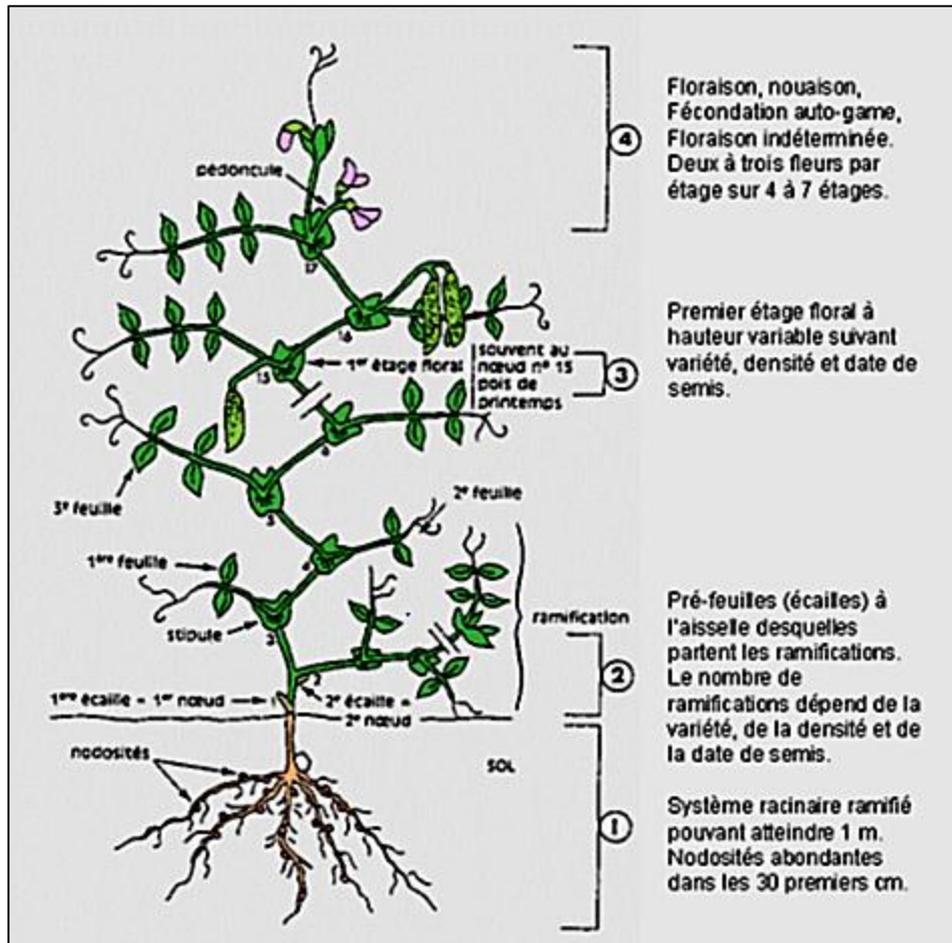


Figure 1. Structure d'une plante du pois (Boyeldieu, 1991).

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).

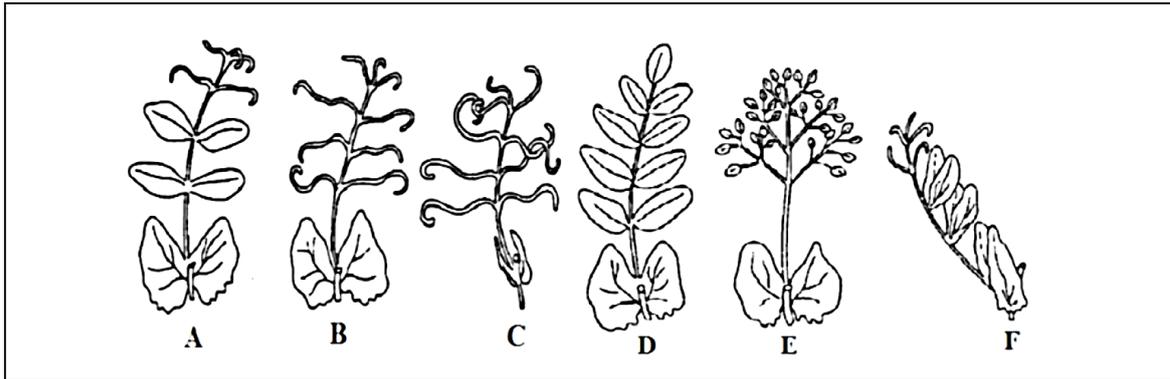


Figure 2. Différents types morphologiques de feuilles du pois (Cousin, 1997).

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

La fleur du pois est typique de la famille des *Papilionaceae*. La corolle contient cinq pétales : deux ailes et une quille formée comme résultat de la fusion de deux pétales entourant dix anthères et un style (Cousin, 1997). Le pois est cléistogame et doit être considéré en tant qu'espèce strictement auto-fertile, bien que *Xylocopa* (le xylocope ou abeille charpentière) et *Megachile* (le mégachile ou abeille solitaire) fréquentent les fleurs de pois et puissent être responsables des hybridations naturelles. Ainsi, le mélange génétique peut avoir lieu sans intervention des sélectionneurs. Les populations naturelles et les variétés se composent des plantes génétiquement stables (Cousin, 1997).

Sur une plante du pois, on observe une succession d'organes du bas vers le haut de tel sorte que peuvent se succéder sur une même tige, des feuilles et des graines à différentes phases de développement (Lecoeur, 2005). Ce comportement identifie le pois comme une plante avec un développement à caractère indéterminé. Certains auteurs ont défini cette organisation structurale de la plante par une succession de phytomères apparaissant successivement lors du

développement de la plante et ayant alors des âges différents. Un phytomère étant composé d'un entre-nœud, d'une feuille, d'un méristème axillaire, d'un bourgeon caulinaire et de l'extrémité apicale (Figure 3) (Munier-Jolain, 2005)

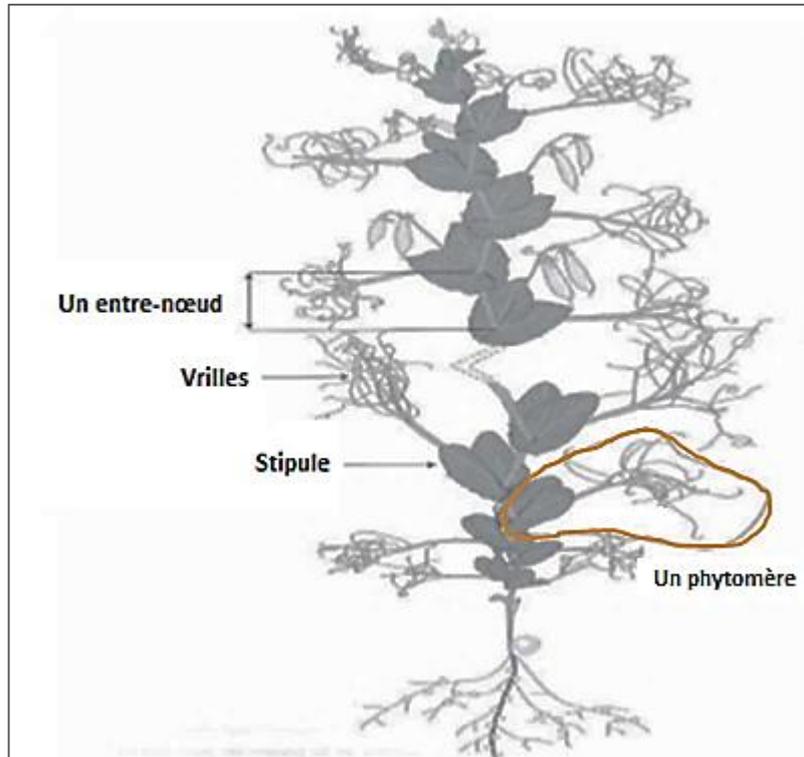


Figure 3. Schéma général d'une plante de pois (Tognite, 2013).

Lecoœur (2005) a défini les différents stades clés du développement de la plante du pois pendant le cycle cultural du semis à la récolte : la levée (sortie de terre des plantes), l'initiation florale (formation d'un primordium floral), le début floraison (50% des tiges portent des fleurs), le début de remplissage des graines (coïncide avec leur stade limite d'avortement) et la maturité physiologique (stade auquel le poids final des graines est atteint).

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. *Pisum* spp. sont cultivés jusque 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 dont les jours longs favorisent la 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 de 240 jours pour les variétés d'hiver. La graine du pois protéagineux a un gros calibre et une haute teneur en protéines et toutes les variétés sont à fleurs blanches, tandis que toutes les variétés du pois fourrager sont à fleur anthocyanée (Benoît *et al.*, 2006 ; Cieslarová *et al.*, 2011).

1.5. Utilisations

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

- Le pois frais (85% d'eau) : les graines sont récoltées au stade avant maturité, on obtient les petits pois verts de maraîchage classés comme légume frais.
- Le pois sec (15% d'eau) : les graines sont récoltées à maturité au stade sec, soit le pois cassé classé comme un légume sec, soit le pois protéagineux destiné à l'alimentation animale.
- Les jeunes pousses feuillées sont aussi consommées en légume, particulièrement en Asie.
- La plante entière fournit un fourrage aux ruminants, soit en sec, soit en vert, frais ou ensilé. En général, on appelle pois fourrager tout type de pois destiné à l'alimentation animale, y compris les pois secs en grains qui sont appelés pois protéagineux.

Le pois est aussi une plante importante dans les rotations, car il fixe l'azote atmosphérique, il brise le cycle des maladies et ravageurs et il joue ainsi un rôle dans le rétablissement de la fertilité du sol (Brink et Belay, 2006).

1.6. Production et importance économique

1.6.1. Dans le monde

Le pois et la lentille sont les légumineuses à graines les plus importantes. La FAO a estimé la production mondiale de pois secs en 2011 à environ 9,8 millions tonnes produites sur 6,2 millions d'hectares. Les plus grands pays producteurs

sont le Canada (2 115 600 t sur 914 200 ha), la Russie (2 021 000 t sur 1 110 800 ha), la France (670 079 t sur 187 111 ha) et l'Inde (593200 t sur 727 200 ha). La production annuelle de pois sec en Afrique du nord pour l'année 2011 était d'environ 66 749 tonnes sur une superficie de 73 152 ha. L'Algérie est classée en troisième position (7 435 t sur 9 943 ha) après le Maroc (39 788 t sur 50 240 ha) et la Tunisie (12 900 t sur 10 043 ha) (FAOSTAT, 2011).

1.6.2. En Algérie

En Algérie, les espèces de légumineuses alimentaires les plus cultivées sont la lentille (*Lens culinaris* L.) le pois chiche (*Cicer arietinum*), le pois (*Pisum sativum*), la fève (*Vicia faba*) et le haricot (*Phaseolus vulgaris*). La culture des légumineuses alimentaires a fait l'objet de beaucoup d'attention de la part des services agricoles pour augmenter les superficies et améliorer les niveaux de rendements, mais les résultats n'ont pas été à la hauteur des efforts consentis (Abdelguerfi, 2003).

La diversification des cultures fourragères est très limitée, parmi les espèces cultivées, le pois fourrager est utilisé pour l'alimentation du bétail soit comme fourrage vert, soit sous forme de graines. Cette espèce, qui a connu un développement conséquent dans les années 1980 subit un net recul en matière d'utilisation. Il est à noter aussi que le pois est utilisé en associations fourragères sèches (pois-avoine, pois-triticales et pois-orge). Bien que le genre *Pisum* soit assez bien représenté dans la flore algérienne, il semble que la totalité des variétés cultivées aient été introduites. Le pois protéagineux a été introduit récemment, et sa culture est restée assez limitée malgré son importance stratégique (FAO, 2006).

L'aire de culture du 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. Ressources génétiques

La diversité génétique du pois est préservée dans des collections de matériel génétique, avec plus de 1000 entrées trouvées dans des banques nationales de gènes dans au moins 25 pays, avec plusieurs autres petites collections dans le monde entier contenant 98 mille entrées (Smýkal *et al.*, 2013).

Dans certaines collections, des matériels sauvages et localement adaptés doivent être rassemblés avant que ces ressources génétiques soient perdues. De nombreuses études ont été conduites pour étudier la diversité et les marqueurs du matériel génétique de *Pisum*. Plusieurs collections importantes de matériel génétique du pois ont été analysées par des méthodes moléculaires et des collections fondamentales ont été formées (Smýkal *et al.*, 2011). Les collections principales du pois analysées au niveau moléculaire et les collections fondamentales formulées, pourraient servir comme kits pour la cartographie des lignées, une stratégie pour accéder au déterminisme des gènes et des régions génomiques étant à la base des caractères désirés (Smýkal *et al.*, 2013).

Dans le cas des espèces sauvages de *Pisum*, il y a seulement 706 génotypes de *P. fulvum*, 624 de *P. sativum* ssp. *elatius*, 1562 de *P. sativum* ssp. *sativum* et 540 génotypes de *P. abyssinicum*, qui sont préservées *ex situ* dans les collections (Figure 4). Lors des récapitulations des données sur l'origine géographique, il y a une grande polarisation (17%) vers des accessions occidentales et de l'Europe centrale car ces régions représentent des activités actuelles d'amélioration de pois par rapport aux régions méditerranéennes (2.5%), aux régions balkaniques (2%), à la Caucase (0.8%) et à l'Asie centrale (2%) (Smýkal *et al.*, 2013).

1.8. Sélection et amélioration génétique

Le pois est l'organisme modèle original utilisé par Mendel dans sa découverte des lois fondamentales de l'hérédité (1866), et qui constitue la base de la génétique végétale moderne. La facilité de sa culture, sa reproduction par autopolinisation et sa richesse en variation génétique ont fait du pois un sujet facile pour la recherche et l'amélioration génétique (McPhee, 2007).

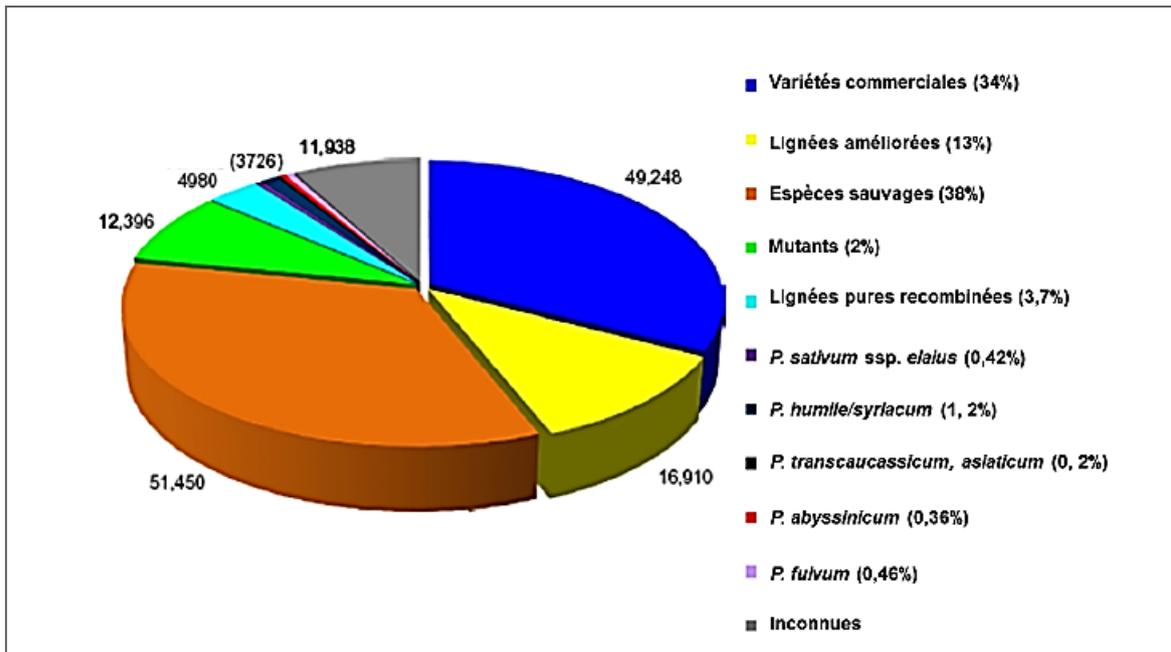


Figure 4. Collections du matériel génétique du pois (Smýkal *et al.*, 2013).

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 de produits incluent l'augmentation du rendement, la résistance aux maladies, la qualité supérieure pour l'utilisation finale recherchée 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 des plantes a été extrêmement réussie en combinant plusieurs de ces gènes dans les génotypes végétaux à améliorés (McPhee, 2007 ; Rubiales *et al.*, 2012). D'autre part, la résistance génétique partielle, associée aux mécanismes de la résistance quantitative ont été décrits pour plusieurs agents phytopathogènes, tels que *Mycosphaerella pinodes*, *Uromyces pisi*, *Phoma*

medicaginis var. *pinodella*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Pseudomonas syringae* pv. *pisii*, *Fusarium oxysporum* et *Orobanche crenata* (Bevan *et al.*, 1995 ; Barilli *et al.*, 2010 ; Fondevilla *et al.*, 2010 ; Bani *et al.*, 2012).

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

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 du 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).

1.9. Facteurs limitant la production

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

1.9.1. Stress abiotique

Le froid, la sécheresse et les déficits nutritionnels sont les stress environnementaux les plus importants pouvant affecter la production du pois. La plupart des cultivars du pois sont très susceptibles au froid et particulièrement les

lignées caractérisées par des entre-nœuds longs, d'une grande surface foliaire et des graines ridées (Cousin, 1997).

La sécheresse et le deuxième stress abiotique le plus important pour le 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 diminuer la production de biomasse (Cousin, 1997). En outre, la salinité est aussi un stress important du pois. Des niveaux critiques du sel ont été établis et des procédures de dépistage ont été élaborées pour identifier les déterminants génétiques de tolérance au sel chez le pois. La fixation de l'azote symbiotique est notamment sensible à la salinité élevée (Saxena, 1993).

1.9.2. Stress biotiques

1.9.2.1. Ravageurs et parasites

Les Insectes tels que les taupins, les pucerons, les thrips, les charançons et les arpeuteuses, peuvent causés des graves dommages aux pois cultivé ainsi qu'à ses graines (Redden *et al.*, 2005).

Selon Clement *et al.*, le ravageur le plus dommageable du pois fourrager est le charançon du pois (*Bruchus pisorum*). Ses larves réduisent le rendement et la qualité de la semence en s'alimentant sur les graines en développement. L'incorporation de la résistance au charançon du pois à partir des espèces sauvages de *P. fulvum* dans le pois semble 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*, auxquels peu de résistance est disponible (Rubiales *et al.*, 2012).

1.9.2.2. Principales maladies bactériennes et virales

Deux bactéries pathogènes étroitement apparentées sont associées avec le pois, *Pseudomonas syringae* pv. *pisii* (maladie de la brûlure bactérienne) qui provoque des pertes économiques particulièrement au printemps et en été tandis que l'autre bactérie, *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 du 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).

1.9.2.3. Principales maladies fongiques

La variation du rendement du pois est souvent associée à des attaques fongiques. Les maladies à craindre sur les récoltes sont surtout celles qui se manifestent par des attaques 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 du pois causé par *Erysiphe pisi*, est une maladie foliaire très répandue dans le monde (Rubiales *et al.*, 2009b). Elle peut causer des dommages graves si elle se produit au début de la saison avant la floraison. C'est la maladie la plus répandue 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* et *U. pisi*. *U. viciae-fabae* est l'agent principal de la maladie dans les régions tropicales et subtropicales, telles que l'Inde et la Chine (Kushwaha *et al.*, 2006). Plusieurs autres maladies fongiques peuvent aussi affecter la partie aérienne du pois comme la pourriture blanche causée par *Sclerotinia* spp., la pourriture grise causée par *Botrytis* spp., 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. *psii* et la fusariose vasculaire causée par *F. oxysporum* f. sp. *psii* (*Fop*), sont les parasites les plus importants. La fusariose vasculaire provoquée par *Fop* a été rapporté dans tous les pays où les pois sont cultivés et peut être particulièrement grave lorsque des rotations courtes des cultures sont pratiquées (Kraft et Pflieger, 2001).

2. La fusariose vasculaire du 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 États-Unis, où elle a causé des pertes économiques plus importantes que celles rapportées pour la pourriture racinaire. En 1928, l'agent causal a été appelé *F. othoceras* var. *psii* (Linford, 1928). Le pathogène a été dénommé plus tard race 1 de *F. oxysporum* f. sp. *psii* (Goth et Webb, 1981).

La résistance a été rapidement trouvée et l'introduction des variétés résistantes au flétrissement a donné un contrôle complet. Wade (1929) a déterminé que la résistance à la race 1 est codée par un gène dominant. La race 1 n'a pas été éliminée, mais la maladie a resté sous contrôle grâce à l'utilisation de cultivars résistants (Kraft, 1994).

En 1933, Snyder a décrit une nouvelle race de *F. oxysporum* capable de causer le flétrissement des cultivars résistants à la race 1, et qui a été dénommé la race 2. La maladie a été appelée « *near wilt* » car elle apparaît plus tard dans la période de végétation, souvent seulement au plein développement des gousses (Haglund, 1984). La résistance à la race 2 est également contrôlée par un seul gène dominant non liée au gène de résistance à la race 1 (Hare *et al.*, 1949). Delwiche Commando a été le premier cultivar développé possédant des gènes de résistance aux races 1 et 2 (Goth et Webb, 1981).

Les races 3 et 4 ont été décrites dans les Pays-Bas et au Canada, respectivement (Schreuder, 1951 ; Bolton *et al.*, 1966). Cependant, ces deux races ont été ensuite regroupées dans la race 2 étant des formes dérivées plus virulentes de la race 2 (Huebeling, 1974 ; Kraft et Haglund, 1978 ; William *et al.*, 1979 ; Kraft et Pflieger, 2001).

En 1970, la race 5 a été décrite dans le nord-ouest de Washington où tous les cultivars commerciaux résistant aux races 1 et 2 étaient susceptibles. Cette race s'est rapidement propagée et a affecté environ 4000 à 12000 ha de pois semés chaque année. La résistance à la race 5 a été également attribuée à une seule gène dominant (Haglund et Kraft, 1970).

En 1979, une nouvelle race de *Fop* a été décrite à l'ouest de l'état 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 et Kraft, 1979). La résistance à cette race a été de nouveau attribuée à un seul gène dominant (Kraft, 1994).

A l'heure actuelle, quatre races de *Fop* ont été identifiées, les races 1 et 2 décrites dans le monde entier, alors que les races 5 et 6 sont seulement importantes à l'ouest de l'état de Washington aux Etats-Unis (Infantino *et al.*, 2006).

2.2. Description de la maladie

La fusariose vasculaire est un terme générique qui désigne, de fait, un groupe de maladies fongiques, causées par une grande diversité de champignons de l'espèce *Fusarium oxysporum*. Ce nom est en lien direct avec la forme en fuseau des spores. La maladie des plantes concernées révèle une gravité variable selon les espèces (Chakrabarti, 2013).

L'agent pathogène envahit les vaisseaux du xylème et bloque rapidement la circulation des éléments nutritifs, dont les plantes flétrissent et meurent brutalement. Les racines et le collet sont souvent nécrosés. On désigne cette fusariose vasculaire par le terme expressif de trachéomyose. Le champignon inclut plus d'une centaine de formes spéciales et races qui sont chacune spécifique à une plante hôte (Armstrong et Armstrong, 1974).

2.3. Agent causal

Fusarium est considéré comme l'un des genres les plus adaptables et les plus maniabiles des *Eumycota* (Gordon et Martyn, 1997). Les espèces de ce genre sont des champignons à mycélium cloisonné, dont on ne connaît que très peu de formes sexuées. Ces champignons vivent en tant que saprophytes dans le sol ou en tant que parasites des végétaux, en causant des maladies appelées fusarioses (Bell et Mace, 1981).

Fusarium oxysporum est un champignon tellurique qui comprend des isolats pathogènes et non pathogènes. Les isolats pathogènes sont connus pour causer des maladies de flétrissement chez plusieurs cultures économiquement importantes. *F. 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). *F. 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 5) (Fourie *et al.*, 2011).

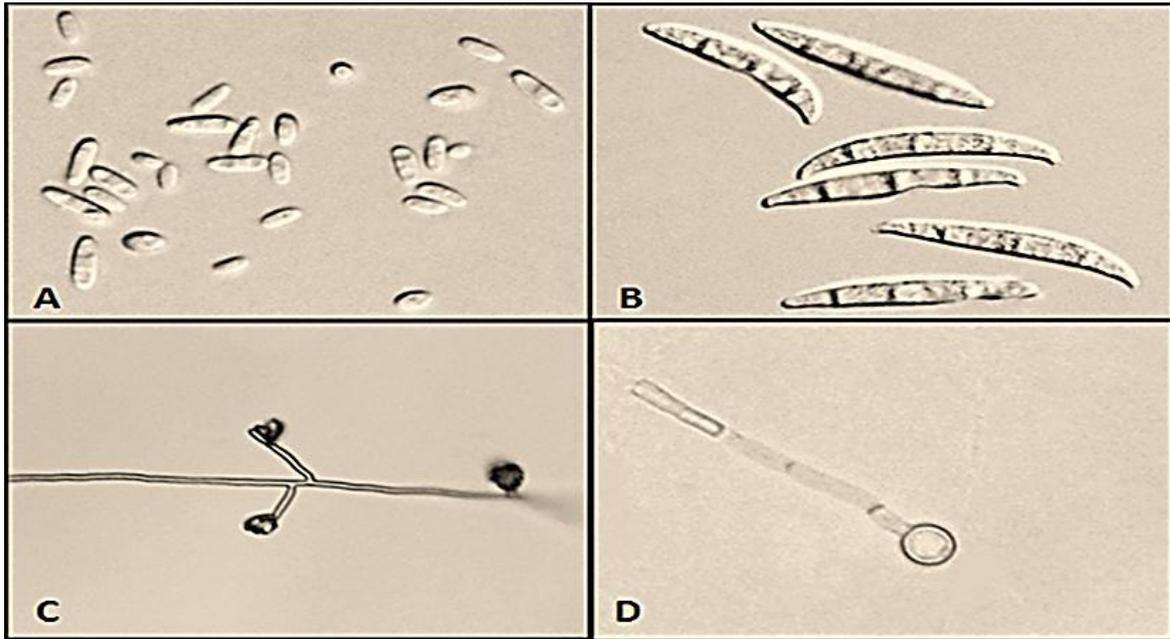


Figure 5. Caractéristiques morphologiques de *Fusarium oxysporum* (Fourie *et al.*, 2011). (A) Microconidies; (B) macroconidies; (C) microconidies germées sur des monophialides; et (D) chlamydo-spore.

Stand (1971) a décrit *F. oxysporum* comme un champignon cosmopolite filamenteux. Une espèce anamorphe qui comprend de nombreuses souches pathogènes de plantes causant le flétrissement d'un large rang d'espèces hôtes agricoles et ornementales (Appel et Gordon, 1996). 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 Deutéromycète tellurique appartenant à la sous classe des Hyphomycètes et à la famille des Tuberculariacées (Messiaen et Cassini, 1968 ; Booth, 1971; Nelson *et al.*, 1983).

2.4. Processus d'infection

F. oxysporum peut survivre dans le sol pendant des périodes prolongées sous forme de chlamydo-spores dont il est difficile à éliminer une fois que le sol est infesté (Agrios, 2005). Ses chlamydo-spores dormantes dans le sol germent sous des conditions favorables et infectent les plantes à travers leurs racines (Figure 6) (Chakrabarti, 2013).

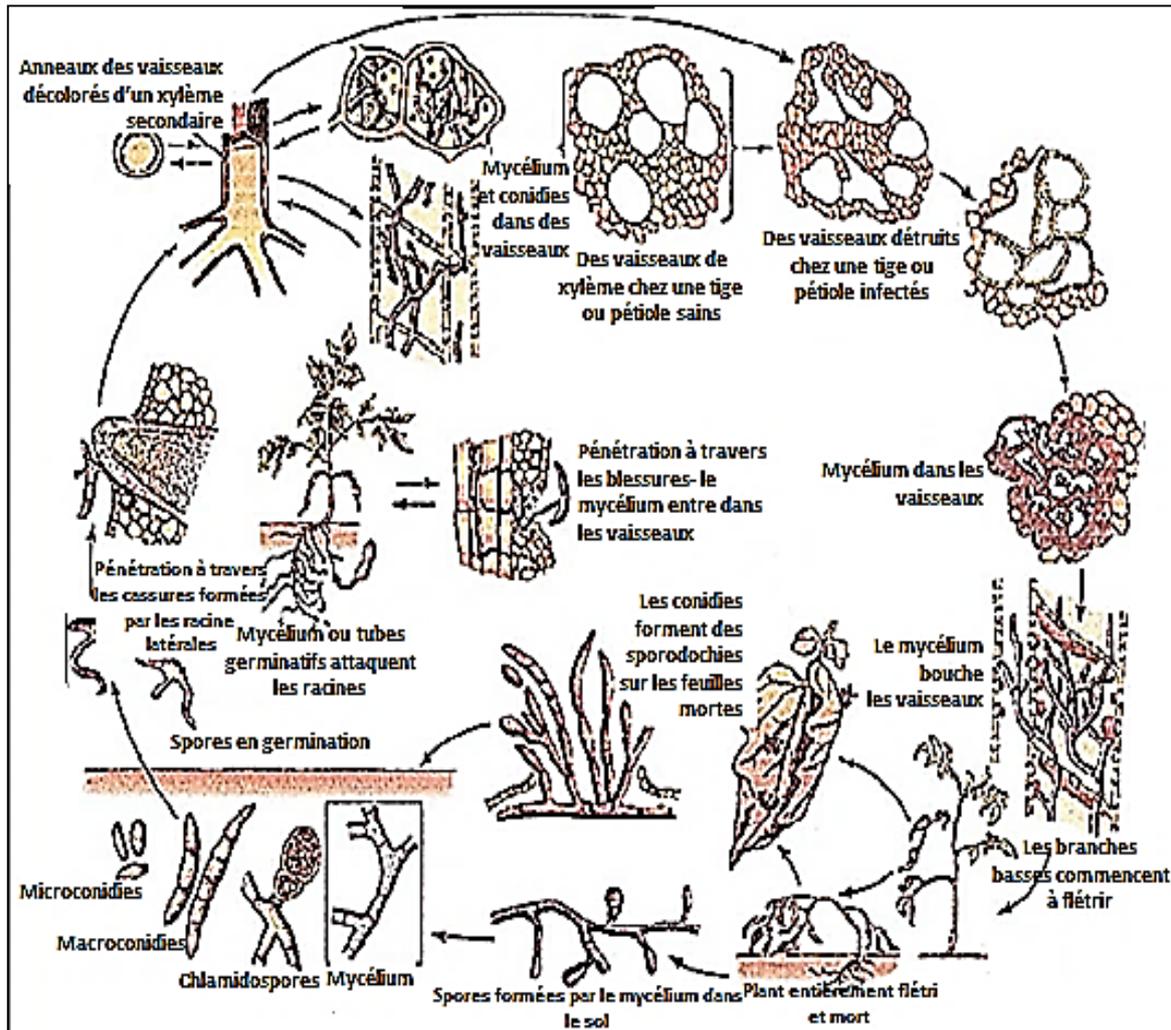


Figure 6. Cycle infectieux de *Fusarium oxysporum* (Agrios, 2005).

Après la germination, un thalle va être formé à partir duquel des conidies se forment dans 6 à 7 heures, et des chlamydo-spores dans 2 à 3 jours si les conditions sont favorables (Beckman et Roberts, 1995). D'abord, 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 du xylème. L'entrée dans les vaisseaux du 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'infiltré par la production de microconidies qui migrent vers le haut avec le flux de la sève (Chakrabarti, 2013).

2.5. Transmission de *Fusarium oxysporum f. sp. pisi*

Snyder (1932) a rapporté que la race 1 de *Fop* peut être transmise par graines lors de la récolte à partir d'un champ infesté. Parmi 8 000 graines testées, seulement 4 graines ont pu transmettre le pathogène, en suggérant que parfois les petites particules du sol peut être logées par le champignon (Snyder, 1932).

La race1 de l'agent pathogène peut être isolée à partir des nœuds de la tige. Bien qu'aucune preuve n'ait été présentée, il est possible que l'agent pathogène ne puisse envahir le pédoncule et donc la gousse et les graines. La probabilité de transmission par semences de la race 2 de *Fop* qui infecte la plante au stade floraison et de développement des gousses, est beaucoup plus élevée que pour la race 1, 5, ou 6 qui tuent habituellement la plante avant la floraison (Snyder, 1932).

2.6. Interactions hôte-pathogène

La plupart des formes spéciales de *F. oxysporum* existent sous la forme de chlamydospores, qui sont en dormance dans le sol et dans les tissus de l'hôte jusqu'à la germination (Nelson, 1981). Les exsudats racinaires sont signalés à être responsable de la germination des chlamydospores de plusieurs agents de pourritures racinaires et de flétrissement (Huisman, 1982).

F. oxysporum est un saprophyte tellurique qui possède la capacité de coloniser les racines et d'infecter l'épiderme des cellules du cortex chez un grand nombre de plantes résistantes ou non hôte. Cependant, l'action de cet agent pathogène sur ces plantes hôtes peut être asymptomatique (Schippers et Voetberg, 1969). Les formes pathogènes de *F. oxysporum* sont rapportés à pénétrer dans une racine de l'hôte soit par des blessures ou directement par l'apex (Nelson, 1981). La plupart des points communs d'entrée dans les plantes du pois par l'agent pathogène sont les régions des extrémités des racines indifférenciées, ou les blessures racinaires (Walker, 1935 ; Virgin et Walker, 1940 ; Doling, 1963 ; Nyvall et Haglund, 1972).

L'infection d'une plante sensible du pois peut être inter ou intracellulaire jusqu'à ce que tous les éléments du xylème soient envahis (Beckman, 1987). Dans des stades avancés de développement de la maladie, le champignon pousse hors du système vasculaire dans les cellules adjacentes du parenchyme produisant des conidies et des chlamydospores. Le cycle de vie est répété lorsque les chlamydospores germent et la croissance se produit soit en saprophyte ou par l'invasion d'une plante hôte appropriée. D'une manière générale, une fois *F. oxysporum* pénètre dans la plante hôte, le champignon se dissémine via le tissu du système vasculaire (Charchar et Kraft, 1989).

Lorsque les racines juvéniles sont le site d'infection, le champignon se déplace soit inter ou intra-cellulairement au niveau des éléments du xylème en développement et les envahit avant qu'ils soient complètement matures. L'agent pathogène est généralement limité par les cellules du parenchyme et du xylème à un stade précoce du développement de la maladie. L'agent pathogène se propage dans toute la plante au moyen de la croissance du mycélium ou des conidies, principalement les microconidies produites dans les vaisseaux infectés du xylème. Une fois à l'intérieur du système vasculaire, le champignon peut changer son mode de nutrition pour s'adapter aux conditions nutritives dans le lumen du vaisseau (Charchar et Kraft, 1989).

2.7. Mécanismes parasitaires

2.7.1. 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 à la sécrétion 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).

2.7.2. 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). Cette toxine non spécifique est 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). Bien que la relation entre l'acide fusarique et la pathogénèse est encore en débat, il a été décrit comme le facteur responsable de la pathogénicité de la race 2 de *Fop* (Bani *et al.*, 2014).

Outre l'acide fusarique, les isolats de *F. oxysporum* peuvent aussi 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).

2.7.3. Autres 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). Le gène *fmk1* codant pour une MAPK et sa cible principale le facteur de transcription *Ste12* a été isolé chez *F. oxysporum*. Il a été démontré que la signalisation par les MAPK est impliquée dans l'adhésion des spores à la surface des racines, le développement de l'hyphe de pénétration, la croissance invasive et la production de la pectate lyase (Di Pietro, *et al.*, 2001 ; Rispaill et Di Pietro, 2009)

2.8. Symptômes de la maladie

Les races 1 et 2 de *Fop* infectent le pois pendant les premières étapes de croissance des plantes. Dans les tissus vasculaires, une coloration jaune à orange claire se présente, puis la décoloration est étendue vers la tige et les feuilles deviennent jaunâtres (Figure 7.B). Dans des atmosphères chauds et ensoleillés, les plantes meurent rapidement (Tamayo, 2000 ; Buitrago *et al.*, 2006).

Contrairement à la plupart des maladies fongiques, la fusariose du pois caractérise les sols alcalins (Garrett, 1956). Chez les plantes matures, le flétrissement est général et les feuilles étant généralement jaunes et sèches, tandis que les feuilles supérieures se fanent et restent vertes et sèches. Les feuilles et les stipules s'enroulent vers la nervure centrale. Une autre caractéristique est que la moitié de chaque feuille présente des symptômes de flétrissement avant l'autre, par conséquent, la moitié de la plante est à un stade beaucoup plus avancé de la maladie que l'autre (Figure 7.A) (Kraft et Pflieger, 2001).

Les premiers signes du flétrissement en plein champ sont difficiles à distinguer, mais dans les plantes cultivées dans des pots, les premières étapes de flétrissement peuvent être facilement reconnues. Les symptômes commencent habituellement à apparaître à peu près au stade 6 à 7 feuilles. La plante dans son

ensemble semble en bon état, mais les feuilles inférieures deviennent flasque et commencent souvent à s'enrouler (Kraft et Pflieger, 2001)

Les symptômes dus aux races 1, 5 et 6 sont très similaires, tandis que les symptômes dus à la race 2 présentent certaines divergences. En réalisant des coupes longitudinales des racines infectées, on observe la présence d'une décoloration plus foncée, qui peut atteindre le collet et la tige (Hagland 1984).

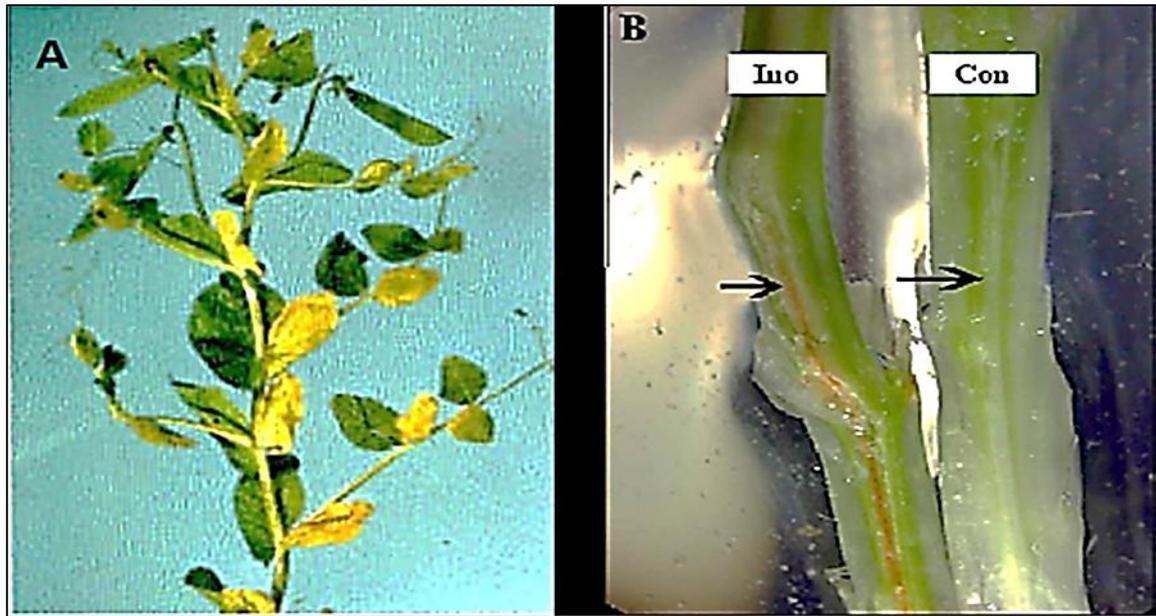


Figure 7. Symptômes de la fusariose vasculaire du pois (Hagedorn, 1991 ; Bani, 2015).

(A) Jaunissement unilatéral des feuilles, (B) Décoloration des tissus vasculaires.

2.9. 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).

2.9.1. 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, elle n'a qu'un effet mineur dans la résolution des problèmes du pois causés par la fusariose vasculaire, non seulement parce que les chlamydozoospores 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).

2.9.2. Lutte chimique

La fumigation du sol avec un fongicide à large spectre est une méthode de lutte potentielle 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).

2.9.3. Lutte biologique

Durant ces dernières années, le contrôle biologique de la fusariose vasculaire a donné des résultats encourageants. Le biocontrôle consiste à utiliser des champignons antagonistes tels que les souches non pathogènes de *F. oxysporum*, *Trichoderma* spp. et *Gliocladium* spp., 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).

2.9.4. 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 à la race 2 est aussi conférée par un gène dominant *Fwn* (Kraft et Pflieger, 2001), bien qu'il ait été démontré que plusieurs gènes peuvent être impliqués (Infantino *et al.*, 2006). Ces gènes n'ont pas été encore assignés à un emplacement chromosomique (Bani, 2015). La résistance à

la race 5 est contrôlée par le gène dominant *Fwf* localisé sur le groupe de liaison II près du marqueur RAPD "U693a" (Coyne *et al.*, 2000 ; Okubara *et al.*, 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 (Haglund, 1984 ; Kraft et Pflieger, 2001).

Chapitre II.

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Une collection de 24 génotypes issus de populations spontanées de *Pisum* spp., a été étudiée (Figure 8). Il s'agit des génotypes 22, 27, 223, 742, 760, 801, 904, 944, 952, 1046, 1066, 1148, 1149, 1160, 1171, 1176, 1556, 1943, 1994, 1996, 2017, 2076, 2310 et 3029. De plus, trois génotypes contrôles : Merveille de Kelvedon (variété locale) (résistant), P21 et 2946 (sensibles), appartenant à l'espèce *P. sativum*, ont été utilisés (Bani *et al.*, 2012 ; Mekhaldi, 2016). Les semences des différents génotypes ont été issues de l'Institut de l'Agriculture Durable de Cordoue (*Institut of Sustainable Agriculture, Cordoba, Spain*).

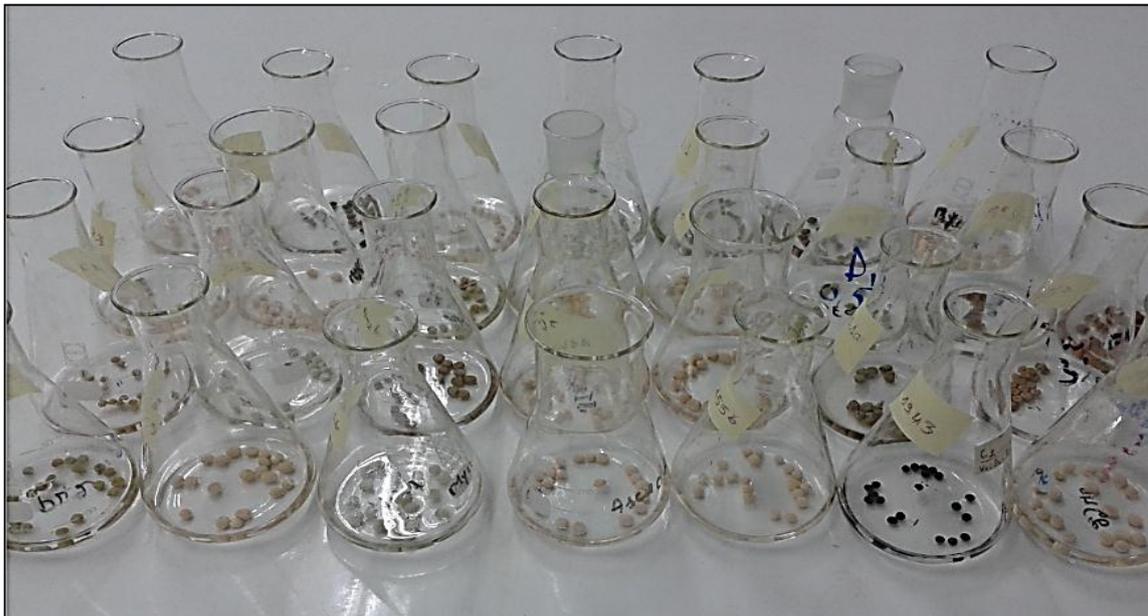


Figure 8. Semences des génotypes du pois étudiés.

2. Souches de *Fop*

Deux souches de *Fop* ont été utilisées : R1 et R2F42 (Figure 9). 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 (*IAS-CSIC, Cordoba, Spain*).

Afin de les régénérer, les souches ont été ensemencées sur le milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*) et incubées à 25 °C pendant quatre à cinq jours (Di Pietro et Roncero, 1998).



Figure 9. Culture des deux souches de *Fop* utilisées.

3. Prégermination des graines

Les graines de chaque génotype ont été superficiellement désinfectées pendant 30 minutes dans une solution d'hypochlorite de sodium (1%), puis rincées deux fois avec de l'eau distillée stérile pendant 20 min. Par la suite les graines ont été 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 7 jours. Après stratification, les boîtes ont été incubées à 25 °C jusqu'à la germination des graines.

Une fois germées (Figure 10), les graines ont été transférées dans des pots de 250 ml de volume contenant de la perlite stérile (Figure 11) et maintenues sous serre. Les plantules sont arrosées avec de l'eau courante selon le besoin.

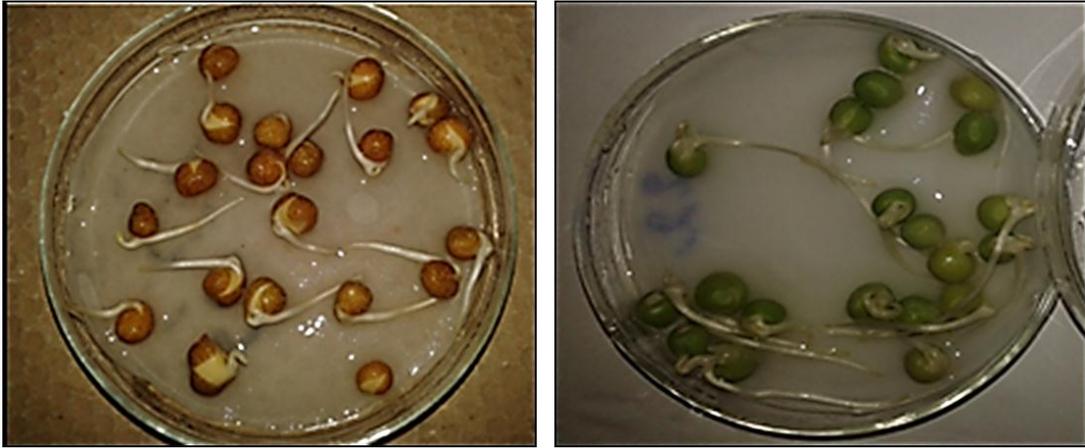


Figure 10. Graines germées du pois.

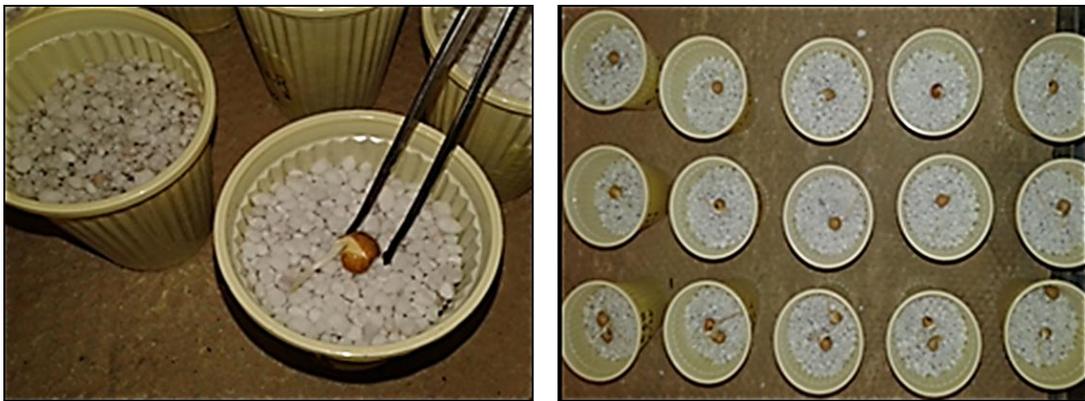


Figure 11. Transfert des graines germées dans la perlite stérile.

4. Préparation de l'inoculum

Selon la technique décrite par Di Pietro et Roncero (1998), les suspensions fongiques ont été préparées en prélevant des disques mycéliens à partir des cultures de *Fop* âgées de 4 à 5 jours (sur milieu PDA) (Figure 12.A). 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 à la température ambiante, sous agitation continue (170 rpm). Après 5 jours, les spores ont été récupérées par filtration de la suspension à travers les mailles de 2 compresses stériles (Figure 12.B). 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).

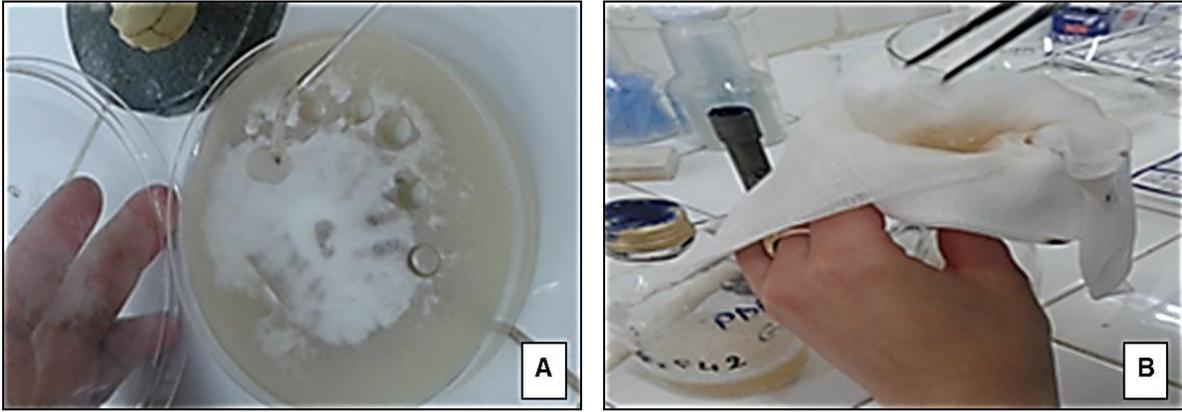


Figure 12. Préparation de l'inoculum

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

5. Inoculation des plantules

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 (Figure 13.A). Un tiers du système racinaire a été coupé (Figure 13.B) avant l'immersion du reste de la racine dans la suspension de spores, pendant 5 min à la température ambiante (Figure 13.C). Après l'inoculation, les plantes de pois ont été transplantées dans leurs pots et incubées sous serre jusqu'à la fin de l'expérimentation.

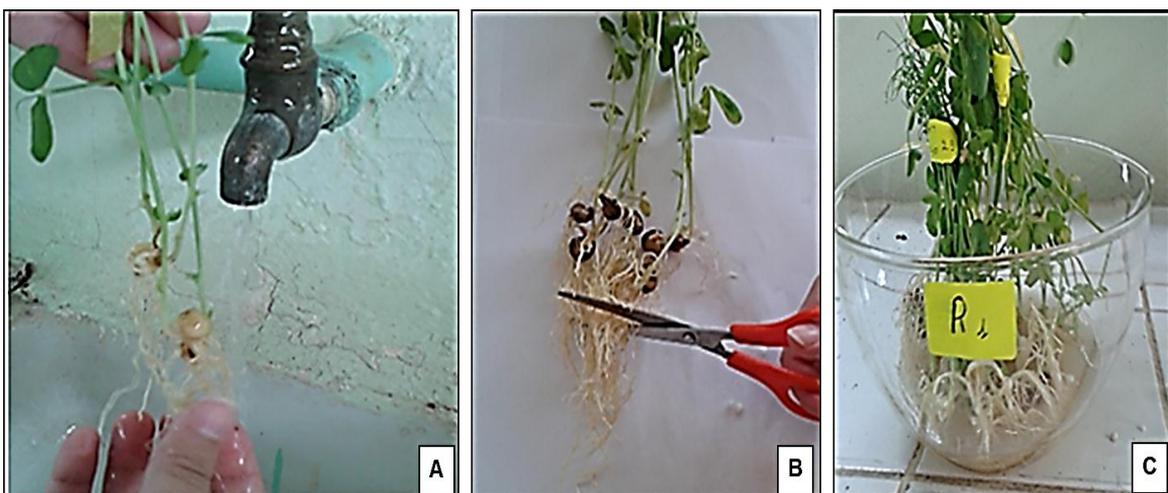


Figure 13. Procédure d'inoculation des plantes du pois.

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

6. Traitements appliqués

Notre expérimentation a pour objectif d'étudier l'interaction de deux facteurs :

- Le facteur « génotype » est composé de 27 niveaux correspondant aux 27 génotypes de pois (y compris les génotypes contrôles).
- Le facteur « souche » comprend 3 niveaux correspondant aux deux souches et aux témoins pour lesquels la suspension de *Fop* a été remplacée par de l'eau distillée stérile (EDS) lors de l'inoculation.

Le nombre total des traitements était 81 (Tableau 1) et chaque traitement a été répété 5 fois, soit un total de 405 plantes (unités expérimentales).

Tableau 1. Les différents traitements appliqués.

Génotypes	Inoculum		
	R1	R2F42	EDS
22	T1	T28	T55
27	T2	T29	T56
223	T3	T30	T57
742	T4	T31	T58
760	T5	T32	T59
801	T6	T33	T60
904	T7	T34	T61
944	T8	T35	T62
952	T9	T36	T63
1046	T10	T37	T64
1066	T11	T38	T65
1148	T12	T39	T66
1149	T13	T40	T67
1160	T14	T41	T68
1171	T15	T42	T69
1176	T16	T43	T70
1556	T17	T44	T71
1943	T18	T45	T72
1994	T19	T46	T73
1996	T20	T47	T74
2017	T21	T48	T75
2076	T22	T49	T76
2310	T23	T50	T77
3029	T24	T51	T78
P21	T25	T52	T79
2946	T26	T53	T80
M. Kelvedon	T27	T54	T81

7. Paramètres étudiés

7.1. Suivi symptomatologique

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.

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

Une coloration rougeâtre des tissus de la tige et du collet de la plante a été précédemment décrite pour être associée aux infections par *F. oxysporum* (Kraft et Pflieger, 2001). Afin d'observer ces symptômes internes, nous avons examiné des coupes des plantes inoculées par les quatre souches de *Fop*, sous une loupe binoculaire (G : x8). 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.

6.1. Taux d'infection

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

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

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

6.2. Sévérité de la maladie (VIS)

L'évaluation des symptômes foliaires de chaque plante a été effectuée selon une échelle visuelle de 5 niveaux (Bani *et al.*, 2012), permettant de calculer l'indice de la sévérité (VIS : *Visual Index of Severity*) (Figure 14).



Figure 14. Echelle de l'évaluation des symptômes de la fusariose vasculaire (Bani *et al.*, 2012).

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

L'indice final est représenté par la moyenne des valeurs VIS de l'ensemble des feuilles de chaque plant.

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

Les génotypes qui présentent des valeurs de VIS entre 1 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).

6.3. Courbe des aires de progression 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 :

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

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 est un paramètre qui intègre l'intensité des symptômes et leur progression dans le temps.

7. Analyses statistiques

Les résultats des taux d'infection, des valeurs VIS et des valeurs AUDPC, ont subi une analyse de variance (ANOVA) en utilisant le logiciel statistique « Systat » vers. 12.

Le calcul des moyennes des taux d'infection, des VIS et des valeurs AUDPC a été effectué en utilisant le même logiciel, dont les différences sont significatives en se basant sur la plus petite différence au seuil $\alpha \leq 5\%$.

INTRODUCTION

CHAPITRE I.
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE II.

MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE III.

RESULTATS ET DISCUSSION

CONCLUSION

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

ANNEXES

Chapitre III.

Résultats et discussion

1. Description symptomatologique

1.1. Symptômes externes

1.1.1. Partie aérienne

Sept à 10 jours après l'inoculation, les premiers symptômes de la fusariose vasculaire du pois ont été observés sur certains génotypes. Les symptômes de la maladie commencent sur les feuilles primaires (Figure 14.A) et atteignent progressivement les jeunes feuilles jusqu'à ce que l'ensemble de la plante flétrit et meurt 19 à 30 jours après inoculation (Figure 14.B).

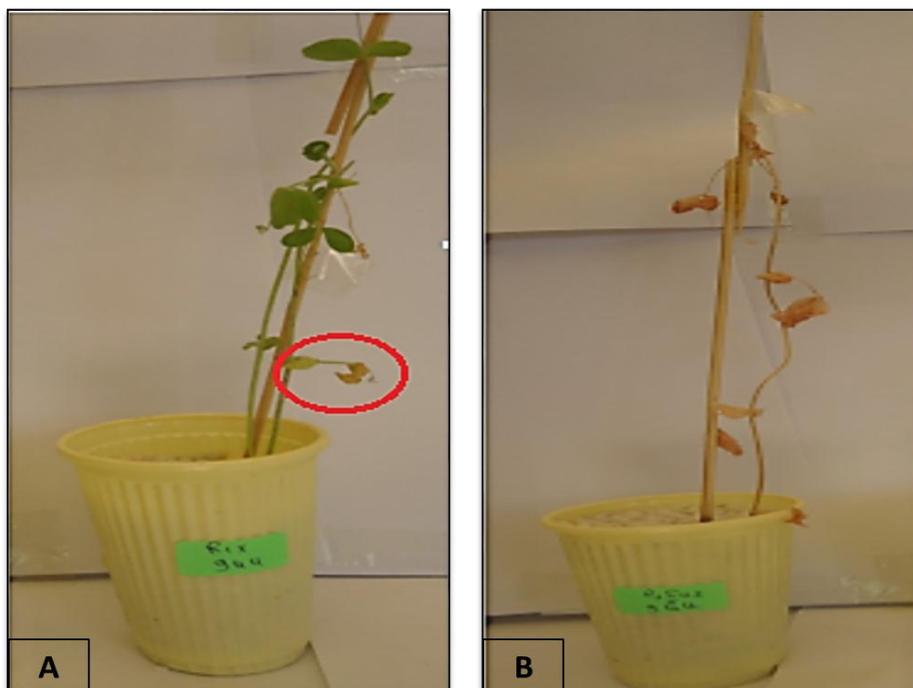


Figure 14. Symptômes de la fusariose vasculaire dus aux deux souches de *Fop* sur le génotype 944.

(A) Plante inoculée avec la souche R1, (B) plante inoculée avec la souche R2F42.

Au niveau des feuilles, Nous avons enregistré l'apparition d'un jaunissement (Figure 15.A) associé à un enroulement vers le bas des extrémités du limbe (Figure 15.B). Le jaunissement progresse ensuite à travers la feuille et se développe à une nécrose jusqu'à ce que l'ensemble des feuilles se dessèche.

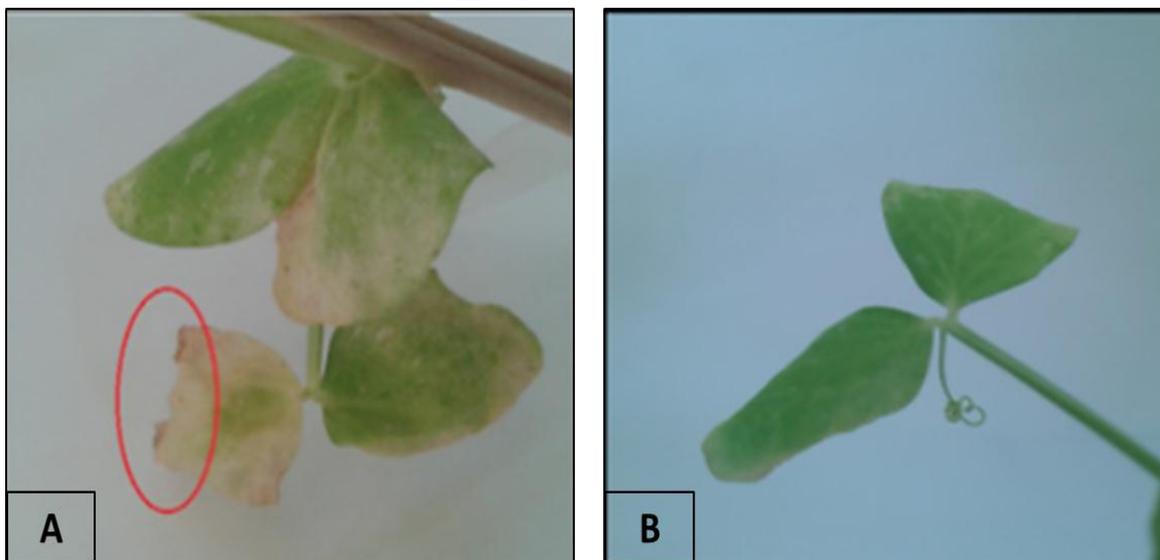


Figure 15. Symptômes de jaunissement, de nécrose et d'enroulement causés par les souches de *Fop* utilisées.

Bien que les deux souches de *Fop* utilisées ont provoqué les mêmes types de symptômes sur les génotypes étudiés (jaunissement, flétrissement, enroulement et nécrose), l'intensité des symptômes a été plus importante chez les plantes inoculées avec la souche R2F42, par rapport à la souche R1 (Figure 14).

En comparant les deux souches utilisées, nous avons constaté une variabilité dans les réponses des génotypes étudiés, variant de la susceptibilité élevée à la résistance. Généralement, les symptômes de flétrissement progressent beaucoup plus rapidement chez les génotypes inoculés avec la souche R2F42 par rapport à la souche R1. En interaction avec la souche R1, nous n'avons pas enregistré la mort des génotypes étudiés. Par contre, en interaction avec la souche R2F42, nous avons enregistré la mort de la majorité des génotypes (Figure 16).



Figure 16. Réactions des génotypes 1996, 1160 et 944, 10 jours après leur inoculation avec les souches R1 et R2F42 de *Fop* par rapport aux témoins (EDS).

1.1.2. Partie racinaire

Comme la partie aérienne, le pathogène a causé des dégâts sur la partie racinaire. Les génotypes inoculés avec la souche R2F42 ont présentés une décoloration rouge foncé à brune aux niveaux des racines et du collet, tandis que peu de ces symptômes ont été observés chez les génotypes inoculés avec la souche R1. Concernant les témoins immergés dans l'eau distillée stérile, les racines des plantes n'ont pas montré des décolorations (Figures 17 et 18).



Figure 17. Aspect des racines du génotype 223.

(A) Inoculé avec la souche R2F42, (B) inoculé avec la souche R1 et (C) témoin non inoculé.

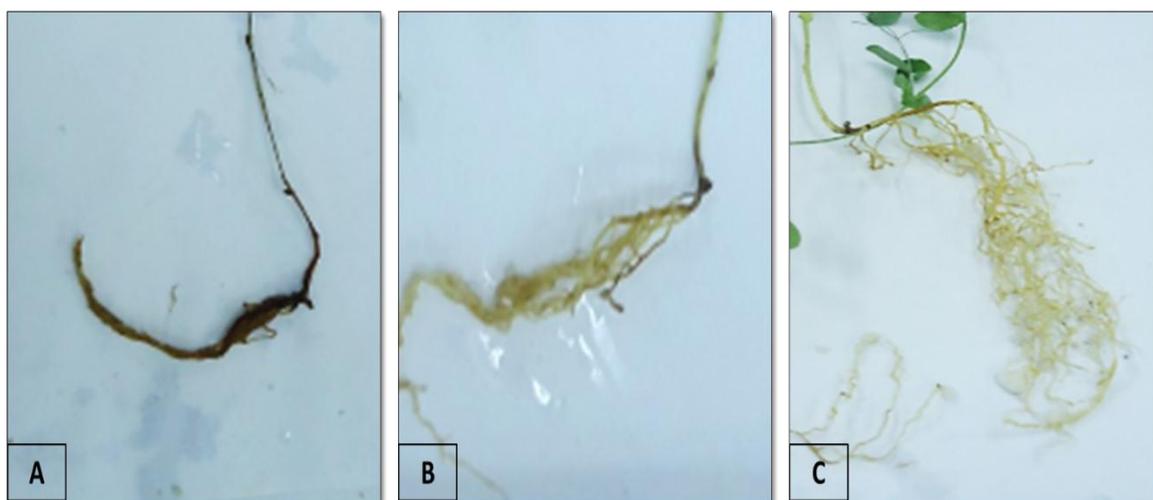


Figure 18. Aspect des racines du génotype 801.

(A) Inoculé avec la souche R2F42, (B) inoculé avec la souche R1 et (C) témoin non inoculé.

1.2. Symptômes internes

Des coupes longitudinales fraîches de la racine et du collet des différents génotypes ont été réalisées. L'observation de ces coupes, sous loupe binoculaire (G : $\times 2.5$), nous a montré une décoloration rouge foncée du système vasculaire et/ou du tissu parenchymateux des génotypes susceptibles (223 et 801) inoculés avec la souche R2F42. Par contre, les plantes inoculées avec la souche R1 n'ont pas montré cette décoloration (Figures 18 et 19).



Figure 18. Racines du génotype 223 sous loupes binoculaire (G : $\times 2.5$).

(A) R2F42, (B) R1 et (C) EDS.

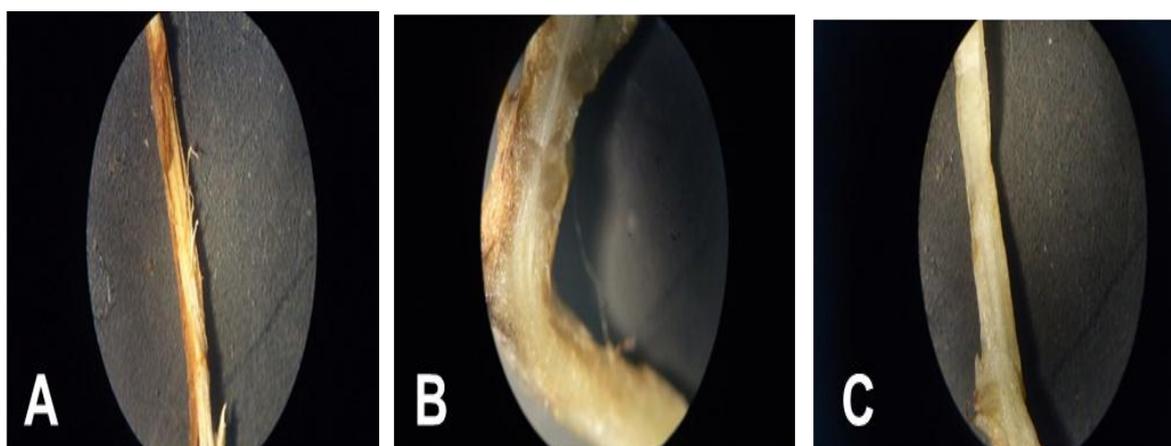


Figure 18. Racines du génotype 801 sous loupes binoculaire (G : $\times 2.5$).

(A) R2F42, (B) R1 et (C) EDS.

2. Taux d'infection

Le taux d'infection des géotypes étudiés était estimé en dénombrant le nombre de feuilles porteuses de symptômes de la fusariose vasculaire, sur le nombre total des feuilles saines de la même plante. Le taux d'infection des 27 géotypes varie de 21,42% à 100%.

L'analyse de la variance appliquée aux valeurs des taux d'infection a mis en évidence des différences très hautement significatives ($p=0,000$) entre les différents géotypes étudiés du pois et entre les deux souches de *Fop* utilisées (Annexe 8).

D'après le calcul du taux d'infection, nous avons pu classer les géotypes étudiés selon leur réponse aux deux souches de *Fop*. En interaction avec la souche R1, les géotypes Merveille de Kelvedon, 22, 223, 760, 944, 952, 1066, 1148, 1149, 1160, 1171, 1176, 1556, 1943 et 3029 se sont avérés résistants en enregistrant des moyennes de taux d'infection inférieurs à 50%. Des taux d'infection compris entre 50 % et 70% ont été enregistrés chez les géotypes 27, 742, 801, 904, 1046, 1994, 1196 et 2310, donc ils sont considérés comme partiellement résistants. Les géotypes 2946, P21, 2017 et 2076 ont été sensibles avec des moyennes de taux d'infection qui dépassent 70% (Figure 20).

En interaction avec la souche R2F42, la valeur de taux d'infection la plus faible a été enregistrée chez le géotype contrôle Merveille de Kevedon (21,42%) qui a été le plus résistant. En outre, tous les autres géotypes ont été sensibles en enregistrant des taux d'infection dépassant 85%. Mis à part les deux géotypes 22 (96,66%) et 1994 (89,58%), la mort des plantes (taux d'infection de 100%) a été enregistrée chez la quasi-totalité des géotypes (24 géotypes sur 27) (Figure 21).

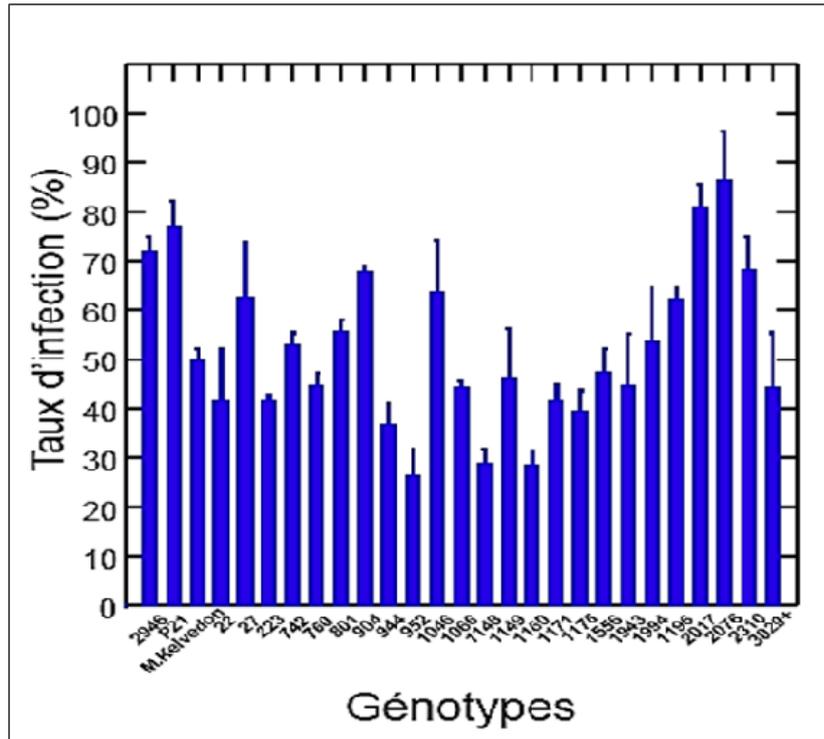


Figure 20. Valeurs des taux d'infection des 27 génotypes de pois 31 jours après leur inoculation avec la souche R1 de *Fop*.

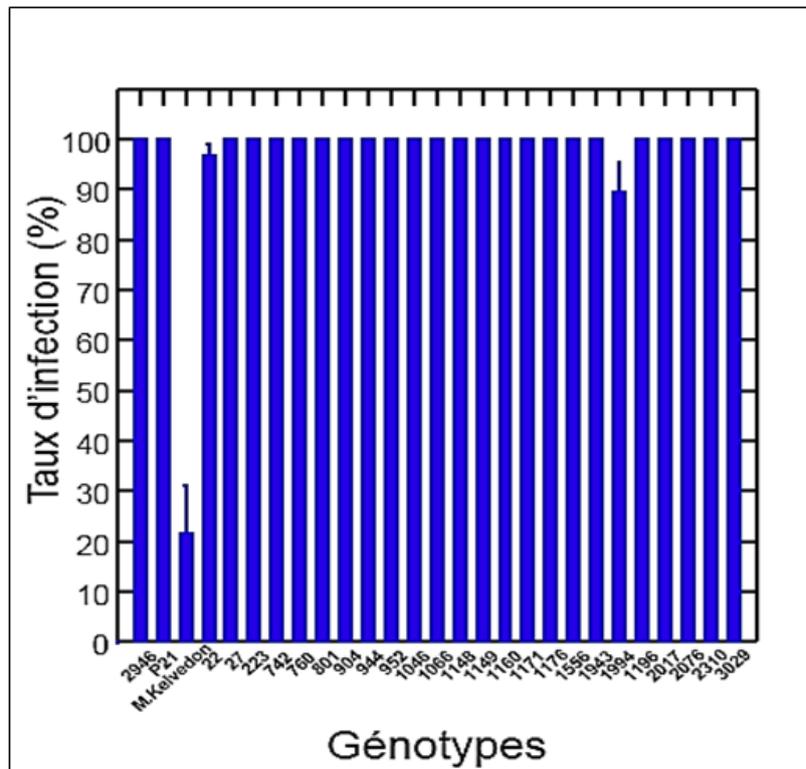


Figure 21. Valeurs des taux d'infection des 27 génotypes de pois 31 jours après leur inoculation avec la souche R2F42 de *Fop*.

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 1148 a commencé 7 jours après son inoculation avec la souche R1, pour atteindre une valeur de 20% après le 28^{ème} jour sans dépasser un taux d'infection de 30% après le jour 31 de l'inoculation. Par contre, ce même génotype a enregistré un taux d'infection de 100% à partir de 16^{ème} jour après son inoculation avec la souche R2F42 (Figure 22).

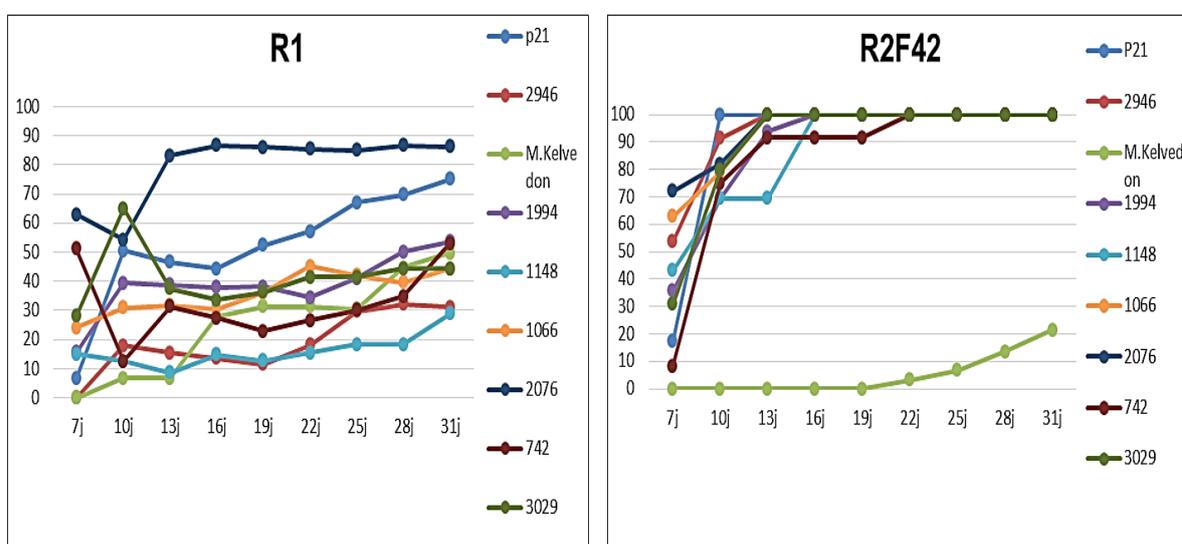


Figure 22. Cinétique de taux d'infection de quelques génotypes étudiés.

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, selon une échelle de 5 niveaux.

L'ANOVA appliquée aux valeurs de VIS a mis en évidence des différences très hautement significatives ($p=0,000$) entre les 27 génotypes du pois et entre les deux souches de *Fop* utilisées (Annexes 8).

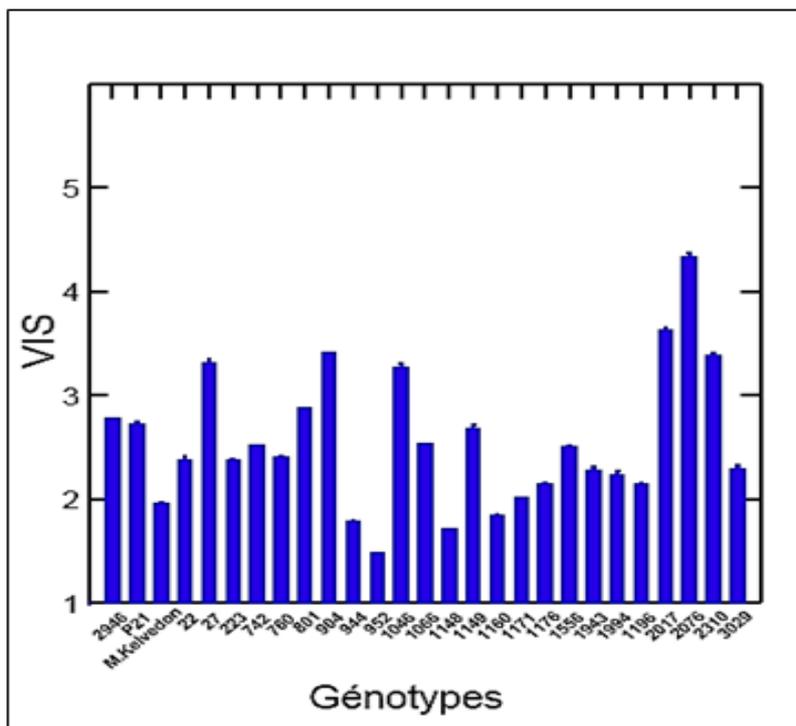


Figure 23. Valeurs VIS des 27 génotypes de pois 31 jours après leur inoculation avec la souche R1 de *Fop*.

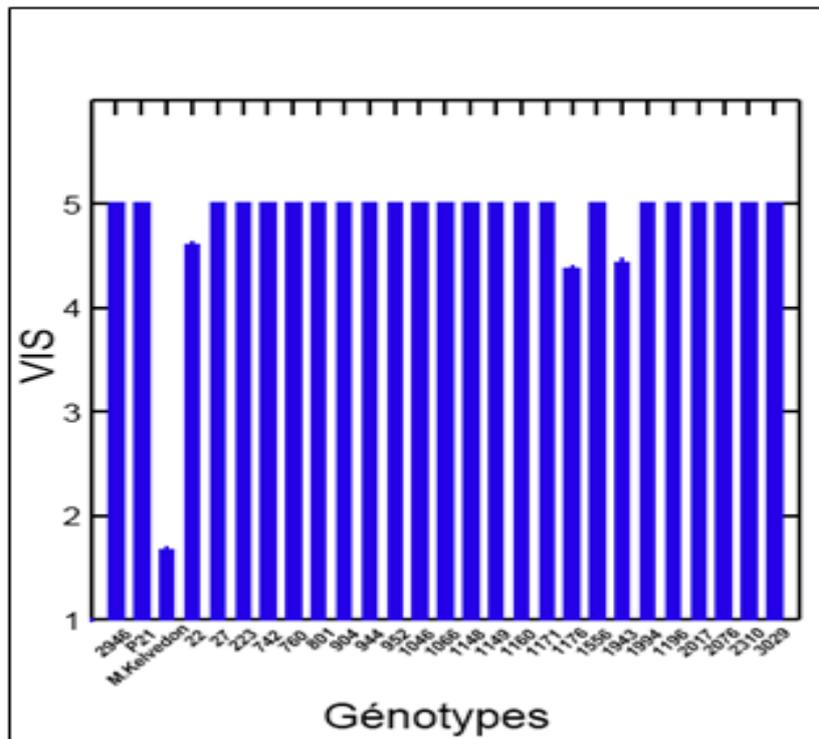


Figure 24. Valeurs VIS des 27 génotypes de pois 31 jours après leur inoculation avec la souche R2F42 de *Fop*.

Selon cet indice et en interaction avec la souche R1, les génotypes 2946, P21, Merveille de Kelvedon, 22, 223, 742, 760, 801, 944, 952, 1066, 1148, 1149, 1160, 1171, 1176, 1556, 1943, 1994, 1196 et 302 ont été résistants avec des valeurs VIS inférieures à 3, tandis que les six génotypes 27, 904, 1046, 2017, 2310 et 3029 ont été partiellement résistants à cette souche avec des valeurs VIS comprises entre 3,25 et 3,62. Le génotype 2076 était le seul génotype sensible à cette souche avec une valeur VIS de 4,32 (Figure 23).

En interaction avec la souche R2F42, seul le génotype contrôle Merveille de Kelvedon qui a résisté en enregistrant une moyenne de VIS de 1,67. Tous les autres génotypes ont été sensibles avec des valeurs moyennes de VIS dépassant le niveau 4 (Figure 24).

La progression des VIS dans le temps de chaque traitement a été aussi estimée. Nous avons constaté que l'évolution de la sévérité a été plus rapide chez les génotypes inoculés avec la souche R2F42 par rapport à ceux inoculés par la souche R1. En prenant l'exemple du génotype 3029 en interaction avec la souche R1, des VIS de 1,38, 1,85, 1,53, 1,52, 1,42, 1,99, 2,19, 2,22 et 2,28 durant les 9 suivis effectués. Tandis qu'en interaction avec la souche R2F42, ce même génotype a enregistré un VIS de 5 (mort des plantes) à partir de 4^{ème} suivi (16 jours après l'inoculation (Figure 25).

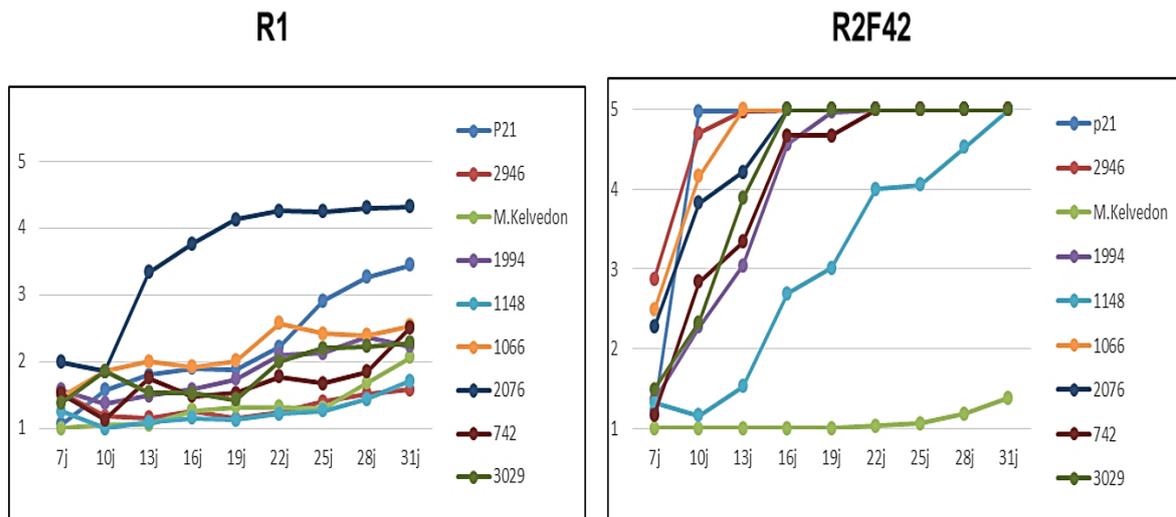


Figure 25. Cinétique des VIS de quelques génotypes étudiés.

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

Afin d'obtenir une valeur plus objective pour distinguer entre les réponses des 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.

L'ANOVA appliquée aux valeurs d'AUDPC a mis en évidence des différences très hautement significatives ($p=0,000$) entre les 27 génotypes du pois et entre les deux souches de *Fop* utilisées (Annexe 8).

Les réactions des différents génotypes face aux deux souches de *Fop* est différentielle. Les valeurs d'AUDPC enregistrées varient entre 400 (944) à 2200 (2076) en interaction avec la souche R1 et de 100 (Merveille de Kelvedon) à 2800 (1149) en interaction avec la souche R2F42.

Les valeurs d'AUDPC les plus faibles correspondent aux génotypes résistants. Il s'agit de deux génotypes 223 et 1171 en interaction avec la souche R1 de *Fop* (Figure 26). Alors que les valeurs les plus importantes correspondent aux génotypes 952 et 3029 qui sont sensibles à la souche R2F42 (Figure 27).

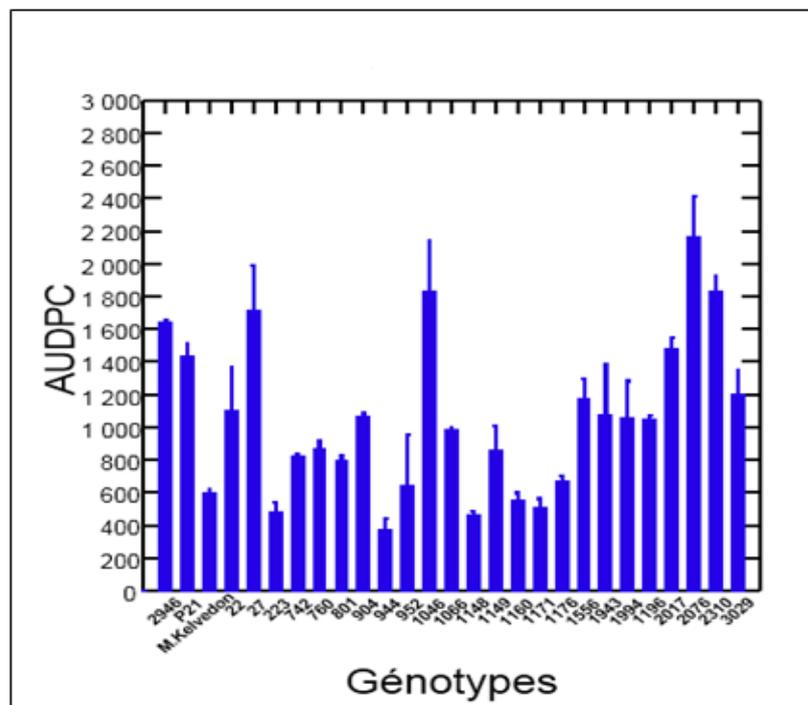


Figure 26. Valeurs d'AUDPC des 27 génotypes du pois inoculés avec la souche R1 de *Fop*.

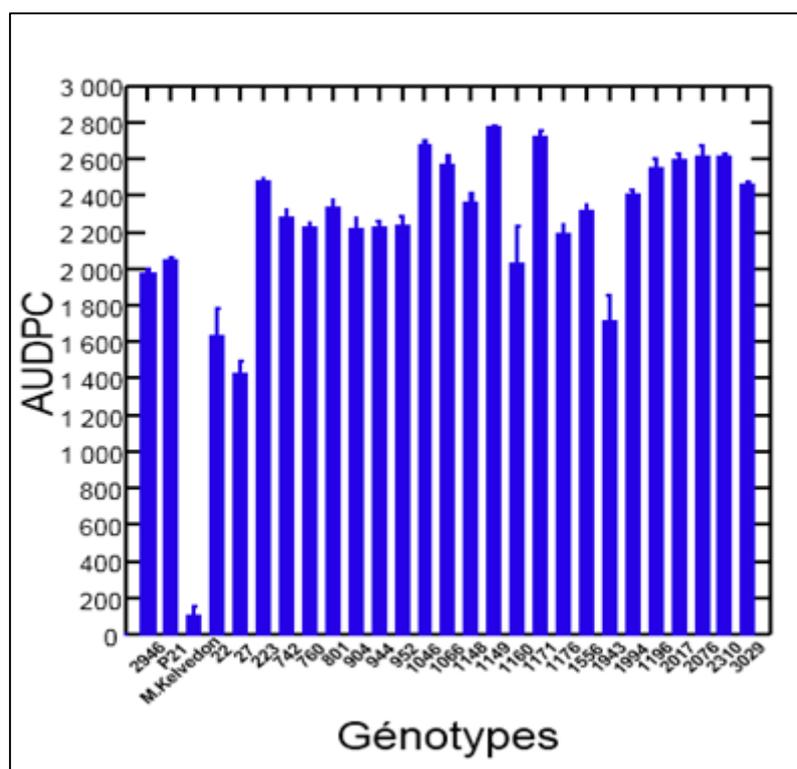


Figure 27. Valeurs d’AUDPC des 27 génotypes du pois inoculés avec la souche R2F42 de *Fop*.

Le calcul des valeurs minimales et maximales des valeurs d’AUDPC correspondant aux 27 génotypes du pois, a confirmé la variabilité de leurs réponses vis-à-vis des deux souches de *Fop* (Figure 28).

En comparant les valeurs minimales et maximales d’AUDPC correspondant aux souches de *Fop* utilisées, nous avons pu déduire que les valeurs les plus importantes ont été enregistrées chez les génotypes inoculés avec la souche R2F42. La race 1 représentée par la souche R1 est moins virulente que la souche R2F42 (Figure 29).

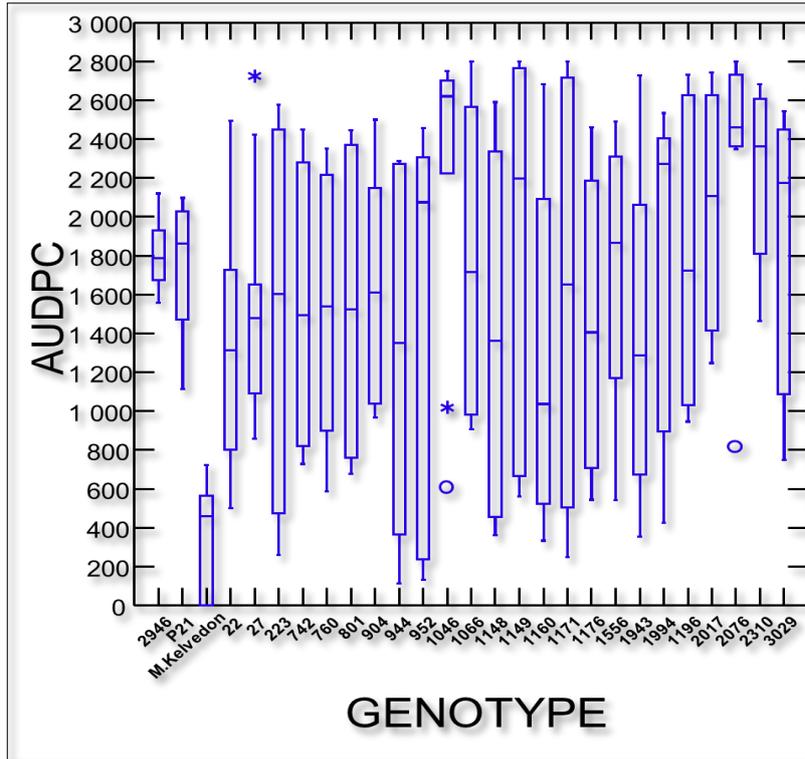


Figure 28. Valeurs minimales et maximales d’AUDPC correspondant aux 27 génotypes étudiés du pois.

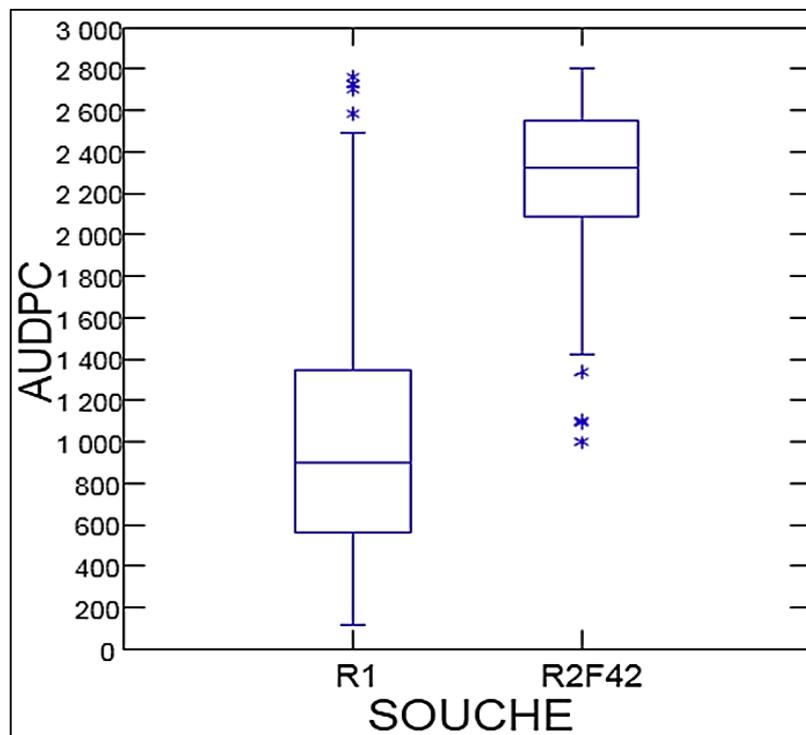


Figure 29. Valeurs minimales et maximales d’AUDPC correspondant aux deux souches de *Fop*.

5. Discussion générale

Notre travail avait pour objectif d'étudier le comportement d'une collection de 27 génotypes de *Pisum* spp., vis-à-vis de deux souches pathogènes de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* dans des conditions semi-contrôlées sous serre. Ces deux souches ont pu induire des symptômes typiques de la fusariose vasculaire et les 27 génotypes ont présenté différents comportements.

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 du pois en réponse aux quatre races de *Fop*. Cependant, les symptômes causés par la race 2, induit un syndrome proche de la fusariose qui se produit plus tard dans la période de végétation, souvent à la floraison et apparaît seulement sur quelques plantes sauf en cas de fortes infestations (Kraft *et al.*, 1998 ; Kraft et Pflieger, 2001).

En parallèle aux symptômes externes, l'infection du pois par *Fop* est généralement associée avec une décoloration des tissus vasculaires qui deviennent rouge-orange ou noirs. Chez les plantes sensibles, cette décoloration vasculaire progresse de la racine vers la tige et elle est généralement plus intense en réponse à la race 2 du champignon (Kraft *et al.*, 1998 ; Kraft et Pflieger, 2001). En accord avec ces observations, le tissu vasculaire de la plupart de nos 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.

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.

La majorité des travaux portant sur le comportement du pois vis-à-vis de la fusariose vasculaire considère le taux d'infection et la sévérité des symptômes en tant que paramètres typiques pour évaluer la résistance des génotypes testés (Michielse et Rep, 2009 ; Bani *et al.*, 2012 ; Irzykowska *et al.*, 2012 ; Mekhaldi, 2016). 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.

Le taux d'infection seul apparaît insuffisant pour distinguer les réponses des génotypes étudiés (Infantino *et al.*, 2006). Afin de décrire correctement la réaction des 27 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.*, 2012, Mekhaldi, 2016). En général, les génotypes qui présentent des valeurs d'indice de sévérité entre 1 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).

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

Les différentes méthodes d'évaluation de la maladie utilisées dans ce travail, nous ont permis de 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 742 qui a enregistré une valeur d'AUDPC de 815,75 avec la souche R1 et a été considéré comme résistant, alors qu'il a été susceptible avec la souche R2F42 en présentant une valeur d'AUDPC de 2279,16. Cette variabilité de réponses envers les différentes souches du même pathogène peut être la conséquence d'une spécificité du biotype pathogène vis-à-vis des différents cultivars de la même espèce hôte.

Les 27 génotypes étudiés du pois ont présenté des comportements variables envers les deux souches de *Fop*. 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 elle 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 présenté 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 (Vidhyase, 2008).

Les barrières structurales 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, 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, 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).

Une protéine antifongique ayant une masse moléculaire de 31kDa, a été isolée chez la variété macrocarpon de *Pisum sativum*. La protéine, appelée pisumine, a montré une activité antifongique envers *F. oxysporum* et *Rhizoctonia solani* (Ye, et Ng, 2003).

Une autre protéine antifongique ayant une masse moléculaire de 11 kDa, a été aussi isolée à partir des graines de *Pisum sativum* var. *arvense* Poir, qui a montré son activité inhibitrice envers *F. oxysporum* (Wang et Ng, 2006).

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 génotypes 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 de l'efficacité réduite du contrôle chimique de cette maladie et de la pollution et risques sanitaires associés à ce type de méthode de contrôle, l'utilisation de cultivars résistants aux différentes races du pathogène, semble être la mesure la plus appropriée.

Notre travail expérimental avait pour objectif d'étudier le comportement d'une collection de 27 génotypes de pois (*Pisum* spp.) vis-à-vis de deux souches de (*Fop*) : R1 appartenant à la race 1 et R2F42 appartenant à la race 2 du pathogène. L'expérimentation a été menée dans des conditions semi contrôlés (sous serre). Pour procéder à l'inoculation des plantes, nous avons suivi la méthode décrite par Haglund (1989), en émergeant les racines dans la suspension fongique du pathogène.

Les deux souches de *Fop* ont induit des symptômes typiques de la fusariose vasculaire sur les 27 génotypes, dont nous avons enregistré l'apparition de jaunissements, d'enroulement des feuilles, de flétrissement et de dessèchement. De plus, des décolorations du tissu vasculaire et parenchymateux des racines et du collet, ont été enregistrées chez la plupart des génotypes inoculés par la souche R2F42. Cette dernière a induit des symptômes plus intenses par rapport à ceux induits par la souche R1.

Le Taux d'infection, le VIS (*Visual Index of Severity*) et l'AUDPC (*Area Under the Disease Progress Curve*) sont les paramètres étudiés pour l'évaluation de la maladie. L'analyse de la variance de ces paramètres a mis en évidence des différences très hautement significatives entre les 27 génotypes étudiés et entre les deux souches de *Fop* utilisées. Selon ces paramètres, nous avons pu déduire que tous les génotypes étaient sensibles à la souche R2F42, à l'exception du génotype contrôle Merveille de Kelvedon. En outre, certains génotypes inoculés par la souche R1, tels que 944, 1148 et 1176, ont été résistants, alors que d'autres ont été sensibles (2075 par exemple).

D'après le calcul des valeurs minimales et maximales des AUDPC enregistrées avec les deux souches de *Fop*, nous avons constaté que la souche R2F42 a été plus virulente que la souche R1, en enregistrant les valeurs d'AUDPC les plus importantes.

Les génotypes de *Pisum* spp. 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. Cependant, ça sera avantageux de poursuivre les études sur ces génotypes pour caractériser les mécanismes responsables de la résistance/tolérance à *Fop* de manière à favoriser les mécanismes les plus durables. Finalement, il sera intéressant aussi d'étudier le comportement de ces mêmes génotypes vis-à-vis d'autres maladies et stress abiotiques, pour une exploitation durable et intégrée.

Références bibliographiques :

- **Abouzeid M.A., Boari A., Zonno M.C., Vurro, M. and Evidente A. (2004).** Toxicity profiles of potential biocontrol agents of *Orobanche ramosa*, Weed Science, 52, 326 - 332.
- **Agrios G.N., (2005).** Plant pathology, 5th edition. Department of plant pathology. University of Florida, Elsevier Academic Press, 948 p.
- **Appel DJ., Gordon TR. (1996).** Relationships among pathogenic and nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* based on the partial sequence of the intergenic spacer (IGS) region of the ribosomal DNA. Mol. Plant-Microbe Interact. 9:125–38
- **Armstrong, G.M., Armstrong J.K. (1974).** Races of *Fusarium oxysporum* f sp pisi; causal agents of wilt of peas. Phytopathology 64, 849-857
- **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 - 4043.
- **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. Rispaïl N. Evidente, A. Rubiales, D. and Cimmino, A. (2014).** Identification of the Main Toxins Isolated from *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* Race 2 and Their Relation with Isolates Pathogenicity J. Agric. Food Chem., 62, , 2574 - 2580.
- **Beckman CH (1987).** The Nature of Wilt Diseases of Plants. Am Phytopath Soc, Saint-Paul, MN, USA.
- **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.
- **Bell AA, Mace ME (1981).** Biochemistry and physiology of resistance. In: Fungal Wilt Diseases of Plants (ME Mace, AA Bell, CH Beckman, eds), Academic Press, New York, USA, 431-486

- **Benchabane M., Bakour, R., Toua, D. et Boutekrabt A. (2000).** Mise en évidence de l'effet antagoniste de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de la fusariose vasculaire de la tomate, Bulletin OEPP/EPPO, 30, 243 - 246.
- Bolton AT, Nuttall VW, Lyal LH (1966) A new race of *Fusarium oxysporum* f. pisi. Can J Plant Sci 46, 343- 347
- **Booth C. (1971).** The genus *Fusarium*, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 237 p.
- **Buitrago, E J.Y., Duarte C.J. & Sarmiento, A. 2006.** El cultivo de la arveja en Colombia. Federación Nacional de Cultivadores de Cereales y Leguminosas-FENALCE y Fondo Nacional Cerealista. Ed. Produmedios. Bogotá. Colombia. p. 83.
- **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, Germany, 157 - 189.
- **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.
- **Coyne C.J., Inglis D.A., (2000).** Whitehead, S.J. and Muehlbauer, F.J., Chromosomal location of *Fwf* in pea, *Pisum* Genetics, 32, 20 - 22.
- **Di Pietro, A., Garcia-Maceira, F.I., Meglecz, E. and Roncero, I.G., (2001).** A MAP kinase of the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum* is essential for root penetration and pathogenesis, Mol. Microbiol., 39, 1140 - 1156.
- **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.
- **Doling DA (1963).** Effect of root damage on the development of *Fusarium* wilt in peas. Trans Br Mycol Soc 46, 577-584
- **Duniway J.M. (2002).** Status of chemical alternatives to methyl bromide for pre-plant fumigation of soil, Phytopathology, 92, 1337 - 1343.
- **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.

- **Garrett, S.D. (1956).** Biology of Root Infecting Fungi. New York: Cambridge University Press, pp.294
- **Gordon T.R. and Martyn R.D., (1997).** The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*, Ann. Rev. Phytopathol., 35, 111 - 128.
- **Goth RW, Webb RE. (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
- **Goth RW, Webb RE (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. and 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 JD. (2007).** Marker-Assisted Selection, Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish, FAO, Rome, 494p.
- **Hagedorn D.J. (1991).** Handbook of pea diseases, Madison, Wisconsin, USA, 25p.
- **Haglund WA. (1984).** Fusarium wilts. In: Compendium of Pea Diseases (DJ Hagedorn, ed), Am Phytopath Soc, Saint-Paul, MN, USA, 22-24
- **Haglund WA (1984).** Fusarium wilts. In: Compendium of Pea Diseases (DJ Hagedorn, ed), Am Phytopath Soc, Saint-Paul, MN, USA, 22-24
- **Haglund WA, Kraft JM. (1970).** Fusarium oxysporum f. pisi race 5. Phytopathology 60, 1861-1862
- **Haglund WA., Kraft JM. (1979).** Fusarium oxysporum f. sp. pisi race 6: Occurrence and distribution. Phytopathology 69, 818-820
- **Haglund, W.A. (1989).** A rapid method for inoculating pea seedlings with *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, Plant Disease, 73 (6), 457 - 458.
- **Hare WW, Walker JC, Delwiche EJ. (1949).** Inheritance of a gene for near wilt resistance in the garden pea. J Agric Res 78, 239-250

- **Huebbling N. (1974).** Testing for resistance to wilt and near wilt of peas caused by race 1 and 3 of *Fusarium oxysporum* f. pisi. Medd Fakult Landbouwwetenschappen Gent 29, 991-1000
- **Huisman OC. (1982).** Interrelationships of root growth dynamics to epidemiology of root-invading fungi. Ann Rev Phytopathol 20, 303-327
- **Infantino, A., Kharrat, M., Riccioni, L., Coyne, C.J., McPhee, K.E. and Grunwald, N.J. (2006).** Screening Techniques and Sources of Resistance to
- **Irzykowska L., Bocianowski J., Waskiewicz A., Weber Z., Karolewski, Z., Golinski, P., Kosteki M. and 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. and 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.
- **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.
- **Kraft JM . and Pfleger . F . L. (2001).** Compendium of pea Diseases, Aps Press St ; panl , Mimesda , USA . 67 p.
- **Kraft J.M. (1994).** Fusarium wilt of peas (a review). Agronomie. 14: 561-567.
- **Kraft J.M. (1994).** Fusarium wilt of peas (a review). Agronomie. 14: 561-567.
- **Kraft JM., Haglund WA. (1978).** A reappraisal of the race classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi. Phytopathology 68, 273-275
- **Linford MB. (1928).** A Fusarium Wilt of Peas in Wisconsin. Wisc Agric Exp Sta Res Bull WI, USA, 85, 43
- **Messiaen C. M. et 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.

- **Nelson PE. (1981).** Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. In: Fungal Wilt Diseases of Plants (ME Mace, AA Bell, CH Beckman, eds), Academic Press, New York, USA, 51-80
- **Nelson P.E., Toussoun, T.A. and Marasas, W.F.O. (1983).** *Fusarium* species: An illustrated manual for identification, The Pennsylvania State University Press, University Park., 193 p.
- **Nyvall RF Haglund WA (1972).** Sites of infection of *Fusarium oxysporum* f sp pisi race 5 on peas. *Phytopathology* 62, 1419-1424
- **Okubara P.A., Inglis D.A., Muehlbauer F.J. and Coyne C.J. (2002).** A novel RAPD marker linked to the fusarium wilt race 5 resistance gene (*Fwf*) in *Pisum sativum*, *Pisum Genetics*, 34, 6 - 8.
- **Pal K.K. and McSpadden-Gardener B. (2006).** Biological control of plant pathogens. *The plant health instructor*, Biological Control, 25 p.
- **Rispail N. and Di Pietro A. (2009).** The transcription factor *Ste12* mediates the MAPK Fmk1 pathway to control pathogenicity and sporulation in *Fusarium oxysporum*, *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 22, 830 - 839.
- **Roncer, 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.
Root Diseases in Cool Season Food Legumes. *Euphytica*, 147: 201-221.
- **Schippers B. Voetberg JS. (1969).** Germination of chlamydospores of *Fusarium oxysporum* f sp pisi race 1 in the rhizosphere, and penetration of the pathogen into roots of a susceptible and a resistant pea cultivar. *Neth J Plant Pathol* 75, 241-258
- **Schreuder JC. (1951).** Een onderzoek over de Amerikaanse vaatziekte van de erwten in Nederland. *Rijdschr Plantenziekten* 57, 175-206
- **Snyder WC. (1932).** Seed dissemination in *Fusarium* wilt of pea. *Phytopathology* 22, 253-257
- **Snyder WC. (1933).** A new vascular *Fusarium* wilt disease of peas. *Science* 77, 327
- **Tamayo P.J. (2000).** Enfermedades del cultivo de la arveja en Colombia: Guía de reconocimiento y control. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Corpoica, Fenalce, Sena y SAC. p. 49.

- **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, 7(48), 5449 - 5458.
- **Virgin WJ. Walker JC. (1940).** Relation of the near wilt fungus to the pea plant. J Agric Res 60, 241-248 Wade BL (1929) The Inheritance of Fusarium Wilt Resistance in Canning Peas. Wisc Agric Exp Stn Bull WI, USA, 97, 32 p
- **Wade BL. (1929).** The Inheritance of Fusarium Wilt Resistance in Canning Peas. Wisc Agric Exp Stn Bull WI, USA, 97, 32 p
- **Walker JC. (1935).** A study of resistance to Fusarium wilt in Alaska peas. Am J Bot 22, 849-857
- **William A., Haglun, W.A. and Kraft J.M. (1979).** Fusarium oxysporum f. sp. pisi, Race 6: Occurrence and distribution. The American Phytopathological Society, 69: 818-820.
- **-Abdelguerfie A. (2003).** Evaluation des besoins en matiere de renforcement des capacites necessaires a la conservation et l'utilisation durable de la biodiversite importante pour l'agriculture. Rapport de Synthèse sur « La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie » MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31 Tome IX.
- **-Ambrose M. (2008).** Garden pea, *In*: Prohens J., Nuez, F. (eds) Vegetables II: *Fabaceae, Liliaceae, Umbelliferae, and Solanaceae*, Springer, New York, 3 - 26.
- **-Ambrose M. (2008).** Garden pea, *In*: Prohens J., Nuez, F. (eds) Vegetables II: *Fabaceae, Liliaceae, Umbelliferae, and Solanaceae*, Springer, New York, 3 - 26.
- **-Anonyme. (2006).**Deuxième rapport national sur l'état des ressources
- **-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.
- **-Barilli E., Zatovic S., Rubiales D. and 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.

- **-Beckman C.H. (2005).** The Nature of Wilt Diseases of Plants, Am. Phytopath. Soc, Saint-Paul, Minnesota, USA, (1987), 175p. , Agrios, G.N., Plant pathology, 5th edition. Department of plant pathology. University of Florida, Elsevier Academic Press, 948 p.
- **-Beckman C.H. (2008).** Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defense responses in plants, *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 57, (2000), 101 - 110. Vidhyasekaran, P., *Fungal Pathogenesis in Plants and Crops: Molecular Biology and Host Defense Mechanisms*, CRC Press, Boca Raton. 536p.]
- **-Beckman, C.H. (1989).** Verdier, P.A. and Mueller, W.C., 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.
- **-Benoît M., Deffontaine J.P. et 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. and Vivian A. (1995).** Genetics of specific resistance in pea (*Pisum sativum*) cultivars to seven races of *Pseudomonas syringae* pv. *pisii*, *Plant Pathology*, 44, 98 - 108.
- **-Blixt S., Folkesson D. and 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, 33 - 52.
- **-Boyardieu J. (1991).** Produire des grains oléagineux et protéagineux. Paris,
- **-Brink M, Belay G. (2006).** Céréales et légumes secs, ressources végétales de l'Afrique tropicale. Fondation Prota, Wageningen, Pays-Bas. P:102
- **-Brink M, Belay G. (2006).** Céréales et légumes secs, ressources végétales de l'Afrique tropicale. Fondation Prota, Wageningen, Pays-Bas. P: 102.
- **-Brink M. et Belay G. (2006).** Ressources végétales de l'Afrique tropicale 1. Céréales et légumes secs. Fondation PROTA, Pays-Bas, 171 - 177.
- **-Charchar M. and Kraft J.M. (1989).** Response of near-isogenic pea cultivars to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisii* 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, Prochazka 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. and 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.
- **-Di Pietro A. and Roncero M.I.G. (1998).** Cloning, expression, and role in
- **-Dixon R.A. (2001).** Natural products and plant disease resistance, Nature, 411, 843-847.
- **-El Modafar, C., El Boustani, E. (2008).** 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., (2002), 169 - 185. , Vidhyasekaran, P., Fungal Pathogenesis in Plants and Crops: -Molecular Biology and Host Defense Mechanisms, CRC Press, Boca Raton, 536p.
- **-FAO. (2006).** Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques, INRAA. FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture).
- **-FAOSTAT. (2015).** <http://faostat.fao.org>.
- **-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. and Rubiales D. (2007).** Identification and characterization of sources of resistance to *Erysiphe pisi* Syd. in *Pisum* spp., Plant Breeding, 126, 113 - 119.
- **-Fondevilla S., Carver T.L.W., Moreno M.T. and 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. and Rubiales D. (2010).** Identification of quantitative trait loci 92 for specific mechanisms of resistance to *Orobanche crenata* Forsk. in pea (*Pisum sativum* L.), *Molecular Breeding*, 25, 259 - 272.
- **-Fourmont R. (1956).** Les variétés de pois (*Pisum sativum*) cultivées en France, INRA, Paris, 253 pp. + 70 planches.
- **-Geves. (1995).** Description et classification des variétés de pois.manuel avec mise à jour à échéance régulière.Geves.guyancourt.556 p.
- **-Gibanlt G., (1912).** Légumineuses, Pois, *In: Histoire des légumes*, Librairie Agricole, 314 - 322.
- **-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.
- **-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. (1989).** A rapid method for inoculating pea seedlings with
- identify sources of quantitative resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*
- II:Fabaceae, Liliaceae, Umbelliferae, and Solanaceae. Springer, New York, pp. 3-26.
- Interactions. 11: 91-8.
- **-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. (1978).** Effects of root rot pathogens on Fusarium wilt of peas. *Plant Dis. Rep.* 62: 216-221.
- **-Kraft J.M. (1994).** Fusarium wilt of peas (a review). *Agronomie*, 14, 561 - 567.
- **Kraft -JM. and Pflieger F.L. (2001).** *Compendium of Pea Diseases*, APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 67p.
- **-Kraft J.M., Larsen R.C. and Inglis D.A. (1998).** Diseases of pea. *In: Allen, D.J. and Lenne J.M. (Eds). The Pathology of Food and Pasture Legumes.* CAB International, Wallingford, UK. pp.325-370.
- **-Kraft JM. and Pflieger F.L. (2001).** *Compendium of Pea Diseases*, APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 67p.

- **-Kushwaha C., Chand R., and 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. and Dixon R.A. (1998).** The oxidative burst in plant disease resistance, Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 48, (1997), 251 - 275. , Garcia-Olmedo, F., Molina, A., Alamillo, J.M. and Rodriguez-Palenzuela, P., Plant defense peptides, Biopolymers, Peptide Science, 47, 479-491.
- Lavoisier Tec&Doc.
- **-Lecoeur J. (2005).** Développement de la plante ; Dans : Agrophysiologie du pois protéagineux. Mieux comprendre. Sciences de la vie, ISSN 1144-7605 ; Nathalie Munier-Jolain ; Editions Quae, 2005 ; ISBN: 2738011829, 9782738011824 ; 281p.
- **-Linford M.B. (1928).** A Fusarium Wilt of Peas in Wisconsin, Wisc. Agric. Exp. Sta. Res. Bull. WI, USA, 85, 43 p.
- **-MacHardy W.E. and Beckman C.H. (1983).** Vascular wilt Fusaria: Infection and Pathogenesis In: Nelson, P.E., Tousson, T.A. and Cook, R.J. (eds) Fusarium: diseases, biology and taxonomy. The Pennsylvania State University Press, UK, pp. 365-390.
- **-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.,
- **-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, 33 - 45.
- **-Mert-Turk, F. (2002).** Phytoalexins: Defense or just a response to stress?, Journal of Cell and Molecular Biology, 1, 1 - 6.
- **-Munier-Jolain N. (2005).** Agro physiologie du pois protéagineux. Mieux comprendre. Sciences de la vie, ISSN 1144-7605; Editions Quae, 2005 ; ISBN: 2738011829, 9782738011824 ; 281p.
- **-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.

- Oxford University Press, New York, NY p. 316. pathogenicity of *pg1* encoding the major extracellular endopolygalacturonase of the vascular wilt pathogen *Fusarium oxysporum*. Molecular Plant-Microbe phyto-genetics. INRA Algérie. Press, St. Paul, Minnesota, USA. 67p. race 2 within a *Pisum* spp. germplasm collection. Plant Pathology 61, 532
- **-Redden B., Leonforte T., Ford R. and Croser J.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, 58 - 98.
- **-Rubiales D, Fernandez-Aparicio M., Perez-de-Luque A., Prats E., Castillejo -M.A., Sillero J., Rispail N. and Fondevilla S. (2009).** 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., Ambrose M.J., Domoney C. and 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, 1 - 49.
- **-Rubiales D., Fernandez-Aparicio M, Moral A., Barilli E., Sillero J.F. and Fondevilla S. (2009).** 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. and Rispail N. (2015).** Achievements and challenges in legume breeding for pest and disease resistance, Critical Reviews in Plant Sciences, 34, 195 - 236.
- **-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, 245 - 270.

- **-Smartt J. and Hymowitz T. (1985).** Domestication and Evolution of Grain Legumes. Grain Legume Crops, *In*: Summer field, R.J., Roberts, E.H. (Eds.), 37 - 72.
- **-Smartt J., (1990).** Grain Legumes: Evolution and Genetic Resources, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 379 pp.
- **-Smýkal P., e Coyne C., Redden R. and Maxted N. (2013).** Peas, *In*: Genetic and Genomic Resources of Grain Legume Improvement, Elsevier, 41 - 80.
- **-Smýkal P., Hýbl M., Corander J., Jarkovský J., Flavell A.J., Griga M., (2008).** 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. and Ellis N.T.H. (2011).** Phylogeny, phylogeography and genetic diversity of the genus *Pisum*, *Plant Genet. Resources*, 9, 4 – 18.
- **-Theophrastus, (1961).** Enquiry into plants, Translated by Arthur Hort, Harvard Univ., Cambridge, MA, 2 vols.
- **-Tiwari K.R., Penner G.A. and Warkentin T.D. (1997).** Inheritance of powdery mildew resistance in pea, *Can. J. Plant. Sci.*, 77, 307 - 310.
- **-Tognite F. M. (2013).** Implémentation et évaluation du modèle de culture de pois(*Pisum sativum* L.) AFISOL sous la plate forme logiciel RECORD. *UMR 1347 AGROECOLOGIE, POLE GEAPSI, AGROSUP/INRA/UB, F-21065 DIJON, France, 22p*
- **-Wang H.X. and Ng T.B. (2006).** An antifungal protein from the pea *Pisum sativum* var. *arvense* Poir, *Peptides*, 27, 1732 - 1737.
- **-Weiss E. and Zohary D. (2011).** The Neolithic southwest Asian founder crops. *Curr. Anthropol.* 52, S237 – S254.
- **-Ye X.Y. and Ng T.B. (2003).** Isolation of pisumin, a novel antifungal protein from legumes of the sugar snap pea *Pisum sativum* var. *macrocarpon*, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 134, 235 - 240.
- **-Zohary D. and Hopf M. (2000).** Domestication of Plants in the Old World, third ed.

Annexes

Annexe 1

Milieux de culture utilisés

Milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Pomme de terre 200 g

Glucose 20 g

Agar 20 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

Glucose 20 g

Eau distillée stérile 1 000 ml

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

Annexe 2

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

Traitements	0j	7j	10j	13j	16j	19j	22j	25j	28j	31j	AUDPC
22	0	28,57	28,57	57,14	57,14	50	44,44	30	36,36	30,76	1114,29
223	0	0	0	37,5	37,5	45,45	33,33	41,66	53,84	35,71	801,47
G742	0	51,19	12,5	31,25	27,24	16,38	13,72	25,64	36,92	43,83	760,92
760	0	0	0	0	28,57	33,33	44,44	40	30	40	589,04
801	0	20	0	0	0	33,33	35,71	40	37,5	41,17	571,40
904	0	25	20	28,57	28,57	25	33,33	50	60	70	968,92
944	0	0	0	0	20	16,66	12,5	12,5	25	37,5	316,25
952	0	0	0	14,28	14,28	12,5	12,5	22,22	11,11	10	275,71
1046	0	37,5	100	100	100	100	100	100	100	100	2581,25
1066	0	42,85	37,5	33,33	33,33	36,36	45,45	36,36	33,33	41,66	1054,54
1148	0	40	33,33	0	0	0	0	10	10	18,18	393,93
1149	0	28,57	28,5	25	25	22,22	20	18,18	18,18	25	666,11
1160	0	25	0	16,66	14,28	14,28	25	22,22	33,33	40	524,88
1171	0	11,11	10	18,18	15,38	21,42	18,75	23,52	23,52	36,84	506,56
176	0	25	22,22	22,22	18,18	16,66	23,0769231	28,57	0	53,33	604,76

J : jours après inoculation

Annexe 3

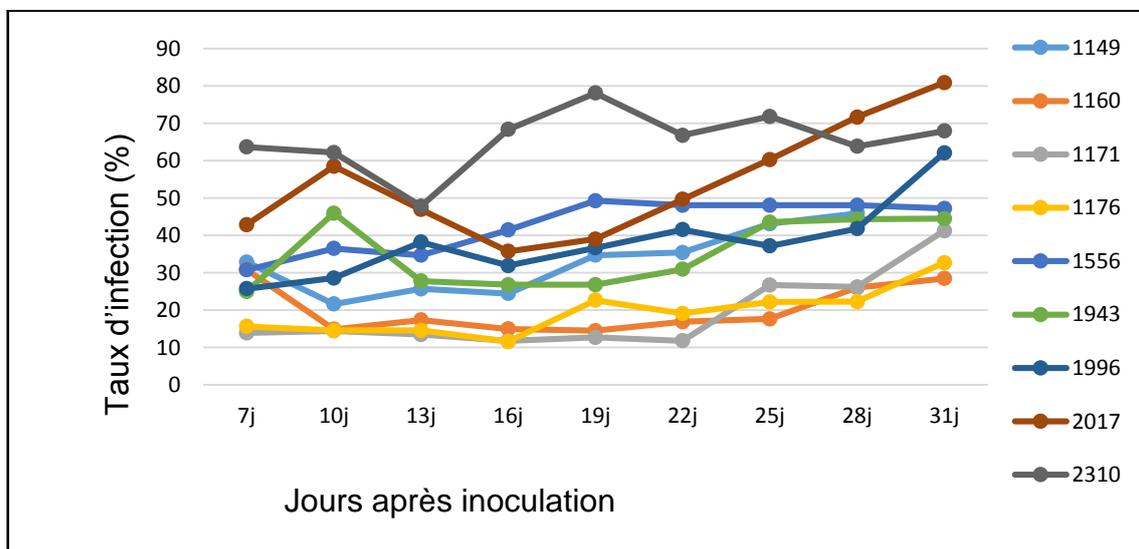
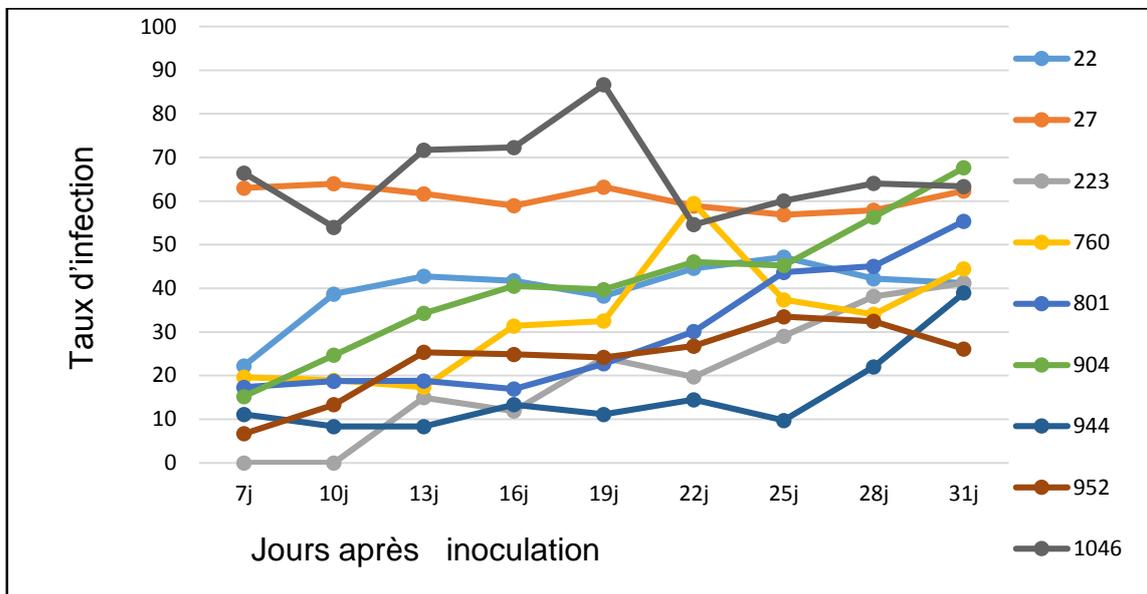
Valeurs d'AUDPC en fonction des taux d'infection de quelques géotypes en interaction avec la souche R1 de *Fop*

Traitements	0j	7j	10j	13j	16j	19j	22j	25j	28j	31j	AUDPC
22	0	33,33	25	20	20	20	40	60	50	83,33	996,66
27	0	0	0	50	50	100	100	100	100	100	1650
223	0	28,57	28,57	100	100	100	100	100	100	100	2192,85
742	0	16,66	50	83,33	83,33	83,33	100	100	100	100	2108,33
760	0	50	42,85	57,14	57,14	100	100	100	100	100	2082,14
801	0	50	66,66	83,33	100	100	100	100	100	100	2408,33
904	0	14,28	100	100	100	100	100	100	100	100	2500
944	0	0	66,66	100	100	100	100	100	100	100	2283,33
952	0	0	0	100	100	100	100	100	100	100	1950
1046	0	60	100	100	100	100	100	100	100	100	2660
1066	0	22,22	70	100	100	100	100	100	100	100	2377,77
1148	0	42,85	75	60	80	100	100	100	100	100	2295
1149	0	50	50	87,5	100	100	100	100	100	100	2337,5
1160	0	71,42	100	100	100	100	100	100	100	100	2700
1171	0	50	33,33	33,33	100	100	100	100	100	100	2091,66

J : jours après inoculation

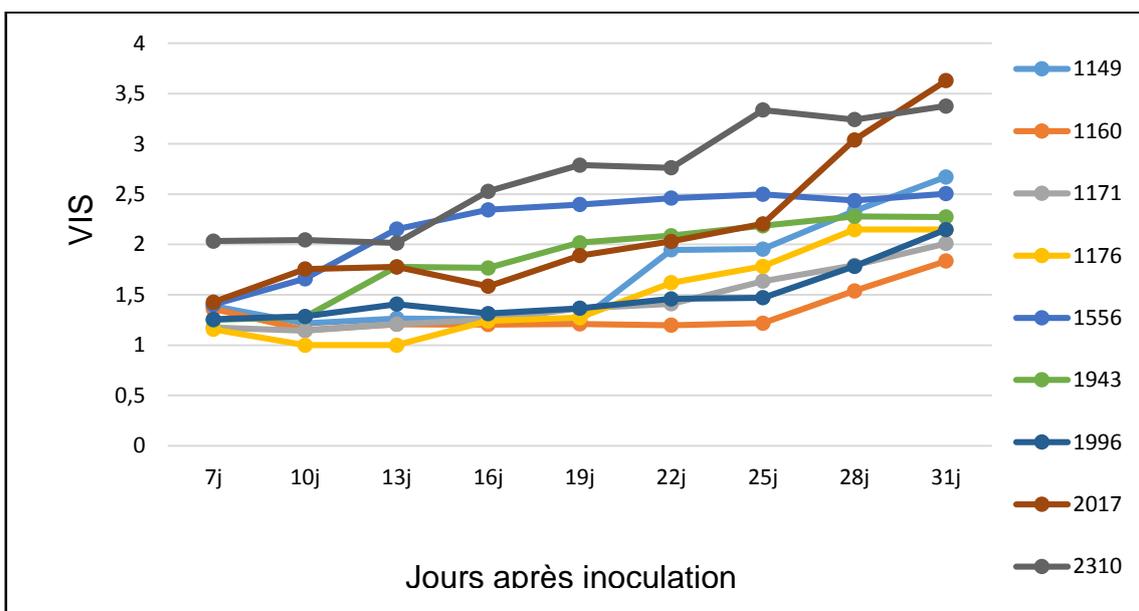
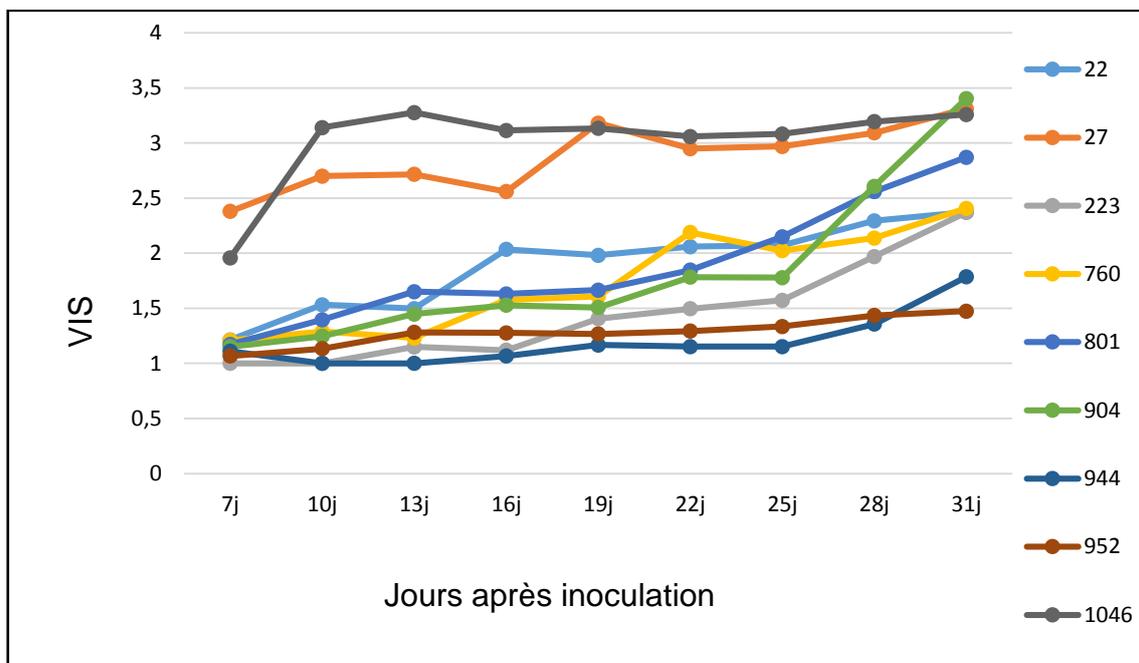
Annexe 4

Cinétique des taux d'infection des géotypes étudiés du pois en interaction avec la souche R1 de *Fop*



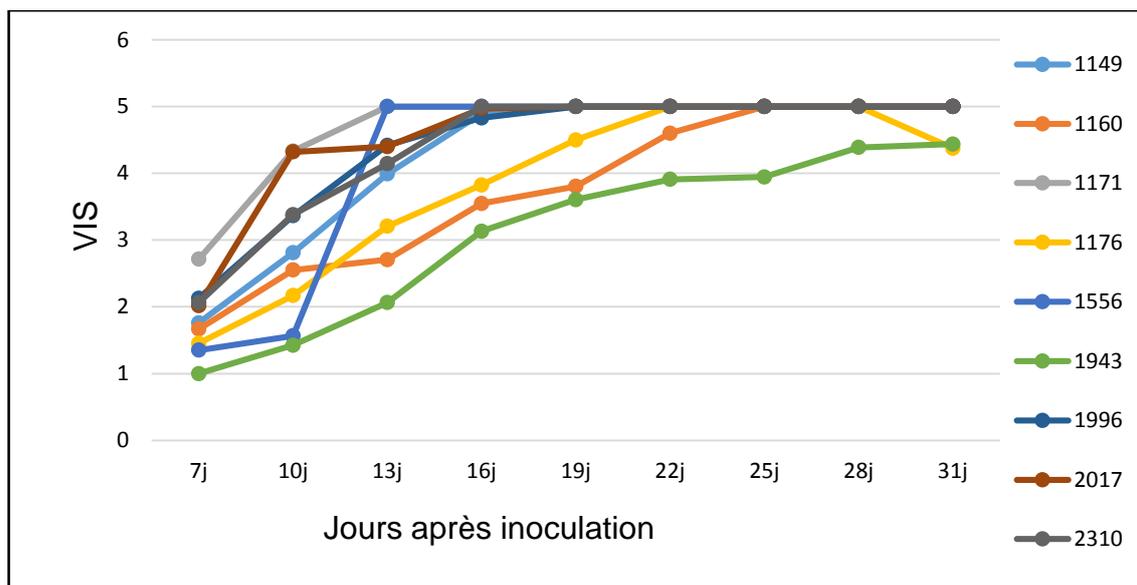
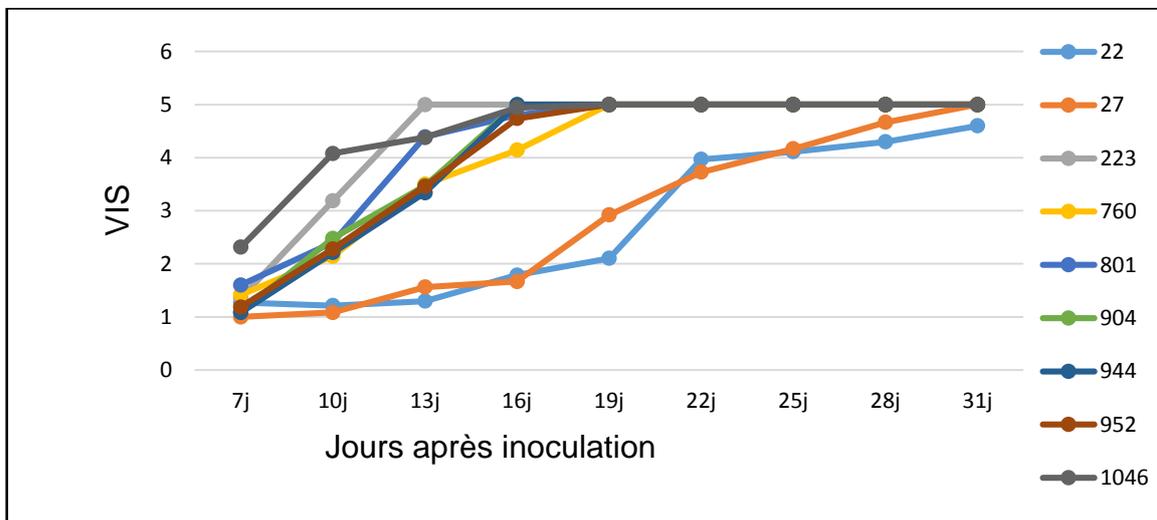
Annexe 6

Cinétique des valeurs VIS des géotypes étudiés du pois en interaction avec la souche R1 de *Fop*



Annexe 7

Cinétique des valeurs VIS des génotypes étudiés du pois en interaction avec la souche R2F42 de *Fop*



Annexe 8

ANOVA appliquée aux taux d'infection, aux VIS et aux AUDPC des différents géotypes du pois en interaction avec les souches pathogènes de *Fop*.

Taux d'infection

Facteur	Somme des carrés	ddl	Carrés moyens	F-ratio	Valeur p
Géotype	32594.617	26	1253.639	5.499	0,000***
Souche	134007.334	1	134007.334	587.799	0,000***
Géotype*Souche	30533.259	26	1174.356	5.151	0,000

(***) : Différences très hautement significatives.

VIS

Facteur	Somme des carrés	ddl	Carrés moyens	F-ratio	Valeur p
Géotype	68.142	26	2.621	5.559	0,000***
Souche	346.764	1	346.764	735.500	0,000***
Géotype*Souche	43.445	26	1.671	3.544	0,000***

(***) : Différences très hautement significatives.

AUDPC

Facteur	Somme des carrés	ddl	Carrés moyens	F-ratio	Valeur p
Géotype	38171337.130	26	1468128.351	10.656	0,000***
Souche	90879152.792	1	90879152.792	659.623	0,000***
Géotype*Souche	29087249.091	26	1118735.301	8.120	0,000***

(***) : Différences très hautement significatives.