

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABD ELHAMID IBN BADIS



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

THESE

Pour L'obtention Du Grade De Docteur En Sciences

Option : Protection des végétaux

Présentée par :

Mme Merzoug Aoumria

**Importance de la fusariose vasculaire du Pois (*Pisum sativum* L.)
dans l'ouest Algérien : pouvoir pathogène, races physiologiques et
compatibilité végétative chez *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* et essai
de lutte biologique**

Nom et prénom	Grade	Qualité	Appartenance administrative
BERKANI Abdellah	Pr.	Président	(Univ. Mostaganem)
BELAHCEN Miloud	Pr.	Examineur	(C.U AinTémouchent)
MEDDAH BOUMEDIENE	Pr.	Examineur	(Univ. Mascara)
BENDAHCHEMANE Boubekour Seddik	Pr.	Examineur	(Univ. Mostaganem)
BELABID Lakhdar	Pr.	Rapporteur	(Univ. Mascara)
YOUCEF BENKADA Mokhtar	Pr.	Co-Rapporteur	(Univ. Mostaganem)

Année Universitaire: 2014-2015

REMERCIEMENTS

Seul je n'aurais pu réaliser le travail présenté dans cette thèse. A toutes les étapes de sa mise en œuvre, de nombreuses personnes y ont contribué. Je tiens donc à les remercier tout particulièrement et très chaleureusement.

*J'exprime ma très profonde gratitude à Monsieur **BELABID Lakhdar** pour son soutien pendant la durée de mon travail et qui par ses connaissances et sa patience m'a permis de combler nombre de lacunes et par son sourire et sa générosité de garder confiance.*

*Je tiens à remercier Monsieur **BERKANI Abdellah**, professeur à l'Université de Mostaganem, pour avoir aimablement accepté de me faire l'honneur de présider ce jury.*

*Ma profonde gratitude va également à Monsieur **YOUCEF BENKADA Mokhtar**, professeur à l'Université de Mostaganem qui malgré ses divers taches a voulu bien contribuer à la réalisation de ce travail.*

*Je remercie Monsieur **BELAHCEN Miloud**, professeur au centre universitaire d'Ain Temouchent, pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*Ma reconnaissance va également à Monsieur **MEDDAH BOUMEDIENE**, professeur à l'Université de Mascara, qui a accepté de me faire l'honneur de participer au jury.*

*Je remercie également Monsieur **BENDAHMANE Boubekour Seddik** professeur à l'Université de Mostaganem, qui a accepté de faire partie du jury.*

Je remercie également M^{me} Taleb et M^{me} Benfreha maitres assistantes à l'Université de Mascara pour leur aide et soutien, sans oublier tous mes collègues et les techniciens au niveau du Laboratoire de Recherche sur les Systèmes Biologiques et la Géomatique.

A cette occasion, je tiens à remercier mais jamais assez ma très chère mère, sans qui je n'aurai pu continuer. Aussi mes frères et mes sœurs, sans oublier mes enfants Abd Eldjalil, Abd Elhak et Aimen pour leur patience et leurs encouragements.

En fin, je ne remercie jamais assez mon mari, qui m'a constamment encouragée, soutenue et aidée afin que ce travail puisse voir le jour. Son aide fut déterminante. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde estime.

Sommaire

REMERCIEMENTS.....	I
SOMMAIRE.....	II
RESUME.....	VIII
ABREVIATIONS.....	XII
LISTE DES TABLEAUX.....	XIV
LISTE DES PLANCHES.....	XVI
LISTE DES FIGURES	XVII
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
1. INTRODUCTION.....	4
2. GENERALITEES SUR LE POIS.....	4
2-1.ORIGINE ET HISTORIQUE.....	4
2-2. BIOLOGIE	5
2-2-1. POSITION SYSTEMATIQUE	5
2-2-2.CYCLE BIOLOGIQUE.....	6
2-2-3. PHENOLOGIE.....	6
2-2-4.EXIGENCES AGRO-ECOLOGIQUES.....	8
2-3.PRODUCTION ET CONSOMMATION	10
2-3-1.DANS LE MONDE	10
2-3-2. SITUATION DU POIS EN ALGERIE	12
2-3-3.INTERET DU POIS.....	12

2-4.PRINCIPALES MALADIES ET RAVAGEURS DU POIS	15
2-4-1.Principales maladies fongiques et bactériennes du Pois	15
2-4-2. Principales maladies virales	17
2-4-3.Principaux ravageurs du Pois	18
3. LE FLETRISSEMENT VASCULAIRE DU POIS	18
3-1.IMPORTANCE ET DEGATS DE LA MALADIE.....	18
3-2. SYMPTOMATOLOGIE	19
3-3. AGENT PATHOGENE : <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> F.SP. <i>PISI</i> (FOP).....	20
3-3-1.Position taxonomique.....	20
3-3-2.Cycle épidémiologique de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i>	21
3-3-3. Variabilité du pouvoir pathogène	25
3-3-4. Interactions hôte- pathogène	27
4. LA COMPATIBILITE VEGETATIVE.....	29
5. METHODES DE LUTTE.....	35
5-1.METHODES PROPHYLACTIQUES	35
5-2.METHODES CHIMIQUES	36
5-3.LUTTE GENETIQUE	37
5-4.LUTTE BIOLOGIQUE	38
CHAPITRE II : PRINCIPALES MALADIES DU POIS DANS L'OUEST ALGERIEN	45
1. INTRODUCTION.....	45
2. MATERIEL ET METHODES.....	46
2-1.PROSPECTION ET PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS.....	46
2-2. LES VARIETES FREQUEMMENT CULTIVEES EN ALGERIE	51

2-3.MILIEUX DE CULTURE UTILISES	51
2-4.METHODES D'ISOLEMENT ET DE PURIFICATION	52
2-4-1.Isolement à partir des racines, des tiges et des feuilles des plantes.....	52
2-4-2.Isolement des microorganismes à partir de la rhizosphère.....	52
2-5.PURIFICATION DES ISOLATS ET CULTURE MONOSPORE	54
2-5-1.Purification des champignons	54
2-5-2.Purification des bactéries	54
2-5-3.Culture monospore	54
2-6.IDENTIFICATION DES MICROORGANISMES.....	55
2-6-1.Identification des champignons.....	55
2-6-2.Caractérisations morphologiques des isolats.....	55
2-6-3.Identification des différents isolats	57
2-6-4.Conservation des isolats	58
3. RESULTATS	59
3-1.RECENSEMENT DES MALADIES DU POIS DANS LES REGIONS PROSPECTEES	59
3-2.RESULTATS DE L'ANALYSE DE LA MICROFLORE RHIZOSPHERIQUE	70
3-2-1.Identification des champignons isolés à partir de la rhizosphère	70
3-2-2.Identification des bactéries isolées à partir de la rhizosphère	75
4. DISCUSSION	79
5. CONCLUSION.....	83
 CHAPITRE III : FLETRISSEMENT VASCULAIRE DU POIS DANS L'OUEST	
ALGERIEN	85
1. INTRODUCTION.....	85
2. MATERIEL ET METHODES.....	86

2-1. ENQUETE ET COLLECTION D'ISOLATS	86
2-2. ETUDE DU POUVOIR PATHOGENE DES ISOLATS DU <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i>	86
2-2-1. Préparation des plantules pour l'inoculation	87
2-2-2. Préparation de l'inoculum et méthode d'inoculation	87
2-2-3. Estimation des symptômes	88
2-2-4. Reisolement	88
2-3. CARACTERISATION DES RACES PHYSIOLOGIQUE DE <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> F SP <i>PISI</i>	89
2-3-1. Gamme différentielle de génotypes de Pois	89
2-3-2. Conditions d'obtention des plantules de Pois	90
2-3-3. Production d'inoculum	90
2-3-4. Méthode inoculation	90
2-3-5. Notation des symptômes	91
2-4. CARACTERISTIQUES CULTURALES	94
2-4-1. Détermination des morphotypes, pigmentation et la croissance mycélienne	94
2-4-2. Méthode d'évaluation de la croissance mycélienne	95
2-5. TRAITEMENT STATISTIQUE	95
2-5-1. Analyse factorielle de correspondance (A.F.C)	95
2-5-2. Corrélation	96
3. RESULTATS	97
3-1. IMPORTANCE DE LA FUSARIOSE VASCULAIRE DE POIS DANS L'OUEST ALGERIEN	97
3-2. ETUDE DU POUVOIR PATHOGENE DES ISOLATS DU <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i>	101
3-3. CARACTERISATION DES RACES DE FOP	106
3-3-1. Présence et répartition des races de FOP	106
3-3-2. Caractérisation morphologique et biométrique des races	110
3-3-2-1. Caractérisation culturelle des races de FOP	110

3-3-2-2.Caractéristiques biométriques.....	111
3-3-3.Etude de la croissance mycélienne.....	112
3-4.RELATION ENTRE LA REPARTITION GEOGRAPHIQUE DES ISOLATS, LES IM ET LES CARACTERISTIQUES MORPHOLOGIQUES DES DIFFERENTES RACES DE FOP.	122
4. DISCUSSION	128
5. CONCLUSION.....	131
CHAPITRE IV : ETUDE DE LA COMPATIBILITE VEGETATIVE.....	133
1. INTRODUCTION.....	133
2. MATERIEL ET METHODES.....	134
2-1.MATERIEL FONGIQUE	134
2-2.MILIEUX DE CULTURE	134
2-3.PRODUCTION DES MUTANTS "NIT"	135
2-4.CARACTERISATION DES MUTANTS	136
2-5.COMPLEMENTATION.....	136
2-6.MODE DE REGROUPEMENT	138
3. RESULTATS	140
3-1.PRODUCTION DES MUTANTS.....	140
3-2. IDENTIFICATION DES NIT MUTANTS.....	140
3-3. DEVELOPPEMENT DES PAIRES DE MUTANTS.....	145
3-4. GROUPES DE COMPATIBILITE VEGETATIVE (VCG)	147
4. DISCUSSION ET CONCLUSION	151

CHAPITRE V : ESSAI DE LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LA FUSARIOSE VASCULAIRE ET LA FUSARIOSE DU PIED DU POIS PAR UTILISATION DE <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> NON PATHOGENES.....	156
1. INTRODUCTION.....	156
2. MATERIEL ET METHODES.....	157
2-1. ISOLEMENT DE <i>F. OXYSPORUM</i> F.SP. <i>PISI</i> (FOP), <i>FUSARIUM SOLANI</i> F.SP. <i>PISI</i> (FSP) ET <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> NON PATHOGENES (FONP).....	157
2-2.ETUDE DE L'EFFET ANTAGONISTE " <i>IN VITRO</i> "	157
2.2-1. Methode d'évaluation du pourcentage de réduction de croissance mycélienne du FOP et FSP " <i>in vitro</i> "	158
2-3. ETUDE DE L'EFFET ANTAGONISTE " <i>IN VIVO</i> "	159
2-3-1. Préparation de l'inoculum et des plantules de Pois	159
2-3-2. Méthode d'inoculation des isolats de FONP sur la fusariose de Pois.....	159
2-3-3. Estimation des symptômes :.....	160
3. RESULTATS	161
3-1.EFFET DES <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> NON PATHOGENES SUR LE FOP ET FSP	161
3-1-1.Effet des <i>Fusarium oxysporum</i> non pathogènes sur le FOP et FSP " <i>in vitro</i> "	161
3-1-2. Effet des <i>Fusarium oxysporum</i> non pathogènes sur le FOP et FSP " <i>in vivo</i> "	164
4. DISCUSSION ET CONCLUSION	167
CONCLUSION GENERALE	171
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	174
ANNEXES.....	199

RESUME

Au champ, la culture de Pois subit l'attaque de beaucoup d'ennemis parmi lesquels, les maladies cryptogamiques qui constituent l'un des principaux facteurs de la diminution de la production. Les prospections effectuées sur plusieurs champs de Pois cultivés dans quatre zones agro climatiques différentes dans l'ouest algérien (plaines côtières, plaines intérieures, hauts plateaux et Sahara) à différents stades phénologique de la plante (stade plantule et floraison-formation de gousse), durant les campagnes agricoles (2007 à 2011), suivi par des analyses au laboratoire ont permis l'identification d'un grand nombre de maladies fongiques et leur répartition géographique. Parmi les plus pathogènes nous citons : Ascochyte, Pourriture racinaire et du collet, Flétrissement-Jaunissement, Oïdium (*Erysiphe* sp.), Mildiou (*Peronospora pisi*), nous notons aussi la présence de la graise bactérienne (*Pseudomonas syringae*), de la Rouille (*Uromyces pisi*) et le Botrytis (*Botrytis cinerea*). L'analyse au laboratoire de la microflore rhizosphérique a montré la gamme de champignons suivants: *Fusarium* sp, *Alternaria* sp, *Cladosporium* sp, *Epicoccum* sp, *Penicillium* sp, *Aspergillus* sp, *Pythium* sp, *Phoma* sp, *Phialophora* sp, *Helicomyces* sp, *Stemphylium* sp, *Gilmanila* sp, *Monilia* sp, *Rhizoctonia* sp, *Ascochyta pisi* et une gamme de bactéries varié (*Pseudomonas fluorescens /putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Xanthomonas* sp., *Erwinia* sp., *Chryseobacterium meningoseptum*, *Enterobacter Cloacae*, *Chryseomonas luteola*, *Burkholderia cepacia*, *Photobacterium damsela*, *Serratia marcescens*). L'étude comparative (quantitative et qualitative) des fréquences d'isolement, nous a permis de distinguer des différences significatives. Ces résultats contribuent considérablement dans l'approfondissement des connaissances des interactions qui existent entre les agents de la microflore rhizosphérique et la plante de Pois.

A partir des plantes présentant des symptômes visibles de jaunissement et de flétrissement, associer parfois à des pourriture de différents aspects, les isollements à partir du collet et des racines, nous ont permis de confirmer la présence de *Fusarium oxysporum* f.sp.*pisi*. les résultats de cette étude a révélé l'existence d'une

variabilité morphologique et pathogénique assez importante au sein de la population de *Fusarium oxysporum* f.sp.*pisi*, nous avons identifié l'existence des 4 races physiologiques (1,2,5 et 6) au niveau de l'ouest Algérien.

L'étude de l'organisation de 21 isolats au sein de la forme spéciale *pisi* provenant d'origine géographique différente (l'ouest Algérien) et appartenant aux 4 races de FOP a révélé l'existence de 4 GCVs, ce qui témoigne de sa diversité génétique.

L'essai de lutte biologique contre le FOP et FSP par l'utilisation des isolats autochtones non pathogènes de *Fusarium oxysporum*, a montré que ces derniers exercent une activité antagoniste "*in vitro* " par une compétition assez importante pour l'occupation de l'espace et "*in vivo* " par une réduction remarquable de l'indice de la maladie par l'induction de la résistance chez la plante de Pois. Ces résultats fournissent la preuve de l'activité antagoniste de *F. oxysporum* non-pathogène isolé à partir de la rhizosphère dans le contrôle du flétrissement vasculaire et de la fusariose de pied du Pois.

Mots clé : Pois (*Pisum sativum*), Ouest Algérien, *Fusarium oxysporum* f.sp.*pisi*, races physiologiques, compatibilité végétative, lutte biologique.

Summary:

In the field, the cultivation of peas is attacked by many enemies including, fungal diseases are one of the main factors for the decrease in production. Surveys conducted in several fields of peas grown in four different agro-climatic zones in western Algeria (coastal plains, interior plains, plateaus and Sahara) at different phenological stages of the plant (seedling stage and flowering to pod formation) during agricultural companions (2007-2011), followed by laboratory analysis allowed the identification of a large number of fungal diseases and their geographical distribution. Among the pathogens we estimate: Ascochyta blight, root rot and crown rot, wilt-yellowing, mildew (*Erysiphe* sp.), Downy mildew (*Peronospora pisi*), we also note the presence of bacterial blight (*Pseudomonas syringae*), the Rust (*Uromyces pisi*) and (*Botrytis cinerea*). The laboratory analyse of the rhizosphere microflora showed the following range of fungi: *Fusarium* sp, *Alternaria* sp, *Cladosporium* sp, *Epicoccum* sp, *Penicillium* sp, *Aspergillus* sp, *Pythium* sp. *Phoma* sp, *Phialophora* sp, *Helicomyces* sp , *Stemphylium* sp, *Gilmanila* sp, *Monilia* sp, *Rhizoctonia* sp, *Ascochyta pisi* a diverse range of bacteria (*Pseudomonas fluorescens* /putida ,*Pseudomonas aeruginosa* ,*Stenotrophomonas maltophilia*, *Xanthomonas* sp., *Erwinia* sp.,*Chryseobacterium meningoseptium*, *Enterobacter Cloacae* , *Chryseomonas luteola* , *Burkholderia cepacia* , *Photobacterium damsela* , *Serratia marcescens*). The comparative study (quantitative and qualitative) frequencies of isolation, allowed us to distinguish significant differences. These results contribute significantly in improving knowledge of the interactions between the agents of the rhizosphere microflora and plant peas.

From plants with visible symptoms of yellowing and wilting, sometimes associated with different aspects of rot, isolates from the crown and root, we were able to confirm the presence of *Fusarium oxysporum f.sp.pisi*. Results from this study revealed the existence of a significant morphological and pathogenic variability within the population of *Fusarium oxysporum f.sp. pisi*, we identified the existence of four physiological races (1, 2, 5 and 6) in west Algeria.

The study of the organization of 21 isolates in the special form pisi from different geographical origin (western Algeria) and belonging to four races of FOP has revealed the existence of four VCGS, reflecting its genetic diversity.

The biological test control against the FOP and FSP through the use of non-pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* native showed that they exert antagonistic activity "*in vitro*" by a fairly significant competition for occupation of space use and "*in vivo*" by a remarkable reduction of the index of the disease by induction of resistance in the pea plant. These results provide evidence of the antagonistic activity of non-pathogenic *F. oxysporum* isolated from the rhizosphere in the control of vascular wilt and fusarium foot Pea.

Keywords: Peas (*Pisum sativum*), West Algerian, *Fusarium oxysporum* f.sp.*pisi*, physiological races, vegetative compatibility, biological control.

ABBREVIATIONS

° C : degré Celsius

CM : Carré Moyen

DL : Degrés de Liberté

DSA : Direction des Service Agricoles

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FO: *Fusarium oxysporum*

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

FSP: *Fusarium solani* f.sp.*pisi*

FONP : *Fusarium oxysporum* non pathogène

G: gramme

Hg: Hectograms (100 grams)

ICARDA: International Centre of Agriculture Research in the Dry Areas

ITGC : Institut Technique des Grandes Cultures

Kcal : kilocalories

µg : microgramme

mg : miligramme

mm : millimètre

pH : potentiel Hydrogène

PPDS : Plus Petite Différence Significative

ppm : partie par million

Qx : quintaux

T : témoin

T° : température

t/ha : tonne par hectare

SV : Source de la variance

SC : Sommes des Carrés des Ecart

UI: Unité Internationale

USDA: United States Department of Agriculture

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1-1 : Principales maladies fongiques et bactériennes du Pois (EPPO, 1994).	16
Tableau 1-2 : Caractérisation des mutants nit sur des milieux contenant différentes sources d'azote (nitrate, nitrite, hypoxanthine).	32
Tableau 2-1 : Caractéristiques climatiques des zones de prospection (moyenne des mois de Janvier à Juin pour les années 2007, 2008, 2009 et 2010) (ONM, 2011).	48
Tableau 2-2 : Origine des sites et date de prélèvement des échantillons.	49
Tableau 2-3 : Fréquences (%) des maladies de Pois durant 2007, 2008, 2009 et 2010 dans l'ouest Algérien.	65
Tableau 2-4 : Moyenne des fréquences (%) des espèces fongiques isolées de la rhizosphère en fonction des régions agroclimatique et pendant la période de 2007-20010.	72
Tableau 2-5 : Examen macroscopique des colonies isolées à partir de la rhizosphère.	78
Tableau 2-6 : Examen microscopique et biochimique des colonies de bactéries d'aspects différents.	78
Tableau 3-1 : Réaction des variétés différentielles de Pois pour les 4 races de <i>F. oxysporum f.sp pisi</i>	89
Tableau 3-2 : Fréquences (%) de la Fusariose vasculaire du Pois, <i>F. oxysporum</i> et FOP au cours de la période 2007 - 2011 par zone agro climatique	99
Tableau 3-3 : Origine géographique, date de prélèvement et l'indice d'agressivité des isolats de FOP.	104
Tableau 3-4 : Classement d'isolats de <i>FOP</i> selon les indices de maladie (IM) induits et les régions d'origine.	106
Tableau 3-5 : Classement des races de <i>FOP</i> selon les indices de maladie (IM) induits. ..	108
Tableau 3-6. Origine géographique et caractéristiques culturelles des races de <i>Fusarium oxysporum f.sp pisi</i> dans l'ouest de l'Algérie.	115
Tableau 3-7. Mensuration (μm) des macroconidies et des microconidies des isolats de FOP.	120
Tableau 3-8 : Matrice IM/Régions (coefficient de corrélation de Pearson).	127
Tableau 3-9 : Matrice Races/Régions (coefficient de corrélation de Pearson).	127
Tableau 4-1 : Reactions de complémentation entre différents types de mutants chez <i>F. oxysporum</i> (Correll <i>et al.</i> , 1987).	137

Tableau 4-2 : Nombre et pourcentage de mutant nit de FOP obtenus après sélection sur milieu chlorate.	141
Tableau 4-3 : Matrice de corrélation entre la répartition des nit en fonction des régions.	143
Tableau 4-4 : Répartitions des nombres et des pourcentages des mutants nit en fonction des différentes races physiologiques de FOP.....	144
Tableau 4-5. Matrice de corrélation entre la répartition des nit en fonction des races de FOP.....	144
Tableau 4-6 : Résultats des complémentations entre les mutants et les races de FOP.....	149
Tableau 4-7 : Corrélation entre GCV et races physiologiques de FOP.	151
Tableau 5-1 : Effet des isolats non pathogènes sur la fusariose de Pois.	165
Tableau A1-1 : Les valeurs nutritionnelles de Pois (USDA, 1999).	199
Tableau A1-2 : Maladies virales du Pois (Hagedorn D., 1991 ; Taupin P. et al., 1994)....	200
Tableau A2-1 : Lecture de la galerie miniaturisée API 20E (Willey et al., 2008).	205
Tableau A2-2. Tableau de lecture des réactions des API 20 E.....	206
Tableau A3-1 : Analyse de la variance pour le test de l'agressivité de 52 isolats de FOP.	209
Tableau A3-2 : Matrice de corrélation calculée entre les différents paramètres étudiés. ...	210
Tableau A 3-3 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat Sb1 et les isolats non pathogènes.	211
Tableau A3-4 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat C20 et les isolats non pathogènes.	211
Tableau A3-5 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat R29 et les isolats non pathogènes.	212
Tableau A3-6 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat FS2 et les isolats non pathogènes.	212
Tableau A3-7 : Analyse de la variance pour le test de confrontation de Sb1 et FONP. ...	213
Tableau A3-8 : Analyse de la variance pour le test de confrontation de R29 et FONP.	213
Tableau A3-9 : Analyse de la variance pour le test de confrontation de C20 et FONP.	213
Tableau A3-10 : Analyse de la variance pour le test de confrontation de FSP2 et FONP.	213

LISTE DES PLANCHES

Planche 2-1 : Symptômes foliaires	67
Planche 2-2 : Taches foliaires (Ascochytozes).....	68
Planche 2-3 : Pourriture du collet et des racines.	69
Planche 2-4 : Aspect macroscopique et microscopique des champignons isolés.	74
Planche 2-5: Aspect macroscopique et microscopique des champignons isolés. Erreur ! Signet non défini.	
Planche 2-5 : Aspect macroscopique et microscopique des champignons isolés. Erreur ! Signet non défini.	
Planche 3-1 : Symptôme de jaunissement.....	100
Planche 3-2 : Inoculation artificielle.....	102
Planche 3-3 : Reisolement de FOP	103
Planche 3-4 : Aspect des races de FOP vis-à-vis des 7 lignées différentielles.....	109
Planche 3-5 : Pigmentation des thalles de FOP.....	113
Planche 3-6 : Aspect des morphotypes de FOP	114
Planche 3-7 : Aspect microscopique de FOP	119
Planche 4-1 : Phénotypes des mutants nit de FOP sur milieux nitrate, nitrite et hypoxanthine.	142
Planche 4-2 : Complémentarité positive entre différents mutants "nit "	146
Planche 5-1 : Résultats de confrontation sur milieu de culture(PDA) des isolats non pathogènes avec les isolats pathogènes.	162
Planche 5-2 : Effet des isolats non pathogènes sur la fusariose vasculaire et du pied de Pois.	166

LISTE DES FIGURES

Fig. 1-1 : Structure d'une plante de Pois (Boyeldieu, 1991).	9
Fig.1-2: Production de Pois frais dans les pays les plus productifs dans le monde.	11
Fig.1-3 : Production de Pois secs dans les pays les plus productifs dans le monde.....	11
Fig.1-4 : Evolution de la superficie, production et rendement de Pois sec en Algérie entre 2002-2012.....	13
Fig. 1-5 : Evolution de la superficie, production et rendement de Pois frais en Algérie entre 2002-2012.....	13
Fig. 1-6 : Aspect microscopique de <i>Fusarium oxysporum</i>	23
Fig.1-7 : Cycle infectieux de <i>Fusarium oxysporum</i> (Agriose, 2005).	24
Fig.1-8: <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i> . (Smith, 2007).	27
Fig.1-9 : Schéma des voies d'assimilation de l'azote minéral chez <i>Aspergillus nidulans</i> et <i>Neurospora crassa</i> (Correll et al., 1987).....	31
Fig.1-10 : Modèles de diversité révélée par l'étude de la compatibilité végétative en relation avec l'appartenance aux races chez <i>F. oxysporum</i> (Correll, 1991).....	34
Fig.2-1 : Sites de prospections au niveau de l'ouest Algérien.....	47
Fig. 3-1 : Méthode d'inoculation des plantules de Pois.....	93
Fig 3-2. Pourcentage de la fusariose vasculaire du Pois dans les wilayas de l'ouest Algérien.....	98
Fig.3-3 : Pourcentage des races en fonction des wilayas.....	118
Fig.3-4 : Pourcentage de la pigmentation en fonction des wilayas	118
Fig.3-5 : Pourcentage des morphotypes en fonction des wilayas	118
Fig.3-6 : Carte factorielle pour l'axe 1 et 2.....	125
Fig.3-7 : Carte factorielle pour l'axe 1 et 3.....	125

Fig.3-8 : Carte factorielle pour l'axe 1 et 2.....	126
Fig4-1.Méthode d'identification des groupes de compatibilité végétative (Leslie, 1990).	139
Fig.5-1 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat Sb1 et les isolats non pathogènes.	163
Fig.5-2 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat C20 et les isolats non pathogènes.	163
Fig.5-3 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat R29 et les isolats non pathogènes.	163
Fig.5-4 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat FS2 et les isolats non pathogènes.	164

INTRODUCTION GENERALE

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

Le Pois (*Pisum sativum L.*) est une plante agronomique importante dans le monde. Il a servi comme un excellent sujet pour les études génétiques et physiologiques. Sa facilité, le cycle court de production et la richesse de la variation morphologique ont servi à de nombreuses recherches scientifiques. La valeur nutritionnelle de Pois frais immatures et matures et le Pois secs destinés à la consommation humaine et animale ont favorisé une production soutenue depuis sa domestication (**Mc Phee et al., 2007**). Le Pois à l'image des autres légumineuses alimentaires est très riche en protéines (**Viroben et al., 2000**).

Cette culture est sujette à des contraintes biotiques et abiotiques (**Ammamra, 2002**). La culture est attaquée à la fois par les organismes du sol, provoquant la pourriture des racines, de la tige, la fusariose et les fontes de semis et par des agents pathogènes endommageant la partie foliaire du végétal (**Hebblethwaite et al., 1985**).

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

En effet en Algérie les risques sanitaires sont multiples et jusqu'à présent mal connus, avec l'absence des estimations des pertes qui leur sont relatifs. L'inventaire des maladies des cultures revêt un intérêt primordial à tout programme de protection phytosanitaire. Dans cette optique notre travail a pour objectifs de diagnostiquer la situation actuelle et les résultats obtenus peuvent être utilisés pour élaborer des stratégies de contrôle plus efficaces.

Premièrement, notre étude à commencer par la réalisation d'un inventaire des principales maladies affectant la culture de Pois dans l'ouest Algérien. Plusieurs prospections ont été effectuées dans quatre zones agro climatiques différentes couvrant 10 wilayas, au cours des campagnes agricoles : 2007, 2008, 2009, 2010 et 2011. l'évolution des maladies qui attaquent la culture a été suivie en fonction du stade de développement de la culture. Le but de cette étude est de dresser un aperçu sur l'état sanitaire de la culture, d'identifier la microflore rhizosphérique et avoir une meilleure connaissance de la maladie du flétrissement vasculaire du Pois.

Des isollements de l'agent pathogène ont été effectués à partir d'échantillons infectés en vue de constituer une collection d'isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* et d'étudier sa morphologie et sa distribution dans l'ouest Algérien. Son pouvoir pathogène a été examiné dans le but de préciser son rôle dans la manifestation des symptômes observés au champ, Aussi que la caractérisation des races de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* a été réalisée.

L'étude de la variabilité et la distribution des races pathogènes sont essentielles pour identifier les sources efficaces de résistance à cette maladie et à fin d'élaboration des programmes de lutte adéquates.

Dans le présent travail, une étude de la compatibilité végétative a été réalisée avec 21 isolats appartenant aux 4 races de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* et un isolat de *Fusarium oxysporum* non pathogène collecter de différentes régions de l'ouest Algérien en vue de révéler la structure génétique de la population et de vérifier la fiabilité de la méthode pour l'identification des races physiologiques de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*.

Pour conclure cette étude, un essai de lutte biologique a été entrepris avec l'utilisation d'isolats de *Fusarium oxysporum* non pathogènes contre des isolats pathogènes de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* et *Fusarium solani* f.sp. *pisi* afin de contribuer à diminuer l'impact de cette maladie. Cette étude nous a permis également comme premier travail la sélection d'isolats autochtones de *Fusarium* non pathogènes qui peuvent être utilisés pour la lutte biologique contre plusieurs pathogènes du sol.

Avant d'exposer en détail les démarches scientifiques, les techniques entreprises et les résultats obtenus, il est nécessaire de présenter un aperçu sur la culture, sa pathologie et particulièrement sur la fusariose vasculaire du Pois.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. INTRODUCTION

Le Pois (*Pisum sativum* L.) est une plante agronomique très appréciée dans le monde, il a servi comme un excellent sujet pour les études génétiques et physiologiques, son cycle biologique court et la richesse de sa variation morphologique ont servi à de nombreuses recherches scientifiques.

La valeur nutritionnelle de Pois frais immatures et matures et le Pois secs destinés à la consommation humaine et animale ont favorisé une production soutenue depuis sa domestication (**Mc Phee et al., 2007**). Pour l'alimentation humaine : ce sont les pois potagers ou "petits pois", produits en plein champ ou de maraîchage, soit pour la consommation en frais, soit pour la conserverie (appertisation ou surgélation), soit en grains secs pour la casserie. Pour l'alimentation animale : ce sont les pois protéagineux, récoltés en grains secs (comme les Pois de casserie auxquels ils s'apparentent) et utilisés en alimentation animale, et les pois fourragers, récoltés en vert à la floraison pour une alimentation à l'auge, plus rarement en sec.

2. GENERALITEES SUR LE POIS

2-1.ORIGINE ET HISTORIQUE

Théophraste, trois siècles avant notre ère, dans son livre intitulé "recherches sur les plantes" a décrit plusieurs espèces de la famille actuelle des légumineuses et notamment" le Pois (**Davies et al., 1985**). Il est consommé depuis environs 5000 ans avant JC, et était déjà très apprécié dans les civilisations anciennes (**Smart, 1990**). Les origines primaires du Pois se situent vraisemblablement dans le sud-ouest d'Asie (**Zohary et Hopf, 2002**) ; Abyssinie en Afghanistan et les régions avoisinantes, la région méditerranéenne constitue un centre secondaire. A partir de ces centres, le Pois se serait dispersé dans le reste de l'Europe et de l'Asie (**Kay, 1979 ; Makasheva, 1985 ; Cousin ,1997**).

Basé sur la diversité génétique, quatre centres d'origines ; l'Asie centrale, le Proche orient, l'Abyssinie et la Méditerranée ont été identifiés (**Gritton, 1980**).

De nombreux botanistes ont décrit différentes formes sauvages qui ne diffèrent que par quelques caractères morphologiques. Parfois, ces types ont constitué des espèces différentes, dont la dénomination rappelle fréquemment le lieu d'origine. Mais le plus souvent, ils sont considérés comme appartenant à des sous espèces de *Pisum sativum* : *Pisum sativum arvense* (Linné), *elatius* (Bieb Stev), *abyssinium* (Braum), *jomaradi* (Schrank), *aethiopium*, *asiaticum*, *humile transcaucasicum* et *unbellatum*. Ces groupes peuvent être croisés entre eux, en conséquence ils représentent la même espèce. Par contre, les croisements avec les genres voisins : *Lathyrus*, *Vicia* et *Lentis* n'ont jamais pu être obtenus (**Coussin, 1997**).

2-2. BIOLOGIE

2-2-1. Position systématique

Le Pois, petit Pois ou encore Pois rond est une plante annuelle de la famille des légumineuses (fabacées), largement cultivée pour ses graines. La classification botanique de cette plante peut être résumée de la façon suivante (**Coussin, 1974**) :

Règne : Végétal, Embranchement des **Spermaphytes**, Sous embranchement des **Angiospermes**, Classe des **Dicotylédones**, Ordre des **Fabales**, Famille des **Fabacées**, Sous famille des **Faboïdeae**, Genre : **Pisum** et l'Espèces : ***Pisum sativum* L.**

L'espèce *Pisum sativum* L. regroupe plusieurs sous-espèces, classées comme suit :

- *Pisum sativum* L. subsp. *sativum* Var. *sativum* : petit Pois, Pois potager ou Pois des jardins.

-*Pisum sativum L. subsp. elatius* (Steven ex M. Bieb.) Asch. & Graebn. :
Pois sauvage.

-*Pisum sativum L, subsp. Sativum Var, arvense* L, Poir. ; Pois fourrager,
Pois protéagineux ou Pois des champs.

Il existe chez le Pois des variétés à rames, d'autre naines, dans ces deux catégories se trouvent des variétés à grains ronds et d'autres à grains ridés (**Meudec, 1998**).

2-2-2.Cycle Biologique

Le Pois est une espèce annuelle dans la mesure où son cycle ne nécessite aucune rupture hivernale pour s'accomplir. Mais, en fonction du climat et/ou de la résistance au froid de certaines variétés, son cycle cultural peut être engagé dès l'automne. Il semble bien qu'il s'agisse d'ailleurs d'un comportement naturel dans le biotope d'origine. En effet, la graine de Pois ne présente pas de dormance et peut germer dans d'excellentes proportions dès qu'elle a atteint sa maturité physiologique (teneur en eau =45%), c'est à-dire lorsque la gousse vire au brun. La germination peut donc avoir lieu dès l'arrivée des pluies d'automne (**Chaux et Foury, 1994**).

On distingue deux groupes de Pois à l'égard de leur cycle : les Pois d'hiver semés en novembre et les Pois de printemps semés entre février et avril. En réalité ces deux groupes diffèrent surtout par leurs aptitudes à résister au froid hivernal.

2-2-3. Phénologie

Le Pois est une plante grimpante herbacée annuelle, autogame, de hauteur variable allant de 0.5 à 2 mètres (Fig.1-1). Son génome comprend sept paires de chromosomes ($2n=14$).

La morphologie générale du Pois est décrite dans la figure 1. La croissance de la tige est plus ou moins indéterminée (**Coussin, 1997**).

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

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

Les feuilles, alternes, sont composées d'une à quatre paires de folioles sessiles, opposées et terminées par une vrille simple ou ramifiée. Celles-ci sont entières, obovales, et ont de 1,5 à 6 cm de longueur. Les feuilles possèdent à leur base deux grandes stipules embarrassantes, arrondies et crénelées à la base (**Coussin, 1997**).

Les fleurs, de type « papilionacé », sont zygomorphes, à ovaire supère et cléistogames. Elles apparaissent à l'aisselle des feuilles, solitaires ou groupées en racème par deux ou trois. Le calice, de couleur verte, est formé de cinq sépales soudés et présente cinq dents inégales. La corolle compte cinq pétales très différenciés, l'étendard redressé en position postérieure, les deux ailes en position latérale, enveloppant la carène, elle-même formée de deux pétales inférieurs, partiellement soudés. La corolle est généralement entièrement blanche, parfois rose, pourpre ou violette. L'androcée qui comprend dix étamines (**Muahlbaur et Tubba, 1997**).

Le fruit est une gousse déhiscente bivalve, appelée aussi cosse, de 4 à 15 cm de long, contenant de 2 à 10 graines rondes lisses ou anguleuses, de 5 à 8 mm de diamètre. Ces gousses présentent des variations morphologiques selon les variétés, leur forme générale est droite ou plus ou moins arquée, leur extrémité plus ou moins effilée ou tronquée. Elles comportent généralement une membrane sclérifiée, le

parchemin, qui est absente chez les variétés de type « mangetout ». Leur couleur est généralement verte, parfois violette (**Prat et al., 2005**).

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

2-2-4.Exigences agro-écologiques

La production est concentrée entre les tropiques du cancer (**Davies et al., 1985**). Les niveaux de températures optimale pour les périodes végétatives et reproductrices des Pois sont réciproquement de 21 et 16°C et 16 à 10°C jours et nuit (**Slinkard et al., 1994**). Le Pois est une plante qui a besoin de la pleine lumière pour accomplir son cycle végétatif.

Il faut irriguer ou faire la culture sur des terrains où la nappe phréatique est proche. Néanmoins, il ne faut pas trop irriguer durant la phase de floraison, car cela provoquerait la chute des fleurs. Il apprécie une terre fraîche à bonne exposition mais craint le calcaire, l'excès d'humidité et la sécheresse (**Sikerdji, 2002**).

Le Pois, comme toutes les légumineuses, peut réaliser une fixation symbiotique de l'azote qui commence 30 jours après le semis et se poursuit pendant environ 60 jours. Visuellement, en coupant une nodosité, plus la section apparaît rougeâtre, plus elle est chargée en pigment actif de couleur rouge (leg-hémoglobine), indicateur de la fixation symbiotique de l'azote. La quantité d'azote fixée varie largement avec les cultivars, et les conditions de croissance de la culture (**Iarue et Patterson, 1981**).

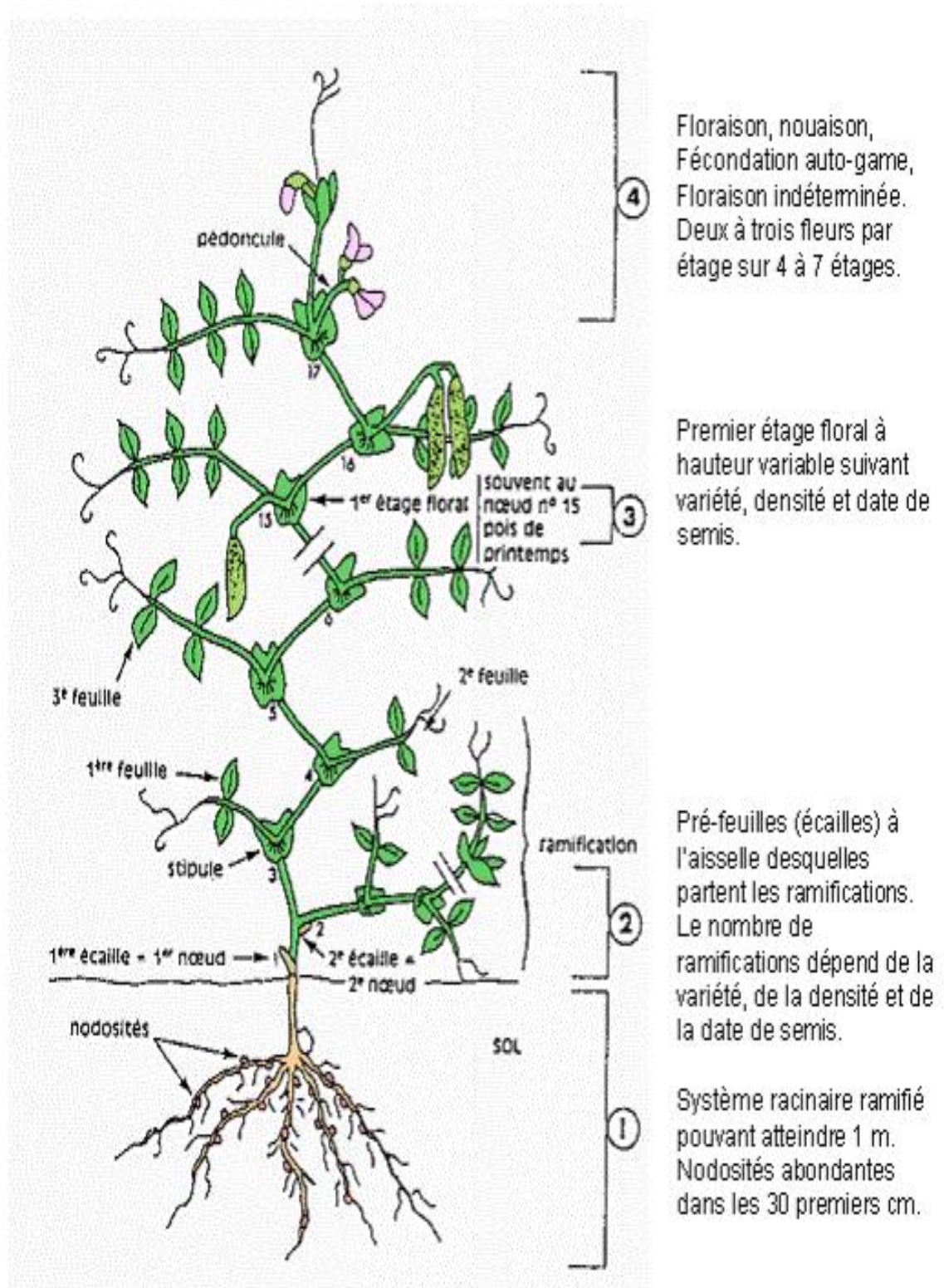


Fig. 1-1 : Structure d'une plante de Pois (Boyeldieu, 1991).

2-3.PRODUCTION ET CONSOMMATION

2-3-1.Dans le monde

Avec plus de 26 millions de tonnes récoltées en 2011, le Pois (Pois sec + Pois frais) est la quatrième légumineuse au plan mondial, loin toutefois après le soja (216 Mt), l'arachide (35 Mt) et le haricot (28 Mt).produites dans la plus grande part dans les zones tempérées.

Selon les statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), La production totale de Pois frais en 2011 est de 17 millions tonnes, sur une surface de 2.24 millions hectares, avec un supplément 9.72 millions tonnes de pois sec, sur une surface de 6.14 millions hectares. Les deux principaux producteurs de Pois frais, la Chine et l'Inde, représentent près de 70% de la production mondiale (Fig. 1-2) (**FAOSTAT 2011**).

Pour les Pois secs, plus de 94 pays producteurs sont recensés dans le monde, cependant les cinq premiers, représentent plus de deux tiers de la production totale et les quinze premiers plus de 90%. La production de Pois secs en Europe a diminué alors que la production a augmenté au Canada, les Etats-Unis et la Fédération de Russie. Les raisons de ces changements sont, notamment des facteurs économiques, biologiques, physiques, sociologiques et techniques. Le Canada demeure le principal pays producteur dans le monde au cours de la dernière décennie. Les rendements les plus élevés de 4000-5000 kg/ha sont traditionnellement produite en Europe (Pays-Bas, France et Belgique). Le rendement moyen mondial est d'environ 1700 kg/ha et des rendements moins de 500 kg/ha sont enregistrées dans certaines régions d'Afrique. Les pays européens ont montré une diminution progressive de la production de 2007 à 2012, alors que la tendance inverse a été enregistrée pour la Fédération de Russie, L'Inde et les Etats-Unis où la production a connu une augmentation lente. Les pays ayant la plus grande production de Pois secs sont représentés dans la Fig.1-3. (**FAOSTAT 2011**).

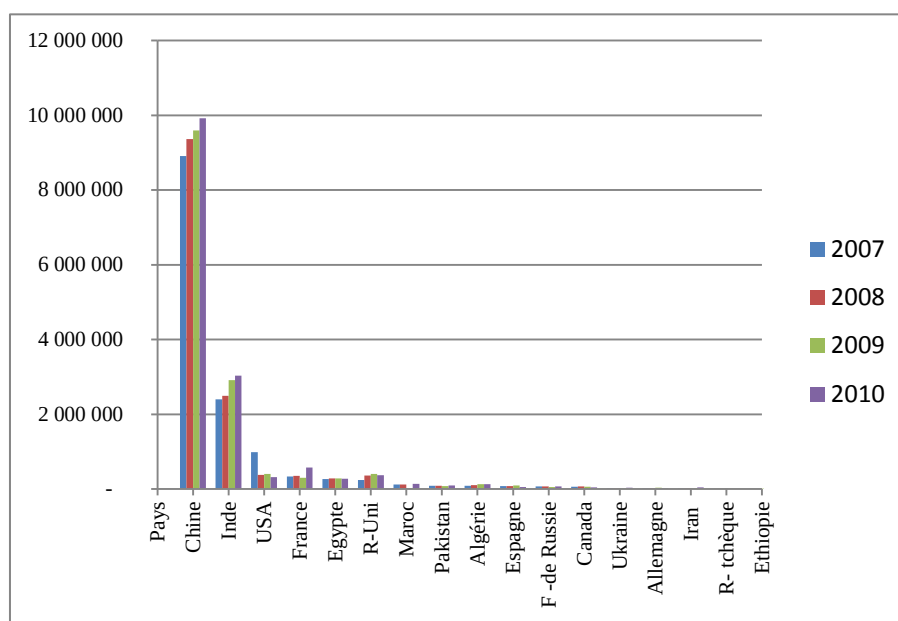


Fig.1-2: Production (kg/ha) de Pois frais dans les pays les plus productifs dans le monde (FAOSTAT 2011).

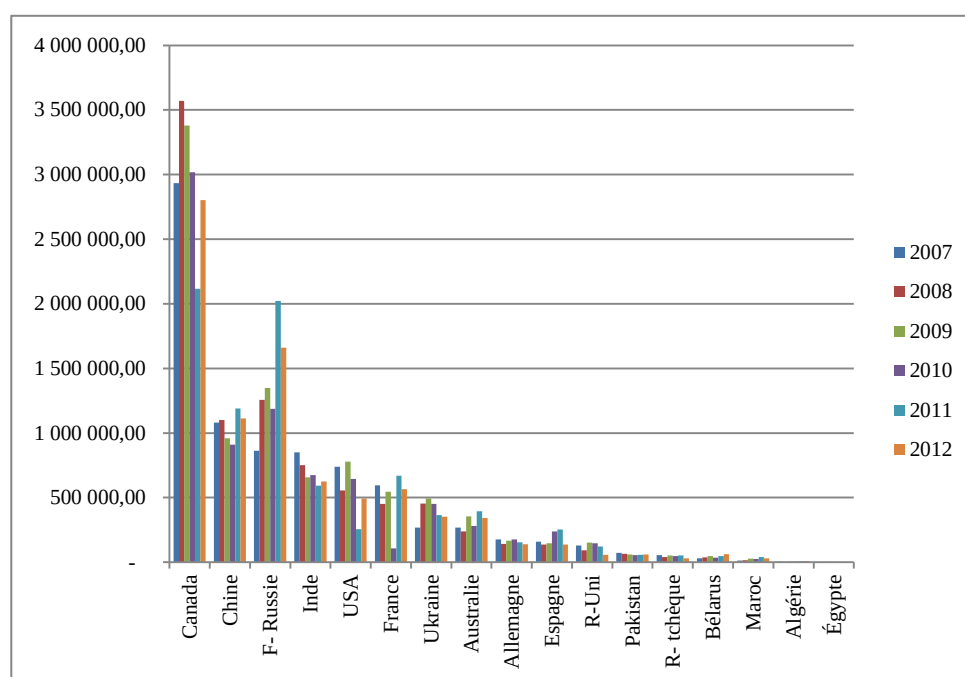


Fig.1-3 : Production (kg/ha) de Pois secs dans les pays les plus productifs dans le monde (FAOSTAT 2011).

2-3-2. Situation du Pois en Algérie

En Algérie, le Pois a été cultivé avant 1830 dans les jardins et les champs en Kabylie (**Laumont et chevassus, 1960**). Le Pois est répandu sur tout le territoire national. Il est surtout cultivé sur les plaines côtières et les zones sublittoral. Il occupe la 3^{ème} place parmi les légumes secs (**Maatougui, 1996**).

La culture a pris un développement important en 1945, elle a connu par la suite un essor remarquable de 1947 à 1952. En 1980, 10800 ha ont été consacrés à cette culture. En 2012, le Pois sec a enregistré la superficie la plus importante avec 9279.14 ha avec un rendement 743.5 kg/ha qui demeurent très faible par rapport au rendement moyen dans le monde.

En ce qui concerne le Pois frais, l'Algérie se classe parmi les 10 premiers pays producteurs du monde avec une production de 127680 tonnes et un rendement de 3911.64kg/ha pour l'année 2011(Fig.1-4 et 1-5) (**FAO, 2013**).

Parmi les variétés cultivées en Algérie : Onward, Parel, Triphin, Latcha (variété locale), Merveille de Kelvedon, Douce de province et serpette (**Meklati, 1992**).

2-3-3.Intérêt du Pois

De part son appartenance à la famille des légumineuses, le Pois présente des avantages sur le plan agronomique, nutritionnel et écologique. Les Pois verts ressortent comme un aliment respectueux de l'environnement.

Du point de vue agronomique et écologique, le Pois est considéré comme très bonne tête de rotation, il laisse un sol enrichi en azote de 30 à 50 Kg/ha (**Boyeldiou, 1991**).

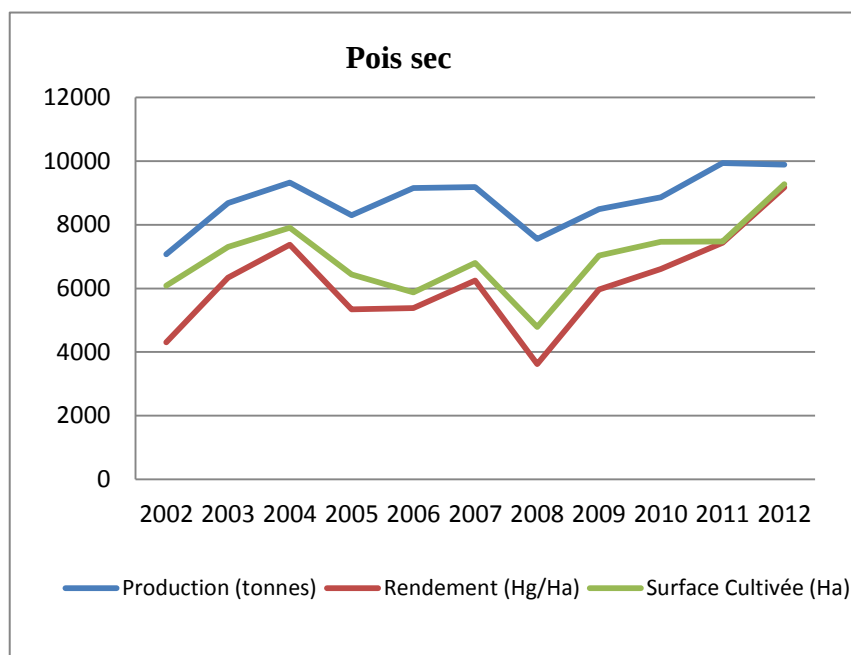


Fig.1-4 : Evolution de la superficie, production et rendement de Pois sec en Algérie entre 2002-2012 (FAO, 2013).

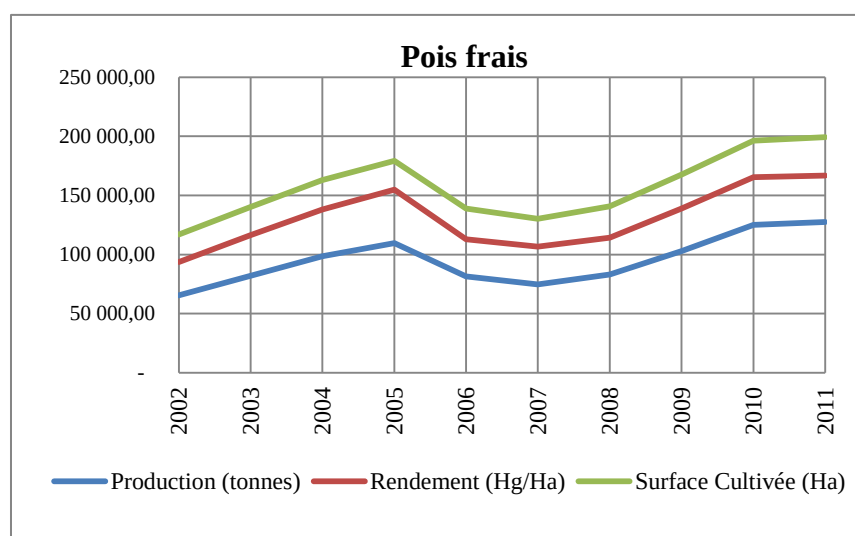


Fig. 1-5 : Evolution de la superficie, production et rendement de Pois frais en Algérie entre 2002-2012 (FAO, 2013).

Sa capacité de fixer l'azote atmosphérique par le truchement des *Azotobacters* du système racinaire, permet de réduire le coût de production, et de limiter la pollution des nappes phréatiques par les engrais azorés (**Androsoff et al., 1995**). La culture de pois possède un système de racines peu profondes qui peuvent aider à prévenir l'érosion du sol, et une fois que les pois ont été cueillis, les restes de plantes ont tendance à se décomposer facilement pour la reconstitution des sols. Enfin, la rotation de Pois avec d'autres cultures a été montrée pour réduire le risque de problèmes de maladies et ravageurs ce qui diminue d'au moins deux traitements par les pesticides et c'est moins de pollution. Ces aspects écologiques de la production de Pois s'ajoutent à son utilité en tant que partie intégrante de notre alimentation.

Du point de vue nutritionnel, dans l'alimentation humaine, le Pois peut être consommé à l'état frais ou encore sous forme de grains secs récoltés à maturité complète. La composition de la graine du Pois (Tab.A-1) en a fait une légumineuse très intéressante pour l'alimentation humaine et animale (**Larkom, 1991**). La richesse du Pois en protéines (20-25 p. 100) permet de remplacer certaine protéine animale dans l'alimentation, les teneurs en protéines des graines varient de 17,25 à 32,2 p. 100 selon les génotypes et les conditions de production (**Mossé et al., 1987**). Contient de l'amidon digestible (50%),des sucres solubles (5%), fibres, minéraux et vitamines. Ils contiennent également un assortiment unique de phyto-nutriments bénéfiques pour la santé, Un de ces phyto-nutriments un polyphénol appelé coumestrol est venu récemment à la pointe de la recherche en matière de protection contre le cancer de l'estomac (**Hernandez-Ramirez et al., 2009**). Les phyto-nutriments uniques dans les Pois verts récemment découvertes et appelées saponines nous fournissent des antioxydants clé et des avantages anti-inflammatoires (**Ismail et al., 2009**) Des recherches récentes ont montré que les Pois sont une source fiable de gras oméga-3 sous forme d'acide alpha-linolénique (ALA) et une des quantités importantes de bêta-carotène (**Murakami et al., 2001**). C'est un bon support pour le règlement de sucre dans le sang (**Trinidad et al., 2010**).

2-4.PRINCIPALES MALADIES ET RAVAGEURS DU POIS

La culture de Pois est soumise à la pression constante de certains agents pathogènes d'origine fongique, bactérienne, virale et des ravageurs.

Le nombre de maladies a augmenté au fur et à mesure de l'extension des surfaces cultivées, les maladies d'importance secondaire dans certaines régions peuvent prendre ailleurs des proportions d'épiphytie, si elles sont placées dans des conditions climatiques propices. Les répercussions économiques sont variables, suivant l'année, la région considérée, les conditions climatiques, les agents pathogènes en cause et la sensibilité des cultivars.

2-4-1.Principales maladies fongiques et bactériennes du Pois

La culture de Pois est attaquée par plusieurs maladies fongiques dans le monde (Tab.1-1). En Algérie, les travaux de prospection réalisés ces dernières années, ont montré l'existence de plusieurs maladies fongiques : l'oïdium, l'anthracnose sont les plus importantes, suivie de flétrissement vasculaire, le mildiou et la nécrose du collet due à *Rhizoctonia solani* ou *Fusarium solani*, ces maladies sont considérées comme étant les plus économiquement importantes (Bouznad, 1987 ; Setti *et al.*2009, Merzoug *et al.*, 2009).

Tableau 1-1 : Principales maladies fongiques et bactériennes du Pois (EPPO, 1994).

Maladies	Agents pathogènes	Symptomatologie	Moyens de lutte
Ascochytes	<i>Aschochyta pisi</i> <i>Mycosphaerella pinodes</i> <i>Phoma medicaginis</i> var. <i>pinodella</i>	-Des lésions circulaires de couleur brune rousses, et concaves nettement séparées des tissus sains. Au centre, présence de pycnides -Un grand nombre de petites taches brunes foncées ou violettes Ces taches peuvent devenir des petites zones imbibées d'eau sur les parties aériennes des plantes qui peuvent grossir, fusionner et détruire entièrement les parties atteintes de la plante -Des lésions très similaires à celles de <i>M. pinodes</i>, mais les taches ne deviennent pas aqueuses.	- Utilisation de semences saines - Traitements de semences: thirame, thiabendazole. - Rotation culturale -Pulvérisations: carbendazime, chlorothalonil, iprodione.
Mildiou	<i>Peronospora pisi</i>	-Plantules touchées, sont chétives et de couleur verte-jaunâtre. la face inférieure des folioles est couverte d'un feutrage épais, dont la couleur va du blanc teinté.	- Traitements des semences - Il faut éviter de cultiver fréquemment du pois et de semer des semences traitées
Oïdium	<i>Erysiphe pisi</i> ou <i>polygonie</i>	Les feuilles apparues bleutées avec de petits cléistothèces noirs sur les lésions matures.	- Utilisation de cultivars résistants - Semis précoce
Sclerotiniose	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	-Présence de nécroses humides sur feuilles et tiges, les tissus infectés se	- la rotation culturale

		dessèchent et se boursouflent. Il peut y avoir un mycélium blanc abondant sur la plante.	- Eviter la culture fréquente d'hôtes sensibles - Un labour profond peut aider à réduire le nombre de sclérotés
Fusariose	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i> <i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>pisi</i>	Flétrissement vasculaire Fusariose de pied ou pourriture de collet et des racines.	- La résistance génétique est la seule mesure de lutte efficace - un semis précoce -Rotation d'au moins 5 ans -Traitements des semences
Pourriture des racines	<i>Pythium</i> spp.	-Une pourriture molle humide entraînant l'abscission des racines à partir des premiers stades de la levée.	- Les traitements fongicides des semences
Graisse bactérienne de Pois	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>pisi</i>	-Lésions graisseuses, sur les tiges, les feuilles, les stipules et les gousses qui brunissent par la suite et se nécrosent.	-Utilisation de de semences certifiées - Rotation d'au moins 3 ans

2-4-2. Principales maladies virales

Le Pois est attaqué par un certain nombre de virus (**Tab.A1-2**). Les maladies virales du Pois sont souvent transmises par l'intermédiaire du puceron vert du Pois (*Acyrtosiphon pisum*) ou par des nématodes libres dans le sol.

2-4-3.Principaux ravageurs du Pois

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

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

3. LE FLETRISSEMENT VASCULAIRE DU POIS

3-1.Importance et dégâts de la maladie

La Fusariose du Pois a été signalée en Europe au début des années 1900, bien que plusieurs noms différents aient été utilisés pour l'agent pathogène (**Buxton, 1957**). Il y avait aussi une certaine confusion entre «flétrissement» causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* et la fusariose du pied causée par *F. solani* f.sp. *pisi*, la maladie a été causée par une combinaison de ces deux agents pathogènes (Buxton, 1955). En 1916-17 une maladie de pois décrite comme la fusariose s'est produite dans le Minnesota, Etats-Unis, dans les champs plantés avec des semences importées du Royaume-Uni, même si l'identité de l'agent pathogène n'était pas identifiée.

La fusariose vasculaire du Pois, causée par *F. oxysporum* Schlecht f sp *pisi* (VanHall) Snyder et Hans, a été signalée dans tous les pays où le pois est cultivé commercialement (**Haglund, 1984**). La maladie est souvent sévère là où on pratique des rotations courtes avec d'autres cultures. Dans ces conditions, quand le pathogène a développé des quantités suffisantes d'inoculum et qu'on plante un cultivar sensible, il en résulte des pertes sévères.

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

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

F. oxysporum f. sp. *pisi* est un pathogène important et destructeur de Pois. Il a été signalé dans tous les pays où le Pois est cultivé (**Kraft et Pflieger, 2001**).

3-2. Symptomatologie

Les fusarioses vasculaires sont parmi les maladies les plus graves et les plus fréquentes, dont les symptômes sont divers et peuvent toucher l'ensemble de la plante à n'importe quel stade de sa croissance.

Les symptômes de la maladie sont généralement nombreux et apparaissent sous formes différentes avec une intensité plus ou moins variable (**Roger, 1953**). Pour la Fusariose vasculaire, les symptômes apparaissent 20 à 25 jours après la levée.

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

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

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

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

3-3. Agent pathogène : *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (FOP)

3-3-1.Position taxonomique

Le FOP est un des Deutéromycètes telluriques appartenant à la sous-classe des Hyphomycètes et à la famille des Tuberculariacées, il fait partie de la section Elegans (**Messiaen et Cassini, 1968 ; Booth, 1971 ; Nelson et al., 1983; Agriose, 2005**). Il se distingue des autres espèces de *Fusarium* par la production abondante de microconidies, rassemblées en fausse tête à partir de monophialides courtes (Fig.1-6).

Généralement, *F. oxysporum* est un champignon cosmopolite, le plus répandu dans la nature. Il est présent dans les sols du monde entier où il se comporte soit en parasite, soit en saprophyte. Il s'agit d'une espèce anamorphe qui comprend de nombreuses souches pathogènes des plantes causant des maladies de flétrissement d'une grande diversité d'espèces de plantes hôtes agricoles et ornementales (**Appel et Gordon, 1996**). Selon Messiaen et Cassini (1968), *F. oxysporum* est l'espèce qui comporte des formes phytopathogènes les plus fréquentes et les plus importantes de la microflore fongique des sols cultivés.

F. oxysporum comporte un ensemble de formes morphologiquement identiques, mais présentant des spécificités parasitaires parfois très étroites. Ainsi, plus de 120 formes spécialisées et races ont été décrites chez *F. oxysporum* (**Armstrong et Armstrong, 1981**). Parmi lesquelles la forme spéciale *pisi* responsable du flétrissement vasculaire du Pois. Les races sont souvent en fonction de leur virulence à un ensemble de cultivars d'hôtes différentiels (**Correll, 1991**). La base génétique de la spécificité d'hôte (*formae speciales*) et la spécificité de cultivar (races pathogènes) de *F. oxysporum* est inconnue (**Baayen et al., 2000**).

3-3-2.Cycle épidémiologique de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*

Le *F. oxysporum* est un parasite tellurique doué d'une vie saprophytique. Par ses organes de résistance, les chlamydospores sont capables de survivre pendant plusieurs années dans les conditions les plus défavorables, en absence de plante hôte. Pouvant même coloniser des zones profondes du sol cultivé (**Haware et al., 1982**). Le cycle de *F. oxysporum* peut être constitué d'une période unique correspondant à une reproduction asexuée qui se renouvelle et se perpétue sous la forme de conidies (**Walker, 1971**). *F. oxysporum* produit trois types de spores asexuées : microconidies, macroconidies et chlamydospores (**Nelson et al., 1983; Agrios, 2005**) (Fig.1-6).

Le FOP se trouve principalement dans la couche labourée du sol et survit sous forme de chlamydospores à paroi épaisse, qui restent viables dans le sol pendant plus de 10 ans (**Kraft, 1995**). La survie est liée à l'association de l'agent

pathogène avec les racines des cultures non hôtes. Le FOP est transmis par le sol et pénètre dans les racines de Pois et infecte le système vasculaire à n'importe quel stade de croissance de la plante. Habituellement, les lésions corticales ne sont pas associées à l'infection (Fig.1-7).

Le cycle épidémiologique des races 1, 5, et 6 est similaire. Initialement, les plantes sont infectées individuellement et tuées avant la récolte en vert. Avec l'augmentation du potentiel de l'inoculum, par le retour répété de la culture, de petites zones infestées, circulaires se développent, et toutes les plantes dans ces zones sont tuées. Pour les cultivars sensibles, ces zones s'agrandissent et fusionnent, formant des zones irrégulières de plantes mortes. Le degré de perte et la propagation dans les différents régions dépend de l'inoculum primaire, la température (20-21°C, optimale), cultivar et du sol favorable à l'agent pathogène.

La race 2 est presque universellement distribuée dans les régions productrices de Pois et provoque généralement la mort de 1-3% des plantes dans les champs infectés. Sous des conditions idéales pour l'agent pathogène, les pertes peuvent être graves, et toute la récolte peut être détruite. Ces pertes se produisent généralement à la fin de la saison de croissance en raison des températures élevées du sol. Les plantes infectées par la race 2 sont dispersées dans le champ. La race 2 provoque généralement les pertes les plus graves sur les sols à texture grossière lorsque la température du sol est près de 25°C (**Haglund, 1984**).

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

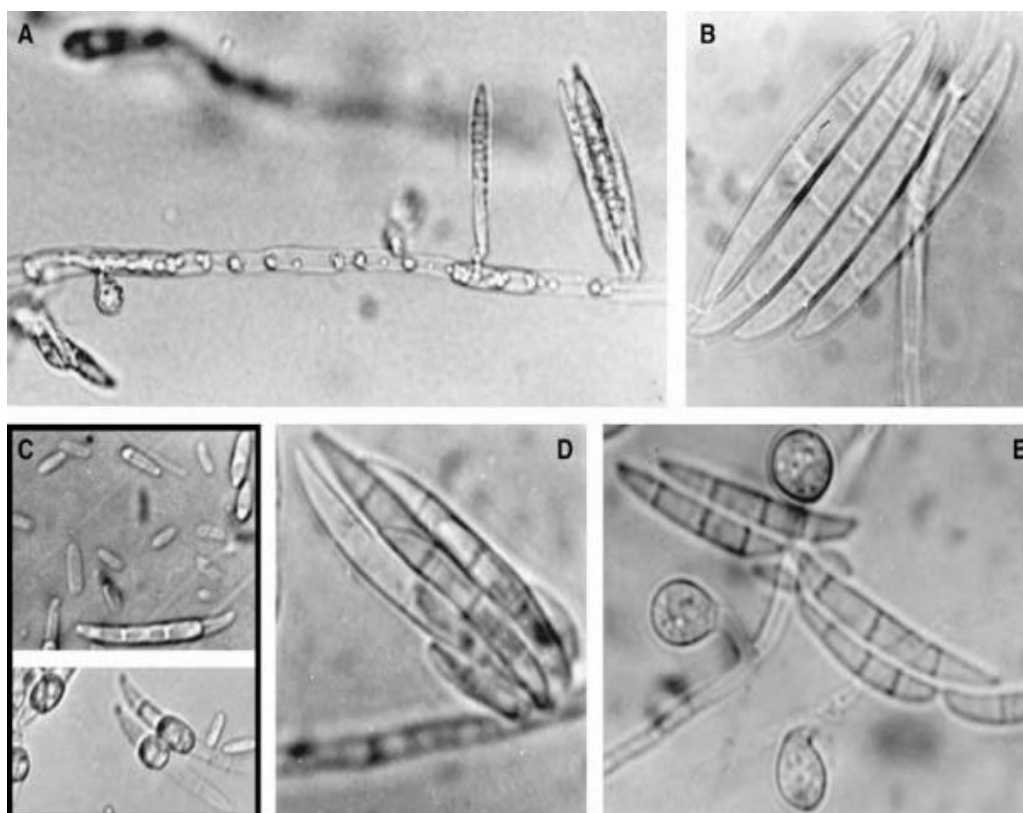


Fig. 1-6 : Aspect microscopique de *Fusarium oxysporum*.

A : Hyphes, macroconidies, microconidies, et chlamydospores,

B : Macroconidies,

C : Macroconidies, microconidies, et chlamydospores,

D : Macroconidies,

E : Macroconidies et chlamydospores. **(Watanabe, 2002.)**

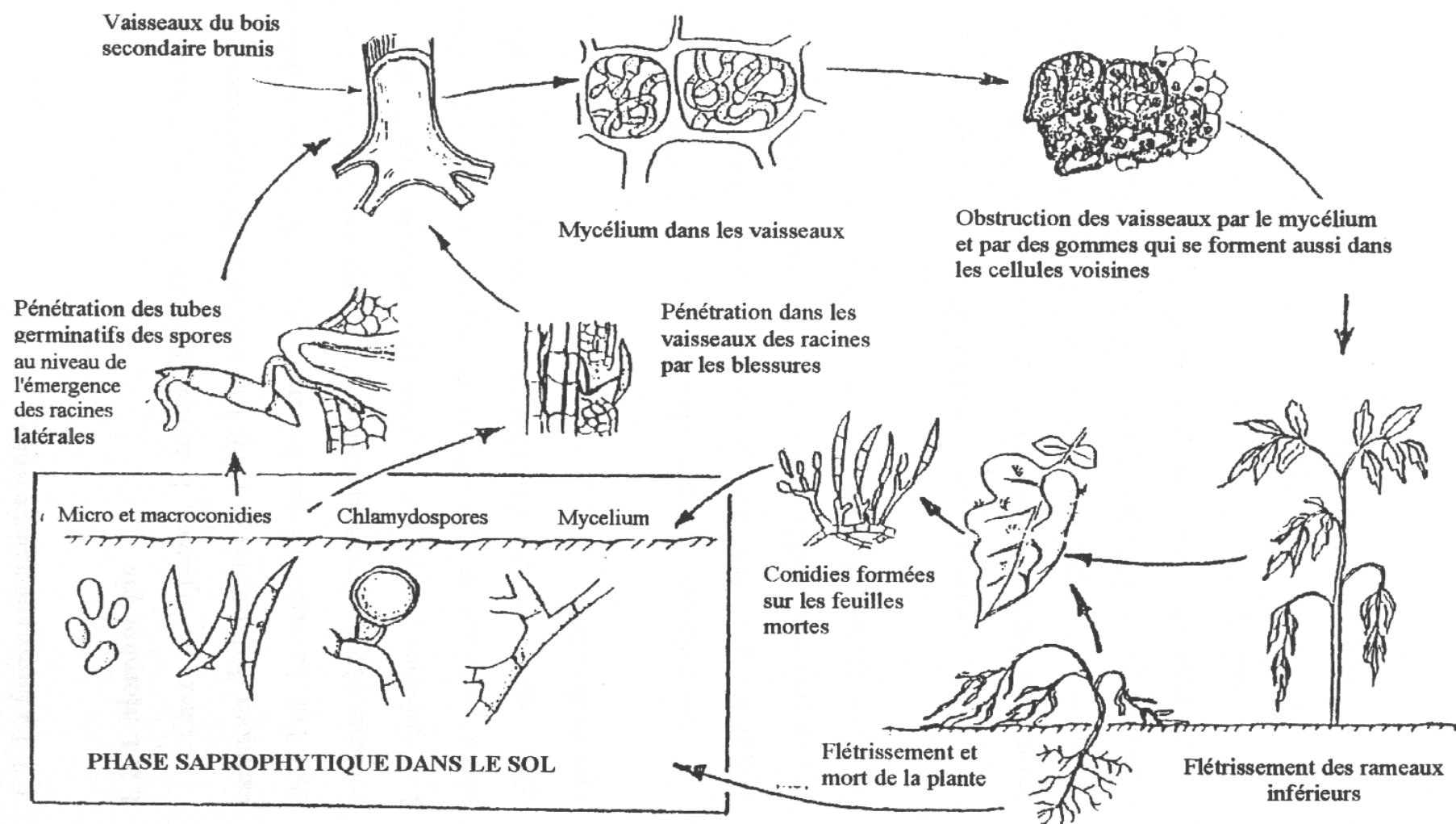


Fig.1-7 : Cycle infectieux de *Fusarium oxysporum* (Agriose, 2005).

3-3-3. Variabilité du pouvoir pathogène

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

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

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

Les bases génétiques de la spécificité d'hôte (*formae speciales*) et spécificité de cultivar (races pathogènes) de *F. oxysporum* est inconnue (**Baayen et al., 2000**). Ces champignons pathogènes sont morphologiquement indiscernables les uns des autres, ainsi que des souches non-pathogènes.

Actuellement 4 races de FOP : 1, 2, 5 et 6, sont distinguées par leurs réaction à une gamme de variétés différentielles.

FOP est connu pour sa variabilité pathogénique (**Kraft, 1995**). L'agent pathogène a été nommé *F. othoceras* App et WR var. *pisi* en 1928 (**Linford, 1928**). Onze (11) races de l'agent pathogène ont été décrites, mais des désaccords considérable existe sur le classement de ces races (**Kraft et Haglund 1978 ; Neumann et Xue, 2002**).

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

La pathogénicité des races 1, 2, 5 et 6 du FOP peuvent être détectées par leur réaction sur les variétés différentielles. La réaction est basée sur une réponse résistant (aucun symptôme visible) et une réaction sensible (plantes mortes ou

gravement rabougris et chlorotiques). La classification des isolats de FOP basée sur les interactions hôte-pathogène est régie par la structure génétique de l'hôte et de l'agent pathogène (**Kraft, 1995**).

La variabilité morphologique et pathogénique entre les différentes races est commune dans les races de FOP (Fig.1-8). Le transfert répété sur gélose peut entraîner la sélection d'un type cultural atypique des souches de FOP (**Kraft, 1995**).

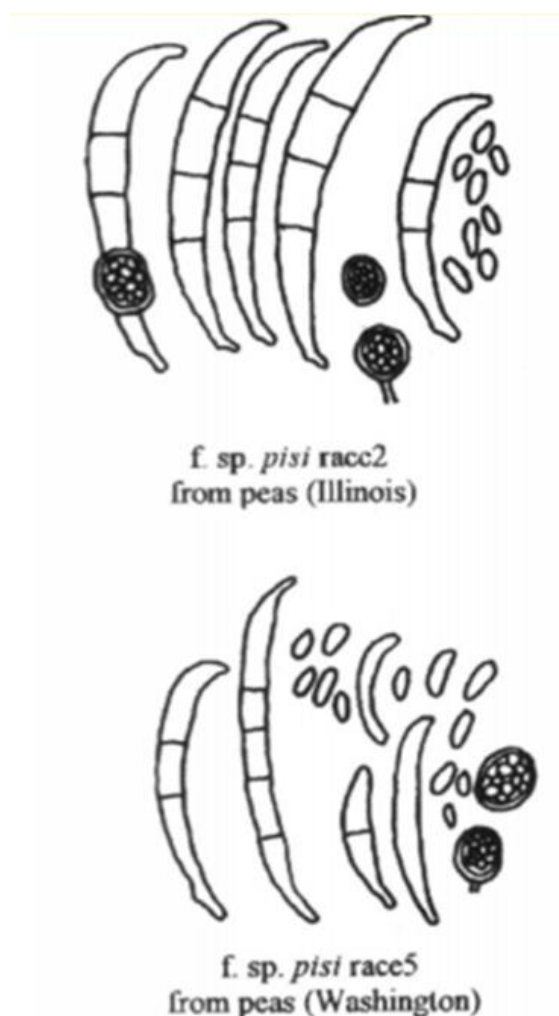


Fig.1-8: *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*. (Smith, 2007).

3-3-4. Interactions hôte- pathogène

Le cycle d'infection du *F. oxysporum* est initié par la germination des spores dans le sol en réponse à des signaux indéterminés dans les exsudats racinaires de l'hôte (**Di-Pietro et al., 2003**). Lors de la germination, les hyphes infectieux adhère

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

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

Il ressort à travers des études antérieures que *F. oxysporum* est un saprophyte du sol et un colonisateur efficace des racines, et infecte les cellules épidermiques de nombreuses plantes non hôtes ou également des plantes résistantes qui ne présentent aucun symptôme.

Beckman (1987) a affirmé que la colonisation vasculaire par les races pathogènes *F. oxysporum* est étendue dans les plantes sensibles mais reste limitée à la partie basale des plantes résistantes. Cette localisation à la base de la plante est aussi observée chez les plantes de Pois (**Kraft, 1995**).

De nombreuses théories ont été avancées pour expliquer la nature de la résistance au flétrissement dans les plantes cultivées, qui peuvent être : des exsudats

racinaires inhibitrices (**Buxton, 1957**), des défenses chimiques de l'hôte qui provoquent l'inhibition de la croissance du pathogène (**Hammerschlag et Mace, 1975; Bell et Mace, 1981; Danko et Corden, 1984**), et des barrières physiques qui retardent ou empêchent l'invasion vasculaire (**Elgersma *et al.*, 1972; Stromberg et Corden, 1980; Beckman et Talboys, 1981; Baayen et Elgersma, 1985**).

Actuellement, quatre gènes sont connus pour conférer une résistance individuelle aux différentes races de FOP. Chacun de ces gènes est indépendant et confère une résistance à une seule race. À ce jour, le seul gène dominant de résistance "Tor" a été utilisé dans le développement de cultivars commerciaux de Pois (**Kraft et Pfleger, 2001**).

4. LA COMPATIBILITE VEGETATIVE

Le phénomène de l'hétérocaryose, chez les champignons, a été initialement mis en évidence par observation directe, au microscope, de l'existence d'anastomoses entre filaments mycéliens. En raison de la difficulté présentée par de telles observations, et de leur caractère aléatoire, divers chercheurs ont tenté d'utiliser le fait que des individus portant des mutations complémentaires pouvaient générer, en cas de fusion mycélienne et donc de compatibilité, un mycélium hétérocaryotique. Néanmoins, des obstacles à l'hétérocaryose existent chez de nombreux champignons et conduisent à la définition des groupes de compatibilité végétative (GCV). Deux souches appartenant au même GCV peuvent fusionner leurs filaments ; deux souches rangées dans des GCV différents sont dites incompatibles et par conséquent ne peuvent fusionner leurs filaments (**Correll *et al.*, 1985**).

La recherche de l'existence de la compatibilité végétative entre souches, permet de déterminer l'existence d'un brassage potentiel de gènes, problème lié à l'évolution des populations et constitue un indice d'une certaine proximité génétique entre souches. Deux souches d'un champignon pathogène sont végétativement compatibles lorsque leurs filaments sont capables de fusionner (**Puhalla, 1985**). La réunion de 2 noyaux différents dans une même cellule (hétérocaryose) permet la

complémentation réciproque de déficiences nutritionnelles portées par chacun des noyaux et éventuellement l'échange de matériel génétique par la voie de la parasexualité. Autrement dit, chez un Champignon imparfait comme le *F. oxysporum*, la compatibilité végétative entre 2 isolats d'origines différentes traduit une proximité génétique relative. L'incompatibilité est en revanche témoin d'un certain isolement génétique.

La notion de GCV, revêt, au plan de la biologie des populations, un intérêt majeur puisque des souches qui appartiennent à des groupes différents, peuvent évoluer indépendamment, même si elles sont géographiquement proches.

Par ailleurs, la caractérisation d'une souche par son appartenance à un GCV, constitue une technique d'identification au sein d'une population hétérogène et offre la possibilité de structurer cette population sur une base génétique. A l'inverse, des souches géographiquement éloignées, mais appartenant au même GCV, peuvent être considérées comme ayant une origine commune (**Puhalla, 1979**). Selon Correll (1991), les facteurs d'incompatibilité sont sous le contrôle d'un certain nombre de *loci* appelés vic (vegetative incompatibility) ou het (heterocaryon incompatibility). Deux filaments compatibles ayant les mêmes allèles de leur "*loci*" fusionnent et forment des hétérocaryons, en revanche, deux filaments incompatibles n'ayant pas les mêmes allèles de leur "*loci*" ne forment jamais d'hétérocaryons.

En 1985, Puhalla a apporté une modification à la technique de **Cove (1973)** et il a utilisé des mutants qui ne réduisent pas les nitrates pour définir les GCV au sein du genre *Fusarium* (Fig.1-9). Des mutants "*nit*" produisent sur milieu amendé de chlorate se sont appariés sur un milieu minimal contenant le nitrate comme seule source d'azote. Des paires complémentaires ont été sélectionnées et utilisées pour tester la compatibilité entre les souches. Cette compatibilité qui se traduit par la formation d'un hétérocaryon au contact de deux souches mutantes, se manifeste par le développement d'une ligne dense de mycélium aérien. Cette zone dense résulte de la fusion des hyphes et de la complémentarité nutritionnelle des cellules hétérocaryotiques (Tab.1-2) (**Correll 1991**).

Initialement, des recherches préliminaires sur le *Verticillium dahliae* Kleb. (Puhalla 1979) puis sur le *F. oxysporum* (Puhalla 1985) ont permis d'observer une corrélation entre pathotypes et GCV. Vingt-une souches appartenant à 14 formes spéciales de *F. oxysporum* ont été classées en 16 GCV. Les isolats d'un même groupe appartiennent à une même forme spéciale et les souches de différentes formes spéciales sont incluses dans différents GCV.

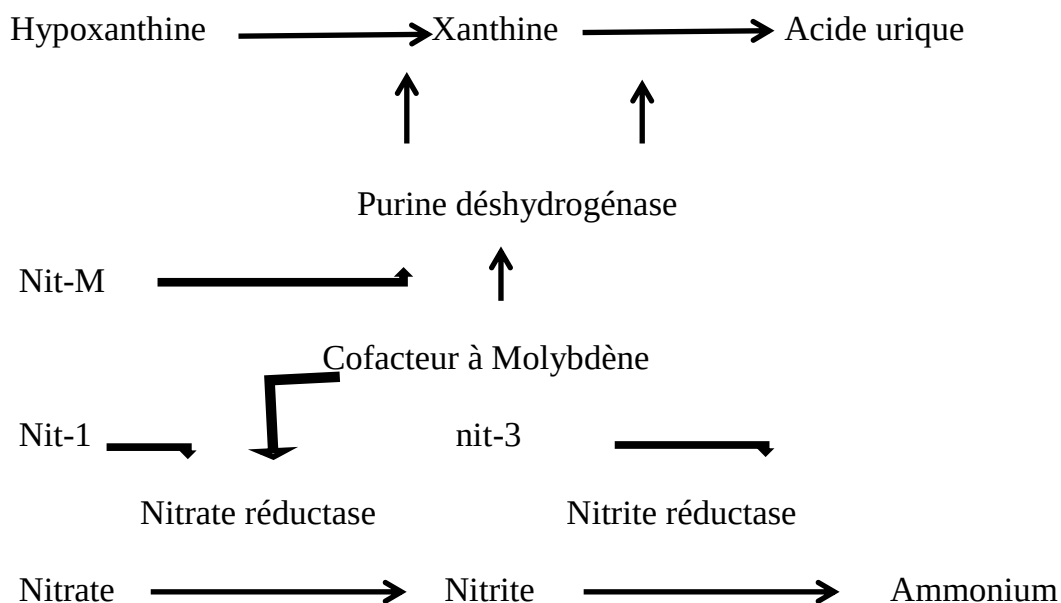


Fig.1-9 : Schéma des voies d'assimilation de l'azote minéral chez *Aspergillus nidulans* et *Neurospora crassa* (Correll *et al.*, 1987).

Tableau 1-2 : Caractérisation des mutants nit sur des milieux contenant différentes sources d'azote (nitrate, nitrite, hypoxanthine).

Nature du mutant	Nitrate	Nitrite	Hypoxanthine	Site de la mutation
Nit-1	R	A	A	Gène de structure de la nitrate réductase.
Nit-3	R	R	A	Gène de régulation de la nitrate et de la nitrite réductase.
Nit-M	R	A	R	Gènes contrôlant la synthèse du cofacteur à molybdène.

A : mycélium aérien dense ;

R : thalle ras, sans mycélium aérien.

Appliquées à 103 isolats de *Fusarium* isolés des crucifères, ces techniques ont permis d'identifier 3 GCV (**Bosland et Williams 1987**); chaque groupe correspond à l'hôte spécifique à partir duquel le champignon a été initialement isolé. Pour d'autre population, les GCV correspondent aux races, la race 3 de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (**Katan et Katan 1988**) et la race 2 de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* appartiennent chaque une à un seul GCV. C'est aussi le cas de *F. oxysporum* f.sp. *apii* pour lequel une corrélation existe entre la dimension des colonies, la virulence et la compatibilité végétative (**Correll et al., 1986**). Les colonies virulentes de petite dimension appartiennent au même GCV que les souches de la race 2, alors que les souches avirulentes de plus grande dimension sont incompatibles à cette race. Une hétérogénéité dans la virulence a été rapportée pour des souches dans d'autres GCV de *F. oxysporum* (**Correll et al., 1985; Elias et Schneider, 1986; Jacobson et Gordon 1988; Ploetz et Correll, 1988**). Si chez les formes spéciales précitées une corrélation semble exister entre les GCV, les pathotypes ou les races, des études menées avec d'autres formes spéciales de *F. oxysporum* ont révélé une relation plus complexe; plus d'une race identifiée au moyen des hôtes différentiels peuvent apparaître dans un même GCV, des isolats d'une même race peuvent appartenir à plusieurs GCV différents. C'est le cas des isolats des races 1 et 6 de *F. oxysporum*

f.sp. *pisi* qui se situent dans un même GCV, alors que les isolats de la race 2 sont inclus dans deux autres GCV (**Correll, 1991**).

Les résultats de Correll (1991), montrent 4 modèles de diversité révélée par l'étude de la compatibilité végétative en relation avec l'appartenance aux races physiologiques chez *F. oxysporum* (Fig.1-10). Chez *F. oxysporum* f.sp. *melonis*, le GCV 0134 correspond à la race 1 et le GCV 0131 correspond à la race 2 de l'agent pathogène (**Zuniga et al., 1997**) (Modèle I). Chez *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, la race A de l'agent pathogène est répartie dans 8 GCV (**Assigbetse, 1994**) (Modèle II). Selon **Nogales-Moncada et al., (1993)**, 7 races de *F. oxysporum* f.sp. *ciceris*, originaires de Californie, de l'Inde et d'Espagne, ont été regroupées dans un seul GCV (Modèle III). Un GCV peut correspondre à une race mais, cette même race peut dans d'autres cas comprendre plusieurs GCV, cas de *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Correll, 1991).

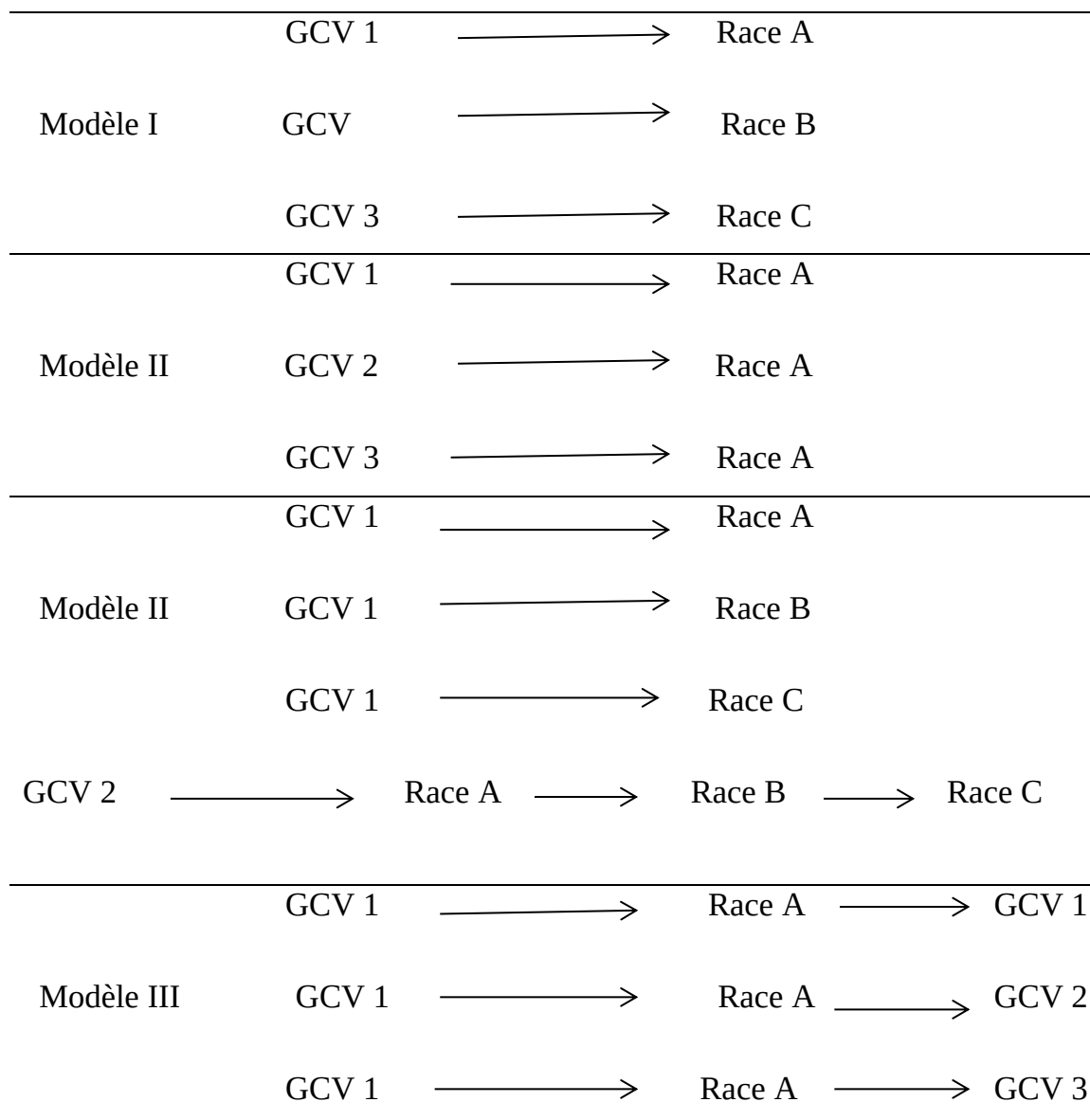


Fig.1-10 : Modèles de diversité révélée par l'étude de la compatibilité végétative en relation avec l'appartenance aux races chez *F. oxysporum* (Correll, 1991).

Dans le cas de *F. oxysporum* f.sp. *pisi*, il se comporte selon 3 models I, II ou III et 4 GCV_s ont été rapportés. Les isolats de la race 1 et 6 appartiennent à un seul GCV, la race 5 est dans un deuxième GCV, et les isolats de la race 2 appartiennent au moins à 2 GCV supplémentaire (**Correll, 1991**). La diversité génétique identifiée pour une forme spéciale donnée peut avoir des conséquences directes sur la sélection pour la résistance. Par exemple, la race 2 appartient à au moins 2 groupes GCV différents, ce qui indique la possibilité de différences de virulence, la survie, etc...

En conclusion, l'élucidation de la diversité génétique des formes spéciales dans les interactions avec la virulence particulière aux génotypes de l'hôte nécessite une étude plus approfondie. Cette technique, couplée avec des techniques moléculaires (**Coddington et al., 1987; Kistler et al., 1997**), devrait faciliter la compréhension des relations de la biologie des populations, de la pathologie et de race (souche) du *F. oxysporum* f.sp. *pisi* (**Kraft, 1995**).

5. METHODES DE LUTTE

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

5-1.Méthodes prophylactiques

La prophylaxie repose sur des moyens directes visant à éloigner ou à combattre l'organisme indésirable en situation de nuire ou sur des mesures indirectes ayant pour objectif de minimiser ou de rendre impossible l'expression de la nuisibilité de l'organisme considéré. Ces mesures occupent une place importante dans la lutte contre les maladies des plantes. Pour empêcher le développement des maladies, les opérations de contrôles doivent être pratiquées avant l'installation de la culture jusqu'à la récolte.

L'utilisation des semences saines récoltées dans des champs ayant été à l'abri de toute contamination ou soigneusement désinfectées, ce qui est considéré comme première mesure préventive et qui permette un certain contrôle de l'inoculum primaire (**Anselm et Ventur, 1969**).

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

Un apport d'une bonne fumure à la plante pour lui donner une certaine vigueur, lui permettant de mieux résister aux maladies (**Bailey et al., 2001**).

Une bonne fertilité du sol est également importante, les engrais verts ont été signalés pour réduire les pertes de la pourriture des racines due au FOP sur des sols lourds (**Donald, 1985**).

Les sols frais sont défavorables au développement de FOP et le semis précoce réduit la sévérité de la maladie (**OEPP/EPPO, 1994**).

L'amendement du sol avec la matière organique à base de paille de blé ou d'orge augmente l'activité antagoniste des microorganismes du sol et réduit par conséquent la fréquence de maladies du sol.

5-2.Méthodes chimiques

Elle repose sur le traitement des semences avant le semis, et la fumigation des sols infestés. Plusieurs produits sont efficaces pour prévenir les fontes de semis et l'antracnose. Ils sont composés de matière active systémique agissant sur le

mycélium présent à l'intérieur du tégument et de matières actives de contact agissant sur le champignon présent à la surface de la graine. Le fongicide systémique est un benzimidazole (carbendazime, thiabendazole, bénomyl...) le fongicide de contact est le captane ou l'oxyquinoléate de cuivre (**Chaude et Foury, 1994**).

La recommandation actuelle est que les traitements de semences de Pois par fongicides systémiques doit être utilisés où les conditions printanières favorisent le développement de la maladie ou lorsque les niveaux d'inoculum sont élevés. Le problème avec ces recommandations est qu'il n'y a pas de moyen facile de déterminer si les niveaux l'inoculum d'une ou de plusieurs des agents pathogènes importants sont élevés dans un champ ou un sol particulier et il est très difficile de prédire ce que les conditions environnementales seront après le semis. Il convient de noter que des travaux plus récents ont montré que les basses températures du sol n'augmentent pas nécessairement la gravité de pourriture des racines et les fontes de semis du Pois de grande culture (**Hwang et al., 2000**). Des recherches au Canada (Saskatchewan) portant sur 13 sites ont montré que dans les situations où les champs n'avaient pas un précédent Pois, il n'y avait aucun avantage à utiliser un traitement de semences à condition que les semences utilisées présentes un petit pourcentage de graines altérées (**Kutcher et al., 2002**).

5-3.Lutte Génétique

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

L'élaboration et le déploiement de cette résistance doit s'appuyer et sur une bonne connaissance de la structure des populations de l'agent pathogène. Cependant l'efficacité de cette lutte génétique peut être à chaque instant entravée par l'apparition de nouvelles races physiologiques. Habituellement, les subdivisions des formes spéciales en races sont basées sur leur virulence vis-à-vis

d'une gamme de lignées de génotypes distincts qui diffèrent par leur degré de résistance à la maladie (**Armstrong et Armstrong 1981**).

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

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

5-4.Lutte biologique

L'impact des effets néfastes sur l'environnement suite à l'utilisation des pesticides chimiques (apparition de souches résistantes et accumulation de résidus de pesticides) ont mené à une plus grande conscientisation autant chez les producteurs que chez les consommateurs (**Nelson et Powelson, 1988 ; Malathrakis, 1989 ; Roberts, 1990**).

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

L'effet des exsudats des racines de Pois sur l'antagonisme de certains micro-organismes de la rhizosphère en vers *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* à contribuer considérablement dans leur capacité à inhiber les effets pathogènes du *Fusarium* (**Buxton, 1960**). Une souche de *Clonostachys rosea* (syn. *Gliocladium roseum*), a été identifiée comme un mycoparasite contre le complexe de la pourriture racinaire du Pois, causé par *Alternaria alternata*, *Aphanomyces euteiches*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, *F. solani* f. sp. *pisi*, *Mycosphaerella pinodes*, *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, et *Sclerotinia sclerotiorum*. (**Xue, 2003**).

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

Les bactéries sont souvent sélectionnées pour leur production d'antibiotiques, les *Bacillus subtilis* sont les plus fréquemment utilisée (**Olson, 1968**) et l'utilisation de *Pseudomonas fluorescens* *migula* vis à vis des populations de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (**Guerra, 2011**).

5-5.Lutte biologique par utilisation de souches de *Fusarium* non Pathogènes

Le sol, est un milieu vivant, colonisé par des agents pathogènes mais aussi de très nombreuses populations microbiennes aux effets bénéfiques pour les cultures. Il est rapidement apparu qu'en absence d'une microflore saprophytique jouant le rôle de tampon microbien, ces substrats de culture peuvent être rapidement infestés par des champignons pathogènes.

La première étape pour développer un procédé de lutte biologique basé sur l'activité d'une souche microbienne déterminée consiste à sélectionner une souche efficace vis-à-vis de la cible choisie.

5-5-1.Sélection de souches de *Fusarium* non pathogène

Les différences mineures dans la morphologie des différentes espèces de *Fusarium* sp. du sol rend l'identification, une tâche de sélection difficile, aussi les différences dans les conditions culturales peuvent provoquer des variations dans les espèces de *Fusarium* sp. (**Doohan, 1998**). Les souches non pathogènes de *F. oxysporum* ont d'abord été isolé à partir des sols suppressifs (**Smith et Snyder, 1971 ; Alabouvette, 1990 ; Larkin et al., 1996**). Ils sont présents également dans la rhizosphère des plantes et le rhizoplan, sans induire des symptômes (**Elias et al., 1991. ; Olivain et Alabouvette 1999 ; Kaur, 2003 ; Kaur et al ., 2007**). Du point de vue morphologique, il est impossible de distinguer les souches de *F. oxysporum* pathogènes de plantes et les saprophytes utilisées en lutte biologique (**Fravel et al ., 2003**). Pour sélectionner les isolats pathogènes et non pathogènes de *F. oxysporum* une méthode d'analyse biologique a été suggérée par **Robert et Kraft (1971)**. Outre cela un système de classification en utilisant les groupes de compatibilité végétative (GCV) entre la *F. oxysporum* souches a été prévu (**Puhalla 1985**) sur la base de l'appariement des mutants qui ne réduisent pas les nitrates.

5-5-2.Mode d'action des *Fusarium* non pathogènes

Les deux principaux mécanismes d'action associée aux *Fusarium* non pathogène sont : la résistance systémique induite (ISR) et la concurrence.

La concurrence peut encore être classé en : concurrence saprophytique pour les éléments nutritifs dans le sol et la rhizosphère et de la concurrence parasitaire pour les sites d'infection sur les racines. Le mécanisme d'action de l'antagoniste peut fournir beaucoup de perspicacité dans le lieu et le moment où se produit l'interaction, la façon dont l'agent pathogène est affectée et comment l'antagonisme doit être mis en œuvre.

Résistance systémique induite (ISR) : il existe des interactions qui se manifeste via la plante, ces mécanismes ont été décrites, il y a fort longtemps sous le terme de prémunition ou résistance croisée (**Komada, 1975**). Dans le cas de la fusariose vasculaire, il a été établi que l'inoculation d'une plante sensible d'une souche non pathogène de *Fusarium oxysporum* ou d'une souche incompatible se traduit par un allongement de la phase de latence et une réduction de l'indice de la maladie lorsque la plante hôte est ultérieurement inoculée avec une souche pathogène compatible (**Matta, 1989**). La résistance induite a été considérée comme un mécanisme qui pourrait être responsable du contrôle de la maladie induite par *F. oxysporum* non pathogène. Une manière simple de démontrer qu'il s'agit d'un phénomène de résistance induite chez les plantes consiste à utiliser un dispositif expérimental qui interdit tout antagonisme direct entre les microorganismes. C'est ainsi qu'il a été démontré que certaines souches de *F. oxysporum* induisaient la résistance à la fusariose vasculaire (**Fravel et al ., 2003**). *F. oxysporum* possèdent la capacité à stimuler les mécanismes de défense de la plante .Les recherches se focalisent sur les voies de signalisation qui conduisent à la stimulation des gènes de défense, l'objectif est de manipuler les microorganismes ou les plantes pour amplifier cette résistance (**Alabouvette et al., 2009**).

La concurrence : Les populations microbiennes présentent dans la rhizosphère profitent des exsudats racinaires et colonisent les racines (**Goddard et coll. 2001**). Les microbes qui interviennent dans l'environnement de la rhizosphère pourraient aussi utiliser les composés mineurs des rhizodépôts (hormones, flavonoïdes, composés phénoliques) comme signaux qui guident leurs mouvements vers la surface racinaire et élicitent les changements dans l'expression de gènes appropriés à cet environnement (**Bauer et Caetano-Anolles, 1990**).

La concurrence saprophytique pour les éléments nutritifs dans le sol et la rhizosphère : la concurrence pour les éléments nutritifs est un phénomène général régissant la dynamique des populations de micro-organismes qui partagent la même niche écologique et ayant les mêmes besoins physiologiques lorsque les ressources sont limitées.

La concurrence pour les éléments mineurs se produit aussi fréquemment dans le sol. Par exemple, la concurrence pour le fer est l'un des modes d'action par lequel les sidérophores produits par *Pseudomonas sp.* limite la croissance des champignons pathogènes et réduit l'incidence ou la gravité de la maladie (**Schippers et al., 1987**; **Bakker et al., 1991** ; **Loper et Henkels, 1997**). En outre, la concurrence pour le fer, les *Pseudomonas sp.* améliore l'effet antagoniste de la souche Fo47 en rendant l'agent pathogène plus sensible à la concurrence pour le carbone, l'association des deux espèces rend la lutte plus efficace (**Lemanceau et al., 1992**; **Lemanceau et Alabouvette, 1993**).

La concurrence pour les sites d'infection à la surface de la racine : Les deux souches pathogènes et non pathogènes sont capables de coloniser la surface de la racine et à pénétrer dans la racine. Il a été donc proposé que la concurrence pour les sites d'infection puisse se produire. **Mandeel et Baker (1991)** ont postulé que la surface de la racine a un nombre défini de sites d'infection qui peuvent être protégés par augmentation de la densité de l'inoculum de la souche non pathogène. Malheureusement, le terme «sites d'infection » est plutôt mal défini : peuvent correspondre à des sites d'attachement, de colonisation, ou de pénétration ?

Recorbet et Alabouvette (1997) ont montré que les conidies se lient rapidement à la surface de la racine. L'attachement étant décrit avec précision en termes de l'adsorption isotherme de Langmuir, indiquant l'existence d'une seule catégorie de sites d'adhérence spécifiques de haute affinité sur la surface de la racine. Il y a un nombre infini de sites d'infection qui sont protégés par l'augmentation de la densité de l'inoculum de souches non pathogènes (**Mandeel et Baker, 1991**). Plusieurs autres études ont également été menées pour démontrer que les souches pathogènes et non pathogènes étaient en compétition pour la colonisation des racines (**Ogawa et Komada 1984 ; Éparvier et Alabouvette, 1994 ; Hervas et al., 1997 ; Benhamou et Garand, 2001**).

La plupart des auteurs considèrent que les souches pathogènes de *F. oxysporum* sont nécrotrophes, mais quelques études ont fourni des preuves qu'il existe une phase limitée de biotrophie (**Rodriguez – Galvez et Mendgen, 1995 ; Baayen et Forch, 2001**). Les souches non pathogènes de *F. oxysporum* sont souvent considérés comme des endophytes, mais leur croissance dans la racine est arrêtée par les réactions de défense des plantes. Leur présence est limitée aux couches superficielles, où il n'y a pas de preuve que le champignon tue les cellules pour tirer les nutriments. Au contraire, plusieurs études ont rapporté la présence des hyphes dégénérés. Sur la base de ces observations, il est difficile de déterminer si les souches de *F. oxysporum* sont biotrophes ou nécrotrophes ; leur comportement peut dépendre de la souche, la plante et / ou les conditions environnementales (expérimental) (**Alabouvette, 2009**).

5-5-3. Formulations de *F. oxysporum* non pathogène

Une fois un agent de lutte biologique est sélectionné sur la base de son potentiel in vitro et in vivo, la production de la biomasse et de la formulation appropriée devient la préoccupation majeure (**Lumsden et Lewis, 1989**). La réussite du bio contrôle dépend de la présence de l'agent de lutte biologique livré au bon endroit, au bon moment, dans l'état physiologique approprié. En plus de ces considérations, l'application doit être compatible avec le système de production

(Minuto *et al.*, 1997a.,b ; Fravel *et al.*., 2003). La formulation peut être appliquée en tant que traitement des semences et traitement des sols. Pour la formulation de la biomasse de l'antagoniste sous une forme appropriée est une autre étape importante pour le succès de la lutte biologique. La formulation doit être facile à manipuler et à livrer sur le site de l'action. Le talc, le charbon de bois et chem-sorb sont couramment utilisées comme supports inertes pour la préparation de la formulation de *Fusarium* non pathogène (Steinberg *et al.* , 1997 ; Kaur, 2003). Une formulation de microgranules réalisés enrichis avec une base alimentaire a fourni un meilleur taux de survie et une meilleure efficacité de la lutte biologique de la formulation de talc traditionnel utilisé dans le laboratoire. La modification de la formulations de *Fusarium* non-pathogènes avec fumier de ferme a également renforcé le potentiel de lutte biologique contre la fusariose vasculaire du pois chiche (Singh *et al.*, 2002).

CHAPITRE II : PRINCIPALES MALADIES DU POIS DANS L'OUEST ALGERIEN

1. INTRODUCTION

En Algérie, les légumineuses alimentaires occupent une place importante dans le système agricole et l'agroéconomie du pays, elles revêtent une importance particulière pour l'agriculture en constituant un bon précédent cultural pour les céréales par l'enrichissement des sols en azote, leurs adaptation aux conditions pédoclimatiques difficiles ainsi que leurs faible exigences culturales (**Laumonier, 1972**) et dans l'alimentation de la population algérienne; riches en protéine elles constituent une substitution de taille à la consommation des céréales (**Saxena, 19888; ICARDA, 1989**).

Malgré l'augmentation des surfaces de Pois (28% des surfaces consacrées aux légumineuses) la production reste en deçà des besoins nationaux alors que les rendements fluctuent d'année en année et d'une région à l'autre, entre un minimum de 3,4 qx/ha en 2000 et un maximum de 13.22 qx/ha en 2012 de Pois sec (**Statistique agricole, 2013**). Cette faible production a pour cause l'absence de prise en charge de cette culture au niveau technique et de la protection phytosanitaire. L'Algérie qui cherche à réhabiliter cette légumineuse ambitionne d'augmenter les surfaces occupées. Cependant cette culture n'a pas fait l'objet de prospection ayant aboutie à des rapports d'inventaire liés aux contraintes biotiques. En effet les risques sanitaires sont multiples et jusqu'à présent mal connus, avec absence des estimations des pertes qui leur sont relatifs.

L'inventaire des maladies des cultures revêt un intérêt primordial à tout programme de protection phytosanitaire. Dans cette optique notre travail a pour objectifs de diagnostiquer la situation actuelle et les résultats obtenus peuvent être utilisés pour élaborer des stratégies de contrôle plus efficaces.

2. MATERIEL ET METHODES

2-1. Prospection et prélèvement des échantillons

Les prospections ont été effectuées dans quatre zones agro climatiques différentes dans l'ouest algérien couvrant 10 wilayas (Tab.2-1., Fig.2-1).

- Plaines côtières : Mostaganem et Ain temouchent
- Plaines intérieures : Mascara, Sidi Belabes, Relizane, Chlef et Tlemcen
- Hauts plateaux : Tiaret et Saida
- Sahara : Adrar

Quatre vingt quatre champs de Pois ont été prospectés au cours des campagnes agricoles : 2007, 2008, 2009, 2010 et 2011 et à différents stades phénologiques de la plante (stade plantule, floraison–formation des gousses). Ces prospections avaient pour objectif d'évaluer l'importance des maladies du Pois par le calcul de leurs fréquences.

A partir de chaque champ, dix plantes malades prises au hasard, sont prélevées entièrement à la main et introduit séparément dans des sachets en papier portant des renseignements concernant le stade végétatif de la plante, les précédents culturaux, les variétés cultivées, la date du prélèvement et le site du prélèvement (Tab.2-2).

Au niveau de chaque site, les différents symptômes sont décrits et le pourcentage des plants malades est évalué. La détermination de Fréquence d'attaque est exprimée par le pourcentage de plantes malades par rapport au nombre total de plantes.

$$\text{Fréquence d'attaque (\%)} = \frac{\text{Nombre de plantes malades}}{\text{Nombre total de plantes}} \times 100$$

Les échantillons sont conservés à 5°C pour être analysées par la suite au laboratoire.

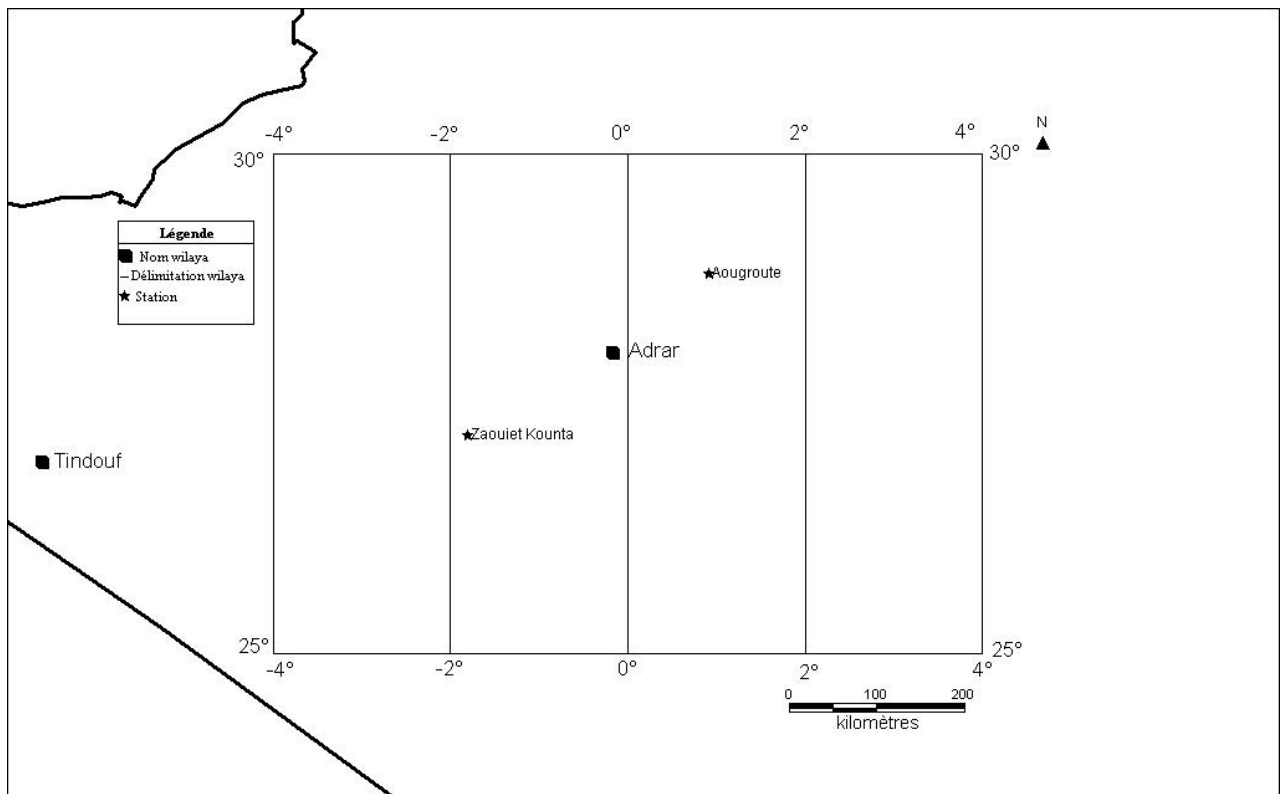
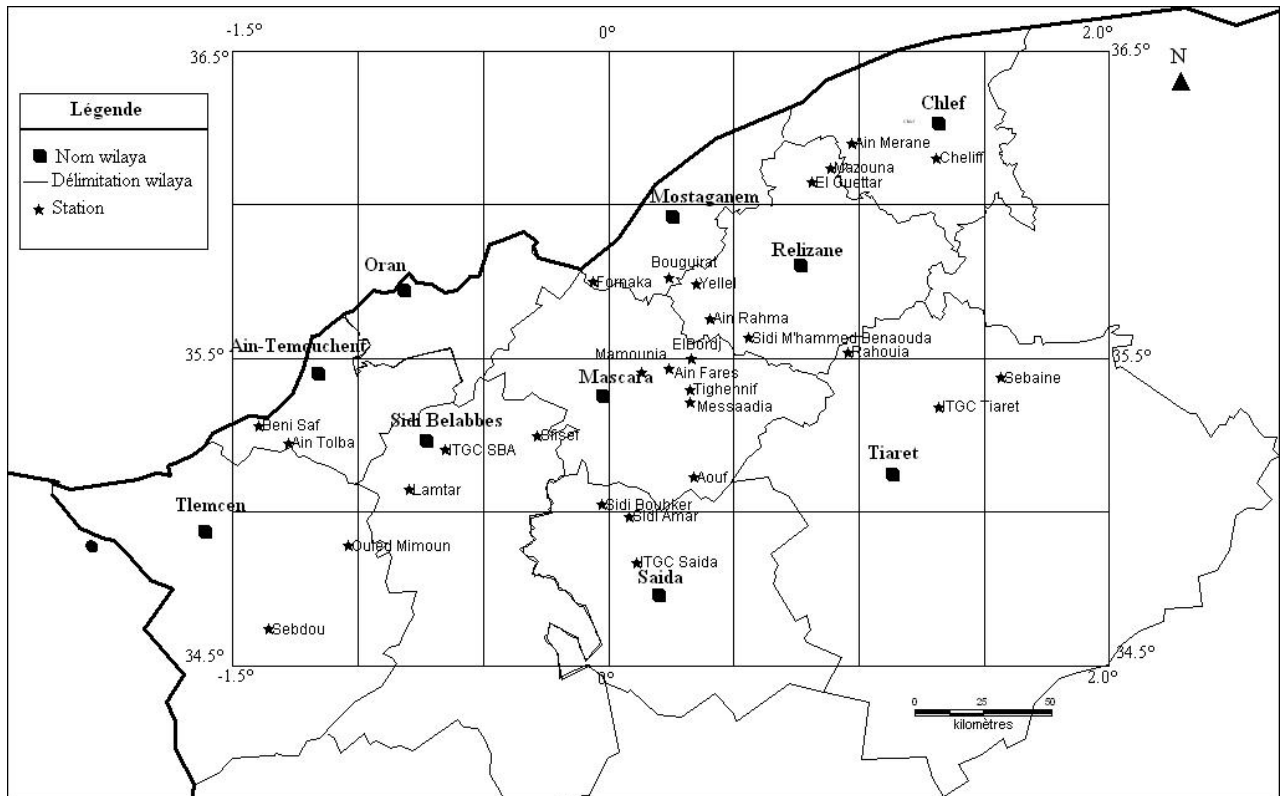


Fig.2-1 : Sites de prospections au niveau de l'ouest Algérien.

Tableau 2-1 : Caractéristiques climatiques des zones de prospection (moyenne des mois de Janvier à Juin pour les années 2007, 2008, 2009 et 2010) (ONM, 2011).

Régions/Départements		Altitude (m)	Pluvio (mm) Moy.	Température (°C)			Année
				Min.	Moy.	Max.	
Plaines côtières	Mostaganem	104	26.50	10.78	15.76	17	2009
	Ain temouchent	250	29.94	-	12.50	-	2010
Plaines intérieures	Mascara	600	32.08	8.38	14.45	21.13	2007
			22.24	7.73	14.75	22.23	2008
			42.54	8.36	14.96	21.75	2009
	Sidi Belabes	470	19.31	7.15	16.46	22.73	2007
			17.02	7.28	16.58	22.70	2008
			37.25	7.61	16.36	21.61	2009
	Relizane	560	42.12	10.83	15.7	24.3	2007
			17.36	10.81	18.98	24.70	2008
			56.52	9.1	-	28.38	2009
	Chlef	143	42.52	11.37	17.2	23.4	2009
	Tlemcen	247	36.96	10.73	16.10	22.35	2010
Hauts plateaux	Tiaret	1023	52.78	5.26	18.76	21.1	2009
Sahara	Adrar	263	0	17.1	29	34.1	2010

Tableau 2-2 : Origine des sites et date de prélèvement des échantillons.

Régions	Wilayas	Site de Prélèvement	Nbre de champs prospectés	Variété cultivée	Année de prospection
Plaines côtières	Ain Témouchent	Ain Tolba	05	Merveille de Kelvidon	2010, 2011
		Beni saf	04	Merveille de Kelvidon	
	Mostaganem	Boughirat	02	Merveille de Kelvidon	2009
		Farnaka	02	Merveille de Kelvidon	
		Anonyme	02	Inconnue	2007
Plaines intérieures	Mascara	Tighennif	03	Grand vert	2007, 2008, 2009
		Elbordj	03	Merveille de Kelvidon	
		Mamounia	02	Grand vert	
		Ain Fares	03	Merveille de Kelvidon	
		Ouled aouf	01	Clause 50	
		Messaâdia	01	Clause 50	
	Sidi Belabbès	ITGC	02	Grand vert	2007, 2008, 2009, 2011
		Lamtar	03	latcha	
		Sfisef	03	Grand vert	
	Relizane	S.Mhammed Ben Ali	03	Merveille de Kelvidon	2007, 2008, 2009
		Mazouna	02	Onward	
		Elgattar	02	Onward	
		Yallel	02	Merveille de Kelvidon	
		Ain Errahma	02	Inconnue	
		Ain Mrane	03	latcha	2009

Principales maladies du Pois dans l'ouest Algérien

	Chliff	Chlef	03	latcha	
		Anonyme	04	Inconnue	
	Tlemcen	Ouled Mimoun	04	latcha	2010
		Sebdou	04	latcha	
Hauts plateaux	Tiaret	ITGC	02	Grand vert	2009
		Sebaïne	03	latcha	
		Rahouia	03	latcha	
	Saida	ITGCSaida	01	Grand vert	2008
		Sidi Boubkar	02	Inconnue	
		Sidi Amar	02	Inconnue	
Sahara	Adrar	Aougroute	03	Grand vert	2009
		Zaouiet Kounta	03	Demchi	

2-2. Les variétés fréquemment cultivées en Algérie

- **Merveille de Kelvidon** : très vigoureux et productif, hauteur est de 0.45m. Gousses verts foncés, minces, grains verts ridées, très sucrés, Le poids de 1.000 grains est de 470 à 490 g, sensible à *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*
- **Latcha** : variété locale productive et vigoureuse
- **Grand vert** : très vigoureux et productif.
- **Onward** : maturation tardive, Sa hauteur est de 50 à 90 cm, gousses et grains verts, Le poids de 1.000 grains est de 570 à 590g, résistant à la race 1 du *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*.
- **Clause 50** : variété de deuxième saison à rendement important. Grain vert rond de très bonne qualité. Plante de 0.45m de hauteur.
- **Demchi** : variété locale de Pois cultivée dans la wilaya d'Adrar.

2-3. Milieux de culture utilisés

Les milieux de cultures utilisés sont choisis selon les besoins expérimentaux. La composition des différents milieux de culture est mentionnée dans l'Annexe 2

- le milieu PDA contenant un antibiotique (100µg /ml) pour éliminer les bactéries (**Nina et al., 2000**). Ce milieu favorise une sporulation abondante pour les champignons (**Champion, 1997**).
- Le milieu Czapeck utilisé pour l'isolement de certaines espèces de la mycoflore du sol (**Rapilly, 1968**).
- Le milieu GN "gélose nutritive" pour la culture des bactéries (**Guirand et Galzy, 1980**)
- Le milieu sélectif : il a été choisi pour la sélection des actinomycètes (**Aghighi et al., 2004**).
- Le milieu Hogland, un milieu hydroponique utilisé pour la culture des plantules de Pois (**Hoagland et Anon, 1938**), c'est un milieu qui favorise le développement de la plante et l'agent pathogène.

Les manipulations doivent être effectuées sur une surface non poreuse, désinfectée, dans un endroit du laboratoire à l'abri de courant d'air, les précautions sont nécessaires car le milieu de culture non sélectif utilisé permet la croissance de plusieurs microorganismes trouvés dans l'air et sur les surfaces de travail d'un laboratoire (**Davet et Rouxel, 1997**). Les milieux de culture sont coulés dans les boîtes de Pétri de 9cm de diamètre à raison de 18 ml chacune.

2-4.Méthodes d'isolement et de purification

2-4-1.Isolement à partir des racines, des tiges et des feuilles des plantes

Après lavage, les racines sont coupées en fragments de 0.5 cm. Ce matériel est désinfecté à l'hypochlorite de sodium à 2% pendant 3 min, rincé plusieurs fois à l'eau distillée stérile, séché entre du papier filtre puis placé dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA (4 à 8 fragment/boîte). L'incubation se fait à 22 °C pendant 7 jours.

Pour les tiges et les feuilles des plants, elles sont découpées en fragments de 7.5 cm, désinfectées, rincées puis séchées entre du papier filtre et placées dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA. Les boîtes sont incubées à 25°C pendant 7 jours.

L'isolement du parasite peut se faire aussi directement à partir d'organes (feuilles, tiges,...) contaminés et présentant des fructifications aux champs.

Sous la loupe binoculaire, à l'aide d'un fil ou d'une pipette Pasteur très étirée, quelques spores sont prélevées, qui peuvent être observé directement sous microscope ou déposées sur milieu PDA en boîtes de Pétri (**Rapilly, 1968**).

2-4-2.Isolement des microorganismes à partir de la rhizosphère

La rhizosphère est divisée en trois zones : Zone A c'est le sol qui se détache des racines, Zone B c'est le sol adhérent à la racine, Zone C c'est la racine même.

Deux principales techniques ont été employées pour l'isolement des microorganismes à partir de la rhizosphère.

- **La première technique** repose sur la préparation des dilutions qui consiste tout d'abord à ajouter 10g de terre à partir de les deux zones A et B du même échantillon à 90 ml d'eau stérile puis agiter vigoureusement pendant 30 secondes. Ceci constitue la dilution mère, effectuer les dilutions suivantes en prélevant aseptiquement 10 ml de cette dilution pour l'introduire dans 90 ml d'eau stérile en suite agiter vigoureusement puis on obtient les dilutions 1,2,...jusqu'à 6. Pour réaliser les différents prélèvement, la pipette doit être changé entre chaque dilution et le prélèvement d'une portion de l'échantillon avec une pipette doit s'effectuer en plongeant celle-ci à environ 2,5 cm sous la surface du liquide (**Singelton et al., 1992**). 1 ml de la dilution mère, et les dilutions 10^{-2} , 10^{-4} et 10^{-6} est étalé à la surface de boîtes de Pétri contenant les milieux PDA, Czapeck, GN et le milieu sélectif pour les actinomycètes.
- **la deuxième technique** effectuer dans la zone C, consiste à découper des échantillons en petit fragments (5 mm), ces fragments sont ensuite désinfectés à l'hypochlorite de sodium 5% pendant 3 à 5 minutes, puis rincés soigneusement dans trois baignoires à l'eau distillée stérile en suite séchés entre deux feuilles de papier filtre stérile et déposés sur différents milieux de culture à raison de 4 à 5 fragments par boîte, puis sont mises à incuber dans les mêmes conditions.

Après un temps d'incubation spécifique pour chaque type de microorganisme, nous avons dénombré les colonies apparues, puis on isole chacune d'elles. Par la suite, nous avons réalisé des repiquages afin de les purifier.

Les boîtes sont ensuite incubées à $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 7 à 10 jours pour les champignons (**Rapilly, 1968**) et à 26°C pendant 24 à 48 heures pour les bactéries.

La microflore rhizosphérique est estimée par le pourcentage total de la fréquence qui a été calculé par la méthode de **Noveriza et Quimio, (2004)**, en utilisant le rapport suivant :

$$\text{Fréquence d'isolement (\%)} = \frac{\text{Nombre d'isolement de l'espèce donné}}{\text{Nombre total d'isolats}} \times 100$$

2-5.Purification des isolats et culture monospore

2-5-1.Purification des champignons

Les colonies des champignons ont été préalablement purifiées. Nous avons effectué des repiquages successifs, par fragment de culture ne présente aucune contamination des conidies sur milieux de culture afin d'assurer un bon développement mycélien puis incubés à 20-25°C (**Rapilly, 1968**).

2-5-2.Purification des bactéries

La purification des bactéries, a été réalisée par la méthode de stries ; Nous avons prélevé la colonie bactérienne et à l'aide d'une anse stérile ensemencée sur milieu GN puis incubée aux températures favorables, Dans le cas des actinomycètes, la purification a été réalisée par la même méthode mais sur un milieu sélectif (**Agrios, 2005**).

2-5-3.Culture monospore

Pour étudier la variabilité culturale et pathogénique des isolats, il est nécessaire de réaliser des cultures monosporales. La culture monospores consiste à obtenir une culture pure à partir d'une spore de champignon (**Rapilly, 1968**).

Dans une boîte de Pétri contenant une culture pure âgée de 7 à 10 jour, 10 ml d'eau distillé stérile sont versées. Après grattage à l'aide d'une pipette pasteur coudé stérile, la suspension recueilli est filtrée sur de la gaze pour éliminer les fragments de gélose et de mycélium. 1ml est prélevé et introduit dans un tube à essai contenant 9ml d'eau distillé stérile.

La concentration est déterminée avec un hématimètre de Thomas puis ajustée jusqu'à 20 spores/ml. Environ 0.5ml est prélevé et déposé aseptiquement dans une boîte Pétri contenant un milieu organique (P.D.A).

Ces boîtes sont incubées à température ambiante pendant 24h à 48h et à l'aide d'une pipette pasteur effilée et sous la loupe binoculaire. Les spores germées sont repérées, prélevées et remises en culture sur des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture (**Johnston *et al.*, 1983**).

2-6. Identification des microorganismes

2-6-1. Identification des champignons

Les isolats fongiques sont identifiés par une étude macroscopique des caractères cultureux sur milieu PDA et une étude microscopique des caractères morphologiques des cultures par observation au microscope photonique

L'examen direct au microscope photonique d'un fragment de culture de champignon âgé de 5 à 7 jours entre lame et lamelle, dans une goutte de bleu de méthylène permet d'observer l'aspect microscopique des échantillons.

2-6-2. Caractérisations morphologiques des isolats

L'identification repose sur une observation globale des caractères cultureux intégrant à la fois les caractéristiques culturelles (pigmentation, aspect du mycélium et fructification) et l'observation microscopique.

Le mycélium des colonies présente un aspect variable. Le mycélium est " aérien " quand les hyphes se dressent verticalement à quelques millimètres au-dessus de la gélose. Le mycélium est " ras " lorsqu'il colonise la surface du milieu et que la croissance est radiale. Entre ces deux extrêmes, il existe des formes intermédiaires.

La régularité de la marge : la croissance de la colonie en boîte de Pétri n'est pas toujours uniforme si elle est identique en tout point du front de croissance. La marge est " régulière " ; s'il existe des zones où la croissance est plus rapide, la marge est " irrégulière ".

- **Examen microscopique**

Les observations morphologiques sont extrêmement importantes, car elles permettent, en se basant sur les caractères du mycélium et sur le type de spores (spores obtenues par voie végétative ou non), de distinguer les divers groupes de champignons. Les caractères que l'on note portent sur le mycélium (cloisonné ou non, coloré ou non) et sur l'appareil fructifère sur les spores (formes, cloison).

Toutes ces observations morphologiques sont complétées par des mensurations (longueur et largeur des spores). La biométrie est en effet indispensable pour distinguer les espèces parfois même les genres. Elle permet d'apprécier, en fonction du grossissement utilisé les dimensions des spores et de tous les organes des champignons.

- **Culture des isolats sur lames**

Cette méthode permet une bonne observation microscopique de la morphologie du champignon et l'insertion des conidies et spores sur filaments mycéliens (**Rapilly, 1968**). Une goutte de milieu P.D.A. liquéfié est mise aseptiquement sur lame en verre, puis on la couvre d'une lamelle, les ensemencements se font au bord des lamelles. Ces cultures sont mises en boîtes de

Pétri stériles renfermant un disque de papier filtre imbibé par de l'eau distillée stérile pour maintenir une humidité favorable au développement du champignon.

Après deux à trois jours d'incubation à température ambiante, les observations microscopiques peuvent être effectuées.

2-6-3. Identification des différents isolats

- **Identification des champignons**

L'identification des champignons isolés a été réalisée en se basant sur la documentation suivante :

- Illustrated Genera of Imperfect Fungi. (**Barnett *et al.*, 1972**).
- Les Maladies des Plantes Maraîchères (**Messiaen *et al.*, 1991**).
- Clés d'identification des champignons rencontrés sur les plantes maraîchères (**Riuet, 1985**).
- The Genus Fusarium Key (**Booth, 1971**).
- The Fusarium Laboratory Manual (**Leslie *et al.*, 2006**),
- Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: morphologies of cultured fungi and key to species (**Watanabe, 2002**),

- **Identification des bactéries**

L'identification repose dans un premier temps sur une étude macroscopique des caractères cultureux sur milieu GN pour la différenciation entre les différents aspects des colonies, la couleur, la forme et les contours et dans une seconde étape, un examen microscopique des caractères morphologiques des colonies qui se fait à partir d'une culture âgée de 24 à 48 heures passées à la coloration de Gram, et les tests biochimiques.

La coloration de Gram : La coloration de Gram est la base de l'identification d'une souche bactérienne. Au terme du processus de coloration, les bactéries dites

« Gram Négatives » apparaissent roses tandis que les bactéries dites « Gram Positives » sont colorées en bleu foncé/violet. Les bactéries Gram négatives ont une paroi plus fine que celles à Gram positives. De plus, cette paroi est très riche en lipides (membrane externe de la paroi) dans laquelle l'éthanol est fortement soluble.

Les tests biochimiques : Ces tests sont effectués par la galerie API 20E qui est une version miniaturisée des tests biochimiques classiques destinés à l'identification des Enterobacteriaceae (bactéries Gram négatif et anaérobies facultatives). Ce système regroupe 23 tests biochimiques. Des substrats déshydratés sont contenus dans des microtubes. Ces substrats sont mis en solution grâce à l'addition d'une suspension de la bactérie à identifier. A la suite d'une période d'incubation (24 heures à 30 °C), Permettant à la bactérie de réagir avec les substrats, les réactions se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

L'inoculation d'une galerie API 20^E se fait à partir d'une culture pure de 18 à 24 heures, faire une suspension bactérienne ayant une concentration de 10⁸ bactéries/ ml dans 5 ml de saline stérile (Na Cl à 0,85%) à un pH entre 5,5 et 7.

La technique d'inoculation des galeries est décrite dans le tableau A2-1 et la lecture des réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (Tab.A2-2). L'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification (**Ishimaru et klos ,1984**).

Pour les Actinomycètes l'examen se fait d'une culture âgée de 24 à 28 heures, après avoir réalisé un frottis sur lame et passage à la coloration de Gram.

2-6-4.Conservation des isolats

Les cultures pures sont conservés dans des tubes à essai inclinés contenant le milieu de culture après une incubation de 3 à 5 jours puis conserver à basse température (+4°C); le PDA pour les champignons (**Rapilly, 1968**), GN pour les bactéries (**Ishimaru et klos, 1984**), et les isolats des Actinomycètes sont conservées sur des géloses inclinées avec un repiquage tous les deux mois (**Hilali et al., 2002**).

3. RESULTATS

3-1. Recensement des maladies du Pois dans les régions prospectées

Les prospections effectuées sur près d'une centaine de champs de Pois au niveau de 10 wilayas de l'ouest Algérien ; nous ont permis de relever des observations assez importantes du point de vue qualitatif et quantitatif (Tab.2-3).

Des différences significatives des fréquences des maladies fongiques affectant la culture sont observées entre les stades végétatifs de la plante et les régions, nous avons remarqué une augmentation des pourcentages des maladies dans toutes les zones avec l'âge de la plante. Les plaines côtières sont les plus exposées aux Ascochytes (46% à Mostaganem), la culture au niveau des plaines internes est vulnérable au jaunissement- flétrissement (33,98% à Relizane) et aux oïdiums (23.34 % à Mascara) en ce qui concerne les Haut plateaux le symptôme le plus répandu c'est la Pourriture racinaire (45.2% à Tiaret). Le Mildiou reste la maladie la moins répandue pour toutes les zones visitées. La région de Mostaganem est la plus infestée avec une moyenne de 13.56% stade plantule et 21.45% stade adulte tandis que la wilaya d'Adrar est la moins exposée avec une moyenne de 4.37% (Tab.2-3). Les observations sont portées essentiellement sur les symptômes visibles aux champs dont les principales sont :

I- Symptômes foliaires

1-L'ascochytes : Les anthracnoses font partie des maladies courantes sur Pois. Elles sont dues à deux champignons, *A. pisi* et *A. pinodes*, qui sont transmis par les semences et disséminés par voie aérienne (vent, pluie). Les attaques peuvent survenir sur l'ensemble du cycle, notamment lorsque les températures avoisinent 15- 20°C avec une humidité saturante. Durant les prospections, des lésions sont observées sur les feuilles, les tiges et les gousses (Planche 2-2). À l'intérieur des lésions les pycnides sont visibles aisément. Un deuxième type de taches sont présentes sur toutes les parties de la plante y compris sur les racines ; elles sont plus

petites, rapprochées les unes des autres et de teinte foncé. Sur la tige, de larges macules brunes violacées affectent le bon développement de la plante, leur fréquence est moins élevée que les premières. Cette maladie est présente dans tous les champs visités dès le stade plantule, elle est plus fréquente dans les sites ayant reçues une forte pluviométrie ou irriguée et évolue d'une saison à l'autre en fonction du climat. La moyenne des fréquences de la maladie au niveau de l'ouest Algérien varie de 7.97% stade plantule à 46% au stade floraison-formation de gousse. Le pourcentage le plus élevé est enregistré au niveau de la wilaya de Mostaganem qui est une région côtière à culture précoce par rapport aux autres régions. La fréquence la plus faible (2.55%) est observée au niveau de la wilaya d'Adrar (Sahara). L'isolement nous a permis d'identifier respectivement les espèces suivantes : *A. pisi* et *A. pinode*, espèces identifiées à partir des semences par (Bouznad *et al.*, 1987).

2-La stympyliose : au stade floraison a côté des taches à ascochytose, mais moins importantes, nous avons relevé la présence de taches nécrotiques circulaires très nombreuses de couleur brunes au centre et au pourtour gris, évoluant en nécroses au niveau des feuilles. Sur des tiges les taches sont allongées moins nombreuses de couleur brune. Les plantes atteintes subissent une défoliation. Les espèces identifier : *Stemphylium sarciniforme* et *S. botryosum*.

3-L'Alternariose : C'est une maladie qui apparaît tardivement pendant le stade formation de gousses au niveau des plaines internes ou le stade gousse coïncide avec l'augmentation des températures. Le symptôme débute par un jaunissement des feuilles qui se développe des bords vers la nervure centrale qui reste verte. Enfin ce symptôme évolue en taches circulaires nécrotiques. L'isolement nous a permis de distinguer *A. alternata* et *Alternaria sp.*

4- L'oïdium : L'oïdium est une maladie qui apparaît à la faveur d'un temps chaud (16- 28°C, avec un optimum à 23°C) et humide, temps orageux, journées chaudes et nuits fraîches favorisant l'apparition de brouillards matinaux et de rosée.

Elle apparaît sous forme de petites taches blanches et poudreuses qui colonisent d'abord les feuilles âgées (Planche 2-1 : Photo A). Un mycélium blanc et pulvérulent se développe ensuite sur tous les organes aériens. Ce feutrage s'enlève facilement au passage du doigt. Les attaques peuvent être spectaculaires par leur rapidité et leur intensité. Communément appelé « Dbab » par les agriculteurs. Cette maladie est la plus répandue sur les plantes de petit Pois dans Plaines internes (Mascara, Relizane, Sidi Belabès, et Tlemcen) durant les mois de Mars et Avril où prédominent les conditions optimales pour son développement avec une intensité très élevée dans les champs irrigués avec une moyenne de 12.17% à 16.7% (stade plantule) et de 22.15%- 23.34% (stade adulte) notant un faible pourcentage (2%) pour la wilaya de Chlef et l'absence totale de la maladie dans la wilaya d'Adrar. Pour les plaines côtières le pourcentage d'infection varie de 7.95% à 18.75% sachant que dans ces régions la culture est précoce et ne coïncide pas avec les conditions favorables pour le développement de la maladie. L'espèce responsable est *Erysiphe pisi*.

5- Le mildiou : Le mildiou est une maladie grave pour la culture de pois, qui peut conduire au refus de la parcelle pour cause de grains tachés. L'attaque primaire qui souvent peut passer inaperçue, touche les jeunes plantules précoces. A partir de ces foyers, le mildiou essaime dans toute la parcelle (attaques secondaires). Les feuilles présentent des jaunissements sur la face supérieure et un duvet gris violacé sur la face inférieure (Planche 2-1 : Photo B). Cette maladie est favorisée par un climat humide (pluie, rosée, forte hygrométrie), peu ensoleillé, avec des températures comprises entre 1 et 18°C (optimum = 6°C). Elle est stoppée au-delà de 20°C, mais les températures comprises entre 15 et 20°C favorisent une abondante production d'oospores. Ces spores se conservent 6 à 10 ans dans le sol (**Kraft et al., 2001**). La maladie était absente au stade plantule dans plusieurs régions. Nous avons enregistré une moyenne de fréquences de 0.93% -13.67 % entre le stade plantule(PL) et le stade floraison-formation de gousse (F.FG), notant un maximum de 23.75% dans la région de Sidi Belabès durant l'année 2007, dont on soupçonne que la semence était la source de contamination. Les cultures

présentant une végétation excessive sont particulièrement exposées. Après observation microscopique l'agent responsable est *Peronospora pisi*.

7- La rouille : Elle est présente seulement au stade de maturation et avec des pourcentages faibles au niveau des cultures tardives à Sidi Belabbès (plaines intérieures) pour l'année 2007 et à Tiaret (hauts plateaux) en 2009. Maladie est provoquée par *Uromyces pisi*.

6-La graisse bactérienne : les symptômes caractéristiques de la maladie était présente dans la majorité des sites prospectés dans la région de Mascara, au stade floraison durant le mois de Février-Mars pour l'année 2008, après une gelée printanière, mais elle était sans influence notable sur la vigueur de la plante. L'agent responsable est *Pseudomonas syringae*.

7- Le botrytis : Le botrytis n'est apparu que dans un seul site à Tiaret au stade floraison sur Pois fourragé. la maladie présente sous forme de taches chocolatées sur les feuilles, les tiges et les gousses. Il y a perte de rendement par coulure de fleurs, avortement de gousses et mauvais remplissage des grains. En conditions humides, la maladie se propage très rapidement à toute la plante, puis à toute la parcelle. L'optimum thermique du botrytis se situe autour de 15- 20°C. Les cultures denses, mal aérées ou versées sont un terrain de prédilection. Nous soupçonnons que la maladie est présente dans le sol à l'état endémique. Le champignon responsable est *Botrytis cinerea*.

II-Symptôme jaunissement- flétrissement

Le complexe est observé pendant tous le stade phénologique de la plante, dans la majorité des champs et pendant toutes les années de prospection. Deux types de symptômes sont observés :

1-Décoloration des feuilles qui prennent une teinte vert clair qui évolue vers un jaunissement, ce symptôme est observé au niveau des feuilles apicales et évolue vers les feuilles basales.

2-Les organes aériens montrent en particulier un jaunissement et un flétrissement des feuilles de la base des plantes et leurs enroulements vers le bas et prennent une couleur grise. Le flétrissement progresse des feuilles les plus basses vers le haut de la plante, symptôme qui peut se généraliser à la plante entière, Les plantes restent rabougries (Planche 2-1Photo C). C'est le symptôme qui a été le plus observé par rapport au premier. Les racines semblent ne pas être atteintes mais une coupe longitudinale de la tige met en évidence une coloration anormale orange à rouge qui progresse dans le tissu vasculaire à partir de la racine jusqu'à la tige dans la plupart des plantes déterrées, symptôme rapporté par plusieurs auteurs. Le symptôme est observé dans toutes les zones agro climatique y compris le Sahara (13.75%) et un faible taux (5.9%) pour la wilaya de Mostaganem. La région de Relizane est la plus touchée avec une fréquence moyenne de 23.43% au stade plantule et de 33.98% au stade floraison-formation de gousses pour les années 2007,2008 et 2009, ce symptôme peut être lié à la prédominance des sols de nature calcaire dans cette région, qui favorisent l'aspect de chlorose de la plante.

III- Pourriture racinaire et du collet

Le symptôme est répandu dans les trois zones et durant tous les stades de végétation. Le pourcentage est variable d'un stade à l'autre de la plantes, un intervalle moyen de 3.89% (Mascara) à 18.6% (Mostaganem) au stade plantule et de 5.54% (Adrar) et la valeur maximale de 45.2% est enregistré dans la région de Tiaret (Haut plateau) stade floraison-formation de gousses durant le mois d'Avril 2009 et après une pluviométrie assez importante (80 mm). Les symptômes apparaissent sur les racines qui prennent une couleur brune puis se décomposent, il s'agit d'une pourriture racinaire, la région du collet présente parfois un brunissement avec présence de mycélium blanc en terrain humide. La plante déterrée se casse facilement au niveau du collet et les racines pourries restent dans le sol. Les deux types de symptômes peuvent dans certain cas coexister sur la même plante. Enfin la mort de la plante est constatée durant le stade de formation des gousses (Planche 2-3).

IV- Le dépérissement

Ce symptôme est moins visible, absent dans la plupart des sites prospectés, observer aux stades plantule et formation de gousses seulement dans la région Relizane (32%) et Chlef (7.5%). Ce résultat peut être d'origine non parasitaire. Cette observation peut être expliquée par la nature du sol à aspect calcaire qui prédomine dans ces régions, sachant que le petit Pois redoute les sols calcaire.

Tableau 2-3 : Fréquences (%) des maladies de Pois durant 2007, 2008, 2009 et 2010 dans l'ouest Algérien.

		Plantules						Floraison-Formation de gousses					
		Oïdium	<i>Ascochyta</i>	Mildiou	Jaun-Flet.	Pourriture racine/collet	Moy.	Oïdium	<i>Ascochyta</i>	Mildiou	Jaun-Flet.	Pourriture racine/collet	Moy.
Plaines internes													
Mascara	2007	26	6,75	0	10,66	3,06	9,29	30,33	11,25	8,33	14,33	6,75	14,2
	2008	5,33	20,5	2,3	9,12	3	8,05	17,5	23,6	3	11,5	8,2	12,76
	2009	7,5	18,33	0,5	5,73	5,6	7,53	22,2	36	3,4	18,85	10,25	18,14
	Moy.	12,17	15,19	0,93	8,5	3,89	8,14	23,34	23,62	4,91	14,89	8,4	15,03
Relizane	2007	17	8	0	23,5	2,25	10,15	31,25	13,5	11,5	35,6	4,75	19,32
	2008	16,25	15,35	0	19,8	10,42	12,36	28,4	18,33	5,6	30,5	20,35	20,64
	2009	3,25	14,66	0	27	20	12,98	7,5	23	4,3	35,85	43,5	22,83
	Moy.	12,17	12,67	0	23,43	10,89	11,83	22,38	18,28	7,13	33,98	22,87	20,93
Sidi Belabes	2007	10,95	6,66	0	14	4,66	7,25	16,66	11,66	23,75	17,5	11,33	16,18
	2008	12,7	9	1,5	13	10	9,24	18,9	22,3	10,66	18,5	15,2	17,11
	2009	27,5	8,25	2,3	7,85	10,75	11,33	30,9	21,8	6,6	13,75	25,5	19,71
	Moy.	17,05	7,97	1,27	11,62	8,47	9,28	22,15	18,59	13,67	16,58	17,34	17,67
Chlef	2009	-	-	-	-	-		2	17,5	3,4	30	36	17,78
Tlemcen	2010	16,7	13,35	6	11,02	13,05	12,02	-	-	-	-	-	

Plaines internes													
Mostaganem	2009	7,95	26,45	8,9	5,9	18,6	13,56	18,75	46	10,8	7,3	24,42	21,45
A.Temouchent	2010	-	-	-	-	-		12,6	23,6	9,4	27,73	16,81	18,03
Hauts plateaux													
Tiaret	2009	-	-	-	-	-		2,1	16,2	1,5	14,7	45,2	15,94
Sahara													
Adrar	2009	-	-	-	-	-		0	2,55	0	13,75	5,54	4,37

Planche 2-1 : Symptômes foliaires

Photo A : Oïdium



Présence d'un feutrage blanchâtre sur tous les organes, peut provoquer le dessèchement de la plante.
Agent responsable : *Erysiphe pisi*

Photo B : Mildiou



Présence d'un feutrage bleuté sur la face inférieure des feuilles.
Agent responsable : *Peronospora pisi*

Photo C : Jaunissement- Flétrissement

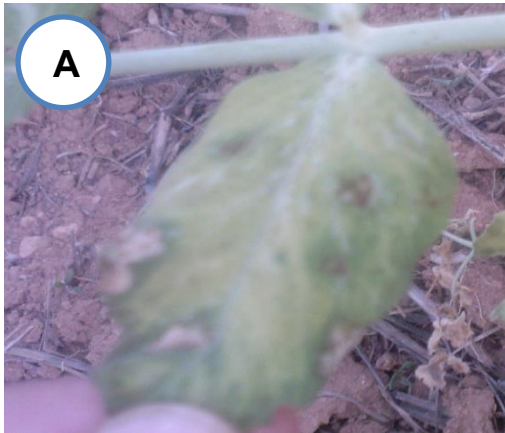


Symptômes de jaunissement apical accompagné de flétrissement des feuilles.



Décoloration et enroulement des feuilles, la Progression se fait du bas vers le haut

Planche 2-2 : Taches foliaires (Ascochytes).



Des lésions brunes rousses et concaves, au centre, la présence de pycnides, caractéristique d'*Ascochyta pisi*

A- symptôme sur feuille.

B- symptôme sur tige.



C- Un grand nombre de petites taches brunes foncées. Caractéristiques d'*Ascochyta pinodes*

Planche 2-3 : Pourriture du collet et des racines.



A- Pourriture du collet et des racines.
B- Nécrose du collet.



C- Pourriture molle humide entraînant l'abscission des racines à partir des premiers stades de la levée. Provoquer par *Pythium sp.*

3-2.Résultats de l'analyse de la microflore rhizosphérique

Notre étude est basée sur la fréquence des colonies de bactéries, et de champignons capables de se développer sur les milieux de culture en laboratoire. Il est bien connu que cette méthode de numération indirecte permet le dénombrement que d'une fraction de la microflore réellement présente dans les échantillons. Cependant seule cette méthode permet à la fois le dénombrement et l'étude de la structure qualitative des populations microbiennes du sol.

3-2-1.Identification des champignons isolés à partir de la rhizosphère

L'identification reposait sur la différence au niveau morphologique par la forme, la pigmentation et l'examen microscopique pour les champignons.

L'isolement à partir de la rhizosphère et de la tige, nous a permis d'identifier un nombre important d'espèces fongiques (Tab.2-4, Planche 2- 4 et 2-5).

A partir de la zone A et B de la rhizosphère ; nous avons pu isolés les espèces suivantes : *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.*, *Pythium sp.*, *Epicoccum sp.*, *Pénicillium sp.*, *Cladosporium sp.*, *Stemphylium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Rhizopus sp.*, *Mucor sp.*, *Monilia sp.*, *Hélicomyces sp.*, *Phialophora sp.* et *Gilmanila sp.* avec des pourcentages qui diffèrent selon le site et selon le stade du végétal.

A partir de la zone C (Les racines) et les tiges nous avons pu isolés surtout les espèces appartenant au genre *Fusarium sp.* avec la présence de quelques autres champignons tels que *Ascochyta pisi*, *Ascochyta pinode*, *Phoma sp.* dont la moyenne supérieure est enregistrée dans les plaines côtières (17.33%) suivie par les plaines internes (10.83%) et une minimale de 2.9% au niveau des hauts plateaux et de 1.25% au Sahara, par contre, pour *Rhizoctonia solani*, le maximum est enregistré au niveau des plaines internes (15.63%). *Sclerotinia sp.* avec des pourcentages d'isolement faibles entre 0% à Adrar et un maximum de 4.08 à Mascara et aussi la présence d'*Alternaria sp.* Parmi les *Fusarium*, nous avons

identifié: le *Fusarium solani* (FS) fréquemment détecté dans le sol se situe à proximité des parties souterraines des plantes ce qui a été apparu dans notre isolement avec une moyenne assez important au niveau des haut plateaux (25% à Tiaret) suivi par les plaines internes (18.49% avec un maximum de 20.61 à Mascara), le Sahara (20% à Adrar) et faible dans les plaines côtières (10.71%), résultats rapportés par **Belabid et al, (2000)**. Par contre *F. oxysporum* souvent isolé à partir des différents organes des plantes (racines, tiges) est dominant les plaines côtières (37.94%) par rapport aux plaines intérieures (21.8%) et haut plateaux (14%), notant aussi un taux assez important au niveau du Sahara (32.5%). Le *F. roseum* est très fréquemment isolée à partir des tiges. En ce qui concerne le *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. solani* et *Rhizoctonia solani* sont isolés à partir du collet. Le pourcentage d'isolement des *Fusarium* (FO, FS et FR) très élevé aux stades floraison et maturation par rapport au stade plantule.

L'étude de la mycoflore a montré une variation significative quantitativement et qualitativement de la population fongique de la rhizosphère de Pois. Le développement des maladies racinaires et les pathogènes telluriques provoquent une perte dans le rendement. Les plaines côtières présentent la fréquence la plus élevée en espèces fongiques pathogènes avec une moyenne de 14.49% suivie par les plaines internes avec 11.19%. L'espèce la plus dominante pour l'ensemble des régions prospectées est le *F. oxysporum* avec un pourcentage moyen de 22.26%, *Pythium* sp. est l'espèce dont le pourcentage d'isolement est le moins élevé avec une moyenne de 1.43%.

Tableau 2-4 : Moyenne des fréquences (%) des espèces fongiques isolées de la rhizosphère en fonction des régions agroclimatique et pendant la période de 2007-20010.

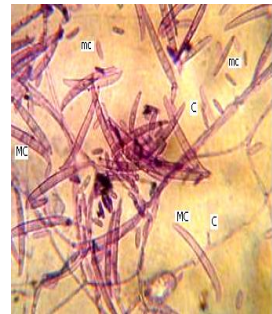
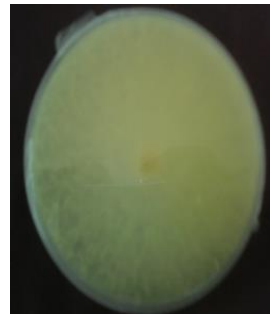
	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>Rhizoctonia sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Ascochyta sp.</i>	<i>Cladosporium sp.</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Stemphylium sp.</i>	<i>Scleroctinia sp.</i>	<i>Pythium sp.</i>	Moy.
Plaines côtières											
Mostaganem	27,37	2,42	4,35	8,6	16,46	25,42	3,89	18,35	0,5	5,25	12,03
Ain Temouchent	48,5	19	9,25	10,16	18,2	30,05	8,7	14,6	0,77	10,25	16,95
Moy.	37,94	10,71	9,25	9,38	17,33	27,74	6,3	16,48	0,64	7,75	14,49
Plaines internes											
Mascara	15,38	20,61	1,53	20,35	11,53	12,3	7,69	4,16	4,08	3,07	10,07
Sidi Belabes	19,25	12,8	15,3	14	14,56	5,2	10,2	4,12	1,3	0,77	14
Relizane	22,35	19,6	16,2	12,25	2,75	2,34	9,37	5,58	2,5	0,66	9,36
Chlef	5,2	12,75	34,58	7,2	13,7	0	5,5	3,4	3	0,25	8,56
Tlemcen	44,5	21	10,2	17,5	15,35	6,2	11,5	5,66	3,75	4,02	13,97
Moy.	21,86	18,49	15,63	14,26	10,83	5,21	8,52	4,7	3,33	2	11,19

Hauts plateaux											
Tiaret	14	25	9	9,6	2,9	0	2,7	0	3,2	0	6,64
Saida	9,66	22,60	9,38	12,06	5,85	2,15	6,05	2	3,40	0,82	7,37
Moy.	13,39	23,80	9,38	10,83	4,38	1,08	4,38	1,00	3,40	0,41	7
Sahara											
Adrar	32,5	20	2,05	12,75	1,25	0	2,75	0	0	0	7,13
Moy.	22,26	19,64	12,74	13,49	8,33	3,72	6,86	3,36	2,84	1,43	9,47

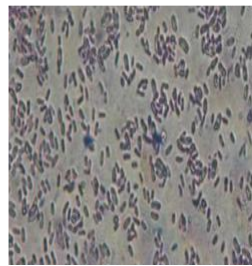
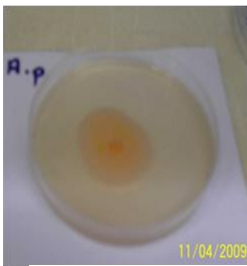
Planche 2-4 : Aspect macroscopique et microscopique des champignons isolés.



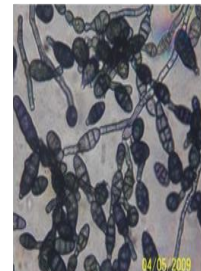
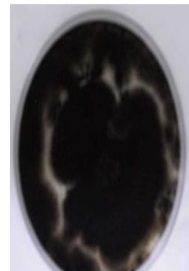
F. oxysporum



F. solani



Ascochyta pisi



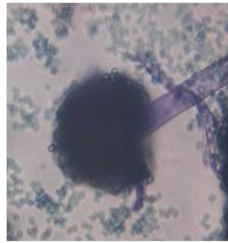
Alternaria sp.



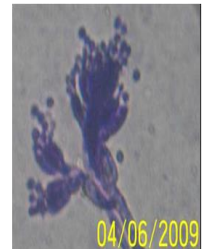
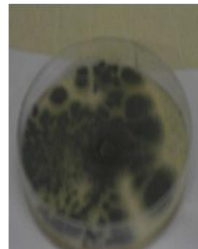
Rhizoctonia sp.



Phythium sp.



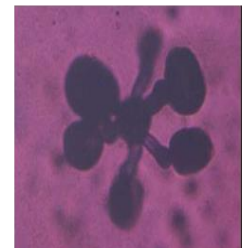
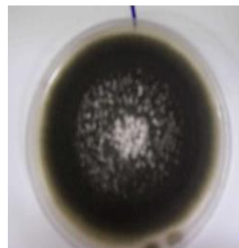
Aspergillus sp.



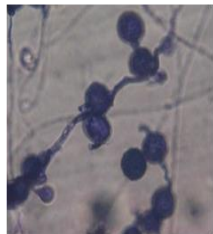
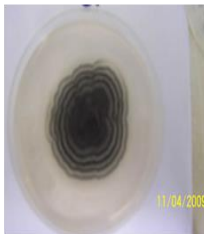
Penicillium sp.



Helicomyces sp.



Epicoccum sp.



Gilmaniella sp.



Phialophora sp.



Stemphylium sp.

3-2-2. Identification des bactéries isolées à partir de la rhizosphère

Pour identifier les bactéries, nous avons mis en œuvre des techniques traditionnelles microbiologiques (examen macroscopique, examen microscopique (état frais, coloration gram), identification biochimique (les galeries Api 20E).

Les résultats obtenus présentés dans les tableaux (2-5 et 2- 6), nous indiquent qu'il est possible d'identifier les bactéries selon des caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques. Pour affiner cette identification, il pourrait être intéressant de mettre en évidence la diversité métabolique des bactéries en utilisant des tests biochimiques. En utilisant cette méthodologie, les bactéries sont classées par grande catégorie selon la coloration de gram. Cette classification ne permet pas une classification fine des bactéries.

La lecture des réactions se fait d'après le tableau de lecture (Annexe 3) fournit dans le kit et l'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification (base de données Api Web), après y avoir inscrit le profil numérique à 7 chiffres. C'est une méthode plus rapide et plus économique que les méthodes conventionnelles.

L'analyse qualitative de la microflore bactérienne rhizosphérique isolement à partir des échantillons prélevé montre une gamme de bactéries variées :

La zone A : *Pseudomonas fluorescens / putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Xanthomonas sp*, *Erwinia sp*, *Chryseobacterium meningoseptium*, *Enterobacter cloacae*, *Chryseomonas luteola*, *Burkholderia cepacia*.

La zone B : *Pseudomonas fluorescens / putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Xanthomonas sp*, *Erwinia sp*, *Enterobacter Cloacae*, *Chryseomonas luteola*, *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens*, *Photobacterium damsela*.

La zone C : *Pseudomonas fluorescens/ putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Xanthomonas sp*, *Enterobacter Cloacae*, *Burkholderia cepacia*.

L'isolement des Actinomycètes à partir de la rhizosphère

Sur l'ensemble des souches isolées d'échantillons de la rhizosphère dans les deux régions de **Mascara et Mostaganem** et conservées au niveau du laboratoire, plusieurs colonies prélevées sur la base de l'aspect caractéristique des Actinomycetales ont fait l'objet de ce travail, elles sont repiquées sur le même milieu qui a servi pour isoler et purifiées sur le milieu sélectif utilisé par **Aghighi (2004)**.

Concernant la coloration de Gram elle est effectuée selon les méthodes classiques, Après 7 jours d'incubation, des colonies jeunes sont apparues, de forme rondes, sèches de couleur beige à jaune brun correspondant au mycélium de substrat, à bord plats et centres élevés. Cette forme est caractéristique des colonies du genre *Streptomyces*.

Tableau 2-5 : Examen macroscopique des colonies isolées à partir de la rhizosphère.

COLONIE	TAILLE	FORME	ASPECT	OPACITE	COULEUR
1	petite	bacille	Grâce	translucide	Beige foncé
2	petite	Bacille	Grâce	translucide	Beige clair
3	petite	Cocci	Luisante	opaque	Jaune foncé
4	petite	Cocci	Grâce	opaque	Beige clair granulé
5	petite	Cocci	Rugueux	opaque	Jaune clair
6	petite	Cocci	Nébuleuse	opaque	Orange
7	petite	Cocci	Luisante	opaque	Jaune canarien
8	petite	Cocci	Nébuleuse	opaque	Rose
9	petite	Cocci	Luisante	opaque	Jaune luisant
10	petite	Cocci	rugueux	opaque	marron
11	petite	Cocci	nébuleuse	opaque	Beige au marron

Tableau 2-6 : Examen microscopique et biochimique des colonies de bactéries d'aspects différents.

	Examen microscopique	Examen biochimique		
COLONIE	FORME	GRAM	CATALASE	OXYDASE
1	bacille droit	-	+	+
2	bacille droit	-	+	+
3	bacille	-	+	-
4	bacille droit	-	+	+
5	bacille	-	+	-
6	bacille	-	+	-
7	bacille	-	+	-
8	bacille	-	+	+
9	bacille	-	+	-
10	bacille	-	+	+
11	bacille	-	+	+

4. DISCUSSION

La répartition géographique de la culture des légumineuses se situe principalement dans les régions de l'ouest du pays. Le Pois représente 28% des superficies consacrées à cette famille. Plusieurs maladies sont connues dans le monde affectant le Pois mais peut d'entre elles ont un impact économique, l'anthracnose, la fusariose, la pourriture grise, le mildiou, l'oïdium, la rouille et la graisse bactérienne de pois. **(Donald, 1985)**. En Algérie, les travaux de prospection réalisés ces dernières années, ont montré l'existence de plusieurs maladies, l'oïdium, l'anthracnose sont les plus importantes, suivie de flétrissement vasculaire, le mildiou et la nécrose du collet due à *Rhizoctonia solani* ou *Fusarium solani*, ces maladies sont considérées comme étant les plus économiquement importantes **(Bouznad, 1987 ; Merzoug et al., 2009; Setti et al., 2009)**.

Les micro-organismes présents dans le sol jouent un rôle très important dans l'économie Agricole .Les pathogènes telluriques provoquent le développement des maladies racinaires et une perte dans le rendement chez les plantes cultivées. **(Iftikhar et al ., 2003)**. Dans la présente étude, un plus grand nombre de champignons, bactéries et Actinomycètes ont été isolés à partir de la rhizosphère du Pois à différentes étapes de croissance et dans différentes zones agro climatique **(Merzoug, 2011)**.

L'association de *F. oxysporum*, *F. solani*, *S.sclerotiorum* et *R. solani* avec le complexe de flétrissement et la pourriture des racines du Pois dans plusieurs pays dans le monde a déjà été rapportés **(Snyder, 1933 ; Harter, 1934 ; Sharma, 2000 ; Xue, 2003)**.

Des études similaires ont été entrepris au Canada ou le complexe de pourriture des racine (PRRC) de Pois est attribué à une ou des combinaisons d'agents pathogènes, y compris *Alternaria alternata*, *Aphanomyces euteiches*, *FOP*, *FSP*, *Mycosphaerella pinodes*, *Pythium sp.*, *Rhizoctonia solani* et *Sclerotinia sclerotiorum* **(Tu, 1986; 1991)**. Les agents pathogènes agissent individuellement ou

en synergie causent des symptômes tels que la pourriture des semences, la pourriture des racines, la pourriture du pied, les fontes de semis, et le flétrissement. L'incidence de PRRC varie avec l'année les lieux et, selon le climat, la rotation et les pratiques culturelles (**Slinkard et al, 1994; Tu, 1991**). Les pertes de rendement ont été estimés à plus de 70% lorsque la maladie est sévère (**Hwang, 1991**). PRRC combiné avec le complexe de l'anthracnose ont réduit considérablement la production de Pois en Ontario et Manitoba (Canada) où le Pois est cultivée traditionnellement (**Xue, 2003**).

Dans le sud de la Scandinavie (Suède et Danemark), des enquêtes ont été menées pour déterminer les agents pathogènes les plus fréquents et plus graves dans les champs de Pois. Parmi les maladies les plus destructrices de Pois, le complexe de la pourriture racinaire et du pied, les agents pathogènes les plus fréquemment isolés étaient *Aphanomyces euteiches*, *Phoma medicaginis* var. *pinodella*, *Fusarium solani*, *F. avenaceum*, *F. oxysporum*, *F. culmorum*, *Chalara elegans*, *Pythium irregulare* et *Mycosphaerella pinodes* (**Persson et al., 1997**).

En Pologne, des observations ont confirmé la présence de la fusariose du pied et la pourriture racinaire comme étant les maladies les plus courantes causée par *F. oxysporum*, ils ont également isolé le *F. solani*, mais moins fréquemment, (**Czyzewska ,1984**), tandis que **Marcinkowska (1992, 2005)** a trouvé que le *F. solani* est la principale cause de la fusariose sur les Pois secs. Les données obtenues pour *F. solani* étaient en accord avec les résultats constatés par **Kerr (1963)** en Australie et **Clarkson (1978)** en Angleterre. L'intensité de la fusariose du pied et la pourriture des racines dépend des régions, des années de l'étude et des cultivars. Cependant, l'influence du climat sur le développement de la maladie n'est pas très claire (**Tu 1991; Marcinkowska, 2002; 2007**).

En règle générale, la pourriture des racines et les maladies de semis ne représentent pas un problème grave si une rotation de 4-5 ans entre cultures de Pois est pratiquée (**McLaren et al., 2005**).

L'ascochytose causée par *Mycosphaerella pinodes* (Berk. & Blox.) est l'une des plus importantes maladies aériennes du Pois sec (*Pisum sativum* L.) en France où elle est épidémique chaque année (**Tivoli et al., 1996**). *M. pinodes* peut infecter toutes les parties aériennes de la plante (feuilles, les tiges et les gousses), elle est responsable des pertes de rendement allant jusqu'à 30 % (**Allard, 2001**). L'Ascochytose causée par *Mycosphaerella pinodes* (Berk. et Blox.) est maintenant reconnu comme l'un des principaux problèmes limitant le rendement des cultures de Pois en Algérie (**Setti et al., 2009**).

L'oïdium, provoquée par *Erysiphe pisi*, affecte toutes les parties vertes des plantes de Pois et réduit essentiellement le nombre de graines par gousse et le poids des graines dans les plantes de Pois infectés à des stades précoces de la croissance (**Garry et al., 1998**). Il peut provoquer des pertes de rendement de 25-50 % (**Warkentin et al., 1996; Fondevilla, 2007**). En Inde la sévérité des pertes est estimé à 9.6% (**Rana et al., 2009**).

Roberts (1992) a expliqué que les pertes de rendement dues à la brûlure bactérienne sur Pois due à *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, provoque une réduction du nombre de gousses par plante et le nombre de graines par gousse. La gravité de la maladie a été plus importante pour les Pois semés en hiver que ceux du printemps, une perte de rendement de 0,5 t /ha est enregistrée dans les zones affectées par brûlure bactérienne du Pois (**Mansfield, 1997**).

L'infection du Pois par différents agents pathogènes dans l'environnement naturel est fortement influencée par les conditions météorologiques de la zone d'étude et la saison de croissance (**Xue et al., 1996; Chang et al., 2005, Marcinkowska, 2007**).

De la même manière, l'analyse bactériologique montre clairement une dominance du genre *Pseudomonas*. D'après les prélèvements et isolement rhizosphérique réalisés dans les sites prospectés, les *P. fluorescens* sont souvent les plus nombreuses. Cette prédominance pourrait s'expliquer soit par leur taux de

croissance rapide et une latence réduite, leur aptitude à produire des substances inhibitrices, leur synthèse de pigments fluorescent fréquemment inhibiteurs vis-à-vis d'autres espèces bactériennes ou encore par leur pouvoir colonisateurs, puisqu'elles s'avèrent exceptionnellement envahissantes.

D'après **Leclerc, (2003)** *P. fluorescens* est un microorganisme ubiquiste de l'environnement, des eaux douces, du sol et des végétaux. Ses exigences nutritionnelles minérales et sa capacité à survivre dans des conditions hostiles font qu'il s'adapte facilement à une large variété de situation (**Saadoun, 2002**).

Pour expliquer la présence d'un grand nombre des bactéries dans la rhizosphère de Pois, deux hypothèses peuvent être retenues. Ou bien les bactéries isolés ont un effet bénéfique pour la croissance des plantes PGPR, en stimulant des mécanismes de défense inductibles chez l'hôte, rendant celle-ci moins susceptible vis-à-vis d'une infection ultérieure par un agent pathogène pour lutter contre une gamme relativement large de pathogènes fongiques, bactériens ou viraux (**Adam, 2008**) ou bien les bactéries présentes dans la rhizosphère, ou apportées par une contamination extérieure, ont pu se multiplier au cours des stades phénologiques de Pois. Nos résultats obtenus nous ont permis d'identifier un grand nombre de bactérie de la rhizosphère utilisée dans la lutte biologique, parmi lesquelles nous avons identifié *Pseudomonas fluorescens/ putida*, *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Les modifications abiotiques et biotiques de l'environnement des microorganismes affectent également la structure des communautés microbiennes du sol (**Andrade et al., 2003**). Dans les systèmes les moins perturbés mécaniquement, l'augmentation de la biomasse microbienne en surface serait majoritairement due à l'expansion de la biomasse fongique, favorisée par l'humidité du sol et non affectée par les perturbations mécaniques qui réduisent la longueur des hyphes mycéliens et le nombre de propagules dans les premiers horizons de sol (**Kennedy, 1999; Spedding et al., 2004**). Le type d'outil utilisé pour le travail

du sol a également une influence sur les populations microbiennes : il semblerait que les outils animés (herse rotative) aient un effet encore plus délétère pour les populations fongiques qu'un labour (**Cook et al., 1983**). Les sols travaillés intensivement seraient donc dominés par des espèces bactériennes tandis que les sols où le travail du sol est limité favoriseraient le développement de populations fongiques (**Kladivko, 2001 ; Young et Ritz, 2000**).

L'abondance et l'activité des microorganismes du sol sont influencées aussi bien par les facteurs environnementaux (type de sol, pH, humidité et disponibilité d'éléments nutritifs) que par la plante (l'âge, et l'espèce). Aussi la diversité des populations microbiennes au niveau de la rhizosphère est due principalement aux variétés de composés organiques exsudés par les différentes espèces végétales (**Gayston et al., 1998**).

Le travail du sol agit également sur l'environnement physique et biotique des microorganismes du sol (température, aération, humidité, répartition des résidus de culture) et modifie en retour la quantité, l'activité et la répartition de la biomasse microbienne dans le profil de sol, la biomasse microbienne présente une forte stratification verticale tandis qu'elle est répartie de façon homogène en profondeur de la couche arable (**Andrade et al., 2003; Meyer et al., 1996**).

5. CONCLUSION

D'après les observations réalisées, la majorité des maladies du Pois dans les régions prospectées sont probablement liées à l'existence d'un inoculum permanent dans le sol qui peut être due: aux caractères climatiques propres à chaque région, à la composante du sol, l'effet de précédent cultural, un cycle de rotation très court ou absent dans la plupart des cas et non surveiller, des mauvaises conditions de semis, le mode de conduite des parcelles et l'utilisation des semences infectées non certifiées.

Suite aux différentes prospections réalisées dans le cadre de cette étude, nous avons relevés un état des parcelles négligé et mal entretenues avec l'absence de pratiques culturales permettant dans beaucoup de cas la diminution des infections. Les relevés des fréquences d'attaques des principales maladies réalisés ont montré une variabilité d'une parcelle à une autre, d'une saison à l'autre et d'une année à l'autre. Elles étaient en fonction des conditions climatiques qui ont montré des fluctuations assez importantes durant les années de prospections. Les symptômes de jaunissement, de flétrissement et de brûlure sont les plus apparents aux niveaux des champs visités. D'autres part, les années sèches favorisent le syndrome fusarique alors que les années pluvieuses, c'est plus les attaques foliaires qui prédominèrent et principalement les ascochytozes. Les différents isolements ont mis en évidence les espèces de champignons diverses souvent rapportées par d'autres auteurs **(Bouznad, 1983)**.

Si nous évaluons l'état sanitaire des champs prospectés, nous nous retrouvant devant une situation assez délicate, qui nécessite des mesures de protections immédiate à fin de revaloriser la production nationale en Pois.

CHAPITRE III : FLETRISSEMENT VASCULAIRE DU POIS DANS L'OUEST ALGERIEN

1. INTRODUCTION

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

En Algérie, les études effectuées sur la pathologie du Pois ont surtout porté sur l'anthracnose, véritable obstacle à la culture auquel s'ajoute actuellement le complexe de flétrissement et de pourritures radiculaires (**Bouznad, 1987 ;Merzoug et al.,2009 ;Setti et al.,2009**). Peu de connaissances sont acquises concernant le flétrissement vasculaire induit par le *Fusarium oxysporum* f. sp *pisi* (FOP). Aussi, dans le cadre de ce travail, l'évolution de cette maladie a été suivie en fonction du stade de développement de la culture, dans différentes parcelles de culture de Pois.

En Algérie, le *Fusarium oxysporum* f.sp *pisi* est le pathogène du flétrissement de Pois, il entraîne des pertes de rendement appréciable dans des conditions environnementales favorables. L'étude de la variabilité et la distribution des races pathogènes sont essentielles pour identifier les sources efficaces de résistance à cette maladie et à fin d'élaboration des programmes de lutte adéquates.

Des isollements de l'agent pathogène ont été effectués à partir d'échantillons infectés en vue de constituer une collection d'isolats de FOP et d'étudier sa morphologie et sa distribution dans l'ouest Algérien. Son pouvoir pathogène a été examiné dans le but de préciser son rôle dans la manifestation des symptômes observés au champ, Aussi que la caractérisation des races de FOP a été réalisée.

2. MATERIEL ET METHODES

2-1.Enquête et collection d'isolats

Les enquêtes ont été menées, de Janvier à Juin, dans quatre zones agro-climatiques différentes dans l'ouest de l'Algérie (plaines côtières, les plaines intérieures, hauts plateaux et Sahara) (Tab.2-2). Plusieurs champs de Pois ont été prospectés au cours des campagnes 2007, 2008, 2009, 2010 et 2011 à différents stades de croissance de la plante (stade plantule, floraison - formation de gousses). Sur chaque site le pourcentage de plantes malades est calculé, les différents symptômes sont décrits, ainsi que le stade de la plante (**Rana et al., 2009**). De chaque champ, 10 plantes présentant des symptômes de jaunissement- flétrissement sont prélevées d'une manière aléatoire, ensuite ils sont introduits séparément dans des sachets de papier Kraft et transportés au laboratoire pour être analysés. Les plantes touchées par la maladie sont collectées à partir de toutes les régions prospectées. Les isollements ont été effectués à partir de la rhizosphère, la racine et la tige (cinq pièces par plante). Les agents pathogènes associés aux échantillons de Pois présentant les symptômes caractéristiques de la maladie sont isolés puis cultivées sur PDA et incubées à 25 ° C pendant 7 jours (**Belabid et al., 2002**). La méthode de dilution est utilisée pour le sol de la rhizosphère, Les champignons ont été purifiés et identifiés par les clés d'identification des *Fusarium* (**Watanabe 2002 ; Leslie et Summerell ,2006**). Les méthodes utilisées sont décrites dans le chapitre II.

2-2.Etude du pouvoir pathogène des isolats du *Fusarium oxysporum*

Pour confirmer l'identité de *F. oxysporum* isolés comme étant la forme spéciale pisi, le test du pouvoir pathogène de chaque isolat a été effectué par inoculation de la variété sensible Little Marvel .Nous avons adopté une technique rapide décrite par **Roberts et Kraft (1971)**.

2-2-1.Préparation des plantules pour l'inoculation

Les graines sont mises à germer dans des boîtes de Pétri entre deux papier filtre stériles imbibés d'eau distillée stérile, ensuite elles sont incubées à 20°C pendant 24h. Ensuite, les graines sont semées dans la vermiculite dans des pots en matière de plastique le tout est stérilisé. Les pots sont maintenus dans les conditions du laboratoire dans un espace éclairé à une température variant entre 20 et 24 °C et une photopériode de 12 heures (éclairage naturel) et irrigué à nécessité. Au bout de 8 à 10 jours, les plantules, arrivées au stade des deux premières feuilles étalées ont été sélectionnées pour l'inoculation.

2-2-2.Préparation de l'inoculum et méthode d'inoculation

Après une culture monospore, les isolats sont ensemencés sur un milieu PDA et incubé à 22°C pendant 15 jours. Le contenu d'une boîte est broyé pendant 30 secondes dans 50 ml d'eau distillée stérile à l'aide d'un agitateur pendant 1 minute, ensuite, il a été filtré à travers une couche de papier filtre (**El Aoufir, 2001**).

La concentration de la suspension en conidies (macro et microconidies) a été ajustée par dilution avec de l'eau distillée stérile afin d'obtenir une concentration de 10^6 conidies/ml, concentration qui s'était révélée suffisante pour provoquer la manifestation des symptômes (**Westerlund et al., 1974 ;Newman and xue, 2002**).

L'inoculation des plantules (âgées de 10 jours), déterrées soigneusement, est réalisée par l'immersion de ses racines préalablement lavées à l'eau courante et découpées à 0.5Cm de leurs extrémités, pendant 5 minutes dans la suspension d'inoculum. Les plantules inoculées sont transférées dans des tubes à essai contenant 22 ml de milieu Hoagland liquide (Annexe I). Les tubes sont fermés avec du coton enroulé à la tige de chaque plantule. L'évaporation du milieu de culture est réduite en couvrant le coton avec du para film. L'incubation des plantules inoculées est effectuée dans les mêmes conditions citées précédemment.

2-2-3. Estimation des symptômes

La virulence des isolats a été évaluée durant 21 jours après l'inoculation au moyen de l'indice de maladie (IM) et le nombre de feuilles montrant des symptômes de jaunissement a été noté pour chaque plante (**Molot et Mas 1975 ; Besri et al. 1984**).

L'incidence de la maladie a été évaluée par la formule suivante :

$$\text{IM (\%)} = \frac{\text{Nombre de feuilles atteintes}}{\text{Nombre total de feuilles}} \times 100$$

Les IM moyens et par conséquent, les degrés de virulence des isolats, peuvent être ordonnés en 5 classes en fonction de leur réaction et du temps d'incubation selon la méthode décrit par (**Robert et Kraft., 1971 ; Kaur, 2003 ; Kaur et al., 2007**).

- **Isolat non pathogène** : Aucun symptôme n'est apparu 7 jours après d'inoculation
- **Isolat très peu agressif** : 0 - 20 % de flétrissement
- **Isolat peu agressif** : 21 -40 % de flétrissement
- **Isolats moyennement agressif** : 41 - 60 % de flétrissement
- **Isolats agressif** : 61- 80% de flétrissement
- **Isolats très agressif** : 81- 100% de flétrissement et les symptômes peuvent apparaitre deux jours après l'inoculation.

2-2-4. Reisolement

Pour confirmer l'implication de l'agent pathogène dans l'infection, celui-ci est réisolée sur le milieu PDA. Le reisolement pour le FOP est réalisé à partir des

segments les plus hauts de la tige. La culture obtenue sur PDA est comparée à leur culture mère au niveau macroscopique et microscopique.

2-3.Caractérisation des races physiologique de *Fusarium oxysporum f.sp pisi*

2-3-1.Gamme différentielle de géotypes de Pois

Le pouvoir pathogène des races 1, 2, 5 et 6 du FOP peut être distingué par sa réaction sur un ensemble de lignes différentielles. Notre étude portait sur la caractérisation de 52 isolats de FOP provenant des différentes régions de l'ouest Algérien.

La gamme de lignes différentielles internationales est formée par 7 géotypes de Pois (Tab.3-1). Les géotypes, nous ont été fournis par des stations de recherches :

- Plant Germplasm Introduction and Testing Research Station in Pullman, Washington, USA
- Morden Research Station Agriculture and Agri-Food, Canada.

Tableau 3-1 : Réaction des variétés différentielles de Pois pour les 4 races de *F. oxysporum f.sp pisi*.

Cultivars	Little Marvel	Darkskin Perfection	New Era	New Season	WSU 23	WSU 28	WSU 31
Race 1	S	R	R	R	R	R	R
Race 2	S	S	R	R*	R	S	R
Race 5	S	S	S	S	R	R	R
Race 6	S	S	S	R	S	R	R

S = susceptible;

R = resistant ;

* Réaction peut varier en fonction de l'isolat.

2-3-2. Conditions d'obtention des plantules de Pois

Les semences des 7 génotypes sont désinfectées à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 2% pendant 5 min puis rincées 3 fois avec de l'eau distillé stérile et semées dans des pots de 15cm de diamètre contenant de la vermiculite stérilisée. Les semis ont été maintenus à une température entre 20° C à 24°C et une photopériode de 12 heures. Ils sont arrosés tous les trois jours avec l'eau de robinet. Au bout de 10 jours, lorsque les jeunes plantules cultivées en vermiculite avaient produit 4-5 nœuds, elles sont sélectionnées pour l'inoculation (**Newman and xue, 2002**).

2-3-3. Production d'inoculum

Les isolats de FOP utilisés pour la détermination des races sont parmi les plus agressifs la collection de FOP testé sur la variété sensible. Toutes les cultures proviennent de culture monospores cultivées sur l'eau gélose à 2%, puis ensemençer sur milieu PDA. Pour produire de l'inoculum, les isolats sélectionnés sont cultivés pendant 4 jours sur de l'eau gélosé à 25 ° C avec un cycle de 12h de lumière et 12h d'obscurité à 20 ° C. Les cultures sont ensuite transférées dans le milieu PS liquide (Annexe 2) et incubés pendant 10 jours sur un agitateur orbital à 200 rpm à température ambiante (22 °C). La concentration de la suspension en conidies (macro et micro conidies) est ajustée à environ à 5×10^6 conidies ml^{-1} , à l'aide d'un hématimètre. La viabilité des conidies est vérifié par leurs pouvoir de germination sur le l'eau gélosé (**Haglund et Kraft, 2001**).

2-3-4. Méthode inoculation

Le pouvoir pathogène de 52 isolats de FOP et un isolat non pathogène a été déterminé en inoculant chacune des lignes différentielles. Les plantules sont infectées par la technique de trempage des racines sectionnées dans l'inoculum (**Newman et xue, 2002**). La méthode utilisée est la suivante (Fig.3-1):

Lorsque les jeunes plants cultivés en vermiculite sont âgés de 10 jours et ont produit 4-5 nœuds, Les plantes sont retirés de la vermiculite, et les racines sont

coupées à environ 4cm en dessous du cotylédon, plongées dans l'inoculum jusqu'à la couverture du cotylédons pendant 5 min, puis transplantées dans des pots contenant un mélange stérilisé de 1v de sol ,de 1v de sable et 1v de tourbe à raison de 3 plantes par pot . Les plantes sont arrosées en fonction des besoins. Les plantes témoins sont traitées de la même façon mais immergés dans de l'eau distillé stérile. La température est maintenue à 20 - 24 ° C, et sous une alternance de lumière et d'obscurité (**Newmann et Xue, 2002 ; Bani et al, 2011**). Les plantes sont observées visuellement chaque semaine afin de suivre la progression des symptômes sur les différentes variétés jusqu' au stade de 10-12 nœuds soit 28 jours après l'inoculation ou une note est attribuée à chaque plante pour déterminer par la suite la race responsable des symptômes exprimés.

2-3-5. Notation des symptômes

Les plantes sont évaluées visuellement au stade 10-12 nœuds soit 28 jours après l'inoculation, Chaque plante reçoit une note de 0-5 selon son état en utilisant l'échelle de notation décrite par **Haglund (1974)** et modifier par **Newmann et Xue(2002)** comme suit :

0 = aucun symptôme ;

1 = chlorose ou flétrissement d'une feuille de base, vert pâle jaune, enroulement vers le bas des bords des feuilles et stipules ;

2 = chlorose ou flétrissement de certaines feuilles basales, pas de retard de croissance ;

3 = chlorose ou flétrissement de plusieurs feuilles basales, léger retard de croissance et un jaunissement de la plupart des feuilles ;

4 = chlorose ou flétrissement de la plupart des feuilles, un important retard de croissance et dessèchement des feuilles inférieures

5 = mort de la plantule.

Le teste est conduit avec une moyenne de répétition de quatre plantes par pot et trois pots sont utilisés pour chaque combinaison isolat / lignée. La note de la maladie de 0, 1 et 2 sont considérées comme résistantes (R) et la note de 3, 4, et 5 sont considérés comme sensibles (S). Après l'évaluation de la réaction des lignes différentielles, l'isolement de l'agent pathogène a été effectué afin de confirmer la nature des symptômes. Les plantes inoculées sont récupérées en vue de réisoler l'agent pathogène. Le réisolement a été fait par incubation de fragments des segments inférieurs, du milieu et du haut de la tige à partir de la majorité les plantes sur le milieu PDA à 25° C et à l'obscurité.

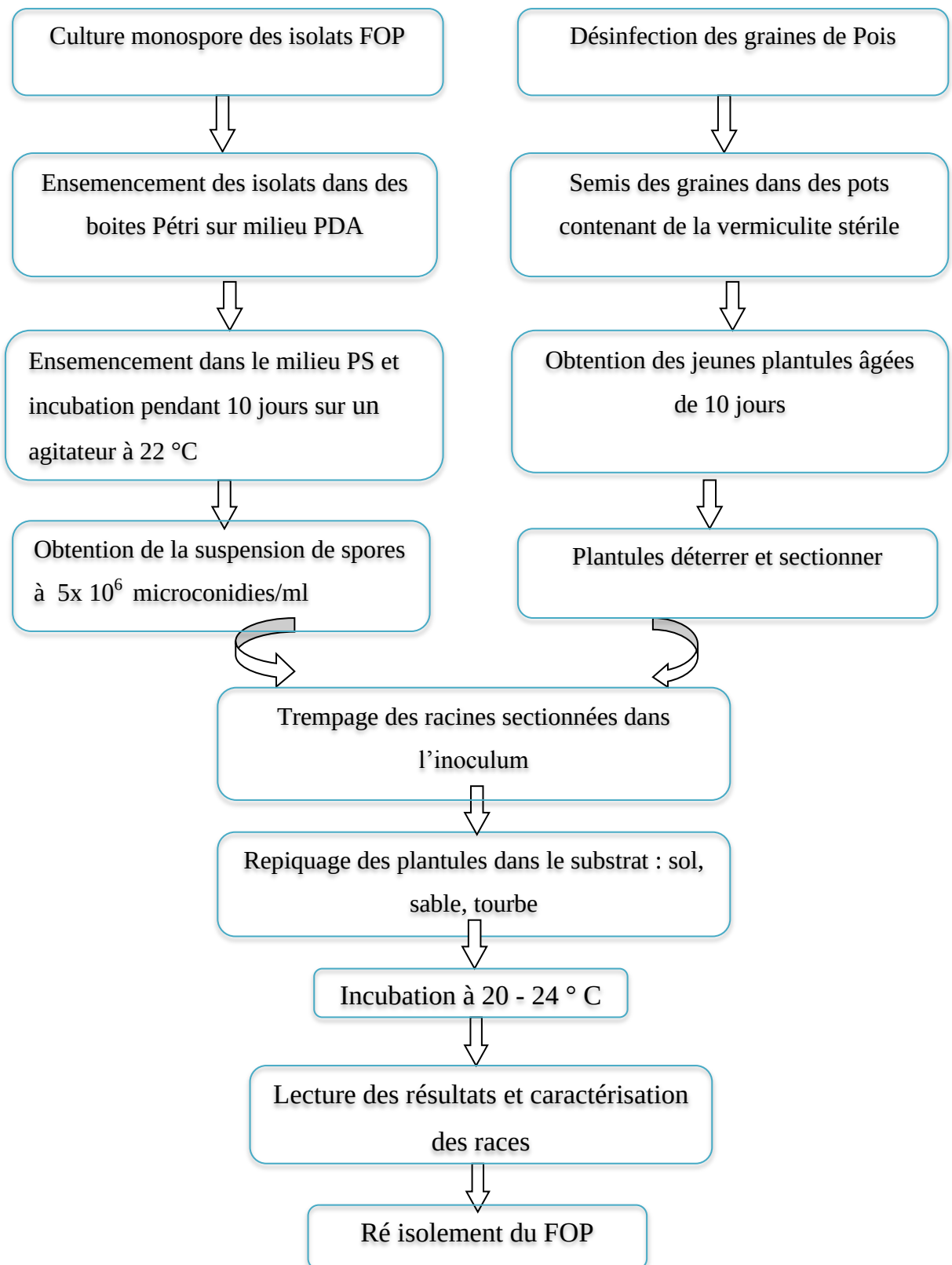


Fig. 3-1 : Méthode d'inoculation des plantules de Pois

2-4. Caractéristiques culturales

2-4-1. Détermination des morphotypes, pigmentation et la croissance mycélienne

- **Observation macroscopique et microscopique :**

Les observations portent en particulier sur les caractères culturaux, indispensables à la détermination des espèces, l'aspect du mycélium (aérien, dense, poudreux, floconneux...), la couleur des colonies, la sporulation, la diffusion ou non d'un pigment dans la gélose...etc.

L'observation microscopique des isolats est extrêmement importante, car elle permet d'identifier le pathogène, en se basant sur les caractères du mycélium et sur le type des spores et leurs tailles. Celle-ci est réalisée, en déposant un petit fragment de colonie entre lame et lamelle, dans une goutte de bleu coton ou lactophénol (colorant spécifique des champignons).

- **Caractères biométriques des spores :**

La caractérisation des isolats choisis, a été effectuée sur des spores âgées de 6 à 10 jours. L'examen direct au microscope photonique permet d'effectuer les mensurations (longueur et largeur) des macroconidies et des microconidies produites par les isolats.

Les mensurations ont été évaluées à l'aide d'un micromètre. En général, les observations microscopiques ont porté sur 40 conidies (micro et macroconidies) par isolat. Toutes les observations sont effectuées au grossissement Gx40.

2-4-2. Méthode d'évaluation de la croissance mycélienne

En effet, il y a deux types de mesures pour apprécier la croissance mycélienne du champignon, soit par la mesure du poids sec, soit par la mesure de la croissance linéaire du mycélium qui est la méthode la plus retenue (**Kharbanda et Bernier, 1980**). Nous avons retenu dans notre étude la dernière méthode.

La croissance mycélienne a été évaluée chaque jour par la mesure de deux diamètres perpendiculaires (verso de la boîte) de la colonie. L'accroissement (moyenne de toutes les valeurs) a été déduit par soustraction du diamètre du disque initial (0,8 cm) à partir des valeurs relevées. Ainsi la croissance mycélienne est déterminée de la manière suivante :

$$L = (D-d)/2.$$

L : croissance mycélienne.

D : diamètre de la colonie.

d : diamètre de l'explantât.

2-5. TRAITEMENT STATISTIQUE

Avant de procéder au traitement de nos données nous avons effectué un codage sur l'ensemble des résultats de nos observations. Le code nous permet de réaliser les différentes opérations de l'analyse par ordinateurs.

2-5-1. Analyse factorielle de correspondance (A.F.C)

L'analyse factorielle de correspondance (A.F.C) est une technique d'analyse statistique récente mise au point par l'équipe de chercheurs du professeur **Jean Paul Benzecri** au début des années soixante, cette méthode a pour but de décrire (en particulier sous forme graphique) le maximum de l'information contenue dans le tableau des données. Ce tableau doit être constitué de données provenant de " mesures " faites sur deux ensembles de caractères.

Le but de cette méthode est de réaliser un ou plusieurs graphiques à partir du tableau de données, en réduisant les dimensions de l'espace de représentation des données. Tout en essayant de ne pas perdre trop d'information au moment de la réduction, pour cela il suffit de déterminer les axes de projection qui sont les plus aptes à représenter correctement les données.

2-5-2.Corrélation

Deux caractères sont corrélatifs, si à toute variation de l'un correspond une variation de l'autre dans un sens déterminé. Le coefficient de corrélation définit le degré de liaison des variables, il varie $[-1, +1]$. Nous avons calculé les coefficients de corrélations entre différents paramètres étudiés.

Les analyses statistiques des résultats obtenus sont effectuées à l'aide du logiciel STATISTICA (Ver. 5,'97) pour l'analyse de la variance, la comparaison des moyennes conduite selon le test L. S. D (Least Significant Difference test =Newman-Keuls's test) à $P = 0.05$ et les tests de corrélations de **Pearson** entre les différents paramètres.

3. RESULTATS

3-1.Importance de la Fusariose vasculaire de Pois dans l'ouest Algérien

Les enquêtes menées dans les quatre zones agro-climatiques dans l'ouest Algérie ont confirmé la présence de la Fusariose vasculaire du Pois au niveau de tous les champs prospectés avec un pourcentage moyen de 15.54 %.Le symptôme de jaunissement flétrissement est observée au cours de tous les stades de la croissance des plantes , dans la plupart des sites et durant toutes les années de prospection avec des fréquences allant de 7,30% à 33,98 % pour l'ensemble de la région ouest de l'Algérie. La culture de Pois dans les plaines intérieures est la plus vulnérable avec 18,61 %, le maximum de 33,98% est enregistré à Relizane (Tab.3-2 et Fig.3-2).

Des différences significatives des fréquences de la maladie sont observées entre les stades végétatifs de la plante et les régions, il y a une augmentation du pourcentage de la maladie dans tous les champs prospectés avec l'augmentation de l'âge de la plante (Tab.3-2) (**Merzoug *et al.*, 2009; Merzoug *et al.*, 2011**).

Les symptômes typiques de la fusariose vasculaire de Pois débutent par un flétrissement, les symptômes incluent l'enroulement vers le bas des feuilles et des stipules qui prennent une couleur grise. Le flétrissement progresse des feuilles les plus basses vers le haut de la plante. Les racines semblent ne pas être atteintes mais une coupe longitudinale de la tige met en évidence une coloration anormale orange à rouge qui progresse dans le tissu vasculaire à partir de la racine jusqu'à la tige. La maladie peut attaquer des plants de Pois à n'importe quel stade de la croissance, nous avons observé que la maladie attaque les plantes à un stade très jeune (Planche 3-1).

D'après les observations faites sur le terrain, dans les différentes régions de culture, il semble que les années sèches favorisent le développement de la maladie par rapport aux années pluvieuses d'autre part, les infections précoces peuvent entraîner la mort de la plante ; les infections tardives réduisent la récolte.

Un certain nombre d'agents pathogènes a été associée au symptôme de jaunissement-flétrissement. L'espèce la plus dominante dans toutes les régions étudiées était *F. oxysporum* avec une moyenne de 26,29 %, Les plaines côtières ont enregistré le pourcentage le plus élevé de *F. oxysporum* avec 37,94 % par contre les haut plateaux présente le pourcentage le plus faible de 13,39 %. Un maximum de 48,50% à Ain Temouchent et minimum de 5,20 % à chellif, nous avons observé que le pourcentage au Sahara est assez important de 26,29. En plus des espèces de *Fusarium oxysporum*, l'analyse nous a permis de détecter un nombre important d'espèces de champignons isolés à partir de la rhizosphère et la tige des plantes malades avec des fréquences variables d'une région à l'autre et d'une année à l'autre, les résultats ont été traité dans le chapitre précédant.

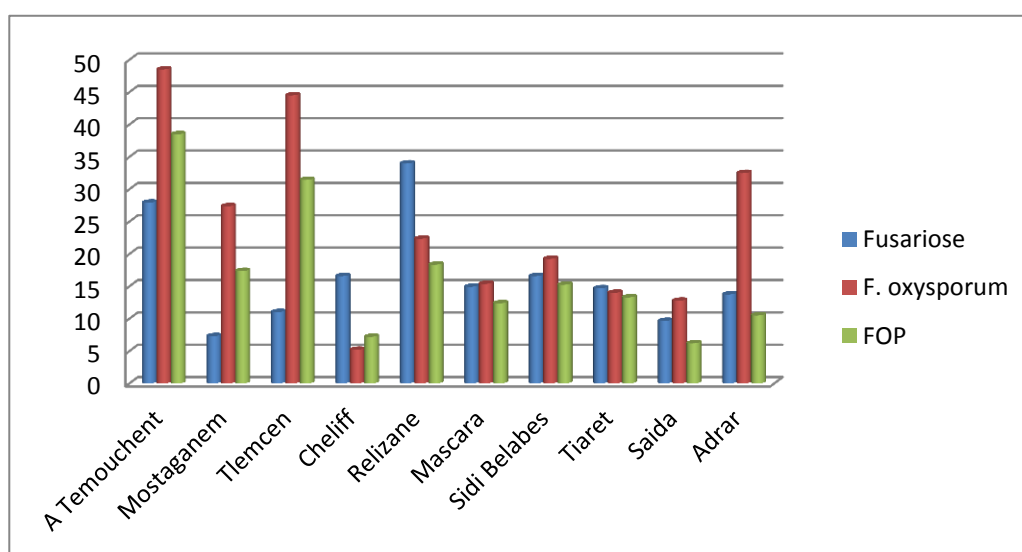


Fig 3-2. Pourcentage de la fusariose vasculaire du Pois dans les wilayas de l'ouest Algérien.

Tableau 3-2 : Fréquences (%) de la Fusariose vasculaire du Pois, *F. oxysporum* et FOP au cours de la période 2007 - 2011 par zone agro climatique

Régions	Nbre de champs prospectés	Wilayas	Plante fusarié	<i>F. oxysporum</i>	FOP
Plaines côtières	9	Ain Temouchent	27,93	48,50	38,50
	6	Mostaganem	7,30	27,37	17,37
		Moy.	17,62	37,94	27,94
Plaines internes	8	Tlemcen	11,02	44,50	31,45
	10	Chlef	16,58	5,20	7,20
	11	Relizane	33,98	22,35	18,35
	13	Mascara	14,93	15,38	12,38
	8	Sidi Belabes	16,58	19,25	15,25
		Moy.	18,62	21,34	16,93
Haut plateau	8	Tiaret	14,70	14,00	13,30
	5	Saida	9,66	12,78	6,20
		Moy.	12,18	13,39	9,75
Sahara	6	Adrar	13,75	32,50	10,50
		Moy.	13,75	32,50	10,50
		Moy.Totale	15,54	26,29	16,28

Planche 3-1 : Symptôme de jaunissement

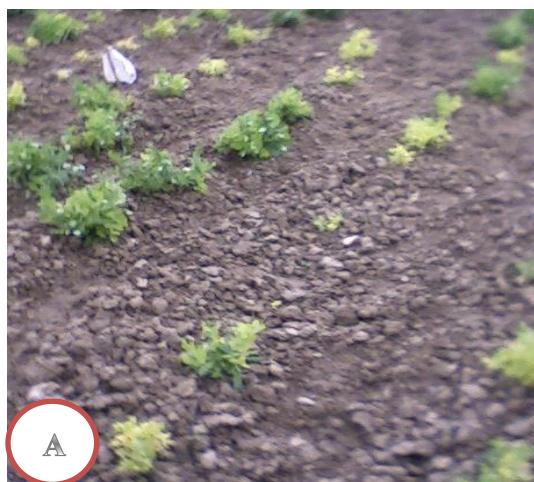


Photo A : Symptôme de jaunissement au stade plantule.

Photo B : Symptôme de jaunissement au stade floraison.

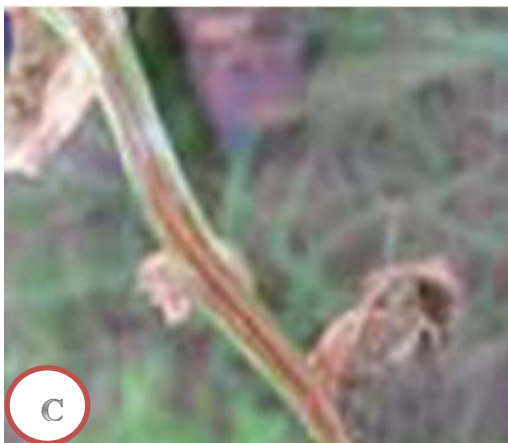


Photo C : Coloration orange à rouge qui progresse dans les tissus vasculaires de la tige.

3-2. Etude du pouvoir pathogène des isolats du *Fusarium oxysporum*

3-2-1. Caractérisation pathogénique des isolats de FO

L'infection des plantules de la variété sensible Merveille par la collection d'isolats de *Fusarium oxysporum* nous a permis de distinguer un nombre assez important d'isolats appartenant à la forme spéciale pisi. Cette dernière a été obtenue à partir des tiges, des racines et de la rhizosphère et à partir des différentes régions prospectées (Tab.3-3). Les plantules inoculées ont manifesté les mêmes symptômes caractéristiques de la fusariose vasculaire de Pois, ces symptômes sont identiques à ceux observés en plein champ. Les résultats obtenus montrent que parmi 26,29% de FO, un pourcentage total de 16,28% est identifié comme étant la forme spéciale pisi pour toutes les régions prospectées, avec un maximum de 27,94% dans les régions côtières et un minimum de 9,75% et de 10,5 au niveau des hauts plateaux et le Sahara respectivement (Tab.3-2).

L'étude de la caractérisation de la forme spéciale pisi, par la méthode suggérée par **Robert et Kraft. (1971)**, nous a permis de distinguer des isolats pathogènes et des isolats non pathogènes. Les premiers symptômes sont apparus dès le 4^{ème} jour après l'inoculation et la mort de la plante à 10 jours pour l'isolat Sb1, R26 et R 29 (Planche 3-2).

52 isolats parmi la collection totale testée, ont montré des pouvoirs pathogènes variables, les 51 isolats sont classés en 4 groupes (a, b, c et d) (Tab.3-3). L'indice de maladie (IM) a été calculé 21 jours après l'inoculation. Les degrés d'agressivité des isolats sont groupés en 5 classes : 0-20% (très peu virulents) ; 21-40% (peu virulents) ; 41-60% (moyennement virulents) ; 61-80 (virulents) ; 81-100% (très virulents) (Tab.3-4).

Les indices de la maladie varient de 10% à 100%. Parmi les isolats, 4 (R29, Sb1, S56 et Ad67) soit 7,7 % se sont révélés très agressifs, ils ont exprimé des symptômes après 4 jours de l'inoculation. 25(48%) sont agressifs, 17(32,69%) sont

moyennement agressive ,5 (9.61%) isolats sont classés comme peu agressifs. Les isolats de Sidi belabes sont les plus agressifs par contre les isolats de Mostaganem étaient les moins agressifs (Tab.3-4). L'analyse de la variance était significative (Tab.A3-1).

Selon **Kaur et al.,(2007)**, l'isolat Ad 60 se classe comme isolat non pathogène, il a exprimé un IM de 10 % après 14 jours de son inoculation.

Planche 3-2 : Inoculation artificielle

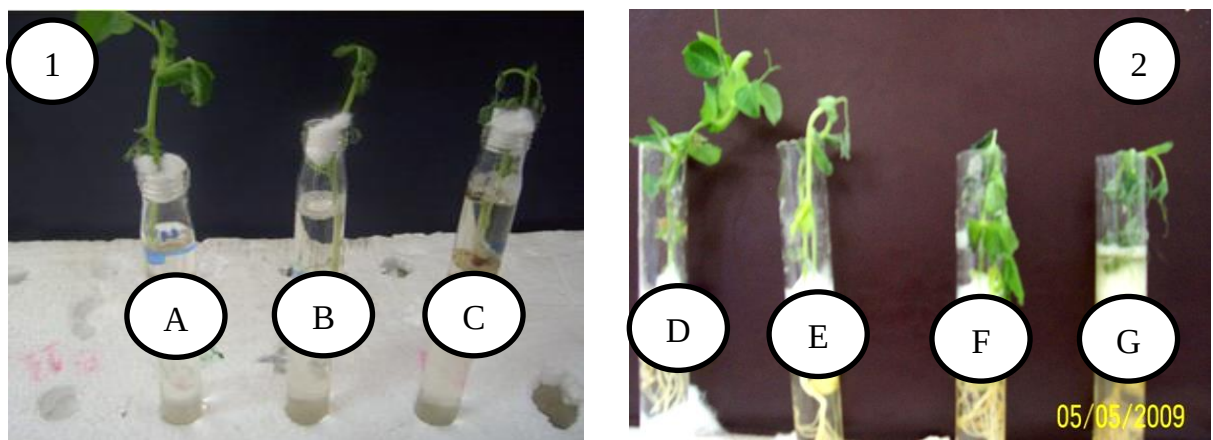


Photo 1-2 : Inoculation artificielle de la variété Merveille par les isolats de FO

A-Isolat non pathogène

B- Isolat moyennement agressif

C- Isolat très agressif

D- Isolat Sb1 apres 1jour de l'inoculation

E- Isolat Sb1 apres 5jour de l'inoculation

F- Isolat Sb1 apres 7jour de l'inoculation

G- Isolat Sb1 apres 10jour de l'inoculation

L'induction de la maladie et la reproduction des symptômes témoignent de l'appartenance des isolats inoculés à la forme spéciale pisi. En fin d'essai, le réisolement du FOP effectué à partir des plantes inoculées a permis de confirmer l'implication de cet agent pathogène dans l'induction du symptôme de flétrissement vasculaire. De même, les cultures dérivées des réisolement à base de plants inoculés sont morphologiquement identiques à leurs cultures mères respectives(Planche 3-3)

Planche 3-3 : Reisolement de FOP



Photo A : Reisolement à partir de tige de plante non inoculé (témoin)

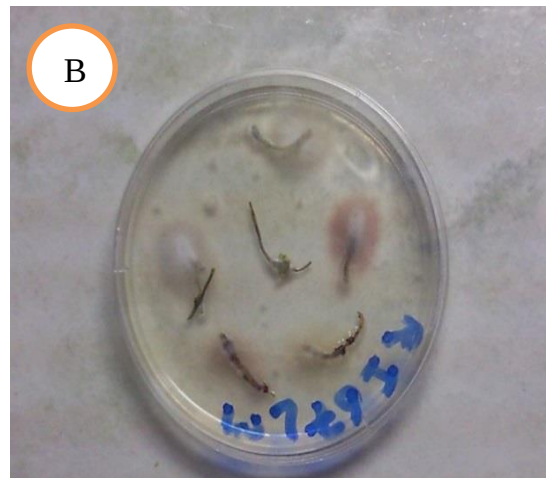


Photo B : Reisolement à partir de tige de plante inoculée avec l'isolat Ad 67.

Tableau 3-3 : Origine géographique, date de prélèvement et l'indice d'agressivité des isolats de FOP.

	N° isolat	Régions	Wilayas	Site de prélèvement	Date de prospection	Partie d'isolement	Agressivité
1	A1	Plaines côtières	Ain Temouchent	Ain Tolba-1	2010	tige	58,33(b)
2	A2			Ain Tolba-2	2011	tige	56,66(b)
3	A16			Benisaf-1	2010	Racine	25,66(d)
4	A18			Benisaf-2	2011	tige	21(d)
5	A19			Benisaf-3	2010	tige	26,66(d)
6	A21			Benisaf-4	2010	tige	36,33(c)
7	A22			Benisaf-5	2010	tige	41,33(c)
8	M42			Farnaka	2009	tige	36,66(c)
9	M43			Bouguirat	2009	Stem	38(c)
10	M44			Anonyme-1	2007	Racine	45(c)
11	M45		Mostaganem	Anonyme-2	2007	tige	40,33(c)
12	TL24			Sebdou1	2010	tige	25,66(d)
13	TL27		Tlemcen	Sebdou2	2010	Rhizosphère	56,33(b)
14	TL28			Ouled Mimoune1	2010	Rhizosphère	60(b)
15	TL29			Ouled Mimoune2	2010	tige	71,66(b)
16	TL31			OuledMimoune3	2011	Rhizosphère	69,66(b)
17	TL32			Ouled Mimoune4	2011	tige	69(b)
18	C20		Chlef	Aine Mrane-1	2009	Racine	78(b)
19	C21			Aine Mrane-2	2009	tige	63,33(b)
20	C24			Aine Mrane-3	2010	Rhizosphère	60(b)
21	R17		Relizane	Sidi Mhammed Ben Ali	2009	Racine	60(b)
22	R26			Mazouna-1	2009	Racine	70(b)
23	R27			Elgattar	2009	tige	46,66(c)
24	R28			Mazouna-2	2010	tige	43,33(c)
25	R29			Yallel	2009	tige	83,33(a)
26	R31			Ain Errahma-1	2009	tige	66,66(b)
27	R32			Ain Errahma-2	2010	Racine	63,33(b)
28	Ma6		Mascara	Tighennif	2007	tige	60,66(b)
29	Ma9			Messaâdia	2007	Rhizosphère	46,66(c)

30	Ma13			Elbordj	2008	tige	60,33(b)
31	Ma15			Mamounia-1	2009	Rhizosphère	60,66(b)
32	Ma19			Mamounia-2	2009	Racine	65(b)
33	Sb1		Sidi Belabes	Sfisef-1	2009	tige	86,66(a)
34	Sb3			Sfisef-2	2009	tige	60(b)
35	Sb4			ITGC Sbelabes	2010	tige	62,33(b)
36	Sb5			ITGC Sbelabes	2010	Rhizosphère	61,66(b)
37	Sb11			Lamtar-1	2010	Rhizosphère	67(b)
38	Sb14			Lamtar-2	2011	tige	66,66(b)
39	T46	Haut plateaux	Tiaret	Rahouia-1	2009	tige	35(c)
40	T47			Rahouia-2	2009	Racine	40(c)
41	T48			Rahouia-3	2009	Racine	23,33(d)
42	T49			ITGC Sebaïne	2009	tige	50(c)
43	T50			ITGC Sebaïne	2009	tige	44,33(c)
44	T51		Saida	Sebaïne-1	2009	tige	39(c)
45	T52			Sebaïne-2	2009	tige	40(c)
46	S56			ITGC Saida	2008	tige	88,33(a)
47	S58			ITGC Saida	2008	tige	34,33(b)
48	Ad60	Sahara	Adrar	Aougroute-1	2009	Racine	6.66 (e)
49	Ad62			Aougroute-2	2009	tige	60(b)
50	Ad63			Aougroute-3	2009	Racine	68,33(b)
51	Ad66			Zaouiet Kounta-1	2009	Racine	48,33(c)
52	Ad67			Zaouiet Kounta-2	2009	Racine	88,33(a)

Au niveau de chaque colonne les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil P 0.05 selon le test de Newman et Keuls.

Tableau 3-4 : Classement d'isolats de *FOP* selon les indices de maladie (IM) induits et les régions d'origine.

Origine des isolats	Nombre		Nombre d'isolats/ classe d'IM			
	d'isolats	0-20	21-40	41-60	61-80	81-100
A.Temouchent	7	0(0%)	3(42.85%)	2(28.57%)	2(28.57%)	0(0%)
Mostaganem	4	0(0%)	0(0%)	4(100%)	0(0%)	0(0%)
Tlemcen	6	0(0%)	1(16.66%)	0(0%)	5(83.33%)	0(0%)
Cheliff	3	0(0%)	0(0%)	0(0%)	3(100%)	0(0%)
Relizane	7	0(0%)	0(0%)	2(28.57%)	4(57.14%)	1(14.28%)
Mascara	5	0(0%)	0(0%)	1(20%)	4(60%)	0(0%)
Sidi belabes	6	0(0%)	0(0%)	0(0%)	5(83.33%)	1(16.66%)
Tiaret	7	0(0%)	1(14.28%)	6(85.71%)	0(0%)	0(0%)
Saida	2	0(0%)	0(0%)	1(50%)	0(0%)	1(50%)
Adrar	5	1(100%)	0(0%)	1(25%)	2(50%)	1(25%)
Total	52	1(1.92%)	5(9.61%)	17(32.69%)	25(48%)	4(7.7%)

Le pourcentage est calculé horizontalement

3-3.Caractérisation des races de FOP

3-3-1.Présence et répartition des races de FOP

La classification actuelle des races pathogènes est basée sur la réponse de l'hôte en utilisant des lignes différentielles et des procédures d'inoculation définies et reproductibles. 51 isolats ont été sélectionnés sur la base des régions et de la variabilité culturale pour l'étude de caractérisation des races. Les premiers symptômes de l'inoculation artificielle sur les lignes différentielles avec des isolats de FOP sont apparus 7 jours après l'inoculation. Les plantes sensibles ont été complètement détruites entre les 10 et 26 jours.

Les notations ont été prises cinq semaines après la plantation des graines de Pois et 3-4 semaines après l'inoculation avec les isolats de FOP, les notations étaient

basées sur le nombre de plantes mortes ou l'expression des symptômes typiques. Dans notre étude, la majorité des plantes sensibles ont été tuées par les isolats de FOP.

Les résultats obtenus ont montré la présence de quatre races 1, 2, 5 et 6 de FOP (Planche 3-4), au niveau de l'ouest l'Algérien (Tab.3-5). Le pourcentage des races identifiées est présenté dans la Fig.3-3. Les races 1 et 2 sont les plus fréquentes dans tous les régions prospectées avec 31(61,47 %) et 10(19,2%) respectivement, la race 6 représente 6 (11,52%), elle est absente au Sahara. Pour la race 5, seulement deux isolats (A21 et M42) ont été identifiés dans les plaines côtières où la culture de Pois est semée précocement par rapport aux autres régions.

En plus des 4 races décrites précédemment, deux types de FOP inconnus ou nouveaux ont été identifiés, ils ont été identifiés seulement au niveau des plaines internes. Bien que ces deux isolats : In1 (isolat C24) et In2 (isolat Sb5), étaient morphologiquement similaires à la race 1, ils sont très différents dans leurs réactions avec les lignes différentielles. L'isolat In1 a provoqué la mort de toutes les lignes différentielles même le cultivar WSU 31, résistant à toutes les races de FOP. Pour l'isolat In2, seulement deux cultivars Little Marvel et Darkskin Perfection étaient sensibles.

Les 2 isolats peuvent être considérés comme étant de nouvelles races. Leurs réactions vis-à-vis des lignées différentielles nécessitent une étude plus approfondie avant toute description définitive.

Les résultats présentés dans le tableau 3-5, montre que parmi 22 isolats agressifs, 18 appartiennent à la race 1, soit 58% des isolats de la race 1 et parmi 4 isolats avec un IM très agressif 3 isolats sont race 1 et un isolat race 2. Les 2 isolats de la race 5 sont classés peu agressifs. En ce qui concerne la race 6 les isolats ont montré une égalité de 2(33.33%) entre agressif, moyennement agressif et peu agressif et les 2 isolats de la R.In sont agressifs.

Tableau 3-5 : Classement des races de *FOP* selon les indices de maladie (IM) induits.

races	Nombre	Nombre de race / classe d'IM				
	d'isolats	0-20	21-40	41-60	61-80	81-100
R1	31	0(0%)	2(6.45%)	10(32.25%)	18(58%)	3(9.67%)
R2	10	0(0%)	0(0%)	9 (90%)	0(0%)	1(10%)
R5	2	0(0%)	2(100%)	0(0%)	0(%)	0(0%)
R6	6	0(0%)	2(33.33%)	2(33.33%)	2(33.33%)	2(33.33%)
R.In	2	0(0%)	0(0%)	0(0%)	2(100%)	0(0%)
RNP	1	1(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)

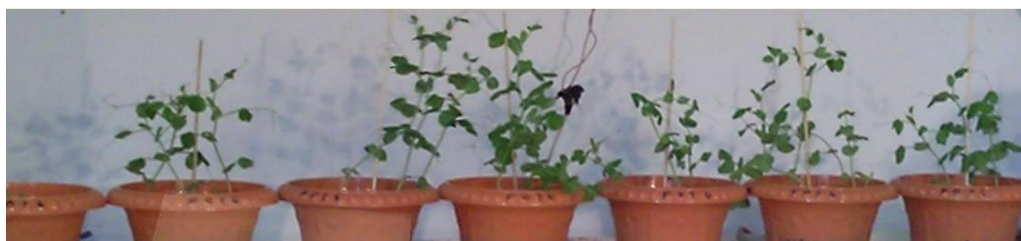
Le pourcentage est calculé horizontalement.

Planche 3-4 : Aspect des races de FOP vis-à-vis des 7 lignées différentielles.

Témoin



R1



R2



R5



R6



De gauche à droite les 7 lignées différentielles : Little Marvel, Darkskin Perfection, New Era, New Season, WSU 23, WSU 28, WSU 31

3-3-2.Caractérisation morphologique et biométrique des races

3-3-2-1.Caractérisation culturelle des races de FOP

D'une manière générale et selon la bibliographie des différences des caractéristiques morphologiques et biométriques sont observées entre les races de FOP. La Race 1 a mycélium aérien avec peu ou pas de pigmentation quand elle est cultivée sur le milieu PDA, ajusté à un pH de 4,5, le mycélium aérien peut virer au brin, et la sporulation est clairsemée. La race 1 produit sur PDA peu ou pas de macroconidies et un nombre limité de microconidies.

La race 2 est également aérienne et le mycélium peut former des mèches. La pigmentation, varie du violet clair au noir dans la plupart des cultures sur PDA acidifié. La sporulation est abondante avec une production de macroconidie et microconidies.

Dans le cadre de ce travail, l'évolution phénotypique des isolats FOP a été suivie dans le but de préciser la part des caractéristiques culturelles dans l'identification de cet agent pathogène. Les conditions d'incubation étaient stables et similaires.

Pigmentation du thalle : La pigmentation des colonies des champignons isolées est très diversifiée (Tab.3-6). Elle varie entre des couleurs de ton claires représentées par le blanc 13(25%), le rose blanchâtre 9(17.64%), le jaune blanchâtre 3(17.64%) et le mauve clair 14 (27.47%) isolats. l'ensemble représente 39 isolats soit 76,47%. Ils appartiennent à la race 1, 5,6 et In1 et In 2 parmi lesquels, 10 isolats de couleur blanche et 10 de pigmentation mauve claire appartenant à la race 1.

Pour les tons sombres ,12 isolats soit 23,52% sont représentés par le violet foncé avec 9(17.64%) isolats et le rouge violacé 2(3.92%) et 1 isolat violet foncé à noir parmi lesquels 10 isolats appartenant à la race 2 et 2 isolats appartenant à la race 6. Par rapport aux régions, le pigment blanc et mauve clair représente un maximum de 57.14% dans la région d'Ain Temochent et de Tiaret respectivement.

Le pigment violet foncé à noir était présent seulement à Mascara avec un pourcentage de 20%. (Fig.3-4. Planche 3-5).

Aspect des morphotypes : Le mycélium des champignons isolés présentent un aspect variable ; il est aérien, duveteux, cotonneux en mèche, cotonneux dense et ras muqueux (Tab.3-6).

Les résultats obtenus montrent la prédominance de type aérienne avec 19 (37.25%) isolats dont 8 isolats appartiennent à la race 1 , 5 la race 2 et 4 la race 6 suivie par le type duveteux au nombre de 13 (25.49%) dont 11 isolats appartiennent à la race 1, le type cotonneux en mèche 11 (21.56%) et 4 isolats soit 7.84% de type cotonneux dense, il y avait aussi la présence de 4 (7.84%) isolats de types ras muqueux dont 3 sont de race 2. Au niveau des régions prospectées, on note un maximum de 42.85% de type cotonneux en mèche dans la wilaya de Ain Temouchent le même pourcentage a été enregistré au niveau de Tiaret avec le type duveteux. Le type ras muqueux été présent seulement dans la wilaya de Mascara, Cheliff et Relizane (Planche 3-5, Fig.3-5).

3-3-2-2.Caractéristiques biométriques

L'observation microscopique des isolats de FOP nous a permis de distinguer la présence :

- Des microconidies (**mc**) unicellulaires de petite taille ($8,82-9,361 \times 2,8 \mu\text{m}$), de forme ovoïde à ellipsoïde, elles sont produites par de courtes conidiophores (**C**), formant des fosses têtes (Tab.3-7, Planche 3-7 : **Photo A**).
- Des macroconidies (**MC**) qui sont allongées, finement pointues aux extrémités, se présentent sous forme de fuseau cloisonné de 3 à 5 cloisons, elles présentent des dimensions variant de $2,3-2,7 \times 22,76-27,89 \mu\text{m}$. (Tab.3-7, **Planche 3-7 : Photo B**).
- Les chlamydospores (**CH**) de forme ovale, elles peuvent être intercalaires ou terminales sur les hyphes. (**Planche 3-7 : Photo C**).

L'analyse de la variance de la proportionnalité entre la longueur et la largeur des macroconidies et des microconidies était non significative.

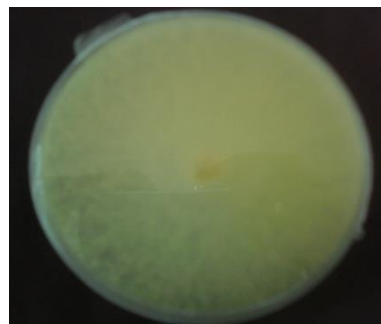
3-3-3. Etude de la croissance mycélienne

Les résultats obtenus montrent que la vitesse de croissance mycélienne est variable après 8 jours d'incubation dans les mêmes conditions de culture. La plus faible a été observée chez l'isolat Ad62 avec une croissance moyenne de 28.33mm et un maximum de 40 mm pour l'isolat Sb1 et C21 (Tab.3-6). Selon la bibliographie, les races 5 et 6 sont semblables à la race 1. Le taux de croissance linéaire des races 1, 5, et 6 sont approximativement égales les unes aux autres et sont plus lents que celui de la race 2 (**Kraft et Pfleger, 2001**). La croissance mycélienne n'est pas corrélée par rapport aux races dans notre étude.

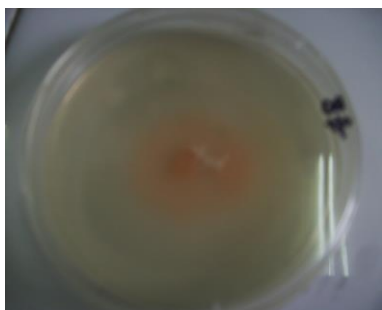
Planche 3-5 : Pigmentation des thalles de FOP



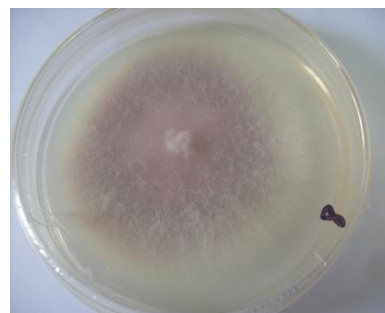
Blanc



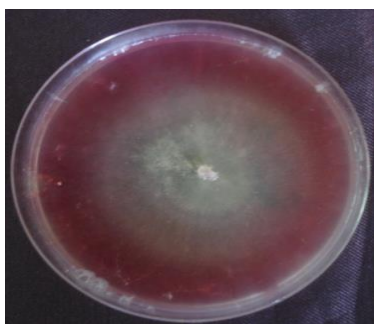
blanc-jaunâtre



Blanc-rosâtre



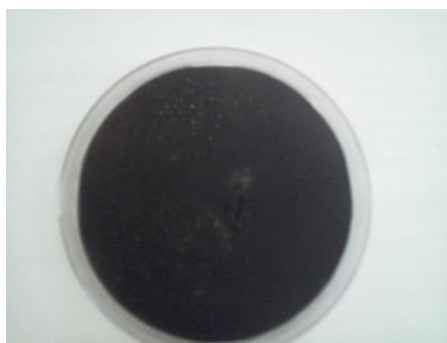
violet



Rouge

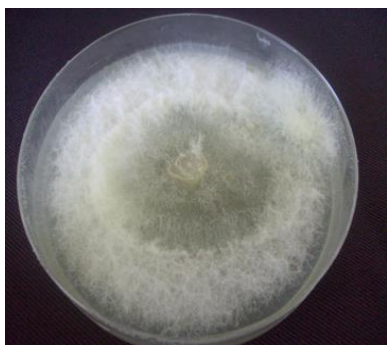


Mauve



Noire

Planche 3-6 : Aspect des morphotypes de FOP



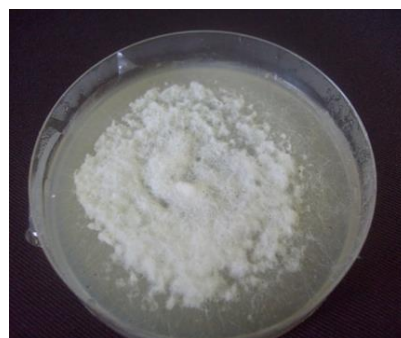
Aspect duveteux



Cotonneux



Aérien



cotonneux en boucle



Ras muqueux

Tableau 3-6. Origine géographique et caractéristiques culturelles des races de *Fusarium oxysporum f.sp pisi* dans l'ouest de l'Algérie.

N°	isolat	Régions	wilaya	Variabilité culturelle		Croissance mycélienne Moy.(mm)	Race
				Morphotype	Pigmentation		
1	A1	Plaines côtières	Ain Temouchent	Cotonneux en mèche	blanche	27,41	R1
2	A2			Cotonneux en mèche	Blanc jaunâtre	29,23	R1
3	A16			aérien	blanche	28,8	R6
4	A18			Cotonneux-dense	Violet foncé	29,73	R2
5	A19			Cotonneux en mèche	blanche	30,4	R1
6	A21			Duveteux	blanche	31,76	R5
7	A22			aérien	Violet foncé	30,4	R6
8	M42		Mostaganem	aérien	mauve clair	26,96	R5
9	M43			Duveteux	Violet foncé	30,9	R2
10	M44			Cotonneux-dense	Blanc rosâtre	31,4	R1
11	M45			aérien	blanche	27,2	R1
12	TL24	Plaines internes	Tlemcen	aérien	mauve clair	28,4	R6
13	TL27			Cotonneux en mèche	Blanc jaunâtre	30,73	R1
14	TL28			Cotonneux en mèche	mauve clair	29,86	R6
15	TL29			Duveteux	mauve clair	30,3	R1
16	TL31			Cotonneux en mèche	Blanc rosâtre	35,2	R1
17	TL32			Duveteux	Blanc jaunâtre	30,16	R1
18	C20		Chlef	Ras muqueux	mauve clair	27,73	R1
19	C21			aérien	mauve clair	30,1	R1

20	C24		Relizane	Cotonneux en mèche	blanche	32,2	IN1
21	R17			Duveteux	Blanc rosâtre	30,4	R1
22	R26			Ras muqueux	Violet foncé	28,4	R2
23	R27			aérien	mauve clair	26,43	R1
24	R28			Cotonneux-dense	blanche	27,26	R1
25	R29			aérien	blanche	26,6	R1
26	R31			Cotonneux en mèche	Blanc rosâtre	29,51	R1
27	R32			aérien	rouge violacé	22,73	R6
28	Ma6		Mascara	aérien	Violet foncé	30,43	R2
29	Ma9			Ras muqueux	Violet foncé	31,06	R2
30	Ma13			aérien	blanche	30,06	R1
31	Ma15			Ras muqueux	violet foncé à noir	24,3	R2
32	Ma19			Duveteux	blanche	28,63	R1
33	Sb1		Sidi Belabes	aérien	mauve clair	30,1	R1
34	Sb3			aérien	Violet foncé	32,53	R2
35	Sb4			Duveteux	Blanc rosâtre	27,63	R1
36	Sb5			Duveteux	blanche	28,9	In2
37	Sb11			Cotonneux-dense	blanche	32,2	R1
38	Sb14			Duveteux	mauve clair	32,56	R1
39	T46	Haut plateau	Tiaret	Duveteux	mauve clair	29,73	R1
40	T47			aérien	Violet foncé	27,6	R2
41	T48			Duveteux	mauve clair	27,2	R1
42	T49			Cotonneux en mèche	Blanc rosâtre	32,73	R6
43	T50			Duveteux	mauve clair	29,26	R1
44	T51			Cotonneux en mèche	Blanc rosâtre	28,33	R1
45	T52			aérien	mauve clair	28,66	R1

46	S56		Saida	aérien	blanche	29,8	R1
47	S58			Duveteux	Blanc jaunâtre	30,93	R1
48	Ad62	Sahara	Adrar	aérien	rouge violacé	23,17	R2
49	Ad63			Cotonneux-dense	blanche	27,4	R1
50	Ad66			Duveteux	Blanc rosâtre	32,16	R1
51	Ad67			aérien	Violet foncé	31,6	R2

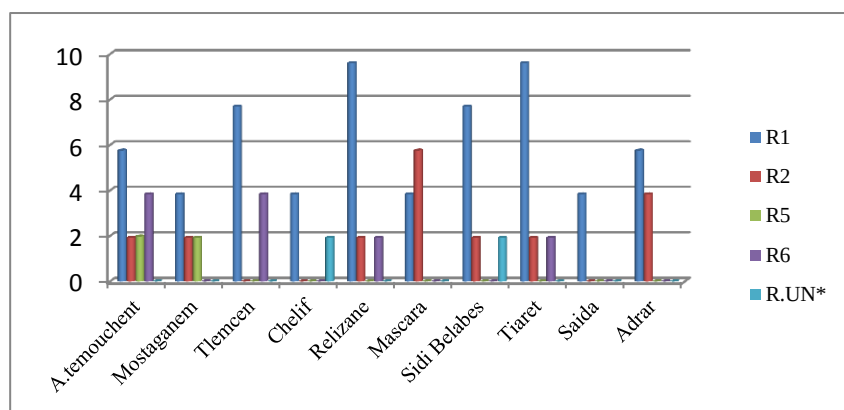


Fig.3-3 : Pourcentage des races en fonction des wilayas

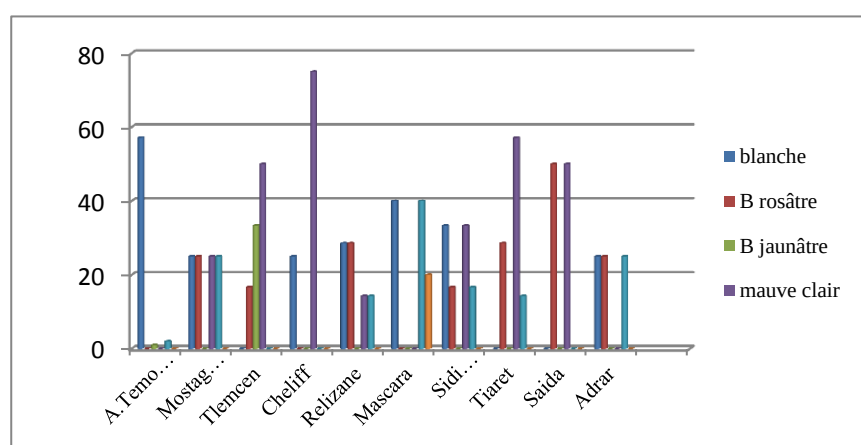


Fig.3-4 : Pourcentage de la pigmentation en fonction des wilayas

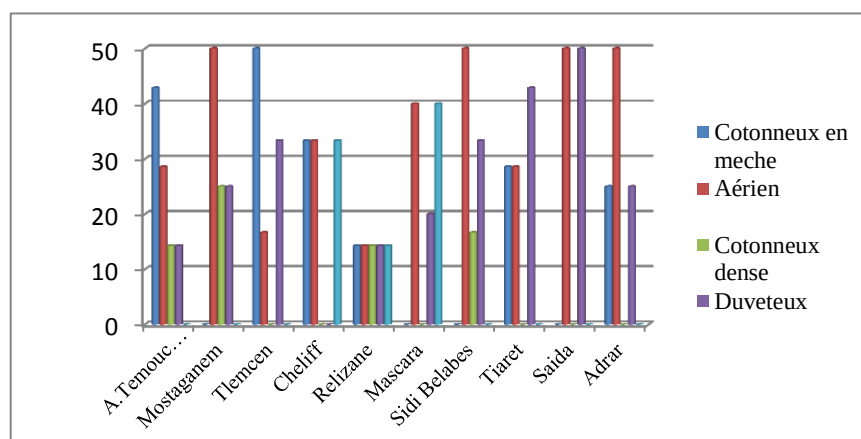


Fig.3-5 : Pourcentage des morphotypes en fonction des wilayas

Planche 3-7 : Aspect microscopique de FOP

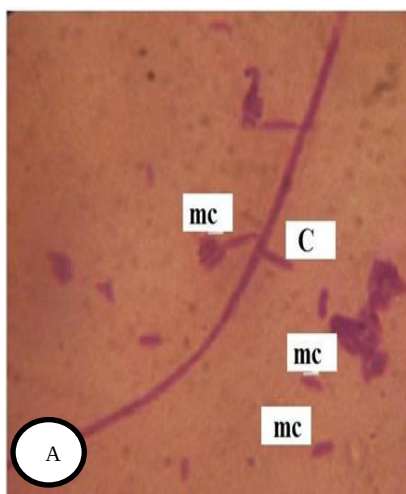


Photo A : Microconidies

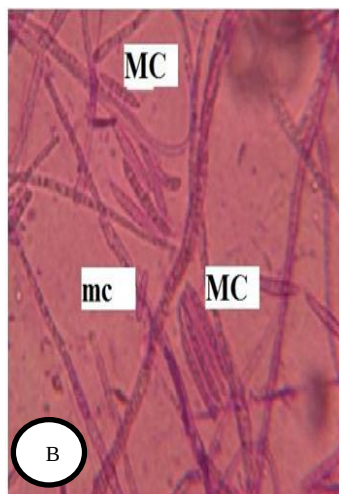


Photo B : Macroconidies



Photo C : Chlamydospores

Tableau 3-7. Mensuration (µm) des macroconidies et des microconidies des isolats de FOP.

Isolats	Dimension (µm)			
	Macroconidies		Microconidies	
	largeur	longueur	largeur	longueur
A1	2,3-2,7	14,7-16	1 ,9-2,60	5,85-8,05
A2	2,7-3,0	13-16,5	1,9-2,40	5,25-8,4
A16	2,6-2,9	19,5-22	1,65-2,26	4,25-5,56
A18	3.75-4.25	18,25-19	2,08-2,15	7,35-9.25
A19	2,8-3,00	14,7-16,2	1,54-2,20	7,5-8
A21	3.25-4.00	12,55-14,30	1,20-1,50	4,70-6,90
A22	2,6-2,8	15,75-17,50	1,15-1,30	5,20-6,55
M42	2,5-2,93	18,25-20,00	1,90-2,10	7,35-9,25
M43	3,7-6	15,70-17,20	1,55-2,60	7,50-8,00
M44	2,70-3,40	19,50-20,00	1,65-2,26	4,25-5,50
M45	2,6-3,2	17,0-19,00	1,90-2,50	8,82-9,36
TL24	2,70-3,10	14,50-15,7	1,40-1,30	4,82-6,20
TL27	3.90-4.20	15,40-18,60	1,65-1,80	4,50-5,40
TL28	2,60-3,20	17,0-19,20	1,60-1,85	5,80-7,8
TL29	2,80-3,50	18,20-20,50	1,19-2,02	4,40-6,25
TL31	2,90-3,20	18,60-19,25	1,70-2,05	5,80-6,30
TL32	2,65-3,20	16,80-18,70	1,70-2,20	5,82-7,10
C20	2,53-2,90	12,70-16,30	1,86-2,20	4,90-8,90
C21	3,20-3,70	15,70-18 ,50	1,95-2,32	5,25-7,50
C24	2,70-3,52	20,56-27,89	1,65-1,84	4,88-10,90
R17	2,80-3,53	19,20-20,30	1,59-2,25	4,40-6,25
R26	2,45-3,51	15,00-16,50	1,35-1,40	5,25-8,82
R27	2,50-3,47	15,40-18,60	1,65-1,80	4,50-5,40
R28	2,60-3,20	17,0-19,20	1,60-1,85	5,80-7,8
R29	2,80-3,50	18,20-20,50	1,19-2,02	4,40-6,25

R31	2,60-3,25	16,80-18,72	1,75-2,20	5,82-9,10
R32	2,94-3,39	15,20-16,00	1,55-2,75	4,55-5,55
Ma6	2,70-3,12	16,50-18,50	1,59-2,15	4,41-6,50
Ma9	2,78-3,18	17,20-20,00	1,55-2,60	5,50-7,50
Ma13	2,70-3,12	19,60-23,00	1,95-2,70	8,80-9,35
Ma15	2,50-3,45	17,27-19,82	1,55-2,80	4,50-6,50
Ma19	2,80-3,20	16,80-17,20	1,75-2,80	6,25-8,50
Sb1	2,75-3,16	18,50-22,00	1,65-2,26	4,25-5,50
Sb3	2,50-3,45	18,25-20,00	1,90-2,10	7,35-9,25
Sb4	2,85-3,32	15,70-17,20	1,55-2,60	7,50-8,00
Sb5	2,75-3,16	19,50-22,00	1,65-2,26	4,25-5,50
Sb11	2,83-3,28	17,70-19,00	1,90-2,50	8,82-9,36
Sb14	2,30-2,41	23,20-24,30	1,80-2,70	8,80-9,35
T46	2,30-2,43	23,20-24,30	1,80-2,50	7,80-8,35
T47	2,6-3,25	17,30-19,30	2,10-2,50	5,82-8,81
T48	2,80-3,4	19,20-19,80	1,50-2,55	4,45-6,05
T49	2,90-3,36	18,0-19,25	1,95-2,8	5,85-7,40
T50	2,80-3,32	15,75-17,25	1,50-2,60	7,50-8,00
T51	3,40-3,50	17,50-18,50	1,95-2,35	6,25-7,50
T52	3,20-3,40	22,0-22,80	2,00-2,70	8,80-9,35
S56	2,69-3,20	13,9-14,52	1,62-2,70	5,15-7,50
S58	2,63-3,10	16,20-21	1,88-2,45	8,82-9,36
Ad62	2,69-3,15	14-26	1,55-2,16	4,25-7,50
Ad63	2,67-3,12	17,5-22	1,80-2,54	8,82-9,35
Ad66	2,66-3,50	13,7-17,2	2-2,45	8,82-9,36
Ad67	2,9-2,63	12,5-15,5	2,18-2,25	7,35-9,25

3-4.Relation entre la répartition géographique des isolats, les IM et les caractéristiques morphologiques des différentes races de FOP.

L'essentiel du programme de calcul effectué par AFC consiste à extraire les axes principaux, par ordre de pouvoir explicatif décroissant, au long desquels se répartissent les plus grandes masse.

" Au terme de calcul, on obtient des diagrammes (cartes) construits selon des coordonnées orthogonales, constitués de nuages de points plus ou moins dispersés ".

Ces diagrammes sont les cartes factorielles sur lesquels doit se concrétiser la discrimination des divers groupements. Les ensembles de points proches sur ces cartes représentent des individus possédant entre eux de grandes affinités.

L'axe de projection qui déforme le moins possible le nuage initial est celui qui rend maximal le moment d'inertie du nuage par rapport à l'axe. L'axe qui rend ce taux d'inertie maximum est appelé premier axe factoriel.

Le premier axe ne suffit pas pour expliquer à lui seul les relations entre objets. On cherche alors un deuxième axe factoriel orthogonal au premier et rendant maximum le taux d'inertie du nuage .On peut aussi extraire une suite d'axes factoriels de valeurs propres décroissantes et un nombre théoriquement égal à celui des variables -1 (**Benzecri et al., 1973**).

La première analyse a été effectuée pour comparer les origines géographiques (wilayas prospectées) par rapport aux caractères suivants :

1-Pigmentation (blanc : pb, blanc rosâtre : pbr, blanc jaunâtre : pbj, Mauve claire : pm, violet foncé : pv, rouge violacé : pvr) ;

2-Morphotype (cotonneux en mèche : mcm, aérien : ma, cotonneux dense : mcd, duveteux : md, ras muqueux : mr) ;

3- groupe d'Agressivité : IM (groupe a : ga, groupe b : gb, groupe c : gc, groupe d : gd) ;

4-races (race 1 :r1, race 2 :r2, race 5 :r5, race 6 :r6, race inconnue : rin).

Avant de commencer l'analyse, il est important de consulter les valeurs des coordonnées et de savoir si un point projeté sur l'axe est proche de celui-ci ou non. La valeur du "cosinus carré" en est un révélateur qui permet de mesurer la qualité de la représentation.

Un point est bien représenté sur l'axe, si la valeur du cosinus carré est proche de un.

Un point est mal représenté sur l'axe, si la valeur du cosinus carré est proche de zéro.

On constate sur la Fig.3-6 que le plan principale, plan formé par les axes principaux F1et F2 représente : $25.16 + 19.36 = 44.52 \%$.La répartition s'étale entre -0.75 et 0.85sur l'axe F1et de -0.9 et 0.67 sur l'axe F2 ce qui représente que presque la moitié de l'information une représentation en 2D est insuffisante, ce qui nous amène à chercher la moitié de l'information sur l'axe F3.

L'axe F1 et F3 représente une valeur de 42.2 1% (25.16+17.05) (Fig.3-7). La répartition s'étale entre -0.75 et 0.85sur l'axe F1et de -0.59 et 0.85 sur l'axe F3.86.73% de l'information est représentée entre l'axe F1, F2 et F3, ce qui est une bonne description du nuage puisque 13.27 % seulement n'y sont pas expliqués.

Nous avons remarqué que les groupes sont formés à partir des caractères qui relient les individus (races).

Les résultats de l'analyse factorielle des correspondances telles qu'ils apparaissent sur la carte factorielle sur la Fig.3-6 ont permis d'individualiser quelques groupes :

- 1- le premier groupe occupe le côté positif de l'axe F1. Il est représenté par la race 2(r2) où il y a la présence des caractères pv, pvr, pb et mr plus spécifique pour la race 2. le côté gauche de l'axe est occupé par la race 6(r6) (Fig.3-6).
- 2- le deuxième groupe occupe le côté négatif de l'axe F1. il est représenté par la race 5(r5) où il y a la présence des caractères suivants : pr et mcd. Le côté gauche est occupé par la race 1(r1) (Fig.3-6). l'axe F1 peut être défini comme l'axe race.

Sur la carte factorielle sur la Fig.3-7, nous pouvons considérer que l'axe F3 représente plus les groupes d'agressivité (IM). on observe sur le côté positif de l'axe le gc et sur le côté négatif supérieur le gd, le côté inférieur est occupé par ga et gb.

La carte factorielle sur la Fig.3-8, qui représente une comparaison entre les différentes régions par rapport aux races de FOP, nous a permis de distinguer que la plus grande part de l'information est présente sur l'axe F1 avec 47.89% et l'axe F2 représente 18.26% soit un total entre F1 et F2 de 66.15%. Ce qui est intéressant d'étudier sur le graphe se sont les proximités des points, on peut distinguer la proximité de la wilaya de Tlemcen, Chlef et Sidi Belabes puis Mascara, sur l'axe F1 la wilaya d'Ain Tenouchent et Adrar et Relizane puis Saida. Le dernier groupe formé par la wilaya Tiaret et Mostaganem qui occupe le côté positif de l'axe F1 et le côté négatif de l'axe F2. cette répartition prouve une hétérogénéité dans la répartition des régions en fonction des différents caractères étudiés.

Les résultats de l'analyse factorielle de correspondance (AFC), nous a permis de distinguer une hétérogénéité de la répartition des races de FOP en fonction des différents caractères étudiés et aussi en fonction de leur répartition en fonction des différentes régions prospectées. la matrice de corrélation calculée entre les différents paramètres étudiés a montré une corrélation hautement significative seulement entre la race 2(r2) et la pigmentation violet foncé (pv) et la race 6(r6) et le pigment blanc jaunâtre : pbj (Tab.A3-2).

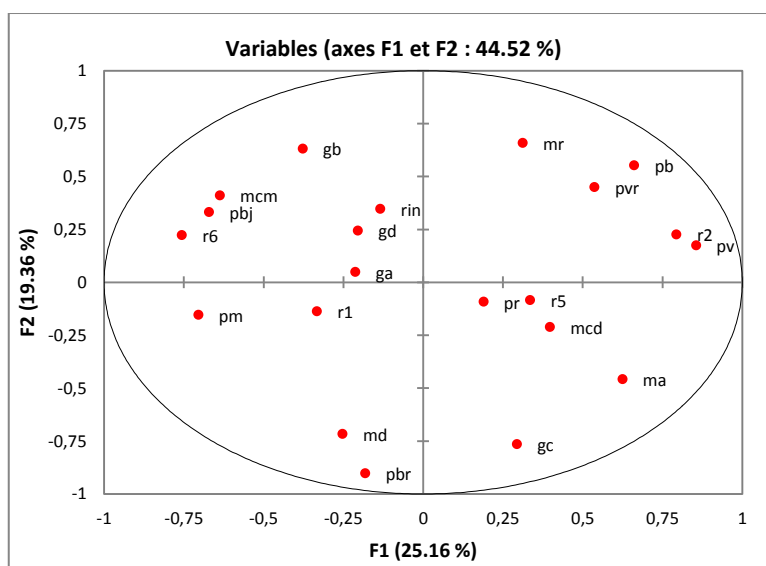


Fig.3-6 : Carte factorielle pour l'axe 1 et 2.

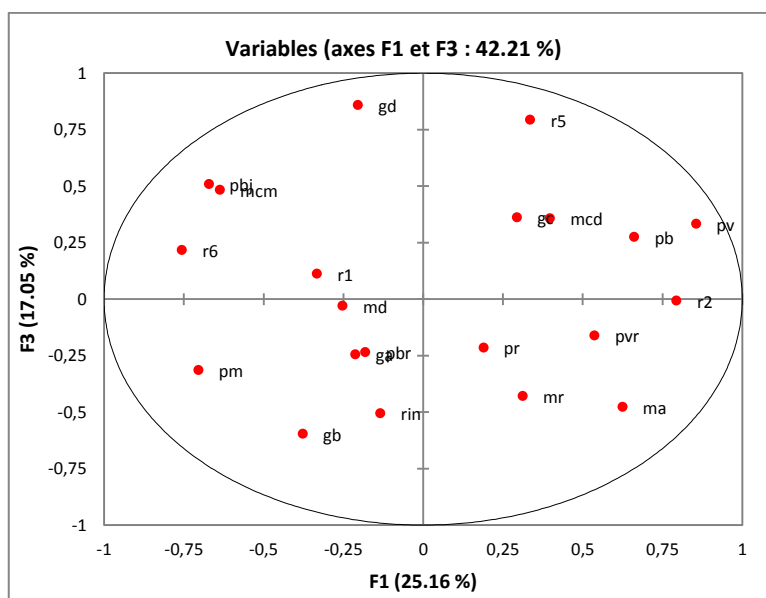


Fig.3-7 : Carte factorielle pour l'axe 1 et 3

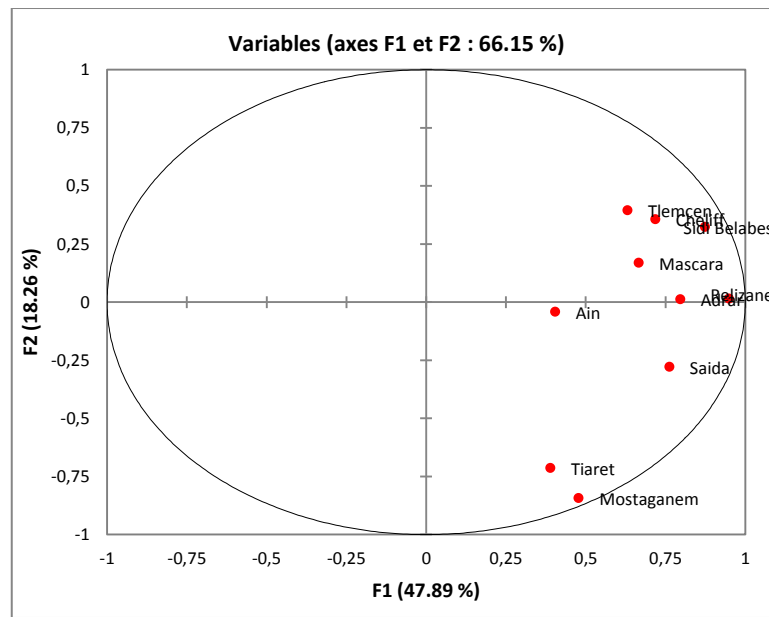


Fig.3-8 : Carte factorielle pour l'axe 1 et 2.

Le coefficient de corrélation définit le degré de liaison des variables, il varie $[-1, +1]$. Nous avons calculé les coefficients de corrélations entre IM, les races et leur répartition géographique.

Concernant les coefficients de corrélations des groupes d'agressivité le tableau 3-8 montre une corrélation parfaite entre la wilaya de Tiaret et Relizane et une corrélation hautement significative avec Tlemcen, Sidi Belabes et Saida. On note aussi une corrélation hautement significative entre Aïn Témouchent et Tlemcen, entre Sidi Belabes et Chlef, Saida.

La corrélation entre les races et les régions, c'est montrée hautement significative entre Chlef et Tlemcen, Sidi Belabes et Tlemcen le même résultat est noté pour Tiaret et Mostaganem et entre Adrar et Relizane (Tab.3-9). Les résultats obtenus sont semblables à ceux obtenus par l'AFC. C'est une preuve de plus qui prouve l'hétérogénéité de la répartition géographique des races FOP dans l'ouest Algérien.

Tableau 3-9 : Matrice IM/Régions (coefficient de corrélation de Pearson).

Variables	Ain Temouchent	Mostaganem	Tlemcen	Cheliff	Relizane	Mascara	Sidi Belabes	Tiaret	Saida	Adrar
Ain Temouchent	1									
Mostaganem	0,632	1								
Tlemcen	0,929	0,535	1							
Chlef	0,438	0,535	0,688	1						
Relizane	0,864	0,778	0,917	0,782	1					
Mascara	0,306	0,634	0,198	0,198	0,511	1				
Sidi Belabes	0,611	0,764	0,749	0,919	0,925	0,538	1			
Tiaret	0,864	0,778	0,917	0,782	1,000	0,511	0,925	1		
Saida	0,783	0,802	0,875	0,875	0,970	0,395	0,953	0,971	1	
Adrar	0,617	0,845	0,593	0,593	0,852	0,875	0,861	0,852	0,791	1

Tableau 3-10 : Matrice Races/Régions (coefficient de corrélation de Pearson).

Variables	Ain Temouchent	Mostaganem	Tlemcen	Cheliff	Relizane	Mascara	Sidi Belabes	Tiaret	Saida	Adrar
Ain Temouchent	1									
Mostaganem	0,133	1								
Tlemcen	0,090	-0,525	1							
Chlef	0,133	-0,333	0,977	1						
Relizane	-0,039	0,098	0,771	0,878	1					
Mascara	0,187	0,000	0,851	0,943	0,966	1				
Sidi Belabes	-0,055	-0,420	0,979	0,980	0,861	0,891	1			
Tiaret	0,254	0,986	-0,588	-0,406	-0,017	-0,082	-0,512	1		
Saida	0,230	0,577	0,391	0,577	0,845	0,816	0,485	0,503	1	
Adrar	-0,324	0,000	0,737	0,816	0,956	0,866	0,857	-0,142	0,707	1

4. DISCUSSION

Les différents isollements à partir des plantes présentant des symptômes visibles de jaunissement et de flétrissement, au niveau du collet et des racines associé parfois à des pourritures de différents aspects ont présenté des fréquences de la maladie variables. La fréquence de la maladie a augmenté au fur et à mesure de l'extension des surfaces cultivées.

Pour les agents pathogènes associés au flétrissement, le *Fusarium oxysporum* a été la principale cause de la maladie dans toutes les zones agro-climatiques suivie par le *Fusarium solani*. L'association de *F. oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia sp.* avec le flétrissement des légumineuses en Algérie et dans d'autres pays a déjà été rapporté par plusieurs auteurs (**Belabid et al., 2000; Xue, 2003 ; Infantino, 2006; Rana et al., 2009**).

La fréquence de la maladie et l'association des agents pathogènes transmis par le sol indique la possibilité d'une incidence accrue de la maladie à l'avenir, si les pratiques de gestion appropriées ne sont pas adoptées. Cette étude a démontré que la population de FOP dans l'ouest de l'Algérie est variable. Les maladies d'importance secondaire dans certaines régions peuvent prendre ailleurs des proportions d'épiphyties, si elles sont placées dans des conditions climatiques propices.

Les répercussions économiques sont variables, suivant la région considérée, les conditions climatiques, la sensibilité des cultivars et le retour de la culture sur les mêmes parcelles (noter pour la plupart des champs visités).

D'après les observations faites sur le terrain, dans les différentes régions de prospection, il semble que les années sèches favorisent le développement de la maladie par rapport aux années pluvieuses. D'autre part, les infections précoces peuvent entraîner la mort de la plante ; les infections tardives réduisent la production.

Les lignes différentielles qui sont utilisées dans cette étude ont été utilisées assez fréquemment dans diverses régions du monde, ce qui suggère qu'ils sont

particulièrement utiles pour évaluer la variabilité pathogénique des différentes races.

La race 1 et 2 de l'agent pathogène du flétrissement sont présentes dans la plupart des régions productrices de Pois dans le monde, elles sont présentes et importantes dans la région européenne et méditerranéenne (**OEPP, 1994**). Les races 1, 2 et 6 ont été signalés en Europe (**Debra, 1992**), tandis que les races 1, 2, 5, 6 sont identifiées en Australie et les quatre races spécifiques de la fusariose du Pois ont été identifiées et étudiées aux États-Unis (**Haglund et Kraft, 2001**) et au Canada (**Neumann et Xue, 2002**). Les races 1 et 2 sont les plus économiquement importantes aux États-Unis jusqu'à ce que la race 5 soit apparue dans le nord-ouest de Washington en 1963, suivie par la race 6 (**Haglund et Kraft, 2001**). Les races 1 et 2 sont présentes dans le monde entier, tandis que les races 5 et 6 ne sont importantes que dans l'ouest de l'état de Washington en USA, leur impact a diminué la production de Pois frais de l'ouest de Washington et actuellement leur impact est observé en dehors de cette zone.

Les cultivars différentiels ont été utilisés avec succès depuis de nombreuses années, leurs réactions à la race 2 ont récemment été remises en question. Des réactions intermédiaires des lignes au niveau des résultats ont été observées lors d'expérimentations individuelles (**Neumann et Xue, 2002**).

Dans cette étude, certaines races étaient spécifiques à une seule région cas de la race 5, tandis que d'autres ont été retrouvés dans les différentes régions comme la race 1 et 2 et 2 isolats (pathotypes) inconnus. Cela pourrait être dû à la transmission par les semences de Pois infectés par le FOP, c'est un moyen important pour la dissémination naturelle de l'agent pathogène. En Algérie, le transfert des semences d'une région à l'autre est connu et mal contrôlé.

La transmission par les semences ne se produira que si les producteurs gardent les graines de plantes infectées. La race 1 peut être occasionnellement transmise par les graines lors de la récolte dans les champs infestés. La probabilité de transmission de la race 2 par les semences se produit lorsque l'agent pathogène

s'attaque aux plants de Pois au stade floraison et formation de gousses, elle est beaucoup plus élevée par rapport à la race 1, 5, ou 6 qui tuent généralement les plantes sensibles avant la floraison. **Masheshwari et al. (1982)** ont isolé le FOP à partir de la surface de semences désinfectée de 6 variétés cultivées dans le Pendjab (en Inde), où la pourriture des racines et le flétrissement vasculaire du Pois présentent un problème et les caractéristiques climatiques sont dans la plupart des cas favorables au développement de la maladie. Les plantes infectées peuvent sembler normaux à basse température, mais à des températures du sol supérieur à 20 ° C, le flétrissement se développe rapidement, ce qui entraîne l'effondrement de toute la partie aérienne. La maladie peut causer des pertes de rendement appréciable dans des conditions environnementales favorables, c'est un facteur limitant le rendement dans la majorité des zones sèches et tempérées.

Des différences significatives ont été observées au niveau de la variabilité morphologique entre les différentes races identifiées. Lorsque les isolats sont cultivés sur PDA acidifié (pH 5), la race 2 sécrète un pigment noir violacé dans le milieu alors que les races 1, 5 et 6 produisent peu ou pas de pigment, des résultats similaires ont été observés par d'autres auteurs (**Haglund et Kraft, 2001 ; Sharma et al., 2006**). Dans notre étude, nous avons constaté que les isolats A22 et R32 identifiés comme race 6 présentent un mycélium aérien avec une pigmentation blanchâtre à violet clair pendant les 2 premières semaines, après, des sécrétions de pigment violet foncé qui ressemblent à celle de la race 2 sont apparues. Le même résultat a été rapporté par des chercheurs Danois, la race 6 isolats qui avaient un mycélium aérien floconneux de couleur blanc à pêche clair. Le revers de la colonie était de même couleur pour environ 12 jours par la suite, un pigment violet foncé a été excrété dans le milieu. En pigmentation le même résultat a été observé pour les isolats Anglais et Danois, ce qui suggère qu'ils appartiennent au même groupe phylogénique. Ce groupe peut être très répandue en Europe (**Bodker 1993 ; Kraft et Pflieger 2001**). **Lin et al., (1984)** ont examiné des isolats de types muqueux avec une pigmentation rouge violacé, ils ont suggéré que ce résultat peut-être une variante de la race 2, car il pourrait être obtenu à partir de cultures anciennes du même groupe, le même résultat a été observé chez 4 de nos isolats dont 3 sont des

racés 2 et un isolat de la race 1. Ils ont été isolés à partir de la rhizosphère et proviennent des plaines internes. L'analyse statistique effectuée a confirmé une hétérogénéité de la répartition des races de FOP en fonction des différents caractères étudiés d'une part et aussi en fonction de leur répartition dans différentes régions prospectées d'autre part.

5. CONCLUSION

Au terme de ce travail, il apparaît qu'une diversité existe bien au sein de la population du FOP présente en Algérie. L'évaluation de la réaction de la gamme d'hôtes différentiels envers l'agent pathogène a permis de révéler l'existence de 4 races, 1,2,5, 6 et 2 pathotypes inconnues qui diffèrent entre elles par leur virulence et leurs variabilité culturale. Les 2 pathotypes peuvent être attribués à des variantes de la race 1 ou 2. Selon la bibliographie, en premier onze races ont été décrits (**Armstrong et Armstrong, 1974**), mais des études ultérieures ont réduit ce nombre à quatre : race 1, 2 et 5 (**Kraft et Haglund, 1978**), en plus d'une nouvelle race 6 (**Haglund et Kraft, 1979**). Les autres races ont été considérées comme des variantes de la race 1 ou 2 en plus le FOP est en constante évolution, avec de nouvelles variantes émergentes de l'agent pathogène (**Bodker et al, 1993; Kraft et Pfleger, 2001**).

La comparaison des résultats entre les différentes études est difficile. Les tests du pouvoir pathogène peuvent être quelque peu subjectifs puisqu'ils sont influencés par plusieurs variables telles que la température (**Williams, 1981**), l'âge de la plante (**Hart et Endo, 1981**), la méthode d'inoculation (**Kraft et Haglund, 1978**) et la gamme d'hôtes (**Armstrong et Armstrong, 1981a**). Il a montré que même de légères modifications dans les conditions de l'environnement peuvent affecter de manière significative l'expression de l'infection de la plante.

Cette étude nous a permis également de mettre en évidence la présence de la fusariose du Pois dans toutes les régions étudiées, une carte de la répartition géographique des quatre races du FOP dans la région de l'ouest algériens a été établie, ce qui permet un soutien assez précieux dans la gestion et le contrôle de la

maladie dans ces régions. Cette information aide dans tout programme pour le développement de nouveaux cultivars résistants. Les producteurs peuvent choisir des cultivars selon la race prédominante dans le sol dans une région particulière. La première étape de tout programme de lutte contre les maladies implique nécessairement l'examen de la maladie et sa distribution.

Comme pour de nombreux champignons pathogènes transmis par le sol, l'utilisation de fongicides n'est pas nécessairement efficace dans la lutte contre la fusariose (**Sharma et al., 2010**). En conséquence, le contrôle de cette maladie est réalisé principalement par l'intégration de différentes procédures de gestion de la maladies y compris agronomique et pratiques culturale (**Navas-Cortes et al., 1998**), de désinfection des sols (**Momma et al., 2010**), la lutte biologique (**Alabouvette et al., 2009**) et la sélection variétale pour la résistance (**Sharma et al., 2010 ; Bani et al., 2012**).

L'utilisation de cultivars résistants est largement reconnue comme la plus sûr, la plus économique et un procédé efficace pour protéger les cultures contre cette maladie. Néanmoins la résistance à la fusariose n'est pas un substitut à de bonnes pratiques culturales, mais doit être utilisé en combinaison entre eux lorsque cela est possible le plutôt possible à fin de minimiser les pertes futures. L'incorporation des sources de résistance efficaces contre diverses races sera nécessaire pour minimiser les pertes futures, aussi, l'hygiène efficace des graines est également très importante afin de prévenir la propagation et l'introduction de souches très virulentes de l'agent pathogène dans de nouvelles régions.

CHAPITRE IV : ETUDE DE LA COMPATIBILITE VEGETATIVE

1. INTRODUCTION

En l'absence du stade téliomorphe chez le *F. oxysporum*, la compatibilité végétative, traduite par la formation d'un hétérocaryon, a été exploitée ces dernières années afin de préciser les relations génétiques parmi les isolats de la même espèce. De nombreux travaux ont porté sur cette approche en tant que moyen d'identification des races au sein de différentes formes spéciales de *F. oxysporum*. Leurs objectifs étaient de développer une technique d'identification rapide des races physiologiques, de distinguer les populations pathogènes et non pathogènes ou d'estimer la diversité à l'intérieur des populations fongiques. La compatibilité végétative a été testée par croisement de mutants complémentaires pour l'assimilation de l'azote minéral obtenus sur un milieu minimal additionné de chlorate de potassium, procédure développée par **Puhalla (1985)** et améliorée par **Correll et al., (1987)**.

Dans le présent travail, les tests ont été réalisés avec 21 isolats appartenant aux 4 races de *F. oxysporum* f.sp. *pisi* et un isolat de FO non pathogène collecter de différentes régions de l'ouest Algérien en vue de révéler la structure génétique de la population et de vérifier la fiabilité de la méthode pour l'identification des races physiologiques de FOP.

Les isolats de FOP utilisés dans cette étude figurent dans le tableau 4-2. Pour leur caractérisation sur la base de leur capacité de former un hétérocaryon, le protocole expérimental défini par **Leslie (1990)** a été suivi ; il utilise la complémentarité entre des mutants incapables de réduire les nitrates désignés par mutants "nit ".

2. MATERIEL ET METHODES

2-1. Matériel fongique

L'étude a été réalisée avec 21 isolats de FOP et un isolat non pathogène (NP). Tous les isolats ont été sélectionnés et obtenus à partir des réisolement parmi la collection d'isolats étudiée pour la caractérisation des races à fin de régénérer leur pouvoir pathogène, Le choix de cette population a été effectué en fonction des races et des régions.

Avant d'étudier la compatibilité végétative, chaque isolat doit être cloné. Les clones sont obtenus par isolement d'origine monospore (microconidie). Les descendants par microconidies de chacun des isolats obtenus lors des reisolement à partir des lignées différentielles (voir chapitre III). Ils constituent les têtes de clones respectifs. La micro conidie étant uninucléée et haploïde, les descendants par mitose de cette spore sont sauf accident, génétiquement homogènes et constituent un authentique clone.

2-2. Milieux de culture

Les milieux de culture sont préparés avec de l'eau distillée et stérilisés à l'autoclave pendant 20 à 25 minutes à 118°C et une pression de 1 bar puis coulés en boîte de Pétri et ajuster à un pH de 5.5. Pour toutes les expériences impliquant l'isolement ou le test de chlorate de mutants résistants, un milieu minimum (MM), complétée selon l'utilisation prévue du milieu a été utilisé (**Puhalla, 1985**).

Trois milieux contenant du chlorate ont été utilisées pour l'obtention des nits mutants.

1- Milieu de sélection des mutants chlorate-résistants : MMC et PDC

2- Milieux de caractérisation des mutants pour l'assimilation des nitrates

- Milieu nitrate minimum : MM

-Milieu nitrite : NIT

- Milieu hypoxanthine : HYPO

3- Milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar) : conservation et multiplication des cultures

4- Milieu Asparagine pour la conservation des différents mutants

La composition des différents milieux est mentionnée dans l'annexe 2.

2-3.Production des mutants "nit"

Les isolats ont été initialement mis en culture pendant 4 jours à l'obscurité et à 25° C sur un milieu minimal (MM) contenant du sucrose et des sels dont le NaNO_3 comme seule source d'azote (Annexe 2). Dans chaque colonie, 4 fragments de 3 mm³ (explants) ont été prélevés et placés dans une boîte contenant un milieu amendé de chlorate (MMC). L'incubation a été réalisée à l'obscurité et à 25° C pendant 7 à 14 jours au cours desquelles des secteurs résistants au chlorate se sont développés. Ces secteurs, incapables de réduire le chlorate en chlorite (substance toxique), sont aussi incapables de réduire les nitrates (**Puhalla, 1985 ; Correll et al., 1991 ; Liu et al., 1995 ; Gordon, 1997 ; Glass et al., 2000**). Leur transfert sur milieu minimal (MM) contenant le nitrate comme seule source d'azote a produit le développement de colonies extrêmement fines, transparentes, sans mycélium aérien: ce sont des mutants "nit".

La production des secteurs résistants au chlorate est usuellement réalisée sur un milieu contenant du PDA avec 1,5% de chlorate (PDC) ou MMC (**Puhalla 1985 ; Correll et al., 1987**). Dans les cas où nous n'étions pas en mesure de sélectionner des mutants dans les conditions décrit ci-dessus, nous avons introduit quelques modifications, de manière à augmenter la concentration en chlorate dans MMC ou PDC jusqu'à 5%, ou deux cultures consécutives sur MMC (1,5%) de chlorate (**Kraft, 1995 ; Nogales Moncada et al., 2009**).

Les CRUN (Chlorates Résistants Utilisant le Nitrate) caractérisés par un thalle aérien, épais et dense et les Nit instables ayant réacquis le caractère d'origine (mutation réversible) sont éliminés.

2-4.Caractérisation des mutants

Elle consiste à déterminer le site de la mutation (**Correll et al., 1987**). Trois types de mutations sont possibles d'où trois mutants à caractériser qui sont : nit 1, nit 3, NIT M. Leur reconnaissance est permise grâce à la différence de leur développement sur des milieux contenant différentes sources d'azote (**Correll et al., 1987**).

Chez *Aspergillus nidulans*, deux enzymes sont nécessaires à la réduction du NO_3^- en NH_4^+ : la nitrate réductase (NO_3^- en NO_2^- et la nitrite réductase (NO_2^- en NH_4^+). De nombreux gènes contrôlent ces enzymes, leur régulation est complexe. Les mutants, chlorates résistants, des espèces de *Fusarium* rentrent généralement dans les trois types : nit 1, nit 3, nit M (**Leslie, 1990**).

- Pour les nit 1, la mutation est au site du gène de structure de la nitrate réductase.

- Pour les nit 3, la mutation est au site du gène de régulation de la nitrate et de la nitrite réductase.

- Pour les nit M, la mutation est aux sites des gènes de structure d'un cofacteur à molybdène nécessaire à l'activité de la nitrate réductase.

2-5.Complémentation

Deux boutures des mutants nit 1 et nit M obtenus à partir de deux clones différents ou à partir du même clone (vérification de l'auto-compatibilité) sont placés au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu nitrate MM. Ces boutures

sont déposées à un ou deux centimètres l'une de l'autre. Les mutants "nit " sont auxotrophes pour l'azote sous forme nitrique (milieu MM).

Ils s'y développent en formant un mycélium grêle. Si les mutants sont végétativement compatibles, il y aura anastomose puis formation d'un hétérokaryon au niveau de la zone de contact des filaments des deux mutants avec l'apparition d'un mycélium aérien dense, preuve de l'hétérokaryose .S'ils ne le sont pas, il n'y aura pas de complémentation entre eux ; le mycélium restera ras et grêle même au niveau de la zone de confrontation.

La confrontation entre un mutant nit-M et un mutant nit-1 ou nit-3 donne le plus souvent un résultat rapide et assez net. La confrontation entre un mutant nit 1 et nit 3 donne de faibles complémentations peu apparentes même après une longue période d'attente. La confrontation préférentielle est celle entre un mutant nit M et un mutant nit1 (**Correll et al., 1987**). Celle-ci peut varier d'intensité selon les souches confrontées (Tab.4-1).

Tableau4-1 : Reactions de complémentation entre différents types de mutants chez *F. oxysporum* (Correll et al., 1987).

	nit-1	Nit-3	Nit-M
nit-1	- ou ±	- ou ±	+
nit-3	- ou ±	-	+
Nit-M	+	+	- ou ±

+: complémentation se produit facilement

- : pas de complémentation

±: complémentation lente ou douteuse

La formation d'hétérocaryon, visible par l'apparition d'un mycélium aérien épais et dense, est notée au bout de 5, 10, 15, 25 jours et jusqu'à 4 semaines (**Tantaoui et al., 1996 ; Nogales-Moncada et al., 2009**).

2-6.Mode de regroupement

Après la lecture, on regroupe les différents isolats selon que les résultats sont positifs (apparition d'un mycélium aérien au niveau de la zone de contact) ou négatif (si rien n'apparaît). Tous les mutants ayant complètement avec un autre mutant sont classés dans un même groupe. Pour les réponses négatives, les deux isolats sont mis dans deux groupes distincts dont ils peuvent être l'unique représentant. Les isolats sont ainsi rassemblés dans des groupes dits de compatibilité végétative.

La terminologie adoptée pour décrire les formes de compatibilité est celle proposée par **Puhalla (1985)**. Elle consiste à attribuer à chaque groupe de compatibilité végétative, un certain nombre de chiffre. Les trois premiers chiffres (007-) caractérisant la forme spéciale *pisi* du *Fusarium oxysporum* et les autres correspondent au groupe de compatibilité végétative définie. La procédure de détermination des groupes de compatibilité végétative est de celle décrite par (**Leslie, 1990 ; Correll, 1991**) (Figure 4-1).

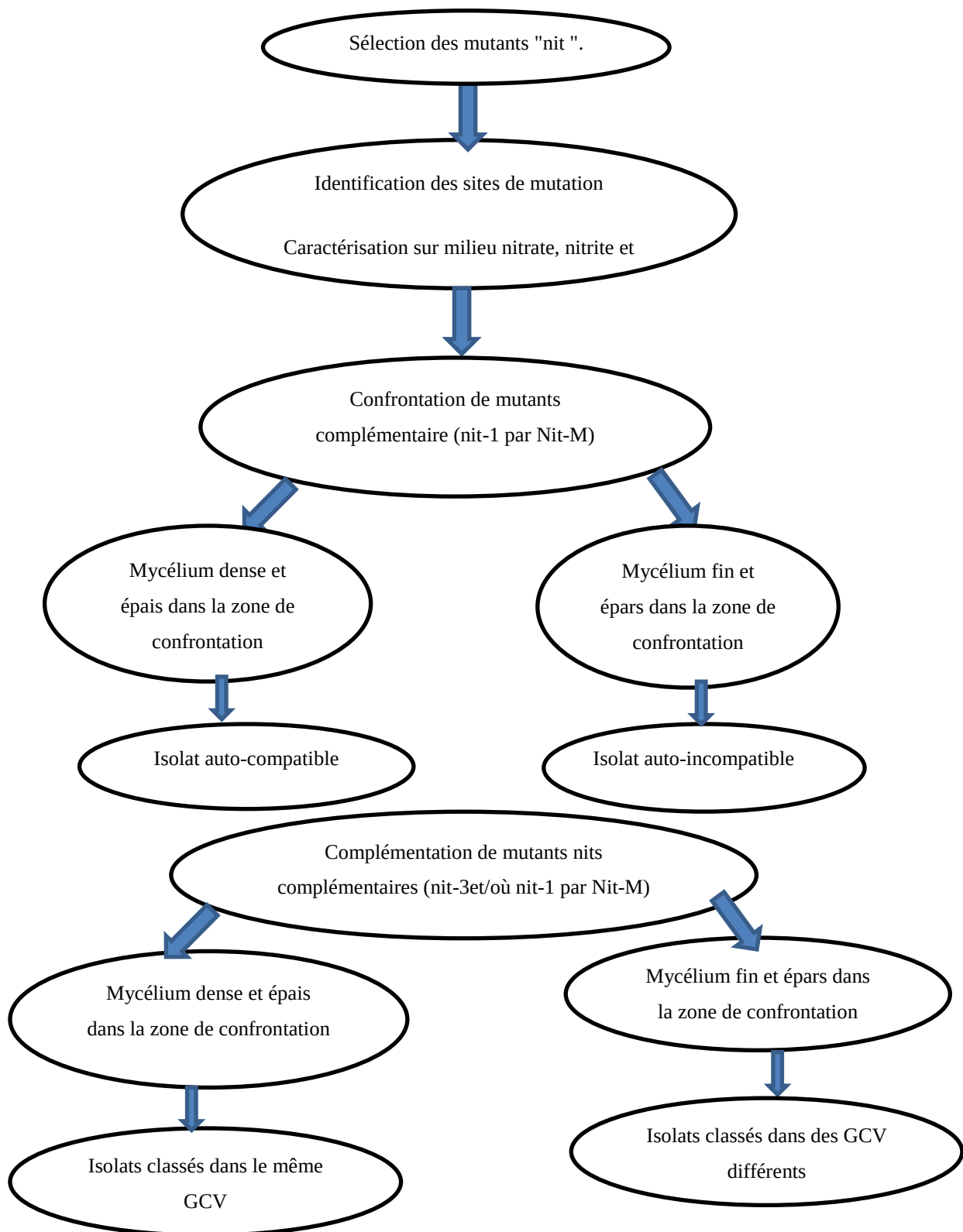


Fig4-1.Méthode d'identification des groupes de compatibilité végétative (Leslie, 1990).

3. RESULTATS

3-1. Production des mutants

Des mutants chlorates résistants ont été isolés à partir de tous les isolats. Les mutants chlorates résistants et de la diversité phénotypique des mutants nits obtenus a été comparé entre le milieu MMC et PDC. La fréquence d'apparition de secteurs à croissance rapide a été plus importante dans le milieu PDC, mais la proportion de secteurs qui étaient chlorate résistant mais capable d'utiliser le nitrate (mutants CRUN) a été plus faible avec MMC. Aussi, le milieu PDC qui s'est avéré plus favorable à la croissance des secteurs mutants a été choisi. Pour certains isolats deux passages successives dans le milieu PDC a été effectué pour l'obtention de mutants chlorates résistants. A chaque fois que possible, au moins deux mutants nit différents, de préférence un nit 1 et Nit M, ont été sélectionnés et conservés comme c'est indiqué dans partie matériel et méthodes.

3-2. Identification des nit mutants

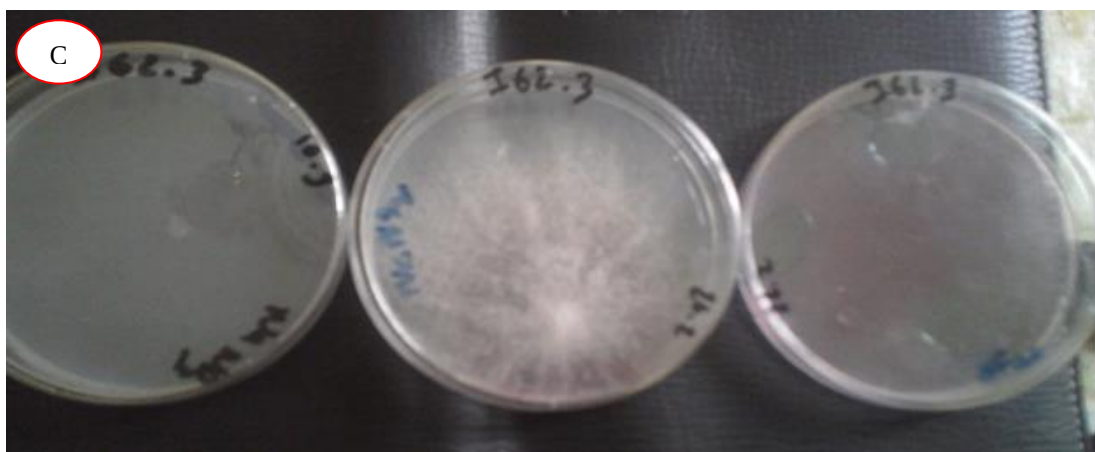
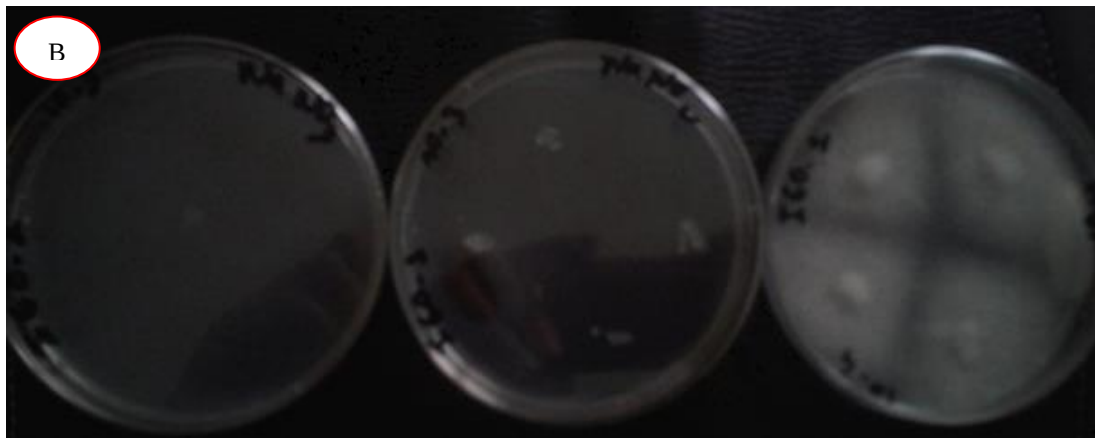
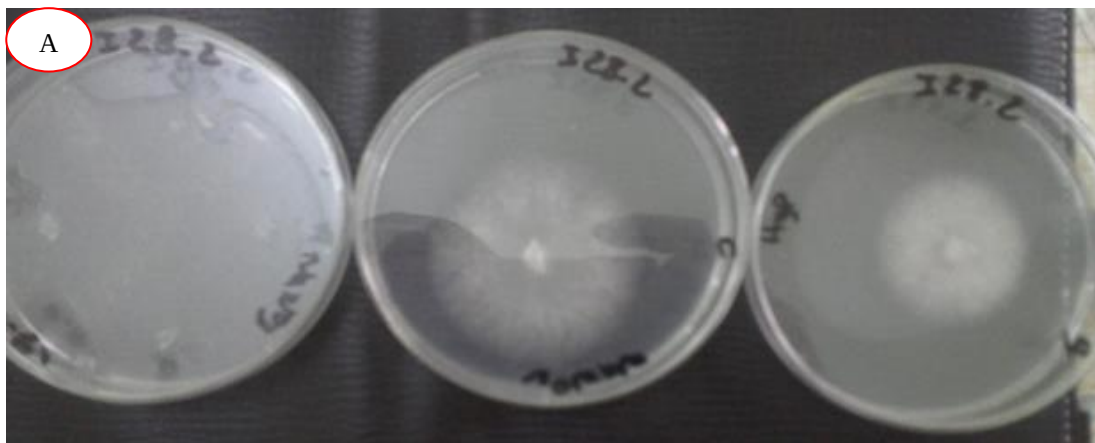
Les phénotypes des mutants nit de *FOP* ont été déterminés par la morphologie des colonies sur des milieux contenant du nitrate, nitrite ou hypoxanthine comme seul source d'azote. Les mutants "nit " peuvent être divisés en trois classes phénotypiques : nit1, nit3, et Nit M. Les trois classes de mutants nit ont été obtenu avec une fréquence variable, chaque type de mutant varie d'un isolat à l'autre (Tab.4-2, Planche 4-1). Les mutants de type nit 1 ont été obtenu pour tous les isolats par contre les mutants nit 3 ont été les moins fréquemment isoler sur 22 isolats 11 isolats non pas produits des nit 3 soit la moitié des isolats testés et pour le type Nit M, sur 22 isolats, seulement 3 isolats (Sb1, R26 et A2) non pas produits des Nit M.

Les résultats de la caractérisation de 343 mutants chlorate-résistants portés dans le Tab.4-2 montrent que 180(52.47%) d'entre eux sont des nit1, 106(30.9%) des Nit M et 57(16.41%) des nit 3, notant aussi la présence d'un certain nombre de CRUN (chlorate résistants capables d'utiliser les nitrates) qui ont été éliminé.

Tableau 4-2 : Nombre et pourcentage de mutant "nit " de FOP obtenus après sélection sur milieu chlorate.

Isolat	Région	Race	nit-1	nit-3	Nit-M	Total
A2	Ain Temouchent	1	10(100%)	0(0%)	0(0%)	10
A21	Ain Temouchent	5	10(41.66%)	8(33.33%)	6(25%)	24
A22	Ain Temouchent	6	8(66.66%)	0(0%)	4(33.33%)	12
M42	Mostaganem	5	9(69.23%)	0(0%)	4(30.76%)	13
M44	Mostaganem	1	11(45.83%)	1(4.16%)	12(50%)	24
Tl 24	Tlemcen	6	7(58.33%)	0(0%)	5(41.66%)	12
Tl27	Tlemcen	1	13(86.66%)	0(0%)	2(13.33%)	15
Tl28	Tlemcen	6	16(88.8%)	0(0%)	2(11.11%)	18
C20	Chlef	1	6(60%)	2(20%)	2(20%)	10
C21	Cheliff	1	6(54.5%)	1(9%)	4(36.3%)	11
R26	Relizane	2	11(100%)	0(0%)	0(0%)	11
R28	Relizane	1	2(20%)	2(20%)	6(60%)	10
Ma6	Mascara	1	14(63.6%)	0(0%)	8(36.36%)	22
Ma15	Mascara	2	7(35%)	7(35%)	6(30%)	20
Sb1	Sidi Belabes	1	8(88.8%)	1(11.1%)	0(0%)	9
Sb11	Sidi Belabes	1	12(46.15%)	0(0%)	14(53.84%)	26
T49	Tiaret	6	5(21.73%)	16(69.56%)	2(8.69%)	23
T51	Tiaret	1	2(9.09%)	4(18.18%)	16(72.72%)	22
S58	Saida	1	5(33.33%)	5(33.33%)	5(33.33%)	15
Ad62	Adrar	2	6(60%)	0(0%)	4(40%)	10
Ad67	Adrar	1	10(83.33%)	0(0%)	2(16.66%)	12
Ad60	Adrar	NP	2(14.28%)	10(71.42%)	2(14.28%)	14
Total		22	180(52.47%)	57(16.41%)	106(30.9%)	343

Planche 4-1 : Phénotypes des mutants nit de *FOP* sur milieux nitrate, nitrite et hypoxanthine.



A : nit-1, B : nit-3, C : Nit-M

La répartition globale des 3 types de nit mutant en fonction des régions, a montré que le plus grand pourcentage de nit former a été enregistré dans la wilaya de Tiaret avec une somme de 55.94 % et un maximum de 35.08 % de nit-3. Une corrélation parfaite a été montrée entre plusieurs régions et la formation des différentes "nit " (Tab.4-3).

La répartition globale des 3 types de nit mutant en fonction des races, montre que la race1 a montré le plus grand nombre de mutants soit un totale de 186(54.22%) ce qui représente plus que la moitié de l'ensemble des mutants suivie par la race 6 avec 65(18.95%).le nombre le plus élevé obtenu de mutants (99) nit 1 à partir de la race 1 avec un pourcentage de 55%, par contre la race 2 a enregistré le nombre de mutant nit 3 le plus faible soit de 7(12.28%) (Tab.4-4).

L'étude de la corrélation entre la formation des différents nits et les différentes races du FOP, a montré une corrélation parfaite entre la race 5 et la race 2 aussi entre la race 6 et la race non pathogène (NP) (Tab.4-5).

Tableau 4-3 : Matrice de corrélation entre la répartition des "nit " en fonction des régions.

Régions	A. Temouchent	Mostaganem	Tlemcen	Cheliff	Relizane	Mascara	S.Belabes	Tiaret	Saida	Adrar
A Temouchent	1,00									
Mostaganem	0,99	1,00								
Tlemcen	0,99	0,99	1,00							
Chlef	1,00	0,99	0,99	1,00						
Relizane	1,00	1,00	0,99	1,00	1,00					
Mascara	1,00	0,99	0,98	1,00	1,00					
Sidi Belabes	0,99	1,00	0,99	0,99	1,00	0,99	1,00			
Tiaret	0,95	0,93	0,89	0,95	0,94	0,96	0,92	1,00		
Saida	1,00	0,99	0,97	1,00	1,00	1,00	0,99	0,97	1,00	
Adrar	1,00	0,98	0,97	0,99	0,99	0,99	0,98	0,97	1,00	1,00

Tableau 4-4 : Repartitions des nombres et des pourcentages des mutants "nit " en fonction des différentes races physiologiques de FOP.

Mutants nit	R1	R2	R5	R6	NP	Total
nit-1	99(55%)	24(13.3%)	19(10.5%)	36(20%)	2(1.1%)	180
nit-3	16(28%)	7(12.28%)	8(14.03%)	16(28%)	10(17.5%)	57
Nit-M	71(66.98%)	10(9.43%)	10(9.43%)	13(12.26%)	2(1.88%)	106
Total	186(54.22%)	41(11.95%)	37(10.78%)	65(18.95%)	14(4.08%)	343

Tableau 4-5. Matrice de corrélation entre la répartition des "nit " en fonction des races de FOP.

Race	R1	R2	R5	R6	NP
R1	1,00				
R2	0,83	1,00			
R5	0,81	1,00	1,00		
R6	0,74	0,99	0,99	1,00	
NP	0,74	0,99	0,99	1,00	1,00

3-3. Développement des paires de mutants

La complémentarité positive entre différents mutants nit s'est traduite par la croissance d'un mycélium aérien dans la zone de confrontation, résultant de l'anastomose des hyphes des colonies mutantes appariées. Il est à noter que cette ligne de fusion des hyphes était variable dans sa densité. Elle est apparue 10 à 15 jours après transfert des boutures sur le milieu MM, elle est formé d'une ligne de croissance continue d'un mycélium touffu et abondant ou sous forme de petite ligne de mycélium aérien dispersés et plus ou moins dense ou encore une ligne moins définie épare avec un mycélium plus ou moins ras qui apparait après 15 jours jusqu'à un mois (Planche 4-2).

Les résultats des différentes confrontations entre mutants nit complémentaires d'un même isolat étaient auto-compatibles pour tous les isolats testés sauf pour 2 isolats de la race 1(A2 et Sb1) et un isolat de la race 2(R26) qui était auto-incompatible sachant que pour les trois isolats seulement le nit1 a été obtenu. L'isolat non pathogène était auto-compatible.

Planche 4-2 : Complémentarité positive entre différents mutants "nit".



A et B : Développement de secteurs résistants au chlorate sur milieu PDC.

Fleche rouge : développement de mycélium grêle.

C : ligne de croissance continue avec un mycélium touffu et abondant.

D : ligne de croissance continue avec de mycélium aérien dispersés et plus ou moins dense

E : ligne moins définie épare avec un mycélium plus ou moins ras

F : Autocompatibilité de l'isolat Ad 67

3-4. Groupes de compatibilité végétative (VCG)

Tous les croisements possibles entre les "nit ", des 22 isolats ont été effectués. La confrontation entre mutants et lorsque cela est possible, un mutant Nit M et un nit -1 et ou un nit-3 de chaque isolat ont été sélectionnés et appariés dans toutes les combinaisons possibles. La complémentation entre les 2 clones croisés, se traduit par l'apparition d'un mycélium aérien dense et épais dans la zone de confrontation, 5 à 15 jours après l'ensemencement des boutures sur le milieu minimum. Lorsque la complémentation provient de deux mutants du même isolat, elle s'est produite dans 7 jours et lorsque les deux mutants étaient de différents isolats le processus a pris plus longtemps, souvent jusqu'à 4 semaines.

L'analyse des résultats des différents croisement mentionné dans le tableau 4-6 montre que :

- Les isolats appartenant à la race 2 sont classés en 2 sous-groupes, l'isolat Ma15 était auto-incompatible avec tous les autres isolats même avec ceux de la race 2. l'isolat R 26 est auto-incompatible mais, il est compatible avec l'isolat Ad 62 sachant que ces deux isolats sont d'origine géographique éloignée (Plaines internes et Sahara) par contre Ma 15 et R 26 qui sont incompatible ont la même origine géographique.
- Les isolats appartenant à la race 5 sont classés dans un même GCV. Ils compatible entre eux, notant qu'ils ont montré une complémentation lente qui s'est produite après un moins de la confrontation avec les isolats Sb1, Ad 67, S58, C24 et A2. La seule complémentation positive est observée entre M44 et l'isolat de la race 1 M 42 qui sont de la même région (Mostaganem).
- Les isolats appartenant à la race 1 sont classés dans un même GCV. Tous les isolats sont auto-compatibles sauf les isolats Sb1 et A2 qui entaient auto-incompatible dont la cause peut être attribuée à présence de "nit " mutant de type nit 1seulement dont la complémentation peut produire une réaction négative ou douteuse.

Les relations de compatibilité au sein de la race 1 ne sont pas simples dans certain cas elle est positif, d'autres négative ou encore partielle avec les différentes combinaisons possible. Le profil de formation des hétérocaryons entre les mutants des différents isolats de la race 1, a montré l'existence d'un seul GCV, bien que la réaction de la compatibilité entre les isolats fût variable. Par exemple, nous pouvant constater que l'isolat Sb1 est seulement compatible avec l'isolat Tl27 et une réaction faible avec l'isolat R28, alors que Tl27 est compatible avec tous les isolats de la race 1 sauf avec l'isolat S58 sachant que ce dernier est compatible avec Ma6 et ou Ma6 est compatible avec Tl27 et non compatible avec Sb1 (Tab.4-6).

- Les isolats appartenant à la race 6 sont classés dans le même GCV que la race 1. Les isolats de la race 6 étaient tous auto-compatible. La complémentation était positive ou partielle entre la plupart des isolats de la race 6 et ceux de la race 1 sauf pour l'isolat Sb1 ou l'appariement est négatif avec l'ensemble des isolats de la race 6.

- Pour l'isolat non pathogène (NP), il était auto-compatible. Il s'est montré compatible avec la race 1 et la race 6 et il est incompatible avec les races R 2 et la race 5.

Les résultats obtenus montrent que les isolats de FOP provenant de l'ouest Algérien peuvent être classés dans quatre principaux groupes de compatibilité végétative GCV, qui correspond à la race 1, la race 2 qui est divisée en deux sous-groupe 2A et 2B et la race 5 qui a montré une compatibilité partielle avec quelques isolats de la race 1. La race 6 se classe dans le GCV1 avec la race 1 ou la complémentation avec les isolats de la race 1 étaient dans certains cas positive, partielle ou négative selon les isolats (Tab.4-7).

Selon la procédure de détermination des groupes de compatibilité végétative décrite par **(Leslie, 1990 ; Correll, 1991)** et la numérotation systématique proposé par **Katan (1999)**, le numéro de code de VCGs de FOP doit être 0070-0073.

Tableau4-6 : Résultats des complémentations entre les mutants "nit " et les races de FOP.

Race	isolat	Race 2			Race 5		Race 6				Race 1												
		Ma15	Ad62	R26	M42	A21	T49	Tl28	Tl24	A22	Sb1	Sb11	Tl27	Ad67	S58	Ma6	C20	A2	Tl51	M44	R28	C21	Ad60
Race2	Ma15	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ad62		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	R26			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Race5	M42				+	+	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	-	-	+/-	-	+	-	-	-
	A21					+	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	-	-	-	-	-
Race6	T49						+	+	+/-	+/-	-	-	+	+/-	+/-	+	-	+	-	+	-	+	+
	Tl28							+	+/-	+	-	+	-	-	+	+/-	-	+/-	-	+	+/-	+/-	+/-
	Tl24								+	+	-	-	+	-	+/-	-	+	-	+/-	-	-	-	+
	A22									+	-	-	-	+/-	-	-	+	-	+	+	-	-	-
Race1	Sb1										-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	+/-
	Sb11											+/-	-	-	-	+	+/-	-	-	-	+/-	-	+
	Tl27												+/-	+/-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ad67													+	+/-	-	+	-	+	+	+	+/-	+
	S58														+	-	+	-	+	+	+/-	-	+
	Ma6															+	-	-	+/-	+	-	-	+/-
	C20																+	-	+/-	+	-	+/-	+
	A2																	-	+/-	+	+/-	-	+/-
	Tl51																		+	-	+	-	+/-
	M44																			+	+	+	+/-
	R28																				+/-	-	+
	C21																					+	+/-
NP	Ad60																						+

+:complémentation se produit facilement

- : pas de complémentation

±: complémentation lente ou douteuse

Tableau 4-7 : Corrélation entre GCV et races physiologique de FOP.

Race	R1	R2A	R2B	R5	R6	NP
R1	+	-	-	P	+	+
R2A		+	-	-	-	-
R2B			P	-	-	-
R5				+	-	-
R6					+	+
NP						+

+: interaction compatible ;

- : interaction incompatible ;

P : interaction partiellement compatible.

4. DISCUSSION ET CONCLUSION

Depuis les travaux de Puhalla (1985), de nombreuses recherches ont été conduites sur la compatibilité végétative chez le *Fusarium oxysporum*. Chez ce champignon, la recombinaison parasexuée qui implique l'hétérocaryose joue un rôle dans l'expression du potentiel pathogène, la variation de la virulence et même l'apparition de nouvelles races (**Buxton, 1956 ; Bosland et Williams, 1987**). La formation d'anastomoses préalable dans ce cycle parasexué se produit entre des individus végétativement compatibles. Les isolats qui ne le sont pas appartiennent à des GCV différents qui représentent des populations génétiquement distinctes (**Puhalla, 1985 ; Katan *et al.*, 1991 ; Leslie 1993**). Les isolats d'un même GCV peuvent être considérés comme provenant d'une même progéniture (**Puhalla, 1985**). Par conséquent, l'incompatibilité peut être considérée comme un mécanisme d'isolement génétique qui permet d'identifier les groupes intraspécifiques en se basant sur la génétique du champignon plutôt que sur l'interaction hôte-pathogène (**Bosland, 1988**). de nombreux travaux (**Bosland et Williams, 1987 ; Elmer et Stephens, 1989 ; Correll, 1991**) ont montré l'efficacité de la méthode dans la caractérisation de groupes sous spécifiques.

Dans le présent travail, le développement des secteurs résistants au chlorate a été plus ou moins rapide selon les isolats et avec une plus grande fréquence sur milieu PDC. L'avantage de ce dernier par rapport au milieu MMC a été rapporté (**Puhalla ,1985; Ploetz et Correll ,1988; Venter et al. 1992**). Au contact de deux isolats mutants complémentaires, la formation d'hétérocaryon s'est traduite par la croissance d'un mycélium aérien de type sauvage tel qu'il a été rapporté dans de nombreux travaux (**Bosland et Williams 1987 ; Correll et al., 1986, 1987; Elias et Schneider,1986**). Tous les isolats testés, ont généré des mutants chlorates-résistants. Les trois types de mutants nit dont le pourcentage le plus élevé est le nit-1 suivie par le Nit-M et le plus faible le nit-3 sans que ces différences puissent être liées à une caractéristique précise des isolats (origine géographique, race ou virulence). Selon plusieurs travaux antérieures sur différentes formes spéciales, le pourcentage des nit-3 est toujours plus faible (**Tantaoui et al., 1996, Henni et al.,1998,Belabid et al.,2002**).

L'étude de l'organisation de 21 isolats au sein de la forme spéciale *pisi* provenant d'origine géographique différente (l'ouest Algérien) et appartenant aux 4 races de FOP a révélé l'existence de 4 GCVs, ce qui témoigne de sa diversité génétique. Une pareille diversité a été rapportée pour de nombreuses formes spéciales de *F. oxysporum* telles que *lycopersici* (**Elias et Schneider ,1986**), *radicis-lycopersici* (**Katan et al., 1991**), *apii* (**Correll et al., 1986**), *asparagi* (**Elmer et Stephens ,1989**), *melonis* (**Jacobson et Gordon,1988 ; Gennari et al.,1994**), *cubense* (**Ploetz et Correll, 1988**).

La comparaison de la répartition en GCV et de la répartition en races définie au moyen des hôtes différentiels, montre que des isolats appartenant à des races différentes sont inclus dans un même GCV ; C'est le cas des isolats de la race 1 et 6 de *F. oxysporum* f. sp. *pisi* qui se situent dans un même VCG, alors que les isolats de la race 2 sont inclus dans deux autres GCV. Cette situation se retrouve chez d'autres formes spéciales pour lesquelles les relations race-GCV sont complexes. En effet, il est connu que plus d'une race peut apparaître dans un même GCV (**Bosland et Williams 1987 ; Jacobson et Gordon 1988; Correll, 1991**) et

une même race peut contenir plus d'un GCV (**Jacobson et Gordon 1988; Ploetz et Correll, 1991**). Un degré similaire de complexité a été relevé chez le *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (**Ploetz et Correll, 1988 ; Ploetz ,1990**) dont plusieurs races appartiennent à un même GCV et de multiples GCV correspondent à une seule race. Il en est de même chez le *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (**Elias et Schneider, 1991**) et le *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (**Jacobson et Gordon 1988**).

Les résultats de la compatibilité végétative faible ou partielle observés entre les isolats de la race 1 et 5, suggèrent un important degré de similitude avec les isolats de la race 1 plus que avec les isolats de la race 2A et 2B. Il semble probable que la race 5 et 6 dérive de la race 1. Le plus grand degré de variation intra- raciale distingué parmi les isolats de la race 1 peut suggérer que c'est la plus ancienne race. La comparaison entre les différences qui existent entre la race 1 et 5 par rapport aux similitudes trouvées entre la race 1 et 6 peuvent indiquer que la race 6 aurait pu évoluer beaucoup plus récemment que la race 5. La race 2 est très différente de la race 1, 5 et 6 et peut avoir une origine évolutive distincte. La race 2A et 2B sont très étroitement liées, mais l'absence totale de compatibilité végétative entre eux montre qu'ils sont des populations génétiquement distinctes (**Whitehead et al., 1992**). Il est possible que 2A et 2B soient deux races distinctes et peuvent être distingués par leur pathogénicité vis-à-vis d'une gamme de lignes différentielles plus élargie. Notant qu'une nouvelle gamme a été mise en évidence pour une caractérisation plus nette pour la race 2. Des résultats pareilles ont été également trouvés dans le cas de *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (**Ploetz , 1990**) et *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (**Elias et al., 1991**). Une exception est *F. oxysporum dianthi* (**Baayen, 1989**) où chaque race correspond exactement avec un GCV.

Généralement dans différentes formes spéciales tous les isolats d'un même GCV sont compatibles les uns aux autres. En outre, certaines combinaisons entre les isolats de la race 1 ont produit des réactions faibles ou partielles. Ces différences dans l'intensité des interactions culturales ont déjà été signalées dans *F. oxysporum* et pourraient refléter le résultat de l'action des allèles à plusieurs loci distincts affectant la compatibilité végétative (**Gordon et Okamoto, 1991 ;**

Whitehead et al., 1992 ; Nogales-Moncada et al., 2009). Une autre différence entre *F. oxysporum* f.sp. *pisi* et autres formes spéciales a été démontrée. Certains isolats dans le même GCV peuvent être incompatibles et même si chacun d'eux est compatible avec un troisième isolat du même groupe. L'apparition de ces souches intermédiaires est bien connue chez *F. oxysporum* (**Katan et al., 1991 ; Katan et Katan, 1999; Vakalo unakis et Fragkiadakis, 1999**). La présence de deux sous-groupes au niveau des isolats de la race 1 de FOP a été identifiée par les travaux de **Whitehead et al (1992)** qui n'est pas expliquée par des facteurs géographiques car les isolats présents dans chaque des deux sous-groupes proviennent d'Europe et d'Amérique du Nord.

La complémentarité faible trouvée entre les isolats de la race 1 et la race 5, même si elles se trouvent dans des GCV distincts dans notre étude est semblable à d'autres travaux. **Ploetz (1990)** a rapporté que des isolats de *F. oxysporum* f.sp. *cubense* appartenant à la fois à deux GCV étroitement liés étaient capables de former des hétérocaryons. Il peut être possible pour la complémentarité faible de se produire dans *F. oxysporum* f.sp. *pisi* même lorsque deux isolats divergent un peu, à un ou plusieurs loci. Ces différences pourraient avoir comme cause par exemple, la présence d'une série d'allèles « missense alleles » d'un gène particulier *het* dans la population (SNP, single-nucleotide polymorphism est, en génétique, la variation (polymorphisme) d'une seule paire de bases du génome, entre individus d'une même espèce). Certaines combinaisons peuvent conduire immédiatement à la compatibilité tandis que d'autres soit qu'elle se produit pas ou elle le fait après une longue période, selon la nature et la position du changement d'acide aminé. Cela pourrait expliquer à la fois les variations observées sur la race 1 et la faible compatibilité entre la race 1 et certains isolats de la race 5 (**Whitehead et al., 1992**).

L'étude de groupement la compatibilité végétative couplée à des techniques moléculaires (**Coddington et al., 1987; Kistler et al., 1991**), devrait aider la compréhension des relations de la pathologie, la biologie des populations et des races de champignon. L'application de la technique de la compatibilité végétative pour l'identification des races de FOP paraît limitée, et l'emploi d'autres techniques

s'impose. Actuellement de nouvelles méthodes sont exploitées pour étudier les caractéristiques génétiques et l'évolution des formes spéciales et même des races des espèces de *Fusarium*. Il s'agit de procédés qui opèrent au niveau des gènes telles que l'utilisation des RFLP (Fragments Length Polymorphism), des RAPD ("Random Amplified polymorphism DNA"), de l'analyse de fragments d'ADN amplifiés par les PCR ("Polymerase Chain Reaction"), techniques qui ont permis de mettre en évidence une variabilité parmi et entre les races par suite des similitudes ou des différences révélées par l'analyse des profils. Récemment, les études entreprises par les différentes techniques moléculaires ont permis de distinguer que les races 1, 5 et 6 sont étroitement liés et que la race 2 est distincte (**Coddington et al., 1987 ; Grajal-Martin et al., 1993 ; Okubara et al., 2005 ; Sharma et al., 2006**). Toutefois, en ce qui concerne *F. oxysporum* la compréhension de ce pathogène fongique complexe est loin d'être complète.

Dans cette étude, la complémentarité entre les isolats pathogènes de FOP et l'isolat non pathogène FO a été testée. L'isolat non-pathogène été végétativement compatible avec quelques isolats de la race 1 et de la race 6, il a été groupé dans le même GCV que la race 1 et 6, le groupe comprend des isolats pathogènes et non pathogènes d'où l'absence de corrélation entre groupes de compatibilités et la pathogénicité. La découverte de souches non pathogènes qui sont végétativement compatibles avec les souches pathogènes n'est pas nouvelle (**Appel et Gordon, 1996; Gordon et Okamoto, 1992**), selon une étude menée par **Nogales-Moncada et al. (2009)** sur des isolats pathogènes et non-pathogènes où la plupart des isolats non pathogènes étaient compatibles avec des isolats de *F. oxysporum* f.sp *ciceris* de faible virulence, suggérant la possibilité de l'existence d'une transition entre les isolats de populations pathogènes et non-pathogènes. La formation d'hétérocaryon entre les isolats compatibles a été montré à la fois par la pathogénicité et les tests moléculaires. Des résultats similaires ont été trouvés chez la *Fusarium oxysporum* f. sp. *Vanillae* (**Xia-Hong, 2007**). l'identification des souches pathogènes et non pathogènes par d'autres techniques telles que le marqueur moléculaire doivent encore être mis au point (**Mc Fadden et al., 2006**)

CHAPITRE V : ESSAI DE LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LA FUSARIOSE VASCULAIRE ET LA FUSARIOSE DU PIED DU POIS PAR UTILISATION DE *FUSARIUM OXYSPORUM* NON PATHOGENES.

1. INTRODUCTION

La stratégie de contrôle de la fusariose par l'utilisation des variétés résistances même lorsqu'elle existe est malheureusement limitée par l'apparition de nouvelles races du pathogène. Durant le dernier siècle, une somme considérable de travaux de recherche ont démontré l'efficacité des microorganismes de diverses origines phylogénétiques sont capables d'inhiber différents agents pathogènes.

La lutte biologique présente certains avantages qui répondent aux interrogations de l'homme concernant les enjeux économiques ainsi que l'équilibre biologique et environnemental. Outre, la réduction des risques de pollution, l'utilisation des microorganismes antagonistes peut remédier aux problèmes d'apparition des races résistantes.

Le contrôle biologique des maladies de fusariose par des souches non pathogène de *Fusarium* ont été signalés dans de nombreuses cultures dans les essais in vitro et in vivo (Mandeel et Baker, 1991 ; Larkin *et al.* , 1996 ; Katsube et Alasaka, 1997; Larkin et Fravel, 1998 ; Honda et Kawakub 1998 ; Minuto *et al.* , 1997a , b ; Hervas *et al.*, 1998. ; Fuch *et al.*, 1999). *F. oxysporum* non pathogène souche Fo47 isoler à partir de sols suppressifs en France a été largement étudiés pour le contrôle de la maladie de la fusariose de plusieurs cultures légumières (Alabouvette *et al.*, 1992 ; 1999).

Dans ce but nous avons entrepris un essai de lutte biologique contre le FOP et FSP par l'utilisation de quelques isolats appartenant au *Fusarium oxysporum* non pathogène. Cette espèce douée d'une certaine activité antagoniste contre plusieurs agents fongiques et avoir déjà montré une certaine efficacité contre des *Fusarium oxysporum* pathogènes.

2. MATERIEL ET METHODES

2-1. Isolement de *F. oxysporum* f.sp.*lisi* (FOP), *Fusarium solani* f.sp. *lisi* (FSP) et *Fusarium oxysporum* non pathogènes (FONP).

L'étude a été réalisée avec trois isolats de *F. oxysporum* non pathogènes (FONP07, FONP23 et FONP35) choisies en fonction de leur réaction de pathogénicité et du temps d'incubation. selon la méthode décrit par (**Robert et Kraft., 1971 ; Kaur, 2003 ; Kaur et al., 2010**), un isolat sans aucun symptôme qui n'est apparu 7 jours après l'inoculation est considéré comme isolat non pathogène.

Les isolats pathogènes utilisés dans cette étude sont isolés apartir de la rhizosphère des plantes de Pois saines. Les 3isolats de FOP (Sb1, R29 et C20) appartiennent à la race 1 et un isolat FSP (FSP2) sont les plus agressifs parmi la collection étudiée dans le chapitre III.

2-2.Etude de l'effet antagoniste "*in vitro*"

L'étude de l'action de *Fusarium oxysporum* non pathogène sur la croissance mycélienne des FOP et FSP est réalisée selon la méthode de confrontation directe décrite par **Comporta, (1985) ; Mandeel et Baker, (1991) ; Benhamou et al.,(2001)**. Elle consiste à mettre en confrontation dans une même boîte de Pétri contenant le milieu PDA deux explants de 5 mm de diamètre de l'agent antagoniste (FONP) et de l'agent pathogène (soit FOP ou FSP), ces explants sont prélevés à l'aide d'un emporte-pièce stérile à partir d'une culture âgée de 7 jours. Les deux explants de l'agent pathogène et de l'agent antagoniste sont placés au même temps suivant un axe diamétral à 3 cm et à équidistance du centre de la boîte. Des témoins contenant uniquement le FOP, FONP et FSP sont utilisés. Cette méthode révèle la compétition exercée entre les agents concernés vis-à-vis des éléments nutritifs (tel que le carbone, ou le fer) ou pour l'espace. L'incubation est réalisée à 25 °C à l'obscurité pendant 7 jours. Des notations concernant l'occupation de l'espace par la croissance diamétrale des colonies du FOP et FSP et leur envahissement par les

souches de FONP sont effectuées chaque jour. L'évaluation de la croissance mycélienne est estimée par la mesure de la croissance linéaire qui consiste à mesurer l'accroissement mycélien en fonction du temps à partir d'un explant de 5 mm de diamètre selon la formule de **Rapilly (1968)**.

$$L = (D - d) / 2$$

L : croissance linéaire

D : diamètre de la colonie

d : diamètre de l'explant

2.2-1. Méthode d'évaluation du pourcentage de réduction de croissance mycélienne du FOP et FSP " *in vitro* "

Selon Topps et Wain(1959), le pourcentage de réduction de la croissance mycélienne de l'agent pathogène sous l'effet de l'antagoniste est estimé par la formule suivante :

$$R = (A-B) \times 100/A$$

R : pourcentage de réduction de la croissance mycélienne de l'agent pathogène

A : diamètre de l'agent pathogène non confronté (mm)

B : diamètre de l'agent pathogène confronté avec l'antagoniste (mm)

2-3. Etude de l'effet antagoniste " *in vivo* "

2-3-1. Préparation de l'inoculum et des plantules de Pois

Après une culture monospore, chaque clone des isolats a été ensemencé sur un milieu PDA et incubé à 22°C pendant 15 jours. Le contenu d'une boîte a été broyé pendant 30 secondes dans 50 ml d'eau distillée stérile à l'aide d'un agitateur pendant 1 minute, ensuite, il a été filtré à travers une couche de papier filtre. La concentration de la suspension en microconidies a été ajustée par dilution avec de l'eau distillée stérile afin d'obtenir une concentration de 10^6 conidies/ml, concentration qui s'était révélée suffisante pour provoquer la manifestation des symptômes (**Roberts et al., 1971**).

Des semences de Pois de la variété sensible Merveille de Kelvédon sont désinfectées à l'hypochlorite de Na à 2% pendant 5min puis rincées 3 fois avec de l'eau distillé stérile puis ensemencées dans des pots préalablement désinfectés contenant un mélange stérilisé de sol et de tourbe avec un espacement de 5 cm. Les pots ainsi préparés sont ensuite placés dans un laboratoire et arrosés deux fois par semaine sous une température de 20-24° C, Humidité relative de 70% est un photopériodisme de 12 heures. Au bout de 10 jours, les plantules arrivées au stade des trois premières feuilles étalées ont été sélectionnées pour l'inoculation (**William et al., 1979 ; Newmann et Xue 2002; Bani et al., 2011**).

2-3-2. Méthode d'inoculation des isolats de FONP sur la fusariose de Pois

L'essai du contrôle biologique de la fusariose du Pois par l'utilisation des souches non pathogènes de *Fusarium oxysporum* consiste à l'immersion des racines de la plante dans une suspension conidiale (10^6 ml⁻¹) de *F. oxysporum* non-pathogènes, cette opération doit être effectuée pendant 5 mn avant leur transplantation dans une autre suspension conidiale (10^6 ml⁻¹) des agents pathogènes pendant une période de 5mn. Les plantules inoculées sont transférées dans des pots contenant un mélange stérilisé de sol, de sable et de tourbe (1v 1v

1v) à raison de 3 plantes par pot. Les plantes sont arrosées en fonction des besoins. Les plantes témoins sont traitées de la même façon mais immergés dans de l'eau distillé stérile. La température est maintenue à 20 - 24 ° C, et sous une alternance de lumière et d'obscurité (**Newmann et Xue 2002 ; Bani *et al.*, 2011**).

Cette technique été efficace dans la colonisation de la rhizosphère et dans le contrôle de la fusariose (**Mandeel et Baker, 1991 ; Alabouvette et Couteaudier, 1992 ; Fravel et Larkin, 2002 ; Benhamou *et al.*, 2001**).

2-3-3. Estimation des symptômes :

La méthode d'estimation des symptômes est celle décrite par (**Newmann et Xue 2002**). Elle basée sur l'observation visuelle des plantes jusqu'à 45 jours de l'inoculation. Le nombre de feuilles montrant des symptômes de jaunissement les plantes inoculées par le FOP et le FSP la méthode adopté est celle décrite par (**Kraft et Kaiser, 1993 ; Kraft ,1995**) pour chaque plante l'indice de la maladie est calculé.

Pour confirmer l'implication de l'agent pathogène dans l'infection celui-ci est réisolée sur le milieu PDA. Les cultures obtenues sur PDA sont comparées à leur culture mère au niveau macroscopique et microscopique.

3. RESULTATS

3-1.Effet des *Fusarium oxysporum* non pathogènes sur le FOP et FSP

3-1-1.Effet des *Fusarium oxysporum* non pathogènes sur le FOP et FSP " *in vitro* "

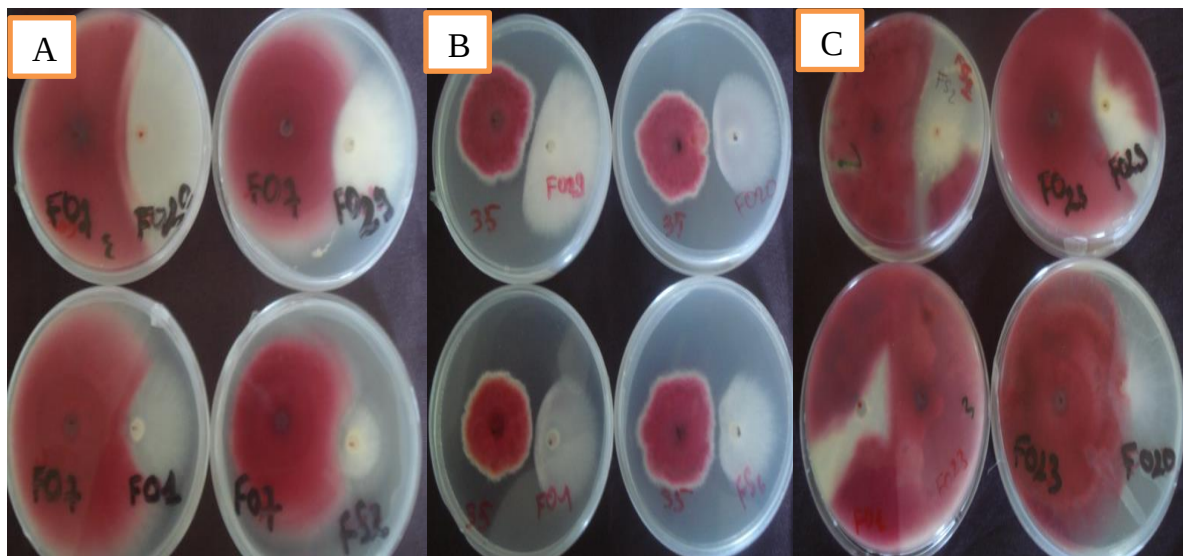
Les résultats des tests " *in vitro* " obtenus pour cette étude montrent que les trois isolats de *F. oxysporum* non pathogènes choisies (FONP7, FONP23 et FONP35) se sont montrés efficaces dans la colonisation du milieu contre les isolats les plus agressifs FOP (Sb1, R29 et C20) et FSP(FSP2). Cette efficacité est variable, d'une part entre les différents isolats de FOPN et d'autre part entre les espèces de FOP et FSP (Planche 5-1). Les notations réalisées montrent que les isolats FONP23 et FONP7 sont doués d'une compétition assez importante traduite par une vitesse de croissance plus élevée par rapport aux isolats pathogènes Sb1, R29, C20 et FSP2 (Fig.5-1, Fig.5-2, Fig5-3 et Fig.5-4). Ainsi au 7^{ème} jour une occupation presque totale des boîtes de Pétri par l'agent antagoniste est notée avec les deux isolats FONP23 et FONP7, par contre FONP35 à un développement plus ou moins proche des isolats pathogènes, c'est l'isolat le moins compétiteur (Tab.A-3, Tab.A-4, Tab.A-5 et Tab.A-6).

L'analyse de la variance des résultats de la croissance mycélienne des isolats pathogènes Sb1 et R 29 en confrontation avec les isolats antagonistes FONP7, FONP23 et FONP35 ont montré des différences hautement significatives entre les différents traitements étudiés avec les probabilités respectives de (P=0.006) (P=0.005) (Tab.A-7 et Tab.A-8). Cependant, les tests réalisés contre C20 ont un effet significatif avec une probabilité de P= 0,032 (Tab.A-9). Pour FSP2 l'effet était hautement significative avec une probabilité de P= 0,001(Tab.A-10).

Rouxel *et al.*,(1979) ; Alabouvette, (1986) ont mis en évidence l'existence d'une compétition entre le *Fusarium* saprophyte en particulier le *F. oxysporum* et le *F. solani* contre le *F. oxysporum* f.sp. *melonis*.

En plus de la capacité des isolats non pathogènes des *F.oxysporum* à empêcher l'effet des *F.oxysporum* pathogènes seraient le résultat de la compétition qui oppose les souches à croissance lente et les souches à croissance rapide, ces dernières sont particulièrement favorisées au niveau de la rhizosphère. La fréquence élevée des *Fusarium* dans la rhizosphère serait due au pouvoir compétiteur de ce champignon.

Planche 5-1 : Résultats de confrontation sur milieu de culture(PDA) des isolats non pathogènes avec les isolats pathogènes.



De haut en bas et de gauche à droite :

A : FONP7+ C20, FONP7+ R29,

FONP7+ Sb1, FONP7+ FSP2

B : FONP35+ R29, FONP35+ C20

FONP35+ Sb1, FONP35+ FSP2

C : FONP23+ C20, FONP23+ R29

FONP23+ Sb1, FONP23+ C20

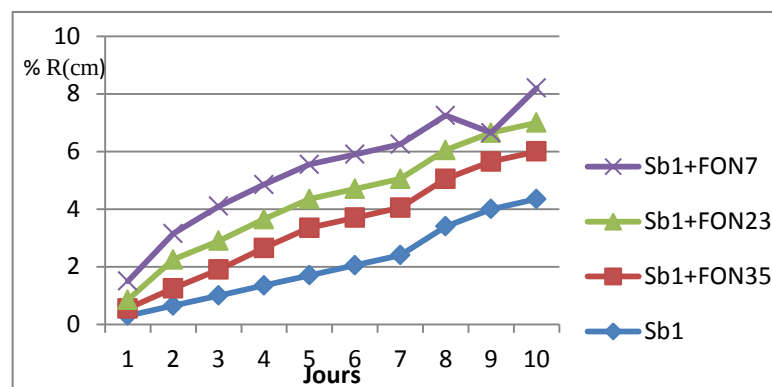


Fig.5-1 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat Sb1 et les isolats non pathogènes.

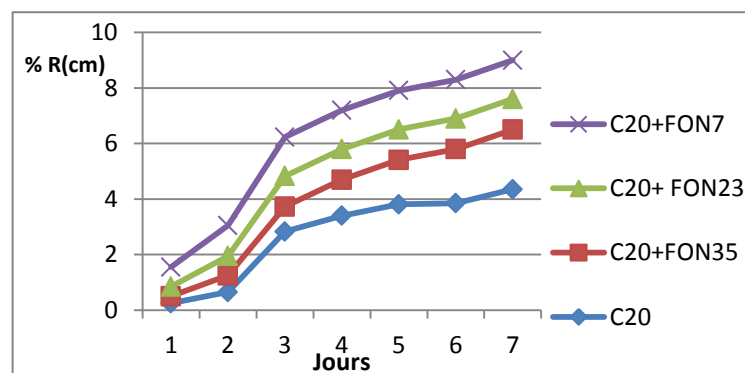


Fig.5-2 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat C20 et les isolats non pathogènes.

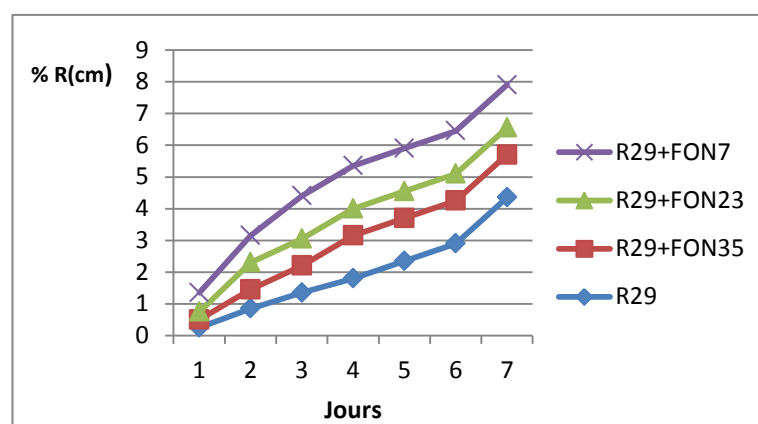


Fig.5-3 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat R29 et les isolats non pathogènes.

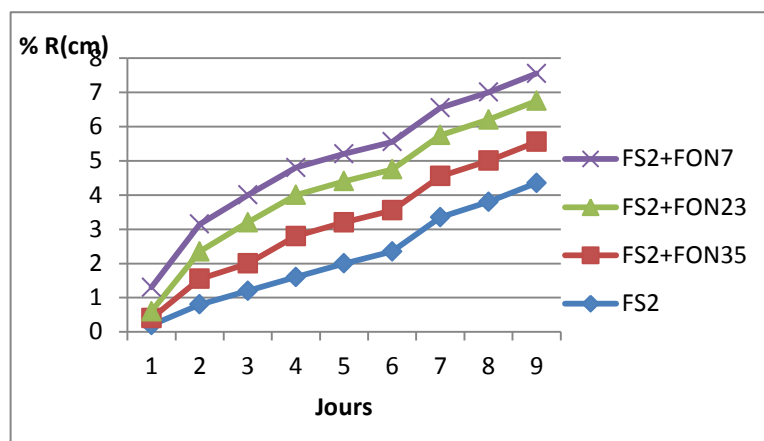


Fig.5-4 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat FS2 et les isolats non pathogènes.

3-1-2. Effet des *Fusarium oxysporum* non pathogènes sur le FOP et FSP "in vivo"

Les plantes de Pois n'ont pas montré les symptômes de flétrissement vasculaire ou de la fusariose de pied, après l'inoculation par les isolats non pathogènes FONP7, FONP23 et FONP35 par rapport aux plantes traitées uniquement par les isolats pathogènes Sb1, C20, R29 et FSP2.

En effet, une réduction de l'indice de la maladie des plantes traitées par les FONP7, FONP23 a été observée par rapport aux témoins traités uniquement par le Sb1, C20, R29 et FSP2, alors que l'isolat FOP35 s'est montré moins efficace.

Cependant, tous les isolats de *F. oxysporum* non pathogène ont été efficaces dans la lutte contre la maladie mais avec des degrés différents. Les isolats FONP7, FONP23 qui se sont montrés plus compétiteurs dans le test in vitro offrent une meilleure protection des plantes vis-à-vis du FOP et du FSP par contre l'isolat FONP35 offre une faible réduction de l'indice de la maladie (Tab.5-1et Planche5-2).

À partir de ces résultats, nous avons observé que la réduction des symptômes de la maladie est liée au pouvoir compétiteur des *F. oxysporum* non pathogènes qui

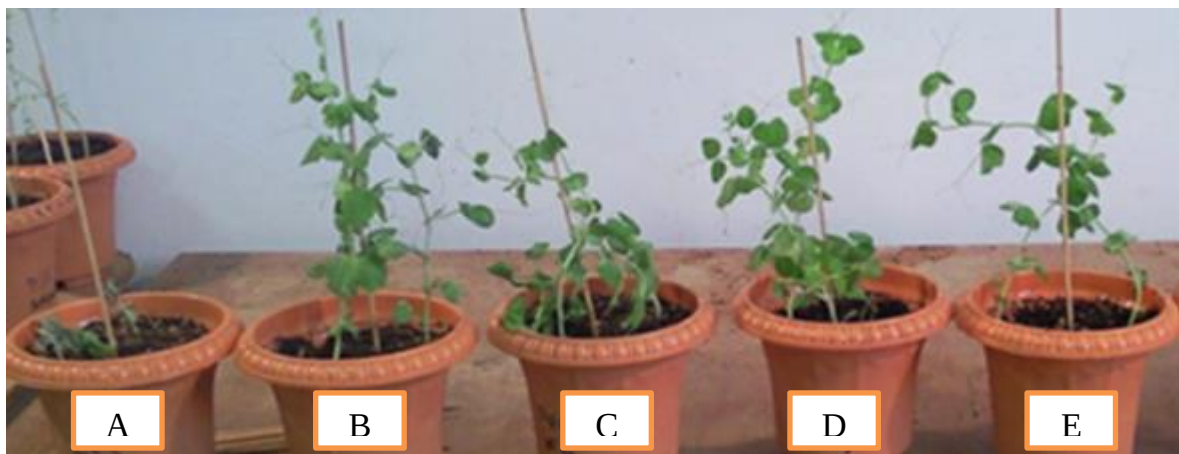
Essai de lutte biologique contre la fusariose vasculaire et la fusariose du pied du Pois.

se traduit dans certains cas par une vitesse assez importante de la colonisation des racines de la plante.

Tableau 5-1 : Effet des isolats non pathogènes sur la fusariose de Pois.

Isolats	L'indice de la maladie (%)			
	Traité	FON7	FON23	FON35
Sb1	80	16	13.33	46.66
C20	72.83	21.26	6	40.2
R29	77	21.33	5.66	58.66
FSP2	74	10.1	2.26	48.93

Planche 5-2 : Effet des isolats non pathogènes sur la fusariose vasculaire et du pied de Pois.



A : Sb1, B : Témoin,

C : FON35 + Sb1, D : FON23 + Sb1 E : FON7 + Sb1



F : FON7 + FSP2

G : FON23 + FSP2

H : FSP2

4. DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats obtenus dans le test de lutte "*in vivo*" et "*in vitro*" mené par l'utilisation d'isolats non pathogènes isolés à partir de la rhizosphère et de plantes de Pois sains, nous a permis de distinguer des effets très encourageants qui se sont traduit par une compétition assez importante pour les sources de nutrition et une réduction de l'indice de la maladie et aussi une nette induction de la résistance de la plant.

Ces résultats s'accordent avec les travaux de **Fravel et Larkin (1999)** qui ont signalé que les isolats de *Fusarium* sp. non-pathogène introduits par l'immersion des racines des plantes avant leurs transplantations, ont été efficaces dans la colonisation de la rhizosphère et dans le contrôle de la fusariose de la tomate. D'autres travaux sur le *F. oxysporum* non-pathogènes ont montré que ces derniers agissent au niveau des sites d'infection et pour les éléments nutritifs par la concurrence, et par induction de la résistance systémique induite (ISR) (**Mandeel et Baker, 1991; Alabouvette et Couteaudier, 1992; Fuchs et al., 1997; Larkin et Fravel, 2002; Benhamou et al., 2001**).

La compétition pour les nutriments en particulier pour le carbone, est commune dans un milieu oligotrophe comme le sol et est considéré comme responsable du phénomène bien connu de fongistase (**Lockwood, 1977 ; De Boer et al., 2003**). Bien que difficile à démontrer expérimentalement, la compétition pour les nutriments dans le sol est certainement l'un des modes d'action de nombreux agents de lutte biologique, La concurrence pour le carbone entre les souches pathogènes et non pathogènes de *F.oxysporum* est l'un des principaux modes d'action des souches de bio contrôle de *F. oxysporum*. En étudiant les interactions quantitatives dans le sol entre une souche pathogène et plusieurs souches non pathogène de *F. oxysporum*. **Couteaudier et Alabouvette (1990)** établi que certaines souches non pathogènes étaient plus compétitives pour une source de carbone que d'autres et doivent être sélectionnée pour la lutte biologique. Toutefois,

la capacité intrinsèque d'une souche à utiliser la source de carbone de manière efficace correspond à un avantage sélectif que lorsque les deux populations sont de la même taille.

Larkin et Fravel (1999) ont étudié les relations dose-réponse entre le pathogène et les souches de *F. oxysporum* de lutte biologique, ces auteurs ont attribuées à des différences dans le mode d'action des souches les différences de relations dose-réponse et ont conclu que la souche Fo47 exercée son effet de contrôle biologique principalement par la concurrence pour les éléments nutritifs, alors que la souche CS- 20 a agit principalement par induction de la résistance. En pratique, Fo47 doit être introduit à une densité d'inoculum très supérieure à celle de l'agent pathogène à contrôler.

En effet, le contrôle de la maladie n'est pas nécessairement la présence d'une forte densité de l'inoculum de la souche non pathogène, mais un rapport élevé de souche d'agent non pathogène et pathogène. **Duijff et al.,(1999)** ont trouvé que la souche Fo47 a été efficacement compétitive avec l'agent pathogène à l'apex de la racine de lin et réduit à la fois le taux de colonisation par l'agent pathogène et l'activité de l'agent pathogène dans les tissus des racines. La colonisation par la souche non pathogène (70T01) de *Fusarium* avant l'invasion par l'agent pathogène est d'une grande importance dans l'interaction directe avec l'agent pathogène pour la réduction de l'infection et donc la réduction de la maladie (**Bao et Lazarovits, 2001**). Un mécanisme en trois phases a été associé à la lutte biologique contre la fusariose du concombre par deux souches non pathogènes de *F. oxysporum* (C5 et C14), il y a une réduction significative de la germination des chlamydospores de *F. oxysporum cucumerinum* dans la rhizosphère de concombres infestés par C5 ou C14. La concurrence pour les sites d'infection avec *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum* a été démontrée dans le sol infesté de C14 mais pas avec C5. Une résistance systémique accrue de l'hôte à l'inoculation de l'agent pathogène *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum* (**Mandeel et Baker, 1991**).

Des études histologiques et cytologiques en réponse à la colonisation par les souches non pathogène *F. oxysporum*, ont montré que l'infection de la racine par les souches non pathogènes de *Fusarium* avec celle qui sont associée à des souches de *Fusarium* pathogènes a d'abord été étudiée par **Benhamou et Garand (2001)**. Ils ont trouvé que les souches non pathogènes croient activement à la surface de la racine et colonisent un certain nombre de cellules épidermiques et corticales. Ainsi, la relation établie entre la plante hôte et les *F. oxysporum* non pathogène semble suivre un schéma d'événements bien défini, tels que la prolifération le long de la racine et la pénétration locale de l'épiderme résultant de la libération de fragments pectiques, qui peuvent agir comme éliciteurs des défenses de la plante (**Benhamou et al ., 1996**). La synthèse d'enzymes lytiques extracellulaires par les souches de *Fusarium* non pathogènes n'a pas été signalée, bien que la possibilité que ces champignons peuvent produire des pectinases et des cellulases dans le cadre de leur arsenal enzymatique semble réaliste. L'hydrolyse de la pectine est l'un des principaux mécanismes impliqués dans la colonisation des racines par des souches non pathogènes (**Benhamou et Thériault, 1992**), comme en témoigne la présence du champignon dans un grand nombre d'espaces intercellulaires. **Mandeel et Baker (1991)** ont observé que l'analyse cyto-chimique de la distribution de la chitine a révélé une diminution marquée de la quantité de la chitine sur les parois des cellules de *Fusarium* non pathogène, en particulier dans les sites où le champignon a été étroitement plaqués contre la paroi de la cellule de l'hôte. Collectivement, ces résultats indiquent que les cellules des racines ont été signalées à produire des chitinases qui sont probablement accumulées dans l'espace extracellulaire (**Mandeel et Baker, 1991**). Comprendre le circuit de régulation des mécanismes moléculaires impliqués dans l'infection des racines par des souches non pathogènes représente un défi majeur pour des recherches futures (**Benhamou et Garand, 2001**).

De nombreuses équipes s'intéressent aux antagonistes microbiens dans l'espoir de mettre en point un procédé de lutte biologique contre ces maladies. Les interactions plante-microorganismes sont complexes et celles menant au biocontrôle

peuvent inclure l'antibiose, la compétition, l'induction des mécanismes de défense de la plante et la prédation (**Benizri et al., 2001**). La majorité des études montrent que de 1 à 10% des isolats du sol peuvent avoir un certain pouvoir antagoniste in vitro, mais de ce nombre, très peu ont la capacité de supprimer les agents phytopathogènes dans divers sols et conditions de croissance et encore un plus petit nombre encore est capable d'inhiber un large spectre d'espèces pathogènes (**Mc Spadden Gardener and Fravel 2002**).

Quelle que soit l'origine, les souches de *F. oxysporum*, ils n'ont pas la même capacité à contrôler les fusarioses vasculaire. Par conséquent les procédures de sélection sont basées sur les biotests qui ont été développés pour sélectionner les souches les plus efficaces pour lutter contre la maladie (**Kaur et al., 2010**).

Cette étude nous a permis de contribuer comme premier travail pour la sélection d'isolats autochtones de *Fusarium* non pathogènes qui peuvent être utilisés pour la lutte biologique contre plusieurs pathogènes du sol.

CONCLUSION GENERALE

Les maladies fongiques constituent un problème phytosanitaire majeur et un facteur limitant pour la production des légumineuses. En effet, L'Algérie accorde ces dernières années une priorité à ces cultures. Cependant, avec l'extension des superficies cultivées et l'introduction de nouvelles variétés, les risques d'apparition de nouvelles maladies augmentent sans cesse au même titre que l'apparition de nouvelles races physiologiques.

Le Pois à l'image des autres légumineuses alimentaires est sujet à des contraintes biotiques et abiotiques. La culture est attaquée à la fois par les organismes du sol, provoquant la pourriture des racines, de la tige, la fusariose et les fontes de semis et par des agents pathogènes endommageant la partie foliaire du végétal. Nous avons jugé utile d'effectuer un inventaire des maladies fongiques du Pois pour pouvoir juger leur importance et leur répartition au niveau de l'ouest Algérien.

Les prospections effectuées dans plusieurs champs de Pois dans l'ouest Algérien durant les campagnes agricoles de 2007-2011, suivie d'analyses au laboratoire nous ont permis d'identifier un nombre assez important d'agents pathogènes responsable de différentes maladies de la culture et de préciser leur répartition géographiques.

Dans la présente étude, un plus grand nombre de champignons, bactéries et Actinomycètes ont été isolés à partir de la rhizosphère du Pois à différentes étapes de croissance et dans différentes zones agro climatique.

Suite aux différentes prospections réalisées dans le cadre de cette étude, nous avons relevés un état des parcelles négligé et mal entretenues avec l'absence de pratiques culturales qui dans beaucoup de cas permettent la diminution des infections. Les relevés des fréquences d'attaques des principales maladies réalisés ont montré une variabilité d'une parcelle à une autre, d'une saison à l'autre et d'une année à l'autre. Elles étaient en fonction des conditions climatiques qui ont montré des fluctuations assez importantes durant les années de prospections. Les symptômes de jaunissement, de flétrissement et de brûlure sont les plus apparents

aux niveaux des champs visités. D'autres part, les années sèches favorisent le syndrome fusarique alors que les années pluvieuses, c'est plus les attaques foliaires qui prédominèrent et principalement les ascochytozes. Les différents isolements ont mis en évidence les espèces de champignons diverses.

En Algérie, le *Fusarium oxysporum* f.sp *pisi* est le pathogène du flétrissement de Pois, il entraîne des pertes de rendement appréciable dans des conditions environnementales favorables. L'étude de la variabilité et la distribution des races pathogènes sont essentielles pour identifier les sources efficaces de résistance à cette maladie et à fin d'élaborer des programmes de lutte adéquates.

Les résultats obtenus ont montré la présence des quatre races^{1, 2, 5 et 6} de FOP au niveau de l'ouest Algérien. Les races 1 et 2 ont été les plus fréquentes dans tous les régions prospectées. La race 6 est absente au Sahara. Pour la race 5, elle a été identifiée dans les plaines côtières où la culture de Pois est semée précocement par rapport aux autres régions.

Des différences des caractéristiques morphologiques et biométriques sont observées entre les races de FOP.

Cette étude nous a permis de mettre en évidence la présence de la fusariose du Pois dans toutes les régions étudiées, une carte de la répartition géographique des quatre races du FOP dans la région de l'ouest algériens a été établie, ce qui permet un soutien assez précieux dans la gestion et le contrôle de la maladie dans ces régions. Cette information aide dans tout programme pour le développement de nouveaux cultivars résistants. Les producteurs peuvent choisir des cultivars selon la race prédominante dans le sol dans une région particulière. La première étape de tout programme de lutte contre les maladies implique nécessairement l'examen de la maladie et sa distribution.

L'étude de l'organisation de 21 isolats au sein de la forme spéciale *pisi* provenant d'origine géographique différente (l'ouest Algérien) et appartenant aux 4

racas de FOP a révélé l'existence de 4 GCVs, ce qui témoigne de sa diversité génétique.

Les résultats obtenus montrent que les isolats de FOP provenant de l'ouest Algérien peuvent être classés dans quatre principaux groupes de compatibilité végétative GCV. Ce qui correspond à la race 1, la race 2 qui est divisée en deux sous-groupe 2A et 2B et la race 5 qui a montré une compatibilité partielle avec quelques isolats de la race1. La race 6 se classe dans le GCV1 avec la race 1ou la complémentation avec les isolats de la race 1étaient dans certains cas positive, partielle ou négative selon les isolats.

Un essai de lutte biologique contre le FOP et FSP par l'utilisation de quelques isolats appartenant au *F. oxysporum* non pathogène. Cette espèce douée d'une certaine activité antagoniste contre plusieurs agents fongiques et avoir déjà montré une certaine efficacité contre des *F. oxysporum* pathogènes.

Les résultats obtenus dans le test de lutte "*in vivo*" et "*in vitro*" mené contre la fusariose vasculaire de Pois par l'utilisation d'isolats non pathogènes isolés à partir de la rhizosphère et de plantes de Pois sains, nous a permis de distinguer des effets très encourageants qui se sont traduit par une compétition assez importante pour les sources de nutrition et une réduction de l'indice de la maladie et aussi une nette induction de la résistance de la plante.

Cette étude nous a permis de contribuer comme premier travail pour la sélection d'isolats autochtones de *Fusarium* non pathogènes qui peuvent être utilisés pour la lutte biologique contre plusieurs pathogènes du sol.

Au terme de ce travail, les axes de recherches entrepris constituent des approches complémentaires d'une utilité assez importante dans l'établissement de tout programme de lutte qui peut être entrepris dans l'avenir.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adam Akram, 2008. Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxygénase par des rhizobactéries non-pathogènes, Thèse de Doctorat, Université de Liège, Belgique, 165p.

Aghighi S., Bonjar J.H.S.and Saadoun I., 2004. First Report of Antifungal Properties of a New Strain of *Streptomyces plicatus* (Strain 101) Against Four Iranian Phytopathogenic Isolates of *Verticillium dahliae*, A New Horizon in Biocontrol Agent. *Biotechnology*, 3 (1).PP: 91.

Agrios G.N., 2005. Plant pathology 5th ed. Academic Press, San Diego. 922 PP.

Alabouvette C.et Davet P., 1985. Perspectives de lutte biologique et intégrée contre les maladies d'origine tellurique en culture protégée. *Défense des végétaux*, 243: 27-32.

Alabouvette C., 1986. *Fusarium-wilt* suppressive soils from the chateaurenard region : Review of 10 year. *Agronomie*. 6(3) : 237-284.

Alabouvette C., 1990. Biological control of fusarium wilt pathogens in suppressive soils. In : *Biological control of soil borne plant pathogens*, Hornby, D. (Ed.), Cab International, Wallingford, England, pp: 27-43.

Alabouvette C., and Couteaudier Y., 1992. Biological control of Fusarium wilts with nonpathogenic Fusaria. Pages 415-426 in : *Biological Control of Plant Diseases : Progress and Challenges for the Future*. E. C. Tjamos, G. C. Papavizas, and R. Cook, eds. Plenum Press, New York.

Alabouvette C.,1999. Fusarium wilt suppressive soils: An example of disease-suppressive soils. *Aust. Plant Pathol.* 28:57-64.

Alabouvette C, Steinberg C., 2006. The soil as a reservoir for antagonists to plant diseases. In : Eilenberg J, Hokkanen HMT, eds.*An ecological and societal approach to biological control*. Dordrecht, the Netherlands : Springer, 123–144.

- Alabouvette C., Olivain C., Migheli Q. and Steinberg C., 2009.** Microbiological control of soil-borne phytopathogenic fungi with special emphasis on wilt-inducing *Fusarium oxysporum* (Review) *New Phytologist* 184 : 529–544.
- Allard C., 1978.** Le mildiou du Pois (*Peronospora pisi*) infection et symptôme. Station de la pathologie végétale, INRA de Versailles. P 145.
- Allard C, 2001.** Ascochyte du Pois. INRA, Versailles p.22-45.
- Ali SM., Sharma B., Ambrose MJ., 1994.** Current status and future strategy in breeding pea to improve resistance to biotic and abiotic stresses. *Euphytica* 73, 115–26.
- Andrade D.S., Colozzi-Filho A. et Giller, K.E., 2003.** The Soil Microbial Community and Soil Tillage, p.51-81, In : A. El Titi, ed. *Soil Tillage in Agroecosystems*. CRC Press LLC, Boca Raton.
- Androsoff G.L., Van Kessel C. and Pennock D.J., 1995.** Landscape-scale estimates of dinitrogen fixation by *Pisum sativum* by nitrogen-15 natural abundance and enriched isotope dilution. *Biol Fertil. Soils.* p, 20:33-40.
- Armstrong GM. et Armstrong JK. ,1974.** Races of *Fusarium oxysporum* f. sp *pisi*; causal agents of wilt of peas. *Phytopathology* 64, 849-857.
- Armstrong G. M. et Armstrong J. K., 1981 a.** Another approach to race classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* *Phytopathology* 71 : 74-478.
- Armstrong G.M. et Armstrong J.K. ,1981b.** Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In *Fusarium : Diseases, Biology and Taxonomy* (P.E. Nelson, T.A. Toussoun & R.J. Cook, eds): 391-399, The Pennsylvania State University Press, University Park.
- Anselm et Ventur, 1969.** Les maladies des plantes, In *Acta*, P : 131-200.
- Appel Di. et Gordon, T.R., 1996.** Relationships among pathogenic and non pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* based on the partial sequence of the

intergenic spacer region of the ribosomal DNA. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 9: 125-138.

Assigbetse K., Fernandez D., Dubois M.P., Geiger J.P., 1994. Differentiation of *Fusarium oxysporum f.sp. vasinfectum* race on cotton by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Phytopathology* 84:622-626.

Baayen R.P. et Elgersma D.M., 1985. Colonization and histopathology of susceptible and resistant carnation cultivars infected with *Fusarium oxysporum f.sp. dianthi*. *Neth J Plant Pathol* 91, 119-135

Baayen R.P., O' Donnell K., Bonants P.J.M., Cigelnik, E., Kroon. L.P.N.M., Roebroeck E.J.A., Waalwijk C., 2000. Gene genealogies and AFLP analysis in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. *Phytopathology* 90: 891-900.

Bailey K.L., Gossen B.D., Lafond G.P., Watson P.R. and Derksen D.A. 2001. Effect of tillage and crop rotation on root and foliar diseases of wheat and pea in Saskatchewan from 1991-1998 : Univariate and multivariate analyses. *Can. J. Plant Sci.* 81:789-803.

Bani M. , Rubiales D. and Rispaill N., 2012. A detailed evaluation method to identify sources of quantitative resistance to *Fusarium oxysporum f.sp. pisi* race 2 within a *Pisum* spp. germplasm collection. *Plant Pathology* 61, p. 532–542

Baugus A., 2000. Maryland pea profile, University of Maryland Cooperative Extension Bulletin 236:26p.

Baker K.F. and Cook R.J., 1974. *Biological Control of Plant Pathogens*. W.H. Freeman, San Francisco. 433 p.

Bakker PAHM, van Peer R. and Schippers B., 1991. Suppression of soil-borne plant pathogens by *fluorescent Pseudomonas* : mechanisms and prospects. In: Beemster ABR, Bollen GH, Gerlach M, Ruissen MA, Schippers B, Tempel A, eds. *Development in agriculturally managed-forest ecology*. Amsterdam, the Netherlands : Elsevier, 217–230.

- Bao JR. and Lazarovitz G., 2001.** Differential colonization of tomato roots by non pathogenic and pathogenic *Fusarium oxysporum* strains may influence Fusarium wilt control. *Phytopathology* 91 : 449–456.
- Barnett H.L. and Hunter B.H., 1972.** Illustrated genera of imperfect fungi (4 th Ed). Macmillan Publishing Company, New York: 218pp
- Bauer, W.D and Caetanoanollés G., 1990.** Chemotaxis, Induced Gene-Expression and competitiveness in the Rhizosphere. *Plant and Soil* 129, 45-52.
- Beckman CH. et Talboys PW., 1981.** Anatomy of resistance. In : *Fungal Wilt Diseases of Plants* (ME Mace, AA Bell, CH Beckman, eds) Academic Press, New York, USA, 487-521.
- Bell AA. et Mace ME., 1981.** Biochemistry and physiology of resistance. In: *Fungal Wilt Diseases of Plants* (ME Mace, AA Bell, CH Beckman, eds), Academic Press, New York, USA, 431-486.
- Belabid L., Fortas Z., Dalli D., Khiare M., Amdjad D., 2000.** Importance du flétrissement et la pourriture racinaire de la lentille dans le nord-ouest Algérien. *Cahiers Agricultures* 9(6):515-518.
- Belabid L., Fortas Z. 2002.** Virulence and vegetative compatibility of Algerian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. *Phytopathologia Mediterranea*, 41:179-187.
- Benhamou N., and Thériault G., 1992.** Treatment with chitosan enhances resistance of tomato plants to the crown and root rot pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 41:33-52.
- Benhamou N., Kloepper J.W., Quadts-Hallman, A. and Tuzun, S., 1996.** Induction of Defense-Related Ultrastructural Modifications in Pea Root Tissues Inoculated with Endophytic Bacteria. *Plant Physiol.* 112(3):919-929.
- Benhamou N and Garand C., 2001.** Cytological analysis of defense-related mechanisms induced in pea root tissues in response to colonization by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. *Phytopathology* 91: 730–740.
- Benizri E., Baudoin E., Di Battista-Leboeuf C. and Guckert A., 2001.** Des bactéries pour la santé des plantes. *Biofutur* Vol. 210. 52-56.

- Benzecri J. P., 1973** – L'analyse des données. T1 : taxonomie. Dunot edition, 615 p.
- Besri M., Zrouri M. et Beye1., 1984.** Appartenance raciale et pathogénie comparée de quelques isolats de *Verticillium dahliae* (Kleb.) obtenus à partir de tomates résistantes au Maroc. Phytopathol. Z, 109: 289-294.
- Bishop CD. et Cooper RM, 1983 a.** An ultrastructural study of root invasion in 3 vascular wilt diseases. Physiological Plant Pathology 22, 15–27.
- Bishop CD. et Cooper RM., 1983 b.** An ultrastructural study of vascular colonization in 3 vascular wilt diseases. 1. Colonization of susceptible cultivars. Physiological Plant Pathology 23, 323–43.
- Bodker L., Lewis B.G., Coddington A., 1993.** The occurrence of a new genetic variant of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*. Plant Pathology, 42: 833-838.
- Bouhot D., 1981.** Some aspect of the pathogenic potential in formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* on cucurbitaceae. In: *Fusarium* diseases, biology and taxonomy; Ch. 29, 318-326. Ed. Nelson P.E., Tousson T.A. and Cook R.G., The Pennsylvania State University Press.
- Booth C., 1971.** The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycol. Inst. Kew, Surrey, 237p.
- Bosland P. W. et Williams. P. H., 1987.** An evaluation of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozyme polymorphism, vegetative compatibility and geographic origin. Can. J. Bot. 65: 2067-2073.
- Bouznad Z. et Mohammedi S., 1987.** Les Anthracnoses des légumineuses en Algérie. Quelques aspects systématiques et pathologiques du genre *Ascochyta*. 1ère congrès de la FSP. Rennes, 19-20 Novembre.
- Boyardieu J., 1991.** Produire des grains oléagineux et protéagineux. Paris, Lavoisier Tec & Doc. 234 P.
- Buxton EW., 1957.** Some effects of pea root exudates on physiologic races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Lindf) Snyder and Hansen. Trans Br Mycol Soc 40, 145-154

- Buxton E. W., 1960.** Effects of Pea Root Exudate on the Antagonism of Some Rhizosphere Micro-organisms towards *Fusarium oxysporum f. pisi*. J. gen. Microbiol. 22,678-689.
- Carrouee A et Girad M., 1994.** Pois protéagineux. Techniques agricoles, Editions Techniques - Techniques Agricoles. Fascicule 2212.
- Champion R., 1997.** Identifier les champignons transmis par les semences : INRA-Paris. 401P.
- Chang K.F., Bowness R., Hwang S.F., Turnbull G.D., Howard R.J., Lepetinsky K., Olson M. and Bing D.J., 2005.** Pea diseases in Central Alberta in 2004. Can. Plant Dis. Surv. 85: 89–90.
- Charchar M. et Kraft JM., 1989.** Response of near-isogenic pea cultivars to infection by *Fusarium oxysporum f. sp. pisi* races 1 and 5. Can J Plant Sci 69,1335-1346.
- Chaux Cl. et Foury Cl., 1994.** Productions légumières, tome 3, légumineuses potagères, légumes fruits, chap. 2 Petit pois ou pois potager, Lavoisier Tec & Doc, coll. « Agriculture d'aujourd'hui », Paris.
- Clarkson D.S., 1978.** Pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with foot-rots of peas and beans. Plant Pathol. 27: 110–117.
- Cook R.J., 1993.** Making greater use of microorganisms for biocontrol of plant pathogens. Ann Rev. Phytopathol., 31: 53-80.
- Cook R.J. and Bakker K.F., 1983.** The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society, St. Paul. 539p.
- Correll J. C, Puhalla J. E., Schneider R. W. et Kraft J. M., 1985.** Differentiating races of *Fusarium oxysporum f. sp. pisi* based on vegetative compatibility. Phytopathology 75: 1347.
- Correll J. C., Puhalla J. E. et Schneider R. W., 1986.** Identification of *Fusarium*

oxyspomm f. sp. *apii* on the basis of colonysize, virulence and vegetative compatibility. *Phytopathology* 76: 396-400.

Correll J. C., Klittich C. J. R. et Leslie J. F., 1987. Nitrate nonutilising mutants of *Fusarium oxysporum* and the use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology* 77: 1640- 1646.

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

Coussin R.,1974. Le pois : annales de l'amélioration des plantes. INRA, Paris. 10-117.

Cousin R., 1997. Peas (*Pisum sativum* L.). *Field Crops Research*. 53 : 111- 130.

Couteauclier Y. and Alabouvette C., 1990. Quantitative comparison of *Fusarium oxysporum* competitiveness in relation with carbon utilization *FEMS Microbiol. Lett.*, 74: 261 -267.

Cove D. J. ,1979. Genetic studies of nitrate assimilation in *Aspergillus nidulans*. *Biol. Rev.* 54: 29 1-327.

Davet et Rouxel., 1997. Détection et isolement des champignons du sol. INRA Editions, Paris (France) 2-7380-0731-7. 203p.

Davies D.R., Berry G.J. Heath M.C and Dawkins T.C.K., 1985. Pea (*Pisum sativum* L). p. 147-198. In: RJ. Summerfield and EH Roberts, (eds.), Williams Collins Sons and Co. Ltd, London, UK. Duke, J.A. 1981. Hand book of legumes of world economic importance. Plenum Press, New York. P, 199-265.

Danko SJ. et Corden ME.,1984. Effect of ethanol on the accumulation of antifungal compounds and resistance of tomato to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Phytopathology* 74, 1475-1479.

Debra S. ,Whitehead A. ,Coddington and Lewis B. G., 1992. Classification of races by DNA polymorphism analysis and vegetative compatibility grouping in *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 41, 295-305.

- De Boer W., Verheggen P., Klein Gunnewiek PJA., Kowalchuk GA. and van Veen JA., 2003.** Microbial community composition affects soil fungistasis. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 835–844.
- Di Pietro A., Madrid MP., Caracul Z., Delgado-Jarana J. and Roncero MIG., 2003.** *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. *Molecular Plant Pathology* 4, 315–25.
- Donald J., 1985.** Compendium of pea diseases. In cooperation with Department of plant pathology University of Wisconsin – Madison. APS Press, the American Phytopathologies Society. pp. 55.
- Doohan F.M., 1998.** Using RT-PCR to determine mycotoxin production in *Fusarium* species. Proceedings of the COST Action 835: Agriculturally Important Toxicogenic Fungi (AITF'98), East Mailing, Kent., UK., pp: 102-102.
- Doyle J.J., Chapill A., Bailey D.C. and Kajita T. 2000.** Towards a comprehensive phylogeny of legumes : evidence from *rbc L* sequences and non-molecular data . In *Advances in Legumes systematic.*, (eds. P.S. Herendeen and A. Bruneau) Kew : Royal Botanic Gardens, pp. 1-20.
- Duijff BJ., Pouhair D., Olivain C., Alabouvette C. and Lemanceau P., 1998.** Implication of systemic induced resistance in the suppression of fusarium wilt of tomato by *Pseudomonas fluorescens* WCS417r and by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. *European Journal of Plant. Pathology* 104: 903–910.
- El aoufir A., 2001.** Etude du flétrissement vasculaire du pois chiche (*Cicer arétinum*) causé par le *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri*, évaluation de la fiabilité de l'analyse iso enzymatique et de la compatibilité végétative pour la caractérisation des races physiologiques. These de doctorat. Université Laval. Canada.
- Elgersma DM., MacHardy WE., Beckman CH., 1972.** Growth and distribution of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in near-isogenic lines of tomato resistant or susceptible to wilt. *Phytopathology* 62 1232-1237.
- Elias K. S. et Schneider R. W., 1986.** Genetic diversity within *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* as determined by vegetative compatibility (Heterocaryosis) tests. (Abst.) *Phytopathology* 76: 1129.

- Elias K. S. et Scheider R.W., 1991.** Vegetative compatibility of groups in *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici*. Phytopathology, 81 : 159 – 162.
- Edel. V., Steinberg C., Gautheron N. et Alabouvette C., 2000** Ribosomal DNA-targeted oligonucleotide probe and PCR assay specific for *Fusarium oxysporum*. Mycol. Res., 104: 518-526.
- Eparvier A. and Alabouvette C., 1994.** Use of ELISA and GUS-transformed strains to study competition between pathogenic and non-pathogenic *Fusarium oxysporum* for root colonization, Biocoitrological Sci. Technol., 4: 35-47.
- Fabregne C., 1986.** Les principales maladies de la tomate à la Réunion (cultures légumières), P45-50.
- FAOSTAT 2013.** Available online : <http://faostat.fao.org>
- Follin J.C. et Laville E., 1966.** Variation chez le *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubens* (agent causal de la maladie de Panama du Bananier) : Comportement des lignées issus des différents organes de multiplication. Fruits, 21 : 261-268.
- Fravel D., Olivain C. et Alabouvette C., 2003.** *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. New Phytologist 157: 493–502.
- 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, 11-119.
- Fuch J.G., Moenne L.Y. et Defago arid G., 1999.** Ability of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 to protect tomato against fusarium wilts. Biol. Control, 14: 105-110.
- Garry G., Jeuffroy MH. and Tivoli B., 1998.** Effects of ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes* Berk. & Blox.) on biomass production, seed number and seed weight of dried-pea (*Pisum sativum* L.) as affected by plant growth stage and disease intensity. Ann. appl. Biol, 132:49-59.
- Goddard VJ., Bailey ,MJ., Darrah P., Lilley A. and Thompson I.P., 2001.** Monitoring temporal and spatial variation in rhizosphere competent bacteria .*Plant and Soil* 232,181-193.

- Gomez-Gomez E., Ruiz-Roldan M. C., Di Pietro A., Roncero M. I. and Hera C., 2002.** Role in pathogenesis of two endo-beta-1, 4-xylanase genes from the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum*. *Fungal Genetic Biology* 35, 213-222.
- Gordon 1R. and Okarnoto D., 1992.** Variation in mitochondrial DNA among vegetatively compatible isolates of *Fusarium oxysporum*. *Exp.Mycol.* 16: 245-250.
- Guerra G.A., Betancourth, CA. and Salazar CE.,2011.** Antagonism of *Pseudomonas fluorescens* Migula FACING *Fusarium oxysporum* fsp.pisi Schtdl ON PEA (*Pisum sativum* L.) *Revista U.D.C.A Actualidad &Divulgación Científica* 14 (2): 33 – 42.
- Guirand J. et Galzy P., 1980.** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires .Les éditions de l'usine nouvelle .PP: 24-201.
- Grayston S.J, Wang S. Campbell C.D. and Edwards A.C., 1998.** Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 369-378.
- Gritton, E.T., 1980.** Field Pea. Hybridization of Crop Plants, p. 347-356. In: W.R. Fehr and H.H. Hadley (eds.)₅ American Society of Agronomy, Inc., and Crop Science Society of America, Inc., Wisconsin, USA.
- Hagedorn D.J.,1991.** Handbook of pea diseases. University of Wisconsin. Madison Cooperative Extension Bulletin A 1167: 35.
- Haglund WA. et Kraft JM. ,1970.** *Fusarium oxysporum* f.sp.pisi race 5. *Phytopathology* 60, 1861-1862
- Haglund WA ,1974.** Race concept in *Fusarium oxysporum* f.sp. pisi. *Pisum Genetics Newsl* 6, 20-21.
- Haglund WA. et Kraft JM ,1979.** *Fusarium oxysporum* f.sp. pisi race 6: Occurrence and distribution.*Phytopathology* 69, 818-820.
- Haglund WA., 1984.** *Fusarium* wilts. In: *Compendium of Pea Diseases* (DJ Hagedorn, ed), Am Phytopath Soc, Saint-Paul, MN, USA, 22-24.

- Hammerschlag F. et Mace ME., 1975.** Antifungal activity of extracts from *Fusarium* wilt-susceptible and resistant tomato plants. *Phytopathology* 65, 93-94.
- Hart L. P. et Endo R. M., 1981.** The effect of time of exposure to inoculum, plant age, root development and root wounding on Fusarium yellows of celery. *Phytopathology* 71: 77-79.
- Harter LL., 1934.** A new wilt of peas. *Phytopathology* 24: 950-951.
- Hoagland D. R. and Arnon, DI., 1938.** The water-culture method for growing plants without soil. University of California, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station. Berkeley, Calif. V :c 347.
- Hare WW., Walker JC. and Delwiche EJ., 1949.** Inheritance of a gene for near wilt resistance in the garden pea. *J Agric Res* 78, 239-250.
- Haware M.P. et Nene Y.L ., 1982.** Races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*. *Piwiir Disease* 66: 809-810.
- Hervas A., B. Landa and Jimenez-Diaz D.M., 1997.** Influence of chickpea genotype and *Bacillus* sp. On protection from Fusarium wilt by seed treatment with nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. *Eur. J. Plant Pathol.*, 103: 631 -642.
- Hervas A., Landa B., Datnoff L.E. and Jimenez-Diaz R.M., 1998.** Effects of commercial and indigenous microorganisms on Fusarium wilt development in chickpea. *Bio. Control*, 13: 166-176.
- Hilali L., Khattabi A., Nssarlah N ., Maliki A. et Finance C., 2002.** Isolement des nouvelles souches d'Actinomycètes productrices de substances antifongiques à partir du milieu naturel marocain .*Rev.bio.Biotechnol* .2 (1):49-53.
- Honda M. and Kawakub Y., 1998.** Control of Fusarium basal rot of rakkyo (onion China) (*Allium chinense*) by non-pathogenic *Fusarium moniliforme* and *Fusarium oxysporum*. *Soil Microorganisms*, 51: 13-18.
- Hopquin B., 1994.** Lisses, rides, sucrés colorés : tous les pois sont dans la nature. *Unite Informatique*.86, p. 10-11.
- Hwang S. F., Lopertinsky K., and Evans I. R., 1991.** Effects of seed infection by *Ascochyta* spp., fungicide seed treatment, and cultivar on yield parameters of field pea under field conditions. *Can. Plant Dis. Surv.* 71:169-172.

Hwang S.F., Gossen B.D., Turnbull G.D., Chang K.F., Howard R.J., and Thomas A.G., 2000. Seeding date, temperature, and seed treatment affect *Pythium* seedling blight of field pea. *Can. J. Plant Pathol.* 22:392-399.

ICARDA, 1989. Legume Program Annual Report for 1989. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, Aleppo Syria.

Infantino A., Kharrat M., Riccioni L., Coyne C.J., Kevin E., Phee M.C. and Grunwald N. J., 2006. Screening techniques and sources of resistance to root diseases in cool season food legumes. *Euphytica*, **147**: 201–221.

Iftikhar S., Sultan, A. Munir A., Iram S. and Ahmed I., 2003. Fungi associated with Rice, Wheat Cropping System in Relation to Zero and Conventional Tillage Technologies. *Journal of Biological Science* 3: 1076-1083.

Ismail A., Tiong NW. and Tan ST., 2009. Antioxidant properties of selected non-leafy vegetables. *Nutrition and Food Science*. Bradford: 2009. Vol. 39, Iss. 2; p. 176-180.

Ishimaru c. et klos .E .J., 1984. New medium for detecting *Erwinia amylovora* and its use in epidemiological studies. *Phytopathology* vol.74:1342-1345.

Jacobson D. J. et Gordon T. R., 1988. Vegetative compatibility and self incompatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Phytopathology* 78: 668-672.

Jeyarajan R., 1989. Biological control of plant diseases. In *Perspectives in Plant Pathology* (R. Jeyarajan, éd.), Today & Tomorrow's Printers and Publishers, New Delhi. Pp. 375-390.

Johnson L.F., Curl E.A., Bond J. H., and Fribourg H.A., 1960. Methodes for studing soil Mycoflora: Plant Diseases Relation-ships. Burgess Publishing Co.Minneapolis.179pp.

Kharbanda P. D. and Bernier C., 1980. Cultural and pathogenic variability among isolates of *Ascochyta fabae*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2, 39- 142.

- Kaiser., 1981.** Control of Ascochyta blight of chickpea through clean seed, ICARDA, Aleppo, Syria: 742-122.
- Kaur R., 2003.** Characterization of selected isolates of non-pathogenic *Fusarium oxysporum*, fluorescent *Pseudomonads* and their efficacy against chickpea wilt. Ph.D Thesis, Punjab Agricultural University, Ludhiana, pp: 185.
- Kaur R., J. Kaur, Singh RS. et Alabouvette C., 2007.** Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* by non-pathogenic *Fusarium* and *fluorescent Pseudomonas*. Int J. Bot., 3: 114-117.
- Kaur R., Kaur J. Rama S. and Singh, 2010.** Nonpathogenic *Fusarium* as a Biological Control Agent. Plant Pathology Journal 9(3): 79-91.
- Katan T. et Katan J., 1988.** Vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* from tissue and the rhizosphere of Cotton plants. Phytopathology 78: 852-855.
- Katsube K. and Alasaka Y., 1997.** Control of *Fusarium* wilt of spinach by anspanting seedlings pretreated with non-pathogenic *Fusarium oxysporum*. Ann. Phytopathol. Soc. Ja1), 63: 389-394.
- Kay D., 1979.** Food legumes. Tropical Products Institute (TPI). TPI Crop and Product Digest No. 3. p. 26-47. UK.
- Kennedy A.C., 1999.** Bacterial diversity in agroecosystems. Agriculture, Ecosystems & Environment 74:65-76.
- Kerr A., 1963.** The root rot *Fusarium* wilt complex of peas. Aust. J. Biol. Sci. 16: 55–59.
- Kladivko E.J., 2001.** Tillage systems and soil ecology. Soil & Tillage Research 61:61-76.
- Kloepper J.W., Leong J., Teintze M. and Schroth M.N., 1980.** Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria. Nature, 286: 885-886.
- Kraft JM. et Haglund WA., 1978.** A reappraisal of the race classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lisi*. Phytopathology 68, 273-275
- Kraft J. M., 1995.** *Fusarium* wilt of peas (a review). Agronomie, 14: 561–567.
- Kraft J.M. et Pflieger F.L., 2001.** Compendium of Pea Diseases, 2nd ed., APS Press, St. Paul, MN, USA.

Kistler H. C., 1997. Genetic Diversity in the Plant-Pathogenic Fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopatology* 87: 474-479.

Kistler H.C., Alabouvette C., Baayai R.P., Bentley S.B. and Goddington A. ,1998.

Systemic numbering of vegetative compatibility groups in the plant pathogenic

Komada H., 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum*, from natural soil. *Rev. Plant Prot. Res.* 8: 114-125.
Fusarium oxysporum. *Phytopathology*, 88: 30-32.

Kutcher H.R., Johnston A. M. and Malhi. S.S., 2002. Impact of tillage system, rotation and fungicide application on field crop production 1998-2001. *Proceedings of Soils & Crops 2002*, February 21-22. University of Saskatchewan, Saskatoon, SK.

Larkin RP, Hopkins DL, Martin FN., 1996. Suppression of fusarium wilt of watermelon by non-pathogenic *Fusarium oxysporum* and other microorganisms recovered from a disease suppressive soil. *Phytopathology* 86:812–819.

Larkin R.P et Fravel D.R., 1998. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Dis.*, 82: 1022-1028.

Larkin R. P. and Fravel D. R., 1999. Mechanisms of action and dose-response relationships governing biological control of *Fusarium* wilt of tomato by nonpathogenic *Fusarium* spp. *Phytopathology* 89:1152-1161.

Larkin R. P. and Fravel D. R., 2002. Effects of varying environmental conditions on biological control of *Fusarium* wilt of tomato by nonpathogenic *Fusarium* spp. *Phytopathology* 92 :1160–1166.

Larkom J., 1991. *Oriental vegetables* John murray. ISBN.0-7195-4781-4 Well written and very informative.

Larue T.A et PattessonTG., 1981. Howmuch. Nitrogen do legume fix, *Advan.agr.p.*34-15-38.

Leclerc H ., 2003. Y a-t-il des infections bactériennes opportunistes transmises par les eaux d'alimentation ? Are there Opportunistic Bacterial Infection From Drinking Water? *Jornal Européen d'Hydrologie*, tome 34, fasc.1.PP:11-44.

Lemanceau P., Bakker P., De Kogel WJ., Alabouvette C. and Schippers B., 1992. Effect of pseudobactin 358 production by *Pseudomonas putida* WCS358 on suppression of Fusarium wilt of carnations by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 2978–2982.

Lemanceau P, Alabouvette C., 1993. Suppression of Fusarium wilts by *fluorescent pseudomonads* : mechanisms and application. *Biocontrol Science and Technology* 3: 219–224.

Leslie J.F. and Summerell B.A., 2006. The Fusarium Laboratory Manual. V2, Issue: 10, Blackwell Publishing Ltd, Oxford- UK: 101-117.

Lin Y.S., Sun W., Pie-Han Wong ,1984. Fusarium root rot and wilt of Garden Pea in Taiwan. *Journal of Agricultural Research of China*, **33(4)**: 395-405.

Linford M.B. ,1928. A Fusarium Wilt of Peas in Wisconsin. *Wisc Agric Exp Sta Res Bull WI, USA*, 85, 43

Lockwood JL.,1977. Fungistasis in soils. *Biological Review* 52: 1–43.

Loumont R. et chevassus A., 1960. Note sur l'alimentation de lentille en Algérie ; ANN, INRA ElHarrach ,Tome 2 pp 3-37 .

Laumonier R., 1979. Culture légumière et maraichère, Tome III, ed, JB. Balliere, pp158-164.

Lumsden R.D. and Lewis J.A., 1989. Selection, Production, Formulation and Commercial use of Plant Disease Biocontrol Fungi: Problems and Progress. In: *Biotechnology of Fungi for Improving Plant Growth*, Whipps, J.M. and R.D. Lumsden (Eds). Cambridge University Press, Cambridge, New York, ISBN: 0-521 -38236-X, pp: 171-217.

Maatougui M .E ., 1996. Situation de la culture des fèves en Algérie et perspective de relance. Numéro spécial Fève, co-éditée par l'Institut Technique des Grandes Cultures et le réseau maghrébin de recherche sur fève, *Céréaliculture* 29 :6-14.

- Makasheva R.K.H., 1985.** The Pea. Oxonian Press Pvt. Ltd., New Delhi, India. 267p.
- Malathrakis N.E., 1989.** Résistance of *Botrytis cinerea* to diclofluanid in green house vegetables. *Plant Dis.* **73**: 138-141.
- Mandeel Q., Baker R., 1991.** Mechanisms involved in biological control of Fusarium wilt of cucumber with strains of non pathogenic *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* **81**: 462–469.
- Mandeel QA., 2007.** Modeling competition for infection sites on roots by nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *Mycopathologia* **163**:9–20
- Mansfield P J., Wilson D W., Heath M C. and Saunders P J.,1997.** Development of pea bacterial blight caused by *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in winter and spring cultivars of combining peas (*Pisum sativum*) with different sowing dates. *Ann. appl. Biol.* **131**:245-258.
- Masheshwari SK., Gupta JS., Jhooty JS., 1982.** Role of seed mycoflora of pea in the wilt and root-rot complex and its pathogenicity. *Agric Sci Digest* **2**, 196-198
- Matta A., 1989.** Induced Resistance to Fusarium Wilt Diseases. In: *Vascular Wilt Diseases of Plants- Basic Studies and Control*, Tjamos, E.C. and C.H. Beckman (Eds.). Springer Verlag, Berlin, Germany, pp: 175-196.
- Marcinkowska J.Z., 1992.** Fusarium spp. as pathogens of dry peas (*Pisum sativum* L.) in Poland. *Hod.Rośl. Aklim. Nasienn. (special ed.)* **37**, 1–4: 95–102.
- Marcinkowska J.Z., 2002.** Foliar diseases of *Pisum sativum* L. in Poland. *Plant Breed. Seed Sci.* **46**, 1: 49–54.
- Marcinkowska J., 2005.** Fungi responsible for foot blight of *Pisum sativum*. In: *Proceedings of the XVI Symposium of Mycologists and Lichenologists of Baltic States*. 21–25 Sept., 2005, Cesis, Latvia. Comp. B. Bankina. 129–132.

Marcinkowska J., 2007. Diseases of pea on newly registered cultivars .Phytopathol. Pol. 45: 29–42

McLaren D.L., Conner R.L., Hausermann D.L. and Loutchan K.D., 2005. Diseases of field pea in Manitoba. Can. Plant Disease Survey. 85:94-95.

McPhee K.E. et Muehlbauer F.J., 2007. Pea. In Pulses, Sugar and Tuber Crops. Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants; Kole, C., Ed.; Springer-Verlag: Berlin, Germany, 2007; chapter 2, volume 3, pp. 33–47.

McSpadden ,Gardener B., and Fravel D., 2002. Biological control of plant pathogens : Research commercialization, and application in the USA. Online. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2002-0510-01-RV.

Merzoug A., Benfreha F. and Taleb M., 2009. Les principales maladies fongiques du Petit Pois (*Pisumsativum*) et Pois chiche (*Cicer arietinum*) dans le nord-ouest Algérien. Colloque international sur la gestion des risqué phytosanitaires 9-11 Novembre 2009, Marrakech, Maroc. Inproceedings V1 :115-123.

Merzoug A., Belabid L., Benfeha F., 2011. Recensement des principales espèces fongiques pathogènes sur la culture du petit Pois (*Pisum sativum*) dans le nord-ouest Algérien. Colloque International « Nouvelles Espèces Végétales et Microbiennes décrites en Algérie de 1962-2010 » du 18 au 20 Octobre 2011 Oran Algérie.

Messian C.M. et Cassini R. ,1968. Recherches sur les fusarioses, IV : la systématique des Fusarium.ann. Épiphyties. P19 :387-454

Messaïen C.M., Blanchaëd D., Rouxel F., Lafon R., 1991. Les maladies des plantes maraîchères, INRA éditions, 3^e édition, (ISBN 2-7380-0286-2) p. 291-305.

Meudec G., Prat J.Y., Retournard D., 1998. Soignez toutes les plantes potagères : espèce par espèce, Éd. Rustica, 304 p.

- Meyer J. R., and Linderman R. G., 1986.** Selective influence on populations of rhizosphere or rhizoplane bacteria and actinomycetes by mycorrhizas formed by *Glomus fasciculatum*. Soil Biol. Biochem. 18:191-196.
- Minuto A., Minuto G., Migheli Q., Mocioni M. and Gullino ML., 1997a.** Effect of antagonistic *Fusarium* spp. and of different commercial biofungicide formulations on *Fusarium* wilt of basil (*Ocimum basilicwn*L.). Crop Prot., 16: 765-769.
- Minuto A., Migheli Q. et Garabaldi A., 1997b.** Evaluation of antagonistic strains of *Fusarium* spp. in the biological and integrated control of fusarium wilt of cyclamen. Crop Prot., 14: 221 -226.
- Molot P. M. et Mas P., 1975.** Influence de la température sur la croissance mycélienne et le pouvoir pathogène des quatre races physiologiques de *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. Ann. Phytopathol. 7: 175-178.
- Momma N., Momma M., Kobara Y., 2010.** Biological soil disinfection using ethanol: effect on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and soil microorganisms. Journal of General Plant Pathology 76, 336–44.
- Mossé J., Huet J.C., Baudet J., 1987.** Changements de la composition en acides aminés des graines de pois en fonction de leur taux d'azote .Sci. Aliments, 7:p301-324.
- Muelbauer F.G. et Tubba Abbe, 1997.** *Pisum sativum* L. (eds). La production et l'utilisation des légumineuses fraîches de nourriture. Univ Kluwer, dordec. Pays bas.p.34.49.
- Murakami T, Kohno K, Matsuda H., 2001.** Medicinal foods tuffs. XXII. Structures of oleanane-type triterpene oligoglycosides, pisum saponins I and II, and kaurane-type diterpene oligoglycosides, pisumosides A and B, from green peas, the immatu. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2001 Jan;49(1):73-7.
- Navas-Cortes JA., Hau B., Jimenez-Diaz RM., 1998.** Effect of sowing date, host cultivar, and race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri* on development of fusarium wilt of chickpea. Phytopathology 88, 1338–46.

- Nelson P. E., 1981.** Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. In: Fungal wilt diseases of plants. (M.E. Mace, A.A. Bell and C.H. Beckman, editors), Academic Press, New York, 51-80.
- Nelson P. E., Toussoun T.A. and Marasas W. F. O., 1983.** *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University press, University Park. 193 pp.
- Nelson, M.E. and Powelson, M.L., 1988.** Biological control of gray mould of snap beans by *Trichoderma hamatum*. *Plant Dis.* 72: 727-729.
- Neumann S., Xue A.G., 2002.** Reactions of field pea cultivars to four races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*. *Canadian Journal of Plant Sciences*, **83**:377–379.
- Nina Gund-Gimerman, Polona Zalar, Sybren de Hoog, Plemenitas Ana., 2000.** Hypersaline waters in salterns natural ecological niches for halophilic black yeasts. *FEMS Microbiology Ecology*, 32: 235-240.
- Nogales Moncada A.M., Pérez-Artes E., Jiménez-Díaz R.M., 1993.** VCG diversity within *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*. Inproc.6 International congress of plant pathology. Montreal, Canada pp.169.
- Noveriza R. et Quimio T.H., 2004.** Soil mycoflora of black pepper rhizosphere in the Philippines and their in vitro antagonism Against *Phytophthora capsici* L. *Indonesian Journal of Agricultural Science* 5(1):1-10.
- OEPP/EPPO, 1994.** Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes, Norme OEPP PP 2/1(1) Directive sur la bonne pratique phytosanitaire : Principe de bonne pratique phytosanitaire, pois. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 24 :233-244.
- Ogawa K. et Komada H., 1984.** Biological control of *Fusarium* wilt of sweet potato by nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. *Ann. Phytopathol. Soc. Jap.*, 50: 1-9.
- Olivain C. et Alabouvette C., 1999.** Process of tomato root colonization by a pathogenic strain of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopercici* discussed in comparison to a nonpathogenic strain, *New Phytol.*, 141: 497-510.

Olson C .M., Baker,K.F .,1968. Selective heat treatment of soil and its effect on the inhibition of *Rhizoctonia solani* by *Bacillus subtilis*. *Phytopathologie* , 581:77-79.

Peterson E. A ., 1958. Observations of fungi associated with plants roots. *Can. J. Microbiol.*, 4. 257-265.

Persson L., Bødker L., Larsson-Wikström M., 1997. Prevalence and Pathogenicity of Foot and Root Rot Pathogens of Pea in Southern Scandinavia. *Plant Disease* : Vol. 81 : No. 2 :171-174.

Ploetz R. C et Correll J. C., 1988. Vegetative compatibility among races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Plant Dis.* 72: 325-328.

Puhalla J. E., 1979. Classification of *Verticillium dahliae* based on heterokaryon incompatibility. *Phytopathology* 69: 1 186- 1 189.

Puhalla J. E. et Spieth P. T., 1983. Heterokaryosis in *Fusarium moniliforme*. *Exp. MYCOI.* 7: 328 -335.

Puhalla J. E. ,1985. Classification of strain of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Can. J. Bot.* 63: 179- 183.

Prat R., Mosiniak, M et Vornax,V., 2005. Les fruits. *Biologie Multimedia*-université Pierre Curie- UFR de biologie.

Rana U., Sharma A., Paul, YS, and Sharma K.V., 2009. Survey for Pea Diseases and Identification of Fungi Associated with Wilt and Root Rot Complex in Himachal Pradesh, *J Mycol Pl Pathol*, Vol. 39, No.3, 416-421p.

Rapilly F., 1968. Les Technique de Mycologie en Pathologie Végétale. *Annales des Epiphytes*, vol. 19. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, 102 pp.

Rieuf, 1985. Clé d'identification les champignons rencontrés sur les plantes maraîchères. Institut national de la recherche agronomique : 84 p.

Risser G., Banihaschemi Z. and Davis D.W., 1976. A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* races and resistances genes in *Cucumis melo*. *Phytopathology, Plant Variet. Seeds*, 4 : 185-189.

- Rodriguez-Galvez E, Mendgen K.,1995.** The infection process of *Fusarium oxysporum* in cotton root tips. *Protoplasma* 189: 61–72.
- Roberts D. and Kraft J.M., 1971.** A rapid Technique for studying *Fusarium* wilt of Pea. *Phytopathology* vol.61:342-343.
- Roberts R.G., 1990.** Postharvest biological control of gray mold of apple by *Cryptococcus laurentii*. *Phytopathology* 80: 526-530.
- Roberts S J., 1992.** Effect of soil moisture on the transmission of pea bacterial blight (*Ps .syringae* pv. *pisi*) from seed to seedling. *Plant Pathology* 41: 136-140.
- Recorbet G, Alabouvette C., 1997.** Adhesion of *Fusarium oxysporum* conidia to tomato roots. *Letters in Applied Microbiology* 25: 375–379.
- Rodriguez Galvez E, Mendgen K.,1995.** The infection process of *Fusarium oxysporum* in cotton root tips. *Protoplasma* 189, 61–72.
- Roger ,1953 .** *Phytopathologie des pays chauds*. 2^{ème} édition, Paul Le chevalier, P1170-2252.
- Rouxel F. , Alabouvette C. et Louvet J., 1979.** Recherche sur la resistance d'un sol aux maladies. IV- mis en évidence du rôle des *Fusarium* autochtones dans la résistance d'un sol à la fusariose vasculaire du melon. *Ann phytopathol* 11, 199-207.
- Saadoun I.,2002.** Isolation a characterization bacteria form crude petroleum oil contaminated soil and their potential to degrade diesel fuel .*J.Basic.Microbial*.41, 109 -117.
- Schippers B., Bakker AW., Bakker PAHM., 1987.** Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annual Review of Phytopathology* 25: 339–358.
- Schneider R.W. et Norelli J.L. , 1992.** A new race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *appi* in California. (Abstr.) *phytopathology*, 71 : 108.
- Sexena D.R .and Khare M.N., 1988.** Factors influencing vascular wilt of lentil. *Ind. Phytopathol* .41:69-74.

- SETTI B., Bencheikh M., Henni J.E. et Neema C.,2009.**Comparative aggressiveness of *Mycosphaerella pinodes* on peas from different regions in western Algeria *Phytopathol. Mediterr* .48, 195–204.
- Skiredji A., 2002.** La patate, le navet, le chou, le petit pois, le haricot, filet, fiche technique, institut agronomique et vétérinaire, HASAN 2.Agadir.
- Slinkard A., Hernandez-Bravo,A.E. and Bascur G., 1994.** Biotic and abiotic stresses of cool season food legumes in the western hemisphere, p. 195-203. In: F.J. in Muehlbauer and W.J. Kaiser (eds.), *Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
- SingeltonL.L., Mihail J.D.,and Rush C.M.,1992.** Methods for research on soil borne Phytopathogenic fungi. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota.265p.
- Singh R.S, Kaur J., Kaur R. and Alabouvette C., 2002.** Effect of amendment with farm yard manure on biocontrol potentiality of non-pathogenic *Fusarium* against chickpea wilt. *Plant Dis. Res.*, 1 7: 207-207.
- Sharma KD., 2000.** Management of pea powdery mildew in trans-Himalayan region. *Indian J Agric Sci* 70: 50-52.
- Sharma P., Sharma K.D., Sharma R. and Plaha P., 2006.** Genetic variability in pea wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *lisi* in north western Himalayas. *Indian Journal of Biotechnology*, 5: 298-302.
- Sharma A., Rathour R. and Plaha Pet., 2010.** Induction of fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lisi*) resistance in garden pea using induced mutagenesis and in vitro selection techniques. *Euphytica*173, 345–56.
- Smartt J., 1990.** Grain Legumes: Evolution and genetic resources. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 200 p.
- Smith S.N. and Snyder W.C., 1971.** Relationship of inoculums density and soil types to severity of *Fusarium* wilt of sweet potato. *Phytopathology*, 61: 1049-1051.
- Snyder WC., 1933.** A new vascular *Fusarium* disease in peas. *Science* 77: 327.
- Statistiques Agricoles, Série B, 2007.**Ed.Ministre de l’Agriculture, Alger.

- Steinberg C., Edel V. et Alabouvette C., 1997.** Influence of formulation process on survival and antagonistic activity of biocontrol agents against *Fusarium* wilt. *Cryptogamic Mycol.*, 18: 139-143.
- Stromberg EL. et Corden ME., 1980.** Scanning electron microscopy of *Fusarium oxysporum f sp lycopersici* in xylem vessels of wilt-resistant and susceptible tomato plants. *Can J Bot* 58, 2360-2366
- Spedding T.A., Hamel C., Mehuys G.R. and Madramootoo C.A., 2004.** Soil microbial dynamics in maize-growing soil under different tillage and residue management systems. *Soil biology & biochemistry* , vol. 36, n°3, pp. 499-512 :14 page(s).
- Taupin P. ,Turpaud L.,Chaillet I.,Mathon M P.,et Painparay G., 1994 .**Première enquête viroses du Pois .*Perspective agricole* 189 .INRA. France 40-42P.
- Taylor C. S., Parkinson Boo., 1965.** Studies on fungi in the root region.1\ fungi associated with the root *Phaseolus vulgaris* L. *Plant & Soil* .. 22. 1-20.
- Tivoli B., 1988.** Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement .*Agronomie* 8 (3) :211-222.
- Tivoli B., Bkase C., Lemarchand E., Masson E., 1996.** Effect of *Ascochyta* blight (*Mycosphaerella pinodes*) on yield components of single pea (*Pisum sativum*) plants under field conditions. *Annals of Applied Biology* 129:207-216.
- Tolmsolff W.J., 1972.** Diploidisation and heritable gene repression as major sources for variability in morphology metabolism and pathogenicity for verticillium species. *Phytopathology*, 62 : 407-413.
- Topps JH. and wain RL.,1959.** Fungistatic properties of leaf exudates. *Nature*. 1957 Mar 30;179 (4561):652-3.
- Trinidad TP., Mallillin AC. and Loyola AS., 2010** The potential health benefits of legumes as a good source of dietary fibre. *Br J Nutr*. 103(4):569-74.
- Tu J. C. ,1986.** Incidence and etiology of pea rots in southwestern Ontario. *Can. Plant. Dis. Surv.* 66:35-36.

Tu J. C., 1991. Etiology, biology and control of a soilborne root rot complex of green peas. Plant Prot. Bull. 33:15-35.

USADA Nutrient Database for Standard Reference, 1999. Releases 13: November, 1999.

Walker J.C., 1971. Fusarium wilt of tomato. Monograph 6, American phytopathology SocieLy, Minneapolis, 56 pp.

Warkentin T. D., Rashid K. Y., and Zimmer R. C., 1995. Effectiveness of a detached leaf assay for determination of the reaction of pea plants to powdery mildew. Can. J. Plant Pathol. 17, 87-89.

Watanabe T., 2002. Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species. 2nd ed. Lewis Publishers, CRC PRESS. Florida: 270 – 276.

Whalley WM. et Taylor GS., 1976. Germination of chlamydospores of physiologic races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* in soil adjacent to susceptible and resistant pea cultivars. Trans Br Mycol Soc 66, 7-13.

<http://www.whfoods.com/genpage.php?name=foodspice&dbid>

What's New and Beneficial about Green Peas?

Warren H. L., Kommedahl T., 1973 a. Fertilization and wheat refuse effects on *Fusarium* species associated with wheat roots in Minnesota. Phytopathology, 63, 103- 108.

Warren H., L. Kommedahl T., 1973 b. Prevalence and pathogenicity to corn root rot in corn roots, rhizosphere, residue and soil. Phytopathology, 63, 1288-1290.

Westerlund J., Campbell R. N. et Kimble K. A., 1974. Fungal root rots and wilt of chickpea in California. Phytopathology 64: 432-436.

Willey, J., Sherwood, L. and Woolverton, C., 2008. Prescott, Harley & Klein's Microbiology 7th Edition. Mc Graw Hill."

Williams, P. H., 1981. Fusarium yellows. In: Screening Crucifers for Multiple Diseases Resistance. University of Wisconsin, Madison. pp. 124-129

Xia-Hong HE. BsC., 2007. Bio-control of root rot disease in vanilla .A thesis for the degree of Doctor of Philosophy of the University of Wolverhampton Angleterre, Royaume-Uni.

Xue A. G., Platford R. G., Warkentin T. D., Kenaschuk E.O., Wolfe I. D. and Tuey, H. J., 1996. Diseases of field pea in Manitoba in 1995. Can. Plant Dis. Surv. 76: 118–119.

Xue A. G., 2003. Biological Control of Pathogens Causing Root Rot Complex in Field Pea Using *Clonostachys rosea* Strain ACM941. Biological Control .The American Phytopathological Society : Vol. 93, No. 3 :329-334p.

Young I. M. and Ritz K., 2000. Tillage, habitat space and function of soil microbes. Soil &Tillage Research 53, 201-213.

Zohary D . et Hophf M., 2002. Domestication of plants in the old world: the origin and spread of cultivated plants in west Asia, Eroupe and the Nile Valley.Third Edition Oxford University Press Inc .New York.

Zuniga T. L., Zitter T. A., Gordon T. R., Schroeder D. T. et Okamoto D., 1997. Characterization of Pathogenic Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* Causing Fusarium Wilt of Melon in New York. Plant Dis. 81:592-59

ANNEXES

Annexe 1

Tableau A1-1 : Les valeurs nutritionnelles de Pois (USDA, 1999).

Nutriment	Unités	Petites pois crus	Petites pois cuits
Eau	g	78.86	77.8
Energies	Kcal	81	84
Protéines	g	5.42	5.36
Lipides totaux	g	0.4	0.22
Glucides	g	14.46	15.64
Fibres totales	g	5.1	5.5
Minéraux			
Calcium	mg	25	27
Fer	mg	1.47	1.54
Magnésium	mg	33	39
Phosphore	mg	108	117
Potassium	mg	244	271
Sodium	mg	5	3
Zinc	mg	1.24	0.173
Cuivre	mg	0.176	0.173
Manganèse	mg	0.410	0.525
Sélénium	mcg	1.8	1.9
Vitamines			
Vitamines C	mg	40	14.2
B1-(thiamine)	mg	0.266	0.259
B2(riboflavine)	mg	0.132	0.149
B3(niacine)	mg	2.09	2.16
B5(pyridoxine)	mg	0.104	0.153
B6(acide pantothénique)	mg	0.169	0.216
Acide folique	mcg	65	63.3
B 12	mcg	0	0
Vitamine A	I.U	640	579
Vitamine E	mcg	0.39	0.39
Lipides			
Acides gras satures	g	0.071	0.039
Acides gras mono insaturés	g	0.035	0.019
Acides gras polyin saturés	g	0.187	0.102
Acides linoléique (18.2)	g	0.035	0.019
Acides alpha-linoléique (18.3)	g	0.035	0.019
cholestérol	mg	0	0

Tableau A1-2 : Maladies virales du Pois (Hagedorn D., 1991 ; TaupinP. et *al.*, 1994).

Désignation de la maladie	Agent responsable	Groupe	Symptômes
Mosaïque Commune de Pois	CMV	<i>Cucumovirus</i>	-Mosaïque jaune sur les feuilles.
Red Clover Vein Mosaic Virus	RCVMV	<i>Carlavirus</i>	- La mort des jeunes plantes, soit par leur survie sous forme de rosette aux entre noeuds raccourcis.
Pea Enation Mosaic Virus	PEMV	<i>Lutéovirus</i>	- Un éclaircissement des nervures, l'apparition de taches translucides le long des nervures.
La jaunisse apicale du Pois	PLRV	<i>Lutéovirus</i>	- L'extrémité de la plante s'arrête de croître et prend une teinte jaune.
Bean Yellow Mosaic Virus	BYMV	<i>Potyvirus</i>	- une mosaïque jaune plane, ou une nécrose apicale.
Pea Seed-Borne Mosaic Virus	PSBMV	<i>Potyvirus</i>	-Chlorose, bord des feuilles enroulé, faible mosaïque parfois, retards de maturité.

Annexe A2 : Milieux de cultures**Milieu de culture à base de pomme de terre (PDA)**

- Pomme de terre 200g
- Glucose 20g
- Eau distillée 1000ml
- Gélose 20g

Autoclaver 30 minutes à 104°C.

Milieu CZAPECK

- Na NO₃ 2g
- K₂ HPO₄ 1g
- K CL 0.5g
- Mg SO₄, 7H₂O 0.5g
- Fe SO₄, 7H₂O 0.01g
- Saccharose 30g
- Eau distillé 1000ml

Autoclaver 30 minutes à 104° C.

Gélose Nutritive

- Extrait De viande.....,0 g
- Extrait De Levure.....2,0 g
- Peptone 5, 0 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Agar 15,0 g

pH= 7,4

Autoclaver 15min à 120 °C

Milieux pour les Actinomycètes

- Glycérol.....10g
- K HPO.....2g
- MgSO₄.7H₂O.....0,05g
- Caséine..... 0,3g
- KNO 2g
- CaCO..... .0,02g
- NaCl 2g
- FeSO .7H₂O 0,01g
- Agar..... ..18g
- Eau distillée 1000ml

pH= 7,4

Autoclaver 15 min à 120 °C.

Milieu PS liquide

- Pomme de terre..... 200g
- Saccharose..... 15g
- Eau distillée..... 1000ml

Autoclaver 20 minutes à 104°C.

Test à l'oxydase :

Les oxydases interviennent à la fin des chaînes de déshydrogénation et de cytochromes. Elles sont mises en évidence par leur propriété de catalyser la réaction d'oxydation d'un substrat organique par l'oxygène de l'air. Le substrat utilisé est l'oxalate de diméthylparaphénylène daimine, qui est incolore sous forme réduite et rouge sous forme oxydée.

On a transféré une colonie sur le disque d'oxydase humidifié posé sur une lame, l'apparition d'une coloration rose dans les 10 secondes indique un résultat positif.

Test à catalase

Le Test à catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

Dans un couvercle d'une boîte de Pétri ou sur une lame, déposer une goutte de peroxyde d'hydrogène 3%.

À l'aide d'un cure-dent prendre la bactérie à identifier (culture de 18 à 24 heures) et la déposer dans la solution de peroxyde d'hydrogène.

Attendre environ 2 minutes et lire la réaction obtenue :

Réaction positive : présence de bulle révélant le dégagement d'oxygène.

Réaction négative : absence de bulle.

Protocole d'inoculation d'une galerie API 20^E

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures, faire une suspension bactérienne ayant une concentration de 10^8 bactéries/ ml dans 5 ml de saline stérile (Na Cl à 0,85%) à un pH entre 5,5 et 7.

- Bien mélanger la suspension bactérienne 5 à 10 secondes, cette suspension doit être utilisée dans les 15 minutes suivant sa préparation.

- Déposer soigneusement 150 ul de la suspension bactérienne dans chaque cupule de la galerie en utilisant un embout stérile

- Ajouter de nouveau 150 ul de la suspension bactérienne aux cupules CIT, VP et GEL (total=300ul) par puit.

- Après l'inoculation, remplir les cupules ADH, LDC, ODC, H_2S et URE d'huile minérale.

- Ajouter de l'eau dans les supports, y déposer la galerie et mettre le couvercle

La lecture des galeries se fait généralement au bas de chaque cupule sauf CIT, IND.

- Lire en suivant l'ordre ci-dessous :

VP: Ajouter 1 goutte d'hydroxyde de potassium (40%)

Ajouter 1 goutte d'alpha naphthol (6%)

Attendre 10 minutes.

- Pendant ce temps, faire la lecture des autres cupules sauf TDA et IND en inscrivant la couleur et la réaction (positive ou négative) sur une fiche de résultats.

- Lire la réaction du VP
- GLU: Avant l'addition du réactif, observé s'il y a présence de bulles (positive ou négative) qui indiquent une réduction des nitrates à l'état gazeux
 - Ajouter 2 gouttes d'acide sulfanilique (0,8%)
 - Ajouter 2 gouttes de NN-diméthyl- α -naphtylamine (0,05%)
 - Attendre 2-3 minutes
- Pendant ce temps, faire les réactions TDA et IND
 - TDA : Ajouter 1 goutte de chlorure ferrique (10%), lire la réaction immédiatement.
- Lire la réaction GLU. si la réaction est négative, ajouter de la poudre de zinc.
 - Attendre 10 minutes et faire la lecture de cette dernière réaction.

Tableau A2-1 : Lecture de la galerie miniaturisée API 20E (Willey et al ., 2008).

TEST	SUBSTRAT	REACTION ENZYME	RESULTAT	
			NEGATIF	POSITIF
ONPG	ortho-nitro-phenyl-galactoside	beta-galactosidase	incolore	jaune (1)
ADH	arginine	arginine dihydrolase	jaune	rouge/ orangé (2)
LDC	lysine	lysine décarboxylase	jaune	orangé
ODC	ornithine	ornithine décarboxilase	jaune	rouge/ orangé (2)
CIT	citrate de sodium	utilisation du citrate	vert pâle/ jaune	bleu vert/ vert (3)
<u>H₂S</u>	thiosulfate de sodium	production d'H ₂ S	incolore/grisâtre	dépôt noir/ fin liseré
URE	urée	uréase	jaune	rouge/orangé
TDA	tryptophane	tryptophane desaminase	<u>TDA / immédiat</u> jaune marron foncé	
IND	tryptophane	production d'indole	<u>JAMES / immédiat ou IND / 2 mn</u> JAMES incolore vert pâle-jaune IND jaune JAMES rose IND anneau rouge	
VP	pyruvate de sodium	production d'acétoïne	<u>VP 1 + VP 2 / 10 mn</u> incolore rosé-rouge	
GEL	gélatine de Kohn	gélatinase	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	glucose	fermentation / oxydation (4)	bleu / bleu-vert	jaune
MAN	mannitol	fermentation / oxydation (4)	bleu / bleu-vert	jaune
INO	inositol	fermentation / oxydation (4)	bleu / bleu-vert	jaune
SOR	sorbitol	fermentation / oxydation (4)	bleu / bleu-vert	jaune
RHA	rhamnose	fermentation / oxydation (4)	bleu / bleu-vert	jaune
SAC	saccharose	fermentation / oxydation (4)	bleu / bleu-vert	jaune
MEL	melibiose	fermentation / oxydation (4)	bleu / bleu-vert	jaune
AMY	amygdaline	fermentation / oxydation (4)	bleu / bleu-vert	jaune
ARA	arabinose	fermentation / oxydation (4)	bleu / bleu-vert	jaune
OX	sur papier filtre	cytochrome-oxydase	<u>OX / 1-2 mn</u> incolore violet	
NO ₃ -NO ₂	tube GLU	production de NO ₂	<u>NIT 1 + NIT 2 / 2-3 mn</u> jaune rouge	
		réduction au stade N ₂	<u>Zn</u> rouge jaune	
MOB	(API M) microscope	mobilité	immobile	mobile
MAC	milieu McConkey	culture sur	absence	présence
OF	glucose (API OF)	fermentation : sous huile oxydation : à l'air	vert vert	jaune jaune

(1) une très légère couleur jaune est également positive

(2) une couleur orange apparaissant après 24H d'incubation doit être considérée comme négative

(3) lecture dans la cupule (zone aérobie) (4) la fermentation commence dans la partie inférieure du tube, l'oxydation commence dans la cupule.

Tableau A2-2. Tableau de lecture des réactions des API 20 E

N° Isolât		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
TEST	SUBSTRAT	Jaune fonce	Jaune canarienne	Beige clair	Beige clair Grulé	Jaune luisant	Beige fonce	orange	rose	Beige au marron	Marron	Jaune claire
ONPG	ortho-nitro-phenyl-galactoside	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+
ADH	arginine	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LDC	lysine	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
ODC	orniyhine	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
CIT	citrate de sodium	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
H ₂ S	thiosulfate de sodium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
URE	urée	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
TDA	tryptophane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IND	tryptophane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	pyruvate de sodium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GEL	gélatine de Kohn	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
GLU	glucose	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
MAN	mannitol	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
INO	inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SOR	sorbitol	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RHA	rhamnose	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SAC	saccharose	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
MEL	melibiose	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-
AMY	amygdaline	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ARA	arabinose	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-

Milieux pour l'étude de la compatibilité végétative

Milieu de base MM : utilisé pour la préparation de tous les autres milieux

- Saccharose 30 g
- KH_2PO_4 lg
- Mg SO_4 0.5g
- KCL 0.5 g
- Solution d'oligo-éléments 0.2 ml
- Agar 20 g
- Eau distillée..... 1000ml

Solution d'oligo-éléments se compose de :

- Acide citrique.....5g
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5 g
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 75 g
- $\text{Fe (NH}_4)_2(\text{SO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1 g
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 250 mg
- $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 50mg
- H_3BO_3 50 mg
- $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 50 mg
- Eau distillée..... 1000ml

Le pH est ajusté à 5.5 puis autoclaver à 120°C pendant 20mm

Milieu de sélection des mutants chlorate-résistants : MMC

- Asparagine 16 g
- KC103 15 g
- NaN03 2g
- Milieu de base MM.....1000 ml

Milieux de caractérisation des mutants pour l'assimilation des nitrates

Milieu nitrate minimum : MM

- Milieu de base 1000 ml
- NaNO_3 2g

Milieu nitrite : NIT

- Milieu de base 1000 ml
- NaNO_2 2g

Milieu hypoxanthine : HYPO

- hypoxanthine 0,2 g
- Milieu de base 1000 ml

Milieux pour la conservation et multiplication des cultures

Milieu PDA (Potato -Dextrose-Agar) :

Milieu Asparagine pour la conservation des différents mutants

- Asparagine 1g
- NaNO_3 2g
- Milieu MM 1000 ml

Annexe A3**Tableau A3-1 : Analyse de la variance pour le test de l'agressivité de 52 isolats de FOP.**

Source de Variation	SC	dl	CM	F	Seuil de significativité	F. crit
Entre les groupes	56564,23	51	1109,10	1,54	0,03	1,46
A l'intérieur des groupes	74812	104	719,34615			
Total	131376,23	155				

Tableau A3-2 : Matrice de corrélation calculée entre les différents paramètres étudié.

Variables	pb	pbr	pbj	pm	pv	pr	pvr	mcm	ma	mcd	md	mr	ga	gb	gc	gd	r1	r2	r5	r6	rin
pb	1,00																				
pbr	-0,68	1,00																			
pbj	-0,16	-0,22	1,00																		
pm	-0,68	0,19	0,08	1,00																	
pv	0,68	-0,38	-0,28	-0,83	1,00																
pr	0,08	0,23	-0,22	-0,47	0,17	1,00															
pvr	0,31	-0,42	-0,15	-0,40	0,60	-0,16	1,00														
mcm	-0,07	-0,37	0,71	0,20	-0,30	0,04	-0,35	1,00													
ma	0,17	0,43	-0,77	-0,31	0,25	0,36	0,03	-0,84	1,00												
mcd	0,47	-0,02	-0,14	-0,33	0,30	-0,10	-0,26	-0,33	0,36	1,00											
md	-0,66	0,74	0,06	0,19	-0,20	-0,16	-0,14	-0,27	0,13	-0,18	1,00										
mr	0,30	-0,57	-0,27	0,01	0,18	-0,12	0,71	-0,14	-0,06	-0,31	-0,61	1,00									
ga	-0,07	0,15	0,22	-0,26	-0,08	0,72	-0,26	0,15	0,14	-0,03	0,05	-0,32	1,00								
gb	0,04	-0,33	0,22	0,26	-0,44	0,02	0,09	0,14	-0,12	-0,34	-0,33	0,44	0,38	1,00							
gc	-0,26	0,49	-0,35	0,00	0,22	-0,11	-0,14	-0,30	0,23	0,31	0,39	-0,36	-0,46	-0,93	1,00						
gd	0,30	-0,36	0,59	-0,18	0,14	-0,26	-0,18	0,68	-0,65	0,08	-0,07	-0,33	-0,21	-0,27	-0,01	1,00					
r1	-0,22	0,19	0,20	0,05	-0,13	0,22	-0,34	0,30	-0,32	0,06	0,21	-0,36	0,44	-0,08	-0,02	0,20	1,00				
r2	0,50	-0,31	-0,36	-0,76	0,91	0,34	0,75	-0,36	0,30	0,00	-0,15	0,36	0,10	-0,22	0,05	-0,14	-0,10	1,00			
r5	0,50	-0,22	0,12	-0,36	0,40	-0,24	-0,17	0,06	0,01	0,69	-0,22	-0,30	-0,39	-0,57	0,45	0,54	-0,30	0,00	1,00		
r6	-0,43	-0,06	0,92	0,25	-0,43	-0,16	-0,11	0,57	-0,67	-0,26	0,18	-0,20	0,34	0,33	-0,34	0,24	0,23	-0,37	-0,16	1,00	
rin	0,16	-0,35	-0,23	0,46	-0,32	-0,24	-0,17	-0,08	0,12	0,07	-0,33	0,27	0,06	0,63	-0,51	-0,28	-0,09	-0,28	-0,25	-0,17	1,00

Tableau A 3-3 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat Sb1 et les isolats non pathogènes.

Temps (Jour)	Sb1	Sb1+FON35	Sb1+FON23	Sb1+FON7
1	0.30	0.25	0.30	0.65
2	0.65	0.60	1.00	0.90
3	1.00	0.90	1.00	1.20
4	1.35	1.30	1.00	1.20
5	1.70	1.65	1.00	1.20
6	2.05	1.65	1.00	1.20
7	2.40	1.65	1.00	1.20
8	3.40	1.65	1.00	1.20
9	4.00	1.65	1.00	1.20
10	4.35	1.65	1.00	1.20

Tableau A3-4 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat C20 et les isolats non pathogènes.

Temps(Jour)	C20	C20+FON35	C20+ FON23	C20+FON7
1	0.25	0.25	0.35	0.70
2	0.65	0.60	0.70	1.10
3	2.83	0.90	1.10	1.40
4	3.40	1.30	1.10	1.40
5	3.81	1.60	1.10	1.40
6	3.85	1.95	1.10	1.40
7	4.35	2.15	1.10	1.40

Tableau A3-5 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat R29 et les isolats non pathogènes.

Temps(Jour)	R29	R29+FON35	R29+FON23	R29+FON7
1	0.25	0.25	0.25	0.60
2	0.85	0.60	0.85	0.85
3	1.35	0.85	0.85	1.35
4	1.80	1.35	0.85	1.35
5	2.35	1.35	0.85	1.35
6	2.90	1.35	0.85	1.35
7	4.35	1.35	0.85	1.35

Tableau A3-6 : Pourcentage de réduction de la croissance mycélienne R (cm) entre l'isolat FS2 et les isolats non pathogènes.

Temps(Jour)	FS2	FS2+FON35	FS2+FON23	FS2+FON7
1	0.2	0.2	0.2	0.7
2	0.8	0.75	0.8	0.8
3	1.2	0.8	1.2	0.8
4	1.6	1.2	1.2	0.8
5	2	1.2	1.2	0.8
6	2.35	1.2	1.2	0.8
7	3.35	1.2	1.2	0.8
8	3.8	1.2	1.2	0.8
9	4.35	1.2	1.2	0.8

Tableau A3-7 : Analyse de la variance pour le test de confrontation de Sb1 et FONP.

S v	Sc	DDL	Mc	Fc	Prob	F 0,05	F 0,01
Entre Groupes	8.26	3	2.75	4.72	0.006	2.86	4.37
A l'intérieur des groupes	20.97	36	0.58				
Total	29.24	39					

Tableau A3-8 : Analyse de la variance pour le test de confrontation de R29 et FONP.

S v	Sc	DDL	Mc	Fc	Prob	F 0,05	F 0,01
Entre Groupes	13.68	3	4.56	5.49	0.005	3.008	4.7
A l'intérieur des groupes	19.92	24	0.83				
Total	33.61	27					

Tableau A3-9 : Analyse de la variance pour le test de confrontation de C20 et FONP.

S v	Sc	DDL	Mc	Fc	Prob	F 0,05	F 0,01
Entre Groupes	5.79	3	1.93	3.44	0.032	3.008	4.71
A l'intérieur des groupes	13.43	24	0.55				
Total	19.22	27					

Tableau A3-10 : Analyse de la variance pour le test de confrontation de FSP2 et FONP.

S v	Sc	DDL	Mc	Fc	Prob	F 0,05	F 0,01
Entre Groupes	10.72	3	3.57	6.41	0.001	2.90	4.45
A l'intérieur des groupes	17.81	32	0.55				
Total	28.53	35					

Annexe 4 : Travaux scientifiques effectués dans le cadre de la thèse.

Publication internationale

Aoumria Merzoug, Lakhdar Belabid, Mokhtar Youcef-Benkada, fouzia Benfreha and Bassam Bayaa, 2014. Pea Fusarium Wilt Races in Western Algeria. Plant Protect. Sci. Vol. 50, 2014, No. 2: 70–77.

Communications internationales

Merzoug A., Benfreha F. and Taleb M., 2009.

إحصاء أهم الأمراض الفطرية التي تصيب محاصيل البازلاء و الحمص في الشمال الغربي للجزائر.

10th Arab Congress of Plant Protection, 26 – 30 October, 2009 Beirut, Lebanon.

Merzoug A., Benfreha F. and Taleb M., 2009. Les principales maladies fongiques du Petit Pois (*Pisum sativum*) et Pois chiche (*Cicer arietinum*) dans le nord-ouest Algérien. Colloque international sur la gestion des risqué phytosanitaires 9-11 Novembre 2009, Marrakech, Maroc. In proceedings V1 :115-123.

Merzoug A., Belabid L., Benfreha F., 2010.

دراسة المكر فلورا المنطقة الجذرية للنباتة البازلاء المزروع في المناطق المنتجة بالغرب الجزائري.

Fourth Saudi Science Conférence, Contribution of Science Faculties in the Development Process of KSA Al-Madinah Al-Munawwarah, March 21-24th, 2010. Biology Abstracts (POS-MIC-92).

Merzoug A., Benfreha F. and Taleb M., 2010. Les principales maladies fongiques du Petit Pois (*Pisum sativum*) dans le nord-ouest Algérien. 7^{em} Congrè de l'association Marocaine de la protection des végétaux. Rabat, 26-27 Mai In proceeding V1 :73-80.

Merzoug A., Belabid L., Benfreha F., 2011. Lutte biologique contre la Fusariose vasculaire de petit Pois (*Pisum sativum*) par utilisation de *Fusarium oxysporum* non pathogènes. AFPP–QUATRIÈME CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MÉTHODES ALTERNATIVES EN PROTECTION DES CULTURES LILLE – 8, 9 ET 10 MARS 2011. <http://www.cabdirect.org/abstracts/20113378.html>.

Merzoug A., Belabid L., Benfreha F., 2011. Recensement des principales espèces fongiques pathogènes sur la culture du petit Pois (*Pisum sativum*) dans le nord-ouest Algérien. Colloque International « Nouvelles Espèces Végétales et Microbiennes décrites en Algérie de 1962-2010 » du 18 au 20 Octobre 2011 Oran Algerie.

Communications nationales

Merzoug A., Belabid L., Benfreha F., 2010. Etude de la microflore rhizosphérique du Pois (*Pisum sativum* L.) dans les régions de Mascara et Mostaganem. Séminaire National sur la Protection des Plantes Cultivées : Du 25-26 mai 2010 Khemis Miliana.

Merzoug A., Belabid L., Benfreha F., 2011. Recensement des principales espèces fongiques pathogènes sur la culture du petit Pois (*Pisum sativum*) dans le nord-ouest Algérien.^{1^{er}} Colloque National sur « Santé Végétale et Environnement » Mascara 03-04-2011.

الملخص :

في الحقول ، زراعة البزلاء تخضع للهجمات متعددة لعدة أمراض من بينها الأمراض الفطرية و التي تمثل أحد العوامل الأساسية في نقص المنتج. الدراسات الاستقصائية التي أجريت في العديد من حقول البزلاء المزروعة في أربع مناطق زراعية و مناخية مختلفة في غرب الجزائر (السهول الساحلية ، السهول الداخلية ، المرتفعات الجبلية والصحراء) في مراحل فيزيولوجية مختلفة للنبات (مرحلة الشتلات و مرحلة ازهر – تشكيل ثمرة) ، خلال الحملات الزراعية (2007-2011)، تلتها تحاليل مخبرية سمحت بتحديد عدد كبير من الأمراض الفطرية وتوزيعها الجغرافي ومن أهمها نذكر: الاسكوكيت، عفن الجذور و الرقبة ، الذبول الوعائي و الاصفرار، البياض الدقيقي (*Erysiphe sp.*)، البياض الزغبي (*Peronospora pisi*) ، والصداء (*Uromyces pisi*) والعفن (*Botrytis cinerea*) وكذلك الامراض البكتيرية (*Pseudomonas syringae*).

اظهرت التحاليل المخبرية لميكوفلورا التربة للبازلاء (microflore) لمنطقة الجذور (rhizosphère) وجود مجموعة من الفطريات

Fusarium sp, Alternaria sp, Cladosporium sp, Epicoccum sp, Penicillium sp, Aspergillus sp, Pythium sp. Phoma sp, Phialophora sp, Helicomyces sp , Stemphylium sp, Gilmanila sp, Monilia sp, Rhizoctonia sp, Ascochyta pisi

و كذا مجموعة متنوعة من البكتيريا

Pseudomonas fluorescens /putida ,Pseudomonas aeruginosa ,Stenotrophomonas maltophilia, Xanthomonas sp., Erwinia sp.,Chryseobacterium meningoseptium, Enterobacter Cloacae , Chryseomonas luteola , Burkholderia cepacia , Photobacterium damsela , Serratia marcescens.

دراسة مقارنة لترددات العزل سمحت لنا بتمييز اختلافات معتبر كمية و نوعية. هذه النتائج تساهم بشكل كبير في تعميق المعرفة الخاصة بالتفاعلات الموجودة بين عناصر ميكوفلورا التربة لمنطقة الجذور والنبات البازلاء.

من خلال نباتات التي اظهرت اعراض للاصفرار و ذبول الوعائي مقرونة في بعض الأحيان بتعفنات مختلفة تبين ان العازلات التي تمت على مستوى التاج و الجذور مكتننا من التأكد من وجود *Fusarium oxysporum f.sp.pisi*. ان نتائج هذه الدراسة سمحت لنا بالكشف عن وجود تنوع مورفولوجي وإمراضي داخل مجموعة *Fusarium oxysporum f.sp.pisi* ، لقد حددنا 4 سلالات فيزيولوجية (1، 2 ، 5 و 6) على مستوى الغرب الجزائري.

ان دراسة تنظيم 21 عزل لـ *Fusarium oxysporum f.sp.pisi* و ذات المنشأ الجغرافي المختلف (غرب الجزائر) وينتمون إلى أربع سلالات FOP قد كشفت عن وجود أربعة GC₅، مما يدل على تنوعها الجيني.

ان اختبار المكافحة البيولوجية ضد *Fusarium oxysporum f.sp.pisi* و *Fusarium solani f.sp.pisi* باستخدام معازيل محلية غير ممرضة لـ *Fusarium oxysporum* اظهرت ان هذه الأخيرة تقوم بنشاط عدائي. في المختبر (in vitro) و ذلك بالمنافسة القوية للاحتلال اكبر مساحة وفي الخارج (in vivo) التقليل من شدة الإصابة بالمرض و من جهة أخرى إدخال مقاومة على النبات ضد الذبول الوعائي و التعفن الرقبي.

هذه النتائج تقدم دليلا على النشاط العدائي لـ *F. oxysporum* الغير ممرضة المعزول من منطقة الجذور في التحكم في الذبول الوعائي و التعفن الرقبي.

الكلمات المفتاحية: البزلاء (*Pisum sativum L.*)، الغرب الجزائري، *Fusarium oxysporum f.sp.pisi*، سلالات فيزيولوجية، التوافق الخصري، المكافحة البيولوجية.