

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Abdelhamid  
Ibn Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

N° ...../SNV/2016

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**MESFEK Souheyr**

**BELABASSI Bochra**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN AGRONOMIE**

**Spécialité: PROTECTION DES CULTURES.**

**THÈME**

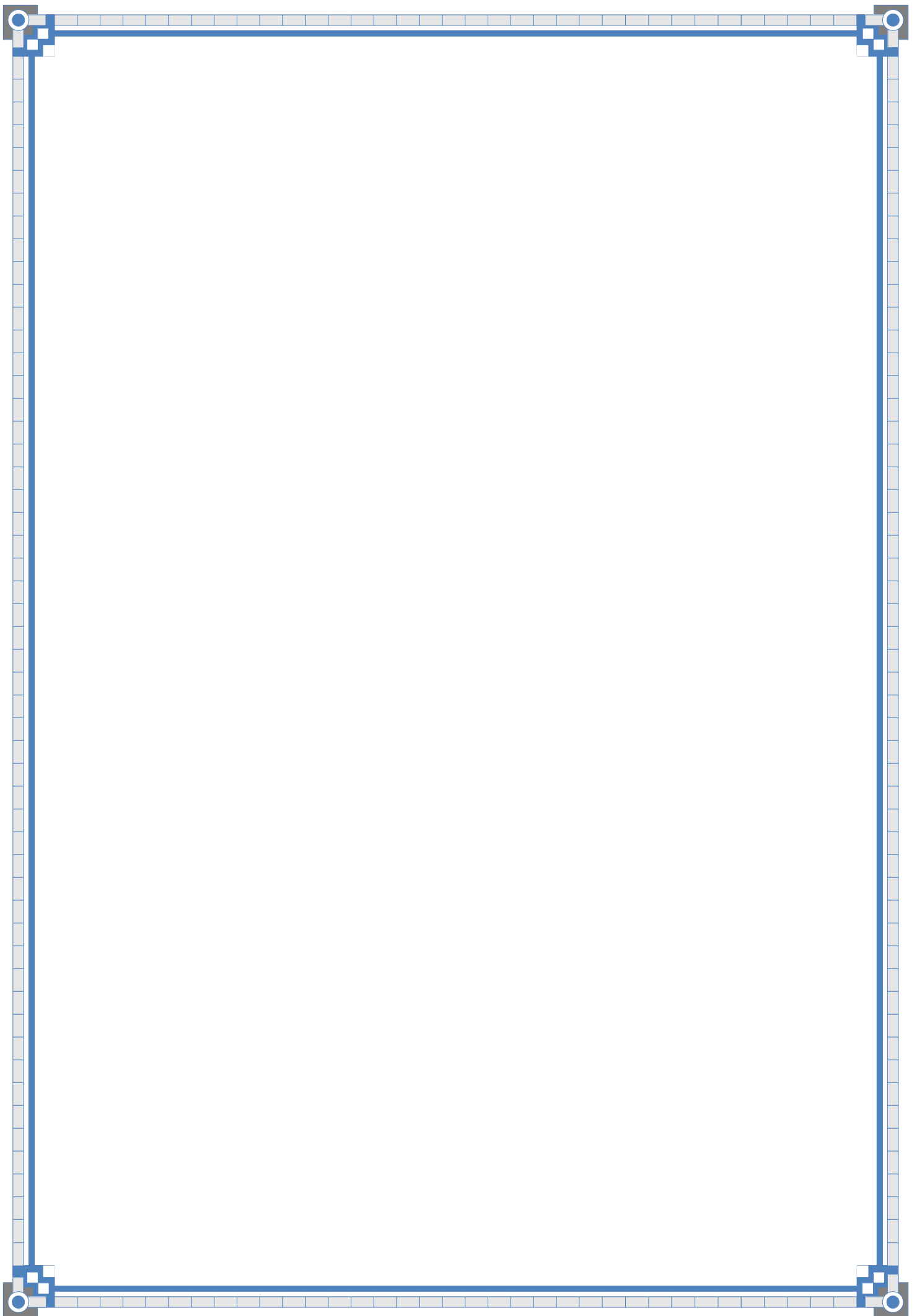
*Contribution à l'étude « in vitro » du pouvoir antagoniste de *Trichoderma harzianum* et *Trichoderma asperellum* Vis-à-vis d'*Ascochyta* sp. agent responsable de « L'antracnose » du pois (*Pisum sativum* L.)*

Soutenue publiquement : le 05/06/2016

DEVANT LE JURY

Président	Mme BOUALEM Malika	MC.B. U. Mostaganem
Encadreur	M. YUCEF BENKADA M.	Pr . U. Mostaganem
Examineur	Mme SAIAH Farida	MC.B. U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de protection des végétaux



# Remerciements

*Au dessus de tout, nous remercions Dieu Tous Puissant, pour nous avoir donné la force et la volonté d'accomplir ce modeste travail.*

*Ce travail a été réalisé au laboratoire de Protection des Cultures de l'Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem sous la direction de Professeur **YOUCEF BENKADA M.** qui a su nous faire confiance pour la réalisation de ce travail de recherche. Nous le remercions pour son attention, son don d'écoute, sa tolérance et sa disponibilité, nous lui témoignons toute notre reconnaissance pour nous avoir guidé et prodigué des conseils sur le plan scientifique que sur le plan humain. Nous espérons que ce mémoire soit l'occasion de vous exprimer notre respectueuse considération, merci encore, Monsieur.*

*Nous remercions vivement **Mme BOUALEM M.** d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Nos remerciements chaleureux vont également à **Mme SAIAH F.** pour sa précieuse aide, ces encouragements permanents et qui nous fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*Un grand Merci aux **M BERRAHAL N.** et **Mme Fadila** les techniciens du laboratoire de protection des végétaux pour leurs disponibilités et leurs précieuses aides durant la période de notre stage.*

*Nous tenons à exprimer nos très vifs remerciements à tous nos enseignants du département de l'Agronomie auxquels nous devons beaucoup pour notre formation et nous exprimons notre profonde gratitude à tous nos collègues de l'université de Mostaganem.*

*Pour tous ceux qui ont apporté leur aide de près ou de loin à la réalisation de ce document, nous disons merci.*

*Je dédie spécialement ce modeste travail :*

*A mes très chers parents que j'aime et je respecte qu'ils sachent que je n'oublierai jamais les sacrifices qu'ils ont consenti pour que je suis maintenant que dieu me les gardes.*

*A mes très chers grands parents maternels.*

*A mon cher frère : Mohammed .*

*A mes chers sœurs : Hour el houda, zohra, warda, omayma.*

*A tous les membres de la famille Belabassi*

*Avec mon profond respect et mon affection.*

*A mes très chères amies : Zohra, Hassiba, Fatima, Lamia, Fatima, Lwiza, saousane, Souhila, Iman, fatima, Siham et à toute ma promotion.*

*Zohra*



*A ma très chère Maman*

*Tu représentes pour moi la source de tendresse, le symbole de la bonté, et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Tes prières m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

*A mon très cher Papa*

*Pour tes sacrifices pour mon éducation, ma formation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes efforts.*

*Aucune dédicace pour mes chers parents ne saurait être assez éloquente pour exprimer tous les sacrifices que vous n'avez donné depuis ma naissance jusqu'à l'âge adulte. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorde longue vie, santé et bonheur Inch'allah.*

*Je dédie ce travail à mes très chères sœurs Fatima et Halima*

*Et mes très chers frères Omar, Abdelkrim, Abdenour et Tlyes*

*avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*A ma très chère grand-mère et mon très cher grand-père*

*Je leur exprime mon profond amour et une longue vie pleine de santé et bonheur.*

*A tous les membres de la famille Mesfék*

*Avec mon profond respect et mon affection.*

*A mes très chères amies : Zohra, Sara, Fatima, Kaltom, Rahima et Samia.*

*Avec toute mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter.*

*Souheyr*

## **Résumé**

Ce présent travail porte sur l'étude *in vitro* de l'effet de l'antagonisme des *Trichoderma* sur *Ascochyta* sp. l'agent causal de l'anthracnose du pois, en utilisant deux méthodes la confrontation directe sur milieu de culture et la confrontation à distance.

Les résultats obtenus montrent que la confrontation directe des colonies des *Trichoderma* avec celles du pathogène *Ascochyta* se traduit par une inhibition puis un arrêt de croissance à distance du parasite. Nous remarquons que *T. asperellum* est la plus inhibitrice sur l'ensemble des souches d'*Ascochyta* testées.

La sporulation des colonies d'*Ascochyta* sp. en bordure de la zone d'inhibition se trouve fortement réduite.

Les résultats de la confrontation indirecte révèlent également une réduction de la croissance et de la sporulation d'*Ascochyta* sp. sous l'action des substances volatiles émise par *Trichoderma*.

**Mots clés :** antagonisme, substances volatiles, *Trichoderma* sp., *Ascochyta* sp., petit pois, étude *in vitro*, confrontation directe, confrontation indirecte.

## **Abstract:**

The present work focuses on the *in vitro* study of the effect of the antagonism of *Trichoderma* on *Ascochyta* sp., the causal agent of anthracnose peas, using two methods of direct confrontation on the culture medium and confrontation from a distance.

The results we have obtained, were that direct confrontation colonies of *Trichoderma* with those of the pathogen *Ascochyta* results in inhibition and growth arrest distance of the parasite.

Sporulation colonies of *Ascochyta* along the zone of inhibition are greatly reduced, We remark that *T. asperellum* is the most useful to hinder the increasment of all kinds of the tested *Ascochyta*.

In addition, the results of indirect confrontation show a reduction in growth and sporulation of *Ascochyta* sp. under the action of the volatiles emitted by *Trichoderma*.

**Keywords:** antagonism, volatiles substances, *Trichoderma* sp., *Ascochyta* sp., pea, *in vitro* study, direct confrontation, indirect confrontation.

## ملخص

تركز هذا العمل على دراسة في المختبر حول تأثير العدائي ل *Trichoderma* على *Ascochyta sp.* ، العامل المسبب للفحة الاسكوكيتا للذلاء ، وذلك باستخدام طريقتين، المواجهة المباشرة في وسط زرع والمواجهة غير المباشرة. النتائج المحصل عليها، تبين أن المواجهة المباشرة للمستعمرات *Trichoderma* مع العامل الممرض *Ascochyta sp.* تتمثل في تثبيط ثم توقف تام لنمو الطفيل . لحظنا أن *T. asperellum* هي النوع الاكثر تثبيطا على جميع الانواع *Ascochyta* المختبرة.

تتبع مستعمرات *Ascochyta sp.* على طول منطقة التثبيط جد منخفضة .

بالإضافة إلى ذلك، نتائج المواجهة غير المباشرة، تظهر انخفاض النمو والتبوغ *Ascochyta sp.* تحت تأثير المواد

الطيارة المنبعثة من *Trichoderma*

**الكلمات المفتاحية:** العداء، مواد طيارة، *Trichoderma* ، *Ascochyta sp.* ، الذلاء ، الدراسة في المختبر، المواجهة المباشرة، المواجهة غير المباشرة.

# Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction ..... 1

## *Partie bibliographique*

### *Chapitre1 : Plante hôte « Pisum sativum L.»*

1. Origine et historique .....	3
2. Production et consommation.....	3
2.1. Dans le monde.....	3
2.2. En Algérie.....	4
2.3. Production dans la Wilaya de Mostaganem .....	5
3. Taxonomie .....	6
3.1. Nom communs dans différents pays .....	6
3.2. Sa classification.....	7
4. Caractéristiques botaniques .....	7
4.1. Feuille .....	7
4.2. Tige .....	7
4.3. Fleur.....	8
4.4. Fruits .....	8
4.5. Système racinaire .....	8
5. Exigences écologiques, climatiques et agronomiques de la plante .....	9
5.1. Température .....	9
5.2. Sol .....	10
5.3. Besoin d'eau .....	10
5.4. Apport d'eau et rendement de la culture .....	11
5.5. Absorption de l'eau .....	11
5.6. Programmation des irrigations .....	12
5.7. Rendement et qualité .....	12
6. Valeur nutritionnel.....	12

7. Problèmes phytosanitaire .....	13
-----------------------------------	----

### *Chapitre2 : Agents pathogènes « Ascochyta sp. »*

1. Généralité sur l'antracnose .....	18
2. Historique de la taxonomie .....	18
2.1. Historiques .....	18
2.2. Taxonomie .....	19
3. Caractérisation de l'antracnose .....	19
4. Symptomatologie .....	22
4.1. Symptômes d' <i>Ascochyta pisi</i> .....	22
4.2. Symptômes d' <i>Ascochyta pinodes</i> .....	23
4.3. Symptômes d' <i>Ascochyta pinodella</i> .....	23
5. Cycle de la maladie.....	24
6. Conditions environnementales .....	25
7. Mécanismes de défense de l'hôte.....	25
8. Méthode de lutte contre l'antracnose .....	26
8.1. Lutte culturale .....	26
8.2. Lutte chimique .....	26
8.2.1. Traitement des semences .....	27
8.2.2. Traitement du petit pois en végétation .....	27
8.3. Lutte génétique .....	27

### *Chapitre3 : Agents antagonistes « Trichoderma sp. »*

1. Introduction .....	28
2. Généralité sur <i>Trichoderma sp</i> .....	28
3. Taxonomie et classification.....	29
3.1. Taxonomie.....	29
3.2. Classification.....	31
4. Ecologie .....	31
5. Morphologie.....	31
6. Mode d'action de <i>Trichoderma</i> .....	33
6.1. Antibiose.....	33
6.2. Action par mycoparasitisme.....	33
6.3. Action par compétition .....	34

6.4. Action par élicitations .....	34
------------------------------------	----

## *Partie expérimentale*

### *Chapitre1 : matériel et méthodes*

1. Matériel fongiques.....	35
2. Méthodes .....	35
2.1. Activité antagoniste "in vitro " de <i>Trichoderma sp.</i> vis-à-vis d' <i>Ascochyta sp</i> .....	35
2.1.1. Confrontation direct (antibiose) .....	35
2.1.2. Confrontation indirect (substances volatiles) .....	37
2.2. Méthodes d'évaluation de la croissance mycélienne d' <i>Ascochyta sp</i> .....	38
2.3. Méthodes d'évaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne .....	39
2.4. Méthodes d'évaluation de la sporulation .....	39

### *Chapitre2 : Résultats et Discussion*

1. Effet de l'antagonisme de deux espèces de <i>Trichoderma</i> sur la croissance d' <i>Ascochyta sp.</i> en confrontation directe .....	41
1.1. Croissance mycélienne .....	41
1.2. Vitesse de la croissance .....	43
1.3. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne .....	44
1.4. Influence sur la sporulation.....	45
1.5. Discussion .....	46
2. Effet de l'antagonisme de deux espèces de <i>Trichoderma</i> sur la croissance d' <i>Ascochyta sp.</i> en confrontation indirecte.....	48
2.1. Croissance mycélienne .....	48
2.2. Vitesse de la croissance .....	50
2.3. Taux d'inhibition de croissance mycélienne .....	51
2.4. Influence sur la sporulation .....	51
2.5. Discussion .....	53
<b>Conclusion</b> .....	<b>55</b>

## **Références Bibliographiques**

## **Annexes**

# Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Principaux pays producteurs du pois frais en 2007.....	4
<b>Tableau 2:</b> Superficie et production du pois frais et secs dans les différentes communes de Wilaya de Mostaganem (2014/2015) (DSA, Mostaganem).....	5
<b>Tableau 3 :</b> Classification du petit pois .....	7
<b>Tableau 4 :</b> Les périodes de croissance du petit pois (Doorenbos <i>et al.</i> , 1987).....	10
<b>Tableau 5 :</b> Les principales maladies du petit pois (Messaien <i>et al.</i> , 1991 ; Chaux et Foury, 1994 ; Brink et Belay, 2006) .....	14
<b>Tableau 6 :</b> Les principaux ravageurs du petit pois (Chaux et Foury, 1994 ; Coutin, 2004).....	16
<b>Tableau 7:</b> Classification d' <i>Ascochyta</i> .....	19
<b>Tableau 8 :</b> Caractérisation morphologiques sur milieu de culture des espèces d' <i>Ascochyta sp.</i> (Allard <i>et al.</i> , 1993 ; Maufra, 1996) .....	21
<b>Tableau 9 :</b> Classification de <i>Trichoderma sp.</i> (Bissett., 2004).....	31

# Liste des figures

<b>Fig.1 :</b> Structure d'une plante de petit pois (Boyeldieu, 1991).....	9
<b>Fig. 2:</b> Les symptômes de l'antracnose.....	22
<b>Fig. 3:</b> Les 5 sections systématiques de <i>Trichoderma</i> sp. et quelques-unes des espèces y appartenant, selon Bissett (1991). , * Les espèces agrégées de Rifai (1969).....	30
<b>Fig. 4 :</b> aspect macroscopique et microscopique de <i>T. harzianum</i> ( Mesfek et Belabassi , 2014).....	32
<b>Fig.5:</b> Confrontation directe entre <i>Ascochyta</i> sp. et <i>Trichoderma</i> sp. sur milieu PDA .....	36
<b>Fig.6 :</b> Test de confrontation directe pour le témoin sur milieu PDA. ....	36
<b>Fig.7:</b> Dispositif utilisé pour tester l'influence des substances volatile émises par <i>Trichoderma</i> sp. sur la croissance de <i>Ascochyta</i> sp. ....	37
<b>Fig.8 :</b> Test de confrontation indirect pour les témoins .....	38
<b>Fig.9 :</b> Influence de l'antagonisme des <i>T. harzianum</i> et <i>T. asperellum</i> en confrontation directe sur la croissance mycélienne des souches d' <i>Ascochyta</i> . A : <i>A .pisi</i> ; B : <i>A. pinodes</i> ; C : <i>A. pinodella</i> .....	42
<b>Fig.10 :</b> Influence de l'antagonisme des <i>T. harzianum</i> et <i>T. asperellum</i> en confrontation directe sur la vitesse de la croissance mycélienne des souches d' <i>Ascochyta</i> testées. ....	43
<b>Fig. 11:</b> Influence de l'antagonisme des <i>T. harzianum</i> et <i>T. asperellum</i> en confrontation directe sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne des souches d' <i>Ascochyta</i> testées. ....	44
<b>Fig.12:</b> Influence de l'antagonisme des <i>T. harzianum</i> et <i>T. asperellum</i> en confrontation directe sur le taux d'inhibition de la sporulation des souches d' <i>Ascochyta</i> testées. ....	46
<b>Fig. 13:</b> Influence des substances volatiles des <i>T. harzianum</i> et <i>T. asperellum</i> en confrontation indirecte sur la croissance mycélienne d' <i>Ascochyta</i> . A : <i>A .pisi</i> ; B : <i>A. pinodes</i> ; C : <i>A. pinodella</i> .....	49
<b>Fig.14:</b> Influence des substances volatiles des <i>T. harzianum</i> et <i>T. asperellum</i> en confrontation indirecte sur la vitesse de la croissance mycélienne d' <i>Ascochyta</i> testées .....	50
<b>Fig.15 :</b> Influence des substances volatiles des <i>T. harzianum</i> et <i>T. asperellum</i> sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne d' <i>Ascochyta</i> testées.....	51
<b>Fig.16:</b> Influence des substances volatiles des <i>T. harzianum</i> et <i>T. asperellum</i> sur le taux d'inhibition de la sporulation d' <i>Ascochyta</i> testées. ....	52

# Listes des abréviations

**C°**: degré Celsius

**µg** : microgramme

**C<sub>0</sub>**: le diamètre moyen des colonies témoins (mm/j).

**cm** : centimètre

**C<sub>n</sub>**: le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste (*T. harzianum*) (mm/j).

**D** : diamètre de colonie

**d** : diamètre de l'explant

**FAO**: Food Organisation Agricultural

**g** : gramme

**ha** : hectare

**j** : jours

**L** : croissance mycélienne

**ml** : millilitre

**mm** : millimètre

**Q<sub>x</sub>** : Quintaux

**t** : tonne

**T.A.**: *Trichoderma asperellum*

**T.H.**: *Trichoderma harzianum*

**TI (%)** : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne.

**V** : vitesse de la croissance.

Première partie:  
Analyse bibliographique

# Deuxième partie :

# Etude expérimentale

# Chapitre I :

plante hôte "Pisum sativum L."

# Chapitre II :

Agents pathogènes "Ascochyta sp."

# Chapitre III :

Agents antagonistes "Trichoderma sp."

# Chapitre I :

# Matériel et Méthodes

# Chapitre II :

# Résultats et Discussion

# Annexes

# Références bibliographiques

# Introduction

# Conclusion générale

Le petit pois (*Pisum sativum*) est une plante légumineuse, annuelle cultivée à travers le monde et utilisé en alimentation humaine et animale. La production mondiale en pois a atteint son optimum en 1990 avec une production qui avoisine 16,5 millions de tonnes (**FAOSTAT, 2004**). A partir de l'année 2000, la production mondiale s'est stabilisée autour de 10 millions de tonnes.

En Algérie les conditions climatiques et du sol sont très favorables à sa culture, laquelle s'étend sur une superficie de 21200 ha avec une production annuelle de 632900 Qx, soit un rendement de 29,9Qx/ha (**DSASI, 2001**), les Wilayas productrices sont Mascara, Boumerdes, Biskra et Tlemcen.

Malheureusement, la culture du pois peut subir des ravages par une large gamme d'agents pathogènes comprenant des champignons, des bactéries, des virus, des insectes et des nématodes qui sont responsables de nombre dégâts constituant un danger réel à cette culture.

Parmi les maladies aérienne, l'anthracnose causée par trois *Sphaeropsidales* apparentées à savoir *Ascochyta pisi*, *Ascochyta pinodes* et *Ascochyta pinodella*, ces la plus importante.

Ces champignons peuvent être présents individuellement ou en même temps sur les cultures et provoquent des macules nécrotiques, ils agissent en complexe et causent de façon assez constante des pertes importantes de rendements allant de 10 à 80% selon les pays et les situations de cultures. Le développement de cette maladie dépend principalement des conditions de pluviométrie et des températures (**Allard et al., 1993**).

Le diagnostic des trois parasites par simple visualisation de symptômes reste aléatoire en raison de leur similitude chez les trois espèces et de la superposition fréquente des ces dernières sur la même plante hôte.

Depuis quelques années, la lutte biologique connaît un regain d'intérêt, alimenté par le souci croissant d'une meilleure protection de l'environnement, et par le désir de qualité des produits imposée par les consommateurs. L'utilisation d'agents de lutte biologique est devenue une réalité en agriculture en particulier pour le contrôle des maladies fongiques, avec l'emploi des micro-organismes antagonistes.

Les propriétés antagonistes des *Trichoderma* sont connues depuis longtemps puisque la première publication qui en fait mention date de 1887. Cependant, l'étude approfondie du phénomène d'antagonisme et de son application comme moyen de lutte à l'égard des parasites des plantes cultivées n'a débuté qu'entre les deux guerres mondiales.

De nombreux travaux ont démontré que les *Trichoderma* ont un potentiel de lutte intéressant contre divers agents pathogènes (**Mutitu et Muriungi, 1997 ; Larkin et Fravel, 1998 ; Sudhamoy *et al.*, 1999; Metcalf *et al.*, 2004** ). Ils agissent selon divers mécanismes pour les contrôler : le mycoparasitisme, l'antibiose et la compétition.

L'objectif principal de ce travail est l'étude *in vitro* de l'effet de deux espèces de *Trichoderma* (*T. harzianum* et *T. asperellum*) sur *Ascochyta* sp.

Les axes de ce mémoire s'articulent en trois parties :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique relative : à la plante hôte *Pisum sativum* L., à l'*Ascochyta* sp. agent responsable de l'anthracnose du petit pois, et la lutte biologique par *Trichoderma*, permettant d'appréhender le thème de recherche.
- La seconde partie, concerne la partie expérimentale (Matériel et méthodes) et expose les résultats et discussion du travail.
- Enfin, la troisième partie est réservée à la conclusion et perspectives de cette étude.

## 1. Origine et historique

L'origine et les ancêtres de *Pisum sativum* L. sont mal connus. La région méditerranéenne, l'Asie centrale et occidentales et l'Ethiopie ont été envisagés comme centre d'origines. Récemment, la FAO a désigné l'Ethiopie et l'Asie occidentale comme centres de diversité, avec des centres secondaires dans le sud de l'Asie et la région méditerranéenne (Nyabyenda, 2005 ; Pitrat et Foury, 2015).

L'utilisation du pois dans le croissant fertile est attestée par des données archéologiques datant de 8000 av. J.-C. Le pois semble avoir été d'abord cultivé en Asie, d'où il s'est diffusé en Europe, en Chine et l'Inde. Dans l'antiquité, les auteurs grecs et romains ont fait état de sa culture comme légume sec et plante fourragère. Le pois était déjà bien connu dans les régions montagneuses de l'Afrique centrale et orientale avant l'arrivée des Européens et vers 1860, c'était une culture vivrière importante et bien établie au Rwanda et dans le Sud-ouest de l'Ouganda (Nyabyenda, 2005 ; Pitrat et Foury, 2015).

La consommation des gousses fut décrite pour la première fois aux Pays-Bas et en France au XVIe siècle, et l'emploi des graines immatures comme légume débutent en Europe un siècle plus tard. Actuellement, on trouve le petit pois dans tous les pays tempérés et dans la plupart des hautes terres tropicales (Nyabyenda, 2005 ; Pitrat et Foury, 2015).

## 2. Production et consommation

### 2.1. Dans le monde

Selon les statistiques de l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), en 2007, la production mondiale de pois frais s'est élevée à 8 264 767 Qx. pour une surface ensemencée de 1 087 674 hectares, soit un rendement moyen de 7,6 Qx par hectare (FAO STAT). Les deux principaux producteurs de pois frais, Chine et Inde, représentent près de 70% du total mondial (Tableau 1).

**Tableau 1** : Principaux pays producteurs du pois frais (FAO 2007).

Pays	Surface cultivée milliers d'hectares)	Rendement (quintaux par hectare)	Production (milliers de tonnes)
Chine	251,0	10,0	2 508,5
Inde	282,0	8,1	2 292,7
Etat Unis	87,0	10,1	875,0
France	30,5	11,6	355,0
Royaume Uni	33,3	9,9	330,0
Égypte	27,0	10,4	280,0
Maroc	18,0	6,1	110,0
Turquie	14,5	7,0	101,4
Hongrie	16,5	5,6	92,0
Italie	13,0	6,9	90,0
Algérie	25,0	3,5	87,5
Pérou	25,5	3,4	86,5
Pakistan	11,0	7,6	83,0
Canada	15,9	4,4	69,3

## 2.2. En Algérie

En Algérie le pois a été cultivé avant 1830 dans les jardins et les champs en Kabylie. La culture a pris un développement important en 1945, elle a connue par la suite un essor remarquable de 1947 à 1952. En 1980, 10 800 ha ont été consacrés à cette culture. Durant cette dernière décennie, c'est en 1993 qu'on a enregistré la superficie la plus importante avec 20 800 ha alors que le rendement le plus important a été enregistré en 2001 sur une superficie de 19970 ha (FAO STAT\_ Dat 2004). En 2009, cette superficie passe de 28000 à 724000 ha avec une production annuelle de 1029 707 Qx, soit un rendement de 35,8 Qx/ha (MADR, 2009). Les principales Wilayas productrices sont Mascara, Boumerdes, Biskra et Tlemcen.

### 2.3. Production dans la Wilaya de Mostaganem

Les données statistiques concernant la superficie et la production communales du pois frais et pois sec ont été collectées auprès de la Direction des Services Agricoles Wilaya de Mostaganem (DSA, Mostaganem) (Tableau 2).

**Tableau 2 : superficie et production du pois frais et secs dans les différentes communes de Wilaya de Mostaganem (2014/2015) (DSA, Mostaganem).**

Commune	Pois frais		Pois secs	
	Superficie (ha)	Production (Qx)	Superficie (ha)	Production (Qx)
Achaacha	30	900	53	425
Khadra	35	1050	250	1990
NEKMARIA	1	30	15	120
o/boughalem	25	750	52	415
<b>S/Total</b>	<b>91</b>	<b>2730</b>	<b>370</b>	<b>2950</b>
Sidi lakhdar	20	1600	158	2054
Tazgait	0	0	50	655
<b>S/Total</b>	<b>10</b>	<b>460</b>	<b>208</b>	<b>2709</b>
Sidi Ali	85	4150	/	/
O/Maallah	1	750	/	/
<b>S/Total</b>	<b>85</b>	<b>4900</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Hadjadj	160	8000	/	/
B.A.Ramadan	150	6000	/	/
<b>S/Total</b>	<b>310</b>	<b>14000</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Kheir eddine	110	3600	/	/
Sayada	60	1800	/	/
Ain Boudinar	104	3120	/	/
Mosataganem	0	0	0	0
<b>S/Total</b>	<b>274</b>	<b>8520</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Ain Tedeles	130	9100	40	480
o/kheir	40	1600	14	168
sour	100	6000	10	120

<b>Sidi Belattar</b>	<b>10</b>	<b>600</b>	<b>60</b>	<b>840</b>
<b>S/Total</b>	<b>280</b>	<b>17300</b>	<b>124</b>	<b>1608</b>
<b>Mesra</b>	<b>120</b>	<b>5810</b>	<b>/</b>	<b>/</b>
<b>a/s cherif</b>	<b>90</b>	<b>3500</b>	<b>/</b>	<b>/</b>
<b>touahria</b>	<b>50</b>	<b>2500</b>	<b>/</b>	<b>/</b>
<b>mansourah</b>	<b>70</b>	<b>3500</b>	<b>/</b>	<b>/</b>
<b>S/Total</b>	<b>330</b>	<b>15310</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Bouguirat</b>	<b>40</b>	<b>1600</b>	<b>70</b>	<b>2100</b>
<b>Sirat</b>	<b>30</b>	<b>900</b>	<b>40</b>	<b>1200</b>
<b>Souaflia</b>	<b>40</b>	<b>1200</b>	<b>30</b>	<b>900</b>
<b>Saf Saf</b>	<b>40</b>	<b>1200</b>	<b>80</b>	<b>2400</b>
<b>S/Total</b>	<b>150</b>	<b>4900</b>	<b>220</b>	<b>6600</b>
<b>H.Maméche</b>	<b>180</b>	<b>9000</b>	<b>900</b>	
<b>Mazagran</b>	<b>90</b>	<b>2700</b>		
<b>Stidia</b>	<b>200</b>	<b>7000</b>	<b>785</b>	<b>11785</b>
<b>S/Total</b>	<b>470</b>	<b>18700</b>	<b>1685</b>	<b>11785</b>
<b>Ain Nouissy</b>	<b>50</b>	<b>1750</b>	<b>0</b>	
<b>El Haciane</b>	<b>30</b>	<b>1050</b>	<b>0</b>	
<b>Fornaka</b>	<b>36</b>	<b>1225</b>		
<b>S/Total</b>	<b>116</b>	<b>4025</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>TOTAL WILAYA</b>	<b>2136</b>	<b>90845</b>	<b>2607</b>	<b>25652</b>

### 3. Taxonomie

#### 3.1. Nom communs dans différents pays

*Fr.* : petit pois, pois de jardins ; *Ar.* : البازلاء; *Ang* : garden pea, pea ; *Dan.* : haveært, marvært, skalært ; *Ger.* : Gartenerbse, Speiseerbse ; *Ital.* : pisello da orto ; *Sp.* : arveja, guisante ; *Port.* : Ervilha ; *Turk.* : yemeklik bezelye ; (Brink *et al.*, 2006).

Nom vernaculaire : Djalbane.

### 3.2. Sa classification

**Tableau 3** : Classification du petit pois (USDA, 2008).

<b>Règne:</b>	Plantae (plantes)
<b>Sous Règne :</b>	Tracheobionta (plantes vasculaires).
<b>Embranchement :</b>	Spermatophyta (plantes à graines).
<b>Sous Embranchement :</b>	Magnoliophyta (Angiospermes, Phanérogames ou plantes à fleurs)
<b>Classe :</b>	Magnoliopsida (Dicotylédones)
<b>Sous Classe :</b>	Rosidae
<b>Ordre :</b>	Fabales
<b>Famille :</b>	Fabaceae (Fabacées, papilionacées ou légumineuses)
<b>Genre :</b>	<i>Pisum</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Pisum sativum</i> L.

## 4. Caractéristiques botaniques (Fig.1)

### 4.1. Feuilles

Les feuilles normales sont composées pennées. Mais de nombreuses variations sont apparues, indépendantes les unes des autres. Elles peuvent être combinées. Certaines d'entre elles, particulièrement la variation *afila*, présentent un grand intérêt agronomique (Nyabyenda, 2005 ; Pitrat et Foury, 2015).

### 4.2. Tige

La tige creuse et cylindrique présente une croissance indéterminée. L'apex de la tige principale différencie des nœuds alternes successifs. Les premiers formés sont végétatifs et peuvent donner naissance à des ramifications, puis à partir d'un nœud donné caractéristique de la variété, ils deviennent reproducteurs. Des fleurs, puis des gousses contenant plus ou moins de graines, se développent à partir de chaque nœud reproducteur. Les formes grimpantes de pois, à l'inverse de celle des haricots à rame, ne sont pas volubiles. Elles s'accrochent à des vrilles (Nyabyenda, 2005 ; Pitrat et Foury, 2015).

### 4.3. Fleur

Les fleurs isolées ou groupées par deux ou trois au niveau d'un nœud, apparaissent en fonction de la précocité, dès le septième nœud pour les variétés les plus précoces et au vingtième pour les plus tardives, les nœuds étant comptés à partir des cotylédons. Ce caractère génétique est aussi influencé par le milieu. Il peut même varier d'une plante à l'autre au sein d'une même lignée, ce qui rend parfois délicate l'inscription variétale (**Nyabyenda, 2005 ; Pitrat et Foury, 2015**).

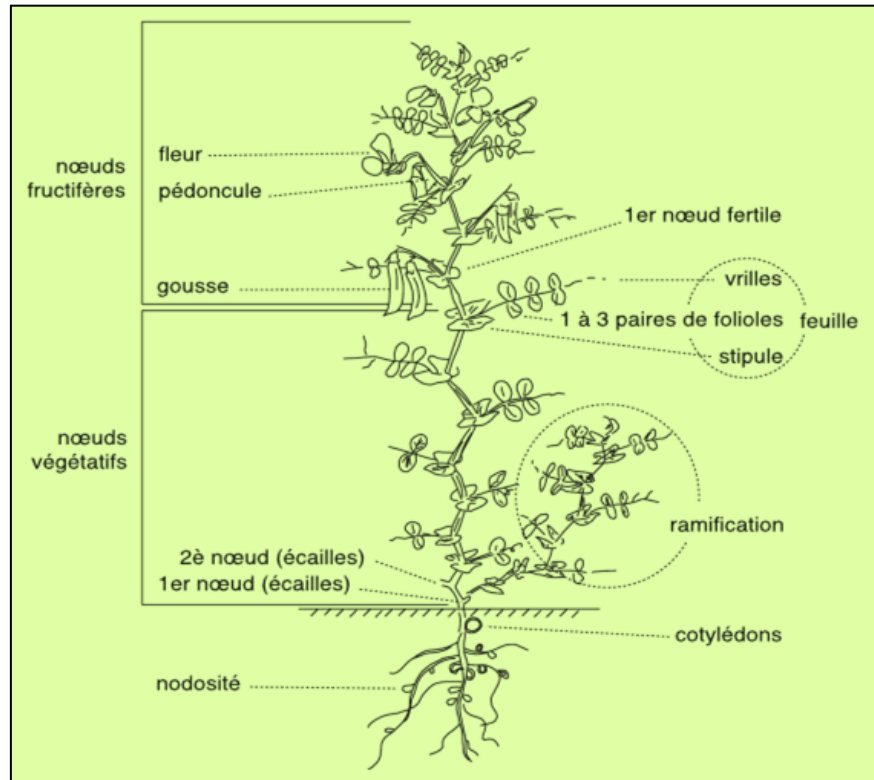
La fleur typique des fabacées, ne s'ouvre pas (cléistogamie). Le pois doit donc considéré comme une espèce strictement autogame, bien que quelques insectes Hyménoptères (Hylocopes et Mégachiles) puissent être responsables des rares hybridations naturelles. Toutes les variétés sont hybrides, il faudrait trouver des mutants à fleurs ouvertes, une source de stérilité-mâle ainsi qu'un transporteur de pollen efficace. La production de semences artificielles pourrait également être envisagée, après micropropagation de graines hybrides. Mais devant la complexité de ces techniques et la rentabilité qui reste à démontrer des lignées pures restent encore présentes pendant longtemps (**Pitrat et Foury, 2015**).

### 4.4. Fruits

Les fruits sont des gousses (ou cosses), ordinairement de couleur verte, mais il existe des variétés à gousses jaunes ou violette. Elles sont droites ou légèrement courbées à deux valves et d'une longueur de 4,5 à 8 cm. Les gousses contiennent en moyenne 2 à 5 graines. Les graines de couleur verte, jaune ou brune, sont souvent tachetées de couleur violette. Elles sont globulaires, lisse ou ridées et pourvues d'un petit hile elliptique qui contient des cotylédons jaunes (**Nyabyenda, 2005 ; Pitrat et Foury, 2015**).

### 4.5. Système racinaire

Le petit pois forme une racine principale pivotante développée et des racines secondaires latérales. Des nodules globulaires fixateurs de l'azote de l'air peuvent se développer sur la racine principale des jeunes plants (**Nyabyenda, 2005 ; Pitrat et Foury, 2015**).



**Fig.1** : structure d'une plante de petit pois (Boyeldieu, 1991).

## 5. Exigences écologiques, climatiques et agronomiques de la plante

Le pois est une culture maraîchère utilisée à la fois pour le produit frais et pour les pois secs. Il a besoin d'un climat relativement frais.

### 5.1. Température

Le pois est une culture de climat frais avec une température journalière moyenne optimale de 17°C, un minimum de 10°C et un maximum de 23°C. La germination est influencée par la température du sol, à 5°C, la germination prend 30 jours ou plus, à 10°C 14 jours environ et de 20 à 30°C 6 jours environs. Les jeunes plants peuvent tolérer un gel léger qui, par contre, endommage les fleurs et les cosses vertes. Sous les tropiques, près de l'équateur, on cultive le pois à environ 1 500m d'altitude, ou en culture d'hiver dans les régions éloignées de l'équateur. Le cycle végétatif normal est de 65 à 100 jours pour les pois frais, et de 20 jours de plus pour les pois secs, sous climats frais, il est plus long (Doorenbos et Kassam 1987) (Tableau 4).

**Tableau 4 : les périodes de croissance du petit pois (Doorenbos et Kassam 1987).**

N° de période	période	Temps (en jour)	
		Pois frais	Pois sec
0	Installation	10 – 25	10 – 25
1	Végétation	25 – 30	25 – 30
2	Floraison (y compris la formation des gousses)	15 – 20	15 – 20
3	Formation du produit (développement et remplissage des gousses)	15 – 20	20 – 25
4	Mûrissement	0 – 5	15 – 20
		65 – 100	85 – 120

## 5.2. Sol

Les pois viennent bien sur la plupart des sols ayant un bon drainage et un pH de 5,5 à 6,5. Les besoins d'engrais sont d'environ 20 à 40 kg/ha de N, 40 à 60kg/ha de P et 80 à 160 kg/ha de K. ils ont la possibilité de fixer l'azote de l'atmosphère, qui satisfait leurs besoins pour des rendements élevés. Néanmoins, une dose de départ de 20 à 40kg/ha de N est bénéfique pour un bon début de croissance (**Doorenbos et Kassam 1987**).

Le pois craint la salinité du sol ; les baisses de rendement pour différents niveaux de ECe sont semblables à celles du haricot, soit 0 % quand ECe égale 1,0 ; 10% à 1,5 ; 25% à 2,3 ; 50% à 100 à 3,6 et 100 % quand ECe égale 6,5 mmhos/cm (**Doorenbos et Kassam 1987**).

## 5.3. Besoin d'eau

Les besoins d'eau (ETm) du pois sont analogues à ceux du haricot (350 à 500mm). Le coefficient cultural (Kc) qui met en rapport l'évapotranspiration maximum (ETm) et l'évapotranspiration de référence (ETo) et le suivant : 0,4 pendant la période initiale (10 à 25 jours) ; 0,7 – 0,8 pendant le stade de développement (25 à 30 jours) ; 1,05 – 1,2 pendant le stade intermédiaire (25 à 30 jours) ; 1,0 – 1,15 pendant le dernier stade (5 à 10 jours) pour le pois frais et 0,65 – 0,75 (20 à 30 jours) pour le pois sec, enfin 0,95 – 1,1 à la récolte (pois frais) et 0,25 – 0,3 (pois sec) (**Doorenbos et Kassam 1987**).

#### 5.4. Apport d'eau et rendement de la culture

Les périodes sensibles en ce qui concerne les déficits hydriques sont la floraison (2) et la formation du produit (3). Un apport d'eau non limité pendant la période végétative (1) stimule la croissance végétative mais n'influe pas nécessairement sur le rendement en pois ; un déficit d'eau pendant cette période influe relativement peu sur le rendement. De même, un déficit hydrique pendant la période de mûrissement des pois secs a un effet minime sur le rendement (**Doorenbos et Kassam 1987**).

Quand les précipitations sont insuffisantes, des arrosages effectués pendant la période de floraison (2) augmentent le nombre des gousses commercialisées et le nombre de grains par gousse ; pendant la période de formation du produit (3), ils augmentent le poids tant des gousses que des grains. La culture a tendance à se flétrir plus facilement en période de pénurie d'eau si elle n'en a eu suffisamment pendant les périodes précédentes (**Doorenbos et Kassam 1987**).

Pour obtenir des rendements élevés, il faut que le tarissement de l'eau du sol ne dépasse pas 60% du total de l'eau disponible pendant la période végétative (1), 40% pendant les périodes de floraison (2) et formation du produit (3). Des arrosages trop fréquents et trop légers donnent un mûrissement inégal. Quand la récolte se fait en une seule cueillette, il est parfois recommandé de suspendre l'apport d'eau pendant la dernière partie de la période de formation du produit (3) pour accélérer le mûrissement des gousses les plus développées. Cela s'applique en particulier aux variétés qui ont une période de mûrissement prolongée et non uniforme (**Doorenbos et Kassam 1987**).

Quand les disponibilités en eau sont limitées, on obtient une production totale élevée en satisfaisant complètement les besoins d'eau de la culture sur une superficie limitée plutôt qu'en étendant la superficie et en satisfaisant particulièrement les besoins (**Doorenbos et Kassam 1987**).

#### 5.5. Absorption de l'eau

Le pois a une racine pivotante et de nombreuses racines latérales fines. La profondeur d'enracinement dans les sols profonds peut aller jusqu'à 1 à 1,5m, mais la profondeur efficace d'absorption de l'eau se limite généralement aux 60 à 100 premiers centimètres ( $D = 0,6 - 1,0m$ ). Le schéma d'absorption sur l'épaisseur du sol dépend beaucoup néanmoins des pratiques d'irrigation. L'absorption de l'eau en relation avec  $ET_m$  est peu influencée par

tarissement de l'eau du sol allant jusqu'à environ 40% du total disponible ( $p = 0,4$ ) (Doorenbos et Kassam 1987).

### 5.6. Programmation des irrigations

Le tarissement de l'eau du sol correspondant aux rendements optimaux ne doit pas dépasser sous la plupart des climats 40% du total de l'eau disponible, ce qui donne général des fréquences d'irrigation de 7 à 10 jours. Quand l'eau est rare, l'irrigation doit être suffisante pendant les périodes de floraison (2) et de formation du produit (3), des économies étant possibles pendant les périodes de végétative (1) et de mûrissement (4). Quand il n'est pas possible d'arroser fréquemment, l'apport d'eau doit être programmé comme suit : une pré-irrigation, arrosage à la floraison (2) et au moment de la formation du produit (3) respectivement, ou une seule irrigation environs 40 à 60 jours au moins après la pré-irrigation (Doorenbos et Kassam 1987).

### 5.7. Rendement et qualité

Quand les arrosages sont irréguliers, les gousses et les graines sont de calibre moins uniforme, leur couleur varie davantage, de même que la date à laquelle elles arrivent à maturité. Un fort déficit hydrique vers la fin de la formation du produit donne des graines coriaces, de médiocre qualité. En général, une augmentation de la dimension des pois s'accompagne d'une diminution de leur teneur en sucre, de leur tendreté et d'un accroissement des teneurs en amidon et protéines. Pour obtenir un produit de bonne qualité, il est essentiel de fixer correctement la date de la récolte. Sous des climats favorables, les bons rendements sous irrigation sont de 2 à 3 tonnes /ha de pois frais décortiqués (70 à 80 % d'humidité) et de 0,6 et 0,8 t/ha pois secs (12% d'humidité). L'efficacité de la consommation d'eau par rapport au rendement récolte (Ey) est d'environ 0,5 à 0,7 kg/m<sup>3</sup> pour les pois frais et d'environ 0,15 à 0,20 kg/m<sup>3</sup> pour les pois secs (Doorenbos et Kassam 1987).

## 6. Valeur nutritionnel

Les graines mures entières et sèches de pois contiennent, par 100g de partie comestible : eau 13,3g, énergie 1269kJ (303Kcal), protéines 21,6g, lipides 2,4g, glucides 52,0g (amidon 47,6g), fibres 15,0g, Ca 61mg, Mg 120mg, P300mg, Fe 4,7mg, Zn 3,7mg, carotène 245µg, thiamine 0,6mg, riboflavine 0,3mg, niacine 3,0mg, vitamine B6 0,13mg, traces d'acides ascorbique (Holland *et al.*, 1991 in Brink *et al.*, 2006).

La teneur en acides aminés essentiels, par 100g d'aliment, est Tryptophane 210mg, lysine 1620mg, méthionine 210mg, phénylalanine 1000mg thréonine 860 mg, valine 1000mg, leucine 1480 mg, et isoleucine 930mg (**Paul et al., 1980 in Brink et al., 2006**).

La composition des pois ridés est différente de celle des pois lisses ; ils ont moins d'amidon (27-37g) et plus de lipides (5g) et de sucres. Les facteurs antinutritionnels dans les pois comprennent des inhibiteurs de trypsine, des hémagglutinines (lectines), des tanins, des oligosaccharides et des phytates. Les cultivars à tégument de couleur foncée contiennent plus des tanins, ce qui diminue leur digestibilité (**Holland et al., 1991 in Brink et al., 2006**).

Les graines de petits pois écosées (déchets 63%) contiennent à l'état cru par 100 g de partie comestible : eau 74,6 g, énergie 348 KJ (83 Kcal), protéines 6,9 g, lipides 1,5 g, glucide 11,3 g (amidon 7,0 g), fibres 4,7 g, Ca 21 mg, Mg 34 mg, P 130 µg, Fe 2,8 mg, Zn 1,1 mg, carotène 300 µg, thiamine 0,75 mg, riboflavine 0,02 mg, niacine 2,5 mg, folates 62 µg, acide ascorbique 24 mg (**Holland et al., 1991 in Brink et al., 2006**).

Les gousses de pois mangetouts crues, extrémités parées (déchets 8%), contiennent par 100 g de partie comestible : eau 88,7 g, énergie 134 KJ (32 Kcal), protéines 3,6 g, lipides 0,2 g, glucides 4,2 g (amidon 0,8 g), fibres 4,2 g, Ca 44 mg, Mg 28 mg, P 62 mg, Fe 0,8 mg, Zn 0,5 mg, carotène 695 µg, thiamine 0,2 mg, riboflavine 0,15 mg niacine 0,6 mg, folates 10 µg, acide ascorbique 54 mg (**Holland et al., 1991 in Brink et al., 2006**).

## 7. Problèmes phytosanitaire

Les principales maladies et ravageurs affectant le petit pois, ont résumées dans le **Tableau 5** et **Tableau 6**.

**Tableau 5 : les principales maladies du petit pois (Messaien *et al.*, 1991 ; Chauv et Foury, 1994 ; Brink et Belay, 2006).**

Maladie	Agent causal	Symptômes	lutte
<b>Fusariose</b>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i> <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>pisi</i>	Fonte de semis Nécrose racinaire à la base des tiges	Variétés résistantes et traitement de semences.
<b>Mildiou</b>	<i>Peronospora pisi</i>	Sur les jeunes plantules se manifestent de façon systémique : des plantes naines et déformées, recouvertes sur tous leurs organes des fructifications gris-bleuâtre du mildiou. Les infections plus tardives peuvent aussi se développer de façon systémique, sur une plus ou moins grande hauteur suivant l'évolution des températures. Pus tardivement, les infections se localisent à l'aisselle des stipules ou en taches localisées sur folioles. Les gousses peuvent être gravement attaquées.	Suspensions des premiers foyers (plantules contaminées). Traitement des semences avec des anti- mildious : combinaison « oxadydil + cymoxanyl + manèbe » (6,25/kg de semences d'un produit à 8-3,2-56%). Utilisation des variétés résistantes.
<b>Oïdium</b>	<i>Erysiphe polygoni</i> f. sp. <i>pisi</i>	Provoque le dessèchement prématuré du feuillage, un échaudage des pois secs, ou la perte des dernières récoltes de pois grimpants : il attaque tous les organes, tiges, stipules, feuilles et gousses.	Utilisation des variétés résistante. Utilisation de l'anti-oïdium.
<b>Rouille</b>	<i>Uromyces pisi</i> <i>Uromyces viciae craccaae</i> <i>Uromyces viciae fabae</i>	Des pustules (sores) pulvérulentes de couleur brun-roux à noir apparaissent sur la face inférieure des feuilles et sur les tiges.	Appliquer une triazole en respectant le délai avant récolte.
<b>Anthracosés</b>	<i>Ascochyta pinodes</i>	Petites ponctuations noires pouvant s'agrandir et se rejoindre pour former de larges taches foncées. Attaques fréquentes à la base des tiges (nécroses noirâtres).	Semences saines. Rotation de 5 ans entre deux légumineuses. Traitement de semences : il assure une protection efficace durant 6 semaines environ. A partir du stade floraison : un à deux traitements fongicides.
	<i>Ascochyta pinodella</i>	Une nécrose du collet et la présence d'un manchon brun violacé au niveau des entre nœuds inférieurs de la tige des jeunes plantes. En cours de végétation, apparaissent sur feuilles et tiges, des taches de couleur brun clair. Sur les gousses et les graines, les taches sont délimitées de couleur marron rougeâtre, en dépression sur l'épiderme de la gousse. Les grains contaminés présentent des taches sombres.	
	<i>Ascochyta pisi</i>	Lésion beiges à bordures foncées, avec au centre, de nombreuses ponctuation noires (pycnides).	

<b>Pourriture grise</b>	<i>Botrytis cinerea</i>	Une pourriture grise apparait sous forme de taches sur les feuilles, les tiges et les gousses.	Eviter les excès de végétation en limitant la fourniture d'azote par le sol (fumure organique). Préférer les variétés à port léger et dressé. Eviter des peuplements trop denses (semis de précision). Soigner le désherbage. Protection fongicides préventive dès la floraison en alternat les matières actives pour éviter l'apparition de souches résistantes.
<b>Graisse bactérienne</b>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lisi</i>	Des taches huileuses sur les organes aériens, qui s'agrandissent en éventail et prennent une couleur brun clair sur les feuilles, et forment des taches brunes sur les gousses.	Semences saines (élimination des lots infectés par le test ELISA). Pas de moyen de lutte chimique, hormis les traitements cupriques appliqués en préventif (si gel ou grêle) ou dès l'apparition des premiers symptômes.
<b>Viroses</b>	Jaunisse apicale du pois (PTYV)	Jaunissement de la partie supérieure des plantes. Feuilles petites, érigées et cassantes.	Contrôle efficace et rapide des populations de pucerons, vecteurs de la maladie. Test ELISA permettant d'identifier le <i>Pea Seed-borne Mosaic Virus</i> sur les semences. La résistance génétique existe pour la mosaïque commune et la mosaïque énation mais elle est peu développée.
	Mosaïque commune du pois (PCMV)	Symptômes variables selon la race de virus et la variété de pois. Typiquement : mosaïque avec plage vertes et jaunes. Eclaircissement des nervures des feuilles et stipules. Réduction de la taille des plantes touchées.	
	Mosaïque énation (PEMV)	Eclaircissement des nervures et taches translucides. Déformation des tiges, feuilles et gousses. Rabougrissement des extrémités de tiges. Excroissances irrégulières (appelées énation).	
	Pea Seed-borne Mosaic Virus (PSbMV)	Peu visible sur les plantes: légère chlorose, bord des feuilles enroulé, faible mosaïque parfois. Retard de maturité.	
	Clover Yellow Vein Virus (CYVV)	Nécrose des tiges, feuilles, stipules et gousses qui peuvent se généraliser à toute la plante. Aplatissement des gousses et avortements.	

**Tableau 6 : les principaux ravageurs du petit pois (Chaux et Foury, 1994 ; Coutin, 2004).**

Maladie	Type de ravageurs	Symptômes	lutte
<b>Limaces grise et noire</b>	<i>Deroceras reticulatum</i> <i>Arion hortensis</i>	Les attaques très précoces, sur les graines en germination ou les plantules, peuvent conduire à d'importantes pertes de peuplements. Par la suite les feuilles basses des basses des plantes attaquées présentent des limbes lacérés, avec des traces de mucus.	Des façons superficielles répétées à l'interculture permettent de réduire le stock d'œufs de granulés anti-limaces. Le piège permet de connaître le niveau d'infestation et l'évolution des populations d'une parcelle. Le risque est fort au-delà de 12 limaces/m <sup>2</sup>
<b>Puceron vert du pois</b>	<i>Acyrtosiphon pisum</i>	Leurs piqures des feuilles et stipules provoquent un affaiblissement des tiges piquées, couleurs de fleurs et avortement de gousses, déformations de gousses.	Les nombre ennemis naturels des pucerons (syrphes, coccinelles, champignons pathogènes...) permettent de limiter les faibles colonisations (quelques individus par plante). Les traitements avec des aphicides stricts se justifient en cas de pullulations (30 pucerons/tige ou plus) ou si la transmission de virus est suspectée.
<b>Cécidomyie</b>	<i>Contarinia pisi</i>	Ce ravageur est un diptère se développent dans les fleurs et injectent une substance toxique qui entraîne la formation de « galls ». les boutons floraux gonflent, se dessèchent et avortent	Eviter de semer des pois à proximité de parcelles fortement infestées au cours des 2 années précédentes locaux, et les compléter par l'observation dans les parcelles au stade boutons floraux. On parvient à voir les femelles en pinçant les boutons verts encore enserrés dans les stipules puis en les ouvrants doucement. L'idéal est d'inspecter 5 fois 5 plantes à suivre en bordure de parcelle. La lutte insecticides vise les adultes avant qu'ils ne pondent : dès le début du vol en fin de journée, avec un volume de bouillie important. Renouveler éventuellement la protection si le vol se prolonge.
<b>Sitone</b>	<i>Sitona lineatus</i>	C'est un petit coléoptère qui dévore le limbe des feuilles en faisant des encoches semi-circulaires sur le bord et dont la larve ronge les racines et les	La meilleure protection passe par le traitement des semences lorsqu'il existe. Les traitements insecticides en

		nodosités, affaiblissant ainsi les plantes.	végétation sont moins efficaces et ne contrôlent pas les larves responsables des principaux dégâts (seuil d'intervention = 5 encoches /plante.
<b>Thrips du pois et le thrips du lin et des céréales</b>	<i>Frankliniella robusta</i> et <i>Thrips angusticeps</i>	Ce sont des minuscules insectes piqueurs (taille de 1mm) qui attaquent les fleurs et les gousses et dont les larves se développent dans les gousses. Elles provoquent dessèchement et rabouissement des plantes.	La lutte la plus efficace passe par le traitement de semences.
<b>Tordeuse</b>	<i>Cydia nigricana</i>	Se manifeste par sa chenille jaunâtre à tête noire d'environ 15mm et qui vit dans les grains rendant les pois véreux et peut en dévorer plusieurs successivement.	Se référer aux avertissements locaux, réalisés grâce à des réseaux de piégeage. Traitement avec une pyrèthrinoides à la dose d'usage tordeuse, à réaliser tard le soir ou tôt le matin avec un fort volume de bouillie. Viser la chenille baladeuse.

## 1. Généralité sur l'antracnose

Les organes aériens du pois (*Pisum sativum* L.) sont fréquemment maculés de nécroses brunes résultant de l'action d'un ou plusieurs champignons *Ascochyta pisi* Lib., *Ascochyta pinodes* Jones (teleomorph *Mycoshaerella pinodes* (**Berk. & Bloxm.**) Vesterg.) et *Phoma medicaginis* var. *pinodella* (Jones).

Il est commode de qualifier d'antracnose l'ensemble de ces maladies apparentées. Cependant, les auteurs anglo-saxons réservent ce terme à la maladie causé par *Colletotrichum pisi* puis **Walker (1952)** considère les trois *Ascochyta* équivalent à *Ascochyta blight* (maladie causée par les champignons appartenant au genre *Ascochyta* ; donc produisant leurs conidies dans des pycnides). Pour sa part, **Wallen (1965)** envisage un *Ascochyta* complex on peas. Compte tenu de la similitude entre ces trois champignons les auteurs de langue française ont dénommé sous un terme commun (Antracnose), les maladies se manifestant de la même manière, sans tenir compte du genre de l'agent pathogène responsables.

## 2. Historique de la taxonomie

### 2.1. Historiques

Le genre *Ascochyta*, a été décrit par **Libert (1830)**, c'est un genre de champignon imparfait appartenant aux *Sphaeropsidaceae*, (signifie que les spores formées à l'intérieur de pycnides), et à la section *Hyalodidymae* Sacc, (les spores sont elliptiques, ovales ou allongées, munies d'une cloison, donc bicellulaires, hyalines ou jaune-vert) (**Corbaz, 1965**). Les fructifications se trouvent le plus souvent sur des taches nécrotiques, sur les feuilles comme sur les tiges.

**Allescher (Rabenhorst, 1901)** afin de distinguer le genre *Ascochyta* Lib. de *Diplodina* West, choisit un critère aussi simple qu'artificiel : ceux croissant sur les tiges sont appelés *Diplodina*, ceux poussant sur les feuilles *Ascochyta*. dans son « System der Fungi Imperfecti » **Von Höhnel (1923)** sépare les deux genres d'après la structure des pycnides. **Petrak (1925)** considère les 2 genres comme synonymes. Ajoutons que l'espèce type est *Ascochyta pisi* Lib. et que les spores formées par étrangulation d'une cellule du fond de la pycnide ; de ce fait il n'y a pas de conidiophores allongés et bien visible. L'extrême variabilité des pycnidiospores tant dans leur forme, dans leur teinte que dans leurs dimensions peut prêter à confusion. Quoique typiquement bicellulaires à maturité, elles sont à des stades plus

jeunes unicellulaire dans des proportions allant jusqu'à 90%. Citons à ce sujet les recherches faites par Labrousse (1931).

**Sprague et Johnson (1950)** ont discuté sur la position de ce genre dans les deutéromycètes ainsi que classification intragénétique. Ces auteurs ont fourni une première clé pour l'identification de 12 *Ascochyta* spp. Basée sur les caractéristiques de la forme, la longueur et la largeur des conidies (**Mel'nik et al ., 2000**).

## 2.2. Taxonomie

La systématique des espèces du complexe *Ascochyta sp.* agent de la maladie de l'antracnose et la suite :

**Tableau 7:** classification d'*Ascochyta*

<b>Division :</b>	<i>Eumycota</i>
<b>Subdivision :</b>	<i>Deutéromycota</i>
<b>Classe :</b>	<i>Ceolomycetes</i>
<b>Ordre :</b>	<i>Sphaeropsidales</i>
<b>famille</b>	<i>Sphaeropsidaceae</i>
<b>Genre :</b>	<i>Ascochyta</i>
<b>Espèces :</b>	<i>A.pisi, A.pinodes, A.pinodella.</i>

## 3. Caractérisation de l'antracnose

L'appartenance des trois espèces au genre *Ascochyta* et leur action en complexe parasite rendent difficile leur caractérisation (**Simon, 1986**). Malgré leurs similitudes sur plusieurs points, ils sont caractérisés par une grande variabilité interspécifique qui peut être révélée par l'étude des caractères cultureux classiques (morphologie des conidies, pigmentation des cirrhes, présence de périthèces) (**Bonpeix et Coleno, 1984**). L'identification des espèces responsables d'Ascochytes sur pois est fréquemment réalisée à partir de la description de la forme et de la taille des spores. Ces critères complétés par l'inoculation de la plante hôte suffisent généralement pour s'assurer de la détermination de telle ou telle espèce. Cependant, il reste 10% à 20% souches qui restent difficilement identifiables ; pour cela un certain nombre de méthodes biochimiques et/ou moléculaires ont été adaptées à la caractérisation des agents d'antracnose sur pois (**Tivoli et al., 1997**).

➤ **Variabilité morphologique**

Les trois espèces responsables de l'antracnose du pois (*A. pisi*, *A. pinodes* et *A. pinodella*) se différencient par les symptômes qu'elles provoquent sur le pois et par certaines caractéristiques morphologiques concernant la taille et la forme des pycniospores (**Maufras, 1996**).

Du point de vue symptomatologique **Allard et al. (1993)** ont proposé une clé de détermination de trois agents basée sur la présence des pycnides.

Mais dans le cas de l'absence normale de pycnides sur les nécroses du pied, il devient impossible d'obtenir une certitude, l'identification d'une association *A. pinodes* et *A. pinodella* repose alors sur les caractéristiques du thalle observées en culture artificielle « *in vitro* ».

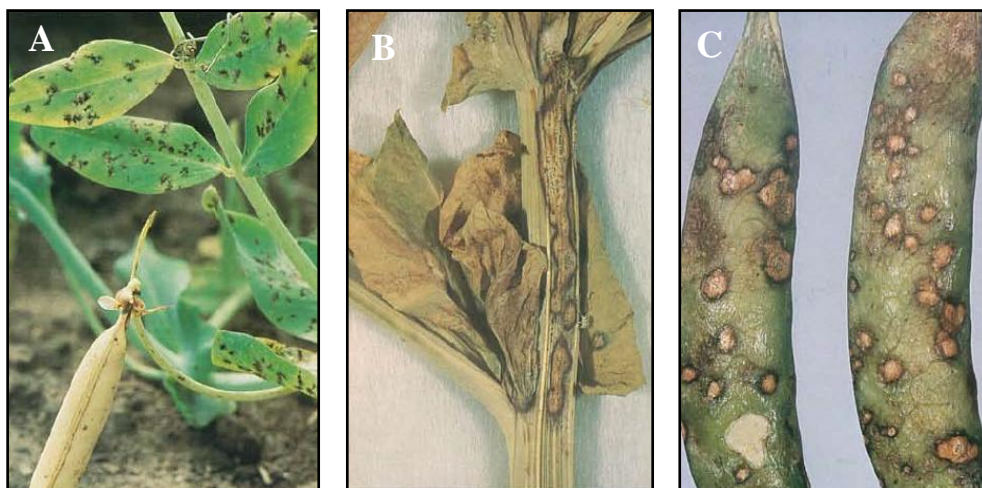
La vitesse de croissance et leur aptitude à la fructification constituent des critères faibles de caractérisation « *in vitro* ». Les trois parasites manifestent des caractères stables qui permettant leur distinction, ces derniers sont présentés dans le **Tableau 8**

**Tableau 8:** Caractérisation morphologiques sur milieu de culture des espèces d'*Ascochyta sp.* (Allard *et al.*, 1993 ; Maufra, 1996).

Caractères	Espèces		
	<i>Ascochyta pinodella</i>	<i>Ascochyta pisi</i>	<i>Ascochyta pinodes</i>
Température optimale	24-28°C	20-24°C	24-28°C
Cirrhés	Peu colorés d'apparence fluide	Rose en apparence pâteux	Peu colorés d'apparence fluide
Forme spéciale	<i>Phoma medicaginis</i>	<i>Ascochyta pisi</i>	<i>Mycosphaerella pinodes</i>
Forme des pycnides	Rassemblées autour de l'explant	Dispersées dans les colonies	Ont tendance à se former en lignes radiales
ostiole	Brun et parfaitement visible	Pas coloré difficilement discernable	Brun et parfaitement visible
Aspect des colonies mycéliennes	Peu étendues coalescentes et brune verdâtre divisées en secteurs plus timentés	Ce sont les moins étendues, mycélium coloré fin érigé	Les plus étendue, mycélium non érigé rampant, teinte chamois plus foncée en vieillissant
pycniospores	Deux types : unicellulaires et bicellulaires (3×6-10 µm)	Bicellulaires 4-7×10-16 µm en majorités.	Hyalines bicellulaires (3-5-6 × 10-6 µm)
chlamydospores	Production abondante de chlamydospores	Pas de chlamydospores	Présence de chlamydospores brunes solitaires ou en chaîne ; existence d'asques murs après 25-30 jours de cultures à 16°C

## 4. Symptomatologie

Les symptômes varient en fonction de l'agent pathogène en cause. Les trois parasites infectent les gousses et les graines s'ils pénètrent à l'intérieur; c'est ainsi que le ou les agents pathogènes sont disséminés sur de grandes distances. La tige des plantules issues de graines infectées est noire, de la ligne de terre jusqu'à 5 à 15 cm de hauteur. Les plantules peuvent mourir, mais plus fréquemment elles survivent et demeurent rachitiques (**Fig.2**).



**Fig.2:** Les symptômes de l'antracnose ;(A) : sur les feuilles ; (B) : sur la tige ; (C) : sur les gousses (**Anonyme**).

### 4.1. Symptômes d'*Ascochyta pisi*

Les infections primaires peuvent entraîner une réduction du peuplement. Cette espèce semble toutefois moins dommageable que les deux autres.

#### ➤ Sur les folioles, stipules et vrille

La maladie se manifeste par des nécroses non coalescentes, qui sont circulaires et moins décolorées. Au centre on observe la présence caractéristique de pycnides sur la partie centrale de la macule, l'ensemble de la nécrose est délimité par un liseré de couleur brun foncé.

#### ➤ Sur les tiges

Les symptômes sont identiques à ceux observés sur les feuilles, cependant ils sont beaucoup plus graves puisqu'ils peuvent entraîner un point de cassure au niveau de la tige.

#### ➤ Sur les gousses

On distingue comme pour les feuilles de petites taches circulaires de couleur brun ocre bien délimitées à la surface des gousses (**Bouznad, 1989 ; Allard et al., 1993 ; Maufra, 1996**).

#### 4.2. Symptômes d'*Ascochyta pinodes*

L'antracnose causée par *Ascochyta pinodes* peut provoquer des symptômes sur toutes les parties aériennes de la plante de pois. Cette maladie se développe d'abord sur la tige, puis progresse au niveau des autres organes végétatifs (stipules, folioles, vrilles, fleurs et gousses). D'une manière générale, elle se manifeste surtout après la floraison du pois. Les dégâts visuels sur la végétation sont observés pendant la phase de remplissage des gousses.

##### ➤ Sur les semences

Le mycélium est localisé au niveau des cotylédons il traverse le tégument et peut atteindre l'embryon lors des contaminations profondes.

Les semences particulièrement atteintes présentent un brunissement au niveau des téguments lorsqu'elles arrivent à lever. La progression des symptômes sur les autres organes s'effectue par formation des stries brunes, qui caractérise une infection primaire au niveau de région de l'axe hypocotylé. Il semble que des traces sur la tige s'étendraient ensuite vers les écailles, puis vers la première feuille.

##### ➤ Sur les tiges

L'attaque est caractérisée par des nécroses violacées à brunes ceinturant la tige à partir de sa sur des hauteurs qui varient en fonction de l'intensité de la maladie. Des stries brunes très rapprochées peuvent également être observées sur les tiges (**Maufras, 1996**).

##### ➤ Sur folioles, stipules et vrilles

Sur les organes les plus âgés, le début de l'infection est visible à l'œil à cause de l'ensemble des ponctuations rapprochées (criblures de couleur foncée et contour irrégulier) présentes sur la surface des feuilles, plus tardivement on observe le développement de halos translucides verts à auréoles concentriques, qui correspondent à une génération de pycnides. Les plages nécrotiques s'étendent ensuite sur la totalité de la surface concentrique, puis sur la totalité de la surface de l'organe atteint avec formation de périthèces.

##### ➤ Sur les gousses

On observe deux types de symptômes caractérisés par des petites ponctuations brunes foncées à noires et des macules circulaires qui peuvent être indépendantes ou coalescentes. Les gousses attaquées donnent des graines qui peuvent être également atteintes ou seulement d'un diamètre plus petit que les graines saines (**Bouznad, 1989 ; Maufras, 1996**).

#### 4.3. Symptômes d'*Ascochyta pinodella*

Les symptômes d'*Ascochyta pinodella* sont similaires à ceux provoqués par *Ascochyta pinodes* sur la partie aérienne basse de la plante.

➤ **Sur les plantules**

*Ascochyta pinodella* occasionne de sévères pourritures au niveau des racines. Il est responsable de la disparition de jeunes plantules. A ce stade de développement c'est le parasite le plus nuisible parmi les trois responsable de l'antracnose. Pour cela, cette maladie est appelée par certains techniciens « Foot rot » cependant, c'est le terme de la maladie du « pied noir » qui est le plus couramment utilisé.

➤ **Sur les tiges**

*Ascochyta pinodella* attaque les nœuds inférieurs et provoque l'apparition de nécrose violacées.

➤ **Sur les feuilles et les gousses**

Ce parasite a la particularité de ne provoquer aucun symptôme (**Bouznad, 1989 ; Maufra, 1996**)

## 5. Cycle de la maladie

Les trois parasites peuvent être transmis par la semence. *L'A. pisi* est surtout transmis par la graine infectée; c'est un saprophyte faible qui n'a pas de stade dormant dans le sol.

Par contre, l'*A. pinodes* et le *A. pinodella* sont des saprophytes vigoureux qui colonisent les résidus de pois au-dessus et en dessous de la ligne de terre. Ils produisent des sclérotés, des chlamydospores, des pseudothèces, et l'*A. pinodes*, des pseudothèces sur les résidus de paille; ces structures survivent et sont la source de nouveaux foyers d'infection. Les ascospores sont éjectées violemment des périthèces et transportées par le vent sur un kilomètre ou plus; ainsi elles peuvent être propagées sur de grandes surfaces. Les ascospores sont libérées en conditions sèches, mais des taux élevés d'humidité tels que ceux que l'on trouve dans les couverts végétaux denses favorisent la germination des spores. Plusieurs générations de spores peuvent être produites durant une même année, à partir de feuilles malades, à des intervalles de 13 jours ou plus.

Les conidies sont expulsées d'une matrice gélatineuse et disséminées par les éclaboussures de pluie ou par les gouttelettes transportées par le vent. Des tubes germinatifs sont produits et pénètrent directement la cuticule et les parois cellulaires. Les symptômes causés par le *A. pinodes* et le *A. pinodella* apparaissent après deux à quatre jours et ceux causés par l'*A. pisi* après six à huit jours. La production de pycnides dans les jeunes lésions libère plus de conidies, ce qui favorise la propagation de la maladie en conditions humides.

## 6. Conditions environnementales

La température, les précipitations et le vent sont les facteurs environnementaux qui ont la plus grande influence sur le développement de l'antracnose.

L'infection des plants se fait à une température  $>4^{\circ}\text{C}$ , et une humidité  $> 90\%$ . Le développement de la maladie est observé des précipitations abondantes et des températures de  $20 - 25^{\circ}\text{C}$ . Le développement de la maladie se ralentit suite à une alternance de temps humide et sec, et il s'arrête complètement à une température supérieure à  $35^{\circ}\text{C}$ . L'évolution de l'antracnose causé par *A. pisi* dépend plus de la quantité des précipitations, la croissance optimale de ce parasite se situe respectivement entre  $20 - 24^{\circ}\text{C}$ . la genèse des pycnides est plus importante à la lumière est stimulée par le transfert des cultures de  $24^{\circ}\text{C}$  à  $4 - 8^{\circ}\text{C}$ , pendant un minimum de cinq (5) jours (Allard et al., 1993).

## 7. Mécanismes de défense de l'hôte

La réponse d'une plante à l'agression par un micro-organisme fait intervenir le métabolisme de l'hôte. La fixation de l'indicateur sur un récepteur de l'hôte localisé au niveau membranaire constitue un signal de reconnaissance transmis jusqu'au noyau de la cellule hôte. Ce signal est converti en un enchainement d'événements métaboliques qui traduit la réponse de l'hôte. L'induction des mécanismes de réponse a été obtenue expérimentalement à l'aide de composés isolés de parois cellulaire, filtrats de culture, cytoplasme de micro-organismes (Allards et al., 1993).

Les réponses de défense les mieux connues sont celles qui aboutissent à l'accumulation des phytoalexines ou à la réponse d'hypersensibilité. Des études ont démontré une accumulation de phytoalexines dans les feuilles de pois inoculés avec *A. pisi*. Les phytoalexines sont des composés antimicrobiens de faible poids moléculaire synthétisés par la plante et s'y accumulant à l'occasion d'une interaction entre cette plante et un micro-organisme. Ce type de composé apparaît à la suite de stress d'origine chimique ou physique (Rouxel, 1989).

La pisatine, principale phytoalexine du pois, appartient au groupe des isoflavonoïdes et fut isolée par Cruickshank et Perrin (1960, 1961). Cruickshank (1962) montre qu'*A. pisi* est plus tolérant à la pisatine qu'un ensemble de champignons non parasite du pois. L'endocarpe du pois infecté par *A. pisi* en renfermant plus  $100\mu\text{g/ml}$  elle contribuerait à

limiter l'extension des macules provoquées par ce parasite. In vitro, cette concentration entraîne chez *A. pisi* une inhibition de 90% (Allard *et al.*, 1993).

Dans les tissus colonisés par *A. pisi* l'accumulation de la pisatine se poursuit du 1<sup>er</sup> jour au 14<sup>ème</sup> après le début de l'incubation. Au niveau de la marge brune (où, le thalle étant absent, la dégradation ne peut pas se produire), la concentration atteint 170µg/ml de tissu frais. Une telle teneur à la périphérie de la région colonisée semble suffisante pour expliquer la limitation des lésions occasionnées par ce parasite (Allards *et al.*, 1993).

## 8. Méthode de lutte contre l'antracnose

La meilleure option pour contrôler cette maladie doit intégrer différentes techniques.

### 8.1. Lutte culturale

- Les épidémies d'antracnose peuvent être limitées grâce à certaines pratiques culturales :
- Destruction rapide des fanes et des résidus de récolte directement après la récolte.
- Utilisation des semences certifiées exemptes d'agents pathogènes, leur production s'effectue dans des régions où la maladie est absente (généralement parce que les conditions climatiques lui sont défavorables), dans les parcelles éloignée des autres cultures de pois et sous surveillance phytosanitaire.
- L'échelonnement des semis doit être évité et la récolte effectuée dès maturité des grains.
- Sélection du pois résistant aux anthracoses à fin de prévenir la transmission par les semences et assurer une protection des semis en présence d'inoculum tellurique ; la méthode la plus efficace réside dans la création des cultivars durablement résistant au moins lors des premiers stades phénologiques.
- Certaines pratiques culturales peuvent être renforcées par l'utilisation de mélanges variétaux. Des études réalisées sur l'antracnose sur haricot, ont montré qu'un mélange variétal comprenant 25 à 50% de cultivars résistants permettrait de réduire significativement l'indice d'une épidémie causée par une seule race fongique (Ntahimpera *et al.*, 1996). Des résultats similaires ont été obtenus en Afrique de l'Est où les mélanges variétaux sont couramment pratiqués (Mwalyego, 1992). Le recours à la rotation avec d'autres cultures notamment les céréales pourrait réduire les résidus de culture, ce qui aura pour impact une réduction de l'inoculum primaire.

### 8.2. Lutte chimique

La lutte chimique est actuellement systématique et préventive.

### 8.2.1. Traitement des semences :

Bien que les attaques d'antracnose ne soient pas fréquentes tous les ans et sur l'ensemble des semences, la protection des graines reste un moyen efficace de réduire les fontes de semis (Tivoli et Ney, 1999 ; Seguin et Maumené, 2002 ; Seguin, 2003).

Maude et Kyle (1970,1971) réussissent l'élimination d'*A. pisi* grâce aux fongicides systémiques dérivés du benzimidazole (bénomyl, thiabendazole). En outre, ces mêmes substances réduisent l'indice des nécroses du pied provoquées par *M. pinodes* (Maude *et al.*, 1972). L'avenir de ces fongicides est toutefois remis en cause du fait du développement inquiétant de souches d'*A. pisi* et *M. pinodes* résistantes.

### 8.2.2. Traitement du petit pois en végétation

Les produits les plus performants indiqués contre l'antracnose sont le chlorofenicol seul (ou les associations à base de cette même matière active) et le flutriafol. Du fait de l'absence de modèle de prévision de la maladie, la stratégie conseillée contre cette maladie reste l'intervention préventive. Le programme de base à réaliser 2 à 3 applications du fongicide à partir du stade début de floraison (Wallen *et al.*, 1997 ; Shea *et al.*, 2000).

### 8.3. Lutte génétique

L'utilisation de variétés de pois résistantes représente le moyen à la fois le plus efficace, le plus économique et le plus respectueux de l'environnement. Le principal objectif de la lutte génétique contre l'antracnose est de créer des variétés durablement résistantes à cette maladie. Cette lutte fait introduire des gènes de résistance au niveau des plantes qu'on appellera : plante transgénique, ces gènes produisent des protéines susceptibles d'éliminer le parasite (Henni, 1998).

Chez le petit pois, plusieurs sources de résistances sont connues et étudiées depuis des années mais elles n'ont pas encore permis l'obtention de cultivars totalement résistants à l'antracnose. Raison pour laquelle, la majorité des cultivars actuellement sur le marché demeurent sensibles et dans les meilleurs des cas munis de résistance partielle (Clulow *et al.*, 1992 ; Nassir et Hoppe, 1991 ; Cousin *et al.*, 1993).

## 1. Introduction

La lutte biologique exploite les mécanismes de régulation naturelle des populations. Cette régulation est le résultat d'une balance entre potentiel biotique des organismes vivants et la résistance opposée à leur développement par leur environnement. Facteurs biotiques et abiotiques se conjuguent en effet pour empêcher le développement démesuré de leurs populations. Il est cependant admis que ces facteurs naturels de régulation sont généralement insuffisants pour faire face aux situations d'épidémies. Ainsi l'intervention de l'homme s'avère nécessaire pour leur donner l'ampleur voulue (**Lepoivre et Semal, 1988 ; Corbaz, 1990**).

La protection conférée par un agent biologique peut être basée sur un ou plusieurs mécanismes d'action : la compétition pour les éléments nutritifs ou l'espace, le parasitisme, la production de substances toxiques pour le pathogène (antibiose) et/ou la stimulation des défenses de la plante (**Thomashow et Weller, 1996 ; Yedida et al., 1999 ; Haas et al., 2000**).

L'efficacité des agents de lutte biologique est souvent étudiée sur une seule souche de l'agent pathogène cible et éventuellement sur un stade précis du cycle de vie de l'agent pathogène. Cependant, les populations d'agents pathogènes en général, et de *B. cinerea* en particulier, présentent une forte diversité phénotypique et génétique (**Sakhr, 2009**).

Beaucoup d'études ont prouvé la bonne efficacité de certains microorganismes pour inhiber ou ralentir le développement de *B. cinerea*. Mais la plupart de ces études ont été effectuées dans des conditions contrôlées, souvent en laboratoire (**Jacobsen, 2006**). Cette 'bonne' efficacité n'est pas garantie en culture où les conditions de l'environnement sont beaucoup plus fluctuantes. Les conditions environnementales sont généralement imprévisibles et peuvent influencer la survie, la mise en place et l'activité des agents de lutte biologique (**Jacobsen, 2006**).

## 2. Généralité sur *Trichoderma*

Le terme « *Trichoderma* » a été introduit dans la mycologie en 1794 par **Persoon** (**Roussos, 1985 ; Bissett, 1991**). Il désigne des champignons microscopiques considérés durant 200 ans comme étant des «Gastéromycètes». Ces organismes cosmopolites appartiennent à un grand ensemble de champignons sans reproduction sexuée connue (**Vining, 1990 ; Genilloud et al., 1994 ; Fujita et al., 1994 ; Roquebert, 1996**).

En milieu terrestre, leur production d'enzymes, de substances bioactives et leur développement rapide font des *Trichoderma sp.* des agents potentiels en agroalimentaire et une matière de choix pour l'exploitation industrielle (Prieto *et al.*, 1997). Quelques-unes des 35 espèces établies à ce jour sont d'intérêt économique, pour leur production d'enzymes cellulolytiques et utilisés comme agents de lutte biologique en raison de leur antagonisme vis-à-vis d'autres espèces fongiques (antibiose, mycoparasitisme, compétition, lyse, promotion de la plante hôte) (Fujita *et al.*, 1994 ; Schirmböck *et al.*, 1994 ; Roquebert, 1996 ; Cooney *et al.*, 1997 ; Prieto *et al.*, 1997 ; Grondona *et al.*, 1997 ; Verbist, 2000 ; Kubicek *et al.*, 2003).

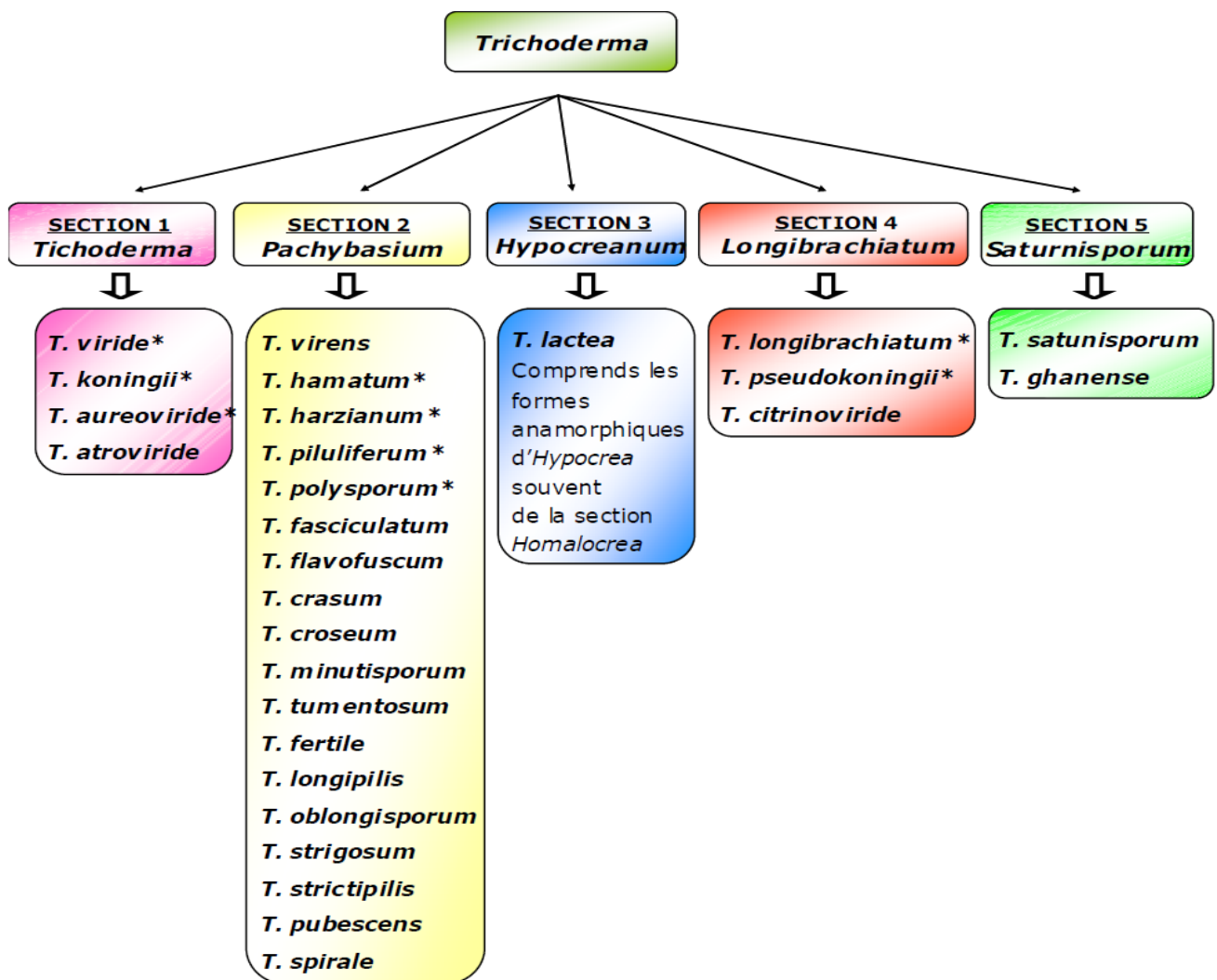
Le genre *Trichoderma* peut être responsable d'infections chez les patients immunodéprimés, bien que l'homme ne leur soit qu'un hôte accessoire (Roquebert, 1996). Sous certaines conditions, ils peuvent provoquer chez lui des infections opportunistes fatales (Munoz *et al.*, 1997). Il a été constaté que le développement des *Trichoderma sp.* chez l'Homme est souvent le fait de déficits immunitaires spontanés ou post-thérapeutiques, qui en favorise la survenue et en augmente la gravité (Ragnaud *et al.*, 1984).

### 3. Taxonomie et classification

#### 3.1. Taxonomie

La division du genre *Trichoderma* en espèces a fait l'objet de nombreuses études et de beaucoup de polémiques. Dans le règne vivant les limites de « l'espèce » reposent sur la possibilité de croisement entre individus. Or, les champignons anamorphes du genre *Trichoderma*, en tant que tels, n'ont pas de reproduction sexuée connue, et ce caractère ne peut donc être utilisé pour leur systématique. On se base alors sur les aspects culturels et la morphologie des appareils sporogènes (Roquebert, 1996) ; en 1794, Persoon décrit le premier *Trichoderma sp.* et établit 4 espèces.

En 1969, conscient de toute cette polémique, Rifai propose une classification utilisable avec le concept « d'espèces agrégées », basé sur les caractères microscopiques. Une espèce agrégée étant une entité composée de groupement d'espèces très similaires, difficiles à séparer. Neuf espèces agrégées sont créées (*T. aureoviridae* Rifai, *T. hamatum* Bain, *T. harzianum* Rifai, *T. koningii* Oudemans, *T. longibrachiatum* Rifai, *T. piluliferum* Webster et Rifai, *T. polysporum* Rifai, *T. pseudokoningii* Rifai et *T. viridae* Gray), tout en tolérant une certaine variabilité au sein de chaque espèce agrégée (Rifai, 1969) (Fig. 3).



**Fig. 3** : Les 5 sections systématiques de *Trichoderma* sp. et quelques-unes des espèces y appartenant, selon Bissett (1991). \* Les espèces agrégées de Rifai (1969).

### 3.2. Classification

**Tableau 9** : Classification de *Trichoderma sp.* (Bissett., 2004).

<b>Règne :</b>	Fungi
<b>Embranchement :</b>	Ascomycota
<b>Classe :</b>	Sordariomycetes
<b>Ordre :</b>	Hypocreales
<b>Famille :</b>	Hypocreaceae
<b>Genre :</b>	<i>Trichoderma</i>

### 4. Ecologie

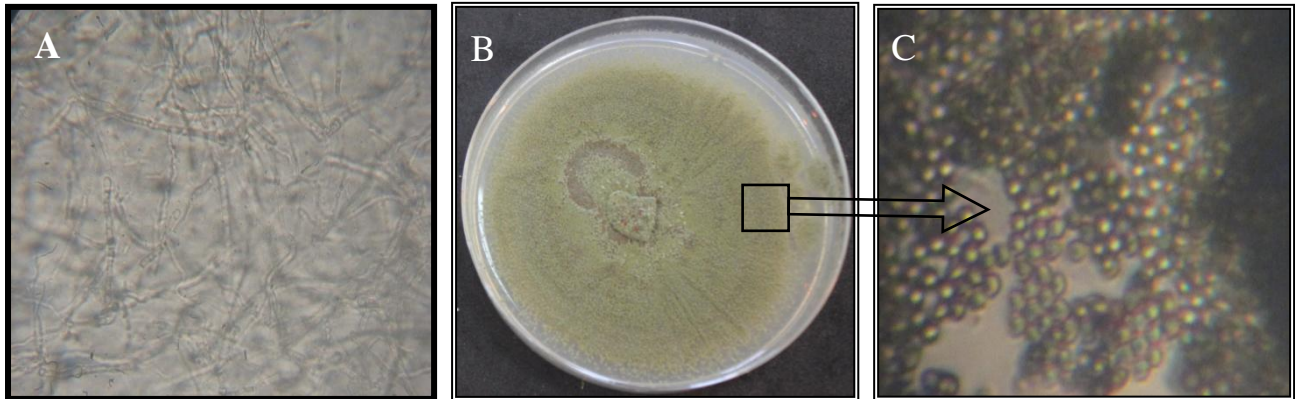
Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, le genre *Trichoderma* est très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin. En effet, les *Trichoderma sp.* sont remarquables pour leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats et sont, par conséquent, l'élément majeur dans la microflore terrestre et marine.

Les *Trichoderma sp.* terrestres se développent quasiment dans tous les sols (forestiers ou cultivés) et sur les végétaux en décomposition. Ils contaminent fréquemment le compost de la culture industrielle des champignons comestibles, mais sont rarement parasites de plantes vivantes. Dans la mer, les *Trichoderma sp.* sont marins facultatifs. *Trichoderma sp.* y ont été identifiés à tous les niveaux. Ils ont été également isolés à partir d'algues marines prélevées de la côte Atlantique et méditerranéenne ibériques ainsi qu'à partir de moules au Canada. Leur présence dans le tractus digestif et la surface de plusieurs espèces de concombre des mers reste insolite, puisque ces derniers biosynthétisent des glycosides tri terpéniques aux fortes activités antifongiques et cytotoxiques (Pivkin, 2000).

### 5. Morphologie

L'aspect macroscopique de *Trichoderma sp.* est apprécié à partir de cultures sur géloses nutritives (PDA) appropriées, réparties en boîtes de Pétri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Entre ces deux extrêmes, existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogénèse.

D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16<sup>ème</sup> et le 20<sup>ème</sup> jour un feutrage épais se superpose à la culture. Au microscope optique on peut observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale. Très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. A leur tour, les phialides portent les spores (phialospores ou bien conidies) (Moussaoui, 2009) (Fig. 4).



**Fig.4 :** Aspect macroscopique et microscopique de *T. harzianum* (Mesfek et Belabassi, 2014).

(A) : Mycéliums de *T. harzianum* vus au microscope photonique. G × 400. (B) : Colonie de *T. harzianum* sur milieu PDA. (C) : Spores de *T. harzianum* vus au microscope photonique. G × 400.

## 6. Mode d'action de *Trichoderma*

L'antagonisme des *Trichoderma* se fait par quatre modes d'action :

### 6.1. Antibiose

Les *Trichoderma* émettent des substances qui peuvent inhiber d'autres micro-organismes et qui sont de deux types :

#### ✓ Substances non volatiles

**Windling** et **Emarson** ont mis en évidence la présence de substances non volatiles, ils ont réussi à isoler également une substance toxique à partir de quelques souches de *Trichoderma virride* appelé en **1939** « Gliotoxine ». Ce sont **Denis** et **Webster** en (**1971**) qui ont confirmé la production d'autres antibiotiques solubles dans le chloroforme comme Trichodermatine et des péptides.

#### ✓ Substances volatiles ou gazeuses

L'émission des substances volatiles est constatée par **Denis** et **Webster (1971)**, mais le doute subsiste sur la nature chimique des produits émis ; s'agit-il d'une substance précise (acétaldéhyde) selon ces chercheurs cités-ci-dessus ou d'un mélange complexe (**Oliver et Germin, 1983**).

En effet, les travaux d'**Oliver** et **Germin (1983)** nous permettent de savoir que le bon niveau de production de composés gazeux est obtenu quand le *Trichoderma* est cultivé sur un milieu cellulosique ; à partir de là, ces auteurs ont conclu que la production de ces substances varie en fonction du milieu de culture.

### 6.2. Action par mycoparasitisme

Dans ce cas, l'antagoniste attaque le pathogène en perçant les hyphes et en les envahissant. Il s'attache à son hôte en enroulant ses hyphes autour de celles de l'hôte. Il peut se fixer aussi par des crochets. Après contact, il secrète des enzymes de type B (1-3) glucanase. Le mycoparasite pénètre alors dans les cellules de l'hôte et y consomme le contenu cytoplasmique (**Maslouhy, 1989**).

### 6.3. Action par compétition

Les problèmes de compétition, pouvant s'exercer pour un site ou pour un substrat nutritif, n'ont été pris en compte que pour expliquer les antagonismes localisés sur les organes aériens (**Davet, 1983**). Ce mécanisme fonctionne dans le cas de la protection des grappes de raisin contre la pourriture grise (**Dubos *et al.*, 1982**). Les substances nutritives se trouvent en générale en quantité limitée et souvent les micro-organismes entrent en compétition pour les procurer. Exceptionnellement, lorsqu'un micro habitat tellurique est riche en substrats nutritifs, la compétition s'exerce sur l'espace (**Maslouhy, 1989**).

### 6.4. Action par élicitations

Des travaux préliminaires de **Molot (1983)** montrent que les filtrats de culture de *Trichoderma* contient des substances électriques d'une résistance au pathogène dans les feuilles des végétaux. En règle générale, les mécanismes antiparasitaires varient non seulement selon les protagonistes présents mais également selon les fonctions de milieu.

## 1. Matériel fongique

Cinq souches fongiques ont été utilisées dans notre travail trois souches d'*Ascochyta* (*A. pisi*, *A. pinodes* et *A. pinodella*) et deux souches de *Trichoderma* (*T. harzianum* et *T. asperellum*) provenant du Laboratoire de Protection des Végétaux de l'Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. Il faut signaler que nous avons réalisé plusieurs essais d'isollements à partir de plants de petit pois infectées durant la campagne 2015-2016, mais aucun isolats de *Ascochyta* sp. n'a pu être identifié.

Des fragments de ces champignons ont été déposés sur milieu PDA (**Annexe 1**) et incubées à l'étuve à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 5 jours.

## 2. Méthodes

### 2.1. Activité antagoniste "in vitro " de *Trichoderma* sp. vis-à-vis d'*Ascochyta* sp.

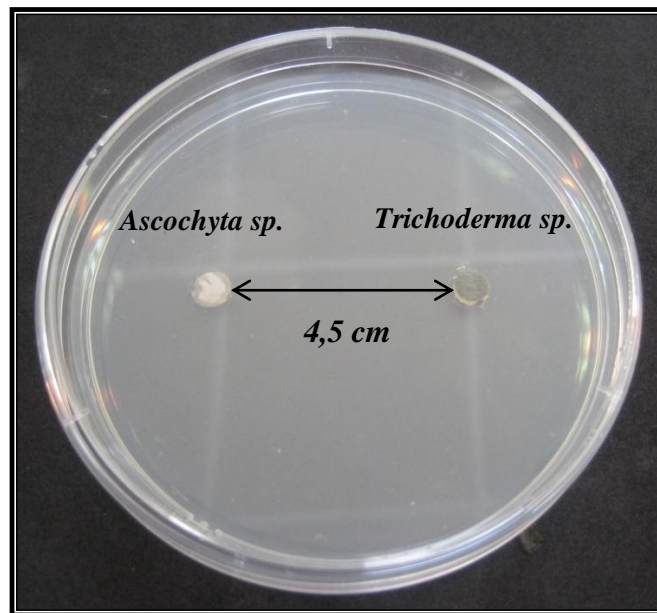
Cette activité a été étudiée selon deux méthodes :

#### 2.1.1. Confrontation direct (antibiose)

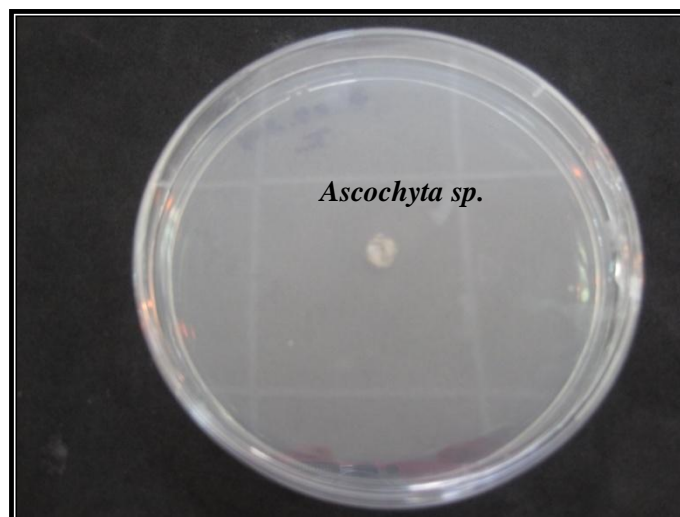
Les confrontations *in vitro* sont effectuées selon la méthode de **Patel et Brown (1969)**. Dans des boîtes de Pétri (90 mm de diamètre), contenant 15 ml de milieu PDA, deux pastilles gélosées (6 mm de diamètre), l'une portant l'agent pathogène (*Ascochyta* sp.) et l'autre la souche à tester (*Trichoderma* sp.), sont placées suivant un axe diamétral à 4,5 cm de distance et à équidistance du centre de la boîte (**Fig. 5**). Pour les témoins, un disque mycélien du pathogène seul a été déposé dans la boîte (**Benhamou et Chet, 1996**) (**Fig. 6**).

L'essai est réalisé avec quatre (4) boîtes mises en incubation à l'obscurité pendant 5 jours à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .

La croissance mycélienne des trois espèces d'*Ascochyta* est évaluée tous les jours en mesurant le rayon du parasite du côté de l'antagoniste ainsi que sa vitesse de croissance (mm/j). Cette évaluation est faite toutes les 24 heures pendant 4 jours.



**Fig. 5 :** Confrontation directe entre *Ascochyta sp.* et *Trichoderma sp.* sur milieu PDA.



**Fig. 6 :** Test de confrontation directe pour le témoin sur milieu PDA.

### 2.1.2. Confrontation indirect (substances volatiles)

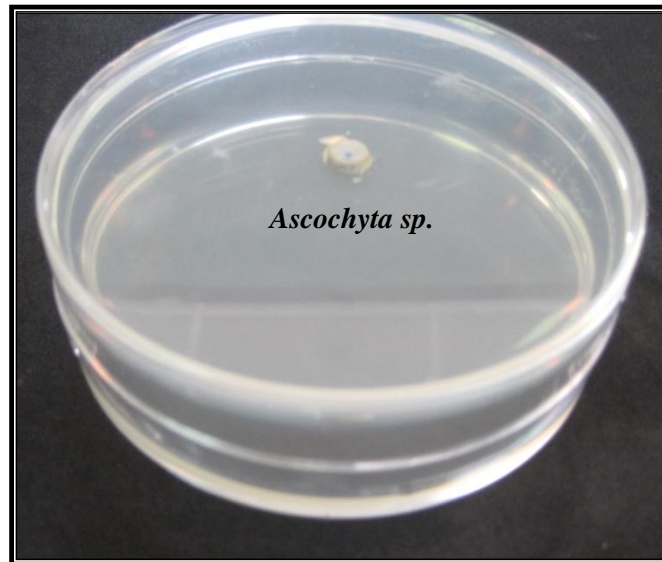
Le principe de cette méthode repose sur la technique déjà utilisée par **Campora (1985)** que nous avons légèrement modifiée. Il consiste à repiquer l'antagoniste et le pathogène dans deux boîtes séparées; par la suite, un assemblage est réalisé par la superposition de deux boîtes, *Trichoderma sp.* en bas et le pathogène (*Ascochyta sp.*) en haut (**Fig. 7**).

La jonction entre les deux boîtes est assurée par des couches de parafilm afin d'éviter toute déperdition des substances volatiles. On expose ainsi l'isolat d'*Ascochyta sp.* à l'influence des substances volatiles émises par la souche de *T. harzianum*.

Le témoin est formé par superposition des deux boîtes, celle du haut contenant une pastille d'*Ascochyta sp.* alors que celle du bas ne contient que le milieu PDA (**Fig. 8**). Les boîtes sont incubées à l'obscurité pendant 4 jours à  $25\pm 1^\circ\text{C}$ . Nous avons utilisé 2 boîtes pour le témoin.



**Fig. 7 :** Dispositif utilisé pour tester l'influence des substances volatiles émises par *Trichoderma sp.* sur la croissance de *Ascochyta sp.*



**Fig.8** : Test de confrontation indirect pour les témoins

## 2.2. Méthodes d'évaluation de la croissance mycélienne d'*Ascochyta sp.*

Pour l'estimation de la croissance mycélienne, la technique employée est celle décrite par **Brewwer (1960)** et **Leach (1962) in Saiah (2004)**, qui consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale des colonies en utilisant la formule suivante :

$$L = \frac{D - d}{2}$$

**L** : croissance mycélienne.

**D** : diamètre de colonie.

**d** : diamètre de l'explant.

Afin d'établir la vitesse de croissance en fonction du temps, des mesures journalières du diamètre de la colonie (**Rappily, 1968**), sont effectuées en appliquant la formule suivante :

$$V = \frac{(L2 - L1) + (L3 - L2) + (L4 - L3) + \dots (Ln - Ln - 1)}{n - 1}$$

**V** : vitesse de la croissance en (mm/j).

**L** : croissance mycélienne en (mm).

### 2.3. Méthodes d'évaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne

L'évaluation de l'inhibition exercée par les deux souches de *Trichoderma* est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne selon la formule suivante (**Bellahcene, 1990**) :

$$I (\%) = \left(1 - \frac{Cn}{Co}\right) \times 100$$

**I (%)** : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne.

**Cn**: le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste (*T. harzianum* ou *T. asperellum*) (mm/j).

**C<sub>0</sub>**: le diamètre moyen des colonies témoins (mm/j).

### 2.4. Méthodes d'évaluation de la sporulation

La sporulation de *Ascochyta* a été estimée après 7 jours d'incubation, Le comptage a été effectué à l'aide de la cellule de Malassez (**Baledent, 2000**). Les valeurs sont exprimées en nombre de spores par unité de volume (ml).

➤ **Confrontation direct**

L'évaluation de la sporulation est effectuée selon le principe de la méthode utilisée par **Maslouhy (1989)**. A l'aide d'une pipette Pasteur renversée et désinfectée, nous avons prélevé 10 rondelles (6 mm de diamètre) sur la périphérie des colonies d'*Ascochyta* du côté de l'antagoniste. Ces rondelles sont ensuite mises dans 10 ml d'eau distillée.

La solution obtenue est ensuite mise sous l'agitation afin d'extraire les spores, puis filtrée à l'aide d'un tissu en mousseline dans un entonnoir menant à un bécher, pour éliminer les débris (fragments mycéliens) qui pourraient interférer avec l'observation (**Oie, 2005**).

Pour le témoin le prélèvement des rondelles est effectué à la bordure de colonie d'*Ascochyta* sp. en suivant suivi les mêmes étapes décrites précédemment.

➤ **Confrontation indirect**

Le milieu de culture est raclé et mis dans un bécher contenant 10 ml d'eau distillée. La solution obtenue est ensuite mise sous l'agitation afin d'extraire les spores, puis filtrée à l'aide d'un tissu en mousseline dans un entonnoir menant à un bécher, pour éliminer les débris (fragments mycéliens) qui pourraient interférer avec l'observation (**Oie, 2005**).

Nous avons procédé la même méthode pour le témoin.

## 1. Effet de l'antagonisme de deux espèces de *Trichoderma* sur la croissance d'*Ascochyta* sp. en confrontation directe

### 1.1. Croissance mycélienne

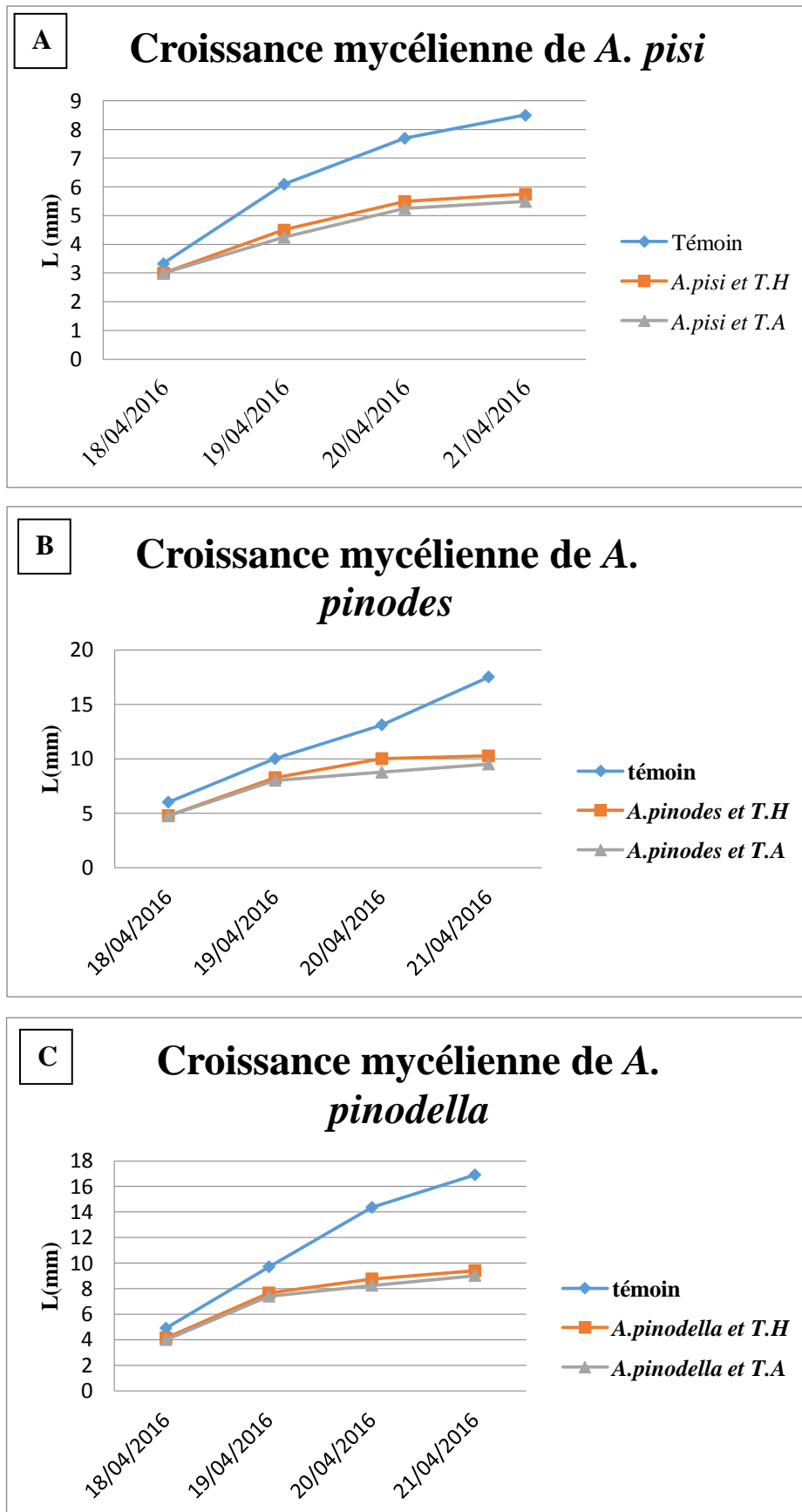
On remarque une réduction importante puis un arrêt de la croissance mycélienne des colonies d'*Ascochyta* sp. en présence de deux espèces de *Trichoderma* par rapport aux témoins (**Planche1**).

L'étude statistique (**Fig. 9 et Annexe 2**) révèle une différence significative entre la croissance mycélienne des témoins et celles traitées par *Trichoderma*. On note cependant une très légère différence de l'effet de l'antagonisme entre les deux espèces de *Trichoderma* vis-à-vis de l'agent pathogène.

La croissance des *Trichoderma* est beaucoup plus rapide que celle d'*Ascochyta* et dès que les deux champignons sont mis en confrontation, on peut observer très rapidement un début de développement mycélien de *Trichoderma*.

A proximité (0,2 à 0,5cm) de la zone de rencontre des deux colonies, la croissance du mycélium de *Trichoderma* est momentanément inhibée.

La croissance mycélienne d'*Ascochyta* sp. confrontée par *Trichoderma* n'a pas été influencée durant les deux premiers jours par rapport aux témoins. A partir de 2<sup>ème</sup> jour cette influence est observée avec la formation de zone d'inhibition, la croissance mycélienne de l'agent pathogène étant fortement inhibée par la croissance et le développement de *Trichoderma* au 4<sup>ème</sup> jour (**Planche2, Fig.1**).



**Fig. 9:** Influence de l'antagonisme des *T. harzianum* et *T. asperellum* en confrontation directe sur la croissance mycélienne des souches d'*Ascochyta*. (A) : *A. pisi* ; (B) : *A. pinodes* ; (C) : *A. pinodella*.

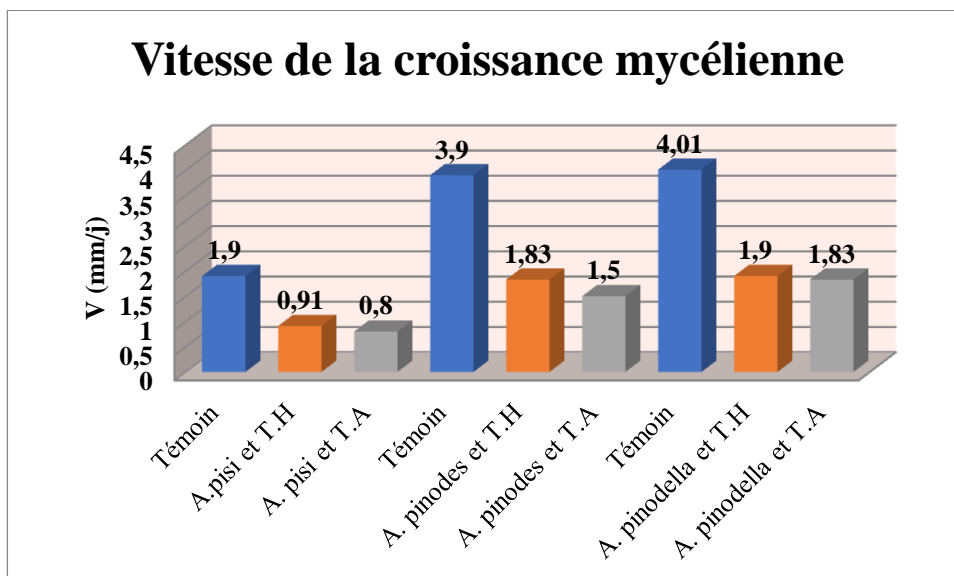
## 1.2. Vitesse de la croissance

L'étude de la vitesse de croissance mycélienne des colonies d'*Ascochyta* sp. en présence de *Trichoderma* révèle une diminution importante par rapport aux témoins.

D'après les résultats statistiques (**Fig.10 et Annexe 2**) nous avons remarqué que *T. harzianum* et *T. asperellum* ont une forte action inhibitrice sur la vitesse de croissance mycélienne de l'agent pathogène. On note ainsi que l'effet de *T. harzianum* et *T. asperellum* sur la vitesse de croissance de *A. pisi* et *A. pinodella* est convergent (0,91mm/j et 0,8mm/j ; 1,9mm/j et 1,3mm/j) cependant que cet effet est remarquable de *T. asperellum* par rapport au *T. harzianum* sur la vitesse de *A. pinodes* (1,41mm/j et 1,83mm/j respectivement).

Ces résultats confirment les résultats précédents concernant la croissance mycélienne, la vitesse de la croissance est augmentée avec l'augmentation de la croissance mycélienne et diminué avec celle-ci.

Nous constatons que l'action inhibitrice de *T. asperellum* est plus importante que celle de *T. harzianum* sur la vitesse de croissance des souches d'*Ascochyta* testées, ces dernières présentent toujours des faibles valeurs des vitesses en présence de elle (0,8mm/j, 1,41mm/j, 1,83mm/j).



**Fig. 10 :** Influence de l'antagonisme des *T. harzianum* et *T. asperellum* en confrontation directe sur la vitesse de la croissance mycélienne des souches d'*Ascochyta* testées.

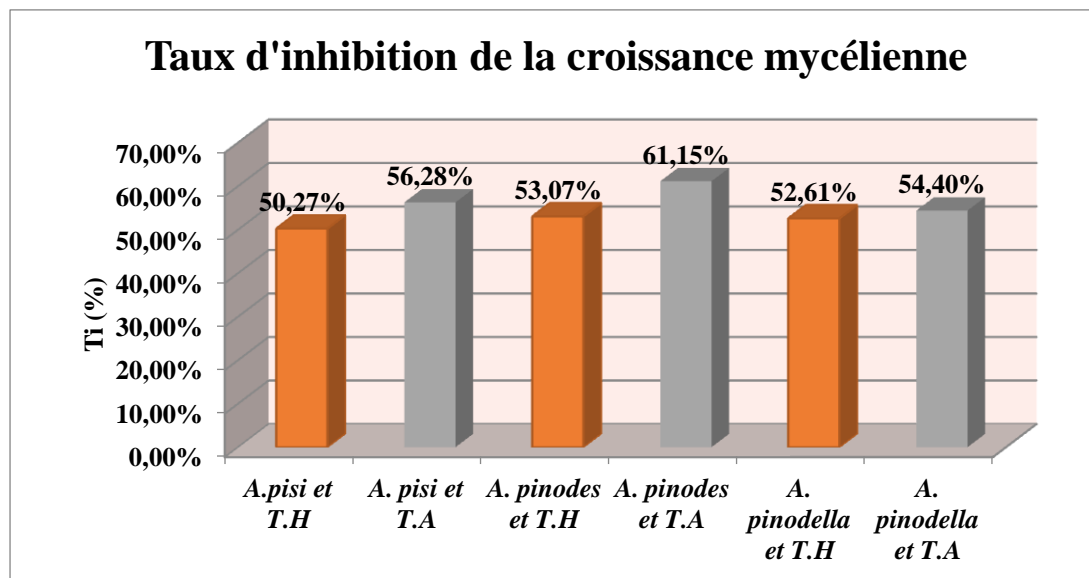
### 1.3. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Les résultats représentés dans la **Figure 11** et **Annexe 2** montrent que le taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'agent pathogène est important (>50%) en présence de *Trichoderma*.

On note que *T. asperellum* a une forte action inhibitrice sur *A. pinodes* (61,15%) suivi par *A. pisi* (56,28%) puis *A. pinodella* (54,40%). Concernant *T. harzianum*, elle a enregistré des valeurs d'inhibition similaires pour *A. pinodes* et *A. pinodella* (53,07% et 52,61%) suivi par *A. pisi* (50,27%).

Ces résultats confirment les résultats précédents relatifs à la vitesse de croissance mycélienne, quand le taux d'inhibition augmente la vitesse de la croissance diminue et inversement.

Nous remarquons ainsi que *T. asperellum* représente la souche la plus inhibitrice de la croissance mycélienne sur toutes les souches d'*Ascochyta* testées (61,15%).



**Fig. 11:** Influence de l'antagonisme des *T. harzianum* et *T. asperellum* en confrontation directe sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne des souches d'*Ascochyta* testées.

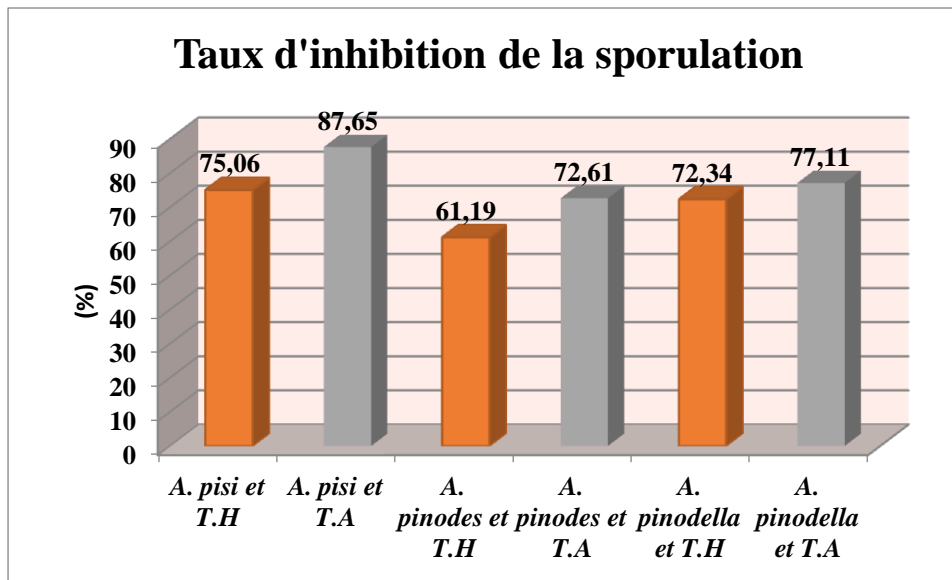
#### 1.4. Influence sur la sporulation

L'étude de la sporulation des colonies d'*Ascochyta* montre une réduction significative importante de la sporulation par rapport aux témoins.

Après l'inhibition temporaire, la colonie de *Trichoderma* reprend assez rapidement sa croissance de telle manière que les deux colonies se chevauchent. Après l'observation microscopique, nous avons remarqué des enroulements des hyphes des deux protagonistes chez *A. pinodes* (**Planche 2, Fig. 2**).

Après que la croissance mycélienne ait repris nous remarquons que les colonies ont commencé à sporuler.

L'analyse statistique (**Fig. 12 et Annexe 2**) révèle que le taux d'inhibition de la sporulation est supérieur à la moitié (>60%) pour les espèces de *Trichoderma*. Avec *T. asperellum* c'est *A. pisi* qui a le moins sporulé avec un taux d'inhibition de cette séquence de 87,65% ( $1,1 \times 10^6$  spores/ml par rapport au témoin  $8,9 \times 10^6$  spores/ml) suivi par *A. pinodella* avec 77,11% ( $1,36 \times 10^6$  spores/ml par rapport au témoin  $5,94 \times 10^6$  spores/ml), alors que *A. pinodes* est celle qui a le plus sporulé sous l'action de cette espèce 72,61 % ( $1,2 \times 10^6$  spores/ml par rapport au témoin  $4,38 \times 10^6$  spores/ml). Pour *T. harzianum* le taux maximum d'inhibition de la sporulation a enregistré pour *A. pisi* 75,06 % ( $2,22 \times 10^6$  spores/ml) à l'opposé on retrouve *A. pinodes* qui a donné un très faible taux d'inhibition en enregistrant 61,19% ( $1,7 \times 10^6$  spores/ml) vient ensuite *A. pinodella* avec 72,34% ( $1,64 \times 10^6$  spores/ml). La sporulation des témoins est significativement supérieure aux autres traitements.



**Fig. 12 :** Influence de l'antagonisme des *T. harzianum* et *T. asperellum* en confrontation directe sur le taux d'inhibition de la sporulation des souches d'*Ascochyta* testées.

### 1.5.Discussion

Les *Trichoderma harzianum* sont connues de longue date pour leurs activités antagonistes à l'égard de nombreux champignons, *Botrytis cinerea* (Dubordieu, 1983), *Armillaria obscura* et *armillaria mellea* (Lanusse et al., 1983); *Rosellina nectarix* et *Phomopsis Viticola* (Besselat, 1985), l'Eutypiose, l'Esca, *Phytophthora citrophthora* et *phytophthora parasitica* chez les citrus (Chet, 1984).

De nombreux auteurs (Davet, 1983a, 1983b; Meslouhy, 1989; Schuster et Schmoll, 2010), ont démontré que cette action inhibitrice est due à des composés de nature chimiques libérés par les souches de *Trichoderma* et jouent également un rôle important dans l'activité antagoniste des espèces. Ceux-ci inclus; des antibiotiques, des mycotoxines et des composés secondaires de faible poids moléculaire (Schuster et Schmoll, 2010).

D'après Chet et Elad (1983), la capacité à produire de telles substances varie entre isolats de même espèce, comme entre isolats d'espèces différentes.

Les *Trichoderma* sont également connus pour produire différentes substances antibiotiques comme par exemple : gliotoxine, gliovirine, viridine et trichoviridine (Vinale et al., 2008).

Nous avons remarqué qu'en plus de l'antibiose, *Trichoderma* s'est développée beaucoup plus rapidement par rapport à l'*Ascochyta* en colonisant le milieu nutritif et en ravissant les éléments nutritifs, ce type de phénomène est la compétition. Cette dernière a été étudiée surtout dans le cas de la résistance des sols aux maladies, où la compétition nutritive joue un rôle dans les phénomènes complexes qui aboutissent à une limitation naturelle de l'activité nocive de certains champignons phytopathogènes (**Alabouvette et al., 1983 ; Dubos, 1985 ; Davet, 1996 ; Benítez et al., 2004**).

**Dennis et Webster (1971b)**, ont mis en évidence, des antibiotiques sécrétés par des *Trichoderma*, solubles dans le chloroforme et extractibles à partir du milieu de culture.

Ce qui est concerne l'enroulement des hyphes, de nombreux auteurs (**Barak et al., 1985 ; Benhamou et Chet, 1993 ; Howell, 2003 ; Eziashi et al., 2007 ; Anees et al., 2010**) ont été remarqués ce phénomène. Il commence par un enchevêtrement des hyphes puis par une interpénétration.

**Camporota (1985)** et **Xue et al., (1998)** ont démontré que l'interpénétration des hyphes de quelques souches de *Trichoderma* favorise l'action des enzymes B<sub>1-3</sub> glucanase-chitinase conduisant à la lyse du mycélium du parasite. Alors que **Barak et al. (1985)** émettant l'hypothèse que les pectines pouvaient avoir un rôle dans l'interaction spécifique entre *Trichoderma* et *Sclerotium rolsffi*.

**Saiah (2004)** dans une étude de l'antracnose du pois (*Pisum sativum* L.) dans la région de Chlef a démontré que l'antagonisme de *T. harzianum* et *T. viride* sur les souches de *Ascochyta* sp. a observé par la conjugaison des deux mécanismes : Antibiose et mycoparasitisme.

**Vinale et al. (2008)** ont démontré que les *Trichoderma* sont également connus pour produire différentes substances antibiotiques comme par exemple gliotoxine, gliovirine, viridine et trichoviridine.

## 2. Effet de l'antagonisme de deux espèces de *Trichoderma* sur la croissance d'*Ascochyta* sp. en confrontation indirecte

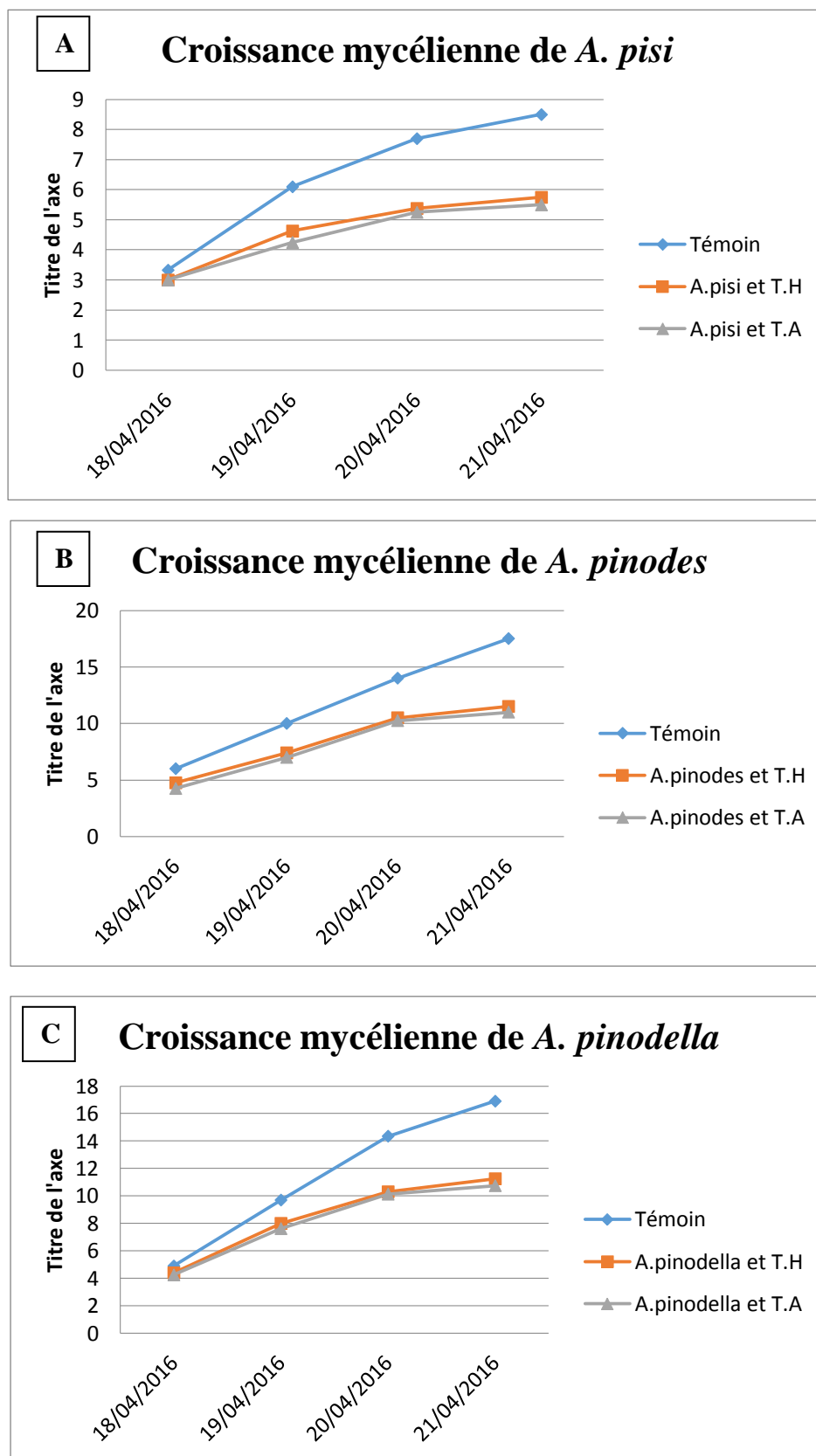
### 2.1. Croissance mycélienne

Cette méthode nous a permis aussi de mettre en évidence l'effet inhibiteur même à distance de *T. harzianum* et *T. Asperellum* vis-à-vis d'*Ascochyta* (**Planche 3**).

Les résultats obtenus montrent que l'effet des substances volatiles des *Trichoderma* a significativement réduit la croissance mycélienne des souches d'*Ascochyta* testées.

D'après l'analyse statistique (**Fig. 13 et Annexe 2**) on note cependant une très légère déférence de l'effet des substances volatiles entre les deux espèces de *Trichoderma* vis-à-vis de l'agent pathogène. On remarque ainsi que la croissance des *Trichoderma* est beaucoup plus rapide que celle d'*Ascochyta* même à distance.

On remarque que durant les deux premiers jours l'influence de *Trichoderma* sur la croissance mycélienne d'*Ascochyta* est moins importante. Cette influence est observée à partir de 2<sup>ème</sup> jour et elle est nettement visible au 4<sup>ème</sup> jour où l'agent pathogène apparue fortement inhibée par la croissance et le développement de *Trichoderma*.



**Fig.13:** Influence des substances volatiles des *T. harzianum* et *T. asperellum* en confrontation indirecte sur la croissance mycélienne d'*Ascochyta*. (A) : *A. pisi* ; (B) : *A. pinodes* ; (C) : *A. pinodella*.

## 2.2. Vitesse de la croissance

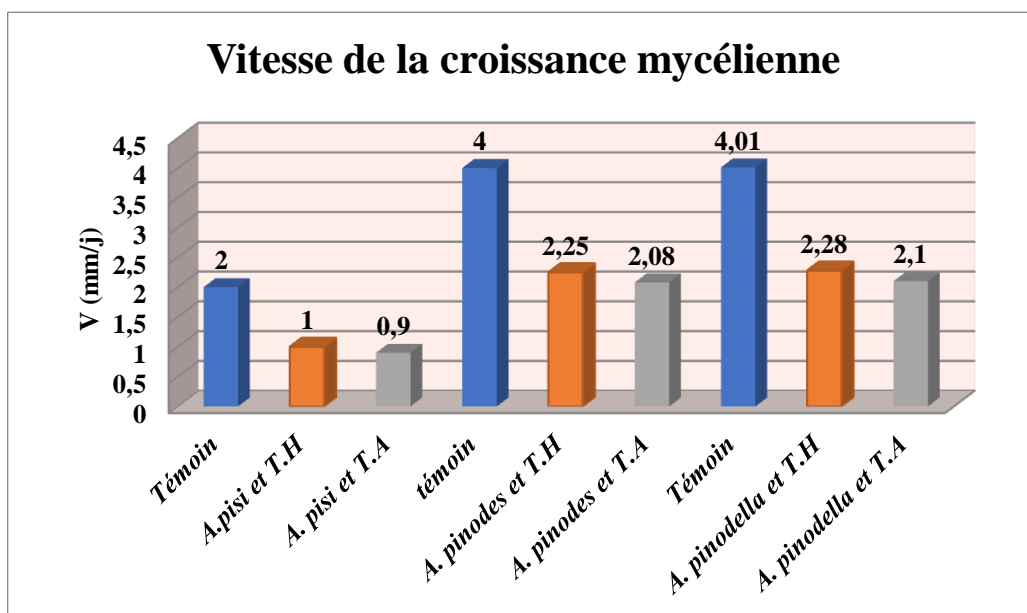
L'étude de la vitesse de croissance mycélienne des colonies d'*Ascochyta* sp. en présence de *Trichoderma* démontre une diminution importante par rapport aux témoins.

D'après l'analyse de l'histogramme (Fig. 14 et Annexe 2) on observe que *T. harzianum* et *T. asperellum* ont une forte action inhibitrice sur la vitesse de croissance mycélienne de l'agent pathogène. On note ainsi que l'effet entre les deux souches de *Trichoderma* sur la vitesse de croissance au sien d'une même espèce pathogènes est négligeable.

La souche qui a subi l'inhibition la plus importante sous l'action des substances volatiles pour les deux *Trichoderma* est *A. pisi* avec une vitesse de croissance 0,9mm/j pour *T. asperellum* et 1mm/j pour *T. harzianum*.

Le maximum de croissance mycélienne sous l'action des substances volatiles de *T. harzianum* est enregistré pour les souches *A. pinodella* et *A. pinodes* (2,28mm/j et 2,25mm/j perceptivement). Les résultats sont idem pour *T. asperellum* avec des vitesses de croissance (2,08mm/j et 2,1mm/j).

Donc nous pouvons conclure que *T. asperellum* a une forte action inhibitrice même à distance (confrontation indirecte) que celle de *T. harzianum* sur la vitesse de croissance des souches d'*Ascochyta* testées.



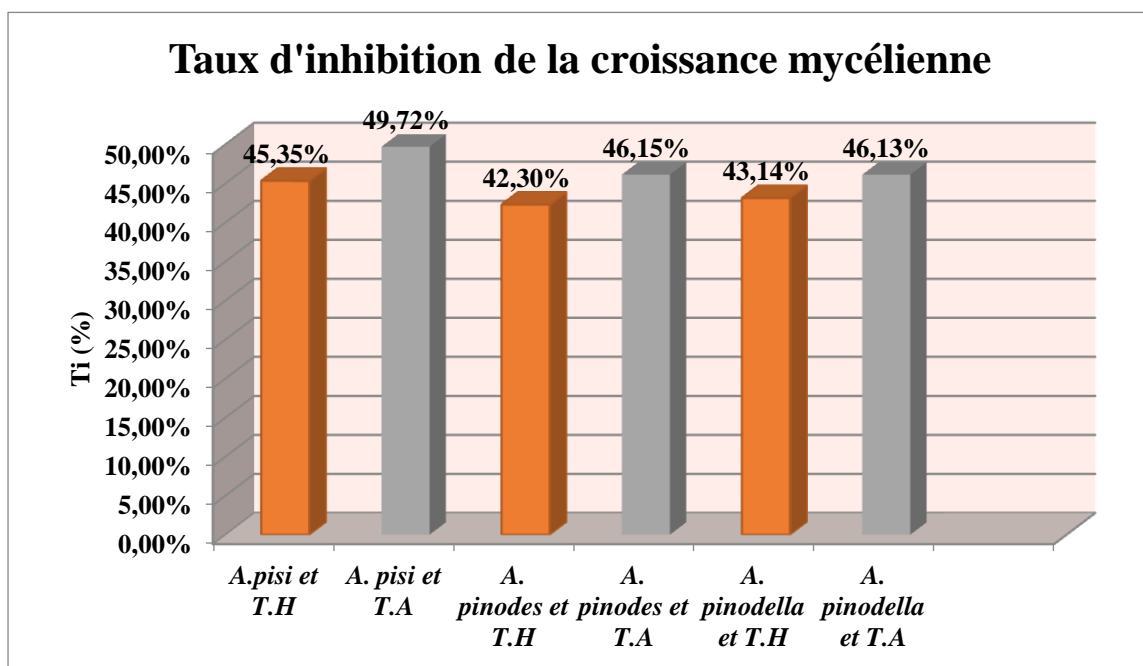
**Fig.14:** Influence des substances volatiles des *T. harzianum* et *T. asperellum* en confrontation indirecte sur la vitesse de la croissance mycélienne d'*Ascochyta* testées.

### 2.3. Taux d'inhibition de croissance mycélienne

Les résultats d'analyse statistique (**Fig. 15 et Annexe 2**) montre que le taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'agent pathogène est important en présence de *Trichoderma*.

On observe que *T. asperellum* a une forte action inhibitrice sur *A. pisi* (49,72%) suivi par *A. pinodes* et *A. pinodella* qui a enregistré des valeurs similaires (46,15% et 46,13% respectivement). Pour *T. harzianum*, elle a un effet inhibiteur remarquable sur *A. pisi* (45,35%) suivi par *A. pinodella* (43,14%) et *A. pinodes* (42,30%).

On remarque ainsi que *T. asperellum* représente la souche la plus inhibitrice de la croissance mycélienne sur toutes les souches d'*Ascochyta* testées (49,72%).



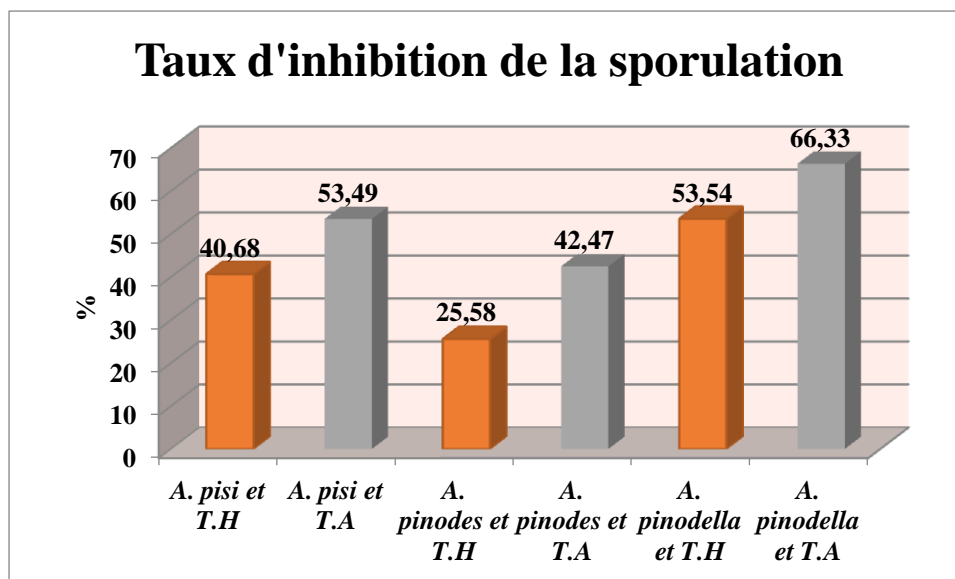
**Fig. 15:** Influence des substances volatiles des *T. harzianum* et *T. asperellum* sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne d'*Ascochyta* testées.

### 2.4. Influence sur la sporulation

D'après les résultats statistiques (**Fig. 16 et Annexe 2**) montrent un effet significatif des substances volatiles sur la réduction de la sporulation par rapport aux témoins.

*T. asperellum* a inhibé fortement la sporulation de *A. pinodella* qui a enregistré 66,33% ( $2 \times 10^6$  spores /ml par rapport au témoin  $5,94 \times 10^6$  spores /ml) suivi par *A. pisi* avec 53,49% ( $4,14 \times 10^6$  spores /ml par rapport au témoin  $8,9 \times 10^6$  spores /ml), la souche qui a résisté le plus est *A. pinodes* en enregistrant 42,47% ( $2,52 \times 10^6$  spores /ml par rapport au témoin  $4,38 \times 10^6$  spores /ml). *T. harzianum* a eu le plus d'action sur la souche *A. pinodella* où on a enregistré 53,54% ( $2,76 \times 10^6$  spores /ml) suivi par *A. pisi* avec 40,68% ( $5,28 \times 10^6$  spores /ml) et *A. pinodes* 25,58% ( $3,26 \times 10^6$  spores /ml).

D'après ces résultats on note que pour les deux espèces de *Trichoderma* c'est *A. pinodella* représente la souche la plus sensible alors que *A. pinodes* figure parmi la plus résistante.



**Fig.16:** Influence des substances volatiles des *T. harzianum* et *T. asperellum* sur le taux d'inhibition de la sporulation d'*Ascochyta* testées.

## 2.5. Discussion

D'après les résultats nous avons conclu que les *Trichoderma* peuvent effectivement inhiber à distance le développement des souches d'*Ascochyta*.

La nature chimique des substances volatiles a été étudiée par **Dennis et Webster (1971b)** qui ont formulé l'hypothèse faisant intervenir l'acétyl aldéhyde mais à des grandes quantités, car il faut 500 ppm de ce composé pour obtenir une inhibition complète de leur germe cible.

Alors que **Hutchinson et Cowan (1972)** in **Olivier et Germain (1983)** ont émis l'hypothèse que ces gaz auraient une action préliminaire, préparant la mise en œuvre d'autres mécanismes, antibiose à médiateur soluble, enzymes ou mycoparasitisme. Le gaz n'aurait donc pour effet que d'affaiblir le pourcentage, cible de l'antagoniste.

**Camporta (1985)** a montré l'effet inhibiteur de *T. viride* et de *T. harzianum* vis-à-vis des *Rhizoctonia solani*. Cette inhibition était plus marquée dans le cas de *T. viride*. Il ressort que, malgré l'absence d'un contact direct entre *Trichoderma* spp et les isolats de *Botrytis*, les premiers ont pu exercer une activité inhibitrice sur le développement des colonies de *Botrytis fabae* et de *B. cinerea*. Ceci s'expliquerait par l'aptitude de *Trichoderma* à produire des substances volatiles qui sont capables de limiter et même de stopper le développement de l'agent pathogène.

Dans notre étude que se soit la confrontation directe ou la confrontation indirecte, la *T. asperellum* avérée être la souche la plus efficace par rapport au *T. harzianum*. *T. asperellum* a été identifié comme un agent de lutte biologique potentiel dans d'autres études (**Osorio-Hernández et al., 2011**), où elle a montré une inhibition *in vitro* de l'agent pathogène dans l'intervalle de 11 à 16%. **Viterbo et al. (2005)**, ont été caractérisé une protéine kinase TmkA de *T. asperellum*, qui a un rôle clé dans les voies régulatrices impliquées dans l'activité de biocontrôle. Les études *in vitro* ont révélé que *Trichoderma* avait des taux de croissance comparativement plus élevés qui leur procurent un avantage concurrentiel par rapport à l'agent pathogène dans l'espace et se prévalant de nutriments dans le milieu. Ces espèces ont aussi inhibées la croissance du pathogène en sécrétant certaines mycotoxines (**Cúndom et al., 2003**).

Concernant les deux méthodes utilisant dans cette étude nous avons remarqué que les résultats de l'effet d'antagoniste des *Trichoderma* sur *Ascochyta* sont plus significatifs que les

résultats de confortation indirecte. Nos observations rejoignent à ceux d'**Asad et al. (2014)** dans une étude *in vitro* et *in vivo* sur l'influence des métabolites solubles dans l'eau et des substances volatiles de trois différents isolats de *Trichoderma* (*T. asperellum*, *T. Harzianum* et *Trichoderma* sp.) contre *Rhizoctonia solani*. Ils ont démontré que l'inhibition de la croissance mycélienne de l'agent pathogène est de 74,4 à 67,8% en revanche elle est de 15,3 à 10,6% avec les substances volatiles *in vitro*.

Ces auteurs ont affirmé que ces trois souches sont capables de produire des métabolites solubles dans l'eau qui inhibent la croissance du mycélium de *R. solani*. *T. asperellum* avéré être la plus grande productrice de ces métabolites, alors que la production des substances volatiles n'a pas été évidente.

Dans ce travail, nous avons étudié l'action de deux espèces de *Trichoderma* (*T. harzianum* et *T. asperellum*) sur trois espèces d'*Ascochyta* (*A. pisi*, *A. pinodes* et *A. pinodella*), par l'utilisation de deux méthodes à savoir la confrontation directe sur milieu de culture et la confrontation à distance par action de substances volatiles.

Pour les deux tests de confrontation, les résultats obtenus montrent une inhibition de la croissance et de la sporulation du pathogène.

Le test de confrontation directe a mis en évidence le pouvoir mycoparasitaire des *T. harzianum* et *T. asperellum*. Le mycélium de l'antagoniste envahi celui de l'agent pathogène provoquant une diminution de croissance mycélienne puis un arrêt à distance des colonies et une réduction de la sporulation en bordure de la zone d'inhibition par la sécrétion de substances antibiotiques diffusant dans le milieu de culture. Ces résultats laissent supposer que l'antagonisme a agit par la conjugaison des deux mécanismes : antibiose et mycoparasitaire.

Le test de confrontation indirecte montre que l'effet des substances volatiles des *Trichoderma* a significativement réduit la croissance mycélienne et la sporulation des souches d'*Ascochyta* sp.

A lumière de ces résultats, il est d'intérêt d'utiliser des *Trichoderma* en tant qu'agents de lutte biologique contre l'*Ascochyta* sp. responsable de l'antracnose du pois (*Pisum sativum* L.).

En perspectives de ce travail, il serait utile de compléter cette étude par des essais *in vivo* pour s'assurer que les mécanismes restent les mêmes lorsque les microorganismes sont en relation avec les plantes dans leur milieu naturel.

- **Alabouvette C., Couteaudier Y. et Louvet J., 1983 :** Importance des phénomènes de compétition nutritive dans l'antagonisme entre microorganismes. XXIV colloque de la société française de phytopathologie, pp7-16.
- **Alard C., Bill L. et Touraud G., 1993.** L'antracnose du pois : revue bibliographique de synthèse. *Agronomie* 13 :p 5-24.
- **Allescher A., 1901.** Fungi imperfecti.-In: Rabenhorst's Kryptogamen-flora von Deutschland, Oesterreich und der Schweiz; 1(6), 1016pp.
- **Anees M., Tronsmo A., Edel-Hermann V., Hjeljord L.G., Héraud C. et Steinberg C., 2010.** Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani*. *Fungal. Biol.* 114: 691–701.
- **Asad S. A, Ali N., Hameed A., Khan S. A, Ahmad R., Bilal M., Shahzad M. et Tabassum A., 2014.** Biocontrol Efficacy of Different Isolates of *Trichoderma* against Soil Borne Pathogen *Rhizoctonia solani*. *Polish Journal of Microbiology*, 63 :95-103.
- **Barak R., Elad Y., Mirelman D. et Chet I., 1985.** Lictins : a possible basis for specific recognition in the interaction of *Trichoderma* and *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology*, 75:458-462.
- **Bellahcene M., 1990.** Antagonisme de dix souches de *Trichoderma harzianum* vis-à-vis de trois formes spéciales de *Fusarium oxysporum* (albedinis, lini et lycopersici). Thèse de magistère. Université d'Oran, 73p.
- **Benhamou N. et Chet I., 1996.** Parasitism of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructure and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* 86, p. 405-416.
- **Benítez T., Rincón A. M., Limón M. C. et Codón A. C., 2004.** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Intl. Microbiol.* 7: 249–260.
- **Besselat B., 1985.** Résultats obtenus par le service de la protection de végétaux dans le cadre de la lutte contre la pourriture de la vigne avec l'utilisation des *Trichoderma*. L'emploi des ennemis naturels dans la protection des cultures. Ed. INRA, pp51-58.
- **Bissett J., 1991.** A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Pachybasium*. *Can. J. Bot.*, 69: 2373-2417.
- **Bonpeix G. et Coleno A., 1984.** Problèmes de terminologie des subdivisions intra spécifique des plantes hôtes et des agents pathogènes. Variation et variabilité des agents phytopathogènes XXVI<sup>e</sup> colloque de la société française de phytopathologie. Avignon, pp45-52.

- **Bouznad Z., 1989.** Contribution à la connaissance du genre *Ascochyta* cas particulier de l'étude biologique, ultrastructurale et cytochimique des réactions hôte parasite chez le couple *Pisum sativum* L./*Ascochyta pisi* Lib. These doctorat université pierre et Marie curie. Paris. P185.
- **Boyeldieu J., 1991.** Produire des grains oléagineux et protéagineux. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 256p.
- **Brink M. et Belay G., 2006.** Ressources végétales de l'Afrique tropicales 1 : Céréales et légumes secs. Ed. Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas, 327p.
- **Camporta P., 1985.** Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* sp. Vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Agronomie*, 1985, 5 (7), 613-620.
- **Chet I. et Elad Y., 1983.** Les mécanismes de mycoparasitisme. XXIV colloque de la société française de phytopathologie. pp.35-40.
- **Chet I., 1984.** Application of *Trichoderma* as a bio control agent. Proc. 6<sup>th</sup> cong. un. phytopathol. mediterr, cairo, Egypt, pp110-111.
- **Clulow S. A., Lewis, B. G. et Matthews P., 1992.** Expression of resistances to *mycosphaerella pinodes* in *pisum sativum*. *Plant pathology* 41:362-369.
- **Cooney J. M., Lauren D. R. et Perry-Meyer L. J., 1997.** A novel tubular bioassay for measuring the production of antagonistic chemicals produced at the fungal/pathogen interface. *Letters in Applied Microbiology*, 24 (6) : 460-462.
- **Corbaz R., 1965.** Recherches sur le genre *didymella* sacc. these de doctorat à l'école polytechnique fédérale, zurich.berlin .
- **Cousin R., Burghoffer A., Marget P., Vinger A. et Etever G., 1993.** Morphological, physiological and genetic bases of resistance in pea to cold and drought, In: *Breeding for stress tolerance in cool- season food legumes*, ICARDA. Eds k.b; Singh and M.C Saxena, pp311-320.
- **Cruickshank I. et Perrin D., 1960.** Isolation of a phytoalexin from *Pisum sativum* L. *Nature*, 187: 799-800.
- **Cruickshank I. et Perrin D., 1961.** Studies on phytoalexins. III. THE isolation, assay, and general properties of phytoalexin from the yeast *Filobasidium capsuligenum*. *Appl. Environ. Microbio.*, 50(6): 1474-1482.
- **Cúndom M. A., Mazza S. M., et Gutiérrez S. A., 2003.** Selection of *Trichoderma* spp. isolates against *Rhizoctonia solani*. *Spanish. J. Agr. Res.* 1: 79-82.
- **Davet P., 1983 (a).** les *Trichoderma*. Exemple de champignons antagoniste pathogènes. Faune et flore grise auxiliaire en agriculture. Ed. ACTA pp193-204.

- **Davet P., 1983 (b).** Introduction et conservation de *Trichoderma* dans le sol. Les antagonistes microbiens, mode d'action et application à la lutte biologique contre les maladies des plantes, pp 159-168. ACTA, INRA- ENSAM Montpellier (FR).
- **Davet P., 1996.** Vie microbienne du sol et production végétale. Ed. INRA, 383p.
- **Dbos B., 1985.** L'utilisation des *Trichoderma* comme agent de lutte biologique à l'égard de deux parasites aériens : *Chondrostereum purpureum* (pers. Ex. fr.) pouzar (plamb des arbres fruitiers) et *botrytis cénirae* pers. (pourriture grise de la vigne. L'emploi des ennemis naturels dans la protection des cultures Ed. INRA, pp35-49.
- **Dennis C. et Webster J., 1971.** Antagonism properties of species of *Trichoderma*. II. Production of volatile antibiotics. Trans. Br. Mycol. Soc., 57 (1), 41-48.
- **Doorenbos J. et Kassam A. H., 1987.** Réponse des rendements à l'eau. Bulletin F.A.O d'irrigation et de drainage N°33. Ed. F.A.O, Rome, 235 p.
- **DSASI., 2001.** Direction des Statistiques Agricoles et des Systèmes d'Information, Ministère de l'Agriculture, Série B, 43p.
- **Dubos B., Roudet J., Bulit J. et Bugaret Y., 1983.** L'utilisation du *Trichoderma harzianum* dans la pratique viticole, pour lutter contre la pourriture grise (*Botrytis cinerea*). Les antagonismes microbiens, 24<sup>ème</sup> colloque SFP, Bordeaux 26-28 Mai 1983, Ed. INRA (Les colloques de l'INRA NO. -1- 8 : 289-296.
- **Dubourdiou D., 1983.** Dégradation du glucane de *Botrytis cinérea* par les B<sub>(1-3)</sub> glucane de *Trichoderma sp.* XXIV colloque de la société française de phytopathologie, pp41-50.
- **Eziashi E. I., Omamor I. B. et Odigie E. E., 2007.** Antagonism of *Trichoderma viride* and effects of extracted water soluble compounds form *Trichoderma* species and benlate solution on *Ceratocystis paradoxa*. Afr. J. Biotechnol. 6: 388-392.
- **Genilloud O., Pelaez F., Gonzalez I. et Diez M. T., 1994.** Diversity on actinomycetes and seaweeds from the Iberian coasts. Microbiologia, 10 : 413-422.
- **Grondona I., Hermosa R., Tejada M., Gomis M. D., Mateos P. S., Bridge P. D., Monte E. et Garcia-Acha I., 1997.** Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens. App. Environ. Microb., 63 (8) : 3189-3198.
- **Henni J. E., 1998.** Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum f.SP lycopersici*. Doctorat d'état en science de la nature (phytopathologie), Université d'Oran.

- **Howell C. R., 2003.** Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87: 4-10.
- **Hutchinson S. A. et Cowan M. E., 1972.** Identification and biological effects of volatil metabolite from cultures of *Trichoderma harzianum*. *Trans. Br.Mycol.Soc.*, 59 (1): 71-77.
- **Jacobsen B. J., 2006.** Biological control of plant diseases by phyllosphere applied biological control agents. *in: Microbial ecology of aerial plant surfaces.* Bailey M. J., Lilley A. K., Timms-Wilson T. M., Spencer-Phillips P. T. N., eds. *Athenaeum press*, Gateshead, UK, p. 133-147.
- **Kubicek C. P., Bissett J., Druzhinina I., Kullnig-Gradinger C. et Szakacs G., 2003.** Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma* sp.: a case study on South-East Asian isolates. *Fungal Genet. Biol.*, 38 (3): 310-319.
- **Labousse F., 1931.** L'antracnose du pois-chiche. *Rev. Pth. Entom. Agric.* 18, 226-231.
- **Lanusse M., Lung-escarmant B., Dubot B. et Taris B., 1983.** Etude « *in vitro* » des propriétés antagonistes de 8 espèces de *Trichoderma* à l'égard de deux souches d'*Armillaria mellea*. XXIV colloque de la société française de phytopathologie, pp179-192
- **Libert M. A., 1829-1831.** Mémoire concernant les plantes cryptogames qui peuvent être réunies sous le non d'Ascochytaei. *In : Plantes cryptogames quas in arduenna collegit.* Cent. 1. 1830,p. 7-8., Men. Soc. Sci. Agr. Lille 1929-1830 (1831): 174-176.
- **Madr, 2009.** Ministère de l'Agriculture et du développement Rural, Direction des statistiques.
- **Maslouhy M. A. N., 1989.** Contribution à l'étude *in vitro* et *in situ* des antagonistes de *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis*, agent causal du bayoud. Thèse doctorat, Université Cadi Ayyad, Faculté des sciences, Marrakech, 98 p.
- **Maude R., Kyle A., Moule C., et Dudley C., 1972.** Seed dressings with systemic fungicides for the control of seed-borne fungal pathogens. 22th Annual Report (1971). National Vegetable Research Station, Wellesbourne, Warwick, 75.
- **Mel'nik, V., Braun V. et Hagedorn G., 2000.** Key to fungi of the genus *Ascochyta* Lib (Coelomycètes), edition: Mitt. Bio, 379p.
- **Mesfek S. et Balabassi B., 2014.** Contribution à l'étude « *in vitro* » du pouvoir antagoniste de *Trichoderma harzianum* sur *Botrytis cinerea* agent responsable de « la pourriture grise » sur la tomate, Mém. Licence, Univ. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, 40p.
- **Moufras J. Y., 1996.** L'antracnose, perspectives agricole N° 212. I.T.C.F, pp6-17.
- **Moussaoui M., 2009.** Développement et extraction des métabolites secondaires de *Trichoderma viride* et leurs effets biologiquement actifs. Mémoire de master, Univ. Mentouri Constantine, 64p.

- **Munoz F. M., Demmler G. J., Travis W. R., Ogden A. K., Rossmann S. M. et Rinaldi M. G., 1997.** *Trichoderma longibrachiatum* infection in a pediatric patient with aplastic anemia. J. Clin. Microbiol., 1997, 35 (2) : 499-503.
- **Mwalyego F. M., 1992.** Effect of aresistant component in bean cultivar mixtures in the management of bean anthracnose. Proc. 10<sup>th</sup> SUA Workshop Bean Res. Tanzania. Sokoine University of Agriculture. Morogoro.Tanzania.
- **Ntahimpera N., Dillard H. R., Cobb, A. C. et Seem R. C., 1996.** Anthracnose development in mixtures of resistant and susceptible dry bean cultivars. Phytopathology, 86: 668-673.
- **Nyabyenda P., 2005.** Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique : Généralité légumineuses alimentaire plantes à tubercules et racines céréales. Ed. Les Presses Agronomique de Gembloux, Belgique, 223p.
- **Oliver J. M et German R., 1983.** Etude des antibiotiques volatiles des *Trichoderma* ; Les antagonismes microbiens, mode d'action et application à la lutte biologique contre les maladies des plantes. XXIV colloque de la société française de phytopathologie. Pp17-634.
- **Osorio-Hernández E., Hernández-Castillo F. D., Gallegos-Morales G., Rodriguez-Herrera R. et Castillo-Reyes F., 2011.** *In vitro* behavior of *Trichoderma* spp. against *Phytophthora capsici* Leonian. Afr. J. Agr. Res. 6: 4594-4600.
- **Petrak F., 1925.** Mykologische Notizen VIII.- Ann. Mycol. 23: 1-143.
- **Pitrat M. et Foury C., 2015.** Histoires de légumes : des origines à l'orée du XXIe siècle. Ed. Quae, France, 410p.
- **Pivkin M. V., 2000.** Filamentous fungi associated with holoturians from the Sea of Japan, off the Primorye coast of Russia. Biol. Bull., 198 (1): 101-109.
- **Prieto A., Leal J. A., Poveda A., Jiménez-Barbero J., Gómez-Miranda B., Domenech J., Ahrazem O. et Bernabé M., 1997.** Structure of complex cell wall polysaccharides isolated from *Trichoderma* and *Hypocrea* species. Carbohydrate Research, 304 (3-4): 281-291.
- **Ragnaud J. M., Marceau C., Roche-Bezian M. C. et Wone C., 1984.** Infection péritonéale à *Trichoderma koningii* sur dialyse péritonéale continue ambulatoire. Med. Maladies Infect., 1984, N° 7-8 : 402-405
- **Rappily F., 1968.** Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Ann Epiphyties, 60p.
- **Rifai M. A., 1969.** A revision of the genus *Trichoderma*. Mycol. Papers, 116: 1-56.
- **Roquebert M. F., 1996.** Interactions antagonistes des *Trichoderma* sp. dans les systèmes telluriques : Systématique, bilogie et écologie des organismes. Compte-rendu des 4èmes Rencontres en Toxicologie, Paris, 13-15.

- **Rouxel T., 1989.** Les phytoalexine et leur intervention dans la résistance hypersensible aux champignons phytopathogènes. *Agronomie* 9 :529-545.
- **Saiah F., 2004.** Contribution a l'étude de l'antracnose du pois (*Pisum sativum* L. ) dans la région de chlef : caractérisation morphologique, comportement variétal et essai de lutte biologique. Thèse de magister, Univ. Mstaganem, 104p.
- **Schirmböck M., Lorito M., Wang Y. L., Hayes C.K., Arisan-Atac I., Scala F., Harman G.E. et Kubicek C.P., 1994.** Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *Appl. Environ. Microb.*, 4364-4370.
- **Schuster A. et Schmoll M., 2010.** Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 87: 787–799.
- **Seguin, B. et Maumené C., 2002.** Traitement de semence contre le piétin échaudage . Latude : un nouveau produit spécifique. *Perspectives agricoles*, 282 :150-158.
- **Seguin B., 2003.** Géoréférencement du piétin échaudage et rendement. Mesure de l'efficacité et du comportement du traitement de semences Silthiofam. AFPP. Septième Conférence Internationale sur les maladies des plantes. Tours, France.
- **Shea K., Thrall P. H. et Burdon T. T., 2000.** An integrated approach to management in epidemiology and pest control. *Ecology letter*, 3:150-158.
- **Simon M, 1986.** Problèmes poses par les interaction de la variation des populations parasitaires. Les résistances génétique dans le système de protection des culture céréalières contre les champignons, virus et nématodes. Ed. INRA, pp117-128.
- **Sprague R. et Johnson A. G., 1950.** *Ascochyta* leaf spots of cereals and grasses in the United States.-*Mycologia*, 42: 523-55.
- **Thomashow L. S., 1996.** Biological control of plant root pathogens. *Current Opinion in Biotechnology*, 7: 343-347.
- **Tivoli B et Onfroy C., 1997.** A methodology in groth chamber to screen the pea resistance to *mychosphaerella pinodes* et *Phoma medicaginis Var pinodella*. Proceeding of the III<sup>rd</sup> international food legume research conference. Adelaide. Austria.pp 169-172.
- **Tivoli B. et Ney B., 1999.** l'antracnose du pois, mieux évalué sa nuisibilité pur mieux raisonner la protection de la culture. *Phtoma* 512 :16-20.
- **USDA, 2008.** Plants profile of *Pisum sativum* L. (garden pea). United States Department of Agriculture (USDA), Natural Resources Conservation Service (NRCS), Plants database.

- **Verbist J. F., 2000.** Marine fungal substances in: Studies in natural products chemistry. Londres: Elsevier Sciences B.V., 24: 979-1092.
- **Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E. L., Marra R., Woo S. L. et Lorito M., 2008.** *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biol. Biochem.* 40: 1–10.
- **Vining L. C., 1990.** Fonctions of secondary metabolites. *Annu. Rev. Microbiol.*, 44 : 395-427.
- **Viterbo A., Harel M., Horwitz B. A., Chet I. et Mukherjee P. K., 2005.** *Trichoderma* Mitogen-Activated Protein kinase signaling is involved in induction of plant systemic resistance. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 6241-6246.
- **Von Hohnel F., 1923.** System der fungi imperfecti Fuckel. Dan R . Falch, Mycologische Untersuchung und Berichte. Verl. Gotthelft, Cassel.
- **Walkaer J.C., 1952.** *Ascochyta* diseases. In: Diseases of vegetable crops. Ed. Mac Graw –Hill, Book company Inc, New-York, 529p.
- **Wallen V. R., 1965.** Field evaluation and the importance of the *Ascochyta* complex on pea. *Can JPlant Sci* 45: 27-33.
- **Wallen V.R., et Galway, D.A., 1977.** Studie on the biology and of *Ascochyta fabae* on faba bean. *Canadian Plant Disease Survey.* 57: 31-35.
- **Xue A. G, Warkentin T. D, Gossen B. D., Bwentt P. A., Wanderberg A. et Rashid K. Y., 1998.** Pathogenic variation of western Canadian isolates of *Mychosphaerella pinodes* on selected *Pisum* genotypes. *Can. J. of plant pathology*, 20:189-193.

### **Biblio-net:**

- **Anonyme :** Maladies et Ravageurs des Cultures Legumieres au Canada [phytopath.ca/wp-content/uploads/2014/10/.../photos15-pois-haricot.pdf](http://phytopath.ca/wp-content/uploads/2014/10/.../photos15-pois-haricot.pdf)
- **FAOSTAT, 2004.** <http://appsi.fao.org.fastat>.

## **Annexe 1: Milieux de culture**

### **Milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar)**

200 g de pomme de terre

20 g de glucose

20 g de gélose (Agar- Agar)

1000 ml d'eau distillée

PH=5,7

Peler, laver, couper en tranches minces les pommes de terre, cuire 15 à 20 minutes dans 200 ml d'eau distillée, filtrer sur mousseline et presser, ajouter le glucose au filtrat, compléter avec l'eau distillée le volume à 1000 ml.

Ajuster le Ph à =5,7 ajouter la gélose (Agar-Agar), la dissoudre. Autoclaver pendant 20 minutes à 120°C, puis couler sous la hotte, dans des boites de pétri stériles, laisser refroidir la solidification, enfin conserver les boites au frigo (4 à 5°C).

## **Annexe 2 : Etude statistique**

**Tableau 1 :** Croissance mycélienne d'*Ascochyta pisi* en (mm) en confrontation directe

Jours	18/04/2016	19/04/2016	20/04/2016	21/04/2016
Témoin	3,33	6,1	7,7	8,5
<i>A.pisi</i> et <i>T.H</i>	3	4,5	5,5	5,75
<i>A.pisi</i> et <i>T.A</i>	3,13	4,5	5	5,5

**Tableau 2 :** Croissance mycélienne d'*Ascochyta pinodes* en (mm) en confrontation directe

Jours	18/04/2016	19/04/2016	20/04/2016	21/04/2016
témoin	6	10	13,1	17,5
<i>A. pinodes</i> et <i>T.H</i>	4,75	8,25	10	10,25
<i>A.pinodes</i> et <i>T.A</i>	4,75	8	8,75	9,5

**Tableau 3 :** Croissance mycélienne d'*Ascochyta pinodella* en (mm) en confrontation directe

Jours	18/04/2016	19/04/2016	20/04/2016	21/04/2016
témoin	4,9	9,7	14,35	16,9
<i>A .pinodella</i> et <i>T.H</i>	4,13	7,65	8,75	9,4
<i>A .pinodella</i> et <i>T.A</i>	4	7,4	8,25	9,02

**Tableau 4 :** Croissance mycélienne d'*Ascochyta pisi* en (mm) en confrontation indirecte

Jours	18/04/2016	19/04/2016	20/04/2016	21/04/2016
Témoin	3,33	6,1	7,7	8,5
<i>A.pisi</i> et <i>T.H</i>	3	4,63	5,38	5,75
<i>A.pisi</i> et <i>T.A</i>	3	4,25	5,25	5,5

**Tableau 5 :** Croissance mycélienne d'*Ascochyta pinodes* en (mm) en confrontation indirecte

Jours	18/04/2016	19/04/2016	20/04/2016	21/04/2016
Témoin	6	10	14	17,5
<i>A.pinodes</i> et <i>T.H</i>	4,75	7,2	10,5	11,5
<i>A.pinodes</i> et <i>T.A</i>	4,25	7	10,25	11

**Tableau 6 :** Croissance mycélienne d'*Ascochyta pinodella* en confrontation indirecte

Jours	18/04/2016	19/04/2016	20/04/2016	21/04/2016
Témoin	4,9	9,7	14,35	16,9
<i>A. Pinodella</i> et <i>T.H</i>	4,4	8	10,3	11,25
<i>A.pinodella</i> et <i>T.A</i>	4,25	7,62	10,13	10,75

**Tableau 7 :** Vitesse de la croissance mycélienne d'*Ascochyta sp.* en confrontation directe

Souches	Témoin	<i>A. pisi</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pisi</i> et <i>T.A</i>	Témoin	<i>A. pinodes</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pinodes</i> et <i>T.A</i>	Témoin	<i>A. pinodella</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pinodella</i> et <i>T.A</i>
Vitesse (mm/j)	1,9	0,91	0,8	3,9	1,83	1,5	4,01	1,9	1,83

**Tableau 8 :** Vitesse de la croissance mycélienne d'*Ascochyta sp.* en confrontation indirecte

Souches	Témoin	<i>A.pisi</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pisi</i> et <i>T.A</i>	témoin	<i>A. pinodes</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pinodes</i> et <i>T.A</i>	Témoin	<i>A. pinodella</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pinodella</i> et <i>T.A</i>
Vitesse (mm/j)	2	1	0,9	4	2,25	2,08	4,01	2,28	2,1

**Tableau 9 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne d'*Ascochyta sp.* en confrontation directe

Souches	<i>A. pisi</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pisi</i> et <i>T.A</i>	<i>A. pinodes</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pinodes</i> et <i>T.A</i>	<i>A. pinodella</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pinodella</i> et <i>T.A</i>
T.I en %	50,27%	56,28%	53,07%	61,15%	52,61%	54,40%

**Tableau 10 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne d'*Ascochyta sp.* en confrontation indirecte

Souches	<i>A. pisi</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pisi</i> et <i>T.A</i>	<i>A. pinodes</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pinodes</i> et <i>T.A</i>	<i>A. pinodella</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pinodella</i> et <i>T.A</i>
T.I en %	45,35%	49,72%	42,30%	46,15%	43,14%	46,13%

**Tableau 11 :** Taux d'inhibition de la sporulation d'*Ascochyta sp.* en confrontation directe

Souches	<i>A. pisi</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pisi</i> et <i>T.A</i>	<i>A. pinodes</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pinodes</i> et <i>T.A</i>	<i>A. pinodella</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pinodella</i> et <i>T.A</i>
T.I en %	75,06	87,65	61,19	72,61	72,34	77,11

**Tableau 12 :** Taux d'inhibition de la sporulation d'*Ascochyta sp.* en confrontation indirecte

Souches	<i>A. pisi</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pisi</i> et <i>T.A</i>	<i>A. pinodes</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pinodes</i> et <i>T.A</i>	<i>A. pinodella</i> et <i>T.H</i>	<i>A. pinodella</i> et <i>T.A</i>
T.I en %	40,68	53,49	25,58	42,47	53,54	66,33