

## ÉTUDE DE COMPORTEMENT D'UNE COLLECTION DE POIS (*PISUM* SPP.) FACE À LA FUSARIOSE VASCULAIRE

MEKHALDI Delel<sup>1\*</sup>, RISPAIL Nicolas<sup>2</sup> et BENCHABANE Messaoud<sup>1</sup>

1. Laboratoire de Protection et de Valorisation des Ressources Agrobiologiques, Département des Biotechnologies, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Blida 1, Algérie.

2. Department of Plant Breeding, Institute for Sustainable Agriculture (IAS-CSIC), Cordoba, Spain.

Reçu le 10/12/2019, Révisé le 19/06/2020, Accepté le 24/06/2020

### Résumé

**Description du sujet :** La fusariose vasculaire présente un sérieux problème menaçant les cultures de pois. En raison de l'échec des procédures de lutte chimique, l'utilisation de cultivars résistants semble la méthode de lutte la plus adéquate pour favoriser les pratiques de l'agriculture durable.

**Objectifs :** Etude de niveau de résistance de 28 nouveaux génotypes de *Pisum* spp. issus de diverses lignées parentales, vis-à-vis de la fusariose vasculaire, dont deux génotypes cultivés localement et adaptés en Algérie (Merveille de Kelvedon et Séfrou).

**Méthodes :** Interaction des génotypes de *Pisum* spp. avec 4 souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* selon la technique d'inoculation par immersion racinaire dans les suspensions fongiques. L'expérimentation a été conduite dans des conditions semi-contrôlées sous serre en verre. Les comportements des génotypes de pois ont été analysés sur la base des symptômes exprimés, le taux d'infection, l'indice visuel de sévérité (VIS) et l'aire de progression de la maladie dans le temps (AUDPC).

**Résultats :** Les 4 souches du pathogène ont induit des symptômes typiques de la fusariose vasculaire chez le pois. A travers les paramètres étudiés, les analyses statistiques ont permis de classer le comportement des génotypes de pois selon l'expression de la maladie et leur interaction avec les souches inoculés.

**Conclusion :** Les paramètres d'évaluation ont permis de regrouper les interactions des 28 génotypes de pois avec les quatre souches pathogènes selon la gravité de la maladie. Les génotypes qui semblent tolérants ou relativement résistants à la fusariose vasculaire seront intégrés dans des programmes de sélection et d'amélioration des variétés cultivées.

**Mots clés :** *Pisum* spp. ; *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* ; génotypes ; comportement ; résistance.

## BEHAVIORAL STUDY OF PEA COLLECTION (*PISUM* SPP.) AGAINST FUSARIUM WILT

### Abstract

**Description of the subject:** Fusarium wilt is a serious problem threatening pea crops. Due to the failure of chemical control procedures, the use of resistant cultivars appears the most appropriate control method to promote sustainable agriculture practices.

**Objective:** Study of the resistance level of 28 new genotypes of *Pisum* spp. from various parental lines, against fusarium wilt, including two genotypes cultivated and adapted in Algeria (Kelvedon Wonder and Sefrou).

**Methods:** Interaction of *Pisum* spp. genotypes with 4 strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* using root immersion inoculation technique in fungal suspensions. The experiment was carried under semi-controlled conditions in a glass greenhouse. The behaviors of pea genotypes were analyzed based on expression of symptoms, the infection rate, the visual index of severity (VIS) and the area under the disease progress curve (AUDPC).

**Results:** The 4 pathogen strains induced typical symptoms of fusarium wilt. According to studied parameters, statistical analyses allowed the classification of pea's genotypes according to disease expression and their interaction with the inoculated strains.

**Conclusion:** The evaluation parameters permitted classification of the 28 pea genotypes with the four pathogenic strains according to the disease severity. Genotypes that seem tolerant or relatively resistant to fusarium wilt will be integrated into breeding and varieties selection programs.

**Keywords:** *Pisum* spp., *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*, genotypes, behavior, resistance.

\* Auteur correspondant: MEKHALDI Delel, E-mail: delelagro@yahoo.fr

## INTRODUCTION

Les légumineuses alimentaires sont connues parmi les cultures les plus importantes dans le monde, notamment dans les pays du bassin méditerranéen. Elles offrent un apport en protéines végétales pour l'alimentation humaine et animale et constituent un excellent précédent cultural dans les systèmes de production céréalière. Le pois (*Pisum sativum* L.) est compté comme la troisième légumineuse la plus cultivée dans le monde, en raison de sa consommation alimentaire croissante et de son adaptation, à la fois, aux régions chaudes de la Méditerranée et aux régions tempérées. Selon les statistiques de la FAO de l'an 2017, plus de 10 millions d'hectares de pois ont été cultivés dans le monde. Leur production a augmenté de 22,9 millions de tonnes en 2000 à près de 37 millions de tonnes en 2017 [1]. En Algérie, 46 280 ha ont été cultivés en pois frais et secs l'an 2018 avec une production de 197 675 tonnes [1]. Cette plante est considérée parmi les plus anciennes cultures domestiquées [2]. Bien qu'elle se pratique comme une culture homogène [3], une certaine hétérogénéité a été signalée chez des variétés traditionnelles et chez des cultivars et des génotypes anciens [4]. Le rendement des cultures de pois peut être affecté par divers stress biotiques, entre autre la fusariose vasculaire. L'agent pathogène en cause, *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop), est un champignon du sol qui provoque de graves pertes dans tous les pays où le pois est cultivé [5]. Ce pathogène tellurique peut survivre sous forme de chlamydospores, qui peuvent rester viables dans le sol pendant plus de 10 ans [6]. Fop est représenté principalement par quatre races différentes, classées selon leur capacité à induire la maladie dans un ensemble de lignées différentielles. Parmi ces races, les races 1 et 2 ont été signalées dans le monde entier [7]. Le contrôle de cette maladie se fonde principalement sur l'intégration des différentes méthodes de gestion, y compris les pratiques culturales [8], la désinfection des sols [9], le biocontrôle [10, 11] et l'amélioration de la résistance des génotypes cultivés [12, 13]. Bien qu'un programme de lutte intégrant toutes ces mesures doit être appliqué, l'utilisation de cultivars résistants reste l'approche la plus adéquate et la plus adaptée aux pratiques de l'agriculture durable [14]. Pour améliorer la résistance des cultivars, les génotypes sauvages ou cultivés sont considérés comme une source potentielle de gènes.

Donc, le criblage de collections de ces génotypes constitue une étape indispensable dans la recherche de nouvelles sources de résistance naturelle. Cependant, avant de pouvoir être utilisées dans les programmes d'amélioration des plantes, leurs niveaux de résistance à Fop doivent être évalués. Dans ce contexte, le présent travail vise à étudier le comportement d'une collection de 28 nouveaux génotypes de *Pisum* spp. issus de diverses lignées parentales, vis-à-vis de quatre souches de Fop, dont deux génotypes cultivés localement et adaptés en Algérie (Merveille de Kelvedon et Séfrou). Les expérimentations sont conduites en condition semi-contrôlées sous serre en verre en Algérie (département des Biotechnologies de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, université Blida 1), afin de les utiliser ultérieurement comme sources de gènes de résistance. Ces génotypes font l'objet d'une recherche approfondie de leur comportement face à de nombreux stress biotiques (mildiou, oïdium et orobanche) et abiotiques (sécheresse et salinité) au niveau de l'institut de l'agriculture durable (IAS-CSIC, Cordoue, Espagne), dans le but d'élargir leur aire de culture dans les pays de la région méditerranéenne.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. Matériel végétal

L'étude concerne une collection de 28 génotypes issus de populations spontanées et de variétés cultivées de *Pisum* spp. Les génotypes appartiennent aux deux espèces *P. fulvum* et *P. sativum*. Cette dernière renferme plusieurs sous-espèces à savoir *sativum*, *arvense*, *elatius*, *jormadi* et *syriacum*. Les semences des deux génotypes Séfrou et Merveille de Kelvedon, cultivés localement, ont été fournies par l'Institut Technique des Grandes Cultures de Sétif (ITGC, Sétif). Leur utilisation dans notre travail a pour objectif d'évaluer leur comportement vis-à-vis de Fop. Les semences des 26 autres génotypes sont issues de l'Institut de l'Agriculture Durable de Cordoue (IAS-CSIC, Cordoba, Spain) (Tableau 1).

### 2. Matériel fongique

Quatre souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (R1, R2F42, Arg1 et Arg3) fournies par l'IAS-CSIC (Cordoue, Espagne) sont utilisées dans les inoculations fongiques.

3. La souche R1 appartient à la race 1, alors que les souches R2F42, Arg1 et Arg3 sont de la race 2 (Tableau 2).

La régénération des souches fongiques, fournies initialement sous forme mycélienne sur papier filtre stérilisé, a été réalisée par ensemencement sur le milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*) et incubation à 28°C pendant cinq jours.

#### **Suspensions fongiques**

4. Les suspensions fongiques ont été préparées en prélevant des disques mycéliens à partir des cultures de Fop âgées de 4 à 5 jours (sur milieu PDA). Les disques ont été mis dans des flacons contenant 200 ml du milieu liquide PDB (*Potato Dextrose Broth*) et incubés à 25°C, sous agitation continue (170 rpm). Après 5 jours, les spores sont récupérées par filtration de la suspension à travers les mailles de 2 compresses stériles. À l'aide d'une cellule de Malassez, la concentration des filtrats a été ajustée à  $5 \times 10^6$  spores/ml [15].

#### **5. Pré-germination des graines**

Les graines des différents génotypes ont été superficiellement désinfectées pendant 20 min dans une solution d'hypochlorite de sodium (20%) puis rincées deux fois avec de l'eau distillée stérile. Elles sont par la suite enveloppées dans un papier filtre stérilisé et humecté et placées dans des boîtes de Pétri et mises en incubation à 25°C. Après leur germination, les graines sont transférées dans des pots de 250 ml de volume contenant de la perlite stérilisée (à deux reprises à 250°C pendant 1h). Les pots sont ensuite maintenus sous serre en polycarbonate en conditions ambiantes (température :  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , hygrométrie : 60-70%, photopériode : 10h jour/14h nuit).

#### **6. Inoculation des plantules**

Pour procéder à l'inoculation avec les souches de Fop, nous avons appliqué la méthode d'immersion des racines décrite par Haglund [15]. Au stade de deux à trois nœuds, les plantules sont dépotées et leurs racines sont délicatement lavées sous l'eau du robinet pour enlever le substrat de culture adhérent (perlite stérile). Un tiers du système racinaire a été coupé du reste de la racine, avant l'immersion dans la suspension de spores fongiques, pendant 5 min à la température ambiante. Les témoins sont traités de la même façon en remplaçant la suspension fongique par l'eau distillée stérile. Tous les traitements effectués (inoculation des 28 génotypes par les quatre souches + témoins) ont été répétés 6 fois.

Après l'inoculation, les plantules de pois sont transplantées dans leurs pots et incubées sous serre jusqu'à la fin de l'expérimentation, avec des arrosages à l'eau courante selon le besoin.

#### **7. Paramètres étudiés**

- *Symptomatologie* : après sept jours d'inoculation, l'évaluation du comportement des différents génotypes a été effectuée périodiquement, après trois jours, durant une période de végétation de 31 jours. La notation des symptômes s'est basée sur le descriptif symptomatologique typique de la maladie adopté dans plusieurs travaux [5, 6, 13, 16]. Les symptômes s'expriment dès les premiers stades végétatifs par un flétrissement et un jaunissement des feuilles suivis par un dessèchement et/ou la mort de la plante.

- *Taux d'infection (TI%)* : Il s'agit d'un paramètre distinctif [13, 14, 17], utilisé pour différencier les réactions des génotypes de *Pisum* spp. Il est représenté par la proportion de feuilles symptomatiques par rapport au nombre total de feuilles.

8. *Sévérité des symptômes (VIS Visual Index of Severity)* : Cet indice de sévérité est le mieux indiqué dans plusieurs études pour évaluer la résistance du pois vis-à-vis de la fusariose vasculaire [13, 17, 18]. L'utilisation de l'échelle de sévérité des symptômes apporte une meilleure quantification de la maladie, car elle considère les symptômes au niveau de la feuille et donne une meilleure idée de la proportion affectée chez la plante, reflétant ainsi le degré et la quantité de la maladie. L'échelle utilisée contient 5 niveaux. [13] (Fig. 1). La valeur finale est représentée par la moyenne des valeurs VIS de l'ensemble des feuilles de chaque plante.

#### **9. Analyse statistique**

Les résultats des valeurs VIS, des taux d'infection et des valeurs AUDPC ont subi une analyse de variance (ANOVA) en utilisant le logiciel statistique «Systat» vers. 12. Le calcul des moyennes des VIS, des taux d'infection et des valeurs AUDPC a été effectué en utilisant le même logiciel, dont les différences sont significatives en se basant sur la plus petite différence au seuil  $\alpha \leq 5\%$ .

Tableau 1 : Génotypes du pois étudiés

Génotypes de pois	Espèces correspondantes	Source
J1 1412, J1 1760, J1 1559, J1 2480, Radley, Polar, Messire, 74SN5, New Season, 1123, 2946	<i>Pisum sativum</i> ssp. <i>sativum</i>	IAS-CSIC, Cordoue, Espagne
Merveille de Kelvedon	<i>Pisum sativum</i> ssp. <i>sativum</i>	ITGC, Sétif, Algérie
P21, P614, P615	<i>P. sativum</i> ssp. <i>elatius</i>	IAS-CSIC, Cordoue, Espagne
P42, P627, P632, P633, P634, P638	<i>P. sativum</i> ssp. <i>arvense</i>	IAS-CSIC, Cordoue, Espagne
Séfrou	<i>P. sativum</i> ssp. <i>arvense</i>	ITGC, Sétif, Algérie
P650	<i>P. sativum</i> ssp. <i>jormadi</i>	IAS-CSIC, Cordoue, Espagne
P665	<i>P. sativum</i> ssp. <i>syriacum</i>	IAS-CSIC, Cordoue, Espagne
P656, P316, P669, P651	<i>P. fulvum</i>	IAS-CSIC, Cordoue, Espagne

Tableau 2 : Souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop)

Souche de Fop	Race	Origine et provenance
R1	Race 1	Souches de référence USDA-ARS, Pullman, USA (IAS-CSIC, Cordoue, Espagne)
R2F42	Race 2	
Arg1 et Arg3	Race 2	Isolées à partir des plantes symptomatiques et identifiées par PCR (IAS-CSIC, Cordoue, Espagne)



Figure 1 : Echelle de l'évaluation des symptômes de la fusariose vasculaire [13].

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

AUDPC (*Area Under the Disease Progress Curve*) : Nous avons calculé l'AUDPC qui intègre l'intensité des symptômes et leur progression dans le temps. Les valeurs des taux d'infection ont été utilisées pour le calculer selon l'équation suivante [19]. Dont :  $x_i$ : taux d'infection estimé à la date  $i$  ;  $x_{i+1}$  : taux d'infection estimé à la date  $i+1$  ;  $t_{i+1}$ : nombre de jours entre la date  $i$  et la date  $i+1$ . Les calculs des valeurs effectives des taux d'infection, des VIS et des AUDPC ont été réalisés comparativement aux témoins sains.

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

## RÉSULTATS

### 1. Symptomatologie

Les premiers symptômes de la fusariose vasculaire du pois, ont été détectés sur les génotypes Messire, P21 et 2946, 7 à 10 jours après l'inoculation. Les symptômes de la maladie apparaissent sur les premières feuilles et atteignent progressivement les jeunes feuilles jusqu'au dessèchement complet et la mort de la plante entière de certains génotypes comme c'est le cas du génotype Messire infecté par la souche R2F42 (Fig. 2). Au niveau foliaire, les symptômes débutent par le jaunissement et/ou la courbure vers le bas des extrémités du limbe. Le jaunissement progresse ensuite à travers la feuille et s'associe avec une nécrose progressive jusqu'à ce que la feuille entière flétrisse et se dessèche (Fig. 2).

Les quatre souches de Fop utilisées provoquent le même tableau symptomatologique sur les génotypes étudiés. Dans nos essais en conditions semi-contrôlées, nous avons constaté que la souche R2F42 cause des symptômes plus intenses sur les génotypes susceptibles tels que Messire, P21, P634, P669, et Séfrou (Fig. 3). Pour une même souche, la réponse de chaque génotype a été très variable. Généralement, les symptômes de flétrissement progressent beaucoup plus rapidement chez les génotypes Messire, P21 et 2946 que chez d'autres tels que Radley, Merveille de Kelvedon et P665. En parallèle avec les symptômes foliaires, la souche R2F42, appartenant à la race 2 du pathogène, a causé une décoloration rouge foncé à brun sur les racines et le collet de la plupart des génotypes testés.

Les souches R1, Arg1 et Arg3 de Fop n'ont pas causé cette décoloration, et les racines et collet de tous les génotypes inoculés avec ces souches ont présenté une couleur normale (Fig. 4).

### 2. Taux d'infection et VIS

Les différentes méthodes d'évaluation de la maladie ont révélé une grande variabilité chez les interactions étudiées (souches de Fop et génotypes du pois). Ainsi, l'analyse de la variance des valeurs de taux d'infection et de VIS a mis en évidence des différences très hautement significatives entre les comportements des 28 génotypes .

suite à leur inoculation avec les quatre souches de Fop ( $p < 0,005$ ). Selon les taux d'infection enregistrés, les deux génotypes JI 1760 et 74SN5 sont les plus résistants à la souche Arg 1 ( $TI < 5\%$ ), tandis que les quatre génotypes 2946, P21, P634 et Messire sont les plus sensibles à la souche R2F42 ( $TI > 60\%$ ). Quant aux valeurs VIS, le génotype P627 inoculé avec la souche R1, s'est avéré le plus susceptible ( $VIS = 2,56$ ), suivi par P633 (2,52), P615 (2,47), P665 (2,41), P650 (2,29), Séfrou (2,23) et 2946 (2,15). Les deux génotypes qui s'avèrent les moins susceptibles envers cette souche sont Radley et P651 ( $VIS < 1,2$ ) (Fig. 5.A). En interaction avec la souche R2F42, les génotypes 2946 et P21 s'avèrent les plus sensibles ( $VIS > 4$ ). Les génotypes qui sont les plus résistants sont Radley, P656, P651, JI 1559 et Merveille de Kelvedon ( $VIS < 1,5$ ) (Fig. 5.B). Tous les génotypes étudiés inoculés avec la souche Arg1, ont enregistré des valeurs VIS inférieures à 2,5 (Fig. 5.C). En interaction avec la souche Arg3, les deux génotypes 2946 et P615 ont présenté des valeurs VIS dépassant la valeur de 2. Les autres génotypes ont enregistré des valeurs inférieures à 2 (Fig. 5.D).

En prenant les cinq génotypes Merveille de Kelvedon, P651, P21, 2946 et 74SN5 comme exemple (Fig. 6), nous constatons que la cinétique des valeurs VIS durant la période du suivi a révélé la progression très rapide de la maladie chez les génotypes inoculés avec la souche R2F42, avec laquelle l'apparition des premiers symptômes a été notée à partir du 7<sup>ème</sup> ou 10<sup>ème</sup> jour après l'inoculation. La seule exception est le génotype Merveille de Kelvedon qui a montré un temps de latence plus long, puisque les symptômes n'ont commencé à être visibles qu'à partir du 22<sup>ème</sup> jour (Fig. 6). En interaction avec les souches R1, Arg1 et Arg3, les génotypes qui sont avérés les plus susceptibles (2946 et P21), ont développé les premiers symptômes à partir du 7<sup>ème</sup> jour pour atteindre des valeurs avoisinant 3, 16 jours après l'inoculation. Les génotypes les plus résistants (Merveille de Kelvedon et P651) ont enregistré une cinétique très lente avec apparition des premiers symptômes 13 jours (R1), 16 jours (Arg1) et 19 jours (Arg3) après leur inoculation (Fig. 6).

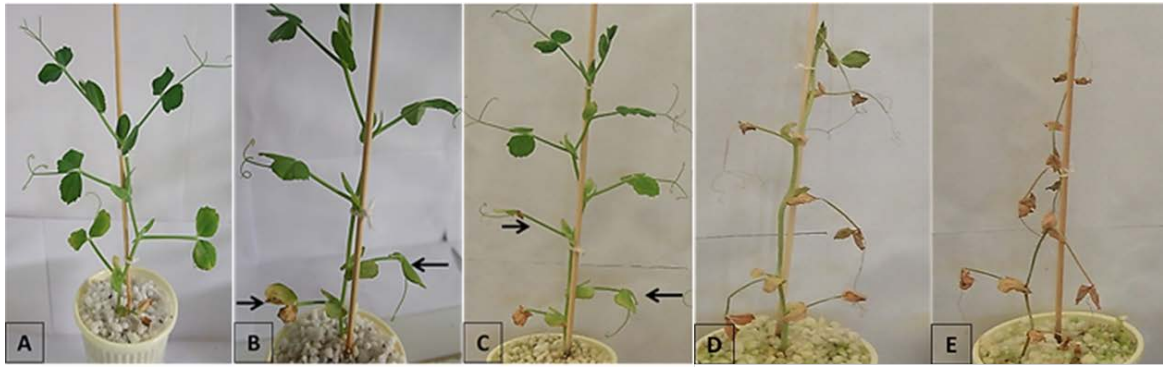


Figure 2 : Progression des symptômes de la fusariose vasculaire chez le génotype Messire inoculé avec la souche R2F42

(A) 7 jours, (B) 13 jours, (C) 19 jours, (D) 27 jours et (E) 31 jours après l'inoculation.

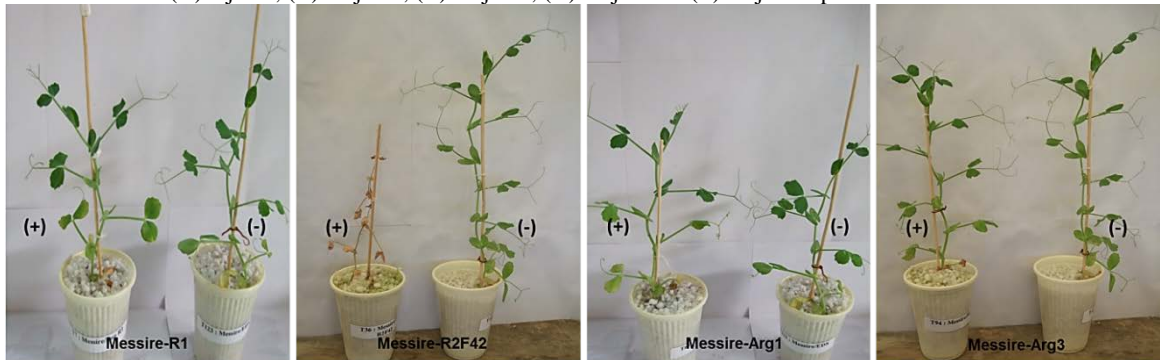


Figure 3 : Comportement du génotype Messire 31 jours après l'inoculation

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

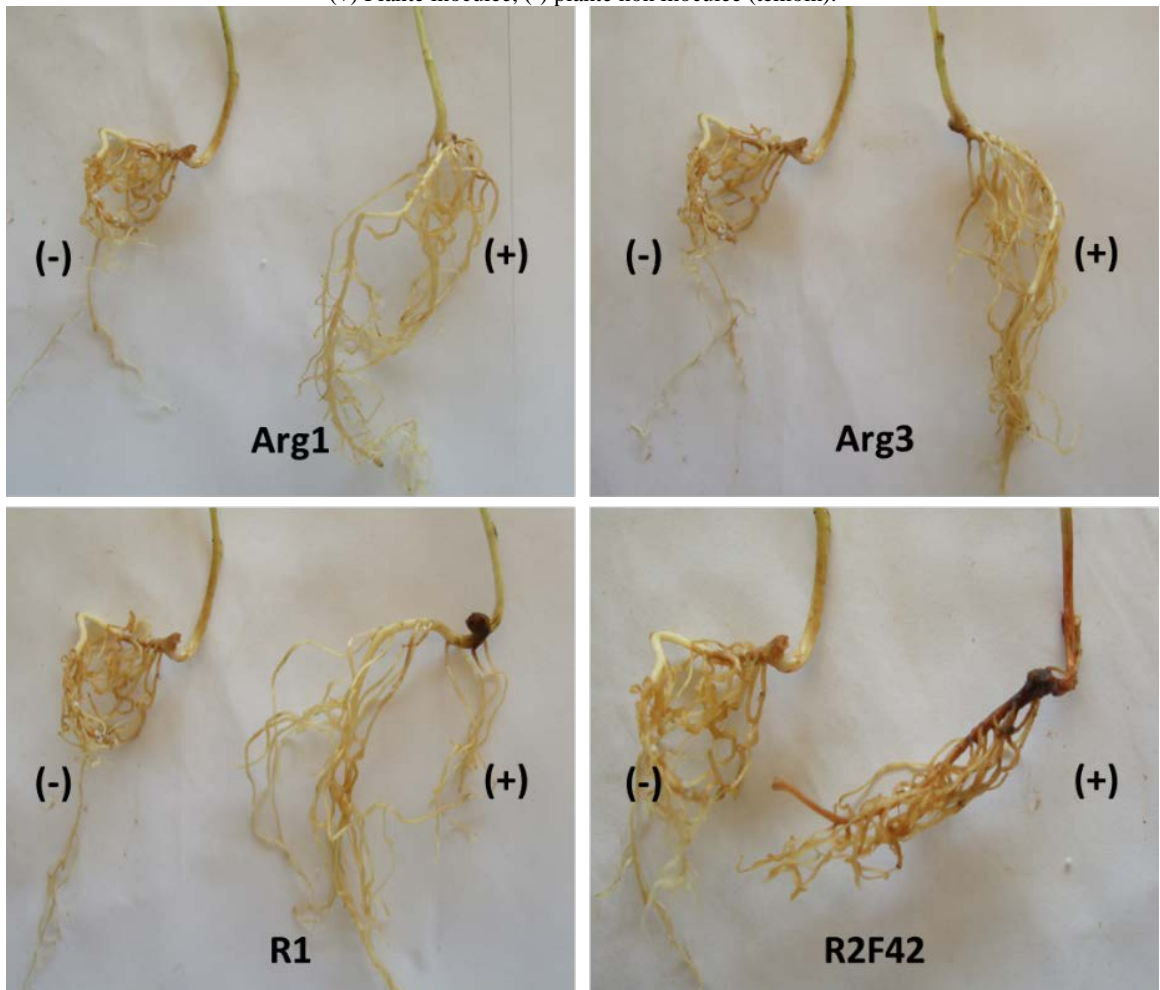


Figure 4 : Aspect des racines du génotype P632, 31 jours après l'inoculation

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

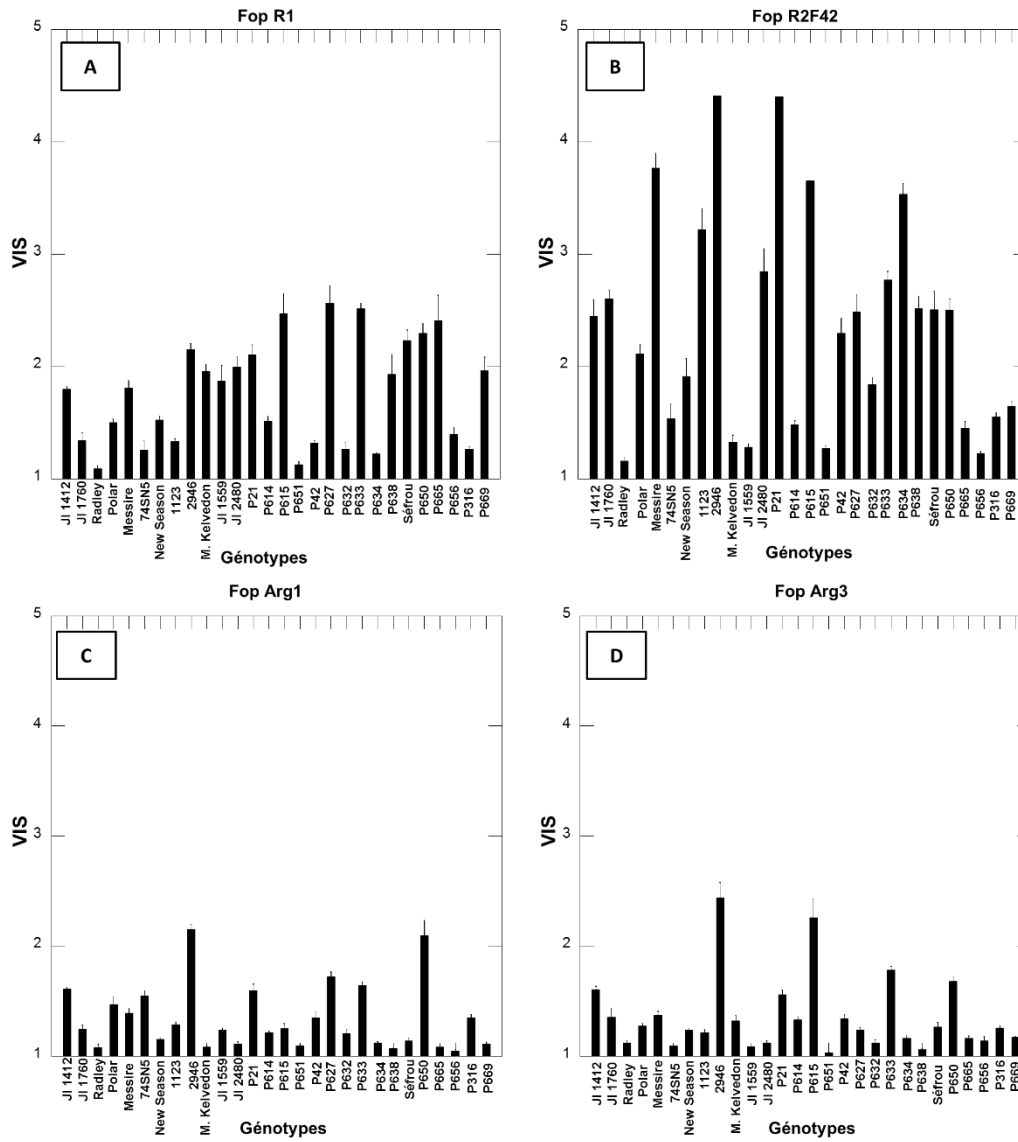


Figure 5 : Valeurs effectives de VIS des 28 génotypes de pois 31 jours après l'inoculation

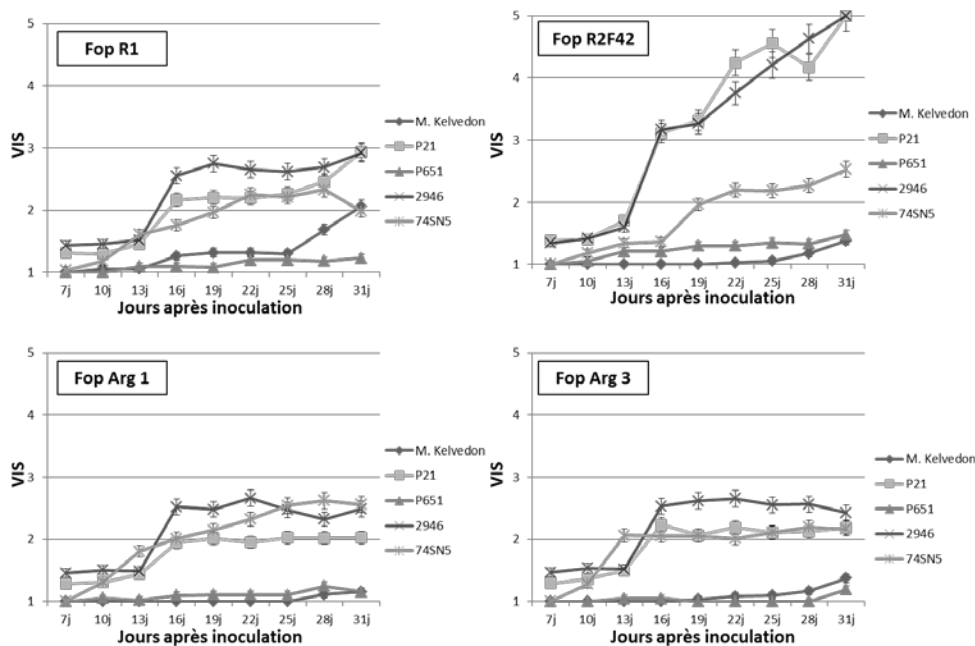


Figure 6 : Evolution des valeurs VIS des génotypes 74SN5, 2946, P21, P651, et Merveille de Kelvedon

### 3. AUDPC

En interaction avec la souche R1, les valeurs les plus importants ont été enregistrés chez les génotypes P627, P633 et 2946 (AUDPC > 600), tandis que les plus faibles ont été enregistrés chez les génotypes Radley et P651 (AUDPC < 150) (Fig. 7.A). En interaction avec la souche R2F42, les génotypes P21, 2946 et P615 sont les plus sensibles (AUDPC > 900), alors que les génotypes Merveille de Kelvedon, JI 1559 et Radley sont les plus résistants (AUDPC < 250) (Fig. 7.B). En interaction avec la souche Arg1, le génotype le plus sensible était 2946, suivi par les génotypes P627 et P633 (AUDPC > 550). Les trois génotypes Merveille de Kelvedon, New Season et JI 1559 étaient les plus résistants (AUDPC < 105) (Fig. 7.C). Pour la souche Arg3, le génotype 2946 est le plus sensible, suivi par le génotype P633. Le génotype JI 1559 est le plus résistant à cette souche .

suivi par les génotypes P651, JI 2480 et P632 (Fig. 7.D, Tableau 3).

Le calcul des valeurs minimales et maximales d'AUDPC 4 groupes distincts (Fig. 8) : (i) Groupe A : JI1559 a enregistré des AUDPC < 250 ; (ii) Groupe B : JI1412, JI 1760, Radley, Polar, 74SN5, New Season, Merveille de Kelvedon, JI2480, P651, P42, P632, P656, P316 et P699, ont montré des valeurs relativement faibles ( $0 \leq \text{AUDPC} \leq 500$ ) ; (iii) Groupe C : Messire, 1123, P627, P633, P634, P638, Séfrou et P650 ont enregistré des valeurs intermédiaires ( $100 \leq \text{AUDPC} \leq 750$ ) ; (iv) Groupe D : 2946, P21 et P615 qui ont enregistré les AUDPC les plus élevés ( $250 \leq \text{AUDPC} \leq 1000$ ). Le génotype P665 a enregistré les plus grandes variations fluctuant entre 0 et plus de 500 indiquant une différence très marquée de susceptibilité selon la souche de Fop testée.

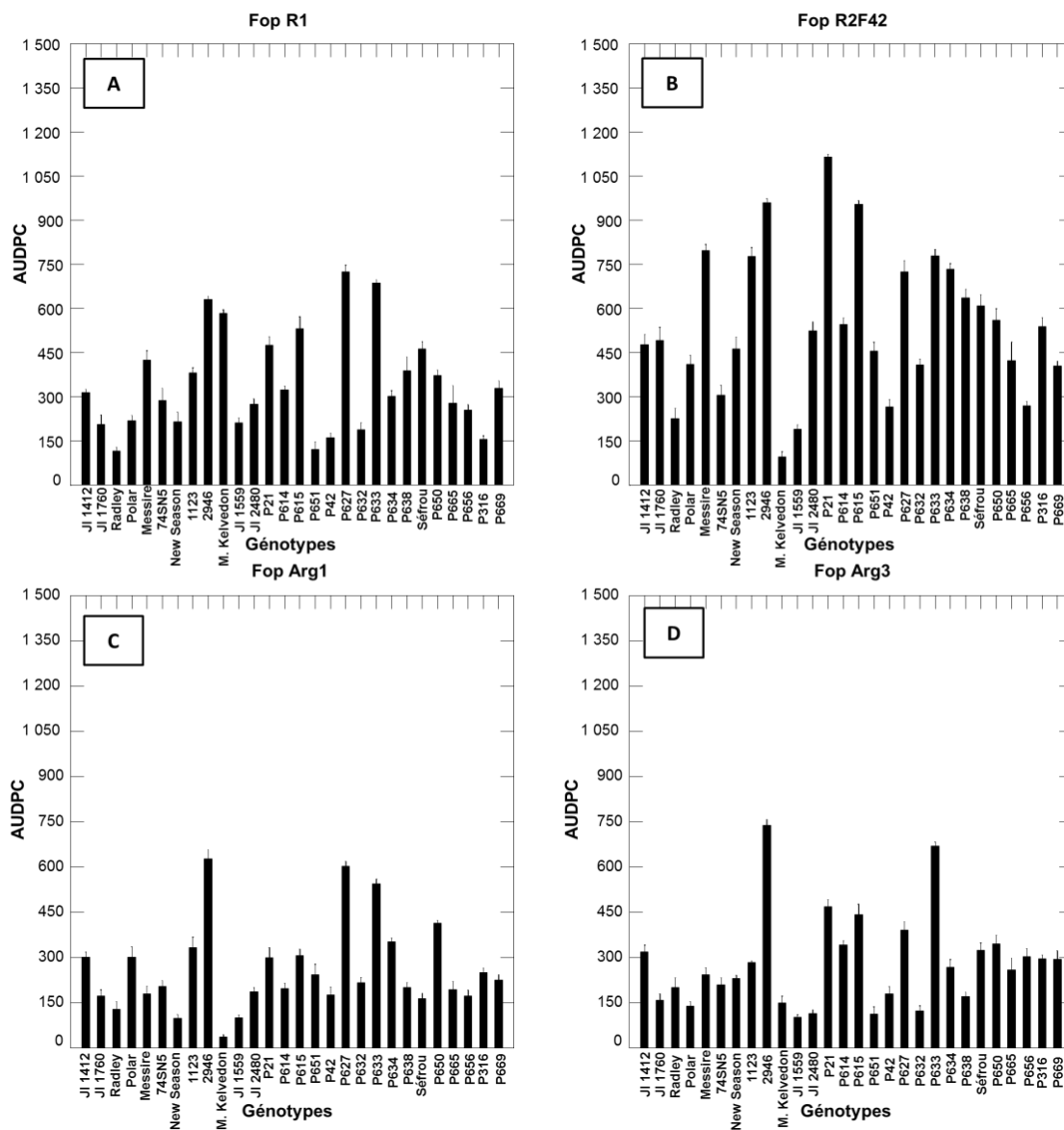




Figure 7 : Valeurs effectives d'AUDPC des 28 géotypes de pois  
 Tableau 3 : Valeurs moyennes d'AUDPC des 28 géotypes de pois.

Géotypes	Souches de Fop			
	R1	R2F42	Arg1	Arg3
JI 1412	321,9 ± 6,4	482,3 ± 5,4	301,8 ± 6,6	318,2 ± 6,5
JI 1760	202,9 ± 13,6	502,3 ± 5,6	174,5 ± 5,1	161,9 ± 4,4
Radley	103,8 ± 5,3	221,2 ± 8,5	138,5 ± 6,7	203,3 ± 6,1
Polar	212,1 ± 6,2	403,1 ± 6,2	304,3 ± 8,9	146,1 ± 8,8
Messire	423,8 ± 6,9	802,8 ± 3,1	187,6 ± 6,1	249,9 ± 4,7
74SN5	291,2 ± 9,8	305,0 ± 8,5	213,9 ± 5,5	225,1 ± 5,5
New Season	211,3 ± 7,2	462,1 ± 5,9	101,9 ± 2,7	241,1 ± 3,1
1123	376,7 ± 6,6	790,0 ± 3,4	348,4 ± 7,6	287,2 ± 1,5
2946	625,3 ± 3,2	957,7 ± 2,6	639,2 ± 4,2	748,3 ± 3,4
M. Kelvedon	596,5 ± 3,4	98,3 ± 4,9	42,5 ± 2,8	152,5 ± 4,6
JI 1559	210,1 ± 8,8	202,5 ± 4,2	104,8 ± 3,2	99,4 ± 2,6
JI 2480	268,7 ± 9,2	526,1 ± 4,8	195,3 ± 3,5	108,1 ± 5,9
P21	478,4 ± 5,3	1121,1 ± 1,9	304,5 ± 9,1	474,2 ± 5,2
P614	324,4 ± 7,5	548,6 ± 4,7	206,8 ± 7,6	350,9 ± 7,1
P615	526,9 ± 15,3	952,6 ± 2,1	307,9 ± 8,3	446,5 ± 7,2
P651	105,1 ± 7,7	455,1 ± 5,5	248,2 ± 11,0	103,5 ± 3,4
P42	152,9 ± 5,4	250,5 ± 10,1	177,5 ± 11,1	180,2 ± 7,1
P627	742,2 ± 4,8	736,8 ± 3,7	606,9 ± 3,4	389,2 ± 6,5
P632	193,2 ± 6,6	405,6 ± 6,1	219,1 ± 4,1	119,9 ± 4,4
P633	688,1 ± 2,9	787,6 ± 3,2	553,3 ± 4,4	682,1 ± 3,7
P634	300,7 ± 8,2	748,1 ± 3,2	350,2 ± 7,3	263,4 ± 9,9
P638	389,1 ± 7,6	651,6 ± 3,7	211,3 ± 4,4	172,9 ± 6,1
Séfrou	455,9 ± 6,1	605,8 ± 4,3	152,6 ± 5,7	321,6 ± 8,0
P650	371,7 ± 6,5	557,1 ± 4,8	416,9 ± 3,8	353,7 ± 7,6
P665	271,7 ± 12,7	436,5 ± 12,7	200,1 ± 6,1	260,2 ± 6,9
P656	252,1 ± 9,9	251,9 ± 9,7	175,7 ± 6,6	305,1 ± 8,9
P316	151,7 ± 3,3	544,4 ± 5,1	252,1 ± 9,8	299,2 ± 8,2
P669	329,2 ± 7,6	403,8 ± 6,1	227,6 ± 5,1	297,5 ± 9,4

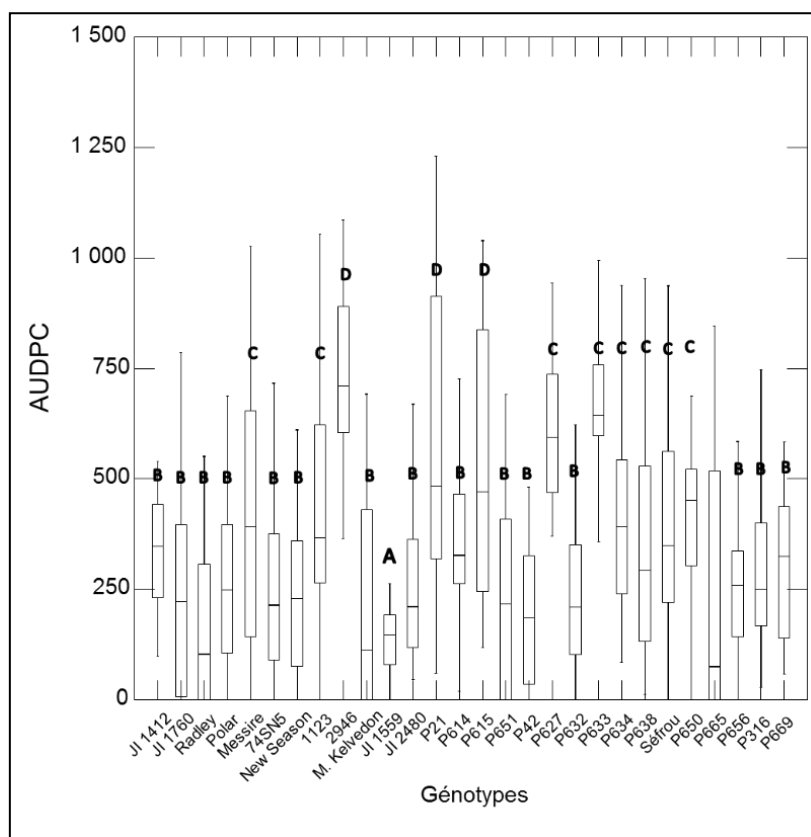


Figure 8 : Valeurs minimales et maximales d'AUDPC correspondant aux 28 géotypes étudiés

## DISCUSSION

La fusariose vasculaire cause un ensemble de symptômes externes, incluant l'éclaircissement des nervures, l'enroulement des feuilles, le flétrissement, le jaunissement, les nécroses puis la mort de la plante [20]. L'association de ces symptômes a été signalée chez les génotypes sensibles de pois en réponse aux quatre races de *Fop*. Ce tableau symptomatologique peut être le résultat d'un déficit hydrique dû à l'occlusion des vaisseaux [20] ou de la combinaison des activités du pathogène, telles que la condensation du mycélium dans les cellules du xylème et/ou la production de toxines [18]. En plus des symptômes foliaires, la souche R2F42 a induit une décoloration au niveau des racines et collets des génotypes sensibles. Selon Kraft et Pflieger [5] et Kraft *et al.* [16], cette décoloration vasculaire progresse de la racine vers la tige et elle est généralement plus intense en réponse à la race 2 du champignon. Les différentes méthodes d'évaluation de la maladie utilisées dans ce travail, nous ont permis de distinguer les réponses des 28 génotypes face aux quatre souches de *Fop*. La résistance ou la susceptibilité d'un génotype donné est relative à la souche de *Fop* utilisée. C'est le cas par exemple du génotype Merveille de Kelvedon qui a enregistré une valeur effective d'AUDPC de 584,52 avec la souche R1, alors qu'il a enregistré une valeur de 36,64 avec la souche Arg1. Cette variabilité envers les différentes souches du même pathogène peut être la conséquence d'une spécificité du biotype pathogène vis-à-vis des différents cultivars de la même espèce hôte [21]. Quant aux deux génotypes localement cultivés en Algérie, Merveille de Kelvedon a montré un niveau de résistance très important envers les trois souches appartenant à la race 2 du pathogène (R2F42, Arg1 et Arg3), tandis qu'il est partiellement résistant à la race 1 représentée par la souche R1. Pour le génotype Séfrou, il a montré une résistance partielle envers les deux souches R1 et R2F42, alors qu'il est résistant aux deux souches Arg1 et Arg3. Selon les travaux de Neumann et Xue, les génotypes de pois peuvent être classés selon leurs VIS enregistrés. On peut distinguer 3 types comportements différents : les génotypes qui présentent des valeurs de VIS entre 1 et 3 sont considérés comme résistants, tandis que les génotypes qui présentent des valeurs entre 3 et 4 sont classés comme partiellement résistants et les valeurs dépassant le niveau 4 sont considérés comme susceptibles [17].

L'étude menée par Bani *et al.* [13], a révélé une variabilité des réponses de 73 accessions de *Pisum* spp. face à la souche R2F42 de *Fop*, qui varient entre résistance et susceptibilité, en incluant des résistances partielles. Une telle variabilité de réponses suggère que la résistance de la collection étudiée de *Pisum* spp. à cette souche est de nature quantitative. Comme résultat de cette étude, 11 nouvelles sources de résistance ont été identifiées et confirmées, qui peuvent être utiles dans des programmes d'amélioration. La résistance aux quatre races de *Fop* est contrôlée par des gènes héréditaires et dominants. La résistance à la race 1 est contrôlée par un seul gène dominant (*Fw*) qui est intégré dans la plupart des variétés cultivées [22]. La résistance à la race 2 est aussi conférée par un gène dominant *Fwn* [5], bien qu'il a été démontré que plusieurs gènes peuvent être impliqués [7]. La résistance à la race 5 est contrôlée par le gène dominant *Fwf* [23, 24]. Les gènes de résistance à la race 2 n'ont pas été encore assignés à un emplacement chromosomique [25]. En exprimant ces gènes, les génotypes résistants peuvent activer plusieurs mécanismes de défense tels que la production de callose [26], la synthèse des phénols estérifiés dans la paroi cellulaire [27] et l'accumulation de la pisatine [28]. Parmi les quatre souches utilisées de *Fop*, R2F42 s'avère la plus virulente en enregistrant des valeurs du taux d'infection, de VIS et d'AUDPC les plus importantes, suivie par la souche R1 puis les deux souches Arg1 et Arg3. Une étude sur la pathogénicité de 5 souches de *Fop* (incluant les deux souches R2F42 et Arg3), a révélé le rôle majeur des toxines, notamment l'acide fusarique et l'acide 9,10- déhydrofusarique, dans la pathogénicité et la virulence de *Fop* [29].

## CONCLUSION

Le suivi symptomatologique et le calcul des paramètres d'évaluation de la fusariose vasculaire nous a permis de différencier le comportement de 28 génotypes de pois vis-à-vis de quatre souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*. Les réponses de ces génotypes varient entre résistance, résistance partielle et sensibilité, ce qui révèle la nature quantitative de la résistance du *Pisum* spp. face à cet agent phytopathogène. Les génotypes ayant montré des niveaux importants de résistance (Radley, Polar, 74SN5, New Season, Merveille de Kelvedon, JI1559, P42 et P656), peuvent être intégrés dans des programmes de croisement et d'amélioration, pour mieux les exploiter comme sources de résistance.

Cependant, ça sera avantageux de poursuivre les études sur ces génotypes afin de caractériser les mécanismes responsables de la résistance/tolérance à Fop de manière à favoriser les mécanismes les plus durables. Il est aussi nécessaire de continuer la caractérisation des populations locales de Fop et d'approfondir les recherches sur les mécanismes pouvant différencier la virulence de ce pathogène. Finalement, il sera intéressant aussi d'étudier le comportement de ces mêmes génotypes vis-à-vis d'autres maladies et stress abiotiques, pour une exploitation durable et intégrée.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. FAOSTAT (2019). <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC>.
- [2]. Zohary D. and Hopf M., (2000). Domestication of Plants in the Old World. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford University Press, New York, p. 316.
- [3]. Weiss E. and Zohary D. (2011). The Neolithic southwest Asian founder crops. *Curr. Anthropol*, 52: S237 - S254.
- [4]. Smýkal P., Hýbl M., Corander J., Jarkovský J., Flavell A.J. and Griga M. (2008). Genetic diversity and population structure of pea (*Pisum sativum* L.) varieties derived from combined retrotransposon, microsatellite and morphological marker analysis. *Theor. Appl. Genet.*, 117: 413 - 424.
- [5]. Kraft J.M. and Pflieger F.L. (2001). Compendium of Pea Diseases. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 67p.
- [6]. Kraft J.M. (1994). Fusarium wilt of peas (a review). *Agronomie*, 14: 561 - 567.
- [7]. Infantino A., Kharrat M., Riccioni L., Coyne C.J., McPhe, K.E. and Grunwald N.J. (2006). Screening Techniques and Sources of Resistance to Root Diseases in Cool Season Food Legumes. *Euphytica*, 147: 201 - 221.
- [8]. Navas-Cortes J.A., Hau B. and Jimenez-Diaz R.M. (1998). Effect of sowing date, host cultivar, and race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* on development of fusarium wilt of chickpea. *Phytopathology*, 88: 1338 - 1346.
- [9]. Momma N., Momma M. and Kobara Y. (2010). Biological soil disinfection using ethanol: effect on *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and soil microorganisms. *Journal of General Plant Pathology*, 76: 336 - 344.
- [10]. Alabouvette C., Olivain C., Migheli Q. and Steinberg C. (2009). Microbiological control of soil-borne phytopathogenic fungi with special emphasis on wilt-inducing *Fusarium oxysporum*. *The New Phytologist*, 184: 529 - 544.
- [11]. Yala A., Chouih S., Rispaill N. et Benchabane M. (2018). Biocontrôle des trachéomycoses par les PGPR: cas de la fusariose du pois avec *Pseudomonas fluorescens*. *Agrobiologia*, 8 (2): 1110-1116.
- [12]. Sharma A., Rathour R., Plaha P., Katoch V., Khalsa G.S., Patial V., Singh Y. and Pathania N.K. (2010). Induction of fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*) resistance in garden pea using induced mutagenesis and in vitro selection techniques. *Euphytica*, 173: 345 - 356.
- [13]. Bani M., Rubiales D. and Rispaill N. (2012). A detailed evaluation method to identify sources of quantitative resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* race 2 within a *Pisum* spp. germplasm collection. *Plant Pathology*, 61: 532 - 542.
- [14]. Lebeda A., Švábová L. and Dostálová R. (2010). Screening of peas for resistance to fusarium wilt and root rot (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*). In: *Mass Screening Techniques for Selecting Crops Resistant to Diseases FAO/IAEA*, Vienna, 189 - 196.
- [15]. Haglund, W.A. (1989). A rapid method for inoculating pea seedlings with *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. *Plant Disease*, 73 (6): 457 - 458.
- [16]. Kraft J.M., Larsen R.C. and Inglis D.A. (1998). Diseases of pea. In: Allen, D.J. and Lenné J.M. (Eds), *The Pathology of Food and Pasture Legumes*. CAB International, Wallingford, UK, 325 - 370.
- [17]. Neumann S. and Xue A.G. (2003). Reactions of field pea cultivars to four races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. *Can. J. Plant Sci.*, 83: 377 - 379.
- [18]. Charchar M. and Kraft J.M. (1989). Response of near-isogenic pea cultivars to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* Races 1 and 5. *Can. J. Plant Sci.*, 69: 1335 - 1346.
- [19]. Teng P.S. and James W.C. (2002). Disease and yield loss assessment. In: Waller, J.M., Lenné, J.M. and Waller, S.J. (eds), *Plant pathologist's pocketbook 3rd ed*, CAB International, Wallingford, UK, 25 - 38.
- [20]. MacHardy W.E. and Beckman C.H. (1983). Vascular wilt fusaria: infection and pathogenesis. In: Nelson PE, Tousson TA, Cook RJ, eds. *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*, University Park, PA, USA: The Pennsylvania State University Press, 365 - 90.
- [21]. Lepoivre, P. (2003). Les mécanismes de résistance et la spécificité parasitaire », In : *Phytopathologie, 1ère édition, De Boeck et Larcier, Bruxelles, Belgique*, 161 - 191.

- [22]. **Grajal-Martin M.J. and Muehlbauer F.J. (2002)**. Genomic location of the *Fw* gene for resistance to fusarium wilt race 1 in peas. *Journal of Heredity*, 93: 291 - 293.
- [23]. **Coyne C.J., Inglis D.A., Whitehead S.J. and Muehlbauer F.J. (2000)**. Chromosomal location of *Fwf* in pea. *Pisum Genetics*, 32: 20 - 22.
- [24]. **Okubara P.A., Inglis D.A., Muehlbauer F.J. and Coyne C.J. (2002)**. A novel RAPD marker linked to the fusarium wilt race 5 resistance gene (*Fwf*) in *Pisum sativum*. *Pisum Genetics*, 34 : 6 - 8.
- [25]. **Bani M. (2015)**. Multidisciplinary approaches including histological, biochemical and molecular tools to study the resistance mechanisms to fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* in pea (*Pisum sativum*). *PhD thesis, Department of genetics, University of Cordoba, Spain*, 187 p.
- [26]. **Beckman C.H. (2000)**. Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defense responses in plants. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 57: 101 - 110.
- [27]. **Vidhyasekaran P. (2008)**. Fungal Pathogenesis in Plants and Crops: Molecular Biology and Host Defense mechanisms. *CRC Press, Boca Raton*, 536p.
- [28]. **Bani M., Cimmino A., Evidente A., Rubiales D. and Rispail N. (2018)**. Pisatin involvement in the variation of inhibition of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* spore germination by root exudates of *Pisum* spp. germplasm. *Plant pathology*, <https://doi.org/10.1111/ppa.12813>.
- [29]. **Bani M., Rispail N., Evidente A., Rubiales D., and Cimmino A. (2014)**. Identification of the Main Toxins Isolated from *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* Race 2 and Their Relation with Isolates Pathogenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 62: 2574 - 2580.