



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de microbiologie..... قسم الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Mycologie et biotechnologie fongique

## Intitulé :

---

**La recherche de champignons phytopathogènes infectants le petit pois  
(*Pisum sativum*. L). Essai *in vitro*, de lutte biologique contre les souches  
phytopathogènes isolées.**

---

Présenté par :

KHOUALDA Amina

Le : 09/2020

Jury d'évaluation :

**Présidente du jury :** Melle. ABDELAZIZ Wided (Maitre de Conférences B- UFM Constantine).

**Rapporteur :** Mme. LEGHLIMI Hind (Maitre de Conférences A- UFM Constantine).

**Examineur :** Mr. BOULAHROUF Khaled (Maitre de Conférences B- UFM Constantine).

*Année universitaire*

*2019 – 2020*



## Remerciements

*Je tiens à remercier et rendre grâce à Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage et la volonté de mener au bon terme ce modeste travail.*

*Je remercie tous ceux qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, ou m'encourager au cours de ce mémoire. Je commence par :*

*Mme LEGHLEMI Hind*

*Maitre de conférences classe A à l'université des frères Mentouri, que je remercie d'avoir accepté de m'encadrer et de contribuer ainsi à l'élaboration de ce mémoire, et pour son aide précieuse, sa disponibilité, sa bienveillance et ses conseils judicieux, je vous exprime ma gratitude.*

*J'adresse d'autre part mon remerciement*

*Melle ABDELHAYE Wided*

*Maitre de conférences classe B à l'université des frères Mentouri, l'honneur qu'il m'a fait d'accepter de présider le jury.*

*Je tiens également à remercier*

*Mr BOULAHROUF Khaled*

*Maitre de conférences classe B à l'université des frères Mentouri, qui a donné de son temps pour examiner ce travail et faire partie du jury.*

*Je remercie aussi l'ensemble du personnel des laboratoires de Zoologie et de Microbiologie à l'université frères Mantouri*

*A vous tous, un grand merci*

## *Dédicace*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,*

*L'amour, le respect, la reconnaissance...*

*Aussi, c'est tout simplement que*



*Je dédie ce mémoire ...*

*À ma très chère et douce maman,*

*Elle est toujours près de moi, m'encourage, me conseille, me soutien et qui n'a jamais cessé de prier pour moi. Aucun mot ne peut exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu as fait depuis ma naissance à ce jour. Merci maman, que dieu te garde et te protège.*

*A mon très cher père*

*À son âme pure, merci de m'avoir donné la vie. Que Dieu ait pitié de toi, mon père, et fasse de toi le paradis et que Dieu protège les pères du monde.*

*À mon fiancé « Amir »*

*Mon ange gardien... La source de grand courage tout le moment de travail et toujours à côté de moi merci.*

*A mes charmantes Sœurs*

*Wassila, Moufida, Soumia et Hadjer, Je vous exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.*

*A mon cher frère « Brahim »*

*Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*A mes chers Amies :*

*Nourhane, Sarra et Nourhane merci pour les bons moments qu'on a et tous les étudiants de ma promotion.*

*Tous mes professeurs qui j'ai enseigné et à tous ceux qui je suis chers.*

*KHOUALDA Amina*

# Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

## Partie 1: Revue bibliographique

Chapitre 1 : Le petit pois (*Pisum sativum*. L)..... 2

1 Le petit pois (*Pisum sativum*. L)..... 3

1.1 Origine et historique..... 3

1.2 Nomenclature et classification..... 3

1.3 Etymologie ..... 4

1.4 Composition chimique et valeur nutritionnelle ..... 4

1.5 Cycle biologique ..... 5

1.6 Description botanique des petits pois/ Phénologie ..... 5

1.6.1 Le système racinaire..... 5

1.6.2 La tige..... 6

1.6.3 Les feuilles ..... 6

1.6.4 Les fleurs ..... 6

1.6.5 Le fruit..... 7

1.6.6 La graine..... 7

1.6.7 Diagramme floral..... 7

1.7 Principales exigences écologiques et climatiques de la plante..... 8

1.7.1 Climat ..... 8

1.7.2 Lumière ..... 9

1.7.3	Eau .....	9
1.7.4	Sol .....	9
1.7.5	Azote .....	9
1.8	Les variétés du petit pois .....	9
1.9	Production de petit pois .....	10
1.9.1	Production mondial .....	10
1.9.2	En Algérie.....	12
1.10	Intérêt du Pois .....	14
1.10.1	Intérêt agronomique et écologique .....	14
1.10.2	Intérêt nutritionnel .....	14
<b>Chapitre 2 : Les champignons phytopathogènes .....</b>		<b>15</b>
2	Les champignons phytopathogènes .....	15
2.1	Généralités sur les champignons.....	15
2.2	Classification .....	16
2.2.1	Les Chytridiomycètes .....	16
2.2.2	Les Zygomycètes .....	16
2.2.3	Les Ascomycètes .....	16
2.2.4	Les Basidiomycètes .....	17
2.2.5	Les Deutéromycètes.....	17
2.3	Mode de reproduction .....	17
2.3.1	Reproduction asexuée .....	17
2.3.1.1	Le bourgeonnement et la fission binaire.....	17
2.3.1.2	La fragmentation et la sporulation .....	18
2.3.2	Reproduction sexuée .....	19
2.4	Les champignons phytopathogènes .....	19
2.4.1	Généralités.....	19
2.4.2	Cycle de maladie.....	20
2.4.3	Les maladies phytopathogènes .....	20
2.4.3.1	Les maladies non parasitaires .....	21

2.4.3.2	Les maladies parasitaires .....	21
□	Les maladies touchantes les organes aériens.....	21
□	Les maladies touchantes le sol.....	23
<b>Chapitre 3 : La lutte biologique.....</b>		<b>23</b>
3	La lutte biologique .....	23
3.1	Historique .....	23
3.2	Définition.....	23
3.3	Types de lutte biologique .....	24
3.3.1	Lutte biologique classique ou par introduction .....	24
3.3.2	Lutte biologique par augmentation .....	25
3.3.3	Lutte biologique par protection .....	25
3.4	Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique.....	25
3.4.1	Antibiose .....	25
3.4.2	Compétition .....	26
3.4.3	Parasitisme.....	26
3.4.4	Induction des systèmes de résistance de la plante hôte.....	27
3.4.5	Diminution de l'agressivité du pathogène.....	27
3.5	Les microorganismes de lutte biologique les plus utilisés .....	28
3.6	L'intérêt de la lutte biologique dans le contrôle des maladies phytopathogènes .....	29
<b>Partie 2: Partie expérimentale</b>		
<b>Matériel et méthodes.....</b>		<b>31</b>
1	Site d'échantillonnage .....	31
2	Échantillonnage .....	32
3	Matériel végétal .....	33
4	Pré-traitement et mise en culture des échantillons.....	34
4.1	Milieu de culture.....	34
5	Méthodes d'isolement .....	34
5.1	Désinfection des échantillons .....	34
5.2	Séchage et ensemencement des échantillons.....	34



## Résumé

L'objectif de la présente investigation est d'isoler et d'identifier les mycètes phytopathogènes des petits pois (*Pisum sativum*. L), et d'évaluer *in vitro* le potentiel d'inhibition de *Trichoderma longibrachiatum*, et deux fongicides chimiques (Milor et Curenox) sur la croissance mycélienne des souches phytopathogènes isolées. Les petits pois analysés sont à provenance d'un champ de culture de la région agricole Messida inférieure, commune Messaoud Boudjeriou, wilaya de Constantine (Algérie). Les résultats ont permis d'obtenir 38 isolats fongiques à partir des différents échantillons prélevés (feuilles, racines et petites racines). Les isolats obtenus appartenant à six genres : *Rhizopus sp* avec 9 isolats (23,68%) ; *Mucor* 7 isolats (18,42%), *Aspergillus* 7 isolats (18,42%), *Alternaria* 6 isolats (15,79%) ; *Rhizomucor* 4 isolats (10,53%) ; *Absidia* 3 isolats (7,89%) ; et un genre non identifier avec 2 isolats (5,26%). La lutte biologique est envisagée, par essai de la souche *Trichoderma longibrachiatum*, afin de tester son pouvoir antagoniste soit par confrontation directe ou à distance vis-à-vis les isolats pathogènes. En parallèle, un traitement chimique est aussi prévu dans le but d'une comparaison. Les résultats des études actuelles, prouvent que le genre *Trichoderma* présente une activité antifongique importante, et nécessite d'être exploiter.

**Mots clés :** Les maladies fongiques, petits pois, champignons phytopathogènes, la lutte biologique, *Trichoderma*.



## **Abstract**

The objective of the present investigation is to isolate and identify phytopathogenic fungi of peas (*Pisum sativum*. L), and to evaluate *in vitro* the inhibition potential of *Trichoderma longibrachiatum*, and two chemical fungicides (Milor and Curenox) on the mycelial growth of isolated phytopathogenic strains. The peas analysed came from a crop field in the lower Messida agricultural region, Messaoud Boudjeriou commune, wilaya of Constantine (Algeria). The results obtained allowed 38 fungal isolates from different samples taken (leaves, roots and small roots). The isolates obtained belonging to six genera: *Rhizopus* with 9 isolates (23,68%); *Mucor* 7 isolates (18,42%), *Aspergillus* 7 isolates (18,42%), *Alternaria* 6 isolates (15,79%); *Rhizomucor* 4 isolates (10,53%); *Absidia* 3 isolates (7,89%); and an unidentified genus with 2 isolates (5,26%). Biological control is envisaged, by testing the *Trichoderma longibrachiatum* strain, in order to test its antagonistic power either by direct or remote confrontation with pathogenic isolates. In parallel, a chemical treatment is also planned for the purpose to compare the effect of the two methods. The results of current studies prove that the genus *Trichoderma* has significant antifungal activity, and needs to be exploited.

**Keywords:** Fungal diseases, peas, phytopathogenic fungi, the biological struggle, *Trichoderma*.

الهدف من هذا البحث هو عزل وتعريف الفطريات الممرضة لنبات البازلاء (*Pisum sativum. L*) و تقييم قدرة تثبيط *Trichoderma longibrachiatum* في المختبر, و اثنين من مبيدات الفطرية الكيميائية (Curenox و Milor) على النمو الفطري لسلاسلات ممرضة للنبات المعزول. جاءت البازلاء التي تم تحليلها من الحقل المحصول في منطقة مسيدة الزراعية السفلى، مسعود بوجريو، ولاية قسنطينة(الجزائر)

اسفرت النتائج عن 38 عزلة فطرية من عينات مختلفة تم جمعها (أوراق وجذور وجذور صغيرة). تنتمي العزلات الى ستة اجناس: *Rhizopus* مع 9 عزلات (23,68%)؛ *Mucor* مع 7 عزلات (18,42%)؛ *Aspergillus* مع 7 عزلات (18,42%)؛ *Alternaria* مع 6 عزلات (15,79%)؛ *Rhizomucor* مع 4 عزلات (10,53%)؛ *Absidia* مع 3 عزلات (7,89%)؛ و جنس غير معروف بعزلتين (5,26%). يتوخى المكافحة البيولوجية عن طريق اختبار سلالة *Trichoderma longibrachiatum*، من أجل اختبار قوتها العدائية إما عن طريق المواجهة المباشرة أو البعيدة مع العزلات المسببة للأمراض. في موازاة ذلك، يتم التخطيط أيضًا للمعالجة الكيميائية لغرض المقارنة. تثبت نتائج الدراسات الحالية أن جنس *Trichoderma* له نشاط كبير مضاد للفطريات ويجب استغلاله

**الكلمات المفتاحية:** الأمراض الفطرية، البازلاء، الفطريات الممرضة للنبات، المكافحة البيولوجية، *Trichoderma*

## Liste des abréviations

**Ala** : Alpha linoléinique

**AFSSA** : Agence française de sécurité sanitaire des aliments

**°C** : Degré Celsius

**C.D.T.A** : Centre de développement des technologies avancées

**cm** : Centimètre

**CNTRL** : Le centre national de ressource textuelles et lexiales

**FAO** : l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

**g** : Gramme

**ha** : Hectare

**IC%** : *Inhibition coefficient*

**ISR** : Résistance systémique induit

**IBS 1** : Inhibiteur de la biosynthèse des stérols 1

**IBS 2** : Inhibiteur de la biosynthèse des stérols 2

**Kcal**: Kilocalorie

**Kg**: Kilogramme

**kj**: Kilo joule

**m** : Mètre

**mg** : Mili gramme

**Mt** : mégatonne

**P**: *Pseudomonas*

**PGPB**: *Plant Growth Promoting Bacteria*.

**PTYV** : Viroses du pois jaunisse apicale du pois

**Subsp** : sub espèce

**µg** : Micro gramme

**Var** : variété

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Système racinaire ( <b>Bissuel, 2012</b> ). .....	6
<b>Figure 2</b> : Structure d'une plante de petit pois ( <b>Boyeldieu, 1991</b> ). .....	8
<b>Figure 3</b> : Répartition de la production mondiale du pois frais ( <b>FAO, 2009</b> ). .....	12
<b>Figure 4</b> : Production mondiale du pois 1961-2007 ( <b>FAO, 2009</b> ) .....	12
<b>Figure 5</b> : Evolution de la superficie, production et rendement de pois sec en Algérie entre 2002-2012 ( <b>FAO, 2013</b> ). .....	13
<b>Figure 6</b> : Evolution de la superficie, production et rendement de pois frais en Algérie entre 2002-2012 ( <b>FAO, 2013</b> ). .....	13
<b>Figure 7</b> : Illustration de la fission binaire et du bourgeonnement chez les levures ( <b>Abedon, 1997</b> ). .....	18
<b>Figure 8</b> : Illustration des différentes étapes de la sporulation chez <i>Saccharomyces paradoxus</i> ( <b>Solomon, 2007</b> ) .....	18
<b>Figure 9</b> : Illustration de la reproduction sexuée chez les ascomycètes ( <b>Florimont, 2009</b> ). .....	19
<b>Figure 10</b> : Site de prospection au niveau de l'Est Algérien, Wilaya de Constantine (Messoud Boudjeriou) ( <b>Google maps ; 11/08/2020</b> ) .....	31
<b>Figure 11</b> : Diagramme climatique de la température et de la pluviométrie en fonction du nombre de jours de pluie ( <b>C.D.T.A</b> ) .....	32
<b>Figure 12</b> : Le champ de prélèvement des échantillons ( <b>Messoud Boudjeriou</b> ) mars 2020. ....	32
<b>Figure 13</b> : Désinfection de l'échantillon à l'hypochlorite de sodium. ....	34
<b>Figure 14</b> : Séchage et ensemencement des échantillons .....	35
<b>Figure 15</b> : Confrontation directe de <i>Trichoderma longibrachiatum</i> et l'isolat pathogène par contact directe sur milieu PDA ( <b>Hibar, 2005</b> ). .....	37
<b>Figure 16</b> : Confrontation à distance entre <i>Trichoderma longibrachiatum</i> et l'isolat pathogène ( <b>Hamouni, 1996</b> ). .....	37
<b>Figure 17</b> : Les fongicides utilisés dans la lutte chimique (A) Curenox, (B) Milor. ....	38
<b>Figure 18</b> : Isolement des souches fongiques à partir des gousses. ....	39
<b>Figure 19</b> : Répartition numérique des isolats fongiques obtenus des échantillons du petit pois étudiés ( <i>Pisum sativum</i> . L). .....	40
<b>Figure 20</b> : Répartition en pourcentage des genres fongiques isolés à partir du petit pois ( <i>Pisum sativum</i> . L). .....	42
<b>Figure 21</b> : Influence de confrontation directe de <i>Trichoderma sp.</i> Contre <i>Alternaria</i> ( <b>Bougoufa et Guendouzi, 2018</b> ). .....	50
<b>Figure 22</b> : Inhibition de la croissance d' <i>Alternaria sp</i> en présence de deux fongicide (Milor et Curenox) ( <b>Bougoufa et Guendouzi, 2018</b> ). .....	51

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Variétés de petit pois et pois mange-tout ( <b>Messiaen, 2010</b> ) .....	10
<b>Tableau 2</b> : Maladies du petit pois ( <b>Brink et Belay, 2006 ; Chaux et Foury, 1994 ; Messaien, 1991</b> ). ....	22
<b>Tableau 3</b> : Agents de la lutte biologique utilisés contre des agents phytopathogènes ( <b>Errakhi, 2008</b> ).....	29
<b>Tableau 4</b> : Quelque agents antagonistes commercialisés sous forme de produits biologiques utilisés dans le traitement de certaines maladies phytopathogènes ( <b>Sabaratham et Traquair, 2002 ; Jijakli, 2003 ; Punja et Utkhede, 2003</b> ).....	30
<b>Tableau 5</b> : Les symptômes des maladies cryptogamiques rencontrés chez le petit pois prélevé .....	33
<b>Tableau 6</b> : Quantification des isolats fongique à partir des échantillons du petit pois ( <i>Pisum sativum</i> . L). .	41
<b>Tableau 7</b> : Nombre et pourcentage totale des espèces fongiques isolés à partir du petit pois. ....	41
<b>Tableau 8</b> : Les isolats fongiques obtenus à partir des feuilles de trois plantes infectés du petit pois ( <i>Pisum sativum</i> . L).....	42
<b>Tableau 9</b> : Les isolats fongiques obtenus à partir des racines de trois plantes infectés du petit pois ( <i>Pisum sativum</i> . L).....	45
<b>Tableau 10</b> : Les isolats fongiques obtenus à partir des petites racines de trois plantes infectés du petit pois ( <i>Pisum sativum</i> . L). ....	47

## *Introduction générale*

## Introduction générale

---

En Algérie, la culture des légumineuses alimentaires a un insert national car leurs grains constituent une source protéique de qualité et à bas prix pour une large couche de la population.

L'état souhaite développer la production afin de mieux satisfaire les besoins, de réduire les importations et de limiter la dépendance économique vis-à-vis de l'étranger. La libéralisation de l'agriculture a probablement des effets importants, dans la mesure où elle laisse la décision de l'assolement aux agriculteurs. Parmi les légumineuses alimentaires, le pois occupe la place la plus importante tant au niveau de sa superficie que de sa production.

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

Cependant, l'inquiétude envers les maladies phytopathogènes devient de plus en plus grave du fait de l'extension des cultures intensives. Par conséquent les pertes économiques sont énormes. D'après la **F.A.O, (1999)** les maladies phytopathogènes réduisent de 12 à 14% la production agricole mondiale, 70% des dommages étant d'origine fongique.

Par ailleurs, la majorité des maladies des plantes sont causées par les champignons telluriques, largement distribuées dans le sol, provoquant les pourritures des cultures aussi ils endommagent des nombreuses espèces d'arbres forestiers. À l'instar des autres pays, les maladies dues aux champignons telluriques sont rencontrées en Algérie. Entres autres les fusarioses qui affectent diverses cultures : des lentilles (**Belabid, 2004**), du pois chiche (**Bouregghda et Bouzned, 2009**) et le palmier dattier (**Sabaou, 1983**). Par ailleurs, l'helminthosporiose (**Bouzerzour, 1994**), les taches chocolat (**Bouznad, 2001**) et la verticilliose (**Bellahcene, 2005**) menacent les cultures en Algérie.

Malgré l'importance de la culture de petit pois, le rendement de cette culture n'a que très peu progressé en comparaison avec les céréales. Les maladies fongiques en sont l'un des principaux facteurs limitants. Parmi elles, l'antracnose du pois une maladie très répandue en Algérie, arrive en premier chez les maladies cryptogamiques que redoute cette culture. Elle est provoquée par trois espèces appartenant au genre *Ascochyta* (*Ascochyta pisi*, *Ascochyta pinodes*

## Introduction générale

---

et *Ascochyta pinodella*) formant un complexe parasitaire. Ces trois espèces infectent généralement toutes les parties aériennes de la plante provoquant, ainsi des dégâts très préjudiciables du point de vue économique.

A cet effet, la stratégie de lutte qui complète l'ensemble des moyens de protection prophylactique, biologique et génétique reste la lutte chimique. Elle consiste généralement à empêcher la germination des spores et le développement du pathogène après une invasion réussie

Dans cette optique s'insère le présent travail : qui a pour objectif de démontrer la flore fongique accompagnant extérieurement et intérieurement trois plantes de petit pois (*Pisum sativum*. L) possédant des symptômes variés ainsi que, l'évaluation de l'activité inhibitrice de la souche *Trichoderma longibrachiatum* sur la croissance des souches fongiques phytopathogènes isolés.

L'approche est effectuée en deux grandes parties :

- ✓ La 1ère partie : une synthèse bibliographique, sous forme de trois chapitres : le premier chapitre c'est une description générale du petit pois, le deuxième chapitre étudie les champignons phytopathogènes de la plante en question et en dernier chapitre, c'est la lutte biologique.
- ✓ La 2ème partie : c'est une description des protocoles expérimentaux divisée en deux chapitres, le 1er chapitre est une présentation du protocole utilisé pour l'isolement, la purification et l'identification des champignons accompagnants la plante du petit pois et essai *in vitro* de lutte biologique contre ces souche phytopatogènes, le deuxième chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus et une discussion générale.

---

*Partie 1 : Revue bibliographique*

---

---

*Chapitre 1 : Le petit pois (Pisum sativum. L)*

---

## 1 Le petit pois (*Pisum sativum*. L)

### 1.1 Origine et historique

Théophraste, trois siècles avant notre ère, dans son livre intitulé "recherches sur les plantes" a décrit plusieurs espèces de la famille actuelle des légumineuses et notamment le pois (Davies, 1985). Il est consommé depuis environs 5000 ans avant Jesus Christ, et était déjà très apprécié dans les civilisations anciennes (Smart, 1990).

Les origines primaires du pois se situent vraisemblablement dans le sud-ouest d'Asie, Abyssinie en Afghanistan et les régions avoisinantes (Zohary et Hopf, 2002) ; la région méditerranéenne constitue un centre secondaire. A partir de ces centres, le pois se serait dispersé dans le reste de l'Europe et de l'Asie (Kay et Makasheva, 1985).

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

De nombreux botanistes ont décrit différentes formes sauvages qui ne diffèrent que par quelques caractères morphologiques. Parfois, ces types ont constitué des espèces différentes, dont la dénomination rappelle fréquemment le lieu d'origine. Mais le plus souvent, ils sont considérés comme appartenant à des sous espèces de *Pisum sativum* : *Pisum sativum arvense* (Linné), *elatius* (Bieb Stev), *abyssinium* (Braum), *jomaradi* (Schrank), *asiatium*, *humile transcaucasicum*, *aethiopicum* et *unbellatum*. Tous ces groupes peuvent être croisés entre eux, il est donc logique de les considérer comme faisant partie de la même espèce.

Par contre, les croisements avec les genres voisins : *Lathyrus*, *Vicia* et *Lentis* n'ont jamais pu être obtenus (Coussin, 1996).

### 1.2 Nomenclature et classification

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

Règne... ..... Végétal  
 Embranchement ..... Spermaphytes  
 Sous embranchement ..... Angiospermes  
 Classe ..... Dicotylédones  
 Ordre ..... Fabales

Famille... ..... Fabacées

Sous famille ..... Faboideae

Genre..... .. *Pisum*

Espèces ..... *Pisum sativum*. L

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

- *Pisum sativum* L. subsp. *sativum* Var. *sativum* : petit pois, pois potager ou pois des jardins
- *Pisum sativum* L. subsp. *elatius* pois sauvage.
- *Pisum sativum* L, subsp. *sativum* Var, *arvense* L. ; pois fourrager, pois protéagineux ou pois des champs.

### 1.3 Etymologie

Le terme « Pois » dérive du latin PISUM, lui-même emprunté au grec. Le terme est apparu en français vers la fin du XII siècle, d'abord sous la forme peis. Pois, ou peis, désignant une chose de peu d'importance, a servi vers le XII siècle d'auxiliaire dénégation, à l'instar de point et pas selon le centre national de ressources textuelles et lexicales (CNTRL).

### 1.4 Composition chimique et valeur nutritionnelle

Les graines mures, entières et sèches de pois contiennent, par 100 g de partie comestible : eau 13,3 g, énergie 1269 kJ (303 kcal), protéines 21,6 g, lipide 2,4 g, glucide 52,0 g (amidon 47,6 g), fibre 15,0 g, Calcium 61 mg, Magnésium 120 mg, Phosphore 300 mg, niacine 3,0 mg, Fer 4,7 mg, Zinc 3,7 mg, carotène 245 µg, thiamine 0,6 mg, riboflavine 0,3 mg, vitamine B6 0,13 mg, trace d'acide ascorbique (Holland, 1991).

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

La composition des pois ridés est différente de celle des pois lisses ; ils ont moins d'amidon (27-37 g) et plus de lipides (5 g) 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 de tanins, ce qui diminue leur digestibilité (Brink et Belay, 2006).

Les graines de petit pois écossées 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, glucides 11,3 g, (amidon 7,0 g), fibre 4,7 g, Calcium 21 mg, Magnésium 34 mg, Phosphore 130 mg, Fer 2,8mg, Zinc 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.

Les gousses de pois mangetouts crus, extrémités parées contiennent par 100 g de partie comestible : eau 88,7 g, énergie 134 kJ (32 kcal), protéine 3,6 g, lipide 0,2 g, glucide 4,2 g, (amidon 0,8 g), fibre 4,2 g, Calcium 44 mg, Magnésium 28 mg, Phosphore 62mg, Fer 0,8 mg, Zinc 0,5 mg, carotène 695 µg, thiamine 0,2 mg, riboflavine 0,15 mg, niacine 0,6 mg, folats 10 µg, acide ascorbique 54 mg (**Holland, 1991**).

### 1.5 Cycle biologique

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

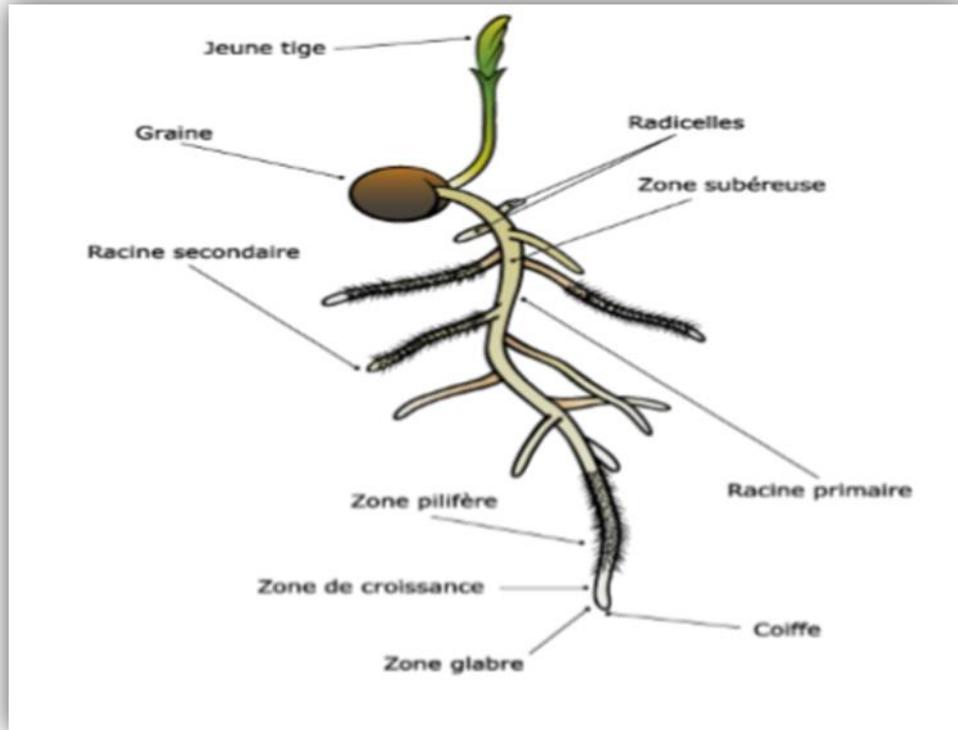
### 1.6 Description botanique des petits pois/ Phénologie

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

La morphologie générale du pois est décrite dans la **Figure 2**. La croissance de la tige est plus ou moins indéterminée (**Coussin, 1996**).

#### 1.6.1 Le système racinaire

Le système racinaire est de type pivotant, pouvant atteindre une profondeur d'un mètre dans des conditions de sol favorables, mais cependant très ramifié, surtout dans la couche superficielle du sol. Les radicelles de 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> ordre portent des nodosités (**Figure 1**) (**Carrouee et Girad, 1994**).



**Figure 1** : Système racinaire (Bissuel, 2012).

### 1.6.2 La tige

La tige, peu ramifiée, de longueur variant de 50 cm à 1,5 m, voire jusqu'à deux mètres, est à croissance indéterminée. Elle est creuse, de section cylindrique, et grimpe en s'accrochant aux supports par les vrilles des feuilles. Elle se caractérise par un certain nombre des nœuds, ou mailles, dont les premiers sont purement végétatifs (émettant des feuilles ou des ramifications) et les suivants reproducteurs (portant des fleurs) (**Figure 2**) (Carrouee et Girad, 1994).

### 1.6.3 Les feuilles

Les feuilles alternées, sont composées d'une à quatre paires de folioles sessiles, opposées et terminées par une vrille simple ou ramifiée. Celles-ci sont entières, ovales, et ont de 1,5 à 6 cm de longueur.

Les feuilles possèdent à leur base deux grandes stipules embarrassantes, arrondies et crénelées à la base (**Figure 2**) (Coussin, 1996).

### 1.6.4 Les fleurs

Les fleurs, de type « papilionacé », sont zygomorphes, à ovaire supère et cléistogames. Elles apparaissent à l'aisselle des feuilles, solitaires ou groupées en racème par deux ou trois.

Le calice, de couleur verte, est formé de cinq sépales soudés et présentes cinq dents

inégaux. La corolle compte cinq pétales très différenciés, l'étendard redressé en position postérieure, les deux ailes en position latérale, enveloppant la carène, elle-même formée de deux pétales inférieurs, partiellement soudés. La corolle est généralement entièrement blanche, parfois rose, pourpre ou violette. L'androcée qui comprend dix étamines (**Figure 2**) (**Muahlbaur et Tubba, 1997**).

### 1.6.5 Le fruit

Le fruit est une gousse déhiscente bivalve, appelée aussi cosse, de 4 à 15 cm de long, contenant de 2 à 10 graines rondes lisses ou anguleuses, de 5 à 8 mm de diamètre. Ces gousses présentent des variations morphologiques selon les variétés, leur forme générale est droite ou plus ou moins arquée, leur extrémité plus ou moins effilée ou tronquée. Elles comportent généralement une membrane sclérifiée, le parchemin, qui est absente chez les variétés de type « mangetout ». Leur couleur est généralement verte, parfois violette (**Figure 2**) (**Prat, 2005**).

### 1.6.6 La graine

La graine est exalbuminée, riche en amidon (**Hopquin, 1994**). Les graines de pois peuvent être de trois couleurs différentes : les variétés à fleurs blanches produisent des graines vertes ou jaunes crème, alors que les variétés à fleurs roses ou rouges produisent des graines tachetées de brun. Dans le premier cas, le tégument de la graine est translucide, tandis que dans le second cas, le tégument coloré masque la couleur des cotylédons et contient toujours des tanins (**Huignard et Glitho., et al 2011**).

### 1.6.7 Diagramme floral

Formule florale indication schématique résumant la composition d'une fleur. (Ainsi, la formule  $4S + 4P + 6E + 2C$  s'applique à toute crucifère, qui présente toujours 4 sépales, 4 pétales, 6 étamines et 2 carpelles. La formule florale est traduite graphiquement par le diagramme.) (**Mathon, 1985**).

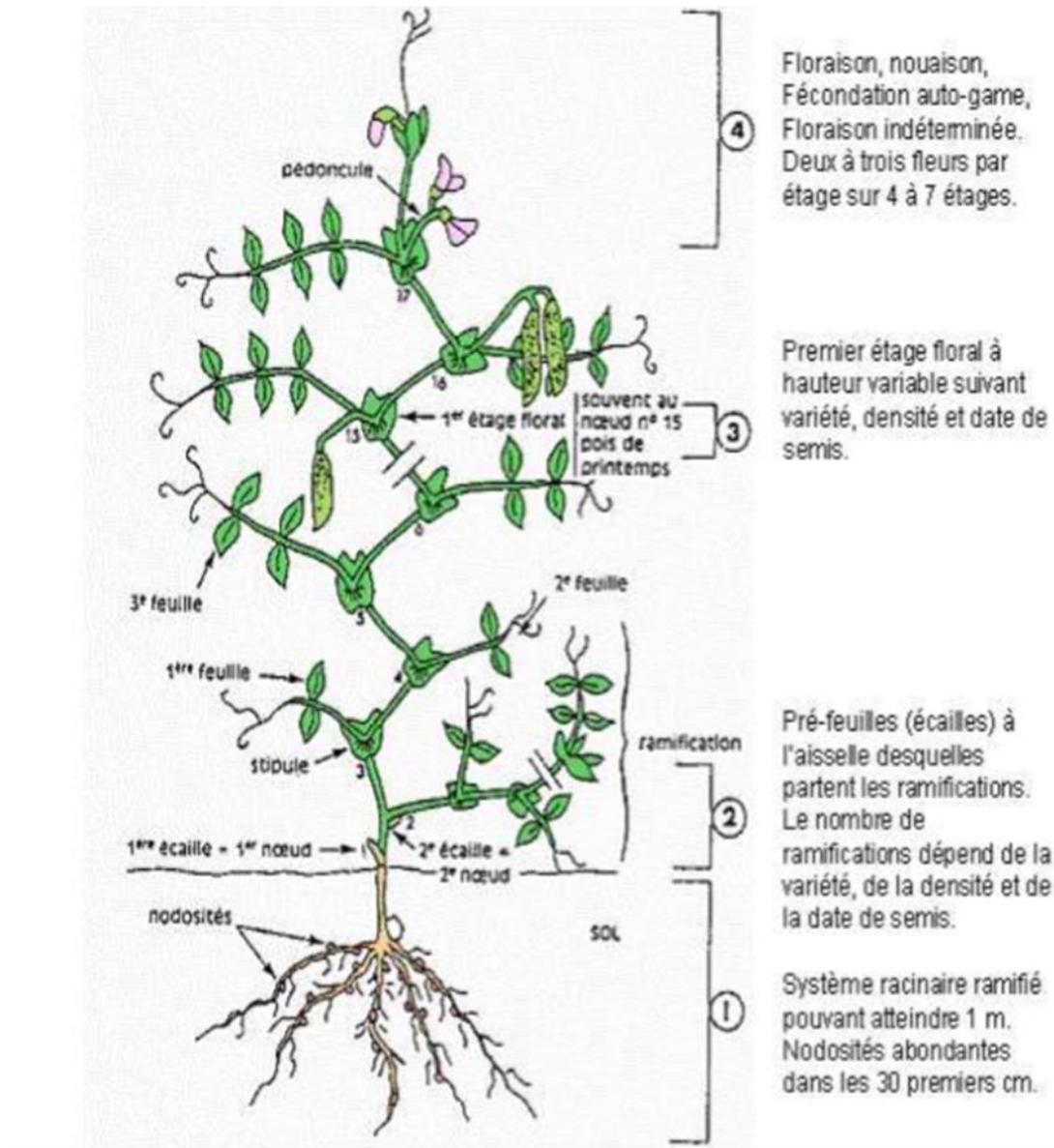


Figure 2 : Structure d'une plante de petit pois (Boyeldieu, 1991).

## 1.7 Principales exigences écologiques et climatiques de la plante

### 1.7.1 Climat

Les pois exigent un climat frais et relativement humide et sont développés à des altitudes élevées dans les tropiques avec des températures de 7 à 30°C (Duc, 1981).

La production est concentrée entre les tropiques du cancer (Davies, 1985). Le pois tolère le gel à -2°C, bien que la croissance supérieure puisse être affectée aux pois robustes d'hiver de -6°C et avec la protection de couverture de neige (Slinkard, 1994). Les niveaux de température optimale pour les périodes végétatives et reproductrices des pois sont réciproquement de 21 et 16°C et 16 à 10°C jour et nuit.

### 1.7.2 Lumière

Le pois est une plante qui a besoin de la pleine lumière pour accomplir son cycle végétatif.

### 1.7.3 Eau

Il faut irriguer ou faire la culture sur des terrains où la nappe phréatique est proche. Néanmoins, on a constaté qu'il ne faut pas trop irriguer durant la phase de floraison, car cela provoquerait la chute des fleurs. Il vaut mieux laisser la plante soif à cette période (**Sikerdji, 2002**).

### 1.7.4 Sol

Il apprécie une terre fraîche à bonne exposition mais craint le calcaire, l'excès d'humidité et la sécheresse (**Sikerdji, 2002**).

### 1.7.5 Azote

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

## 1.8 Les variétés du petit pois

On distingue deux variétés de petit pois (**Tableau 1**) :

- ❖ **Petit pois à grains lisse** : ils sont plus résistants au froid, mais donnant des petit pois sucrés et plus farineux
- ❖ **Petit pois à grains ridé** : des grains plus sucrés que les premiers (**Messiaen, 2010**) et le pois mangetout : des pois que l'on récolte plus jeune et que l'on mange avec la gousse

Ces trois variétés de petit pois peuvent aussi être des variétés (naines) ou (à rames)

- **Pois nain** : les plants ne dépassent pas 50cm de hauteur
- **Pois à rames** : les plants peuvent atteindre de 2m et nécessite plus d'espace

Tableau 1 : Variétés de petit pois et pois mange-tout (Messiaen, 2010)

Variétés	Hauteur (cm)	Couleur de la graine	Durée de végétation (jours)	Caractères variétaux
<b>Gousses longues</b>	90	Vert rond	71	Gousses longues 8 à 10 grains
<b>Roi conserves</b>	140	Vert rond	78	Gousses arquées
<b>Serpette Guilloteaux</b>	150	Blanc rond	81	Gousses arquées
<b>Cadoz</b>	Nain	Blanc rond	80	Grains très petits
<b>Douce Provenance</b>	Nain	Vert rond	69	Gousses longues, 7 à 9 grains
<b>Petit provença</b>	Nain	Vert rond	69	Gousses arquées
<b>Roval</b>	Nain	Vert rond	65	e plus précoce
<b>Arkel</b>	Nain	Vert ridé	70	Gousses longues, pointues
<b>Merveille de Kelvedon</b>	Nain	Vert ridé	68	Gousses fines, très longues
<b>Onward</b>	Nain	Vert ridé	79	Grosses gousse, résistant Oïdium
<b>Bayard</b>	Nain	Vert ridé	70	Type afile
<b>Surgévil</b>	Nain	Vert ridé	85	Grains très sucrés
<b>Caroubay de Maussane</b>	95	Gris, fleurs mauves	95	Mange-tout à rames

## 1.9 Production de petit pois

### 1.9.1 Production mondiale

Avec plus de 18 millions de tonnes récoltées en 2007, le pois (pois sec et pois frais) est la quatrième légumineuse au plan mondial, loin toutefois après le soja (216 Mt), l'arachide (35 Mt) et le haricot (28 Mt) (FAO, 2009).

Selon les statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (**FAO**), en 2007, la production mondiale de pois secs s'est élevée à 10,1 millions de tonnes pour une surface ensemencée de 6,8 millions hectares, soit un rendement moyen de 14,69 quintaux par hectare.

La même année, la production de pois frais s'est élevée à 8,2 millions de tonnes pour une surface ensemencée de 1,08 millions d'hectares, soit un rendement moyen de 7,6 quintaux par hectare. Selon les statistiques de la **FAO (2009)**, les deux principaux producteurs de pois frais, Chine et Inde, représentent près de 70 % du total mondial. Pour les pois secs, plus de 90 pays producteurs sont recensés dans le monde, cependant les cinq premiers représentent plus de deux tiers de la production totale et les quinze premiers plus de 90 %. Le Canada, avec 3 millions de tonnes, soit 30 % de la production mondiale ; sa production, concentrée dans les provinces de l'ouest, est essentiellement destinée à l'exportation. L'union européenne, qui totalise 1,53 million de tonnes, est de fait le deuxième producteur mondial. La France produit 643 milles tonnes de pois secs, soit 42 % du total de l'Union européenne. Les rendements les plus élevés se trouvent principalement en Europe occidentale (**Figure 3**).

Après avoir atteint un premier pic à 13,2 millions de tonnes en 1964, la production mondiale de pois secs qui oscillait entre 8 et 10 millions de tonnes au cours des années 1960-1970 a connu une forte croissance dans la décennie 1980 pour atteindre un pic à 16,6 millions de tonnes en 1990. Elle tend à décroître depuis, variant selon les années entre 10 et 12 millions de tonnes (**Figure4**). Celle des pois frais a connu une croissance assez régulière au taux moyen d'environ 1,7 % par an, passant de 3,6 Mt en 1961 à 8,3 Mt en 2007 (**FAO, 2009**).

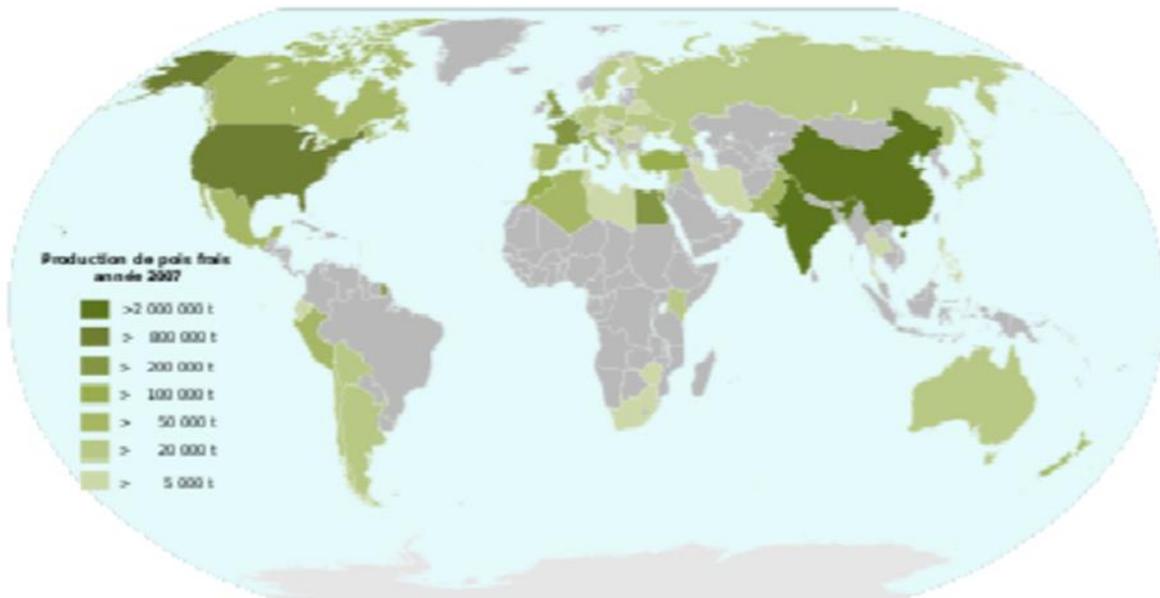


Figure 3 : Répartition de la production mondiale du pois frais (FAO, 2009)

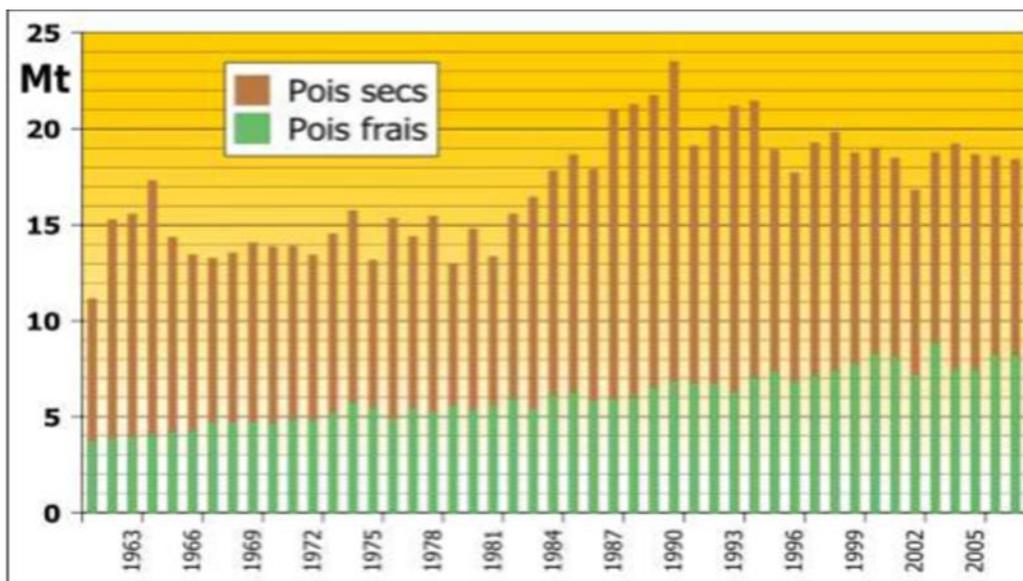


Figure 4 : Production mondiale du pois 1961-2007 (FAO, 2009)

### 1.9.2 En Algérie

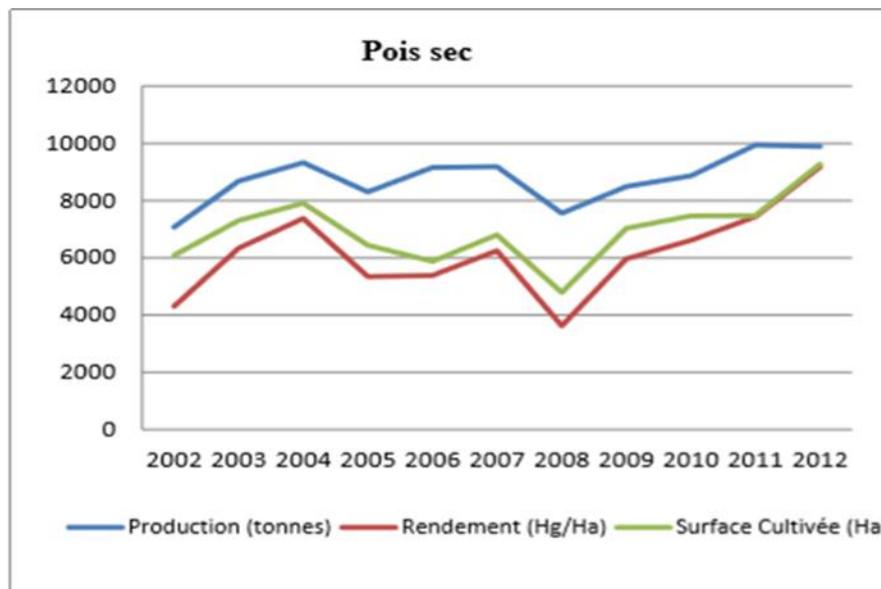
En Algérie, le pois a été cultivé avant 1830 dans les jardins et les champs en Kabylie (Laumont et Chevassus, 1960). Le pois est répandu sur tout le territoire national. Il est surtout cultivé sur les plaines côtières et les zones sublittoral. Il occupe la 3<sup>ème</sup> place parmi les légumes secs (Maatougui, 1996).

La culture a pris un développement important en 1945, elle a connu par la suite un essor remarquable de 1947 à 1952. En 1980, 10800 ha ont été consacrés à cette culture. En 2012, le

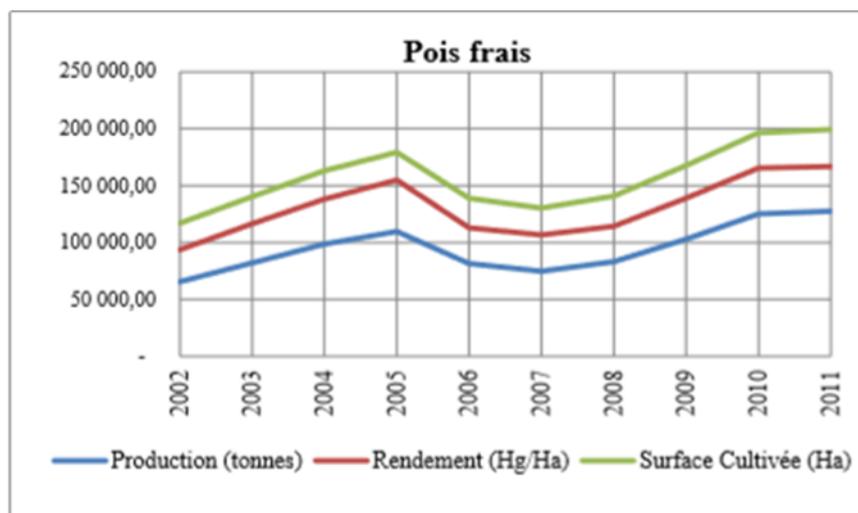
pois sec a enregistré la superficie la plus importante avec 9279,14 ha avec un rendement 743,5 kg/ha qui demeurent très faible par rapport au rendement moyen dans le monde.

En ce qui concerne le pois frais, l'Algérie se classe parmi les 10 premiers pays producteurs du monde avec une production de 127680 tonnes et un rendement de 3911,64kg/ha pour l'année 2011(**Figure 5 et 6**) (FAO, 2013).

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



**Figure 5:** Evolution de la superficie, production et rendement de pois sec en Algérie entre 2002-2012 (FAO, 2013).



**Figure 6 :** Evolution de la superficie, production et rendement de pois frais en Algérie entre 2002-2012 (FAO, 2013).

## 1.10 Intérêt du Pois

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

### 1.10.1 Intérêt agronomique et écologique

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

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

### 1.10.2 Intérêt nutritionnel

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

---

*Chapitre 2 : Les champignons  
phytopathogènes*

---

## 2 Les champignons phytopathogènes

### 2.1 Généralités sur les champignons

Les Champignons, encore appelés "Fungi" (contraction du latin "funus", funéraille, et d'«ago», produire) ou mycètes (du grec mukês, champignon), sont aujourd'hui érigés en règne autonome, au même titre que les procaryotes (archéobactéries, bactéries, cyanobactéries), les protistes, les végétaux et les animaux. En effet, les comparaisons des séquences génétiques des différentes espèces du monde vivant ont permis d'établir un arbre phylogénétique dans lequel les champignons prennent une place bien individualisée. Ils sont nettement séparés des divers groupes de plantes auxquels on les avait autrefois rattachés (particulièrement en raison de leur paroi polyosidique). Ils sont aussi éloignés des Oomycètes ou champignons-algues (les Oomycètes sont des organismes à l'appareil végétatif peu développé, essentiellement aquatiques, parasites des végétaux (mildious, rouilles blanches, etc.) ou des animaux (poissons, nématodes, etc.). Par contre, les Chytridiomycètes sont considérés comme des champignons sur la base d'homologies des séquences (Parry, 1995).

Les champignons, qui forment le phylum des Eumycota, sont des organismes eucaryotes, c'est-à-dire possédant des noyaux individualisés pourvus d'une membrane nucléaire, de chromosomes et d'un nucléole, et un appareil mitochondrial. L'existence simultanée d'une paroi cellulaire périphérique et de vacuoles turgescentes dans le cytoplasme, les rapproche aussi des végétaux. Ils possèdent une paroi peptidopolyosidique épaisse, de composition variable selon les groupes : mannanes, glucanes, chitine, chitosane, protéines, phospholipides, et une membrane riche en stérols (ergostérol). L'intermédiaire de la lysine est l'acide diaminoapidiq, alors qu'il s'agit généralement de l'acide diaminopimélique chez les bactéries. L'absence de chloroplastes (et donc de chlorophille) en fait, comme les animaux, des organismes hétérotrophes dont la nutrition carbonée est dépendante de la présence de matières organiques préformées, ce qui conditionne, suivant les circonstances, leur vie saprophytique, parasitaire ou symbiotiques. Un quatrième groupe, les champignons opportunistes, contient des espèces généralement saprophytes, mais qui deviennent pathogènes à la faveur de circonstances favorisantes.

Leur nombre est évalué à ce jour à environ 60.000 espèces, mais il est probablement plus élevé. La quasi-totalité des champignons vivent en saprophytes dans le sol, sur des plantes mortes ou vivantes, mais uniquement à leur surface et sans leur causer de lésions.

Beaucoup d'espèces sont des parasites de plantes, ce qui constitue un problème économique. Un nombre plus restreint, quelques centaines, sont opportunistes et peuvent devenir pathogènes pour l'homme et les animaux. Enfin, diverses espèces sont symbiotiques, soit associées à des algues (dans les lichens), soit associées à des racines (constituant les mycorhizes)

L'organisation cellulaire de base des champignons est le thalle qui constitue l'appareil végétatif (généralement en phase haploïde). Celui-ci se caractérise par une grande variété de structures, qui vont d'une forme unicellulaire (levure), le plus souvent, une forme filamenteuse (moisissures), pouvant présenter un degré considérable de différenciation. L'ensemble des filaments (ou hyphes) est appelé mycélium. Il n'existe jamais de véritables tissus comme chez les plantes supérieures ou chez les animaux. Ils se reproduisent par des spores, selon un mode asexué et/ou sexué (**Masson, 2012**).

## 2.2 Classification

### 2.2.1 Les Chytridiomycètes

Ces champignons, souvent unicellulaires, sont probablement proches des algues. Sans pathogénicité pour l'homme, ils peuvent être responsables de zoonoses (sont des maladies ou infections qui se transmettent des animaux vertébrés à l'homme, et vice versa. Les pathogènes en cause peuvent être des bactéries, des virus ou des parasites) chez les amphibiens (**Parry, 1995**).

### 2.2.2 Les Zygomycètes

Les Zygomycètes, qui comprennent environ 200 espèces, rassemblent des champignons saprophytes, ainsi que des champignons parasites d'insectes (Entomophthorales), de Nématodes et d'Amibes (Zoopagales), et de plantes. Les Mucorales comprennent un grand nombre de moisissures saprophytes, mais aussi quelques espèces parasites des champignons, des animaux et des hommes (mucormycoses) (**Parry, 1995**).

### 2.2.3 Les Ascomycètes

Les Ascomycètes comprennent environ 15.000 espèces, auxquelles il faut ajouter un nombre à peu près équivalent d'espèces lichénisantes. De nombreuses espèces sont utilisées pour la fabrication d'antibiotiques, de médicaments, pour des fermentations. Certaines sont très recherchées pour leur valeur gastronomique (Morilles, Truffes). Quelques-unes sont de redoutables parasites des végétaux, des animaux et de l'homme (**Parry, 1995**).

#### 2.2.4 Les Basidiomycètes

Les Basidiomycètes, dont il existe environ 20.000 espèces, sont les champignons que l'on peut considérer comme les plus perfectionnés. Ils comprennent de nombreuses espèces à fructification développées ou carpophores (**Parry, 1995**).

#### 2.2.5 Les Deutéromycètes

Encore appelés Adélomycètes, Fungi imperfecti (Champignons imparfaits), les deutéromycètes ne constituent pas un groupe naturel, mais d'un ensemble artificiel regroupant environ 15.000 espèces (plus du quart des champignons actuellement connus) ne présentant jamais, ou très exceptionnellement, de forme de reproduction sexuée. La plupart présentent, néanmoins, des affinités d'ascomycètes. Ils se reproduisent uniquement par voie végétative au moyen de spores asexuées ou par simple fragmentation du mycélium. Ils sont responsables d'un grand nombre de maladies des végétaux et humaines (**Parry, 1995**).

### 2.3 Mode de reproduction

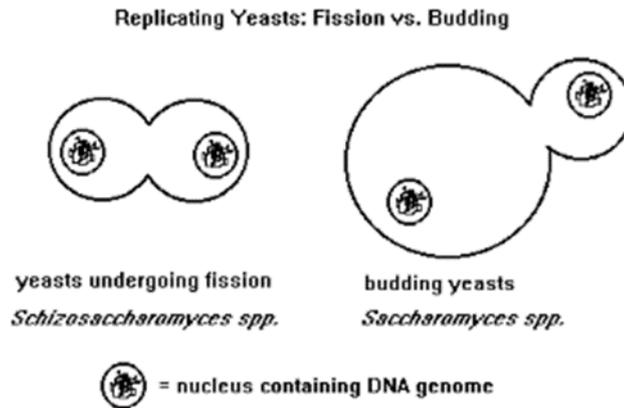
La reproduction des champignons est complexe, reflétant ainsi l'hétérogénéité de leur mode de vie. Elle peut être sexuée ou asexuée, bien que certains champignons alternent entre les deux types de reproduction (**Bouznad, 1989**).

#### 2.3.1 Reproduction asexuée

La reproduction asexuée se fait sans fusion de gamètes. C'est un mode de reproduction commun à presque tous les champignons. La reproduction asexuée chez les champignons peut se faire par bourgeonnement, fission binaire, fragmentation, ou par formation de spores (**Allard et Bill, 1993**).

##### 2.3.1.1 Le bourgeonnement et la fission binaire

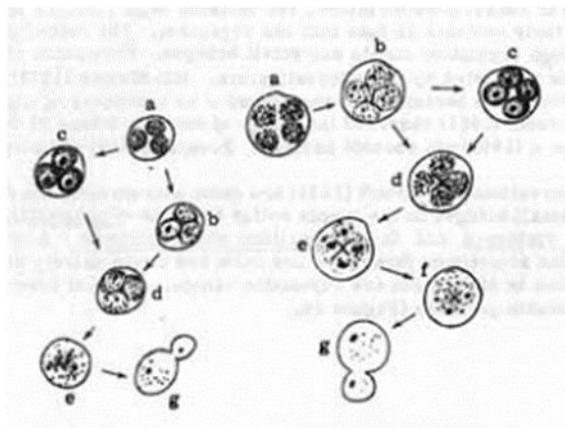
Le bourgeonnement et la fission binaire sont les formes de reproduction asexuée les plus simples. Le bourgeonnement est une division inégale du cytoplasme, résultant en une cellule parent et une cellule fille, celle-ci étant plus petite que la cellule parente. La fission binaire par contre aboutit à deux cellules identiques. Ces deux formes de reproduction suivent la mitose (**Figure 7**).



**Figure 7** : Illustration de la fission binaire et du bourgeonnement chez les levures (Abedon, 1997).

### 2.3.1.2 La fragmentation et la sporulation

La fragmentation est une forme de reproduction asexuée où un nouvel organisme se développe à partir d'un fragment parent. La sporulation est la plus importante forme de reproduction asexuée chez les champignons. Elle se fait à travers les spores asexuées, formées au cours de la phase asexuée du cycle de vie des champignons (phase anamorphe) (**Figure 8**). Suite à une mitose, ces spores se transforment en cellules reproductives appelées mitospores qui, après dispersion, se développent en de nouveaux organismes.

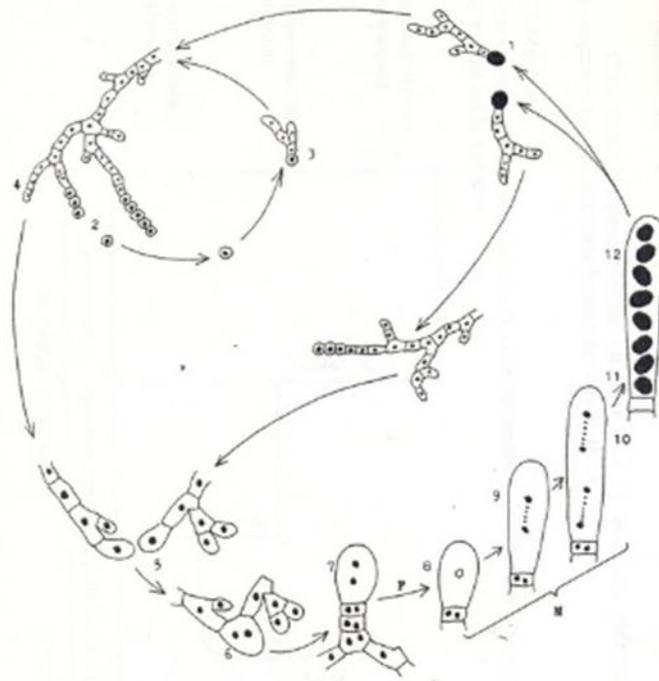


**Figure 8** : Illustration des différentes étapes de la sporulation chez *Saccharomyces paradoxus* (Solomon, 2007)

Après fragmentation du protoplasme en plusieurs parties (a, b), il se forme des parois autour des prospores (c) puis la maturation s'arrête et les parois disparaissent. Le protoplasme devient moins dense (d) et les prospores fusionnent (e) pour donner une nouvelle cellule végétative (f) puis le bourgeonnement commence (g).

### 2.3.2 Reproduction sexuée

Pour qu'une reproduction sexuée se réalise, il est nécessaire d'avoir deux noyaux haploïdes capables de s'accoupler, ou un seul noyau diploïde. Les deux noyaux haploïdes doivent d'abord fusionner pour donner un noyau diploïde qui subit par la suite une méiose. Cette méiose est à l'origine de la variation au sein de la progéniture fongique. Ces événements sont suivis par la formation de spores (les ascospores, les basidiospores, zygospores), dont le processus varie en fonction des différentes classes de champignons (**Figure 9**) (Allard, 2001).



**Figure 9** : Illustration de la reproduction sexuée chez les ascomycètes (Florimont, 2009).

1 germination des spores. 2 libérations des conidies. 3 germination de la conidie ; 4 mycélium du champignon ; 5 rapprochement de deux filaments provenant de spores différentes ; 6 fusion des deux cellules à deux noyaux à  $n$  chromosomes ; 7 filament ascogène à 2 noyaux à  $n$  chromosomes ; 8 fusion des deux noyaux ( $2n$ ) ; 9 deux noyaux à  $n$  obtenus après la première division de la méiose ; 10 4 noyaux à  $n$  (deuxième division de la méiose) ; 11 mitose ; 12 asque contenant 8 ascospores à  $n$  chromosomes chacune

## 2.4 Les champignons phytopathogènes

### 2.4.1 Généralités

Les champignons ou les mycètes peuvent causer une maladie infectieuse par certaines propriétés spécifiques qui leur confèrent leur pouvoirs pathogènes ou pathogénicité leur capacité de causer la maladie en déjouant les défenses de l'hôte, l'intensité de leur pouvoir pathogène.

Toutefois l'issue du conflit dépend grandement de l'état de sensibilité ou résistance de l'hôte ; si la force d'agression du mycète est supérieur à la riposte des défenses de l'hôte la maladie infectieuse survient ; si on les considère comme " ennemis " on parle alors de "lutte" contre les champignons ; de résistance à l'invasion microbienne et de "protection" contre les maladies infectieuses ; et de fait les mycètes nous attaquant bel et bien et nous devons nous défendre (**Philippe, 2003**).

La maladie infectieuse est le résultat du déséquilibre des forces en faveur des champignons ; le conflit entre l'agent pathogène et l'hôte se reflète à chacune des quatre étapes du processus infectieux.

La 1 ère étape se caractérise par la capacité des mycètes à pénétrer dans l'organisme hôte, par une quelconque porte d'entrée. La 2ème étape par leur capacité d'adhérence aux tissus et cellules de l'hôte de façon à ne pas être expulsées. La 3ème étape par le processus d'invasion qui leur permet de franchir les défenses de l'hôte et d'y résister. La 4ème étape par l'atteindre des tissus cibles et l'apparition du dysfonctionnement physiologique qui se manifeste dans l'organisme atteint par des signes et des symptômes.

Le mécanisme par lequel un agent pathogène est capable de causer un déséquilibre physiologique-pathologique qui conduisent à l'apparition des principaux signes d'une maladie infectieuse, bien que les mycètes causent des maladies ; ils ne sont pas caractérisés par un ensemble bien définie de facteurs de virulence (**Michel, 2004**).

#### **2.4.2 Cycle de maladie**

Transportés par le vent ; la pluie ou par contact, les spores des champignons se disséminent et se déposent sur les plantes. Là elles germent et pénètrent les tissus. Par voie naturelle ou en profitant des blessures causées par d'autres parasites. Après une période d'incubation ; les champignons se développent et les premiers symptômes apparaissent : feuilles nécrosées, rameaux tâchés....etc. La plante s'affaiblit et meurt parfois (**Nasraoui et Lepoivre, 2003**).

#### **2.4.3 Les maladies phytopathogènes**

Les anomalies du phénotype par rapport à la norme attendu portent le nom de symptômes. La pathogenèse représente l'ensemble des processus inducteurs de la maladie qui aboutissent à l'expression des symptômes. Ces derniers comportent essentiellement des changements de couleurs, des altérations d'organes, des modifications anatomiques et des

altérations du métabolisme. Nous distinguons deux grands types des maladies phytopathogènes : les maladies parasitaires et non parasitaires (**Semal et Lepoivre, 2003**).

#### **2.4.3.1 Les maladies non parasitaires**

Elles résultent d'une inadéquation des conditions écologiques. Il peut s'agir de problèmes liés aux conditions climatiques, aux phénomènes de pollution ou à des problèmes nutritifs et la toxicité des pesticides (**Paul et Impens, 2003**).

#### **2.4.3.2 Les maladies parasitaires**

Ce sont les maladies causées par l'action d'agents pathogènes (virus, bactéries, champignons, protozoaires, les phanérogames parasites, etc...). Ces parasites sont généralement infectieux car ils envahissent l'hôte et s'y multiplient et sont contagieux, par leur transmission d'une plante infectée à une plante saine. Les champignons sont responsables de près de la moitié des maladies connues à ce jours chez les plantes cultivées (**Lepoivre, 2003**).

##### **➤ Les maladies touchantes les organes aériens**

Les petits pois sont sujets de diverses maladies, certaine sont touchant les organes aériennes, résumées dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 : Maladies du petit pois (Brink et Belay, 2006 ; Chaux et Foury, 1994 ; Messaien, 1991).

Maladies du petit pois	Symptômes	Moyens de luttres
1) Graisse bactérienne du pois <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Pisi</i> .	Des taches huileuses sur les organes aériens, qui s'agrandissent 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). -Appliqués en préventif (si gel ou grêle) ou dès l'apparition des premiers symptômes
2) Anthracoses : <i>Ascochyta pisi</i>	Lésions beige à bordures foncées, avec au centre, de nombreuses ponctuations noires (pycnides).	- Rotation de 5 ans entre deux légumineuses - Traitement de semences : il assure une protection efficace durant six semaines environ. - A partir du stade floraison : un à deux traitements fongicides.
3) Mildiou : ( <i>Peronospora pisi</i> )	Les feuilles présentent alors des jaunissements sur la face supérieure et un duvet gris violacé sur la face inférieure. Sur gousses, les symptômes extérieurs sont peu perceptibles (taches vert clair sans sporulation). Par contre, à l'intérieur, un mycélium blanc est bien visible	-Rotation la plus longue possible entre deux cultures de pois (protéagineux et conserve). -Traitement de semences : en protégeant les pois jusqu'au stade 5 feuilles environ, il limite les infections primaires.
4) Oïdium du pois : ( <i>Erysiphe polygoni</i> f. sp. <i>Pisi</i> )	De petites taches blanches et poudreuses qui colonisent d'abord les feuilles âgées. Un mycélium blanc et pulvérulent se développe ensuite sur tous les organes aériens.	-La résistance variétale existe. Elle est surtout développée sur les petit pois soufre. Les résultats sont généralement bons dans la mesure où il s'agit d'un mycélium superficiel.
5) Rouille : ( <i>Uromyces pisi</i> <i>Uromyces viciae</i> )	Des pustules (sores) pulvérulentes de couleur roux à noir apparaissent sur la face inférieure des feuilles et sur les tiges.	-Appliquer une triazole en respectant le délai avant récolte.

➤ **Les maladies touchantes le sol**

De nombreuses espèces de champignons parasites des végétaux vivent dans le sol, chacune avec un pouvoir de nuisance variable. En voici quelques exemples courants : la maladie du collet et la fonte de semis les champignons du sol s'attaquant au collet des plantes sont très polyphages (action nocive sur une grande diversité de plantes). Ils se développent dans le sol, à faible profondeur, et contaminent les plantes voisines, induisant des destructions par foyers. Au stade de plantules, l'action de ces champignons provoque une perte considérable, c'est la fonte des semis. Pathologie fongique au niveau des organes souterrains il y a là une grande catégorie de champignons parasites des racines, des bulbes et des tubercules, responsables de nécroses ou de pourritures. Le scénario est toujours le même, croissance ralentie ou stoppée, avec pour conséquence le flétrissement, jusqu'à la mort de la plante. La maladie vasculaire ou trachéomyose d'autres champignons, plus particuliers, pénètrent les tissus des organes souterrains et obturent les vaisseaux conducteurs de la sève brute, avec une mort rapide des sujets atteints. (Vinale et Marra *et al.*, 2006).

---

*Chapitre 3 : La lutte biologique*

---

### 3 La lutte biologique

#### 3.1 Historique

Au début du XX<sup>ème</sup> siècle l'appellation "lutte biologique" a été proposée pour désigner toute méthode phytosanitaire mettant en œuvre un organisme vivant. En 1919, Smith a défini la lutte biologique comme l'utilisation des ennemis naturels pour le contrôle des maladies phytopathogènes (**Driesche et Bellous, 1996**). L'étude de Sanford en 1926, sur les facteurs influençant la pathogénicité de la bactérie *Sarcoptes scabies* matérialise ce concept en observant que des microorganismes saprophytes pouvaient entraîner une diminution de l'intensité de ce pathogène du sol. Quelques années plus tard, Weindling a démontré que le champignon *Trichoderma lignorum* parasitait d'autres champignons du sol.

La première étude scientifique qui amorça le déclenchement de la lutte biologique moderne est due à l'entomologiste américain C. V. Riley. Une cochenille, *Icerya purchasi*, fut introduite accidentellement d'Australie en 1868 dans des vergers d'agrumes de Californie. Riley, convaincu que l'innocuité de cette cochenille dans son pays d'origine était due à des antagonistes, envoya une mission en Australie, d'où furent rapportés divers insectes entomophages, dont la coccinelle *Novius cardinalis*. Élevé en masse, cet auxiliaire fut distribué aux agriculteurs ; le résultat fut spectaculaire car, en moins de deux ans, les effectifs de la cochenille furent amenés en dessous d'un seuil de nuisibilité économiquement acceptable. Vint ensuite le long programme de lutte contre le bombyx disparate (*Lymantria dispar*), d'origine européenne, qui pullule et ravage les forêts de feuillus nord-américaines. Ce sont quelque 92 millions de parasitoïdes européens qui furent lâchés contre ce papillon avec succès en 1927, mettant l'accent sur la nécessité de disposer d'agents de lutte biologique dont l'efficacité augmente avec la densité du bioagresseur. À ces deux programmes phares s'en ajoutèrent rapidement d'autres pour tenter de juguler les populations d'insectes ravageurs tels que la punaise *Nezara viridula* en Australie, la chrysomèle *Oulema melanopus* et le puceron de la luzerne *Acyrtosiphon pisum* aux États-Unis. Quant aux plantes invasives, le principal programme concerna la lutte contre les cactées du genre *Opuntia spp.* En Australie, l'introduction d'un papillon argentin, *Cactoblastis cactorum*, associé à un champignon, permettant la réduction de 90 p. 100 des 24 millions d'hectares d'oponces envahissants.

#### 3.2 Définition

La nouvelle définition à la lutte biologique : « c'est l'action des parasites, prédateurs ou pathogènes dans le maintien de la densité de la population des microorganismes à un niveau inférieur de celle observée en leur absence (**Toussaint, 1996**).

La lutte biologique consiste à combattre une maladie causée par un organisme au moyen d'un autre organisme. Dans ce travail, c'est cette définition que nous utiliserons. Une autre définition plus large de la lutte biologique est parfois utilisée :

"Toute action mettant en jeu des organismes modifiant l'hôte, y compris les méthodes culturales, qui permettent de diminuer, par voie directe ou indirecte, les dommages causés par un parasite" (Corbaz, 1990).

Dans le sens écologique strict, l'application de la lutte biologique peut être considérée comme une stratégie pour restaurer la biodiversité dans les agroécosystèmes par l'addition des antagonistes naturels (parasite ou prédateur) (Altieri, 1999 ; Nautiyal, 2000).

La lutte biologique connaît ces dernières années un regain de popularité dû en partie à un certain échec de la lutte chimique. Les traitements chimiques tels que les fongicides donnent de bons résultats à court terme mais à long terme, leur accumulation ou l'accumulation de leurs résidus dans l'environnement représente un danger qu'on ne peut plus négliger. Par contre, la lutte biologique a une efficacité relative et demande plus de connaissances et d'observations, mais à long terme, elle est beaucoup plus intéressante sur le plan environnemental et économique (Corbaz, 1990 ; Toussaint, 1996).

### 3.3 Types de lutte biologique

La lutte biologique peut être divisée en trois catégories bien distinctes :

#### 3.3.1 Lutte biologique classique ou par introduction

La méthode classique vise l'implantation d'un antagoniste exotique dans un milieu où sévit un ravageur exotique (Cloutier, 1992). En l'absence du ou des ennemis qui contrôlent ses populations dans son aire de répartition d'origine, le ravageur n'a presque aucun obstacle à sa prolifération autre que la culture ou le milieu dont il dépend. C'est ainsi que plusieurs cas de lutte biologique ont été réalisés par l'introduction d'un ennemi naturel dans la nouvelle région, dans le but qu'il s'implante et se développe, pour contrôler le ravageur à long terme. Ce mode de lutte demande néanmoins beaucoup de recherche avant sa mise en place, surtout afin de s'assurer que l'espèce introduite s'acclimate et s'attaque spécifiquement au ravageur exotique et non aux organismes indigènes (Weeden, 2007). Un exemple de lutte biologique classique serait l'introduction de la coccinelle asiatique, *Harmonia axyridis Pallas*, contre les pucerons (hémiptères de la super-famille *Aphidoidea*), plusieurs espèces étant également exotiques (Roy et Wajnberg, 2008).

### 3.3.2 Lutte biologique par augmentation

Dans le cas de la lutte biologique par augmentation, le but est de contrôler un ravageur indigène en augmentant l'occurrence de son ou ses ennemis naturels, naturellement présents mais en quantité insuffisante (**Cloutier, 1992**) ou d'introduire à répétition un ennemi qui ne survivrait pas, par exemple, aux conditions hivernales (**U.S. Congress, Office of Technology Assessment, 1995**). De grandes quantités d'antagonistes sont libérées, le plus souvent à plusieurs reprises, pour contrôler les ravageurs. Un exemple de lutte biologique par augmentation serait la libération de grandes quantités d'un champignon parasite naturellement présent dans les sols, *Beauveria bassiana*, contre la punaise terne, *Lygus lineolaris* Palisot de Beauvois (**Jamal, 2008**).

### 3.3.3 Lutte biologique par protection

Les ravageurs indigènes ont toujours des ennemis mais ces derniers sont parfois défavorisés par certaines conditions du milieu (utilisation de pesticides à large spectre, souvent). La lutte par protection vise à augmenter l'occurrence des ennemis naturels en changeant le milieu et les pratiques culturales. C'est sans doute le mode de lutte biologique le plus important et facilement disponible car il demande souvent peu d'efforts et que les ennemis sont adaptés à l'environnement visé (**Weeden, 2007 ; U.S. Congress, Office of Technology Assessment, 1995**). Par exemple, certaines espèces d'insectes prédateurs comme les coccinelles du genre *Hyppodamia*, se nourrissent de pollen quand les proies deviennent plus rares. Malheureusement, elles ne peuvent pas se reproduire sous cette diète, ce qui peut faire chuter les populations. Cette situation peut être évitée en pulvérisant sur les cultures une solution de sucre et d'hydrolysate de levures, ce qui remplace temporairement les pucerons (**Johnson, 2000**).

## 3.4 Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique

La protection conférée par un microorganisme de lutte biologique s'appuie sur un ou plusieurs mécanismes d'action tels que la compétition (pour éléments nutritifs, l'oxygène, l'espace), l'antibiose, le parasitisme, la diminution de l'agressivité du pathogène et l'induction de la résistance chez la plante. L'étude de ces mécanismes d'action est une étape importante dans le développement de la lutte biologique (**Jijakli, 2003**).

### 3.4.1 Antibiose

La sécrétion de substances antibiotiques par les microorganismes est un phénomène fréquent. Certains métabolites sont capables d'interférer avec la germination, la croissance mycélienne et/ou la sporulation des agents phytopathogènes. D'autres entraînent le relargage

de composés cellulaires suite à la perturbation de la perméabilité cellulaire. L'antibiose est le mode d'action le plus étudié chez les agents de lutte biologique (**Jijakli, 2003**). Elle consiste en la production par l'agent antagoniste d'antibiotiques efficaces contre l'agent pathogène (**Corbaz, 1990**). Ces antibiotiques vont ralentir ou arrêter la croissance de l'agent pathogène. La fonte des semis du coton due à *Pythium ultimum* peut être combattue par un enrobage des semences avec la souche de *Pseudomonas fluorescens* Pf 5. Cette souche produit un antibiotique, la polyulutérine. La fonte des semis est ainsi réduite de façon significative aussi bien par l'utilisation de ce *Pseudomonas* comme agent d'enrobage que par l'utilisation de l'antibiotique purifié (**Howell et Stipanovic, 1980**).

### 3.4.2 Compétition

La compétition pour les éléments nutritifs entre en jeu lorsqu'il y a simultanément consommation du même composé par plusieurs microorganismes. Pour être un compétiteur efficace, un agent antagoniste doit être capable d'utiliser rapidement et efficacement les éléments nutritifs présents en faible concentration sur les organes de la plante (**Jijakli, 2003**).

En occupant la même niche écologique qu'un agent pathogène, un microorganisme peut entrer en compétition avec l'agent pathogène au niveau des nutriments, ce qui peut diminuer ou même empêcher la croissance de cet agent pathogène. Par exemple, certaines bactéries produisant des sidérophores ont un avantage écologique. Les sidérophores de ces microorganismes captent le fer, pouvant le rendre ainsi non disponible pour l'agent pathogène ce qui, conséquemment, limite sa croissance. Ce mécanisme est souvent attribué aux agents antagonistes de l'espèce *Pseudomonas fluorescens* (**Corbaz, 1990**). Des sidérophores produits par *P. fluorescens* formeraient un complexe avec les métaux du sol et les rendraient non disponibles pour les autres microorganismes de son environnement dont le *Pythium ultimum*, causant la fonte des semis (**Howell et Stipanovic, 1980**).

Outre la compétition nutritionnelle, la compétition spatiale contribue aussi à la réduction des infections racinaires par les agents phytopathogènes (**Benítez, 2004**). En effet, les microorganismes ayant la capacité de coloniser les racines comme les bactéries promotrices de la croissance des plantes (Plant Growth Promoting Bacteria, PGPB) protègent les racines et occupent les sites d'infection aux agents phytopathogènes (**Benítez, 2004 ; Compant, 2005**).

### 3.4.3 Parasitisme

Ce mécanisme de lutte consiste en une interaction directe entre deux microorganismes où les tissus vivants de l'un constituent une base nutritive pour l'autre (**Helluy et Holmes,**

2005). Il implique l'invasion des cellules de l'agent pathogène par le microorganisme antagoniste (Corbaz, 1990). L'agent antagoniste utilisera des enzymes lytiques tels que des glucanases, des chitinases et des lysozymes pour dégrader les parois de l'agent pathogène. Valueva et Mosolor (2004) ont montré que les enzymes utilisées par les antagonistes ont souvent une activité en mélange ou en synergie avec les antibiotiques. Par exemple, il a été démontré que les hyphes de l'agent pathogène *Rhizoctonia solani* et les spores de l'agent pathogène *Cochliobolus sp.* Peuvent être perforées dans le sol par des myxobactéries du genre *Polyangium* et des amibes *vampyrellides*. Cette dégradation entraîne une diminution de la population des agents pathogènes. Certains actinomycètes produisent aussi des chitinases et glucanases pour dégrader les parois de *Fusarium oxysporum* (El-Tarabily, 1997 ; Sabaou, 1998 ; Errakhi, 2008).

#### 3.4.4 Induction des systèmes de résistance de la plante hôte

Des microorganismes de lutte biologique sont capables de déclencher une résistance systémique induite (ISR) chez la plante hôte, ce qui peut rendre l'hôte plus résistant à l'agression future par des agents pathogènes (Jijakli, 2003). L'induction des systèmes de résistance chez la plante a été démontrée pour la première fois par (Kempe et Sequira, 1983). Ces derniers ont remarqué que des prétraitements par des bactéries ont protégé des tubercules de pomme de terre des infections de *Pseudomonas solanacearum*.

Le microorganisme antagoniste peut consister en une souche virulente occupant la même niche écologique qu'un agent pathogène. L'induction des systèmes de résistance se manifeste par des modifications au niveau de la composition des parois cellulaires ou la libération des électeurs. Ces derniers sont des substances mettant en branle les mécanismes de défense de la plante. Celle-ci produira alors des phytoalexines et des protéines PR qui lui confèrent une résistance systémique (Agrios, 1988 ; Toussaint, 1996). Par exemple, *Trichoderma harzianum* T-203 induit des changements structuraux et chimiques des parois cellulaires des plantes ce qui augmente leur résistance aux infections par les phytopathogènes (Brimner et Boland, 2003).

#### 3.4.5 Diminution de l'agressivité du pathogène

Un agent de biocontrôle peut également agir en affectant les facteurs de pathogénicité de l'agent pathogène. L'intensité de symptômes de *Botrytis cinerea* sur les feuilles du haricot est réduite en présence de la souche *Trichoderma* T39. La réduction du développement du parasite ne s'observant qu'au cours du second jour d'incubation. Ce retard s'expliquerait par une production réduite par le pathogène des enzymes dégradant la pectine (Jijakli, 2003).

### 3.5 Les microorganismes de lutte biologique les plus utilisés

Plusieurs microorganismes ont été utilisés dans le contrôle des maladies phytopathogènes (**Errakhi, 2008**) (**Tableau 3**). Parmi les champignons les plus utilisés, nous pouvons citer *Trichoderma spp.* Ce dernier a été utilisé comme agents de lutte biologique contre un large spectre de pathogènes aussi bien telluriques que foliaire. Ils agissent par différents mécanismes comme la production des enzymes lytiques (chitinases, bêta-1-3 -glucanase et bêta-1-4-glucanase), la production d'antibiotiques, la compétition spatiale et nutritionnelle, l'induction des systèmes de résistance des plantes (**Brimner et Boland, 2003**) et l'inactivation des enzymes de l'agent pathogènes. Une souche de *Trichoderma spp.* S'est avérée active contre de nombreux phytopathogènes à savoir : *Pythium ultimum* (**Mukherjee, 2008**), *Botrytis cinerea* (**Mukherjee, 2008**) et *Rhizoctonia solani* (**Mazzola, 2002**). Certaines bactéries à Gram-positif sont employées comme agent de lutte biologique. Elles contrôlent plusieurs maladies phytopathogènes. Parmi ces bactéries, les souches de *Bacillus subtilis* et les actinomycètes sont les plus étudiés.

La plupart des espèces actinomycètes vivent dans le sol, qui est leur réservoir principal. Ils peuvent agir par différents mécanismes d'action (**Emmert et Handelsman, 1999**). L'action antagoniste de ce groupe bactérien dans la lutte biologique a été démontrée contre *Fusarium oxysporum f sp. albedenis* (**Sabaou, 1998**), *Alternaria sp.* (**Khamna, 2009**) *Phytophthora sp.* (**Xiao, 2002**), *Pythium ultimum* (**Mahadevan et Crawford, 1997**), *Colletotrichum lindemuthianum* (**Tu, 1988**).

Tableau 3 : Agents de la lutte biologique utilisés contre des agents phytopathogènes (Errakhi, 2008).

Agent de biocontrôle	Agents phytopathogènes cibles	Mécanisme (s) d'action
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Roselliniana</i> spp.	Parasitisme
<i>Trichoderma koningii</i>	<i>Sclerotium rolfisii</i>	Parasitisme
<i>Pseudomonas</i> spp. DF-41 et PA-2	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Antibiose
<i>Streptomyces</i> sp. Di-944	<i>Rhizoctonia solani</i>	Antibiose
<i>Streptomyces</i> sp. 93	<i>Pythium</i> , <i>aphanomyces</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Rhizoctonia</i> et <i>Fusarium</i> spp.	Antibiose
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Rhizoctonia bataticola</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotium rolfisii</i> et <i>Puccinia arachidis</i>	Antibiose Compétition
<i>Streptomyces diastatochromogenes</i> PonSSII	<i>Streptomyces scabies</i>	Antibiose Compétition
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i> , <i>Pseudomonas tolaasii</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lini</i> et <i>Erwinia amylovora</i>	Antibiose Compétition
<i>Trichoderma</i> spp.	Plusieurs champignons phytopathogènes	Parasitisme Antibiose Compétition
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Fusarium</i> spp.	Antibiose

### 3.6 L'intérêt de la lutte biologique dans le contrôle des maladies phytopathogènes

En plus de son rôle dans la restauration de la biodiversité dans les écosystèmes, la lutte biologique présente un rôle important dans le contrôle des maladies phytopathogènes, affirment que la lutte biologique peut être aussi efficace dans le contrôle des maladies phytopathogènes que l'utilisation des fongicides chimiques (Singh, 2003) ont montré que *Pseudomonas fluorescens* peut réduire de 78% la maladie de la pourriture du collet de la plante de piment rouge causé par *Sclerotium rolfisii*. Également, Mao, (1998) a pu réduire dans le champ les maladies de la tomate due aux *S. rolfisii*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum* par l'utilisation de deux agents biologiques *Gliocladium vireus* et *Burkholderia cepacia*.

La lutte biologique est considérée comme une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques qui constituent un danger sur l'environnement et sur l'homme. L'utilisation de plusieurs modes d'action par un seul agent antagoniste et sa capacité d'adaptation à la rhizosphère contribuent à ce que la lutte biologique devient plus durable que les produits chimiques (Cook, 1993 ; Benbrook, 1996). Actuellement, plusieurs produits de lutte

biologique sont commercialisés et utilisés dans le monde (Fravel, 2005 ; Errakhi, 2008) (Tableau 4).

La réussite de la lutte biologique nécessite l'application d'un agent de biocontrôle efficace. L'efficacité est notamment liée à la capacité de l'agent de lutte biologique à coloniser et à s'installer dans le milieu rhizosphérique des plantes (Singh, 2003).

**Tableau 4 :** Quelques agents antagonistes commercialisés sous forme de produits biologiques utilisés dans le traitement de certaines maladies phytopathogènes (Sabaratnam et Traquair, 2002 ; Jijakli, 2003 ; Punja et Utkhede, 2003).

Produit	Microorganismes	Maladies traitées	Distributeur
AQ 10	<i>Ampelomyces quisqualis</i>	Mildious	Ecogen, USA
Binab T	<i>Trichoderma</i> spp.	Pourriture des racines, fusariose	Bio innovation AB, nouvelle zélande, USA
Biofox C Fusaclean	<i>Fusarium oxysporum</i> (non pathogène)	Fusariose	S.I.A.P.A., USA
Bio-fungus	<i>Trichoderma harzianum</i>	Pourriture des racines, fusariose	De Ceuster, USA, UE, Nouvelle Zélande
Intercept	<i>Pseudomonas cepacia</i>	Pourriture des racines	Soil Technologies, USA
PSSOL	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Pourriture des racines	Natural Plant Protection, France
Contans KONI	<i>Coniothyrium minitans</i>	Pourriture des racines	Prophyta Biologischer, Hongrie, Allemagne
Polyversum	<i>Pythium oligandrum</i>	Pourriture des racines	Biopreparaty, Tchèque
Primastop (Prestop Mix)	<i>Gliocladium catenulatum</i>	Pourriture des racines, fusariose	Kemira Agro, Finlande
Root Shield, Plant Shield, T-22 Planter	<i>Trichoderma harzianum</i> - T22	Pourriture des racines	Bioworks, USA, UE, Nouvelle zélande
Soil Gard	<i>Gliocladium virens</i> GL-21	Pourriture des racines	Therma Trirlogy, USA
Sporodex	<i>Pseudozyma flocculoza</i>	mildious	Plant products, Canada
Trieco	<i>Trichoderma viride</i>	Pourriture des racines, fusariose	Ecosens Laboratories, Inde
GBO3, MBI 600	<i>Bacillus subtilis</i>	Fonte des semis	Horticulture, USA
Mycostop	<i>Streptomyces griseovoidis</i>	Fusariose, fonte des semis	Kemira Agro Oy, Helsinki, Finlande

---

*Partie2 : Partie expérimentale*

---

---

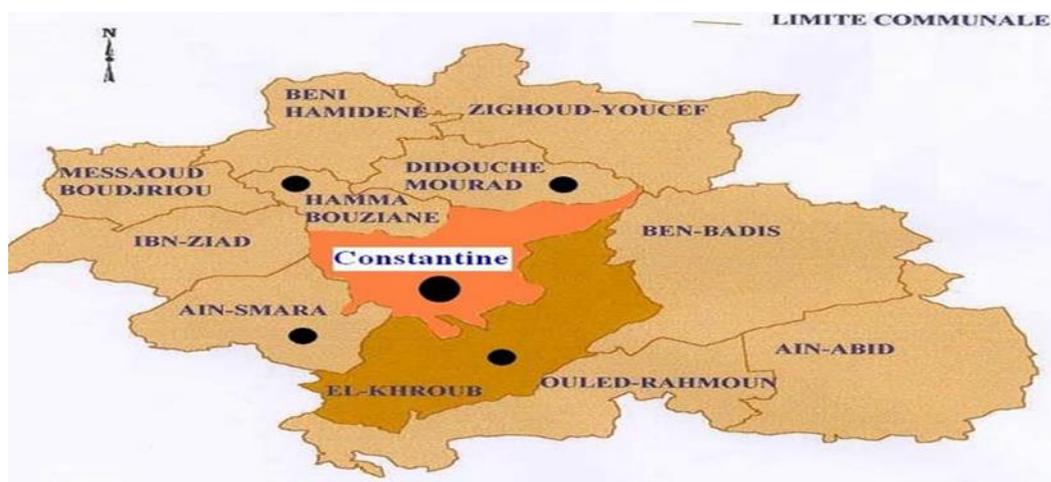
## *Matériel et méthodes*

---

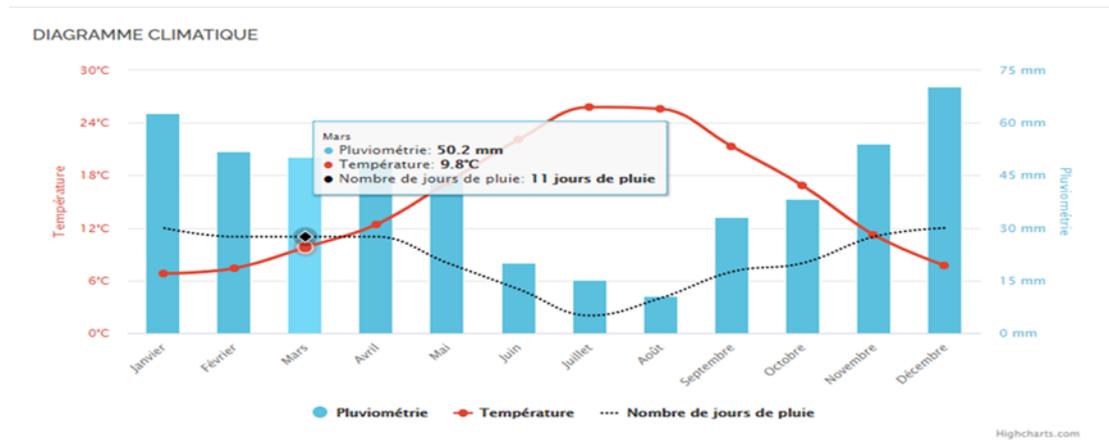
Le présent travail est réalisé au niveau du laboratoire de Zoologie. Département de microbiologie. Faculté SNV. Université des frères Mentouri Constantine 1. Il porte sur la recherche et l'identification macroscopique et microscopique des champignons phytopathogènes responsables des maladies cryptogamiques rencontrées durant la saison agricole 2019-2020 chez les petits pois cultivés au niveau de la commune de Messaoud Boudjriou, wilaya de Constantine.

### 1 Site d'échantillonnage

Messaoud Boudjeriou (Ex Aïn Kerma), se situe dans le Nord-Ouest de Constantine et a toujours été une riche commune agricole grâce à la fertilité de ses terres et à la disponibilité des eaux, d'abord trouvant sa source dans l'Oued Rhummel mais aussi dans des riches nappes phréatiques. Située à 15 km du chef-lieu de la Wilaya de Constantine (**Figure 10**), cette commune est bâtie au pied d'une petite chaîne montagneuse s'étendant sur, au moins, 10 km et culminant à 700 m en hauteur. Cette masse est arborée et humide. Ses forêts contiennent une flore très variée, des arbres généralement de type méditerranéen, à titre d'exemple : le sapin, les cèdres, les chênes, etc. Les espèces végétales y sont très variées, qu'elles soient migrantes ou endémiques. Rappelons qu'avec le barrage, considéré parmi les plus grands en Afrique, cette commune va connaître des changements au niveau des écosystèmes et des biotopes et comme les climats de Constantine, Messaoud Boudjeriou est caractérisée par un climat continental, et enregistre une température variant entre 25 à 40° en été et de 0 à 12° en hiver. La moyenne pluviométrique varie de 500mm à 700mm durant 20 jours par année (Centre de développement des technologies avancées) (**Figure 11**) (C.D.T.A).



**Figure 10** : Site de prospection au niveau de l'Est Algérien, Wilaya de Constantine (Messaoud Boudjeriou) (Google maps ; 11/08/2020)



**Figure 11** : Diagramme climatique de la température et de la pluviométrie en fonction du nombre de jours de pluie (C.D.T.A)

## 2 Échantillonnage

Suite à des observations approfondies, les échantillons sont prélevés à partir du champ de la région de Messida inferieure, située dans le Nord-Ouest de la commune de Messaoud Boudjeriou (**Figure 12**). L'échantillonnage est effectué de manière aléatoire, réalisé durant la période du mois de Février de l'année 2020, là où la température est évaluée à 14°C. Trois plantes malades et une autre saine sans symptômes pathologiques (considérée comme témoin), se sont prises au hasard. Le prélèvement des plantes est effectué entièrement à la main, introduit séparément dans des sacs alimentaires en plastique, conservés dans une glacière pour éviter toute modification. En fin, les échantillons sont transportés au laboratoire pour la recherche et l'examen mycologique.



**Figure 12** : Le champ de prélèvement des échantillons (Messoud Boudjeriou) mars 2020.

### 3 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre analyse expérimentale est le petit pois (*Pisum sativum*. L) prélevé à partir du champ de Messida inferieur (Messaoud Boudjeriou), cette plante est caractérisée par des symptômes caractéristiques des maladies telles que l'antracnose, la rouille, l'oïdium et le mildiou (**Tableau 5**).

**Tableau 5** : Les symptômes des maladies cryptogamiques rencontrés chez le petit pois prélevé

Symptômes	Plante
<p>Antracnose : est la maladie la plus courante, qui s'attaque les feuilles, les fleurs et la tige. Cette maladie est caractérisée par des taches beiges à bordure foncée ainsi que par des ponctuations noires.</p>	
<p>Mildiou : couvert d'un feutrage gris violacée Les feuilles présentent alors de jaunissement sur la face supérieure et duvet gris violacée sur la face inférieure.</p>	
<p>La rouille : est une maladie assez peu courante sur le pois Elle apparaît sous forme de petites taches blanches et poudreuses qui colonisent d'abord les feuilles âgées. Un mycélium blanc et pulvérulent se développe ensuite sur tous les organes aériens. Ce feutrage s'enlève facilement au passage du doigt. Les attaques peuvent être spectaculaires par leur rapidité et leur intensité.</p>	

## 4 Pré-traitement et mise en culture des échantillons

### 4.1 Milieu de culture

Durant le premier isolement des agents phytopathogènes, on a utilisé le milieu *potato dextrose agar* PDA (Annexe 1), jugé comme milieu standard pour le développement et la sporulation des champignons microscopiques.

## 5 Méthodes d'isolement

### 5.1 Désinfection des échantillons

Après l'examen visuel de l'organe affecté par l'agent pathogène, les échantillons (feuilles, tiges, gousses et racines) sont trempés dans une solution d'hypochlorite de sodium à 1% pendant 10 minutes (**Figure 13**), les différentes parties désinfectées sont ensuite rincées à l'eau distillée stérile deux fois afin d'éliminer toute trace d'hypochlorite de sodium (**Zehhar, 2006**).



**Figure 13** : Désinfection de l'échantillon à l'hypochlorite de sodium.

### 5.2 Séchage et ensemencement des échantillons

Le séchage est effectué dans la zone stérile, à proximité du bec bunsen. Les fragments désinfectés sont déposés sur du papier absorbant pendant quelques minutes jusqu'à l'obtention de fragments totalement secs (**Figure 14**).

La mise en culture est réalisée par ensemencement des fragments prétraités sur milieu PDA (**Figure 14**). Pour chaque échantillon, l'ensemencement est fait en triplicate (trois boîtes par fragment) sont réalisées.

Les boîtes de Pétri sont incubées à 28°C jusqu'à l'apparition des premiers filaments transparents, qui seront repiqués sur de nouvelles boîtes coulées en milieu PDA, puis incubées

à 28°C jusqu'à une bonne sporulation. Ces dernières boîtes font l'objet d'une purification et d'une identification des isolats obtenus (Rémi, 1997).



A

B

**Figure 14 :** Séchage et ensemencement des échantillons

**A :** séchage des fragments désinfectés. **B :** ensemencement des fragments prétraités sur milieu PDA.

## 6 Purification des isolats fongiques

La purification est réalisée par transfert de colonies fongiques bien isolées, ayant développées sur des boîtes contenant le milieu de culture PDA (chaque colonie est récupérée dans une boîte). Le milieu PDA est considéré comme milieu favorable au développement fourni et la sporulation des champignons (Botton *et al.*, 1990). Les boîtes de repiquage ainsi obtenues sont incubées à 28°C°, pendant 4 à 6 jours. Cette étape est répétée jusqu'à l'obtention de colonies pures.

### 6.1 Caractérisations des isolats fongiques

### 6.2 Etude morphologique et culturale

Pour l'observation macroscopique des moisissures, il est nécessaire de caractériser ces isolats sur milieu PDA par :

- **L'aspect des colonies :** qui représente un critère clé d'identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses.
- **La couleur des colonies :** c'est un élément très important pour l'identification. Les couleurs les plus fréquentes sont : blanc, crème, jaune, orange, brun allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*) : présence ou absence d'exsudât sous

forme des gouttelettes sur le mycélium, temps de sporulation, texture de la surface etc...) (Botton *et al.*, 1990).

- **Le relief des colonies** : il peut être plat ou plissé et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure).
- **La taille des colonies** : elle peut être très variable en fonction des genres fongiques : petites colonies (*Cladosporium*) ou au contraire, colonies étendues, envahissantes (*Mucor*, *Rhizopus*) (Botton, 1990).

### 6.3 Examen microscopique

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame, scotch et coloration par le bleu au lactophéno (annexe 2). La manipulation consiste à mettre un petit fragment mycélien sur la lame propre placée entre deux bec Bunsen en présence d'une goutte du liquide de montage bleu au lactophéno, et légèrement le dilacéré, puis le recouvrir délicatement d'une lamelle en évitant de créer des bulles d'air ou des débordements (Botton *et al.*, 1990). Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants (Chabasse, 2002). L'observation microscopique permet de détecter la présence du thalle, la présence ou l'absence de septum, la nature de la reproduction et les caractéristiques des fructifications et des spores.

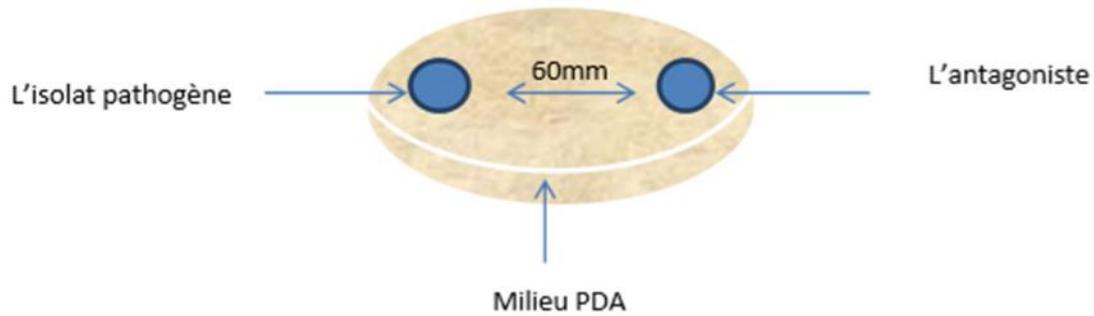
## 7 Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma longibrachiatum*, à l'égard des champignons pathogènes isolés :

L'activité antagoniste de *Trichoderma longibrachiatum* contre les souches pathogènes isolées est étudiée de deux différentes manières. Quatre boîtes de Pétri sont utilisées pour chaque test, avec trois répétitions.

### 7.1 Confrontation directe

Dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA, deux disques de 10 mm de diamètre constitués par l'inoculum du pathogène et celui de l'antagoniste sont placés à 60 mm l'un de l'autre, symétriquement par rapport au centre de la boîte. Pour le témoin, un disque mycélien du pathogène est déposé dans une autre boîte.

Incuber les boîtes pendant cinq jours à l'obscurité et à 25°C (Figure 15) (Attrassi, 1985).

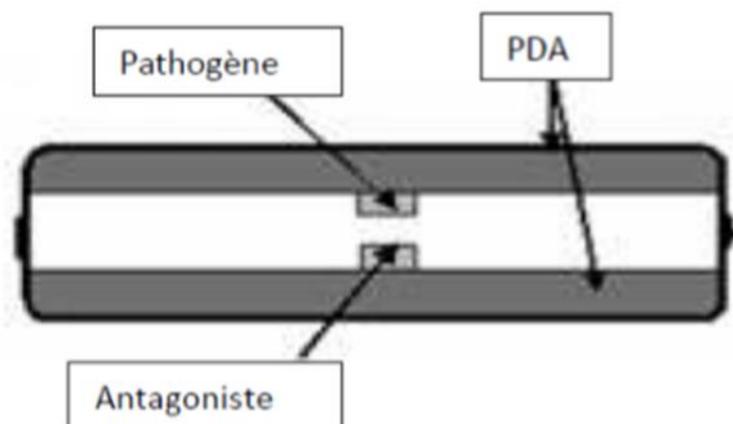


**Figure 15 :** Confrontation directe de *Trichoderma longibrachiatum* et l'isolat pathogène par contact directe sur milieu PDA (Hibar, 2005).

## 7.2 Confrontation à distance

Il consiste à repiquer l'antagoniste et le pathogène dans deux boîtes séparées ; par la suite, un assemblage est réalisé par la super position de deux boîtes, *Trichoderma longibrachiatum* en bas et le pathogène en haut. 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 de l'agent pathogène à l'influence des substances volatiles émises par la souche de *Trichoderma longibrachiatum*.

Le témoin est formé par super position de deux boîtes, celle du haut contenant une pastille de l'agent pathogène, alors que celle du bas ne contient que le milieu PDA. Les boîtes sont soumises pendant 5 jours à 25°C dans l'obscurité (Figure 16).



**Figure 16 :** Confrontation à distance entre *Trichoderma longibrachiatum* et l'isolat pathogène (Hamouni, 1996).

Le pourcentage d'inhibition ( $IC\%$ ) de la croissance mycélienne du pathogène par l'antagoniste est évalué selon la formule suivante :

$$IC\% = (DT - DPA / DT) \times 100.$$

DT : croissance diamétrale du témoin. DPA : croissance diamétrale mycélienne du pathogène en présence de l'antagoniste (Benhamou et Chet, 1996 ; Comporta, 1985 ; Hibar, 2005 ).

## 8 Les fongicides utilisés pour la lutte chimique

La dose conseillée a été utilisée par le producteur de fongicide a été choisie pour préparer la solution mère : 1g de chaque fongicide est mélangé avec 45 ml d'eau distillée stérile, dans un erlenmeyer de 100 ml. Homogénéiser l'échantillon mère par agitation à l'aide d'un vortex. A partir de cette dose des suspensions sont préparées puis diluées dans le milieu de culture PDA.

Dans cette étude deux fongicides différents, sont utilisés : Milor et Curenox (Figure 17). Différentes concentrations des deux fongicides testés ont été réalisées dans le milieu nutritif PDA à partir de la solution mère, qui a été préparée par la dissolution de 1g de Curenox ou 0,87g de Milor dans 100 ml d'eau distillé stérile.

Dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA- fongicide, un disque de 10 mm de diamètre constitué par l'inoculum du pathogène est placé au centre de la boîte. Pour le témoin, un disque mycélien du pathogène est déposé dans une autre boîte contenant le milieu PDA sans fongicide.

- **La composition chimique des fongicides Milor et Curenox**

- ✓ **Curenox 50** : Oxychlorure de cuivre :  $Cu_2Cl_2$
- ✓ **Milord WP720MZ** : -Le tébuconazole :  $C_{16}H_{22}ClN_3O$ .

-La spiroxamine :  $C_{18}H_{35}NO_2$ .



A

B

**Figure 17** : Les fongicides utilisés dans la lutte chimique (A) Curenox, (B) Milor.

---

## *Résultats et discussion*

---

### 1 Résultats

#### 1.1 Isolement et purification des agents pathogènes

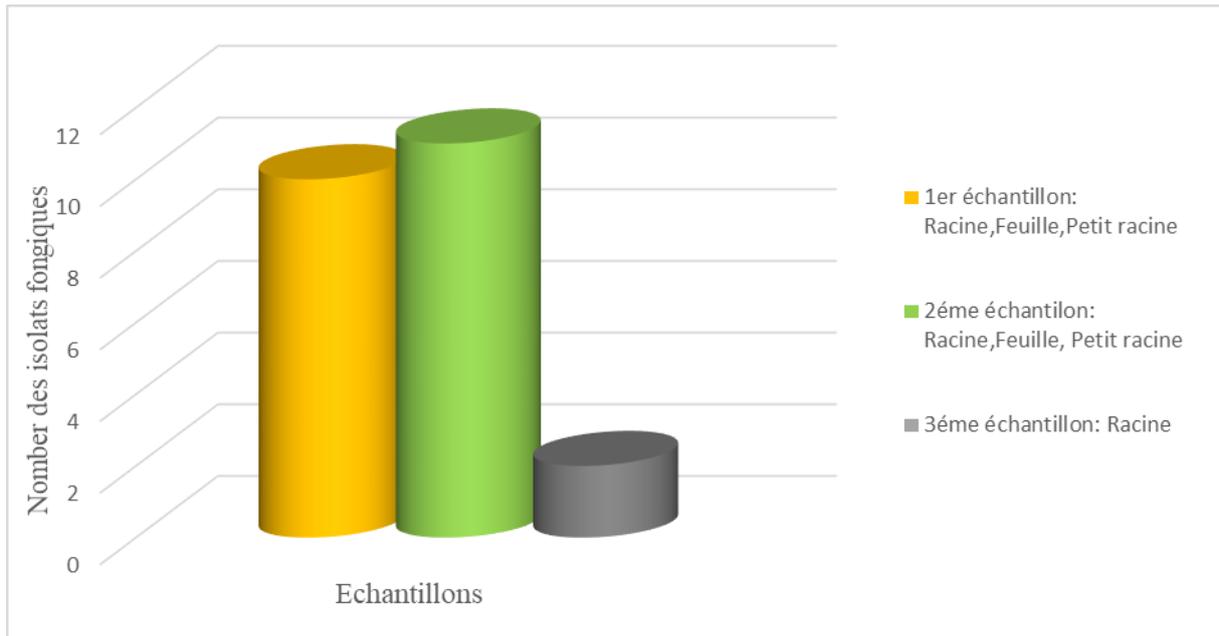
L'isolement est réalisé à partir de quatre échantillons de petit pois, l'un des échantillons est sain et utilisé comme témoin et les autres présentant des symptômes de maladies, font l'objet d'une analyse mycologique, afin d'isoler et d'identifier les agents pathogènes responsables de ces pathologies. Selon les différentes parties de la plante étudiée (feuille, tige, racine, petite racine, fleurs et gousse), l'analyse abouti à des colonies fongiques à divers aspect, texture et couleurs.

D'après les boîtes de l'isolement effectuées à partir des fragments obtenus de la tige, des fleurs et des gousses, on note l'absence de colonies fongiques. Ce qui signifie que ces parties ne sont pas infectées (parties saines) (**Figure 18**).



**Figure 18** : Isolement des souches fongiques à partir des gousses.

Après sept jours d'incubation à 28°C sur milieu PDA, on a pu obtenir 23 boîtes contenant des colonies fongiques à partir des trois échantillons du petit pois (*Pisum sativum*. L), 10 boîtes du premier échantillon (à partir des feuilles, racine, petite racine et gousse) 11 boîtes du deuxième échantillon (à partir des feuilles, racine, petite racine et gousse) et 2 boîtes du troisième échantillon (à partir des racines) (**Figure 19**).



**Figure 19** : Répartition numérique des isolats fongiques obtenus des échantillons du petit pois étudiés (*Pisum sativum* L.).

### 1.2 Identification des agents pathogènes

L'identification de ces souches étant basée essentiellement sur les clés de détermination des genres à savoir les caractères cultureux et la morphologie microscopique, établies par **Botton *et al.*, (1990), Messiaen, (1991) et Rémi, (1997)**.

L'identification des isolats fongiques nous a permis de les rapprocher à six genres différents, il s'agit : *Rhizopus* 9 isolats (23,68%) ; *Mucor* 7 isolats (18,42%) ; *Aspergillus* 7 isolats (18,42%) ; *Alternaria* 6 (15,79%) ; *Rhizomucor* 4 isolats (10,53%) ; *Absidia* 3 isolats (7,89%) et le genre non identifié avec 2 isolats (5,26%) (**Tableau 6 et 7**), (**Figure 20**).

## Résultats et Discussions

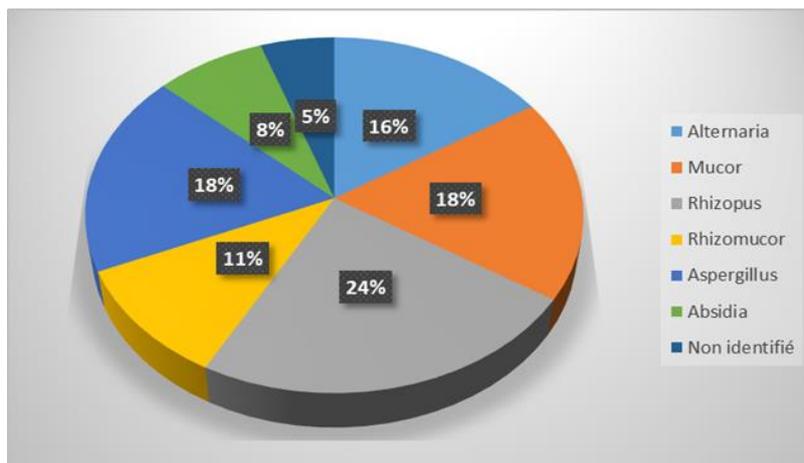
**Tableau 6 :** Quantification des isolats fongique à partir des échantillons du petit pois (*Pisum sativum*. L).

Echantillons	Isolats fongiques	
	Genre	Nombre d'isolats
<b>1<sup>er</sup> échantillon</b>	<i>Alternaria</i>	4
	<i>Rhizomucor</i>	4
	<i>Mucor</i>	2
	<i>Rhizopus</i>	2
	Non identifié	2
	Nombre total	14
<b>2<sup>ème</sup> échantillon</b>	<i>Rhizopus</i>	6
	<i>Mucor</i>	5
	<i>Absidia</i>	3
	<i>Alternaria</i>	2
	Nombre total	16
<b>3<sup>ème</sup> échantillon</b>	<i>Aspergillus</i>	7
	<i>Rhizopus</i>	1
	Nombre total	8

**Tableau 7 :** Nombre et pourcentage totale des espèces fongiques isolés à partir du petit pois.

Genres	Nombre d'isolats	Pourcentage%
<i>Rhizopus</i>	9	23,68
<i>Mucor</i>	7	18,42
<i>Aspergillus</i>	7	18,42
<i>Alternaria</i>	6	15,79
<i>Rhizomucor</i>	4	10,53
<i>Absidia</i>	3	7,89
Non identifié	2	5,26

## Résultats et Discussions

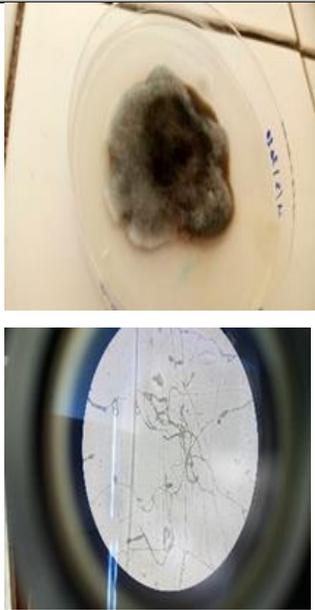


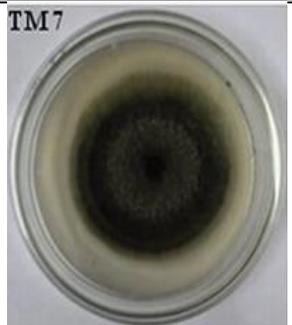
**Figure 20 :** Répartition en pourcentage des genres fongiques isolés à partir du petit pois (*Pisum sativum. L.*).

### 1.2.1 Isolats fongiques obtenus des feuilles

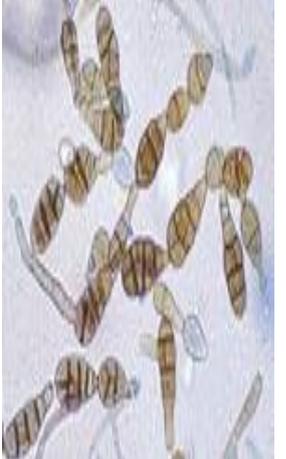
Les caractères macroscopiques des différentes souches obtenus sont étudiés sur le milieu PDA. Le **Tableau 8** résume l'aspect macroscopique et microscopique des souches fongiques purifiées.

**Tableau 8 :** Les isolats fongiques obtenus à partir des feuilles de trois plantes infectés du petit pois (*Pisum sativum. L.*).

Classification des mycètes étudiés	Caractères cultureux et microscopique		
Règne : Fungi Division : Deuteromycota Classe : Hyphomycetes Ordre : Dematiaceae Famille : Moniliales Genre : <i>Alternaria</i>	<b>Photos obtenus (nos résultats)</b> 	<b>Photos de références</b>  (Raper et Fennell, 1977)	<b><u>Caractères cultureux</u></b> * <b>Recto</b> : blanc verdâtre. -La couleur du milieu de culture ne change pas. Les colonies bombées, semi opaque, cotonneuse * <b>Verso</b> : crémé. * <b>Croissance</b> : rapide.
			<b><u>Caractères microscopiques</u></b> * <b>Mycélium</b> : cloisonné * <b>Conidiospores</b> : brune, irrégulières.

<p>Règne : Fungi            Division : Ascomycota            Classe : Euecomycetes            Ordre : Pleosporales            Famille : Pleosporaceae            Genre : <i>Alternaria</i></p>	 	  <p>(Zillinsky, 1983)</p>	<p><b><u>Caractères culturaux</u></b>            *<b>Recto</b> : vert militaire claire avec un centre foncé,            -la couleur du milieu de culture ne change pas,            -l'absence d'exsudat, - les colonies opaque, plat, duveteuse            *<b>Verso</b> : vert olive            *<b>Croissance</b> : rapide.</p> <p><b><u>Caractères microscopiques</u></b>            *<b>mycélium</b> : cloisonné            *<b>dictyospore</b> : segmenté, brune, irrégulières</p>
<p>Règne : Fungi            Division : Ascomycota            Classe : Euecomycetes            Ordre : Pleosporales            Famille : Pleosporaceae            Genre : <i>Alternaria</i></p>	 	 <p>TM7</p>  <p>(Pitt, 1985)</p>	<p><b><u>Critères culturaux</u></b>            *<b>Recto</b> : vert olive et blanc grisâtre            -Présence d'exsudat, la couleur du milieu ne change pas, colonies filamenteux, plat, opaque,            *<b>Verso</b> : marron  <b>Croissance</b> : moyenne.</p> <p><b><u>Critères microscopiques</u></b>            *<b>Conidies</b> : brunes, Pluricellulaires            -Aspect puriforme ou ovoïde, avec une partie basale arrondie et une extrémité apicale allongé. Ce sont des dictyospores.</p>

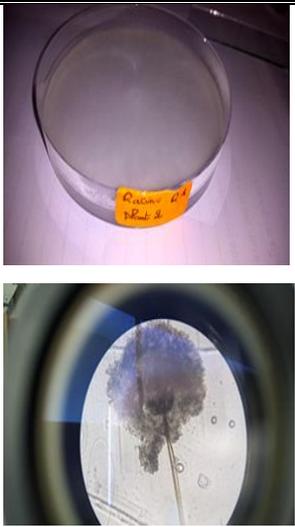
## Résultats et Discussions

<p>Règne : Fungi            Division : Ascomycota            Classe : Euascomycetes            Ordre : Pleosporales            Famille : Pleosporaceae            Genre : <i>Alternaria</i></p>	 	<p>TM11</p>   <p>(Pitt, 1985)</p>	<p><b><u>Critères cultureux</u></b></p> <p><b>*Recto</b> : la couleur des colonies vert à jaune brunâtre            - Absence d'exsudat, la couleur du milieu ne change pas, colonies filamenteux, plates et opaques.</p> <p><b>*Verso</b> : blanchâtre</p> <p><b>*Croissance</b> : moyenne.</p> <p><b><u>Critères microscopiques</u></b></p> <p><b>*Conidies</b> : brunes, Pluricellulaires            -Aspect puriforme ou ovoïde, avec une partie basale arrondie et une extrémité apicale allongé. Ce sont des dictyosporos.</p>
<p>Règne : Fungi            Division :            Mucormycotina            Classe : Zygomycota            Ordre : Mucorales            Famille : Mucoraceae            Genre : <i>Rhizopus</i></p>	 	  <p>(Raper et Fennell, 1977)</p>	<p><b><u>Critères cultureux</u></b></p> <p><b>*Recto</b> : couleur blanche, deviennent gris foncées en vieillissant, les colonies de texture cotonneuse.</p> <p><b>*Verso</b> : incolore</p> <p><b>*Croissance</b> : rapide</p> <p><b><u>Critères microscopiques</u></b></p> <p><b>*Sporocystophore</b> = 10 mm de hauteur</p> <p><b>*Rhizoïdes</b> bien développés</p> <p><b>*Sporocystosporos</b> striées</p>

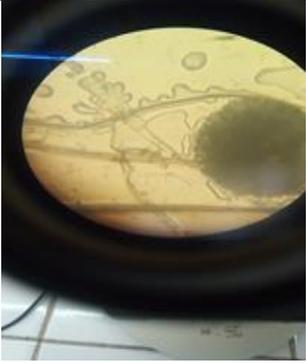
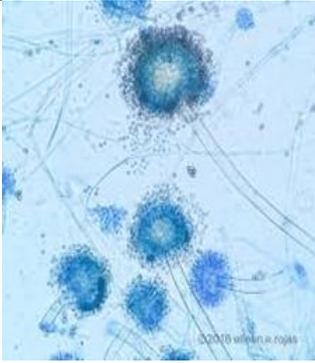
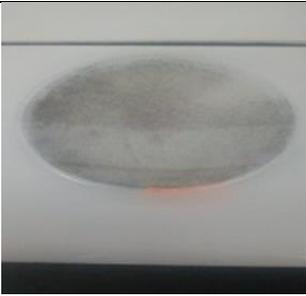
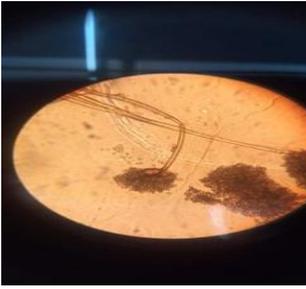
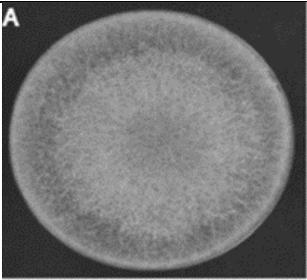
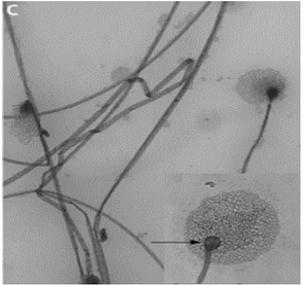
1.2.2 Isolats fongiques obtenus des racines

Les caractères macroscopiques des différentes souches obtenus sont étudiés sur le milieu PDA. Le **Tableau 9** résume l'aspect macroscopique et microscopique des souches fongiques purifiées.

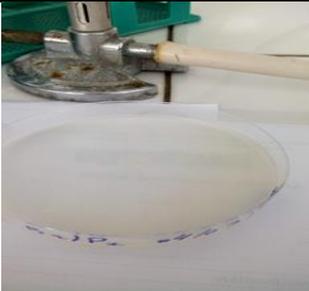
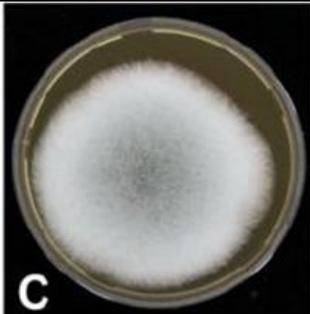
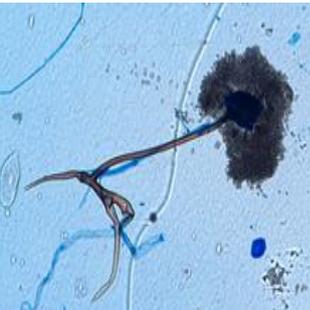
**Tableau 9** : Les isolats fongiques obtenus à partir des racines de trois plantes infectés du petit pois (*Pisum sativum*. L).

Classification des mycètes étudiés	Caractères cultureux et microscopique		
<p>Règne : Fungi                      Division :                      Mucormycotina                      Classe : Zygomycota                      Ordre : Mucorales                      Famille : Mucoraceae                      Genre : <i>Mucor</i></p>	<p><b>Photos obtenus (nos résultats)</b></p> 	<p><b>Photos de références</b></p>  <p>(Lamrani, 2009)</p>	<p><b><u>Caractères cultureux</u></b></p> <p>*<b>Recto</b> : texture laineuse, la couleur blanc</p> <p>*<b>Verso</b> : incolore</p> <p>*<b>Croissance</b> : rapide et extensive</p> <p><b><u>Caractère microscopique</u></b></p> <p>*<b>Sporocystes</b> : globuleuse</p> <p>*<b>Spores</b> : rondes ; lisses ou ornementées de spicules</p> <p>*<b>Chlamydo-spores</b> : parfois présentes et abondante</p>
<p>Règne : Fungi                      Division :                      Deuteromycota                      Classe :                      Hyphomycetes                      Ordre : Moniliales                      Famille : Moniliaceae                      Genre : <i>Aspergillus</i></p>			<p><b><u>Caractères cultureux</u></b></p> <p>*<b>Recto</b> : colonie de surface granuleuses, blanches au début, puis jaunes et, à maturité, elles deviennent noires.</p> <p>*<b>Verso</b> : incolore à jaune pâle.</p> <p>*<b>Croissance</b> : très rapide</p> <p><b><u>Caractère microscopique</u></b></p> <p>*<b>Conidie</b> : habituellement globuleuses, parfois</p>

## Résultats et Discussions

		 <p>(Morin, 1994)</p>	<p>légèrement aplaties, sont brunes, échinulées à très verruqueuses.</p> <p><b>*Conidiophore</b> : lisse hyalin ou brunâtre dans sa moitié supérieure, très long 1,5 à 3 mm.</p> <p><b>* Phialides</b> : portés par des métules brunâtre.</p>
<p>Règne : Fungi                  Division :                  Mucormycotina                  Classe : Zygomycota                  Ordre : Mucorales                  Famille : Mucoraceae                  Genre : <i>Rhizomucor</i></p>	 	<p>A</p>  <p>C</p>  <p>(Saito, 1906)</p>	<p><b><u>Caractères cultureux</u></b></p> <p><b>*Recto</b> : colonies de surface laineuse de couleur blanc grisâtre.</p> <p><b>*Verso</b> : incolore</p> <p><b>*Croissance</b> : rapide</p> <p><b><u>Caractère microscopique</u></b></p> <p><b>*Rhizoïdes</b> : court</p> <p><b>*sprocystophore</b> : à ramification sub-terminales</p> <p>-Après rupture du sporocyste, on visualise une columelle bien développée sans apophyse</p>

## Résultats et Discussions

<p>Règne : Fungi          Division :          Mucoromycotina          Classe : Zygomycota          Ordre : Mucorales          Famille : Mucoraceae          Genre : <i>Rhizopus</i></p>	 	 	<p><b><u>Caractères cultureux</u></b>  <b>*Recto</b> : Les colonies de texture cotonneuse et de couleur blanche.  <b>*Verso</b> : incolore  <b>*Croissance</b> : rapide</p> <p><b><u>Caractère microscopique</u></b>  <b>*Sporocystophore</b> = 1 cm de hauteur, striées  <b>*Rhizoïdes</b> : bien développés</p>
<p>(Fresen, 1863)</p>			

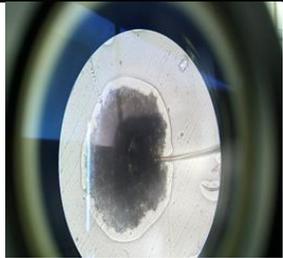
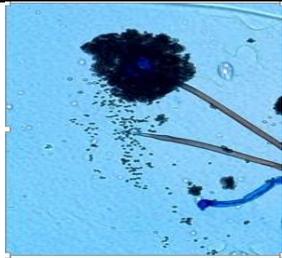
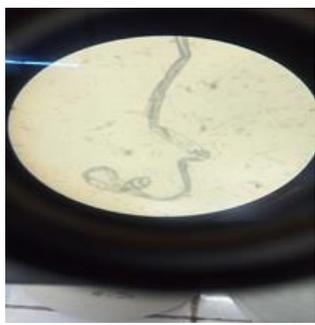
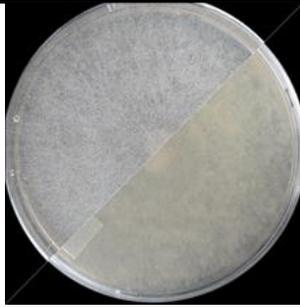
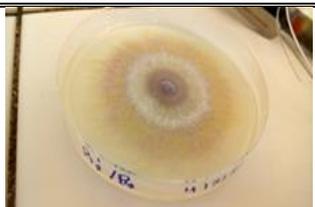
### 1.2.3 Isolats fongiques obtenus des petites racines

Les caractères macroscopiques des différentes souches obtenus sont étudiés sur le milieu PDA. Le **Tableau 10** résume l'aspect macroscopique et microscopique des souches fongiques purifiées.

**Tableau 10** : les isolats fongiques obtenus à partir des petites racines de trois plantes infectés du petit pois (*Pisum sativum*. L).

Classification des mycètes étudiés	Caractères cultureux et microscopique		
<p>Règne : Fungi          Division :          Mucoromycotina          Classe : Zygomycota          Ordre : Mucorales          Famille :          Mucoraceae          Genre : <i>Absidia</i></p>	<p><b>Photos obtenus (nos résultats)</b></p> 	<p><b>Photos de références</b></p> 	<p><b><u>Caractères cultureux</u></b>  <b>*Recto</b> : les colonies de surface floconneuse et de couleur blanc grisâtre  <b>*Verso</b> : incolore  <b>*Croissance</b> : très rapide, envahissant rapidement la boîte</p>

## Résultats et Discussions

		 (Lamrani, 2009)	<p><b><u>Caractère microscopique</u></b></p> <p>*<b>Sporocystophore</b> : ramifié terminé par une columelle faisant saillie dans le sporocyste globuleux</p>
Règne : Fungi Division : Mucoromycotina Classe : Zygomycota Ordre : Mucorale Famille : Mucoraceae Genre : <i>Absidia</i>	 	  (Lamrani, 2009)	<p><b><u>Caractères cultureux</u></b></p> <p>*<b>Recto</b> : les colonies de surface floconneuse et de couleur blanc grisâtre</p> <p>*<b>Verso</b> : incolore</p> <p>*<b>Croissance</b> : très rapide, envahissant rapidement la boîte</p> <p><b><u>Caractère microscopique</u></b></p> <p>*<b>Sporocystophore</b> ramifié terminé par une columelle faisant saillie dans le</p> <p>*<b>sporocyste</b> : globuleux</p>
Non identifié	 	/	/

### 1.3 Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma longibrachiatum* à l'égard des champignons pathogènes isolés

En raison de la pandémie du Covid-19, nous n'avons pas eu l'occasion de compléter notre étude. Ce qui est censé d'être basé sur un test d'antagonisme de la souche *Trichoderma longibrachiatum* vis-à-vis les champignons pathogènes obtenus. Pour cela, on fait recours aux

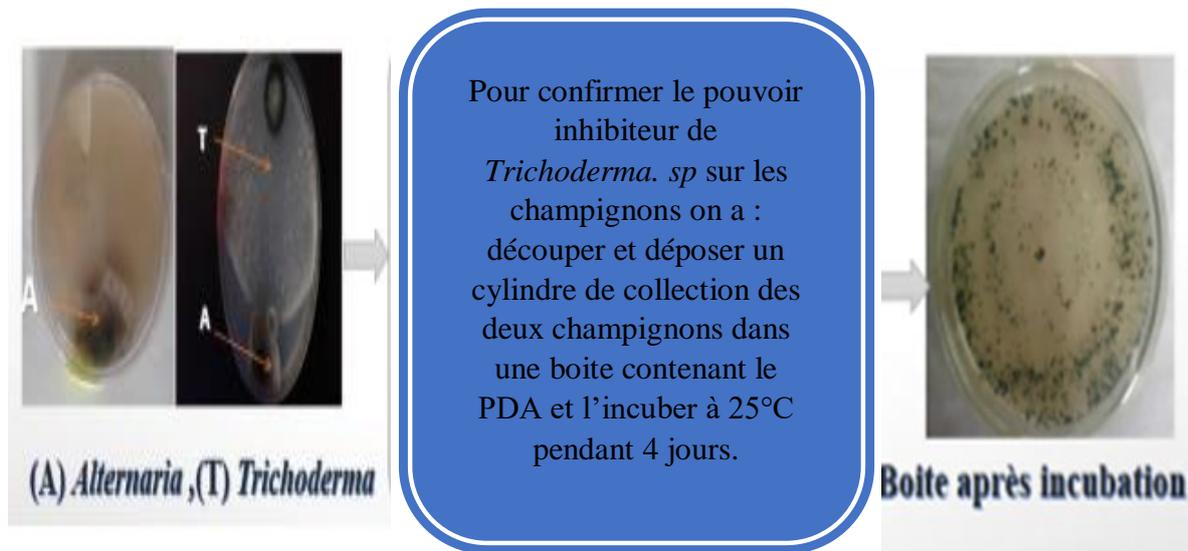
résultats des études précédentes concernant l'antagonisme de *Trichoderma sp* contre les souches pathogènes isolées.

### 1.3.1 Confrontation directe

Une décoloration de la colonie de l'agent pathogène *Alternaria sp*, est observée après son incubation avec l'agent antagoniste *Trichoderma sp*. Selon **Biljana et Jugoslav, (2012)** la méthode diffusible par *Trichoderma sp*, dans la confrontation directe provoque la décoloration de la colonie ainsi que la perte de la sporulation. En outre, des déformations hyphes étaient perceptibles, y compris de plus grandes distances entre les cloisons et les extrémités vides.

Des études sur l'activité biologique de *Trichoderma* ont montré qu'il a un fort effet réducteur sur le développement d'*Alternaria sp*, car elle se développe plus rapidement que *Alternaria sp* en confrontation direct et à distance. Le développement intensif de *Trichoderma* lui confère un avantage significatif dans la compétition avec les agents pathogènes pour les éléments nutritifs et aussi pour l'occupation de l'espace, même s'il développe le système des mycotoxines.

Il a été conclu que *Trichoderma* détectait la présence de champignons cibles et semblait croître tropiquement vers eux. Cependant, il a été remarqué que lorsqu'ils sont ensemble, le gène de l'endochitinase est activé avant qu'ils entrent en contact, tandis que l'activation de l'exochitinase se produit seulement après le contact. De plus, les fragments de paroi cellulaire dégradés des champignons cibles sont des inducteurs très puissants des enzymes, cette induction provoque l'amélioration de la croissance de *Trichoderma*. Lorsque les fragments sont placés en contact rapproché, *Trichoderma* a un avantage spatial et de plus grandes opportunités pour arrêter le développement du pathogène et aussi pour développer ses mécanismes d'action antagoniste. En peu de temps, il réduit considérablement *Alternaria sp*. Ainsi qu'un mycoparasitisme impliquant un contact physique et la production d'enzymes hydrolytiques, de composants toxiques et d'antibiotiques (**Figure 21**) (**Bougoufa et Guendouzi, 2018**).



**Figure 21:** Influence de confrontation directe de *Trichoderma sp* contre *Alternaria* (Bougoufa et Guendouzi, 2018).

### 1.3.2 Confortation à distance

Les résultats obtenus des études sur ce test, montrent un ralentissement de la croissance mycélienne des souches d'*Alternaria* exercé par une souche antagoniste comparativement aux témoins. Il ressort de ces résultats, que malgré l'absence d'un contact direct entre les isolats d'*Alternaria sp* et l'antagoniste testé, ce dernier a pu exercer un effet inhibiteur sur le développement des colonies d'*Alternaria sp*. Cet effet est évalué par la mesure des diamètres des colonies d'*Alternaria* cultivé en présence et en absence de l'antagoniste. En effet, malgré l'absence d'un contact direct entre les isolats de *Alternaria sp* testés et *Trichoderma sp* ce dernier a pu exercer une activité inhibitrice sur le développement des colonies d'*Alternaria sp*. Ceci s'expliquerait par l'aptitude de *Trichoderma sp* à produire des substances volatiles qui sont capables de limiter et même de stopper le développement de l'agent pathogène (Biljana et Jugoslav, 2012). *Trichoderma sp* produit des substances volatiles qui provoquent la décoloration de la colonie et la perte d'une sporulation, simultanément. En outre, des déformations hyphes étaient perceptibles, y compris de plus grandes distances entre les cloisons et les extrémités vides (Bougoufa et Guendouzi, 2018).

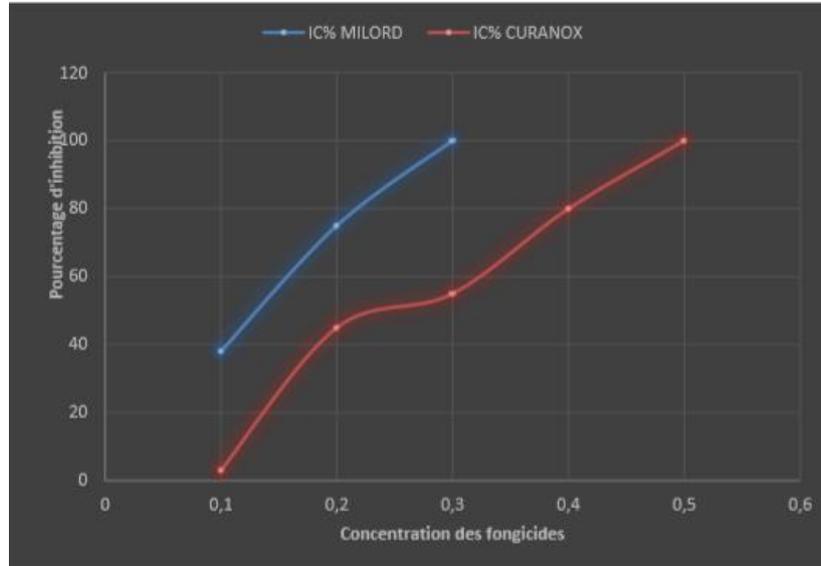
## 1.4 Lutte chimique

### 1.4.1 Les fongicides Curenox et Milor contre *Alternaria sp*

Selon l'étude de Bougoufa et Guendouzi, (2018) concernant la lutte chimique avec les fongicides Curenox et Milor contre *Alternaria sp*, après incubation des boîtes de culture d'*Alternaria sp* en présence de ces fongicides chimiques (Figure 22) :

-Pour *Alternaria sp* avec Milor : 0,3g/L de la matière active pour laquelle IC% est 100%. La concentration de la matière active à IC 50 est 0,1g/L.

-Pour *Alternaria sp* avec Curennox : la concentration la plus efficace est 0,5g/L de la matière active pour laquelle IC% est 100%, la concentration de la matière active à IC 50 est 0,2g/L (Bougoufa et Guendouzi, 2018).



**Figure 22 :** Inhibition de la croissance d'*Alternaria sp* en présence de deux fongicide (Milor et Curennox) (Bougoufa et Guendouzi, 2018).

## 2 Discussion

En raison de la situation actuelle, et le confinement poursuit à cause de la pandémie du Covid-19, nous n'avons pas eu l'occasion pour achever le plan prévu pour cette étude. Par conséquent, en se basant sur les résultats des études précédentes pour évaluer et discuter cette recherche.

Cette étude porte sur l'isolement et l'identification des souches fongiques phytopathogènes à partir de trois échantillons différents : feuilles, racines et petites racines du petit pois (*Pisum sativum*. L), prélevé de la région agricole de Messida inférieure située à voisinage de la commune Messaoud Boudjeriou. Constantine.

La totalité des isolats fongiques (38 isolats) sont obtenus par l'emploi du milieu PDA comme milieu d'isolement. Ces isolats sont identifiés et classés dans 06 genres réparties dans deux divisions différentes, quatre d'entre eux, appartenant à la division des Zygomycètes « *Mucor sp*, *Rhizopus sp*, *Rhizomucor*, *Absidia sp*, » et les deux restants à la division des Deutéromycètes « *Alternaria sp* et *Aspergillus sp* ».

Le volume de contamination fongique du petit pois, présente une grande différenciation entre les trois échantillons, cette différenciation est influencée parfois par les conditions climatiques ou les conditions de stockage (humidité, température et système de ventilation) ou l'installation d'une charge fongique importante, ce qui peut entraîner une modification qualitative et quantitative de la microflore et du taux de germination des échantillons (**Pinton, 2007**).

L'apparition d'*Aspergillus* avec un pourcentage de (18,42%) et *Alternaria* avec un pourcentage de (15,79%), ces deux souches se sont des parasites secondaires ou opportunistes. Ils se comportent comme des saprophytes et sont rencontrés dans les lots de semences. Ils peuvent évoluer en tant que parasites au cours du stockage, si les conditions ambiantes leur sont favorables et par conséquent, on peut les classer comme agents responsables des maladies cryptogamiques chez les petit pois. De même, les résultats de cette étude révèlent la présence de champignons filamenteux saprophytes. Ils sont appelés aussi, parasites de faiblesse, à l'origine saprophytes comme les mucorales (*Mucor* avec un pourcentage 18,42%, *Rhizopus* avec un pourcentage de 23,68%, *Rhizomucor* avec un pourcentage de 10,53% et *Absidia* avec un pourcentage de 7,89%), se nourrissent de corps morts ou de déchets par l'utilisation de la matière organique morte comme source d'énergie et de nutriments.

Par ailleurs, la lutte biologique à un potentiel susceptible pour protéger les cultures du petit pois contre les agents pathogènes tout en limitant l'utilisation des pesticides qui peuvent être responsable à la pollution des sols et des eaux sous-terrain. C'est ainsi, que la lutte biologique s'impose par rapport aux traitements chimiques ayant des effets néfastes et désagréables sur les plantes, et par la suite sur la consommation humaine.

La croissance mycélienne des champignons pathogènes est inhibée par l'antagoniste *Trichoderma sp.* Ces résultats sont aussi en parfaite conformité avec ceux obtenus par **Albouvette, (1983)** ayant montrés que la moisissure *Trichoderma sp* inhibe la croissance mycélienne des champignons pathogènes.

La croissance mycélienne des champignons pathogènes tels que *Alternaria* est inhibée par l'antagoniste *Trichoderma sp* (test de confrontation). Ces résultats sont en parfait accord avec ceux obtenus par (**Bougoufa et Guendouzi, 2018**).

Aussi selon **Davet (1996)** qui a montré que la croissance de *Trichoderma sp* est plus rapide que celle du pathogène, de ce fait, elle colonise le milieu nutritif et assimile les éléments nutritifs, ce phénomène est appelé compétition. Ces résultats peuvent être aussi expliquées par

le mécanisme d'antibiose, qui est due à la sécrétion de substances agissant comme étant des antibiotiques et qui inhibent aussi la croissance du pathogène (Haran, 1996 ; Zhihe, 1998). Ainsi le phénomène de parasitisme (DE LA Cruz, 1995 ; Benhammou et Chet, 1996) est aussi exploité dans la lutte biologique (El-Gali, 2015). Ce phénomène aura lieu quand les hyphes de *Trichoderma sp* s'enroulent autour du champignon phytopathogène (Ezziyyani, 2004) ainsi présentant une phase initiale d'interaction avec les mycéliums, une phase intermédiaire pour surmonter l'effet inhibiteur de celui-ci et une phase finale de parasitisme (El-Gali, 2015). Cette dernière phase est caractérisée par la libération d'enzymes pour dégrader les parois cellulaires (Benitez, 2004).

Cependant les traitements chimiques sont largement utilisés pour combattre les maladies fongiques du petit pois, les produits les plus utilisés sont les fongicides (non systémiques, de contact ou systémiques, pénétrants) (Lepoivre, 2003).

Curenox est un fongicide dans sa composition chimique contient l'oxychlorure de cuivre, qui permet la lutte contre les mildious et les oïdiums.

Le cuivre est le seul produit efficace homologué dans la lutte biologique contre le mildiou et la nécrose bactérienne. Il est également reconnu pour avoir des effets secondaires sur le blackrot ou pourriture noire (est une maladie cryptogamique de la vigne). C'est donc un produit très précieux pour les viticulteurs en lutte biologique. Cependant il est pointé du doigt par l'AFSSA (Agence française de sécurité sanitaire des aliments). Il est accusé de toxicité envers les micro-organismes du sol et les organismes aquatiques. Dans l'attente d'une alternative aussi efficace, nous devons l'utiliser avec beaucoup de précaution. Il est possible donc, de réduire les doses tout en maintenant une protection efficace, et limiter les conditions de toxicité dans les sols (Roger, 1990).

Quant au Milord c'est un fongicide qui associe deux substances actives fongicides issues de la recherche Bayer :

- le tébuconazole, de la famille chimique des triazoles (IBS 1), doté de propriétés systémiques, qui est efficace contre l'oïdium, le black-rot et le rougeot parasitaire de la vigne,

- la spiroxamine, de la famille chimique des spirocétalamines (IBS 2), dotée de propriétés pénétrantes et diffusantes, qui agit sur l'oïdium de la vigne. L'association de ces deux substances actives à sites d'action différents et complémentaires assure à cette spécialité une grande efficacité préventive et curative sur l'oïdium. (Bougoufa et Guendouzi, 2018).

## *Conclusion et perspectives*

## Conclusion et perspectives

---

La présente étude a pour objectif, la recherche de champignons phytopathogènes du petit pois (*Pisum sativum*. L) et l'exploitation des aptitudes antagonistes de la moisissure *Trichoderma longibrachiatum* pour la lutte biologique contre ces isolats pathogènes. Ainsi, à titre comparatif avec la lutte chimique, deux fongicides sont aussi testés vis-à-vis ces isolats.

Tout d'abord, l'isolement de la mycoflore recherchée est effectué sur le milieu PDA, à partir de trois échantillons (feuilles, racines et petites racines) du petit pois. Les souches fongiques obtenues, après purification et identification macroscopique et microscopique, appartiennent à six genres : *Rhizopus* 9 isolats (23,68%) ; *Mucor* 7 isolats (18,42%) ; *Aspergillus* 7 isolats (18,42%) ; *Alternaria* 6 isolats (15,79%) ; *Rhizomucor* 4 isolats (10,53%) ; *Absidia* 3 isolats (7,89%) et le genre non identifié avec 2 isolats (5,26%). Parmi ces isolats, le genre *Alternaria* est connu comme pathogène et capable d'engendrer des maladies sur le champ. L'*Aspergillus* se comporte comme agent de parasitisme, et les autres Mucorales obtenus, ce sont des saprophytes.

La pandémie actuelle du Covid 19, nous a empêchés de compléter le plan expérimental prévu et avoir des résultats sur la partie de la lutte biologique par l'emploi de la souche *Trichoderma longibrachiatum* et voir son effet antagoniste sur les souches isolées, et de comparer ainsi, son effet avec celui des fongicides chimiques que l'on voulait testés. Mais ça n'empêche pas de juger utile notre investigation, et la démarche proposée semble intéressante pour la recherche de champignons phytopathogènes. Des résultats de plusieurs études ont prouvés que le genre *Trichoderma* possède une capacité importante, comme antagoniste vis-à-vis de nombreux champignons microscopiques, ce qu'il le fait agent de lutte biologique, d'intérêt biotechnologique et économique, par rapport à la lutte chimique connue par ces inconvénients. A travers les résultats des recherches actuelles, il est encourageant de poursuivre les investigations avec ce champignon pour passer à la production à échelle industrielle de métabolites secondaires bioactifs, susceptibles d'être appliqué *in vitro*, directement dans les champs de culture contre les champignons phytopathogènes.

## Conclusion et perspectives

---

Et à la fin nous proposons comme perspectives :

1. Pour assurer une protection phytosanitaire performante constitue une solution de substitution à l'emploi de produits chimiques nuisibles à l'équilibre naturel des écosystèmes , nous proposons cette souche de *Trichoderma* pour traiter le pois.
2. Essai *in vivo* de la souche *Trichoderma* sur champ.
3. La recherche de nouvelles souches microbiennes possédant un pouvoir antagoniste élevé.

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

---

### A

**Androsoff, G.L., Van Kessel, C., and Pennock, D.J., (1995).** Landscape-scale estimates of dinitrogen fixation by *Pisum sativum* by nitrogen-15 natural abundance and enriched isotope dilution. *Biol Fertil. Soils.* (20).p:33-40.

**Allard, C., (2001).** Ascochyte du pois. INRA, Versailles.p.22-45

**Allard, C., Bill, L., Touraud, G., (1993).** L'antracnose du pois : revue bibliographique de synthèse. *Agronomie* (13) : p 5-24.

### B

**Boyeldieu, J., (1991).** Produire des grains oléagineux et protéagineux. Paris : Lavoisier Tec & Doc. 234 p.

**Bouznad, Z., (1989).** Contribution à la connaissance du genre *Ascochyta* cas particulier de l'étude biologique, ultrastructurale et cytochimiques des réactions hôte parasite chez le couple *Pisum sativum* L. *Ascochyta pisi* Lib. Thèse de doctorat : Université Pierre et Marie curie : Paris, 185p.

**Benhamou, N., Chet, L., (1996).** Parasitism of *sclerotia* of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: Ultra structural and cytochemical aspects of interaction. *phythopathology.* 86(4), 405-4

**Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, P. H., Larpent, J. P., Raymond P. Sanglier, J. J., Vayssier, Y. and Veau, P., (1990).** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. France. 428p.

**Brink, M., Belay, G., (2006).** Ressource végétales de l'Afrique tropicale, céréales de légumes secs fondation prota 398p

**Bougoufa, S., Guendouzi, N., (2018).** Inventaire des maladies fongiques des plantes Légumineuses : fève (*Vicia faba* L.) et pois (*Pisum sativum*). Mémoire master : Microbiologie appliquée. Oum Bouaghi : Université de Larbi Ben Mhidi, 37p.

**Biljana, G., Jugoslav, Z., (2012).** *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent against *Alternaria alternata* on tobacco. *Ati. Applied Technologies &Innovaions.* 7 (2) : p 67-76.

### C

**Coussin, R., (1974).** Le pois : Annal de l'amélioration des plantes. INRA, Paris p 10-117.

## Références bibliographiques

---

**Chaux, Cl., Foury, Cl., (1994).** Productions légumières, tome 3, légumineuses potagères, légumes fruits, chap. 2 Petit pois ou pois potager, Lavoisier Tec & Doc, coll. « Agriculture d'aujourd'hui », Paris.

**Carrouee, A., Girad, M., (1994).** Pois protéagineux. Techniques agricoles, Editions Techniques - Techniques Agricoles. Fascicule 2212.

**Coussin, R., (1974).** Le pois : Annal de l'amélioration des plantes. INRA, Paris. p 10-117.

**Corbaz, R., (1999).** Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Lausanne : presses polytechnique et universitaires romandes, Suisse, p 172-189

**Cloutier, C., (1992).** Les solutions biologiques de lutte pour la répression des insectes et acariens ravageurs des cultures. In Vincent, C. et Coderre, D. (réd.), La lutte biologique (chap. 2, p. 19-88). Boucherville (Québec), Gaëtan Morin Éditeur.

**Camporta, p., (1985).**Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma spp.* vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kuhn .Agronomie 5(7), 613-620.

### D

**Duc, J.A., (1981).** Hand book of legumes of world economic importance. Plenum Press, New York. p 199-265.

**Davies, D.R., Berry, M.C., Heath, and T.C.K. Dawkins., (1985).** Pea (*Pisum sativum* L.). R.J. Summerfield and EH Roberts, (eds.), Williams Collins Sons and Co. Ltd, London, UK. p. 147-198.

### F

**FAO, 2009.** Food and alimentation organisation. Sur le site FAO-STAT : [http\\apps.fao.org](http://apps.fao.org)

### G

**Gritton, E.T., (1980).** Field Pea. Hybridization of Crop Plants, IN : W.R. Fehr and H.H. Hadley (eds.)5 American Society of Agronomy, Inc., and Crop Science Society of America, Inc., Wisconsin, USA. p 347-356.

## Références bibliographiques

---

### H

**Hmouni, A., Hajlaoui, MR., Mlaiki, A., (1996).** Résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. OEPP/EPPO : p 697-705.

**Hopquin, B., (1994).** Lisses, rides, sucrés colorés : tous les pois sont dans la nature. Unite informatique. (86), p 10-11.

**Holland, B., Unwin, I.D and Buss, D.H., (1991).** Vegetables, herbs and spices. The fifth supplement to Mc Cance and Windows is the composition of foods 4th edition .Royal society of chemistry combridge united kingdom. 163p

**Huignard, J., Glitho, A., Monge, J.P., et Regnault-Roger, C., (2011).** Insectes ravageurs des grains de légumineuses. Biologie des Bruchinae et lutte raisonnée en Afrique. Ed. Quæ, Paris, 145p. Industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies : 34-428.

### I

**Ismail, A., Tiong, NW., and Tan, ST., (2009).** Antioxidant properties of selected nonleafy vegetables. Nutrition and Food Science. Bradford: 2009. Vol. (39). p 176-180.

### J

**Jamal, Z., (2008).** Application de *Beauveria bassiana* contre la punaise terne *Lygus lineolaris* (palisot de beauvois) (hémiptères : miridés) dans les vignobles. Université du Québec à Montréal : Montréal, Québec. p 101.

### K

**Kay, D., (1979).** Food legumes. Tropical Products Institute (TPI). TPI Crop and Product Digest No. (3), p 26-47.

### L

**Lepoivre, p., Semal, J., (1988).** La lutte biologique en phytopathologie végétale. Traité de pathologie végétale. Ed Presse agronomique de Gembloux, les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation N°25. Biologie médicale. Paris. Éd : p 465-487

**Larue, T.A., Pattesson, TG., (1981).** Howmuch Nitrogen do legume fix, Advantage, p 34-15-38.

## Références bibliographiques

---

**Larkom, J., (1991).** Oriental vegetables John murray. ISBN.

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

### M

**Manandhar, JB., Harman, GL., Wang, TC., (1995).** Conidial germination and appressorial formation of *Colletotrichum capsici* and *C. gloesporioides* isolates from pepper. Plant Disease 79(4), p 361-366.

**Messian, C.M., Cassini, R., (1968).** Recherches sur les fusarioses, IV : la systématique des *Fusarium*. Épiphyties. P 387-454

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

**McPhee, K.E., Muehlbauer, F.J., (2007).** Pea. In Pulses, Sugar and Tuber Crops. Genome Mapping and Molecular Breeding in plants; Kole, C., Ed.; Springer-Verlag: Berlin, Germany, 2007; chapter two, volume 3, p 33–47.

**Mossé, J., Huet, J.C., Baudet, J., (1987).** Changements de la composition en acides aminés des graines de pois en fonction de leur taux d'azote .Sci. Aliments, p 301-324.

**Murakami, T., Kohno, K., Matsuda, H., (2001).** Medicinal foods tuffs. XXII. Structures of oleanane-type triterpene oligoglycosides, *Pisum saponins* I and II, and kaurane- type diterpene oligoglycosides, pisumosides A and B, from green peas, the immatu. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2001 Jan ; 49(1), p 73-7.

**Mathon, C., (1985).** Liste de plantes utiles avec indication de leur aire probable de premo domestication. Faculté des sciences de l'université de Poitiers : 17

### N

**Nasraoui, B., (2006).** Les champignons parasites des plantes cultivées, biologie systématique pathologie maladies. Chapitre 4 : Centre de Publication Universitaire, Tunis, p 363-427.

### P

**Parry, D.W., Jenkinson, P., McLeod, L., (1995).** *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereal - Review. Plant Pathol, p 207-238.

## Références bibliographiques

---

**Paul, A.A., Southgate, D.A.T., Russel, J., (1980).** First supplement to mc cance and winddowsson's the composition of foods: amino acides (mg per 100g foods) fatty acid (g per 100g food) .elsevier, Amsterdam, netherlands.112 p.

### R

**Roy, H., Wajnberg, E., (2008).** From biological control to invasion: the ladybird *Harmonia axyridis* as a model species. *BioControl*, vol. (53), p 1-4.

### S

**Slinkard, A., Hernandez-Bravo, A.E., Bascur, G., (1994).** Biotic and abiotic stresses of cool season food legumes in the western hemisphere, IN F.J. Muehlbauer and W.J. Kaiser (eds.), *Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, the Netherlands. p 195-203.

**Singh, A., S, Srivastava., Singh, H.B., (2007).** Effect of substrates on growth and shelf life of *Trichoderma harzianum* and its use in biocontrol of diseases. *Bioresource Technology*, p 470-473.

**Smart, J., (1990).** Grain legumes: Evolution and genetic resources. Cambridge University Press, Cambridge, UK.200 p.

### T

**Trinidad, TP., Mallillin, AC., Loyola, AS., (2010).** The potential health benefits of legumes as a good source of dietary fibre. *Br J Nutr*. 103(4), p 569-74.

### V

**Vinale, F., Marra, R., Scala, F., Ghisalberti, E. L., Lorito, M. and Sivasithamparam, K., (2006).** Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. *Lett Appl Microbiol* 43:143–148pp.

### W

**Weeden, C.R., Shelton, A.M., Hoffman, M.P., (2007).** Biological control: A Guide to Natural Enemies in North America, [En ligne]. <http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/info/needstatus.html> (Page consultée le 3 juin 2020).

### Z

**Zohary, D., Hopf, M., (2002).** Domestication of plants in the old world: the origin and spread of cultivated plants in west Asia, Europe and the Nile Valley. Third Edition Oxford University Press Inc .New York.

# *Annexes*

**Annexe(1) : Le milieu de culture.**

❖ Milieu PDA

Pomme de terre .....	200g
Glucose .....	20g
Agar-agar .....	20g
Eau distillé .....	1000ml

- Laver la pomme de terre non pelée.
- Couper en cubes dans 500 ml d'eau distillée.
- Porter à ébullition pendant 30 – 45 min.
- D'autre part faire fondre l'agar dans 500 ml d'eau distillée.
- Écraser la pomme de terre, filtrer puis ajouter le filtrat à la solution d'agar.
- Ajouter le glucose.
- Compléter le volume à 1000 ml.
- ajuster le pH= 6,4 ± 0,2 à 25°C

Autoclavage : 20min à 121°C (**Larpen, 1985**).

**Annexe(2) : la solution de lactophénol**

Acide lactique .....	20 ml
Phénol pur cristallisé .....	20 g
Glycérol pur.....	40 ml
Eau distillée .....	20 ml

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Filière :** Biotechnologie

**Spécialité :** Mycologie et biotechnologie fongique

**Titre :** La recherche de champignons phytopathogènes infectants le petit pois (*Pisum sativum*. L).  
Essai *in vitro*, de lutte biologique contre les souches phytopathogènes isolées.

**Résumé :** L'objectif de la présente investigation est d'isoler et d'identifier les mycètes phytopathogènes des petits pois (*Pisum sativum*. L), et d'évaluer *in vitro* le potentiel d'inhibition de *Trichoderma longibrachiatum*, et deux fongicides chimiques (Milor et Curenox) sur la croissance mycélienne des souches phytopathogènes isolées. Les petits pois analysés sont à provenance d'un champ de culture de la région agricole Messida inférieure, commune Messaoud Boudjeriou, wilaya de Constantine (Algérie). Les résultats ont permis d'obtenir 38 isolats fongiques à partir des différents échantillons prélevés (feuilles, racines et petites racines). Les isolats obtenus appartenant à six genres : *Rhizopus sp* avec 9 isolats (23,68%) ; *Mucor* 7 isolats (18,42%), *Aspergillus* 7 isolats (18,42%), *Alternaria* 6 isolats (15,79%) ; *Rhizomucor* 4 isolats (10,53%) ; *Absidia* 3 isolats (7,89%) ; et un genre non identifié avec 2 isolats (5,26%). La lutte biologique est envisagée, par essai de la souche *Trichoderma longibrachiatum*, afin de tester son pouvoir antagoniste soit par confrontation directe ou à distance vis-à-vis les isolats pathogènes. En parallèle, un traitement chimique est aussi prévu dans le but d'une comparaison. Les résultats des études actuelles, prouvent que le genre *Trichoderma* présente une activité antifongique importante, et nécessite d'être exploiter.

**Mot clés :** Les maladies fongiques, petits pois, champignons phytopathogènes, la lutte biologique, *Trichoderma*.

**Membre du jury :**

**Présidente du jury :** Melle. ABDELAZIZ Wided (MCB- UFM Constantine).

**Rapporteur :** Mme. LEGHLIMI Hind (MCA- UFM Constantine).

**Examineur :** Mr. BOULAHROUF Khaled (MCB- UFM Constantine).

**Présentée par :** KHOUALDA Amina

*Année universitaire : 2019 -2020*