

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
UNIVERSITE MOHAMED KHEIDER –BISKRA
REF :



FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

THESE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT EN
SCIENCES AGRONOMIQUES
SPECIALITE PROTECTION DES VEGETEAUX

THEME

ESSAI D'IDENTIFICATION DES SOURCES DE RESISTANCE A DES
POPULATIONS DE *DITYLENCHUS DIPSACI* CHEZ QUELQUES VARIETES LOCALES
DE *VICIA FABAL*. EN ALGERIE

Présentée par
SAADI INES

Devant le jury composé de :

Président	BELMAMRA MOHAMED	Professeur	Université de Biskra
Rapporteur	BENBOUZA HALIMA	Professeur	Université de Batna 1
Examineur	SIBACHIR ABDELKRIM	Professeur	Université de Batna 1
Examineur	HOUHAMDI MOUSSA	Professeur	Université de Guelma
Examineur	DEMNATI FATMA	Maitre de conférences A	Université de Biskra

DEDICACE

Oui c'était bien différent ce que j'en pensais et la réalité

Oui c'était dur...

Mais, Oui.....c'est terminé ...c'est bien le bout du chemin

De tous cœur MERCI.... à tous ceux qui mo'ont tenu la main et qui m'ont accompagnée jusqu'à la fin



A la mémoire de mon cher frère Eliesse

A mes chers parents

A mon très très cher mari Daci

RESUME

En Algérie, le nématode des tiges et des bulbes provoque de graves dommages économiques; Cependant, aucune étude n'a été menée pour identifier avec précision les espèces et les races de nématodes infectant les champs de féverole, ce qui rend les stratégies de gestion, les mesures de quarantaine et les actions phytosanitaires moins efficaces. La présente étude décrit les analyses morphologiques et moléculaires de deux populations de nématodes. Les résultats ont confirmé la présence de *D. gigas* et révélé l'existence d'une nouvelle espèce *D. oncogenus* pour la première fois sur *Vicia faba* en tant que nouvelle plante hôte. La morphologie des deux populations est conforme à celle des populations précédentes de *D. gigas* et *D. oncogenus* du sud de l'Italie. La phylogénie moléculaire liée à l'utilisation de la région ITS-5.8S-ITS2 confirme clairement la présence de *D. gigas* et *D. oncogenus* en Algérie.

. L'évaluation de la résistance de sept populations locales de *Vicia faba* L., collectées dans la région des Zibans, en utilisant la variété Séville comme témoin résistant au *D. dipsaci* pendant 3 ans d'expérimentation a permis d'apprécier le niveau de résistance des populations locales. L'essai a été conduit en pots sous serre. La sévérité de l'attaque des nématodes sur les plants inoculés était variable entre les populations locales et Séville. La méthode d'estimation de la résistance suivie dans notre essai s'est basée principalement sur deux indicateurs à savoir la notification des symptômes extériorisés et le comptage des populations finales du nématode inoculer ont classé les variétés en 1) résistantes : Guarta, Daoucen et Tolga, 2) moyennement résistantes : M'ziaa et Biskra, et 3) sensibles : Sidi Okba et Ain naga classées avec le témoin Séville. Les SSR ont révélé une diversité moléculaire élevée avec une structure génétique faible séparant populations étudiées en cinq pools génétiques ayant une variabilité intra-population élevée. Le nombre moyen d'allèles amplifiés (4) avec une $H_o = 0,401$ et $H_e = 0,398$. De plus, les allèles privés amplifiés sur 5 loci ont été répartis en parfaite concordance avec la classification variétés locales en terme de sensibilité ou de résistance au *D. dipsaci* et *D. giga*,

Mots Clés : *Ditylenchus dipsaci*, inoculum, résistance, *Vicia faba* , SSR, STRUCTURE, diversité, hétérozygotie, allèles, *D. gigas*, *D. oncogenus*, séquençage, PCR, phénotype.

TEST FOR IDENTIFICATION OF SOURCES OF RESISTANCE TO POPULATIONS OF *DITYLENCHUS DIPSACI* IN SOME LOCAL VARIETIES OF *VICIA FABA* IN ALGERIA

abstract

In Algeria, the nematode of stems and bulbs causes serious economic damage; However, no studies have been conducted to accurately identify species and breeds of nematodes infecting Fababeans fields, making management strategies, quarantine measures and phytosanitary actions less effective. The present study describes the morphological and molecular analyses of two nematode populations. The results confirmed the presence of *D. gigas* and revealed the existence of a new species *D. Oncogenus* for the first time on *Vicia Faba* as a new host plant. The morphology of the two populations is consistent with that of the previous populations of *D. gigas* and *D. Oncogenus* of southern Italy. The molecular phylogeny associated with the use of the ITS-5.8 s-ITS2 region clearly confirms the presence of *D. gigas* and *D. Oncogenus* in Algeria.

. Assessment of the resistance of seven local populations of *Vicia Faba* L., collected in the Zibans region, using the Seville variety as a resistant control to *D. Dipsaci* for 3 years of experimentation, assessed the resistance level of Local populations. The test was conducted in pots under a greenhouse. The severity of nematode attack on inoculated plants was variable between local populations and Seville. The method of estimating the resistance followed in our test was based mainly on two indicators namely the notification of externalizing symptoms and the counting of the final populations of the nematode inoculate classified the varieties en1) Resistant: Guarta, Daoucen and Tolga, 2) moderately resistant: me ZIAA and Biskra, and 3) susceptible: Sidi Okba and Ain Naga classified with the witness Seville. The SSR revealed a high molecular diversity with a low genetic structure separating the studied populations into five genetic pools with high intra-population variability. The mean number of amplified alleles (4) with $H_o = 0.401$ and $H_e = 0.398$. In addition, the private alleles amplified at 5 loci were distributed in perfect agreement with the local varieties classification in terms of sensitivity or resistance to *D. Dispaci* and *D. Giga*,

key words: *Ditylenchus Dipsaci*, Inoculum, Resistance, *Vicia Faba*, SS R, STRUCTURE, diversity, heterozygosity, alleles, *d. gigas*, *D. Oncogenus*, Séquençge, PCR, phenotype.

تلخيص

وفي الجزائر ، تسبب الديدان الخيطية من السيفان والبصيلات اضرارا اقتصاديه جسيمه ؛ لكن ، لم تجر اي دراسات للتعرف بدقه علي أنواع وسلالات الديدان الخيطية التي تصيب حقول الفول ، مما يجعل استراتيجيات الاداره وتدابير الحجر الصحي وإجراءات الصحة النباتية اقل فعالية . وتصف هذه الدراسة التحليلات المورفولوجية والجزئية لاثنين من السكان الديدان الخيطية. وأكدت النتائج وجود *d. gigas* وكشف وجود الأنواع الجديدة *d. oncogenus* للمرة الاولى علي *vicia faba* كمحطه المضيف الجديد. وتشكل مورفولوجيا المجموعتين السكانيتين اتساقا مع السكان السابقين في المنطقة الجنوبية من إيطاليا البيولوجيا الجزيئية المتعلقة باستخدام المنطقة ITS2-s-5.8 يؤكد بوضوح وجود *d. gigas* و *d. oncogenus* في الجزائر. تقييم مقاومه السكان المحليين السبعة في *vicia faba* ، التي تم جمعها في منطقه زيبان ، وذلك باستخدام مجموعه اشبيليه المتنوعة كعنصر تحكم مقاوم للـ *d. gigas* لمدة 3 سنوات من التجريب ، وتقييم مستوي المقاومة من السكان المحليون. واجري الاختبار في الأواني تحت الاحتباس الحراري. وكانت شدة هجوم الديدان الخيطية علي النباتات الملقحة متباينة بين السكان المحليين واشبيليه. واستندت طريقه تقدير المقاومة التي اتبعت في اختبارنا أساسا علي اثنين من المؤشرات وهي الاخطار من الاعراض الخارجية وفرز السكان النهائي لل خيطي وكشفت SSR عن وجود تنوع جزيئي عال مع وجود بنيه وراثيه منخفضه تفصل بين السكان الدارسين إلى خمسة مجمعات جينيه ذات تغيرات سكانية عاليه.

الكلمات الرئيسية: *Ditylenchus dipsaci* ، التطعيم ، المقاومة ، *Vicia faba* ، SSR ، الهيكل ، التنوع ، متغاير الزيجوت ، الالائل ، *d. oncogenus* ، *d. gigas* ، الترميز جينات ، PCR ، النمط الظاهري.

REMERCIEMENTS

Je tiens dans un premier temps à remercier ; Madame Benbouza Halima, Professeur à L'université de Batna 1, pour m'avoir accompagné et dirigé sur ce travail de recherche, ainsi que pour son aide et ses précieux conseils au cours de ces années. Je remercie également Monsieur Nicolas Greco, professeur émérite IPP (Istituto per la Protezione delle Piante) Bari Italie , Co-encadreur de ce travail de thèse, pour m'avoir soutenue pendant ce travail, et surtout pour sa sympathie, sa disponibilité, ses idées et conseils, et son aide précieuse de tous les jours.

Je remercie monsieur Belhamra Mohamed professeur de l'université de Biskra, d'avoir accepté de présider à ce jury. Aussi, je tiens à remercier le professeur Houhamdi Moussa. Professeur à l'université de Guelma et le professeur Sibachir Abdel Karim, Professeur à l'Université de Batna 2, et enfin sans oublier madame Demnati Fatma maître de conférence A à l'université de Biskra d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail.

Je remercie également mon collègue Kamel Guimeur chef du département d'agronomie à l'université de Biskra et madame Franca de Luca directrice de IPP (Istituto per la Protezione delle Piante) Bari Italie pour leur contribution à la finalisation de cette thèse. et qui m'ont facilité le travail et ouvert les portes de leur établissements de recherche.

Merci également à monsieur Alberto Troccoli chercheur à IPP de Bari , pour son accueil et pour ses réflexions et son aide si précieuse. J'aimerais adresser un remerciement particulier à Rima Boudchicha, docteur au CRBT de Constantine, pour son aide, son devouement scientifique et sa contribution tout au long de ces années .

Une pensée particulière à M^{me} Mabrek Naima ,Bedjaoui Hanane,Khaled Boukehil,Mehaoua Mohamed seghir, madame Radhia Baissi, Benaissa Kelthoum et Deghnouch Kahramen chercheurs et personelles à l'université de Biskra,et qui m'ont énormément aidé pendant ces années

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	1
PARTIE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	4
CHAPITRE : I REACTIONS DES PLANTES AUX AGENTS PATHOGENES	5
1. INTRODUCTION	5
2. LES INTERACTIONS ENTRE LES PLANTES ET LES MICROORGANISMES	6
2.1. Interaction non-hôte	6
2.2. Interaction hôte incompatible	6
2.3. Interaction hôte compatible	6
3. LES MECANISMES MOLECULAIRES DE LA DEFENSE DES PLANTES	7
3.1 Les défenses préformées	7
3.2. Les défenses inductibles	8
4. INTERACTION PLANTE-AGENT PATHOGENE	8
4.1 Reconnaissance de l'agent pathogène par la plante	8
4.1.1. La reconnaissance non spécifique	9
4.1.2. La reconnaissance spécifique	10
4.1.2.1. Les gènes d'avirulence (<i>Avr</i>)	10
4.1.2.2. Les gènes de résistance	10
4.1.2.3. Modes de reconnaissance du couple R/ <i>Avr</i>	11
4.1.2.4. Répartition des gènes de résistance dans les génomes	12
5. EXEMPLES DE GENES DE RESISTANCE AUX NEMATODES	13
6. MODIFICATIONS DE L'EXPRESSION DES GENES DE PLANTES EN REPONSE A L'INFECTION PAR DES NEMATODES	14
7. L'AMELIORATION DE LA RESISTANCE AUX NEMATODES CHEZ LA FEVE.	15
CHAPITRE : II LES LEGUMINEUSES	17
1- GENERALITES	17
2. SITUATION DE LA FEVE EN ALGERIE	18
3- CLASSIFICATION DES LEGUMINEUSES	20
4.LA BIOLOGIQUE DE <i>VICIA FABA</i>	20
4.1.Caryotype et cycle cellulaire	20
4.2 Position systématique	21
4.3 Aspect et particularités	22
5 CULTURE	22
6 EXEMPLES DE CONTRAINTES BIOTIQUES	24
6.1 Les maladies fongiques	24
6.1.1 Les taches chocolat	24
6.1.2 L'ascochytose	24
6.1.3 La rouille <i>Uromyces fabae</i>	24
6.2. Les maladies virales	25
6.3. Insectes et ravageurs	25
6.3.1 Les pucerons	25
6.3.2 Le lixus des fèves (<i>Lixus algerius</i>)	25
6.3.3. La bruche de la fève (<i>Bruchus rufimanus</i>)	26

6.3.4 La bruche de pois	26
6.4 Exemple de parasites	26
CHAPITRE III : LES NEMATODES DES TIGES ET DES BULBES : <i>DITYLENCHUS DIPSACI</i> (KUHN, 1857 ; FILIPJEV, 1936)	27
1. INTRODUCTION	27
2. CYCLE BIOLOGIQUE DES NEMATODES	29
2.1. Lieux de parasitismes	30
(i) les nématodes ectoparasites :	30
(ii) Des nématodes semi endoparasites ;	30
(iii) Des nématodes endoparasites ;	30
3.SYSTEMATIQUE	31
4. INFORMATIONS RELATIVES SUR <i>DITYLENCHUS DIPSACI</i>	33
4.1 Détection	35
4.2. Hôtes et symptômes	35
4.2.1 Symptômes et Dégâts sur fève	36
5. IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES NEMATODES	37
6. GESTION DE NEMATODES PHYTOPARASITES	38
6.1. Les pratiques culturales	39
6.2. Les méthodes physiques	39
6.3. La lutte biologique	39
6.4. La lutte chimique	40
6.5. Amélioration génétique	41
PARTIE II	42
CHAPITRE I-MATERIEL ET METHODES	42
1. INTRODUCTION	42
2. SITE D'ETUDE	43
3. DISPOSITIF EXPERIMENTALE	43
4. CONDUITE DE L'ESSAI	44
5. COLLECTE ET PREPARATION DU MATERIEL VEGETAL	44
6. EVALUATION DE LA RESISTANCE DES PLANTES AUX NEMATODES	45
7. EXTRACTION ET COMPTAGE DES NEMATODES DU SOL	46
8. L'inoculation des nématodes	47
8.1 Méthodologie	47
A. Échantillonnage, extraction et comptage des nématodes	47
B. L'inoculation des plantes	48
C. Suivi de la culture de fève et évaluation des symptômes sur les plantes inoculées	49
1. Suivi de la phénologie de la plante :	49
2. Evaluation des symptômes :	49
9. ANALYSES MORPHOLOGIQUE DES NEMATODES	50
10. ANALYSES MOLECULAIRES DES NEMATODES	50
10.1. Extraction de l'ADN, amplification par PCR et analyse RFLP :	50
10.2 Analyse phylogénétique des nématodes	51
11- CARACTERISATION MOLECULAIRES DES POPULATIONS <i>V. FABA</i> INFESTÉES	52
12.Analyse des données moléculaires obtenus sur les populations étudiées	54
12.A LES PARAMETRES ET RELATIONS GENETIQUES DES POPULATIONS	54
12..B STRUCTURATION DE LA DIVERSITE GENETIQUE	57

CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSION	58
1.SUIVIE DE LA PHENOLOGIE DE LA PLANTE	58
1.1 Hauteurs des tiges	58
1.2 La floraison	61
1.3 La fructification	62
2. ANALYSES NEMATOLOGIQUE	65
2.1 Semis et taux de levée et inoculation des plantes:	65
2.2. Evaluation de la résistance des populations à l'infection par <i>Ditylenchus dipsaci</i>	66
2..2.1 Evaluation des symptômes durant les campagnes 2010, 2011 et 2012	66
A/ Analyse de la variance pour les paramètres des notifications des symptômes selon l'échelle de (Hanoumik et al , 1986)	68
B/ Classement du test de Newman et Keuls des notifications des symptômes selon l'échelle de Hanoumik et al, 1986	70
2.2.2 Evaluation du taux de multiplication du nématode	71
2.2.2.1 Evaluation du taux de multiplication du nématode pour les campagnes 2010,2011 et 2012.	72
3. IDENTIFICATION DES NEMATODES	77
3.1 Observations des symptômes sur les plantes de fève infectées sur les sites prospectés	77
3.2. Les résultats morphométriques	78
3.2.1 Les résultats des mesures morpho métriques sur des spécimens femelles	79
3.2.2 Les résultats morpho métriques des nématodes mâles	80
3.3 Synthèse des résultats morpho métriques	80
3.4 Identification Moléculaire	81
4- Caractérisation moléculaire des populations locales de feve	84
4.1 polymorphisme des SSR et indices de la variabilité génétique	84
4.2Profils d'identification des cultivars	88
4.3Structure de la diversité génétique	89
Discussion générale	91
CONCLUSION GENERALE	98
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	101
ANNEXES	116

LISTE DES FIGURES

N°	Titre de la figure	N° de page
1	Modèle d'interaction potentielle entre les produits des sécrétions des nématodes et la cellule végétale	7
2	Modèle en « Zig-Zag »	8
3	Illustration du phénomène de résistance induite par l'agent pathogène	10
4	Comparaison entre le modèle de garde et le modèle du leurre	12
5	Evolution de la superficie de culture de la fève et féverole en Algérie (FAOSTAT,2015).	19
6	Evolution du rendement de la fève et féverole en Algérie (FAOSTAT,2015)	19
7	Durée des principales étapes du cycle cellulaire des cellules méristématiques des racines	21
8	<i>Vicia faba</i> , planche botanique	23
9	Symptômes de botrytis sur le feuillage de la féverole	24
10	La rouille sur feuille de féverole .	24
11	Symptômes de la Rouille sur féverole	25
12	Structure typique d'un nématode	28
13	Cycle biologique de <i>Ditylenchus spp</i>	29
14	Illustration des différents lieux de parasitisme chez les nématodes phytoparasites dans les racines.	31
15	Arbre phylogénétique du phylum Nematoda basé sur la séquence nucléotidique de petite sous-unité des ARN ribosomiques de 53 espèces de nématodes, d'après	32
16	<i>Ditylenchus dipsaci</i> (Kühn, 1857) Filipjev, 1936	34
17	dispositif expérimental dans la serre	43
18	Extraction des nématodes du sol Baerman modifiée par Dalmasso (1966).	47
19	Extraction des nématodes des plantes Taylor(1968).	48
20	Evolution temporelle de la hauteur moyenne des tiges en cm pour Séville et les populations locales en 2011	59
21	Evolution temporelle de la hauteur moyenne des tiges en cm pour Séville et les populations locales 2012	60
22	Evolution temporelle du nombre moyen d'inflorescences par tige échantillonnée pour la variété Séville et pour les populations locales en 2011.	61
23	Eévoluion temporelle du nombre moyen d'inflorescences par tige de la variété Séville et les populations locales en 2012	62
24	Evolution temporelle du nombre moyen d'étages de gousses par tige échantillonnée pour la variété Séville et les populations locales en 2011	63
25	Evolution temporelle du nombre moyen d'étages de gousses par tige échantillonnée pour la variété Séville et les populations locales en 2012	64
26	Moyennes des notifications des symptômes chez les populations inoculées en 2010, 2011et 2012 selon l'échelle de Hanounik et al., (1986).	68
27	Histogramme comparative du nombre de nématodes (Pi, Pf) durant 2010,2011 et 2012	73
28	Symptômes causés par <i>Ditylenchus</i> sur la féverole en Algérie. A: graines de d'haricots saines; B: graines d'fève infestées; C: jeune plant de fève montrant une nécrose brune et un raccourcissement des entre-nœuds; D: tiges déformées; E: plante avec nécrose à la base de la tige.	77
29	Photomicrographies de la population Biskra de <i>Ditylenchus gigas</i> .	78
30	Profils de restriction de la région ITS de <i>Ditylenchus gigas</i> (A) et <i>Ditylenchus oncogenus</i> (B).	82
31	Arbre phylogénétique de la région contenant l'ITS	83

32	Représentation graphique de quelques indices génétiques	86
33	Fréquence d'allèles pour les loci (A) VfG14 ; (B) CASS8, (C) GBS52, (D) Jf1-AG3 et (E) GAI18.	87
34	Pourcentages des loci polymorphes	89
35	Exemples de profils d'amplification SSR générés par les amorces et CASS8, VfG14 et GBS52.	89
36	: Analyse de la structure de la population	90

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre du tableau	N° de page
1	Modèle génétique de la résistance gène-pour-gène .	11
2	Gènes de résistance aux nématodes endoparasites Sédentaires clonés	13
3	Nombre d'espèces de légumineuses fourragères dénombrées dans le monde, et exclusivement Méditerranéens	18
4	Calendrier technique	44
5	Liste et caractéristiques des amorces SSR utilisées	53
6	Statuts des populations selon les moyennes des notifications des symptômes selon l'échelle de (Hanounik <i>et al.</i> , 1986) durant les campagnes 2010, 2011 et 2012	67
7	: L'analyse de variance pour le paramètre notifications des symptômes selon l'échelle de (Hanounik <i>et al.</i> , 1986) en 2010.	69
8	L'analyse de variance pour le paramètre des notifications des symptômes selon l'échelle de (Hanounik <i>et al.</i> , 1986) 2011.	69
9	L'analyse de variance pour le paramètre des notifications des symptômes selon L'ECHELLE DE (HANOUNIK <i>ET AL.</i> , 1986) 2012.	70
10	RESULTATS DE CLASSIFICATION DU TEST DE NEWMAN ET KEULS DES NOTIFICATIONS DES SYMPTOMES : SELON L'ECHELLE DE (HANOUNIK <i>ET AL.</i> , 1986) 2010,2011,2012.	71
11	Moyennes du nombre de de nématodes (Pi, Pf) sur les plants de fève pour les campagnes 2010,2011 et 2012.	72
12	L'analyse de variance pour le paramètre nombre de nématodes/plantes pour les années 2010, 2011 et 2012	73
13:	Résultats du test de <i>Newman et Keuls</i> sur le nombre de populations de nématodes finales sur les plantes de fève et du test de comparaison de <i>Dunnnett</i> des moyennes des populations finales du nombre d'effectifs de nématodes dans les plantes en 2010.	74
14	Résultats du test de <i>Newman et Keuls</i> sur le nombre de populations de nématodes finales sur les plantes de fève et du test de comparaison de <i>Dunnnett</i> des moyennes des populations finales du nombre d'effectifs de nématodes dans les plantes en 2012.	75
15	Résultats du test de <i>Newman et Keuls</i> sur le nombre de populations de nématodes finales sur les plantes de fève et du test de comparaison de <i>Dunnnett</i> des moyennes des populations finales du nombre d'effectifs de nématodes dans les plantes en 2012.	76
16	Les mesures morfo métriques (femelles et mâles) des nématodes extraits	76
17	Tailles et fréquences des allèles pour SSRs loci analysés sur les populations de la fève	87
18	Polymorphisme des SSR et statistiques F dans les cultivars étudiés	86

LISTE DES ANNEXES

N°	TITRE	N° DE PAGE
1	LES TEMPERATURES ENREGISTREES DURANT (2010, 2011,2012).	117
2	L'ANALYSE DE VARIANCE POUR LE PARAMETRE NOMBRE DE NEMATODES/PLANTES EN 2010	118
3	L'ANALYSE DE VARIANCE POUR LE PARAMETRE NOMBRE DE NEMATODES/PLANTES 2011	118
4	L'ANALYSE DE VARIANCE POUR LE PARAMETRE NOMBRE DE NEMATODES/PLANTES 20	119
5	Résultats de l'AMOVA au sein des clusters population de fève obtenus après analyse par structure .	119

LISTE DES ABRÉVIATIONS

PAMP - PATHOGEN ASSOCIATED MOLECULAR PATTERN
 PRR - PATTERN RECOGNIZING RECEPTOR
 RLK - RECEPTOR-LIKE KINASE
 RLP - RECEPTOR-LIKE PROTEIN
 LAR - LOCAL ACQUIRED RESISTANCE
 SAR - SYSTEMIC ACQUIRED RESISTANCE
 HR - HYPERSENSITIVE RESPONSE
 PTI - PAMP-TRIGGERED IMMUNITY
 ETI - EFFECTOR-TRIGGERED RESISTANCE
 ETS - EFFECTOR-TRIGGERED SUSCEPTIBILITY
 AVR - AVIRULENCE
 GÈNE R - GÈNE DE RÉSTISTANCE
 PROTÉINE R - PROTÉINE DE RÉSTISTANCE
 TIR - TOLL INTERLEUKIN-RECEPTOR
 CC - COILED-COIL
 NB - NUCLEOTIDE-BINDING DOMAIN
 NBS - NUCLEOTIDE BINDING SITE
 LRR - LEUCINE-RICH REPEAT
 CNL - CC-NB-LRR
 TNL - TIR-NB-LRR
 RGA - RESISTANCE GENES ANALOG
 ROS - REACTIVE OXYGEN SPECIES
 MAPK - MITOGEN ACTIVATED PROTEIN KINASE
 CDPK - CALCIUM-DEPENDENT PROTEIN KINASES
 SA - ACIDE SALICYLIQUE
 JA - ACIDE JASMONIQUE
 ET - ÉTHYLÈNE
 NO - NITRIC OXID
 FT – FACTEUR DE TRANSCRIPTION
 PR PROTEINE - PATHOGENESIS-RELATED PROTEINS
 HRGP - HYDROXYPROLINE RICH GLYCOPROTEIN
 QRL - QUANTITATIVE RESISTANCE LOCI
 QTL - QUANTITATIVES TRAIT LOCI
 ADN - ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE
 ORF - OPEN READING FRAME
 RIL - RECOMBINANT INBRED LINE
 NIL - NEAR ISOGENIC LINE
 SNP - SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM
 SSR - SINGLE SEQUENCE REPEAT
 EST - EXPRESSED SEQUENCE TAG
 ITS - INTERNAL TRANSCRIBED SPACER
 BAC - BACTERIAL ARTIFICIAL CHROMOSOME
 UV - ULTRAVIOLET
 WGA - WHEAT GERM AGGLUTININ
 FITC - FLUORESCEINE ISO THIO CYANATE
 GFP - GREEN FLUORESCENT PROTEIN

Introduction générale

Les cultures de légumineuses fournissent majoritairement des glucides (source d'énergie métabolique) et des protéines (sources d'éléments constitutifs et régulateurs) mais également une panoplie variée, selon les espèces, d'autres éléments (lipides, fibres, éléments minéraux, vitamines) pour l'alimentation des hommes et des animaux. Les légumineuses à graines permettent d'apporter au moins 33% des besoins humains en protéines alimentaires (Vance et al., 2000). En plus, une grande partie des espèces de cette famille (88%) interagissent avec les bactéries dites Rhizobia pour former des nodules fixateurs d'azote ce qui représente un avantage économique pour la fertilisation des sols. La présence de légumineuse dans les systèmes de production agricoles concourt à l'augmentation de la diversité fonctionnelle des agro écosystèmes, ce qui est favorable à la biodiversité des paysages et territoires agricoles ; contribuant aussi à l'équilibre des systèmes agro écologiques.

Parmi les légumineuses, la fève représente une culture importante, est pratiquée dans environ 58 pays (Singh et al., 2012), notamment pour les pays méditerranéens et la Chine (Crépona et al., 2010). Elle est la quatrième culture légumière dans le monde derrière les petits pois les pois chiches et les lentilles (Yahya et al., 2012).

En 2016, la production mondiale de fève était de 4.459.655 tonnes pour une superficie de 2.403.746 ha avec un rendement de 18553 quintaux/ha. Dans les pays d'Afrique du Nord on a produit 371978 tonnes de fèves, soit une superficie de 280661 hectares, avec un rendement de 13254 quintaux / ha (FAOSTAT, 2016).

En Algérie, c'est la légumineuse alimentaire la plus cultivée. La superficie moyenne annuelle consacrée à la culture de la fève est d'environ 35147 ha pour une production totale en grain secs de 37598 tonnes et un rendement de 10697 qx/ha (FAOSTAT, 2016). La production de la fève est aussi largement consommée en Algérie comme légume frais. La wilaya de Biskra est l'une des principales régions productrices de fève cultivée en plein champs en Algérie. *Vicia faba* occupe environ 35% de superficie totale des cultures maraîchères de plein champs de la wilaya (Saadi, 2014).

Cependant, la culture de la fève est sujette à une série de contraintes d'ordre abiotique (sécheresse, gelée), et biotique (les insectes ravageurs, les nématodes, les maladies et les plantes adventices) ainsi que socio-économiques (Hamadache et al., 1996).

La superficie emblavée annuellement par la fève n'a cessé de régresser au cours des dix dernières années pour de multiples raisons..

En Algérie, et notamment à Biskra, le nématode des tige *Ditylenchus dipsaci* L.(Kühn) Filipje est l'un des principaux bioagresseurs qui menace la culture de la fève et constitue l'espèce la plus nuisible sur fève dans le monde et particulièrement dans les pays du bassin méditerranéen (Di Vito et al., 1994 ; Caubel et al., 1998). Les pertes causées par ce nématode sont considérables; et sur fève les pertes sont évaluées à 70 % pour la race géante (*D. gigas*) sont de l'ordre de 20 % en présence de la race normale *D. dipsaci* (Hooper, 1983).

En Algérie, la présence de ce nématode de tige, qui n'a jamais été identifié d'une manière précise, a été signalé pour la première fois, sur base uniquement d'observations visuelles, par Debray et Maupas en 1896. Il est toujours considéré comme la plus redoutable sur fève et il est présent dans la quasi-totalité des parcelles de fève dans toutes les zones de production du pays, et demeure ainsi une menace sérieuse sur cette culture (Di vito *et al.*, 1994. Sellami and Bousnina, 1996, Saadi, I 2008).

À l'heure actuelle, plusieurs stratégies de lutte contre les parasites *Ditylenchus* sont utilisées en combinant des diagnostics moléculaires précis et fiables, un système efficace de rotation des cultures, ainsi que les mesures de quarantaine (OEPP, 2008), ou encore application de pesticides nématicides (OEPP, 2008). En conséquence, la connaissance de la race biologique est souvent souhaitable surtout quand les mesures de rotation des cultures sont pris en considération. En plus, une détection précise et l'identification des espèces de *Ditylenchus* ainsi que la connaissance de la variabilité pathogénique des populations sur le terrain est cruciale pour le contrôle réglementaire de lutte, ainsi que pour la reproduction et le développement de cultivars

résistants (Madani *et al.*, 2015). Dans la présente étude, notre premier objectif principale était de faire une caractérisation morpho-métrique et moléculaire sur des nématodes, isolés d'individus infectés, prélevés sur des régions à grandes production de culture de fève (*Vicia faba*) afin de déterminer la race biologique de *D. dispaci* présente, *D. dispaci sensu stricto* ou bien *D. gigas*.

Un deuxième grand problème pour la culture de la fève en Algérie concerne la qualité des semences. En fait, la majorité des semences utilisées ne sont pas sélectionnées et proviennent de populations locales non améliorées et dont la résistance au nématode n'a jamais été évaluée.

Sachant que l'une des meilleures stratégies de lutte contre les nématodes est la recherche de nouvelles sources génétiques de résistance naturelle. En ce sens, la première étape serait de commencer par un screening et une meilleure connaissance de la biodiversité disponible notamment les ressources locales déjà adaptées aux conditions. C'est dans ce contexte que la deuxième partie de notre travail s'inscrit. Il s'agit de tester et d'évaluer la résistance des variétés populations locales dans une optique de valorisations de nos ressources phylogénétiques. Ainsi l'objectif principale de cet volet d'étude est l'évaluation, en pots et sous serre, de la résistance de sept populations locales de *Vicia faba* L., collectées dans la région des Zibans, en utilisant la variété Séville, considérée, par INRA France, comme témoin de référence résistant au *D. dipsaci*.

Ceci va nous permettre d'étudier la variabilité des niveaux d'expression de la résistance des différentes populations locales au pathogène, selon plusieurs paramètres, et essayer d'identifier de nouvelles ressources de résistances pouvant intégrées des programmes d'amélioration. Cet essai d'identification sera réalisé par l'utilisation des marqueurs microsatellites dans un essai d'identification de marqueurs SSR qui seraient liés à des variétés populations locales ayant exprimés une résistance phénotypique aux nématodes du complexe *D. dispaci* durant 3 années d'expérimentation sous serre.

Le document de la thèse comprend une partie de synthèse bibliographique avec trois chapitres consacrés A : 1) Réactions des plantes aux agents pathogènes, 2) généralités sur les légumineuses, et 3) généralités sur les nématodes à bulbe. La deuxième partie du document traitera une expérimentation à savoir la partie matériel & méthodes, suivie d'une partie exposant les résultats et discussions et enfin, sous forme de synthèse, les conclusions et perspectives de cette étude.

PARTIE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE : I

REACTIONS DES PLANTES AUX AGENTS PATHOGENES

1. INTRODUCTION

Lors de leur cycle de vie, les plantes sont confrontées à des stress divers, de nature abiotique (chaleur, froid, sécheresse,..) et biotique (microorganismes, insectes ravageurs, herbivores, etc.). Elles ont développé des mécanismes adaptatifs vis-à-vis de ces facteurs de l'environnement. Ainsi, la plupart des plantes sont tolérantes voir résistantes à la plupart des agents pathogènes avec lesquelles elles sont en contact. Certaines possèdent une résistance naturelle aux agents pathogènes, herbivores et insectes à travers des barrières préformées et des mécanismes induits (Mauch-Mani et Métraux, 1998; Lamb *et al.*, 1989). C'est ainsi que tout phénomène, qui, chez un végétal, interdit ou limite le développement d'un parasite est appelé résistance ou tolérance. Cette propriété, propre à un couple hôte-parasite, se traduit par un effet mesurable au niveau de la maladie et/ou de l'épidémie (Rapilly, 1991). Les phytopathogènes peuvent être classés en deux catégories : ceux qui tuent leur hôtes et se nourrissent de son contenu (nécrotrophes) et ceux qui ont besoin d'un hôte vivant pour se nourrir et compléter leurs

cycles de développement (biotrophes). Cette classification est indépendante du fait que l'infection peut conduire éventuellement à la mort de la cellule hôte.

Les microorganismes pathogènes produisent des toxines et des enzymes de dégradation de la cellule végétale. Les nématodes ont tous un stylet buccal qui leur permettent de perforer la paroi des cellules végétales. Parmi les interactions plantes-microorganismes, il est possible de distinguer trois types d'interactions: non-hôte, hôte compatibles ou hôte incompatibles. Elles sont décrites d'une manière succincte dans les paragraphes suivants :

2. LES INTERACTIONS ENTRE LES PLANTES ET LES MICROORGANISMES

2.1. Interaction non-hôte

Dans cette interaction le microorganisme, potentiellement pathogène, est incapable de pénétrer ou de se reproduire et la plante n'est pas affectée par le pathogène. La plupart des interactions entre les plantes et les agents pathogènes sont des interactions non-hôte (Suero, 2009).

Ainsi, la résistance non hôte est définie comme l'immunité d'une espèce présentée par la plante entière contre toutes les variantes génétiques de l'agent pathogène (Heath, 2000). La résistance non hôte pourrait dépendre de multiples mécanismes protecteurs que constituent les barrières constitutives et des réactions induites (Heath, 2000; Kamoun, 2001; Nürnberger et al., 2004, Suero, 2009).

2.2. Interaction hôte incompatible

Le pathogène n'arrive pas à coloniser ou bien il est stoppé en chemin par la mise en place précoce de la réaction d'hypersensibilité provoquant la mort de la cellule attaquée et la mise en place du SAR, un système de résistance qui va s'exprimer partout et empêcher d'autres tentatives d'invasion. Une interaction est incompatible entre un hôte résistant et un agent pathogène avirulent même si l'espèce végétale est un hôte pour l'agent pathogène.

La relation incompatible résulte de la présence d'un gène d'avirulence chez le pathogène qui reconnaîtra de façon spécifique, directement ou indirectement, le produit d'un gène de résistance présent chez la plante d'hôte.

2.3. Interaction hôte compatible

L'interaction compatible se produit entre un hôte sensible ou de tolérance modérée et un agent pathogène virulent. Il n'y a pas d'implication de produits de gènes spécifiques des deux partenaires (gène R de la plante et Avr- du pathogène) dans ces interactions, et donc pas de reconnaissance spécifique du pathogène qui peut alors coloniser la plante (Agrios, 2005

*in*Ramirez, 2009). Ceci est décrit par l'interaction hôte-parasite qui aboutit à une multiplication plus ou moins active du pathogène et à une colonisation de tout ou une partie de l'hôte par ce dernier. La plante hôte est sensible; elle présente des symptômes de la maladie et éventuellement, des dégâts agronomiques (Duran-Tardif et Pelletier, 2003 ; Lepoivre, 2003). Toutefois, la plante peut activer certains nombres de mécanismes de défense, induits principalement par des composés appelés MAMPs (Microbe-Associated Molecular Patterns) produits par des microorganismes, et ainsi limiter la croissance du pathogène (résistance partielle). Les réponses de défense (aussi appelées défenses basales) qui sont induites dans cette interaction modifient le degré de sensibilité de l'hôte et la plupart sont corrélées avec une certaine résistance quantitative..

3. LES MECANISMES MOLECULAIRES DE LA DEFENSE DES PLANTES

3.1 Les défenses préformées

Les défenses préformées correspondent au premier obstacle auquel les agents pathogènes sont confrontés. Ce sont des mécanismes de résistance de la plante face aux agents pathogènes et des barrières physiques préformées de la plante (Figure 1). Elles sont de deux types : physiques et chimiques (Dubreuil, 2010). Aucun stimulus n'est nécessaire pour la mise en place des défenses préformées, elles sont actives de manière constitutive.

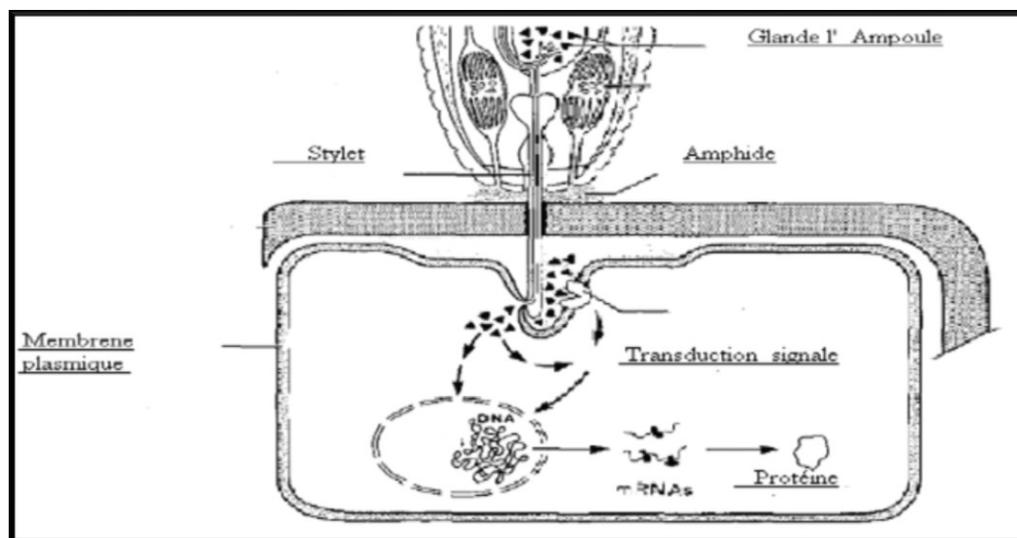


Figure 1: Modèle d'interaction potentielle entre les produits des sécrétions des nématodes et la cellule végétale (d'après Davis *et al.* 2004).

3.2. Les défenses inductibles

En plus des barrières physiques et chimiques préformées, les plantes possèdent des systèmes de reconnaissance et de réponses de défenses induites qui sont déclenchées immédiatement après le premier contact avec des molécules étrangères et sont renforcées par l'interaction prolongée avec les agents pathogènes (Göhre et Robatzek, 2008).

De manière schématique, aboutir au déclenchement des défenses inductibles nécessite trois étapes successives: une reconnaissance de la présence de l'agent pathogène par la plante, suivie d'une transduction du signal, qui aboutit à l'activation des gènes de défense. Ce type de réponse est appelée résistance active (Dubreuil, 2010). Jones et Dangl (2006), ont défini un modèle de cinq phases pour représenter le système immunitaire des plantes (Figure 2).

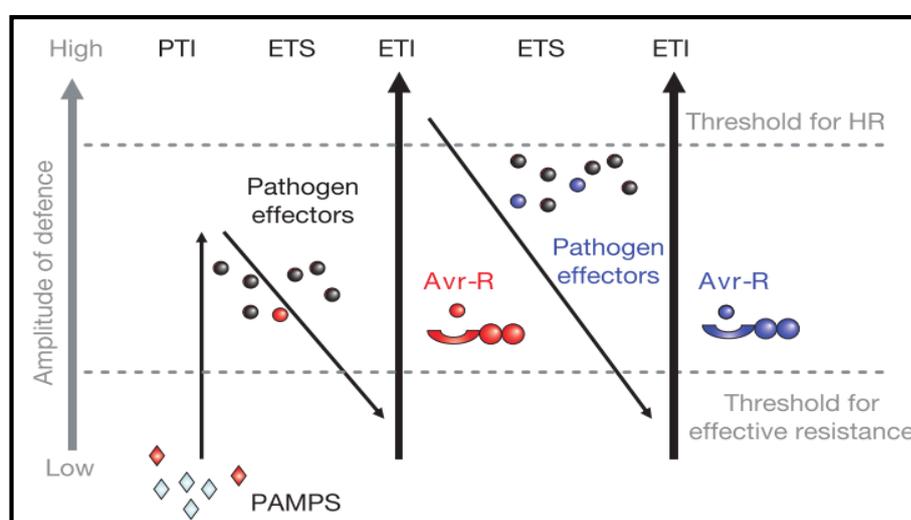


Figure 2. Modèle en « Zig-Zag » d'après Jones et Dangl (2006).

En phase 1, les plantes détectent les PAMPs (en rouge) via les récepteurs PRRs pour déclencher la PTI.

En phase 2, les agents pathogènes libèrent des effecteurs qui répriment la PTI, ce qui permet la nutrition et la multiplication des agents pathogènes à l'origine de l'état de sensibilité ETS.

En phase 3, un effecteur (en rouge) est reconnu par un récepteur codé par un gène R, ce qui active l'ETI.

En phase 4, l'évolution des agents pathogènes permet la mutation de leurs facteurs d'avidité, qui deviennent donc des facteurs de virulence (en bleu). Ceux-ci ne sont, par conséquent, plus reconnus, permettant à l'agent pathogène de supprimer l'ETI et de déclencher une nouvelle ETS.

En phase 5, l'évolution de la plante permet la création de nouveaux gènes R capables de reconnaître les nouveaux facteurs de virulence, qui redeviennent alors des facteurs d'avidité, permettant ainsi à nouveau une ETI. (Poisson, 2013). (ETI - Effector-Triggered Resistance, ETS - Effector-Triggered Susceptibility, PTI - PAMP-Triggered Immunity, PRR - Pattern Recognizing Receptor, PTI - PAMP-Triggered Immunity)

4. INTERACTION PLANTE-AGENT PATHOGENE

4.1 Reconnaissance de l'agent pathogène par la plante

La défense des plantes est basée sur l'immunité innée de chaque cellule et les signaux systémiques émanant des sites d'infection. La reconnaissance des agents pathogènes chez les plantes se base surtout sur la détection de l'agent pathogène comme étant « non-soi » ou du soi altéré (Sanabria *et al.* 2008). La reconnaissance du micro-organisme pathogène par la plante et

l'induction des mécanismes de défense sont initiées par la perception de molécules appelées éliciteurs. Ces derniers peuvent être attribués à une large gamme de microorganismes (les éliciteurs généraux) ou être spécifiques à un agent pathogène (les éliciteurs race-spécifiques).

En cas de résistance non spécifique, les éliciteurs sont aussi regroupés sous le terme de PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Pattern) ou MAMPs (Microbe-Associated Molecular Pattern) (Dubreuil, 2010), et sont reconnus à la surface de la plante par des récepteurs de la plante appelés PRRs (Pattern-Recognition Receptors) (De loreneo *et al.*, 2011). La résistance spécifique est basée sur une interaction de type gène pour gène où, seuls, certains facteurs d'avirulence, sont reconnus spécifiquement par l'éliciteur race-spécifique qui induit les réponses de défense uniquement dans les cultivars spécifiques (Nürnberg, 1999).

4.1.1. La reconnaissance non spécifique

Les éliciteurs généraux ou PAMPs sont des motifs moléculaires endogènes ou exogènes qui peuvent s'exprimer de manière conservée dans le cadre d'interactions plante-agent pathogène et sont capables au moins d'induire une résistance basale chez la plante (Bent et Mackey, 2007; Dangl et Jones, 2001; Mackey et McFall, 2006; van Ooijen *et al.*, 2007).

Cette résistance quantitative est gouvernée par des QTL (Quantitative Trait Loci) (Turnier, 2008). La découverte des marqueurs moléculaires et des données issues de l'analyse des génomes a permis une avancée considérable dans l'identification des gènes responsables de l'expression de la résistance quantitative avec notamment l'apparition du concept de cartographie des QTL (Yong, 2000 ; Montserrat, 2009). La résistance acquise systémique (SAR, systemic Acquired Resistance) peut protéger les différents organes de la plante tels : que les feuilles les tiges et les fleurs ou les fruits contre une attaque ultérieure par un pathogène (Van loon, 2006 ; Compant, 2007) (Figure 3).

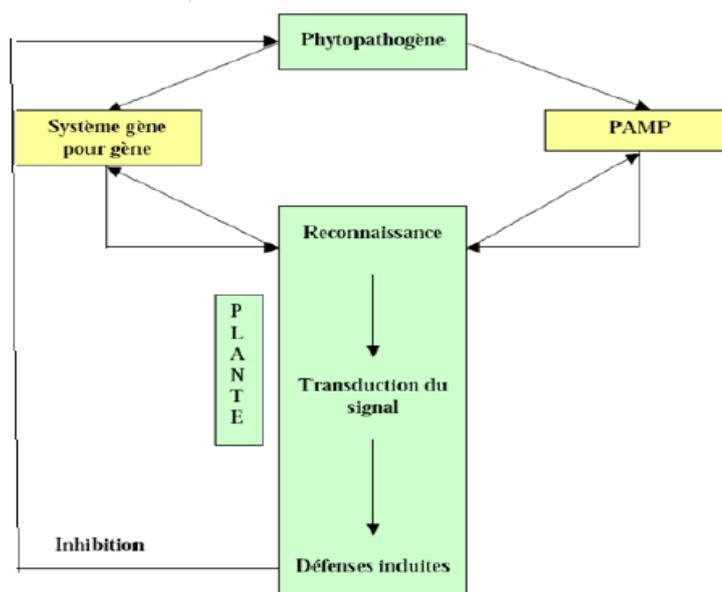


Figure 3: Illustration du phénomène de résistance induite par l'agent pathogène (Compant, 2007)

4.1.2. La reconnaissance spécifique

Il s'agit du deuxième niveau de reconnaissance des plantes, lorsque les parasites sont capables de franchir la barrière de la reconnaissance non-spécifique. En fait, la résistance de la plante dépend de l'interaction entre le produit du gène d'avirulence du pathogène et le produit du gène de résistance de la plante. La démonstration que la résistance spécifique de race et de cultivar ne dépend en général que d'un seul gène dans chaque partenaire (Flor, 1955). D'où le concept gène-pour-gène selon lequel la présence simultanée et spécifique du produit d'un gène de résistance (*R*) dans le génome d'une plante et du produit d'un gène d'avirulence (*Avr*) correspondant dans celui d'un parasite conduit à une résistance spécifique souvent caractérisée par la mort cellulaire programmée des cellules attaquées, aussi appelée réaction hypersensible (HR).

4.1.2.1. Les gènes d'avirulence (*Avr*)

Ces gènes codent des protéines possédant une activité électrice spécifique aux plantes qui possèdent les récepteurs race-spécifique correspondants (Montesano et al. 2003). Les protéines d'avirulence peuvent être considérées comme des effecteurs de par leur rôle dans le pouvoir pathogène du microorganisme (Cazaux, 2009).

4.1.2.2. Les gènes de résistance

Suite au clonage des gènes *R* de plantes dicotylédones et monocotylédones, il a été permis de fournir des indices quant à leur activités et leur localisation dans la cellule végétale. Une caractéristique commune des récepteurs impliqués dans la perception des agents pathogènes est le domaine LRR. Ce domaine est présent à la fois dans les récepteurs de PAMP, où ils sont

fusionnés à un domaine trans-membranaire et à un domaine kinase cytoplasmique (RLK, pour « receptor-like kinase »), et dans la majorité des protéines R (Nümberger et Kemmerling, 2006).

4.1.2.3. Modes de reconnaissance du couple R/Avr

Le **modèle «gène-pour-gène»** est le modèle génétique le plus simple d'interaction entre les facteurs d'avirulence (Avr) et les produits des gènes de résistance (R) selon Flor (1970) cité par Froidure (2010). Ce premier modèle consiste à dire qu'une plante est résistante quand elle possède un gène de résistance dominant et que le pathogène présente le gène d'avirulence complémentaire est dominant. Provoquant dans tous les autres cas, le développement de la maladie (Tableau 1).

Agent Pathogène \ Plante	R	r
	Avr	résistance
avr	maladie	maladie

Tableau 1 : Modèle génétique de la résistance gène-pour-gène (d'après Froidure, 2010).

La présence de l'allèle R du gène de résistance chez la plante, et de l'allèle Avr correspondant chez l'agent pathogène déclenche la résistance spécifique. On parle alors d'interaction incompatible. Dans toutes les autres situations, l'interaction est dite compatible et la maladie se développe.

Un autre modèle, basé sur de nombreuses données expérimentales, appelé « **modèle de garde** » (van der Biezen and Jones, 1998b). Il place les protéines de résistance comme des «antennes moléculaires» qui enregistrent les interactions entre les facteurs d'avirulence et leurs cibles dans la cellule hôte (Hammond-Kosack and Parker, 2003). La protéine de résistance ne reconnaît pas directement le facteur d'avirulence mais la modification d'une autre protéine ciblée par le facteur d'avirulence.

Le modèle du Leurre (Decoy Model) a été récemment formulé (van der Hoorn and Kamoun, 2008). Les cibles végétales des effecteurs, gardées par les protéines R, sont soumises à deux pressions de sélection la première et d'éviter la manipulation par les effecteurs, la seconde et d'améliorer la perception de ces effecteurs. Afin de diminuer ces contraintes, il existerait donc des protéines végétales « leurres », impliquées uniquement dans la perception de l'effecteur (van der Hoorn and Kamoun, 2008) (Figure 4). La reconnaissance précoce et spécifique de l'agent pathogène par la plante permet à celle-ci de déclencher très rapidement une cascade de réponses menant à la résistance, qui est alors appelée ETI (Effector-Triggered Immunity).

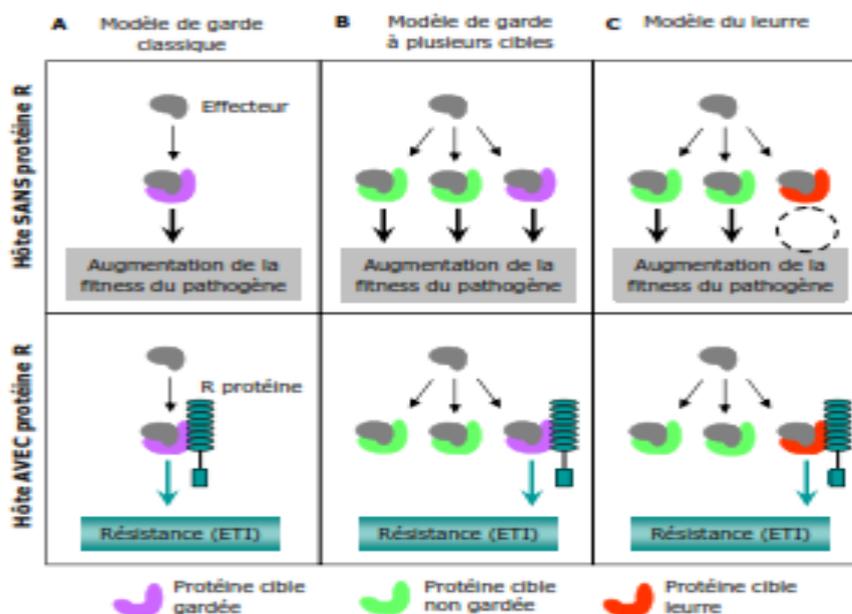


Figure 4. Comparaison entre le modèle de garde et le modèle du leurre (d'après van der Hoorn and Kamoun, 2008 in Froidure, 2010).

Le modèle de garde classique (A) est nuancé dans le modèle de garde à plusieurs cibles (B) où l'effecteur cible plusieurs protéines végétales. Enfin, le modèle du leurre est présenté (C). Des protéines végétales impliquées dans la mise en place des réponses de défense sont fréquemment ciblées par les effecteurs afin de diminuer la résistance de la plante. Dans le modèle du leurre, la protéine cible végétale (en orange) est impliquée uniquement dans la perception de l'effecteur. Dans le cas d'une interaction avec une plante-hôte sans protéine R, l'interaction entre l'effecteur (en gris) et la protéine cible leurre (en orange) ne permettra donc pas un meilleur développement de l'agent pathogène. De plus, si la plante possède la protéine R correspondante à l'effecteur injecté, l'interaction entre l'effecteur et la protéine cible leurre va permettre d'activer les réponses de défense.

4.1.2.4. Répartition des gènes de résistance dans les génomes

Les gènes de type NBS-LRR, qui constituent la classe majeure des gènes de résistance dans le règne végétal, sont regroupés à l'intérieur de loci contenant soit des gènes isolés (singletons), soit des gènes regroupés en réseaux de gènes très liés appelés clusters (Holub, 2001). En majorité, la fonction de ces gènes n'est pas connue, mais leur similarité avec les gènes de résistance clonés fait qu'on les classe comme des analogues de gènes de résistance (ou RGAs, Resistance Genes Analogs). Dans le cas le plus simple, le locus de résistance contient plusieurs allèles d'un même gène *R*; ainsi chez le lin le locus L contient 13 allèles. Le séquençage complet de la plante modèle *A. thaliana* a permis de repérer 200 NBS-LRR distribués en 40 singletons et 43 clusters (Cazeau, 2009). Le séquençage de *Medicago truncatula* a révélé l'existence d'environ 400 RGAs ayant une homologie avec les NBS-LRRs (Ameline-Torregrosa *et al.*, 2008 in Cazeaux ; 2009). La cartographie génétique et physique de ces gènes a montré que les TNL et les CNL sont groupés en clusters, dont peu contiennent ces deux types de gènes NBS-LRR simultanément (Zhu *et al.*, 2002; Ameline-Torregrosa *et al.*, 2008).

5. EXEMPLES DE GENES DE RESISTANCE AUX NEMATODES

Les nématodes les mieux étudiés sont ceux à kyste et à galles, vu leur importance économique. La résistance des plantes aux nématodes se définit comme l'aptitude de la plante à réduire ou à empêcher la reproduction du nématode (Castagnone-Serono, 2002 ; NGuessan, 2007 ; caromel, 2004). Selon Castro-Quezada (2013), dix gènes conférant une résistance aux nématodes ont été caractérisés au niveau moléculaire. Le premier gène de résistance cloné a été, *Hs1*, isolé chez la betterave à sucre et qui agit contre le nématode à kyste *H. schachtii*. *Hs1pro-1*, a été cloné par une approche de clonage positionnel. Puis il a été suivie par le clonage de plusieurs gènes de résistance chez la famille des Solanacées: *Mi-1.2*, a été isolé chez la tomate (Milligan et al.1998, Vos et al. 1998); son homologue *CaMi*, a été isolé chez le piment (Chen et al. 2007 ; *Gpa2*, a été isolé chez la pomme de terre (van der Vossen et al. 2000) ; *Hero*, a été isolé chez la tomate (Ernst et al. 2002) ; *Gro1-4*, a été isolé chez la pomme de terre (Paal et al. 2004), *Ma*, a été isolé chez *Prunus cerasifera* (Claverie et al. 2011), *Rhg1* et *Rhg4*, ont été isolés chez le soja (Cook et al., 2012 ; Liu et al., 2012, respectivement) et *Cf-2*, a été isolé chez la tomate (Lozano-Torres et al. 2012).

Tableau 2: Gènes de résistance aux nématodes endoparasites Sédentaires clonés

Genes clonés	Plantes	Nématodes
cHs 1 ^{pro-1}	betterave	Nématode a kyste de la betterave <ul style="list-style-type: none"> • <i>Heterodera schachtii</i>
Mi1	Tomate	Nématode à galle <ul style="list-style-type: none"> • <i>Meloidogyne incognata</i> • <i>Meloidogyne javinaca</i> • <i>Meloidogyne armaria</i>
Hero A	Tomate	-Nématode a kyste de la tomate <ul style="list-style-type: none"> • <i>Globodera rostochiensis pathotype R01 ,R02, R03,R04,R05</i> • <i>Globodera palida Pa1Pa2,PA3</i>
Gpa 2	Pomme de terre	Nématode a kyste de la pomme de terre <ul style="list-style-type: none"> • <i>Globodera palida pathotype D383 ET372</i>
Gro 1-4	Pomme de terre	Nématode a kyste de la pomme de terre <ul style="list-style-type: none"> • <i>Globodera rostochiensis pathotype R01</i>
Rhg1 et Rhg2	soja	Nématode a kyste de soja <ul style="list-style-type: none"> • <i>Heterodera glycines</i>

6. MODIFICATIONS DE L'EXPRESSION DES GENES DE PLANTES EN REPONSE A L'INFECTION PAR DES NEMATODES

Les changements de l'expression de gènes de la plante suite à l'infection d'une plante par des nématodes phytoparasites entraîne suite à certaines indications une nouvelle expression suggérant que les nématodes suppriment activement les réactions de défense de l'hôte, probablement par une ou plusieurs substances injectées. Cependant, ces mécanismes engendrés par le stylet de nématodes ne sont pas encore bien connus (Smant & Jones, 2011).

Aussi, l'établissement des sites nourriciers par les nématodes et le développement des cellules géantes, induits par les nématodes à galles, ou des syncytiums, ou à kyste, entraînent des modifications de la paroi cellulaire, indiqués par une augmentation de l'expression des gènes codant pour l'endoglucanase et la polygalacturonase de l'hôte après infection par nématodes (Mahalingamet *al.*, 1999 ; Goellneret *al.*, 2000 ; 2001 In Maisara, 2015).

De même, l'infection par des nématodes phytoparasites entraîne des changements au niveau du métabolisme des cellules de la plante, de la progression du cycle cellulaire et le transport de l'eau dans et autour des cellules géantes (Gheysen *et al.*, 2002), souvent accompagné par des changements au niveau des facteurs de transcription. Parmi les 22089 gènes détectés à l'aide de puce d'Arabidopsis CATMA, Jammes *et al.* (2005), ont identifié 3373 gènes qui affichent une différence significative d'expression entre des galles, provoquées par *M. incognita*, en différents stades de développement et des tissus non-méristématiques des racines non infectés. Barcala *et al.* (2010), ont indiqué que 3 jours post infection par *M. javanica*, 1161 gènes étaient exprimés différemment pendant les phases initiales de la formation des cellules géantes. Le nombre de gènes régulés différemment était moins important; seule 547 gènes étaient influencés, et la plupart des gènes, 354, étaient régulés vers le haut (Barcalaet *al.*, 2010). Seules 100 gènes ont été identifiés d'être régulés en commun entre cellules géantes et galles, dont 54 réprimés et 66 surexprimés. On peut citer un exemple pour illustrer la complexité des modifications de l'expression des gènes. En fait, dans le but d'identifier des gènes impliqués dans la formation des cellules géantes en réponse à l'infection par *M. incognita*, Caillaud *et al.* (2008), ont utilisé une analyse fonctionnelle de promoteurs génomiques de lignées d'Arabidopsis mutées par un ADN-T associé au gène rapporteur *GUS*. Ils ont ainsi réussi à mettre en évidence le rôle crucial joué par le gène *AtMAP65-3* lors de l'infection. Ce gène qui code pour une protéine associée aux microtubules de la famille *MAP65*, est exprimé aux stades précoces de la formation du site nourricier induit par le nématode. En l'absence d'une *AtMAP65-3* fonctionnelle, les cellules nourricières se développent, mais ne

parviennent pas à se différencier totalement et sont finalement détruites, ce qui aboutit à un développement incomplet du nématode à galles et à sa mort. La régulation négative du gène *AtMAP65-3* diminue la sensibilité de la plante *Arabidopsis* transgénique aux nématodes à galles. Alors, *AtMAP65-3* est un gène de sensibilité de l'hôte, jouant un rôle critique dans l'interaction plante-nématode par son implication dans l'ontogenèse des cellules géantes (Caillaud *et al.*, 2008).

7. L'AMELIORATION DE LA RESISTANCE AUX NEMATODES CHEZ LA FEVE

L'un des moyens le plus important de lutte contre les nématodes phytoparasites est l'utilisation de plantes cultivées résistantes. L'origine des résistances contre des nématodes phytoparasites provient très souvent des plantes sauvages apparentées, et les résistances ont été introgressées dans 17 plantes cultivées comme la pomme de terre, l'orge, le coton et le soja, etc. La résistance peut s'appuyer sur un seul gène majeur ou sur plusieurs gènes à caractère quantitative (Maisara, 2015). Chez les plantes cultivées la cartographie de QTLs est une méthode qui est très souvent utilisée pour identifier des régions génomiques contenant des gènes de résistance contre les nématodes phytoparasites. Par exemples, cette approche a été utilisée pour la cartographie de QTL conférant la résistance contre : (i) les nématodes à kyste du soja, *Heterodera glycines* (Webb *et al.*, 1995 ; Meksem *et al.*, 2001 ; Concibido *et al.*, 2004 ; Guo *et al.*, 2005 ; Wu *et al.*, 2009 ; Arelli *et al.*, 2010 ; Chang *et al.*, 2011 ; Arriagada *et al.*, 2012) ; (ii) les nématodes à kyste des céréales, *Heterodera avenae* chez le blé (Williams *et al.*, 2006) ; (iii) les nématodes à kyste de la pomme de terre, *Globodera pallida* (Kreike *et al.*, 1994 ; Rouppe van der Voort *et al.*, 1998 ; Bryan *et al.*, 2002) ; (iv) plusieurs espèces de nématodes des lésions des racines, *Pratylenchus* chez le blé (Schmidt *et al.*, 2005 ; Zwart *et al.*, 2005 ; 2006 ; 2010 ; Toktay *et al.*, 2006 ; Jayatilake *et al.*, 2013 ; Linsell *et al.*, 2014) et chez l'orge (Sharma *et al.*, 2011 ; Galal *et al.*, 2014). Egalement, la cartographie de QTL a été conduite pour identifier des loci contribuant à la résistance contre les nématodes à galles, (v) chez le coton (Shen *et al.*, 2006 ; 2010 ; Wang *et al.*, 2012a ; He *et al.*, 2014) ; (vi) chez le soja (Tamulonis *et al.*, 1997 ; Li *et al.*, 2001 ; Ha *et al.*, 2007 ; Fourie *et al.*, 2008 ; Shearin *et al.*, 2009 ; Xu *et al.*, 18 2013) ; (vii) chez le riz (Shrestha *et al.*, 2007 ; Mamta *et al.*, 2013) ; (viii) chez la patate douce (Cervantes Flores *et al.*, 2008), et (ix) chez la pomme de terre (Brown *et al.*, 1996 ; Kouassi *et al.*, 2006).

Des procédures de criblage ont été développées pour évaluer la résistance de *Vicia faba* dans des pots dans des conditions environnementales contrôlées et dans des champs infestés de nématodes (Hanounik *et al.*, 1986 ; Caubel *et al.*, 1994 ; Sharma *et al.*, 1994). La résistance à *D.*

dipsaci a été rapportée, sur les gènes BPL 1696, BPL 1827, FLIP84-154, 29H, FRYT-98-3, FRYT-98-4, FRYT-98-30, FRYT-98-46, FRYT-98-56, FRYT-98-60, (Hanounik et al., 1986; Augustin et Sikora, 1989; Roberson et Saxena, 1993; Abbad Andaloussi et al., 2001).

L'utilisation de la résistance génétique est la méthode est la plus économique et la plus respectueuse de l'environnement. Cependant, et jusqu'à présent, les sources de résistance n'ont été bien identifiées que pour certaines espèces de nématodes.

CHAPITRE : II

LES LEGUMINEUSES

1- GENERALITES

Les légumineuses jouent un rôle économique majeur: elles constituent une source importante de protéines végétales pour l'alimentation animale et humaine. Elles fournissent le plus grand nombre d'espèces utiles à l'homme, qu'elles soient alimentaires, industrielles ou médicinales (Sebihi, 2008). Leur culture ne nécessite pas de fertilisation azotée ce qui représente un avantage économique mais aussi environnemental. De plus, elles constituent une des familles les plus abondantes et diversifiées des plantes supérieures, avec plus de 650 genres et 18000 espèces (Saoudi, 2008). Comprenant des plantes herbacées, des arbres, des arbustes ou des lianes, et elles se trouvent aussi bien les régions tropicales que les régions tempérées ou arctiques du globe terrestre. Comme les autres légumineuses, la fève est considérée comme un féculent, puisqu'elle est riche en glucides complexes énergétiques. Elle constitue une source considérable d'énergie 344 Kcal/100 g et peut efficacement remplacer les protéines animales dans les pays pauvres (Chaieb et al., 2011). En effet d'après Larralde et Martinez (1991), la valeur nutritionnelle de la

fève est attribuée à sa teneur élevée en protéines (25 à 35%), la plupart de ces protéines sont des globulines (60%), des albumines (20%), des glutélines (15%) et des prolamines.

Dans le bassin Méditerranéen il existe une diversité importante. Les genres *Trifolium*, *Medicago*, *Vicia*, *Astragalus*, *Lathyrus*, *Ononis*, *Avena*, *Eragrostis*, *Hordeum*, *Dactylis*, etc..., sont bien représentées en nombre d'espèces. Au Maroc, selon M'hirit et Maghnouj (1997), on compte 4 200 espèces avec les sous-espèces; en Algérie, il y a 3 139 espèces (Quezel et Santa, 1962) et en Tunisie 2 162 espèces ont été recensées (Saoudi, 2008). L'endémisme de la flore du bassin Méditerranéen est très élevé; sur les 976 espèces des 18 genres de *Fabacées* fourragères et/ou pastorales, 336 espèces sont endémiques à la région Méditerranéenne (Tableau 3).

Genres	Nombre d'espèces		
	Total général	Total Méditerranéen	Exclusivement Méditerranéen
<i>Hippocrepis</i>	29	28	19
<i>Ononis</i>	66	63	43
<i>Anthyllis</i>	16	16	10
<i>Onobrychis</i>	118	91	68
<i>Hedysarum</i>	69	37	28
<i>Ornithopus</i>	6	6	2
<i>Trigonella</i>	71	44	22
<i>Coronilla</i>	10	10	3
<i>Vicia</i>	111	87	32
<i>Lathyrus</i>	80	61	22
<i>Medicago</i>	70	60	19
<i>Lotus</i>	99	58	25
<i>Trifolium</i>	161	117	37
<i>Dorycnium</i>	5	5	1
<i>Melilotus</i>	19	17	3
<i>Lupinus</i>	42	6	2
<i>Biserrula</i>	2	2	0
<i>Scorpirus</i>	2	2	0
Total	976	710	336

Tableau 3 - Nombre d'espèces de légumineuses fourragères dénombrées dans le monde, et exclusivement Méditerranéens (Hamilton et al 2001).

2. SITUATION DE LA FEVE EN ALGERIE

La culture de la fève occupe le premier rang au niveau national, couvrant une superficie moyenne annuelle d'environ 35147 ha avec une production totale en grain secs de 37598 tonnes et un rendement de 10697 qx/ha (FAOSTAT, 2016). En Algérie, la fève est cultivée sur les plaines côtières, les plaines sub-littorales et les zones sub-sahariennes, plus spécialement dans les wilayas de l'Ouest (Sidi Bel-Abbès, Tlemcen et Mostaganem), du centre (El Khemis et Boumèrdès) de l'Est et du Sud Est (Béjaia, Batna et Biskra) (Ouffroukh et Aggad, 1996). La consommation de la fève en Algérie se fait beaucoup plus en gousses fraîches qu'en graines sèches ce qui influe sur les niveaux de rendements en grain.

Les Figures 5 et 6 indiquent l'évolution des superficies et de la production de la fève en Algérie de pour la période 2001-2015.

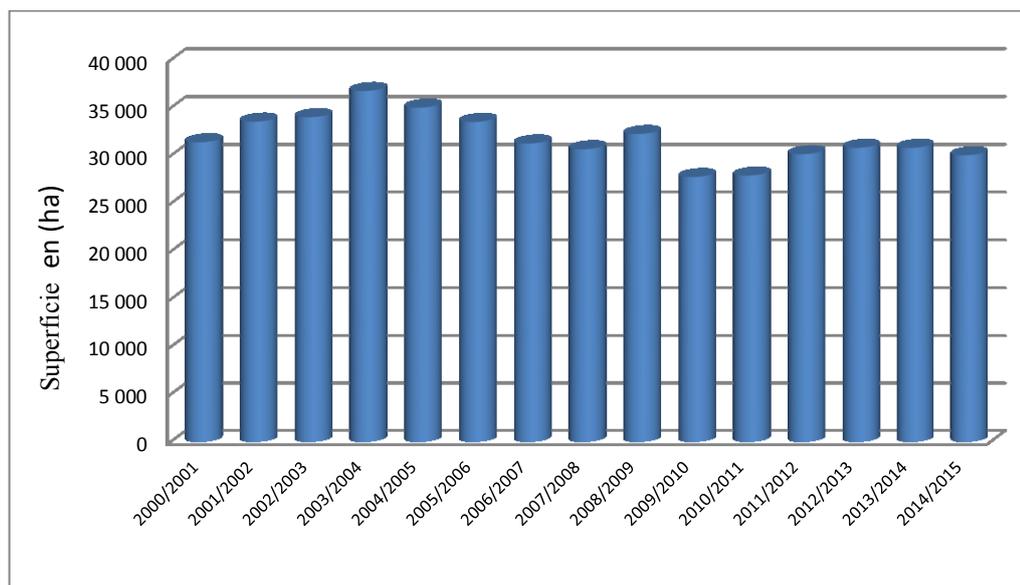


Figure 5 ; Evolution de la superficie de culture de la fève et féverole en Algérie (FAOSTAT,2015).

Attention aux numéros de figures dans le texte. Pourquoi 2 graphes pour la superficie !!!

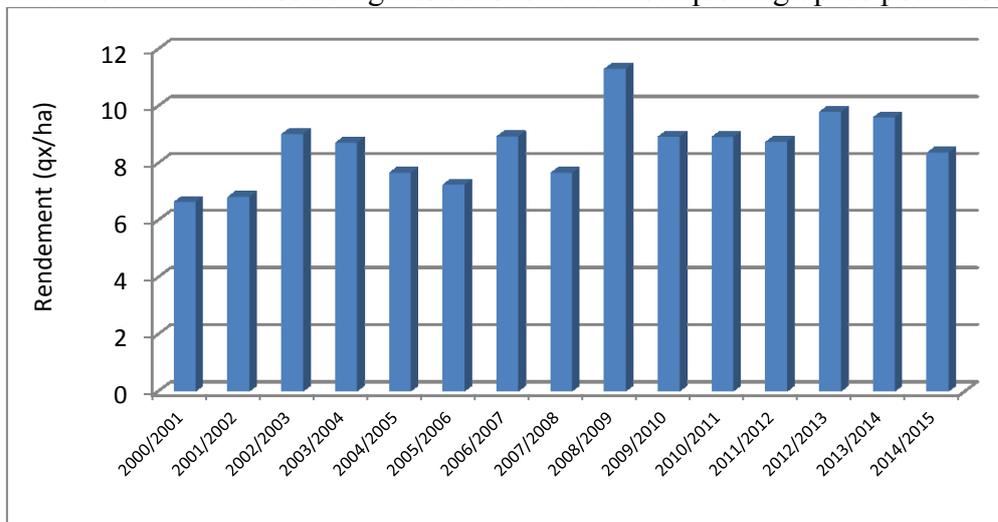


Figure 6 : Evolution du rendement de la fève et féverole en Algérie (FAOSTAT, 2015).

3- CLASSIFICATION DES LEGUMINEUSES

Les légumineuses constituent la troisième super famille par ordre d'importance chez les angiospermes, et constituent un des groupes de végétaux supérieurs les plus abondants et les plus diversifiés (Allen et Allen, 1981 ; Broughton, 1984 *in* Sebihi, 2008). Cette famille possède 674 genres et plus de 18000 espèces. Elle est subdivisée en trois sous familles d'importance diverse. Il s'agit des *Mimosoideae*, *Caesalpinioideae* et *Papilionaceae* ou *Fabaceae*. Cette dernière famille, représente la sous-famille la plus diversifiée avec 429 genres et plus de 12000 espèces, principalement herbes et petits arbustes distribués dans le monde entier (Ferchichi, 2006). La plus grande partie des légumineuses (88%) des espèces étudiées interagissent avec les bactéries du genre *Rhizobium* pour former des nodules fixateurs d'azote (De Faria et al. 1989; Hirsh et al, 2001). Le nom de la Famille des *Fabaceae*, découle du nom de genre *Faba*. Or, il se trouve que ce nom de genre n'est plus utilisé, ayant laissé place au genre *Vicia*. Un représentant de l'ancien genre *Faba* (du latin *faba*, fève) est la fève, anciennement *Faba vulgaris*, maintenant *Vicia faba*. La famille est aussi appelée couramment Légumineuses (*Leguminosae*) ou Papilionacées (*Papilionaceae*), mais ce ne sont pas de vrais synonymes. Les *Fabacées*, au sens limité, est nommé *Fabaceae (stricto sensu)* ou *Papilionaceae*. Cette famille comprend 12 000 espèces réparties en plus de 400 genres. En classification phylogénétique, ce groupe des plantes serait la sous-famille *Faboideae*.. Par contre, les *Fabacées*, au sens large, est adopté en classification phylogénétique. Ce groupe est nommé *Fabaceae (lato sensu)* ou *Leguminosae*. Cette famille comprend 18 000 espèces réparties dans trois sous-familles. (En classification classique, ce groupe des plantes serait l'ordre des *Fabales* avec trois familles.).

4. LA BIOLOGIQUE DE *VICIA FABA*

4.1. Caryotype et cycle cellulaire

Selon Flotet (2010), le caryotype de *Vicia faba* est très simple. Toutes les variétés de la plante sont diploïdes, et possèdent 6 paires de grands chromosomes, dont 5 paires de chromosomes acrocentriques et une paire de chromosomes métacentriques mesurant 15 µm de long, soit environ le double de la longueur des premiers (Duc, 1997). Le cycle cellulaire normal de la plante est représenté dans la Figure 7.

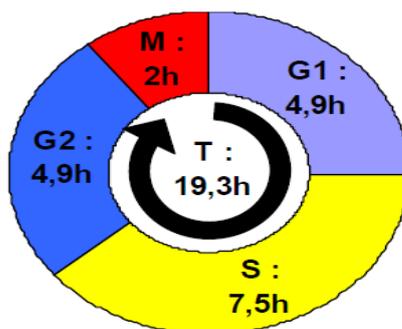


Figure 7 : Durée des principales étapes du cycle cellulaire des cellules méristématiques des racines primaires de *Vicia faba* var. d'après Evans et Scott (1963). M : mitose ; G1, G2 : intervalles (gaps) ; S : synthèse d'ADN (réplication). Durée totale du cycle (T) : 19,3h.

4.2 Position systématique

Décrite par Linné en 1753, la fève *Vicia faba* L. (broad bean en anglais) est une plante dicotylédone herbacée originaire d'Asie ou du Moyen-Orient. Selon Reta Sanchez et al. (2008), la fève est classée botaniquement comme suit :

- ✓ Règne : *Plantae*
- ✓ Division : *Magnoliophyta*
- ✓ Classe : *Magnoliopsida*
- ✓ Ordre : *Fabales*
- ✓ Famille : *Fabaceae*
- ✓ Sous famille : *Faboideae*
- ✓ Tribu : *Vicieae*
- ✓ Genre : *Vicia*
- ✓ Espèce : *Vicia faba* L.

D'après Nuessly et al. (2004), la fève est subdivisée selon la taille des graines en 3 sous espèces qui sont :

- *Vicia faba major*, la fève maraîchère à grosses graines destinées à la consommation humaine;
- *Vicia faba minor*, la petite fève ou féverole utilisée pour l'alimentation du bétail ;
- *Vicia faba equina*, la fève à cheval à grains moyens aussi appelée féverole ou févette dans certaines régions. Comme son nom l'indique elle est également destinée à l'alimentation du bétail.

4.3 Aspect et particularités de la plante

La fève est une plante robuste, grimpante, dont la tige est simple, dressée, creuse, de section quadrangulaire, sa hauteur est généralement comprise entre 0,80 à 1,20 m (Chaux et Foury, 1994). La tige est pourvue d'un ou plusieurs rameaux à la base et présente un type de croissance indéterminé (Duc, 1997 ; Brink et Belay, 2006). Les feuilles sont alternées, composées-pennées, constituées par 2 à 4 paires de folioles ovales, mucronées, sans vrille, de couleur vert glauque ou grisâtre. Les stipules bien visibles en forme dentées (Chaux et Foury, 1994). Ses fleurs, disposées en racème (grappe), sont blanches avec un point noir sur les ailes, zygomorphes (à symétrie axiale) et hermaphrodites, à pollinisation entomophile. Sa floraison dépend de la photopériode et de la température (Evans 1959). Ses fruits sont des gousses, caractéristiques de la famille des Fabacées (Figure 8). Selon Duc (1997), le système racinaire de *V. faba L.* est formé par une racine principale pivotante et des racines secondaires portant des nodosités ces nodules à l'intérieur desquelles des cellules géantes servent d'abri à une bactérie symbiotique, appartenant à l'espèce *Rhizobium leguminosarum*. Cette bactérie est capable de capter le diazote atmosphérique et de le fixer dans le sol sous forme d'ions utilisables par les plantes. Les fruits du *Vicia faba* sont des gousses charnues qui peuvent avoir de 10 à 20 cm de long selon les variétés et contenir un nombre variable de graines (4 à 9). A l'état jeune, les gousses sont de couleur verte puis noircissent à maturité (Chaux et Foury, 1994). Les graines sont charnues, de couleur vert tendre à l'état immature, elles développent, à complète maturité, un tégument épais et coriace de couleur brun rouge à blanc verdâtre et prend une forme aplatie à contour presque circulaire ou réniforme (Chaux et Foury, 1994). Les graines possèdent un hile clair ou de couleur noire parfois entouré de taches de couleur marron (Duc, 1997).

5. CULTURE

La fève est une plante annuelle, son cycle complet, de la graine à la graine est d'environ 5 mois (Chaux et Foury, 1994). La fève est une culture des climats frais, elle peut être cultivée au niveau de la mer jusqu'à une altitude de 3700 m (Lim, 2012). D'après Brink et Belay (2006), le développement de la fève est caractérisé par cinq stades principaux : germination et levée, développement végétatif, développement reproductif, sénescence de la gousse et sénescence de la tige.



Figure 8 : *Vicia faba*

C'est une plante méditerranéenne peu exigeante sur le type de sol, à condition que ce dernier soit bien ensoleillé et pas trop acide. En effet d'après Brink et Belay (2006), la fève préfère les sols bien drainés au pH neutre (6,5- 7,5) et à fertilité moyenne. Pour Jensen et al., (2010), la fève s'adapte à de nombreux sols, mais craint les sols légers (risque de sécheresse) et les excès de Bore, elle croit mieux sur des sols à texture plus lourde. La température optimale de pousse se situe aux environs de 20°C. Par ailleurs, Jensen et al., (2010), signalent que certains cultivars sont plus rustiques au froid. Dans les régions méditerranéennes, ils peuvent tolérer des températures hivernales de - 10°C alors qu'en Europe, ils peuvent supporter jusqu'à - 15°C.

Elle peut se semer sous des climats très éléments à l'entrée de l'hiver, en octobre ou novembre pour donner des fruits dès la mi-avril, dès février dans le sud de la France, mais sous des climats moins favorables il faudra attendre le mois de mars pour les semis et le mois de juin pour la récolte. La fève est une plante de jours longs, elle forme son bourgeon à fleur à partir du moment où la photopériode dépasse les 12 heures consécutives. Par contre dans les pays méditerranéens, les variétés de fève sont de jours courts, elles nécessitent une photopériode minimum de 9,5 heures pour fleurir (Patrick et Stoddard, 2010).

Selon Brink et Belay (2006), la fève nécessite une pluviométrie annuelle de 700 à 1000 mm, dont plus de 60% doit tomber pendant la période de croissance. Les besoins en eau sont importants et particulièrement au stade de croissance des gousses, ainsi des irrigations doivent être pratiquées pendant le stade de floraison et de formation des gousses dans les régions à faibles précipitations (Loss et Siddique, 1997 ; Jensen et al., 2010).

6. EXEMPLES DE CONTRAINTES BIOTIQUES

La fève est attaquée par plusieurs agents biotiques qui peuvent affecter sérieusement le rendement et la qualité. Les maladies les plus problématiques chez la fève sont données ci-dessous à titre d'exemples:

6.1 Les maladies fongiques

Les maladies fongiques les plus importantes de la fève sont les suivantes :

6.1.1 Les taches chocolat

La maladie des taches chocolat est causée par *Botrytis cinerea* et *Botrytis fabae* (Figure 10). Les feuilles tombent causant une défoliation et tuant la plante en seulement 2 jours (Stoddard et al., 2010).



Figure 9 : Symptômes de botrytis sur le feuillage de la féverole. (Anonym 2016 a)

6.1.2 L'ascochytose

Appelée aussi anthracnose est une maladie aérienne assez fréquente chez la féverole, notamment pour les types hiver. Elle est causée par le champignon *Ascochyta fabae*. La maladie touche feuilles, tiges et gousses. Dans les cas les plus graves, les gousses attaquées éclatent, les grains infectés se recouvrent de taches (Figure9).



Figure 10 : La rouille sur feuille de féverole (Anonym 2016 b).

6.1.3 La rouille *Uromyces fabae*

Selon Sillero et al., (2010), *Uromyces viciae fabae* est le champignon en cause de la rouille chez la fève (Figure 11). Les attaques commencent habituellement en fin de saison au moment du

remplissage des gousses et les pertes sont moindres par rapport aux attaques de début de saison qui sont plus sévères et peuvent occasionner des pertes de plus de 70% du rendement (Stoddard et al., 2010).



Figure 11 : Symptômes de la Rouille sur féverole (Anonyme c 2016).

6.2. Les maladies virales

Les maladies virales importantes de la fève sont le virus de la mosaïque jaune du haricot (BYMV) qui est transmis uniquement par les pucerons. D'autres virus occasionnent aussi des dégâts, tels que le virus de l'enroulement des feuilles du haricot (BLRV) et le virus des taches de la fève (BBSV), le virus jaune nécrotique de la fève (*Faba bean necrotic yellow virus* (FBNYV), transmis par les pucerons (Kumari et Van Leur ,2011).

6.3 Insectes et ravageurs

6.3.1 Les pucerons

Les pucerons sont un sérieux problème qui influence directement la productivité des fèves lorsque les infestations sont très sévères et demeurent l'une des causes indirectes de forts dégâts occasionnés par les virus dont ils sont vecteurs (Maatougui, 1996). Les pucerons noirs sont considérés parmi les insectes les plus nuisibles de la fève. La croissance de la plante ralentit et, en cas d'attaque persistante, est bloquée. Au final, les fleurs avortent, compromettant la récolte

6.3.2 Le lixus des fèves (*Lixus algerius*)

C'est un insecte de la famille des Curculionidae. Les larves évoluent à l'intérieur de la tige où elles creusent des galeries descendantes, les adultes quant à eux se nourrissent du feuillage, des jeunes pousses et même des inflorescences (Rachef et al., 2005).

6.3.3 La bruche de la fève (*Bruchus rufimanus*)

Bruche de la fève ou bruche de la gourgane est une espèce d'insectes de la famille des *Chrysomelidae* (ordre des coléoptères), dont les larves se développent à l'intérieur des graines de fèves et fêveroles les rendant inaptes à la consommation. Rachef et al., (2005) rapportent qu'en Algérie, toutes les superficies cultivées en fève sont attaquées par la bruche, ils occasionnent d'importants dégâts où plus de 64 % de graines peuvent être infestées.

6.3.4 La sitone du pois (*Sitona lineatus*)

Est une espèce d'insectes, polyphage, coléoptères de la famille des *Curculionidae*. Les dégâts sont dus aux adultes qui attaquent les feuilles des jeunes plants et surtout aux larves qui vivent dans le sol et se nourrissent des nodosités racinaires à *Rhizobium* des légumineuses, réduisant les capacités d'assimilation de l'azote atmosphérique par ces plantes. Selon Rachef et al. (2005)

6.4 Exemple de parasites

Dans ce point ne nous traiterons que les nématodes qui seront développés dans chapitre suivant.

CHAPITRE III :

LES NEMATODES DES TIGES ET DES BULBES : *DITYLENCHUS DIPSACI*(Kuhn, 1857 ; Filipjev, 1936)

1. INTRODUCTION

Les nématodes représentent des contraintes significatives en agriculture de subsistance et peuvent être difficiles à contrôler. La détermination de l'importance d'une espèce particulière de nématode n'est jamais une tâche facile et l'est encore moins en conditions pédoclimatiques données. (Coyne et al ,2007). On distingue: les nématodes ectoparasites, les endoparasites sédentaires et les endoparasites migrateurs. Parmi ces derniers, *Ditylenchus dipsaci* (Bridge et al., 2007) , qui attaque environ 500 espèces végétales telles que les *liliacées* (Oignon, Ail) et les légumineuses (Fève, Trèfle, Luzerne et Pois) ainsi que les solanées (Pomme de terre, Tabac) (OPPE, 2008). Les nématodes phytoparasites sont des vers ronds allongés en fuseau (Figure 12); cependant chez certaines espèces le corps de la femelle adulte peut se renfler et devenir plus ou moins globuleux. Ils vivent dans la couche arable du sol et sont de taille microscopique mesurant entre 0,3 et 5 mm de longueur et seulement 30 à 50 millièmes de millimètres de diamètre. Un examen du sol à l'œil nu ne permet donc pas de les voir. Les sols cultivés peuvent en renfermer

plusieurs millions par m² (Diop, 1994). Les nématodes ont également des régimes alimentaires très diversifiés. Certains, sont prédateurs d'invertébrés d'autres, se nourrissent de champignons ou de bactéries du sol (Saadi, 2014).

Les nématodes phytoparasites se trouvent généralement dans le sol ou à l'intérieur des cellules végétales racinaires et parfois foliaires, des tiges ou dans les semences. Ils se distinguent des autres groupes de nématodes du sol par la présence d'une pièce buccale spécialisée: le stylet (Figure 12) qui leur sert à perforer les cellules végétales, à y injecter des enzymes lytiques et à en extraire la sève végétale, d'une manière très semblable aux aphidés (pucerons) (Coyne *et al.*, 2007). Selon Nadine (2015), leurs glandes salivaires excrètent des substances qui peuvent produire des modifications dans les tissus. Ces sécrétions semblent jouer un rôle crucial dans l'infection et la formation de cellules de la plante hôte en site nourricier comme c'est le cas pour les nématodes à galles *Meloidogyne* et les nématodes à kystes *Heterodera* (Hussey *et al.*, 1994; Williamson & Gleason, 2003 ; Nadine, 2015). Les NPP pondent leurs œufs dans le sol ou dans les tissus racinaires (Nadine, 2015).

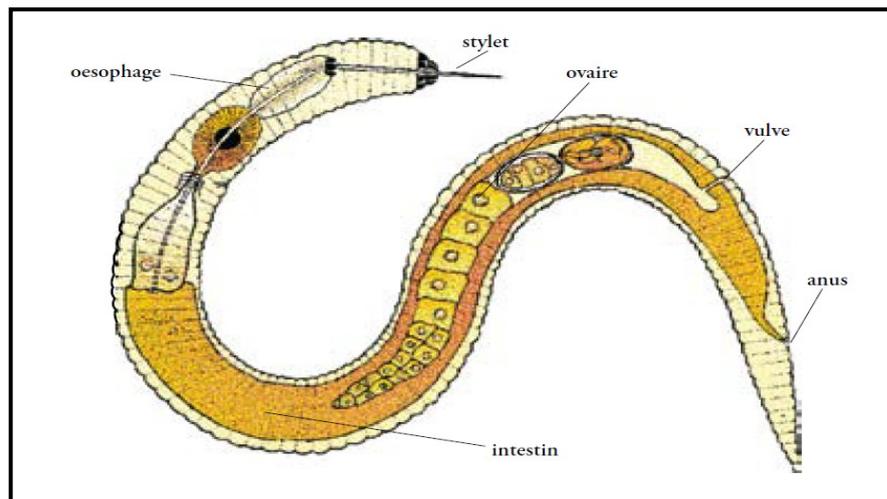


Figure 12 : Structure typique d'un nématode (Coyne *et al.* ,2010).

2. CYCLE BIOLOGIQUE DES NEMATODES

Le cycle de développement des nématodes est typiquement divisé en 6 : le stade œuf, 4 stades juvéniles et enfin le stade adulte (Figure 13). La durée de chacun de ces stades et du cycle biologique complet diffère selon les espèces et dépend de facteurs comme la température, la teneur en eau et la plante hôte. Par ailleurs, les nématodes peuvent survivre à des conditions défavorables comme la saison sèche ou les hivers froids. Certaines espèces survivent mieux à différents stades, par exemple les espèces du genre *Heterodera* survivent mieux sous formes d'œufs à l'intérieur de kystes, le genre *Ditylenchus* au quatrième stade juvénile et le genre *Anguina* au second stade juvénile.

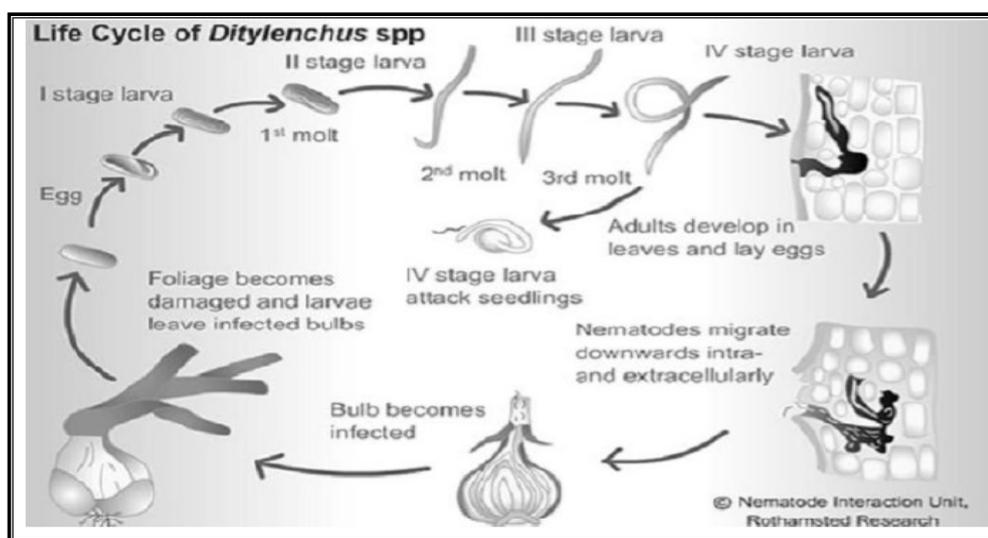


Figure 13 . Cycle biologique de *Ditylenchus* spp (Saadi, 2014)

2.1. Lieux de parasitismes

C'est en fonction du lieu de parasitisme qu'on a pu classer les nématodes phytoparasites en trois catégories principales:

(i) les nématodes ectoparasites :

Les nématodes ectoparasites s'alimentent de manière externe, à la surface des plantes, généralement sur les poils absorbants ou le tissu cortical externe des racines. On les retrouve souvent en très grand nombre sans que cela soit un problème. Cependant, ils peuvent occasionner de sérieux dommages aux plantes souffrant de stress d'origine biotique ou abiotique (e.g. attaque fongique ou faible disponibilité en eau). Cette catégorie de nématodes se trouve parmi les genres *Tylenchus*, *Helicotylenchus*, *Dolichodorus*, *Xiphinema* et *Longidorus*. Il est également bien reconnu que certains nématodes ectoparasites sont des agents importants de transmissions de virus aux plantes (*Xiphinema* spp.; *Longidorus* spp.; *Trichodorus* et *Paratrichodorus* spp.).

(ii) Des nématodes semi endoparasites ;

Chez ces nématodes, seule la partie antérieure du nématode pénètre dans les racines, la partie postérieure restant dans le sol ; par exemple, les genres *Rotylenchulus* et *Tylenchulus* (Figure 16 : 4 - 7). (Mukhaimar ,2016)

(iii) Des nématodes endoparasites ;

Ce groupe peut être divisé en deux sous-groupes: les endoparasites sédentaires et les endoparasites migrants. Les endoparasites sédentaires migrent dans le tissu racinaire de plante, établissent un site nourricier, cessent d'être mobiles et s'y alimentent. Ce groupe comporte les nématodes à kyste (ex. *Globodera* spp. ; Figure : 14-12) et les nématodes à galles (*Meloidogyne* spp. ; Figure 14: 13). Chez les nématodes endoparasites migrants, tous les stades sont mobiles à l'exception de l'œuf et s'alimentent à l'intérieur des tissus racinaires des plantes, par exemple les nématodes des genres *Pratylenchus* et *Radopholus*, et aussi des tissus des tiges tel le genre *Ditylenchus* (Figure 14 : 14) (Perry & Moens, 2006).

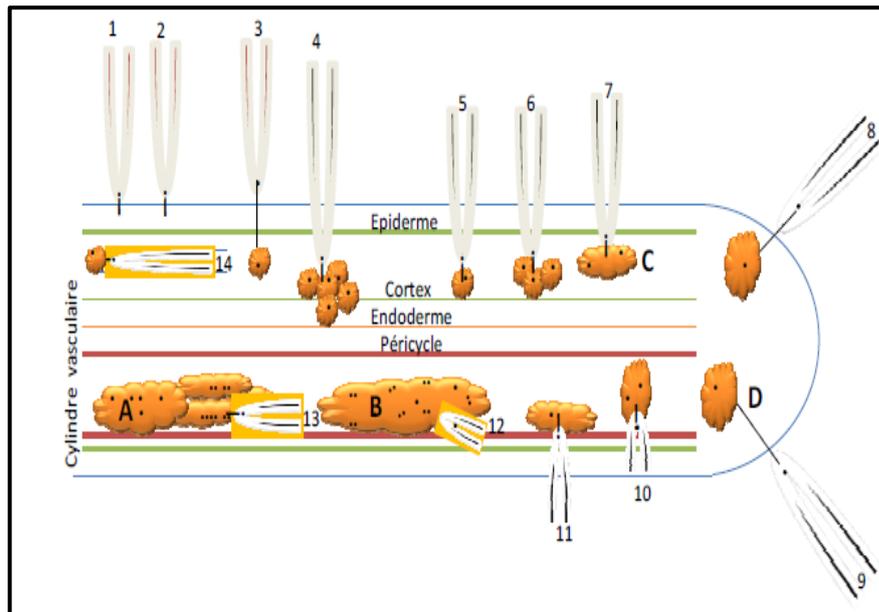


Figure 14. Illustration des différents lieux de parasitisme chez les nématodes phytoparasites dans les racines. **A**, indique les cellules géantes multi nucléées induites par les nématodes à galles. **B**, indique le syncytium, constitué par la modification d'une cellule végétale au service d'un parasite, induit par les nématodes à Kyste. **C**, indique des cellules végétales infectées par d'autres espèces des nématodes phytoparasites. **D**, indique le stylet chez les nématodes phytoparasites; le stylet chez certaines espèces des nématodes ectoparasites est relativement long, ce long stylet permet au nématode de se nourrir des cellules de l'intérieur de l'apex tout en restant à l'extérieur de la racine. On peut remarquer trois catégories des nématodes phytoparasites: **des ectoparasites** qui sont des nématodes qui s'alimentent à la surface des tissus racinaires des plantes telles que, *Tylenchus*, *Helicotylenchus*, *Dolichodorus*, *Xiphinema* et *Longidorus* (**1 - 3, 8, et 9**, respectivement) ; **des semi-endoparasites**, chez cette catégorie seule la partie antérieure du nématode pénètre dans les racines, telles que les nématodes des genres *Rotylenchulus* et *Tylenchulus* (**4 - 7**) ; **des endoparasites**, cette catégorie peut être divisée en deux groupes : **des endoparasites sédentaires**, les nématodes de ce groupe migrent dans le tissu racinaire de plante, établissent un site nourricier, cessent d'être mobiles et s'y alimentent. Ce groupe comporte les nématodes à kyste (ex. *Globodera spp.*, **12**) et les nématodes agalles (ex. *Meloidogyne spp.*, **13**) ; **des endoparasites migrants**: des nématodes mobiles qui s'alimentent à l'intérieur des tissus racinaires des plantes, telles que les nématodes des genres *Pratylenchus* et *Radopholus* (**14**). D'après Perry & Moens, 2006.

3. SYSTEMATIQUE

Dans le règne animal, les nématodes sont classés dans la section des Artiozoaires et l'embranchement des Némathelminthes (Eisenback 1998 ; Caromel, 2004). Cependant les nouvelles techniques en biologie moléculaire qui sont basées sur les analyses ARNr, la phylogénie des métazoaires a été reconsidérée et où on retrouve actuellement les nématodes regroupés avec les arthropodes, les insectes, les crustacées et les arachnides. Blaxter *et al.*, (1998), suggère la division du phylum des nématodes en 5 clades et chacun d'eux inclut des espèces parasites.

Les nématodes phytoparasites sont ceux qui causent plus de dégâts, ils appartiennent à l'ordre des *Tylenchida*. Ce dernier est classé dans le clade VI et regroupe neuf familles dont les *Heteroderidae* englobent le genre : *Meloidogyne* et *Globodera*. La famille des *Pratylenchidae*

regroupe les deux genres *Nacobbus* et *Pratylenchus* et la famille des *Anguinidae* regroupent les *Ditylenchus* (Figure 17) (Blaxter *et al.*, 1998 ; Caromel, 2004).

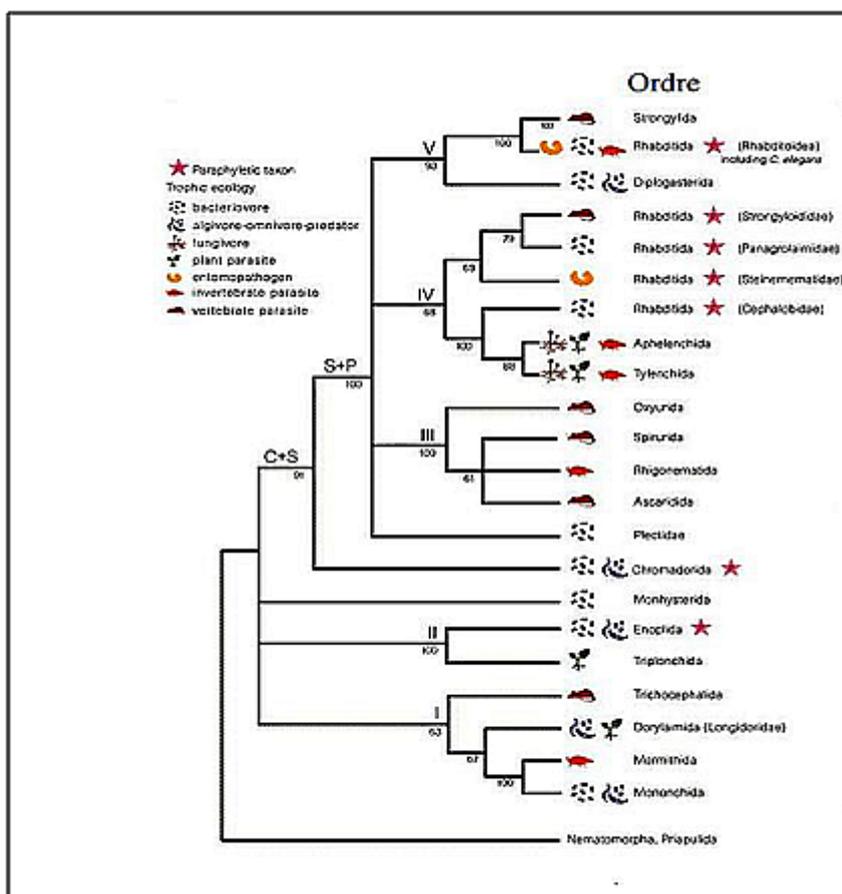


Figure 15 : Arbre phylogénétique du phylum Nematoda basé sur la séquence nucléotidique de petite sous-unité des ARN ribosomiques de 53 espèces de nématodes, d'après (Blaxter *et al.*, 1998).

Parmi les nombreuses espèces de cette famille, quatre sont actuellement connues pour être importants parasites des plantes cultivées, à savoir, *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev, *Ditylenchus destructor* (Thorne, 1945), *Ditylenchus angustus* (Butler, 1913) Filipjev, 1936 et *Ditylenchus Africanus* (Wendt *et al.*, 1995). La classification de l'espèce *Ditylenchus dipsaci* donnée par Hooper (1979). *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn, 1857) et (Filipjev, 1936).

Règne : *Animal*
 Sous-Règne : *Métazoaires*
 Embranchement : *Némathelminthes*
 Classe : *Nematoda*
 Sous-Classe : *Secernentea*
 Ordre : *Tylenchida*
 Sous-ordre : *Tylenchina*
 Super-Famille : *Tylenchoidea*
 Famille : *Anguinidae*
 Genre: *Ditylenchus*
 Espèce: *Ditylenchus dipsaci*

Les espèces appartenant au vaste genre *Ditylenchus* Filipjev, 1936, sont réparties dans le monde entier et sont, pour la plupart, mycétophages.

4. INFORMATIONS RELATIVES SUR *Ditylenchus dipsaci*

D. dipsaci sensu lato (s.l.), ou nématode des tiges, attaque plus de 1 200 espèces végétales sauvages ou cultivées. Un grand nombre d'adventices et de graminées comptent parmi les hôtes du nématode et sont susceptibles de jouer un rôle important dans sa survie en l'absence de végétaux cultivés. Les analyses morphologiques, biochimiques, moléculaires et caryologiques de différentes populations et races de *D. dipsaci s.l.* ont fait apparaître qu'il s'agissait d'un complexe comprenant au moins à 30 «races d'hôtes», ayant chacune une gamme d'hôtes limitée. Jeszke *et al.* (2013), ont scindé ce complexe en deux groupes. Le premier rassemble les populations diploïdes caractérisées par leur taille «normale», qui sont nommées *D. dipsaci sensu stricto (s.s.)* (Figure 17), et il comprend la plupart des populations signalées jusqu'à aujourd'hui. Le deuxième groupe rassemble les polyploïdes et comprend actuellement *Ditylenchus gigas* Vovlas *et al.*, (2011), dit «race géante» qui parasite *Vicia faba* (fève); *D. weischeri* Chizhov *et al.*, (2010), qui parasite *Cirsium arvense* (cirse des champs); et trois *Ditylenchus* spp. non décrites appelées D, E et F, associées à des espèces végétales des *Fabaceae*, des *Astéraceae* et des *Plantaginaceae*, respectivement (Jeszke *et al.*, 2013). Sur l'ensemble de ces espèces, seules *D. dipsaci s.s.* et la variante morphologiquement plus grande *D. gigas* sont des organismes nuisibles des végétaux d'importance économique. *D. gigas* et *D. dipsaci* vit essentiellement comme un endoparasite dans les parties aériennes des végétaux (tiges, feuilles et fleurs), mais il attaque aussi les bulbes, les tubercules et les rhizomes. Ce nématode est véhiculé par les semences chez *V. faba*,

Medicago sativa (luzerne), *Allium cepa* (oignon), *Trifolium* spp. (Trèfle), *Dipsacus* spp. (cardère) et *Cucumis melo* (melon) (Sousa *et al.*, 2003; Sikora *et al.*, 2005). Une caractéristique particulièrement importante est que les larves du quatrième stade peuvent supporter longtemps, parfois 20 ans voire davantage, la dessiccation (Barker et Lucas, 1984). Ces nématodes dans un état cryptobiotique s'agglutinent pour former des masses laineuses quand le tissu végétal commence à sécher. La «laine» peut souvent être observée sur les semences, à l'intérieur des gousses fortement infestées, et sur les débris végétaux secs (par exemple, ceux qui restent dans les champs après la récolte). Les semences et le matériel végétal sec jouent un rôle important dans la dissémination passive du nématode sur de longues distances. Le nématode à l'état sec peut survivre à un passage dans le tube digestif de cochons et de bovins, sur ou dans des semences infectées (Palmisano *et al.*, 1971). *D. dipsaci* est considéré comme un organisme nuisible des végétaux supérieurs, cependant, Viglierchio (1971), a signalé qu'une population californienne de *D. dipsaci* d'*Allium sativum* (ail) pouvait se reproduire sur des fungi du sol (*Verticilium* et *Cladosporium*) en conditions de laboratoire. On sait que *D. dipsaci* peut véhiculer extérieurement des pathogènes bactériens des végétaux (*Clavibacter michiganensis* sous-esp. *insidiosus* (syn. *Clavibacter michiganensis* sous-esp. *insidiosum*, *Corynebacterium insidiosum*), cause du flétrissement bactérien). Selon l'Organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes (OEPP) (2013a), *D. dipsaci* est présent dans les régions suivantes (hors interceptions): Europe, Asie, Afrique, Amérique du Nord, Amérique centrale et Caraïbes, Amérique du Sud et Océanie.

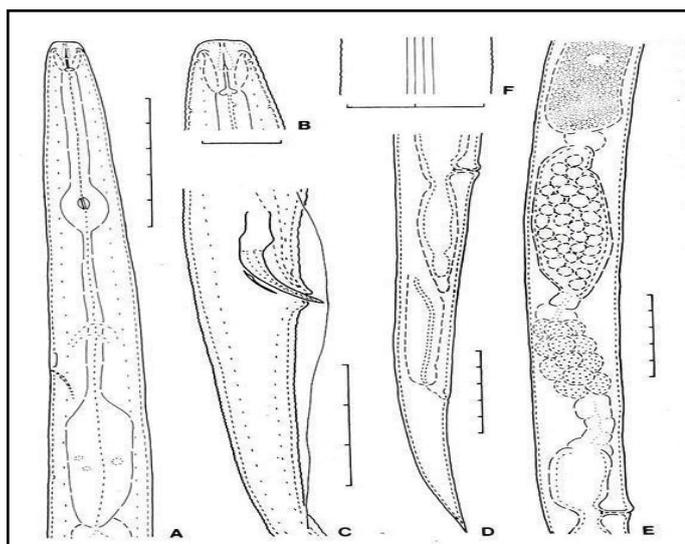


Figure 16 : *Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) Filipjev, 1936 (d'après Sturhan et Brzeski, 1991). A) femelle, région oesophagienne; B) femelle, tête; C) mâle, région du spicule; D) femelle, région postérieure; E) femelle, partie du système reproducteur; F) champ latéral au niveau du milieu du corps. Une unité sur l'une ou l'autre échelle = 10 μ m.

4.1 Détection

D. dipsaci illustre le principe de l'adaptation parasitaire par son aptitude à envahir le parenchyme solide en provoquant une lyse enzymatique de la couche pectique, ou lamelle moyenne, séparant deux parois cellulaires adjacentes, ce qui aboutit à la séparation et à l'arrondissement des cellules. Ce phénomène explique l'aspect luisant typique ou la texture farineuse des tissus infestés, qui rappelle la chair d'une pomme trop mûre (Southey, 1993).

Selon Vovlas *et al.* (2011), l'infestation de *V. faba* par *D. gigas* (nématode géant des tiges et des bulbes) entraîne le gonflement et la déformation des tissus caulinaires, ou bien des lésions qui virent au brun rougeâtre puis au noir.

4.2. Hôtes et symptômes

Selon Sturhan et Brzeski (1991), les principaux végétaux hôtes de *D. dipsaci* appartiennent aux familles énumérées ci-après. Gramineae: *Avena sativa* (avoine), *Secale cereale* (seigle), *Zea mays* (maïs), *Triticum aestivum* (blé); Liliaceae: *A. cepa*, *A. sativum*, *Tulipa* spp.; Leguminosae: *M. sativa*, *Vicia* spp., *Pisum sativum*, *Trifolium* spp.; Solanaceae: *S. tuberosum*, *Nicotiana* spp.; Cruciferae: *Brassica campestris*; et Amarilidaceae: *Narcissus* spp. Parmi les autres hôtes, on trouve *D. carota*, *Fragaria* spp. fraise, *B. vulgaris*, *H. orientalis*, *Allium ampeloprasum* (poireau), *Phlox drummondii*, *Phlox paniculata*, *Dianthus* spp. (oeillet), *Apium graveolens* (céleri), *Hydrangea* spp., *Lens culinaris* (lentille), *Brassica napus* (colza), *Petroselinum crispum* et *Helianthus annuus* (tournesol). Au cours d'une même saison, diverses générations de *D. dipsaci* peuvent se succéder sur un végétal hôte. En cas de mort des parties infectées, du fait des dommages provoqués par l'organisme nuisible, les nématodes abandonnent le végétal hôte avant que celui-ci ne dépérisse complètement. En l'absence de végétaux hôtes, les nématodes peuvent pénétrer dans des végétaux non hôtes et s'y nourrir pendant un certain temps, mais ne peuvent pas s'y reproduire (Andrássy et Farkas, 1988). Les symptômes les plus fréquents de l'infestation par *D. dipsaci* sont des plants chétifs et chlorosés; des tiges, des pétioles et des fleurs épaissis, étiolés, porteurs de gales et déformés; et, dans les bulbes et les rhizomes, des lésions nécrotiques et une pourriture apparaissant souvent sous la forme d'anneaux bruns quand les bulbes sont tranchés. *D. dipsaci* peut aussi infester les semences, par exemple de *Phaseolus vulgaris* (haricot mange-tout, haricot commun ou haricot vert), *V. faba*, *Allium* spp. et *M. sativa*. En général, les semences de petites tailles ne présentent pas de symptômes d'infestation mais les semences plus volumineuses peuvent avoir une peau rétractée parsemée de taches de coloration anormale. Dans

les cas d'infestations graves, les semences sont sombres, déformées et plus petites que les semences saines.

4.2.1 Symptômes et Dégâts sur fève

Il est peu probable de faire un diagnostic exact d'une maladie vermiculaire au seul examen de l'aspect externe du végétal. Dans tous les cas, il faut confirmer par une analyse nématologique. Les symptômes au niveau du champ et des parties aériennes de la plante peuvent être ainsi décrits comme suit :

***Au champ :** la manifestation des attaques peut revêtir plusieurs formes selon l'origine de la contamination (semences, sol, végétal) et le stade végétatif de la plante. Ainsi, lorsque le sol constitue la source de contamination, on observe des zones attaquées plus ou moins localisées souvent de forme allongées atteignant plusieurs dizaines de mètres. Si la contamination est effectuée par la semence, il se forme de petites zones circulaires très régulières qui s'agrandissent dans le temps (Caubel et Esquibet, 1995).

Dans tous les cas l'extension de la maladie se fait par le matériel agricole et par les eaux de ruissellement.

***Au niveau de la plante :** les attaques vont toucher le collet, la tige, les feuilles les fleurs et les graines. Des nécroses de couleurs marron et rougeâtre qui virent au noir débutent au niveau du collet, puis s'étendent sur toute la tige, une attaque intense conduit à un gonflement des tissus qui prennent un aspect spongieux, une altération de la coloration du feuillage et des fleurs, des malformations et distorsion des plants sont observées. Les feuilles infestées ont souvent un aspect froissé, les froissements sont limités aux parties entre les nervures ; les plants présentent un raccourcissement des entre-nœuds (Caubel et Esquibet, 1995). Enfin, des symptômes pratiquement identiques à ceux observés sur fève sont notés sur les autres plantes hôtes, ils se traduisent par des nécroses sur tiges, des déformations des plants, et des gonflements (avoine, seigle, luzerne, betterave et carotte) (Bates *et al.*, 2002). Le jaunissement des feuilles, l'éclatement des bulbes et mort des plants sont également relevés chez certaines espèces de liliacées (Spiegel *et al.*, 2003).

***Au niveau des gousses et des semences :** Celles-ci sont plus sombres, plus petites de taille et peuvent avoir des petites tâches répandues sur toute leur surfaces. La race dite géante provoque les symptômes les plus graves sur fève et féverole (Sikora et Greco, 1990).

L'évaluation des dégâts occasionnés par les nématodes est difficile à établir de manière précise puisque leur effet sur les rendements dépend de leur pathogénie, des conditions du sol et du milieu, ainsi que l'espèce voire même la variété végétale considérée. Néanmoins, plusieurs méthodes basées sur les prospections et enquêtes, traitements de sol, expérimentation des rotations culturales sont utilisées pour l'estimation de pertes dues à *Ditylenchus dipsaci*.

Selon Hanounik et Sikora (1990) des dégâts importants causés par *D. dipsaci* sur fève en condition de plein champ apparaissent à partir d'une densité initiale de 4 nématodes par 100 grammes de sol. Sur cette même culture, Schreiber (1978), rapporte qu'une densité de 20 à 50 nématodes par plant peut provoquer des pertes considérables. Sur d'autres plantes hôtes comme l'oignon le seuil économique a été déterminé à partir de 10 nématodes par 400 cm³ de sol (Seinhorst, 1978 in Abbad –Andaloussi et Bachikhi, 1998). Dans des essais de plein champ, des pertes importantes ont été rapportées à partir de 10 à 20 nématodes par litre de sol respectivement pour les cultures d'oignon et de carotte.

Enfin, ces pertes peuvent être plus accentuées, car il existe aussi un rôle indirect des nématodes du fait qu'ils agissent souvent en synergie avec des champignons comme *Phoma solanicola* et des bactéries comme *Pseudomonas* spp et *Erwinia* spp.

5. IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES NEMATODES

Les recherches se sont concentrées surtout sur la génomique des nématodes à kystes. Avec une équipe ralliant plusieurs expertises (bio-informatique, biologie moléculaire, nématologie, etc.), de nouvelles approches permettent de décrypter rapidement les informations génomiques des nématodes. Parmi ces développements, notons la mise au point de marqueurs génétiques pour identifier les pathotypes virulents ou quantifier l'abondance et la viabilité des populations de nématodes.

Les génomes complètement séquencés de *Caenorhabditis elegans* et *Caenorhabditis briggsae*, ainsi que les projets de séquençage en cours pour autres nématodes, offrent une occasion d'étudier les changements génomiques qui ont permis aux nématodes d'envahir de nombreux habitats différents, aussi des changements majeurs dans le contenu des gènes, ainsi que dans le nombre, la structure et la taille des chromosomes (Coghlan 2005).

La plupart des nématodes ont des génomes allant de 50 à 250 Mb (Leroy et al., 2003). Parmi les nématodes séquencés, les tailles varient de 53 Mb pour *Haemonchus contortus* (Leroy et al., 2003) à 240 Mo pour *Trichinella spiralis* (Hammond et al, 1992). Quelques nématodes ont

même des génomes aussi grands que ceux des mammifères, tels que le génome de 2100 Mb de *Parascaris univalens* (Niedermaier et Moritz, 2000). D'autres génomes de nématodes sont minuscules, tels que le génome de *Bursaphelenchus mucronatus* à 30 Mb (Leroy et al., 2003).

Pour les espèces *D. dipsaci* il a été possible de procéder à une identification moléculaire notamment lorsque des espèces trompeuses sont susceptibles d'être présentes (par exemple, *D. myceliophagus*, *D. africanus* ou *D. gigas*) et que l'observation morphologique ne permet pas de les distinguer avec certitude de l'espèce ciblée. Diverses approches moléculaires de l'identification de *D. dipsaci* ont été mises au point.

L'hybridation de Southern (Wendt *et al.*, 1993) et l'électrophorèse (Tenente et Evans, 1997; Palazova et Baicheva, 2002) ont été employées pour étudier le concept de races au sein de l'espèce *D. dipsaci* et la diversité génétique parmi les espèces de *Ditylenchus*. Les approches moléculaires ont également été examinées de manière approfondie, que ce soit à des fins d'identification spécifique, essentiellement par PCR ou PCR-PLFR, ou à des fins de détection de variations dans les populations, par analyse de séquences (Leal-Bertioli *et al.*, 2000; Zouhar *et al.*, 2002). Six analyses moléculaires (PCR, PCR-PLFR) publiées peuvent être employées pour identifier *D. dipsaci*. L'analyse moléculaire de séquences de l'ADN ribosomique (ADNr), en particulier certaines régions (la région de l'espace intergénique transcrit (ITS)1-5.8S-ITS2, le fragment D2–D3 du gène *s8S*, la petite sous-unité 18S, le gène mitochondrial partiel du *cytochrome c oxidase I* (ADN mitochondrial (ADNmt)) et les séquences du gène *hsp90* (ADN nucléaire (ADNn)), permet de distinguer clairement *D. gigas* de *D. dipsaci* s.s. (Vovlas *et al.*, 2011) et *D. oncogenus* ((Vovlas *et al.*, 2016).

6. GESTION DE NEMATODES PHYTOPARASITES

Les nématodes occupent dans la nature des niches écologiques très variées ; certains sont détritiphages, d'autres bactériophages ou mycophages; d'autres encore sont prédateurs (en particulier d'autres nématodes voire omnivores. D'autres enfin sont phytophages, et dans certains cas, entraînent des dégâts considérables pouvant aller jusqu'à rendre impossible une culture dans un milieu donné.

Cependant, il existe plusieurs méthodes pour lutter contre les nématodes phytoparasites. Dans les systèmes culturaux où les rendements ne correspondent pas aux objectifs fixés. Il est essentiel d'établir un diagnostic, ensuite, des mesures d'intervention adaptées permettront de maintenir les densités de populations au-dessus des niveaux nuisibles. Elles peuvent être regroupées en cinq

catégories principales : (i) les pratiques culturelles ;(ii) les méthodes physiques; (iii) la lutte biologique ; (iv) la lutte chimique ; et (v) amélioration génétique.

6.1. Les pratiques culturales

Parmi ces méthodes, la rotation culturale est l'une des méthodes les plus anciennes et les plus importantes pour la gestion des ravageurs. La rotation avec des cultures résistantes ou non-hôtes pour deux à trois ans permet généralement un excellent contrôle des nématodes à galles pour les maintenir sous le seuil de dommage (Johnson, 1982). Les champs nus, sans plantes adventices, et labouré avec exposition au soleil, privent les nématodes de leur alimentation, et , un bon moyen de réduire la population des nématodes. L'irrigation pendant les périodes sèches peut aussi aider à réduire les populations de nématodes, sous réserve que les mauvaises herbes soient contrôlées efficacement (Overman, 1964; Rhoades, 1982; Johnson & Fassuliotis, 1984).

6.2. Les méthodes physiques

La solarisation est un processus hydrothermal qui consiste à couvrir pendant un mois et demi le sol, saturé d'eau en été, par un plastique fin transparent, afin d'élever la température du sol, qui peut atteindre 50-55 °C à 5 cm de profondeur, et 40-42 °C à 20-25 cm de profondeur. Ce processus désinfecte le sol des nématodes et des autres phytopathogènes (Guet, 1999).

6.3. La lutte biologique

La lutte biologique contre les nématodes phytoparasites emploie des organismes vivants antagonistes aux nématodes comme des champignons ou des bactéries (Stirling, 1991 ; Davies & Spiegel, 2011). Des différents types des champignons utilisés en lutte contre les nématodes phytoparasites ont été décrits tels que : les champignons prédateurs comme *Arthrobotrys irregularis*, un hyphomycète qui est capable de piéger rapidement les juvéniles de nématodes à galles (Cayrol, 1981). Les champignons ovicides comme *Paecilomyces lilacinus* (Jatala *et al.*, 1979 ; Cayrol *et al.*, 1992 ; Kiewnick & Sikora 2006) ou *Verticillium chlamydosporium*, qui attaquent les embryons dans les œufs de nématodes (Godoy *et al.*, 1983a ; Kerry *et al.*, 1984 ; Rodriguez-Kabana *et al.*, 1984 ; Kerry & Deleu, 1991 ; de Leijet *et al.*, 1993). Cependant, malgré leur grande ubiquité et leur polyphagie, certains de ces organismes sont difficiles à cultiver sur des milieux synthétiques ; alors, leur utilisation en tant qu'agents de lutte biologique reste limitée.

Ils existent aussi des bactéries antagonistes des nématodes, par exemple, *Pasteuria spp.*, une bactérie à endospores. *Pasteuria spp.* sont des agents pathogènes de plusieurs genres des

nématodes phytoparasites (Mukhaimar ,2016). Des populations différentes de la bactérie semblent être hautement spécifiques, non seulement pour certains genres de nématodes (Starr & Sayre, 1988). Des nombreuses plantes, par exemple les tagetes, le ricin, la perdrix, le pois, les asperges et le sésame, possèdent des propriétés nématicides. Les tagetes sont les plantes le plus étudiées pour leurs propriétés nématicides (Mukhaimar ,2016). Ces plantes peuvent être cultivées en différentes façons pour protéger les cultures sensibles aux nématodes phytoparasites, en culture intercalaire ou en rotation en tant qu'autre culture. Ces plantes peuvent aussi être utilisées comme un engrais vert qui va être enfoui avant la culture sensible. De même, l'extraits de ces plantes peuvent être appliqués dans le sol ou en traitant les plantules par ces extraits (Duval, 1993).

6.4. La lutte chimique

L'application des produits chimiques est difficile, de plus ils sont coûteux et toxiques (Caporalino, 2009). Les plus utilisés sont les fumigants du sol, les nématicides les organophosphorés et les carbamates qui sont aussi des insecticides. Cependant, leur toxicité pour l'environnement réside dans les débris toxiques dans les parties comestibles de la plante (Blanchard, 2006). En effet, plusieurs nématicides chimiques sont utilisés pour lutter contre les nématodes phytoparasites, incluant des fumigants (1,3-dichloropropène, chloropicrin, dazomet, éthylène dibromide, métham-sodium, méthyle bromide, méthyle isothiocyanate) et de non-fumigants tels que des organophosphates (Ebufos, Ethoprophos, Fenamiphos, Fensulfotion, Isazofos, Terbufos, Thionazin) et des carbamates (Aldicarb, Aldoxycarb, Carbofuran, Cleothocarb, Oxamyl) . En générale, les fumigants, sont plus efficaces contre les nématodes phytoparasites que les non-fumigants (Mukhaimar ,2016), mais ils sont aussi plus nocifs sur l'environnement (Hutchinson *et al.*, 1999). La majorité de nématodes phytoparasites passent leurs vies confinées dans le sol ou dans les racines de plantes, et la livraison d'un produit chimique directement à la rhizosphère de plantes est difficile. La surface extérieure de nématodes est biochimiquement une faible cible et imperméable a de nombreuses molécules organiques. La livraison d'un composé toxique par une voie orale est presque impossible, car la plupart des nématodes phytoparasites ingèrent les molécules des nématicides seulement lors de l'alimentation sur les racines des plantes. Les nématicides efficaces sont généralement très toxiques a un large spectre d'espèces et leur utilisation présente un risque élevé pour la santé humaine et de l'environnement (Chitwood, 2003).

6.5. Amélioration génétique

La lutte génétique est le plus important moyen de lutte contre les nématodes phytoparasites par l'utilisation de plantes cultivées résistantes. La lutte génétique contre les maladies des plantes repose sur l'amélioration et/ou la création de variétés cultivées en introduisant des gènes de résistance dans des lignées cultivées d'espèces sauvages apparentées ou encore chez des variétés populations locales. Cette stratégie repose sur les connaissances des mécanismes moléculaires de résistance des plantes (Le Roux, 2008). L'origine des résistances contre des nématodes phytoparasites sont très souvent des plantes sauvages apparentées, où les résistances ont été introgressées chez des plantes cultivées.

PARTIE II

1-MATERIEL ET METHODES

1. Introduction

Notre travail de recherche a débuté lors de la campagne 2010/2011 jusqu'à 2012/2013. Comme indiqué dans l'introduction, l'objectif principale est un essai de d'identification des populations locales de *Vicia faba* L., résistantes aux nématodes, parmi les 7 populations collectées dans la région des Zibans. Pour se faire nous avons effectués : 1) une identification morpho- métrique et moléculaire du bio-agresseur, à des fins d'inoculation, et 2) une caractérisation moléculaire moyennant les marqueurs microsatellites des populations étudiées.

2. SITE D'ETUDE

L'essai a été réalisé au Département d'Agronomie de l'université Mohamed khider pendant une durée de 03 ans. Une série d'expérimentations a été faite au niveau de la serre de celui-ci.

3. DISPOSITIF EXPERIMENTALE

Les pots ont été distribués selon un modèle de blocs aléatoire complet (Figure 19). Le dispositif a été réparti en quatre blocs avec quatre répétitions. Les graines ont été semées dans des pots de volume de 15 kg à raison de trois poqués (2 graines/poqué) pour chaque population. Le sol utilisé dans les pots, est un mélange de 2/3 de sol et 1/3 de tourbe. Le sol utilisé a été désinfecté par phostoxine à raison de 3m³ du sol /1g (Figure 17).



Figure 17 : dispositif expérimental dans la serre.

Notre expérimentation a été effectuée sous serre pendant une durée de 07 mois durant 4 campagnes successives (Septembre -Avril) ce qui correspond au cycle végétatif de la fève dans la wilaya de Biskra dont le climat est saharien à hiver doux et a été chaud (MADR, 2010). Cependant, nous soulignons ici que la 3 année d'expérimentation n'a pas abouti vue que les plantes de l'essai a été détruit et un plainte a été déposée au niveau du Département d'agronomie et le Vice rectorat de recherche en 2013, ce qui nous obligés à reconduire l'essai. Les conditions climatiques pour les trois campagnes 2010-2011-2013 ont été favorables pour le développement de la plante et des nématodes (Tableau 4). Lors de notre expérimentation, la première inoculation a été réalisée au mois de Novembre correspondant au stade 4-6 feuilles, et la deuxième inoculation a été faite au début du mois de Janvier, deux mois après la première inoculation. En

effet, les nématodes prennent le temps de pénétrer dans la plante via les tissus de l'hypocotyle. La reproduction des nématodes peut être retardée ou arrêtée par les basses températures.

4. CONDUITE DE L'ESSAI

La conduite de l'essai est reprise dans le Tableau 4

Tableau 4 : Calendrier technique

OPERATIONS	PERIODE/ FREQUENCE			OBSERVATIONS
	2010	2011	2012	
PREPARATION DU SOL	15/09	25/08	10/09	/
SEMIS	19/09	06/09	15/09	/
SEMIS	10/10	20/09	30/09	REMPLACEMENT DES GRAINES NON GERMEES
IRRIGATION	1 /SEMAINE	1 /SEMAINE	1 /SEMAINE	
SUIVI DES STADES PHENOLOGIQUES	/	TOUS LES 8- 10 JOURS	TOUS LES 8- 10 JOURS	
INOCULATION	2/11	10/10	25/10	CONCENTRATION DE L'INOCULUM 50 NEMATODES/5 ML D'EAU (2010, 2011) 150 NEMATODES/5 ML D'EAU (2012)
	02/01	10/12	25/12	CONCENTRATION DE L'INOCULUM 30 NEMATODES/5 ML D'EAU
BUTTAGE	1 FOIS	1 FOIS	1 FOIS	STADE DE TALLAGE DES PLANTS
ARRACHAGE	20/04	03/04	15/04	CHAQUE PLANT EST ARRACHE INDIVIDUELLEMENT

Remarque : le décalage entre les dates de semis de l'année 2012 et les deux autres années est due au temps de collecte des semences de différentes régions de Biskra.

5. COLLECTE ET PREPARATION DU MATERIEL VEGETAL

Les nématodes sont plus abondants dans les plantes lorsque les semences sont contaminées au départ. Les semences infestées sont plus sombres, plus petites et peuvent avoir des petites tâches répandues sur toute leur surface (Figure 35 a, b). Après la récolte, une très faible fraction de nématodes est retrouvée dans le sol et la

plus grande partie de *Ditylenchus dipsaci* est présente à l'intérieur des tissus végétaux, particulièrement dans les gousses et les graines (Cauble et al., 1995). Les nématodes restent viables plus de trois ans dans les semences infestées (Hananoik, 1991). Elles jouent un rôle important dans la propagation de *Ditylenchus dipsaci* (Gerco et al., 1990). Les graines de fève utilisées dans notre essai ont été traitées chimiquement par fumigation à base de phostoxine (PH3) à une concentration de 3g /m³ afin d'éliminer *Ditylenchus gigas* et semis des graines saines. Les semences testées dans cette expérimentation sont celles des populations locales collectées auprès des agriculteurs privés des communes représentatives des principales régions de culture de fève à Biskra où, au total, nous avons collectés les semences de 7 populations (Ain Naga, Biskra, Doucen, Guartta, Sidi Okba et Tolga). La variété Séville est considérée, comme variété résistante de référence en France et a été utilisée comme témoin dans notre essai.

6. EVALUATION DE LA RESISTANCE DES PLANTES AUX NEMATODES

La résistance d'une plante aux nématodes a été définie comme l'aptitude de la plante hôte à réduire ou à prévenir la reproduction du nématode (Trudgill 1991, Caromel 2004). Ce phénomène est corrélé avec la réponse individuelle des plantes après l'inoculation artificielle (Cauble, 1994). Afin de collecter le maximum de données indicatrices d'une éventuelle résistance, nous avons procédé à l'inoculation des plantes individuellement par *D. Dipsaci*. L'inoculation a été réalisée au mois de Novembre et répétée au mois de Janvier pour (2010, 2011) et Octobre, Décembre pour 2012. Les observations et les notations concernent les réactions extériorisées par les plantes inoculées, le comptage du nombre des populations finales de nématodes, et le taux de reproduction des nématodes. Les évaluations mensuelles des symptômes selon une échelle de Hanounik et al., (1986), ont été réalisés aux différents stades phénologiques. A la fin du cycle biologique des plantes et leur fanage, on a procédé à l'extraction des nématodes, leur comptage et le calcul de leur indice de reproduction. La comparaison des résultats obtenus entre les populations locales et la variété résistante Séville a permis à la fin de l'expérimentation de donner une indication sur la résistance des plantes aux nématodes. La résistance d'une plante est généralement exprimée en facteur de reproduction (RF) qui est le ratio de la densité de population de nématodes finale (PF) sur la densité de population initiale de nématodes : c'est la densité de l'inoculum (Pi).

Remarque : la non disponibilité de la doctorante, durant une période, pendant la campagne de 2010 ne nous a permis de suivre les stades phrénologique de cette année.

7. EXTRACTION ET COMPTAGE DES NEMATODES DU SOL

La méthode utilisée pour l'extraction des nématodes est celle de Baerman (1917) modifiée par Dalmaso (1966). C'est une méthode qui consiste à séparer les nématodes des particules du sol en fonction de leurs tailles et de leurs poids, cette méthode d'extraction a été utilisée en raison de la petite taille l'échantillon et de son taux de récupération élevé (Sohleninus 1980, Ernest 1992) (Figure 18). En effet, un échantillon a été prélevé de chaque pot. Tous les échantillons de sol ont été envoyés expressément au Laboratoire à température ambiante.

La méthode consiste à :

- * Prendre un aliquote de sol de 200 gr, puis, le faire passer à travers un tamis, dont les mailles sont de 2 mm de diamètre, sous un courant d'eau, afin d'éliminer toutes les particules de grande taille (gravier) ;
- *récupérer la suspension dans un seau, ensuite, remuer pour homogénéiser le contenu (solution boueuse), décanter pendant 20 à 30 secondes, puis verser la suspension contenant les nématodes sur un tamis de 40 μ m ;
- * les refus contenant les nématodes sont ensuite récupérés dans un bécher de 50 ml. Faire passer le contenu dans l'entonnoir de Baerman, sur lequel est déposé un papier filtre. Après 24 h, les nématodes sont collectés dans un volume de 10 ml de suspension, où le comptage des nématodes est réalisé sous la loupe binoculaire. Les nématodes sont comptés dans une cellule ouverte de 5ml sous binoculaire.

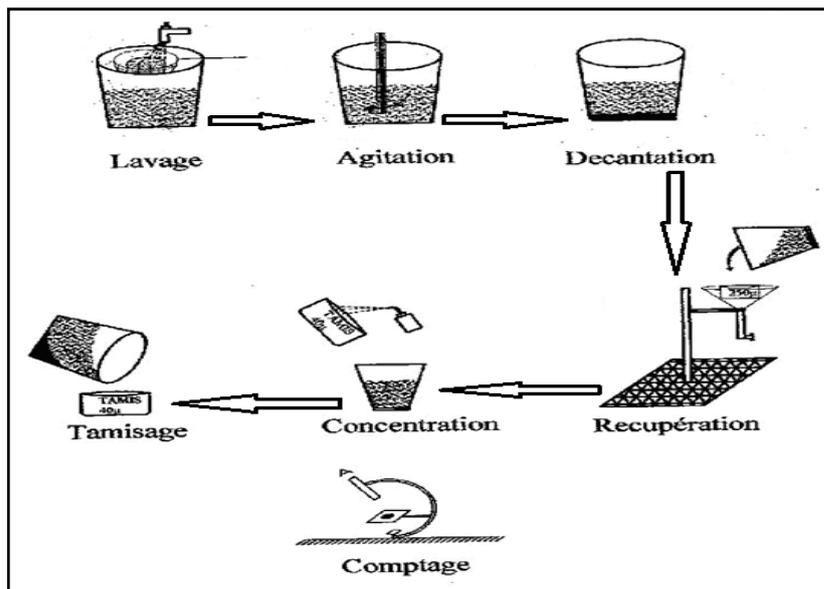


Figure 18 : Extraction des nématodes du sol Baerman modifiée par Dalmasso (1966).

8. L'INOCULATION DES PLANTES PAR LES NEMATODES

8.1 Méthodologie

A. Échantillonnage, extraction et comptage des nématodes

Une prospection a été menée dans plusieurs sites de cultures de fèves infestées dans la région de Biskra. Selon (Saadi, 2008 et Saadi, 2014), la culture de fève de la région est bien infestée par les nématodes. Les échantillons ont été collectés au stade de la fructification de la fève, sur des plantes symptomatiques présentant une décoloration typique des feuilles et des fleurs, une distorsion de la tige et un raccourcissement des entre-nœuds (Stuteville et al., 1990 ; Caubel et Esquibet, 1995).

La méthode d'extraction, sur plante fanée, utilisée est celle de l'incubation végétale utilisée par Taylor (1968). Les échantillons de tiges, sont découpés en petits morceaux, et lavés. Par la suite, ces morceaux de tiges sont trempés dans de l'eau pendant 48h. Leur décomposition entraîne la libération des nématodes qui sont récupérés après passage à travers un tamis à grosses mailles (40 microns) (Figure 19).

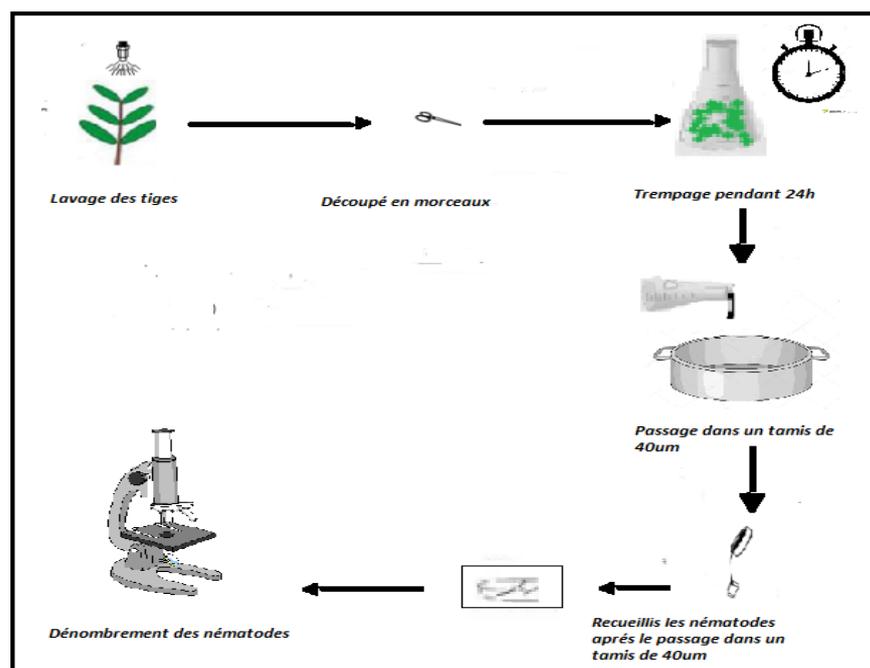


Figure 19 : Extraction des nématodes des plantes Taylor(1968).

B. L'inoculation des plantes

L'inoculum de nématodes est préparé à partir des nématodes recueillis après le passage dans un tamis de 40 μ . Les larves des nématodes sont, ensuite, concentrées par décantation, de façon à obtenir une concentration d'environ 200 larves pour 20 ml d'eau. Puis, le nombre de nématodes est évalué en comptant, à l'aide d'une loupe, les larves présentes dans un échantillon de 5 ml). Au moins trois comptages sont nécessaires pour vérifier au préalable la concentration de l'inoculum qui sera utilisé. Chaque plante a été inoculée individuellement au stade 4-6 feuilles selon le protocole (Andaloussi, 2001). En fait, les plantules ont été inoculées par des nématodes se trouvant dans une petite goutte de suspension. Cette dernière a été placée entre les premières feuilles en utilisant une seringue. La suspension a été mélangée régulièrement pendant l'inoculation afin d'empêcher la sédimentation des nématodes au fond de la seringue. La concentration de l'inoculum diffère selon le type de culture et son mode, soit sous serre ou en plein champ. Selon Polwright (2002) *in* Saadi (2014), la concentration des nématodes ne doit pas dépasser 200 nématodes par plante. Sharma *et al.*, (1994), ont inoculé les plantes de fève avec une concentration de 100 nématodes de *Ditylenchus dipsaci* / plants sous serres dans des pots alors que dans le champ, la densité utilisée était de 300 larves de *D. dipsaci* /1000 cm. Dans notre essai, l'inoculum de chaque plant était composé de 50 nématodes (2010, 2011), et de 150

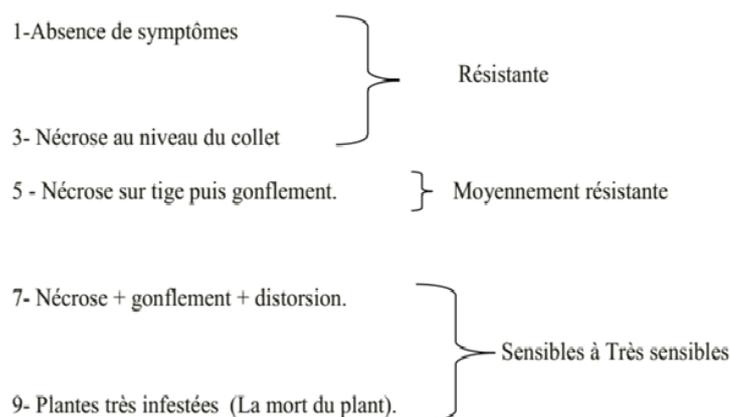
nématodes pour l'année 2012 afin d'obtenir la corrélation de la résistance avec l'inoculation artificielle (Castagnone -Serono 2002). Après deux mois, ce qui correspond au stade début d'élongation de la tige principale, nous avons procédé à une deuxième inoculation avec une concentration, de l'inoculum, de 30 nématodes/5ml ce qui donne une inoculation totale de 80 nématodes/plante (2011, 2012) et 180 nématodes/plante pour 2012. Cet inoculum est toujours fraîchement préparé en suspension à l'aide de seringues, où des gouttelettes de 5 ml sont injectées au niveau du méristème caulinaire de la plante pour permettre aux nématodes de pénétrer dans l'épiderme des plantes.

C. Suivi de la culture de fève et évaluation des symptômes sur les plantes inoculées

Les plantes inoculées ont été suivies tout le long de la période de culture comme décrit ci-dessous :

1. Suivi de la phénologie de la plante : elle est suivie depuis la floraison jusqu'à la fructification en choisissant, d'une manière aléatoirement, 10 pieds par population de fève. Comme, chaque pied de fève est un tallage constitué de 3 à 4 tiges, une seule tige par pied de fève a été échantillonnée et marquée par un ruban. Chaque semaine nous notons la taille des tiges, le nombre d'inflorescences et le nombre d'étage de gousse (Khloul, 2014).

2. Evaluation des symptômes : les observations ont été basées sur le degré de l'infection due à *Ditylenchus dispaci*, précisément par une notation des symptômes pendant le cycle de la culture. Selon la littérature, ces notifications doivent être enregistrées de préférence fréquemment à plusieurs moments. Dans la présente étude, les notations ont été effectuées tous les 7 jours sur un pied/pot, durant le de la culture (Dahane, 2017). Vers la fin de l'étude, nous avons pris en considération les moyennes des notifications au stade de gousses sur un tallage population/pot. Ces symptômes ont été notés selon l'échelle de Hanounik et Robertson, (1986). Cette échelle permet d'évaluer l'extériorisation des symptômes liés à l'infection aux nématodes. Il s'agit d'une échelle de 1-9 qui correspond à des symptômes présentant des nécroses ou des déformations au niveau des plantes, dues à une réaction d'hypersensibilité des plantes décrites comme suit:



9. ANALYSES MORPHOLOGIQUE DES NEMATODES

Pour l'étude morphologique, les nématodes ont été examinés vivants dans des montages temporaires à la gélose et à l'eau après narcotisation préalable à la chaleur douce (Esser, 1986). Les spécimens adultes ont également été sacrifiés à la chaleur douce, fixés dans une solution de formaldéhyde à 4% + d'acide propionique à 1%, puis transformés en glycérol selon la méthode de Seinhorst (in Hooper, 1984). Les observations ont été effectuées à partir d'échantillons vivants et montés à l'aide d'un microscope optique Leitz Diaplan équipé d'une caméra Leica[®] DFC425, fourni avec le logiciel LAS (Leica Application Suite, version 3.6.0) pour les mesures et les photographies. Selon les mesures morphologiques réalisés deux espèces de *Ditylenchus* étaient présentes l'une correspondant à la race géante et la seconde à la race normale. Pour les nématodes géants algériens, seuls les principaux caractères de diagnostic ont été mesurés. Les abréviations utilisées sont celles définies par Siddiqi (2000). Les moyennes dans le texte sont présentées avec leurs écarts-types et les fourchettes entre parenthèses.

10. ANALYSES MOLECULAIRES DES NEMATODES

10.1. EXTRACTION DE L'ADN, AMPLIFICATION PAR PCR ET ANALYSE RFLP :

L'extraction de l'ADN, la PCR, le clonage et le séquençage ont été réalisés dans le laboratoire IPSP (Institut de recherche sur la santé des femmes, Bari, Italie), selon les protocoles décrits par De Luca et al., (2004). L'ADN brut a été isolé de chaque nématode séparément et a été directement amplifié par PCR. L'amplification de la région ITS a été effectuée en utilisant l'amorce directe 18S (5'-TGATTACGTCCCTGCCTTT-3') et l'amorce inverse 26S (5'-TTTCACTCGCCGTTACTAAGG-3') (Vrain et al. 1992), les segments d'expansion D2-D3 de l'

ADNr 28S ont été amplifiés en utilisant D2A (5'-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG-3') et D3B (5'-TCGGAAGGAACCAGCTACTA-3') (Nunn 1992) Pour celui de l'ADNr 18S, les séquences 18SnF (5'-TGGATAACTGTGGTATACTAGAGC-3') et 18SnR (5'-TTACGACTTTTGCCCGGTTC-3' Kanzaki et Futai 2002) ont été utilisées .

Les conditions de cycles PCR utilisées pour l'amplification étaient les suivantes: une dénaturation initiale à 94 ° C pendant 5 minutes, suivie de 35 cycles de dénaturation à 94 ° C pendant 50 secondes, une étape d'hybridation à 55 ° C pendant 50 secondes et une l'étape d'extension à 72 ° C pendant 1 minute et une seconde. La dernière étape à 72 ° C pendant 7 min (De Luca et al. 2004). La taille des produits amplifiés a été déterminée par comparaison avec l'échelle de marqueur de poids moléculaire 100pb (Fermentas, St. Leon-Rot, Allemagne) après électrophorèse de 10 µl des produits amplifiés sur un gel d'agarose à 1% . Les produits de PCR de la région ITS provenant de nématodes individuels ont été purifiés pour le clonage et le séquençage en utilisant le protocole indiqué par le fabricant (kit d'élution High Pure PCR, Roche, Allemagne). Des fragments d'ARNr DTS, D2-D3 et 18S purifiés ont été clonés dans le vecteur de clonage TA (Invitrogen) et séquencés à la génomique d'Eurofins (Allemagne). Une analyse BLAST (outil de recherche d'alignement local de base) a été réalisée au NCBI (Centre national d'information sur la biotechnologie).

Les analyses ITS-RFLP ont été effectuées sur des produits de PCR de nématodes individuels et digérées avec cinq unités de 6 enzymes de restriction suivantes : *Alu* I, *Ava* II, *Pst* I, *Dde* I, *Hinf* I et *Rsa* I (Roche Diagnostics, Mannheim, Allemagne). Les fragments de restriction digérés par les enzymes ont été séparés sur un gel d'agarose à 2,5% par électrophorèse. Les gels ont été colorés avec du gel rouge et visualisés sur un transilluminateur UV et photographiés avec un système numérique.

10.2 Analyse phylogénétique des nématodes

Il est important de souligner dans ce paragraphe, pour mémoire, que la nouvelle espèce du complexe *Ditylenchus* : *D. oncogenus* a été découverte au cours de notre expérimentation à partir de nos échantillons mais les résultats de cette découverte nous ont été communiqués bien après la conduite de l'expérimentation et surtout après la publication de la découverte de cette espèce sur le chardon par l'équipe Italienne à l'Institut IPP , Bari Italie (Istituto per la Protezione delle Piante) (Volvas et al., 2016).

Les séquences nouvellement obtenues pour l'ITS ont été alignées sur les séquences correspondantes à *D. gigas*, au départ, et ensuite à *D. oncogenus* du complexe *D.*

dipsaci disponibles dans GenBank à l'aide du logiciel MAFFT v. 7 (Katoh et Standley 2013) avec des paramètres par défaut. Les alignements de séquences ont été modifiés manuellement à l'aide de BioEdit afin d'améliorer le multi-alignement. Comme groupe externe, *Bursaphelenchus xylophilus a* été utilisé conformément à des articles publiés antérieurement. L'arbre phylogénétique obtenu pour l'ensemble de données ITS a été réalisé avec la méthode du maximum de vraisemblance (ML) à l'aide du logiciel MEGA version 6 (Tamura et al., 2013). Une analyse ML sous un modèle de distribution GTR + G (GTR + G) pour les ensembles de données ITS a été réalisée. Des arbres phylogénétiques ont été démarrés 1000 fois pour évaluer le degré de support de la ramification phylogénétique indiqué par l'arbre optimal pour chaque méthode. Les séquences nouvellement obtenues ont été soumises à GenBank.

11- CARACTERISATION MOLECULAIRES DES POPULATIONS *V. FABA* INFESTEES

L'extraction d'ADN a été réalisée sur des feuilles séchées et collectées sur des plantes ayant été inoculées par les nématodes. Nous devons signaler ici que les feuilles récoltées étaient souvent dans un état avancé de flétrissement et sur certaines plantes ce sont des morceaux de feuilles qu'on a pu récupérer. En effet, les feuilles ont été déshydratées à l'étuve à 27°C pendant cinq jours et 100 mg de tissus de ces feuilles, quand c'était possible de les avoir, ont été broyés dans des mortiers. Le protocole modifié de CTAB selon le protocole décrit par Benbouza et al., (2006) a été utilisé. La qualité et la quantification de l'ADN ont été estimées par dosage au spectrophotomètre Nanodrop 2000c (Thermo Scientific, *NanoDrop UV-Vis 2000C*, États-Unis). La concentration était comprise entre 100- 200ng/μl.

Avant de passer aux amplifications des amorces SSR, tous les échantillons ont été dilués pour qu'ils aient les mêmes concentrations de travail. Les ADN extraits précédemment ont été amplifiés en utilisant 24 amorces microsatellites (Tableau 5) séparément. Ces amorces ont été synthétisées par Eurogentec.

Tableau 5 : Liste et caractéristiques des amorces SSR utilisées

N°	Marker Name	F (5'-3')	R (5'-3')	Motif Repeat
1	CAAS1	AGTCAGGGGGTCGATTTTC	TCTTGCAGCAGTTTGGACATAC	(AAAGGG)7
2	CAAS8	AATTGTTCAGCATCTCGGG	CTGGTTGGTTCCTGGTGAGT	(AAC)14
3	CAAS71	CCATGTAGCCGATTCCACTT	TTCGGCAACGTAGGAAAAAT	(GTT)15
4	CAAS93	GGCATTGCTTACTTACCGGA	CGACGTCGACATTAACATGC	(TTC)5
5	VfG 14	CAAGCTTGTGAGAGCCAAA	GAACGAGGCTCACGAAAATA	(AG)10
6	VfG 22	GGCTATTGTCACGAACAAAT	GATTCAGACCCGGATACATT	(AG)15
7	VfG 27	CCCAAAAAGAGACGAACTGTAT	AGGGTTCATACGTTTGGCTT	(AG)17
8	VfG 28	AGAGTCCCAAAGAGTGGGTT	CCAAAGGCAAAAATGAGGGCTT	(AG)19
9	VfG 53	GGTTCATGAAAAGAGGTTAG	CATTTTCCGTTCTCTCTCTA	(AG)9
10	VfG 87	AGGGCCAGCGTGATCCAATA	TGGGTTGGGATCTTTTGGTTG	(AG)10
11	SSR3523	GGTACTTTCCTCGCAAAAAGC	TTTCTAAAACAATCCAGAACATGAA	(AG)9 (TG)10
12	GAI130	GGAAAATATGATGAAAAAGCCGC	GAGTCGATATCACGTCGGAGG	(CT)21
13	GBSSR-VF-8	TCCATCAACCTCAAAATCCA	TCGGTGGAGGAGTTGTTG	(TTG)5
14	GBSSR-VF-52	GGTTTCTTGTCAAATAAGACG	TGCGATTCTGAAAATTGG	(CAG)5
15	GBSSR-VF-164	ACCATTTGGCCTGTTCTCT	ACCATTTGGCCTGTTCTCT R:CAAGGAGGGTTGTTTACGA	(GTG)6
16	GBSSR-VF-220	ACCATTTGGCCTGTTCTCT	CAAATGCTGAAATGGCCT	(GTG)6
17	GBSSR-VF-262	TCTGGCGAGTGGCATACT	GCCTTCTACACAACGGCTT	(GAA)5
18	GAI168	GATGTGAAGCGCAAGTACTG	GCAATTTCCGGTCAGTGGC	(CT) ₂ TT(CT) ₂ *
19	GATA2	GACGCACCCTACTGCATCAC	GGTGTCCCACCAGGTAACCTCG	(GA) ₂ (GATA) ₂ (GA) ₄
20	GATA11	GTTGCACTACATTTCGTCTTGG	GTTGCAACAGAAGAGGCCAC	(CT) ₃ (CTAT) ₄
21	JF1-AG3	ATGCTGAGGATGCAGGATCGA	TAATTTGTGTGGTCTCAGTGC	(GA) ₅ TA(GA) ₄ TA) ₁₁
22	GAI18	GTTATTATTATGTACGCGCGTGC	GAATAAGCAGAAACGCGACGT	(CT) ₁₈ CC(CT) ₃
23	GA4	GAACCTAAGGTGTACACGCGGG	GGGGGTAGATCTTGTTTTTTCC	(CT) ₁₆
24	GAI159	GTAATGTGGCCCAATCCAATT	GTGAATGTTGAAGATGGATGAA	(CT) ₂₈

Le milieu réactionnel a été réalisée en tenant compte des interactions entre les réactifs lors de la réaction d'amplification (MgCl₂, dNTP, amorces, Taq polymérase, ADN). La PCR a été réalisée avec les amorces pour les vingt-quatre échantillons d'ADN des cultivars avec le témoin Séville répété trois fois, dans un volume totale de 20 µl avec les concentrations suivante (MgCl₂ : 2 mM, dNTP : 2 µl, amorce sens et anti-sens : 0.4µM, Taq polymérase : 1U, ADN : 100ng). La température d'hybridation varie entre 50 et 55°C suivant l'amorce utilisée (Tableau 4). L'amplification a été réalisée avec le thermocycleur Bio-Rad C1000 suivant les conditions suivantes (Tableau 5):

Les produits d'amplification ont été séparés par électrophorèse sur gel agarose 2.5% dans un tampon de 1X TBE et colorés au bromure d'éthidium afin de confirmer la réaction d'amplification. Par la suite, les produits d'amplification ont été analysés par gel dénaturant à 6% préparé à base de 40% d'acrylamide/bisacrylamide, Urée 7 M, TBE 1X du 50µl de TEMED (Tetramethyldiamine) et 250µl de l'APS (Ammonium Persulfate). Les gels ont été coulés sur des plaque de 20x 20cm traités par du Bind silane et du Repel silane.

Les échantillons ont été dénaturés dans un tampon contenant du formamide à 95°C puis gardés à 4°C, 10 µl de chaque échantillon a été déposé avec 10 µl de DNA ladder 10 pb de Life Technologies comme marqueur de taille.

La migration a été réalisée dans un tampon TBE 1X à 300V pendant 2h, les plaques pleines sont ensuite révélées par Nitrate d'argent suivant le protocole de Benbouza et al., (2006b). Les gels ont été analysés par le système de documentation de l'analyseur Bio-Rad.

12. ANALYSE DES DONNEES MOLECULAIRES OBTENUS SUR LES POPULATIONS ETUDIEES

12.A. LES PARAMETRES ET RELATIONS GENETIQUES DES POPULATIONS

Afin d'évaluer la diversité génétique et le degré informatif des SSR utilisés, plusieurs indices génétiques ont été calculés incluant 27 individus. Les fragments amplifiés de tailles différentes ont été notés comme présents (1) ou absents (0) et considérés comme des allèles différents. Les paramètres génétiques en question incluent:

* **Nombre d'allèles (Na)** : la moyenne du nombre d'allèles par locus (N_a) :
 $N_a = \text{nombre total d'allèles} / \text{nombre de loci}$

* **Taux d'hétérozygotie** :

L'hétérozygotie (diversité génétique de Nei, 1973) est la moyenne des fréquences des hétérozygotes observées à chacun des locus étudiés. L'indice **He** représente l'hétérozygotie attendue pour une population en panmixie, c'est la probabilité que 2 individus choisis (4 allèles, 2 copies des gènes de deux individus) aléatoirement dans une population aient des allèles différents d'un locus donné. Il est estimé à partir des fréquences alléliques ($2pq$).
 $He = 1 - \sum (pi)^2$ où pi : fréquence à l' $i^{\text{ème}}$ allèle pour un locus donné. Pi : fréquence à l' $i^{\text{ème}}$ allèle pour un locus donné. L'indice **Ho** représente l'hétérozygotie observée, il est mesuré à partir des analyses

génotypiques. En comparant ces deux indices il est possible de déduire l'impact des forces évolutives dans les populations, dues à l'autofécondation ou à l'autogamie. Le taux d'hétérozygotie fournit une bonne estimation de la variabilité génétique de la population, à condition toutefois que les individus de cette population se reproduisent au hasard.

* **Taux de polymorphisme « P% »** : C'est la proportion des gènes polymorphes parmi l'ensemble des gènes étudiés. $P = \text{Nbre de gènes polymorphes} / \text{Nbre total de gènes étudiés}$.

Une population sera dite polymorphe pour un locus donné, si la fréquence allélique de l'allèle le plus fréquent est inférieure à 0,95.

* **Indice de fixation ou coefficient de consanguinité de la population (*F_{is}*)** : appelé aussi l'écart à la panmixie, c'est la mesure de la consanguinité des individus, consécutive à l'absence de panmixie à l'intérieur des sous populations. Il se calcule selon la formule suivante : $F_{is} = 1 - H_o/H_e$. Une valeur de *F_{is}* significative ($F_{is} > 0$) s'expliquerait, d'une part, par (ses effets populationnels David, 1996): les individus considérés ne proviennent pas d'un pool unique de gamètes fécondés au hasard. Il est alors possible de considérer une réassociation non aléatoire des gamètes (consanguinité) ou bien il existe un mélange de groupes différenciés à l'intérieur de l'échantillon (effet Wahlund : est un excès d'homozygotes (ou un déficit en hétérozygotes) par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg qui traduit la subdivision de la population étudiée en plusieurs populations qui n'échangent pas ou peu de gamètes). D'autre part, par la non-détection du polymorphisme introduisant une sous-estimation de l'hétérozygotie. On distingue différentes possibilités de non détection : l'existence d'allèles nuls (non visualisés) ou même artefacts de lecture observée.

Ces indices, plus l'identité génétique (*g_i*) selon Nei (1973), et le nombre total de génotypes (*GA*), sont calculés à l'aide du logiciel GenAIEx 6.5 (<http://anu.edu.au/BoZo/GenAIEx>) (Peakall et Smouse 2006).

* **F-statistiques** permettent de calculer la différenciation génétique entre populations (*F_{st}*). La variabilité moléculaire entre les groupes STRUCTURE, identifiés dans cette étude, a été estimée en calculant l'indice de fixation (*F_{st}*). Il traduit le déficit en hétérozygotes dû à la subdivision de la population en sous populations et mesure le niveau de différenciation génétique entre les sous populations (Wright 1969 ; Weir et Cockerham 1984). Ce déficit en hétérozygotes est souvent attribué à la dérive génétique et/ou à un flux de gènes limités (Wright 1951). Le *F_{st}* peut être interprété comme la part de variance des fréquences alléliques due aux différences entre populations, il est calculé selon la formule :

$F_{st} = H_t - H_s^*/H_t$ Avec *H_s* : l'hétérozygotie attendue pour une sous-population supposée à l'équilibre de Hardy-Weinberg. *H_s** : la diversité moyenne des *H_s* sur les sous-populations.

H_t : l'hétérozygotie attendue pour une population globale supposée à l'équilibre de Hardy-Weinberg. Les valeurs de cette mesure sont comprises entre 0 et 1. Il faut noter que la signification statistique des estimateurs *F_{st}* a été évaluée en utilisant 10.000 permutations.

Afin de déterminer l'utilité des SSRs utilisés dans ce travail, pour chaque paire d'amorces, les deux paramètres suivants sont calculés :

* **Contenu d'information polymorphique (PIC):**

c'est le pourcentage des loci polymorphes dans l'échantillon étudié, il met en évidence la capacité d'un marqueur à détecter un polymorphisme dans une population. Autrement dit, c'est la probabilité d'observer au moins deux allèles au même locus, cette probabilité dépend des fréquences respectives des allèles et aussi de la taille de l'échantillon. Les loci sont très informatifs ($PIC > 0.5$), raisonnablement informatif ($0.5 > PIC > 0.25$), peu informatifs ($PIC < 0.25$). Les locus avec de nombreux allèles et un PIC proche de 1 sont les plus souhaitables offrant ainsi un maximum d'informations (Botstein et al., 1980) ;

* **Pouvoir de la discrimination (PD):** sa valeur donne une estimation du pouvoir discriminant d'un locus en prenant compte le nombre de génotype et aussi de la fréquence de chacun. Le PD a été calculé à l'aide de la formule: $PD = 1 - \sum P_i^2$, où la fréquence de l'allèle est remplacée par la fréquence du génotype (P_i représente la fréquence du $i^{\text{ème}}$ génotype) (Tessier et al., 1999).

* *La probabilité d'identité* : $PI = 1 - \sum p_i^2 + \sum \sum (2p_i p_j)^2$, où p_i et p_j sont les fréquences des allèles i et j , respectivement. Elle correspond à la probabilité de deux génotypes partageants les même allèles (Paetkau et al., 1995). La probabilité totale d'identité, définie comme la probabilité que deux cultivars partageants le même profil génétique par chance, elle est calculée à partir des valeurs individuelles PI. Ce paramètre a été calculé en utilisant IDENTITY 1.0 (Wagner et Sefc, 1999).

Les cultivars montrant un seul allèle amplifié sont classiquement considérés comme homozygotes au locus. Par conséquent, la diversité génétique pourrait être sous-estimée si des allèles nuls se produisaient. Ainsi, les loci avec des fréquences élevées d'allèles nuls sont identifiés à travers l'estimation de la fréquence de l'allèle nul (r) pour chaque locus et chaque population, en utilisant IDENTITY1.0 (Wagner et Sefc, 1999).

L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) a été réalisée à l'aide de Nei distance (1978) pour estimer et répartir la variance moléculaire totale entre et parmi les cultivars (**Excoffier et al., 1992**).

12.B .STRUCTURATION DE LA DIVERSITE GENETIQUE

Le but de cette analyse est de voir si la population étudiée est subdivisée en niveau hiérarchique. L'analyse de la structure génétique des populations (nombre de clusters potentiellement différents) a été réalisée à l'aide du multi-locus SSR à l'aide d'une méthode de classification basée sur un modèle bayésien implémenté dans STRUCTURE v2.1. logiciel (Pritchard et al., 2000; Falush et al., 2003). Toutes les analyses ont été effectuées avec 10 permutations indépendantes par valeur de K (nombre de populations) allant de 1 à 10. La simulation a été effectuée en utilisant un modèle « admixture » sans information préalable (Pritchard et al., 2010). La proportion des pools génétiques pour chaque individu (Q), et la représentation des génomes, dérivée de l'arbre, pour chaque individu, ont été estimées en exécutant, à chaque fois, 10 000 'burn-in steps' étape suivis de 100 000 répétitions de Markov Chaine Monte Carlo (MCMC).

Ensuite, le programme Structure Harvester (Earl et Vonholdt, 2012) a été utilisé pour sélectionner le K optimal, en utilisant ΔK , selon Evanno et al. (2005). Sur la base des résultats du premier passage, nous avons opté pour ré- exécuter STRUCTURE sur base des clusters identifiés dans le premier passage par UPGMA afin de détecter une éventuelle sous-structure. Nous avons utilisé la version 1.1 de CLUMPP pour trouver des alignements optimaux d'analyses de clusters R (Jakobsson et Rosenberg, 2007) avec algorithme Greedy. Pour visualiser les tracés de barres (bar plots) de STRUCTURE, en utilisant la matrice Q individuelle, le logiciel STRUCTURE PLOT a été utilisé (Ramasamy et al. 2014).

II. RESULTATS ET DISCUSSION

1. SUIVIE DE LA PHENOLOGIE DE LA PLANTE

1.1 Hauteurs des tiges

Les résultats des moyennes des hauteurs des tiges échantillonnées et mesurées par variété population et le témoin Séville durant deux années successives (2001 et 2012) sont présentés sous forme de courbes (Figures 22 et 23).

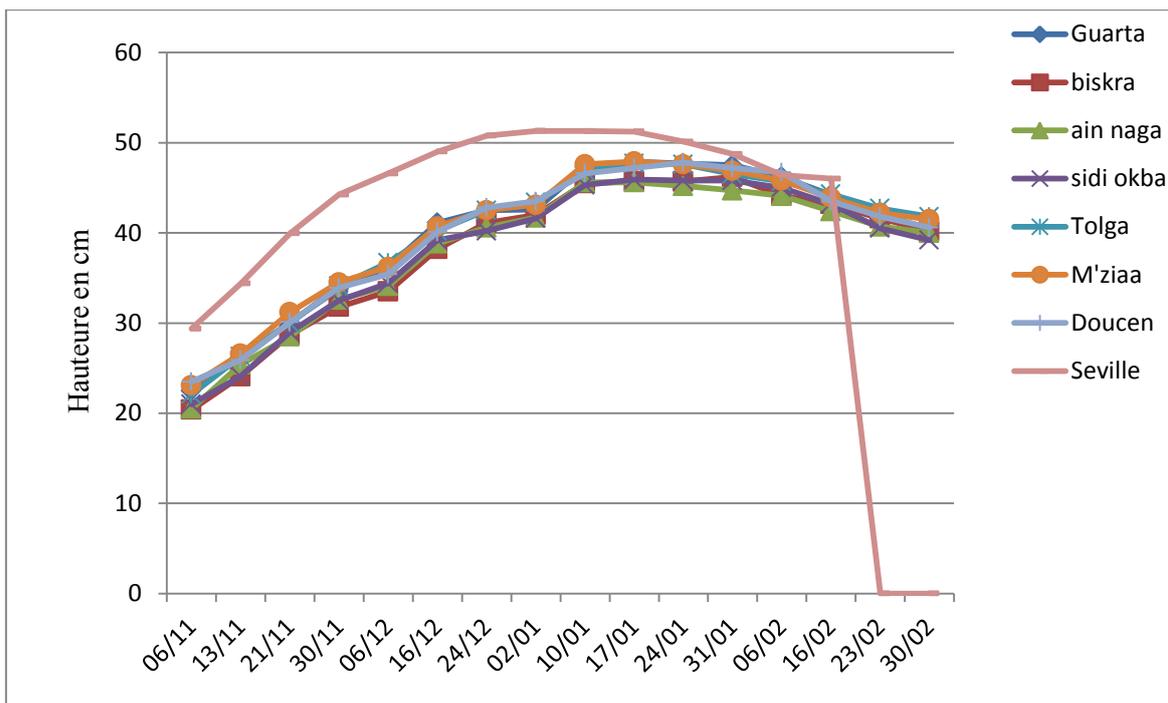


Figure 20 : Evolution temporelle de la hauteur moyenne des tiges en cm pour Séville et les populations locales en 2011

L'analyse des relevés des moyennes des hauteurs des tiges commence avec une moyenne plus importante de 29,4 cm pour Séville par rapport aux populations locales qui enregistrent des moyennes moins importantes au début du cycle végétatif, notamment pour les variétés Biskra (20.4 cm) et Sidi okba (20.8 cm). Après 2 mois, un pic de hauteur de tiges pour Séville, est relevé le 02 janvier, avec 51.31 cm, par contre, pour les variétés locales les valeurs des moyennes des hauteurs des tiges, relevées le 24 janvier, sont moins importantes que celles de Séville et les maximums sont enregistrés pour Guarta (47,9 cm) et Tolga (47.8 cm) (Figure 22).

Une fois le maximum des hauteurs de tiges est atteint, leur développement s'est stabilisé pendant 3 semaines pour la variété Séville et pendant 4 semaines pour les populations locales. Au stade de fructification, nous constatons une diminution progressive des hauteurs des tiges ce qui correspond à la sénescence des plantes suivie par un flétrissement aigue ayant conduit à la mort des plantes vers la fin février pour le cas de Séville suivie, une semaine après, par celle des variétés locales. La même tendance de croissance des tiges a été observée durant 2012 aussi bien pour le témoin Séville que pour les variétés locales mais avec des moyennes de hauteurs moins élevées que celles observées durant 2011, fort probablement en raison des conditions du climat. De même, il a été observé qu'au début du cycle la variété Sidi okba a encore enregistré les valeurs les plus faibles avec Doucen et Tolga. Alors que les maximums des hauteurs ont été enregistrées aussi par les mêmes variétés Guarta et Tolga en plus de Doucen.

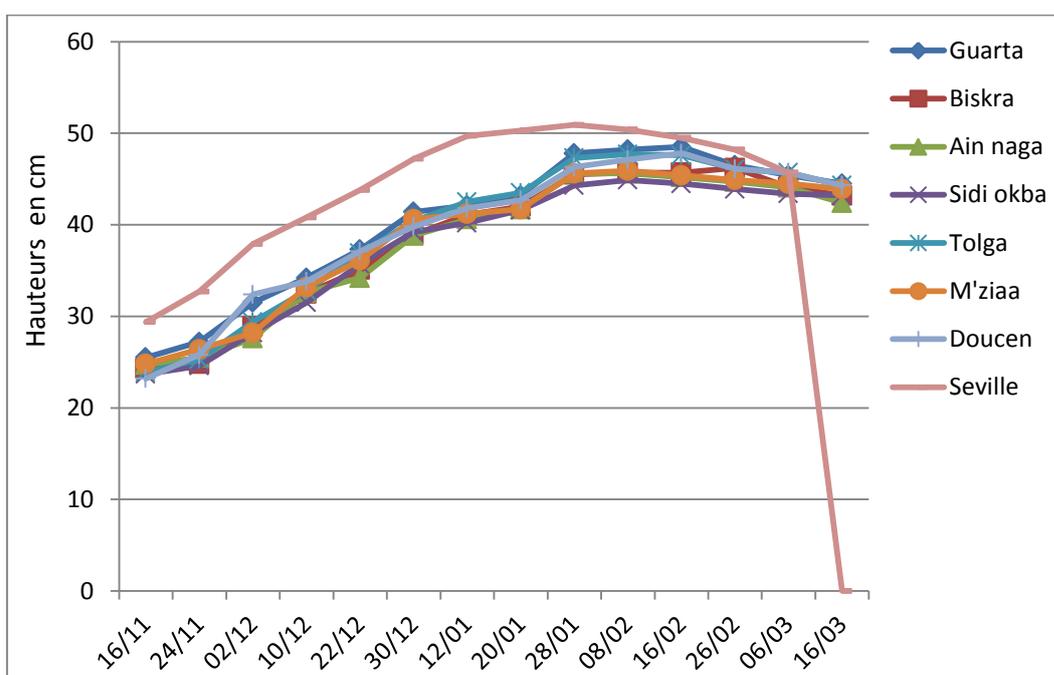


Figure 21 : Evolution temporelle de la hauteur moyenne des tiges en cm pour Séville et les populations locales 2012

1.2 La floraison

Les Figures (22 et 23) illustrent le nombre moyen d'inflorescences pour la variété Séville ainsi que celui des populations locales (2011 et 2012).

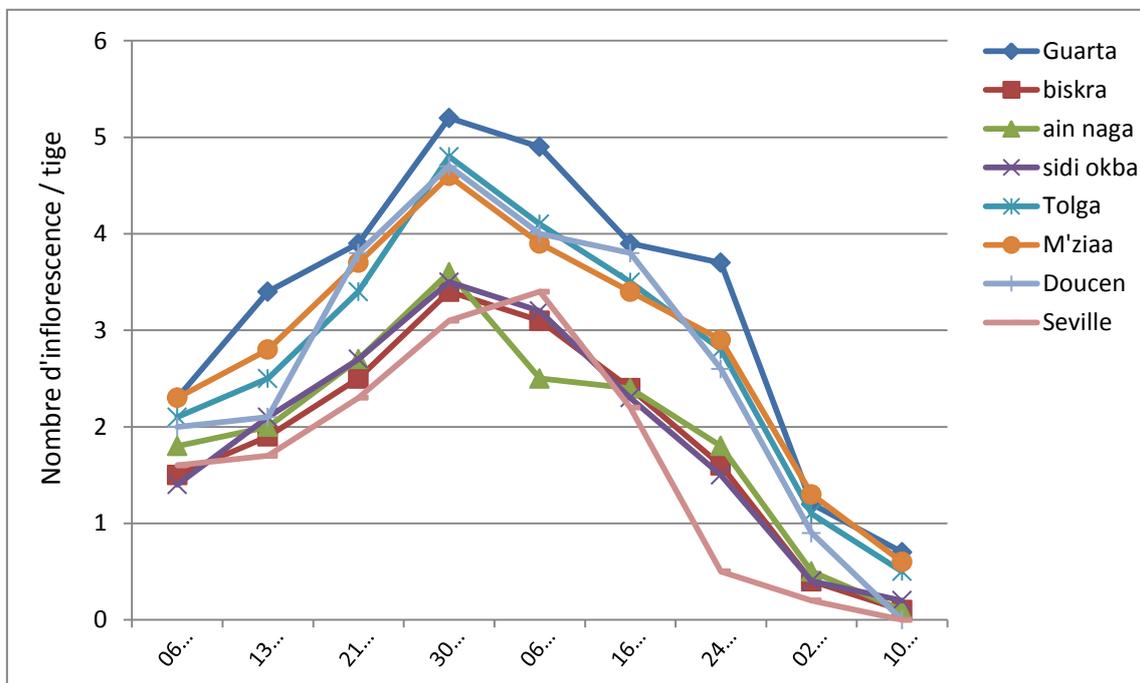


Figure 22 : Evolution temporelle du nombre moyen d'inflorescences par tige échantillonnée pour la variété Séville et pour les populations locales en 2011.

Les données de 2011 indiquent que toutes les variétés ont donné les premières inflorescences au cours du mois de novembre. A partir du 13 novembre, deux groupes sont observés dont le premier est composé de la variété Séville, avec une moyenne de 1.6 inflorescences, et des variétés populations locales (Ain Naga, Biskra et Sidi okba). Le deuxième groupe est composé du reste des variétés où la moyenne d'inflorescences, la plus élevée était de 2.3 inflorescences par tige et a été enregistrée pour Guarta. Le maximum d'inflorescences est observé pour Séville, plus tardivement que les variétés locales, avec une moyenne de 3,4 inflorescences par tige. La moyenne maximum d'inflorescences par tige était de 5.2 enregistrée par la population de Guarta. Par la suite, après le 30 novembre, le nombre d'inflorescences a diminué progressivement pour l'ensemble des variétés étudiées (Figure 22). De plus, nous remarquons que la floraison de la variété Séville s'est échelonnée sur un mois et 27 jours, par contre la floraison pour la population locale a duré deux mois et 4 jours.

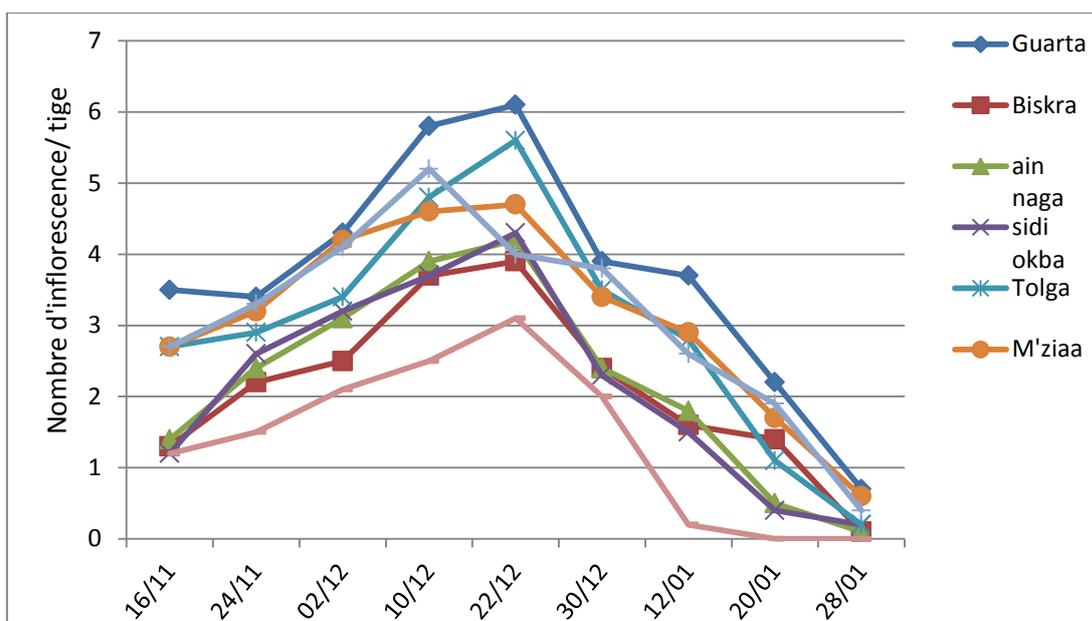


Figure 23: L'évolution temporelle du nombre moyen d'inflorescences par tige de la variété Séville et celui des populations locales en 2012

Au cours de 2012, la même tendance est observée sauf que pour cette année, la variété Séville se distingue des variétés locales aussi bien pour le nombre des premières inflorescences, avec 1.2 inflorescences par tige, que pour le maximum d'inflorescences avec 3.1 inflorescences par tige (Figure 23). En ce qui concerne la durée de floraison, elle est restée la même que pour 2011 pour l'ensemble des variétés étudiées.

1.3 La fructification

Le nombre moyen d'étages des gousses par tige échantillonnée, durant 2011 et 2012, pour l'ensemble des variétés étudiées est présenté dans les Figures (24 et 25).

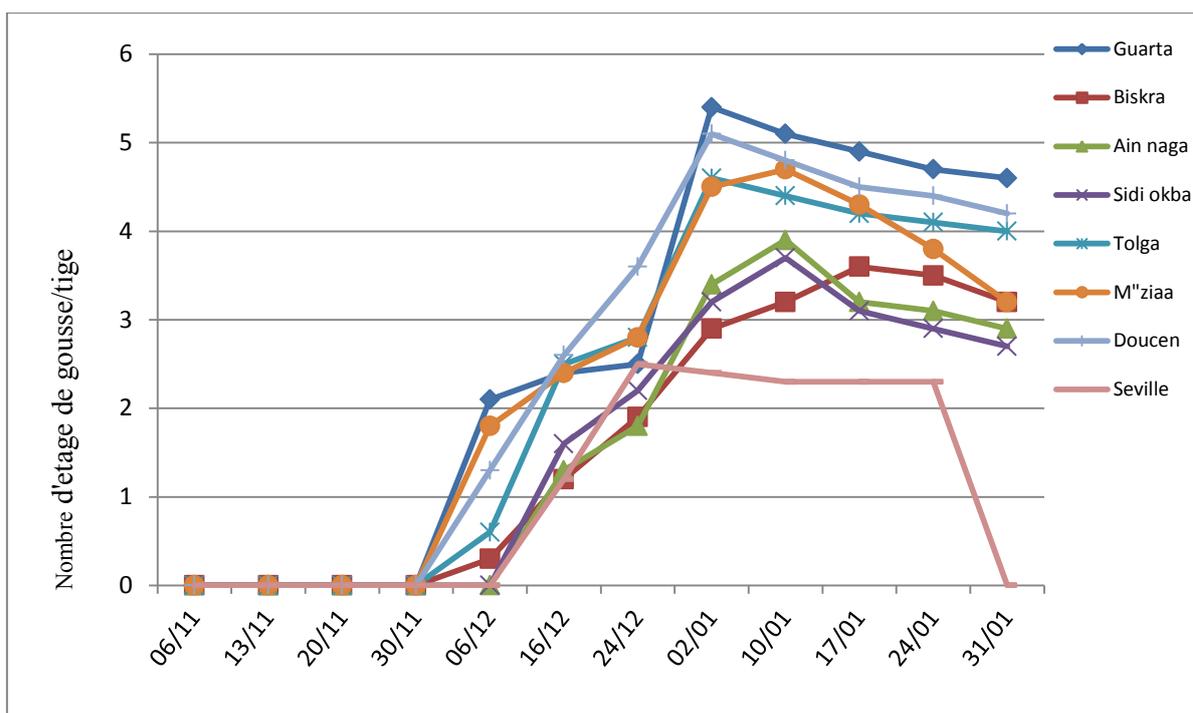
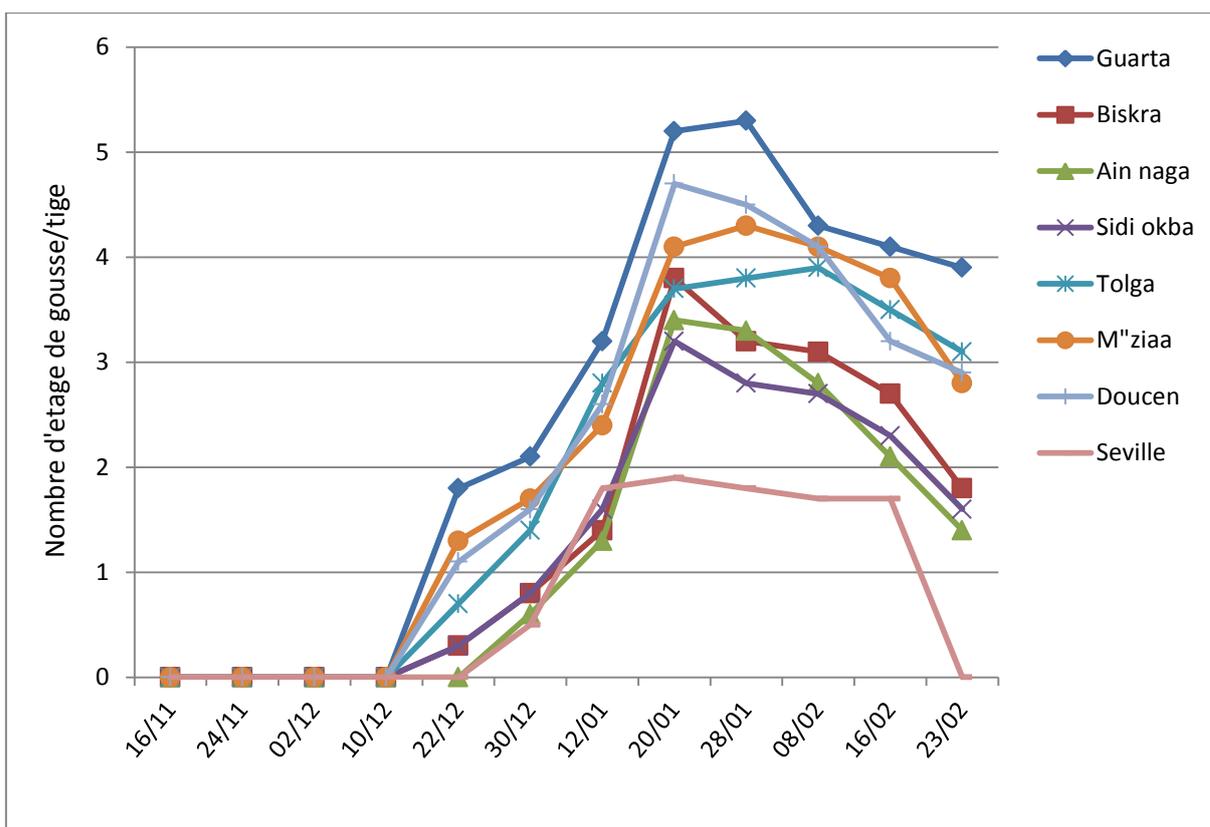


Figure 24: Evolution temporelle du nombre moyen d'étages de gousses par tige échantillonnée pour la variété Séville et les populations locales en 2011

L'analyse des données sur la Figure 24 montre que l'apparition initiale des gousses est plus précoce chez les variétés locales, le 06 Décembre, excepté pour Ain Nagua, avec une forte moyenne de 2.1 étages de gousses/ tige pour Guarta. La variété témoin Séville n'a commencé à donner des étages de gousses que deux semaines plus tard avec une moyenne bien inférieure aux autres variétés locales avec 1.2 étages de gousses/ tige. Le maximum des étages de gousses formés était de 5.4 pour Guarta suivie par Doucen avec 5.1. Alors que le maximum enregistré pour Séville n'était que de 2.4 étages de gousses/ tige. Nous constatons aussi que les variétés Ain Nagua, Biskra et Sidi Okba ont valeurs du nombre d'étages de gousses relativement plus faibles que celles des autres variétés locales et tendent à former un sous-groupe entre Séville et les autres variétés. Par la suite, une diminution progressive du nombre d'étages de gousse est observée chez les variétés locales alors qu'elle est brusque chez la variété Séville pour s'arrêter fin janvier.



Figures 25 : Evolution temporelle du nombre moyen d'étages de gousses par tige échantillonnée pour la variété Séville et les populations locales en 2012

En 2012, le même comportement des variétés est observé avec l'apparition des premiers étages de gousses, vers le 30 Décembre, chez Séville et Ain Nagua, avec 0.5 étages de gousses/ tige, plus tard que les autres variétés étudiées. La variété Biskra, contrairement à l'année 2011, s'est groupée avec les autres variétés en donnant des premiers étages de gousses le 22 Décembre où Guarta, a donné le nombre le plus élevé d'étages de gousses/tige avec 1.8 (Figure 25). Le maximum des étages de gousses est relevé le 20 Janvier pour Séville avec 1.9 étages de gousses/ tige, et le 28 Janvier pour Guarta avec 5.3 étages de gousses/ tige. Globalement, pour les variétés locales les valeurs sont relativement similaires à celles enregistrées durant 2011 mais pour la variété Séville elles sont un peu plus faibles.

2. ANALYSES NEMATOLOGIQUE

2.1 Semis et taux de levée et inoculation des plantes:

Les résultats des analyses de la semence de fève, effectuées au laboratoire du Département d'agronomie pour déceler la probabilité de l'infestation des graines collectées et utilisées pour notre expérimentation par *Ditylenchus dipsaci*, montre que tous les lots de semences sont sains.

Le semis a été effectué au mois de Septembre durant 3 années successives (2010, 2011 et 2012), et il a fallu 8 à 10 jours pour la levée, avec un taux moyen de levée de 71 %. Les températures enregistrées à Biskra durant ces périodes étaient favorables pour une bonne levée. En général, il faut une température comprise entre (16 C°- 30C°) pour une bonne levée. Mais, dans notre cas, nous avons enregistré un taux de mortalité après le semis à la fin de l'expérimentation de 31.5 %, 28.7% et 34.8 % pour 2011, 2012, 2013, respectivement.

Les moyennes des températures enregistrées durant les mois de Novembre, Décembre et Janvier ont été favorables pour le semis et la croissance de la fève (Tableau 7). Ces dernières ont été favorables aussi pour le développement des nématodes; l'optimum d'activité de *Dipsaci* se situe entre 10 C° et 20 C° (Subbotin et al., 2005). De plus, durant les mois de Février et Mars, durant les 3 années, les températures étaient aussi favorables pour la prolifération de *Ditylenchus dipsaci*. Vers le mois d'avril, durant les années d'expérimentation, vers la fin du cycle végétatif, les plantes fanées ont été arrachées sans leurs racines.

Les seuils des températures, maximums et minimums sont durant notre expérimentation ont été favorables à la reproduction du nématode *Ditylenchus dipcasi*. De même, Le cycle des nématodes a coïncidé aussi avec l'enregistrement d'une augmentation de l'humidité relative, qui a eu une faible variation durant notre essai, où la plus haute valeur enregistrée en plein air était celle du mois de Janvier (55%). Au cours de notre essai, une humidité saturante a été maintenue en maintenant la serre fermée ce qui a permis l'augmentation de la durée de pénétration des nématodes en suspension dans la plante.

2.2. Evaluation de la résistance des populations à l'infection par *Ditylenchus dipsaci*

La résistance des plantes inoculées au nématode est caractérisée par leur capacité à entraver la multiplication du nématode après pénétration dans la plante (Saadi, 2014). L'estimation de la résistance est corrélée avec la réponse individuelle des plantes, fondée sur la caractérisation des symptômes extériorisés après l'inoculation artificielle des plantes (Castagnone-Serono, 2002). L'évaluation des symptômes a été réalisée par des observations phénotypiques sur une plante / pot selon l'échelle de Hanounik *et al.*, (1986).

2.2.1 Evaluation des symptômes durant les campagnes 2010, 2011 et 2012

Après l'inoculation, durant la semaine, on a observé une nécrose apicale (point de l'inoculation des nématodes) sur toutes les plantes et cela est probablement dû aux réactions de pénétration.

Environ 60 jours (au mois de Janvier) après la première inoculation, on a observé l'apparition des premiers symptômes sur les plantes. En effet, l'expression des symptômes est en fonction de la sévérité de l'attaque (c'est-à-dire sensibilité des populations). Ces symptômes diffèrent selon la sensibilité de la plante testée et la race de nématode utilisée (Esquibet *et al.*, 2003). Après l'évaluation des symptômes pour toutes les plantes, en nombre de 10 plantes par variété, les moyennes pour chaque population sont calculées. Les résultats relatifs à l'évaluation du degré d'infestation par *Ditylenchus dipsaci* sur les populations locales et la variété Séville sont présentés dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Statuts des populations selon les moyennes des notifications des symptômes selon l'échelle de (Hanounik *et al.*, 1986) durant les campagnes 2010, 2011 et 2012

Variétés populations	Campagnes					
	2010		2011		2012	
	Moyennes des notifications	Notation de sévérité (Statuts)	Moyennes des notifications	Notation de sévérité (Statuts)	Moyennes des notifications	Notation de sévérité (Statuts)
Témoin	6.40 (5-7)	Sensible	7.21 (5-7)	Sensible, très sensible	8.27 (7-9)	Sensible, très sensible
Ain naga	3.20 (3-5)	Moyennement résistante	3.59 (3-5)	Moyennement résistante	4.01 (3-5)	Moyennement résistante
Sidi okba	3.12 (3-5)	Moyennement résistante	4.28 (3-5)	Moyennement résistante	3.25 (3-5)	Moyennement résistante
M'ziraa	2.91 (1-3)	Résistante	2.59 (1-3)	Résistante	2.62 (1-3)	Résistante
Biskra	2.87 (1-3)	Résistante	2.95 (1-3)	Résistante	3.05 (3-5)	Moyennement résistante
Tolga	2.75 (1-3)	Résistante	2.97 (1-3)	Résistante	2.75 (1-3)	Résistante
Doucen	2.49 (1-3)	Résistante	2.62 (1-3)	Résistante	2.82 (1-3)	Résistante
Guartta	1.58 (1-3)	Résistante	2.47 (1-3)	Résistante	1.77 (1-3)	Résistante

Au mois de Janvier, *Ditylenchus dipsaci a* provoqué des lésions qui ont débuté à la base des tiges (au niveau du collet), ces lésions étaient de couleur marron rougeâtre puis au cours de développement de la maladie elles ont virées au noir. Les lésions entouraient le collet et se sont propagées sur toute la longueur des tiges. Il a été observé des symptômes, plus avancés que les autres populations locales, uniquement sur les deux populations de Sidi okba et Ain nagua et la variété Séville. En effet, des déformations des feuilles et des distorsions sont apparues au mois de Février et ont évoluées au mois Mars. Aussi, la couleur des gousses nouvellement formées a virée au marron sur la population de Sidi okba. Cependant, les symptômes observés sur les populations de Ain nagua et de Sidi okba, classées moyennement résistantes, ont été moins prononcés que ceux du témoin résistant Séville. Pour ce qui est de la variété Séville elle serait classée comme sensible à très sensible, selon l'échelle de notification de Hanounik *et al.*, 1986 (Tableau 6, Figure 26). Il ressort aussi des observations que la variété Guarta présente les

notifications les plus faibles par rapport aux autres populations, même après augmentation de la concentration de l'inoculum en 2012 à 150 nématodes/ml, et est classée résistante (Figure 28). Il est important de souligner que la notification observée chez la variété Sidi Okba en 2011 est plus élevée que celle de 2012 en dépit du fait que la dose appliquée en 2012 est plus importante que celle de 2011. A part une mauvaise pénétration des nématodes dans les plantes en 2012, ou une double inoculation des plantes en 2011, dû à une erreur, nous n'avons pas d'autres explications à ce comportement.

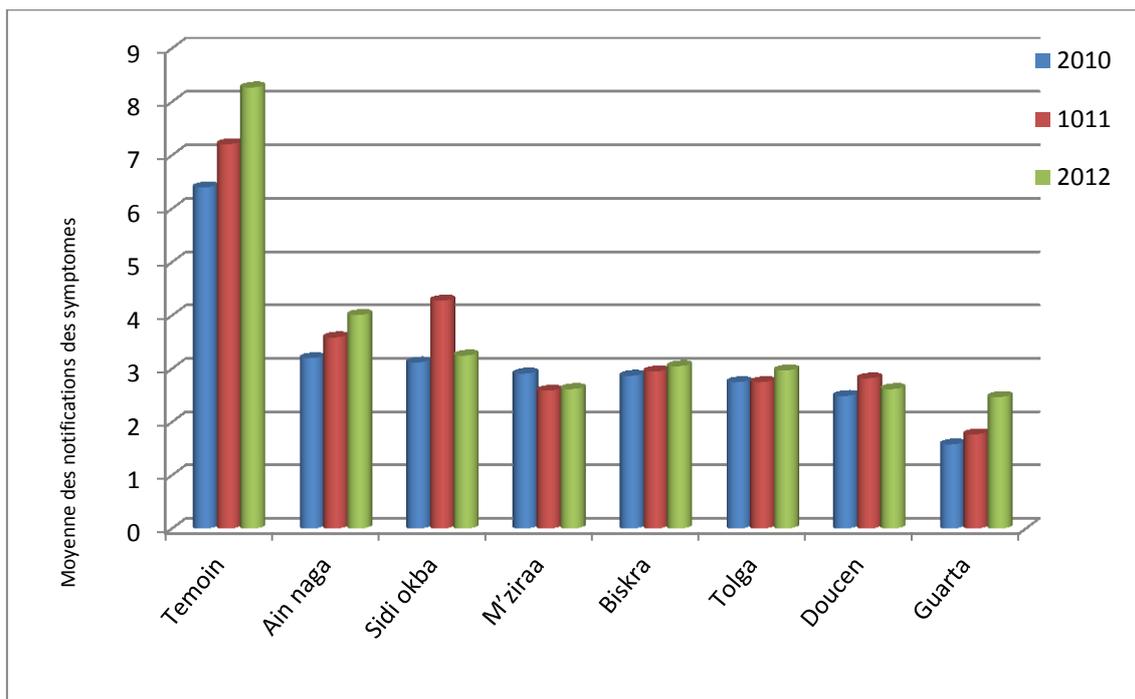


Figure 26 : Moyennes des notifications des symptômes chez les populations inoculées en 2010, 2011 et 2012 selon l'échelle de Hanounik et al., (1986).

A/. Analyse de la variance pour les paramètres des notifications des symptômes selon l'échelle de (Hanounik et al., 1986)

- **Compagne 2010**

Tableau 7 : L'analyse de variance pour le paramètre notifications des symptômes selon l'échelle de (Hanounik *et al.*, 1986) en 2010.

Source	DDL	Somme des Carrés	Moyenne Des carrés	F	Pr>F
Modèle	24	54,948	7.850	10.314	<0,0001
Erreur	24	18.265	0.761		
Total Corrigé	31	73.212			

L'analyse de variance pour le paramètre notifications des symptômes selon l'échelle de (Hanounik *et al.*, 1986) (Tableau 7), montre qu'il y'a une différence significative dans l'expression à l'infection aux nématodes entre les populations. Cette variabilité observée entre les populations de fève, montre que la variété Séville présente la notification la plus importante par rapport aux populations locales. Ces dernières semblent avoir des notifications inférieures à celles du témoin Séville (5-7), leurs moyennes de notifications oscillent entre 1,58 pour Guartta, et 3,20 pour Ain naga, qui est la notification la plus élevée par rapport à toutes les populations locales.

- **Compagne 2011**

Tableau 8 : L'analyse de variance pour le paramètre des notifications des symptômes selon l'échelle de (Hanounik *et al.*, 1986) en 2011

Source	DDL	Somme des Carrés	Moyenne Des carrés	F	Pr>F
Modèle	24	52,745	8.150	11.415	<0,0002
Erreur	24	19.435	0.661		
Total Corrigé	31	63.214			

De même, le Tableau 8 montre qu'il y'a une différence significative entre les populations étudiées. Cette variabilité observée entre les populations de fève, montre que la variété témoin Séville présente une notification plus importante 7.21 (5-7) que les population locales qui ont des moyennes de notifications qui oscillent entre 1,77 pour Guartta et 4.28 pour Sidi okba.

- **Compagne 2012**

Tableau 9 : L'analyse de variance pour le paramètre des notifications des symptômes selon l'échelle de (Hanounik *et al.*, 1986) en 2012

Source	DDL	Somme des Carrés	Moyenne Des carrés	F	Pr>F
Modèle	24	53,656	7,276	11.415	<0,0004
Erreur	24	17,847	0.661		
Total Corrigé	0	71,656			

La même tendance est observée, une différence significative entre les populations étudiées, pour 2012 (Tableau 9) malgré l'augmentation de la concentration de l'inoculum. Les populations locales ont des notifications inférieures à celles du témoin Séville 8.27 (7-9). Les moyennes des notifications oscillent entre 2,47 pour Guartta et 4.01 pour Ain naga, qui est la notification la plus élevée par rapport à toutes les populations locales.

B/. Classement du test de Newman et Keuls des notifications des symptômes selon l'échelle de Hanoumik et al, 1986

Le résultat du classement des notifications par le test de Newman et Keuls au seuil 1% (Tableau 10), nous montre qu'il y a 2 groupes A et B pour la totalité des 3 compagnes d'expérimentation. Le groupe A comprend que la variété Séville, témoin considérée comme variété résistante en France, mais dans notre essai classée sensible à très sensible, et le groupe B inclus toutes les populations locales. Il existe donc une variabilité dans l'expression des symptômes chez les populations testées et une différence significative entre les populations et la variété Séville (Tableau 9). Toutefois, la différence n'est pas significative entre les populations locales.

Tableau 10 : Résultats de classification du test de Newman et Keuls des notifications des symptômes selon l'échelle de (Hanounik *et al.*, 1986) pour 2010,2011 et 2012

Variétés de fève	Moyennes des notifications selon Hanounik <i>et al.</i> , (1986) par année			Groupes homogènes par année		
	2010	2011	2012	2010	2011	2012
Témoin	6.40	7.21	8.27	A	A	A
Ain naga	3.20	3.59	4.01	B	B	B
Sidi okba	3.12	4.28	3.25	B	B	B
M'ziraa	2.91	2.59	2.62	B	B	B
Biskra	2.87	2.95	3.05	B	B	B
Tolga	2.75	2.75	2.97	B	B	B
Doucen	2.49	2.82	2.62	B	B	B
Guartta	1.58	1.77	2.47	B	B	B

2.2.2. Evaluation du taux de multiplication du nématode

Le nombre de nématodes est compté dans chaque plante après notation des symptômes. De plus, dans toutes les zones où un symptôme est observé nous avons effectué à des coupes. Si la plante est considérée sensible, le broyat peut être dilué et les nématodes sont dénombrés dans une partie aliquote (5 ml). Dans le cas contraire, la plante est résistante, les nématodes sont dénombrés dans la totalité de la suspension. Dans notre étude, tous les stades larvaires et les adultes ont été comptés. Les œufs n'ont pas été dénombrés pour des raisons de non disponibilité de microscope puissant avec caméra car ils ne sont pas visibles sous binoculaire. Le taux de multiplication du nématode par plante est ensuite évalué en divisant le nombre de nématodes présents dans la plante au moment de l'extraction par le nombre d'individus déposés sur la plante.

2.2.2.1 Evaluation du taux de multiplication du nématode pour les compagnes 2010,2011 et 2012.

Tableau 11 : Moyennes du nombre de de nématodes (Pi, Pf) sur les plants de fève pour les compagnes 2010,2011 et 2012.

Populations	Nombre de populations initiales (Pi) par année			Nombre de populations finales (Moy) (Pf)		
	2010	2011	2012	2010	2011	2012
Témoin	80	80	150	95.465	104	193
Sidi Okba	80	80	150	84.927	93	172.5
Ain Nagua	80	80	150	79.300	85.75	195.25
M'ziraa	80	80	150	75.781	73	142.75
Biskra	80	80	150	74.750	50.5	129.75
Tolga	80	80	150	67.770	98.5	149.75
Doucen	80	80	150	64.655	96	189.5
Guarta	80	80	150	58.802	73.75	149.75

Selon Quénhé hervé (2006), les expérimentations sous serres se font souvent avec des inoculas de départ très élevés sans que les taux de multiplication après l'inoculation soient élevés. Dans notre expérimentation, durant 2010 le Pf était inférieur au Pi chez toutes les populations locales sauf pour la variété Séville qui a présenté moyenne de 95.46 nématodes/plant (Tableau 11). Durant les 2 autres années, nous avons constaté que le nombre de nématodes finals comptés par plant chez les variétés locales M'ziraa, Biskra, et Guarta était inférieur au nombre de nématodes inoculés (Tableau 11). La variété Tolga a montré un Pf élevé juste pour 2012 alors que pour les variétés Ain Nagua, Sidi Okba et Doucen, excepté pour 2010, le nombre de nématodes finals comptés par plant était supérieur à celui des nématodes inoculés (Figure 29). Il faut aussi prendre en compte, lors de l'inoculation des plantes, l'estimation des pertes de nématodes qui peuvent être entre 67% - 93% selon Mercer et Grant, (1995). En fait, le phénomène matricide se produit fréquemment, la production des œufs est linéairement reliée à la température, avec 1.580 œufs au-dessus des températures optimums (Griffith *et al.*, 1997). Ce qui peut expliquer le faible taux de reproduction des nématodes au cours des mois qui ont suivis les inoculations des plantes où les températures étaient de 12.4 C° et 12.1 C° pour le mois de Décembre et Janvier, respectivement (Annexe 1).

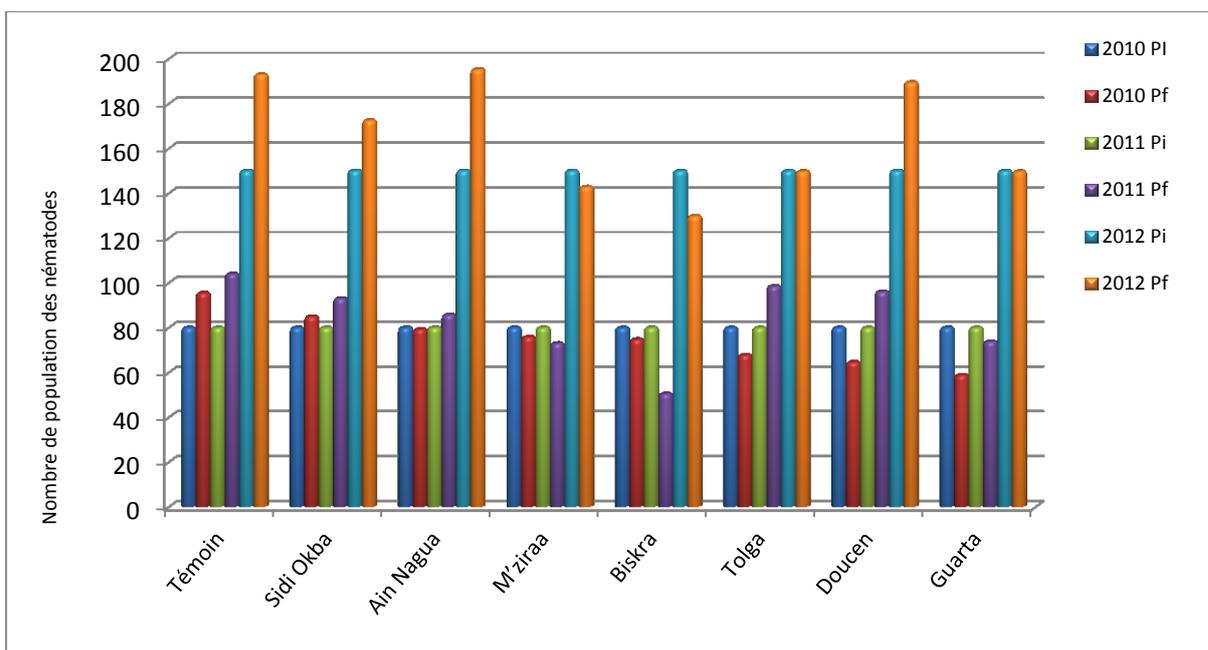


Figure 27 : Histogramme comparative du nombre de nématodes (Pi, Pf) durant 2010, 2011 et 2012

L'analyse de variance pour le paramètre nombre de nématodes/plantes montre qu'il y'a une différence significative entre les populations et la variété Séville durant les 3 années d'expérimentation 2010, 2011 et 2012 (Tableau 12). Les détails des résultats de l'analyse de variance sont repris en Annexe (Tableaux 2,3,4)

Tableau 12: L'analyse de variance pour le paramètre nombre de nématodes/plantes pour les années 2010, 2011 et 2012

	2010		2011		2012	
SOURCE	F	PR > F	F	PR > F	F	PR > F
MODELE	3,936	0,0005	16,233	< 0,0001	18,940	< 0,0001

Les résultats du classement en fonction du nombre des populations finales de nématodes selon la méthode de *Newman et Keuls*, au seuil de 1 %, ainsi que ceux du test de comparaison de *Dunnnett* des moyennes des populations finales du nombre d'effectifs de nématodes dans les plantes en sont repris aux Tableaux 13, 14 et 15.

Tableau 13: Résultats du test de *Newman et Keuls* sur le nombre de populations de nématodes finales sur les plantes de fève et du test de comparaison de *Dunnnett* des moyennes des populations finales du nombre d'effectifs de nématodes dans les plantes en 2010.

POPULATIONS	Test de <i>Newman et Keuls</i>	Test de <i>Dunnnett</i>	STATUT
	CLASSEMENT DES GROUPES	COMPARAISON AVEC SEVILLE	
TEMOIN	A	/	SENSIBLE
SIDI OKBA	A B	NON SIGNIFICATIVE	MOYENNEMENT RESISTANTE
AIN NAGUA	A B C	NON SIGNIFICATIVE	MOYENNEMENT RESISTANTE
M'ZIRA	A B C	NON SIGNIFICATIVE	RESISTANTE
BISKRA	A B C	NON SIGNIFICATIVE	RESISTANTE
TOLGA	B C	SIGNIFICATIVE	RESISTANTE
DAOUCEN	B C	SIGNIFICATIVE	RESISTANTE
GUARTA	C	SIGNIFICATIVE	RESISTANTE

Les résultats reportés dans le Tableau 13 montrent que la variété témoin Séville, classée seule dans le groupe A, semble être plus sensible que la population Guarta, classée résistante et seule dans le groupe C. Il semble aussi qu'il n'y a pas de différence significative entre les populations de: Sidi Okba, Ain Nagua, M'zira, et Biskra avec Séville. Par contre, les populations de Guarta, Daoucen et Tolga ont présenté une différence significative (Tableau N°13). Ce résultat est conforté par les résultats du deuxième test de *Dunnnett* par comparaison des populations de nématodes finales. En effet, le test de *Dunnnett* nous a permis de comparer les effectifs de larves de nématodes entre les populations locales et la variété témoin Séville. Les résultats obtenus (Tableau 13) nous montrent qu'il y a deux groupes. Le premier groupe regroupe les populations de Sidi Okba, Ain Nagua, M'zira et Biskra, qui semblent être résistantes, mais la différence est non significative avec la variété témoin Séville. Par contre, le deuxième groupe présente une différence significative avec la variété Séville, et il regroupe les populations locales de Tolga, Daoucen, et Guarta. Ces dernières, classées résistantes, ont présenté des moyennes de populations finales de nématodes inférieures à celles du témoin classé résistant. Ce qui peut indiquer que ces variétés sont aussi résistantes.

Tableau 14: Résultats du test de *Newman et Keuls* sur le nombre de populations de nématodes finales sur les plantes de fève et du test de comparaison de *Dunnnett* des moyennes des populations finales du nombre d'effectifs de nématodes dans les plantes en 2011.

POPULATIONS	Test de <i>Newman et Keuls</i>	Test de <i>Dunnnett</i>	STATUT
	CLASSEMENT DES GROUPES	COMPARAISON AVEC SEVILLE	
TEMOIN	A	/	SENSIBLE
SIDI OKBA	A B	NON SIGNIFICATIVE	MOYENNEMENT RESISTANTE
AIN NAGUA	A B	NON SIGNIFICATIVE	MOYENNEMENT RESISTANTE
M'ZIRA	A B	NON SIGNIFICATIVE	RESISTANTE
BISKRA	B C	SIGNIFICATIVE	RESISTANTE
TOLGA	C	SIGNIFICATIVE	RESISTANTE
DAOUCEN	C	SIGNIFICATIVE	RESISTANTE
GUARTA	D	SIGNIFICATIVE	RESISTANTE

Les résultats reportés au Tableau 14 montrent que la variété témoin Séville, classée seule dans le groupe A, semble être la plus sensible que la population Guarta, classée seule dans le groupe D comme résistante avec une différence significative selon le test Newman et Keuls à 1%. La même tendance est confirmée, qu'en 2010, pour les populations de Daoucen et Tolga, groupées dans la classe C, avec une différence significative avec le témoin Séville alors que pour la variété Biskra il y a une différence significative avec la variété Séville contrairement à ce qui a été observé en 2010. Pour le reste des populations Sidi Okba, Ain Nagua et M'ziraa le même constat est fait pour 2011 pour les tests effectués et le statut.

Tableau 15: Résultats du test de *Newman et Keuls* sur le nombre de populations de nématodes finales sur les plantes de fève et du test de comparaison de *Dunnnett* des moyennes des populations finales du nombre d'effectifs de nématodes dans les plantes en 2012.

POPULATIONS	Test de <i>Newman et Keuls</i>	Test de <i>Dunnnett</i>	STATUT
	CLASSEMENT DES GROUPES	COMPARAISON AVEC SEVILLE	
TEMOIN	A	/	SENSIBLE
SIDI OKBA	A	NON SIGNIFICATIVE	MOYENNEMENT RESISTANTE
AIN NAGUA	A B	NON SIGNIFICATIVE	MOYENNEMENT RESISTANTE
M'ZIRA	B	SIGNIFICATIVE	RESISTANTE
BISKRA	C	SIGNIFICATIVE	RESISTANTE
TOLGA	C	SIGNIFICATIVE	RESISTANTE
DAOUCEN	C	SIGNIFICATIVE	RESISTANTE
GUARTA	C	SIGNIFICATIVE	RESISTANTE

Les résultats indiqués au Tableau 15 montrent que pour 2012 la variété témoin Séville et la population Sidi Okba sont classées dans le groupe A, et que la variété la population M'ziraa est classée seule dans le groupe B avec une différence significative avec la variété témoin contrairement à ce qui a été observé lors des 2 autres campagnes en 2010 et 2011. Il n'y a pas de différence significative entre les populations de : Sidi Okba, Ain Nagua, avec Séville. Par contre, pour les populations de Guarta, Daoucen, Tolga et Biskra ont présenté une différence significative avec le témoin résistant Séville et ont confirmé leurs statuts de variétés résistantes (Tableau15).

3. IDENTIFICATION DES NEMATODES

3.1 Observations des symptômes sur les plantes de fève infectées sur les sites prospectés

Des échantillons de plantes de *V. faba*, présentant un gonflement et une déformation typique des tissus de la tige (Figure 28 C, D), souvent associés à des lésions superficielles de couleur brun-rougeâtre, qui sont devenues noires à un stade ultérieur de l'infection (Figure 28 D), ont été collectés dans la région de Biskra. Un raccourcissement des entre-nœuds (Figure 28, C), associé à des lésions nécrotiques localisées au niveau du collet et s'étendant à toute la zone située entre les entre-nœuds, a également été observé. Les graines récoltées, qui étaient également infectées par le nématode, semblaient plus foncées, plus tachées à la surface et de plus petites tailles, devenant plus foncées sur les graines séchées (Figure 28 A, B).

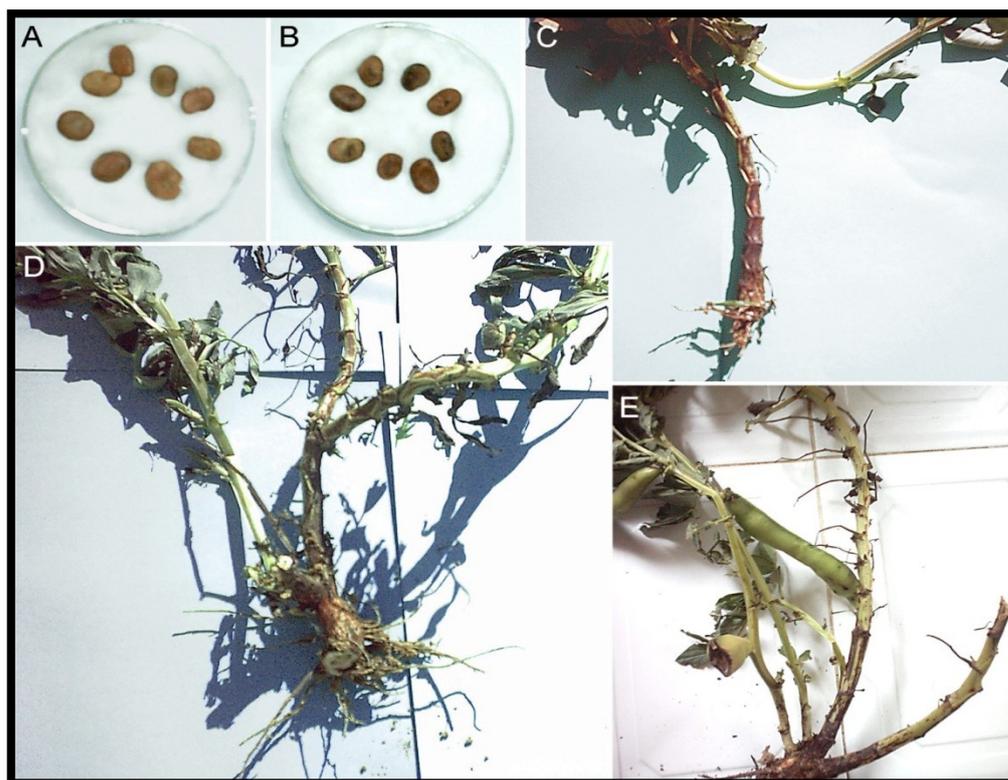


Figure 28 . Symptômes causés par *Ditylenchus* sur la féverole en Algérie. A: graines de d'haricots saines; B: graines d'fève infestées; C: jeune plant de fève montrant une nécrose brune et un raccourcissement des entre-nœuds; D: tiges déformées; E: plante avec nécrose à la base de la tige.

3.2. Les résultats morphométriques

Deux populations de *Ditylenchus* ont été collectées sur les plantes de la féverole: un correspondant à une race géante et la seconde à une race normale. Les caractères de diagnostic les plus significatifs pour l'identification des espèces avec des spécimens de nématodes de taille géante correspondaient bien à ceux précédemment rapportés pour *D. gigas* (Figure 29).

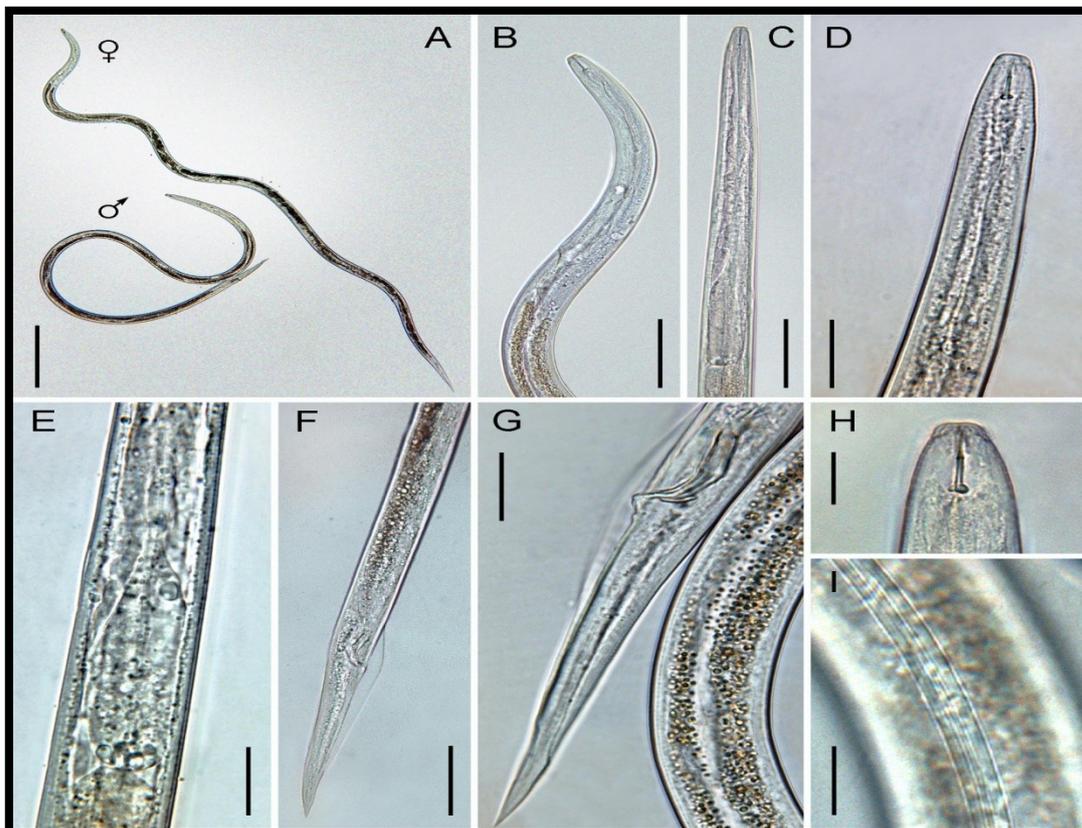


Figure 29. Photomicrographies de la population Biskra de *Ditylenchus gigas*.

A: Corps entier féminin et masculin; B, C: région pharyngée de la femelle et du mâle, respectivement; D: région antérieure femelle; E: lobe de la glande pharyngée femelle; F: extrémité postérieure masculine; G: queue mâle avec spicules; H: région de la lèvre femelle; H: champs latéraux femelle au milieu du corps. (Barres d'échelle: A = 200 μ m, B, C, F = 50 μ m, D, E, G = 20 μ m, H, I = 10 μ m).

Tableau 16 : Les mesures morpho métriques (femelles et mâles) des nématodes extraits de *Vicia faba* cultivée dans la région de Biskra

Paramètres	Les femelles	Mâles
N	20	18
L *	1816 ± 82,9 (1653-1927)	1624,7 ± 107,6 (1462-1947)
Longueur Stylet	12,0 ± 0,4 (11,5-13,0)	11,6 ± 0,5 (10,5-12,5)
V ou T (%)	84,2 ± 1,0 (81-87)	73,4 ± 8,1 (62,3-85,7)
Tête au centre de metacorpous	78,1 ± 5,5 (68-85)	75 ± 7,2 (60-81)
Pharynx (à cardia)	225,4 ± 5,3 (219-238)	200,5 ± 8,3 (185-214)
Pharynx (jusqu'au bout du lobe de la glande)	240,2 ± 3,2 (234-245)	212,5 ± 7,9 (200-226)
Tête vers les pores excréteurs	162 ± 17,2 (124-163)	153 ± 13,8 (127-175)
Longueur de spermathèque	127 ± 22,3 (97-163)	-
Distance vulve-anus	230 ± 21,1 (201-264)	-
PUS	132 ± 14,5 (96-157)	-
Longueur de queue	88,0 ± 6,5 (76,0-98,5)	82,0 ± 6,7 (72,5 à 91,0)
Diam Anal De Corps	18,5 ± 2,2 (15,0-22,0)	18 ± 1,5 (15,5-20,0)
Longueur du spicule	-	25,5 ± 1,5 (23,0 à 27,5)
Gubemaculum	-	8,5 ± 0,9 (7,0-10,0)
Une	42,2 ± 2,2 (38,6-46,0)	42,2 ± 2,2 (39,2-46,8)
B	8,1 ± 0,4 (7,3 à 8,6)	8,1 ± 0,6 (7,0 à 9,2)
b '	7,5 ± 0,3 (6,9-8,1)	7,6 ± 0,6 (6,7 à 8,9)
C	20,7 ± 1,8 (17,7-24,1)	19,9 ± 2,1 (16,4-23,5)
c '	4,8 ± 0,7 (3,4-6,6)	4,6 ± 0,6 (3,8-5,6)

1. A. Toutes les autres abréviations utilisées sont définies par Siddiqi (2000).

2. a Toutes les mesures sont en μ m, sauf indication contraire.

a= longueur du corps / largeur maximale du corps

b = longueur du corps / longueur œsophagienne

c = longueur du corps / longueur de la queue

3.2.1 Les résultats des mesures morpho métriques sur des spécimens femelles

Le nombre de sujets femelles analysés dans la région de Biskra est de 20 nématodes. La longueur totale pour les spécimens femelles étudiés est de $1815.9 \pm 82.9\mu\text{m}$ (Tableau 16). Ces moyennes sont relativement plus grandes que celles obtenues par (Volvas et al., 2011) sur des spécimens prélevés dans les trois régions du bassin méditerranéen (Italie, Liban et Espagne). Les caractéristiques morphologiques et morpho métriques (longueur totale et distance vulve queue) sont en accord aussi avec ceux publiés par (Tanha et al., 2013, Volvas et al., 2011). De même que pour la longueur du stylet qui est de $12.2 \pm 0.4 \mu\text{m}$ (Figure 31 (G)).

Les distances du pharynx à la fin du gland lobe sont de l'ordre de $240.2 \pm 3.2 \mu\text{m}$. Ceux de la tête à l'anus sont de $162 \pm 17.2 \mu\text{m}$. Pour le kyste ovulaire, la distance de la vulve à l'anus est de $230 \pm$

21.1 μm (Figure 30.(H)). En ce qui concerne la longueur de la queue nous avons relevé $88.2 \pm 6.5 \mu\text{m}$ chez les nématodes de Biskra (Figure 31 (F)).

3.2.2 Les résultats morpho métriques des nématodes mâles

Le nombre de spécimens mâles étudiés était de 18 nématodes. La longueur totale moyenne des mâles mesurés est de $1524.7 \pm 107.6 \mu\text{m}$. Nous avons observés que tous les paramètres morphologiques mesurés dans le cadre de cette étude sont relativement semblables à ceux des spécimens femelles, à l'exception des paramètres du système reproducteur (spermathèque et vulve). Ces derniers sont légèrement plus étroits que le reste du corps comme indiqués par d'autres auteurs (Tanha et al, 2013, Vovlas et al., 2011). La longueur moyenne du stylet est de $12.2 \pm 0.4 \mu\text{m}$. Celle du pharynx à la fin du gland lobe est de l'ordre de $212.7 \pm 7.9 \mu\text{m}$. La longueur du spicule est de 25.3 ± 1.5 (Tableau 16).

3.3 Synthèse des résultats morpho métriques

La race *D.gigas n.sp.*, se distingue de tous les autres espèces de *Ditylenchus* par plusieurs caractéristiques morphologiques. Le caractère diagnostique majeur et discriminant est la longueur du corps (Volvass et al., 2011).

En effet, les résultats obtenus sur les longueurs de corps des nématodes étaient de $1815.9 \pm 82.9 \mu\text{m}$ (1653-1927) pour les nématodes femelles et de $1624.7 \pm 107.6 \mu\text{m}$ (1462-1947) pour les mâles, ce qui indique clairement des valeurs supérieures à celles citées par (Volvass et al., 2011) pour *D. giga*. En fait, ces derniers, ont été observés chez les nématodes prélevés à Noci et Bari en Italie avec des moyennes de la longueur du corps qui étaient de $(1780 \pm 97.4 \mu\text{m})$ (1561-1932) pour les femelles et de $1557 \pm 98.2 \mu\text{m}$ (1373-1716) pour les mâles. Un autre paramètre discriminatoire entre les deux espèces de *Ditylenchus* est la distance de la vulve- anus où les résultats obtenus par Tanha et al., (2013), étaient de $217 \pm 21.0 \mu\text{m}$ (178-272) contre ceux de la population de nématodes femelle mesurés à Biskra avec 230 ± 21.1 (201-264).

Aussi, pour la longueur du stylet, les résultats obtenus par (Volvass et al., 2011) étaient de $12.0 \pm 0.4 \mu\text{m}$ (11.5-13.0) pour les femelles et de $11.6 \pm 0.4 \mu\text{m}$ (11.0-12.5) pour les mâles. Par contre, les nématodes issus de la région de Biskra, les valeurs ont varié de $12.2 \pm 0.4 \mu\text{m}$ (11.5-12.9) pour les sujets femelles et de $11.6 \pm 0.5 \mu\text{m}$ (10.7-12.4) pour les sujets mâles.

Pour la longueur de la queue nos résultats montrent des valeurs supérieures chez les spécimens femelles que celles obtenues par (Tanha et al., 2013). En effet, les longueurs étaient de $88.2 \pm 6.5 \mu\text{m}$ (76.1 – 98.7) pour les femelles, alors que celles des spécimens d'Iran elles étaient de $86.4 \pm 9.4 \mu\text{m}$ (66 to 102 μm). Pour ce qui est des spécimens mâles les longueurs étaient presque

identiques, avec $82.2 \pm 6.7 \mu\text{m}$ ($72.6 - 91.2 \mu\text{m}$) et $86.5 \pm 8.5 \mu\text{m}$ (71 to 95 μm), respectivement pour les spécimens de Biskra et de l'Iran (Tanha et al., 2013). De fortes similitudes ont été observées pour la longueur du spicule à partir des données citées par Volvas et al., (2013), pour des nématodes prélevés au Liban avec $25.5 \pm 0.8 \mu\text{m}$ (24.5-26.0), à Cordoba en Espagne avec $25.0 \pm 1.0 \mu\text{m}$ (24-26), et en Italie avec $24.8 \pm 0.8 \mu\text{m}$ (24-26), comparés à ceux des nématodes échantillonnés à Biskra avec $25.3 \pm 1.5 \mu\text{m}$ (22.9-27.7). La comparaison des différentes valeurs de paramètres morphométriques, obtenus pour des nématodes mâles et femelles, cités par (Tanha et al., 2013 et Volvas et al., 2011) avec les nôtres démontrent bien que l'ensemble des caractères étudiés se rapprochent et définissent les individus recueillis sur *Vicia faba* à Biskra comme étant *Ditylenchus gigas* et non *Ditylenchus dipsaci* *sensu stricto*.

3.4 Identification Moléculaire

En ce qui concerne les spécimens de race normale, les caractères de diagnostic (Figure 32) correspondaient bien à ceux rapportés pour *D. dipsaci*. De manière surprenante, les analyses moléculaires ont identifié les nématodes, considérés au départ de l'expérimentation comme la race normale de Biskra, comme étant *D. oncogenus* sur des féveroles de Biskra, considérée dès lors comme nouvelle plante hôte pour cette nouvelle espèce du complexe *Ditylenchus*. Jusqu'à la présente étude, il n'y a pas eu de rapports sur *D. oncogenus* ayant comme plante hôte chez *V. faba* suggérant que différents cultivars et différents climats peuvent influencer sur l'infectivité de cette espèce. Cependant, les symptômes induits par *D. oncogenus* sur la tige et le bulbe de *V. faba* semblent similaires à ceux observés sur des plants de chardon-Marie infectés, induits par les mêmes espèces de nématodes (Vovlas et al., 2016).

En effet, l'amplification des domaines ITS, des domaines d'expansion D2-D3 du gène 28S et de l'ADNr partiel 18S de *D. oncogenus* ont donné des fragments uniques de 942 pb, 791 pb et 905 pb, respectivement, basé sur le séquençage. L'amplification de la région ITS de *D. gigas* a donné un seul fragment de 963 pb, basé sur le séquençage.

Les profils de PCR-ITS-RFLP pour *D. gigas* et *D. oncogenus* sont présentés dans la Figure 30. Les profils de restriction des produits PCR pour chacune des six enzymes, *Alu* I, *Dde* I, *Hinf* I, *Pst* I, *Pvu* II et *Rsa* I, ont produit des profils spécifiques à chaque espèce pour les deux espèces identiques à ceux déjà signalés pour les espèces correspondantes, confirmant ainsi l'identification des 2 espèces à Biskra *D. oncogenus* et *D. giga* (Figure.32).

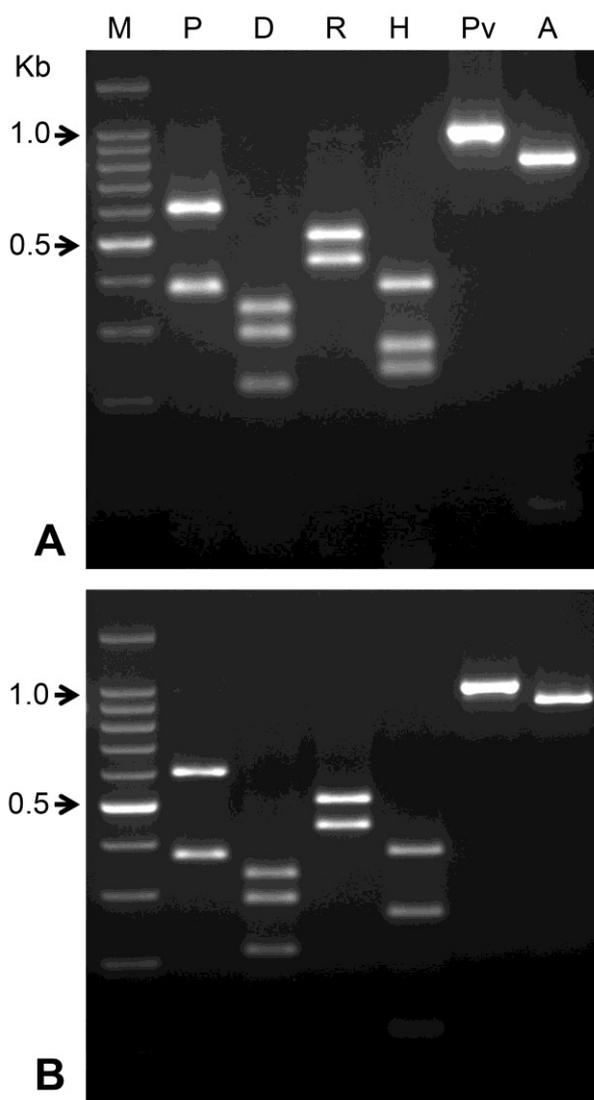


Figure. 30. Profils de restriction de la région ITS de *Ditylenchus gigas* (A) et *Ditylenchus oncogenus* (B) collectés sur *Vicia faba* de la région de Biskra.

Les séquences partielles d'ARNr 18S de *D. oncogenus* étaient identiques à celles de *D. oncogenus* de la base de données (100% de similarité), similaires à 99% de *D. gigas* et *D. weischeri* (8 à 9 nucléotides et 2 à 3 lacunes), suivies de *D. dipsaci* différant de 9 à 12 nucléotides. Les domaines d'expansion D2-D3 de *D. oncogenus* correspondaient bien (100% de soutien) à la région correspondante de *D. oncogenus* de la base de données, une similarité de 98 à 99 % avec *D. gigas*. et *D. weischeri* différant de 10 à 13 nucléotides parmi les populations. La région ITS du *D. gigas* algérien est bien appariée (similarité à 99%) avec les populations de *D. gigas* de la base de données différant de 7 à 12 nucléotides, suivies de *D. laurae* différant de 21 à 24 nucléotides (similarité à 98%), de *D. weischeri* différant de 24 à 28 nucléotides (97-98% de

similarité) et *D. dipsaci* différant de 34-38 nucléotides (similarité de 96-97%). La région ITS des spécimens de *D. oncogenus* correspondait bien (99% de similitude) à celle de *D. oncogenus* déposée dans GenBank, différant de 7 nucléotides, 98% similaire à *D. laurae* différant de 23 nucléotides et 97% semblable à l'ITS de *D. gigas*.

Les relations phylogénétiques de *D. gigas* et *D. oncogenus* de Biskra sur la base de d'un des alignements multiples édité des régions ITS1-5. 8S-ITS2 comprenant 27 séquences et 1253 caractères au total en utilisant la méthode de vraisemblance maximale ont produit l'arbre ML, comme indiqué à la Figure 31.

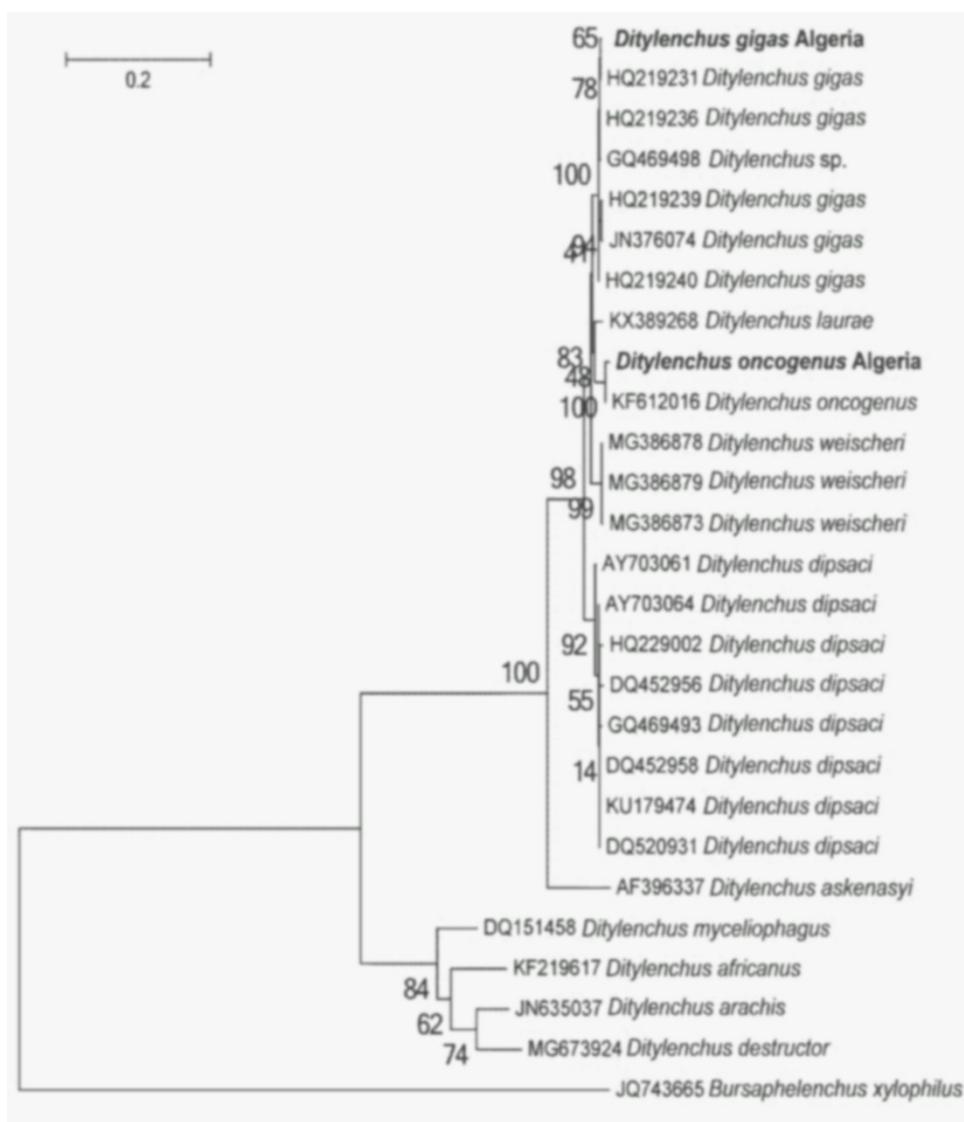


Figure. 31. Arbre phylogénétique de la région contenant l'ITS décrivant les relations évolutives entre les espèces de *Ditylenchus* à l'aide de la méthode de vraisemblance maximale (ML). Les longueurs de branches sont proportionnelles aux distances telles que dérivées de la matrice de distance obtenue à l'aide de la méthode GTR avec les options site invariant plus gamma. Les nombres aux nœuds indiquent les valeurs de bootstrap

Cet arbre ML indique deux clusters principaux. Le premier groupe a révélé les relations étroites existantes entre le genre *Ditylenchus* regroupées en trois espèces *D. dipsaci*, *D. gigas* et *D. oncogenus algériens* regroupés avec toutes les populations correspondantes de GenBank, *D. laurae* Skwiercz, Kornobis, Winiszewska, Przybylska, Obrepalska-Stepłowska, Gawlak et Subbotin, 2016 et *D. weischeri*, avec un soutien élevé. De plus, *D. oncogenus* a montré une relation étroite avec *D. laurae*. Le sous-groupe II a regroupé toutes les populations de *D. dipsaci*. Ainsi, toutes les espèces *Ditylenchus* se sont regroupées dans un groupe monophylétique, montrant à la position de base *D. askenasy* (soutien à 100%). Le second groupe comprends *D. destructor*, *D. africanus*, *D. myceliophagus* et *D. arachis* confirmant des données antérieures obtenues avec différents marqueurs moléculaires (Qiao et al., 2016).

4- CARACTERISATION MOLECULAIRE DES POPULATIONS LOCALES DE FEVE

4.1 POLYMORPHISME DES SSR ET INDICES DE LA VARIABILITE GENETIQUE

Les résultats d'amplification des 24 amorces utilisées ont indiqué que seule 6 amorces SSR ont donné des produits d'amplification. Pour les amorces qui n'ont pas amplifiées, malgré des répétitions allons jusqu'à 4 fois, nous supposons beaucoup plus un problème avec leur qualité vu qu'elles étaient utilisées dans d'autres études. Les amorces ayant amplifié, elles ont montré une amplification avec un ou deux fragments par génotype, et pour certaines plus de 2 fragments. Conventionnellement, les génotypes montrant un seul allèle amplifié sont considérés comme des homozygotes, alors que dans le cas de la présence de deux fragments, le génotype est considéré comme hétérozygote pour le locus. Au total 24 allèles ont été amplifiés sur les 27 accessions représentant 7 populations. Le nombre d'allèles était de 3 allèles (Vfg14 et Vfg87) à 6 allèles (GAI18) avec une moyenne de 4 allèles par locus (Tableau 5).

La fréquence allélique a varié de 0,018 (pour l'allèle 171 au loci CAAS8 et Vfg87) à 0,738 (pour l'allèle 224 pb au locus Vfg14) (Tableau 17). La taille des allèles a varié de 153 pb pour CAAS8 et VFG87 à 350 pb pour Jf1-AG3. De plus, 6 allèles sont privés à certains cultivars amplifiés avec les loci GBSS52, Vfg14 et CAAS8 (Guarta et Daoucen), le locus GAI18 (Ain Nega) et les loci Jf1-AG3 et Jf1-AG3 chez Séville.

L'hétérozygotie attendue H_e a varié entre 0,267 à 0,534 au loci Vfg14 et GBSS52, respectivement (avec une moyenne de 0,398). L'hétérozygotie observée H_o a varié entre 0,238 (Vfg14) à 0,345 (GBSS52) avec une moyenne de 0,401. L'indice de fixation de Wright (Figure 32). Pour les 4 loci ce paramètre est négatif, ce qui indique un excès d'hétérozygotie. Alors que

pour les 2 SSR (Vfg14 et GAI18) ce paramètre est positif indiquant un déficit en hétérozygotie (Tableau 18).

Considérant que, le PD indique l'efficacité d'une paire d'amorces à distinguer entre les cultivars, il a varié de 0,626 (Vfg14) à 0,829 (GBSS52) avec une valeur moyenne de 0.714 (Tableau 18). Il est intéressant de noter que les valeurs élevées du PD ne correspondent pas forcément à un nombre plus élevé d'allèles détectés par un marqueur SSR. Dans l'ensemble, un nombre élevé de génotypes est souvent associé à une valeur PIC élevée, sauf pour le locus CASS8, indiquant le fort potentiel d'informativité des marqueurs SSR utilisés.

Excepté Vfg87, tous les autres marqueurs SSR ont montré une fréquence allélique nulle (r) sous le seuil de 0,20, au-dessus duquel une signification surestimée de l' He due aux allèles nuls peut être trouvée (Chapuis and Estoup, 2007).

La probabilité totale d'identité a été rapportée à 8.93×10^{-4} . Cette faible valeur explique que la probabilité de trouver deux individus avec le même profil génotypique et presque nulle (do Val et al., 2013).

Tableau 17: Tailles et fréquences des allèles pour SSRs loci analysés sur les populations de la fève

Locus	Tailles et fréquences des allèles			
Vfg14	218	224	232	
	0,071	0,738	0,190	
Vfg87	153	157	160	171
	0,637	0,250	0,095	0,018
CAAS8	153	157	160	171
	0,637	0,250	0,095	0,018
GBSS52	217	221	276	290
	0,333	0,018	0,411	0,238
Jf1-AG3	307	315	328	350
	0,036	0,685	0,036	0,244

Tableau 18: Polymorphisme des SSR et statistiques F dans les cultivars étudiés

Locus marqueur	Na	NG	Ho	He	Fis	PD	PIC	R	ID
Vfg14	3	4	0,238	0,267	0,108	0.626	0.386	0,19	0,36
Vfg87	3	3	0,369	0,303	-0,218	0.733	0.528	0,210	0,25
CAAS8	4	7	0,440	0,424	-0,040	0.708	0.467	0,05	0,400
GBSS52	4	6	0,548	0,534	-0,026	0.829	0.595	0,06	0,32
Jf1-AG3	4	4	0,464	0,380	-0,220	0.694	0.381	0,107	0,337
GAI18	6	6	0,345	0,478	0,277	0.695	0.600	0,197	0,205
Mean	4	5	0.401	0.398	-0,020	0,714	0,493	0,136	0,312

Nombre d'allèles détectés (Na), probabilité d'identité (ID), (NG) nombre de combinaisons d'allèles notées, l'hétérozygotie observée (Ho) et attendue (He), l'indice de fixation (Fis), le pouvoir de discrimination (PD), le contenu de l'information polymorphique (PIC) et la fréquence de l'allèle nul (R).

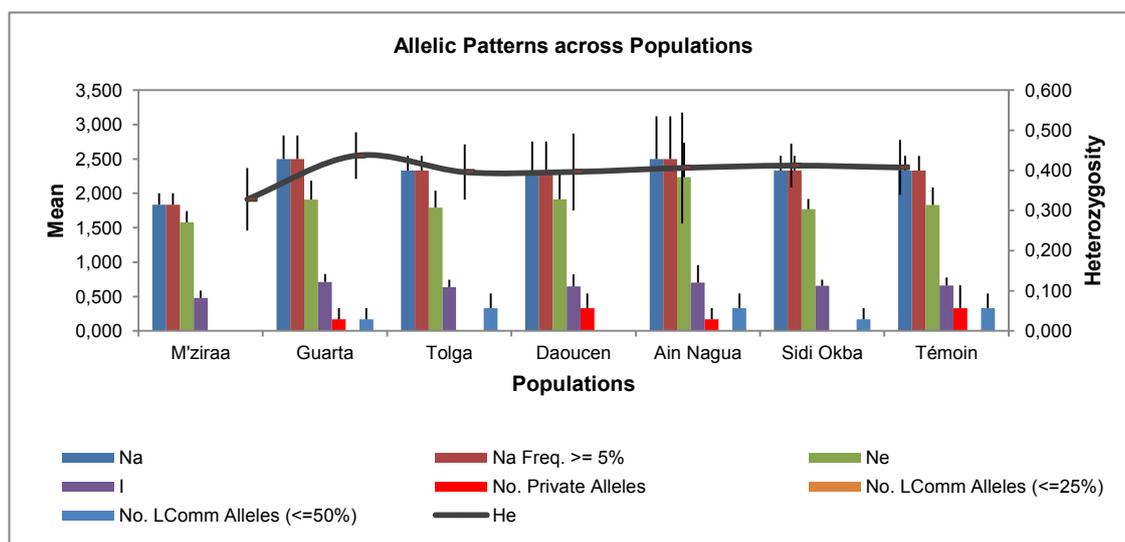
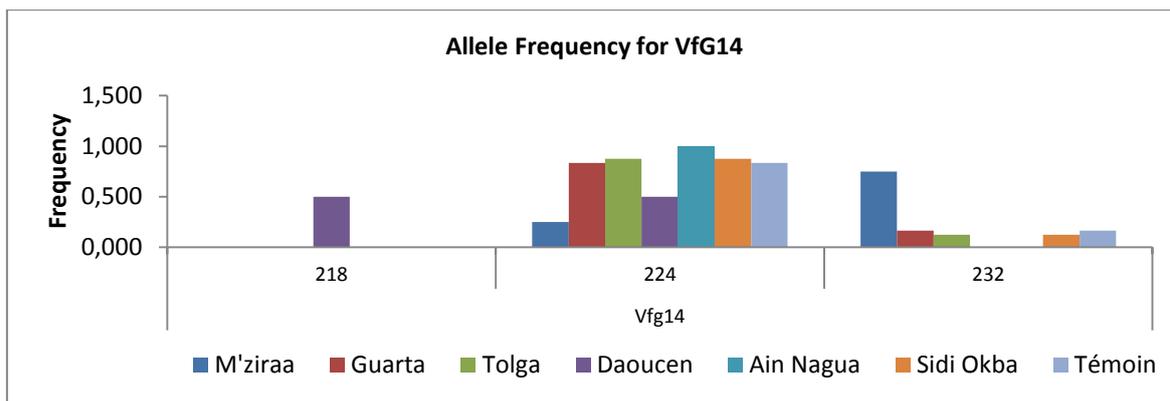
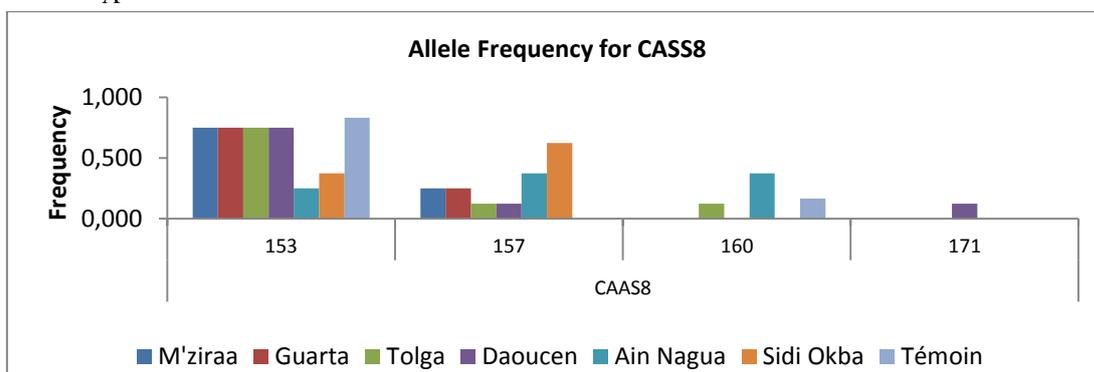


Figure 32 : Représentation graphique de quelques indices génétiques

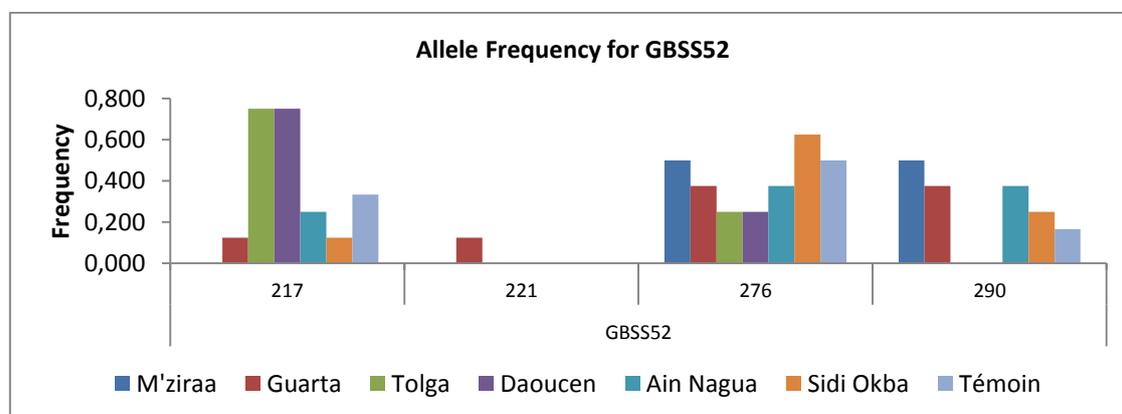
La Figure 33 indique les fréquences alléliques pour certains loci ayant amplifiés des allèles privés présents soit chez des cultivars ayant exprimé une résistance aux nématodes GBS52 (Guarta), CASS8 et Vgf14 Daoucen), ou des variétés ayant exprimé une sensibilité JfAG3 (Séville) et GAI18 (Ain Nagua).



A



B



C

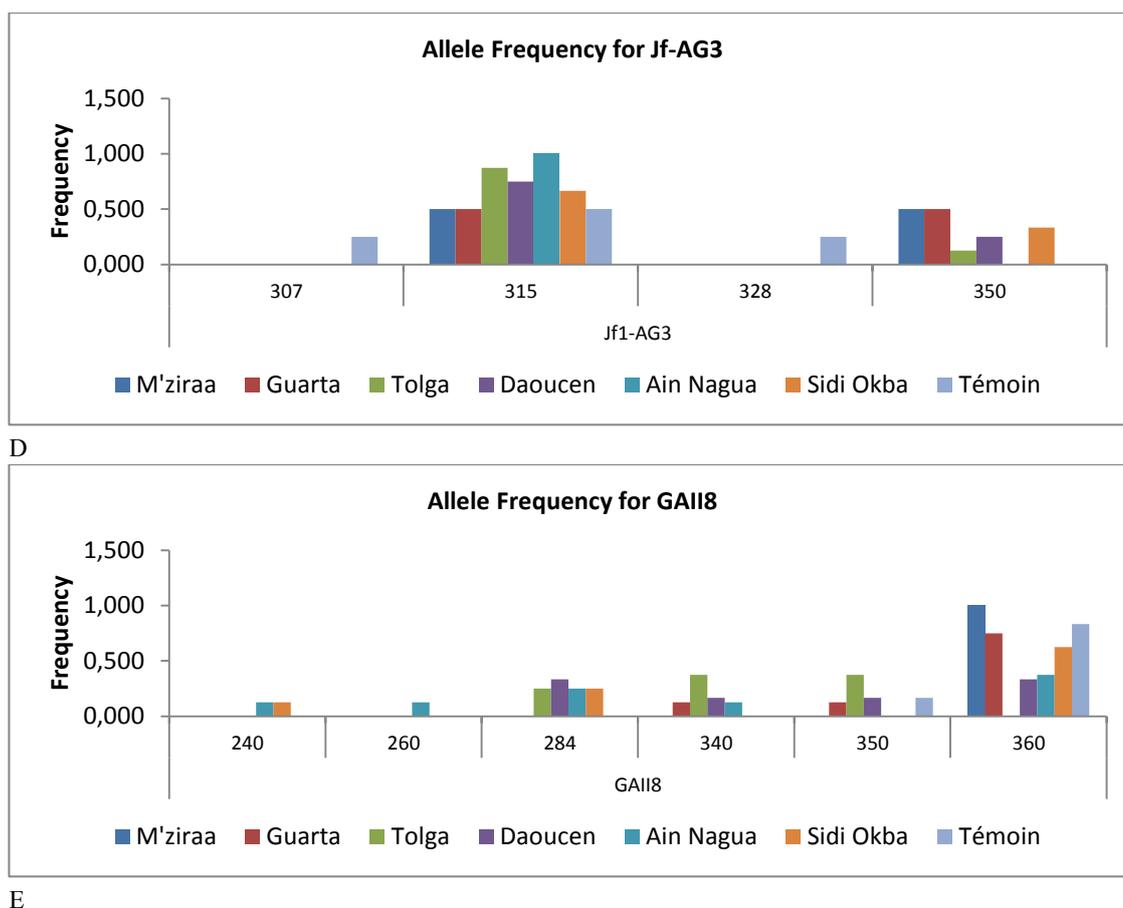


Figure 33 : Fréquence d'allèles pour les loci (A) VfG14 ; (B) CASS8, (C) GBS52, (D) Jf1-AG3 et (E) GAI18.

4.2. PROFILS D'IDENTIFICATION DES CULTIVARS

L'analyse et la combinaison des 26 allèles amplifiés par les SSR amplifiés ont permis de différencier les 7 populations étudiées (Figure35). Les résultats montrent que la combinaison des modèles alléliques trouvés avec les SSR amplifiés est capable d'identifier toutes les individus, puisque chaque variété est caractérisée par un profil génétique unique. Aucun marqueur SSR unique n'a été capable de distinguer tous les échantillons. Les résultats des profils SSR montrent qu'un nombre relativement élevé de profils uniques est observé à l'exception des loci VfG14 et VfG87 sans profils uniques. Parmi les 7 populations, un taux de polymorphisme élevé a été observé avec un maximum de 100% pour les variétés Guarta, Tolga, Sidi Okab et Séville, et un minimum observé chez Ain Nagua avec 66.67% avec une moyenne de 90,48% **Figure 3**.

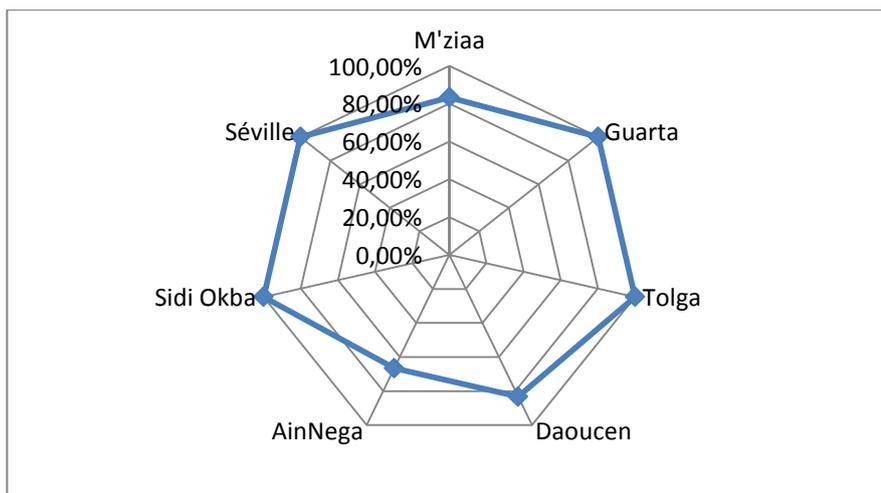


Figure 34 : Pourcentages des loci polymorphes

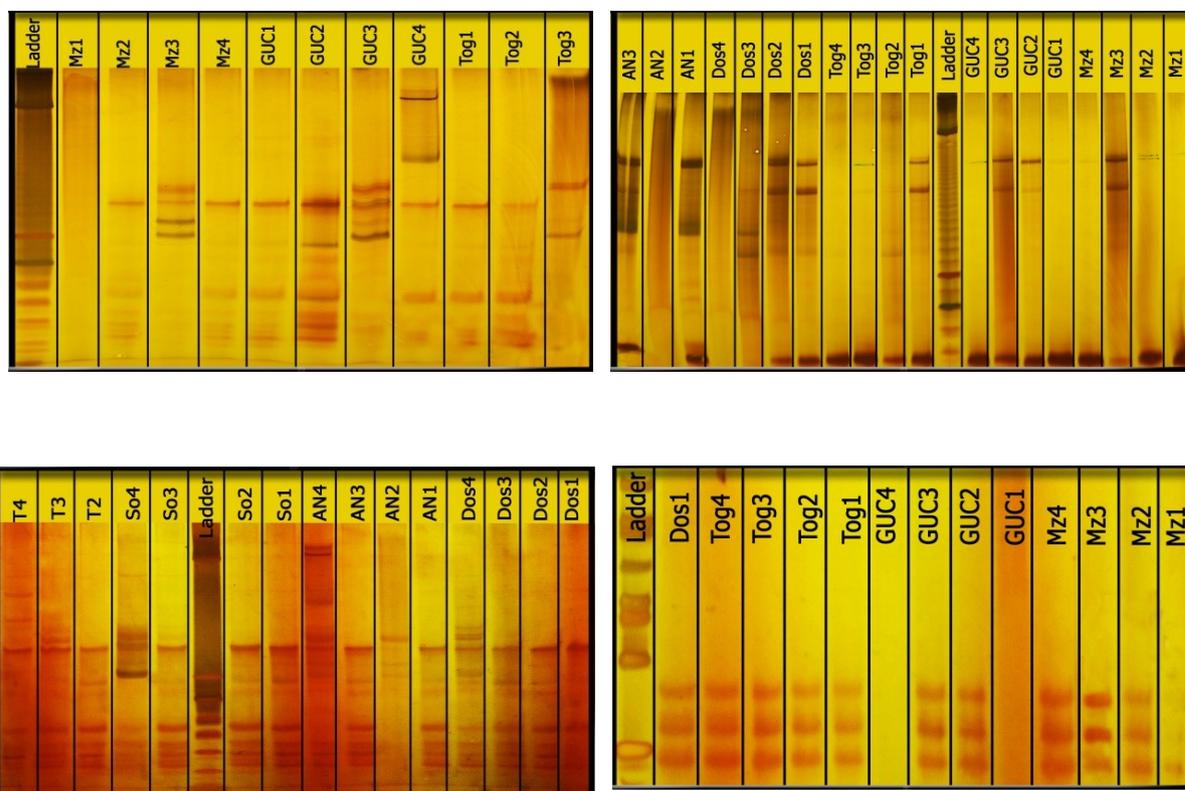
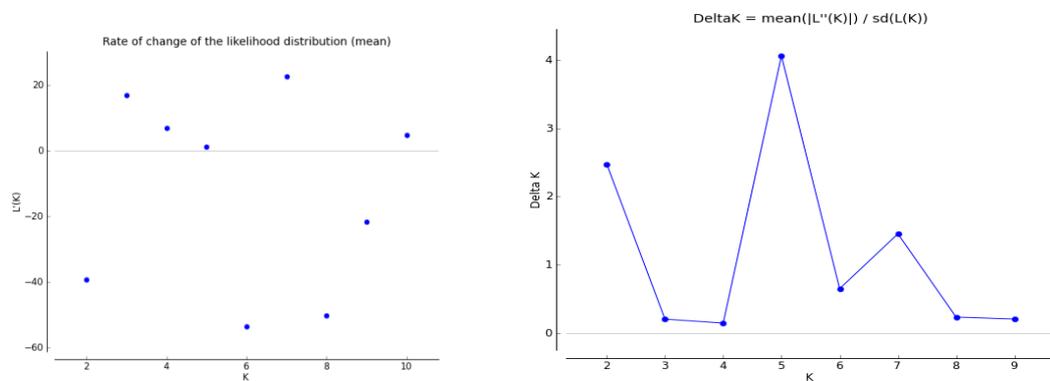


Figure 35: Exemples de profils d'amplification SSR générés par les amorces et CASS8, VfG14et GBSS52.

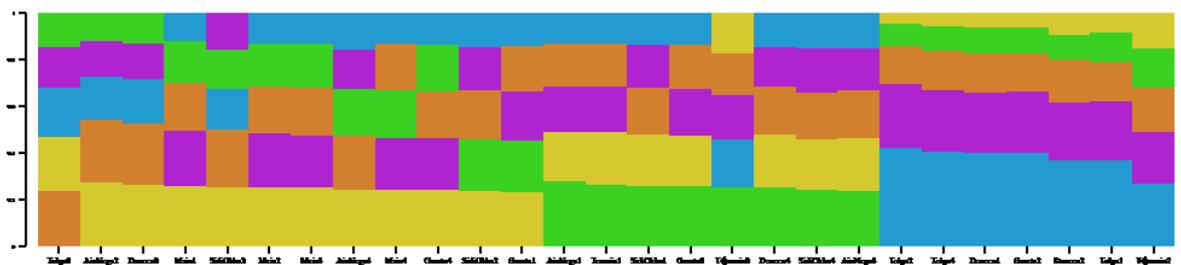
4.3. STRUCTURE DE LA DIVERSITE GENETIQUE

En utilisant le logiciel STRUCTURE, basé sur une méthode biaisée qui permet d'associer le profil génétique avec une distribution spatiale, ou à des caractères morphologiques communs. Les estimations de la log-vraisemblance des données ont été obtenues pour chacune des 10 séries

indépendantes pour chaque valeur K , allant de 1 à 10. Le nombre le plus probable de clusters (K) des individus de la fève a été évalué en tenant compte du critère de plateau (Pritchard) et de la distribution de Δk (méthode Evanno, **Evanno et al., 2005**). La courbe log- vraisemblance moyenne a atteint une valeur maximale autour de $K= 2$ et $K = 5$, la cohérence entre différentes simulations au sein de chaque K (parmi 10 séries) est évaluée et visualisée à travers le coefficient de similarité (Figure 36). Les populations de la fève dattier sont regroupées en deux cinq de pools génétiques distincts ($K = 5$). En fait, il semble que la plus grande partie de la variabilité générique s'explique par les différences au sein des individus (83%), alors que 17% de la variance totale est observée entre les populations. Cependant, l'indice $F_{ST} = 0,168$ explique une différenciation modérée.



(a)



(b)

Figure 36 : Analyse de la structure de la population. a) Détermination de la valeur optimale de K ($L_n(P)$, la moyenne de la probabilité et le second graphe ordre de changement en fonction du K (ΔK). b) structure inférée de la population de fève ($K = 5$). Chaque individu est représentée par une barre verticale (en utilisant STRUCTURE Plot v.02.) Et la longueur de chaque segment coloré représente l'appartenance de chaque structure.

DISCUSSION GENERALE

Ce travail représente la première étude d'identification précises des espèces de nématodes du complexe *D. dispaci* en sur fève Algérie et un premier essai pour l'étude de la variabilité d'expression de la résistance au nématode de tige en Algérie.

En plus du suivi des symptômes phénotypiques extériorisés tout au long du cycle de la fève suite aux inoculations artificielles aux nématodes, un total 24 marqueurs microsattellites polymorphes disponibles dans la littérature (Pozarkova et al., 2002 ; Zeid et al., 2009, Ma et al., 2013 Suresh et al., 2013 YAHIA ET AL 2014.) ont été amplifiés sur les variétés populations locales et le témoin résistant pour détecter si la variabilité existantes dans de l'expression de la résistance aux nématodes est liée à certaines régions chromosomiques des marqueurs SSR utilisés..

1.- Identification morpho-métriques et moléculaire des espèces du genre *Ditylenchus*

Au cours de notre travail, nous avons procédé à une identification morphologique et moléculaire des nématodes de *D. Dispaci* collectés dans les régions de Biskra et Guelma sur la culture *Vicea Faba*. Les mesures morphologiques effectuées sur les individus mâles et femelles nous ont permis de distinguer et d'identifier que les nématodes utilisés pour l'inoculation des plantes sont bien les espèces race *D. gigas* n.sp. (Race géante) et *D. Dispaci* (race normale). En effet, les résultats obtenus pour la longueurs du corps, la longueur du stylet ainsi que d'autres paramètres, détaillés dans la section résultats, des nématodes collectés dans les régions de Guelma et de Biskra indiquent clairement des valeurs relativement supérieurs à celles cités par Volvas et al., (2011) et confirme ainsi la présence de *D. gigas* en Algérie.

De même, l'identification moléculaire de l'espèces *D. dipsaci* est essentielle pour une identification rapide et correcte au niveau de l'espèce. Ainsi, l'identification moléculaire réalisée dans cette étude a permis d'établir la présence de *D. gigas* et *D. oncogenus* chez *V. faba* à Biskra. Cette découverte suggère fortement que *D. gigas* et *D. oncogenus* présentent une tolérance élevée au climat sec et un potentiel élevé d'invasion et d'adaptation à différents environnements et plantes hôtes. Il est à noter que *D. oncogenus* a déjà été trouvé sur des plants de chardon des champs infectés dans les champs naturels alors qu'en Algérie, il a été trouvé sur la féverole, une nouvelle plante hôte. On peut supposer que les plantes adventices peuvent servir de réservoirs à d'autres plantes de grande culture. Cette découverte met en évidence la nécessité de réorienter les études visant à étudier la gamme d'hôtes du nématode et à rechercher la

résistance et la sélection. De plus, des mesures de contrôle sont nécessaires pour empêcher la propagation de *D. oncogenus* .

2.Évaluation de la résistance des variétés populations de fève au nématode de tige

La méthode d'estimation de la résistance suivie dans notre essai s'est basée principalement sur deux indicateurs à savoir la notification des symptômes extériorisés et le comptage des populations finales du nématode inoculer.

La caractéristique importante de la résistance des plantes aux nématodes est son efficacité en culture naturelle est primordial pour la durabilité d'une agriculture saine et un équilibre environnementale. Des méthodes d'estimation de la résistance, fondées sur la caractérisation des symptômes extériorisés précocement après l'inoculation artificielle de plantules, ont été proposées (Bingefors et Eriksson, 1968; Bingefors, 1971), discutées (Caubel, 1974; Caubel et al, 1977) et utilisées pour la création de variétés dans certains pays. Au cours de notre travail, nous avons procéder à une évaluation de la résistance aux nématodes *Ditylenchus dipsaci* sur 7 populations locales de fève originaires des régions de Biskra et la variété (Séville) connue pour sa résistance à ce nématode.

En premier lieu, nous avons étudié les stades phénologiques durant deux campagnes et (2011-2012), les résultats obtenus, illustrent une bonne croissance progressive des tiges de la plante hôte au niveau de toutes les variétés étudiés avant l'inoculation artificielle aux nématodes. Ceci est expliqué par les conditions favorables du développement de la fève dans cette région, notamment la température et l'humidité. En effet, nous avons enregistré des températures durant les mois de décembre, janvier, février, mars avec des moyennes de 13°C, 12°C, 16°C, respectivement (20110, 1011, 2012) favorables au développement du nématode de tige et de la fève. De même, selon Aslam (2001), les conditions fraîches et humides sous serres favorisent l'invasion des jeunes tissus végétaux par ce nématode. L'activité maximale et la capacité invasive sont généralement comprises entre 10 et 20 ° C.

Au cours de la floraison, au mois de décembre, nous avons remarqué une différence de 30 jours entre les variétés locales et le témoin Séville. En fait pour cette dernière elle a duré un mois et 18 jours et deux mois et 20 jours pour les populations locales. Cette différence pourrait, d'une part, s'expliquer par l'adaptation des populations locales par rapport à la variété Séville et, d'autres parts, par la physiologie et les réponses et réactions des variétés aux inoculations

artificielles aux nématodes. La préciosité de floraison, qui joue un rôle important sur le plan économique, a été observée chez l'ensemble des variétés. Cependant le nombre d'étages de gousses moyen était plus élevé chez les populations locales que chez la variété Séville. Ceci est fort probablement dû au fait que la variété Séville est plus sensible aux attaques par les nématodes qui affaiblissent les plantes.

Le nématode à tiges et bulbes, *Ditylenchus dipsaci*, qui est un phytopathogène dangereuse bien que ses habitats soient principalement circonscrits aux zones tempérées, y compris le bassin méditerranéen. Plusieurs auteurs signalent que le cycle de vie complet de la reproduction du nématode de la tige et du bulbe est de 19 à 25 jours (œuf à œuf). Nous pouvons déduire que les conditions sous serre ont été aussi favorables à la reproduction de ce nématode surtout que l'extériorisation des symptômes a été observée à une moyenne de 55 jours après l'inoculation, durée reportée par plusieurs auteurs sur *Vicia faba*. De plus, l'importance des dégâts causés varie selon les conditions climatiques mais aussi selon le mode de contamination des cultures, par le sol ou par la graine (Esquibet, M, et al 2003). Le symptôme le plus pertinent pour établir des comparaisons entre les cultivars est le gonflement des tissus des tiges et des feuilles seul symptôme de multiplication du nématode sur ces parties et les plus visibles (Leclercq, D et G Caubel, 1991).

La notification des symptômes extériorisés.

L'inoculation artificielle en conditions contrôlées est très efficace puisque la quasi-totalité des plantes sont pénétrées par *D. dipsaci*.

Deux catégories de symptômes sont extériorisées selon le type de matériel végétal: soit un gonflement des tissus et un raccourcissement du bourgeon axillaire inoculé, soit une lésion nécrotique au voisinage du point d'inoculation. Le premier symptôme a été très fréquemment observé chez Séville et les variétés populations locales Biskra, Ain naga et Sidi okba. Alors que le deuxième n'est apparu que sur les populations Tolga, Doucen M'ziaa et Guarta. Une corrélation existe entre ces deux types de symptômes et le taux de multiplication du nématode. Ainsi le gonflement des tiges et le raccourcissement du bourgeon axillaire est toujours associé à une bonne multiplication du nématode dans les plantes, alors que la lésion nécrotique à son mauvais développement dans la plante. Globalement, la multiplication des nématodes semble

être plus importante chez Séville, et les variétés populations locales Biskra, Ain naga et Sidi okba. Par contre pour les variétés populations de Tolga, Doucen M'ziaa et Guarta le nématode semble se multiplier difficilement. Il existe donc une variabilité de la multiplication du nématode selon les variétés de fève étudiées dans cet essai. En d'autres termes, la réponse des populations inoculées avec les nématodes est variable. Les notifications enregistrées dans notre expérimentation selon l'échelle de Hanounik et al., (1986) nous ont permis de classer les réponses des plantes en trois groupes (sensibles, moyennement résistantes, résistantes). En fait, la plupart des populations locales s'avèrent plus résistantes que la variété Séville, classée résistante par l'INRA de France, mais dans notre essai semble sensible à très sensible, suivie par les populations Biskra, Ain naga et Sidi okba. Plusieurs auteurs, et notamment Bingefers, S (1970), rapportent que *D. dipsaci* envahit les plantes résistantes à un degré moindre que les plantes sensibles.

Le comptage des populations finales du nématode inoculé

De même, l'estimation du nombre final de nématodes par plant de fève a classé la variété Séville relativement sensible avec le plus grand nombre de populations finales de nématodes (Pf) en comparant avec les populations locales pour 2010, 2011 et 2012, suivie par les populations locales de Ain naga, Sidi okba, Biskra et M'ziaa, qui ont enregistré des densités des populations finales plus faibles que celles du témoin, mais bien entendu, avec un nombre plus élevé de nématodes par rapport à l'inoculation initiale. Cependant, nous avons observé que la population Biskra a enregistré, en 2013, un Pf plus élevé que les deux années précédentes, ceci est confirmé aussi par les résultats obtenus avec la classification obtenue à l'échelle de Hanounik et al., (1986). Ceci pourrait s'expliquer soit par une erreur de manipulation où à une double inoculation par les nématodes a été faite sur les plantes, mais cette probabilité est très faible, soit à la qualité des graines utilisées en 2012 qui n'étaient pas du même lot utilisé lors des deux premières années. En fait, en raison de l'incident survenu dans la serre du département d'agronomie, où le matériel végétal, plantes fanées et semences, ont été jetées sans que la doctorante soit consultée, ce qui nous oblige à faire une deuxième collecte dans les sites.

Contrairement au premier groupe de variétés, les populations locales de Tolga, Doucen et Guarta ont enregistré une diminution des Pf comparées au témoin Séville et les autres populations locales pour les trois années d'expérimentation 2010, 2011 et 2012. On signale aussi que la population de Guarta a enregistré le taux le plus faible de Pf durant toute l'étude.

Il ressort clairement des résultats de cette étude qu'il existe une différence significative entre le témoin et les populations locales. Cela est traduit par le degré de sévérité des symptômes extériorisés suites la double inoculation artificielle aux nématodes. Pour Séville, Sidi okba et Biskra, elles avaient des symptômes plus prononcés comparées au reste des populations, elles ont commencé par les nécroses, puis les gonflements et enfin des distorsions et des déformations des tiges. On peut donc en conclure que suite à l'expérimentation, des trois ans sous serre, les populations locales comparées, à la variété témoin Séville, exprime une résistance relative au nématode *D. dipsaci* et *D. gigas*.

3.-Estimation de la variabilité génétique chez les populations étudiées

La caractérisation traditionnelle en utilisant des paramètres morphologiques et agronomiques est couteuse et moins précise pour la différenciation entre des génotypes. Elle est, d'une part, influencée par l'environnement, et elle requière souvent l'analyse d'un grand nombre de paramètres de plusieurs organes. Dès lors, la caractérisation moléculaire par l'utilisation de 24 marqueurs moléculaires de type SSR sur 7 populations représentés par 27 individus de fève a permis, pour la première fois, d'évaluer l'état de la diversité des populations locales de fève en Algérie en liaison avec l'expression de la résistance aux nématodes tige, inoculés artificiellement, afin d'identifier si éventuellement cette résistance est liée à certaines régions chromosomiques des marqueurs SSR utilisés.

Les 24 marqueurs SSRs utilisés dans cette étude, n'ont pas tous amplifiés, et ont déjà été utilisés sur différents cultivars de fève de différents pays. Une variabilité génétique élevée a été observée dans cette étude. Le nombre d'allèles a varié de 3 à 6 par locus et la fréquence allélique a varié de 0,018 à 0,738. Ces résultats sont dans la marge du nombre amplifié par les amorces sur d'autres cultivars évalués dans différentes études (Sadiki, Duc, and Furman 2006 ; Maras et al., 2013 ; Suresh et al., 2013; Yahia et al., 2014). L'hétérozygotie attendue H_e a varié entre 0,267 et 0,534 et est un peu plus faible comparée à d'autres études sur la fève (Maras et al., 2008 ; Yahia et al., 2014). Les valeurs H_e et PD ont révélé pour chaque amorce une grande variabilité génétique et une efficacité de discrimination parmi les génotypes. En effet, des valeurs plus élevées de H_o comparées à H_e ont été observées pour huit marqueurs SSRs (Tableau 3), ce qui est reflété par les valeurs négatives de F_{is} . De plus, ces valeurs négatives, 4/6 loci, suggèrent un excès d'hétérozygotes.

De plus, le PIC de certains SSR amplifiés est dans la marge de ce qui a été publié (Zeid et al., 2009). Dans tous les cas, la valeur du PIC reste impactée par l'apparition de variant par locus et

allèles. Il est important de souligner que la comparaison faite avec d'autres études doit être faite avec prudence car les loci et le nombre de cultivars et leur origine sont le plus souvent totalement différents.

Dans cette étude, 6 allèles privés à certains cultivars ont été amplifiés par 5 loci. Le plus intéressant est que ces allèles ont été répartis en parfaite concordance avec la classification de des cultivars sensibles résistants aux nématodes, donnée par les tests de Newman et Keuls et classification des moyennes du Dunnett. Il s'agit 1) des cultivars Guarta et Daoucen, classés résistants avec une différence significative avec le témoin, qui ont amplifié 3 allèles uniques au loci (GBSS52, Vfg14 et CAAS8), 2) les Ain Naga et Séville classés sensibles et qui ont amplifié 3 allèles unique au loci (GAI18, Jf1-AG3).

Souvent, des allèles « privés » pourraient indiquer la présence de génotypes particuliers avec des allèles uniques dans une population et pourraient donc être un indicateur d'accessions potentielles présentant un trait intéressant propre à l'amélioration des cultures. Leur présence peut être due soit à un taux élevé de mutation dans les loci SSRs (Henderson et Petes, 1992), soit à de possibles sélections d'allèles spécifiques dans certaines accessions associées à leur morphologie et à leur (s) domaine (s) d'adaptation (Samanthi et Prasana, 2012).

Dès lors, on pourrait émettre une hypothèse que ces marqueurs SSR pourraient être liés à des séquences génomiques contenant des gènes de résistance aux nématodes de tige. En ce sens, l'hypothèse formulée doit être vérifiée en augmentant le nombre de populations testées et en effectuant des programmes de croisements.

Les résultats obtenus avec STRUCTURE ont indiqué que la meilleure valeur de K qui inclue la majorité de la variabilité de la fève est 5. Le coefficient d'appartenance a montré un mélange des différents pools génétiques et possèdent donc des origines métissées, ce qui est attendu pour des variétés populations. De plus, Kalinowski et al., (2011), soulignent que les clusters produits par STRUCTURE peuvent être fortement influencés par la variation de la taille de l'échantillon. Enfin, l'analyse avec STRUCTURE n'a pas pu identifier des populations définies suivant leurs origines géographiques. De même, utiliser une méthode ad hoc basée sur une succession d'assomption pour inférer une valeur réelle de K qui représente au mieux les données peut ne pas avoir de signification biologique claire.

Le degré de la différenciation hiérarchique généré par STRUCTURE a été analysé par l'AMOVA. Les résultats ont révélé un niveau élevé de variabilité (83%) réparti au niveau des clusters génétiques (au sein de la population), tandis que la variabilité parmi la population est seulement de 17%. Cependant, l'indice $F_{ST} = 0,168$ explique une différenciation modérée. Elle

est due non seulement au type de reproduction de cette espèce, allogamie partielle, mais également, au mouvement de gènes accéléré par l'action de l'homme dans un contexte d'échange de semences entre agriculteurs de différentes régions. En général, il est difficile d'associer la variation génétique avec une structuration génétique spatiale chez les espèces qui se reproduisent par croisement.

CONCLUSION GENERALE

La production algérienne de la fève, reste très faible au regard des importations qui s'élèvent chaque année. Cette production s'est toujours heurtée aux effets des contraintes biotique et abiotique ce qui laisse le pays sujet à une production insuffisante. Parmi ces les contraintes phytosanitaires, on peut citer particulièrement deux espèces de nématodes du genre *Ditylenchus* : *D. dispaci* et *D. giga* qui sont des principaux bioagresseurs qui menacent la culture de la fève, dont les conditions de la prolifération de ces phytoparasites sont favorables en Algérie. Ce nématode est connu depuis plus d'une décennie. Cependant *D. giga*, n'a jamais fait l'objet d'une identification précises.

Dans la présente étude, notre premier objectif principale était de faire une caractérisation morpho-métrique et moléculaire sur des nématodes, isolés d'individus infectés, prélevés sur des régions à grandes production de culture de fève (*Vicia faba*) afin de déterminer la race biologique de *D. dispaci* présente, *D. dispaci sensu stricto* ou bien *D. gigas*.

La morphométrie multicritères, la longueur de corps, la longueur du stylet ainsi que d'autres paramètres, est une des techniques de diagnostic ou d'analyses en nématologie pouvant conduire à l'identification précise et spécifique de la race de nématode. La description d'espèces de nématodes et particulièrement de la race géante de *Ditylenchus dipsaci* se base sur ces mesures morphométriques. Bien que la technique ne demande pas beaucoup de moyens. En Algérie, le genre *Ditylenchus* est uniquement identifié en examinant la

morphologie sommairement. Dans cette population locale étudiée du genre *Ditylenchus*, les nématodes adultes étaient considérablement plus importants que ceux couramment observés ce qui rend la reconnaissance des races une tâche très difficile.

Dans le cadre de cette étude, les résultats obtenus à partir de populations de *D. dipsaci* et *D. gigas* recueillies sur *V. faba* en région aride (Biskra) concordent avec ceux obtenus dans d'autres études sur des nématodes récoltés au sud de l'Italie, de l'Espagne et du Liban, (Volvas *et al.*, 2011) ainsi qu'en Iran (Tanha, *et al.*, 2013).

L'identification moléculaire de complexe d'espèces *Ditylenchus* est essentielle pour une identification rapide et correcte au niveau de l'espèce. Ainsi, l'identification moléculaire réalisée dans cette étude a permis d'établir la présence de *D. gigas* et *D. oncogenus* chez *V. faba* à Biskra. Cette découverte suggère fortement que *D. gigas* et *D. oncogenus* présentent une tolérance élevée au climat sec et un potentiel élevé d'invasion et d'adaptation à différents environnements et plantes hôtes. Il est à noter que *D. oncogenus* a déjà été trouvé sur des plants de chardon des champs infectés dans les champs naturels alors qu'en Algérie, il a été trouvé sur la féverole, une nouvelle plante hôte. On peut supposer que les plantes adventices peuvent servir de réservoirs à d'autres plantes de grande culture. Cette découverte met en évidence la nécessité de réorienter les études visant à étudier la gamme d'hôtes du nématode et à rechercher la résistance et la sélection. De plus, des mesures de contrôle sont nécessaires pour empêcher la propagation de *D. oncogenus*.

La deuxième partie de ce travail nous a permis d'évaluer la résistance, en pots et sous serre, de sept populations locales de *Vicia faba* L., collectées dans la région des Zibans, en utilisant la variété Séville, considérée, par INRA France, comme témoin de référence résistant au *D. dipsaci*. Cette évaluation nous a permis d'étudier la variabilité des niveaux d'expression de la résistance des différentes populations locales au pathogène, selon plusieurs paramètres, afin d'essayer d'identifier de nouvelles ressources de résistances.

. La méthode d'estimation de la résistance suivie dans notre essai s'est basée principalement sur deux indicateurs à savoir la notification des symptômes extériorisés et le comptage des populations finales du nématode inoculer ont mis en évidence trois groupes de variétés le premier groupe : présente une résistance au *D. dipsaci* et regroupe les variétés locales Guarta, Doucen et Tolga. Le deuxième groupe contient les populations locales M'ziaa et Biskra classées moyennement résistantes, et le dernier groupe contient les variétés locales Sidi Okba et Ain nagua classées sensibles avec le témoin Séville.

La caractérisation traditionnelle en utilisant des paramètres morphologiques et agronomiques est couteuse et moins précise pour la différenciation entre des génotypes. Elle est, d'une part, influencée par l'environnement, et elle requiert souvent l'analyse d'un grand nombre de paramètres de plusieurs organes. Dès lors, la caractérisation moléculaire par l'utilisation de 24 marqueurs moléculaires de type SSR de 7 populations représentées par 27 individus de fève a permis, pour la première fois, d'évaluer l'état de la diversité des populations locales de fève en Algérie en liaison avec l'expression de la résistance aux nématodes tige, inoculés artificiellement, afin d'identifier si éventuellement cette résistance est liée à certaines régions chromosomiques des marqueurs SSR utilisés.

Les 24 marqueurs SSRs utilisés dans cette étude, n'ont pas tous amplifiés, et ont déjà été utilisés sur différents cultivars de fève de différents pays. Une variabilité génétique élevée a été observée dans cette étude. Le nombre d'allèles a varié de 3 à 6 par locus et la fréquence allélique a varié de 0,018 à 0,738. L'hétérozygotie attendue H_e a varié entre 0,267 et 0,534 et est un peu plus faible comparée à d'autres études sur la fève.

Dans cette étude, les 6 allèles privés ont été répartis en parfaite concordance avec la classification des cultivars sensibles résistants aux nématodes, Il s'agit 1) des cultivars Guarta et Daoucen, classés résistants avec une différence significative avec le témoin, qui ont amplifié 3 allèles uniques au loci (GBSS52, Vfg14 et CAAS8), et 2) les Ain Naga et Séville classés sensibles et qui ont amplifié 3 allèles unique au loci (GAI18, Jf1-AG3).

Les résultats obtenus avec STRUCTURE ont indiqué l'appartenance des variétés populations évaluées à 5 pools génétiques différents avec des origines métissées su base des coefficients d'appartenance.

Les résultats ont révélé un niveau élevé de variabilité (83%) réparti au niveau des clusters génétiques (au sein de la population), tandis que la variabilité parmi la population est seulement de 17%

Cette étude ne constitue qu'une première étape vers une meilleure caractérisation et évaluation des ressources locales et dont les résultats ne font que confirmer la nécessité de mener d'autres essais sous serre mais en augmentant le nombre de populations et d'individus par population, notamment pour la caractérisation moléculaire. De même, des études doivent être menées pour tester si la nouvelle espèce de *Ditylenchus* : *D.oncognus* découverte pour la première fois, dans le monde, sur la fève peut coloniser d'autres plantes hôtes à des fins de vérification et de prévention phytosanitaire de nos cultures.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABADANDALOUSSI.F.2001:-Screening of *Vicia fabae* for resistance to for the giant race *Ditylenchus Dipsaci* I Marocco INRA, Programme Fourrages., *Nematol. medit.*2001.Vol.29 pp .,29-33.

ABDELGUERFI A., LAOUAR M., 1997 : La privatisation du foncier : Impact sur l'environnement et sur les ressources génétiques en Algérie. In: Pastoralisme et foncier : Impact du régime foncier sur la gestion de l'espace pastoral et la conduite des troupeaux en régions arides et semi-arides. Options Méditerranéennes, Série A, Séminaires Méditerranéens, n° 32, 203-207

ABBAD - ANDALOUSSI, F BACHIKHI, 1998 - Le nématode des tiges *Ditylnchus dipsaci* ,*Vicia faba* au Maroc .In Les légumineuse alimentaires méditerranéenne ,contraintes biotiques et potentialité de développement .Renne ,France P165-162.

AGRIOS GN, 2005: Plant Pathology. 5th ed. Elsevier AcademicPress, USA UK

ALLEN, O.N. AND E.K. ALLEN. 1981: The Leguminosae, a source book of characteristics, uses and nodulation. The University of Wisconsin Press. Madison 304 p

AMELINE-TORREGROSA C, WANG BB, O'BLENESS MS, DESHPANDE S, ZHU HY, ROE B, YOUNG ND, CANNON SB .2008 ;Genetic dissection of resistance to anthracnose and powdery mildew in *Medicago truncatula*. *Mol Plant Microbinteract* 21: 61-69

ARELLI PR, CONCIBIDO VC AND YOUNG LD ,2010 . QTLs associated with resistance in soybean PI567516C to synthetic nematode population infecting cv. Hartwig. *J. Crop Sci. Biotech.* 13: 163-167

ARRIAGADA O, MORA F, DELLAROSSA JC, FERREIRA MFS, CERVIGNI GDL AND SCHUSTER I ,2012. Bayesian mapping of quantitative trait loci (QTL) controlling soybean cyst nematode resistant. *Euphytica* 186: 907-917.

AUGUSTIN B, R A SIKORA., 1989:- Studies on host range of the normal norml giant Fabae beanraces of *Ditylenchus dipsaci* Institut fur pflanzenkrankheiten der universitat Bonn.5300, 1fed, Rep, Germany. *bacteri a ., Annu Rev Phytopatho* Vol .N° 36., pp 453–483

BENNETT MD. 1976: DNA amount, latitude, and crop plant distribution. *Environ. Exp. Bot.* 16(2-3):93-98, IN1-IN2, 99-108

BATES J. A., TAYLOR E.J., GANS, P.T., et TOMASJ.E. 2002 -Determination of relative proportion of *Glogodera* species in mixed populations of potato yst nematodes using PCR product melting peak analysis. *Mol. Plant. Pathol.* 3:153-161.

BENT, A.F., AND MACKEY, D. 2007; Elicitors, effectors, and R genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annu. Rev. Phytopathol.* 45, 399-436.

BOTSTEIN D, WHITE RL, SKOLNICK M, DAVIS RW., 1980 : Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms., *Am J um Genet* 32(3):314-31

Brink M, Belay G (2006). *Ressources végétales de l'Afrique tropicale 1 : céréales et légumes secs*, Prota, Pays bas, pp. 221-223.

BROUGHTON, WG 1984 Nitrogen fixation: Legumes. *The Journal of Chartto and Windus T2*, ed londress. 117p.

BOND DA JELLIS G J ROWLAND GG LE GUEN J ROBERTSON LD KAALIL SA LI JUAN L, 1994: Present statut and futur strategy in breeding faba bean (*vicea faba L*) for resistance to biotic and abiotic stresses *Euphytica* 73 :151-166

BROWN CR, YANG CP, MOJTAHEDI H, SANTO GS AND MASUELLI R 1996.: RFLP analysis of resistance to Columbia rootknot nematode derived from *Solanum bulbocastanum* in a BC2 population. *Theor. Appl. Genet.* 92: 572–576

BRYAN J, MCLEAN K, BRADSHAW E, DE JONG S, PHILLIPS M, CASTELLI L AND WAUGH R ,2002:. Mapping QTLs for resistance to the cyst nematode *Globodera pallida* derived from the wild potato species *Solanum vernei*. *Theor. Appl. Genet.* 105: 68-77

CAILLAUD MC, LECOMTE P, JAMMES F, QUENTIN M, PAGNOTTA S, ANDRIO E, DE ALMEIDA-ENGLER J, MARFAING N, GOUNON P, ABAD P AND FAVERY B 2008. MAP65-3 microtubule-associated protein is essential for nematode-induced giant cell ontogenesis in Arabidopsis. *Plant Cell* 20: 423-437.

CAPELA D, BARLOY-HUBLER F, GOUZY J, BOTHE G, AMPE F, BATUT J, BOISTARD P, BECKER A, BOUTRY M, CADIEU E, DREANO S, GLOUX S, GODRIE T, GOFFEAU A, KAHN D, KISS E, LELAURE V, MASUY D, POHL T, PORTETELLE D, PUHLER A, PURNELLE B, RAMSPERGER U, RENARD C, THEBAULT P, VANDENBOL M, WEIDNER S, GALIBERT F 2001: Analysis of the chromosome sequence of the legume symbiont *Sinorhizobium meliloti*. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 9877-9882

CAROMEL B, 2004 ;Cartographie génétique et étude de QTL conférant la résistance au nématode à kyste *Globoderapallida* (Stone) chez la pomme de terre (*Solanumtuberosum* ssp. *tuberosum* L.). Thèse de doctorat de Génétique Multifactorielle de l'université Paris XI, 133 pages.

CASTAGNONE-SERENO P, 2002;Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes? *Euphytica* 124,193–9.

CATANZARITI AM, DODDS PN, ELLIS JG, 2007;Avirulence proteins from haustoria-forming pathogens. *FEMS Microbiology Letters* 269: 181-188.

CAUBEL.G., CHATOT. F., MOUSSET-DECLAS.C.,1994 : -Résistance variétale du trèfle violet au nématode des tiges *Ditylenchus dipsaci*., *Fourrages*., Vol.138., pp. 165-173.

CAUBEL G., ESQUIBET M., 1995 – Le nématode des tiges en culture de légumineuses. *Phytoma*, n° 476, Paris, pp. 25-30

CAUBEL G., CHAUB B., (1998). Ecllosion et multiplication de *Heterodera schachtii* Schmidt en présence de colza ou de radis fourragers. *Agronomie INRA*., Vol N°5(5)., pp.463-466.

CERVANTES-FORES JC, YENCHO GC, PECOTA KV, SOSINSKI B AND MWANGA ROM 2008:.Detection of quantitative trait loci and inheritance of root-knot nematode resistance in sweetpotato. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 133: 844-851.

CHAIIEB N, BOUSLAMA M, MARS M (2011). Growth and yield parameters variability among faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. *J. Nat. Prod. Plant Resour.* 1 (2) : 81-90.

CHANG W, DONG L, WANG Z, HU H, HAN Y, TENG W, ZHANG H, GUO M AND LI W 2011:. QTL underlying resistance to two HG types of *Heterodera glycines* found in soybean cultivar 'L-10'. *BMC Genomics* 12: 233.

CHAPUIS MP1, ESTOUP A.:2007: Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation *Mol Biol Evol.* (3):621-31.

COCKERHAM, C.C WEIR, B.S. (1984) Estimating Fstatistics for the analysis of population structure. *Evolution journal* , 38, 1358-1370.

COGHLAN A 2005: Nematode genome evolution Edited by David H.A. Fitch. WormBook, doi/10.1895/wormbook.1.15.1

CONCIBIDO VC, DIERS BW AND ARELLI PR 2004: A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean. *Crop Sci.* 44: 1121-1131.

COMPANT S, 2007 Interaction entre la vigne, *Vitis vinifera* L., et une bactérie endophytique, *Burkholderia phytofirmans* souche PsJN : colonisation, induction de défenses et résistance systémique contre *Botrytis cinerea*. thesedoctuniv Reims 184p.

COOK DE, LEE TG, GUO X, MELITO S, WANG K, BAYLESS AM, WANG J, HUGHES TJ, WILLIS DK, CLEMENTE TE, DIERS BW, JIANG J, HUDSON ME AND BENT AF 2012. Copy number variation of multiple genes at Rhg1 mediates nematode resistance in soybean. *Science* 338: 1206-1209.

COYNE DL ,2007 : Les nématodes des plantes: Un guide pratique des techniques de terrain et de laboratoire. Ed IITA ,92p

CRÉPON K, MARGET P, PEYRONNET C, CARROUÉE B, ARESE P, DUC G (2010). Nutritional value of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for feed and food. *Field Crops Research.* 115: 329-339

CUBERO JL (011 The faba bean: a historic perspective. *Grain legumes.* No. 56: 5-7.

DANGL JL ET JONES JD, 2001 Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411: 826-833.

Do val, DC Ullas Batra, Sumit Goyal, Ajay Sharma, Saud Azam, Rashmi Shirali., 2013: Chronic myeloid leukemia treatment with Imatinib: An experience from a private tertiary care hospital *Medical and Paediatric oncology journal*: Volume : 34 Issue : 3 Page : 182-185.

DI VITO M, CIANCIOTTA V, ZACCHEO G. 1992: Yield of susceptible and resistant pepper in microplots infested with *Meloidogyne incognita*. *Nematropica.* 1992;22:1-6.

Di Vito M., Greco N., Oreste G., Catalan O., Saxena M.C., Singh K. B., Kusmenoglu I., 1994. – Plant parasitic nematodes of legumes in Turkey. *Nematol. Medit.* 22 : 245 – 251.

EARL, D. A. AND VONHOLDT, B. M. (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4 (2). pp. 359-361.

ERNST K, KUMAR A, KRISELEIT D, KLOOSDU, PHILLIPS MS, GANAL MW 2002. The broad-spectrum potato cyst nematode resistance gene (Hero) from tomato is the only member of a large gene family of NBS-LRR genes with an unusual amino acid repeat in the LRR region. *Plant J* 31:127-136.

ESPINOSA A AND ALFANO JR, (2004):.Disabling surveillance: bacterial type III secretion system effectors that suppress innate immunity. *Cellular Microbiol*6: 1027-1040.

EVANNO, G., REGNAUT, S. AND GOUDET, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611–2620. Doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x

EXCOFFIER, L., SMOUSE, P.E. ET QUATTRO, J.M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DA restriction sites. *Genetics* 131:479-491.

EXCOFFIER, L., ESTOUP, A. ET CORNUET, J.M. (2005). Bayesian analysis of an admixture model with mutations and arbitrarily linked markers. *Genetics* 169:1727-1738. Doi:10.1534/genetics.104.036236

FALUSH, D., STEPHENS, M. ET PRITCHARD, J.K. (2003). Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164:1567–1587. Doi:10.1111/j.1471-8286.2007.01758.

FAOSTAT-Agriculture (2015).Food and agricultural commodities production.Food and agriculture organization. Rome..<http://www.fao.org/faostat/fr/#home>

FAOSTAT-Agriculture (2016):.Food and agricultural commodities production.Food and agriculture organization. Rome..<http://www.fao.org/faostat/fr/#home>

FLOR HH, (1955).Host-parasite interaction in flax rust: its genetics and other implications. *Phytopathol*45: 680-685.

FOURIE H, MIENIE CMS, MCDONALD AH AND DE WAELE D ,(2008):. Identification and validation of genetic markers associated with *Meloidogyne incognita* race 2 resistance in soybean, *Glycine max* (L.) Merr.*Nematology* 10: 651- 661.

GALAL A, SHARMA S, ABOU-ELWAFI SF, SHARMA S, KOPISCH-OBUCH F, LAUBACH E, PEROVIC D, ORDON F AND JUNG C ,(2014):. Comparative QTL analysis of root lesion nematode resistance in barley.*Theor. Appl. Genet.* 127: 1399-1407.

GHEYSEN G &FENOLL C 2002.Gene expression in nematode feeding sites.*Annu. Rev. Phytopathology* 40: 191-219.

GOELLNER M, SMANT G, DE BOER JM, BAUM TJ AND DAVIS EL 2000 .Isolation of β -1,4-endoglucanase genes from *Globoderatabacum* and their expression during parasitism. *J. Nematol.* 32: 154-165.

GOELLNER M, WANG X AND DAVIS EL 2001. Endo- β -1,4-glucanase expression in compatible plant-nematode interaction. *Plant Cell* 13: 2241-2255.

GÖHRE, V., ROBATZEK, S., 2008. Breaking the barriers: Microbial effector molecules subvert plant immunity. *Annual Review of Phytopathology*, 46:189-215.

GUO B, SLEPER DA, LUA P, SHANNON JG, NGUYEN HT AND ARELLI PR 2005. QTLs associated with resistance to soybean cyst nematode in soybean: Meta-analysis of QTL locations. *Crop Sci.* 46: 595-602

HA BK, HUSSEY RS AND BOERMA HR 2007: Development of SNP assays for marker-assisted selection of two southern root-knot nematode resistance QTL in soybean. *Crop Sci.* 47: S73-S82

HAMADACHE A, AIT-ABDALLAH F, BELLOULA B 1996. Effet de l'environnement de la date de semis et du désherbage sur le rendement en grain et ses composantes chez la fève (*Vicia faba*). *Céréaliculture*. N° 29 : 15-18

HAMMOND, M.P., AND BIANCO, A.E. 1992: Genes and genomes of parasitic nematodes. *Parasitol Today* 8, 299–305.

HAMMOND-KOSACK, K. E. AND PARKER, J. E. 2003. Deciphering plant-pathogen communication: fresh perspectives for molecular resistance breeding. *Current Opinion in Biotechnology* 14: 177-193.

HANOUNIK SB HALILA H HARRABIM ,1986: *FABIS* 16/37-39

HENDERSON, S.T. ET PETES, T.D. (1992). Instability of simple sequence DNA in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biology* 12:2749–2757. Doi:10.1128/MCB.12.6.2749.

Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590

HE Y, KUMAR P, SHEN X, DAVIS RF, VAN BECELAERE G, MAY OL, NICHOLS RL AND CHEE PW ,2014: Re-evaluation of the inheritance for root-knot nematode resistance in the Upland cotton germplasm line M-120 RNR revealed two epistatic QTLs conferring resistance. *Theor. Appl. Genet.* 127: 1343-1351.

Hooper DJ., (1983). Observation of nematode *Ditylenchus dipsaci* attacking field beans, *Vicia faba*. Rhamsted report, part 2, 234p.

JAKOBSSON M, ROSENBERG NA., 2007: CLUMPP a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics* 15;23(14):1801-6.

JAMMES F, LECOMTE P, ALMEIDA-ENGLER J, BITTON F, MARTIN-MAGNIETTE ML, RENOUP JP, ABAD P, FAVERY B 2005. Genome-wide expression profiling of the host response to root-knot nematode infection in *Arabidopsis*. *Plant J* 44:447-458.

JAYATILAKE DV, TUCKER EJ, BARIANA H, KUCHEL H, EDWARDS J, MCKAY AC, CHALMERS K AND MATHER DE ,2013:. Genetic mapping and marker development for resistance of wheat against the root lesion nematode *Pratylenchus neglectus*. *BMC Plant Biol.* 13: 230.

JENSEN ES, PEOPLES MB, HAUGGAARD-NIELSEN H ,2010 : Faba bean in cropping systems. *Field Crops Research.* 115: 203-216

KAMOUN S, 2001.Nonhost resistance to Phytophthora: novel prospects for a classical problem. *Current Opinion in Plant Biology*, 4, 295-300.

KÖPKE U, NEMECEK T ,2010:. Ecological services of faba bean. *Field Crops Research.* 115: 217-233.

KUMARI SG, VAN LEUR JA.G 2011:.Viral diseases infecting faba bean (*Vicia faba* L.). *Grain legumes.* No. 56: 24-26

KOUASSI AB, KERLAN MC, CAROMEL B, DANTEC JP, FOUVILLE D, MANZANARES-DAULEUX M, ELLISSÈCHE D AND MUGNIÉRY D ,2006 : .A major gene mapped on chromosome XII is the main factor of a quantitatively inherited resistance to *Meloidogyne fallax* in *Solanum sparsipilum*. *Theor. Appl. Genet.* 112: 699–707

KREIKE CM, DE KONING JRA, VINKE JH, VAN OOIJEN JW AND STIEKEMA WJ ,1994:. Quantitatively inherited resistance to *Globodera pallida* is dominated by one major locus in *Solanum spagazzinii*. *Theor. Appl. Genet.* 88: 764-769

LAMB, C.J., LAWTON, M.A., DRON, M., DIXON, R.A, 1989.Signals transduction mechanisms for activation of plant defenses against microbial attack. *Cell*, 56: 215–224.

LARRALDE J, MARTINEZ J.A ,1991:. Nutritional value of faba bean: effects on nutrient utilization, protein turnover and immunity. *Options Méditerranéennes.* No. 10: 111-117.

LEAL-BERTIOLI, S.C.M., TENENTE, R.C.V. ET BERTIOLI, D.J. 2000: ITS sequence of populations of the plant-parasitic nematode *Ditylenchus dipsaci*. *Nematologia Brasileira*, 24: 83–85

LEROY, S., DUPERRAY, C., AND MORAND, S. 2003:. Flow cytometry for parasite nematode genome size measurement. *Mol. Biochem. Parasitol.* 128, 91–93. [Abstract Article](#)

LEPOIVRE P, 2003. Phytopathologie: bases moléculaires de biologiques des pathsystemes et fondement des stratégies de lutte. De Boeck & Presses Agronomiques de Gembloux (Eds.), Brussels, Belgium, 149-1.

LI Z, JAKKULA L, HUSSEY RS, TAMULONIS JP AND BOERMA HR 2001:.SSR mapping and confirmation of the QTL from PI96354 conditioning soybean resistance to southern root-knot nematode. *Theor. Appl. Genet.* 103: 1167-1173.

LINSELL KJ, RAHMAN MS, TAYLOR JD, DAVEY RS, GOGEL BJ, WALLWORK H, FORREST KL, HAYDEN MJ, TAYLOR SP AND OLDACH KH ,2014:. QTL for resistance to root lesion nematode (*Pratylenchus thornei*) from a synthetic hexaploid wheat source.*Theor. Appl. Genet.* 127: 1409-1421

LIU S, KANDOTH PK, WARREN SD, YECKEL G, HEINZ R, ALDEN J, YANG C, JAMAI A, EL-MELLOUKI T, JUVALE PS, HILL J, BAUM TJ, CIANZIO S, WHITHAM SA, KORKIN D, MITCHUM MG AND MEKSEM K 2012.A soybean cyst nematode resistance gene points to a new mechanism of plant resistance to pathogens. *Nature* 492: 256-260.

LOSS S.P, SIDDIQUE K.H.M (1997) Adaptation of faba bean (*Vicia faba* L.) to dryland Mediterranean-type environments. I. seed yield and yield components. *Field Crops Research.* 52: 17-28

KALINOWSKI, S.T. (2011). The computer program STRUCTURE does not reliably identify the main genetic clusters within species: simulations and implications for human population structure. *Heredity* 106: 625–632. doi:10.1038/hdy.2010.95.

MAATOUGUI M.E (1996). Situation de la culture des fèves en Algérie et perspectives de relance. *Céréaliculture.* No. 29: 6-18.

MACKEY, D. AND MCFALL, A.J. 2006. MAMPs and MMPs: proposed classifications for inducers of innate immunity. *Mol. Microbiol.* 61, 1365-1371.

MADANI A1, FIORE JF JR2, WANG Y2, BEJJANI J2, SIVAKUMARAN L2, MATA J2, WATSON D3, CARLI F4, Mulder DS3, Sirois C3, Ferri LE1, Feldman LS52015: An enhanced recovery pathway reduces duration of stay and complications after open pulmonary lobectomy. *Suegery journal* Volume 158, Issue 4, Pages 899–910.

MAHALINGAM B, CUESTA-MUNOZ A, DAVIS EA, MATSCHINSKY FM, HARRISON RW, WEBER IT1999. Structural model of human glucokinase in complex with glucose and ATP: implications for the mutants that cause hypo- and hyperglycemia.*Diabetes.* 1999 Sep;48(9):1698-705.

MAMTA J, MOHAPATRA SL, PANDA RS, MOHANTY SK, THATOI HN AND SAHU SC ,2013:. Genetic loci associated with rootknot nematode resistance in rice cv. Ramakrishna. *Oryza* 50: 132-139.

Maras, M., J. Sustar-Vozlic, B. Javornik, and V. Meglic. 2008. “The efficiency of AFLP and SSR markers in genetic diversity estimation and gene pool classification of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)” *Acta Agriculturae Slovenica* 91: 87–96.

MAUCH-MANI, B., METRAUX J.P., 1998. Salicylic Acid Systemic Acquired Resistance to Pathogen Attack. *Annals of Botany*, 82: 535-540.

MAXTED ET BENNETT, S.J, 2001:Conservation, diversity and use of Mediterranean Legumes. *Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean..*, Kluwer Academic Publ.39:1-32

MAXWELL JJ, BRICK MA, BYRNE PF, SCHWARTZ HF, SHAN X, OGG BJ AND HENSEN RA ,2007:. Quantitative trait loci linked to white mold resistance in common bean. *Crop Sci.* 47: 2285-2294

MEKSEM K, PANTAZOPOULOS P, NJITI VN, HYTEN LD, ARELLI PR AND LIGHTFOOTDA ,2001:. 'Forrest' resistance to the soybean cyst nematode is bigenic: saturation mapping of the *rhg1* and *Rhg4* loci. *Theor. Appl. Genet.* 103: 710- 717.

M'HIRIT O., MAGHNOUJ M. 1997 :Stratégie de conservation des ressources génétiques forestières au Maroc. In Ressources phylogénétiques et développement durable (eds. A.Birouk et M.Rejdali), Actes Editions, Rabat, Maroc. 123-138.

MILLIGAN SB, BODEAU J, YAGHOUBI J, KALOSHIAN I, ZABEL P, WILLIAMSON VM, 1998.The root knot nematode resistance gene Mifrom tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine-rich repeat family of plant genes. *Plant Cell* 10:1307-1319.

MONTSERRAT A, 2009.Nucleotide and copy-number polymorphism at the odorant receptor genes Or22a and Or22b in *Drosophila melanogaster*.*MolBiolEvol.* Jan;26(1):61-70.

Nuessly GS, Hentz MG, Beiriger R, Scully BT (2004). Insects associated with faba bean, *Vicia faba* (*Fabales: Fabaceae*), in southern Florida. *Florida entomologist.* 87 (2): 204-211.

N'GUESSAN JD, ZIRIHI GN, KRA AKM, KOUAKOU K, DJAMAN AJ, GUEDE-GUINA F, 2007. Free radical scavenging activity, flavonoid and phenolic contents of selected Ivoirian plants. *International Journal of Natural and Applied Sciences*; 4:425-429.

NIEDERMAIER J, MORITZ KB. ,2000: Organization and dynamics of satellite and telomere DNAs in *Ascaris*: implications for formation and programmed breakdown of compound chromosomes. *Chromosoma.* ;109:439–452

NÜRNBERGER, T., BRUNNER, F., KEMMERLING, B. PIATER, L., 2004. Innate immunity in plants animals: striking similarities obvious differences. *Immunological Reviews.* 198, 249–266.

NÜRNBERGER T, 1999.Signal perception in plant pathogen defence. *Cellular and Molecular LifeScience,* 55: 167-182.

OUFFROUKH A, AGGAD H 1996 : Identification des viroses affectant la fève (*Vicia faba* L.) en Algérie. In: Bertenbreiter W et Sadiki M (eds.). *rehabilitation of faba bean*, Actes, Rabat, pp. 173.

OEPP volume 38, Page 363-373, Décembre 2008 *Ditylenchus destructor* et *Ditylenchus dipsaci* of the stem Nematode (*Ditylenchus dipsaci*)N° 2 : 66-73.

PAAL J, HENSELEWSKI H, MUTH J, MEKSEM K, MENENDEZ CM, SALAMINI F, BALLVORA A, GEBHARDT C, 2004. Molecular cloning of the potato Gro1-4 gene conferring resistance to pathotype Ro1 of the root cyst nematode *Globoderarostochiensis*, based on a candidate gene approach. *Plant J*38: 285-297.

PAETKAU D, STROBECK C 1995 The molecular basis and evolution-ary history of a microsatellite null allele in bears. *MolecularEcology*, 4, 519 –520.

PALAZOVA, G. ET BAICHEVA, O. ,2002: Electrophoretic studies of *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn, 1857)Filipjev, 1936 from two hosts: *Allium sativum* and *Allium cepa*. *Experimental Pathology andParasitology*, 5: 39–40.

Patrick J.W, Stoddard F.L 2010. Physiology of flowering and grain filling in faba bean.*Field Crops Research*. 115: 234-242

PEAKALL, R. ET SMOUSE, P.E. (2006). GenAIEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes* 6:288-295. Doi:10.1111/j.1471-8286.2005.01155.

PEREZ-DE-LUQUE A, EIZENBERG H, GRENZ JH, SILLERO JC, AVILA C, SAUERBORN J, RUBIALES D (2010). Broomrape management in faba bean. *Field Crops Research*. 115: 319-328.

PERON J-Y 2006 : Références productions légumières, Lavoisier 2éme édition, Paris, pp.366-367

POLHILL, R. M., RAVEN, P.H.; AND STIRTON, C. H, 1981 Evolution and systematic of Leguminous. In: *Advances in legume Systematics*. Eds., R.M, and Royal, P. P. Botanic Gardens, Kew, UK.325p

PRITCHARD, J.K., STEPHENS, M. ET DONNELLY, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.

Pritchard, J.K. et Wen, X. and Falush, D. (2007). Documentation for STRCUTURE software: version 2.2. Program manual.

Qiao H., . Escobar., L E. Saupe., E Liqiang Ji., Soberón J., 2016: A cautionary note on the use of hypervolume kernel density estimators in ecological niche modeling *Global Ecology and Biogeography*,*Global Ecol. Biogeogr.*26,1066–1070.

QUEZEL,P.,ET SANTA,S.,1963-Nouvel flore de l'Algerie et des régions désertiques méridionales. 344p CNRS.Paris

RACHEF S.A, OUAMER F, OUFFROUKH A ,2005 :.Inventaire des ravageurs de la fève en Algérie (identification et caractérisation). *Recherches agronomiques*. 16 : 36-41

RAMIREZ SM , 2009 : Etude de l'interaction de *Medicagotruncatula*avec *Fusariumoxysporum*et du rôle de l'acide salicylique dans les interactions de la plante avec différents agents pathogènes et symbiotiques.thesedoct .ensattoulouse .275p.

RAMASAMY A, TRABZUNI D, GUELFY S, VARGHESE V, SMITH C, WALKER R, DE T; UK BRAI., 2014: Genetic variability in the regulation of gene expression in ten regions of the human brain. *Nat Neurosci journal* pub17(10):1418-1428.

RAPILLY F, 1991.L'épidémiologie en pathologies végétale, mycoses aériennes. Paris, INRA.

RETA SANCHEZ DG, SANTOS SERRATO CORONA J, VIRAMONTES RF, CUETO WONG JA, PADILLA SB, CESAR JS (2008). Cultivos alternativos con potencial de uso forrajero en la comarca lagunera, Primera, Mexico, pp. 41.

RIVAS S, THOMAS CM, 2005. Molecular Interactions Between Tomato and the Leaf Mold Pathogen *Cladosporium fulvum*. *Annu Rev Phytopathol* 43: 395-436.

ROBERTSON LD, SAXENA MC ,1993: Problems and prospects of stress resistance breeding in faba bean. In: Singh KB and Saxena MC (eds) Breeding for stress tolerance in cool-season food legumes. pp. 37-50. John Wiley and Sons, Chichester

ROUPPE VAN DER VOORT J, LINDEMAN W, FOLKERTSMA R, HUTTEN R, OVERMARS H, VAN DER VOSSEN E, JACOBSEN E AND BAKKER J ,1998: A QTL for broad-spectrum resistance to cyst nematode species (*Globodera* spp.) maps to a resistance gene cluster in potato. *Theor. Appl. Genet.* 96: 654-661.

SAADI, I., 2008 : Analyse des semences de Fève (*Vicia faba*) infestées par *Ditylenchus dipsaci* (*Nematoda :Anguinidae*) et recherche d'une méthode de lutte contre ce nématode Thèse .Agro.Mag.INA. El harrach.72p.

SAADI, H , 2013 : Contribution à l'étude de la résistance des variétés locales de fève . L au nématode *Ditylenchus dipsaci* dans la région de Biskra Thèse.Agro. Mag. Dept..Agro. uni. Biskra. 80p.

SADIKI, M., G. DUC, AND B. FURMAN. 2006. "Genetic resources of faba bean worldwide." *Grain Legumes* 48: 18–19

SAMANTHI, K, WASALA, ET PRASANNA, BM (2012). Microsatellite marker-based diversity and population genetic analysis of selected lowland and mid-altitude maize landrace accessions of India. *J. Plant Biochem. Biotechnol.* 22(4) :392–400. Doi: 10.1007/s13562-012-0167-5.

SANABRIA, N., GORING, D., NÜRNBERGER, T., AND DUBERY, I. 2008. Self/nonsel perception and recognition mechanisms in plants: a comparison of self-incompatibility and innate immunity. *New Phytol.* 178: 503–514.

SCHMIDT AL, MCINTYRE CL, THOMPSON J, SEYMOUR NP AND LIU CJ ,2005:. Quantitative trait loci for root lesion nematode (*Pratylenchus thornei*) resistance in Middle-Eastern landraces and their potential for introgression into Australian bread wheat. *Aust. J. Agr. Res.* 56: 1059-1068

SELLAMI, S CHEIFA H ,1997. Effet de *Tagetes erecta* contre les Melodoigyne sous abri-plastique Med. Fac. Landborow Univ. *Gent.* 62/3. 337-340.

SHAFSHAK S AL AHMAR BA SOOKER S AN EL MARZOUK HG ,1985: genetic behavior of tolerance to root rot ant wilt from diseases sesam(*sesamum indicum*) oilcropp *newslettres2* :66

SHARMA S, SHARMA S, KOPISCH-OBUCH FJ, KEIL T, LAUBACH E, STEIN N, GRANER A AND JUNG C 2011: QTL analysis of root-lesion nematode resistance in barley: 1. *Pratylenchus neglectus*. *Theor. Appl. Genet.* 122: 1321-1330.

SHEARIN ZP, FINNERTY SL, WOOD ED, HUSSEY RS AND BOERMA HR ,2009: A southern root-knot nematode resistance QTL linked to the *T*-locus in soybean. *Crop Sci.* 49: 467-472

SHEN X, VAN BECELAERE G, KUMAR P, DAVIS RF, MAY OL AND CHEE PW ,2006: QTL mapping for resistance to rootknot nematodes in the M-120 RNR Upland cotton line (*Gossypium hirsutum* L.) of the Auburn 623 RNR source. *Theor. Appl. Genet.* 113: 1539-1549.

SHEN X, HE Y, LUBBERS EL, DAVIS RF, NICHOLS RL AND CHEE PW ,2010: Fine mapping *QMi-C11* a major QTL controlling root-knot nematodes resistance in Upland cotton. *Theor. Appl. Genet.* 121: 1623-1631.

Shrestha R, Uzzo F, Wilson MJ and Price AH (2007). Physiological and genetic mapping study of tolerance to rootknot nematode in rice. *New Phytol.* 176: 665-672

SHIBUYA N, MINAMI E, 2001. Oligosaccharide signaling for defense responses in plant. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 59: 223-233.

SHIRANO, Y., KACHROO, P., SHAH, J., AND KLESSIG, D.F. 2002. Again-of-function mutation in an Arabidopsis Toll Interleukin1 Receptor–Nucleotide Binding Site–Leucine-Rich Repeat type R gene triggers defense responses and results in enhanced disease resistance. *Plant Cell* 14, 3149–3162.

SIDDIQI, M.R., 2000. Tylenchida: Parasites of Plants and Insects, 2nd Edition. CABI Publishing, Dec 2000: 848 pp.

SIKORA R.A., GRECO N. 1990 - Nematode parasites of food legumes. In Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture (Ed. by Luc, M. ; Sikora, R.A.; Bridge, J.), pp.181-235. CAB International, Wallingford, Royaume-Uni. 356p

SILLERO, N., BRITO, J.C., TOXOPEUS, B., SKIDMORE, A.K. ,2009 : Biogeographical patterns derived from remote sensing variables: the amphibians and reptiles of the Iberian Peninsula. *Amphibia-Reptilia* 30: 185-2

SILLERO, N. ,2011: What does ecological modelling model? A proposed classification of ecological niche models based on their underlying methods. *Ecol. Model.* 222: 1343-1346

Singh AK, Bhatt BP, Upadhyaya A, Kumar S, Sundaram P.K, Singh B.K, Chandra N, Bharati R.C(2012). Improvement of faba bean (*Vicia faba* L.) yield and quality through biotechnological approach: a review *African Journal of Biotechnology.* 11(87):15264-15271

SMANT G., JONES J, 2011. “Suppression of plant defences by nematodes, in Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions eds Jones J., Gheysen G., Fenoll C., editors. (Berlin: Springer;) 273–286.

SPIEGEL Y., BURROW P,M et BAR -EYAL ,M ,2003 : A chemo attractant in onion root exudate recognized by *Ditylenchus dipsaci*

STACEY G, LIBAULT M, BRECHENMACHER L, WAN J ET MAY GD.,2006: Genetics and functional genomics of legume nodulation. *Curr Opin Plant Biol.* 9: 110-121.

STODDARD F.L, NICHOLAS A.H, RUBIALES D, THOMAS J, VILLEGAS-FERNANDEZ A.M ,2010 : Integrated pest management in faba bean. *Field Crops Research.* 115: 308-318.

SUBBOTIN SA, RAGSDALE EJ, MULLENS T, ROBERTS PA, MUNDO-OCAMPO M, BALDWIN JG,2008: A phylogenetic framework for root lesion nematodes of the

genus *Pratylenchus* (Nematoda): Evidence from 18S and D2-D3 expansion segments of 28S ribosomal RNA genes and morphological characters. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. ;48:491–505

SURESH, S., J.-H. PARK, G.-T. CHO, H.-S. LEE, H.-J. BAEK, S.-Y. LEE, AND J.-W. CHUNG. 2013. “Development and Molecular Characterization of 55 Novel Polymorphic cDNA-SSR Markers in Faba Bean (*Vicia faba* L.) Using 454 Pyrosequencing.” *Molecules* 18: 1844–1856

TAKKEN, F.L., ALBRECHT, M., AND TAMELING, W.I. 2006. Resistance proteins: molecular switches of plant defence. *Curr. Opin. Plant Biol.* 9: 383–390.

TAMULONIS JP, LUZZI BM, HUSSEY RS, PARROT WA AND BOERMA HR ,1997:.RFLP mapping of resistance to southern root-knot nematode in soybean.*Crop Sci.* 37: 1903-1909.

TENENTE, R.C.V. ET EVANS, A.A.F. ,1997 :.Electrophoresis of proteins from several races of *Ditylenchus dipsaci* recovered from dried infested courgette tissue. *Nematologia Brasileira*, 21: 84–91.

TOURNIER I, VEZAIN M, MARTINS A, CHARBONNIER F, BAERT-DESURMONT S, OLSCHWANG S, WANG Q, BUISINE MP, SORET J, TAZI J, FREBOURG T, TOSI M. 2008. A large fraction of unclassified variants of the mismatch repair genes MLH1 and MSH2 is associated with splicing defects. *Hum Mutat.* Dec;29(12):1412-24.

VAN DER BIEZEN EA, JONES JDG, 1998.Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept. *Trends BiochemicalSci*23: 454-456.

VAN DER HOORN, R. A. L. AND KAMOUN, S. (2008).From Guard to Decoy: A new model for perception of plant pathogen effectors. *PlantCell*20: 2009-2017.

VAN OOIJEN, G., VAN DEN BURG, H.A., CORNELISSEN, B.J.C, AND TAKKEN, F.L.W. 2007.Structure and function of resistance proteins in solanaceous plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* 45, 43-72.

VOS P, SIMONS G, JESSE T, WIJBRANDI J, HEINEN L, HOGERS R, FRIJTERS A, GROENENDIJK J, DIERGAARDE P, REIJANS M, FIERENS-ONSTENK J, DE BOTH M, PELEMAN J, LIHARSKA T, HONTELEZ J AND ZABEAU M, 1998.The tomato Mi-1 gene confers resistance to both root-knot nematodes and potato aphids. *Nat. Biotechnol.* 16:1365-1369

VOVLAS, N., TROCCOLI, A., PALOMARES-RIUS, J.E., DE LUCA, F., LIEBANAS, G., LANDA, B.B., SUBBOTIN, S.A. ET CASTILLO, P. ,2011 :. *Ditylenchus gigas* n.sp.parasitizing broad bean: A new stem nematode singled out from the *Ditylenchus dipsaci* species complex using a polyphasic approach with molecular phylogeny. *Plant Pathology*, 60: 762–775.

WANG C, ULLOA M, MULLENS RT, YU JZ AND ROBERTS PA 2012:. QTL analysis for transgressive resistance to root-knot nematode in interspecific cotton (*Gossypium spp.*) progeny derived from susceptible parents. *PLOS ONE* 7: e34874

WAGNER HW, SEFC KM. Identity Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Sciences Vienna (version 4.0) 1999 Available from <http://www.uni-graz.at/~sefck>.

WEBB DM, BALTAZAR BM, RAO-ARELLI AP, SCHUPP J, CLAYTON K, KEIM P AND BEAVIS WD ,1995:. Genetic mapping of soybean cyst nematode race-3 resistance loci in the soybean PI 437,654.*Theor. Appl. Genet.* 91: 574-581.

WENDT, K.R., VRAIN, T.C. ET WEBSTER, J.M. ,1993:.Separation of three species of *Ditylenchus* and some host races of *D. dipsaci* by restriction fragment length polymorphism. *Journal of Nematology*, 25: 555–563.

WILLIAMS KJ, WILLSMORE KL, OLSON S, MATIC M AND KUCHEL H ,2006:.Mapping of a novel QTL for resistance to cereal cyst nematode in wheat.*Theor. Appl. Genet.* 112: 1480-1486.

WRIGHT JOHN W MERLE. MEYER ., 1969. A new technique for ,mensuring thermoregulatory behavior in the rat. *Experimental analysis of Behavior*.1969.12-999

WRIGH,FRANK LLOUY. ‘FORCEIN IS HERESY’ WISCONSIN ATHENAEAN, 2(SPRIUG. 1951), 10-11 REPRINTDIN PFEIFFER ED FRANK LLOUY WRIGH COLLECTED. WRITING VOL.5: NEW YORK:19.

Wu X, Blake S, Slepser DA, Shannon JG, Cregan P and Nguyen HT :2009:. QTL, additive and epistatic effects for SCN resistance in PI 437654.*Theor. Appl. Genet.* 118: 1093-1105.

XIAO SY, ELLWOOD S, CALIS O, PATRICK E, LI TX, COLEMAN M, TURNER JG.2001; Broad-spectrum mildew resistance in *Arabidopsis thaliana* mediated by RPW8. *Science*291: 118-120.

XU X, ZENG L, TAO Y, VUONG T, WAN J, BOERMA R, NOE J, LI Z, FINNERTY S, PATHAN SM, SHANNON JG AND NGUYEN HT ,2013:. Pinpointing genes underlying the quantitative trait loci for root-knot nematode resistance in palaeopolyploid soybean by whole genome resequencing.*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 13469-13474.

Yahia Y,Guétat A, Elfalleh W, Ferchichi A, Yahia H, Loumerem M 2012. Analysis of agromorphological diversity of Southzrn Tunisia faba bean (*Vicia faba* L.)germplasm. *African Journal of Biotechnology*. 11(56): 11913-11924.

YIELD Y 2010 stability of faba bean lines under diverse broomrape prone production environments. *Field Crops Research*. 124: 288-294.

YOUNG ND, 2000.The genetic architecture of resistance.*Curr Opin Plant Biol.* Aug;3(4):285-90.

ZAGHOUANE O ,1991:. The situation of faba bean (*Vicia faba* L.) in Algeria. *Options Méditerranéennes*. No. 10: 123-125.

ZEIDLER, D., ZA" HRINGER, U., GERBER, I., DUBERY, I., HARTUNG, T., BORS, W., JUTZLER, P., AND DURNER, J. 2004. Innate immunity and *thaliana*: Lipopolysaccharides activate nitric oxide synthase (NOS) and induce defense genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 15811- 15816.

ZHU H, CANNON SB, YOUNG ND, COOK DR,2002. Phylogeny and genomic organization of the TIR and non-tIR NBS-LRR resistance gene family in *Medicago truncatula*. *Mol Plant Microbe Interact* 15: 529-539.

ZHOU T, GAO C, DU L, FENG H, WANG L, LAN Y, SUN F, WEI L, FAN Y, SHEN W AND ZHOU Y 2014:.Genetic analysis and QTL detection for resistance to white tip disease in rice.*PLOS ONE* 9: e106099

ZOUHAR, M., MAREK, M., LICINIO, J. ET RYŠÁNEK, P. 2002 : Using point mutations in rDNA for differentiation of biotypes of *Ditylenchus dipsaci* from the Czech Republic. *Plant Protection Science*, 38 (Special 2): 358–360.

ZWART RS, THOMPSON JP AND GODWIN ID (2005).Identification of quantitative trait loci for resistance to two species of root-lesion nematode (*Pratylenchus thornei* and *P. neglectus*) in wheat.*Aust. J. Agr. Res.* 56: 345-352.104

ZWART RS, THOMPSON JP, SHEEDY JG AND GODWIN ID ;2006:. Mapping quantitative trait loci for resistance to *Pratylenchus thornei* from synthetic hexaploid wheat in the International Triticeae Mapping Initiative (ITMI) population.*Aust. J. Agr. Res.* 57: 525-530.

ZWART RS, THOMPSON JP, MILGATE AW, BANSAL UK, WILLIAMSON PM, RAMAN H AND BARIANA HS 2010:.QTL mapping of multiple foliar disease and root-lesion nematode resistances in wheat.*Mol. Breed.* 26: 107-124

ANNEXES

Annexe 1 : Les températures enregistrées durant (2010, 2011,2012).

	Années	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril
Température °C Moyenne	2010/2011	28.7	2.5	16.6	12.4	12.1	13.2	16	22.4
	2011/2012	30.3	2.2	17.3	13.2	12	10.7	17.4	21.4
	2012/2013	29.8	4.5	18.1	13	12.8	12.5	16.6	21.2
Température Maximale °C Moyenne	2010/2011	34.5	8.4	22.1	18.1	18.4	19	21.5	28.5
	2011/2012	35.1	7.1	22.7	18.7	18.2	17.2	22.7	27.3
	2012/2013	34.8	0.7	23.8	18.2	18.7	18.2	21.7	27.5
Température minimale °C Moyenne	2010/2011	23.2	6.7	12.1	7.4	6.7	7.7	10.4	15
	2011/2012	24.5	6.2	12.2	8.1	6.8	6.8	12.2	15.4
	2012/2013	25.4	8.2	12.4	7.8	7.3	7.0	10.8	14.9

Annexe 2 : L'analyse de variance pour le paramètre nombre de nématodes/plantes en 2010

SOURCE	DDL	SOMME DES CARRES	MOYENNE DES CARRES	F	PR > F
MODELE	7	3882,469	554,638	3,936	0,0005
ERREUR	24	3382,250	140,927		
TOTAL CORRIGE	31	7264,719			

Annexe 3 : L'analyse de variance pour le paramètre nombre de nématodes/plantes 2011

SOURCE	DDL	SOMME DES CARRES	MOYENNE DES CARRES	F	PR > F
MODELE	7	9159,000	1308,429	16,233	< 0,0001
ERREUR	24	1934,500	80,604		
TOTAL CORRIGE	31	11093,500			

Annexe 4 : L'analyse de variance pour le paramètre nombre de nématodes/plantes 2012

VARIABLE 2012/2013 SOURCE	DDL	SOMME DES CARRES	MOYENNE DES CARRES	F	PR > F
MODELE	7	17045,969	2435,138	18,940	< 0,0001
ERREUR	24	3085,750	128,573		
TOTAL CORRIGE	31	20131,719			

Annexe 5 : Résultats de l'AMOVA au sein des clusters population de fève obtenus après analyse par structure.

Source	df	SS	MS	Est. Var.	%
parmi Pops	6	24,134	4,022	0,318	17%
dans Pops	47	73,958	1,574	1,574	83%
Total	53	98,093		1,891	100%