

Identification des champignons transmis par les semences biofortifiées au Kongo Central en République Démocratique du Congo

Augustin NGOMBO-NZOKWANI^{1*}, Marcel Muengula MANYI¹, Adrien Kalonji MBUYI¹
et Antoine Lubobo KANYENGA²

¹ Université de Kinshasa, Faculté des Sciences Agronomiques, Laboratoire de Phytopathologie,
BP 117 Kinshasa XI, République Démocratique du Congo

² Université de Lubumbashi, Faculté des Sciences Agronomiques, Laboratoire de Génétique et Amélioration
des plantes, République Démocratique du Congo

* Correspondance, courriel : ngomboaugustin@gmail.com

Résumé

Le haricot commun est l'une des principales cultures vivrières en République Démocratique du Congo (RDC). La grande partie de la production du Haricot en RDC est assurée par les paysans qui utilisent principalement les semences non certifiées. Cependant la productivité de cette culture reste faible. Les maladies transmises par les semences chez le haricot commun réduisent à la fois le rendement et la qualité des graines. Ainsi, pour évaluer la qualité des semences biofortifiées utilisées par les paysans, deux méthodes basées sur l'incubation ont été utilisées : la première a porté sur l'incubation des semences sur papier buvard et la seconde s'est basée sur l'examen des colonies développées à partir des semences semées sur un milieu gélosé. Il s'observe une différence entre les deux types de semences (biofortifiées et locales) du point de vue pureté spécifique et teneur en eau. Les résultats de l'analyse des deux types de semences montrent qu'ils sont infectés par les mêmes champignons mais à des degrés différents : la variété locale a connu un degré d'infestation au *Fusarium* très élevé (4,7 %). Les indices de pollution, de répartition et les fréquences moyennes des deux types de semences sont restés à peu près proches mais avec une légère hausse pour la variété locale (Lola nain). Il faut signaler aussi l'absence des champignons reconnus pathogènes dans nos échantillons. Les champignons identifiés étaient tous reconnus saprophytes (*Aspergillus niger* et *Fusarium solani*).

Mots-clés : graines, biofortification, champignons, incubation.

Abstract

Identification of fungi transmitted by biofortified seeds in Kongo Central in the Democratic Republic of Congo

The common bean is one of the main food crops in the Democratic Republic of Congo (DRC). Much of Bean production in the DRC is provided by farmers who mainly use non-certified seed. However, the productivity of this crop remains low. Seed-borne diseases in common beans reduce both yield and seed quality. In order to evaluate the quality of biofortified seeds used by farmers, two methods based on incubation were used : the first focused on the incubation of seeds on blotting paper and the second was based on the examination of Colonies developed from the seeds sown on an agar medium. There is a difference between the two types of

seeds (biofortified and local) from the point of view of specific purity, water content. The results of the analysis of the two types of seed showed that they were infected by the same fungi but to different degrees: the local variety had a very high degree of *Fusarium* infestation (4.7 %). The pollution, distribution and mean frequencies of the two types of seed remained about the same, but with a slight increase for the local variety (Lola dwarf). We must also mention the absence of recognized pathogenic fungi in our samples. The identified fungi were all recognized as saprophytes (*Aspergillus niger* and *Fusarium solani*).

Keywords : *seeds, biofortification, fungi, incubation.*

1. Introduction

La culture du haricot revêt une très grande importance dans la production alimentaire dans les provinces du Sud-Kivu, Nord-Kivu, et du Kongo Central en République Démocratique Congo. Le haricot est un aliment important et constitue 65 % de l'apport protéique dans l'alimentation humaine et 32 % des calories. Il apporte également du fer, du zinc, des fibres et des carbohydrates lents. La teneur en lysine des graines de haricots est relativement importante et améliore la qualité alimentaire des céréales au niveau des protéines [5]. Par contre, elles sont déficientes en méthionine, trouvée en quantité satisfaisante dans les céréales. Les céréales et les haricots contribuent donc de manière complémentaire à la valeur nutritive du régime alimentaire des peuples de plusieurs régions du monde [4]. Malgré l'importance du haricot en tant que denrée alimentaire de base et source de revenus, les agriculteurs congolais ne parviennent pas à satisfaire à la demande. Cette situation s'explique par la faible productivité du haricot et par l'inaccessibilité aux semences de bonne qualité des variétés préférées [35]. On observe des augmentations de la production agricole de cette culture, le système congolais de production de semences ne parvient pas à fournir les semences de bonne qualité, en quantité suffisante, au moment propice aux utilisateurs dans le besoin. Plusieurs causes peuvent être évoquées ; nous parlerons d'une cause souvent sous-estimée, voir négligée : c'est l'état sanitaire des semences. Celles-ci peuvent être victimes de maladies dont l'origine peut être les bactéries, les champignons, virus et les nématodes [14].

Les maladies du haricot se caractérisent par une grande diversité en fonction des conditions écologiques dont lesquelles sa culture est pratiquée [32]. Ces maladies réduisent à la fois le rendement en grain et la qualité [21]. Les maladies à forte incidence économique affectant le haricot sont principalement transmises par les semences [9]. Les différents rapports sur la détérioration de la situation alimentaire en République Démocratique du Congo ne montrent pas suffisamment l'impact des maladies des semences sur les pertes que subissent les cultures vivrières. Les semences victimes de maladies détériorent la qualité et réduisent la quantité de la production vivrière. Cependant, il a été inventorié 36 espèces différentes de champignons, trois espèces de bactéries et 4 groupes de virus qui peuvent attaquer les différentes spéculations vivrières [28]. Ces agents parasitaires énumérés contribuent en partie à la faiblesse de la productivité et sont pour la plupart transmises par les semences [23]. Ces semences doivent répondre aux normes de pureté spécifique, et de faculté germinative, fixées par le règlement technique de production, de contrôle et de certification des principales cultures vivrières en République Démocratique du Congo édictées par le Service National des Semences (SENASA). L'objectif de ce travail est d'identifier les champignons transmis par deux variétés biofortifiées et une variété locale utilisées en République Démocratique du Congo.

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel

Les matériels pour cette étude étaient constitués de trois variétés (dont deux biofortifiées et une variété locale en diffusion) de différents génotypes présélectionnés par le CIAT (Cali / Colombie), le PABRA (Uganda, Kenya et Malawi) et l'INERA Mulungu ; améliorées et présélectionnées pour leur teneur élevée en fer et zinc et présélectionnées pour leurs bonnes performances agronomiques (rendement élevé, résistance / tolérance aux maladies, insectes, sécheresse, faible fertilité des sols, etc.).

Tableau 1 : Caractéristiques variétales des génotypes de haricot utilisées

Variétés	Teneur en Fer (mg / g)	Teneur en Zn (mg / g)	Origine	Pool génétique	Couleur des graines	Grosueur des grains
Hm 21-7	62	33	CIAT	MA	Rouge striée	Grosse
K 131	55	32	NARO	MA	Rouge striée	Petite
Lola nain	-	-	INERA	-	Vert clair	Moyenne

Légende : MA : Mésoaméricain ; CIAT : Centre International d'Agriculture Tropicale ; INERA : Institut National d'Etudes et de Recherche Agronomique.

2-2. Méthodes

2-2-1. Examen des semences incubées sur du papier buvard (en forme de disque)

Procédure :

- ✓ 400 semences prélevées au hasard directement de l'échantillon soumis ;
- ✓ Placer dans chaque boîte de pétri trois papiers buvard humides, trempés préalablement dans de l'eau de robinet (un excès d'eau est à éviter) ;
- ✓ Ensemencer dix semences dans chaque boîte de pétri ;
- ✓ Incuber les boîtes de pétri avec leur contenu dans les conditions appropriées ;
- ✓ A la fin de l'incubation, observer les semences avec un stéréo-microscope ;
- ✓ A l'aide des photos et images identifier les champignons en fonction de la structure de leurs conidiospores (Clé d'identification utilisée : Common Laboratory Seed Health Testing Methods For detecting Fungi) ;
- ✓ Faire l'observation microscopique pour confirmer l'identification.

Matériels de laboratoire

- ✓ Boîtes de pétri en verre (diamètre 120 mm) ;
- ✓ Disques de papier buvard (blanc diamètre 90 mm) ;
- ✓ Crayon de couleur verte ;
- ✓ Des pinces ;
- ✓ Hotte à flux laminaire (EscoLaminar Flow Cabinet) ;
- ✓ Incubateur ;
- ✓ De l'eau distillée ou de robinet ;
- ✓ Des spatules ;

- ✓ Des microscopes (Microscope : Breukhoven Microscope Systems en sigle BMS et Stéréo-microscope Optica microscopes Italy) ;
- ✓ Plateaux pour placer les boîtes de pétri.

2-2-2. Examen des colonies développées à partir des semences semées sur un milieu gélosé

Milieu à base de pomme de terre et de carotte (milieu semi-sélectif)

- Pomme de terre râpée : 20 g ;
- Carotte râpée : 20 g ;
- Agar : 20 g ;
- Eau distillée ou de robinet : 1000 mL.

Bouillir les fruits râpée pendant 1 heure avec de l'eau de robinet ; filtrer à travers un tamis fin (ne pas presser) ; ajouter de l'agar ; bouillir dans un bain-marie jusqu'à dissolution complète de l'agar ; stériliser à l'autoclave à 151°C pendant 20 minutes.

Procédure

- ✓ Préparer la solution d'agar en fonction du nombre de boîte de pétri à utiliser (10 mL par boîte) ;
- ✓ Placer 10 semences par boîte de pétri en utilisant une pince bien stérile ;
- ✓ Incuber dans des conditions recommandées par les règles ;
- ✓ A la fin de la période d'incubation, on observe à l'œil nu les colonies formées sur le gel ;
- ✓ Le pourcentage des différentes colonies peut être calculé en regroupant les colonies avec des caractéristiques morphologiques identiques.

Matériels et équipements de base

- ✓ Boîtes de pétri ;
- ✓ Agar en poudre ;
- ✓ Dextrose en poudre ;
- ✓ Gaze ;
- ✓ Eau distillée ;
- ✓ Autoclave ;
- ✓ Hotte à flux laminaire (EscoLaminar Flow Cabinet) ;
- ✓ Des microscopes (Microscope : Breukhoven Microscope Systems en sigle BMS et Stéréo-microscope Optica microscopes Italy).

2-2-3. Analyse de la qualité sanitaire des semences

Les échantillons de semences de haricot étaient utilisés pour la détermination des pathogènes transmis par les semences. Différents indices ont été appliqués à cet effet notamment [22] :

1. Indice de pollution : c'est le nombre d'organismes isolés de 200 graines pour chaque échantillon. Pour une catégorie des semences, l'indice moyen correspond à la moyenne des indices de pollution des échantillons appartenant à cette catégorie. Cet indice permet d'apprécier globalement l'état sanitaire de l'échantillon analysé. Pour un échantillon donné, nous avons rapporté l'indice de pollution le plus élevé des méthodes.
2. Indice de répartition : c'est le pourcentage d'échantillon à partir desquels une espèce a été isolée.

3. Fréquence moyenne : la fréquence moyenne d'un organisme donné correspond au pourcentage des semences qui hébergent cet organisme. Pour un échantillon donné, cette fréquence est obtenue à la suite de l'analyse de 400 semences. Pour une catégorie donnée la fréquence moyenne correspond à la moyenne des fréquences de cet organisme dans les échantillons appartenant à cette catégorie. Etant donné que chaque échantillon est analysé par deux méthodes, nous avons gardé également pour chaque organisme la fréquence la plus élevée détectée par l'une des deux méthodes.

3. Résultats et discussion

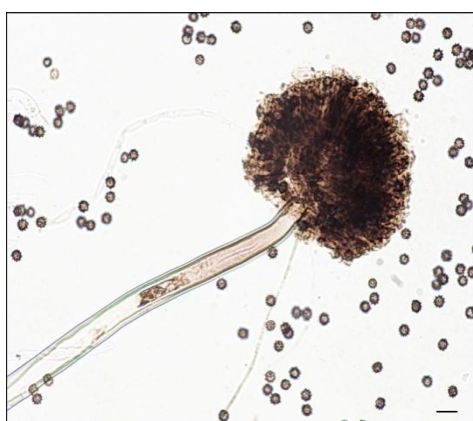
3-1. Présentation des résultats

3-1-1. Présence des champignons dans le lot des semences

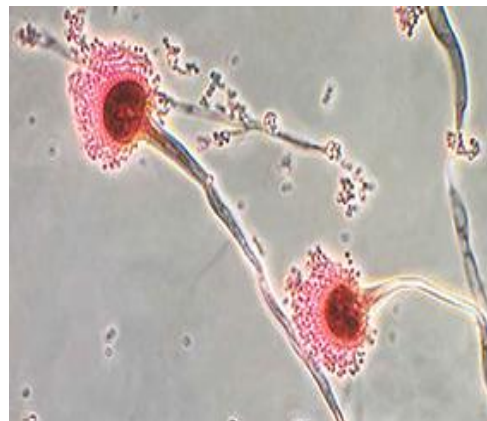
Caractéristiques des mycéliums sur milieu de culture

Les résultats relatifs à la contamination fongique ont révélé la présence de mycéliums de différentes formes (*Figures 1 et 2*).

Aspects des mycéliums d'Aspergillus



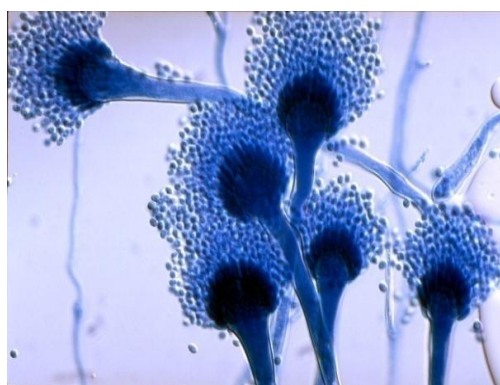
Coniophores d'Aspergillus



Coniophores d'Aspergillus



Coniophores d'Aspergillus



Coniophores d'Aspergillus

Figure 1 : *Résultat sur examen des semences incubées sur du papier buvard : observation des conidies du genre Aspergillus*

La **Figure 1** montre les conidiophores d'*Aspergillus* formés d'une tige filamenteuse portant les cellules conidiogènes produisant des spores (conidies). Ces conidiophores possèdent une extrémité renflée, sphérique et en forme de bouteille. Les conidiophores sont lisses, hyalins ou brunâtres dans la partie supérieure, très longs (de 1 à 3 mm). La tête aspergillaire est globuleuse et radiée, noire à maturité.

Aspects des mycéliums de Fusarium



Figure 1.a : Macroconidies de *Fusarium sp*



Figure 1.b : Polyphialades de *Fusarium sp*



Figure 1.c : Colonies de *Fusarium sp*

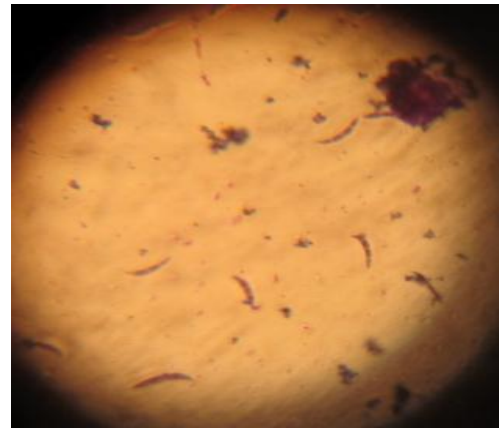


Figure 1.d : Microconidies du *Fusarium sp*

Figure 2 : Résultat sur examen des colonies développées à partir des semences semées sur un milieu gélosé : observation des conidies du genre *Fusarium*

Les résultats relatifs à l'examen des colonies après observation sur milieu de culture sont repris à la **Figure 1**. Les **Figures 1.a, 1.b, 1.c, et 1.d** montrent la forme des microconidies, des macroconidies et l'aspect des polyphialides au microscope photonique.

3-1-2. Teneur en eau des trois génotypes utilisés

Les résultats relatifs à la teneur en eau des trois génotypes utilisés dans notre expérimentation sont consignés dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 : Résultats relatifs à la teneur en eau (en %) des différentes accessions utilisées

Variétés Teneur	Hm 21-7	K 131	Lola nain
Teneur en eau	13,9	15,4	13,4

De l'analyse des résultats du **Tableau 2**, il s'avère que toutes les variétés ont donné une teneur en eau comprise entre 13,1 et 15,5 %, ce qui n'est pas conforme aux normes fixées par l'ISTA 2012 [24] et les règlements techniques des semences standards qui recommandent un taux d'humidité maximale de 12 %.

3-1-3. Faculté germinative de trois accessions variétales sous étude

Le **Tableau 3** donne la faculté germinative de trois accessions variétales sous étude

Tableau 3 : Faculté germinative des trois variétés de haricot dans différents substrats

Substrat	TP	BP	Sable
Variétés			
Hm 21-7	88	76	92
K 131	87	75	89
Lola nain	67	63	78

Légende : TP : Top of papper (méthode au-dessus du papier), BP : between papper (entre les papiers).

Les résultats relatifs à la faculté germinative des trois variétés de haricot commun dans différents substrats représentés au **Tableau 3** montrent que les deux variétés biofortifiées (Hm 21-7 et K 131) ont une faculté germinative supérieure à 70 % (norme fixée par le règlement technique de la production, du contrôle et de la certification des semences des principales cultures vivrières et maraichères en République Démocratique du Congo). La variété locale Lola nain a donné une moyenne de la faculté germinative de moins de 70 % dans les trois substrats utilisés. Nous notons aussi que dans les conditions de notre expérimentation, le sable est le substrat le mieux indiqué pour le test de germination.

3-1-4. Différents indices analysés dans la détermination de la qualité des semences

Les **Tableaux 4, 5, et 6** reprennent l'indice de pollution minimale, l'indice de répartition et les fréquences des agents pathogènes dans les semences.

Tableau 4 : Indice de pollution minimale (m), moyen (my) et maximal (M) pour chaque variété

	Hm 21-7			K 131			Lola nain		
IP	M	My	M	M	my	M	M	my	M
	0	0	0	0	2,85	7	0	2,15	5

Légende : IP : Indice de pollution

L'analyse des résultats tels que consignés dans le **Tableau 4**, renseigne que deux variétés (K 131 et Lola nain) sont contaminées par deux espèces de champignons mais avec un indice de pollution faible respectivement de 2,85 et 2,15. La variété Hm 21-7 n'a pas été contaminée.

Tableau 5 : Indice de répartition des différents champignons dans les variétés analysées

Variétés	Hm 21-7	K 131	Lola nain
Champignons			
Champignons rapportés pathogènes			
- <i>Aschochyta spp.</i>	0	0	0
- <i>Alternaria spp.</i>	0	0	0
- <i>Botrytis spp.</i>	0	0	0
- <i>Cladosporium spp.</i>	0	0	0
- <i>Stemphylium spp.</i>	0	0	0
Champignons saprophytes			
- <i>Aspergillus spp.</i>	0	30	20
- <i>Fusarium sp.</i>	0	15	60
- <i>Penicillium spp.</i>	0	0	0
<i>Rhizopus spp.</i>	0	0	0

Les résultats relatifs à l'indice de répartition des champignons analysés indiquent que dans 60 % d'échantillon de la variété Lola nain, on peut isoler les espèces du genre *Fusarium* tandis que c'est dans 20 % d'échantillon de la même variété qu'on peut isoler le genre *Aspergillus*. Quand à la variété K 131, il faut 30 % et 15 % des échantillons qu'il faut isolé respectivement des champignons des genres *Aspergillus* et *Fusarium*. Aucun champignon n'a pu être isolé à partir des échantillons de la variété Hm 21-7.

Tableau 6 : Fréquences minimales (m), moyennes (my) et maximales (M) des champignons détectés sur les trois variétés

Variétés	Hm 21-7			K 131			Lola nain		
Champignons	M	my	M	m	my	M	m	my	M
Champignons rapportés pathogènes									
- <i>Aschochyta spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
- <i>Alternaria spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
- <i>Botrytis spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
- <i>Cladosporium spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
- <i>Stemphylium spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Champignons saprophytes									
- <i>Aspergillus spp.</i>	0	0	0	0	3	4	0	2	3
- <i>Fusarium sp.</i>	0	0	0	0	2	3	0	4,7	16
- <i>Penicillium spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rhizopus spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Nombre d'échantillons analysés par accession : 40 échantillons

L'analyse des résultats consignés dans le **Tableau 6** indique une absence des champignons rapportés comme pathogènes dans les analyses des trois variétés. Cependant, les variétés K 131 et Lola nain présentent respectivement une fréquence maximale de 4 % (pourcentage des semences hébergeant le genre *Aspergillus*) et 16 % chacune (Pourcentage des semences hébergeant le genre *Fusarium*).

3-2. Discussion

D'une manière générale, différentes variations entre les génotypes ont été enregistrées à l'issue de nos analyses. Ces variations seraient dues au manque de soins accordés au conditionnement des semences après des travaux post récolte. Les résultats obtenus sur base des analyses sanitaires des semences font état de la présence de deux champignons différents : *Aspergillus niger* et *Fusarium solani* sur les variétés K 131 et Lola nain. Aucun symptôme caractéristique de maladies fongiques n'a été observé sur la variété Hm 21-7. Les mêmes résultats ont été obtenus par [12] au laboratoire de biologie et amélioration des productions végétales à l'université de Nangui Abrogoua en Côte d'Ivoire. Cette étude montre aussi la diversité de la microflore liée aux semences du haricot commun. Les taux d'infection plus élevé rencontré chez les accessions K 131 et Lola nain se justifieraient par leur teneur en eau élevée évaluée à plus de 12 % [10]. Dans nos analyses, aucun champignon rapporté pathogène n'a été identifié. Néanmoins des genres comme *Botrylis*, *Alternaria*, *Cladosporium* ont été identifiés dans d'autres analyses effectués par le Service National des Semences en République Démocratique du Congo et sous d'autres lieux [27]. Le pourcentage d'échantillons infectés par *Aspergillus* reste faible (30 et 20 %) comparativement à celui de *Fusarium* (15 et 60 %). Le principal problème que pose ce genre de champignon se situe au niveau de la conservation. Ils peuvent réduire la faculté germinative surtout si le taux d'humidité est élevé [9]. Les résultats obtenus sur base de l'évaluation de l'indice de pollution, l'indice de répartition et les fréquences des agents pathogènes sur les trois variétés de haricot commun montrent des pourcentages faibles d'infection. Ces résultats corroborent avec les travaux antérieurs réalisés par [19, 29, 30].

4. Conclusion

L'objectif visé par ce travail est d'identifier les différents champignons transmis par les semences biofortifiées utilisées en République Démocratique du Congo. Deux méthodes ont été utilisées : la première porte sur l'incubation des semences sur papier buvard et la seconde basée sur l'examen des colonies développées à partir des semences semées sur un milieu gélosé. Les résultats de l'analyse des deux types de semences (biofortifiées et une variété locale) montre qu'ils sont infectés par les mêmes champignons mais à des degrés différents : la variété locale a connu un degré d'infestation au *Fusarium* très élevé (4,7 %). Cela pourrait s'expliquer par sa teneur en eau très élevée et sa faible faculté germinative dans différents substrats par rapport aux autres variétés. Les indices de pollution, de répartition et les fréquences moyennes des deux types de semences sont restés à peu près proches mais avec une légère hausse pour la variété locale (Lola nain). Il faut signaler aussi l'absence des champignons reconnus pathogènes dans nos échantillons. Les champignons identifiés étaient tous reconnus saprophytes (*Aspergillus* et *Fusarium*). En définitif, notre étude a permis d'identifier deux champignons à la base de la détérioration de la qualité des semences en RDC. Nous suggérons une étude étendue sur l'identification d'autres agents pathogènes comme les bactéries et les virus avec des méthodes plus poussées comme la PCR (Polymerase Chain Reaction).

Remerciements

Nous remercions sincèrement l'académie de la recherche et de l'enseignement supérieur belge (ARES) qui nous a accordé un fonds d'appui afin de subsidier ponctuellement des travaux expérimentaux en laboratoire et des recherches empiriques de terrain. Les mêmes vœux vont aussi à l'endroit des représentants de l'ARES au niveau local (Université de Kinshasa) pour leur accompagnement et orientation.

Références

- [1] - A. KPEDZROKU et A. DIDJEIRA, Guide de production semences certifiées maïs, sorgho, riz et niébé. Collection brochures et fiches techniques 1. Lomé : ITRA/ICAT/CTA, (2008)
- [2] - ACIA, Méthodes et procédés canadiens d'essai des semences. Dernière version des Règles internationales pour les essais de semences de l'ISTA, annexe du chapitre 7, Méthode 7-013, (2012) 139 p.
- [3] - S. M. ALI, J. PATERSON et L. CROSTY, A standard technique for detecting borne pathogen in pease, chemical control and testing commercial seed in South Australian. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb*, 22 (1982) 248 - 352
- [4] - A. A. N'DRI, V. B. IRIE, P. L. KOUAMÉ, I. A. ZORO BI, Bases génétiques et biochimiques de la capacité germinative des graines : implications pour les systèmes semenciers et la production alimentaire. *Sciences & Nature*, Vol. 8, N°1 (2011) 119 - 137
- [5] - ANONYME, Divisions Provinciales de l'Agriculture (DPA) du Kongo Central. Rapports annuels sur la production vivrière et animale, (2013)
- [6] - ASHWORTH, Seed Saving and growing Techniques for Vegetable Gardener, (2008) 4 p.
- [7] - F. M. KINKINGNINHOUN-MEDAGBE, A. DIAGNE, A. BONOU, P. A. SECK and E. AMOVIN-ASSAGBA, Problématique semencière dans la riziculture africaine : accès et demande des semences améliorées par les producteurs et perspectives pour améliorer le système, (2013) 17 p.
- [8] - BEEBE S. RAO I., C. MUKANKUSI and R. BURUCHARA, Improving resource use efficiency and reducing risk of common bean production in Africa, Latin America and the Caribbean. *Eco-efficiency : From Vision to Reality*. CIAT, Cali? Colombia, (2013) 118 - 134 p.
- [9] - C. CASINGA, L. CIRIMWAMI, G. AMZATI, J. KATEMBERA, LUBOBO 2016 and G. MUSHAGALUSA, Effect of the environment on the adaptability of biofortified bean genotypes in the eastern Democratic Republic of Congo : case of South-Kivu, *European Journal of Agriculture and Forestry Research*, Vol. 3, N° 9, (2015) 38 - 47 p.
- [10] - C. CASINGA, L. CIRIMWAMI, G. AMZATI, E. KANINGINI et LUBOBO 2016, Effet du stress hydrique sur le criblage varietal des haricots communs (*Phaseolus vulgaris*) dans le marais du sud-Kivu montagneux. *African SCIENCE*, Vol. 12, N° 1, 335 - 344 p.
- [11] - J. L. MULTON, Conservation et stockage des grains, graines et produits dérivés. Lavoisier édit., collection Tec & Doc, 2 Vol, (1982) 1160 p.
- [12] - JULIETTE DEDI et KOUASSI ALLOU, Etude du pouvoir germinatif de quatre variétés de riz et identification des champions présents sur des grains en germination. *Afrique SCIENCE*, 11 (3) (2015) 161 - 171. ISSN 1813-548X, <http://www.afriquescience.info>.
- [13] - C. BOIJOLI, Critères de qualité d'une semence, (2009) 1 p.
- [14] - J. DE TEMPE, An analysis of laboratory testing requirements of two seed borne diseases. *Proc. Int. Test. Ass.*, 33 (1968) 583 - 588
- [15] - FAO, Document du projet plan de restructuration des services centraux et régionaux du MAPE, (2003)
- [16] - W. P. FEITRITZER et A. F. KELLY, Production des semences améliorées. FAO/Rome, (1979)
- [17] - G. BACCHETTA, P. BELLETTI, S. BRULLO, L. CAGELLI, V. CARASSO, J.L. CASAS, C. CERVELLI, M. C. ESCRIB, G. FENU, F. GORIAN, J. E. GÜEMES, E. MATTANA, M. NEPI, E. PACINI, P. PAVONE, B. PIOTTO, P. CRISTIANO, A. PRADA, G. VENORA, L. VIETTO & M. VIREVAIRE, Manuel pour la récolte, l'étude, la conservation et la gestion ex situ du matériel végétal. Rome, Italie, (2006) 244 p.
- [18] - L. GAO and M. SHAO, Temporal stability of soil water storage in diverse soil layers. *CATENA*, Vol. 95, (2012) 24 - 32 p.
- [19] - C. GOZDE and T. ECE, Genotypic variation in growth and physiological responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to flooding. *African journal of Biotechnology*, Vol. 38, (2011) 7372 - 7380 p.

- [20] - M. EL. GUILLI, Analyse de la qualité des semences de petit-pois utilisées au Maroc. ALAWAMIA, N° 85 Juin 1994
- [21] - S. HAGAY, Diversity of beans grown in Kyrgyzstan and Marker-aided Breeding for Resistance to bean common Mosaic Virus and Anthracnose. Swedish University of Agriculture Science. Available at <http://pub.epsilon.slu.se/10425/>, (2013)
- [22] - A. HIDAN, Semences de lentilles, de petits pois et de pois chiche. Production, commercialisation, utilisation et état sanitaire. Mémoire de troisième cycle I.A.V. Hassan II, (1985) 67 p.
- [23] - S. IRMAK, Plant growth and yield as affected by wet soil conditions due to flooding or over irrigation. University of Nebraska Lincoln, (2013) 123 - 134 p.
- [24] - ISTA, Règles Internationales pour les essais de semences (ISTA), Zurichstr. 50, 8303. Bassersdorf, Suisse, (2012)
- [25] - L. K. JONES, Studies of the nature and control of the blight leaf and pod spot and foot rot of peas caused by species of *Ascochyta*. Bull. N. Y. Agric. Exp. Stn., N° 547 (1927) 1 - 45
- [26] - M. KOUKI, Politique nationale de développement du sous secteur semencier. FAO/Kinshasa, (2004)
- [27] - A. S. LAWYER, Anthracnose, *Sclerotinia* rot, Gray Mold and *Cladoporium blight*, IL compendium of pea diseases (Ed. D. J. Hagedorn). American Phytopathological Society, (1984) 57 p.
- [28] - A. LUBOBO, Influence des conditions pédoclimatiques et des itinéraires techniques sur la performance et la stabilité du rendement et des micronutriments des haricots biofortifiés dans les différentes zones agro écologiques de la RD Congo, Thèse de doctorant, inédit, Université de Lubumbashi, (2012) 239 p.
- [29] - P. J. MCMAHON, A. PURWANTARA, A. WAHAB, M. IMRON, S. LAMBERT, P. J. KEANE and D. I. GUEST, Phosphonat Applied by Trunk Injection Controls Stem Canker and Decreases Phytophthora Pod Rot (Black Pod) Incidence in Cocoa in Sulawesi. Australasian Plant Pathology, Vol. 39, N° 2, (2010) 170 - 175 p.
- [30] - M. F. MULEMBUSA, Diagnostic des maladies virales transmises par graines de légumineuses du Bas-Congo (RD. Congo). Mémoire. Université Catholique de Louvain. Inédit, (2011)
- [31] - P. NEERGAARD, Seed pathology. Vol. I, the Mac Millan Press, LTD. London, (1979) 88 p.
- [32] - H. C. NOURSE, Field pea in South Australia. Ext. Bull. Dep. Agric. S. Aust., N° 3683 (1973)
- [33] - PONCHET, Etude des communautés mycopéricarpiques du caryopse. Ann. Epiphyties 17 (1) hors série I, (1966)
- [34] - R. CHAMPION, Identification des champignons transmis par les semences, Edition INRA, 147, Rue de l'université, 75338 CEDEX 07, (1997) 398 p.
- [35] - M. J. RICHARDSON, An annotated list of seed borne diseases. Third Ed. Commonwealth Mycological Institute, Rew, (1979) 320 p.
- [36] - A. SAEIDNEJAD, M. KAFI, H. KHAZAEI and M. PESSARAKLI, Effects of drought stress on qualitative yield and antioxidative activity of *Bunium persicum* Turk J Bot, Vol. 37, (2013) 930 - 939 p.
- [37] - T. Vanderborght et J-P. Baudoin, La collection de base des espèces sauvages de *Phaseolus* et *Vigna*: historique, gestion et conservation. Biotechnol. Agron. Soc. Environ, Belgique, (1998)
- [38] - V. R. WALLER, Influence of tree *Oscocchyta* diseases of pea on plant development and yield Can. Plant dis. Surv., 5 (3) (1974) 86 - 90