

ESSAIS DE COMPORTEMENT DE VARIÉTÉS DE POIS (*Pisum sativum* L.) A L'ÉGARD DE *Ascochyta* sp. AGENT RESPONSABLE DE L'ANTHRACNOSE

M.Y. BENKADA, F. SAIAH, B.S. BENDAHDANE.

Faculté des sciences et sciences de l'ingénieur,

Université Abdelhamid Ibn Badis. BP. 188 Mostaganem, 27000 (Algérie)

RÉSUMÉ

Cette étude a pour objectif de tester le niveau de résistance de cinq variétés de pois à l'égard de deux espèces de *Ascochyta*. Les résultats obtenus montrent une différence de sensibilité des variétés aux différentes souches du pathogène. Aucune forme de résistance n'est observée chez l'ensemble des cultivars vis-à-vis de *Ascochyta pinodes*. La variété Arkel qui présente des indices de gravité de la maladie inférieurs à 3 montre une résistance à l'égard de *Ascochyta pinodella* ; en revanche, la variété Merveille de Kelvedon est la plus sensible aux deux espèces de *Ascochyta*. Sur le plan qualitatif, une variabilité pathogénique interspécifique est observée ; *A. pinodes* provoque chez les plantes inoculées des dommages plus importants au niveau des parties aériennes. *A. pinodella*, quant à elle, exprime des indices de gravité (symptômes) élevés au niveau des parties souterraines. Ces observations peuvent s'avérer importantes en vue d'une identification des deux espèces de *Ascochyta* sur la base des symptômes observés aux champs.

Mots Clés : *Pisum sativum* L., *Ascochyta pinodes*, *Ascochyta pinodella*, sensibilité, résistance, variétés.

SUMMARY

This study aims to test the level of resistance of five varieties of pea with regard to two species of *Ascochyta*. The results obtained show a difference in sensitivity of the varieties to the various stocks from the pathogenic one. No form of resistance is observed at the whole of the cultivars with respect to *Ascochyta pinodes*. The Arkel variety which presents indices of gravity of the disease lower than 3 shows a resistance with regard to *Ascochyta pinodella* on the other hand, the Merveille variety of Kelvedon is most sensitive to the two species of *Ascochyta*. On the qualitative level, an inter specific pathogenic variability is observed ; *A. pinodes* causes at the inoculated plants of the more significant damage on the level of the air parts. On the other hand, *A. pinodella* expresses indices of gravity (symptoms) high on the level of the underground parts. These observations can prove to be significant for an identification of the two species of *Ascochyta* on the basis of symptom observed with the fields.

Key Words : *Pisum sativum* L., *Ascochyta pinodes*, *Ascochyta pinodella*, sensitivity, resistance, varieties.

INTRODUCTION

Chez les légumineuses alimentaires, le pois (*Pisum sativum* L.) représente en Algérie une importance économique non négligeable. Cependant, les principales variétés cultivées montrent une sensibilité à l'égard de *Ascochyta* sp. agent responsable de l'anthracnose. Cette sensibilité est souvent à l'origine d'importants dégâts et affecte la qualité et le rendement sur cette culture. La variabilité potentielle d'un pathogène est généralement mise en évidence par la confrontation d'une collection de lignées de la plante hôte avec les différents pathotypes (BOUZNAD, 1989). Pour *Ascochyta*, la variabilité morphologique des souches est également liée à leur pathogénécité (TIVOLI *et al.*, 1997). Dans ce contexte, cette étude a pour objectif la comparaison de la sensibilité de certaines variétés de pois confrontées à quelques souches agressives de *Ascochyta*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1 - Matériel végétal

Pour cet essai, cinq variétés de pois (Arkel, Utrillo, Onward, Protor et Merveille de kelve-don) disponibles sur le marché Algérien ont été retenues.

2 - Matériel fongique

L'agent pathogène utilisé est représenté par des souches isolées à partir de plants de pois infectés prélevés dans plusieurs zones de la wilaya de Chlef (Nord-Ouest de l'Algérie) durant la campagne 2001-2002.

a - Technique d'isolement

L'isolement du pathogène est réalisé selon la méthode décrite par RAPPILY, 1968 ; elle consiste à prélever des fragments de feuilles, tiges et gous-ses présentant les symptômes caractéristiques de la maladie. Après une désinfection à l'hypochlo-rite de sodium à 2 °C, pendant cinq minutes (5

mn), suivie de trois (03) rinçages successifs à l'eau distillée stérile, suivis d'un séchage sur du papier buvard stérile, les fragments sont déposés dans des boîtes de Petri contenant le milieu P.D.A a raison de cinq (05) fragments par boîte, chaque partie de la plante étant traitée séparément.

Après incubation, des repiquages de manière aseptique sont effectués : des explants de culture ne présentant aucune contamination sont prélevés au niveau de la zone périphérique des colonies. L'opération est renouvelée jusqu'à obtention d'une culture pure. Après incubation, des obser-vations microscopiques sont effectuées, les iso-lats présentant les caractères de *Ascochyta* sont cultivés sur milieu Mathur afin de favoriser la pycniogenèse (CHAMPION, 1997). Pour limiter les risques de variabilité des isolats, nous avons réalisé des cultures monospores selon la tech-nique préconisée par RAPPILY (1968).

b - Identification des souches

La caractérisation des isolats mono spores est réalisée sur la base de critères morphologiques comme l'aspect et la couleur des colonies ainsi que la taille et la forme des conidies. Le tableau I représente l'origine et la caractérisation des isolats retenus.

3 - Conduite de l'essai

La méthode utilisée consiste à mettre en pots trois (03) graines prégermées. Le dispositif est constitué par trois pots par variété soit au total quinze (15) pots plus cinq (5) représentants les témoins non inoculés.

L'ensemble des pots est mis dans des conditions contrôlées avec une température de 18 °C et une alternance de lumière (héméro-période). Les pots sont arrosés avec de l'eau stérilisée jusqu'à la levée où un apport de solution nutritif (K.N.O.P) s'impose afin d'assurer une bonne croissance des plantes.

L'étude a été conduite selon un dispositif expérimental bi-factoriel en randomisation totale, avec deux facteurs étudiés : les variétés de pois et les souches de *Ascochyta*.

4 - Technique d'inoculation et de notation

Après une apparition très marquée des pycnides, l'inoculum est obtenu à partir d'un grattage des boîtes de Pétri contenant les isolats, en présence d'eau distillée stérile afin d'obtenir une concentration finale de 10^6 spores /ml.

L'inoculation est faite au stade floraison (MAUFRAS, 1996). L'inoculum est apporté par un pulvérisateur en verre, après l'ajout d'une goutte de Tween (mouillant). Celui ci est abondamment rincé à l'eau de javel à 5 °C puis à l'eau distillée stérile entre chaque inoculation.

Mis à une température de 23 °C, les plants inoculés sont ensuite recouverts d'un film plastique transparent et pour assurer une humidification maximale, des pulvérisations d'eau distillée stérile fréquentes sont réalisées afin de faciliter la germination des spores (BOUZNAD, 1989). Pour mesurer le degré de la maladie, nous avons été amenés à retenir deux facteurs, l'indice de gravité sur la partie aérienne et l'indice de gravité sur la partie souterraine des plantes inoculées.

4.1 - Indice de gravité sur la partie aérienne

Pour l'évaluation de la gravité de l'attaque nous avons utilisé le système de notation décrit par NASIR et HOPPE (1991). Après lavage des racines, les plantes sont réparties en cinq (05) classes en fonction de l'importance des symptômes observés sur la partie aérienne. La notation retenue à cinq (05) degrés correspond au nombre de plantes appartenant à chaque classe :

- 0 : pas de symptômes.
- 1 : petites taches ou lésions sur feuilles et tiges.
- 3 : plusieurs taches coalescentes sur feuilles et tiges

souvent avec des lésions nécrotiques au niveau des nœuds.

5 : toutes les feuilles sont infectées avec dépérissement de la tige.

7 : plante morte.

Le rapport suivant indique la réaction moyenne de chaque variété :

$$IM = \frac{0xF1 + 1xF2 + 3xF3 + 5xF4 + 7XF5}{N}$$

IM : indice de la maladie.

F : nombre des plants pour chaque degré dans l'échelle de notation allant de 0 à 7.

N : nombre de plants utilisés.

Selon CABRERA *et al.* (1987) ; LECHAPPE *et al.* (1988) ; CLULOW *et al.* (1991) et NASIR et HOPPE (1998) ; la sensibilité ou la résistance des plants est définie par cet indice :

- Si $IM < 3$, le cultivar est résistant
- Si $3 < IM < 5$, le cultivar est peu sensible
- Si $IM > 5$, le cultivar est sensible

4.2 - Indice de gravité sur la partie souterraine

Après l'évaluation de l'indice de gravité sur la partie aérienne, les mêmes plantules sont réparties en 5 classes, mais cette fois en fonction de l'importance des symptômes sur le collet et le système racinaire. L'échelle de notation adoptée est celle préconisée par NASIR et HOPPE (1991).

- 0 : racines indemnes de symptômes : plante saine.
- 1 : petites taches au niveau du collet.
- 3 : nécrose au niveau des racines : coloration brune du collet.
- 5 : nécrose et taches coalescentes sur racines et collet.
- 7 : plante morte.

Le calcul des indices d'attaque est identique à celui utilisé pour la partie aérienne.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1 - Indice de gravité aérienne

Les parties aériennes des plants inoculés par les différentes souches de *Ascochyta* ont exprimé des symptômes (nécroses) représentés par des

indices de gravité de la maladie (tableau II). Sur la base de ces critères, nous avons évalué la réaction (sensibilité et résistance) des variétés testées. L'analyse de la variance effectuée pour les différentes variables étudiées (variétés de pois et souches de *Ascochyta*) révèle des différences hautement significatives (tableau III). On remarque que la variété Arkel présente une résistance appréciable (indice de gravité compris entre 2,5 et 3,9) vis-à-vis de l'ensemble des souches de *Ascochyta pinodella*, les autres variétés se montrent quant à elles peu sensibles (Onward et Protor) à sensibles (Merveille de Kelvedon et Utrillo). Dans le contexte de la relation hôte-pathogène, la souche A3 est moins dommageable, les autres souches (A1, A2 et A4) se montrent virulentes ; A5 présente plutôt une agressivité à l'égard des variétés.

Concernant *Ascochyta pinodes*, aucune forme de résistance n'est observée chez l'ensemble des variétés ; Arkel semble toutefois moins exposée aux attaques du pathogène. Merveille de Kelvedon est la plus sensible à cette espèce. Pour le facteur souche, B1 se montre très agressive à l'égard de toutes les variétés en revanche, B4 cause moins de dégâts.

2 - Indices de gravité des parties souterraines

Aucune forme de résistance n'est observée, toutes les variétés se sont montrées peu sensibles à sensibles et cela en fonction des souches du pathogène testées. L'analyse statistique (tableau IV) montre qu'il existe une réaction différentielle des variétés testées. M. Kelvedon présente une grande sensibilité à toutes les souches de *Ascochyta* à l'inverse, Arkel est moins vulnérable. Chez l'espèce *A. pinodella*, la souche A3 semble la plus agressive, toutes les variétés présentent une sensibilité à son égard ; à l'inverse, A4 est la moins dommageable. Une variabilité interspécifique est observée chez les autres souches. Comparativement, avec un indice de gravité de la maladie compris entre 3 et 5,5, les souches appartenant à *A. pinodes* semblent les

moins agressives à l'égard de l'ensemble des variétés inoculées (tableau V).

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une variabilité des cultivars en réponse à l'attaque par les souches de *Ascochyta*. Toutes les variétés ont été peu sensibles à sensibles, on note cependant des cas de résistance modérée observés notamment chez la variété Arkel en réponse à l'attaque par *A. pinodella*. Cette variabilité du pouvoir pathogène qui touche les deux composantes agressivité et virulence a été rapportée par VAN-DER-PLANK (1968), ceci laisse supposer que nous sommes en présence de pathotypes différents. La source de résistance identifiée à ce jour pour les deux espèces étudiées présente plutôt des niveaux de résistances partielles (CLULOW *et al.*, 1991 ; BARRANGER et TIVOLI, 1998) ou horizontales (VAN-DER-PLANK, 1968). Par ailleurs, il a été établi que le nombre de pathotypes diffère d'une région à l'autre (XUE *et al.*, 1998 ; WROTH, 1998).

Au niveau des parties aériennes, *Ascochyta pinodes* a été la plus virulente, en revanche *A. pinodella* a exprimée des indices de gravité importants au niveau des parties souterraines.

Ceci laisse supposer une certaine spécialisation physiologique des deux espèces. La sensibilité des racines à *A. pinodella* a été rapportée par plusieurs auteurs, (BOUZNAD, 1989 ; MAUFRAS, 1996 ; TIVOLI *et al.*, 1997).

CONCLUSION

L'objectif de ce travail est d'estimer le niveau de résistance de cinq variétés de pois à l'égard de certaines souches de *Ascochyta*. La réaction pour chaque variété est variable est tient compte également des souches du pathogène utilisé. Les principaux résultats obtenus en conditions contrôlées indiquent une grande sensibilité de la variété Merveille de Kelvedon et une relative

résistance de la variété Arkel. Comme il a été constaté une certaine spécialisation des deux espèces de *Ascochyta*, *A. pinodes* provoque des dégâts importants au niveau des parties aériennes des plants inoculés, en revanche *A. pinodella* affecte beaucoup plus les parties souterraines. Dans la nature, d'autres facteurs (biotiques et abiotiques) peuvent intervenir dans la relation hôte pathogène, le choix des variétés repose donc sur la capacité de ces derniers à résister aux souches de *Ascochyta* mais également à leur adaptation dans les régions de culture de pois.

Références bibliographiques

- BARRANGER A., TIVOLI B., 1998. Involvement of partial resistance in the genetic control of disease the case of *Ascochyta* blight resistance in pea. European association for grain legumes research, 107-113.
- BOUZNAD Z., 1989. Contribution à la connaissance du genre *Ascochyta* cas particulier de l'étude biologique ultra structurale et cytochimiques des relations hôte-parasite chez le couple *Pisum sativum* / *Ascochyta pisi* Lib. Thèse doctorat Université Pierre et Marie Curie. Paris (FR). 217 p.
- CABRERA D. DELACOLINA J. TRAPERO-CASAS B. and JIMENES-DIAZ M., 1987. Pathogenic variation of *fusarium oxisporum* fsp ciceri and *Fusarium solani* to chickpea in Andalusia southern Spain 7th congress of the Mediterranean pathology union Canada, Spain, Spain . 121-123.
- CLULOW S. MATTHEWS A. et LEWIS B.G., 1991. Genetically analysis of resistance to *Mychosphaerella pinodes* in pea seedlings. Euphetica (58) 183-189.
- LECHAPPE J. ROUXEL F. et SAMSON M.I., 1988. Complexe parasitaire du pied du haricot. Mise en évidence des principaux champignons responsables de la maladie : *Fusarium solani* fsp phaseoli et *Thielloviopsis bassicola*. Agronomie, 8 (5) 451-457.
- MAUFRAS J. Y., 1996. L'antracnose ; Perspectives agricoles (22) 6-17.
- NASIR M. et HOPPE H.H., 1991. Studies on pathotype differentiation within *Mychosphaerella pinodes* (Berk et Blox) vestergren, a component of the *Ascochyta* disease complex of pea (*Pisum sativum* L.). Journal of plant diseases and protection 98 (6) 619-626.
- NASIR M. et HOPPE H.H., 1998. Evaluation of varietals susceptibility in peas to *Mychosphaerella pinodes*. Test of agrochemical and cultivars (88) 32-33.
- RAPPILY F., 1968. Les techniques de mycologie en pathologie végétales. Annales Epiphyties, 60p.
- TIVOLI B. HALILA H. et PORTA PUGLIA A., 1997. Les anthracnoses des légumineuses à grosses graines dans les pays du pourtour méditerranéen ; les légumineuses alimentaires méditerranéennes. Ed. INRA, Paris 81-102.
- VAN-DER-PLANK J.E., 1968. Résistance des plantes aux maladies Ed. academic press. Inc, 223p.
- WROTH J. M., 1998. Variation in pathogenecity among and within *Mychosphaerella pinodes* populations collected from field pea in Australia. Canadian journal of botany (76) 1955-1966.
- XUE A. G., WARKENTIN T.D. GOSSEN B.D. BWENETT P.A. WANDERBERG A. and RASHID K.Y., 1998. Pathogenic variation of western Canadian isolates of *Mychosphaerella pinodes* on selected *Pisum* genotypes. Can. J. plant pathology (20) 189-193.

Tableau I : Origine et caractérisation des isolats de *Ascochyta*.

Désignations	Origines (Commune)	Espèces
A1	Oued Fodda	<i>Ascochyta pinodella</i>
A2	Chettia	<i>Ascochyta pinodella</i>
A3	Boukadir	<i>Ascochyta pinodella</i>
A4	Oued Sly	<i>Ascochyta pinodella</i>
A5	Boukadir	<i>Ascochyta pinodella</i>
B1	Chéttia	<i>Ascochyta pinodes</i>
B2	Oued Sly	<i>Ascochyta pinodes</i>
B3	Oued Fodda	<i>Ascochyta pinodes</i>
B4	Boukadir	<i>Ascochyta pinodes</i>
B5	Oued Sly	<i>Ascochyta pinodes</i>

Tableau II : Comportement variétal vis-à-vis des souches de *Ascochyta*. Indice de gravité de la maladie (anthracnose) sur la partie aérienne des plants de pois inoculés.

Souches	Variétés de pois				
<i>A. pinodella</i>	Arkel	Utrillo	Onward	Protor	M. Kelvedon
A1	2.5 (R))	4 (PS)	4 (PS)	4 (PS)	4.3 (PS)
A2	2.8 (R)	4 (PS)	3.3 (PS)	4.1 (PS)	4.6 (PS)
A3	2.5 (R)	3.6 (PS)	3.3 (PS)	2.9 (R)	3.9 (PS)
A4	2.7 (R)	5 (S)	3.9 (PS)	5 (S)	6 (S)
A5	3.5 (PS)	4 (PS)	3.7 (PS)	4 (PS)	3.7 (PS)
<i>Ascochyta pinodes</i>					
B1	5.2 (S)	6.2 (S)	5 (S)	5.1 (S)	7 (S)
B2	3.9 (PS)	5.5 (S)	5 (S)	5.6 (S)	5.9 (S)
B3	4.2 (PS)	5 (S)	4.8 (PS)	5 (S)	6.8 (S)
B4	4 (PS)	5.1 (S)	4.8 (PS)	4.7 (S)	5 (S)
B5	4.3 (PS)	5.2 (S)	5 (S)	5 (S)	6.4 (S)

S : Sensible PS : Peu sensible R : Résistant.

Tableau III : Gravité de la maladie sur la partie aérienne des plants. Analyse de la variance des facteurs étudiés (F1 = souches de *Ascochyta* et F2 = variétés de pois).

	S.C.E	DDL	Moyenne	Test F	Signification
Variable totale	163,82	149	1,09		
F 1 : Varia. Souches	90,75	9	10,08	2291,80	***
F2 : Varia. Variétés	52,22	4	13,05	2967,25	***
Varia. Inter F1-F2	20,4	36	0,56	128,78	***
Varia. Résiduelle	0,44	100	0,04		

*** Significative à 5%.

Tableau IV : Gravité de la maladie sur la partie souterraine des plants. Analyse de la variance des facteurs étudiés (F1 = souches de *Ascochyta* et F2 = variétés de pois).

	S.C.E	DDL	Moyenne	Test F	Signification
Variable totale	190,59	149	1,27		
F 1 : Varia. Souches	103,88	9	11,54	489,10	***
F2 : Varia. Variétés	8,16	4	2,04	86,50	***
Varia. Inter F1-F2	76,18	36	2,11	89,66	***
Varia. Résiduelle	0,44	100	0,02		

*** Significative à 5%.

Tableau V : Comportement variétal vis-à-vis des souches de *Ascochyta*. Indice de gravité de la maladie (anthracnose) sur la partie souterraine de plants de pois inoculés.

Souches	Variétés de pois				
<i>Ascochyta pinodella</i>	Arkel	Utrillo	Onward	Protor	M. Kelvedon
A1	3.5 (PS)	5.9 (S)	5.7 (S)	5 (S)	6.2 (S)
A2	5 (S)	3.6 (PS)	5.5 (S)	5.2 (S)	6.3 (S)
A3	5.3 (S)	6.4 (S)	7 (S)	5.4 (S)	5.9 (S)
A4	3 (PS)	3.3 (PS)	3.4 (PS)	3 (PS)	4 (PS)
A5	3.6 (PS)	5.3 (S)	5 (S)	3.9 (PS)	6.3 (S)
<i>Ascochyta pinodes</i>					
B1	5.5 (S)	4.4 (PS)	3.7 (PS)	5 (S)	4 (PS)
B2	3.9 (PS)	3.5 (PS)	3.2 (PS)	3 (PS)	3.5 (PS)
B3	3.2 (PS)	5.5 (S)	4 (PS)	5 (S)	3 (PS)
B4	4 (PS)	3.7 (PS)	3.3 (PS)	3.6 (PS)	4 (PS)
B5	4.2 (PS)	3 (PS)	5.4 (S)	3 (PS)	4 (PS)

S : Sensible PS : Peu sensible R : Résistant.