



DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M<sup>lles</sup> NAIT MESSAOUD Tanina

OUABBA Zakia

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN AGRONOMIE**

**Spécialité : PROTECTION DES CULTURES**

THÈME

**Effet de la température sur la croissance et la  
sporulation de *Colletotrichum* sp. agent de  
l'antracnose des agrumes et spécialisation parasitaire  
de l'agent pathogène dans la région de Mostaganem**

Soutenu publiquement le 4/07/2018

DEVANT LE JURY :

Président	Mr.DEBBA Mohamed el bachire, MAA	U Mostaganem.
Encadreur	Mr.MAHIOU Djamel, MCB	U. Mostaganem.
Examineur	Mr.GHELAM ALLAH Amine, MCA	U. Mostaganem.

*Thème réalisé au Laboratoire de recherche protection des végétaux de la faculté SNV- U.  
Mostaganem.*

Année universitaire 2017 / 2018

## Remerciements

*Nos remerciements vont à Dieu, le tout puissant, le miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience pour mener ce travail,*

*Nous remercions, Monsieur DEBBA Mohamed el bachire maître assistant à l'université de Mostaganem d'avoir accepté de présider notre jury, et de nous avoir prodigué autant de conseils durant toute l'année universitaire.*

*Nous tenons à remercier Monsieur MAHIOU Djamel qui a accepté de nous encadrer et à diriger ce travail de recherche. Nous lui sommes très reconnaissants de nous avoir confié un sujet aussi passionnant. Son enthousiasme, son optimisme et sa bonne humeur nous ont soutenus pendant les périodes de doute.*

*Nous remercions Monsieur GHOULEM Ellah maître de conférence à l'université de Mostaganem pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*No remerciements vont également à Monsieur ABD EL MOUMEN Djilali pour son aide.*

*Enfin, je remercie tout le personnel du laboratoire de recherche de protection des végétaux et surtout son staff technique pour leur accueil, leur aide et leur accompagnement durant toute la durée de ce travail.*

## *Dédicace*

*A celui qui m'a indiqué la bonne voie... a mon père, que dieu le protège. J'espère que je serai toujours à la hauteur de ses espérances.*

*A celle qui a attendu avec amour les fruits de sa patience, que dieu me la protège .....À ma mère, qui m'a soutenue et entouré avec beaucoup d'affection. Je t'aime plus que tout le monde.*

*A mes chères sœurs et mon cher frère pour leurs soutiens et leurs amours.*

*A mes beaux frères et ma belle sœur  
A mes neveux Anis, Mohamed et Amine merci d'être le bonheur de ma vie.*

*A toute ma famille et mes amis et à tous ceux qui m'ont aidé et encouragé.*

*Tanina*

## **Dédicace**

*Avant tout, je tiens à remercier le bon dieu et l'unique qui m'a offert le courage et la volonté nécessaire pour affronter les différentes épreuves de la vie.*

*Je dédie ce travail à mes chers parents pour leurs sacrifices et leurs encouragements durant toutes mes études.*

*A tous mes très chers frères : Halim et Rayane.*

*A mes très chères sœurs :*

*Tassadite et son mari Nassim*

*Et leurs fils Ahmed*

*Hannan et son mari Achour*

*Et leur fille Amilia.*

*A mon chère ami : Fayçal*

*A mes chères amies*

*A tous ceux qui sont proches de mon cœur.*

*Et dont je n'ai pas cité les noms.*

*Je dédie ce modeste travail.*

**Zakia**

## **Table des matières**

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

**Introduction..... 1**

### **Partie bibliographique**

#### **Chapitre I: les agrumes**

**I.1. Généralités sur les agrumes ..... 2**

I.1.1. Origine géographique et diffusion ..... 2

I.1.2. L'aire agrumicole..... 3

I.2.1. Dans le monde..... 3

I.2.1.1. Les zones géographiques majeures de production d'agrumes ..... 4

I.2.2. En Méditerranée..... 5

I.2.3. En Algérie ..... 5

I.2.3.1. Composition variétale ..... 7

I.2.3.2. Les zones de production..... 8

**I.3. Classification botanique ..... 8**

**I.4. Caractéristiques des agrumes..... 9**

**I.5. Exigences agro écologiques des Agrumes..... 9**

I.5.1. La température ..... 9

I.5.2. La pluviométrie ..... 11

I.5.3. L'humidité..... 11

I.5.4. Le vent ..... 11

I.5.5. Les sols..... 11

I.6. Les principales maladies des agrumes ..... 11

I.6.1. Les maladies bactériennes .....	11
I.6.2. Les maladies à virus ou viroses.....	12
I.6.3. Les maladies cryptogamiques .....	12
I.6.4 les principaux ravageurs des agrumes.....	12

## **ChapitreII: Anthracnose des agrumes**

II.1. Présentation de l’anthracnose des agrumes .....	<b>13</b>
II.1.1. Importance et répartition .....	13
II.1.2. Principales caractéristiques de <i>Colletotrichum</i> sp. des agrumes .....	14
II.1.2.1. Conditions d'environnement pour la croissance du pathogène .....	14
II.1.2.2. Culture <i>in vitro</i> .....	15
II.1.2.3. Morphologie.....	15
II.1.2.4. Symptômes.....	16
II.1.2.5. Systématiques de l’espèce.....	18
II.1.2.6. Biologie.....	18
II.1.2.7. Mode d’infection.....	19
II.1.2.8. Epidémiologie .....	19
II.1.3. Moyens de lutte.....	20

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre I: Matériels et méthodes**

I.1. Matériels .....	<b>21</b>
I.1.1. Matériel fongique.....	21
I.1.2. Matériels végétales.....	21
I.2. Méthodes .....	<b>21</b>
I.2.1. Etude de la sévérité de la maladie .....	21
I.2.1.1. Estimation de la sévérité sur feuillage.....	22
I.2.1.2. Estimation de la sévérité sur l’arbre .....	23
I.2.2. Prélèvement des échantillons et méthode d’isolement .....	24

I.2.2.1. Echantillonnage .....	24
I.2.2.2. Isolement .....	24
I.2.3. L'obtention des cultures monospores .....	24
I.2.4. Identification et caractérisation du champignon .....	25
I.2.4.1. Obtention des appressoria .....	25
I.2.4.2. Mesure de la taille des conidies.....	25
I.2.5. Etude de l'effet de la température sur la croissance et la sporulation de <i>Colletotrichum</i> sp. ....	26
I.2.5.1. Mesure de la croissance mycélienne .....	26
I.1.5.2. Estimation de la sporulation .....	26
I.2.6. Teste de pathogénicité.....	27
I.2.6.1. Inoculation des feuilles détachées/folioles .....	27
I.2.6.2 Inoculation des fruits .....	28
<b>ChapitreII. Résultats et discussion</b>	
II.1.Résultats .....	<b>31</b>
II.1.1. Description des symptômes .....	31
II.1.2. Estimation de la sévérité de la maladie au champ .....	31
II.1.2.1. Sur l'arbre .....	31
II.1.2.2. Sur feuilles .....	31
II.1.3.Caractères morphologiques des isolats de <i>Colletotrichum</i> sp .....	32
II.1.3.1.Caractères macroscopiques .....	32
II.1.3.2. Caractères microscopiques.....	33
II.1.3.3. Dimension des conidies .....	34
II.1.4. Effet de la température sur la croissance et la sporulation de <i>Colletotrichum</i> sp. ....	35
II.1.4.1. Effet sur la sporulation.....	35
II.1.4.2. Effet sur la croissance mycélienne.....	36

II.1.5. Test de pathogénicité de <i>Colletotrichum</i> sp. sur quelques espèces de cultures maraichère .....	37
II.1.5.1. sur feuilles de piment .....	37
II.1.5.2. sur fruits de piment .....	39
II.1.5.3. Sur fruits de tomate .....	40
II.2. Discussion.....	42
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>43</b>
<b>Référence bibliographique</b>	
<b>Annexe</b>	

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b> : Espèces et variétés commerciales d'agrumes cultivés en Algérie.	<b>10</b>
<b>Tableau 2</b> : isolats de <i>Colletotrichum</i> sp.	<b>21</b>
<b>Tableau 3</b> : fiche technique de la variété de tomate Hybride F1 (Kawa).	<b>22</b>
<b>Tableau 4</b> : Echelle de la notation de la sévérité sur feuilles.	<b>22</b>
<b>Tableau 5</b> : Echelle de sévérité sur l'arbre.	<b>23</b>
<b>Tableau 6</b> :Taille des conidies de <i>Colletotrichum</i> sp.	<b>33</b>
<b>Tableau 7</b> : AUDPC obtenues sur feuilles de piment (var. Biskra).	<b>38</b>

## Liste des figures

<b>Figures</b>	<b>page</b>
<b>Figure 1</b> : Origine géographique et diffusion des agrumes dans le monde (Jacquemonde et al., 2013).	02
<b>Figure 2</b> : Production mondiale des agrumes (FAO, 2013).	04
<b>Figure 3</b> : Production mondiale par type d'agrumes, année 2011 (FAO,2011).	05
<b>Figure 4</b> : Evolution des superficies en rapport des agrumes depuis l'indépendance à 2013 (MADR, 2013).	06
<b>Figure 5</b> : Production des agrumes en Algérie (FAO, 2015).	07
<b>Figure 6</b> : Répartition des superficies agrumicoles par groupe de variétés (MADR, 2013).	07
<b>Figure 7</b> : Répartition des superficies agrumicoles par région (MADR, 2013).	08
<b>Figure 8</b> : <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , A.acervule, B.colonie sur milieu de culture	15
<b>Figure 9</b> : <i>Colletotrichum acutatum</i> . A. conedie ,E. conidiomata ,B.culture sur milieu de culture	16
<b>Figure 10</b> : Symptômes de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> sur agrumes.	17
<b>Figure 11</b> : Symptôme de <i>Colletotrichum acutatum</i> sur agrumes. A.sur fruit ; B.C sur feuilles.	17
<b>Figure 12</b> : Cycle biologique de <i>Colletotrichum acutatum</i> l'agent causal de l'anthracnose de l'agrumes.	19
<b>Figure 13</b> : Echelle de défoliation illustrée (Originale 2018).	23
<b>Figure 14</b> : Méthode d'obtention des appressoria en culture.	25
<b>Figure 15</b> : Estimation de la sévérité sur feuilles selon leur orientation, cas de la Clémentine	30
<b>Figure 16</b> : Estimation de la sévérité sur feuilles selon leur orientation,cas de Thomson Navel	31
<b>Figure 17</b> : Morphotypes de <i>Colletotrichum</i> sp., après 7 jours d'incubation sur milieu PDA.	32
<b>Figure 18</b> : Caractères microscopiques de <i>Colletotrichum</i> sp. (Observation au microscope optique, grossissement : 10x40).	33
<b>Figure 19</b> : Représentation de la taille des conidies selon l'isolat.	34
<b>Figure 20</b> : influence de la température sur la sporulation des isolats de <i>colletotrichum</i> sp. après 12 jours d'incubation sur milieu PDA.	35
<b>Figure 21</b> :influence de la température sur la croissance de <i>Colletotrichum</i> sp.au 8 <sup>ème</sup> jour d'incubation sur milieu PDA.	36
<b>Figure 22</b> : Symptômes d'anthracnose et degré d'attaque sur feuilles de piment inoculée chacune par un isolat de <i>colletotrichum</i> sp. .	37
<b>Figure 23</b> : Estimation de la sévérité de maladie sur feuilles de piment après 9 jours d'inoculation.	38

<b>Figure 24</b> : Symptômes d'antracnose et degré d'attaque sur fruits de piment inoculés par <i>colletotrichum</i> sp.	<b>38</b>
<b>Figure 25</b> : Développement des lésions sur fruit de tomate (var. kawa) après 10 jours d'inoculation.	<b>39</b>
<b>Figure 26</b> :Symptômes d'antracnose et degré d'attaque sur fruits de tomate (var.kawa) inoculés par <i>Colletotrichum</i> sp.	<b>40</b>

## Liste des abréviations

FAO: Food and Agriculture Organization

INRA : Institut Nationale de la Recherche Agronomique

ITAFV : Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne

MADRP : Ministère de l'Agriculture du développement Rural et de la Pêche

PDI : Pourcentage Disease Indice

Sp/ml : Spore par 1 ml

µl : micro litre

AUDPC: Area Under the Disease Progress Curve

# *Résumé*

## Résumé

La maladie d'Anthracnose causé par le champignon pathogène *Colletotrichum sp* est l'une des principales contraintes majeures à la production des agrumes dans le monde. La présente étude vise à étudier et les caractéristiques morphologiques et culturels, l'effet de la température sur la croissance et la sporulation de l'agent pathogène ainsi sa spécialisation parasitaire vis-à-vis deux espèces végétales tomate (kawa) et piment (biskra). Notre étude est effectuée au niveau d'un vergé de Clémentine et de Thomson Navel présentant la maladie de l'Anthracnose, située à la région Bougirate, au Nord-est de Mostaganem.

Afin de réaliser cette étude, huit isolats de culture monospore de *Colletotrichum sp* ont été obtenus à partir des échantillons de feuilles de Clémentine présentant les symptômes de l'anthracnose. L'analyse de la variation des caractères microscopique, macroscopique et la dimension des conidies a montré une variation significative entre les isolats ainsi la température a un impact sur la croissance et la sporulation. Le test de pathogénicité a montré une différence de degré de sévérité entre les isolats de *Colletotrichum sp* ainsi leur pouvoir pathogène par rapport aux espèces végétales, la tomate est plus sensible par rapport au piment.

**Mot clé :** *Colletotrichum sp.*, Anthracnose, Agrume, tomate, piment, pathogénicité.

# *Abstract*

## **Abstract**

Anthracnose disease caused by the pathogenic fungus *Colletotrichum sp* is one of the major constraints to citrus production worldwide. The present study aims to study both the morphological and cultural characteristics, the effect of temperature on the growth and sporulation of the pathogen and its parasitic specialization towards two plant species tomato (kawa) and chilli (biskra). ). Our study is carried out at the level of a Clementine and Thomson Navel vergé presenting Anthracnose disease, located in the Bougirate region, north-east of Mostaganem.

In order to carry out this study, eight monospore culture isolates of *Colletotrichum sp* were obtained from Clementine leaf samples showing the symptoms of anthracnose, the analysis of microscopic, macroscopic and conidial size variation. showed significant variation between isolates so temperature has an impact on growth and sporulation. The pathogenicity test showed a difference in degree of severity between the *Colletotrichum sp* isolates and their pathogenic power by adding to the plant species, the tomato is more sensitive by adding pepper.

**Keyword:** *Colletotrichum sp.*, Anthracnose, Agrume, tomate, piment ,pathogenicity.

## *Introduction générale*

## Introduction générale

Selon Loussert (1989a), le nom Agrume est donné aux arbres appartenant à la famille des Rutacées et genre botanique Citrus. Cette appellation d'origine italienne, désigne les fruits comestibles et par extension les arbres qui les portent. A cette catégorie d'arbre appartiennent les orangers, les mandariniers, les citronniers, les cédratiers et les pamplemoussiers.

Les agrumes occupent la première place des productions fruitières dans le monde avec 96 millions de tonnes produites en 2000 (FAO, 2011). Biche (2012) souligne que la production totale en Algérie des Agrumes pour l'année 2007 à atteint 689467 tonnes dont 539000 tonnes d'oranges, 100000 tonnes en clémentines et en mandarines et 50000 tonnes pour le citron et le pomelo. Ce même auteur signale que 97% de la production est destinée à la consommation en frais, la transformation est autour de 8000 tonnes par an.

La filière agrumicole présente un intérêt vital pour un grand nombre de pays de par leur importance économique notamment les revenus appréciable qu'elles génèrent, et leur transformation en divers dérivés tel que le jus, la confiture....etc.

L'agrumiculture Algérienne occupe une superficie de 65.000 ha dont 55.000 ha réservés à la production (Algerianvest, 2012). En plus des changements climatiques notamment la baisse de la pluviométrie et les insectes nuisibles, les maladies fongiques constituent une part non négligeable de cette baisse de rendement en l'occurrence la maladie d'Anthracnose causé par l'agent pathogène de genre *Collétotrichum* qui constituent certainement un souci majeur pour les agrumiculteurs. Les dégâts dus à ce pathogène se traduisent par des problèmes avant et après-récolte (Prusky et Plumbley, 1992).

C'est dans cette perspective que nous avons essayé dans un premier temps, d'inventorier la maladie de l'anthracnose des agrumes au niveau de la wilaya de Mostaganem par l'étude de l'effet de la température sur la croissance et la sporulation de *Colletotrichum* sp agent causale de l'anthracnose des agrumes et dans un deuxième temps, d'étudier sa spécialisation parasitaire.

## *Chapitre I : Les agrumes*

## I.1. Généralités sur les agrumes

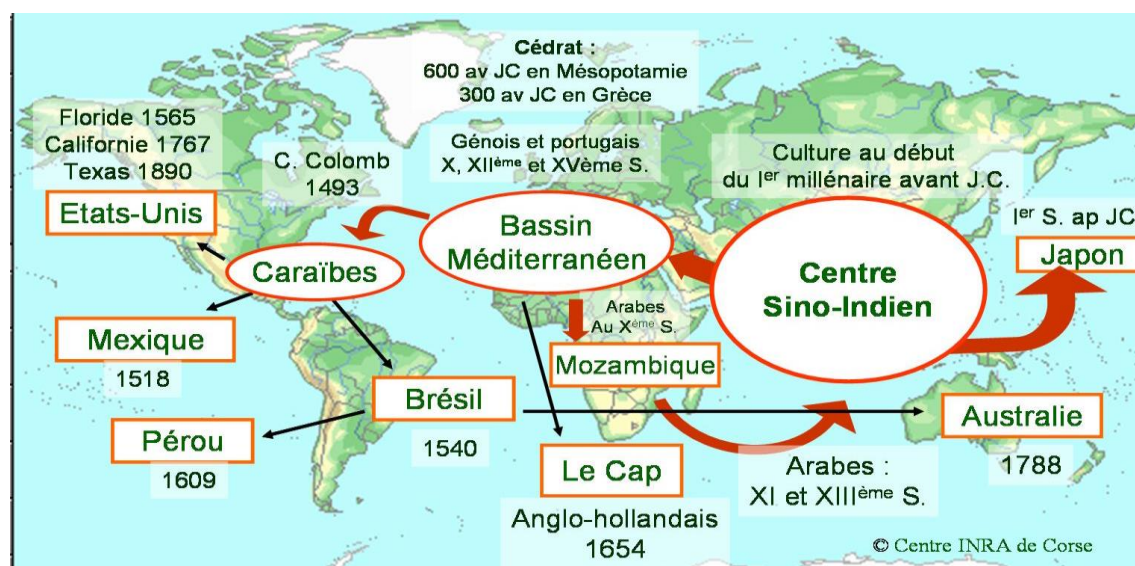
### I.1.1. Origine géographique et diffusion

Les agrumes sont originaires des pays du sud-est asiatique ou leur culture se confond avec l'histoire des civilisations anciennes de la Chine, qui les cultivèrent d'abord pour leurs parfums, puis leurs fruits.

Les cédratiers furent probablement les premiers agrumes cultivés en Méditerranée à l'époque des Mèdes, au VII<sup>e</sup> siècle avant notre ère, ainsi que le prouvent certains écrits sur tablettes d'argile retrouvés en Mésopotamie. Plus tard, les savants grecs contemporains d'Alexandre le Grand (7<sup>e</sup> siècle avant notre ère) vantent les vertus des fruits du cédratier, connus alors sous le nom de « pomme de Médie ».

A la fin de notre premier millénaire, le médecin et philosophe iranien Avicenne mentionne dans ses écrits la présence du cédratier et le bigaradier en Perse. Mais ce n'est qu'aux alentours de l'an 1400 que les portugais introduisirent l'oranger en Méditerranée.

C'est à partir du Bassin Méditerranéen que les agrumes furent diffusés dans le monde, et cela par trois voies : les Arabes assurent leur diffusion sur la côte Est d'Afrique jusque au Mozambique. Christophe Colomb les importe à Haïti en 1493 et les Anglo-hollandais les introduisent au Cap en 1654 (Figure 1) (Ioussert, 1989).



**Figure 1** : Origine géographique et diffusion des agrumes dans le monde (Jacquemonde et al., 2013).

### **I.1.2. L'aire agrumicole**

Celle-ci est aujourd'hui très vaste : elle se situe approximativement sur une bande comprise entre 40° de latitude nord et 40° de latitude sud.

Selon Cassin(1984), l'aire agrumicole est répartie en trois zones climatiques principales :

- Zone intertropicale, elle s'étend de l'équateur aux latitudes 22°-23° Nord et Sud.
- Zone semi-tropicale, elle s'étend entre les latitudes 22°-23° et 28°-29° Nord et Sud.
- Zone subtropicale, située entre 30° et 40° Nord et Sud.

## **I.2. Importance économique des agrumes**

Les agrumes représentent la première catégorie fruitière en termes de valeur en commerce international ; cette importance est justifiée par leur :

\*Consommation comme des produits frais ou après leur transformations (jus ; sirop,...) ;

\*Grande qualité nutritive riche, en vitamine C, B6, et constituent une source de fibres, d'acide ascorbique et folique, du potassium et du calcium ;

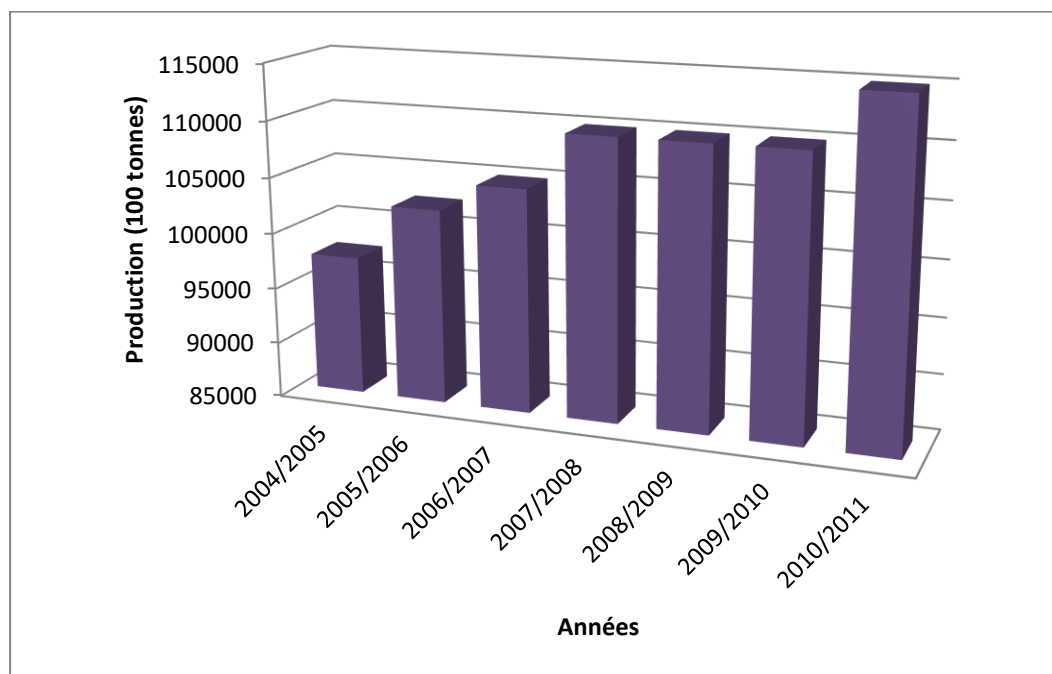
\*Effet bénéfique sur la santé en contribuant dans la diminution des risques de maladies cardio-vasculaires et d'autres maladies (ITAFV, 2014).

### **I.2.1. Dans le monde**

La production mondiale des agrumes est environ de 115 millions de tonnes en 2011 (figure 2). Les oranges constituent la majeure partie de la production d'agrumes avec 71 %. L'amélioration de la production est due principalement à la croissance des terres cultivées aux agrumes, mais également à un changement de comportement de la part des consommateurs, dont le revenu progresse et dont les préférences s'orientent de plus en plus vers des produits sains et pratiques (FAO, 2013).

La principale destination de la production agrumicole mondiale est l'auto consommation.Elle s'est forcément accrue en quantité, passant d'environ 25 millions de tonnes au début des années 1970 à plus de 70 millions de tonnes au début des années 2010.La croissance est particulièrement marquée en chine depuis le début des années 2000, les volumes consommés localement ayant progressé de plus de 20 millions de tonnes entre 1970 et 2010. De même, la dynamique est aussi très forte

dans d'autres pays d'Extrême-Orient comme l'Inde, l'Indonésie ou le Vietnam. Enfin, la consommation interne s'est fortement développée dans certains pays méditerranéens comme la Turquie, l'Égypte ou encore le Maroc (Jacquemond *et al.*, 2013).

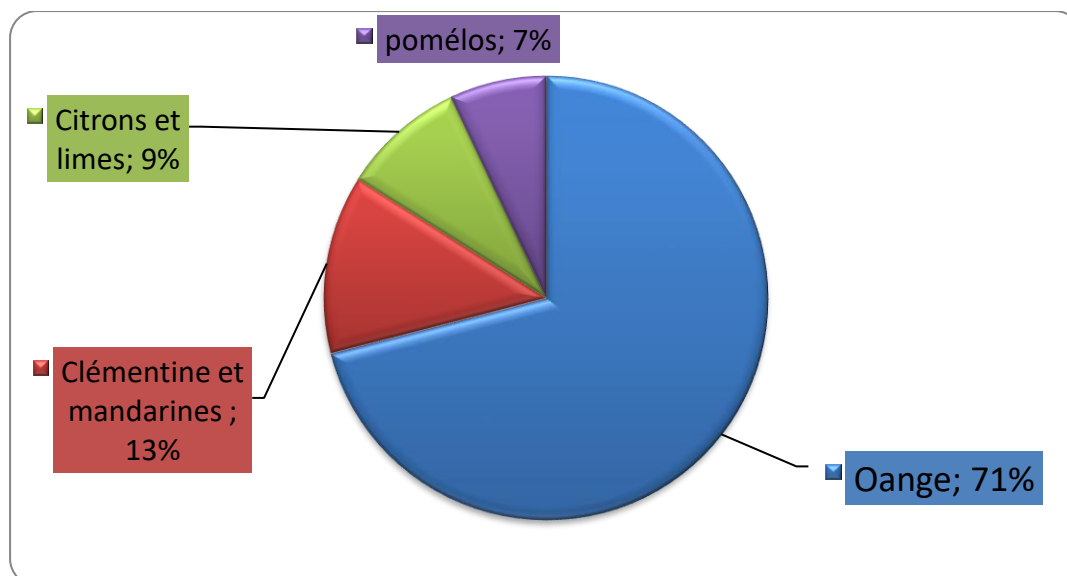


**Figure 2 :** Production mondiale des agrumes (FAO, 2013).

### **I.2.1.1. Les zones géographiques majeures de production d'agrumes**

Bien que l'aire moderne de culture des agrumes soit très vaste, le Brésil, le Bassin méditerranéen, la Chine et les États-Unis contrôlent à eux seuls les deux tiers de la production mondiale d'oranges, de petits agrumes, de citrons et limes et de pamplemousses et pomelos, la part la plus importante de la production se concentre dans les pays de l'hémisphère Nord, où la récolte s'échelonne d'octobre à mi-juin (Jacquemond *et al.*, 2013).

La Chine constitue le premier producteur mondial d'agrumes frais. Quant au jus d'orange, la production est concentrée dans deux principales zones : Sao Paulo au Brésil, qui est le plus important exportateur du jus d'orange au monde et l'État de Floride aux États-Unis (Figure 3).



**Figure 3** : Production mondiale par type d'agrumes, année 2011 (FAO,2011).

### **I.2.2. En Méditerranée**

La Méditerranée fait partie des principales zones de culture des agrumes dans le monde avec 22,4 millions de tonnes en 2011 (FAO, 2011). Elle figure en troisième position après la Chine (22,9 millions de tonnes) et le Brésil (22,7 millions de tonnes). La climatologie particulière de cette vaste région, aux hivers frais, permet de produire des oranges et de petits agrumes d'une coloration typique et d'une saveur appréciée grâce à un bon équilibre entre sucre et acidité. Cette zone est aussi exempte de certaines maladies de quarantaine qui sévissent dans d'autres régions du monde. Ainsi, en fruits frais, le bassin méditerranéen contrôle pas moins de 60% du commerce mondial des oranges et des citrons (hors limes) et plus de 70% des petits agrumes. La plupart du pomelo est relativement faible car cet agrume a une physiologie particulière et nécessite des températures élevées et régulières pour exprimer pleinement son potentiel gustatif. Cependant, le débouché industriel, même s'il n'est généralement pas dominant, est un élément clé de l'équilibre économique des filières méditerranéennes. Il permet de réguler les volumes proposés sur le marché du frais et de valoriser les sous-produits des chaînes de conditionnement (Jacquemondet *al.* , 2013).

### **I.2.3. En Algérie**

L'introduction de l'oranger en Algérie est ancienne, sans qu'il soit possible de la dater avec précision, mais le développement de sa plantation caractérise essentiellement l'époque coloniale (Mutin, 1969). (Trabut,1905) a affirmé que l'étude de nombreux semis d'orangers et mandariniers réalisés en Algérie lui a permis de distinguer déjà un

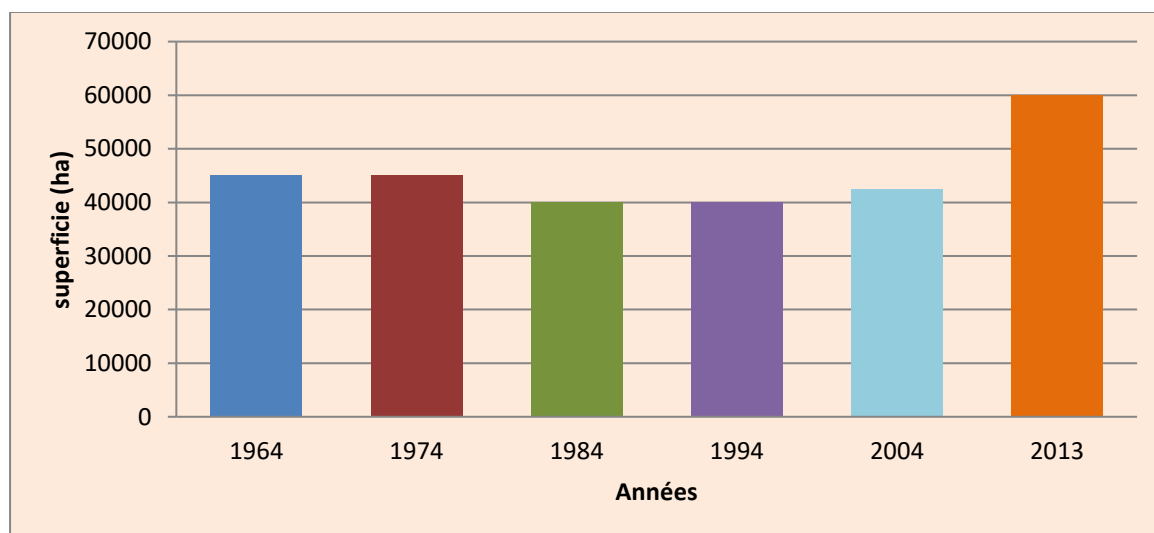
certain nombre de races locales ou de méteils très dignes d'être conservés tels que l'orange très précoce en Kabylie, l'orange de Blida, l'orange de Toudja etc...

Le mandarinier comme espèce a été introduite par Hardy en 1850 (Trabut et Marés, 1906), et de bonnes variétés ont pu être fixées ensuite par greffage (INRA, 2006).

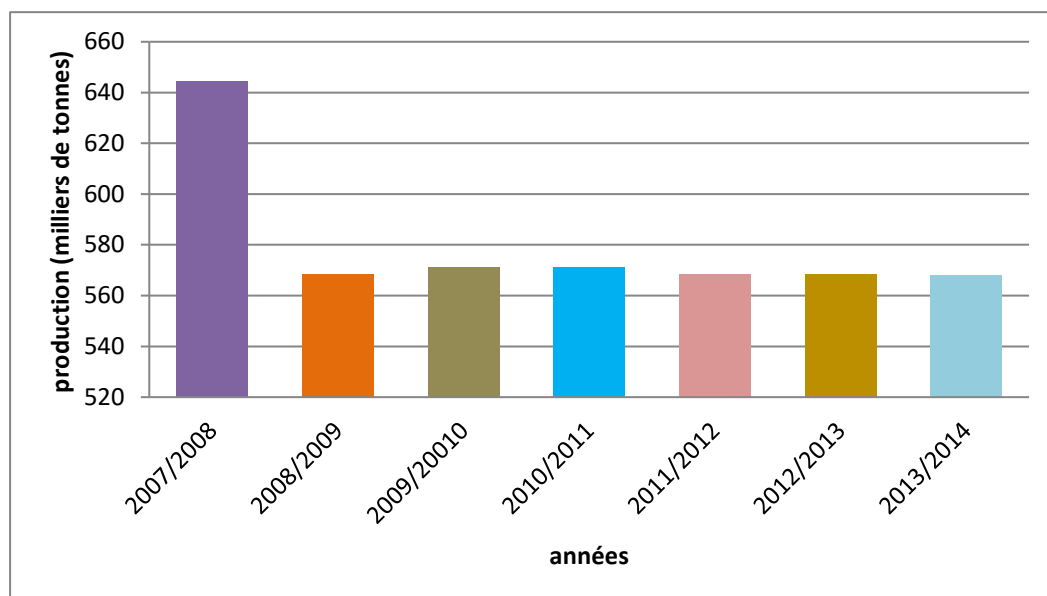
Au début du siècle une nouvelle espèce qui connaîtra le succès, le clémentinier, issu d'une hybridation entre un Mandarinier et un Bigaradier « Granito » a été trouvé, elle doit son nom au frère Clément (INRA, 2006). Cette espèce a été découverte et mise au point en 1902 à Messerghin, près d'Oran (Mutin, 1969).

En 1964, le verger agrumicole algérien représentait une superficie de 45000 ha pour une production de près de 450000 tonnes, toutes variétés confondues (FAO, 2011). En 1970, beaucoup d'efforts ont été fournis pour améliorer d'avantage le niveau de production qui atteint 530000 tonnes (MADRP, 2013). De la fin des années 80 jusqu'à 1999, l'agrumiculture a connu une régression dans la production (figure 4).

Ensuite, la superficie agrumicole totale a connu une progression ; elle est passée de 46010 ha en 2000 à 64766 ha en 2013. Ces accroissements en superficie sont accompagnés avec des augmentations sensibles dans la production agrumicole où la production totale en agrumes de l'année 2013 a atteint 568.4 milliers de tonnes de toutes variétés confondues (figure 5).



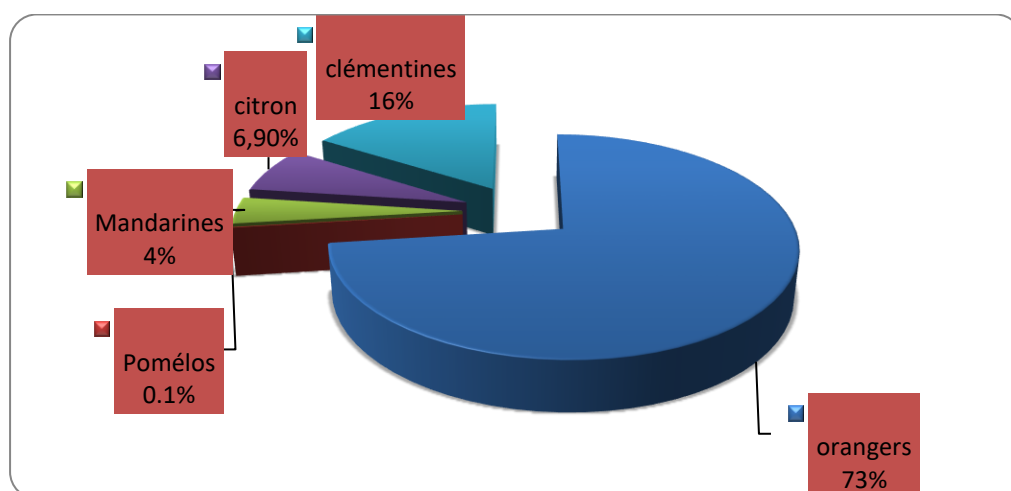
**Figure 4** : Evolution des superficies en rapport des agrumes depuis l'indépendance à 2013 (MADR, 2013).



**Figure 5 :** Production des agrumes en Algérie (FAO, 2015).

### I.2.3.1. Composition variétale

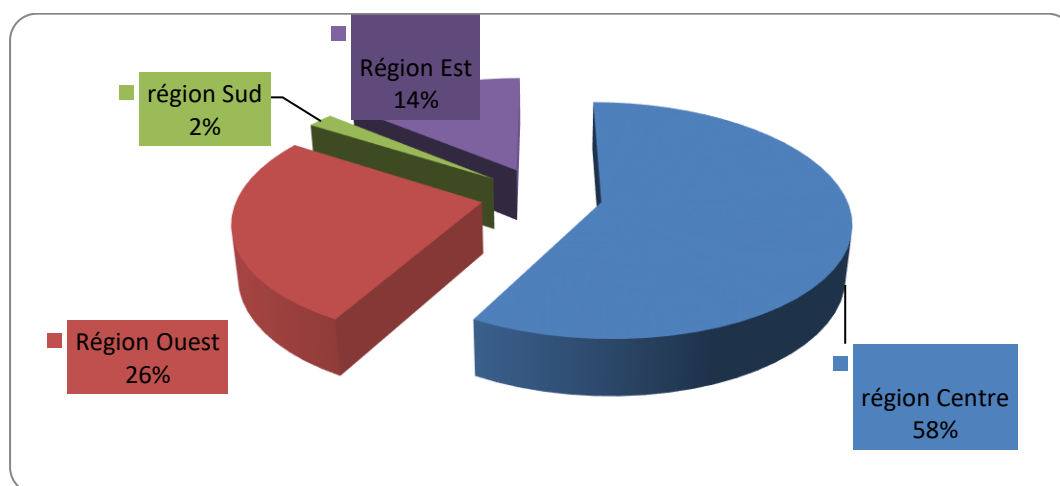
En Algérie, le verger agrumicole est constitué de tous les groupes *Citrus* avec une prédominance du groupe des orangers, qui occupe à lui seul 73% de la surface agrumicole totale, suivis du groupe des clémentiniers avec 16% de la surface agrumicole puis du groupe citronniers avec 6.9% et des mandariniers avec un taux de 4% et en dernière place, le groupe des pomelos avec 0.1% de la superficie totale (régression des superficies plantées annuellement) (figure 6).



**Figure 6 :** Répartition des superficies agrumicoles par groupe de variétés (MADR, 2013).

### I.2.3.2. Les zones de production

La culture des Citrus est localisée essentiellement dans les zones irrigables de la partie nord du pays où les températures clémentes assurent sa réussite. La plaine de la Mitidja de la région centre du pays est la zone potentielle en agrumiculture. Elle couvre une surface de 36 219 ha en 2013, ce qui représente environ 56.4% de la superficie agrumicole totale (Figure 7).



**Figure 7** : Répartition des superficies agrumicoles par région (MADR, 2013).

### I.3. Classification botanique

D'après (Jacquemond et al., 2009) beaucoup de travaux ont été réalisés au cours du XXème siècle afin de classer les différentes variétés et espèces, il est admis que les agrumes se répartissent en trois genres botaniques, compatibles entre eux : *Poncirus*, *Fortunella* et *Citrus*. Ces trois genres appartiennent à la tribu des *Citreae*. Les *Poncirus* ne produisent pas de fruits consommables, mais sont utilisés comme porte-greffe. Les *Fortunella* produisent des petits fruits qui se dégustent avec la peau. Enfin, le genre *Citrus* qui regroupe la plupart des espèces d'agrumes cultivés et renferme, suivant les taxinomistes, entre 16 (Swingle et Reece, 1967) et 156 espèces (Tanaka, 1961).

D'après (Praloran, 1971) la position taxonomique des agrumes, selon Swingle est la suivante :

<b>Règne</b>	: <i>Végétal</i>
<b>Embranchement</b>	: <i>Angiospermes</i>
<b>Classe</b>	: <i>Eudicotes</i>
<b>Sous classe</b>	: <i>Archichlomydeae</i>
<b>Ordre</b>	: <i>Germinale (Rutales)</i>
<b>Famille</b>	: <i>Rutaceae</i>
<b>Sous-famille</b>	: <i>Aurantioideae</i>
<b>Tribus</b>	: <i>Citreae</i>
<b>Sous-tribu</b>	: <i>Citrinae</i>
<b>Genre</b>	: <i>Poncirus, Fortunella et Citrus</i>

#### **I.4. Caractéristiques des agrumes**

D'après PRALORAN (1971) les agrumes sont de petits arbres, ou des arbustes, atteignant de 5 à 15 m de hauteur, assez souvent épineux à feuillage dense, persistant à l'exception de quelques variétés hybrides dont les feuilles sont caduques ou semi-persistantes. D'un vert généralement très foncé, les jeunes plants et les jeunes pousses étant d'un vert nettement plus clair. Le fruit est formé de segments contenant les graines. Les segments sont entourés d'un endocarpe blanc à l'extérieur du quel, est une écorce à très nombreuses glandes à essence, devenant jaune ou orange à maturité. Selon EL Otmani (2005) les agrumes sont généralement classés parmi les espèces végétales pérennes moyennement sensibles au froid, ceci est dû à leur incapacité à survivre sous des températures froides que supportent les espèces ligneuses, des zones de latitudes élevées qui peuvent atteindre des valeurs voisines de 40 °C.

Les espèces et variétés commerciales bien connues des agrumiculteurs appartiennent à ce genre sont décrits dans le tableau n°01.

#### **I.5. Exigences agro écologiques des Agrumes**

##### **I.5.1. La température**

Les agrumes sont sensibles à toutes les températures inférieures à 0°C, par contre ils peuvent supporter des températures élevées supérieures à 30°C à condition qu'ils soient convenablement alimentés en eau (Loussert, 1985). Les températures moyennes annuelles favorables sont de l'ordre de 14°C. La température moyenne hivernale est de 10°C et la température moyenne estivale est de 22°C.

**Tableau 01** : Espèces et variétés commerciales d'agrumes cultivés en Algérie (d'après Sadok, 1983).

Espèces	Caractéristiques
L'oranger ( <i>Citrus sinensis</i> (L) Osbeck)	Plus de 1000 variétés, les plus cultivées sont classées en : Orange blonde «Washington Navel, Hamline, Salutiana, Valencia late, Shamouti, etc... », Orange demi sanguine (la Maltaise demi sanguine ou portugaise, la double fine, etc...)
Le mandarinier ( <i>Citrus reticulata</i> Blanco)	Parmi les variétés de cette espèce on retiendra les « Tangerines » et la « Clémentine »
Le citronnier ( <i>Citrus limon</i> L. Burn)	Les variétés les plus courantes sont : Eureka ou quatre saisons et Lisbon
Le bigaradier ( <i>Citrus aurantium</i> L.)	Appelé orange amère, plus résistant au froid, l'exés d'eau et à la gommose de <i>phytophthora</i> . Populaire des porte-greffes
Le pomelo ( <i>Citrus paradisi</i> Macfayden )	C'est la seule espèce qui ne soit pas originaire du Sud-Est asiatique car elle est apparue aux Antilles. Elle provient d'une mutation de bourgeon ou d'une hybridation du pamplemousse (Praloran, 1971).
Le pamplemoussier ( <i>Citrus maxima</i> ou <i>Citrus grandis</i> L. Osbeck)	Le pamplemoussier et le pomelo sont assez étroitement apparentés et plusieurs auteurs considèrent que le pomelo n'est qu'une sous espèce de <i>Citrus grandis</i> .
Le Cédratier ( <i>Citrus medica</i> L.)	C'est la seule espèce d'agrumes qui se multiplie par bouturage (Praloran, 1971). Les variétés les plus connues sont le Cédrat de Corse et le Cédrat diamante.
Le limetier ( <i>Citrus aurantifolia</i> Swingle)	Les variétés les plus connues sont la lime mexicaine appelée citron vert ou lime à petits fruits et la lime à gros fruits dont le type est la variété Bears.

### **I.5.2. La pluviométrie**

Les citrus comptent parmi les arbres fruitiers les plus exigeants. Les besoins annuels varient entre 1000 à 1200 mm, dont 600 mm pendant l'été, qui ne peuvent être fournis que par l'irrigation surtout dans les zones méditerranéennes (Mutin, 1977).

### **I.5.3. L'humidité**

Elle ne semble pas avoir une forte influence sur le comportement des agrumes aux mêmes. Elle a par contre des incidences sur le développement de certains parasites ainsi que la fumagine et les moisissures (Loussert, 1989). Certains ravageurs comme les cochenilles peuvent proliférer en colonies importantes. Une humidité basse provoque une intense respiration du végétal et ainsi les besoins en eau augmentent.

### **I.5.4. Le vent**

Blondel (1959), qualifie le vent comme étant l'ennemi le plus important des agrumes. Les dégâts qu'il cause dans les jeunes plantations sont incalculables suite à la chute précoce des fruits. Les orangers doivent être protégés des vents par l'installation de brise vent de Casuarina, Cyprès, d'Acacia et de Pins (Loussert, 1985).

### **I.5.5. Les sols**

Selon Richard (2004), les orangers et les citronniers aiment les sols riches et bien aérés, sableux ou sablonneux où le système racinaire se développe facilement en profondeur. Les sols argileux sont peu favorables à la production de fruits, les orangers et citronniers tolérant peu l'eau stagnante. La précaution élémentaire veut qu'avant toute plantation, la terre choisie puisse être analysée sur deux niveaux : sol et sous-sol. On peut améliorer les caractéristiques d'un sol en installant des drains pour évacuer les eaux stagnantes ou en excès lorsque la terre est trop limoneuse ou argileuse. On veillera également à procurer un amendement organique pour les sols trop légers. Nous comprenons donc que les agrumes sont des arbres plutôt exigeants : terre fertile et équilibrée nécessitant amendements organiques ou calciques et fumure de fond.

## **I.6. Les principales maladies des agrumes**

### **I.6.1. Les maladies bactériennes**

De nombreuses maladies bactériennes présentant des aspects très divers peuvent se développer sur les agrumes, parmi lesquelles nous citons la bactériose des agrumes qui est provoquée par la bactérie *Pseudomonas syringae* Vanhall, le cancer des Citrus dont l'agent causal est *Phytophthora citricola* Hass...etc.

### I.6.2. Les maladies à virus ou viroses

Les maladies virales importantes et qui touchent les agrumes un peu partout dans le monde sont :

Le Greening qui est transmis par 2 espèces de psylles *Diaphorinacitri* et *Triozaerythrae*, le Stubbon causé par un mycoplasme *Spirioplasmacitri*, l'Exocortis causé par un viroïde et se transmis par voie mécanique, Cachexie (xyloporose) causé par un viroïde se transmis par vois mécanique et le Tristeza causé par *Citriovirviatoris*, (Loussert, 1987).

### I.6.3. Les maladies fongiques

Les maladies d'origine cryptogamique s'attaquent aux agrumes sont assez nombreux.

Certaines sont économiquement très importantes comme la fumagine, la moisissure verte, la pourriture, la gommose parasitaire et l'antracnose causée par le

*Colletotrichum* sp. Qu'est le sujet traiter dans notre travaille.

### I.6.4. Liste des principaux ravageurs des agrumes

Ravageurs	Nom	
	Scientifique	Commun
Insectes	<i>Aonidiella aurantii</i>	Pou de Californie
	<i>Lepidosaphes beckii</i>	La cochenille moule
	<i>Parlatoria ziziphi</i>	Pou noir de l'oranger
	<i>Aphis spiraecola</i>	Puceron vert des citrus
	<i>Toxoptera aurantii</i>	Puceron noir des agrumes
	<i>Aleurothrixus floccosus</i>	L'aleurode floconneux
	<i>Phyllicnistis citrella</i>	Mineuse des agrumes
Nématode	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	Nématode des agrumes
Acarien	<i>Tetranychus cinnabarinus</i>	Acarien tisserand
	<i>Aceria sheldoni</i>	Acarien des bourgeons

## *Chapitre II : Anthracnose des agrumes*

## II.1. Présentation de l'antracnose des agrumes

### II.1.1. Importance et répartition

*Colletotrichum* sp. étaient récemment inclus dans la liste des 10 plus importants champignons pathogènes dans le monde, sur la base de connaissances scientifiques et importance économique (Dean et al., 2012). Ils peuvent infecter plus de 30 genres de plantes (Perfect et al., 1999, Damm et al., 2012a, b, Farr et Rossman , 2017), provoquant la maladie de l'antracnose et la dégradation post-récolte sur une large éventail de fruits tropicaux, subtropicaux et tempérés, les herbes, les cultures maraîchères et les plantes ornementales (Bailey et Jeger ,1992, Bernstein et al., 1995, Freeman et Shabi,1996, Crouch et al., 2009, Lima et al., 2011, Damm et al., 2012a, b, Anderson et al., 2013, Crous et al., 2016b, Guarnaccia et al., 2016, De Silva et al., 2017).

La maladie d'antracnose a été signalée pour la première fois par Butler (1918) sur la caféine.

L'agent causal de l'antracnose des agrumes est la forme asexué de *Colletotrichum gloeosporioides* et le *Colletotrichum acutatum* (Garnaccial et al., 2017).

*C. gloeosporioides a* été signalé pour la première fois à Deodoro au Brésil en 1937 et *a* été proposé pour la première fois sous le nom de *Vermicularia gloeosporioides* par (Penzig, 1882).

Récemment, diverses infections sur agrumes causées par *Colletotrichum* spp. fortement compromise dans différents pays méditerranéens (Aiello et al., 2015, Perrone et al., 2016).

En Europe (l'Espagne, Portugal, Malta, Grèce, Australie, la Nouvelle- Zélande, Italie) les agrumes sont touché par le *C.gloeosporioides* et le *C.acutatum* (Guarnaccial et al., 2017).

Des symptômes ont été observés sur des orangers cultivés en Tunisie (Rhaiem et Taylor, 2016).

En Algérie des études non pas encor faites sur la maladies d'antracnose *Colletotrichum gléosporioides* sur agrumes (Gnaoui., 2011).

### **II.1.2. Principales caractéristiques de *Colletotrichum* sp. des agrumes**

Les champignons de genre *Colletotrichum* produisent des conidies à l'intérieur de fructifications fongiques noires appelées acervules (Ponte, 1996).

Leur mode de vie saprophyte ou pathogène lorsque les plantes hôtes sont soumis à des conditions de stress, ou placées en stockage post-récolte (Crous et al., 2016).

La germination pathogène a lieu sur des plantes ou sur une surface hydrophobe et se caractérise par une mitose rapide suivie du développement d'un seul tube germinatif. Ce processus est initié immédiatement et conduit à la formation d'appressoria. La germination saprophyte se produit en milieu riche. Cela prend beaucoup plus de temps et se caractérise par le développement de deux tubes germinatifs qui émergent des côtés opposés de spore. Ces tubes germinatifs ne forment pas d'appressoria, et ces spores germées n'infectent pas les plantes (Barhoom et Sharon, 2004).

#### **II.1.2.1. Conditions d'environnement pour la croissance du pathogène**

##### **La température**

La température optimale pour la croissance de *Colletotrichum* sp. est de 25 à 28 °C et Les températures allant de 20 à 30 ° C favorisent l'infection (Davis et al., 1987).

##### **PH**

Pour la croissance et la sporulation de *Collétotrichum* sp. un pH 6 est meilleur et la germination est meilleure sur un milieu plus acide (Sharma et Kulshrestha, 2015).

##### **L'humidité**

*C.gloeosporioides* exigeait une humidité relative supérieure à 95% pour la germination des conidies et la formation d'appressorium (Sharma et Kulshrestha ,2015) et une faible humidité inactivent rapidement les spores (Ponte 1996).

Généralement le champignon inactif aussi en saison sèche et passe à des stades actifs lorsque les conditions environnementales sont favorables (Sharma et Kulshrestha , 2015).

### II.1.2.2. Culture in vitro

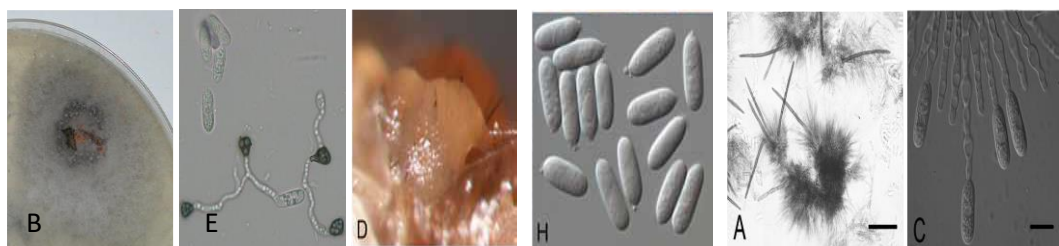
*C.gloeosporioides* sp. poussent bien sur PDA, la gélose de Richard et Brown et CWA (endosperme aqueux de noix de coco) qui contiennent des quantités appropriées des glucides, des protéines, des minéraux et des lipides (Santoso et al., 1996).

Une meilleure sporulation se produit sur la farine d'avoine, et un développement abondant d'acervules sur la gélose à la farine de maïs.

### II.1.2.3. Morphologie

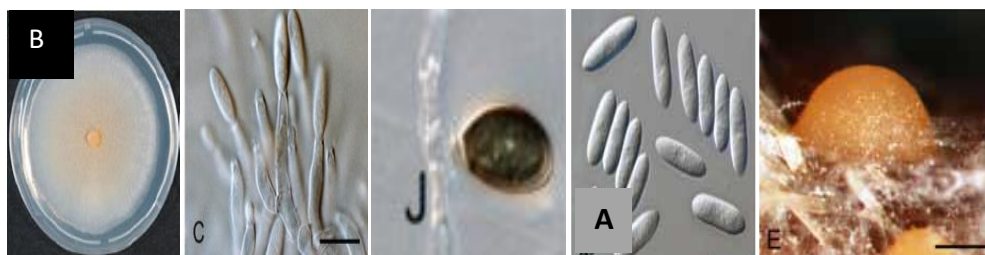
Les colonies de *Colletotrichum gloeosporioides* sont extrêmement variables, effusé, gris à brun, avec des taches rosâtres; brun foncé inversé avec des taches vives. Les Seteas abondante ou non en acervule, noir, 2-4septé, 80-100 µm de long. Les Conidies sont droit, cylindrique, obtus au sommet, 8.4- 16,8 x 3,5- 4,2 (14 x 3,9) µm, porté sur des phialides dans les conidiomata acervulaires. Les Appressoria 7-12 × 5,5-8 (av 9 × 6,5) µm, claveté ou irrégulière (Jiang YL et al ., 2012).

Les acervules étaient très variables en taille, en forme et exsudaient des masses roses des conidies (Sattar et Malik, 1939) (figure 8).



**Figure 8 :** *Colletotrichum gloeosporioides*, A.acervule, B.colonie sur milieu de culture C.conidiophore, D.conidiomata ,E. apréssoria H.conidie. ( Damm et al., 2010, Penz et Sacc , 2011 , Jiang et al ., 2012 ).

Les colonies de *Colletotruchum acutatum* en culture sont généralement blanches, gris pâle ou orange pâle, produisant parfois de forts pigments rose-violet. Les conidiomata sont généralement peu développés, avec peu ou pas de soies, en particulier en culture. Les cellules conidiogènes sont grossièrement cylindriques, parfois portées en grappes faibles, et produisent des conidies successivement à partir de locus uniques. Les conidies sont de 8-16 x 2,5 (figure 9).



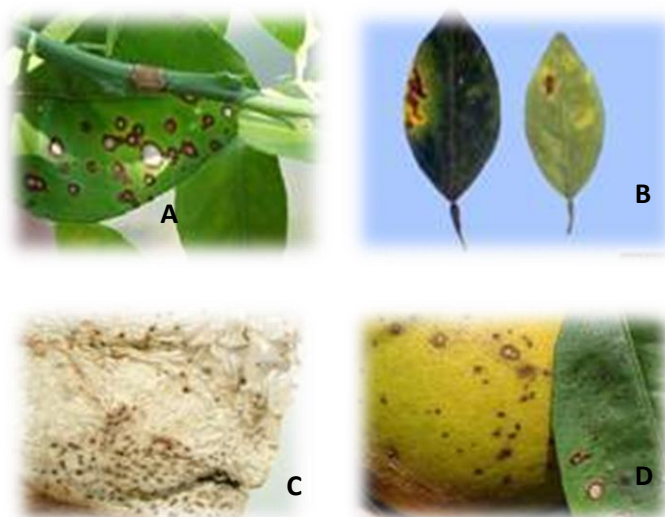
**Figure 9:** *Colletotrichum acutatum*. A. conédie, E. conidiomata, B. culture sur milieu de culture C. conidiophore, J. apressoria. ( Damm et al., 2010, Penz et Sacc, 2011, Jiang et al., 2012, Woudenberg et al., 2012, Simmonds, 1965 )

#### II.1.2.4. Symptômes

L'origine étymologique du terme anthracnose vient du grec « anthrax », c'est une altération nécrotique des parties aériennes de la plante (Corbaz, 1991).

##### **Symptômes de *Colletotrichum gleosporioides*.**

- ❖ **Feuille** - Les symptômes communs sont une zone plus ou moins circulaire, plate, de couleur beige clair avec une marge pourpre proéminente, qui, à une phase ultérieure de l'infection, montrera les fructifications du champignon (minuscules taches noires dispersées). Les tissus endommagés par divers facteurs environnementaux sont plus sensibles à la colonisation par l'anthracnose.
- ❖ **Fruits** - L'anthracnose ne se produit habituellement que sur les fruits qui ont été endommagés par d'autres agents, tels que les coups de soleil, les brûlures chimiques, les dommages causés par les ravageurs, Les lésions sont des taches brunes à noires de 1,5 mm ou plus de diamètre. La pourriture est habituellement ferme et sèche, mais si elle est assez profonde, elle peut ramollir le fruit. Si elles sont conservées dans des conditions humides, les masses de spores sont roses pour le saumon, mais si elles sont gardées au sec, les spores apparaissent de brun à noir. Sur les fruits éthérés de l'éthylène, les lésions sont plates et de couleur argent avec une texture coriace. Sur les fruits déverdis, une grande partie de la croûte est affectée. Les lésions deviendront éventuellement brunes à gris noir et entraîneront une pourriture molle. (Antonym, 2013) (Figure 10).



**Figure 10 :** Symptômes de *Colletotrichum gleosporioides* sur agrumes. A. sur rameau ; B.C. sur feuilles ; D. sur fruit. (Anonyme, 2013) .

#### Symptômes de *Colletotrichum acutatum*

- ❖ **Feuilles :** Les symptômes sur feuilles sont visibles sous forme de taches nécrotiques qui peuvent produire un effet de trou de tir si les zones nécrotiques tombent. Dans les infections sévères, les feuilles et les jeunes pousses entières peuvent devenir complètement abîmées et tomber. De plus, les pointes des pousses peuvent mourir et la déformation des feuilles peut survenir.
- ❖ **Fruit:** l'infection des jeunes fruits entraîne généralement une chute prématurée des fruits. Les infections tardives produisent des lésions souvent grandes et profondes accompagnées de destruction des fruits (Anonyme, 2013) (Figure11).



**Figure 11:** Symptôme de *Colletotrichum acutatum* sur agrumes. A. sur fruit ; B.C sur feuilles. (Anonyme , 2013)

### II.1.2.5. Systématiques de l'espèce

L'agent pathogène *Colletotrichum* sp. appartient à la :

Subdivision : *Ascomycota*

Classe : *Sordariomycètes*

Ordre : *Glomerellales*

Famille : *Glomerellaceae*

Genre : *Colletotrichum*

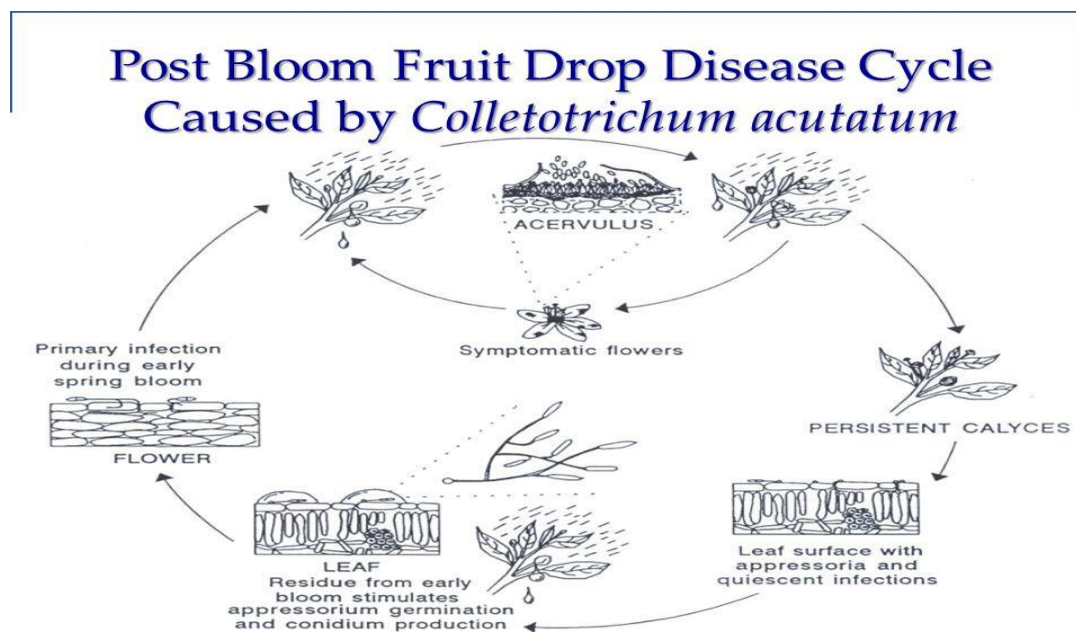
Espèce : *C. acutatum*

*C. gléosporioides*

(Rodriguez et Redman, 2008)

### II.1.2.6. Biologie

L'anthracnose est un colonisateur primaire des tissus blessés et sénescents. L'organisme pousse sur du bois mort dans la canopée, et il se propage sur de courtes distances par des éclaboussures de pluie, de la rosée abondante et de l'irrigation par le haut. Un tel mouvement dépose les spores sur les tissus sensibles des jeunes feuilles ou des fruits immatures. Les spores sexuelles, bien que moins nombreuses, sont importantes pour la dispersion sur de longues distances en raison de leur capacité à être en suspension dans l'air. Une fois que les spores ont germé, elles forment une structure de repos qui leur permet de rester en dormance jusqu'à ce qu'une blessure se produise. La maladie est particulièrement gênante sur les fruits qui sont récoltés tôt et déverdis pendant plus de 24 heures parce que l'éthylène stimule la croissance du champignon (Serrano et al., 2010) (Figure 12).



**Figure 12 :** Cycle biologique de *Colletotrichum acutatum* l'agent causal de l'antracnose de l'agrumes.(<http://slideplayer.com/slide/7852357/>)

### II.1.2.7. Mode d'infection

Le cycle de vie de ce pathogène commence par la germination des spores à la surface de la plante pour former des structures d'infection mélanisées appelées appressoria suivie par la pénétration du tissu hôte. A ce stade, des hypes d'infection épaisse sont produites dans les cellules infectées primaires, ce stade est appelé stade biotrophique de l'infection. Après cela, le champignon se transforme soudainement en phase nécrotrophe d'infection qui se caractérise par la formation d'hyphes secondaires minces provenant des hyphes primaires et ce sont ces hyphes secondaires qui commencent à coloniser les cellules voisines et qui finissent par entraîner le développement de lésions visibles à la surface de site d'infection. Enfin, les spores sont formées à la surface des tissus infectés, puis elles sont dispersées par les insectes, le courant d'air et les éclaboussures d'eau pour commencer un autre cycle d'infection. (Munch et al., 2008).

### II.1.2.8. Epidémiologie

La transmission la plus naturelle est probablement par des conidies, bien que des appressoria, des fragments d'hyphes et des cellules à paroi épaisse de type appressorium puissent également jouer un rôle (Nair et al., 1983 ). La dispersion locale semble être au moins principalement due aux éclaboussures d'eau.

(Yang et al., 1990 ), avec des propagules qui hivernent parfois dans le sol pour affecter les cultures plantées les années suivantes ( Eastburn et Gubler, 1990 ).

### II.1.3. Moyens de lutte

#### Lutte préventive

Choisir des variétés de plantes résistantes si possible et utilisez des graines cultivées dans l'Ouest qui n'ont pas été exposées à la maladie. Si ce problème fongique est commun, ne sauvegardez PAS vos propres graines dans les plantations. Eviter la propagation de la maladie, gardez-vous hors des jardins lorsque les plantes sont humides et désinfecter tous les outils de jardinage (une partie d'eau de Javel pour 4 parties d'eau) après utilisation. Eviter le compostage pas les feuilles, les fruits ou les tiges infectés et nettoyez soigneusement les zones de jardin à l'automne, après la récolte, afin de réduire les sites d'hivernage des spores fongiques (<https://www.planetnatural.com/pest-problem-solver/plant-disease/anthracnose/>).

#### Lutte chimique

La méthode chimique consiste à pulvériser des fongicides dans les vergers, la pulvérisation d'un fongicide n'était pas recommandée pendant la saison des pluies. Vaporisateur fongicide s'applique à l'intervalle de 14-28 jours dans le verger.

Plusieurs types de fongicides sont utilisés, notamment: après la récolte et avant la récolte. Fongicide après récolte généralement utilisé comme pulvérisation ou trempette sur les cultures déjà infectées par *C. gloeosporioides*. Cette méthode est employée pour les fruits et les cultures qui sont expédiés vers le marché d'outre-mer (Dickman, 1993). Il existe divers fongicides qui sont utilisés comme fongicides de pré-récolte, par exemple l'hydroxyde de cuivre, le mancozèbe et les produits de sulfate de cuivre (ceux-ci sont couramment utilisés de la floraison à la récolte). Le fongicide Prochloraz est utilisé lorsque les conditions météorologiques favorisent l'infection de *C. gloeosporioides* (Dirou et Stovold, 2005).

#### Lutte biologique

Les méthodes de lutte biologique contre les maladies à *Colletotrichum* font maintenant l'objet d'une attention croissante, bien que le potentiel du contrôle biologique par l'effet des antagonistes de la phyllosphère se soit réalisé depuis un certain temps (Lenné et Parbery, 1976).

## *Partie expérimentale*

# *Chapitre I : Matériels et méthodes*

## I.1. Matériels

### I.1.1. Matériel fongique

Huit isolats monospores de *Colletotrichum* ont été obtenus par isolement à partir de feuilles présentant des symptômes caractéristiques de la maladie (Tableau 2).

**Tableau 2** : isolats de *Colletotrichum* sp.

Codification	Origine	Date d'isolement	Variété hôte	Zone d'isolement
CF1	Bougirat	Février 2018	Clémentine	Feuille
CF2	Bougirat	Février 2018	Clémentine	Feuille
CF3	Bougirat	Février 2018	Clémentine	Feuille
CF5	Bougirat	Février 2018	Clémentine	Feuille
CF6	Bougirat	Février 2018	Clémentine	Feuille
CF7	Bougirat	Février 2018	Clémentine	Feuille
CF8	Bougirat	Février 2018	Clémentine	Feuille
CF10	Bougirat	Février 2018	Clémentine	Feuille

### I.1.2. Matériels végétales

Deux espèces végétales (tomate et piment) sont utilisées pour étudier la pathogénicité des isolats. Le cultivar Kawa dans le cas de la tomate (Tableau 3) et le cultivar Biskra pour le piment.

## I.2. Méthodes

### I.2.1. Etude de la sévérité de la maladie

L'échantillonnage est réalisé à partir d'un verger d'agrumes contenant la clémentine et la Thomson, d'une superficie d'un hectare. Ce champ est situé dans la région de Bouguirat, au Nord-Est de Mostaganem. L'étude de la sévérité de la maladie a été évaluée sur 10 arbres présentant les symptômes de l'anthracnose et choisis selon deux diagonales. A partir de chaque arbre, cinq feuilles ont été prélevées aléatoirement de chaque orientation géographique (Nord, Est, Ouest et Sud).

**Tableau 3** : fiche technique de la variété de tomate Hybride F1 (Kawa)

	<b>Fiche technique de variété kawa de la tomate</b>
<b>Créneau</b>	Hiver, printemps et automne Précoce
<b>Caractéristique</b>	Plante de vigueur moyenne Bonne nouaison en période froide Fruit rond et ferme très coloré
<b>Hautes Résistance (HR)</b>	ToMV : 0-2/Ff :A-E/Fol :0.1/Va :0/Vd :0
<b>Le poids des fruits</b>	230-300 gr
<b>Résistance Intermédiaires(IR)</b>	Ma/Mi/Mj
<b>Distributeur</b>	Goldenfield
<b>Culture segmentation</b>	Indeterminée Ronde

### I.2.1.1. Estimation de la sévérité sur feuillage

Pour estimer la sévérité de la maladie sur les feuilles nous avons utilisé l'échelle de Lakshmi et al .(2011).

**Tableau 4** : Echelle de la notation de la sévérité sur feuilles

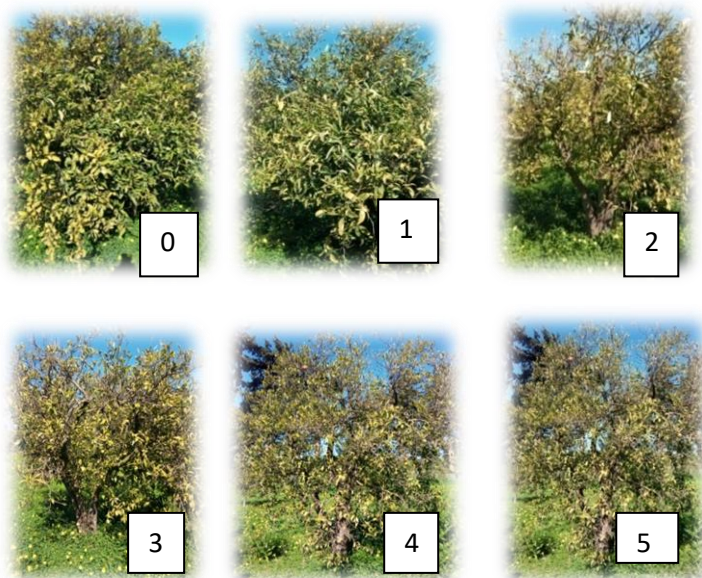
<b>Symptômes</b>	<b>Indice</b>
Pas de symptômes	0
Jusqu'à 5 % de la surface foliaire atteinte.	1
6-10 %	2
11-20 %	3
21-50 %	4
Plus 50%	5

### I.2.1.2. Estimation de la sévérité sur l'arbre

La sévérité de la maladie sur l'arbre est estimée en fonction du degré de défoliation relevé sur champ et est établie par nous-mêmes (Tableau 6, figure 13).

**Tableau 5:** Echelle de sévérité sur l'arbre

Pourcentage de défoliation de l'arbre	Indice
Pas de défoliation	0
Jusqu'à 10 % de défoliation	1
11-25 %	2
25-50 %	3
51-75 %	4
75-100 %	5



**Figure 13 :** Echelle de défoliation illustrée (Originale 2018).

La sévérité de la maladie est calculée selon la méthode décrite par Mayee et Datar, (1986).

$$PDI = \frac{\text{Somme des notes} \times 100}{\text{Nombre d'unités examinées} \times \text{Note maximale}} (\%)$$

## **I.2.2. Prélèvement des échantillons et méthode d'isolement**

### **I.2.2.1. Echantillonnage**

Trois à quatre feuilles présentant les symptômes de la maladie sont prélevés sur l'arbre et mises dans des sachets en papier puis transportés en laboratoire.

### **I.2.2.2. Isolement**

L'isolement du pathogène est effectué selon la technique décrite par (Grewal et Jhoothy,(1984). Les feuilles sont rincées à l'eau courante afin d'enlever quelques microorganismes saprophytes.

Des fragments de tissus de 2 à 3 mm sont prélevés sur le front d'attaque du pathogène et désinfectées superficiellement à l'éthanol 96°. Ils sont trempés dans une solution diluée d'eau de javel à 1% pendant 45 secondes, rincés trois fois à l'eau distillée stérile (2 min, 3 min, 5 min) puis séchés entre 2 feuilles de papier filtre stérile.

Les fragments sont alors déposés dans des boites de pétri contenant le milieu de culture PDA (Annexe 1) additionné de chloramphénicol (0,0125g / 500ml).

Après 7 jours d'incubation à 28 °C, les colonies intéressantes sont repiquées.

Les colonies sont conservées à 4°C.

### **I.2.3. L'obtention des cultures monospores**

Pour obtenir des souches génétiquement homogènes, une culture monospore est réalisée à partir de chaque colonie obtenue. Nous avons utilisée la technique décrite par Rappily (1968).

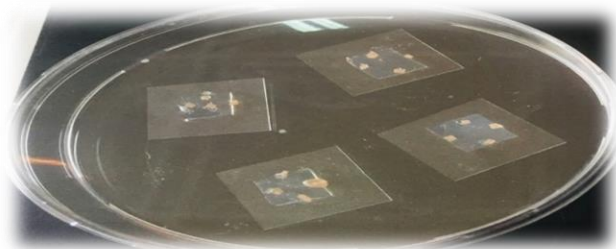
- Des explants mycéliens sont prélevés à partir d'une culture jeune de 10 jours. Ils sont mis dans un tube à essai contenant 5 ml d'eau distillé stérile (solution mère) cette dernière est agitée à l'aide d'un vortex puis filtrée à travers une mousseline stérile. A l'aide d'une lame de Malassez, la suspension est ajustée à  $10^2$  conidies/ml.
- 100 µl de cette suspension sont étalés en boite de pétri.
- Avant 24heures d'incubation, l'observation sous une loupe binoculaire est effectuées, les conidies germées sont repérées puis délimitées d'un cercle d'environ 2 mm. Elles sont alors prélevées à l'aide d'une aiguille stérile et déposées dans une autre boite pétri à 28 °C.
- Des rondelles de 5 mm de diamètre sont prélevées à partir des cultures monospores obtenues après une semaine de culture, elles sont mises dans des tubes eppendorf stérile et conservées à 4°C pour les utilisations ultérieures.

### **I.2.4. Identification et caractérisation du champignon**

L'identification des parasites fait essentiellement appel aux caractères macroscopiques et microscopiques. Plusieurs caractères sont notés : Aspect et couleur de la colonie, aspect et coloration du mycélium, aspect et forme des conidies, présence ou absence d'appressoria..

#### **I.2.4.1. Obtention des appressoria**

Pour l'obtention des appressoria en culture gélosée, nous avons utilisée la technique de Sutton (1980) qui consiste à placer des carrés de 1cm<sup>2</sup>de milieu de culture PCA (annexe 2) dans une boîte de pétri, la périphérie du milieu est inoculée avec de petites sections de mycélium ; une lamelle est alors disposée sur les explants. Les boîtes sont incubées à 25 °C pendant 5 jours. On note alors la forme des appressoria sous microscope photonique (10×40) (Figure 14).



**Figure 14** : Méthode d'obtention des appressoria en culture

#### **I.2.4.2. Mesure de la taille des conidies**

La mensuration des conidies est réalisée sur des cultures âgées de 10 jours, obtenues sur milieu PDA à une température comprise 28°C. (Bouheraoua.Z.1995).

Cette étude a porté sur la longueur et la largeur de 50 conidies par isolat ; elle est réalisée à l'aide d'un microscope préalablement étalonné.

La suspension des spores a été réalisée dans un liquide neutre : l'eau.

Le mode opératoire consiste à déposer entre lame et lamelle une goutte de suspension conidienne qu'on observe au grossissement (10×40).

### **I.2.5. Etude de l'effet de la température sur la croissance et la sporulation de *Colletotrichum* sp.**

#### **I.2.5.1. Mesure de la croissance mycélienne**

Les mesures de la croissance mycélienne sont réalisées selon la méthode de Kaiser (1973) qui consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale des colonies du parasite.

- Le diamètre de la colonie est mesuré chaque jour selon deux axes perpendiculaires passant par le centre de la boîte de Pétri.
- A l'aide d'un emporte-pièce, des fragments circulaires de 5 mm de diamètre sont prélevés aseptiquement à la périphérie d'une colonie âgée de 10 jours. Ils sont disposés au centre d'une boîte de Pétri, à raison d'un fragment par boîte. Pour chaque isolat, nous avons réalisé trois répétitions.
- Les boîtes sont incubées à l'obscurité, sous les niveaux de température suivants : 22°C, 25°C, 28°C.
- Les mesures des diamètres des colonies sont effectuées tous les jours jusqu'à ce que l'une des colonies ait atteint le bord de la boîte.

La croissance mycélienne est calculée selon la formule suivante :

$$L = D - d/2 \quad \text{Rappily (1968)}$$

L = croissance mycélienne (mm)

D : diamètre de la colonie (mm)

d : diamètre initial de l'explant (5mm)

#### **I.1.5.2. Estimation de la sporulation**

La sporulation est estimée à partir de colonies âgées de dix jours et ensemencées selon la technique décrite pour l'étude de la croissance mycélienne.

On verse 10ml d'eau distillée stérile dans chaque boîte contenant la colonie du parasite. Celle-ci est grattée superficiellement à l'aide d'un scalpel pour libérer le maximum de conidies. La suspension obtenue est filtrée à travers une mousseline.

A partir de la suspension ainsi obtenue, on prélève un volume de 100µl quel l'on dispose sur la lame de Malassez. Pour chaque isolat nous avons prélevé trois échantillons.

Cette étude est réalisée sur trois répétitions par isolat.

## **I.2.6. Teste de pathogénicité**

### **I.2.6.1. Inoculation des feuilles détachées**

#### **Préparation de l'inoculum de *Colletotrichum***

La méthode consiste à prélever un explant mycélien de 1 cm<sup>2</sup> à partir du centre d'une colonie de 10 jours cultivée sur PDA. Ce milieu favorise la sporulation de *Colletotrichum* (Yang et al. 2015). L'explant est mis dans un tube à essai contenant 5 ml d'eau distillé stérile. Le tube est agité à l'aide d'un vortex. La suspension est filtrée à travers une mousseline.

La concentration en spores de chaque isolat est estimée à l'aide d'une cellule de Malassez et ajustée à 10<sup>6</sup> spores/ml. Une goutte de Tween 20 (concentration finale 0.01 %) est ajoutée à la suspension.

#### **Obtention des folioles et des fruits**

Des feuilles tendres sont prélevées au sommet des plantes. Afin de maintenir leur fraîcheur, elles sont disposées à l'intérieur d'une glacière et transportées jusqu'en Laboratoire. Elles sont inoculées le jour même.

Les fruits mûrs, ne présentant aucune altération visible sont récoltés à partir des Plantes cultivées sous serre. Seize piments (50-80 g) et seize tomates de calibre moyen (130-150 g) sont récoltés.

### **I.2.6.1. Inoculation des feuilles/folioles**

L'inoculation des feuilles de piment (variété Biskra) est réalisée en laboratoire. Les feuilles sont désinfectées lavées à l'eau courante. A l'aide d'un coton imbibé à l'Ethanol, les feuilles sont essuyées superficiellement, puis celles-ci sont mises à tremper pendant 30 secondes dans une solution d'eau javellisée à 1%. Elles sont rincées trois fois dans l'eau distillée stérile puis séchés entre 2 feuilles de papier filtre stérile.

Les feuilles sont déposées dans des boîtes en plastiques transparentes (17×10.5×6 cm) sur du papier Wattman imbibé d'eau distillée stérile, à raison de 3 feuilles par boîte.

Sur chaque feuille, deux blessures sont réalisées à l'aide d'une aiguille stérile, de part et d'autre de la nervure centrale (Rhaiem et Taylor, 2016). Une goutte de 6 µl de la suspension sporale (10<sup>6</sup> spores/ml) est disposée à l'endroit de la blessure.

Cet essai a été réalisé avec trois répétitions biologiques.

**La Notation des symptômes**

la première notation intervient le 2<sup>ème</sup> jour après l'inoculation. les notations sur la sévérité et l'intensité de la maladie ont été réalisés sur chaque foliole selon une échelle de 0 à 5 (tableau 5 p 22) (Lakshmi et al., 2011).

La sévérité de la maladie est calculée selon la méthode décrite par Mayee et Datar, (1986).

$$PDI = \frac{\text{Somme des notes} \times 100}{\text{Nombre d'unités examinées} \times \text{Note maximale}} (\%)$$

L'indice de maladie est calculé, il permet ainsi d'évaluer l'intensité de la maladie et de quantifier l'agressivité et/ou la virulence des isolats de *Colletotrichum* vis-à-vis la plante inoculé (feuilles de piment), il est calculé selon la formule préconisée par Dolar ,(1994).

$$IM = \frac{aF1+bF2+cF5.....}{N} (mm)$$

IM : indice de la maladie

F : nombre de folioles malades pour chaque degré dans l'échelle de notation

N : nombre total des folioles utilisées.

a,b,c.... : Indice de maladie dans l'échelle correspondante

l'AUDCP nous permet d'évaluer la sévérité de la maladie selon la formule suivante :

$$AUDPC = \frac{(y_i + y_{i+1} + 1)}{2} (T_{i+1} - T_i)$$

T : temps

Y : indice moyen de la maladie.

**I.2.6.2 Inoculation des fruits**

Après rinçage des fruits selon la même procédure utilisée pour les feuilles détachées. On réalise trois blessures sur le fruit. Les blessures sont espacées d'environ 3 centimètres. Un fruit est disposé dans la boîte en plastique. Une gouttelette de 6 µl d'inoculum (10<sup>6</sup> spores/ml, additionnée de Tween 20 à la concentration finale de 0,01%) est apporté à l'endroit de la blessure.

La première notation intervient après 48 heures d'inoculation, les notations suivantes toutes les 48 heures pour la tomate et 72 heures pour le piment, suivant le développement des symptômes.

La taille de la lésion mesurée suivant le plus grand axe du fruit suivant le plus petit axe du fruit, ont également été mesurées à l'aide d'une règle graduée suivant deux axes perpendiculaires (Shuman , 2001). En supposant que les lésions croissent, de façon circulaire, leur diamètre (DL) a été évalué comme suit :

$$DL = \frac{\text{largeur de lésion} + \text{Longueur de lésion}}{2} \text{ (mm)}$$

## *Chapitre II : Résultats et discussion*

## II.1. Résultats

### II.1.1. Description des symptômes

L'arbre atteint d'anthracnose présente des rameaux desséchés portant de petites ponctuations noires qui sont des appareils sporifères du champignon ;appelés acervules.

Les feuilles montrent des lésions nécrotiques de coloration brune, de formes plus ou moins arrondies. Selon leur répartition à la surface de la feuille malade, deux types de symptômes ont été notés :

- lésions grises au centre, portant des acervules, entourées d'un liséré brun.
- de larges taches nécrotiques commençant au bord de la feuille puis gagnant l'ensemble de sa surface.

Dans les cas les plus sévères, il s'ensuit une défoliation complète de l'arbre.

### II.1.2. Estimation de la sévérité de la maladie au champ

#### II.1.2.1. Sur l'arbre

Les arbres de Thomson Navel ne présentaient pas de défoliation, la sévérité sur l'arbre n'est donc pas notée. Les arbres appartenant à la clémentine présentent une importante défoliation. Nous avons estimé une PDI moyenne de 63%.

#### II.1.2.2. Sur feuilles

Pour la clémentine, selon la figure15 , on note une importante sévérité sur l'orientation nord puisque une PDI importante est enregistrée (40%) relativement à l'ouest (32,4 %), au sud (30,4 %) et à l'est (28,4)Malgré ces résultats, l'analyse de la variance ( $\alpha =5 \%$ ) ne montre pas de différences significatives entre les différentes orientations(annexe3).

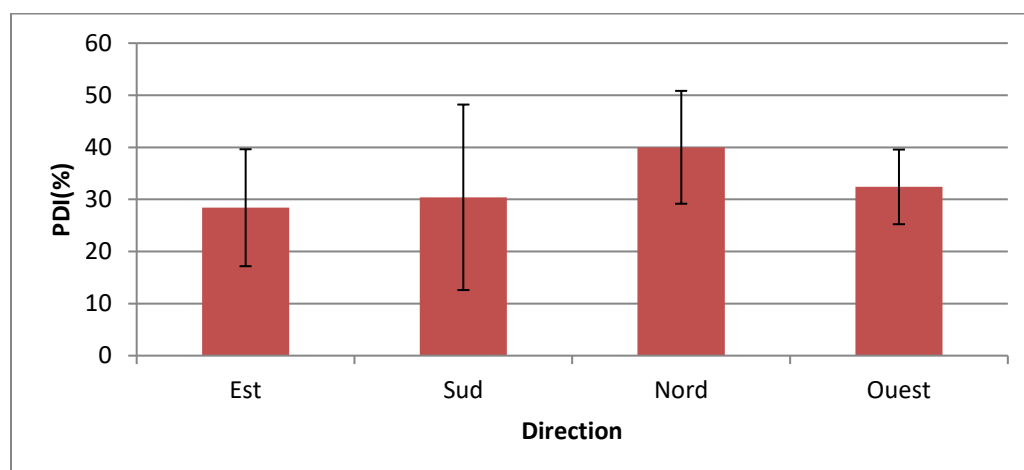
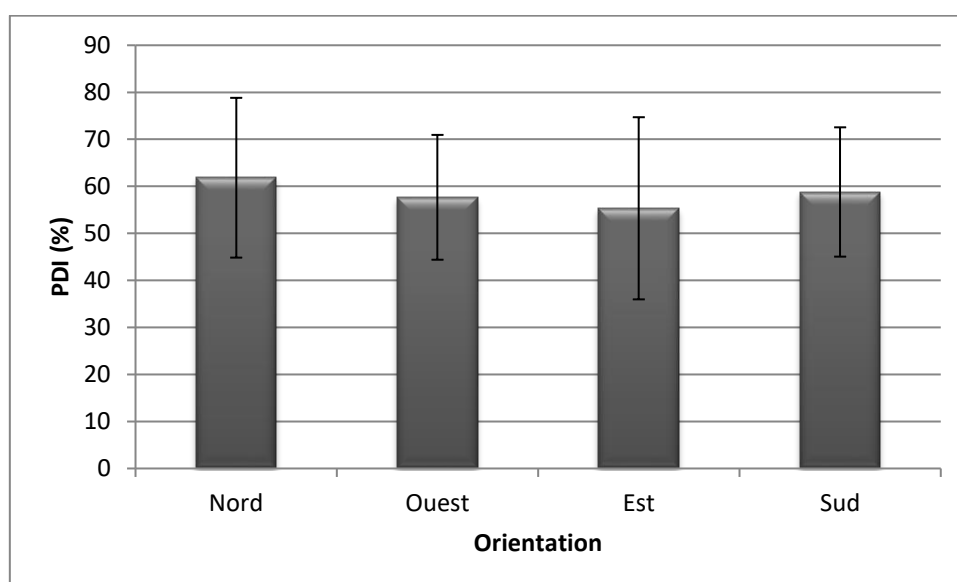


Figure15: Estimation de la sévérité sur feuilles selon leur orientation, cas de la Clémentine

Dans le cas de la Thomson Navel, c'est également le nord qui présente la plus importante PDI avec 61.83%, relativement aux orientations restantes (Figure 16). En revanche, comme pour la clémentine, l'analyse de la variance ( $\alpha = 5\%$ ) ne montre pas de différences significatives entre les différentes orientations (annexe 4).

L'orientation des feuilles sur l'arbre ne joue donc aucun rôle sur la sévérité de l'antracnose.



**Figure 16 :** Estimation de la sévérité sur feuilles selon leur orientation, cas de Thomson Navel

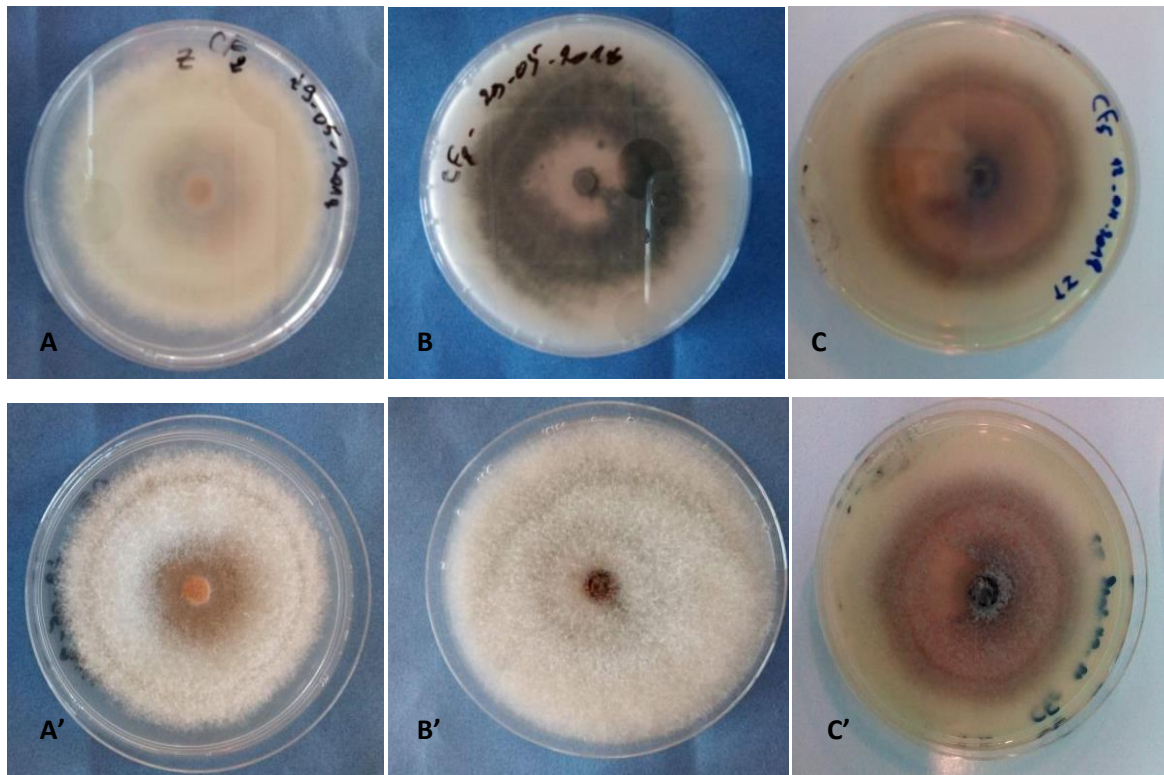
### II.1.3. Caractères morphologiques des isolats de *Colletotrichum* sp.

#### II.1.3.1. Caractères macroscopiques

A partir des nécroses observées sur les feuilles de clémentine, huit isolats ont été obtenus.

Des différences sur les caractères morphologiques sont notées. Nous avons ainsi réparti l'ensemble des isolats en trois morphotypes :

- Morphotype 1 : Il se caractérise par des colonies de couleur blanches, un mycélium aérien, cotonneux, à revers rose-saumon, c'est le cas des colonies de CF2, CF6, CF7.
- Morphotype 2 : Colonies de couleur blanches, à revers gris foncé. Mycélium dense, c'est le cas pour les isolats CF8 et CF10.
- Morphotype 3 : Colonies rose-clair, à centre rose foncé délimité par une bordure brune. Le revers de la colonie et sa surface présentent les mêmes caractéristiques. C'est le cas pour les isolats CF3, CF5 et CF1) (Figure 17).



**Figure 17** : Morphotypes de *Colletotrichum* sp., après 7 jours d'incubation sur milieu PDA.

A, A' : morphotype 1; B, B' : morphotype 2; C, C' : morphotype 3.

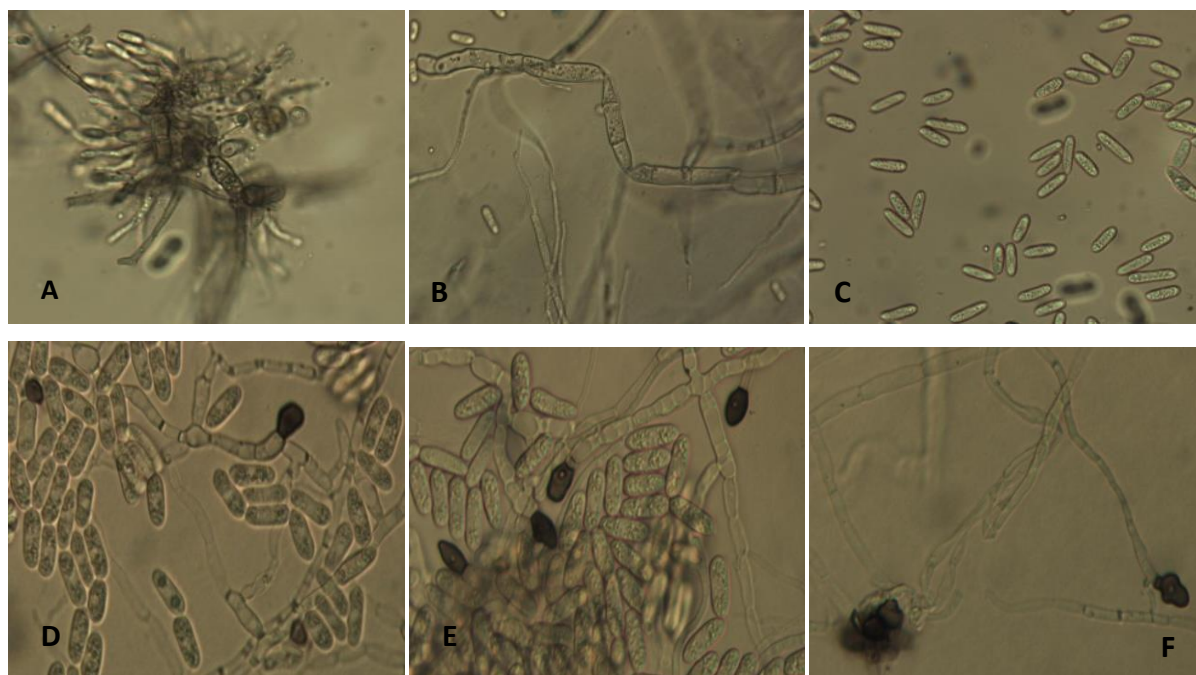
A, B, C : face inférieure (revers de la colonie). A', B', C' : face supérieure de la colonie.

### II.1.3.2. Caractères microscopiques

Les Conidies sont droites, cylindriques, obtuses au sommet. Les appressoria naissent à partir des filaments mycéliens ou à partir des conidies. Ils sont clavetés ou irréguliers.

Les acervules sont noirs avec des masses conidiales orange, parfois feutrés avec du mycélium aérien. Les setae sont abondantes.

Les appressoria sont de couleur brun foncé, solitaires, non septés. Ceux issus naissant sur le mycélium sont soit circulaires et renflés au sommet soit éllipsoïdes ou lobés (figure 18).



**Figure 18** : Caractères microscopiques de *Colletotrichum* sp. (Observation au microscope optique, grossissement : 10x40).

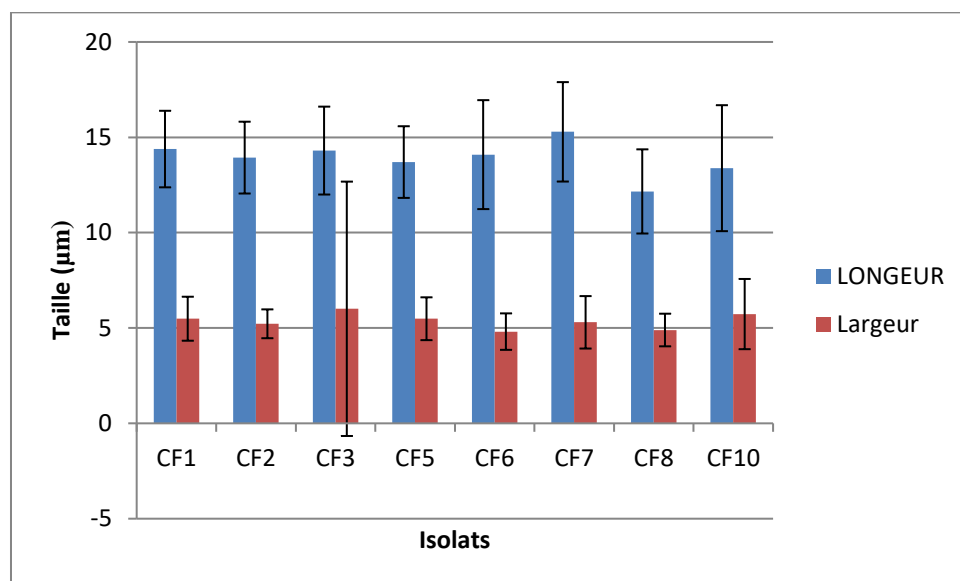
**A**: conidies au sommet des conidiophores ; **B** : Mycélium avec quelques conidies; **C** : conidies; **D, E, F** : Appressoria (**D** : appressorium renflé ;**E** : appressorium ellipsoïde ; **F** : appressorium lobé).

### II.1.3.3. Dimension des conidies

Le tableau 6 et la figure donne la longueur et la largeur moyenne et l'intervalle de mesure des conidies de chaque isolat.

**Tableau 6** : Taille des conidies de *Colletotrichum* sp.

Isolats	Taille des conidies (µm)		
	Longueur moyenne	Largeur moyenne	Intervalle de mesure
CF1	14,38±2	5,47± 1,15	(7,8 – 18,2) × (3,9-7,8)
CF2	13,93± 1,88	5,22 ± 0,7	(5,2-15,6) × (2,6- 7,8)
CF3	14,30 ± 2,3	6,06± 6,67	(5,2- 18,2) × (2,6-6,5)
CF5	13,70 ± 1,8	5,49 ± 1,12	(10,4-23,4) × (2,6-7,8)
CF6	14,09 ± 2,85	4,81± 0,96	(10,4 - 16,9) × (2,6-9,1)
CF7	15,28± 2,6	5,3± 1,38	(7,8- 23,4) × (2,6- 7,8)
CF8	12,16 ±2,2	4,9± 0,85	(7,8- 20,8) × (2,6-6,5)
CF10	13,38 ± 3,3	5,73± 1,84	(11,7 - 20,8) × (3,9- 9,1)



**Figure 19** : Représentation de la taille des conidies selon l'isolat.

Sur la base de ces mensurations, les analyses statistiques à deux critères de classification, ont mis en comparaison la largeur et la longueur des conidies pour les 8 isolats étudiés.

L'analyse de la variance montre une différence significative entre les différents Isolats (annexe 5, 6).

Le test de Nawman et Keuls au seuil de 5%, a permis de classer les isolats selon la longueur des conidies en 3 groupes homogènes (annexe 7).

Ces groupes statistiquement différents sont arrangés par ordre décroissant, allant respectivement de 15.28 à 12.16 µm. L'isolat CF7 est représenté dans le groupe A ; c'est donc l'isolat qui possède la moyenne la plus élevée (15,28 µm).

Le classement des isolats peut s'établir comme suit :

CF7>CF1>CF3>CF6>CF2>CF5>CF10>CF8.

## **II.1.4. Effet de la température sur la croissance et la sporulation de *Colletorichum* sp.**

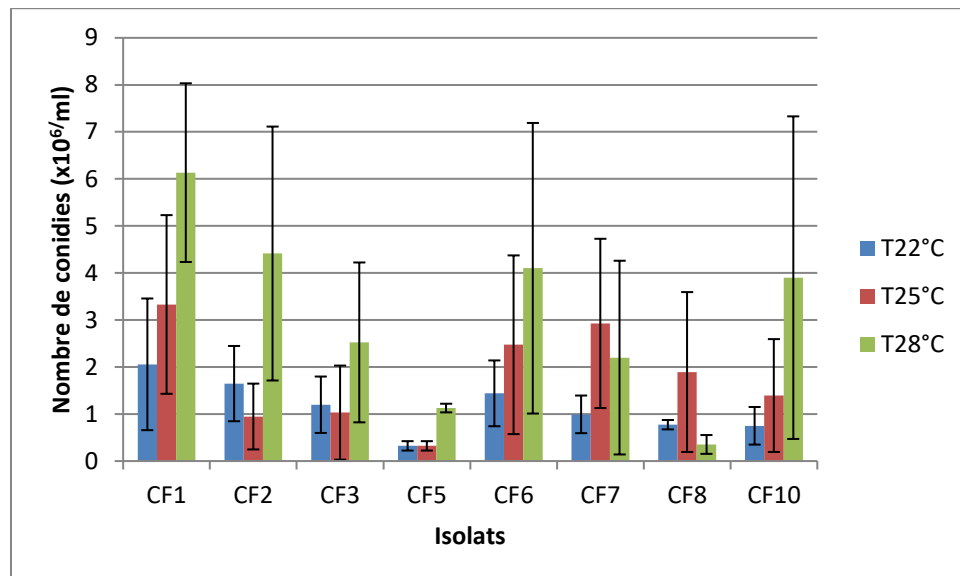
### **II.1.4.1. Effet sur la sporulation**

L'estimation de la sporulation des 8 isolats testés à trois niveaux de température (22°C-25°C-28°C) sont présentées sur la figure 20.

Sur la base de ces notations, les analyses statistiques ont mis en comparaison la sporulation des souches à trois niveaux de températures.

L'analyse de la variance montre une différence significative entre les isolats. (annexe 8).

Le test de Newman et Keuls, au seuil de 5%, a permis de classer les isolats selon sporulation en 2 groupes homogènes (annexe 9). Le classement s'établit comme suit : 28°C > 25°C > 22°C. La température 28°C dans le groupe A, 25°C et 22°C dans le groupe B.



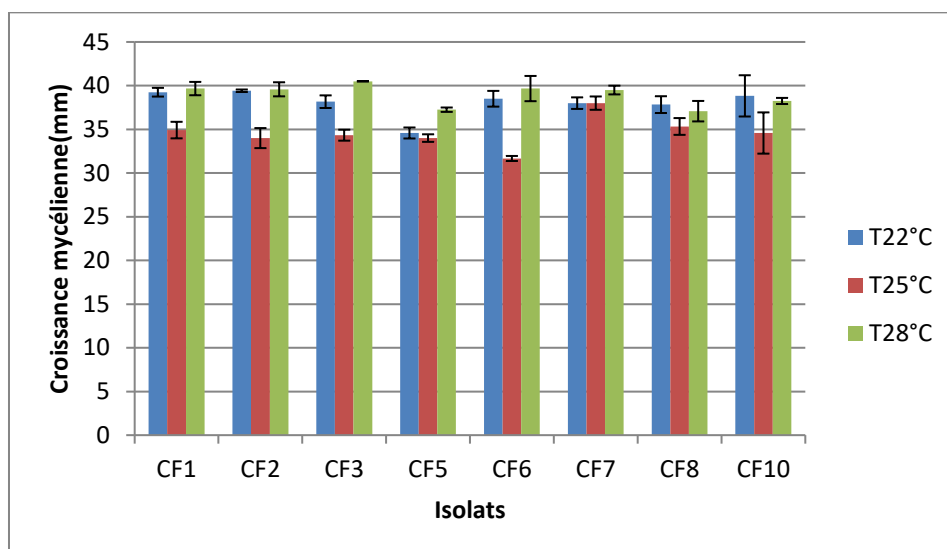
**Figure 20 :** influence de la température sur la sporulation des isolats de *colletotrichum* sp. après 12 jours d'incubation sur milieu PDA.

#### II.1.4.2. Effet sur la croissance mycélienne

Le profil des histogrammes de croissance établi au 8<sup>ème</sup> jour de culture montre que les niveaux de 22°C et 28 °C favorisent la croissance mycélienne. En revanche la croissance des isolats est ralentie pour la température de 25°C (figure 21).

L'analyse *Annova* au seuil de 5% montre que des différences entre les isolats sont significatives (annexe 10). Le test de Newman-Keuls au seuil de 5% permet de classer les isolats en cinq groupes homogènes, dans l'ordre suivant : CF3 > CF1 > CF10 > CF7 > CF6 > CF2 > CF8 > CF5.

Les températures sont classées en 2 groupes homogènes, dans l'ordre indiqué : 22°C ou 28°C > 25°C (annexe 11).



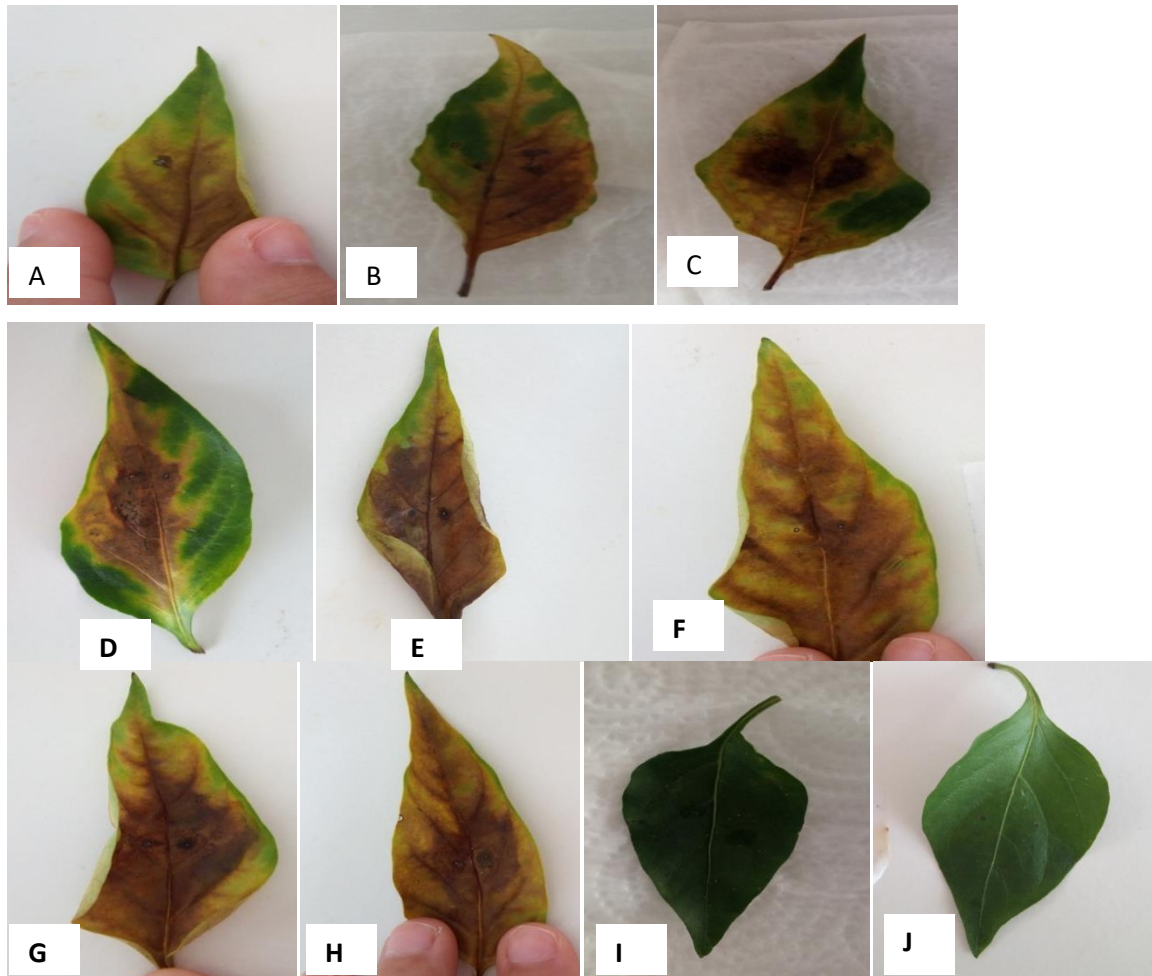
**Figure 21 :** Influence de la température sur la croissance de *Colletotrichum* sp. au 8<sup>ème</sup> jour d'incubation sur milieu PDA.

### II.1.5. Test de pathogénicité de *Colletotrichum* sp. sur quelques espèces de cultures maraichères

Le pouvoir pathogène est estimé par le calcul de la PDI. Cette dernière permet de quantifier l'agressivité des isolats. Les symptômes sur feuilles et fruits inoculés, apparaissent d'abord sous forme de petites nécroses de quelques millimètres de diamètre, de couleur brun foncé. Elles s'élargissent au fur et à mesure de la persistance des conditions idéales d'incubation.

#### II.1.5.1. Sur feuilles de piment

Les indices d'attaque obtenus à partir de notations effectuées pendant huit jours nous permettent de distinguer plusieurs niveaux de réaction variant selon l'isolat. La figure 22 montre les symptômes obtenus après 10 jours d'inoculation.



**Figure 22** : Symptômes d’anthracnose et degré d’attaque sur feuilles de piment inoculée chacune par un isolat de *Colletotrichum* sp. .

**A** : inoculée par l’isolat CF1 ; **B**, CF2 ; **C**, CF3 ; **D**, CF5 ; **E**, CF6 ; **F**, CF7 ; **G**, CF8 ; **H**, CF10 ; **I**, Témoin réalisé sans blessure ; **J**, Témoin avec blessures.

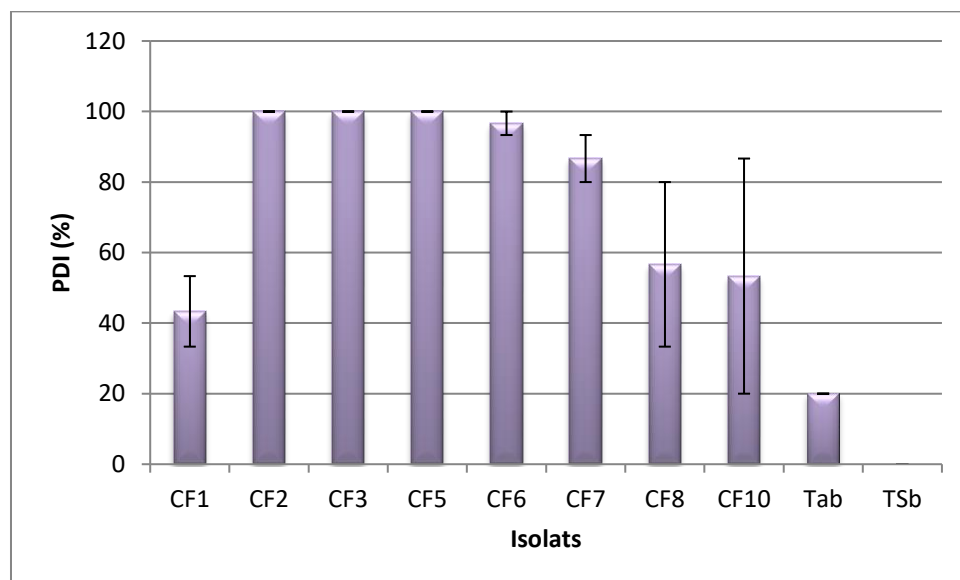
#### II.1.5.1.1. Calcul de l’AUDPC

L’AUDPC est utilisée pour quantifier l’intensité de la maladie (Madden et al., 2007). Les AUDPC faibles représentent une lente progression de la maladie et une grande résistance de la plante, tandis que les AUDPC élevées représentent une progression rapide de la maladie et une haute sensibilité de la plante. L’AUDPC révèle les différents degrés de sévérité chez chaque isolat dans le test de pathogénicité sur feuilles détachées, dans notre étude la plus faible AUDPC est 7.01 (isolat CF10), la plus élevée est 14.97 (isolat CF2) (Annexe 14).

La PDI est aussi calculé pour estimer le degré de sévérité de la maladie. Au bout du 9<sup>ème</sup> jour les isolats CF2, CF3, CF5 atteints 100% de la maladie. Nous avons noté chez le témoin que les nécroses restent localisées à l’endroit de la blessure et n’évoluent pas en diamètre (Figure 23).

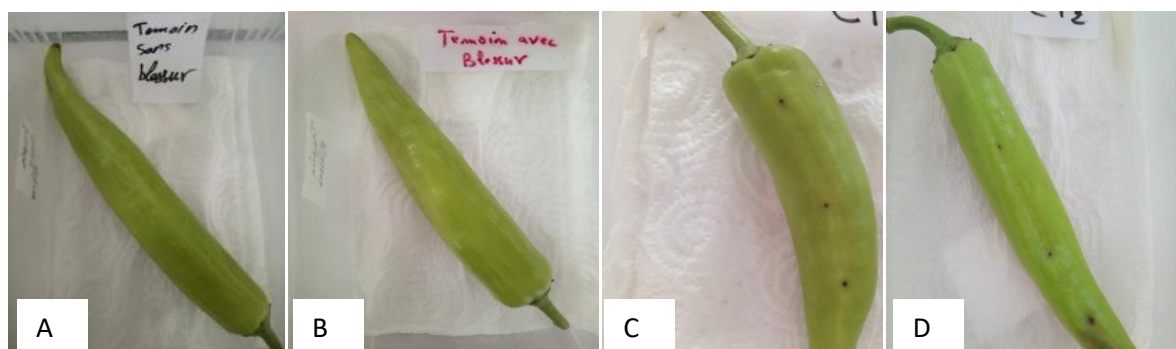
**Tableau 7** : AUDPC obtenues sur feuilles de piment (var. Biskra).

Isolat	CF1	CF2	CF3	CF5	CF6	CF7	CF8	CF10
AUDPC	7,04	14,97	14,32	13,2	12,88	10,32	7,57	7,01

**Figure 23**: Estimation de la sévérité de maladie sur feuilles de piment après 9 jours d'inoculation.

### II.1.5.2. Sur fruits de piment

La progression de la maladie est lente sur les fruits. Les notations sont réalisées jusqu'au 21ème jour après inoculation. Le fruit présente donc une certaine résistance à la maladie (figure 24).

**Figure 24** : Symptômes d'anthracnose et degré d'attaque sur fruits de piment inoculés par *colletotrichum* sp.

A : Témoin réalisé sans blessures ; B : Témoin avec blessures ; C : piment inoculé par une suspension de conidies appartenant à l'isolat CF6, et D : inoculé par CF3.

### II.1.5.3. Sur fruits de tomate

Les fruits de tomates (var.kawa) inoculés avec *Colletotrichum* sp. ont présentés des symptômes sévères d'antracnose. On observe des lésions importantes qui dont la taille augmente tous les jours. La taille des lésions induites varie en fonction de l'isolat (Figure 25).

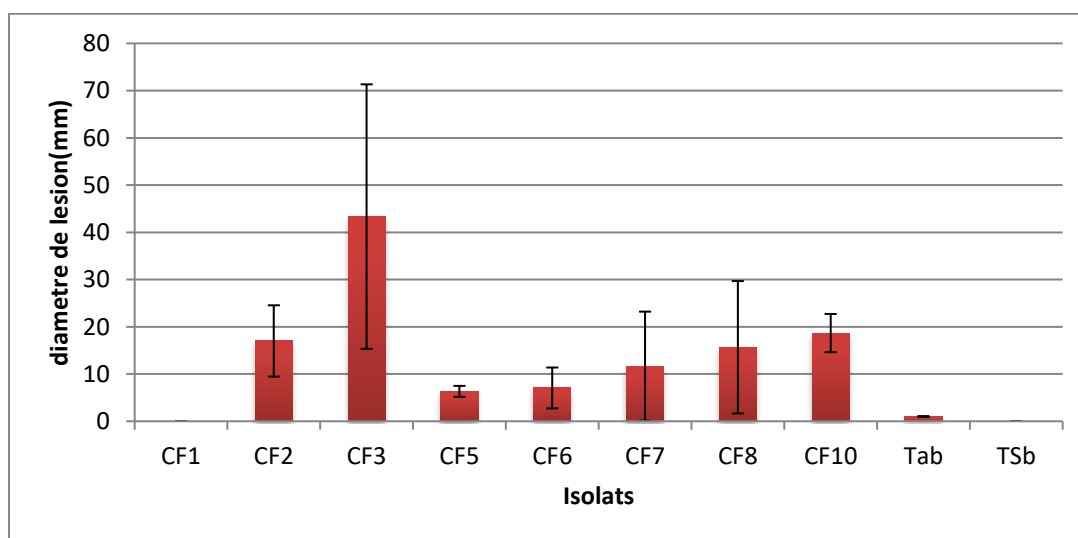
L'isolat CF3 donne des lésions de plus grand diamètre avec 43 mm et l'isolat CF5 le plus petit diamètre (6,33 mm). L'isolat CF1 ne provoque aucune lésion (Figure 26).

L'analyse de la variance pour le diamètre des lésions au 10<sup>ème</sup> jour après inoculation donne une différence significative (annexe 10).

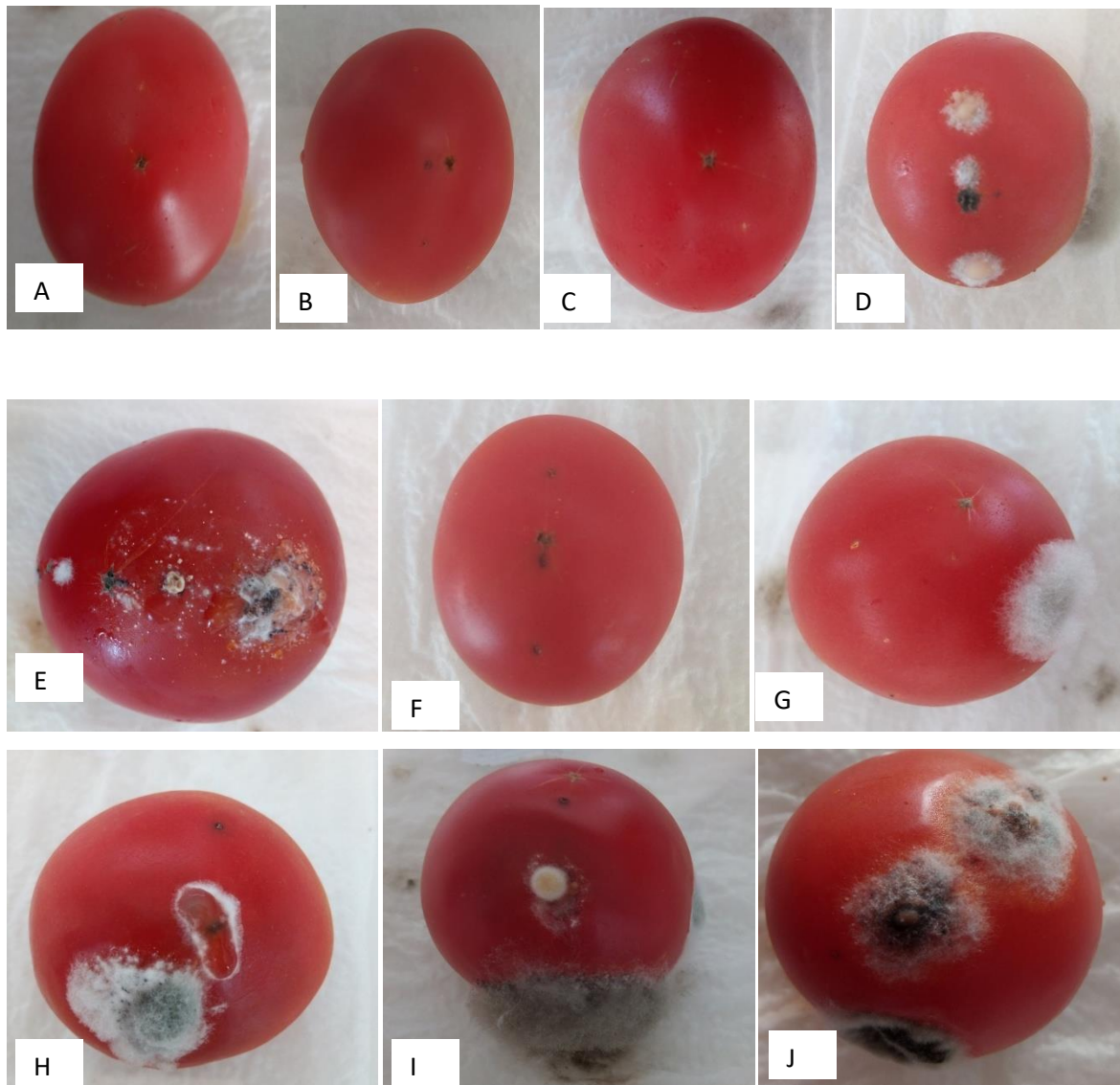
Le test de Newman et Keuls au seuil de 5%, permet de classer les isolats en 4 groupes homogènes (Annexe 12).

Le classement des isolats par ordre décroissant est le suivant :

CF3 > CF10 > CF2 > CF7 > CF8 > CF5 > CF6 > Tab > Tsb > CF1 (Annexe 13).



**Figure 25:** Développement des lésions sur fruit de tomate (var. kawa) après 10 jours d'inoculation.



**Figure 26 :**Symptômes d'antracnose et degré d'attaque sur fruits de tomate (var.kawa) inoculés par *Colletotrichum* sp.

A : Témoin réalisé sans blessures ; B : Témoin réalisé avec blessures ; C : fruit inoculé avec l'isolat CF1 ; D : CF2 ; E : CF3 ; F : CF5 ; G : CF6 ; H : CF7 ; I : CF8 ; J : CF10.

## II.2. Discussion

Des Symptômes caractéristiques de l'antracnose ont été observés au cours de nos travaux sur les feuilles de Clémentine collectées dans un verger de Clémentine à Mostaganem. Après isolement et purification des colonies, huit isolats monospores sont obtenus. Chacun représentant un arbre. Les caractères macroscopiques notés chez les colonies ont permis de classer l'ensemble des ces isolats dans 3 groupes morphologiques..

En effet, de nombreuses études ont montré que *Colletotrichum* cause l'antracnose sur les plantes cultivées (Freeman, 1998, Arauz, 2000, Cannon et al., 2012).

Les caractères morphologiques et le test de pathogénéicité ont permis de classer les souches de *Colletotrichum* en deux espèces distinctes. Le premier groupe est composé de cinq souches avec des colonies et des conidies caractéristiques de *C. gloeosporioides*, le 2<sup>ème</sup> groupe est constitué par des colonies de couleur blanches, un mycélium aérien, cotonneux, à revers rose-saumon à conidies fusiformes caractéristiques d'une autre espèce de *Colletotrichum* qui n'a pu être identifiée. Les souches de *C. gloeosporioides* identifiées sont de couleur blanches à grises avec des conidies caractéristiques de *C. gloeosporioides* comme décrit par Freeman et al. (1998) et Riviera et al. (2006). Ces auteurs ont montré que la couleur de colonies mycéliennes évoluait parfois du blanc au gris et dans d'autres cas de rose à orange. La différence de coloration des souches serait liée à la plante hôte, à la nature de la souche de *Colletotrichum* sp. et aux conditions environnementales. Les isolats ont produit des conidies de formes cylindriques de *C. gloeosporioides* décrites par Sanders et Korsten, (2003b) ainsi que par Pandey et al., 2012. La longueur moyenne des conidies des isolats de *C. gloeosporioides* varient de 12,16 à 15,28  $\mu\text{m}$  et la largeur 4,81 à 6,06  $\mu\text{m}$ .

Ces valeurs se situent dans l'intervalle décrit par Rivera et al., (2006) qui ont montré que les conidies de *C. gloeosporioides* étaient de dimensions variant de 12 à 20  $\mu\text{m}$  pour la longueur et de 3,5 à 6  $\mu\text{m}$  pour la largeur. La longueur et la largeur moyenne des souches utilisées au cours de nos travaux ont été significativement différentes.

Les résultats obtenus sur la sporulation ont montré également que la température 28 °C favorise la sporulation pour les isolats CF1, CF2, CF3, CF5, CF6, CF10. Et la température 25°C pour CF7 et CF8. La température 22 °C est défavorable à la sporulation.

Les résultats nous a permis de noter une différence entre les isolats ; CF1 montre la plus grande sporulation pour les trois températures et l'isolat CF5 à représenté la plus faible sporulation dans les températures 22°C et 25°C, tandis que la sporulation de CF8 est faible à 28°C.

L'étude sur la croissance mycélienne montre que CF3 possède une croissance rapide, cinq isolats (CF1, CF10, CF7, CF6, CF2), une croissance moyenne et deux (CF8, CF5), une croissance lente. La croissance mycélienne n'a pas permis de différencier les deux espèces de *Colletotrichum*. Selon Serra et al., 2006, la croissance mycélienne n'est pas un critère stable de différenciation des espèces de *Colletotrichum*, mais joue un rôle important dans la variabilité au sein des espèces.

En ce qui concerne le test de pathogénicité réalisé sur quelques cultures maraichères, les fruits de tomate (var. Kawa) et piment (fruits et feuilles) (var. Biskra), les inoculations réalisées ont induit des symptômes de la maladie. Les isolats ont reproduit les symptômes typiques de l'antracnose. L'apparition des symptômes dès le deuxième jour d'inoculation des fruits de tomate sont confirmés par les résultats trouvés par (Svetlana Z. , et al 2010) qui dit que les symptômes de la maladie sur les fruits de la tomate commencent par des petites lésions foncées qui ont un aspect imbibé d'eau qui augmente le diamètre. Les réisolements effectués à partir des explants de feuilles de piment et fruit tomate infectés expérimentalement ont permis de ré-isoler les souches d'origines, vérifiant ainsi les postulats de Koch.

Les isolats ont produits des nécroses sur toute la surface des feuilles de piment inoculées et aussi sur les fruits de tomate. Le pourcentage de la sévérité varie entre 43% et 100%. Les diamètres de lésions ont varié de 6.33 à 43.33 mm.

## *Conclusion générale*

### Conclusion générale

Les agrumes représentent la première catégorie fruitière en termes de valeur en commerce international ; vue sa grande qualité nutritive riche, et sa place dans l'alimentation humaine.

Cette culture connaît de nombreux problèmes phytosanitaires qui compromettent la production et la qualité de la récolte. Elle est sujette à plusieurs maladies, parmi les quelles l'antrachnose causées par la *Colletotrichum* sp. La nuisibilité de ce pathogène se manifeste par des nécroses brunâtres sur les feuilles, les tiges et les fruits. A cet effet, cette maladie n'est pas été signalée en Algérie.

Le travail réalisé avait pour objet :

- La caractérisation morphologique et culturale des huit isolats de *Colletotrichum* sp. cultivés sur milieu PDA, en conditions artificielles ;
- l'évaluation du pouvoir pathogène des isolats de *Colletotrichum* sp. sur différentes cultures.

Les caractéristiques morphologiques et culturales des isolats ont montré une variation de l'aspect culturale les isolats dont on a trouvé trois morphotypes :

- Morphotype 1 : se caractérise par des colonies de couleur blanches, un mycélium aérien, cotonneux, à revers rose-saumon, c'est le cas des colonies CF2, CF6, CF7 ;
- Morphotype 2 : Colonies de couleur blanches, à revers gris foncé. Mycélium dense, c'est le cas pour les isolats CF8, CF10 ;
- Morphotype 3 : Colonies roses clair, à centre rose foncé délimité par une bordure brune. Ce sont les isolats : CF3, CF5, CF1).

Nos résultats ont également montré des légères différences entre les isolats, pour la taille des conidies. Les mesures trouvées dans cette étude correspondent aux limites décrites par les Auteurs.

D'une manière générale, il existe une certaine variabilité entre les isolats, due probablement à une variation génétique.

L'étude du pouvoir pathogène des isolats de *Colletotrichum* sp vis-à-vis quelques cultures maraichères a démontré des différences de pouvoir pathogène entre les isolats. et des différences dans le comportement des cultures puisque les fruits de piment (var, Biskra) à montré une résistance avec tous les isolats de *Colletotrichum* sp. Les feuilles de piment et le fruit de Tomate (var, Kawa) se sont montrés sensible au pathogène.

Suite aux observations effectuées, les isolats CF2, CF3, CF5 sont les plus agressif, ensuite CF6, CF7, CF, tandis que CF10 et CF1 sont les moins agressif.

Il serait intéressant d'approfondir l'étude de la variabilité de *Colletotrichum sp.* En utilisant d'autres critères, comme des études de caractérisation moléculaire et également de mieux connaitre le pouvoir pathogène de ces isolats et enfin de poursuivre ce travail en comparaison avec d'autres isolats de *Colletotrichum sp.*

## *Références bibliographiques*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- ❖ **Aiello D., Carrieri R., Guarnaccia V.2015.** Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. karstii* causing preharvest disease on *Citrus sinensis* in Italy. *Journal of Phytopathology* ,63: 168–177.
- ❖ **Algerianvest.2012.**Selon le ministère de l’Agriculture : Prévission en baisse de la production agrumicole en 2011/12. Disponible sur : [www.Adnsolution.net/invest/index.php](http://www.Adnsolution.net/invest/index.php).consulté le 03/03/2018.
- ❖ **Anderson JM., Aitken EAB., Dann EK.2013.** Morphological and molecular diversity of *Colletotrichum* spp. causing pepper spot and anthracnose of lychee (*Litchi chinensis*) in Australia. *Plant Pathology*,62: 279–288.
- ❖ **Anonyme, 2013.** Lime anthracnose. *Citrus Diseases*. [idtools.org](http://idtools.org).
- ❖ **Anonyme, 2013.** Anthracnose. *Agrumes Maladies* .[idtools.org](http://idtools.org) .
- ❖ **Arauz LF .2000.** Mngo Anthracnose: Economie Impact and Current Options for Integrated Management. *Plant Disease* ,84:600-611.
- ❖ **Bailey JA., Jeger MJ.1992.** *Colletotrichum*. Biology, pathology and control. CABI, Wallingford, UK.
- ❖ **Barhoom S., Sharon A. AMPc.2004.** régulation de la germination des spores fongiques "pathogènes" et "saprophytes". *Fungal Genet Biol* ,41: 317-326.
- ❖ **Bernstein B., Zehr EI., Dean RA. 1995.** Characteristics of *Colletotrichum* from peach, apple, pecan and other hosts. *Plant Disease*, 79: 478–482.
- ❖ **Biche M. 2012.** Les principaux insectes ravageurs des agrumes en Algérie et leurs ennemis naturels. Institut national de la protection des végétaux. le Ministère de l’Agriculture et du développement Rural et FAO, 36p.
- ❖ **Blondel J.1959.** La culture des agrumes en Algérie. Rapport, station expérimentale d’arboriculture de Boufarik, Algérie, 11p.
- ❖ **Butler .1918 .** *EJ Fungi et les maladies des plantes* .Thacker Spink & Co, Calcutta et Simla, Inde, 547.
- ❖ **Cannon P. F., Damn U., Johnston P. R., and Weir B. S. 2012.** *Colletotrichum* Current status and future directions. *Stud. Mycol*, 73:181-213.

- ❖ **Crouch JA ., Beirn LA ., Cortese LM. 2009.** Anthracnose disease of switchgrass caused by the novel fungal species *Colletotrichum navitas*. *Mycological*,113: 1411–1421.
- ❖ **Crous PW., Groenewald JZ., Slippers B. 2016a.** Global food and fibre security threatened by current inefficiencies in fungal identification. *Philosophical Transactions of the Royal Society, B: Biological Sciences*, 371: 1709.
- ❖ **Crous PW., Groenewald JZ ., Slippers B. 2016a.** Global food and fibre security threatened by current inefficiencies in fungal identification. *Philosophical Transactions of the Royal Society. Biological Sciences*, 371: 1709.
- ❖ **Damm U., aroncelli R ., Cai L ., Kubo Y ., O’Connell R ., Weir ., Yoshino K., Cannon PF. 2010.** *Colletotrichum*: species, ecology and interactions. *IMA Fungus: The Global Mycological Journal* 1, 161–165.
- ❖ **Damm U., Cannon PF., Woudenberg JH. 2012b.** The *Colletotrichum boninense* species complex. *Studies in Mycology*, 73: 1–36.
- ❖ **Damm U., Cannon PF., Woudenberg JH. 2012a.** The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology* , 73: 37–113.
- ❖ **Davis RD., Irwin JAG., Cameron DF., Shepherd RK. 1987.** Études épidémiologiques sur les maladies à anthracnose des *Stylosanthes* causées par *C. gloeosporioides* dans le Queensland du Nord et spécialisation pathogène dans les populations fongiques naturelles. *Australian Journal Agriculture*, 38: 1019-1032.
- ❖ **De Silva DD., Ades PK., Crous PW.2017.** *Colletotrichum* species associated with chili anthracnose in Australia. *Plant Pathology*,66: 254–267.
- ❖ **Dean R., Van Kan JAL., Pretorius ZA. 2012.** The top 10 fungal pathogenin molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13: 414–430.
- ❖ **Dirou et Stovold. 2005.** Fungicide management program to control mango anthracnose. *Prim facts*.
- ❖ **Eastburn DM., Gubler WD. 1990.** Strawberry anthracnose: detection and survival of *Colletotrichum acutatum* in soil. *Plant Disease* ,74: 161-163.
- ❖ **EL OTMANI M. 2005.** les Agrumes, le maraichage, et le froid hivernal. Agadir, Maroc, n°127, 4 p.Epiphyties, INRA, Paris, **19** ; 102 p.
- ❖ **FAOSTAT. 2013.** The Statistics Division of the FAO. <http://faostat.fao.org/>.

- ❖ **Farr DF., Rossman AY. 2017.** Fungal databases. Systematic mycology and microbiology laboratory, ARS, USDA. Retrieved February 26. February 2011.
- ❖ **Food and Agriculture Organisation of United Nations. 2011.** la production de jus d'agrumes et l'application des technologies au marché des agrumes frais, Symposium sur les agrumes Chine, Pp.83-90.
- ❖ **Food and Agriculture Organisation of United Nations. 2011.** Division de la statistique de la FAO (FAOSTAT) 3 p.
- ❖ **Freeman S., Shabi E. 1996.** Cross-infection of subtropical and temperate fruits by *Colletotrichum* species from various hosts. Physiological and Molecular Plant Pathology, 49: 395–404.
- ❖ **Grewal R.K. and Jhooty J.S., 1984.** Rating of gram *Cicer arietinum* blight in fungicidal trials. *Crop. Improve* , **11 (1):** 71-72.
- ❖ **Guarnaccia V., Vitale A., Cirvilleri G., et al. 2016.** Characterisation and pathogenicity of fungal species associated with branch cankers and stem-end rot of avocado in Italy. *European Journal of Plant Pathology* ,146: 963–976.
- ❖ **Guarnaccia V., Groenewald1 J.Z., Polizzi2 G., Crous. P.W. 1,3,4 .2017.** High species diversity in *Colletotrichum* associated with citrus diseases in Europe. doi.org/10.3767/persoonia.39.02.
- ❖ **I.T.A.F.V .2014.** Création d'un verger d'agrumes, Tome III, guide technique Document élaboré par les services techniques de l'I.T.A.F.V., Ed. DFRV., Pp 30-44.
- ❖ **INRA .2006.** Rapport National sur l'état des Ressources Phylogénétiques pour l'Alimentation et l'Agriculture Juin 2006.67 p.
- ❖ **JACQUEMOND C., AGOSTINI D., CUR K .2009.** Des agrumes pour l'Algérie, Bureau d'ingénierie en horticulture et agro-industrie, p 4.
- ❖ **Jacquemonde C., Mario H., Coord .2013.** les Clémentiniers et autres petits agrumes. Ed. Quae. 368p.
- ❖ **Jiang YL., Tan P., Zhou XY., Hou XL., Wang Y. 2012.** *Colletotrichum gloeosporioides*. the causal agent of citrus anthracnose in Guizhou Province. *Plant Pathology & Quarantine* , 2(1), 25–29. doi 10.5943/ppq/2/1/4/
- ❖ **Lakshmi B.K.M., Reddy P.N., Prasad R.D. 2011.** Cross-infection Potential of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Isolates causing Anthracnose in Subtropical Fruit Crops .*Tropical Agricultural*, 22:183-193.

- ❖ **Lenné, J.M., Parbery D.G.1976.** Phyllosphere antagonists and appressorium formation in *Colletotrichum gloeosporioides*. Transaction of the British Mycological society, 66,334-336.
- ❖ **Lima WG., Sposito MB., Amorim L., et al .2011.** *Colletotrichum gloeosporioides*, a new causal agent of citrus post-bloom fruit drop. European Journal of Plant Pathology, 131: 157–165.
- ❖ **Loussert R. 1989.** Les agrumes. Arboriculture Méditerranéenne. Tome 1.Ed. Tec et Doc. Paris, 136p.
- ❖ **Loussert R.1989a.** Les agrumes. Arboriculture. Ed. Lavoisier, Paris, Vol n°1.113P.
- ❖ **Loussert R.1989b.** les agrumes. Production. Ed. Lavoisier, Paris, vol n°2,157p.
- ❖ **Loussert R. 1985.** L'agrumiculture méditerranéenne : Production, exportation et perspective d'avenir. Journées ANAPPAV d'étude sur les agrumes.homme, Terre et eaux, 9(31) :49-52.
- ❖ **Loussert .1987.** Les agrumes. Arboriculture. Ed. Lavoisier, Paris, vol n°1,113p.
- ❖ **M.A.D.R.P., 2013.** l'agriculture dans l'économie nationale, Ed. Ministère de l'agriculture, 48 p.
- ❖ **Madden LV., Hughes G., van den Bosch F. 2007.** The Study of Plant Disease Epidemics. St Paul, MN, USA, APS Press.
- ❖ **Mayee C.D., Datar V.V.1986.**Phytopathometry.Marathwada Agricultural University,Parbhani,p 95
- ❖ **Munch S., Lingner U., Floss DS., Ludwig N., Sauer N., Deising HB. 2008.** Le mode de vie hémibiotrophique de *Colletotrichum*. Journal of Plant Physiology ,165: 41-51.
- ❖ **Mutin Georges.1969.** L'Algérie et ses agrumes. In: *Revue de géographie de Lyon*, vol. 44, n°1, 1969. pp. 5-36.
- ❖ **Nair J., Newhook F.J., Corbin J.B. 1983.** Survival of *Colletotrichum acutatum* f. sp. *pineae* in soil and pine debris. Transactions of the British Mycological Society ,81, 53-63.
- ❖ **Penz et Sacc . 2011.** *Colletotrichum gloeosporioides*. pathogen of the month-

- ❖ **Penzig .1982.** AGO Fungi. agrumicoli Contribuzioneallo studio deifunghi parassiti degliagrumi. 2: 385-508.
- ❖ **Perfect SE ., Hughes HB ., O'Connell RJ., et al. 1999.** *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal – plant interactions. *Fungal Genetics and Biology* ,27: 186–198.
- ❖ **Perrone G., Magistà D., Ismail AM. 2016.** First report of *Colletotrichum kahawae* subsp. ciggaro on mandarin in Italy. *Journal of Plant Pathology*, 98: 12.
- ❖ **Ponte J.J da. 1996.**Clinica de doencas de plantas. Fortaleza-CE: UFC., pp 871.
- ❖ **Praloran J.C.1971.** Les agrumes, Technique Agricoles et production Tropicales. Ed. G.P.Maisonneuve et Larose, Paris, 565p.
- ❖ **Prusky D ., Plumbley R.A. 1992.**Quiescent infections of *Colletotrichum* in tropical and subtropical fruits. In: Bailey,J.A and jeger, M.j.(eds) *Colletotrichum*: Biologiy, Pathology and control. CAB International, Wallingford, UK,pp.289-307.
- ❖ **Rappily F. 1968.** Les techniques de mycologie en pathologie végétales. Ann.
- ❖ **Rhaïem A., Taylor PW. 2016.** *Colletotrichum gloeosporioides* associated with anthracnose symptoms on citrus, a new report for Tunisia. *European Journal of Plant Pathology*, 146: 219–224.
- ❖ **Rodriguez R., Redman R. 2008.** *Journal of Expérimental Botany*59 (5). 1109-14.
- ❖ **Sadok B. 1983.** Morphogenèse et possibilités nouvelles de multiplication végétative in vitro chez les citrus. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences, université de Tunis.136p.
- ❖ **Santoso U., Kubo K., Ota T., Tadokoro T., et Maekawa.1996.** composition nutritive de kopyor coco (*Cocos nucifera* L.).*Food Chemistry* .57: 299-304.
- ❖ **Sattar A., et Malik SA. 1939.** Quelques études sur l'antracnose de la mangue causée par *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. Sch. (*Colletotrichum gloeosporioides* ). *India Journal Agriculture Science*, 1: 511-521.
- ❖ **Serrano D., Serrano E., Dewdney M., et Southwick C.2010.** Maladies d'agrumes .Centre pour la science et la technologie phytosanitaires, [09-14].

- ❖ **Sharma M., Kulshrestha S. 2015.** *Colletotrichum gloeosporioides*. Un anthracnose causant l'agent pathogène des fruits et légumes. Biosci Biotechnol Res Asie, 12 (2)
- ❖ **Shuman J. L. 2001.** Anthracnose Fruit Rot Resistance in Strawberry. PhD Thesis Faculty of North Carolina State University (USA), 121 p. Yang, X.-S.; Wilson, L.L.; Madden, L.V.; Ellis, M.A. (1990) Rain splash dispersal of *Colletotrichum acutatum* from infected strawberry fruit. *Phytopathology* 80, 590-595.
- ❖ **Simmonds .1965.** *Colletotrichum acutatum* .Queensland J. agric. Anim. Sci. 22: 458.
- ❖ **Simmonds JH .1965.** Une étude de l'espèce de *Colletotrichum* provoquant des pourritures de fruits mûrs dans le Queensland. Queensland Journal of Agriculture and Animal Science, 22: 437-459.
- ❖ **Sutton BC.1980.** The coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 1–696. pp. Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK.
- ❖ **Swingle W., Reece P.C.1967 :**The botany of citrus and its wild relatives of the orange subfamily. In : The citrus Industry (W.Reuther., L.D.Batchelor h.j. Webber, eds), University of California Berkely, 130-190.
- ❖ **Tanaka T. (1961).** Species problem in Citrus. Japannese Society for promotion of science, Tokyo, Japan.
- ❖ **Trabut L., Battandier Mm. J.-A. 1906.** Plantes du Hoggar récoltées par M. Chudeau en 1905, Bulletin de la Société Botanique de France, 53:sup2, XIII-XXXIV, DOI: 10.1080/00378941.1906.10831926
- ❖ **Trabut L., Marès R. 1906.** L'Algérie Agricole en 1906. Ed. Direction de l'agriculture. 543 p.
- ❖ **Woudenberg I,U., Damm P.F., Cannon J.H.C.2012.** The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology*, 73: 37–113.
- ❖ **Zerroug M.M.1994.** Etude de quelques aspects biologiques et physiologiques du champignon *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. agent causal de l'anthracnose du pois chiche (*Cicerarietinum* L) Thèse de magister en microbiologie, université de Sétif, Algérie.
- ❖ **Yang YL., Liu ZY., Cai L., Hyde KD., Yu ZN., McKenzie EHC. 2015** .*Colletotrichum* anthracnose of *Amaryllidaceae*. *Fungal Diversity* 39, 123–146.

- ❖ <http://slideplayer.com/slide/7852357/>. Consulté le 20/06/2018.
- ❖ <https://www.planetnatural.com/pest-problem-solver/plant-disease/anthracnose>.  
Consulté le 30/05/2018.

*Annexe*

## Annexes

### Annexe 1 : Milieu PDA

Pomme de terre	200g
Glucose	20g
Agar-agar	20g

### Annexe 2 : Milieu PCA

Carotte	20g
Pomme de terre	20g
Agar-agar	18g

**Annexe 3 :** Analyse de variance pour la sévérité de la maladie sur feuilles, selon l'orientation sur Clémentine. (Facteur 1 : orientation , Est ; Ouest ; Sud ; Nord).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	Résultats
VAR.TOTALE	6278,4	39	160,985			NS
VAR.FACTEUR 1	771,2	3	257,067	1,68	0,18718	NS
VAR.RESIDUELLE 1	5507,2	36	152,978			NS

**Annexe 4 :** Analyse de variance pour la sévérité de la maladie sur feuilles, selon l'orientation sur la Thomson Navel. ( Facteur 1 : orientation, Est ; Ouest ; Sud ; Nord).

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	R
VAR.TOTALE	13889,21	39	356,134			Ns
VAR.FACTEUR 1	218,812	3	72,937	0,213	0,88704	Ns
VAR.BLOCS	4409,616	9	489,957	1,428	0,22491	Ns
VAR.RESIDUELLE 1	9260,785	27	342,992			Ns

**Annex :** Analyse de variance pour la mensuration des conidies (longueur)

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	2595,68	399	6,505				
VAR.FACTEUR 1	284,524	7	40,646	6,894	0		
VAR.RESIDUELLE 1	2311,156	392	5,896			2,428	17,46%

**Annexe 6** : Analyse de variance pour la mensuration des conidies (largeur)

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	2730,526	399	6,843				
VAR.FACTEUR 1	56,453	7	8,065	1,182	0,31135		
VAR.RESIDUELLE 1	2674,072	392	6,822			2,612	48,67%

**Annexe 7** : Teste de Newman et Keuls au seuil de 5% pour la mensuration des conidies

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES		
6.0	CF7	15,288	A		
1.0	CF1	14,384	A	B	
3.0	CF3	14,304	A	B	
5.0	CF6	14,092	A	B	
2.0	CF2	13,936		B	
4.0	CF5	13,702		B	
8.0	CF10	13,382		B	
7.0	CF8	12,162			C

**Annexe 8** : Analyse de variance pour la mesure de sporulation

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	292,632	71	4,122				
VAR.FACTEUR 1	62,193	7	8,885	2,831	0,01493		
VAR.FACTEUR 2	40,36	2	20,18	6,43	0,00349		
VAR.INTER F1*2	39,431	14	2,817	0,897	0,56716		
VAR.RESIDUELLE 1	150,648	48	3,139			1,772	90,18%

**Annexe 9** : Teste de Newman et Keuls au seuil de 5% pour la mesure de sporulation

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	CF1	3,84	A	
5.0	CF6	2,507	A	B
2.0	CF2	2,336	A	B
6.0	CF7	1,994	A	B
8.0	CF10	1,858	A	B
3.0	CF3	1,583	A	B
7.0	CF8	1,007		B
4.0	CF5	0,591		B

**Annexe 10** : Groupe homogène de la croissance mycélienne facteur isolat

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
3.0	Cf3	23,754	A			
1.0	Cf1	23,611	A	B		
8.0	Cf10	23,544	A	B		
6.0	Cf7	23,258	A	B		
5.0	Cf6	23,179	A	B		
2.0	Cf2	23,048		B		
7.0	Cf8	22,595			C	
4.0	Cf5	21,298				D

**Annexe 11** : Groupe homogène de la croissance mycélienne facteur temp

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	Temp1	23,902	A	
3.0	Temp3	23,689	A	
2.0	Temp2	21,516		B

**Annexe 12** : analyse de variance pour le diametre de lesion

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	10655,57	149	71,514				
VAR.FACTEUR 1	1788,072	9	198,675	7,034	0		
VAR.FACTEUR 2	2684,198	4	671,049	23,758	0		
VAR.INTER F1*2	3358,802	36	93,3	3,303	0		
VAR.RESIDUELL E 1	2824,5	100	28,245			5,315	144,55 %

**Annexe 13 :** Groupe homogène de l'inoculation de la tomate facteur isolat

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES		
3.0	CF3	11,4	A		
8.0	CF10	6,4		B	
2.0	CF2	6,233		B	
6.0	CF7	4,667		B	C
7.0	CF8	3,867		B	C
4.0	CF5	2,4		B	C
5.0	CF6	1,4		B	C
9.0	Tab	0,4			C
10.0	TSb	0			C
1.0	CF1	0			C

**Annexe 14 :** Calcul de l'AUDPC, exemple pour l'solat CF1

Temps	Jours	Indice de maladie	Intervale de temps	Sévérité moyenne	Temp×indice de maladie
T0	0	0	0	0	0
T1	1	0.83	1	0.41	0.41
T2	2	1	1	0.91	0.91
T3	3	1.16	1	1.08	1.08
T4	4	1.33	1	1.24	1.24
T5	5	1.66	1	1.49	1.49
T6	6	2.16	1	1.91	1.91
				AUDPC	7.04