



République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ ABBES LAGHROUR –KHENCHELA-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

MEMOIRE

Présenté Pour l'obtention du Diplôme de

MASTER

FILIERE : biologie.

OPTION : biotechnologie et amélioration des plantes.

Thème

*Approche de la lutte biologique et chimique contre
l'anthracnose « *Ascochyta rabiei* » du pois chiche*

*« *Cicer arietinum* .L »*

Présenté par

Sererma djemaa.

Soutenu le : 17 juin 2015

Président : Mr Fercha A Maitre de conférences université Abbès Laghrour khenchela.

Rapporteur : Mr Oufroukh A Maitre de Recherche INRA , Constantine

Melle Bouziane Z Maitre assistante université Abbès Laghrour khenchela.

Examinatrice: Mme Mamen N Maitre assistante université Abbès Laghrour khenchela.

Promotion : juin -2015

Remerciement

*A*vant tout nous remercions **ALLAH** tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.

*J'*exprime ma sincère reconnaissance à tous ceux qui ont, de près ou de loin, contribué à sa réalisation.

*J'*exprime ma reconnaissance à Monsieur **Oufroukh Amar** directeur de l'institut de la recherche agronomique Constantine pour avoir accepté de m'encadrer. Ses conseils, ses orientations m'ont été très bénéfiques pour la réalisation de cette mémoire

*J'*exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à mon enseignante et Co-promotrice de mémoire **Bouziane Zahira**.

*U*n grand merci pour **Mme Harat Wahiba** qui m'a appris les méthodes de travail. Je lui adresse tout mon respect pour sa disponibilité et sa gentillesse et à tous mes collègues de travail.

*J*e tiens à remercier intensément mon enseignant **Fercha A** d'avoir accepté de présider le jury de la soutenance.

*J*e tiens à remercier très sincèrement mon enseignante **Mamen N** non seulement pour avoir accepté de faire partie des membres du jury de mon travail

*J*e ne serai oublier mes collègues de promotion M2 Biotechnologie et amélioration des plantes (2014-2015).

Dédicace

Je dédie cette mémoire :

À mon mari *Guendouzi A*, qui m'a tout encouragé dans mon travail.

À ma mère *Zhour*.

À la mémoire de mon père.

À mes enfants : *Mohamed daya el hak ; firass guellem allah ; belkis*.

À mes sœurs : *Yasmina ; Hiba ; Meriem ; Hasna* et *À* toute ma famille

Djema

Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des photos	
Liste des planches	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Chapitre I- Etude Bibliographique	
I. Etude Bibliographique	3
I.1. Présentation de la plante	3
I.1.1. Origine et historique du pois chiche	3
I.1.2. Taxonomie	3
I.1.3. Caractéristiques botaniques	4
I.1.4. Types des cultivars de pois chiche	5
I.2. Distribution et importance du pois chiche	6
I.2.1. Propriétés du pois chiche	7
I.2.2. Importance écologique et agronomique	8
I.3. Situation du pois chiche en Algérie	8
I.4. Cycle cultural du pois chiche	9
I.5. Caractéristiques agronomiques	10
I.5.1. Exigences climatiques	10
I.5.2. Exigences édaphiques	11
I.6. Les maladies du pois chiche	11
I.6.1- Les virus	12
I.6.2- Les bactéries	12
I.6.3- Les mycoplasmes	12
I.6.4- Les nématodes	12
I.6.5- Les champignons	12
I.7. L'Anthracnose du pois chiche (<i>Ascochyta rabiei</i>)	13
I.7.1. Taxonomie d'<i>Ascochyta rabiei</i>	14
I.7.2. Symptomatologie de l'anthracnose du pois chiche	14
I.7.3. Epidémiologie de l'anthracnose	16
I.7.4. Mode d'infection	16
I.7.5. Le cycle de la maladie	17
I.7.6. Agent pathogène	17
I.8. Description macroscopique et microscopique	19
I.9. Les méthodes de lutte contre l'anthracnose	20
I.9.1. La lutte chimique	20
I.9.2. Méthodes culturales	21
I.9.3. La lutte biologique	21
I.9.4. La lutte génétique	22

Chapitre II Matériels et Méthode

II. Matériels et Méthode	24
II.1. Etude de laboratoire	24
II.1.1. L'agent pathogène	24
II.1.2. Préparation du milieu de culture	24
II.1.3. Isolement, purification et identification de l'agent pathogène	25
II.1.2. Etudes expérimentales in vitro	27
II.1.2.1. lutte biologique	27
II.1.2.1.1. Test confrontation	29
II.1.2.1.2. Mesure de la croissance mycélienne	29
II.1.2.2. Lutte chimique in vitro	32
II.1.2.2.1. Le fongicide utilisé	32
II.1.2.2.1.1. Préparation de solution de fongicide	32
II.1.2.2.2. Mesure de la croissance mycélienne	32
II.2. Etude <i>in situ</i>	34
II.2.1. Lutte chimique in situ	34
II.2.1.1. Les cultivars de pois chiche	34
II.2.1.2. Inoculation avec <i>Ascochyta rabiei</i>	35
II.2.1.3. Le traitement chimique in vivo (<i>in situ</i>)	36

Chapitre III Résultats et discussion

III. Résultats et discussion	38
III.1. Etude de laboratoire	38
III.1.1. Isolement, purification et identification de l'agent pathogène	38
III.1.2. Etude expérimentales <i>in vitro</i>	39
III.1.2.1. Lutte biologique	39
III.1.2.1.1. Test confrontation	39
III.1.2.2. La lutte chimique <i>in vitro</i>	48
III.2. Etude <i>in situ</i>	50
III.2.1. Lutte chimique <i>in situ</i>	50
III.2.1.1. l'inoculation avec <i>Ascochyta rabiei</i>	50
III.2.1.2. Traitement chimique <i>in situ</i>	51
Conclusion	521
Références Bibliographique	53
Résumé	
Summary	
ملخص	

Liste des tableaux

Tableau 1	Production mondiale de pois chiche (FAO, 2013)	6
Tableau 2	Composition biochimique du pois chiche par 100 g de graines de pois chich	7
Tableau 3	Evolution des superficies, production, rendement et semences du pois chiche en Algérie durant la campagne 1998-2008.	9
Tableau 4	Caractères taxonomiques.	14
Tableau 5	Caractéristiques morphologiques de souche d' <i>Ascochyta rabiei</i> .	37
Tableau 6	Croissance mycélienne et pourcentage d'inhibition en mm d' <i>Ascochyta rabiei</i> et le <i>Pythium sp</i> en fonction du temps.	40
Tableau 7	Croissance mycélienne en mm d' <i>Ascochyta rabiei</i> et <i>Trichoderma</i> en fonction du temps.	42
Tableau 8	Croissance mycélienne (mm) d' <i>Ascochyta rabiei</i> et <i>Aspergillus fumigatus</i> en fonction du temps.	44
Tableau 9	Croissance mycélienne (mm) d' <i>Ascochyta rabiei</i> et <i>Aspergillus niger</i> en fonction du temps.	46
Tableau 10	Croissance mycélienne (mm) d' <i>Ascochyta rabiei</i> avec le fongicide en fonction du temps.	48
Tableau 11	Réponse des cultivars de pois chiche à l'inoculation de l' <i>Ascochyta</i>	49

Liste des Photos

1	Plante pois chiche présentant les symptômes de l'antracnose.	24
2	Etapas de la préparation du milieu PDA.	25
3	A : la souche d' <i>Ascochyta rabiei</i> avant purification, B : la souche d' <i>Ascochyta rabiei</i> pure	26
4	Caractéristique microscopique et macroscopique du <i>Pythium</i> sp.	28
5	caractéristique microscopique et macroscopique de l' <i>Aspergillus fumigatus</i> .	28
6	caractéristique microscopique et macroscopique du <i>Trichoderma harzianum</i> .	28
7	caractéristique microscopique et macroscopique d' <i>Aspergillus niger</i> .	28
8	Confrontation équidistante (contact direct) ; <i>Aspergillus fumigatus</i> vis à vis d' <i>Ascochyta rabiei</i> sur milieu PDA.	31
9	Confrontation équidistante (contact direct) ; <i>Trichoderma harzianum</i> vis à vis d' <i>Ascochyta rabiei</i> sur milieu PDA.	31
10	Confrontation équidistante (contact direct) ; <i>Pythium</i> sp vis à vis d' <i>Ascochyta rabiei</i> sur milieu PDA.	31
11	pré germination des graines de pois chiche.	34
12	Semis les graines germées.	33
13	Inoculation post levee.	35
14	Inoculation des plantules par d isolat d' <i>Ascochyta rabiei</i> en plein végétation.	36
15	Aspects macroscopiques de l'isolat d' <i>Ascochyta rabiei</i> . A: l' <i>Ascochyta rabiei</i> après 10 jours d'incubation ; B: observation des pycnides sous loupe binoculaire (Sous loupe).	38
16	Caractéristiques microscopiques d' <i>Ascochyta rabiei</i> A :mycélium et pycnides de la souche ; B : les sporoblastes, (forme arrondies) ; C : Éclatement des pycnides et libération des spore	38
17	Variation de la vitesse de croissance l'isolat d' <i>Ascochyta rabiei</i> en Fonction des Agents antagonistes utilisés : (<i>Pythium</i> sp, <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus niger</i>).	39
18	Effet inhibiteur de <i>Pythium</i> sp. par confrontation directe sur la croissance d' <i>Ascochyta rabiei</i> in vitro	41
19	Effet inhibiteur de <i>Trichoderma h.</i> par confrontation directe sur la croissance d' <i>Ascochyta rabiei</i> in vitro.	43

20	Effet inhibiteur d' <i>Aspergillus fumigatus</i> par confrontation directe sur la croissance d' <i>Ascochyta rabiei</i> in vitro.	45
21	Effet inhibiteur d' <i>Aspergillus niger</i> par confrontation directe Sur la croissance d' <i>Ascochyta rabiei</i> in vitro.	47
22	Effet inhibiteur du fongicide sur la croissance mycélienne de l'isolat <i>Ascochyta rabiei</i> in vitro. au terme de 10 jours.	48
23	symptômes de l'antracnose après ré inoculation.	49

Liste des figures

Figure1:	Descriptions de la plante de pois chiche	4
Figure2:	Cycle de l'antracnose du pois chiche causé par <i>Ascochyta rabiei</i>	18
Figure3:	Influence d'isolat <i>Pythium sp</i> sur la croissance mycélienne d' <i>Ascochyta rabiei</i> .	40
Figure4:	Influence d'isolat <i>Trichoderma harzianum</i> sur la croissance mycélienne d' <i>Ascochyta rabiei</i> .	42
Figure5:	Influence d'isolat <i>Aspergillus fumigatus</i> sur la croissance mycélienne d' <i>Ascochyta rabiei</i> .	44
Figure6 :	Influence d'isolat <i>Aspergillus niger</i> sur la croissance mycélienne d' <i>Ascochyta rabiei</i>	46

Liste des planches

Planche 1	Caractéristiques morphologiques du pois chiche <i>Cicer arietinum L.</i>	5
Planche 2	Symptômes de l'anthracnose de pois chiche.	15
Planche 3	les étapes d'isolement l'agent pathogène <i>Ascochyta rabiei</i>	25
Planche4	Etapas de la lutte chimique d' <i>Ascochyta rabiei</i> in vitro.	33

Liste des abréviations

PDA: Potato Dextrose Agar.

Min: Minute.

Cm: Centimètre.

% : pourcentage.

***Ascochyta .r* :** *Ascochyta rabiei*

Trichoderma h : *Trichoderma harzianum*.

Mm : Millimètre.

g: Gramme.

µg: microgramme.

Mg: Milligramme.

C°: Degré Celsius.

PH : Potentiel d'hydrogène

sp : Espèce.

N° : nord

H : heure

µm : micromètre.

Qx: Quintaux.

FAO: Food Agriculture Organisation.

Kcal : kilocalorie.

JC : Jésus-Christ,

Tab : tableau

Introduction

1. Introduction

Les légumineuses alimentaires sont une denrée à large consommation et à grand intérêt économique. Elles comprennent des espèces très importantes utilisées comme cultures vivrières qui viennent après les céréales et avec qui elles forment la base du régime alimentaire notamment en Afrique, en raison de ses propriétés nutritionnelles riches en protéines qui permettent de corriger dans une large mesure les carences en protéines animales ainsi que le déséquilibre alimentaire des populations.

Les légumineuses alimentaires, regroupent plusieurs espèces dont le pois chiche (*cicer arietinum.L*), celui-ci est classé comme la troisième importante culture légumineuse après le haricot (*Phaseolus vulgaris*) et le pois (*Pisum sativum*). Il joue aussi un rôle important dans les systèmes de cultures en contribuant à l'amélioration de la fertilité des sols par les reliquats d'azote qu'il laisse à travers ses nodosités et constitue ainsi l'un des meilleurs précédents culturaux lors des rotations des cultures.

Ainsi , malgré les énormes progrès enregistrés dans la productivité qui ont permis d'améliorer les différents cultivars , la fertilisation et d'assurer une meilleure Protection, les productions de légumineuses en Algérie demeurent toujours irrégulières et semblent être étroitement liées à un certain nombre de facteurs tant abiotiques (irrégularité dans les précipitations pluviales, techniques agricoles, etc.) que biotiques (potentiel génétique, maladies, ravageurs...), d'où la persistance d'un déficit important dans la production (Mahrez et al.,2010 ; Abdelguerfi et al., 2001). Parmi ces causes, les problèmes phytosanitaires, occupent une place particulièrement importante et constituent l'un des facteurs limitant le développement et l'amélioration de ces cultures. Par ailleurs, les réductions de rendement causées par les maladies et ennemis naturels des légumineuses, font que ces productions ont tellement régressé pour atteindre des rendements les plus faibles dans le monde (Mahrez et al. 2010 ; Abdelguerfi et al. 2001).

En Algérie, bien qu'il n'existe pas encore de statistiques d'estimation de ces pertes, ces aspects sont certainement beaucoup plus prononcés. Ainsi l'objectif de ce travail constitue une contribution à la connaissance des maladies des légumineuses alimentaires en Algérie à travers la thématique : « lutte biologique et chimique contre l'antracnose du pois chiche » où sera mise en valeur l'étude de l'Antracnose (*Ascochyta.sp.*) champignon responsable de la plus grave et importante affection du pois chiche dans la région de Constantine.

Ce champignon *Ascochyta*, attaque les organes verts d'un très grand nombre de légumineuses, Stone (1912) qui a étudié la biologie du champignon, donne une liste importante de plantes hôtes, dont les principales sont : les pois (*Pisum arvense* et *Pisum sativum*) et les féveroles.

Ainsi, Nous nous proposons dans une première étape à confirmer ou infirmer la présence de l'agent pathogène par les diagnostics de différents isolats ramenés du champ ; dans une seconde étape des travaux d'investigations approfondies pour la caractérisation sont effectués au laboratoire. Enfin dans une dernière étape, nous avons tenté une application d'étude d'approche à la lutte biologique par l'utilisation d'un champignon antagonistes entre autres : *Trichoderma Harzianium*, *Pythium sp*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus niger*. Par ailleurs nous avons réalisé une lutte chimique in vitro et in situ ou une formulation de deux matières actives Pyraclostrobine (12,8%) et Boscalide (25,2%) ont été testées.

Ainsi, outre l'introduction et la conclusion, le mémoire est structuré en trois chapitres. Dans le premier chapitre nous effectuons une synthèse bibliographique basée essentiellement sur la présentation de l'espèce étudiée, Le deuxième chapitre comporte le matériel d'étude et les méthodes expérimentales appliquées. Les résultats et la discussion constituent le troisième chapitre.

Chapitre I

Etude bibliographique

I.1. Présentation de la plante

Le pois chiche (*Cicer arietinum*) est une plante de la famille des Fabacées (ou légumineuses), voisine du petit pois mais d'un genre botanique différent. Il est cultivé dans les régions méditerranéennes dont il est originaire et produit une graine comestible. C'est une espèce annuelle, diploïde ($2n=16$) autogame (Vail, 2005). Le pois chiche possède plusieurs noms vernaculaires tels que: Bengal gram (Indien) ; Gram, Egyptian pea, Chestnut bean, Chickpea (Anglais) Chana (Hindi) ; Hommes ou hamaz (Arabe) ; Lablabi (Turquie), Shimbra (Ethiopie), etc.. (Redden et Berger, 20007).

I.1.1. Origine et historique du pois chiche

Le pois chiche (*Cicer arietinum*. L) est originaire du Sud Est de la Turquie et du Nord Est de la Syrie (Ladisinky,1975 ; Staginnus et al., 1999 ; Oplinger *et al.*, 1990).), mais il serait probablement originaire du moyen Orient et d'Inde. Cette légumineuse s'est diffusée progressivement vers l'ouest de la Méditerranée, ainsi qu'en Asie orientale et australe et en Afrique de l'Est (Gordon ,2001). Il a été cultivé pour la première fois , il ya 8000 ans environ avant J.C (Sharma et Muhelbauer,2007 ; Staginnus et al., 1999). Le mot Cicer est originaire du Latin dérivé du mot Grec « Kikus » qui veut dire fort ou solide.(Singh et Diwakar,1995)

I.1.2. Taxonomie (USDA ,2008)

D'un point de vue taxonomique, la classification classique du pois chiche, se présente comme suit :

Règne : *Plantae* (plantes)

Sous-règne : *Tracheobionta* (plantes vasculaire)

Embranchement : *Spermatophyta* (plantes à graines)

Sous -Embranchement : *Magnoliophyta* (Angiospermes, Phanérogames ou plantes à fleurs)

Classe : *Magnoliopsida* (Dicotylédones)

Sous-classe : *Rosidae*

Ordre : *Fabales*

Famille : *Fabaceae* (*fabacées, papilionacées ou légumineuses*).

Genre : *Cicer*

Espèce : *arietinum* L.

I.1.3. Caractéristiques botaniques

Le pois chiche est une plante herbacée annuelle, étalée, érigée, pouvant atteindre 20 à 40 cm de haut dont les caractéristiques morphologiques (**Planche 1**), sont :

- ❖ **La tige**, simple ou ramifiée dès la base.
- ❖ **Les racines**, pivotantes atteignant 1 à 2 m de profondeur, les racines secondaires pour la plupart sont étalées à 15-30 cm de profondeur dans le sol.
- ❖ **Les feuilles**, alternes, composées de 6 à 8 folioles ovales et sessiles avec un contour denté. Les stipules sont ovales à triangulaires, de 3 à 5 mm × 2 à 4 mm incisés, le rachis cannelé sur le dessus mesure 2,5 à 8 cm de long.
- ❖ **Les fleurs**, sont bisexuées, papilionacées, à pédicelle de 3-12 mm de long; le calice est campanulé, à un tube de 3-4 mm de long, à dents lancéolées, de 4-5 mm de long, les nervures médianes prononcées. La corolle est blanche, rose, violacée ou bleue, l'étendard ovale, de 8-10 mm × 7-10-(17) mm, muni d'un large onglet; les ailes sont de 6-9 mm × environ 4 mm, auriculées; La carène de 6-8 mm × environ 3 mm est muni d'un onglet long de 2-3 mm; les 10 étamines sont réunies sur 4-5 mm dont un est libre; l'ovaire est ovale et sessile de 2-3 mm de long; le stigmate est petit.
- ❖ **Fruit** : la gousse est renflée ellipsoïde de 12-35 mm × 8-20 mm, densément pubescente glanduleuse, les graines sont globuleuses, de 5-14 mm × 4-1 avec une rainure médiane et un bec bien distinct surplombant le hile. Elles sont de couleur crème à brunes, vertes ou noires avec une surface lisse ou ridée. La plantule a une germination hypogée et les deux premières feuilles écailleuses (Bejiga et Van Der Maesen, 2006).

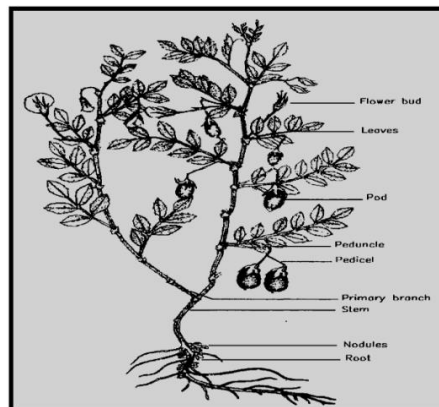


Figure 1 : Descriptions de la plante de pois chiche (Singh et Diwakar, 1995)

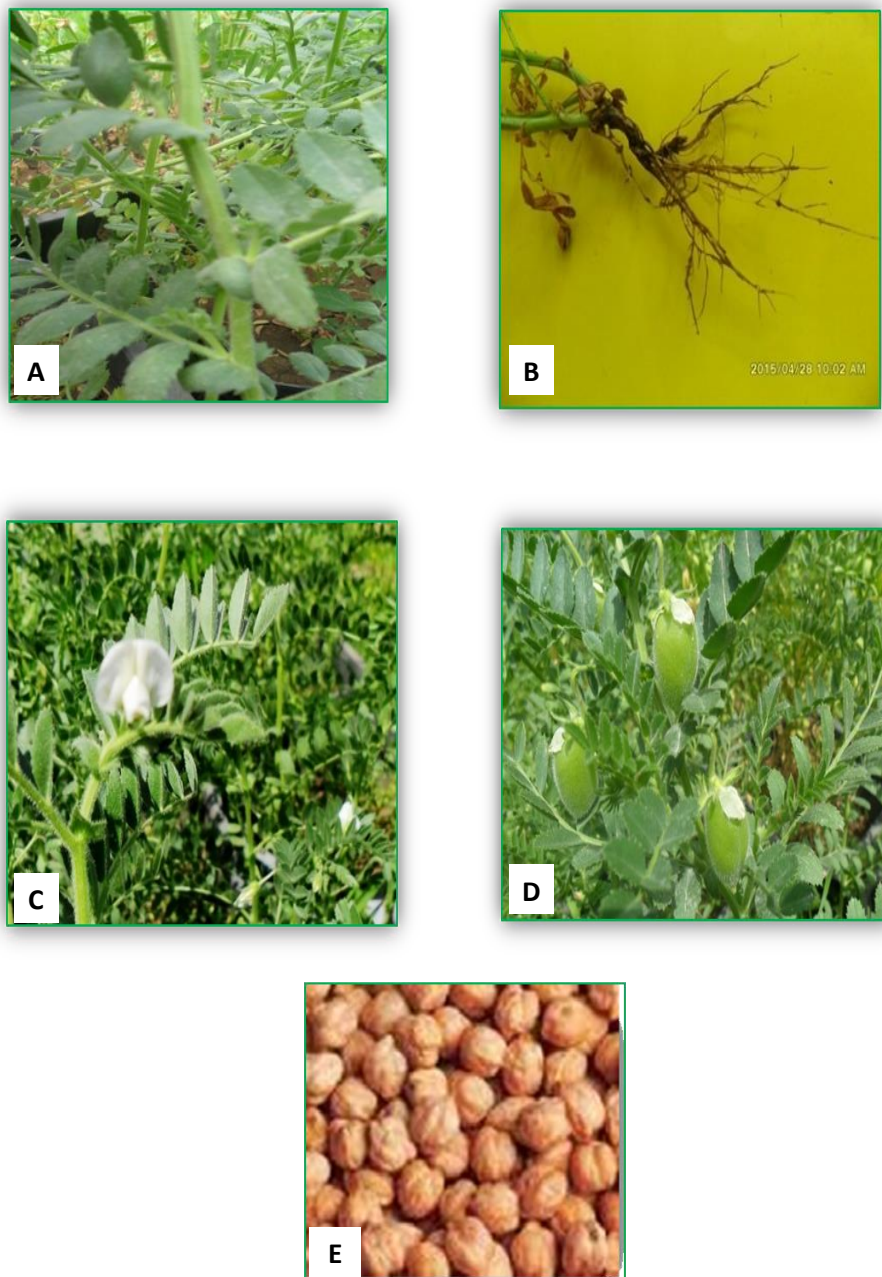


Planche 1 : Caractéristiques morphologiques du pois chiche *Cicer arietinum L.*
(A) Tiges, feuilles et folioles (B) aspect de la racine, (C) fleur blanche (D) aspect de la gousse immature
(E) aspect des graines.

I.1.4. Types de cultivars de pois chiche

L'espèce *Cicer arietinum L.*, présente une variabilité phénotypique et génotypique, les cultivars se divisent en 02 types: *Kabuli* et *Desi* (Singh, 1985). Les pois chiches de types *Desi* sont cultivés dans le sud de l'Asie où ils représentent la majorité de la production. Cependant les types *Kabuli* dominent la production dans la plupart des autres régions et spécialement dans l'hémisphère de l'Ouest (Muehlbauer et Rajesh, 2008).

I.2. Distribution et importance du pois chiche

Le pois chiche est cultivé dans de nombreux pays (Chakraborti *et al.* 2006) à travers les 05 continents ce qui le place au 2^{ème} rang (17,1%) après les petits pois *Pisum sativum* L.) parmi les légumes secs cultivés à travers le monde (Tab.1) (Berger *et al.* 2003 ; FAO, 2013). Il se cultive dans les régions semi aride et tropicales (Staginnus *et al.*, 1999).

La superficie de la culture du pois chiche dans le monde est de 11,67 millions d'hectares et sa production totale avoisine les 9,31 millions de tonnes avec un rendement moyen de 800 kg/ha (FAO, 2007). L'Asie est le continent le plus important dans la production du pois chiche avec plus de 90% de la surface totale et de la production mondiale (Babar *et al.*, 2009). L'Inde représente le plus grand pays producteur avec une production estimée à 6 millions de tonnes par an et recouvre plus de la moitié de la production mondiale (Muehlbauer et Rajesh, 2008).

Tableau 01 : Production mondiale de pois chiche (FAO, 2013)

Pays	2010	2011	2012	Pays	2010	2	2012
Inde	7480000	8220000	7700000	Italie	9143	8054	9000
Australie	602000	513338	673371	Tunisie	6210	10900	77
Turquie	530634	487477	535000	Égypte	7581	6316	6500
Pakistan	561500	496000	291000	Argentine	4713	4639	4700
Iran	267768	290243	315000	Jordanie	3935	2157	3729
Canada	128300	90800	157280	Grèce	4400	2200	2400
USA	87952	99881	150638	Liban	2650	2911	3000
Mexique	131895	72143	72500	Iraq	800	870	1000
Syrie	42928	50052	52000	Libye	206	226	230
Maroc	56620	45734	33499	Inde	7480000	8220000	7700000
Espagne	21600	32408	21900	Australie	602000	513338	673371
Algérie	23474	24051	27675	Soudan	13140	13271	13404

La culture et la commercialisation du pois chiche prend une dimension socio économique de plus en plus importante vu les différents avantages et bienfaits qu'il offre (Bourghton, 2003).

I.2.1. Propriétés du Pois chiche

Le pois chiche est composé de 20% de matières azotées, de 7% de lipides et d'une grande richesse en vitamines et minéraux (Tab.2 ; Tab.3) (Baumgartner, 1998 ; Mansour, 1996). C'est une excellente source de manganèse. Celui-ci est nécessaire à l'action de nombreuses enzymes impliquées dans différents processus métaboliques.

Le pois chiche est favorable à la santé cardiovasculaire, notamment en diminuant le taux de mauvais cholestérol sanguin. Son faible indice glycémique en fait un aliment qui convient parfaitement aux diabétiques. Il favorise l'augmentation des Bifido bactéries présentes dans le gros intestin, bénéfiques à l'ensemble de la flore intestinale.

Tableau 2: Composition biochimique du pois chiche par 100 g de graines (Baumgartner, 1998)

Valeur nutritive par 100 g	
Energie (kcal)	275
Eau (g)	10.4
Protéines (g)	20.0
Graisse (g)	4.4
Glucides (g)	48
Fibres alimentaires (g)	15
Sodium (mg)	30
Potassium (mg)	700
Calcium (mg)	140
Phosphore (mg)	350
Magnésium (mg)	130
Fer (mg)	7
Vitamine A (µg)	30
Vitamine B1 (mg)	0.50
Vitamine B2 (mg)	0.17
Niacine (mg)	1.5
Vitamine B6 (mg)	0.54
Vitamine C (mg)	4
Vitamine B9 [acide folique] (µg)	180

I.2.2. Importance écologique et agronomique

Le pois chiche est capable de fixer l'azote atmosphérique grâce à une relation symbiotique avec *Rhizobium ciceri*. Il participe ainsi à fertiliser les sols pauvres, particulièrement dans les zones arides (Saxena, 1990) et les terres marginales en Afrique et en Asie (Jamil *et al.*, 2010), selon Tawaha *et al.*, (2005) le pois chiche ne nécessite pas un grand taux de phosphate, ce qui lui permet de croître sur les sols calcaires très répandus dans les pays méditerranéens ; il permet en conséquence de réduire l'utilisation des engrais chimiques onéreux et néfastes pour l'environnement (David et Khan, 2001). La culture du pois chiche est pratiquée en rotation avec le maïs ou le blé surtout dans les zones arides et semi-arides (Winch, 2006) et les terres sablonneuses non irriguées (Jamil *et al.*, 2010).

I.3. Situation du pois chiche en Algérie

En Algérie Le pois chiche (*Cicer arietinum*) vient en seconde place après le haricot avec une superficie de 14% de la superficie globale destinée aux légumes secs et occupe la troisième place en production environ 15,6% .mais les productions n'ont pas évoluées, au contraire ils sont régressé pour atteindre les niveaux les plus faibles dans le monde (4qx/ha) (Mahrez *et al.*, 2010 ; Abdelgurfi *et al.*, 2001 ; FAO,2010)(Tab.3)

La culture de pois chiche en Algérie est répartie à travers quatre zones principales du pays (Benzohra, 2009) :

- Plaines littorales et sublittoral (pluviométrie plus de 600 mm/année).
- Plaines d'altitude 700à 900m (pluviometrie plus de 600mm/année).
- Hautes plaines telliennes (pluviometrie entre 400et 600 mm/année).
- Plaines basses telliennes (pluviometrie entre 400 et 500 mm/année).

Tableau 3 : Evolution des superficies, production, rendement et semences du pois chiche en Algérie durant la campagne 1998-2008 (FAO.2010)

Années	Superficie (Ha)	Production (tonnes)	Rendement (kg/Ha)	Semence (tonnes)
1998	29550	18143	6139	1386
1999	27720	13070	4715	974
2000	19480	6661	3419	964
2001	19290	12312	6382	966
2002	19330	14971	7744	1142
2003	22850	19102	8359	1153
2004	23079	16367	7091	1167
2005	23348	13727	5879	1062
2006	21252	12706	5978	1034
2007	20681	14294	6911	1000
2008	20000	15000	7500	1000

I.4. Cycle cultural du pois chiche

Dans le bassin méditerranéen, le pois chiche est considéré comme une culture de printemps.

La plante se développe vigoureusement et complète son cycle évolutif en 04 mois (El-Aoufir, 2001). La pollinisation chez le pois chiche est complétée dans le stade de la formation des bourgeons des fleurs, avant que les abeilles visitent les fleurs ouvertes aux champs (Van Der Maesen, 1972). Certains cultivars du pois chiche à maturité précoce peuvent compléter leur cycle de vie dans 65 jours. Cependant les cultivars à maturité tardée demandent environ 120 jours. Il comprend deux phases (Schwartz et Langham ,2012).

a- phase végétative : cette phase comprend deux stades : la croissance et la production des feuilles.

b- phase reproductrice : elle est représentée par la floraison, la fructification et la production des graines

I.5. Caractéristiques agronomiques

I.5.1. Exigences climatiques

Le pois chiche se cultive entre 20°N et 40°N dans l'hémisphère nord, et à petit échelle entre 10°N et 20°N, ces environnements diffèrent dans la photopériode, la température et les précipitations (Singh et Diwakar, 1995).

I.5.1.1. Température

Les graines du pois chiche germent à une température optimum entre 28 à 33°C (Singh et Diwakar, 1995; Covelle *et al.*, 1986), mais elles peuvent germer entre 10 et 45°C (Singh et Diwakar, 1995). Le pois chiche est une plante à climat intermédiaire, la température optimale exigée varie entre 18°C et 29°C le jour et 20°C la nuit (Girard, 1985; Verret, 1982). Cette plante souffre dans les environnements chauds (35°C-18°C jour/nuit) (Lopez-Bellido *et al.*, 2004). Selon Nielson (2001), des températures plus de 32°C limitent le rendement en grains du pois chiche en accélérant sa maturité. De même, les températures élevées de la floraison à la maturité des variétés à semi retardées conduit à la réduction de la taille des graines et du rendement (Lopez- Bellido *et al.*, 2004).

I.5.1.2. Pluviométrie

Peu de besoins en eau, résistant assez bien au stress hydrique, le pois chiche ne demande qu'une pluviométrie moyenne (Singh et Diwakar, 1995; Singh et Bushan, 1979). Sa consommation en eau a été estimée entre 110 et 240 mm par an pour produire des rendements en grains allant de 9 à 30 qx / ha (Singh et Bushan, 1979). Le pois chiche est cultivé principalement comme culture de précipitation (en hiver dans les climats subtropicaux et en printemps dans la région méditerranéenne et les climats tempérés).

I.5.1.3. Lumière

Le pois chiche est une plante de jour long, mais fleuri dans toutes les photopériodes (Smith-son *et al.*, 1985; Summerfield *et al.*, 1979). La plus part des légumineuses à grains sont des plantes qui préfèrent le soleil et réagissent à l'ensoleillement en fournissant un grand rendement (Vincent et Gregory, 1986). Il a été aussi rapporté que l'intensité de la lumière et la durée d'éclairement sont des facteurs importants pour la nodulation et la fixation de l'azote (Lie, 1971).

I.5.2. Exigences édaphiques

I.5.2.1. Le Sol

Le pois chiche se cultive dans différents types de sols (Khan *et al.*, 2009; Babar *et al.*, 2009; Yusuf *et al.*, 2002), mais il semble qu'il préfère les sols meubles, profonds, plus ou moins argileux avec une bonne capacité de rétention (Singh et Diwakar, 1995; Moolani et Chandra, 1970) ou des sols limoneux profonds qui lui fournissent des sels solubles (Moolani et Chandra, 1970). Ces sols retiennent plus de 200 mm d'humidité sur une longueur d'environ 1 m (Saxena, 1987).

I.5.2.2. Humidité

Les graines du pois chiche germent à un niveau d'humidité de 15% pendant 5 à 6 jours (Singh et Diwakar, 1995).

I.5.2.3. Nutrition minérale

Le pois chiche exige plusieurs éléments minéraux tels que le nitrogène (N), le phosphore (P), le soufre (S) et le zinc (Zn). Le pois chiche montre une sensibilité vis-à-vis de la déficience en Zn (Khan *et al.*, 1998; Ahlawat, 1990; Sakal *et al.*, 1988).

I.2.4. pH

Le pH optimum du sol pour que le maximum des nutriments soit assimilable est entre 5,7 et 9 (Singh et Diwakar, 1995; Mahler *et al.*, 1988; Braun *et al.*, 1988).

I.6. Les maladies du pois chiche

Les maladies pouvant affecter le pois chiche regroupent plus de cinquante espèces (Nene *et al.*, 1991). Le règne viral et le règne bactérien sont peu représentés alors que la dominance du règne fongique est indéniable (Kaiser, 1981 ; Nene *et al.*, 1996 ; Hawar, 1990 ; Traperó-Casas, 1990).

I.6.1-Les virus

Les maladies virales les plus dévastatrices sont causées par :

- Le CCDV (Chickpea Chlorotic Dwarf Virus) ou rapetissement chlorotique du pois chiche (Horn *et al.*,1995).
- Le virus de l'enroulement des feuilles de pois.
- Le virus de la mosaïque ou alfalfa mosaïque,
- Prolifération du virus de la mosaïque du concombre.

I.6.2. Les bactéries

Parmi les maladies bactériennes, on peut citer l'antracnose bactérienne causée par :

- *Xanthomonas campestris* pv. *cassiae* (Nene *et al.*, 1996).
- *Pseudomonas andropogonis* (Smith) Stapp

I.6.3. Les mycoplasmes

- Prolifération excessive causée par *Phyllody*

I.6.4. Les nématodes

- Le nématode des nœuds racinaires provoqué par *Meloidogyne incognita*
Pratylenchus thornei

I.6.5. Les champignons

- Le flétrissement dû à *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* (Singh, 1990).
- Les pourritures racinaires provoquées par *Rhizoctonia solani*.
- *Sclerotium rolfsii* est l'agent de la pourriture du collet chez le pois chiche
- *Botrytis cinerea* agent de la pourriture grise de la partie aérienne (Maurya *et al.*,2008).
- Anthracnose à *Alternaria alternata*
- Anthracnose à Phoma causée par *Phoma medicaginis*
- Anthracnose à *Colletotrichum dematium* (pers. ex Fr.)
- Rouilles dûes à *Uromyces ciceri-arietini* (Gogn.) Jacz et Bayer
- Le mildiou à *Oidiopsis taurica* (Lev.)
- Pourriture de la tige dûe à *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.)

- *Ascochyta rabiei* affecte toutes les parties végétatives du pois chiche dont les feuilles, la tige, la gousse et la graine. Les pertes évaluées peuvent être de 100% ce qui en fait une maladie très dangereuse pour la production de pois chiche.

I.7. L'Anthracnose du pois chiche (*Ascochyta rabiei*)

L'anthracnose a d'abord été signalée au Pakistan, et elle touche au moins 35% des cultures de pois chiches dans le monde principalement en Amérique latine, en Bulgarie et en Amérique du Nord (Kaiser *et al.*, 2000a ; Nene *et al.*, 1996). La maladie a été introduite au Canada grâce à l'introduction de matériel génétique de pois chiche infecté (Morrall et McKenzie, 1974). Aussi cette maladie a été enregistrée en Asie occidentale, l'Afrique du Nord et au sud de l'Europe.

La production de pois chiche est limitée par cette maladie (Nene, 1982). La première apparition de l'anthracnose en Australie du Sud a été signalée en 1973 (Khan *et al.*, 1999). L'agent causal de l'anthracnose du pois chiche est le champignon *Ascochyta rabiei* (Pass) (Khune et Kapoor, 1980). C'est un champignon nécrotrophe à pénétration directe, capable d'infecter toutes les parties aériennes du pois chiche (*Cicer arietinum*).

Lors de la germination des spores et de l'infection, les tubes germinatifs sécrètent une substance mucilagineuse qui facilite la fixation à la surface de l'hôte. Après la fixation, le champignon envahisseur produit des enzymes lytiques pour dégrader la paroi cellulaire ce qui facilite la pénétration dans l'hôte. En plus il produit plusieurs phyto-toxines (Solanapyrones A, B et C, Sytochalsine D et une toxine protéique) qui semblent responsables de la nécrose et de la mort des cellules (Chen et Strange, 1994 ; Jayakumar *et al.*, 2005). En Algérie comme les autres pays du Maghreb l'anthracnose est le problème critique de production de pois chiche, elle peut causer la perte totale de leur récolte.

I.7.1. Taxonomie d'*Ascochyta rabiei*

Tableau. 6. Caractères Taxonomiques (Chadefaud et Embrger, 1960)

Subdivision (<i>Deuteromycotian</i>)	Mycélium cloisonné, coloré ou hyalin; Cycle incomplet: forme parfaite non connue. Reproduction asexuée avec formation de conidies.
Classe (Coléomycètes)	Regroupe les champignons se reproduisant asexuellement avec des appareils sporifères de types pycnides ou acervules.
Ordre (<i>Sphaéropsidales</i>)	Produisant des conidies regroupées en stroma et formant des pycnides. Libération de spores par des ouvertures de types ostioles.
Famille (<i>Sphaéropsidacée</i>)	Pycnides avec une ou plusieurs cavités, Spores sèches ou mucilagineuses, hyalines ou de couleur brune, uni ou
Genre (<i>Ascochyta</i>)	Conidies hyalines, bicellulaires, ovoïdes ou légèrement allongées, avec des extrémités arrondies
Espèce	Agent responsable de l'antracnose du pois chiche.

7.2. Symptomatologie de l'antracnose du pois chiche

7.2.1. Sur les feuilles

Il apparaît des taches humides et grises sur les feuilles, ces taches se transforment rapidement en lésions creuses et allongées ou ovoïdes de couleur marron avec des contours noirs. Elles atteignent 3 à 4cm de diamètre (**Planche 2**). De petits points circulaires bruns et noirs correspondant aux pycnides se développent au centre des lésions, les pycnides sont fréquemment disposées en cercles concentriques. Les folioles atteintes jaunissent et tombent sur le sol.

I.7.2.2. Sur les tiges

Les tiges infectées développent les mêmes taches observées sur les feuilles, il peut se former des taches nécrotiques autour des tiges qui finissent par s'affaiblir et se casser (**planche 2**).

I.7.2.3. Sur les gousses

Les gousses développent aussi des mêmes taches nécrotiques et leur infection conduit à celle des graines (**planche2**).

I.7.2.4. Sur les graines

Il y'a apparition des symptômes visibles tels que la régression de leur taille, les rides, un dessèchement et une décoloration (**planche.2**).



Planche 2 : Symptômes de l'antracnose de pois chiche (site 1)

A : Symptômes sur folioles montrant cercles concentriques

B : symptômes sur gousse avec cercles concentriques

C : Symptômes sur graine montrant cercles concentriques

D: symptômes sur tige avec lésions de formes allongées

I.7.3. Epidémiologie de l'antracnose

L'inoculum primaire, responsable de l'apparition des premières lésions peut avoir plusieurs origines. Les débris de culture fournissent une source d'inoculum, (Yu, 1947). Les repousses peuvent aussi constituer une source plus importante d'inoculum, (Bond et Pope, 1980).

Le champignon peut survivre au maximum 4 mois sur les débris de cultures enfouis dans le sol, (Dodd, 1971; Wallen et Galway, 1977).

La transmission par la semence est la source d'inoculum la plus citée, (Sprague, 1929; Yu, 1947; Michel et al, 1983). L'agent pathogène peut être localisé à différents niveaux des organes de la semence et superficiellement sous forme de spores provenant d'une contamination lors du battage (Sattar, 1933) ou d'une fructification mycélienne (Kaiser, 1972; Maden et al, 1975). Le parasite peut se conserver dans les téguments de la graine sous la forme de mycélium (Reynaud, 1984).

La dissémination est réalisée par la pluie (éclaboussure, eau découlement), la présence d'eau libre pendant une durée de 36 à 48 heures et des températures comprises entre 5°C et 10°C pendant l'hiver sont les conditions optimales d'infection (Ketelaer et al, 1998).

I.7.4. Mode d'infection

La zone nécrosée résulte d'une suite d'événements qui constituent la séquence de pénétration et de développement du champignon dans le limbe foliaire.

Les spores, organes de dissémination et de contamination, sont dispersées à la surface des feuilles, généralement, les conidies adhèrent à la surface des feuilles grâce à un mucilage qui laisse quelques traces visibles sur les cuticules. Après 24h d'incubation, les spores émettent des tubes germinatifs. La pénétration du parasite a lieu 48 h après l'inoculation, (Dood, 1971), elle débute avec la formation d'un appressorium, qui perce la cuticule et pénètre dans le tissu en se frayant un passage entre les parois de deux cellules épidermiques.

Les hyphes d'abord accolés à l'extérieur des cellules palissadiques envahissent ensuite tous les espaces intercellulaires (Apoplaste) (Maurin, 1989). Le champignon prolifère et envahit complètement l'espace situé entre les deux épidermes, la destruction des tissus est complète. Les cellules épidermiques sont collapsées.

I.7.5. Cycle de la maladie

Les semences et les résidus infectés des légumes (pois chiche, fève, petit pois) constituent la source principale d'infection. Le pathogène peut infecter les semences immatures en traversant le tégument et en pénétrant dans les cotylédons. Les feuilles et les tiges des semis issus de graines infectées montrent souvent des signes de la maladie dès la levée. La maladie peut alors se propager aux plants environnants. Le champignon peut par ailleurs survivre et produire des spores sur les résidus infectés des légumes (pois chiche, fève, petit pois) pendant au moins deux ans. (Kaiser et Hannan, 1988; Kaiser, 1997).

Les conidies des organes fructifères présents sur les plants infectés constituent la source de la plupart des infections dans une culture donnée. Ces spores sont dispersées par les éclaboussures d'eau de pluie. Des conditions pluvieuses et chaudes (20 à 25 °C) sont particulièrement propices à leur propagation. L'infection peut survenir dans les 24 heures qui suivent l'exposition au pathogène, toutefois, les symptômes peuvent parfois n'apparaître qu'au bout de 4 jours, et les nouvelles spores sont produites en 5 à 6 jours. Ce cycle rapide d'infection et de croissance peut entraîner une propagation rapide de la maladie dans les peuplements. (Kaach et Weltzien, 1984; Nene et Reddy, 1987; Trapero- Casas et Kaiser, 1992).

D'autres spores appelées ascospores sont produites uniquement sur les résidus de culture qui passent l'hiver au champ. Elles sont dispersées par le vent et peuvent ainsi être transportées sur plusieurs kilomètres. La plupart des ascospores sont libérées au printemps et au début de l'été (Trapero-Casas et al, 1996).

I.7.6. Agent pathogène « *Ascochyta rabiei* »

Ascochyta rabiei est hétérothallique avec un système d'accouplement, les deux types d'accouplements ont été appelés MAT1-1 et MAT1-2 (Kaiser, 1997; Armstrong et al. 2001; Talei et al., 2008), La recombinaison sexuelle des *A. rabiei* produit une plus grande diversité génétique et génotypiques plus virulents de l'agent pathogène (Kaiser, 1997), des étapes anamorphiques et télomorphiques dans le cycle de la maladie de L'antracnose du pois chiche sont illustré dans la figure 4 (Kanouni, 2011).

L'anamorphe (stade asexué) (*Ascochyta rabiei*) est caractérisé par la présence sphériques des pycnides brun foncé, à forme de poire ostiolés et varie généralement de la taille de 80 à 240 x 60-215µm, ces pycnides contenant des pycnidiospores ovales à oblongues, droites ou légèrement pliés à ses deux extrémités, contiennent des spores hyalines sur des conidiophores courts noyé dans une masse mucilagineuse, survenus sur la matière vivantes ou morte de pois chiche et ils peuvent être vus comme des points, intégrés dans le tissu hôte (Sattar, 1934 ; Luthra *et al.*, 1935).

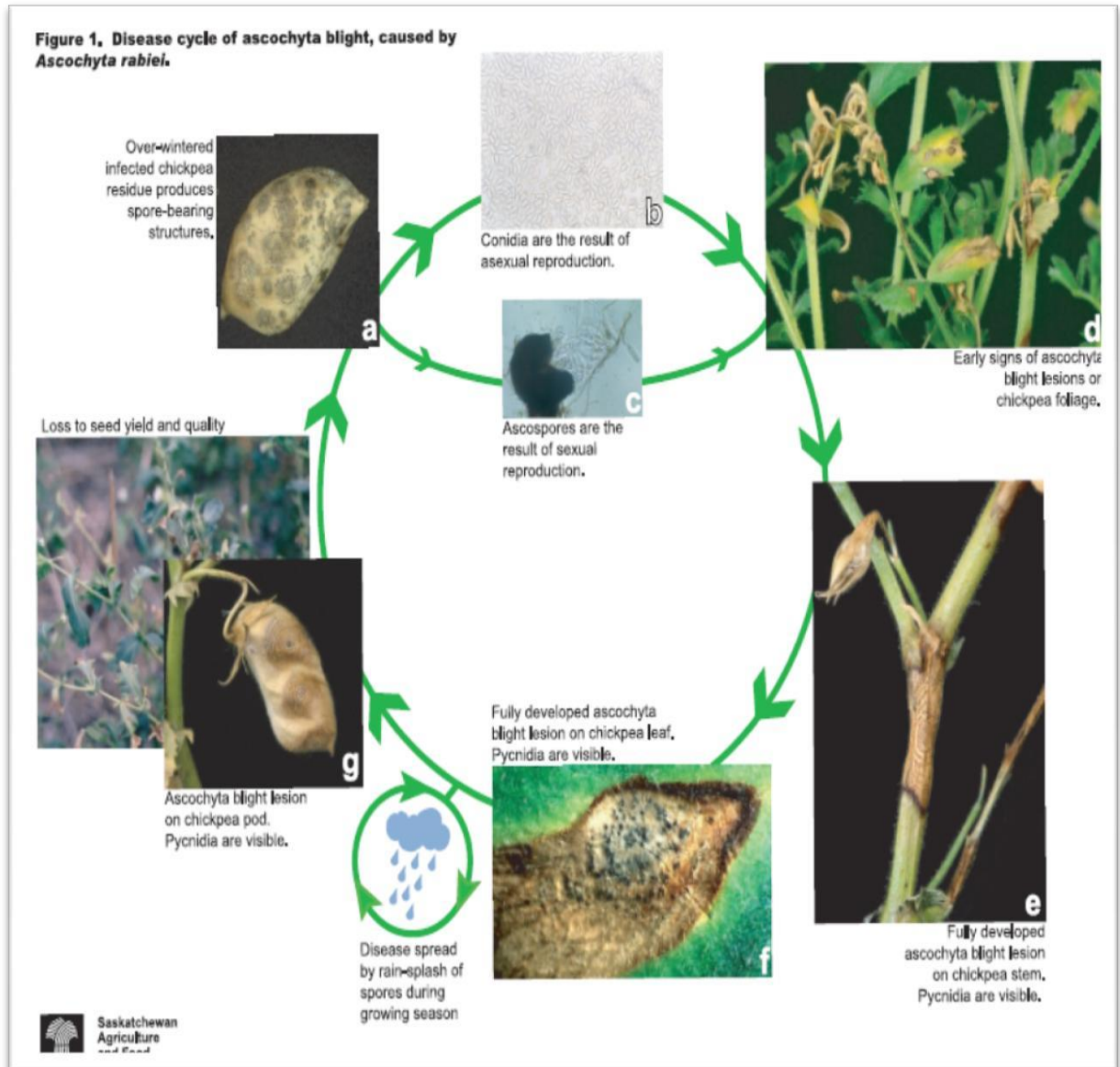


Figure 4: Cycle de l'antracnose du pois chiche causé par *Ascochyta rabiei* (Pearse *et al.*, 2005)

I.8. Description macroscopique et microscopique

I.8.1. Description macroscopique

Les colonies mycéliennes se développent lentement. Elles sont d'abord crémeuses, puis prennent des teintes extrêmement variées selon les souches et les milieux (vert clair, vert foncé, brun... Etc.), elles présentent généralement des stries concentriques très caractéristiques.

I.8.2. Description microscopique

I. 8.2.1. Les pycnides

Les carpospores de ce genre sont des pycnides. Ils sont globuleux et forment toujours une véritable cavité, leur couleur varie de la pale au brun foncé et leur diamètre est d'environ 65 à 245µm. Les pycnides sont disposés en cercles concentriques et munies d'un ostiole qui mesure 30 à 50µm de diamètre. Leur paroi interne est nommée (péridium) elle est formée de tissus pseudo parenchymatiques. Les pycnides sont toujours agrégés d'une façon dense, ce qui confère un aspect rugueux aux taches nécrotiques formées sur les tissus de l'hôte. Ils renferment des conidies

I.8.2.2. Les pycnidiospores

Les conidies sortent à maturité en masse des pycnides engluées dans un mucus. Elles sont hyalines, cylindriques ou ellipsoïdales et ovales à oblongues, les extrémités des conidies sont étroites ou légèrement incurvées et arrondies. Certaines sont bicellulaires présentant une cloison excentrique qui provient des parois latérales mais la plupart sont unicellulaires et mesurent environ 8,2 à 10×4,2 à 4,5µm

I.8.2.3. Le mycélium

Les thalles sont filamenteux, développés et cloisonnés.

I.9. Méthodes de lutte contre l'antracnose

L'antracnose chez *Cicer arietinum* L. est le résultat d'une relation triangulaire qui fait intervenir l'hôte, le parasite et l'environnement, par conséquent, l'établissement d'une stratégie de lutte efficace doit impérativement tenir compte de ces trois éléments (Chandirasekaran, 2007).

Les dégâts causés par cette maladie peuvent être réduits par des méthodes essentiellement prophylactiques (Zikara-Zine, 2003), qui constituent un ensemble de méthodes permettant d'éliminer les foyers et les sources d'infection (Davidson et Kimber, 2007).

I.9.1. La lutte chimique

Le traitement par les fongicides concerne aussi bien les graines qui sont utilisées comme semis, que les plantes dans les champs. Les graines peuvent abriter le pathogène jusqu'à deux ans même sous une température de 45 °C et plus de deux ans si elles sont stockées entre 2 et 5°C (Gan *et al.*, 2005) Dès les années quatre vingt, plusieurs fongicides ont été mis au point pour prévenir la germination des spores, réduire la croissance mycélienne sur la surface des graines et éradiquer complètement le champignon des téguments (Davidson et Kimber, 2007). L'utilisation du Bénomyl un fongicide de la famille des Méthyle benzimidazole carbamate qui inhibe la mitose (Carlile *et al.*, 2001) à une concentration de 10µg/ml, est très efficace pour assainir les graines de pois chiche (Gan *et al.*, 2005).

L'application de fongicides foliaires efficaces joue un rôle prépondérant dans la réduction des dégâts causés par cette maladie (Chongo *et al.*, 2004). Le Chlorothalonil appliqué sur les folioles au champ, stoppe la germination des spores (Singh et Reddy, 1984), le résultat peut différer d'une région à une autre, quelques produits reconnus efficaces contre l'antracnose du pois chiche comme le Maneb, le Zineb et le Captan n'ont donné aucun résultat. L'efficacité de ces fongicides dépend d'autres paramètres notamment les degrés de résistance de la plante hôte, les conditions climatiques et l'architecture de la plante (Armstrong-Cho *et al.* 2008).

I.9.2. Méthodes culturales

La lutte contre l'antracnose du pois chiche utilise plusieurs pratiques culturales, dans le but d'éradiquer ou réduire les sources d'inoculum primaire et éviter les contaminations secondaires (Davidson et Kimber, 2007). La plus importante est l'utilisation de graines saines certifiées par des laboratoires accrédités. Ceci permet d'éviter l'installation et la transmission de la maladie (Kaiser, 1997). L'élimination ou l'enterrement des résidus des plantes infectées où peut se reproduire le pathogène sous ses deux formes (Davidson et Kimber, 2007), et est également une pratique importante qui aide à contrôler l'antracnose du pois chiche. En effet, selon Navas- Cortes *et al.*, (1995), le pathogène peut survivre plus de deux ans sur les débris laissés sur le sol après la récolte et leur enterrement réduit la viabilité du champignon à six mois.

Le choix de la date de semis permet de réduire l'extension de l'épidémie. En effet, vu la nature polycyclique de l'antracnose, le décalage de la date de semis afin d'éviter les périodes froides et humides favorables à la maladie, aide à limiter le nombre de cycles de pycnidiospores et par conséquent, les contaminations (Davidson et Kimber, 2007).

Dans les pays du bassin méditerranéen, le pois chiche est semé pendant l'hiver, saison propice à l'apparition de la maladie (Crino, 1990). Ainsi selon Ben Mohamed *et al.*, (2010), opter pour un semis entre mars et avril, aide à lutter contre *Ascochyta rabiei*. Par ailleurs, l'espacement d'au moins 500m les parcelles cultivées peut aider à éviter la propagation de l'épidémie par le vent ou les éclaboussures de pluie. (Gan *et al.*, 2005).

La rotation avec d'autres cultures de plantes non hôtes tout les trois à quatre ans est aussi une alternative pour lutter contre *Ascochyta rabiei* (Shahid *et al.*, 2008). Néanmoins il faut veiller à nettoyer les parcelles des résidus après chaque culture car selon Trapero-Casas et Kaiser, (2009), des plantes comme le blé et le maïs pourraient abriter le pathogène sous sa forme sexuée et participeraient ainsi à propager la maladie.

I.9.3. La lutte biologique

La préservation des ressources naturelles et la santé humaine est une des préoccupations majeure des chercheurs dans le domaine de l'agriculture. De plus en plus d'efforts sont fournis pour trouver des produits naturels biologiques pour lutter contre les maladies des

végétaux. Pour l'antracnose du pois chiche la lutte biologique pourrait être possible par deux moyens :

- ❖ L'utilisation des microorganismes antagonistes à *Ascochyta rabiei* comme *Aureobasidium pullulans* et *Conostachya rosea* qui d'après (Dugan *et al.*, 2005) inhiberaient la croissance des deux formes anamorphe et teleomorphe de l'agent de l'antracnose ou celle de *Chaetomium globosum*, *Trichoderma viride*, *Aerobasidium implicatum* qui selon (Rajakumar *et al.*, 2005) auraient un effet antifongique testé *in vivo* et *in vitro* sur *Ascochyta rabiei*. Par ailleurs, Navas-Cortes, (1995) rapporta que l'enterrement des débris infectés dans le sol stérile permet la formation de pseudothèces et de spores plus vite par rapport au sol non stérilisé, ce qui prouve que le champignon est affecté par d'autres microorganismes saprophytes.

- ❖ L'application d'extraits végétaux comme bio fongicides. C'est le cas de l'extrait aqueux d'oignon *Allium cepa* qui aurait montré une activité antifongique contre *Ascochyta rabiei* (Chandirasekaran, 2007), de l'extrait des racines et pousses de *Datura metel* composé essentiellement de n-hexane agit sur la croissance *in vitro* de l'agent de l'antracnose du pois chiche (Shaffique et Shaffique, 2008). D'après Jabeen *et al.*,(2010) , l'extrait méthanolique des feuilles de *Melia azedarach* a le même effet qu'un fongicide commercial sur *Ascochyta rabiei*.

I.9.4. La lutte génétique

L'utilisation de cultivars résistants est sans doute le moyen le plus pratique pour contrôler l'antracnose chez *Cicer arietinum* L., c'est pourquoi l'objectif majeur de tout les programmes d'amélioration du pois chiche à travers le monde est la sélection d'espèces résistantes (Pieters et Tahiri, 1986 ; Singh et Reddy, 1990 ; Iqbal *et al.* 2004 ; Iqbal et Ghafoor, 2005 ; Rhaiem *et al.*,2006 ; Kavousi *et al.*, 2009).

Bien que connue depuis presque un siècle l'antracnose continue à être un problème pour les agriculteurs et peu de progrès ont été faits dans le domaine de la sélection de cultivars résistants (Singh *et al.*, 1992). Plusieurs travaux ont été entrepris surtout ces soixante dernières années dans le but de développer des génotypes de pois chiche résistants à l'antracnose mais sans aucun résultat notable vu les sources réduites de résistance (Singh *et al.*, 1984 ; Bhardwaj *et al.*, 2010). D'un autre côté le champignon présente une variabilité

génétique. Ceci fait constamment apparaître de nouveaux variant ou races physiologiques d'*Ascochyta rabiei* d'où la difficulté de développer des cultivars résistants utilisables à travers le monde (Singh et Reddy, 1990).

Pour conclure il est important de souligner que toute stratégie de lutte contre l'antracnose du pois chiche doit impérativement intégrer plusieurs de ces méthodes citées, à la fois pour arriver à éradiquer ou limiter la propagation du pathogène.

D'après Gan *et al.*, (2005), dans une région connue pour l'apparition fréquente de la maladie, il serait plus judicieux de prendre toutes les mesures prophylactiques qui sont offertes et opter pour l'utilisation concomitante des méthodes génétiques, culturales ou chimiques pour éviter la déclaration de la maladie ou en limiter l'étendue

Chapitre II

Matériels et méthode

II. MATÉRIELS ET MÉTHODE

II.1. Etude de laboratoire

II.1.1. L'agent pathogène

L'isolat d'*Ascochyta rabiei* utilisé dans cette étude a été obtenu à partir des plants de pois chiche présentant des symptômes de flétrissement et des taches circulaires bruns et noirs sur les feuilles et les tiges, (Photo.1) Ces derniers ont été prélevés à la ferme pilote de Ghoul Moussa à Sigus.



Photo 1: Plante de pois chiche présentant les symptômes de l'anthracnose.

II.1.2. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture utilisé pour l'isolement de notre pathogène (*Ascochyta rabiei*) est le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) qui est préparé selon la composition suivante:

Pomme de terre	200g.
Glucose	20g.
Agar	18g.

Les pommes de terre sont bouillies dans 600ml d'eau distillée pendant 20 à 30 min, le produit obtenu est filtré à travers une mousseline avant l'addition de l'agar et du glucose puis complété avec l'eau distillée jusqu'à 1 litre, ajusté à pH 5.8. Après agitation et dissolution des composants du milieu, celui-ci est ensuite stérilisé par autoclavage à 120°C pendant 20 min.



A : mélange des constituants



B : agitation du milieu



C : milieu stérilisé

Photo 2: Etapes de préparation du milieu PDA

II.2.1.3. Isolement, purification et identification de l'agent pathogène

- *L'isolement*

IL est effectué à partir des organes aériens frais (feuilles, tiges), ils sont rincés à l'eau du robinet afin de les débarrasser de leurs débris de terre. Après lavage les organes sont découpées en fragments de 6 à 8 mm sur les fronts d'attaques et désinfectés superficiellement par trempage dans une solution diluée de l'eau de javel à 10% pendant 2 à 3 mn. Les fragments sont ensuite rincés deux fois à l'eau distillée stérile une fois séchés sur du papier buvard stérile trois fragments sont déposés dans des boîtes de pétri contenant le milieu de culture de PDA et mis en incubation à 22°C (Planche .3).

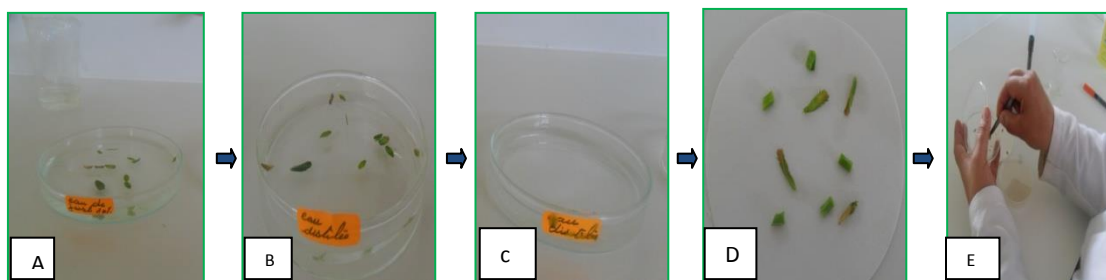


Planche 3 : Etapes d'isolement l'agent pathogène *Ascochyta rabiei*.

A : désinfecté les fragments végétaux dans une solution diluée de l'eau de javel à 10% ;

B ,C : rinçage des fragments végétaux dans l'eau distillée ;

D : Séchage sur du papier buvard stérile

E: l'ensemencement dans des boîtes de pétri contenant le milieu de culture de PDA

- **Purification**

Elle est indispensable afin d'obtenir des cultures pures, par des rétro-inoculations successives de manière aseptique car le champignon isolé est fréquemment contaminé par des germes bactériens ou des espèces fongiques indésirables.

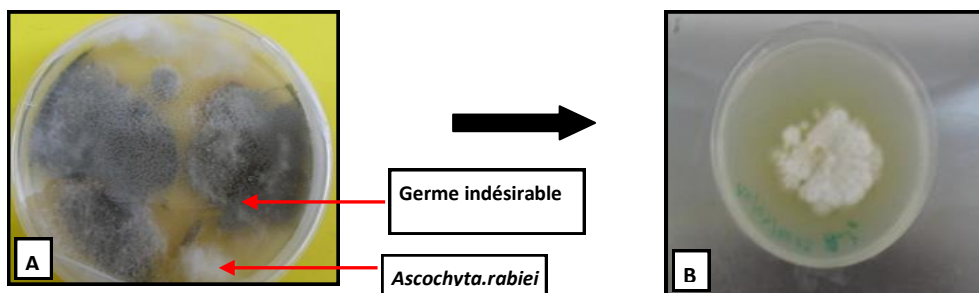


Photo 3 : Purification de la souche

A : souche d'*Ascochyta rabiei* avant purification, **B :** souche d'*Ascochyta rabiei* pure

- **L'Identification**

Elle est basée généralement sur l'observation des caractères macroscopiques et microscopiques.

- **Observation macroscopique**

L'observation des caractères macroscopiques d'*Ascochyta rabiei* isolé est basée sur la description morphologique des colonies incubées sur le milieu PDA à une température de 22°C.

- **Observation microscopique**

L'observation microscopique est réalisée sous microscope optique à l'état frais, des fragments pris de la partie superficielle des colonies âgées de 10 jours cultivés sur milieu PDA à l'aide d'une spatule fine et stérile, les fragments sont déposés entre lame et lamelle avec l'ajout d'une goutte de lactophénol.

II.2.2. Etude expérimentale in vitro

II.2.2.1. La lutte biologique

II.2.2.1.1. Les agents antagonistes utilisés

Les agents antagonistes utilisés pour lutter contre l'*Ascochyta rabiei* sont :

- *Pythium sp* comme d'autres, dans la famille des *Pythiacées*, sont généralement caractérisées par leur production des hyphes coenocytic, d'environ 7 μm de diamètre ; sans hyphes cloisons. (C. André et al. 2004). à croissance rapide (20 mm par jour sur PDA à 26°C) Contiennent généralement une seule oospore (Vander et al, 1991) La plupart des espèces de *Pythium sp*. produisent des sporanges ronds. Le sporange contient une vésicule à paroi.. (photo 4).
- *Aspergillus fumigatus* caractérisé par colonies blanches, puis bleu-vert, puis vert foncé à gris noirâtre ; Conidies globuleuses, vertes, échinulées, petites 2,5 à 3 μm de diamètre ; Vésicule hémisphérique 20 à 30 μm ; Conidiophores Court 300 μm , lisse et incolore, évasement progressif au sommet (photo.5).
- *Trichoderma harzianum* caractérisée par colonies vertes, granuleuses ; conidies rondes lisses ; températures de croissance entre 15 et 36°C et leur habitat naturel c'est le sol, supports cellulosiques et bois en décomposition (photo. 6).
- *Aspergillus niger* caractérisé par Colonies d'abord blanches, puis jaunes et enfin granuleuses noires, Vésicule globuleuse 45 à 75 μm , Conidies Globuleuses, brunes, échinulées, souvent disposées en chaîne 3,5 à 5 μm de diamètre , Conidiophore Lisse, brunâtre dans sa moitié supérieure, très long 1,5 à 3 mm (photo.7) .

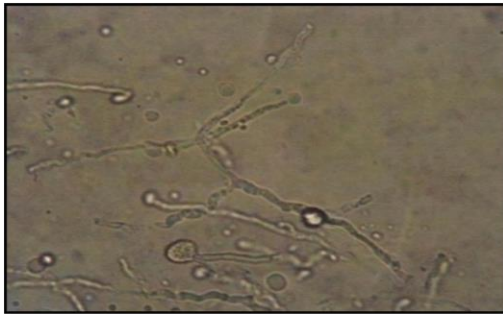


Photo 4 : caractéristiques microscopiques et macroscopiques du *Pythium sp.*

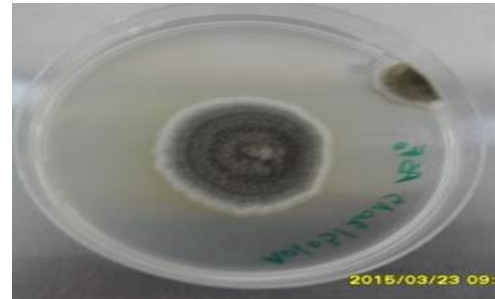
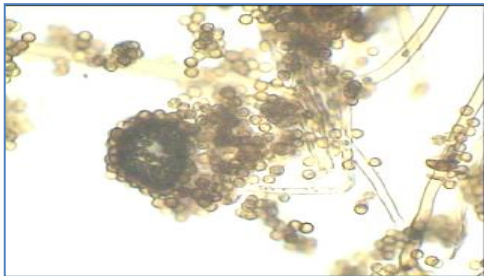


Photo 5 : caractéristiques microscopiques et macroscopiques de *l'Aspergillus fumigatus.*

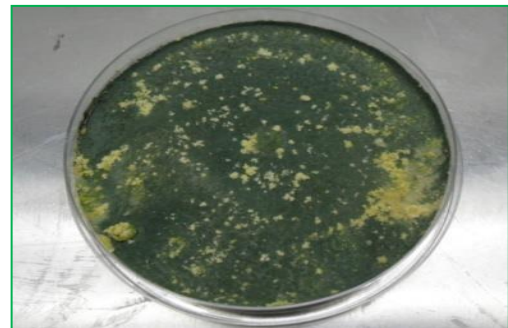
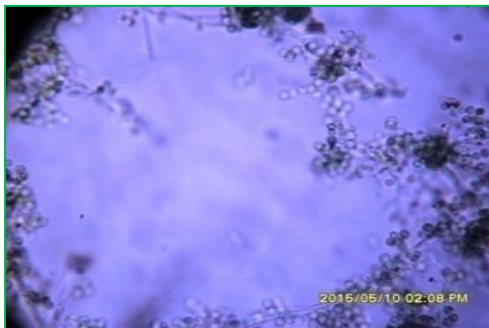


Photo 6 : caractéristiques microscopiques et macroscopiques du *Trichoderma harzianum.*

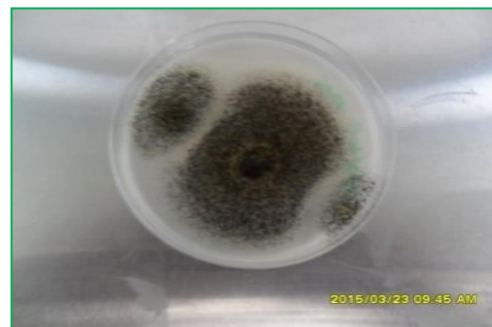
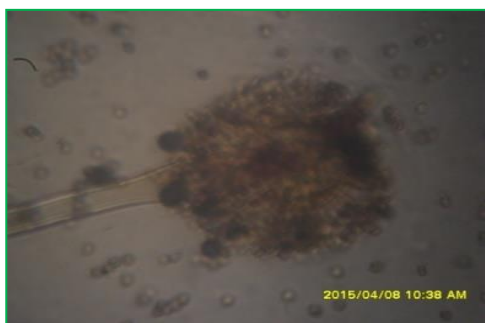


Photo 7 : caractéristiques microscopiques et macroscopiques *d'Aspergillus niger.*

Ces champignons sont obtenus de la collection de l'INRAA- Constantine et isolés à partir du sol, sauf pour l'*Aspergillus niger*, qui est isolé à partir de grains de pois chiche de la région d'Oum El Bouaghi.

L'utilisation de ces champignons comme agents de lutte biologique contre le champignon *Ascochyta rabiei*, permet d'apprécier l'aptitude antagoniste de ces derniers à inhiber ou à réduire la croissance de l'agent pathogène.

II.2.2.1.2. Test de confrontation

La méthode de confrontation, consiste à déposer dans des boîtes de Pétri contenant du PDA, deux explants de 8 mm de diamètre provenant des cultures des deux champignons (pathogène et antagoniste), ceux-ci sont placés suivant un axe diamétral à 3 cm et à équidistance du centre de la boîte. Au cours de cette expérimentation, trois répétitions ont été effectuées pour chaque antagoniste.

Les témoins sont représentés par des boîtes de Pétri contenant uniquement le champignon pathogène ou l'antagoniste. L'ensemble des boîtes est placé à une température de 22C°.

II.2.2.2.1. Mesure de la croissance mycélienne

Les mesures de la croissance mycélienne sont effectuées quotidiennement pendant 10 jours. Pour l'estimation de la croissance mycélienne, la technique utilisée est celle de RAPILLY (1968), qui consiste à mesurer la croissance linéaire des colonies de pathogènes.

Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne exercés par l'antagoniste utilisé est calculé selon la formule décrite par Whipps (1997) :

$$I (\%) = (1 - D_n / D_o) \times 100$$

I (%) : représente inhibition moyenne de la croissance mycélienne.

D_n : est le diamètre moyen du champignon pathogène en présence d'*Ascochyta raibiei*.

D_o : est le diamètre moyen du champignon pathogène en absence d'*Ascochyta raibiei*

(témoin).

Les moyennes de croissance mycélienne sont calculées par la formule suivante:

$$V \text{ (mm/jour)} = (L_n + L_{n+1}) / n$$

V : Moyenne de croissance mycélienne

L_n, L_{n-1} : sont les croissances mycéliennes le jour n, n-1, n-2...

n : Nombre de jours (Benzohra et *al.*, 2011).

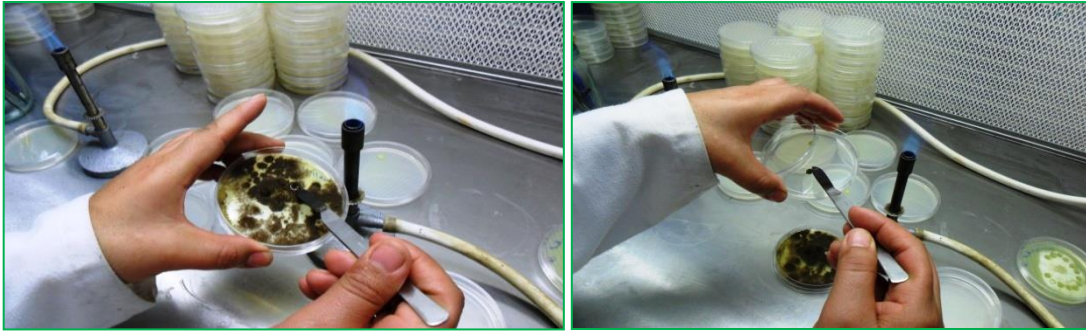


Photo 8 : Confrontation équidistante (contact direct) ; *Aspergillus fumigatus* vis à vis d'*Ascochyta rabiei* sur milieu PDA.

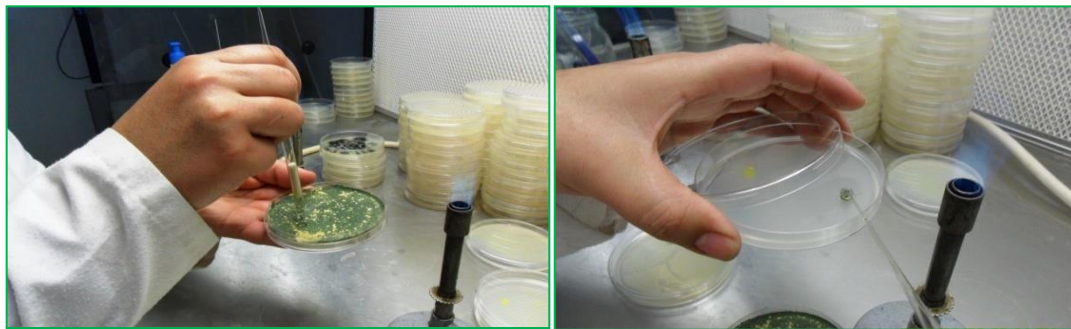


Photo 9 : Confrontation équidistante (contact direct) ; *Trichoderma harzianum* vis à vis d'*Ascochyta rabiei* sur milieu PDA.



Photo 10 : Confrontation équidistante (contact direct) ; *Pythium sp* vis à vis d'*Ascochyta rabiei* sur milieu PDA

II.2.3. Lutte chimique in vitro

II.2.3.1. Le fongicide utilisé

Le fongicide utilisé dans notre travail est un fongicide hydrosoluble systémique à double action préventive et curative qui contient les matières actives : *Pyraclostrobine* (12,8%) et *Boscalide* (25,2%).

II.2.3.1.1. Préparation de la solution de fongicide

La solution mère du fongicide est préparée à une concentration de 600g/300l, puis des dilutions seront effectuées jusqu'à l'obtention de la concentration 2g/100ml d'eau distillé stérile. Une quantité de 8ml de solution mère est rajoutée dans 100ml de PDA, l'ensemencement a été réalisé avec des explants de 5 mm de diamètre prélevés sur le milieu contenant le pathogène « *Ascochyta raibiei* » à l'aide d'un emporte pièces stérile.

Au cours de cette expérimentation, trois répétitions ont été réalisées et le témoin est représenté par une boîte de Pétri contenant uniquement le milieu PDA. L'incubation est faite à 22°C (Planche.4).

La dilution est obtenue en respectant la loi suivante :

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

C1 : Concentration de la solution mère.

V1 : Volume pris de la solution mère.

C2 : Concentration à préparer.

V2 : Volume final voulu du milieu PDA.

2.3.1.2. Mesure de la croissance mycélienne

Les mesures de la croissance des cultures sont effectuées quotidiennement.

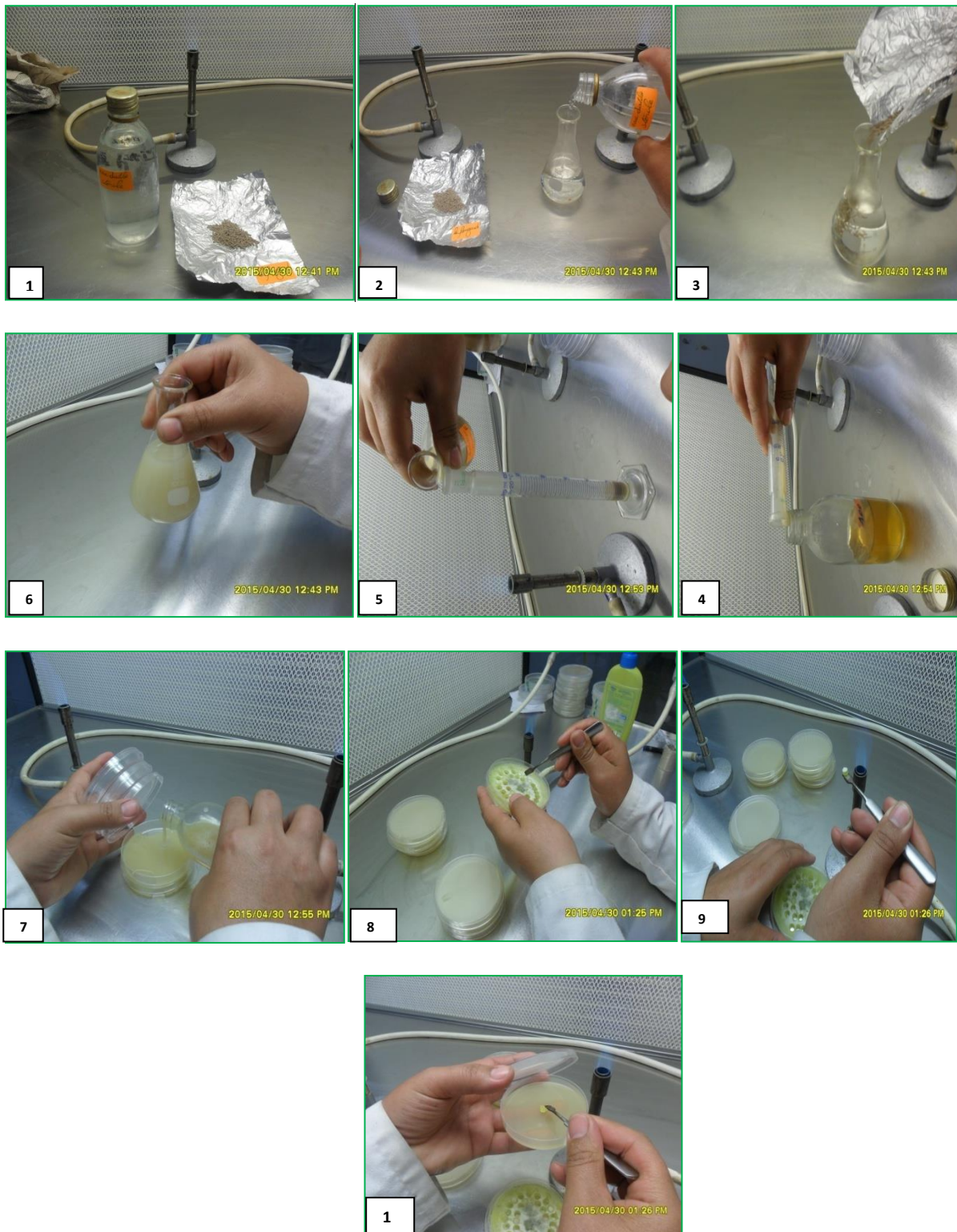


Planche 4: Etapes de la lutte chimique d'*Ascochyta rabiei* in vitro

II.2. Etude *in situ*

II.2.1. Lutte chimique *in situ*

II.2.1.1. Les cultivars de pois chiche

Les cultivars de pois chiche (*Cicer arietinum L*), utilisés sont choisis sur la base de leurs utilisations dans la région :

- Flip 84-92
- Flip 90c
- Ghab 5

Le dispositif adopté est en bloc aléatoire complet, une pré-germination des graines est réalisée dans les boîtes de Pétri en verre dans des conditions stériles. Le semis est réalisé le 15/12/2014 dans des pots contenant du sol préalablement stérilisé à raison de 6 grains/pot. Les pots sont placés sous serre et arrosés avec de l'eau de robinet régulièrement (Photo .11, Photo.12).

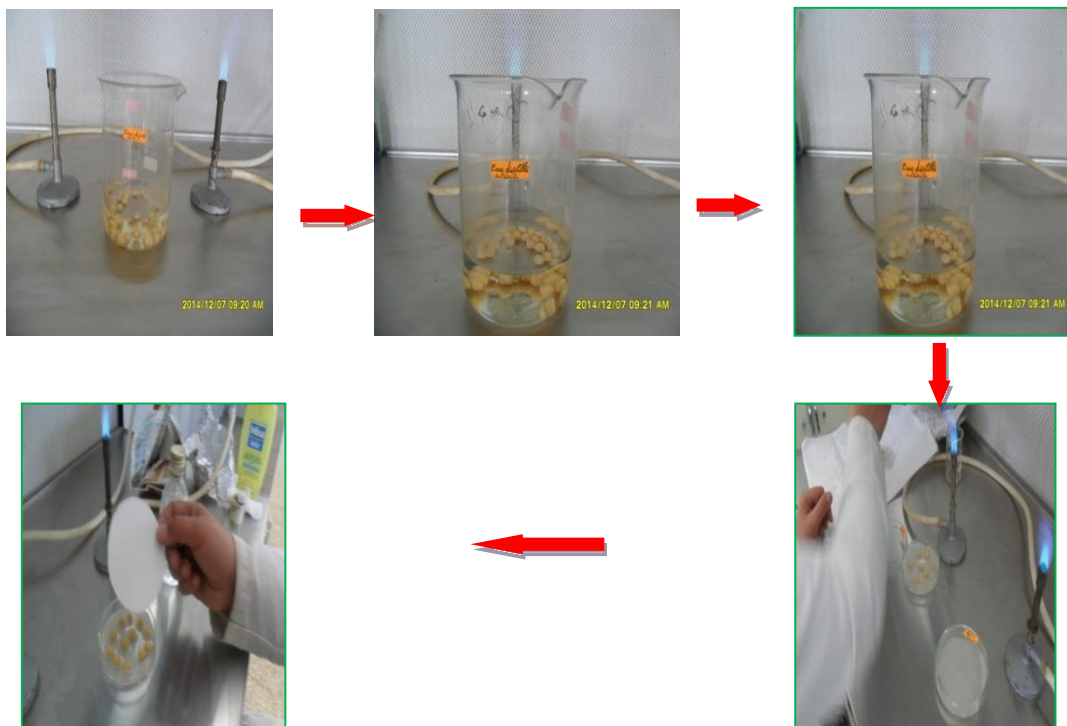


Photo 11 : pré germination des graines de pois chiche.



Photo 12 : Semis des graines germées.

II.2.1.2. L'inoculation avec *Ascochyta rabiei*

➤ Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé de la manière suivante : Les spores du pathogène sont récupérés par raclage des boîtes contenant le pathogènes et recouvert de 10ml d'eau distillée stérile. La suspension obtenue est ensuite récupérée dans une fiole contenant 200 ml d'eau distillée stérile. Une goutte de tween 20 a été ajoutée pour favoriser l'adhérence, puis agité avec l'agitateur vortex. Deux applications de contamination ont été effectuées. Une application au sol (post levée) et une application *in situ* (en pleine végétation).

➤ inoculation de post levée

L'inoculation de post levée est réalisée un jour après le semis, le 16/12/2014.(Photo.13)



Photo 13 : inoculation post levée

➤ **Inoculation en pleine végétation (ré inoculation)**

L'inoculation en pleine végétation est réalisée le 19/02/2015 (photo.14), et le nombre de feuilles infectées a été dénombré 07 jours après ré inoculation.



Photo14 : inoculation des plantules par l'isolat d'*Ascochyta rabiei*.

II.2.1.3. Traitement chimique in vivo (*in situ*)

Après les pulvérisations chimiques, les observations de l'évolution de la maladie ont été réalisées 10 jours après le traitement.

➤ **Ré isolement du champignon pathogène (*Ascochyta rabiei*)**

Pour confirmer l'identité de l'agent pathogène, les plantes des variétés inoculées ont été récupérées en vue de ré isoler l'agent pathogène.

Le ré isolement a été fait par l'incubation des fragments de tige et des feuilles de toutes les plantes après désinfection à l'eau de javel et rinçage à l'eau distillée puis ensemencement sur le milieu PDA.

Chapitre III

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

Notre travail est réalisé en deux parties. Une partie laboratoire où nous avons procédé à l'isolement du pathogène, et entamé une approche à la lutte biologique in vitro, ainsi que des tests chimiques. Par ailleurs, sur le terrain nous avons abordé une autre expérimentation de lutte chimique et d'observations comportementales de quelques variétés de pois chiche vis-à-vis de l'antracnose.

III.1. Etude au laboratoire

III.1.1. Isolement, purification et identification de l'agent pathogène

L'isolement de notre pathogène « *Ascochyta rabiei* » est effectué à partir des organes aériens frais (feuilles, tiges). Après 10 jours de culture sur le milieu PDA, nous obtenons une colonie de couleur blanchâtre légèrement verdâtre avec de légères zonations, à partir de laquelle des fragments de mycélium prélevés aseptiquement à la limite supérieure de la colonie, puis rétro inoculés sur le même milieu PDA. Après 7 jours d'incubation à 22°C, nous obtenons une culture pure du pathogène.

Ainsi, les observations faites sur la culture, nous ont permis de révéler au niveau macroscopique que les colonies d'*Ascochyta* présentent un développement relativement lent et atteignent un développement optimum au bout de 10 jours (Tab.7), et se présentent l'aspect de colonies cotonneuses, débutant par une coloration crémeuse évoluant vers une coloration blanchâtre à verdâtre (Photo.16). Par ailleurs, les observations effectuées sous microscope optique de type « Leica » nous ont permis de détecter différents caractères microscopiques, Ceci nous a permis de distinguer l'aspect septum ou bien cloisonné du mycélium, la présence de pycnides et de spores bicellulaires et de forme arrondies et parfois ovales. (Photo.17).

Tableau 7 : Caractéristiques morphologiques de souche d'*Ascochyta rabiei*.

Caractères \ Souche	<i>Ascochyta rabiei</i>
Couleur de la colonie	Blanchâtre à verdâtre
Vitesse de croissance	3,5 mm/jour sur PDA
Diamètre de la colonie après 10j	6,4cm
Aspect de la colonie	Cotonneuse

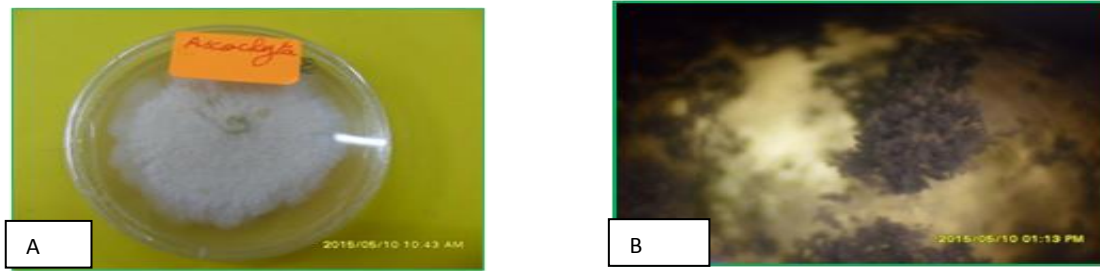


Photo 15 : Aspects macroscopiques de l'isolat d'*Ascochyta rabiei*.

A: l'*Ascochyta rabiei* après 10 jours d'incubation.

B: observation des pycnides sous loupe binoculaire

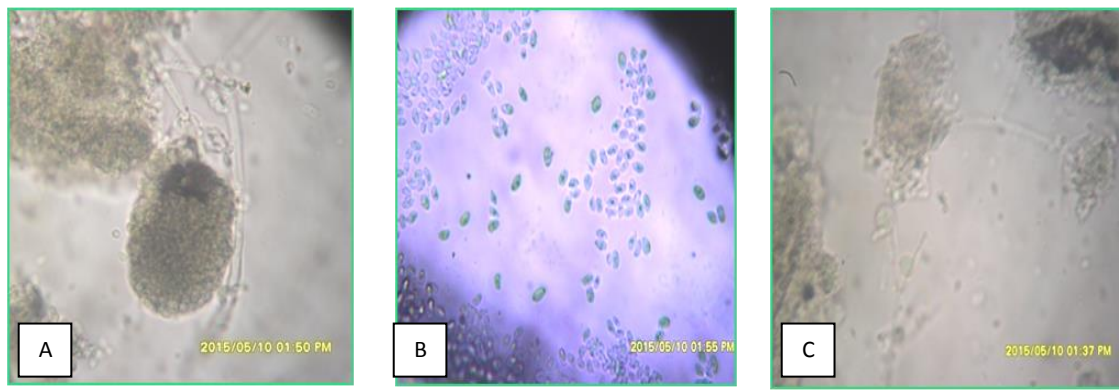


Photo 16 : Caractéristiques microscopiques d'*Ascochyta rabiei*

A: mycélium et pycnides de la souche,

B : les spores bicellulaire, (forme arrondies)

C : Éclatement des pycnides et libération des spores

III.1.2. Etude expérimentales in vitro

III.1.2.1. Lutte biologique

III.1.2.1.1. Test de confrontation

La confrontation directe (test des métabolites diffusibles) est la méthode utilisée dans notre travail, et les souches antagonistes préconisées sont celles mises à notre disposition par l'UR Constantine.

Les résultats obtenus montrent que la croissance mycélienne de la souche témoin (pathogène seule) est plus importante par rapport à celle obtenue en présence des différents antagonistes utilisés dans nos tests, en l'occurrence : *Pythium sp* , *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus fumigatus* et *A.niger*.

La vitesse de croissance mycélienne de la souche *Ascochyta rabiei* selon l'antagoniste utilisé est variable en fonction du temps de culture. (Photo.18). Il apparaît par ailleurs, que les examens macroscopiques des différentes boîtes montrent un effet envahissant plus ou moins important vis à vis de *Ascochyta rabiei*. Toutefois nous avons constaté que *Pythium sp* et *Trichoderma harzianum* semblent être les mieux actifs vis à vis du pathogène.

Les résultats obtenus montrent que la croissance mycélienne des souches témoins est plus importante par rapport à celle obtenue avec les différents pathogènes confrontés (Pathogène – Antagoniste). La vitesse de croissance mycélienne de la souche *Ascochyta rabiei* selon l'antagoniste utilisé est variable en fonction du temps de culture (Photo.18).

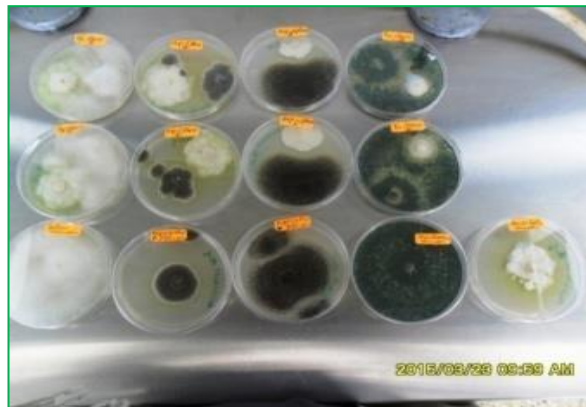


Photo17: Variation de la vitesse de croissance l'isolat d'*Ascochyta rabiei* en fonction des Agents antagonistes utilisés : (*Pythium sp*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*) .

➤ *Effet de Pythium sp. sur Ascochyta rabiei.*

La croissance mycélienne du pathogène *Ascochyta rabiei* est de 9,8 mm à la fin du 10^{ème} jour d'incubation elle est très réduite par rapport au témoin 20 mm.

En ce qui concerne l'agent antagoniste *Pythium sp.*, la croissance à la fin de l'incubation est de 7 à 43 mm (Tab. 8 ; Fig.4).

Aussi l'effet le test de confrontation de *Pythium. sp* / pathogène montre que la croissance est plus accentuée chez l'antagoniste par rapport au pathogène étudié et à la fin des 10 jours d'incubation, la boîte est totalement envahie par l'antagoniste avec une vitesse de croissance remarquable ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 50%.

L'antagoniste présente un aspect cotonneux avec un mycélium aérien de couleur blanchâtre (Photo 19).

La vitesse de croissance de *Pythium.sp* est importante. Elle se traduit généralement par un envahissement de *Pythium.sp* sur l'agent pathogène, L'envahissement de *Pythium* est généralement direct et intense. Des cas d'enroulement et de pénétration de *Pythium* contre *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Botryosporium*, *Sclerotinia* et *Cladosporium* ont été observés au microscope optique par Richard, et al., (2006).

Tableau 8: Croissance mycélienne et pourcentage d'inhibition en (mm) d'*Ascochyta rabiei* et *Pythium sp* en fonction du temps.

Croissance mycélienne en mm					
Isolats Jours	Agent antagoniste <i>Pythium sp</i>	Témoin <i>Pythium sp</i>	Agent Pathogène <i>Ascochyta.r</i>	Témoin <i>Ascochyta.r</i>	Pourcentage L'inhibition %
1	7	7	1	1	0
2	12	12	3	4	25
3	15	17	4,5	6	25
4	20	20	5,5	10	45
5	23,5	25	6,5	12	46
6	27	31	7	14	50
7	28,5	38	7,5	15	50
8	31	42	9	18	50
9	40,5	46	9,5	19	50
10	43	46	9,8	20	51

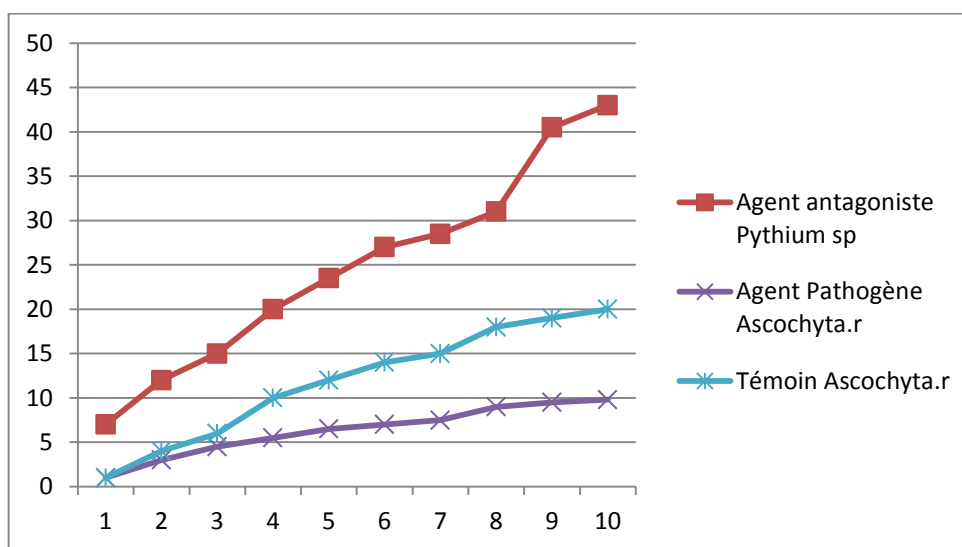


Figure 3 : Influence d'isolat *Pythium sp* sur la croissance mycélienne d'*Ascochyta rabiei*.



Photo 18 : Effet inhibiteur de *Pythium sp.* par confrontation directe sur la croissance d'*Ascochyta rabiei* *in vitro*.

➤ **Effet de *Trichoderma h.* sur *Ascochyta rabiei***

La croissance mycélienne du pathogène *Ascochyta rabiei* est de 9,2 mm à la fin du 10^{ème} jour d'incubation elle est très réduite par rapport au témoin 20 mm.

En ce qui concerne l'agent antagoniste *Trichoderma harzianum*, la croissance à la fin de l'incubation est de 62,5 mm (Tab. 9 ; Fig.5).

La confrontation de *Trichoderma harzianum* avec *Ascochyta rabiei* a montré une croissance mycélienne plus rapide de *Trichoderma harzianum* que l'*Ascochyta rabiei*, au bout de 05 jours d'incubation, la boîte est totalement envahie par le *Trichoderma harzianum* avec une vitesse de croissance remarquable soit environ 15mm/j durant les premiers jours de la culture, au bout du 5^{ème} jour de culture (occupation totale de la boîte par l'antagoniste) l'antagoniste a une croissance stable. Alors que l'*Ascochyta rabiei* n'occupe qu'une surface de 6,5 mm; avec un mycélium plus au moins aérien de couleur blond et un taux de croissance faible par rapport à l'antagoniste. Ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 54 %. (Photo 20).

Ces résultats sont similaires avec ceux obtenus par Albouvette *et al* (1983) ; Dubot (1985) et Davet (1996) qui ont montré que la croissance de *Trichoderma sp* est plus rapide que celle du *Fusarium*, de ce fait, elle colonise le milieu nutritif et assimile les

éléments nutritifs, c'est le phénomène appelé compétition.

Ces résultats peuvent être aussi expliquée par le mécanisme d'antibiose, qui est due à la sécrétion de substances agissant comme étant des antibiotiques et qui inhibent aussi la croissance du pathogène.

Des observations microscopiques réalisées par Elad *et al.* (1983) au niveau de la zone de contact entre *Trichoderma sp* et le *Fusarium* montrent un enroulement du mycélium du *Trichoderma sp.* sur celui du pathogènes.

Tableau 9 : Croissance mycélienne en mm d'*Ascochyta rabiei* et *Trichoderma* en fonction du temps.

Isolats Jours	Croissance mycélienne en mm				Pourcentage L'inhibition%
	Agent antagoniste <i>Trichoderma.h</i>	Témoin <i>Trichoderma.h</i>	Agent Pathogène <i>Ascochyta.r</i>	Témoin <i>Ascochyta.r</i>	
1	15,5	8	1	1	0
2	32	20	3,5	4	12,5
3	55	38	4	6	32
4	61	41	5,5	10	45
5	62,5	44	6,5	12	46
6	62,5	44	7,5	14	47
7	62,5	44	8	15	47
8	62,5	44	9	18	50
9	2,5	44	9,2	19	52
10	62,5	44	9,2	20	54

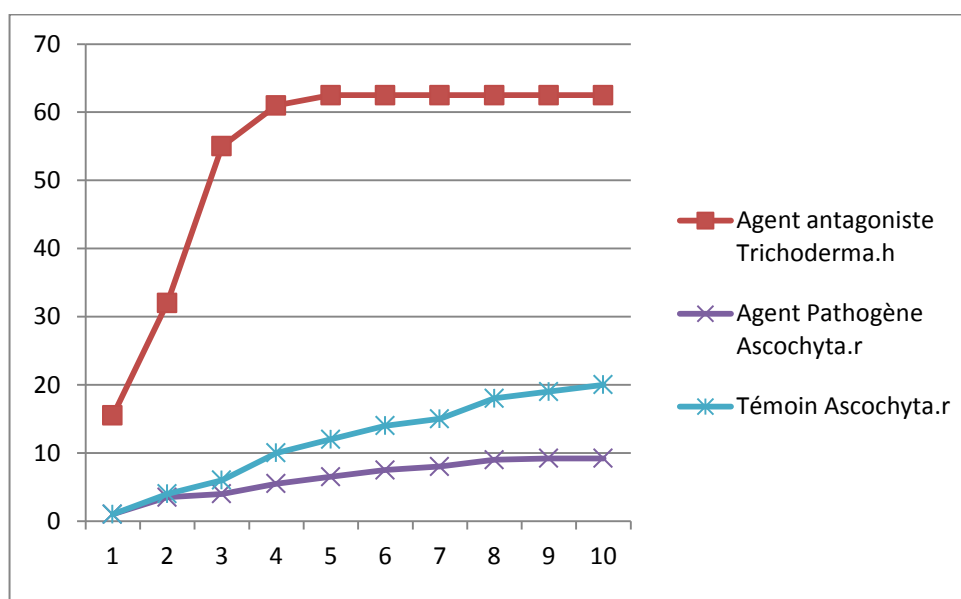


Figure 4: Influence du *Trichoderma harzianum* sur la croissance mycélienne d'*Ascochyta rabiei*.

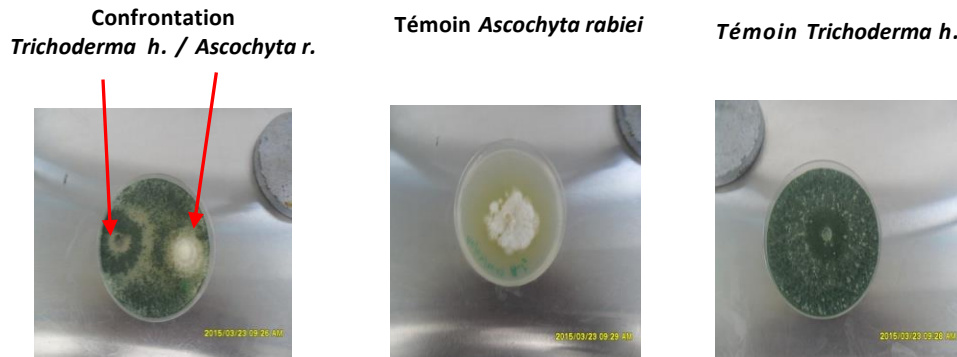


Photo 19: Effet inhibiteur de *Trichoderma h.* par confrontation directe sur la croissance d'*Ascochyta rabiei* *in vitro*.

➤ **Effet d'*Aspergillus fumigatus* sur *Ascochyta rabiei***

La croissance mycélienne du pathogène *Ascochyta rabiei* est de 17,5 mm à la fin du 10^{ème} jour d'incubation elle est très réduite par rapport au témoin 20 mm.

En ce qui concerne l'agent antagoniste *Aspergillus fumigatus*, la croissance à la fin de l'incubation est de 17,5 mm (Tab.10 ; Fig.6).

La confrontation de l'*Aspergillus fumigatus* avec *Ascochyta rabiei* a montré une croissance mycélienne peu accentuée par rapport à celle de l'*Ascochyta rabiei*, le pourcentage d'inhibition peut atteindre jusqu'à 40% avec un mycélium de couleur vert foncée. A la fin de l'incubation les deux champignons ont une croissance presque similaire (Tab.10 ; photo 21).

Tableau 10 : Croissance mycélienne (mm) d'*Ascochyta rabiei* et *Aspergillus fumigatus* en fonction du temps.

		Croissance mycélienne (mm)				
Isolats	Jours	Agent antagoniste <i>Aspergillus fumigatus</i>	Témoin <i>Aspergillus fumigatus</i>	Agent Pathogène <i>Ascochyta.r</i>	Témoin <i>Ascochyta.r</i>	Pourcentage L'inhibition%
	1	2,5	1	1	1	0
	2	3	3	2,5	4	37
	3	4	5	4	6	33
	4	8	7	6	10	40
	5	10,5	9	7,5	12	37
	6	11,5	10	10	14	28
	7	14	13	11	15	27
	8	15,5	14	14	18	22
	9	16,5	17	16,5	19	13
	10	17,5	17	17,5	20	12

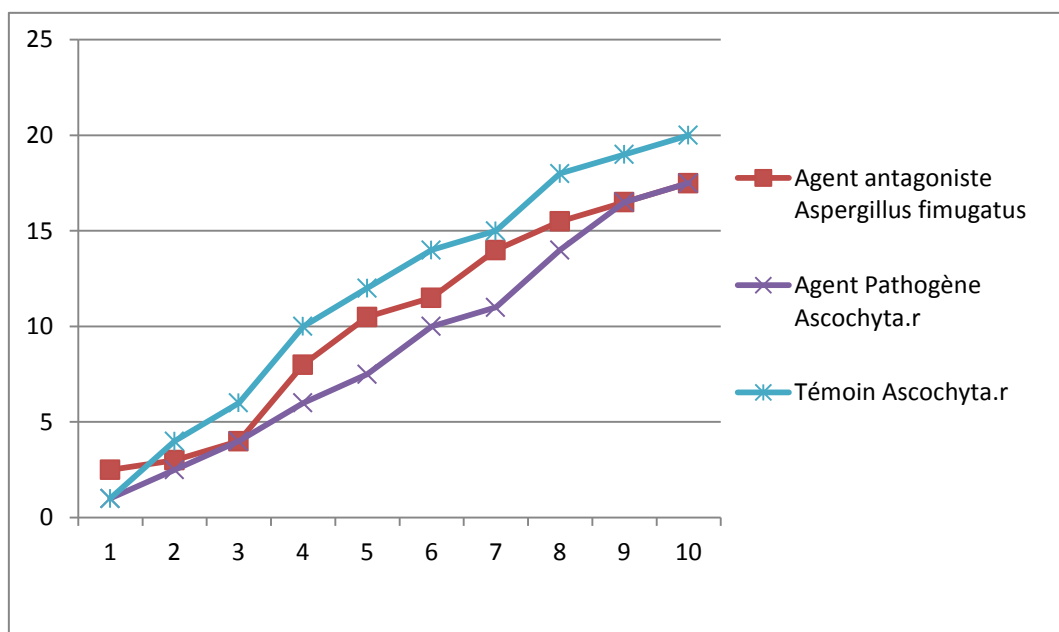


Figure 5: Influence de l'*Aspergillus fumigatus* sur la croissance mycélienne d'*Ascochyta rabiei*.

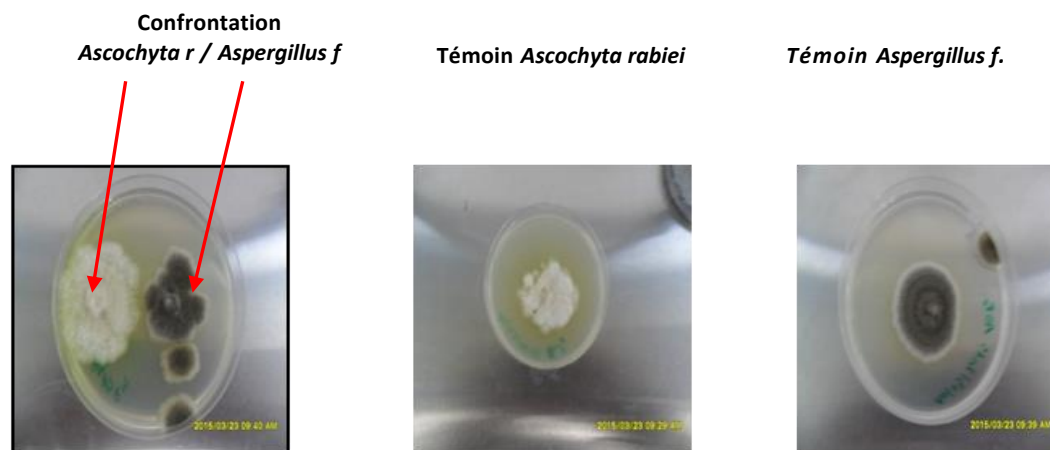


Photo 20 : Effet inhibiteur d'*Aspergillus fumigatus* par confrontation directe sur la croissance d'*Ascochyta rabiei* in vitro.

➤ ***Effet d'*Aspergillus niger* sur *Ascochyta rabiei****

La croissance mycélienne du pathogène *Ascochyta rabiei* est de 10,9 mm à la fin du 10^{ème} jour d'incubation elle est très réduite par rapport au témoin 20 mm.

En ce qui concerne l'agent antagoniste *Aspergillus niger*, la croissance à la fin de l'incubation est de 36 mm (Tab.11 ; Fig.7).

La Confrontation *Aspergillus niger* / pathogène montre que la croissance est plus accentuée chez l'antagoniste par rapport au pathogène et à la fin des 10 jours d'incubation, environ 75% de la boîte est envahie par l'antagoniste, ce qui révèle une assez bonne action antagoniste et mérite étudié sur d'autres pathogènes affectant d'autres cultures. L'antagoniste se présente sous forme d'une colonie granuleuse, de couleur verdâtre foncée (Photo 22).

La croissance du pathogène est très lente dans le cas de confrontation directe avec *Aspergillus sp.*, ceci est justifié par le fait que l'antagoniste montre une capacité d'arrêter à distance le développement du parasite avec formation d'une zone d'inhibition entre les colonies confrontées avec une largeur variable selon l'isolat. Ainsi, selon Smith et Pateman (1977), *A. niger* aurait certaines propriétés antagonistes vis à vis de *A. flavus*. Il pourrait empêcher la production d'aflatoxines par ce dernier, et même détoxifier certains produits contaminés.

Tableau 11 : Croissance mycélienne (mm) d'*Ascochyta rabiei* et *Aspergillus niger* en fonction du temps.

Croissance mycélienne (mm)					
Isolats Jours	Agent antagoniste <i>Aspergillus niger</i>	Témoin <i>Aspergillus niger</i>	Agent Pathogène <i>Ascochyta r.</i>	Témoin <i>Ascochyta r.</i>	Pourcentage L'inhibition%
1	2	1	1	1	0
2	5,5	5	3,4	4	17
3	9	11	4,5	6	25
4	17	15	7	10	30
5	21	17	8,5	12	31
6	25	25	9,5	14	33
7	28,5	28	9,5	15	37
8	31	32	10,5	18	42
9	36	35	10,6	19	44
10	36	35	10,9	20	46

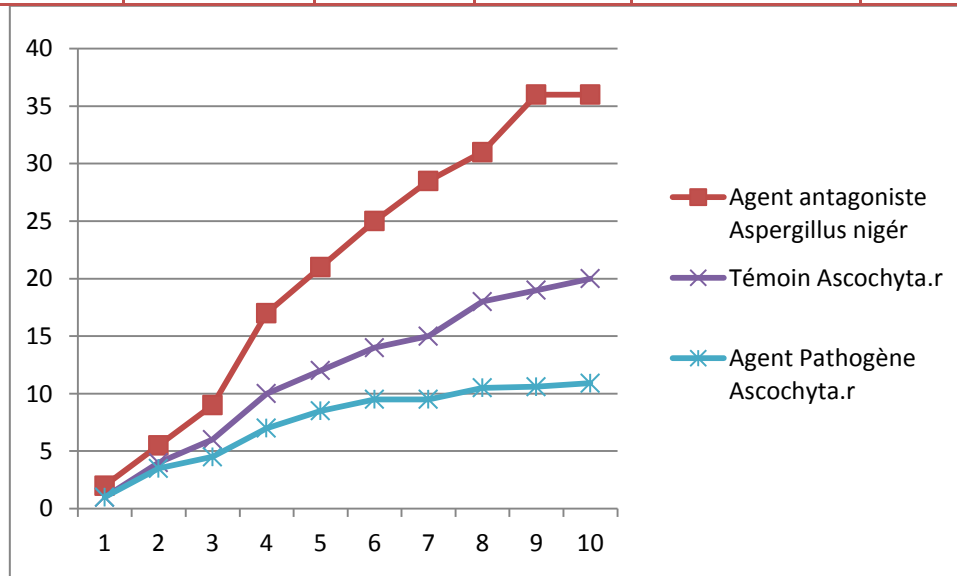


Figure 6 : Influence d'*Aspergillus niger* sur la croissance mycélienne d'*Ascochyta rabiei*.

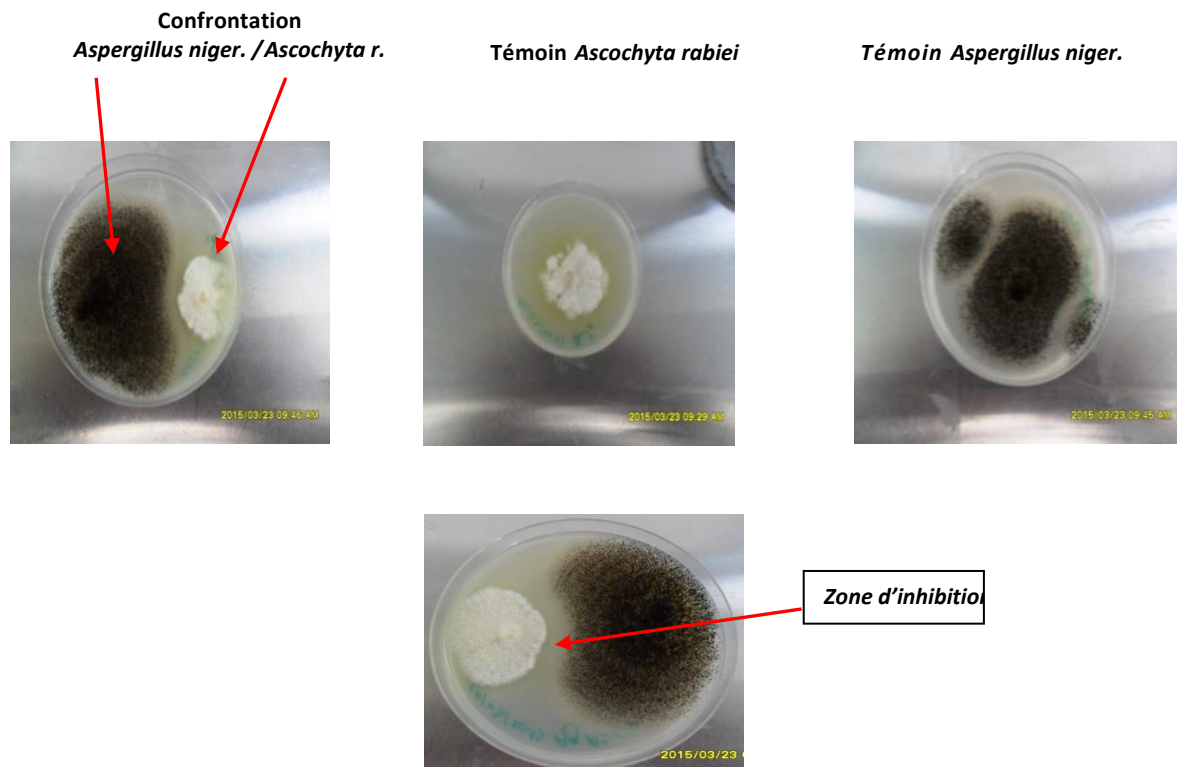


Photo 21: Effet inhibiteur d'*Aspergillus niger* par confrontation directe sur la croissance d'*Ascochyta rabiei* *in vitro*.

III.1.2.2. Lutte chimique *in vitro*

Les résultats de l'essai lutte chimique *in vitro* montrent que la croissance mycélienne d'*Ascochyta rabiei* au dixième jour d'incubation est considérablement ralentie en présence du fongicide utilisé.

La croissance mycélienne notée était de 3 mm par rapport au témoin qui était de 32 mm. Aussi ces résultats montrent que l'inhibition du fongicide qui se manifeste sur la croissance mycélienne d'*Ascochyta rabiei* est très significative. (Tab.12 ; photo 23). Nous constatons ainsi une croissance très lente du pathogène au cours de son développement (10 jours), par rapport au témoin plus lente de jour en jour de la culture par rapport au témoin. D'après les résultats on constate que la formulation Pyraclostrobine (12,8%) et Boscalide (25,2%) présentent une activité antifongique certaine, c'est-à-dire l'isolat *Ascochyta rabiei* présente une sensibilité significative au fongicide testé.

Tableau 12 : Croissance mycélienne (mm) d'*Ascochyta rabiei* en présence du fongicide en fonction du temps.

Isolats Jours	Croissance mycélienne d' <i>Ascochyta</i> en mm	
	Pathogène <i>Ascochyta rabiei</i> avec le fongicide	Témoin <i>Ascochyta rabiei</i> sans fongicide
01	0	2
02	0	5
03	0	9
04	1	14
05	1	19
06	2	22
07	2	24
08	2	28
09	3	30
10	3	32



Témoin



Boîte contenant le fongicide

Photo 22 : Effet inhibiteur du fongicide sur la croissance mycélienne de l'isolat *Ascochyta rabiei* *in vitro* au terme de 10 jours.

III.2. Etude *in situ*

III.2.1. Lutte chimique

III.2.1.1. Inoculation avec *Ascochyta rabiei*

➤ L'inoculation post levée

La première inoculation n'a donné aucun signe d'infection, probablement à cause des conditions climatiques défavorables au développement de la maladie.

➤ L'inoculation en pleine végétation

L'inoculation en pleine végétation a permis le développement de l'infection et l'apparition de symptômes caractéristiques de l'antracnose sur les feuilles des différentes variétés testées. Le comportement des variétés vis-à-vis de la maladie est variable, nous remarquons que les deux variétés Flip sont plus résistantes que la variété Ghab (Tab.13 ; photo 24).

Tableau 13: Réponse des cultivars de pois chiche à l'inoculation de l'*Ascochyta rabiei*.

Variétés	Nombre de plantes infectées	Nombre de feuilles infectées
Flip 84-92	02	04
Flip 84-92 témoin	0	0
Flip 90c	02	06
Flip 90c témoin	0	0
Ghab	03	10
Ghab témoin	0	0



Photo 23 : Symptômes de l'antracnose après ré inoculation.

A : les tâches folioles de variété Flip 84-92.

B : les tâches folioles de variété Flip 90c.

C : les tâches folioles de variété Ghab.

III.2.1.2. Traitement chimique *in situ*

Après l'application du traitement chimique, le développement de la maladie est estompé. Les symptômes n'ont pas été visibles sur les parties supérieures de la plante. Ce qui signifie que la formulation utilisée est efficace.

Conclusion

Conclusion et perspectives

En Algérie, la culture du pois chiche occupe une place importante parmi les légumineuses alimentaires. En plus de son utilisation comme source de protéines, le pois chiche participe à l'amélioration de la fertilisation du sol grâce à sa capacité à fixer l'azote atmosphérique. Cependant, cette culture est exposée aux infections naturelles pouvant conduire rapidement à la dégradation de la qualité sanitaire originelle.

Parmi les pathogènes les plus redoutables et qui méritent donc une attention particulière, l'antracnose du pois chiche constitue une énorme contrainte pour la culture. Cette maladie est causée par un agent appelé *Ascochyta rabiei*. Cette maladie constitue une menace grave en raison de son développement rapide et les dégâts qu'elle occasionne.

Notre étude a montré l'effet antagoniste très positif pour le *Pythium sp.* et le *Trichoderma harzianum* (51% et 54% d'inhibition) et en moindre efficacité concernant *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus niger* (40% et 46%), vis-à-vis d'*Ascochyta rabiei*.

L'utilisation de la formulation des deux matières actives *Pyraclostrobine* (12,8%) et *Boscalide* (25,2) % *in vitro* s'est révélée efficace sur l'antracnose du pois chiche. Ce qui correspond aux résultats obtenus dans l'essai *in situ*.

L'essai *in situ* a révélé aussi la résistance des variétés Flip et la sensibilité de la variété Ghab vis-à-vis de la maladie de l'antracnose.

Dans le cadre de la lutte intégrée contre les maladies du pois chiche, la variété Flip peut être utilisée comme une variété résistante à l'antracnose. Par ailleurs la lutte biologique peut constituer une alternative intéressante de la lutte chimique.

Actuellement beaucoup de chercheurs sont versés dans la recherche de ce moyen de lutte, dans la perspective de diminuer l'utilisation abusive de fongicides généralement nocifs à l'environnement et à la santé tant humaine qu'animale (résidus de pesticides).

Enfin ce travail qui est une modeste, contribution à la connaissance de la protection des maladies des légumineuses alimentaires n'est pas une fin en soit, mais un début d'action ou modèle pour d'autres recherches sur d'autres cultures, d'autres pathogènes et antagonistes.

Enfin, des études plus approfondies sur les métabolites qui induisent l'inhibition du pathogène serait éventuellement appropriée.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Abdelguerfi L. M., Bouzid L., Zine F., Hamdi N., Bouzid H. et Zidouni F., 2001.** Evaluation de quelques cultivars locaux de pois chiche dans la région de Bejaia. Institut nationale de la recherche Agronomique d'Algérie., **9**:31-42. against *Ascochyta rabiei*. Mycopathology, 6(1-2): 31-35. Agricultural University, Hisar , India,15pp.
2. **Ahlawat I. P. S., 1990.** Diagnosis and alleviation of mineral nutrient constraints in chickpea. In Chickpea in the Nineties. Eds. Vanrheenen H. A. and Saxena M. C.pp. America of *Ascochyta rabiei*, a destructive pathogen of chickpea. *Plant Dis. Rep.* 58: 342-345.
3. **Armstrong C., Chongo G., Gossen B.D. and Duczek L. (2001).** Mating typedistribution and incidence of the teleomorph of *Ascochyta rabiei* (*Didymella rabiei*) in Canada. *Can. J. Plant. Pathol.* 23:110-113.
4. **Armstrong-Cho C., Chongo G., Wolf T., Hogg T., Johnson E. et Benniza S., 2008.** The effect of spray quality on *Ascochyta* blight control in chickpea. *Crop Protection*, 27: 700- *Ascochyta fabea* in Ninevah province of Iraq .Seed. *Ascochyta* blight. Theory and Applied Genetic, 92: 509-515. *Ascochyta rabiei* on chickpea in Turkey. *Plant Disease*, 81(11): 1284-1287.
5. **Babar B. M., Shah T. M., Abbas G. and Ahsanul haq M., 2009.** Genotype X environment interaction for seed yield in Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes developed through mutation breeding. *Pakistan Journal of Botany.*, 4:1883-
6. **Ben Mohamed L., Cherif M., Harrabi M., Galbraight R.F. et Strange R., 2010.** Effects of sowing date o severity of blight caused by *Ascochyta rabiei* and yield components of five chickpea cultivars grown under two climatic conditions in Tunisia. *European journal of plant pathology*, 126: 293-303.
7. **Benzohra I. E., 2009.** Contribution à l'étude d'*Ascochyta rabiei*(Pass.) Labr., agent causal de l'antracnose du pois chiche (*Cicer arietinum* L.): Caractérisation morphologique et étude du pouvoir pathogène. Thèse de Doctorat.
8. **Berger J., Abbo S. H. and Turner N. C., 2003.** Ecogeography of annual wild *Cicer*.
9. **Bhardwaj R., Sandhu J.S., Livinder K., Gupta S. K., Gaur P. M. et Varshney R., 2010.**
10. **Bond , D.A et Pope, M .,1980:** *Ascochyta fabea* on winter beans (*vicia faba*): pathogen spread and variation in host resistance .plant pathol. 29(2) 59 -65.
11. **Braun P. H., Planquaert P. H., Wery J., 1988.** Pois chiche : culture, utilisation; Brauchure. Ed. ITCF 11p.
12. **Braun P. H., Planquaert P. H., Wery J., 1988.** Pois chiche : culture, utilisation; Brauchure. Ed. ITCF 11p. Central Great Plains. Agronomic Journal., **93**:563-569.
13. **Carlile M.J., Watkinson S.C. et Gooday G.W., 2001.** The fungi. Academic Press: 588p.
14. **Chadefaud, M et Emberger, L., 1960:** Traité de botanique. Systématique. Les végétaux non vasculaires. (Cryptogamie) T.1. Eds. Masson et Cie. Paris. Pp: 1018.

Références bibliographiques

15. **Chakraborti D., Sarkar A., Gupta S. and Das S., 2006.** Small and large scale genomic DNA isolation protocol for chickpea (*Cicer arietinum* L.), suitable for molecular marker and transgenic analyses. African Journal of Biotechnology., **8**: 585-589.
16. **Chandirasikaran R., 2007.** Option for reducing *Ascochyta* blight severity in chickpea.
17. **Chen Y. and Strange R.N. (1994).** Production of a proteinaceous phytotoxin by *Ascochyta rabiei* grown in expressed chickpea sap. *Plant Pathol.*43: 321-327.
18. **Chongo G., Gossen B.D., Buchwaldt L., Adhikari T. et Rimmer S.R., 2004.** Genetic.
19. **Covell S., Ellis R.H., Roberts E.H., Summerfield R.J., 1986.** The influence of temperature on seed germination rate in grain legumes .I. Acomparaison of chickpea, lentil, Soybean and cowpea at constant temperature. Journal of experimental Botany
20. **Crino P., 1990.** Chickpea breeding for resistance to *Ascochyta* blight. CIHAM, Options méditerranéennes, N°9:55-59.
21. **David J. et Khan K.S., 2001.** Effect of nitrogen application on nodulation in inoculated chickpea(*Cicer arietinum* L.) Online Journal of Biological Sciences, 1(3):87-89.
22. **Davidson J.A. et Kimber R.B.E., 2007.** Integrated disease management of *Ascochyta* blight in pulse crops. European Journal of Plant Pathology, 119:99–110. Debris in Tunisia. Tunisian Journal of Plant Protection, 1:13-18. Development series ICRISAT India., **16** : 502-324. Diversity of *Ascochyta rabiei* in Canada. Plant Disease, 88(1): .4-10.
23. **Doodd, I.J., 1971 :** Some aspects of the biology of *Ascochyta fabae* . (Leaf and pod spot of the field bean, *Vicia faba* L.). phd thesis , University of Hull , England.
24. **Dugan F.M., Lupien S. L., Hernandez-Bello M., Peever T. L. et Chen W., 2005.** Fungi resident in chickpea debris and their suppression of growth and reproduction of *Didymella rabiei* under laboratory conditions Journal of Phytopathology, 153:431-439.
25. **El-Aoufir A., 2001.** Etude du flétrissement vasculaire du pois chiche (*Cicer arietinum*) cause par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. Evaluation de la fiabilité de l'analyse isoenzymatique et de la compatibilité végétative pour la caractérisation des races physiologiques. Thèse de Doctorat, Université Laval, P161.
26. **FAOSTAT data., 2007.** Food and Agriculture Organisation of The United Nation, <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx>.
27. **FAOSTAT data., 2010.** Food and Agriculture Organisation of The United Nation, [http://faostat.fao.org/site/567/Desktop default.aspx](http://faostat.fao.org/site/567/Desktop%20default.aspx). *Fusarium* wilt pathogens of chickpea in Pakistan. Pakistan Journal of Botany, 42(2): 1369.

28. **Gan Y. T., Siddique K. H. M., MacLeod W. J. et Jayakumar P., 2005.** Management options for minimizing the damage by *Ascochyta blight* (*Ascochyta rabiei*) in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Research*, 97:121–134. Genetics of *Ascochyta* blight resistance in chickpea. *Euphytica*, 171: 337–343. Genotyping with RADP markers resolves pathotype diversity in the *Ascochyta* blight.
29. **Girard C., 1985.** L'installation du pois chiche du printemps. In *Bulletin FNAMS*
30. **Gordon T. R. and Martyn R. D., 1997.** The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology*, 35:111-128.
31. **Haware M. P., Jimenez-Diaz R. M., Amin K. S., Phillips J. C. and Halila H.**
32. **Horn N.M., Reddy S.V., Reddy D.V.R. 1995.** Assessment of yield losses caused by chickpea chlorotic dwarf geminivirus in chickpea (*Cicer arietinum*) in India. *European Journal of Plant Pathology*, 101:221-224. <http://legume.ipmpipe.org>
33. **Iqbal S. M. et Ghafoor A., 2005.** Identification of blight resistant genotypes from local and exotic chickpea. *Genetic resources Pakistan Journal of Botany*, 37(1): 79-86.
34. **Iqbal S.M., Ghafoor A., Ayub N. et Ahmad Z., 2004.** Pathogenic diversity in *Ascochyta rabiei* isolates collected from Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 36(2): 429-437.
35. **Jabeen K., Javaid A., Ahmed E. et Athar M., 2010.** Antifungal compounds from *Melia azedarach* leaves for management of *Ascochyta rabiei*, the cause of chickpea blight. *Natural Product Resources*, 12:1-13.-Jamil F., Sarwar N, Khan J., Zahid M. H., Yousaf S., Arshad H. et Ul Haq I., 2010.
36. **Jayakumar P., Gan Y. T., Gossen B. D., Warkentin T. D. and Banniza S. (2005).** *Ascochyta* blight of chickpea: infection and host resistance mechanisms. *Canadian J. Plant Pathol.* 27:499 – 509.
37. 10- **Kaiser W.J., Coca F.W. and Vega S. (2000a).** First report of *Ascochyta* blight of chickpea in Latin America. *Plant Dis.* 84: 102.
38. **Kaack, H.J et Weltzien, H.C., 1984:** Epidemiological aspects of chickpea *Ascochyta* blight. In: *Ascochyta* blight et winter sowing of chickpeas. Saxena, M.C. et Singh, K.B. (eds). The Hague, the Netherlands: Maritus Nijhoff/Dr Junk. pp.35-44.
39. **Kaiser , W.J., 1972 :** Factors affecting growth , sporulation , pathogenicity and survival of *Ascochyta rabiei* . *Mycologia* , 65 , pp 444-547.
40. **Kaiser W.J. 1981.** Diseases of chickpea, lentil, pigeon pea and therapy bean in continental United.
41. **Kaiser W.J. and Küsmenoglu I. (1997).** Distribution of mating types and the teleomorph of *Ascochyta rabiei* on chickpea in Turkey. *Plant Dis.* 81: 1284-1287.

Références bibliographiques

42. **Kaiser, W.J., 1997:** Intra- and international spread of ascochyta pathogens of chickpea, faba bean, and lentil. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 19:215-224.
43. **Kanouni H., Taleei A. and Okhovat M. (2011).** Ascochyta blight (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab.) of chickpea (*Cicer arietinum* L.): Breeding strategies for resistance. *Int. J. Plant Breed. Genet.*5: 1-22.
44. **Kavousi H. R., Marashi H., Mazafari J. et Bagheri A. R., 2009.** Expression of phenylpropanoid pathway genes in chickpea defense against Race 3 of *Ascochyta rabiei*. *Plant Pathol.*
45. **Ketelaer, E., Diekmann, M et Weltzien, H.C., 1988:** International spread of *Ascochyta rabiei* in chickpea seeds: An attempt at prognosis. *International Chickpea Newsletter*. 18:16-17.
46. **Khan H. R., Mc Donald G. K. and Rengel Z., 1998.** Assesment of the Zn status of chickpea by plant analysis. *Plant and soil* **198**:1-9.
47. **Khan H., Zeb A., Ali Z. and Shah S. M., 2009.** Impact of five insecticides on chickpea (*Cicer arietinum* L.) nodulation, yield and nitrogen fixing rhizospheric bacteria. *Soil and environnement.*, **1**: 56-59.
48. **Khan M.S.A., Ramsey M.D., Corbiere R., Infantino A., Porta-Puglia A., Bouznad Z., Scott E.S.(1999).** Ascochyta blight of chickpea in Australia: identification, pathogenesis and mating type. *Plant Pathol.*48:230-434.
49. **Khune M.M. and Kapoor J.M. (1980).** *Ascochyta rabiei* synonymous with *Phoma rabiei*. *Indian Phytopathol.* 33:119-120.
50. **Ladizinsky G., 1975.** A New *Cicer* from Turkey. *Notes Roy. bot. Gard. Edinb.*(in Press) In Muehlbauer F. J, Rajesh P. N., 2008. Chickpea, a common source of protein and starch in the semi-arid tropics. PH. Moore, R Ming (eds.) *Genomics of tropical crop plants*.
51. **Lie T. A., 1971.** Temperature dependent root nodule formation in pea cv. Tran. *Plant soil.*, 34: 751-752.
52. **Lopez-Bellido L., Lopez-Bellido R. J., Castillo J. E. and Lopez-Pellido F. J., 2004.** Chickpea response to tillage and soil residual nitrogen in a continuous rotation with wheat I. Biomass and seed yield. *Field Crops research* 88: 191-200.
53. **Luthra J.C., Sattar A. and Bedi K.S. (1935).** Life history of gram blight (*Ascochyta rabiei*) on gram and its control in the Punjab. *Agric.Lives. India.*5:489-498. 3, 667-681. 8. **37**:705-715. 40(1-2): 35-42.
54. **Maden, S., Singh, D., Mathur, S.B., Neergaard, P., 1975:** Detection et location of seed-borne inoculum of *Ascochyta rabiei* et its transmission in chickpea (*Cicer arietinum*). *Seed Science et Technology*
55. **Mahler R. L., Saxena M. C., and Aeschllmann J., 1988.** Soil fertility requirements of pea, lentil, chickpea, and faba bean. Pages 279-289 in world Crops (Summerfield R. J, ed). Dordrecht, The Netherlands: Kluwer academic publishers.
56. **Maurin , N., 1989 :**Biologie d'Ascochyta fabea Speg et étude des relations hôte-parasite en vue de l'appréciation de la résistance de la fève à l'anthracnose . Thèse de doctorat d'Etat de l'Université de rennes I.
57. **Maurya S., Singh R., Singh D.P., Singh H.B., Singh U.P., Srivastava J.S.**

Références bibliographiques

- 2008.** Management of collar rot of chickpea (*Cicer arietinum*) by *Trichoderma harzianum* and a plant growth promoting Rhizobacteria. *Journal of Plant Protection Research*, 48(3): 347-354.
- 58. Michel , S.H., Farhan, M.A.et Hussanain, S.S.,1983 :** sources of broad bean infection
- 59. Moolani M. K. Y. and Chandra S., 1970.** Gram cultivation in Haryana. Haryana
- 60. Morrall R.A.A. and McKenzie D.L. (1974).** A note on the inadvertent introduction to North.
- 61. Muehlbauer F. J. and Rajesh P. N., 2008.** Chickpea, a common source of protein and starch in the semi-arid tropics. PH. Moore, R Ming (eds.) Genomics of tropical crop plants.
- 62. Navas-Cortes J. A, Trapero-Casas A. et Jimenez-Diaz R. M., 1995.** Survival of *Didymella rabiei* in chickpea straw debris in Spain. *Plant Pathology*, 44: 332-339.
- 63. Navas-Cortes J. A, Trapero-Casas A. et Jimenez-Diaz R. M., 1998.** Influence of relative humidity and temperature on development of *Didymella rabiei* on chickpea debris. *Plant pathology*, 47: 57-66.
- 64. Nene Y.L., Sheila V. and Sharma S. (1996).** A world list of chickpea and pigeon pea pathogens. *ICRISAT Pulse Pathol. Progr. Rep.*
- 65. Nene Y. L., Reddy M. V., Haware M. P., Ghanekar A. M. and Amin K. S., 1991.** Field diagnosis of chickpea diseases and their control. In: Information Bulletin n0.28, ed. By International Crops Research Institute for the semi Arid Tropics, Patancheru, India.
- 66. Nene Y.L. (1982).** A review of Ascochyta blight of chickpea. *Trop. Pest Man.* 28: 61-70.
- 67. Nene Y.L., Sheila V.K., Sharma S.B. 1996.** A world list of chickpea and pigeonpea pathogens fifth edition. Patancheru 502324 Adrah Pradesh India: Intenational Crops Research Institute for the Semi Arid Tropics. 27p.
- 68. Nene, Y.L., Reddy, M.V., 1987:** Chickpea diseases and their control. In: The chickpea. Saxena, M.C. et K.B. Singh (eds). CAB International, Oxfordshire. pp. 233-270.
- 69. Nielson D. C., 2001.** Production functions for chickpea, field pea and lentil in the ogy Journal, 8(3):127-132.
- 70. Pearse P., Mcvicar R., Yasionowski J. ea., 2005.** Agriculture de Saskathewan et nourriture, p.200. *phytopathology* 19 : 917-932.
- 71. Pieters R. et Tahiri A., 1986.** Methods for screening resistance in chickpea to ascochyta blight. *Euphytica*, 35: 1007-1010. pigeon pea pathogens. ICRISAT, India.
- 72. Rajakumar E., Aggarwal R. et Singh B., 2005.** Fungal Antagonists for the biological control of Ascochyta blight of chickpea. *Acta Phytopathologica et*

Références bibliographiques

Entomologica Hungaria.

73. **Redden, R., Berger, J.D., 2007:** History and origin of chickpea. In: Yadav SS, Redden R, Chen.
74. **Reynaud, B.,1984 :** Biologie d'*Ascochyta fabea* Speg et étude des relations hôte – parasite.
75. **Rhaïem A., Chérif M. et Harrabi M., 2006.** First Report of *Didymella rabiei* on Chickpea.
76. **Sakal R., Sinha R. B. and Singh A. P., 1988.** Effect of born application on black gram and chickpea production in calcareous soil. Fertiliser News., **33**:27-30. 709. 72p. 93-99. ICRISAT Hyderabad, India.
77. **Sattar A. (1934).** A comparative study of the fungi associated with blight disease of certain cultivated leguminous plants. *Trans. Br. Mycol. Soc.*13:276-301.
78. **Sattar, A., 1933:** On occurrence, perpetuation and control of gram (*Cicer arietinum* L.) blight caused by *Ascochyta rabiei* (Pass) with special reference to Indian conditions. *Analysis of Applied Biology.* 20:612-632.
79. **Saxena M. C., 1990.** Status of chickpea in Mediterranean basin. *CIHEAM, Options Méditerranéennes*, 9: 17-24.
80. **Saxena., 1987.** Agronomy of chickpea. In : Saxena N., Johansen P. C. and Singh K. B., eds. *The chickpea.* Wallingford, UK: CAB International, 207-232.
81. **Schwartz et Langham, 2012 .**grows stage of lentil. Disponible sur internet : semences: 25-27.
82. **Shafique S. et Shafique S., 2008.** Antifungal activity of n-hexane extracts of *Datura metel*.
83. **Shahid A. A., Husnain T. et Riazuddin S., 2008.** *Ascochyta* blight of chickpea: production of phytotoxines and disease management. *Biotechnology Adances*, 26: 511-515.
84. **Singh F. and Diwakar B., 1995.** Chickpea Botany and production Practices.
85. **Singh K. B., Reddy M. V. et Nene Y. L., 1984.** Intrnational testing of chickpea for resistance to *Ascochyta* blight. *Plant Disease*Vol. 68 N°9: 782-784.

86. **Singh G. and Bushan L. S., 1979.** Water use, water use efficiency and yield of dryland chickpea as influenced by fertilization, stored soil water and crop season rainfall. *Agricultural Water Management.*, **2**:299-305.

87. **Singh K. B. et Reddy M. V., 1996.** Improving chickpea yield by incorporating resistance to.37:207-214. 10. 1890. 1990. Integrated management of wilt and root rots of chickpea. In: Chickpea in the nineties: Proc 2nd Int. Workshop chickpea improvement. ICRISAT Center, Patancheru, India ICRISAT Publication pp, 129-133.
88. **Singh K.B. 1990.** Winter chickpea problems and potential in the Mediterranean region. *Options méditerranéennes – Série Sémnaires*, 9:25-34.
89. **Singh M. et Singh A., 1990.** Growth and sporulation of *Neovossia indica* in weath callus culture. *Indian Phytopathology*, 29: 113-115.
90. **Singh U., 1985.** Nutritional quality of chickpea (*Cicer arietinum* l.): Current

Références bibliographiques

status and future research needs. Quality plant foods Human Nutrition., 35: 339-351

91. **Site 1-** www.pir.sa.gov.au species: the poor state of the world collection. Crop Sciences., 43:1076-1090.1890.
92. **Sprague, R ., 1929** : Host range and life – history studies of some leguminous *Ascochyta* .
93. **Staginnus C., Winter P., Desel C., Schmidt T. and Kahl G., 1999.** Molecular structure and chromosomal localization of major repetitive DNA families in the chickpea (*Cicer arietinum* L.) genome. Plant molecular Biology 39:1037-1050,1999. States and Puerto Rico. *Economic Botany*, 35(3):300-320.
94. **Summerfield R. J., Minchin F. R., Roberts E. H. and Hadley P., 1979.** The effects of photoperiod and air temperature on growth and yield chickpea (*Cicer arietinum* L.). Proceedings International workshop on chickpea improvement. Ed.
95. **Taleei A., Kanouni H., Baum M., Peyghambari S.A., Okhovat S.M. and Abang M. (2008).** Identification and mapping of QTLs for resistance to ascochyta blight (Pathotype III) in chickpea. Proceedings of the 2nd International Conference on Future Generation Communication and Networking, Hainan Island, FGCN, China: 51-54.
96. **Tawaha A. R. M., Turk M.A. et Kyung Dong Lee, 2005.** Adaptation of chickpea to Cultural Practices in a Mediterranean Type Environment. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 1(2): 152-157. Thèse de Master, Université de Saskatchewan, Saskatoon, Canada, 161p. Thèse de Master, Université de Saskatchewan, Saskatoon, Canada, 161p.
97. **Trapedro-Casas, A et Kaiser, W.J., 1992:** Influence of temperature, wetness period, plant age et inoculum concentration on infection et development of *Ascochyta* blight of chickpea. Phytopathology, 82: 589-596.
98. **Trapedro-Casas, A., Navas-Cortés, J.A. and Jiménez-Díaz, R.M., 1996:** Airborne ascospores of *Didymella rabiei* as a major primary inoculum for ascochyta blight epidemics in chickpea crops in southern Spain. European Journal of Plant Pathology. 102:327-245.
99. **Trapedro-Casas A. 1999.** Diseases of chickpea in the Mediterranean region: les maladies du pois chiche en region méditerranéenne. *GRAIN LEGUME*, 25(3):19-20.
100. **Trapedro-Casas A. et Kaiser W. J., 2009.** Alternative hosts and plant tissues for the survival, sporulation and spread of the *Ascochyta* blight pathogen of chickpea. European Journal of Plant Pathology, 125:573–587.
101. **Traperro-Casas A., Kaiser W. J. and Ingram D. M., 1990.** Control of *Pythium* seed rot and preemergence damping-off of chickpea in the U. S. Pacific Northwest and Spain. Plant Diseases., 74:563-569.
102. **Van Der Maesan L. J. G., 1972.** *Cicer* L. a monograph on the genus with

Références bibliographiques

- special references to the chickpea (*Cicer arietinum* L.), its ecology and cultivation. Thesis, Agricultural.
- 103. Verret F., 1982.** Etude de quelques légumineuses à gousses grains adaptées au semis de printemps dans la zone méditerranéenne. Mémoire D.A.A. Montpellier, France,
- 104. Vincent C. and Gregory P. J., 1986.** Differences in the growth and development of chickpea seedling roots (*C. arietinum*). Experimental Agriculture., **22**: 233-242. vue de l'appréciation de la résistance de la févrole à l'antracnose. Thèse de D.E.A. W, Sharma B. (eds). Chickpea Breeding and Management. CABI: Wallingford, UK. Pp.1-13.
- 105. Wallen, V.R. et Galway, D.A., 1977:** Studies on the board bean. Can Plant Dis .Surv. 57,31-35.
- 106. Winch T., 2006.** Growing Food. A Guide to Food Production. Eds. Springer, 333p.
- 107. Yu, T.F., 1947:** *Ascochyta blight* and leaf and pod spot of broad bean in China. Phytopathology
- 108. Yusuf A. M., Krishnamurthy L., Saxena N. P., Rupela O. P., Kumar J. and Johansen C., 2002.** Scope for genetic manipulation of mineral acquisition in chickpea. Plant and soil., 245:123-134.
- 109. Zikara-Zine F, 2003.** Etude des groupes de conjugaison de 15 isolats algériens d'*Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. pour la reproduction sexuée (ou forme parfaite) : analyse de la variabilité pathologique de leurs descendants. Thèse de Magister INA El Harrach Alger.

Résumé

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est une légumineuse alimentaire qui constitue une denrée à large consommation et à grand intérêt économique. Cependant cette culture est sujette à de nombreuses affections, bactériennes, virales et notamment fongiques dont l'anthracnose (*Ascochyta rabiei*) constitue l'une des maladies majeures. Ce qui nous a permis d'aborder dans ce travail une lutte biologique et chimique contre l'anthracnose de pois chiche ainsi les résultats obtenus montrent que les essais de confrontation directe sur milieu de culture PDA effectués avec les antagonistes *Pythium sp*; *Trichoderma h*; *Aspergillus f*; *Aspergillus n* vis à vis de *Ascochyta rabiei*, ont révélé que le *Pythium sp* a inhibé la croissance mycélienne du *Ascochyta rabiei* de plus de 50% par rapport au témoin et ce après 10 jours d'incubation à 22 °C. Des résultats presque similaires ont été obtenus avec *Trichoderma harzianum* ce qui nous fait dire que les deux antagonistes révèlent un effet micro-parasitaire très significatif. D'autre part, il a été montré que l'antagoniste *Aspergillus niger* a inhibé la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* de plus de 45% mais l'antagoniste *Aspergillus fumigatus* leur indice d'inhibition a été vacillant en fonction du temps d'incubation. Par ailleurs, il s'est avéré que la formulation chimique était très efficace contre *Ascochyta rabiei*. Au plan comportemental les variétés Flip 84-92; Flip 90c; se sont montrées les plus résistantes vis à vis du pathogène utilisé.

Mots-clés : Agent pathogène « *Ascochyta rabiei* », Agents antagonistes, Anthracnose, lutte biologique, lutte chimique, test de confrontation, variétés de pois chiche.

Summary

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is a food legume which is a large consumer commodity and great economic interest. But this culture is prone to many diseases, bacterial, viral and fungal particular with anthracnose (*Ascochyta rabiei*) is one of the major diseases. This allowed us to approach in this work a biological and chemical control against anthracnose chickpea and the results obtained show that the direct confrontation tests on PDA culture medium made with the antagonists *Pythium sp*; *Trichoderma harzianum*; *Aspergillus fumigatus*; No screws *aspergillus* àvis of *Ascochyta rabiei*, showed that the latter inhibited mycelial growth. *Ascochyta rabiei* of more than 50% compared to the control and that after 10 days of incubation at 22 ° C. Almost similar results have been obtained with *Trichoderma harzianum* what makes us say that the two antagonists reveal a Mycro-parasitic effect very significant. On the other hand, it has been demonstrated the antagonist *Aspergillus Niger* to inhibited mycelial growth *Ascochyta rabiei* over 45% but the antagonist *Aspergillus fumigatus* ranked inhibition was Staggering according to the incubation time. Share in the plan hieurt chemical control it atévéré that the wording used was very effective against *Ascochyta rabiei*. In terms conpormental varieties flip 84-92; Flip 90c; Ghab 5 have proved most resistant screw opinion of the pathogen used.

Keywords: pathogenic agent "*Ascochyta rabiei*" antagonistic agents, Anthracnose, biological control, chemical control, confrontation test, chickpea varieties.

ملخص

يعد الحمص (*Cicer arietinum L*) من أهم البقوليات ذات قدرة استهلاكية عالية و أهمية اقتصادية كبيرة لغناه بجزئيات البروتين و الطاقة . ولكن هذه الزراعة عرضة لكثير من الأمراض البكتيرية الفيروسية , و الفطرية ومن بين هذه الأمراض المرض الفطري الانتراكنوز (*Ascochyta rabiei*) الذي يعد من اخطر الأمراض التي تصيب محصول الحمص في معظم مناطق زراعته ومن خلال هذا العمل تبين أن هذا المرض متواجد في الجزائر هذا مما سمح لنا بتسهيل دراسة مكافحة البيولوجية و الكيميائية ضد الانتراكنوز (*Ascochyta rabiei*) لنبات الحمص (*Cicer arietinum L*) و بينت النتائج المحصل عليها أن اختبارات المواجهة المباشرة على الوسط المغذي PDA مع الخصوم الفطرية *Pythium sp*؛ *Aspergillus n*؛ *Aspergillus*؛ *Trichoderma h*؛ انه تكشف على وجود تأثير تضاد ميكروطفيلي كبير جدا مع *Pythium sp* *Trichoderma h*؛ ومن ناحية أخرى بينت الدراسة بتأثير الخصم *Aspergillus n* كان بمعدل تثبيط أكثر من 45٪ ولكن الخصم *f Aspergillus* لم يكن جد مؤثر على المرض *Ascochyta rabiei*

وكشفت أيضا مكافحة الكيميائية على أن التركيبة % 25.2 *Boscalide* و *Pyraclostrobine* % 12,8/المستعملة كانت فعالة جدا ضد المرض *Ascochyta rabiei* على الأصناف الثلاثة Flip 90c ; 84-92 ; 5 Ghab.

كلمات المفتاح : عامل مسبب للمرض الانتراكنوز، الخصوم الفطرية، مكافحة البيولوجية، مكافحة الكيميائية واختبار المواجهة، وأصناف الحمص.

Nom et Prénom : Serarma Djemaa	Date de soutenance : 17/06/2015												
<p>Titre : Approche à la lutte biologique et chimique contre l'Anthraxose « <i>Ascochyta rabiei</i> » du Pois chiche « <i>Cicer arietinum L.</i> »</p> <p>Diplôme : Master en Biotechnologie et amélioration des plantes</p>													
<p>Résumé</p> <p>Le pois chiche (<i>Cicer arietinum L.</i>) est une légumineuse alimentaire qui constitue une denrée à large consommation et à grand intérêt économique. Cependant, cette culture est sujette à de nombreuses affections bactériennes, virales et notamment fongiques dont l'anthraxose (<i>Ascochyta rabiei</i>) constitue l'une des maladies majeures. Ce qui nous a permis d'aborder dans ce travail l'étude de la lutte biologique et chimique contre l'anthraxose de pois chiche. Les résultats relatifs aux essais de confrontation directe sur milieu de culture PDA effectués avec les antagonistes <i>Pythium sp</i>; <i>Trichoderma h</i>; <i>Aspergillus f</i>; vis à vis de <i>Ascochyta rabiei</i>, ont révélé que <i>Pythium sp</i> a inhibé la croissance mycélienne de <i>A. rabiei</i> de plus de 50% par rapport au témoin et ceci après 10 jours d'incubation à 22 °C. Des résultats presque similaires ont été obtenus avec <i>Trichoderma harzianum</i>, ce qui nous permis de dire que les deux antagonistes révèlent un effet mycro-parasitaire très significatif. D'autre part, l'agent antagoniste '<i>A. niger</i>' a inhibé la croissance mycélienne d'<i>Ascochyta rabiei</i> de plus de 45%, par contre, l'indice d'inhibition de l'antagoniste <i>A. fumigatus</i> était vacillant en fonction du temps d'incubation. Par ailleurs, il s'est avéré que la formulation chimique utilisée était très efficace contre <i>Ascochyta rabiei</i>. Sur le plan comportemental, les variétés Flip 84-92 ; Flip 90c ; Ghab 5 se sont montrées les plus résistantes vis à vis du pathogène utilisé.</p>													
<p>Mots-clés : Agent pathogène « <i>Ascochyta rabiei</i> », Agents antagonistes, Anthracnose, lutte biologique, lutte chimique, test de confrontation, variétés de Pois chiche.</p>													
<p>Jury de soutenance</p> <table border="0"> <tr> <td>Président : Mr Fercha A</td> <td>Maître de conférence</td> <td>Université Abbès Laghrour Khenchela</td> </tr> <tr> <td>Encadreur : Mr Oufroukh A</td> <td>Maître de Recherche</td> <td>INRA , Constantine</td> </tr> <tr> <td>Melle Bouziane Z</td> <td>Maître assistante</td> <td>Université Abbès Laghrour Khenchela</td> </tr> <tr> <td>Examinatrice : Mme Mamen N</td> <td>Maître assistante</td> <td>Université Abbès Laghrour Khenchela</td> </tr> </table>		Président : Mr Fercha A	Maître de conférence	Université Abbès Laghrour Khenchela	Encadreur : Mr Oufroukh A	Maître de Recherche	INRA , Constantine	Melle Bouziane Z	Maître assistante	Université Abbès Laghrour Khenchela	Examinatrice : Mme Mamen N	Maître assistante	Université Abbès Laghrour Khenchela
Président : Mr Fercha A	Maître de conférence	Université Abbès Laghrour Khenchela											
Encadreur : Mr Oufroukh A	Maître de Recherche	INRA , Constantine											
Melle Bouziane Z	Maître assistante	Université Abbès Laghrour Khenchela											
Examinatrice : Mme Mamen N	Maître assistante	Université Abbès Laghrour Khenchela											
<p>Laboratoire de recherche : Laboratoire de l'unité de recherche agronomique (INRA) Constantine</p>													

