

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة عبد الحميد بن باديس - مستغانم
Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem
كلية علوم الطبيعة و الحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم العلوم الزراعية
Département d'Agronomie



THÈSE

de
Doctorat en Sciences

Filière: Sciences Agronomiques
Spécialité: Protection des Végétaux

Etude de *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., agent de l'anthracnose du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) : variabilité pathogénique, antagonisme et sources de résistance des espèces spontanées de *Cicer*

Présentée et soutenue publiquement par :

Mr. BENZOHRA Ibrahim Elkhailil

Devant le jury :

Président	M. YUCEF BENKADA Mokhtar	Pr.	Univ. Mostaganem
Directeur de Thèse	M. BENDAHMANE Boubekour Seddik	Pr.	Univ. Mostaganem
Co-Promoteur	M. LABDI Mohamed	D.R.	INRAA/URO Sidi Bel Abbés
Examineur	M. BELABID Lakhdar	Pr.	Univ. Mascara
Examineur	M. BELAHCENE Miloud	Pr.	C. Univ. A. Témouchent
Examineur	M. BEKADA Ahmed Mohammed Ali	Pr.	C. Univ. Relizane

2015 – 2016

Remerciements

Tout d'abord je tiens à remercier toutes les personnes rencontrées au cours de ce travail ayant eu une implication directe ou indirecte.

Mes vifs remerciements s'adressent à monsieur le Professeur, YUCEF BENKADA Mokhtar, de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, d'avoir accepté de présider mon jury.

Je souhaite aussi remercier Messieurs : Pr. BELABID Lakhdar, de l'Université de Mascara, Pr. BELAHCENE Miloud, du Centre Universitaire d'Ain Témouchent et Pr. BEKADA Ahmed Mohammed Ali, du Centre Universitaire de Relizane, d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Cette thèse n'aurait pas vu le jour sans la confiance, la patience et la générosité de mon Directeur de thèse, Monsieur le Professeur BENDAHMANE Boubekeur Seddik, de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, que je veux particulièrement remercier. Je voudrais aussi le remercier pour le temps et la patience qu'il m'a accordé tout au long de ces années, d'avoir cru en mes capacités et de m'avoir fourni d'excellentes conditions de travail. De plus, les conseils qu'il m'a procuré tout au long de la rédaction, ont toujours été clairs et enrichissants, me facilitant grandement la tâche et me permettant la finalisation de cette thèse.

J'adresse mes plus sincères remerciements à Monsieur Mohamed LABDI, Directeur de recherche, à l'INRAA (Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie), Unité de Recherche Ouest, Sidi Bel Abbès, qui en agissant à titre de co-directeur a fortement aidé à l'aboutissement de cette thèse. Ses conseils et ses commentaires m'ont été fort utiles.

Cette thèse m'a donné l'occasion de rencontrer et de travailler avec des personnes absolument épatantes. Il est difficile de leur dire ici à quel point j'ai été touché par tout ce qu'ils ont fait pour moi.

Dédicaces

Cette thèse représente l'aboutissement
du soutien et des encouragements que ma mère m'a
prodigué tout au long de ma scolarité.

A également mon frère Houssine et ma sœur Meriem.

La patience et l'encouragement de ma femme
m'ont aidé à surmonter toutes les difficultés rencontrées
au cours de cette thèse.

A mes deux enfants HAYTHEM et SAWSEN.

A ma deuxième famille BELAIDI, A Toufik, Karima,
Hakim, Alima et Abdou.

A mes chers amis : Hamid, Habib, Karim, Boualem, Brahim,
Bouziane, Amine, Mohamed, Bachir, Saïfi ...

Résumé

Ce travail consiste à étudier la pathogénicité, la variabilité pathogénique, la lutte chimique et l'antagonisme sur les isolats de *Ascochyta rabiei*, agent de l'antracnose du pois chiche, et à chercher des sources de résistance des lignées de pois chiche et de quelques espèces spontanées du genre *Cicer* à cette maladie. L'étude de variabilité pathogénique se base sur la détermination des pathotypes et des races physiologiques de l'agent pathogène et la pathogénicité sur l'effet de la concentration de l'inoculum sur la sévérité des symptômes.

En étudiant l'agressivité du parasite, nous avons obtenu un isolat (6,25% du total) de pathotype I, 12 isolats (75%) de pathotype II et 3 isolats (18,75%) de pathotype III.

En ce qui concerne la virulence du pathogène, 4 races de *A. rabiei* ont été déterminées dans cette région (races 1, 4, 5 et 6) ; la race 1 représentée par le pathotype I, la race 4 par le pathotype II, et le pathotype III est représenté par les races 5 et 6, qui elles, sont les plus virulentes.

L'inoculation de 2 lignées de pois chiche (ILC1929 et ICC3996) par 4 concentrations différentes de conidies (10^4 , 10^5 , 5×10^5 et 10^6 conidies / ml), montre une sévérité de symptômes croissante avec l'augmentation de la concentration de l'inoculum à partir de 10^5 conidies / ml (à l'exception de la lignée ILC1929, sensible à toutes les concentrations).

Le screening des lignées de pois chiche et des espèces spontanées de *Cicer* pour la résistance à *A. rabiei*, a été effectué par l'utilisation de 3 isolats qui représentent les trois pathotypes de *A. rabiei*. 28 lignées de pois chiche et 25 lignées de 5 espèces spontanées différentes (*Cicer judaicum*, *C. bijugum*, *C. cuneatum*, *C. echinospermum* et *C. reticulatum*), ont été inoculées par les trois isolats. Un effet hautement significatif ($P < 0.01$) a été observé dans la réaction des lignées vis-à-vis des isolats. 2 lignées sensibles (ILC1929 et ILC263), 16 lignées résistantes (ILC8068, ILC5902, ILC5921, ILC6043, ILC6090, ILC249, ILC182, ILC187, ILC200, ILC202, ILC3856, Flip4107, Flip93-93C, INRA199, ICC3996 et Flip 10-5/11), et 10 lignées tolérantes (ILC4421, ILC2506, ILC7795, ILC482, ILC483, ILC484, ILC3279, ICC4309, ILC 8068 et Flip 1025). Les sources de résistance des espèces spontanées ont été observées dans toutes les lignées de *Cicer judaicum*, dans 2 lignées (ILWC0 et ILWC246) de l'espèce *C. echinospermum* et dans 3 lignées des espèces *C. reticulatum* (ILWC81, ILWC104 et ILWC247), *C. cuneatum* (ILWC37, ILWC40 et ILWC232) et *C. bijugum* (ILWC195, ILWC285 et ILWC286).

L'antagonisme des isolats de *A. rabiei* avec *Trichoderma harzianum* a montré l'existence d'un effet inhibiteur variant de 20 à 68%, hautement significatif pour deux tests effectués (confrontation directe de l'antagoniste avec le pathogène et confrontation indirecte à distance avec les substances volatiles émises par l'antagoniste). Les valeurs de la croissance mycélienne des isolats confrontés avec *T. harzianum* obtenues sont toujours inférieures (1,23 à 4,16 mm/j) à celles du témoin (3 à 7,5 mm/j). Cette inhibition est suivie par un arrêt complet de la croissance au septième jour.

Dans le test de lutte chimique, nous avons étudié l'effet *in vitro* et *in vivo* de trois fongicides de synthèse, manèbe « Manebe80[®] », chlorothalonil « Bravo[®] » et azoxystrobine « Ortiva[®] » sur la croissance mycélienne de cinq isolats de *Ascochyta rabiei* et l'incidence de la maladie sur l'hôte. Les résultats obtenus, statistiquement fiables (C.V. < 20%) montrent que l'essai de lutte chimique *in vitro* par l'utilisation de ces 3 fongicides sur les isolats, a un effet hautement significatif ($P < 0.01$) sur la croissance mycélienne du pathogène. Les trois fongicides provoquent un taux d'inhibition (TI%) important de la croissance mycélienne, qui varie globalement entre 30 et 66,35% selon les régions et les isolats. On observe une action importante induite par le chlorothalonil (54 à 65,30%) suivi de près par l'azoxystrobine (46 à 63%) et le manèbe (30 à 65,35). Le test de lutte chimique *in vivo* sur les folioles détachées a montré un pourcentage de réduction de la sévérité de l'antracnose variable de 20 à 80%. Nous avons remarqué que le fongicide de type systémique (azoxystrobine) donne une action significative intéressante sur la réduction des symptômes qui varie entre 71 et 80%, par contre les deux fongicides de contact (manèbe et chlorothalonil), inhibent l'apparition des symptômes à moins de 50% (20 à 47%) globalement.

Mots clés : *Ascochyta rabiei*, *Cicer arietinum*, *Cicer* sp., variabilité pathogénique, antagonisme, fongicide, résistance.

Abstract

The aims of this work is to study the pathogenicity, pathogenic variability, chemical control and antagonism on *Ascochyta rabiei* isolates, the agent of ascochyta blight in chickpea, and sources of resistance of chickpea germplasm and its wild *Cicer* species against this disease. The study of pathogenic variability based on the determination of pathotypes and physiological races of the pathogen and pathogenicity by the effect of inoculum concentration on the severity of symptoms. We found only one isolate (6.25%) from pathotype I (the least aggressive), 12 isolates (75%) from pathotype II (moderate aggressive) and three isolates (18.75%) from pathotype III (highly aggressive). Four races of *A. rabiei* were determined in this region (races 1, 4, 5 and 6). Races 1 and 2 were established in pathotype I, race 4 was represented by the pathotype II, and pathotype III included the two races 5 and 6, which were virulent isolates. The results obtained showed that the disease severity increased with increasing of inoculum concentration from 10^5 conidia/ml for the resistant line, while the susceptible one was affected with all the tested fungal conidial concentrations.

Screening of chickpea germplasm and its wild relatives *Cicer* species accessions for resistance to *A. rabiei*, was carried out by using 3 isolates representing the 3 pathotypes of *A. rabiei*. 28 chickpea lines and 25 lines of 5 wild species (*Cicer Judaicum*, *C. bijugum*, *C. cuneatum*, *C. echinospermum* and *C. reticulatum*) were inoculated with three isolates of *A. rabiei* which represent the three pathotypes of the pathogen. 16 chickpea germplasm exhibited highly resistant response (ILC8068, ILC5902, ILC5921, ILC6043, ILC6090, ILC249, ILC182, ILC187, ILC200, ILC202, ILC3856, Flip4107, Flip93-93C, INRA199, ICC3996 and Flip 10-5/11), 2 lines were susceptible (ILC263 and ILC1929), and 10 chickpea germplasm (ILC4421, ILC2506, ILC7795, ILC482, ILC483, ILC484, ILC3279, ICC4309, ILC 8068 and Flip 1025), displayed tolerant reaction. Sources of resistance in wild *Cicer* species are in all lines of *Cicer judaicum*, in 2 lines of the species *C. echinospermum* (ILWC0 and ILWC246), and 3 lines for the species *C. reticulatum* (ILWC81, ILWC104 and ILWC247), *C. cuneatum* (ILWC37, ILWC40 and ILWC232) and *C. bijugum* (ILWC195, ILWC285 and ILWC286).

Antagonism of *A. rabiei* isolates with *Trichoderma harzianum* showed existence of inhibitory effect between 20 and 68%, is highly significant for both tests (direct

confrontation with the antagonist and the pathogen confrontation with volatiles substances emitted by the antagonist). Values of mycelial growth of isolates confronted with *T. harzianum* obtained are always lower (1.23 to 4.16 mm / day) than the control (3 to 7.5 mm / day). This inhibition is followed by a complete cessation of growth on the seventh day.

In the chemical control test, we studied the *in vitro* effect of three synthetic fungicides, maneb "Manebe80 ®" chlorothalonil "Bravo ®" and azoxystrobin "Ortiva ®" on the mycelial growth of five isolates of *Ascochyta rabiei*. The results, statistically reliable (C.V. <20%) indicate that the *in vitro* test of chemical control using these three isolates on fungicides, has a highly significant effect ($P < 0.01$) on the mycelial growth of the pathogen. Three fungicides cause a significant inhibition rate (TI%) of mycelial growth which varies generally between 30 and 66.35% depending on the region and isolates. Induced a significant share chlorothalonil (54 to 65.30%), followed closely by azoxystrobin (46-63%) and maneb (30 to 65.35) is observed. The *in vivo* test of chemical control by detached leaflets showed a remarkable percentage of reduction in the severity of *Ascochyta* blight varies between 20 and 80%. We noticed that the systemic fungicide like (azoxystrobin) gave an encouraging reduction in disease reduction ranging between 71 and 80%, for against other two contact fungicides (chlorothalonil and maneb), citing reduced an unable to 50% (from 20 to 47%).

Key words : *Ascochyta rabiei*, *Cicer arietinum*, *Cicer* sp., pathogenic variability, antagonism, fungicide, resistance.

ملخص

إن العمل المقدم يمثل في دراسة القدرة و التغيير الإيمراضى و التضاد الميكروبي و تأثير المبيدات الفطرية على عزلات الفطر *Ascochyta rabiei* المسبب لمرض لفحة الأسكوكيتا لمحصول الحمص *Cicer arietinum* L. ، و كذا تقييم مقاومة بعض سلالات الحمص و *Cicer* لمرض اللفحة. إعمدنا في دراسة التغيير الإيمراضى على الأنواع البرية لجنس الحمص تحديد الأنماط الممرضة و السلالات و تأثير إختلاف تراكيز المعلق البوغي على ظهور أعراض المرض، و كذا دراسة قدرة تثبيط المبيدات: *Manèbe* « *Manebe80*® », *Chlorothalonil* « *Bravo*® », *Azoxystrobin* « *Ortiva*® الميسيليوم لخمس عزلات . بينت نتائج دراسة التغيير الإيمراضى وجود عزلة واحدة للنمط الممرض 1 (اقل إمراضا)، 12 عزلة للنمط الممرض 2 (ذو قدرة امراضية متوسطة) و 3 عزلات للنمط الممرض 3 (أكثر إمراضا)، اما السلالات الفيزيولوجية وجدنا 4 سلالات فقط. فيما يخص دراسة شدة المرض بناء على تركيز المعلق البوغي للعزلات لاحظنا ان عتبة أعراض ظهور مرض اللفحة هي 5×10^5 بوغة /مل (عدا السلالة ILC1929 التي أبدت حساسيتها لكل تراكيز المعلق). لاحظنا وجود قدرة تضاد معتبرة للفطر *Trichoderma harzianum* على نمو الميسيليوم للعزلات تتراوح ما بين 20 و 68% (4.16 ملم / يوم كحد أقصى مقارنة بالشاهد (7.5 ملم / يوم)). بينت نتائج دراسة تثبيط المبيدات وجود تأثير جد معنوي على نمو العزلات مقارنة بالشاهد، مع قدرة تثبيط تتراوح ما بين 30 و 66% مع قدرة تثبيط معتبرة للمبيد: chlorothalonil. فيما يخص تثبيط أعراض المرض، بينت النتائج وجود قدرة تثبيط تصل إلى 66% .

أما نتائج غربلة الأصول الوراثية لنبات الحمص و الأنواع البرية للجنس *Cicer* بينت فروق جد معنوية $P < 0.01$ تجاه عزلات الفطر. لوحظ في سلالات الحمص: سلالتان لهما حساسية معتبرة تجاه العزلات: (ILC 263 ، ILC 1929) و 16 سلالة مقاومة: (ILC4421, ILC2506, ILC7795, ILC482, ILC483, ILC484, ILC3279, ICC4309, Flip 1025 ..) سلالات ذات مقاومة متوسطة (ILC7795 , ILC 482 , ILC 483 , ILC 3279 , ILC 8068, Flip 1025 ...). أما الأنواع البرية فقد لاحظنا مقاومة معتبرة لكل سلالات النوع البري *Cicer judaicum* تجاه العزلات و سلالتان مقاومتان للنوع *Cicer echinospermum* (ILWC0, ILWC246) 3 سلالات: *Cicer reticulatum* (ILWC81, ILWC104, ILWC247) و *Cicer cuneatum* (ILWC104, ILWC247) و (ILWC232, ILWC195, ILWC285 et ILWC286) *C. bijugum* .

الكلمات المفتاحية: *Ascochyta rabiei* ، *Cicer arietinum* ، الأنواع البرية ، التغيير الإيمراضى ، التضاد الميكروبي ، مقاومة ، مبيد.

Travaux scientifiques de thèse publiés et présentés aux manifestations scientifiques

CH2 Détermination des pathotypes et des races physiologiques de *A. rabiei*

Publication 1:

Benzohra IE, Bendahmane BS, Labdi M & Youcef Benkada M (2012). Determination of pathotypes and physiological races in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., the agent of ascochyta blight in chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Algeria. *African Journal of Agricultural Research* 07 (7): 1214-1219.

Communication :

Benzohra IE, Bendahmane BS, M Labdi, Mahiout D & M Youcef Benkada (2012). Détermination des pathotypes et des races physiologiques de *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., agent de l'anthracnose du pois chiche (*Cicer arietinum* L.). *Proceedings de 3^{èmes} Journées scientifiques de faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie 'SESNV', 11 et 12 Avril 2012, Mostaganem.*

CH3 Influence de la concentration de l'inoculum de *A. rabiei* sur la sévérité de l'anthracnose sur le pois chiche

Publication 2:

Bendahmane BS, **Benzohra IE**, Mahiout D, Youcef Benkada M & Labdi M (2012). Fungal inoculum potential on severity of ascochyta blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Middle East Journal of Scientific Research* 11(5): 555-558.

CH4 Sources de résistance des lignées de pois chiche à *A. rabiei*

Publication 3:

Benzohra IE, Bendahmane BS, Labdi M & Youcef Benkada M (2013). Sources of resistance in Chickpea Germplasm to Three Pathotypes of *Ascochyta rabiei* in Algeria. *World Applied Sciences Journal* 21 (6): 873-878. doi 10.5829/idosi.wasj.2013.21.6.2874.

Publication 4:

Benzohra IE, Bendahmane BS, Youcef Benkada M & Labdi M (2015). Screening of 15 chickpea germplasm accessions for resistance to *Ascochyta rabiei* in north west of Algeria. *American Eurasian Journal of Agriculture and Environment Sciences* 15 (1): 109-114. Doi10.5829/idosi.aej.2015.15.1.12505.

Communication :

Benzohra IE, Bendahmane BS, Youcef Benkada M et M Labdi (2013). Sources de résistance des lignées de pois chiche et de quelques espèces spontanées (*Cicer* sp.) à *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. *Proceedings de 4^{èmes} Journées scientifiques de faculté des sciences de la nature et de la vie 'SNV', 09 et 10 Avril 2013, Mostaganem.*

CH5 Evaluation des espèces spontanées de *Cicer* pour la résistance à *Ascochyta rabiei*

Publication 5:

Benzohra IE, Bendahmane BS, Youcef Benkada M & Labdi M (2014). Evaluation of wild *Cicer* species accessions for resistance to *Ascochyta rabiei* in Algeria. *African Journal of Microbiology Research* 08 (20): 2022-2029. DOI 10.5897/AJMR2014.6628.

Communication :

Benzohra IE, Bendahmane BS, Youcef Benkada M et M Labdi (2012). Evaluation des espèces spontanées de *Cicer* pour la résistance à *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. *Premier Séminaire National sur la Protection des Cultures et de l'Environnement, les 10 et 11 Décembre 2012, Mostaganem.*

CH6 Lutte biologique *in vitro* contre *A. rabiei* par l'utilisation de *Trichoderma harzianum*

Publication 6:

Benzohra IE, Bendahmane BS, Labdi M & Youcef Benkada M (2011). *In vitro* biocontrol using the antagonist *Trichoderma harzianum* against the algerian isolates of *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., the agent of *Ascochyta* blight in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Microbiological Research* 02 (2) : 124-128.

Communication :

Benzohra IE, Bendahmane BS, Labdi M & M Youcef Benkada (2011). Lutte biologique *in vitro* par l'utilisation de *Trichoderma harzianum* contre *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., agent causal de l'anthracnose du pois chiche (*Cicer arietinum* L.). *2^{èmes} Journées scientifiques de faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, 25 et 26 Mai 2011, Mostaganem.*

CH7 Lutte chimique par l'utilisation de 3 fongicides de synthèse manèbe « Manebe80[®] », chlorothalonil « Bravo[®] » et azoxystrobine « Ortiva[®] »

Communications:

Benzohra IE, Bendahmane BS, Youcef Benkada M, Labdi M & Blanco Prieto R (2014). Effets de 3 fongicides de synthèse (manèbe, chlorothalonil et azoxystrobine) sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei*, agent de l'anthracnose du pois chiche. *Proceedings de 5^{èmes} Journées scientifiques de faculté des sciences de la nature et de la vie 'SNV', le 07 et 08 Mai 2014, Mostaganem.*

Benzohra IE, Bendahmane BS, Youcef Benkada M & Labdi M (2015). Effet de trois fongicides de synthèse (manèbe, chlorothalonil et azoxystrobine) sur l'incidence de l'anthracnose du pois chiche. *Séminaire International sur la Protection des cultures: Gestion intégrée pour une agriculture durable, le 23, 24 et 25 Février 2015, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.*

Liste des Abréviations

°C : Degré Celsius.

gr : Gramme.

ha : Hectare.

CLIMA: Centre for Legumes in Mediterranean Agriculture, Crawley WA, Australie.

ICRISAT: Institut International de la Recherche sur les Cultures Semi Arides Tropicales, Patanchero, Inde.

ICARDA: Centre International de la Recherche Agronomique dans les Régions Arides, Alep, Syrie.

ICC : International of Chickpea Cultivar

ILC: International Legume of Chickpea

ILWC: International Legume of Wild *Cicer*

INRA: Institut National de la Recherche Agronomique, Rennes, France.

INRAA/URO: Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie/Unité de Recherche Ouest, Sidi Bel Abbés, Algérie.

l: Litre.

ml: Millilitre.

mm: Millimètre.

mm/j: Millimètre par jour.

MT: Millions de Tonnes.

ql: Quintal.

qx : Quintaux.

µm: Micromètre.

T°: Température.

Liste des Tableaux

CH1 Revue Bibliographique

Tableau 01 : Evolution de la superficie, de la production et du rendement de la culture de pois chiche dans le monde des 10 dernières années.

Tableau 02: Principales zones de culture de pois chiche en Algérie.

Tableau 03 : Données sur les pertes quantitatives causées par *Ascochyta rabiei* chez certains pays.

Tableau 04 : Sources de résistance du pois chiche à *A. rabiei* identifiées durant les deux décennies 1980s et 1990s.

Tableau 05 : Lignées de pois chiche considérées comme résistantes à l'antracose dans différents pays (Pande et *al.*, 2005).

Tableau 06 : Réaction de lignées des espèces spontanées de *Cicer* à *A. rabiei*.

Tableau 07 : Espèces annuelles et pérennes (vivaces) du genre *Cicer*.

Tableau 08 : Sources de résistance des espèces spontanées '*Cicer* sp.' aux contraintes biotiques et abiotiques de la culture du pois chiche.

Tableau 09 : Principales études faites sur le croisement *Cicer arietinum* × *Cicer* sp.

CH2 Détermination des pathotypes et des races physiologiques de *A. rabiei*

Tableau 10: Lignées différentielles de pois chiche et leur origine.

Tableau 11: Isolats de *Ascochyta rabiei* avec origine et date d'isolement.

Tableau 12: Classement des 16 isolats de *A. rabiei* en pathotypes et en races physiologiques par l'utilisation de 7 lignées différentielles de pois chiche.

Tableau 13: Analyse de variance de réactions de 7 lignées de pois chiche vis-à-vis de 16 isolats de *A. rabiei*.

Tableau 14: Comparaison de la sévérité de la maladie entre les isolats de *Ascochyta rabiei*.

Tableau 15: Réaction des lignées de pois chiche vis-à-vis des isolats de *A. rabiei*.

CH3 Influence de la concentration de l'inoculum de *A. rabiei* sur la sévérité de l'antracose sur le pois chiche

Tableau 16: Isolats de *Ascochyta rabiei* avec origine, date d'isolement et degrés d'agressivité.

Tableau 17: Sévérité de l'antracose sur les deux lignées de pois chiche inoculées par 4 concentrations de l'inoculum de *A. rabiei*.

Tableau 18: Analyse de variance de l'effet de la concentration de l'inoculum sur la sévérité des symptômes de l'antracose.

CH4 Sources de résistance des lignées de pois chiche à *A. rabiei*

Tableau 19: Lignées différentielles de pois chiche et origine.

Tableau 20: Isolats de *Ascochyta rabiei* avec origine, date d'isolement et degrés d'agressivité.

Tableau 21: Résistance et sensibilité des lignées de pois chiche aux trois pathotypes de *A. rabiei*.

Tableau 22: Agressivité des trois pathotypes de *A. rabiei* sur les lignées de pois chiche.

Tableau 23: Réaction de 25 lignées de pois chiche vis-à-vis de 3 pathotypes de *A. rabiei*.

CH5 Evaluation des espèces spontanées de *Cicer* pour la résistance à *Ascochyta rabiei*

Tableau 24: Isolats de *Ascochyta rabiei* avec origine, date d'isolement et degrés d'agressivité.

Tableau 25 : Lignées de pois chiche et lignées d'espèces spontanées de *Cicer*.

Tableau 26 : Sensibilités ou résistances des lignées des espèces spontanées de *Cicer* aux trois isolats de *A. rabiei* (pathotype I, II et III).

Tableau 27 : Réaction des lignées des espèces spontanées de *Cicer* à l'isolat Sba 02 de *A. rabiei* (pathotype I).

Tableau 28 : Réaction des lignées des espèces spontanées de *Cicer* à l'isolat At 02 de *A. rabiei* (pathotype II).

Tableau 29 : Réaction des lignées des espèces spontanées de *Cicer* à l'isolat Mos 02 de *A. rabiei* (pathotype III).

CH6 Lutte biologique *in vitro* contre *A. rabiei* par l'utilisation de *Trichoderma harzianum*

Tableau 30 : Isolats de *Ascochyta rabiei* avec origine et date d'isolement.

Tableau 31 : Moyennes de croissance mycélienne (mm/j) des isolats de *A. rabiei* confrontés avec *T. harzianum*.

Tableau 32 : Moyennes de croissance mycélienne (mm/j) des isolats de *A. rabiei* confrontés indirectement avec *T. harzianum* (Effet des substances volatiles).

CH7 Lutte chimique par l'utilisation de 3 fongicides de synthèse manèbe « Manebe80[®] », chlorothalonil « Bravo[®] » et azoxystrobine « Ortiva[®] »

Tableau 33 : Fongicides de synthèse utilisés pour le test d'inhibition de la croissance mycélienne de *A. rabiei*.

Tableau 34 : Effets de trois fongicides de synthèse sur la croissance mycélienne de l'isolat de Mascara.

Tableau 35 : Effets de trois fongicides de synthèse sur la croissance mycélienne de l'isolat de Aïn Témouchent.

Tableau 36 : Effets de trois fongicides de synthèse sur la croissance mycélienne de l'isolat de Tlemcen.

Tableau 37 : Effets de trois fongicides de synthèse sur la croissance mycélienne de l'isolat de Sid Bel Abbès.

Tableau 38 : Effets de trois fongicides de synthèse sur la croissance mycélienne de l'isolat de Relizane.

Tableau 39: Réduction de l'incidence de la maladie de l'antracnose (RIM %) sur trois lignées de pois chiche sous l'effet de trois fongicides de synthèse.

Liste des Figures

CH1 Revue Bibliographique

Figure 01 : Le pois chiche, *Cicer arietinum* L.

Figure 02 : Répartition de la production mondiale de pois chiche.

Figure 03 : Evolution des superficies et des productions de la culture de pois chiche en Algérie durant la période 1963-2011.

Figure 04 : Variations du rendement de pois chiche en Algérie durant la période 1963-2011.

Figure 05 : Distribution géographique de l'antracnose en Algérie.

Figure 06 : Observation microscopique de conidies et de pycnides de *Ascochyta rabiei*.

Figure 07 : Observations microscopiques de *Didymella rabiei* (Forme parfaite de *Ascochyta rabiei*).

Figure 08 : Symptômes de *Ascochyta rabiei* sur pois chiche.

Figure 09 : Cycle biologique de *Ascochyta rabiei* sur pois chiche.

Figure 10 : Processus de l'infection de *A. rabiei* sur pois chiche.

Figure 11 : Distribution géographique des espèces spontanées du genre *Cicer*.

Figure 12 : Schéma illustrant les relations entre 9 espèces de *Cicer* annuelles fondées sur les différentes méthodes utilisées pour établir les relations.

CH2 Détermination des pathotypes et des races physiologiques de *A. rabiei*

Figure 13 : Aspect cultural des isolats de *Ascochyta rabiei* originaires du nord ouest algérien.

Figure 14: Echelle de notation des symptômes d'après Reddy et Singh (1984).

Figure 15: Distribution géographique des pathotypes de *A. rabiei* dans la région du nord ouest algérien.

CH4 Sources de résistance des lignées de pois chiche à *A. rabiei*

Figure 16: Réaction de 15 lignées de pois chiche aux trois pathotype de *A. rabiei*.

Figure 17: Réaction de 13 lignées de pois chiche aux trois pathotype de *A. rabiei*.

Figure 18: Dendrogramme montrant la similitude et le regroupement successif des lignées de pois chiche basé sur leur réaction aux pathotypes de *A. rabiei*.

CH5 Evaluation des espèces spontanées de *Cicer* pour la résistance à *Ascochyta rabiei*

Figure 19 : Agressivité des trois pathotypes de *A. rabiei* sur les lignées des espèces spontanées de *Cicer*.

CH6 Lutte biologique *in vitro* contre *A. rabiei* par l'utilisation de *Trichoderma harzianum*

Figure 20 : Technique de confrontation directe.

Figure 21 : Technique du test des substances volatiles (Confrontation indirecte).

Figure 22 : Taux d'inhibition (TI) de la croissance mycélienne de *A. rabiei* sous l'effet de *T. harzianum*

Figure 23 : Effet antagoniste de *T. harzianum* sur la croissance mycélienne de *A. rabiei* (Exemple de l'isolat Msc0108).

Figure 24 : Taux d'inhibition (TI) de croissances mycéliennes de *A. rabiei* sous l'effet des substances volatiles de *T. harzianum*.

Figure 25 : Effet des substances volatiles de *T. harzianum* sur la croissance mycélienne de *A. rabiei*.

CH7 Lutte chimique par l'utilisation de 3 fongicides de synthèse (manèbe « Manebe80[®] », chlorothalonil « Bravo[®] » et azoxystrobine « Ortiva[®] »)

Figure 26 : Test d'inoculation des folioles détachées du pois chiche par *A. rabiei*, sous l'effet des fongicides de synthèse.

Figure 27 : Effet du fongicide de synthèse 'Manèbe' sur la croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei*.

Figure 28 : Effet du fongicide synthèse 'Azoxystrobine' sur la croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei*.

Figure 29 : Effet du fongicide de synthèse 'Chlorothalonil' sur la croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei*.

Figure 30 : Taux d'inhibition (TI%) de la croissance mycélienne de 5 isolats de *A. rabiei* sous l'effet de trois fongicides de synthèse.

Figure 31 : Moyennes de réduction de la sévérité de l'antracnose (en %) du pois chiche sous l'effet des fongicides de synthèse.

Figure 32 : Symptômes de *A. rabiei* sur les folioles du pois chiche en présences et en absence des fongicides de synthèse.

Figure 33 : Réduction de la sévérité de l'antracnose (en %) du pois chiche sous l'effet du fongicide 'Manèbe'.

Figure 34 : Réduction de la sévérité de l'antracnose (en %) du pois chiche sous l'effet du fongicide 'Chlorothalonil'.

Figure 35 : Réduction de la sévérité de l'antracnose (en %) du pois chiche sous l'effet du fongicide 'Azoxystrobine'.

Annexes

Figure 36 : Préparation du milieu de culture CDA (Chickpea Seed-Meal Agar) (A : coulage sur les boites de Pétri ; B : coulage sur les tubes à essai inclinés).

Figure 37 : La cellule de Malassez observée au microscope (G×10).

Liste des Annexes

- Annexe 01:** Principaux pays producteurs de pois chiche.
- Annexe 02:** Evolution de productions, de rendements et de superficies de pois chiche en Algérie durant la période 1963-2010 (FAO, 2012)
- Annexe 03:** Préparation du milieu de culture
- Annexe 04:** Préparation de la suspension de spores
- Annexe 05:** Groupes homogènes des facteurs étudiés F1 (Agressivité) et F2 (Résistance).
- Annexe 06:** Données de regroupements d'essais, interaction : isolat – lignée
- Annexe 07:** Distribution géographique des pathotypes de *A. rabiei* dans la région du nord ouest algérien
- Annexe 08:** Données de regroupements d'essais de l'interaction : isolat – lignée pour les différentes concentrations de *A. rabiei*.
- Annexe 09:** Notations de la sévérité des symptômes sur les lignées de pois chiche 15 jours après l'inoculation par les isolats de *Ascochyta rabiei*.
- Annexe 10:** Données de regroupements d'essais, interaction : Isolot (Pathotype I) – lignée d'une espèce spontanée
- Annexe 11:** Données de regroupements d'essais, interaction : Isolot (Pathotype II) – lignée d'une espèce spontanée
- Annexe 12:** Données de regroupements d'essais, interaction : Isolot (Pathotype III) – lignée d'une espèce spontanée
- Annexe 13:** Analyse de variances de l'essai de screening des lignées des espèces spontanées de *Cicer* aux isolats de *A. rabiei*
- Annexe 14:** Classement des lignées des espèces spontanées (*Cicer* sp.) en groupes homogènes selon leur réaction au pathotype I
- Annexe 15:** Classement des lignées des espèces spontanées (*Cicer* sp.) en groupes homogènes selon leur réaction au pathotype II
- Annexe 16:** Classement des lignées des espèces spontanées (*Cicer* sp.) en groupes homogènes selon leur réaction au pathotype III
- Annexe 17:** Notations des degrés de sévérité de l'antracnose sur les lignées des espèces spontanées de *Cicer* après 15 jours de l'inoculation par l'isolat Sba 02 de *Ascochyta rabiei*

Annexe 18: Notations des degrés de sévérité de l'anthraxose sur les lignées des espèces spontanées de *Cicer* après 15 jours de l'inoculation par l'isolat At 02 de *Ascochyta rabiei*

Annexe 19: Notations des degrés de sévérité de l'anthraxose sur les lignées des espèces spontanées de *Cicer* après 15 jours de l'inoculation par l'isolat Mos 02 de *Ascochyta rabiei*

Annexe 20: Moyennes de croissances mycéliennes des isolats de *Ascochyta rabiei* sous l'effet de 3 fongicides de synthèse par rapport aux témoins.

Annexe 21: Croissances mycéliennes des isolats de *Ascochyta rabiei* traités et témoins.

Table des Matières

Pages

Remerciements.....	02
Dédicaces.....	03
Résumé.....	04
Abstract.....	06
ملخص.....	08
Travaux scientifiques de thèse publiés et présentés aux manifestations scientifiques.....	09
Liste des abréviations.....	11
Liste des tableaux.....	12
Liste des figures.....	14
Liste des annexes.....	16
Introduction générale.....	23
Chapitre 1 : Revue bibliographique	
1.1. Pois chiche.....	27
1.1.1. Historique.....	27
1.1.2. Taxonomie et caractères botaniques.....	27
1.1.3. Caractéristiques agronomiques.....	28
1.1.4. Cycle et saisons de la culture.....	29
1.1.5. Types de cultivars.....	29
1.1.6. Importance de la culture dans le monde.....	30
1.1.7. Situation de la culture de pois chiche en Algérie.....	32
1.2. Agent pathogène <i>Ascochyta rabiei</i>	34
1.2.1. Répartition géographique et importance économique de la maladie.....	34
1.2.2. Taxonomie et caractéristiques biologiques de <i>Ascochyta rabiei</i>	36
1.2.3. Symptomatologie.....	39
1.2.4. Biologie et épidémiologie de l'agent pathogène.....	41
1.2.4.1. Conservation et contamination primaire.....	41
1.2.4.2. Contamination secondaire.....	42
1.2.4.3. Influences des facteurs de l'environnement sur le développement de <i>A. rabiei</i> ..	42
1.2.4.3.1. Température.....	43
1.2.4.3.2. Durée d'humectation foliaire (Leaf Wetness Period) (LWP).....	43
1.2.4.3.3. Humidité relative.....	44
1.2.4.3.4. Lumière.....	44

1.2.4.3.5. Nutrition.....	44
1.2.4.3.6. Le pH.....	44
1.2.4.3.7. Facteurs de dissémination.....	45
1.2.4.4. Cycle épidémique.....	45
1.2.5. Processus de l'infection de <i>A. rabiei</i>	45
1.2.6. Variabilité pathogénique de <i>Ascochyta rabiei</i>	47
1.2.7. Méthodes de lutte.....	47
1.2.7.1. Lutte culturale.....	47
1.2.7.2. Lutte chimique.....	48
1.2.7.2.1. Traitement de semences.....	48
1.2.7.2.2. Application foliaire de fongicides.....	49
1.2.7.3. Lutte biologique.....	49
1.2.7.4. Lutte génétique.....	50
1.2.7.4.1. Amélioration génétique du pois chiche pour la résistance à <i>A. rabiei</i>	53
1.2.7.4.2. Sources de résistance des espèces spontanées de <i>Cicer</i> à <i>A. rabiei</i>	53
1.3. Utilisation des espèces spontanées ' <i>Cicer</i> sp.' dans l'amélioration génétique du pois chiche.....	55
1.3.1. Le genre <i>Cicer</i>	55
1.3.2. Importance des espèces spontanées « <i>Cicer</i> sp. » dans l'amélioration génétique du pois chiche.....	57
1.3.3. Hybridation interspécifique « <i>Cicer arietinum</i> × <i>Cicer</i> sp. ».....	58

Chapitre 2: Détermination des pathotypes et des races physiologiques de *A. rabiei*

2.0. Introduction.....	63
2.1. Matériel et Méthodes.....	63
2.1.1. Matériel végétal.....	63
2.1.2. Matériel fongique.....	64
2.1.3. Isolement et purification des cultures.....	64
2.1.4. Obtention des plantules et préparation de l'inoculum.....	64
2.1.5. Inoculation des plantules.....	67
2.1.6. Notations des symptômes.....	67
2.1.7. Analyse statistique.....	68
2.2. Résultats.....	68
2.3. Discussion.....	70

2.4. Conclusion.....	72
----------------------	----

Publication 1

Chapitre 3: Influence de la concentration de l'inoculum de *A. rabiei* sur la sévérité de l'antracnose sur le pois chiche

3.0. Introduction.....	73
3.1. Matériel et Méthodes.....	73
3.1.1. Matériel végétal.....	73
3.1.1.1. Lignées de pois chiche.....	73
3.1.2. Matériel fongique.....	73
3.1.2.1. Isolats de <i>Ascochyta rabiei</i>	73
3.1.3. Milieu de culture.....	74
3.1.4. Inoculation des plantules.....	74
3.1.5. Notations des symptômes.....	74
3.1.6. Analyse statistique.....	75
3.2. Résultats	75
3.3. Discussion.....	76
3.3. Conclusion.....	77

Publication 2

Chapitre 4: Sources de résistance des lignées de pois chiche à *A. rabiei*

4.0. Introduction.....	78
4.1. Matériels et Méthodes.....	78
4.1.1. Matériel végétal.....	78
4.1.2. Matériel fongique.....	78
4.1.3. Inoculation des plantules.....	79
4.1.4. Notations des symptômes.....	79
4.1.4. Analyse statistique.....	80
4.2. Résultats	80
4.3. Discussion.....	84
4.3. Conclusion.....	85

Publication 3

Publication 4

Chapitre 5: Evaluation des espèces spontanées de *Cicer* pour la résistance à *Ascochyta rabiei*

5.0. Introduction.....	87
5.1. Matériel et Méthodes	87
5.1.2. Matériel fongique.....	87
5.1.1. Matériel végétal.....	87
5.1.3. Purification des cultures et conservation des isolats.....	87
5.1.4. Obtention des plantules et préparation de l'inoculum.....	89
5.1.5. Inoculation des plantules.....	89
5.1.6. Notations des symptômes.....	89
5.1.7. Analyse statistique.....	89
5.2. Résultats	90
5.3. Discussion.....	94
5.4. Conclusion.....	95

Publication 5

Chapitre 6: Lutte biologique *in vitro* contre *A. rabiei* par l'utilisation de *Trichoderma harzianum*

6.0. Introduction.....	97
6.1. Matériel et Méthodes.....	97
6.1.1. Matériel fongique.....	97
6.1.1.1. Le pathogène	97
6.1.1.2. L'antagoniste	97
6.2. Méthodes.....	98
6.2.1. Purification et conservation des isolats.....	98
6.2.2. Confrontation directe.....	98
6.2.3. Evaluation de la croissance mycélienne.....	99
6.2.4. Confrontation indirecte.....	99
6.2.5. Analyse statistique	100
6.3. Résultats.....	100
6.3.1. Confrontation directe.....	100
6.3.2. Confrontation à distance.....	102
6.4. Discussion.....	104
6.5. Conclusion	105

Publication 6

Chapitre 7: Lutte chimique par l'utilisation de 3 fongicides de synthèse : manèbe « Manebe80[®] », chlorothalonil « Bravo[®] » et azoxystrobine « Ortiva[®] »

7.0. Introduction.....	106
7.2. Matériel et Méthodes.....	106
7.2.1. Matériel fongique	106
7.2.2. Fongicides de synthèse.....	106
7.2.3. Lignées de pois chiche.....	107
7.2.4. Purification et conservation des isolats.....	107
7.3. Test <i>in vitro</i> de l'inhibition de la croissance mycélienne.....	107
7.3.1. Evaluation de la croissance mycélienne et du taux d'inhibition.....	107
7.3.2. Analyse statistique.....	108
7.4. Test de lutte chimique <i>in vivo</i>	108
7.4.1. Notations des symptômes	109
7.4.2. Evaluation de la réduction de l'incidence de l'antracnose.....	109
7.5. Résultats	110
7.5.1. Lutte chimique <i>in vitro</i>	110
7.5.2. Lutte chimique <i>in vivo</i>	113
7.6. Discussion.....	116
7.7. Conclusion.....	117
Chapitre 8 : Conclusion générale.....	119
Références bibliographiques.....	122
Annexes.....	143

Introduction Générale

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est en importance, la troisième légumineuse alimentaire cultivée au monde après le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) et le petit pois (*Pisum sativum* L.) (Sharma et Jodha, 1984 ; Zohary et Hompf, 2000 ; Pande et *al.*, 2005). La production de pois chiche dans le monde a augmenté légèrement pendant les dernières décennies ; en 2009 la production a atteint 09 millions de tonnes, après le haricot sec (*Phaseolus vulgaris* L.) à 19MT, et le petit pois (*Pisum sativum* L.) à 10,3MT (FAO, 2013). Le rendement moyen du pois chiche varie de 390 à 3600 kg/ha, selon les conditions environnementales, la gestion de la culture, l'itinéraire technique et les contraintes biotiques et abiotiques (Gan et *al.*, 2006).

Son importance nutritionnelle relève de sa richesse en protéines et de sa composition importante en acides aminés. Sur le plan agronomique, son intérêt est lié à l'enrichissement du sol en azote et par conséquent, à sa capacité de maintenir la fertilité du sol, ce qui explique son importance dans le système de rotation avec les cultures de céréales (Alaoufir, 2001 ; Shahid et *al.*, 2008).

La production de cette culture en Algérie n'a pas augmenté, en raison d'une faible productivité avec un rendement instable durant les années de production (Labdi, 1995). Les causes de cette régression sont d'ordres agronomiques, abiotiques et biotiques (Shahid et *al.*, 2008).

Les contraintes agronomiques se manifestent dans la date de semis et les adventices, lorsque le semis se fait surtout en hiver (Pois chiche d'hiver), il provoque la coïncidence de la croissance de la plante avec les mauvaises herbes (Saxena, 1983). Les contraintes abiotiques sont généralement la sécheresse et les gelées printanières. La sécheresse cause un grand problème pour le pois chiche de printemps, tandis que les gelées printanières touchent surtout le pois chiche d'hiver (Wery, 1990). Pour cela il était préférable de cultiver le pois chiche d'hiver pour éviter la sécheresse (Labdi, 1990). Cependant en Algérie, cette période coïncide avec de fortes attaques d'une maladie très grave: l'anthracnose.

L'anthracnose causé par *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. (Téléomorphe, *Didymella rabiei* v. Arx. Syn. *Mycosphaerella rabiei* Kovachevski), est l'un des plus grand stress biotiques qui réduisent les rendements potentiels dans la culture du pois chiche (Ahmad et

al., 2006). *A. rabiei* est reconnu chez plusieurs pays du monde, y compris dans la région méditerranéenne, le Moyen-Orient et le subcontinent Indien (Nene et Reddy, 1987). L'antracnose maladie provoquée par *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., est la contrainte principale qui limite la productivité du pois chiche dans le monde (Khan *et al.*, 1999 ; Kaiser *et al.*, 2000 ; Chongo *et al.*, 2003).

En Algérie, parmi les maladies observées sur la culture de pois chiche, l'antracnose est la maladie la plus fréquemment rencontrée et celle qui cause le plus de dégâts (Zikarazine et Bouznad, 2007). Les données de plusieurs années de prospections, ont montré sa présence avec des baisses de rendement pouvant aller jusqu'à 100 % (Bouznad *et al.*, 1996). Mabsoute *et al.* (1996) ont signalé qu'en Algérie ainsi que dans les autres pays du Maghreb, l'antracnose reste la contrainte majeure de la culture du pois chiche.

La lutte chimique contre *A. rabiei* est plus efficace, mais n'est pas rentable pour les agriculteurs, pour cela, l'utilisation d'autres moyens de lutte comme la lutte biologique et génétique par des cultivars de pois chiche résistants est la stratégie la plus efficace et la plus économique dans le programme de lutte intégrée contre cette maladie (Gan *et al.*, 2006). Cependant, La culture de ces cultivars est plus difficile en raison de la variation pathogénique de *A. rabiei* (Singh, 1990). Mais dans certains cas, il est nécessaire de faire une intervention par lutte chimique pendant les saisons à risque où la maladie devient grave (conditions écologiques et culturelles favorables pour le développement de la maladie), pour les variétés considérées comme résistantes à *A. rabiei* pendant plusieurs années (ICC 3996, ILC 72, Flip 88-85 et ICC 12-004), et qui semblent actuellement plus sensibles à grande échelle (Imtiyaz *et al.*, 2011).

Les autres moyens de lutte culturaux ont connu des limites pour diminuer les dégâts causés par ce pathogène (Hawtin et Singh, 1984 ; Gan *et al.*, 2006). Singh et Reddy (1993) ont signalé que le programme de screening des lignées de pois chiche n'a pas donné des niveaux stables de résistance à *A. rabiei*. Pour cette raison, plusieurs chercheurs dans le monde ont rapporté l'existence des sources de résistance nouvelles dans des autres lignées de pois chiche ainsi que ces relatives espèces spontanées du genre *Cicer* (Nasir *et al.*, 2000 ; Malhotra *et al.*, 2000 ; Shah *et al.*, 2005 ; Frenkel *et al.*, 2007).

A cause de ces raisons, il est nécessaire donc :

Premièrement, de comprendre la variation pathogénique dans la population de *A. rabiei* dans la zone de production afin de maintenir un programme de lutte efficace. Cette étude a été réalisée pour identifier les pathotypes et les races physiologiques de *Ascochyta rabiei* face à la réaction de 7 lignées de pois chiche différentielle dans la région du nord

ouest algérien. Le terme "Pathotype" est utilisé récemment pour décrire les niveaux d'agressivité des isolats avec un ensemble de lignées différentielles par les chercheurs de l'ICARDA (Centre International de la Recherche Agronomique dans les Régions Arides, Alep, Syrie) (Udupa *et al.*, 1998) et de l'ICRISAT (Institut International de la Recherche sur les Cultures Semi Arides Tropicales, Patanchero, Inde) (Jamil *et al.*, 2000 ; Chen *et al.*, 2004).

Deuxièmement, d'étudier la pathogénicité par la détermination de la concentration de l'inoculum de *A. rabiei* nécessaire pour infecter les lignées de pois chiche.

Troisièmement, de chercher de nouvelles sources de résistance existantes chez les lignées de pois chiche et des espèces spontanées du genre du pois chiche '*Cicer*' aux isolats de *A. rabiei*.

Quatrièmement, d'évaluer l'effet antagoniste *in vitro* de *Trichoderma harzianum* sur la croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei*, par deux tests (confrontation directe de l'antagoniste avec le pathogène et confrontation à distance avec les substances volatiles émises par l'antagoniste).

Et cinquièmement, d'évaluer l'effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* de trois fongicides de synthèse (Manèbe « Manebe80[®] », Chlorothalonil « Bravo[®] » et Azoxystrobine « Ortiva[®] »), sur la croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei* et l'incidence de la maladie de l'anthracnose du pois chiche.

Les objectifs de notre travail consiste à étudier la pathogénicité et la variabilité pathogénique de l'agent pathogène *Ascochyta rabiei* ; l'effet antagoniste de *Trichoderma harzianum* sur les isolats de *A. rabiei* ; et sources de résistance des lignées de pois chiche et de quelques lignées d'espèces spontanées de *Cicer* à *A. rabiei*.

Cette présente thèse est présentée comme suit à travers huit chapitres distincts:

- ❖ *Chapitre 1* : Revue bibliographique qui décrit la culture de pois chiche (Historique, taxonomie, production et caractéristiques agronomiques) et l'agent pathogène *Ascochyta rabiei* (répartition géographique, taxonomie, biologie, épidémiologie et méthodes de lutte) ;
- ❖ *Chapitre 2*: Détermination des pathotypes et des races physiologiques de *Ascochyta rabiei* ;
- ❖ *Chapitre 3*: Etude de l'influence de la concentration de l'inoculum de *A. rabiei* sur la sévérité de l'antracnose du pois chiche ;
- ❖ *Chapitre 4*: Screening des lignées de pois chiche vis-à-vis de trois pathotypes de *A. rabiei* ;
- ❖ *Chapitre 5*: Evaluation de la résistance des espèces spontanées de *Cicer* à *A. rabiei* ;
- ❖ *Chapitre 6*: Effet inhibiteur de l'antagoniste *Trichoderma harzianum* sur la croissance mycélienne et la sporulation de *A. rabiei* ;
- ❖ *Chapitre 7* : Lutte chimique *in vitro* et *in vivo* par l'utilisation de trois fongicides de synthèse ;
- ❖ *Chapitre 8*: Conclusion générale et perspectives.

Chapitre 1

Revue bibliographique

1.1. Pois chiche

1.1.1. Historique

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est l'une des plus anciennes cultures du monde, où il est cultivé dans plusieurs pays (Zohary et Hopf, 2000). Sa culture remonte à la haute antiquité depuis 10.000 ans, au proche orient (Lev-Yadun et al., 2000 ; Kerem et al., 2007). Il a été cultivé traditionnellement dans les zones semi – arides de l'Inde, du Moyen Orient (Goodwin, 2005), de l'Afrique du Nord et de l'Ethiopie (Upadhyaya et al., 2011).

Il est, en importance, la troisième légumineuse alimentaire cultivée dans le monde, après le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) et le petit pois (*Pisum sativum* L.). Avec une production mondiale moyenne de 9 millions de tonnes sur 11 millions d'hectares (Gan et al., 2006).

1.1.2. Taxonomie et caractères botaniques

Sur le plan taxonomique, la classification du pois chiche est comme suit :

Embranchement :	Spermaphytes.
Sous - Embranchement :	Angiospermes.
Classe :	Dicotylédones.
Sous - Classe :	Dialypétales.
Ordre :	Rosales.
Famille :	Fabaceae.
Sous – famille :	Papilionacées.
Genre :	<i>Cicer</i> .
Espèce :	<i>Cicer arietinum</i> L.

(D'après Singh et Diwakar, 1995).

Sur le plan botanique, le pois chiche est une espèce diploïde ($2n = 16$), annuelle et autofécondée qui produit des graines de grandes dimensions et globuleuses (Figure 01). C'est une plante herbacée annuelle, dressée ou rampante, couverte de poils glanduleux. Sa germination est du type hypogée (les cotylédons restent souterrains). Ses racines peuvent atteindre un mètre de profondeur, mais la plupart se trouvent dans les premiers centimètres (Duke, 1981).

Sa tige anguleuse a une hauteur de 0.20 à 1 mètre de haut, ses feuilles se composent de

7 à 17 folioles ovales et dentées. Les fleurs peuvent être blanches, bleues ou violettes, solitaires et pédonculées. Les gousses sont renflées avec 1 à 2 graines presque rondes (Figure 01). Le poids de 100 grains varie de 200 à 600 gr (Van Der Maesen, 1972).

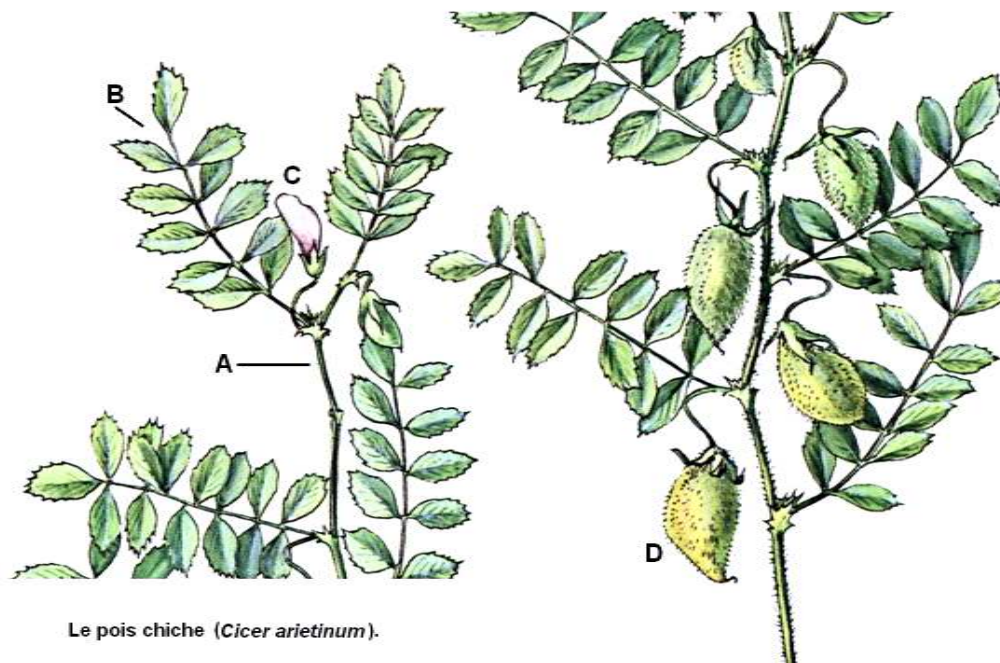


Figure 01 : Le pois chiche, *Cicer arietinum* L. : tige feuillue (A), feuille composée (B), fleur zygomorphe (C), Gousse (D) (Le Driant, 2011).

1.1.3. Caractéristiques agronomiques

Le pois chiche se développe bien dans des conditions d'humidité adéquates et à des températures variant entre 21 et 29°C le jour et proches de 20°C la nuit. La durée de la maturation dépend de la chaleur et de l'humidité disponibles, mais varie entre 95 et 105 jours pour le pois chiche « Desi » et entre 100 et 110 jours pour le pois chiche « Kabuli ». Le pois chiche résiste relativement bien à la sécheresse en raison de sa longue racine pivotante. Il n'est pas bien adapté aux zones de grande humidité, aux sols salins et lents à se réchauffer au printemps, ainsi qu'aux sols détrempés ou gorgés d'eau, Il est préférable de ne pas semer le pois chiche dans des terres basses, à proximité de marécages ou dans des sols à forte teneur en matières organiques, afin de prévenir une maturation inégale ou prolongée (Skrypetz, 2001).

Le pois chiche s'insère bien dans un système avec les céréales, il entre dans une rotation quadriennale :

* Pour les régions de pluviométrie inférieure à 500mm /an :

Pois chiche – Blé – Jachère- Blé ;

* Pour les régions de pluviométrie supérieure à 500 mm/an :

Pois chiche – Blé – Fourrage –Blé (Zoghbi, 1991).

1.1.4. Cycle et saisons de la culture

Dans le bassin méditerranéen, le pois chiche est considéré comme une culture de printemps. En général, la plante se développe vigoureusement et complète son cycle évolutif en 4 mois (Elaoufir , 2001).

Le pois chiche est habituellement cultivé au printemps en raison de sa sensibilité à *Ascochyta rabiei*, agent responsable de l'antracnose, et au froid (Singh, 1988).

Au Maroc, les comparaisons entre les deux types de culture sur trois compagnes et quatre stations ont montré que les rendements sont en moyenne de 20 quintaux par hectare pour le pois chiche d'hiver, et de 6 quintaux par hectare seulement pour la culture de printemps, ce qui permet un gain relatif d'environ 240% (Kamal, 1988).

La culture d'hiver a d'autres avantages, telles une meilleure utilisation de l'eau de pluie, la mécanisation des récoltes facilitée par le port érigé des plantes, une précocité de la récolte. Elle présente des limites par rapport à la culture de printemps. En effet, en plus des risques de gel et de l'action du froid, l'humidité relativement élevée en hiver favorise le développement de l'antracnose, maladie déjà redoutée pour la culture habituelle du pois chiche printanier (Kamal, 1988). Il est donc essentiel que le pois chiche d'hiver soit résistant à l'antracnose (Elaoufir, 2001).

1.1.5. Types de cultivars

L'espèce *Cicer arietinum* manifeste une variabilité phénotypique et génotypique. Deux types se distinguent : le type « Kabuli » et le type « Desi ». Le premier, originaire de Kabul (Afghanistan), est largement répandu dans le monde (Singh et *al.*, 1983) ; c'est le seul type cultivé dans le bassin méditerranéen (Jimenez- Diaz et Trapero – Casas ,1988).

La collection des lignées de ce type, maintenue à l'ICARDA (International Center for the Agricultural Research in the dry Areas, Alep, Syrie), est désignée par le préfixe « ILC » ; leurs graines de couleur crème sont de dimensions variables, petites, moyennes et grandes (Singh et *al.*, 1987). Le deuxième type « Desi », utilisé surtout en Inde, se distingue par la couleur jaune, noire ou rouge de ses semences (Malhotra et *al.*, 1987) ; la collection de ses lignées maintenue à l'ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Patanchero, Inde), est désignée par le préfixe « ICC » (Van Der

Maesen , 1987) .

1.1.6. Importance de la culture dans le monde

Le pois chiche est cultivé dans plusieurs pays (plus de 50 pays) d'Asie et du bassin méditerranéen, particulièrement en Inde où la production atteint 66% de la production mondiale (Figure 2 ; Annexe 01) (Upadhyaya et *al.*, 2011).

Alors qu'en Afrique et en Amérique, elle est de 4% et 3% respectivement (Singh, 1990). Récemment, la production est en expansion en Australie, au Canada et aux Etats-Unis (Pande et *al.*, 2011). Le pois chiche représente une source de protéines de qualité pour les pays en voie de développement (Goodwin, 2005), les protéines et les glucides représentent ensemble plus de 80% de la matière sèche (M S) de grains de pois chiche. Les protéines de pois chiche sont riches en acides aminés essentielles pour l'alimentation humaine (Huisman et Van Der Poel, 1994 ; Williams et Singh, 1987).

Au cours des 10 dernières années, la production mondiale a connu des hauts et des bas, la production en 1998-1999 était maximale (9.5 millions de tonnes (MT)), tandis que celle de 2000-2001 était faible (6.26 MT), (Tableau 01). Durant cette période, l'Inde produisait 60 à 70% de la production mondiale (Skrypetz, 2006).

Les pays du sous – continent indien, ainsi que l'Australie, produisent à la fois du Desi et du Kabuli. Les autres pays produisent surtout du Kabuli (Skrypetz ,2006).

En moyenne, la production mondiale est constituée de 75% de Desi et de 25% de Kabuli (Skrypetz, 2006).

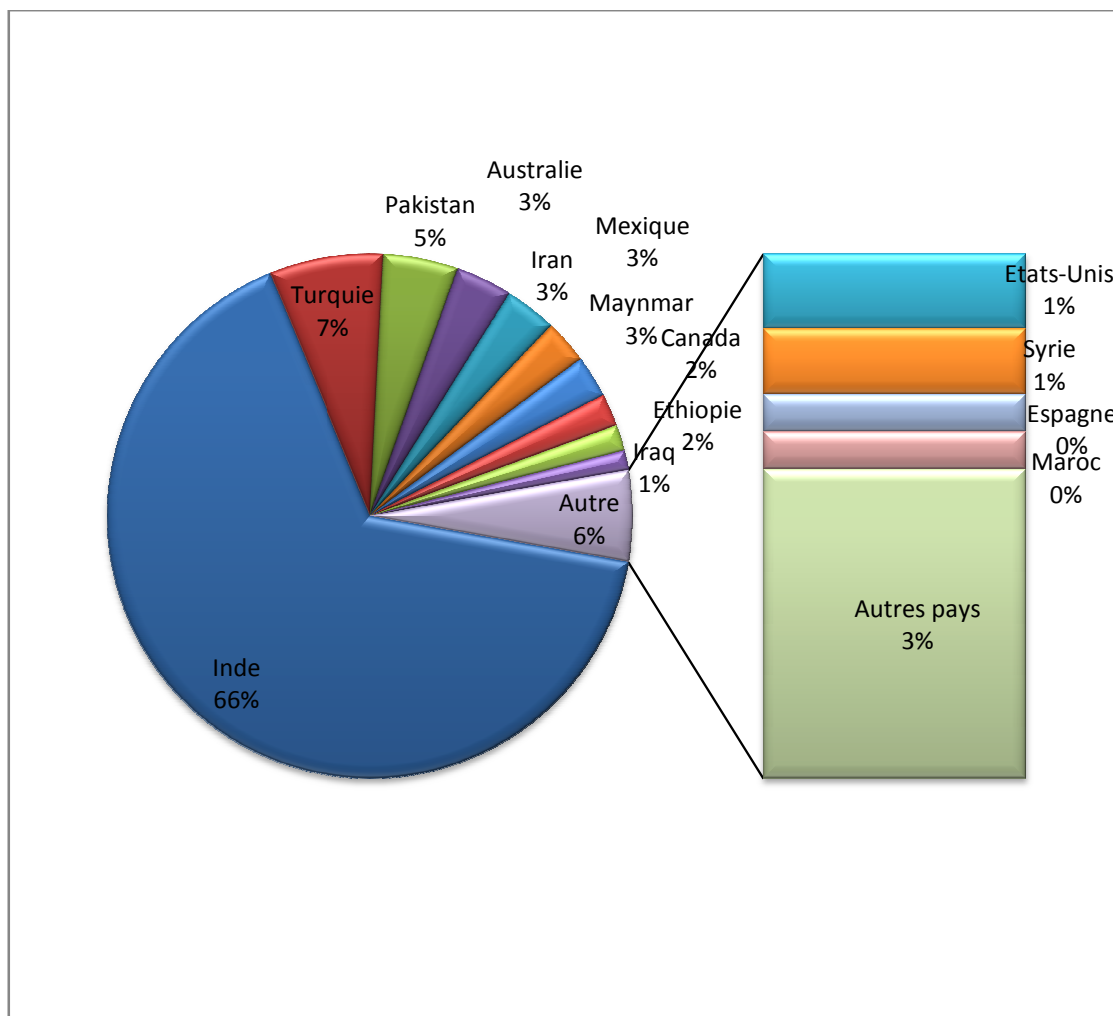


Figure 02 : Répartition de production mondiale du pois chiche en pourcentages (Annexe 01) (Skrypetz, 2006).

Tableau 01 : Evolution de la superficie, de la production et du rendement de la culture de pois chiche dans le monde dans la décennie 1997-2006 (Skrypetz, 2006).

Années	Superficies (ha)	Productions (Tonnes)	Rendement qx / ha
1997-1998	10212000	8272000	8.1
1998-1999	11227000	9486000	8.4
1999-2000	11948000	7719000	6.5
2000-2001	10422000	6265000	6.0
2001-2002	8762000	7880000	9.0
2002-2003	9900000	7085000	7.2
2003-2004	10925000	8721000	8.0
2004-2005	10545000	8333000	7.9
2005-2006	10710000	8832000	8.2
2006-2007	10800000	8650000	8.0

1.1.7. Situation de la culture de pois chiche en Algérie

En Algérie, le pois chiche représente la deuxième culture de légumineuses alimentaires après la fève avec 30.487ha soit 37.04 % des superficies, et une production de 161.799 qx soit 39.28% des légumineuses alimentaires (Annexe 02) (Ministère de l'agriculture, Ref. 993-2002).

L'analyse de l'évolution de la production et de la superficie sur 48 années (Figure 03 ; Annexe 02), montre une production variable durant la période 1963 – 1974 avec un rendement de 4 à 5 qx / ha (Figure 04). Après cette période, on observe une production maximale sur les trois années qui suivent (1975-1977) avec une production moyenne de 25.000 Tonnes , puis une chute importante, représentant une baisse de rendement, qui reste stable entre 2 et 4 qx / ha durant toutes les années qui suivent jusqu'à 1986.

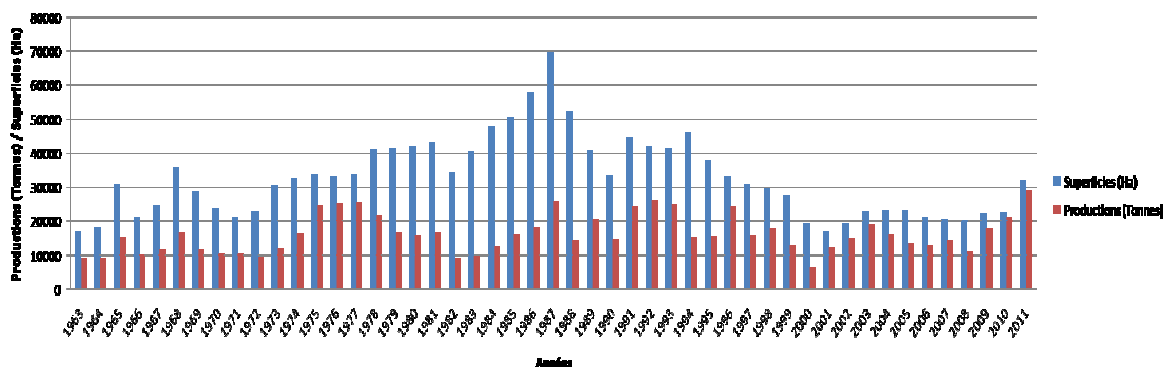


Figure 03 : Evolution des superficies et des productions de la culture de pois chiche en Algérie durant la période 1963-2011 (Annexe 02) (FAO, 2013).

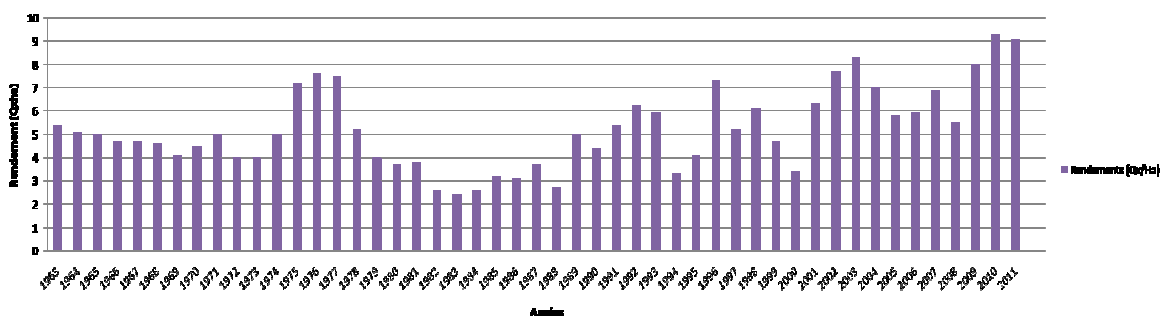


Figure 04 : Variations du rendement de pois chiche en Algérie durant la période 1963-2011 (Annexe 02) (FAO, 2013).

La dernière décennie reste dans un niveau de production entre 15 et 20000 Tonnes et la superficie réduite (Figure 03), avec un rendement dépasse 5 qx /ha (Figure 04).

En ce qui concerne la distribution des zones de production de pois chiche, le tableau 02 montre les principales zones de cultures actuelles en Algérie.

Tableau 02: Principales zones de culture de pois chiche en Algérie (Anonyme, 1988).

Zones	Pluviométrie Moyenne (mm /an)	Localisation
Plaines littorales et sub-littorales	Supérieure à 600 mm	Alger – Guelma – Annaba
Plaines d'altitude (700 à 900 m)	Entre 500et 600 mm	Tiaret – Médéa
Hautes plaines telliennes	Entre 400 et 600 mm	Sidi Bel abbés – Sétif Constantine –Tissemsilt
Plaines basses Telliennes	Entre 400 et 500 mm	Aïn Témouchent – chlef- Relizane

1.2. Agent pathogène *Ascochyta rabiei*

1.2.1. Répartition géographique et importance économique de la maladie

Le pois chiche est connu par sa très haute sensibilité à l'attaque des maladies hautement destructives et spécialement à l'anthracnose causée par *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. (Tripathi et *al.*, 1987). Cette maladie est l'une des contraintes majeures pour la production de cette culture dans tous les pays où elle est cultivée (Kamal, 1981). Elle a causé dans certaines régions, en années pluvieuses, l'anéantissement total des récoltes (Kanouni et *al.*, 2011). Le pathogène *A. rabiei* peut affecter les espèces apparentées spontanées du genre de pois chiche *Cicer* (Millan et *al.*, 2003 ; Hernandez-Bello et *al.*, 2006).

L'anthracnose du pois chiche a été décrite pour la première fois en 1911 par Butler au Pakistan (Nene, 1981 ; Nene et Reddy, 1987). Elle s'étend dans l'ouest de l'Asie, de l'Afrique du Nord et l'Europe du Sud (Nene, 1982). Cette maladie a été aussi signalée en Amérique latine et Bulgarie (Kaiser et *al.*, 2000 a). Elle a été introduite pour la première fois au Canada par les semences de pois chiche infectées (Morrall et Mckenzie, 1974). Elle a été signalée en Australie du sud en 1973 (Khan et *al.*, 1999). Cette maladie se trouve maintenant dans 35 pays producteurs de cette culture (Kaiser et *al.*, 2000 a) .

Cette maladie n'est pas récente en Algérie, elle a déjà suscité une étude par Laumont et Chevaussus en 1956 concernant la sélection de lignées résistantes, ce qui revient à dire qu'elle y existait bien avant cette date. Depuis, la maladie est devenue le facteur limitant de la production de pois chiche ; ce qui a conduit à envisager des travaux de recherches par l'institut de développement des grandes cultures (I .D. G .C) sur le problème de l'anthracnose (Makhloufia, 1991).

Plusieurs rapports quantifient les dégâts provoqués par la maladie en cultures dans différents pays (Askerov, 1968 ; Nene, 1981 ; Singh et *al.*, 1984) et peuvent induire des pertes allant de 15 à 80% (Kamal, 1981; Maheshwari et *al.*, 1984; Shuklah et *al.*,1984). Au Pakistan environ 60% de la récolte a été détruite de 1979 à 1981 (Singh, 1987), ce déficit en légumes secs a conduit ce pays à importer l'équivalent de 7,43 millions \$ en 1981-1983 (Kaiser et Hannan, 1988), et 90 millions \$ pour les années 1979 et 1980 (Malik et Tufail, 1981).

Les années 1970-1971, étaient favorables à la maladie au Maroc, les rendements n'ont été que de 0,2 qx / ha ; alors qu'en 1973-1974 où la maladie n'a pas été signalée, la production moyenne était passée à 10,3 qx /ha (Tableau 03) (Pieters et Tahiri, 1986).

En Algérie, les chiffres concernant l'évolution exacte des pertes occasionnées par cette maladie n'ont pas été estimés jusqu'à présent. Cependant, il a été rapporté que ce pathogène a entraîné la destruction de parcelles entières durant les années de forte pluviométrie (Zaâtri, 1987 ; Djellali, 1988). Maatougui et *al.* (1996) ont rapporté l'existence de l'anthraxose dans toutes les zones de production en Algérie (Figure 05).

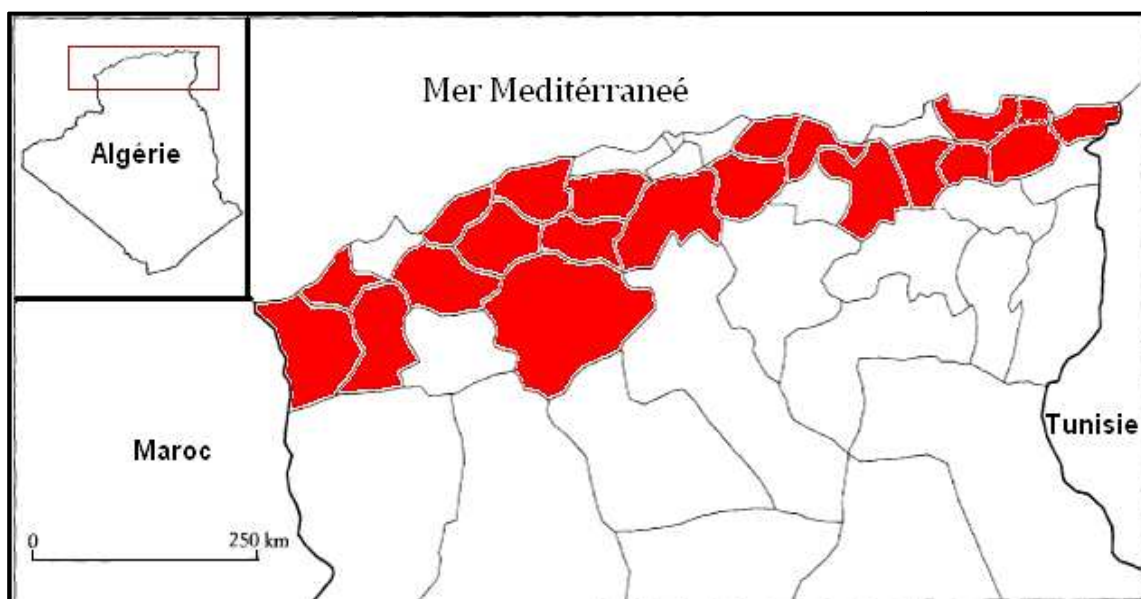


Figure 05 : Distribution géographique de l'anthraxose en Algérie (Maatougui et *al.*, 1996).

Tableau 03 : Données sur les pertes quantitatives causées par *Ascochyta rabiei* chez certains pays (Nene et Sheila, 1992).

Pays	Années	Pertes	Références
Bulgarie	1936	20-50% de rendement	Kovachevski, 1936
Maroc	1971	10 million \$	Kamal, 1981
Pakistan	1920-30	50% (1 million roupies	Malik et Tufail, 1981
	1979-80	par an)	
	1980-1981	48% de rendement Plus de 15% de rendement	
Syrie	1982	35 % de rendement	ICARDA, 1983
Tunisie	1981	40% de rendement	-
USA	1987	1 million \$ US	-
Ex- USSR	1956	100% de rendement	-

1.2.2. Taxonomie et caractéristiques biologiques de *Ascochyta rabiei*

L'agent causal de l'antracnose de pois chiche, *Ascochyta rabiei* (Pass.) lab., appartient à la subdivision des Deuteromycotina, à la classe des Coelomycètes, à l'ordre des Sphaeropsidales, et à la famille des sphaeropsidaceae (Agrios, 2004).

Passerini en 1867, lui donne le premier, le nom *Zythia rabiei* en se basant sur la forme et la couleur des spores (Unicellulaires et Hyalines), tandis que Trotter en 1918 propose le nom de *Phyllosticta rabiei* (Pass.), alors que Khune et Kapoor (1980), après avoir comparé *Phyllosticta rabiei* à deux autres champignons du pois : *Ascochyta pisi* et *A. pinodes*, concluent d'après les différences morphologiques et leur pouvoir pathogène, que *Phyllosticta rabiei* est différent de *Ascochyta pisi*, mais proche de *Ascochyta pinodes* (Labdi, 1990).

En 1931, Labrousse ayant observé une constance des spores bicellulaires de 2 à 4% sur le matériel végétal inoculé artificiellement, propose à la dénomination de *Ascochyta rabiei* (Passerini) nov. comb. En 1980, Khune et Kapoor donnent le nom de *Phoma rabiei* (Pass), Khune et Kapoor com. nov. en se basant sur les résultats de Luthra et al., 1935.

Bouznad (1989) propose également que *Ascochyta rabiei* soit considéré comme un *Phoma*, sachant que le genre *Ascochyta* est plutôt réservé aux espèces à pycnides, dont les conidies sont typiquement bicellulaires.

Les pycnides de *Ascochyta rabiei* sont de couleur brun foncé à noir et mesurent entre 100 et 225 µm de diamètre.

Les pycniospores sont généralement unicellulaires, occasionnellement bicellulaires, cylindriques, droites ou légèrement arrondies à une ou deux extrémités, hyalines et mesurent 10,0 - 17,5 x 3,1 – 5,0µm. La formation des chlamydospores n'est pas observée (Khan et al., 1999). Les conidies ont 1-2 ou 4 noyaux par conidie (Figure 06) (Bruns et Barz, 2001).

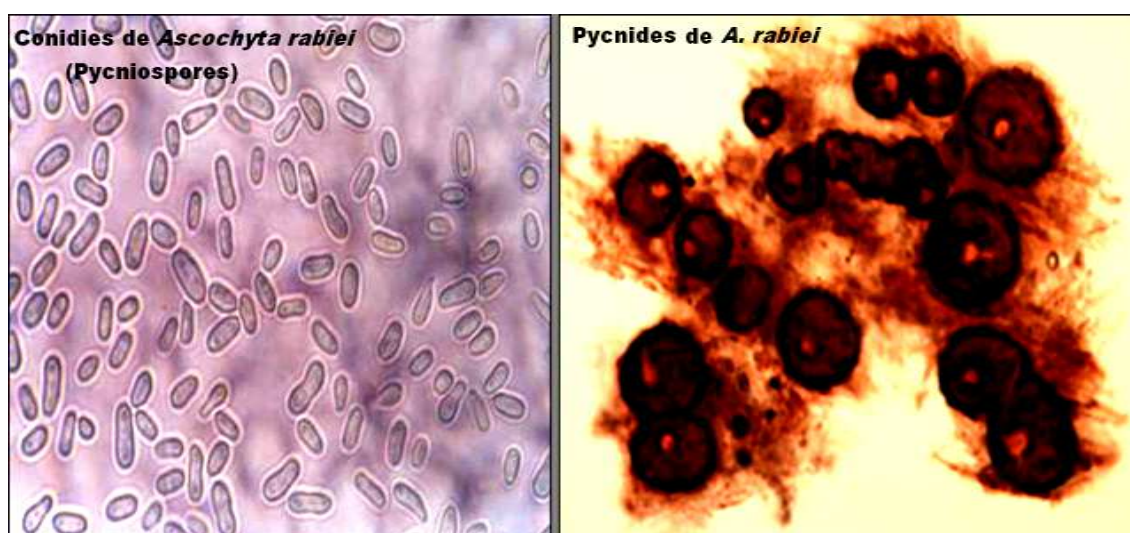


Figure 06 : Observation microscopique de conidies et de pycnides de *Ascochyta rabiei* (Conidies : Pande et al., 2010 ; Pycnides : Harveson et al., 2011).

La forme parfaite (Téléomorphe) de *Ascochyta rabiei*, *Mycosphaerella rabiei* Kovachevski V.Ar. synonyme : *Didymella rabiei* Kovachevski V. Ar. ; a été décrite pour la première fois en Bulgarie par Kovachevski en 1936. Par la suite plusieurs auteurs l'ont trouvé dans d'autres pays : Gorlenko et Bushkova en ex-URSS, en 1918 ; Zachos et al., en Grèce, en 1963 ; Ameziane, en France, en 1981 ; Kovics et al., en Hongrie, en 1986 ; Kaiser et Hannan, aux Etats – Unis, en 1987 (Labdi,1990) ; Trapero- Casas et al., en Espagne, en 1996 (Trapero- Casas et al. , 1996) ; Kaiser, en Syrie, Algérie, Portugal, Pakistan et Maroc, en 1995 (Kaiser, 1997) ; Armstrong et al., au Canada, en 1999 (Armstrong et al., 2001) ; Galloway et Macleod, en Australie, en 2003 (Galloway et

Macleod, 2003) et Rhaïem et *al.*, en Tunisie, en 2006 (Rhaïem et *al.*, 2006).

Mycosphaerella (Didymella) rabiei fait partie des Ascomycètes, classe des Loculoascomycètes, ordre des Sphaeriales, famille des Sphaeriacees et genre *Didymella (Mycosphaerella)* (Agrios, 2004).

Mycosphaerella rabiei est un champignon hétérothallique (Wilson et Kaiser, 1995) nécessitant la présence de deux types de thalles (autrement dit groupes de compatibilité sexuelle) appelés « *Mating types* », MAT1-1 et MAT1-2 pour l'accomplissement de la reproduction sexuée (Kaiser, 1997 ; Galloway et Macleod, 2003). Ces deux mating types sont nécessaires pour favoriser la reproduction sexuée (Trapero- Casas et Kaiser, 1992 a ; Wilson et Kaiser, 1995).

En effet, *A. rabiei* est reconnu par sa grande variabilité pathogénique, le plus souvent attribuée à la forme sexuée, qui peut créer de nouveaux types de virulence de l'agent pathogène (Zikara-Zine et Bouznad, 2007).

Les ascocarpes de *Mycosphaerella rabiei* sont des pseudothèces de couleur brun foncé à noir, subglobuleux avec une ostiole et mesurent 120-270 µm de diamètre (Trapero-Casas et Kaiser, 1992 a). Les asques sont cylindriques, bituniqués (deux enveloppes ou murs), et chaque asque porte 8 ascospores, les asques mesurent 50-80 x 10-12µm (Trapero – Casas et Kaiser, 1992 a), les ascospores sont hyalines et bicellulaires (Akem, 1999), biconiques sur les deux extrémités et mesurent 9,5 -10 x 4,5 - 7 µm (Figure 07) (Trapero-Casas et Kaiser, 1992 a).

Les pseudothèces sur les débris de pois chiche sont visuellement similaires aux pycnides, mais on peut facilement distinguer les ascospores aux pycniospores (Punithalingam et Holliday, 1972 ; Rhaïem et *al.*, 2008 ; Atik et *al.*, 2013).

Trapero-Casas et *al.* (2012) ont rapporté qu'il est possible d'obtenir la forme sexuée *D. rabiei* au laboratoire par la conservation des isolats de *A. rabiei* dans un milieu de culture gélosé à base des poudres de tiges de pois chiche (40 g/l) pendant 8 semaines à 8°C.

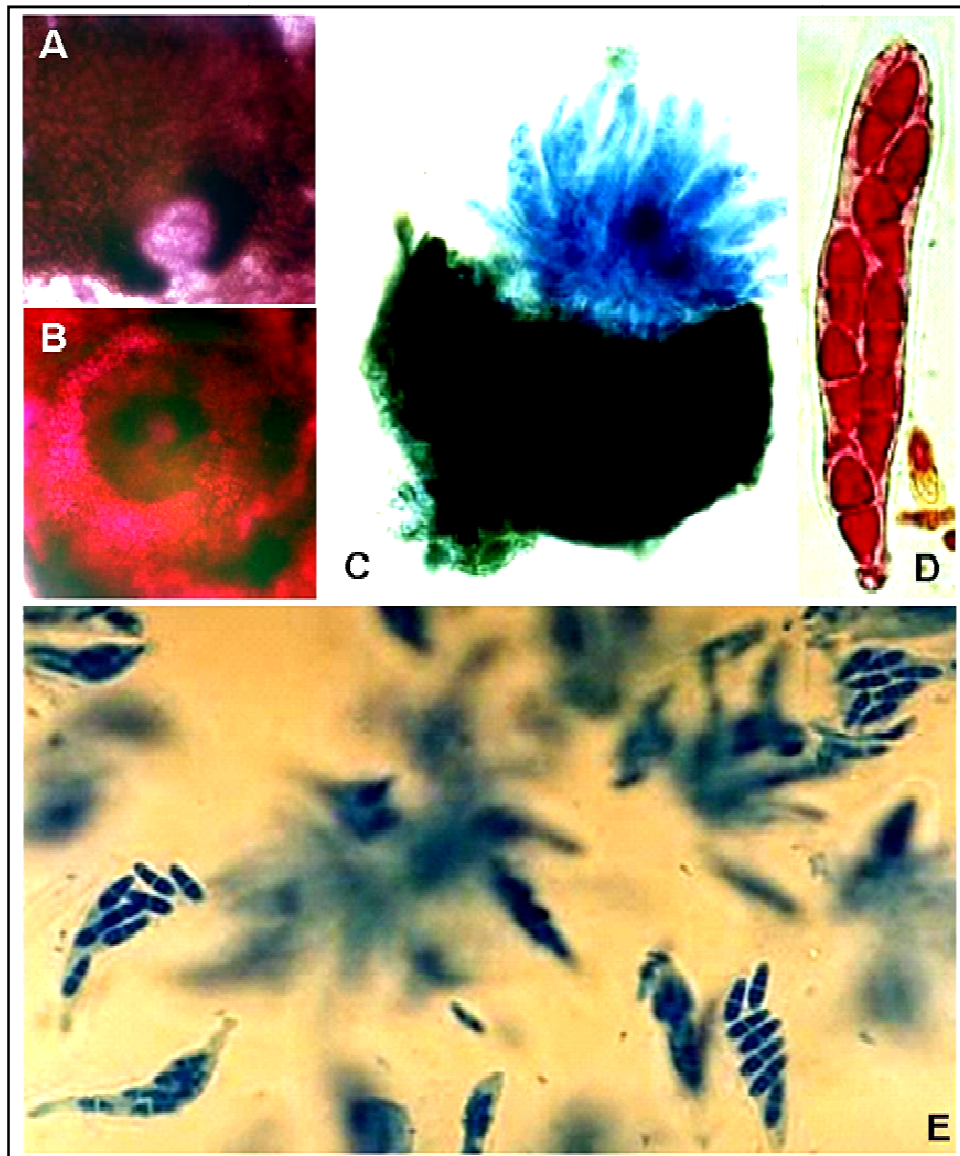


Figure 07 : Observations microscopiques de *Didymella rabiei* (Forme parfaite de *Ascochyta rabiei*). **A** et **B**, Pseudothèces avec une ostiole ; **C**, Pseudothèque avec des asques (x 400) ; **D**, Asque avec ses ascospores (x 1000) ; **E**, Asques avec ses ascospores libres (x 400) (Rhaïem et *al.*, 2006).

1.2.3. Symptômatologie

L'origine étymologique du terme « Anthracnose » vient du grec : anthrax signifiant ulcère et ose qui signifie maladie, c'est une altération nécrotique des parties aériennes de la plante. Plusieurs auteurs ont décrits les symptômes de l'antracnose du pois chiche (Ameziane, 1979 ; Khune et Kapoor, 1980 ; Nene, 1981 ; Wiese et *al.* , 1995).

Les symptômes suivent une évolution qui peut être divisée en plusieurs étapes :

- Les premiers symptômes correspondent à l'apparition de taches vertes claires sur les folioles de la plante. Les taches sont circulaires en spots.

Des pycnides apparaissent ensuite en cercles concentriques sur la foliole qui brunit, se dessèche et finit par tomber (Nene, 1980) (Figure 08, photos A et B).

- Des lésions apparaissent ensuite sur tige et pétiole. Sur les pétioles et les ramifications de la tige principale, des taches brunes allongées (3-4 cm) ponctuées de pycnides noires peuvent former un anneau ; la portion située au dessus du point d'attaque flétrit, jaunit et se dessèche. Ces organes peuvent se briser au niveau du point de l'infection sous l'action mécanique du vent ou sous leur propre poids (Nene, 1981) (Figure 08, photos C et D). Sur la tige principale, au niveau du collet, les taches brunes parfois nombreuses et confluentes évoluent en chancre profond amenant la mort de la plante entière (Nene, 1981).
- Sur les gousses apparaissent des taches concaves de dimensions variables. Les taches brunes ont une bordure sombre et parfois une lisière rouge (Zaïdi et Wirth, 1994), (Figure 08, photo E).
- Les graines en formation, d'apparence saine, peuvent porter à maturité des lésions de la maladie : Présence de taches brunes avec ou sans pycnides visibles. Une attaque sévère sur la plante provoque la formation de graines déformées (Figure 08, photo F), (Kaiser, 1972 ; Ameziane, 1985).

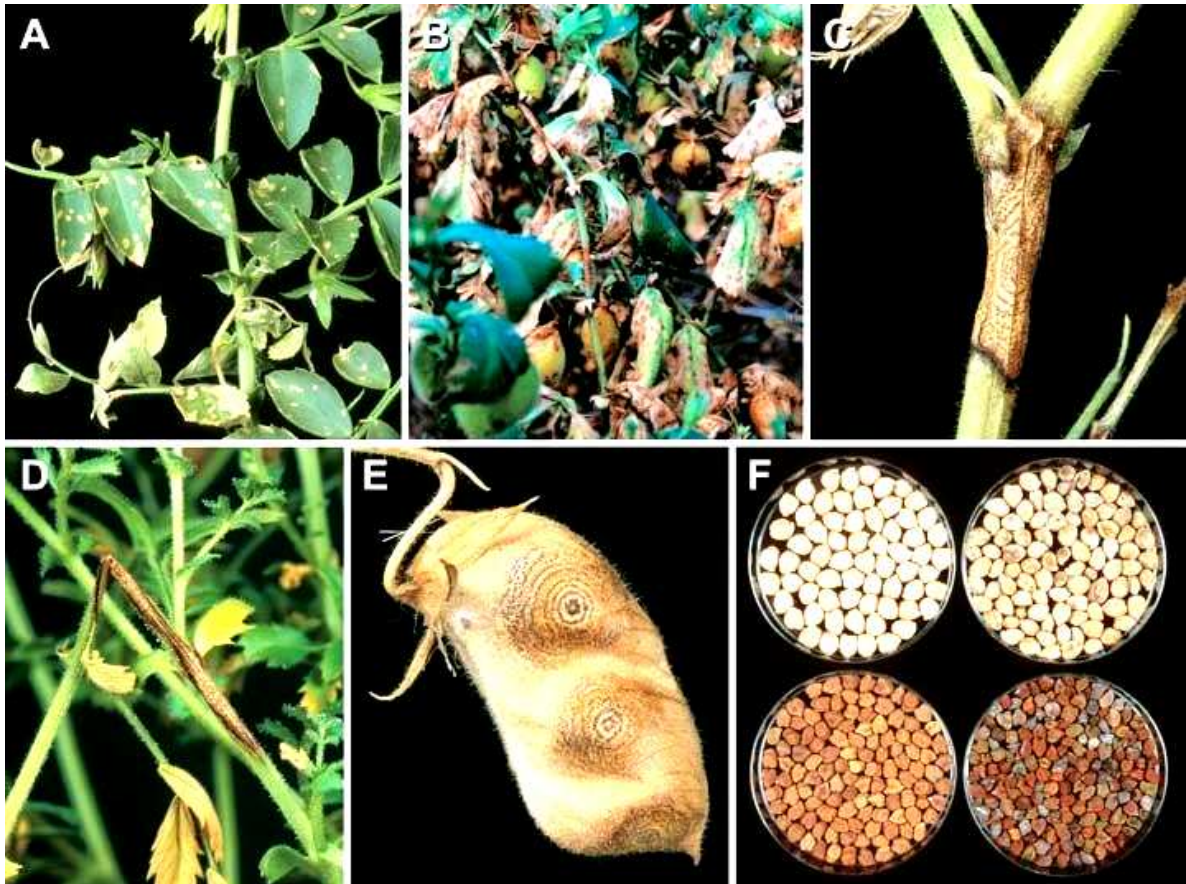


Figure 08 : Symptômes de *Ascochyta rabiei* sur pois chiche. **A**, Nécroses brunes sur les folioles ; **B**, Nécroses sévères sur les folioles ; **C**, Lésion sur une tige avec des pycnides ; **D**, Tige cassée ; **E**, Lésions avec des anneaux nécrotiques des pycnides sur une gousse ; **F**, Semences saines et infectées de pois chiche (Gauche et droite, respectivement), des deux types, kabuli et desi (Haut et bas, respectivement) (Jayakumar et *al.*, 2005).

1.2.4. Biologie et épidémiologie de l'agent pathogène

1.2.4.1. Conservation et contamination primaire

Le champignon peut survivre pendant deux ans ou plus dans les tissus infectés et débris de récolte, et plus de 5 ans au niveau de semences infectées (Kaiser, 1987 ; Iqbal et *al.*, 2002). Reddy et Singh (1983) ont montré que le champignon perd son pouvoir pathogène après 8 mois dans le sol. *A. rabiei* survit donc en saprophyte sur les débris de culture et peut même s'y reproduire. Cette conservation est un moyen de contamination des cultures de pois chiche (Kaiser, 1972).

Cependant, la principale voie d'introduction du champignon dans une culture se fait par le biais de la semence (Kaiser, 1972 ; Maden et *al.*, 1975). Les graines infectées constituent donc la source principale d'infection primaire (Nene, 1984 ; Kimber et *al.*, 2006 ; Iqbal et *al.*, 2002).

Kaiser (1972) a isolé *Ascochyta rabiei* à partir des semences stockées depuis plus de 117 semaines à Safiabad (Iran) où les températures d'Été dépassent 45 °C ; en revanche , Thripathi et *al.* (1987) ont trouvé que le champignon peut survivre 14 à 15 mois lorsque la semence est conservée dans des conditions de températures de 5 à 10 °C, et qu'il perd sa viabilité totale après 11 mois dans les conditions de températures ambiantes (Labdi, 1990).

Les contaminations primaires ont généralement pour origine soit, des semences infectées, soit des résidus de récoltes ou de cultures voisines (Zachos et *al.*, 1963). En effet, l'emploi de telles semences constitue un facteur favorable à l'installation du pathogène dans la culture, cependant, l'apparition de la maladie reste dépendante des conditions climatiques. Quant aux résidus des cultures, ils assurent la conservation du pathogène en vie sous forme de pycnides (Forme asexuée) ou de pseudothèces (Forme sexuée) (Kaiser, 1992 ; Milgroom et Peever, 2003) .

Trapero – Casas et *al.* (1996) ont trouvé que les ascospores de *Didymella rabiei* sont la source majeure de l'inoculum au sud de l'Espagne, avec une production de 15.000 ascospores par mm² du tissu infecté.

Les conditions de développement de la maladie dépendent donc du niveau de l'infection primaire, de la pluviométrie et de la température qui permettent la germination des conidies d'une part et favorisent la contamination secondaire d'autre part (Labdi, 1995).

1.2.4.2. Contamination secondaire

Les contaminations secondaires et par conséquent l'évolution de la maladie sont déterminés par la température et la pluviométrie (Zachos et *al.*, 1963 ; Kaiser, 1992)

Elles sont favorisées par le stade conidien ; c'est-à-dire, après la germination des conidies (Wilson et Kaiser, 1995). Ces contaminations ont bien lieu au printemps, quand les conditions climatiques deviennent favorables (Trapero-Casas et Kaiser, 1992 b).

1.2.4.3. Influences des facteurs de l'environnement sur le développement de *A. rabiei*

Les conditions de développement de la maladie dépendent du niveau de l'infection primaire, de la pluviométrie et de la température qui permettent la germination des conidies d'une part et favorisent les contaminations secondaires d'autre part (Kimber et *al.*, 2006). La lumière et les éléments nutritifs sont également les facteurs qui affectent la croissance, la sporulation et la survie du champignon (Trapero – Casas et Kaiser, 1992 a).

1.2.4.3.1. Température

La température a un effet plus important sur le cycle de la vie de *Ascochyta rabiei*, le processus d'infection et le développement de la maladie. La température optimale pour l'infection et le développement de *A. rabiei* est 20 °C (Trapero – Casas et Kaiser, 1992 a ; Kimber et *al.*, 2006).

L'action du facteur température se situe davantage sur la faculté germinative liée à la durée. En effet, les pycnidiospores récoltées à la surface des semences et dans les pycnides de semences âgées de plus d'une année et conservées à 2 à 4 °C, ont montré une faculté germinative qui n'atteint que 33% (Maden et *al.*, 1975).

Les asques et les ascospores ne se développent qu'à une température de 5 à 10 °C. La plupart des ascomycètes, ont besoin d'une température basse et d'une longue durée d'incubation. Les températures faibles (5 °C) et grandes (30 °C), limitent l'infection de *A. rabiei* (Trapero – Casas et Kaiser, 1992 b).

La sévérité de la maladie est maximale à une température de 20 °C, alors qu'elle est limitée à des températures variant entre 25 et 30 °C. Au dessus de 25 °C, la sporulation et la croissance mycélienne diminuent, et une température de 32 °C peut les stopper (Trapero – Casas et Kaiser, 1992 b).

La température a aussi un effet sur la période de latence. Trapero – Casas et Kaiser (1992 b) ont rapporté qu'une courte et une longue durée d'incubation ont été trouvées, 4,5 jours et 5,5 jours, respectivement, à une température de 20°C, et les températures supérieures ou inférieures de 20°C, prolongent la période de latence.

1.2.4.3.2. Durée d'humectation foliaire (Leaf Wetness Period) (LWP) :

Armstrong et *al.* (2004) ont trouvé que la sévérité de la maladie est augmentée avec l'augmentation de la durée d'humectation foliaire (Leaf Wetness Period, LWP). La sévérité a été réduite par un temps sec jusqu' à 6 heures après l'inoculation. LWP minimum pour l'apparition de symptômes est de 4 - 8 h (Jhorar et *al.*, 1998). La faculté germinative est plus importante, si la LWP est grande, la pénétration du tube germinatif augmente de 2% avec 6h de LWP et 11% avec 24 h de LWP (Jhorar et *al.*, 1998). L'infection maximale a été observée avec une LWP de 18 h (Jhorar et *al.* , 1998).

1.2.4.3.3. Humidité relative

Plusieurs auteurs admettent que le développement et la prolifération du pathogène sont favorisés par une humidité saturante proche de 100%. Weiltzien et kaack (1981) ont noté que l'infection peut être réalisée par une incubation de 10 heures à l'humidité saturante et à une température comprise entre 9 °C et 21 °C. Jhorar et *al.* (1997) ont fait une corrélation de la sévérité de la maladie avec la température maximale et l'humidité relative de l'après midi, et ils ont trouvé que l'humidité relative de l'après –midi a un effet positif sur la sévérité de la maladie que l'HR du matin.

1.2.4.3.4. Lumière

La lumière joue un rôle important sur la croissance mycélienne et la sporulation (Kaiser, 1972). Reddy (1986) considère que la sporulation est stimulée par des radiations proches aux UV.

1.2.4.3.5. Nutrition

La quantité et la qualité des éléments composants le milieu de culture interviennent dans le comportement d'un champignon (Ameziane, 1979).

Dans l'étude de la biologie des souches de *Ascochyta rabiei*, il a été signalé que les sources carbonées et azotées ainsi que leurs combinaisons affectaient la croissance mycélienne et la sporulation (Ameziane, 1979). D'un point de vue nutritionnel dans les tissus de l'hôte, l'étude des modalités du parasitisme de *Ascochyta rabiei*, a montré que ce champignon se comporte comme un parasite nécrotrophe, c'est-à-dire tuant d'abord les cellules de l'hôte avant de les coloniser. Dans cette action à distance, les enzymes de macération jouent un rôle important (Ameziane, 1981).

D'une étude menée par Ameziane (1979), il ressort que cette espèce fongique utiliserait préférentiellement les glucides par rapport aux acides organiques. Son développement parasitaire serait lié à l'existence de peptides et d'amidon dans les cultures où elle s'installe.

1.2.4.3.6. Le pH

Dans les milieux de culture, un autre facteur, le pH qui selon plusieurs auteurs, influence l'initiation à la sporulation. Les pH compris entre 5 et 6, favorisent une bonne sporulation, alors que des pH très acides ou très basiques l'inhibent (Leach, 1962 ; Trapero – Casas et Kaiser, 1992 b).

1.2.4.3.7. Facteurs de dissémination

La pluie et le vent, sont des facteurs majeurs de la dispersion de la maladie (Weltzien et Kaack, 1984 ; Trapero – Casas et Kaiser, 1992 b).

1.2.4.4. Cycle épidémique

Dans les conditions défavorables, le parasite se conserve sous forme de pycnides ou de pseudothèces dans et sur les graines et les débris de récolte (Wiese et *al.*, 1995). Les débris et les semences infectées, sont la source de l'inoculum primaire. Après l'infection, les conidies produites, sont dispersées par le vent ou les gouttelettes d'eau véhiculées par les courants d'air, c'est la contamination secondaire (Figure 09) (Pande et *al.*, 2010).

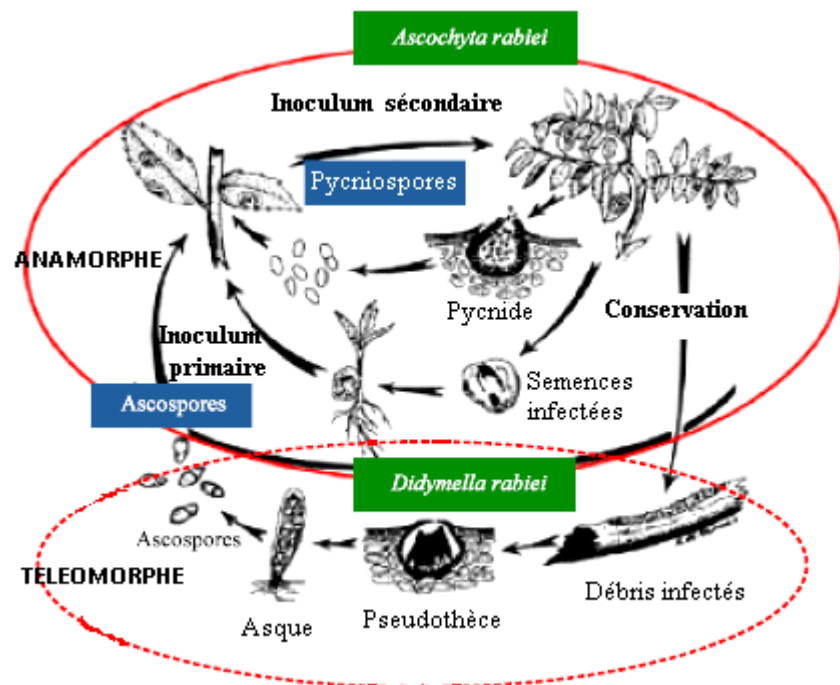


Figure 09 : Cycle biologique de *Ascochyta rabiei* sur pois chiche (Kanouni *et al.*, 2011).

1.2.5. Processus de l'infection de *A. rabiei*

Ce processus s'effectue comme suit :

1. Les conidies ont besoin d'une quantité d'humidité de pluie ou de rosée pour germer (Figure 10). La germination peut se produire dans une durée de 4 à 12 heures en fonction de la température. De courtes périodes de sécheresse (jusqu'à 24 heures) ne tuent pas les conidies et la germination reprendra une fois que l'humidité devient disponible (Doukken-Bouchard *et al.*, 2010).

2. La conidie germée forme un tube germinatif sur la surface de l'épiderme puis l'appressorium formé pénètre dans le tissu. Cela se produit dans les 12 à 24 heures (Wiese *et al.*, 1995).
3. Si le champignon est protégé contre les périodes sèches et l'effet des fongicides, il se développe à l'intérieur du tissu. Cela on parle de la période d'incubation (l'infection a eu lieu, mais les symptômes ne sont pas encore visibles) (Pandey *et al.*, 1987 ; Zikara-Zine et Bouznad, 2007).
4. Une fois que le champignon a envahi avec succès la plante hôte, il commence à tuer les tissus végétaux, entraînant des lésions de maladie. Les symptômes peuvent devenir visibles le plus tôt que 4-6 jours après la germination (Doukken-Bouchard *et al.*, 2010).
5. La formation de pycnides au niveau des lésions (période de latence suivie par le transport de ces conidies aux feuilles environnantes et aux plantes voisines (Contamination secondaire) (Kanouni *et al.*, 2011).

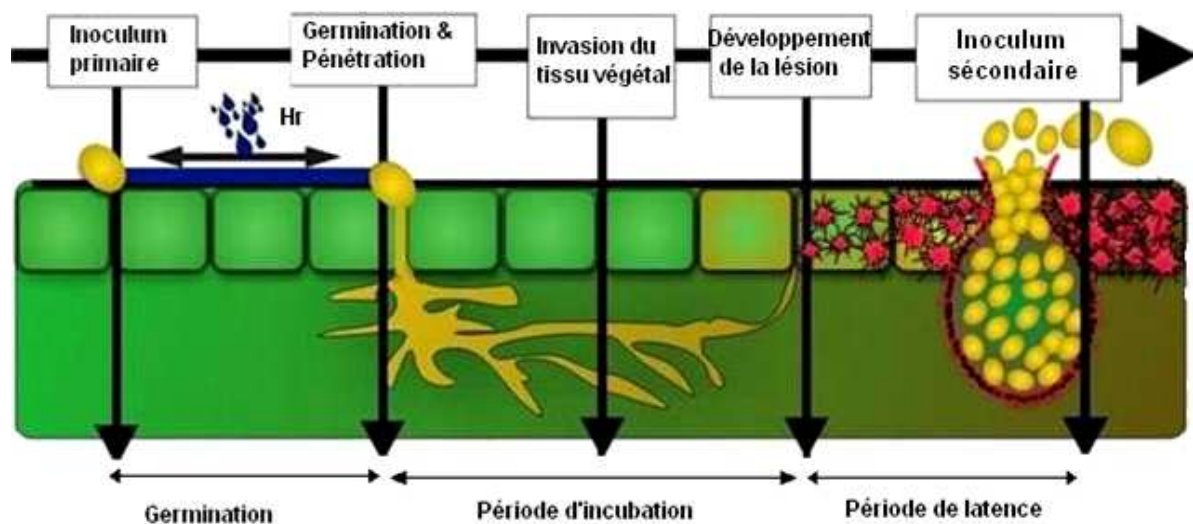


Figure 10 : Processus de l'infection de *A. rabiei* sur le pois chiche (Doukken-Bouchard *et al.*, 2010).

1.2.6. Variabilité pathogénique de *Ascochyta rabiei*

Le travail sur les races physiologiques de *A. rabiei* a été intensifié en raison de sérieuses pertes causées ces dernières années (Cho et *al.*, 2004 ; Ozkilinc et *al.*, 2010). La première vigilance ressort des rapports établis en Inde où le cultivar C-12/34 a perdu sa résistance (Aryamanesh, 2007). Bedi et Aujla (1969) ont étudié la variation de 11 isolats identifiés sur des bases symptomatologiques, leur manière de formation des pycnides dans l'hôte, et leur comportement pathogénique ; ces auteurs concluent ainsi que des races sévères existent dans le Punjab en Inde. Plus tard, Vir et Grewal (1974) identifient deux races (1 et 2) et un biotype de la race 2. Ainsi, en Syrie, Reddy et Singh (1984) ont classé des isolats du champignon à l'ICARDA en 4 races et 4 biotypes.

Actuellement, en Syrie et au Liban, 50 souches de *A. rabiei* ont été classées en 6 races par l'utilisation de 6 lignées de pois chiche à l'ICARDA (Reddy et Kabbabeh, 1985). Udupa et Weigand (1997) ont utilisé trois lignées différentielles (ILC 1929, ILC 482 et ILC 3279) pour identifier 3 pathotypes (Pathotypes I, II et III), selon leur degré d'agressivité.

En Algérie, des travaux engagés par Bouznad (1991), ont permis de tester plus d'une vingtaine d'isolats. Leur pouvoir pathogène a été caractérisé sur une gamme d'hôtes différentielles. Des réactions obtenues sur cette gamme indiquent la présence de nouvelles souches plus virulentes et confirme l'existence de pathotypes avec des degrés de virulence différents. Deux pathotypes parmi les plus virulents en Algérie sont ceux isolés à Tessala et Sidi Bel Abbés. Ces deux pathotypes ont une virulence proche de celle de la race 5 identifiée à l'ICARDA (Bouznad, 1991).

1.2.7. Méthodes de lutte

Devant l'ampleur prise par cette maladie redoutable, des recherches sont actuellement développées dans le monde, en vue de mettre au point un moyen de lutte approprié. La méthode la plus raisonnée consiste à utiliser de façon complémentaire, les méthodes de lutte culturale, génétique, chimique et biologique.

1.2.7.1. Lutte culturale

L'utilisation de semences saines est l'une des meilleures méthodes pour réduire les dégâts causés par l'anthracnose (Gan et *al.*, 2006).

A. rabiei peut survivre plusieurs années dans les débris de récolte (Navas – Cortés et

al., 1995 ; Gossen et Miller, 2004). Ceux-ci sont la source principale de l'inoculum primaire, pour cette raison, il faut les éliminer en les brûlant puis les enfouissant profondément, sachant que le champignon perd sa viabilité après deux mois enfouis à 10-40 cm (Kaiser, 1981).

La pratique d'une rotation convenable, particulièrement avec le blé peut être une voie dans la destruction de l'inoculum primaire (Kaiser, 1981). De plus, une culture de pois chiche ne doit pas revenir sur une même parcelle durant au moins 4 à 6 ans (Ameziane, 1985).

Kaiser *et al.* (2000 b) ont trouvé que dans les régions tropicales, une jachère de deux ans entre deux cultures de pois chiche, peut réduire la sévérité de la maladie.

Certains travaux ont démontré que l'espace entre rangées de la culture n'a aucune influence sur l'incidence de la maladie (Reddy et Singh, 1980).

A l'ICARDA, certains travaux ont montré que la fertilisation n'a aucun effet sur la résistance du pois chiche à l'antracnose, par contre, l'âge des plantes a un effet sur la résistance (Reddy, 1986).

1.2.7.2. Lutte chimique

1.2.7.2.1. Traitement de semences

La semence de pois chiche infectée, est la source principale de l'inoculum primaire (Nene et Reddy, 1987 ; Dey et Singh, 1994). L'application d'un traitement de semences, par Thiabendazole en mélange avec le bénomyl, donne des résultats plus importants quand ils sont utilisés séparément (Kaiser et Hannan, 1988). Wiese *et al.* (2009a) ont rapporté que le traitement par l'Azoxystrobine a donné une réduction de 73% de l'inoculum primaire.

La transmission de la maladie est réduite de plus de 95% avec un traitement de semence par le bénomyl (Demirci *et al.*, 2003). Généralement, l'application d'un traitement avec les matières actives : Bénomyl, Thirame, Carbendazime, Azoxystrobine et Chlorothalonil, peut réduire la transmission de la maladie par les semence de plus de 90% (Demirci *et al.*, 2003).

La performance des traitements de semences dépendent des conditions de l'environnement (Demirci *et al.*, 2003). Le traitement de semences n'est pas éradiquant car le pathogène peut être observé au niveau des graines récoltées (Kaiser et Hannan, 1987). Bien que le traitement de semences avec des fongicides systémiques est efficace pour réduire la croissance mycélienne et la sporulation de *A. rabiei*, il devient inefficace

contre *Didymella rabiei* (Shtienberg et al., 2000).

1.2.7.2.2. Application foliaire de fongicides

L'application foliaire de fongicides est utilisée beaucoup dans les pays producteurs de cette culture, une application d'un fongicide ne contrôle qu'un seul cycle de pathogène, elle ne contrôle pas le cycle complet de la maladie (Kaiser et Hannan, 1988).

Dans certaines régions où l'environnement est plus favorable pour le développement de la maladie, il faut faire plusieurs traitements pendant la saison de culture pour éviter la maladie, mais dans certains cas, plusieurs applications de traitement faites, mais ont été inefficaces (Shtienberg et al., 2000).

L'époque et le nombre d'applications de fongicides jouent un rôle important pour atteindre une lutte efficace et obtenir le maximum de rendement (Chongo et al., 2003).

La décision d'appliquer les traitements avant ou après l'infection, est largement liée à la saison de culture. Dans les régions où la culture de pois chiche connaît une courte saison, les traitements préventifs sont bénéfiques, mais dans les régions qui connaissent une saison longue, les traitements préventifs sont inefficaces et non économiques (Gan et al., 2006).

L'application d'un traitement foliaire avec le sulfate de cuivre ou captane peut réduire le niveau de la maladie (Nene, 1982). Le chlorothonil (Bravo®), est un fongicide de contact, on peut l'utiliser contre *A. rabiei* (Reddy et Singh, 1984). Le mancozèbe (Dithane®) a été testé au Canada pour contrôler l'antracose du pois chiche, mais est inefficace (Chongo et al., 2003). Les fongicides du groupe Strobilurines, comme Azoxystrobine et Pyraclostrobine, ont été étudiés au Canada ces dernières années, les chercheurs ont remarqué que la matière active, Azoxystrobine, est efficace contre *A. rabiei* (Demerci et al., 2003 ; Armstrong-cho et al., 2008 ; Wiese et al., 2009b). Mais Gossen (2004) a trouvé que certains isolats, sont résistants aux fongicides du groupe des Strobilurines. On peut utiliser Bosalid (Lance®) comme un fongicide efficace contre cette maladie (Chongo et al., 2000).

L'efficacité des traitements foliaires, est liée à la rémanence des fongicides, la couverture foliaire et le stade de la plante dans le champ (Reddy et Singh, 1990).

1.2.7.3. Lutte biologique

L'antagonisme entre les microorganismes, est utilisé pour contrôler les parasites phytopathogènes. Navas – Cortés (1992) a remarqué que lorsqu'il enfouit le champignon

A. rabiei dans un sol stérile il y a une production plus importante de pycnides et de pseudothèces que dans un sol naturel non désinfecté, il conclue que le champignon est affecté par d'autres microorganismes saprophytes.

Wang et *al.* (2003) ont rapporté que le champignon antagoniste, *Trichoderma viride* influence le développement et la survie de *A. rabiei*. La bactérie *Rhizobium native* produit un acide anti-fongique, qui limite le développement de *A. rabiei* dans le sol (Khokhar et *al.*, 2001). Au laboratoire, Dugan et *al.* (2005), ont trouvé que les deux formes, *Ascochyta rabiei* et *Didymella rabiei* sont inhibés par *Aureobasidium pullulans* et *Clonostachys rosea*.

Cependant, la lutte biologique peut être comprise comme l'un des éléments utilisés dans les stratégies de lutttes intégrées contre cette maladie (Chandirasekaran, 2007).

1.2.7.4. Lutte génétique

La lutte génétique par l'utilisation des cultivars résistants, constitue l'un des moyens les plus économiques pour combattre l'antracnose (Reddy et *al.*, 1981 ; Maheshwari et *al.*, 1984). Plusieurs cultivars ont été identifiés comme sources de résistance à l'antracnose (Tableau 04). Seulement quelques – uns étaient considérés comme résistants dans certains pays (Pande et *al.*, 2005) (Tableau 05).

Tableau 04 : Sources de résistance de pois chiche à *A. rabiei* identifiées durant les deux décennies 1980s et 1990s.

Lignées	Remarques	Références
ICC3634, ICC4248, ICC5124, ICC6981, ILC196, ILC3346, ILC4421, ILC72, ILC191, ILC3279, ILC3856.	Résistantes chez 8 pays (Inde, Pakistan, Pays de la Méditerranée).	Reddy et Singh, 1984. Singh et <i>al.</i> , 1984.
ICC76, ICC187, ICC607, ICC1121, ICC1136, ICC1416, ICC1754, ICC1762, ICC1903, ICC7773, ILC236, ILC482, ILC484, ILC2548, ILC2956.	ILC482 et ICC1903 ont perdu leur résistance vis-à-vis les races 2,3 et 4 (Türkkan et Dolar, 2009).	Katyar et Sood, 1985.
ICC4000, ICC4041.	Seulement les folioles et les gousses qui sont résistantes chez ICC4000.	Singh et Kapoor, 1985.
ILC3856, ILC3864, ILC3870, ILC4421, ILC190, ILC201, ILC202, ILC2506, ILC5928, ICC3996, Flip 83-48.	Résistantes aux races 3, 4, 5 et 6 de <i>A. rabiei</i> .	Pal et Singh, 1990. Singh et Reddy, 1990.
ILC5586, ILC5894, ILC5926, ILC6482, ILC7795, ICC4475, ICC6328, ILC3287, ICC12004.	-	Singh et Reddy, 1992.
CG715, ACC76, H86-8, H86-100, HK86-120, ILC3896, ICC7514, NEC123, P1279-2, P4268-1, ICC8161.	-	Shukla et Pandya, 1988. Singh et Pal, 1993. Gaur et Singh, 1996.
ICC1278, ICC1284, ICC1285, ICC1304, FLIP92-262C, FLIP92-110C, FLIP92-154C.	-	Wadud et Riaz, 1988. Toker et <i>al.</i> , 1999.
	-	

Tableau 05 : Lignées de pois chiche considérées comme résistantes à l'antracose dans différents pays (Pande et *al.*, 2005).

Lignées	Origines	Pays	Noms locaux	Années de certification
ILC 72	Espagne	Italie	Califfo	1990
ILC 72	Espagne	Espagne	Fardan	1985
ILC 195	ex-URSS	Egypte	Giza 195	1995
ILC 195	ex-URSS	Maroc	ILC 195	1986
ILC 195	ex-URSS	Turquie	ILC 195	1986
ILC 200	ex-URSS	Espagne	Zegri	1985
ILC 202	ex-URSS	Chine	ILC 202	1988
ILC 237	Espagne	Oman	ILC 237	1988
ILC 411	Iran	Chine	ILC 411	1988
ILC 464	Turquie	Chypre	Kyrenia	1987
ILC 482	Turquie	Algérie	ILC 482	1988
ILC 482	Turquie	France	TS 1009	1988
ILC 482	Turquie	Iran	ILC 482	1995
ILC 482	Turquie	Iraq	Rafidain	1992
ILC 482	Turquie	Jordanie	Jubeiha 2	1990
ILC 482	Turquie	Liban	Janta 2	1989
ILC 482	Turquie	Maroc	ILC 482	1986
ILC 482	Turquie	Syrie	Ghab 1	1986
ILC 482	Turquie	Turquie	Guney Sarisi 482	1986
ILC 484	Turquie	Libye	ILC 482	1993
ILC 533	Egypte	Géorgie	Elixir	2000
ILC 915	Iran	Soudan	Jebel Marra-1	1994
ILC 1335	Afghanistan	Soudan	Shendi	1987
ILC 2548	ex-URSS	Espagne	Almena	1985
ILC 2555	Ethiopie	Espagne	Alcazaba	1985
ILC 3279	ex-URSS	Algérie	ILC 3279	1988
ILC 3279	ex-URSS	Chine	ILC 3279	1988
ILC 3279	ex-URSS	Chypre	Yialosa	1984
ILC 3279	ex-URSS	Iran	ILC 3279	1995
ILC 3279	ex-URSS	Iraq	Dijla	1992
ILC 3279	ex-URSS	Italie	Sultano	1990
ILC 3279	ex-URSS	Jordanie	Jubeiha	1990
ILC 3279	ex-URSS	Syrie	Ghab 2	1986
ILC 3279	ex-URSS	Tunisie	Chetoui	1987
ILC 6188	France	Italie	Ali	1998

1.2.7.4.1. Amélioration génétique du pois chiche pour la résistance à *A. rabiei*

Les centres de recherche ICARDA en Syrie et ICRISAT en Inde, ont développé un programme de recherches pour la création d'un matériel végétal résistant. Plusieurs variétés ont déjà été mises au point (Iqbal et *al.*, 2004 ; Pande et *al.*, 2005). A l'ICARDA, plus de 25000 cultivars de pois chiche ont été testés pour la résistance à l'antracnose, seulement 14 qui sont résistants (Singh et Reddy, 1993). A l'ICRISAT, deux cultivars sélectionnés (Howsat and ICCV 96836), sont résistants à *A. rabiei* en 2001 (Materne et *al.*, 2002). Collard et *al.* (2001) ont déterminé une lignée résistante à *A. rabiei* (ICC 3996). Coram et Pang (2005) ont rapporté que la lignée ICC 3996 a montré une forte résistance à l'antracnose. En Algérie, les variétés ILC 482, ILC 3279, Flip 84-79C et Flip 84-9C, connues comme étant résistantes à l'antracnose (Labdi, 1995), sont devenues très vite sensibles lorsqu'elles furent cultivées à grande échelle. Ce changement de comportement est attribué à l'apparition de nouvelles races physiologiques (Vir et Grewal, 1974 ; Reddy et Kabbabeh, 1985). Pour cela, Il était nécessaire de chercher de nouvelles sources de résistance chez les espèces spontanées du genre *Cicer*.

1.2.7.4.2. Sources de résistance des espèces spontanées de *Cicer* à *A. rabiei*

Les espèces annuelles spontanées du genre *Cicer* originaires du Proche orient comme le pois chiche cultivé (Figure 11), connues pour leur résistance aux contraintes abiotiques et biotiques, peuvent être utilisées pour améliorer la résistance des cultivars locaux de pois chiche (Aryamanesh, 2007). Ces espèces sont des végétaux avec $2n=16$ chromosomes comme le pois chiche, ce qui facilite la possibilité de croisement (Singh et Ocampo, 1997 ; Berger et *al.*, 2003 ; Croser et *al.*, 2003).

Plusieurs recherches ont été faites sur la résistance de ces espèces aux contraintes de la culture, comme nématodes à kystes *Heterodera ciceri* (Singh et *al.*, 1996), mouche mineuse (*Liriomyza cicerina*), bruche (*Callosobruchus chinensis*), froid (Singh et *al.*, 1994 ; Singh et *al.*, 1998), *Fusarium oxysporum f. sp. ciceris* (Haware et *al.*, 1992 ; Singh et *al.*, 1994 ; Singh et *al.*, 1998) et *Ascochyta rabiei* (Haware et *al.*, 1992 ; Singh et *al.*, 1998 ; Collard et *al.*, 2003).

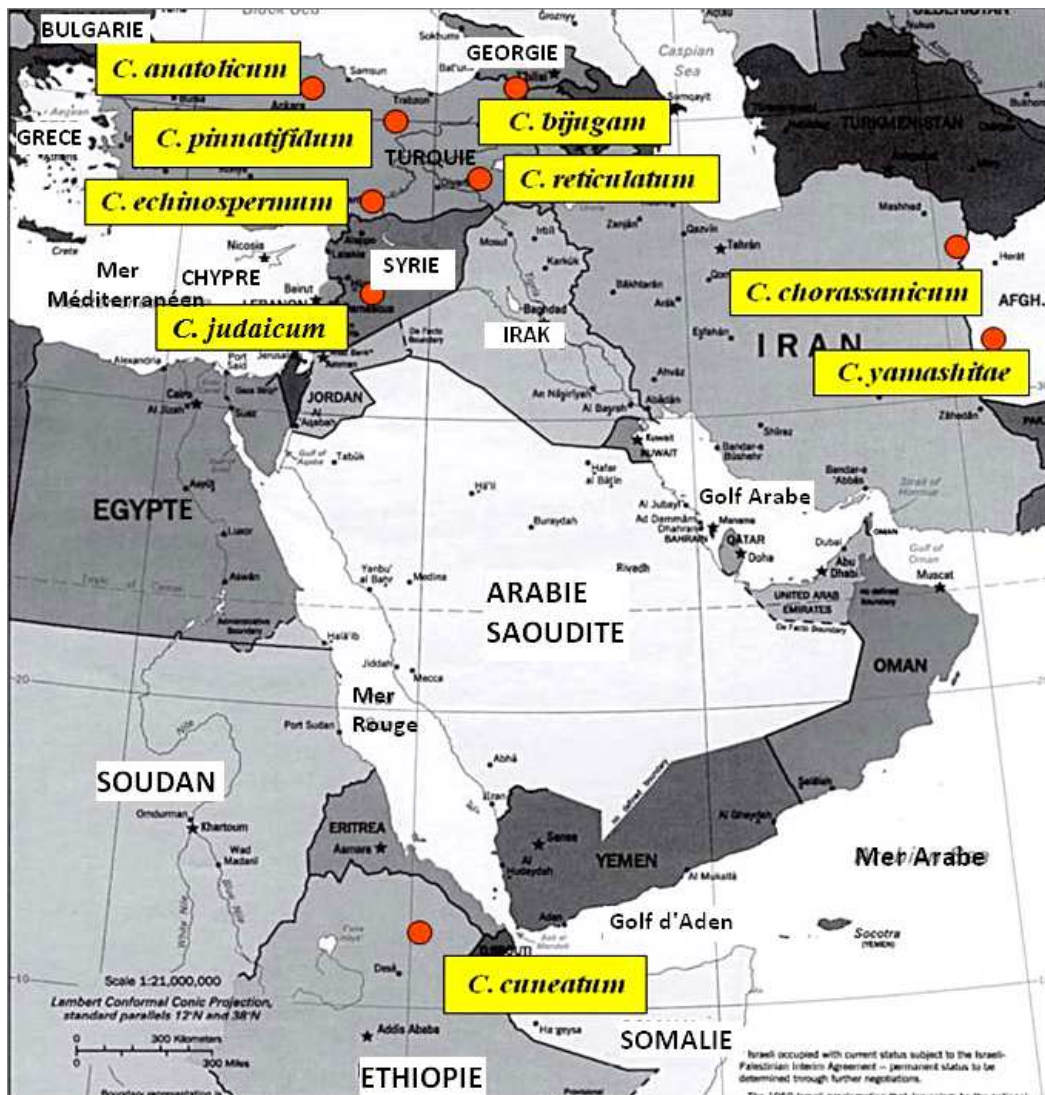


Figure 11 : Distribution géographique des espèces spontanées du genre *Cicer* (Kanouni et al., 2011).

Une multitude de lignées de ces espèces ont été testées pour leur résistance à l'antracnose pendant plusieurs années par différentes institutions du monde comme ICARDA, Alep, Syrie, ICRISAT, Patanchero, Inde, et CLIMA, Crawley WA, Australie.

Les sources de résistance à l'antracnose ont été signalées pour quelques lignées de *Cicer pinnatifidum*, *C. Judaicum* (Singh et al., 1981), *C. bijugum* (Haware et al., 1992), *C. echinospermum* et *C. reticulatum* (Stamigna et al., 1998 ; Singh et Reddy, 1993 ; Collard et al., 2001). Deux espèces seulement parmi lesquelles (*C. echinospermum* et *C. reticulatum*), sont utilisées pour l'hybridation avec le pois chiche par la méthode mendélienne, car les autres espèces sont incompatibles pour le croisement avec le pois chiche (Ladizinsky et Alder, 1976 a,b ; Aryamanesh, 2007).

A l'ICRISAT en 2010, 128 lignées de 7 espèces spontanées ont été testées pour la résistance à l'antracnose (Tableau 06) (Pande et al., 2006 ; Pande et al., 2010).

Tableau 06 : Réaction de lignées des espèces spontanées de *Cicer* à *A. rabiei* (Pande et *al.*, 2006 ; Pande et *al.*, 2010).

Espèces <i>Cicer</i> sp.	Nombre de lignées testées	Réaction à <i>A. rabiei</i> *				
		I	R	MR	S	TS
<i>Cicer arietinum</i>	3	-	-	-	-	3
<i>C. bijugum</i>	18	-	1	-	4	13
<i>C. cuneatum</i>	2	-	2	-	-	-
<i>C. echinospermum</i>	2	-	-	-	2	-
<i>C. judaicum</i>	46	-	17	18	11	-
<i>C. pinnatifidum</i>	26	-	1	8	7	10
<i>C. reticulatum</i>	26	-	-	-	16	10
<i>C. yamashitae</i>	5	-	-	-	1	4
Total	128	-	21	26	41	40

*Réaction vis-à-vis de *A. rabiei* selon l'échelle de notation 1 à 9 (Singh et *al.*, 1981). I, Immune (1) ; R, Résistante (1.1-3) ; MR, Moyennement résistante (3.1-5) ; S, Sensible (5.1-7) ; Très sensible (7.1-9).

1.3. Utilisation des espèces spontanées '*Cicer* sp.' dans l'amélioration génétique du pois chiche

1.3.1. Le genre *Cicer*

Le genre *Cicer* appartient à la famille des Fabaceae, sous-famille des *papilionacées* et de la tribu *Cicereae*. Il englobe 9 espèces spontanées annuelles et 34 vivaces (Tableau 07). La plupart de ces espèces se trouvent dans une région couvrant l'Asie occidentale et l'Afrique du Nord (Turquie au Nord, et l'Éthiopie au Sud, le Pakistan à l'Est et le Maroc à l'Ouest) (Figure 11).

Tableau 07 : Espèces annuelles et pérennes (vivaces) du genre *Cicer* (Croser et al., 2003).

<u>Espèces de <i>Cicer</i></u>	
<u>Espèces annuelles</u>	
<i>C. arietinum</i> L.	
<i>C. bijugum</i> K.H. Rech.	
<i>C. chorassanicum</i> (Bge.) M. Pop.	
<i>C. cuneatum</i> Hochst. ex Rich.	
<i>C. echinospermum</i> P.H. Davis	
<i>C. judaicum</i> Boiss.	
<i>C. pinnatifidum</i> Jaub. & Sp.	
<i>C. reticulatum</i> Ladiz. (wild progenitor)	
<i>C. yamashitae</i> Kitamura	
<u>Espèces pérennes (vivaces)</u>	
<i>C. acanthophyllum</i> Boriss.	<i>C. isauricum</i> P.H. Davis
<i>C. anatolicum</i> Alef.	<i>C. kermanense</i> Bornm.
<i>C. atlanticum</i> Coss. ex Maire	<i>C. korshinskyi</i> Lincz.
<i>C. balcaricum</i> Galushko	<i>C. laetum</i> Rass. & Sharip.
<i>C. baldshuanicum</i> (M. Pop.) Lincz.	<i>C. macracanthum</i> M. Pop.
<i>C. canariense</i> Santos Guerra & Lewis	<i>C. microphyllum</i> Benth.
<i>C. fedtschenkoi</i> Lincz.	<i>C. mogoltavicum</i> (M. Pop.) A. Koroleva
<i>C. flexuosum</i> Lipsky	<i>C. montbretii</i> Jaub. & Sp.
<i>C. floribundum</i> Fenzl.	<i>C. multijugum</i> Van Der Maesen
<i>C. graecum</i> Orph.	<i>C. nuristanicum</i> Kitamura
<i>C. grande</i> (M. Pop.) Korotk.	<i>C. oxyodon</i> Boiss. & Hoh.
<i>C. heterophyllum</i> Contandr et al.	<i>C. paucijugum</i> (M. Pop.) Nevski
<i>C. incanum</i> Korotk.	<i>C. pungens</i> Boiss.
<i>C. incisum</i> (Willd.) K. Maly	<i>C. rassuloviae</i> Lincz.
	<i>C. rechingeri</i> Podlech

Parmi les 9 espèces annuelles, le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est la seule espèce cultivée. Les autres sont spontanées et comprennent: *C. reticulatum*, *C. echinospermum*, *C. pinnatifidum*, *C. Judaicum*, *C. bijugum*, *C. cuneatum*, *C. yamashitae* et *C. chorassanicum*. Van Der Maesen (1987) classe les espèces de *Cicer* en 4 sections en fonction de leurs caractéristiques morphologiques, de leur cycle de vie et de leur distribution géographique. 8 espèces annuelles *C. arietinum*, *C. reticulatum*, *C. echinospermum*, *C. pinnatifidum*, *C. bijugum*, *C. Judaicum*, *C. cuneatum* et *C. yamashitae* ont été placés dans la section *Mono-Cicer* ; 2 espèces vivaces *C. chorassanicum* et *C. incisum* dans la section *Chamae-Cicer* ; 23 espèces vivaces dans *Poly-Cicer* et 7 espèces vivaces ligneuses dans la section *Acantho-Cicer*.

1.3.2. Importance des espèces spontanées « *Cicer sp.* » dans l'amélioration génétique du pois chiche

Le matériel génétique du pois chiche dans différents pays du monde n'a pas les caractères agronomiques désirables et nécessaires pour l'utiliser dans les programmes d'amélioration variétale. L'utilisation des espèces spontanées et les cultivars primitifs fournit une base génétique plus large pour les variétés locales du pois chiche et constituent la source potentielle de gènes de résistance à divers stress biotiques et abiotiques (Tableau 08) (Hawkes, 1977; Van Der Maesen et Pundir, 1984).

Le progrès génétique pour le rendement du pois chiche est faible en raison de la variation génétique limitée présente dans le matériel génétique des cultivars. Pour cette raison, le pois chiche est classé comme une culture récalcitrante (Van Rheenen et *al.*, 1993). Ce manque génétique dans le matériel végétal des cultivars, nécessite l'exploitation des espèces apparentées annuelles pour l'amélioration génétique (Singh et *al.*, 2008). Van Rheenen et *al.* (1993) ont souligné l'utilisation de sélection par mutation et hybridation interspécifique pour élargir la base génétique des espèces cultivées. L'hybridation interspécifique est considérée comme un moyen potentiel pour accroître la variation génétique et l'introduction de gènes de résistance chez les espèces cultivées à partir des espèces spontanées.

L'hybridation interspécifique, les profils protéiques de graines de stockage, les isozymes, le caryotype et les marqueurs moléculaires sont utilisés comme critères différents pour étudier les relations des espèces dans le genre *Cicer*.

Tableau 08 : Sources de résistance des espèces spontanées ‘*Cicer sp.*’ aux contraintes biotiques et abiotiques de la culture du pois chiche.

Contraintes	Sources de résistance	Références
<i>Ascochyta rabiei</i>	<i>C. echinospermum</i> , <i>C. pinnatifidum</i> , <i>C. bijugum</i> , <i>C. judaicum</i> et <i>C. montbretii</i> .	Singh et al., 1981. Singh et al., 1998.
<i>Fusarium oxysporum f. sp. ciceris</i>	<i>C. bijugum</i> , <i>C. judaicum</i> , <i>C. pinnatifidum</i> , <i>C. reticulatum</i> , <i>C. echinospermum</i> et <i>C. cuneatum</i> .	Nene et Haware, 1980. Singh et al., 1998.
Mouche mineuse (<i>Liriomyza cicerina</i>)	<i>C. chorassanicum</i> , <i>C. cuneatum</i> et <i>C. judaicum</i> .	Singh et Weigand, 1994.
Bruche (<i>Callosobruchus chinensis</i>)	<i>C. echinospermum</i> , <i>C. bijugum</i> et <i>C. judaicum</i> .	Singh et al., 1998.
Nématode à kyste (<i>Heterodera ciceri</i>)	<i>C. pinnatifidum</i> , <i>C. bijugum</i> et <i>C. reticulatum</i> .	Singh et Weigand, 1994.
Pourriture grise (<i>Botrytis cinerea</i>)	<i>C. judaicum</i> et <i>C. pinnatifidum</i> .	Singh et al., 1998.
Pourriture racinaire (<i>Phytophthora megasperma</i>)	<i>C. echinospermum</i> .	Singh et al., 1982.
Froid	<i>C. bijugum</i> , <i>C. reticulatum</i> , <i>C. echinospermum</i> et <i>C. pinnatifidum</i> .	Singh et al., 1994. Singh et al., 1990. Singh et al., 1995.

1.3.3. Hybridation interspécifique « *Cicer arietinum* × *Cicer sp.* »

La connaissance des relations génétiques entre les cultivars de pois chiche et ses parents spontanés est une condition préalable pour suivre l'évolution des espèces cultivées et aussi pour déterminer les proches qui peuvent être exploitées pour l'introggression de caractères utiles dans le programme de sélection variétale. Hawkes (1977) a souligné la nécessité de comprendre les relations croisabilité chimiotaxonomiques et affinités cytogénétiques entre les espèces spontanées et cultivars de pois chiche.

Sur la base des études sur l'aptitude au croisement et la fertilité des hybrides dans des croisements interspécifiques entre les sept espèces annuelles de pois chiche, Ladizinsky et Adler (1976a) ont mis ces espèces annuelles (sauf *C. chorassanicum* et *C. yamashitae*) dans les trois groupes suivant leur croisabilité. L'hybridation interspécifique est possible au sein du même groupe, mais pas entre les groupes (Figure 12).

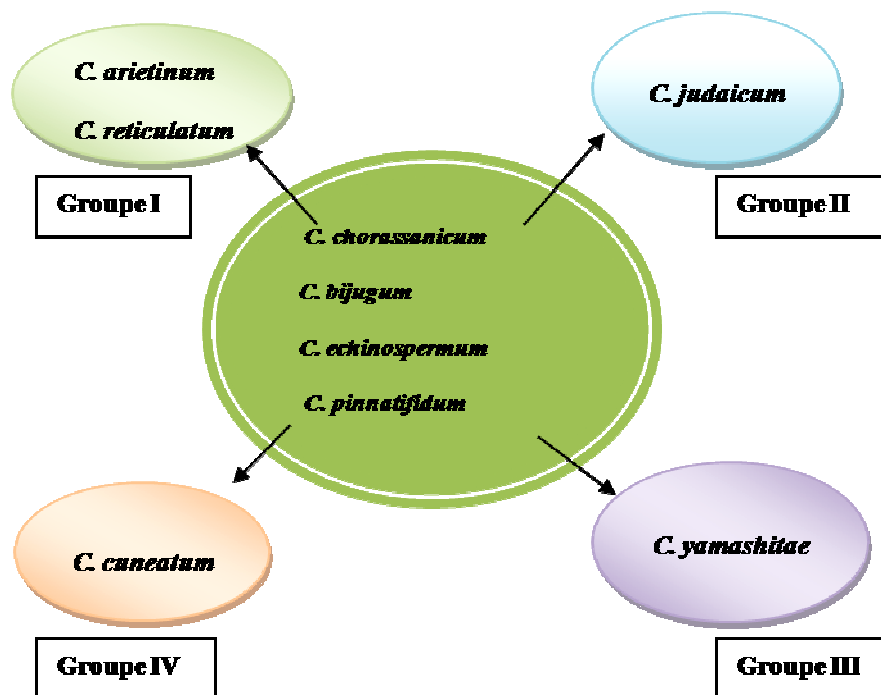


Figure 12 : Schéma illustrant les relations entre 9 espèces de *Cicer* annuelles fondées sur les différentes méthodes utilisées pour établir les relations (*Espèces controversées sont placés dans le centre et la flèche indique le groupe dans lequel ils peuvent être placés*) (Singh et al., 2008).

❖ *Groupe I*

C'est le groupe le plus important parmi les proches espèces annuelles de *Cicer*, car il comprend l'espèce cultivée *C. arietinum* avec ses proches parents spontanés, *C. reticulatum* et *C. echinospermum*. La formation régulière de 8 bivalents au cours de la méiose dans les hybrides F1 complètement fertiles et la ségrégation normale des descendances F2 dans le croisement *C. arietinum* x *C. reticulatum*, montre clairement la compatibilité de croisement élevée entre ces 2 espèces (Van Der Maesen, 1980 ; Pundir et Van Der Maesen, 1983). La croisabilité élevée et l'échange facile de gènes entre les deux espèces par rapport à d'autres espèces annuelles soutient l'idée de *C. reticulatum* être l'ancêtre spontané possible de pois chiche cultivé (Lev-Yadun et al., 2000).

Les hybrides interspécifiques entre *C. arietinum* et *C. echinospermum* se développent normalement, mais montrent un degré élevé de stérilité. La différence de fertilité du pollen dans les croisements réciproques entre *C. arietinum* x *C. echinospermum* a indiqué la présence d'effets des déséquilibres entre les parents (Singh et Ocampo, 1993 ; Pundir et Mengesha, 1995), suggère que les espèces cultivées doivent toujours être utilisé comme parent femelle pour hybridation interspécifique (Ahmad, 1988), car un taux faible de

réussite de croisement a été observé lorsque *C. echinospermum* a été utilisée comme un parent femelle (Ahmad et al., 1987 ; Ahmad et al., 1988). La formation d'un quadrivalent au cours de la méiose dans certains croisements de *C. arietinum* x *C. echinospermum*, a indiqué la présence d'une translocation réciproque tout en inversions paracentriques conduisant à la formation des gamètes déséquilibrés (Tableau 09) (Ladizinsky et Adler, 1976b). Les descendances F2 de ces deux espèces, en dépit de leur nombre de chromosomes semblables et de la méiose presque régulière en F1, présentaient des degrés divers de la stérilité (0-100%) (Pundir et Mengesha, 1995), avec formation de faibles gousses (Verma et al., 1990). La stérilité de l'hybride peut être due à une translocation réciproque ou des changements structurels cryptiques ou de l'implication des facteurs génétiques (Ladizinsky et Adler, 1976b).

❖ *Groupe II*

Il comprend les espèces annuelles *C. bijugum*, *C. pinnatifidum* et *C. Judaicum*. Ces trois espèces présentent une homologie étroite des chromosomes, mais pas de graines. Malgré les niveaux élevés de fertilité du pollen dans leurs hybrides F1, la discordance dans le taux de croissance des stigmates et des anthères au moment de l'anthèse de l'hybride interspécifique F1 mène à l'échec de la mise à graine.

Toutefois, par pollinisation manuelle, les hybrides interspécifiques qui ont été produits sont entièrement fertiles entre ces 3 espèces (Singh et al., 2008). Pundir et Van Der Maesen (1983) ont signalé une stérilité partielle chez les hybrides F1 entre les trois espèces et ont suggéré la nécessité d'une pollinisation manuelle pour la formation des graines.

Les croisements entre les trois espèces annuelles et *C. arietinum* n'ont abouti à aucune graine viable. les hybrides interspécifiques qui ont été produits entre *C. arietinum* et le groupe II sont effectuées par plusieurs pollinisations, car le succès de la production d'hybrides interspécifiques dépend du nombre de pollinisations et des tentatives de la combinaison spécifique de l'espèce cultivée (Verma et al., 1990).

Tableau 09 : Principales études faites au monde sur le croisement *Cicer arietinum* × *Cicer* sp. (Croser et al., 2003).

Années	Croisements	Hybrides F1 obtenus	Auteurs & Institutions
1976	<i>C. arietinum</i> x <i>C. reticulatum</i>	Fertilité complète	Ladizinsky et Alder, 1976a
	<i>C. arietinum</i> x <i>C. echinospermum</i>	Fertilité partielle	
	<i>C. reticulatum</i> x <i>C. echinospermum</i>	Stérile	
	<i>C. judaicum</i> x <i>C. pinnatifidum</i>	Fertilité faible	
	<i>C. pinnatifidum</i> x <i>C. judaicum</i>	Fertilité faible	
	<i>C. judaicum</i> x <i>C. bijugum</i>	Fertilité faible	
	<i>C. bijugum</i> x <i>C. judaicum</i>	Fertilité faible	
	<i>C. pinnatifidum</i> x <i>C. bijugum</i>	Fertilité faible	
<i>C. bijugum</i> x <i>C. pinnatifidum</i>	Fertilité faible		
1983	<i>C. judaicum</i> x <i>C. pinnatifidum</i>	Fertilité partielle	Pundir et Van Der Maesen, 1983 ICARDA, Syrie/ Wageningen, Pays-Bas.
	<i>C. judaicum</i> x <i>C. cuneatum</i>	Stérile	
1987	<i>C. judaicum</i> x <i>C. chorassanicum</i>	Fertilité faible	Ahmad et al., 1987 Univ. de Saskatchewan, Canada.
1988	<i>C. chorassanicum</i> x <i>C. pinnatifidum</i>	albino – died	Ahmad, 1988 Univ. de Saskatchewan
1989	<i>C. arietinum</i> x <i>C. cuneatum</i>	Stérile	Singh et Singh, 1989 Univ. de Banaras Hindu, Inde.
1990	<i>C. arietinum</i> x <i>C. judaicum</i>	1.81% de fertilité	Verma et al., 1990 University de Punjab, Pakistan.
	<i>C. arietinum</i> x <i>C. pinnatifidum</i>	1.02% de fertilité	
	<i>C. arietinum</i> x <i>C. bijugum</i>	0.50% de fertilité	
1993	<i>C. reticulatum</i> x <i>C. arietinum</i>	Fertile	Singh et Ocampo, 1993 ICARDA, Syrie.
	<i>C. echinospermum</i> x <i>C. arietinum</i>	Fertilité très faible	
	<i>C. echinospermum</i> x <i>C. reticulatum</i>	Fertilité très faible	
1999	<i>C. arietinum</i> x <i>C. yamashitae</i>	Stérile	Singh et al., 1999 a,b. Institut Indien de Recherche sur les cultures.
	<i>C. cuneatum</i> x <i>C. arietinum</i>	Stérile	
	<i>C. bijugum</i> x <i>C. arietinum</i>	Stérile	
	<i>C. judaicum</i> x <i>C. arietinum</i>	Fertile	

Le cultivar du pois chiche GLG 84038 a montré le plus haut niveau à l'aptitude au croisement avec les espèces spontanées, ce qui indique que la variabilité génétique au sein des espèces cultivées joue un rôle important dans l'aptitude au croisement avec les espèces spontanées (Verma et al., 1995).

L'utilisation de *C. arietinum* comme un parent femelle et l'application d'une combinaison de régulateurs de croissance pour les pistils pollinisés, a eu un effet majeur sur la réussite de l'hybridation (Singh et al., 2008). Les cultivars du pois chiche KAK-2, ICCV-2, Sonali et Macarena étaient de meilleurs parents femelles par rapport au nombre et la taille des ovules / embryons hybrides obtenus (Singh et al., 2008). Certains hybrides

réussis entre *C. arietinum* et *C. bijugum* ont été signalés également et leur hybridité est confirmée par l'analyse moléculaire (Lulsdorf et al., 2005). Une production de semences très faible a été rapportée dans le croisement *C. arietinum* × *C. pinnatifidum* (Badami et al., 1997).

Toutefois, la formation des gousses, dans ce cas est nécessaire par l'application de régulateurs de croissance pour les pistils pollinisés immédiatement après la fécondation. Ahmad et al. (1987) ont obtenu des hybrides interspécifiques F1 « *C. judaicum* × *C. chorassanicum* », qui sont hautement stériles avec une faible fertilité du pollen (4,8%). Ahmad et al. (1988) ont également signalé un hybride interspécifique *C. chorassanicum* × *C. pinnatifidum*, et ils ont placé *C. chorassanicum* avec des espèces du groupe II, et *C. yamashitae* dans un groupe distinct (Groupe III) (Figure 12).

❖ **Groupe IV**

Ce groupe ne comporte qu'une seule espèce annuelle *C. cuneatum*, qui est originaire d'Éthiopie. Elle présente une incompatibilité de croisement avec le groupe I et groupe II (Figure 12), et est ainsi considérée comme le parent le plus éloigné des cultivars du pois chiche (Singh et al., 2008).

Chapitre 2

Détermination des pathotypes et des races physiologiques de *Ascochyta rabiei*

2.0. Introduction

En Algérie, la lutte culturale est insuffisante pour réduire les dégâts causés par l'antracnose. La lutte chimique contre *A. rabiei* est plus efficace, mais n'est pas rentable pour l'agriculteur, pour cela, l'utilisation de cultivars de pois chiche résistants est la meilleure stratégie plus efficace et plus économique (Bouznad, 1991 ; Gan *et al.*, 2006). Cependant, La culture de ces cultivars est plus difficile en raison de la variation pathogénique de *A. rabiei* (Singh, 1990). Pour ces raisons, il est donc nécessaire de déterminer les pathotypes et les races physiologiques de *A. rabiei* afin d'éviter la culture de pois chiche dans les régions à risques. Cette détermination est basée sur la réaction d'un ensemble de lignées de pois chiche différentielles vis-à-vis de divers isolats de *A. rabiei* (Türkkan et Dolar 2009).

Le terme "Pathotype" est utilisé récemment pour décrire les niveaux d'agressivité des isolats avec un ensemble de lignées différentielles par les chercheurs de l'ICARDA en Syrie (Udupa *et al.*, 1998) et de l'ICRISAT en Inde (Jamil *et al.*, 2000 ; Chen *et al.*, 2004).

Dans ce chapitre nous présentons une recherche basée sur l'observation de pathotypes et de races physiologiques de 16 isolats de *Ascochyta rabiei* originaires de 7 régions du nord ouest algérien.

2.1. Matériel et Méthodes

2.1.1. Matériel végétal

Nous avons utilisé 7 lignées différentielles de pois chiche (ILC 1929, F8, ICC 1903, ILC 249, ILC 482, ILC 3279 et ICC 3996) originaires de l'ICARDA et l'ICRISAT (Tableau 10) fournies par l'INRAA/URO, de Sidi Bel Abbès. 3 lignées (ILC 1929, ILC 482 et ILC 3279) ont été utilisés pour déterminer les pathotypes de *A. rabiei* et 6 (ILC 1929, F8, ICC 1903, ILC 249, ILC 3279 et ICC 3996) pour les races physiologiques en fonction de leur agressivité et virulence, respectivement, (Reddy et Kabbabeh, 1985; Udupa et Weigand, 1997).

Tableau 10: Lignées différentielles de pois chiche et leur origine.

Lignées de pois chiche	Origines
ILC 1929	ICARDA ¹
F8	ICARDA
ILC 249	ICARDA
ILC 482	ICARDA
ILC 3279	ICARDA
ICC 1903	ICRISAT ²
ICC 3996	ICRISAT

¹ICARDA: International center for Agricultural Research in the Dry Areas, Alep, Syrie;

²ICRISAT: International Crops Research Institute for Semi-Arid Tropics, Patancheru, Inde.

2.1.2. Matériel fongique

Les isolats de *Ascochyta rabiei* utilisés, ont été obtenus par un isolement à partir d'échantillons de tiges, feuilles et gousses de pois chiche présentant des symptômes de l'antracnose (Tableau 11 ; Figure 13).

2.1.3. Isolement et purification des cultures

Les isolats ont été conservés dans des boîtes de Petri contenant le milieu de culture CDA (Chickpea Dextrose Agar) (Jamil *et al.*, 2002). Les isolats sont maintenus dans le milieu CDA sous une température de 20 ± 2 ° C (Dolar *et al.*, 1994).

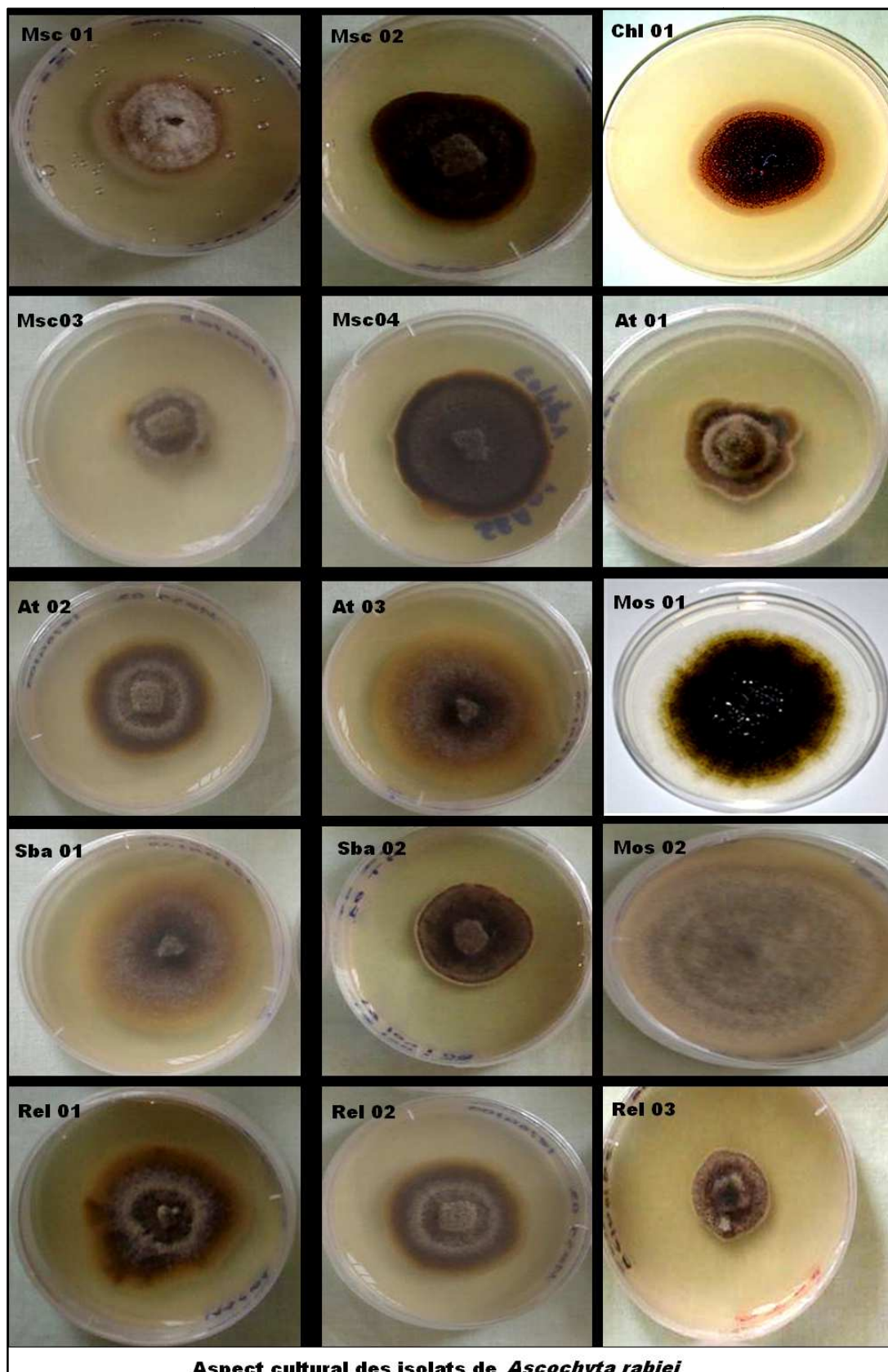
2.1.4. Obtention des plantules et préparation de l'inoculum

Les graines de pois chiches utilisées sont stérilisées avec l'hypochlorite de sodium (à 2%) pendant 3 minutes puis rincées 3 fois avec de l'eau distillée stérile. Ensuite, elles sont semées dans des pots de 10 cm de hauteur et 6 cm de diamètre, contenant une tourbe stérile, à raison de 2 graines par pot et 4 répétitions pour chaque traitement.

Les cultures d'isolats sont inondées avec de l'eau distillée stérile puis grattées avec une spatule de verre stérile. La suspension de spores obtenue est ajustée à 5×10^5 spores/ml à l'aide d'une cellule de Malassez (Labdi, 1995). Tous les isolats utilisés dans cette étude proviennent d'une culture monospore.

Tableau 11: Isolats de *Ascochyta rabiei* avec origine et date d'isolement.

Isolats	Origines	Dates d'isolement
At0108	Aïn Temouchent	Mars 2008
Sba0108	Sidi Bel Abbas	Mars 2008
Sba0208	Sidi Bel Abbas	Mars 2008
Msc0108	Mascara	Avril 2008
Mos0108	Mostaganem	Juin 2008
Mos0208	Mostaganem	Juin 2008
Msc0208	Mascara	Novembre 2008
Msc0308	Mascara	Novembre 2008
Msc0408	Mascara	Novembre 2008
At0208	Aïn Temouchent	Novembre 2008
At0308	Aïn Temouchent	Novembre 2008
Rel0109	Relizane	Septembre 2009
Rel0209	Relizane	Septembre 2009
Rel0309	Relizane	Septembre 2009
Chl0110	Chlef	Juillet 2010
Tle 0111	Tlemcen	Juin 2011



Aspect cultural des isolats de *Ascochyta rabiei*

Figure 13 : Aspect cultural des isolats de *Ascochyta rabiei* originaires du nord ouest algérien.

2.1.5. Inoculation des plantules

Quinze jours après le semis (stade 4-5 feuilles), les plantules sont inoculées avec les isolats de *A. rabiei* à l'aide d'un vaporisateur. Pour maintenir une humidité suffisante pour le développement de la maladie, les plantules sont pulvérisées avec de l'eau distillée stérile 2 fois par jour (Türkkan et Dolar, 2009).

2.1.6. Notations des symptômes

La sévérité de la maladie est notée de 1 à 9, selon l'échelle de Reddy et Singh (1984), cette échelle est basée sur l'intensité des symptômes après 15 jours de l'inoculation (Figure 14). Elle se présente comme suit:

1 : Aucune lésion n'est visible sur l'ensemble des plantes.

3: Lésions visibles sur moins de 10% des plantes, les tiges ne sont pas atteintes.

5 : Lésions sur 25% des plantes, avec des dégâts sur environ 10% des tiges.

7 : Lésions sur toutes les plantes, environ 50% des tiges sont atteintes, ce qui entraîne la mort de certaines plantes à cause de sérieux dégâts.

9 : Lésions diffusées sur toutes les plantes, les tiges sont atteintes dans des proportions supérieures à 50% avec la mort de la majorité des plantes.

Les lignées de pois chiche notées de 1,0 à 4,9 sont considérées comme résistantes et celles notées de 5,0 à 9,0 sont sensibles (Türkkan et Dolar 2009).



Figure 14: Echelle de notation des symptômes d'après Reddy et Singh (1984).

2.1.7. Analyse statistique

Les variances (σ^2), les moyennes et les écart-types (σ), sont calculés et analysés par le logiciel statistique (STAT BOX 6.0.4., GRIMMERSOFT). Le dispositif est organisé en randomisation totale unifactorielle (un facteur étudié : Pathogénicité), à l'aide du test de Newman-Keuls à 5 et 1 % ($P_{0.05}$ et $P_{0.01}$).

2.2. Résultats

Les 16 isolats de *A. rabiei* utilisées dans cette étude sont classés en 3 pathotypes (Pathotype I, II et II), et distribués en 4 races physiologiques (Race 1, 4, 5 et 6), sur la base de la réaction de l'ensemble des lignées à la maladie (Tableau 12).

Tableau 12: Classement des 16 isolats de *A. rabiei* en pathotypes et en races physiologiques par l'utilisation de 7 lignées différentielles de pois chiche.

Lignées							Pathotypes	Races physiologiques	Nombre d'isolats
ILC1929	F8	ICC1903	ILC249	ILC482	ILC3279	ICC3996			
S	R	R	R	R	R	R	I	1	1
S	S	R	R	R	R	R	I	2	0
S	S	S	R	R	R	R	I	3	0
S	S	S	S	S	R	R	II	4	12
S	S	S	S	S	S	R	III	5	2
S	S	S	S	S	S	S	III	6	1

S, Sensible, R, Résistante.

Les 3 pathotypes sont obtenus dans cette région, bien que la distribution de chaque pathotype est différente (Figure 15).

Le pathotype II (moyennement agressif) est observé dans toutes les wilaya de cette région. 1 isolat (6,25%) de pathotype I (Faiblement agressif), 3 isolats (18,75%) de pathotype III (Hautement agressif), et les 12 autres (75%), représentent le pathotype II.

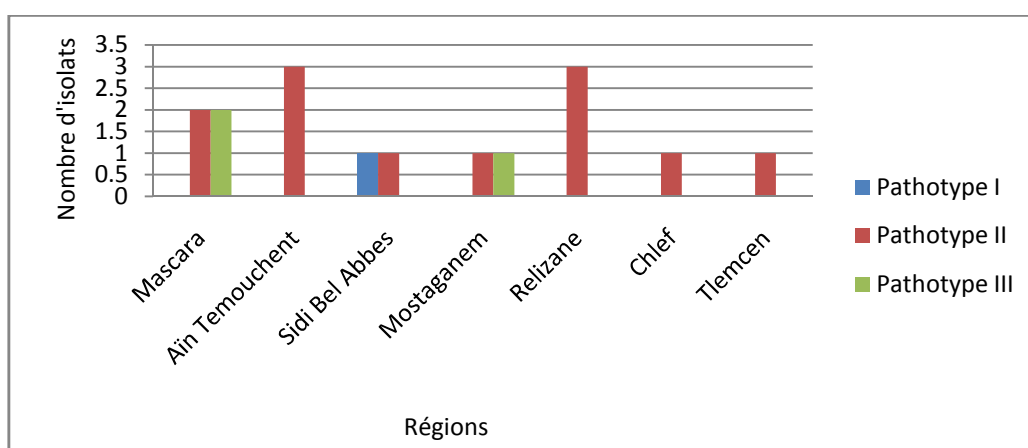


Figure 15: Distribution géographique des pathotypes de *A. rabiei* dans la région du nord ouest algérien.

Concernant les races physiologiques de *A. rabiei*, nous avons identifié 4 races (races 1, 4, 5 et 6). Leur répartition dans la région est très différente. La race 1 (avirulente) est représentée par un seul isolat de la région de «Sidi Bel Abbès». La race 4 (virulente) est observée dans toutes les wilaya de la région. Toutefois, la race 5 (virulente) est observée dans la wilaya de «Mascara», et la race 6 (virulente) à Mostaganem par un seul isolat (Tableau 12).

Un effet hautement significatif ($P < 0,01$) est observé sur le comportement des isolats de *A. rabiei* sur les lignées, avec une fiabilité de l'essai de screening remarquable (C.V. = 19,65%) (Tableaux 13, 14 et 15 ; Annexes 05, 06 et 07).

Tableau 13: Analyse de variance de reactions de 7 lignées de pois chiche vis-à-vis de 16 isolats de *A. rabiei*.

	S.C.E	ddl	C.M.	Test F	Probabilité	E.T.	C.V.
Variance global	3739,964	447	8,367				
Variance Factor 1	598,035	15	39,869	31,336	0		
Variance Factor 2	2293,245	6	382,208	300,402	0		
Var. Inter F1*2	421,184	90	4,68	3,678	0		
Var. Résiduelle 1	427,5	336	1,272			1,128	19,65%

S.C.E., Somme carrée des écarts, ddl, Degré de liberté, C.M., Carré moyen, E.T., Erreur type, C.V., Coefficient de variation.

Tableau 14: Comparaison de la sévérité de la maladie entre les isolats de *Ascochyta rabiei*.

Isolats	Agressivité (Moyenne ± δ)	F calculé	C.V.
At0108	5.32 ^c ± 1.16		
Sba0108	5.32 ^c ± 0.83		
Sba0208	2.46 ^c ± 0.76		
Msc0108	5.25 ^c ± 1.29		
Mos0108	5.75 ^c ± 0.95		
Mos0208	8.32 ^a ± 0.60		
Msc0208	7.03 ^b ± 0.88		
Msc0308	6.96 ^b ± 0.81	31.33**	19.65%
Msc0408	5.60 ^c ± 0.66		
At0208	5.75 ^c ± 1.18		
At0308	5.75 ^c ± 1.28		
Rel0109	5.92 ^c ± 0.73		
Rel0209	5.20 ^c ± 0.83		
Rel0309	5.71 ^c ± 1.14		
Chl0110	5.39 ^c ± 0.83		
Tle 0111	5.67 ^c ± 1.43		

**Effet hautement significatif P<0.01 (Test de Newmann-Keuls à 1%) ; δ : Ecart-type ; C.V. : Coefficient de variation.

Tableau 15: Réaction des lignées de pois chiche vis-à-vis des isolats de *A. rabiei*.

Lignées	ILC1929	F8	ICC1903	ILC249	ILC482	ILC3279	ICC3996	Test F
Moy ± σ	8.43 ^a ±0.75	1.34 ^b ±0.75	6.92 ^c ±0.83	6.46 ^d ±1.04	6.28 ^d ±1.0	3.07 ^e ±1.6	1.65 ^e ±0.55	300.4**

Moy: Moyenne ; σ : Ecart type.

2.3. Discussion

La variabilité pathogénique de *A. rabiei* est rapportée par plusieurs auteurs dans différents pays, comme l'Inde (Vir et Grewal, 1974; Singh, 1990; Singh et Pal, 1993;

Ambardar et Singh, 1996), la Syrie et le Liban (Reddy et Kabbabeh 1985; Udupa et Weigand, 1997; Udupa et al., 1998), la région de Palouse des Etats-Unis (Jan et Wiese, 1991; Navas-Cortes et al., 1998 ; Chen et al., 2004), l'Italie (Porta-Puglia et al., 1996), le Pakistan (Jamil et al., 2000 ; Iqbal et al., 2004), la Tunisie (Hamza et al., 2000), l'Espagne (Navas-Cortes et al., 1998), l'Australie (Khan et al., 1999), le Canada (Chongo et al., 2004 ; Vail et Banniza, 2008) et récemment en Turquie (Türkkan et Dolar 2009). Ces études sont basées sur 3-15 lignées de pois chiche différentielles testées avec 11-130 isolats de *A. rabiei*, classés en 3 à 14 pathotypes ou races.

La variation des pathogènes de *A. rabiei* est exprimée par différents termes: tels que « groupe pathogène, biotype, pathovar, pathotype et race » (Navas-Cortes et al., 1998).

Udupa et Weigand (1997) suggèrent que les 3 lignées différentielles de pois chiche (ILC1929 comme sensible aux 3 pathotype « I, II et III », ILC 482 sensible aux pathotypes II et III, et ILC 3279 sensible au pathotype III). Il suppose que ceci est suffisant pour classer les isolats de *A. rabiei* en trois pathotypes en se basant sur le niveau croissant de l'agressivité. A l'ICARDA, Reddy et Kabbabeh (1985) ont proposé une série de 6 lignées différentielles de pois chiche (ILC1929, F8, ICC1903, ILC249, ILC3279 et ICC 3996) afin de déterminer 6 races physiologiques.

Trois pathotypes de *A. rabiei* sont obtenus par l'utilisation de 130 isolats au Pakistan (Jamil et al., 2000), 64 isolats en Turquie (Türkkan et Dolar 2009). Nous avons montré que 16 isolats algériens de *A. rabiei* peuvent être classés en 3 pathotypes et 4 races physiologiques selon respectivement leur agressivité et leur virulence. Les résultats obtenus montrent l'agressivité des isolats est généralement modérée. Le pathotype II est prédominant dans presque toutes les wilayas de la région, le pathotype III se trouve seulement à Mascara et Mostaganem, et nous avons trouvé un seul isolat de pathotype I. En revanche, Udupa et al. (1998) n'ont constaté que 5 isolats du pathotype II en Syrie (9,5%).

Six races physiologiques de *A. rabiei* sont identifiées par Reddy et Kabbabeh (1985) à l'ICARDA à partir de 64 isolats de Syrie et du Liban. Par la même gamme de lignées, Dolar et Gürcan (1992), identifient les races 1, 4 et 6 de *A. rabiei* en Turquie. En 2009, Türkkan et Dolar ont rapporté l'existence toutes ces races en Turquie.

Ainsi, dans notre étude, nous avons trouvé 4 races (races 1, 4, 5 et 6), en utilisant les mêmes lignées différentielles de pois chiche de l'ICARDA. Dans notre région, nous constatons que la race 4 est plus largement distribuée. Chen et al. (2004) rapportent que les 5 races de *A. rabiei* sont représentées par le pathotype I. Les lignées de pois chiche

(ILC 3279 et ICC 3996) sont considérées comme sensibles à la race 6. Ainsi, le pathotype III est considéré à la fois à la race 5 ou à la race 6. Les résultats de notre étude sont proches avec ceux de Chen et *al.* (2004). Cependant, ces auteurs signalent que la race 6 est un pathotype II et les 5 autres races de pathotype I. Les isolats du Nord ouest algérien de *A. rabiei* ont montré une variabilité pathogénique large et tous les pathotypes sont observés.

2.4. Conclusion

Dans la présente étude, les isolats de *A. rabiei* ont montré une différence au niveau de l'agressivité et de la virulence. Nous avons trouvé que le pathotype II est prédominant dans toutes les wilayas de la région du Nord ouest, le pathotype I se trouve seulement dans la région de Sidi Bel Abbès et le pathotype III dans deux wilayas (Mascara et Mostaganem). Par l'utilisation de 6 lignées de pois chiche, 4 races ont été déterminées dans cette région (races 1, 4, 5 et 6). La race 4 est prédominante (75%). La race 1 est représentée par le pathotype I, le pathotype II par la race 4 et le pathotype III par les races 5 et 6.

Actuellement, presque toutes les études dans le monde utilisent le terme « race » pour identifier la virulence de leurs isolats. Il est difficile d'étudier la variabilité pathogénique de ce parasite en la comparant avec d'autres recherches, car les méthodes d'investigation et les lignées étudiées, sont différentes.

Ces données peuvent être utilisées dans le programme de sélection de pois chiches pour la résistance aux pathotypes agressifs de *A. rabiei*. Il est nécessaire à l'avenir de déterminer, le comportement des cultivars locaux de pois chiche vis-à-vis de l'antracnose pour recommander une stratégie efficace de lutte génétique contre ce pathogène du pois chiche.

Chapitre 3

Influence de la concentration de l'inoculum de *A. rabiei* sur la sévérité de l'antracnose du pois chiche

3.0. Introduction

La concentration de l'inoculum, est l'un des facteurs importants qui influence la gravité et l'épidémiologie des maladies des plantes cultivées. Certains auteurs rapportent que la gravité de la maladie augmente en fonction de l'augmentation de la concentration de l'inoculum malgré les différences existant dans la pathogénicité des parasites et la réceptivité de la plante hôte (Dolar et Gürcan, 1991 ; Trapero-Casas et Kaiser, 1992b).

La concentration en spores de l'inoculum de *A. rabiei* est un facteur important pouvant affecter la réaction de la résistance des lignées de pois chiche (Trapero-Casas et Kaiser, 1992b). Des rapports antérieurs suggèrent que l'expression de la résistance peut varier avec la concentration de l'inoculum de l'agent pathogène.

Cette étude a pour objectif d'évaluer l'effet de 4 concentrations d'inoculum de *A. rabiei* sur la sévérité de la maladie. Nous avons testé deux lignées de pois chiche (ILC1929 et ICC3996).

3.1. Matériel et Méthodes

3.1.1. Matériel végétal

3.1.1.1. Lignées de pois chiche

Nous avons utilisé 2 lignées différentielles de pois chiche, l'une sensible originaire de l'ICARDA (ILC 1929), et l'autre résistante de l'ICRISAT (ICC3996).

3.1.2. Matériel fongique

3.1.2.1. Isolats de *Ascochyta rabiei*

Les isolats de *Ascochyta rabiei* utilisés dans cette étude, ont été obtenus par isolement à partir d'échantillons de tiges, feuilles et gousses de pois chiche présentant des symptômes de l'antracnose. Nous avons utilisé dans ce test 3 isolats qui représentent les trois pathotypes de l'agent pathogène (Tableau16).

Tableau 16: Isolats de *Ascochyta rabiei* avec leurs origines, dates d'isolement et degré d'agressivité.

Isolats	Origines	Dates d'isolement	Pathotypes
Sba 02	Sidi Bel Abbes	Mars 2008	I (Faiblement agressif)
At 02	Ain Témouchent	Mars 2008	II (Moyennement agressif)
Mos 02	Mostaganem	June 2008	III (Hautement agressif)

3.1.3. Milieu de culture

Les isolats sont conservé dans des boites de Petri contenant le milieu de culture CDA (Chickpea Seed Meal Dextrose Agar) (Dolar et *al.*, 1994). Les boîtes sont stockées dans une étuve à une température de 4°C (Jamil et *al.*, 2002).

3.1.4. Inoculation des plantules

Deux semaines après le semis, dans une miniserre (boîte en plastique de 48cm x 22cm) les plantules sont prêtes pour être inoculées avec les isolats de *A. rabiei*. Dans chaque essai, l'ensemble des plantules sont pulvérisées avec de l'eau distillée stérile avec un pulvérisateur à pression. Après cette pulvérisation, les plantules sont inoculées par la suspension de spores. Afin de maintenir une atmosphère humide autour des plantules, 2 pulvérisations avec de l'eau distillée stérile sont effectuées par jour (Türkkan et Dolar, 2009).

3.1.5. Notations des symptômes

La sévérité de la maladie est notée (21 jours après l'inoculation) selon l'échelle (1 à 9) de Reddy et Singh (1984) basée sur l'intensité des symptômes (chapitre 2, page 72). Elle se présente comme suit:

- 1: Aucune lésion n'est visible sur l'ensemble des plantules.
- 3: Lésions visibles sur moins de 10% des plantules, les tiges ne sont pas atteintes.
- 5: Lésions sur 25% des plantules, avec des symptômes sur environ 10% des tiges.
- 7: Lésions sur toutes les plantules, environ 50% des tiges sont atteints, ce qui entraîne la mort de certaines plantules à cause de graves dommages.
- 9: Lésions diffuses sur toutes les plantules, les tiges sont atteintes dans des proportions supérieures à 50% avec la mort de la majorité des plantules.

A partir de cette échelle, les lignées de pois chiche classé de 1.0 à 4.9 sont considérées comme résistantes et celles qui sont codées de 5.0 à 9 sont sensibles (Türkkan et Dolar, 2009).

3.1.6. Analyse statistique

Les variances (σ^2), les moyennes (\bar{x}) et les écart-types (σ) des diverses répétitions sont calculés et analysés selon le logiciel de statistiques STAT BOX 6.0.4. GRIMMERSOFT. Le dispositif utilisé est la randomisation totale unifactorielle (un facteur étudié : Résistance/Sensibilité). Le test choisi est le test de Newman-Keuls ($P_{0.05}$ et $P_{0.01}$).

3.2. Résultats

Les symptômes de la maladie sont apparus sur les plantes à des concentrations de l'inoculum (10^5 , 5×10^5 et 10^6 conidies / ml), avec l'absence de symptômes dans la concentration 10^4 conidies / ml, sauf sur la lignée sensible ILC 1929. Si l'on compare la réaction des deux lignées de pois chiche aux 2 isolats, on remarque que la lignée ILC 1929 est sensible à toutes les concentrations de l'isolat Mos 2, et ICC 3996 est résistante seulement à la concentration 10^4 conidies / ml (Tableau 17 ; Annexe 08).

Tableau 17: Sévérité de l'anthracnose sur les deux lignées de pois chiche inoculées par 4 concentrations de l'inoculum de *A. rabiei*.

Lignées	Isolates	Concentrations de l'inoculum (conidies/ml)				F calculé
		10^4	10^5	5×10^5	10^6	
ILC1929	Sba02	R	S	S	S	5.12*
	Mos02	S	S	S	S	
ICC3996	Sba 02	R	S	S	S	
	Mos02	R	S	S	S	

*Effet significatif à 5% ($P < 0.05$); R, résistante; S, sensible.

Un effet significatif ($P < 0,05$) a été observé sur la réaction des deux lignées de pois chiche (à l'exception de la concentration 10^4 conidies / ml pour l'isolat Sba 02) (Tableau 18).

Tableau 18: Analyse de variance de l'effet de la concentration de l'inoculum de *A. rabiei*.

	S.C.E	ddl	C.M.	Test F	P	E.T.	C.V.
Var totale	125,938	15	8,396				
Var factor 1	76,563	1	76,563	37,121**	0,00007		
Var factor 2	14,063	1	14,063	6,818*	0,02191		
Var iance de Intéraction F1*2	10,562	1	10,562	5,121*	0,0413	1,436	22,31%
Var iance Residuelle	24,75	12	2,063				

* Effet significatif ($P < 0.05$) ; ** Effet hautement significatif ($P < 0.01$) ; S.C.E., Somme carré des écarts ; ddl, Degré de liberté ; C.M., Carré moyen ; P, Probabilité ; E.T., Erreur type ; C.V., Coefficient de variation.

3.3. Discussion

L'effet de concentration de l'inoculum des agents pathogènes sur les plantes hôtes a été signalé par plusieurs auteurs (Warren et al., 1971; Kim et al., 1989; Stewart, 1990; Trapero-Casas et Kaiser, 1992). Dans notre étude, nous avons observé que la sévérité de la maladie de l'anthracnose causée par *A. rabiei* sur le pois chiche augmente avec l'augmentation de la concentration de l'inoculum. Ces résultats ont été rapportés également par d'autres chercheurs dans divers pays comme en Espagne, aux Etats-Unis et en Turquie (Trapero-Casas et Kaiser, 1992; Dolar et Gürcan, 1991; Dolar, 1997).

Dolar (1997) a signalé que la concentration de l'inoculum 5×10^5 conidies / ml, montre des symptômes importants sur les plantules. Trapero-Casas et Kaiser (1992) ont suggéré que l'augmentation de sévérité de la maladie avec une concentration croissante d'inoculum dépendaient des cultivars de pois chiche. Stewart (1990) a montré le rôle de la concentration de spores sur la résistance de la pomme de terre à *Phytophthora infestans* et l'incidence des réactions immunitaires qui diminuent avec l'augmentation des concentrations de l'inoculum. Donc, la concentration de l'inoculum et la sensibilité des cultivars sont des facteurs qui peuvent influencer l'apparition de la maladie. Ces résultats sont importants à considérer dans un programme de screening de cultivars de pois chiches afin d'identifier ou tester d'éventuelles sources de résistance de cette culture vis-à-vis de l'anthracnose.

3.4. Conclusion

Nos résultats ont montré que la concentration de l'inoculum peut avoir une incidence importante sur la résistance du pois chiche à *A. rabiei*. Cependant, dans certains cas, ils peuvent varier en fonction de la race de l'agent pathogène et du cultivar.

Nous avons remarqué que la sévérité de la maladie varie aussi selon le type de race ou du pathotype ainsi que des lignées de pois chiche, résistantes ou sensibles.

Chapitre 4

Sources de résistance des lignées de pois chiche à *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.

4.0. Introduction

La résistance de la plante hôte est l'une des principales composantes dans la gestion de la lutte intégrée pour l'antracnose du pois chiche ; elle constitue l'approche la plus économique. Par conséquent, la sélection des cultivars avec une résistance durable à cette affection en Algérie est essentielle pour la gestion intégrée de cette maladie.

Dans cette étude le but est de tester la résistance de 28 lignées de pois chiche vis-à-vis de l'antracnose. Nous avons utilisé 3 isolats de *A. rabiei* représentant trois classes d'agressivité de l'agent pathogène (pathotypes : I, II et III).

4.1. Matériels et Méthodes

4.1.1. Matériel végétal

Les 28 lignées de pois chiche utilisées sont originaires de l'ICARDA, elles sont fournies par l'INRAA/URO, Sidi Bel Abbès (Tableau 19).

4.1.2. Matériel fongique

Trois isolats de *Ascochyta rabiei* sont utilisés dans cette étude. Ils représentent trois pathotypes possédant des degrés divers d'agressivité (Tableau 20).

Tableau 19: Lignées différentielles de pois chiche et leur origine.

Lignées	Origines	Lignées	Origines
ILC 1929	ICARDA ^a	ILC72	ICARDA
ILC 263	ICARDA	ILC182	ICARDA
ILC7795	ICARDA	ILC187	ICARDA
ILC 482	ICARDA	ILC200	ICARDA
ILC 483	ICARDA	ILC202	ICARDA
ILC 3279	ICARDA	ILC2506	ICARDA
ILC 8068	ICARDA	ILC3856	ICARDA
Flip 1025	ICARDA	ILC4421	ICARDA
Flip 4107	ICARDA	ILC5902	ICARDA
Flip 93-93C	ICARDA	ILC 5921	ICARDA
INRA 199	INRA ^b	ILC 6043	ICARDA
ICC 3996	ICRISAT ^c	ILC6090	ICARDA
Flip 10511	ICRISAT	ICC 1903	ICRISAT
ILC484	ICARDA	ILC 249	ICARDA

Tableau 20: Isolats de *Ascochyta rabiei* et leur origine, date d'isolement et degré d'agressivité.

Isolats	Origines	Dates d'isolement	Pathotypes
Sba 02	Sidi Bel Abbes	Mars 2008	I (Faiblement agressif)
At 02	Ain Témouchent	Mars 2008	II (Moyennement agressif)
Mos 02	Mostaganem	June 2008	III (Hautement agressif)

4.1.3. Inoculation des plantules

Deux semaines après le semis, dans une mini-serre (boite en plastique de 48cm x 22cm) les plantules sont prêtes pour être inoculées avec les isolats de *A. rabiei*. Dans chaque essai, Les plantules sont humidifiées avec de l'eau distillée stérile avec un pulvérisateur à pression. Après pulvérisation, les plantules sont inoculées avec une suspension de spores (5×10^5 spores/ml). Afin de maintenir une humidité suffisante, les plantules sont vaporisées avec de l'eau distillée stérile 2 fois par jour (Türkkan et Dolar, 2009).

4.1.4. Notations des symptômes

La sévérité de la maladie est notée 21 jours après l'inoculation, selon l'échelle (1 à 9) de Reddy et Singh (1984), basée sur l'intensité des symptômes (chapitre 2, page 72).

A partir de cette échelle, les lignées de pois chiche classé de 1.0 à 4.9 sont considérées comme résistantes et celles qui sont classées de 5.0 à 9, sont sensibles (Türkkan et Dolar, 2009).

4.1.5. Analyse statistique

Les variances (σ^2), les moyennes (x) et les écart-types (σ) des diverses répétitions ont été calculés et analysés selon le logiciel de statistiques STAT BOX 6.0.4. GRIMMERSOFT. Le dispositif utilisé est la randomisation totale uni-factorielle (un facteur étudié: Résistance/Sensibilité). Le test choisi est le test de Newman-Keuls ($P_{0.05}$ et $P_{0.01}$).

4.2. Résultats

Le screening des 28 lignées de pois chiche relatif aux pathotypes a révélé, 2 lignées sensibles (ILC1929 et ILC263), 16 lignées résistantes (ILC8068, ILC5902, ILC5921, ILC6043, ILC6090, ILC249, ILC182, ILC187, ILC200, ILC202, ILC3856, Flip4107, Flip93-93C, INRA199, ICC3996 et Flip 10-5/11), et 10 lignées tolérantes (ILC4421, ILC2506, ILC7795, ILC482, ILC483, ILC484, ILC3279, ICC4309, ILC 8068 et Flip 1025). Nous remarquons qu'il y a une gamme importante de lignées de pois chiche sensible à l'isolat Mos 02 (pathotype III) (Tableau 21).

Une résistance importante a été observée chez la lignée F10-5/11 (Figure 16). Elle est généralement résistante aux deux pathotype I et II, et tolérante au pathotype III.

Tableau 21: Résistance et sensibilité des lignées de pois chiche aux trois pathotypes de *A. rabiei*.

Lignées	Reaction ^a		
	Pathotype I	Pathotype II	Pathotype III
ILC 1929	S	S	S
ILC 263	S	S	S
ILC7795	R	S	S
ILC 482	R	S	S
ILC 483	R	S	S
ILC484	S	S	S
ILC 3279	S	S	S
ILC 8068	R	S	S
Flip 1025	R	S	S
Flip 4107	R	R	S
Flip 93-93C	R	R	S
INRA 199	R	R	S
ICC 3996	R	R	S
Flip 10511	R	R	S
ILC72	R	R	R
ILC182	R	R	R
ILC187	R	R	R
ILC200	R	R	R
ILC202	R	R	R
ILC2506	S	S	S
ILC3856	R	R	R
ILC4421	S	S	S
ILC5902	R	R	R
ILC 5921	R	R	R
ILC 6043	R	R	R
ILC6090	R	R	R
ILC249	R	R	S
ICC 4309	R	S	S

^aRéaction des lignées vis-à-vis des pathotypes: Notation de 1.0 à 4.9 lignée résistante (R); Notation de 5.0 à 9.0 lignée sensible (S) (Türkkan et Dolar, 2009).

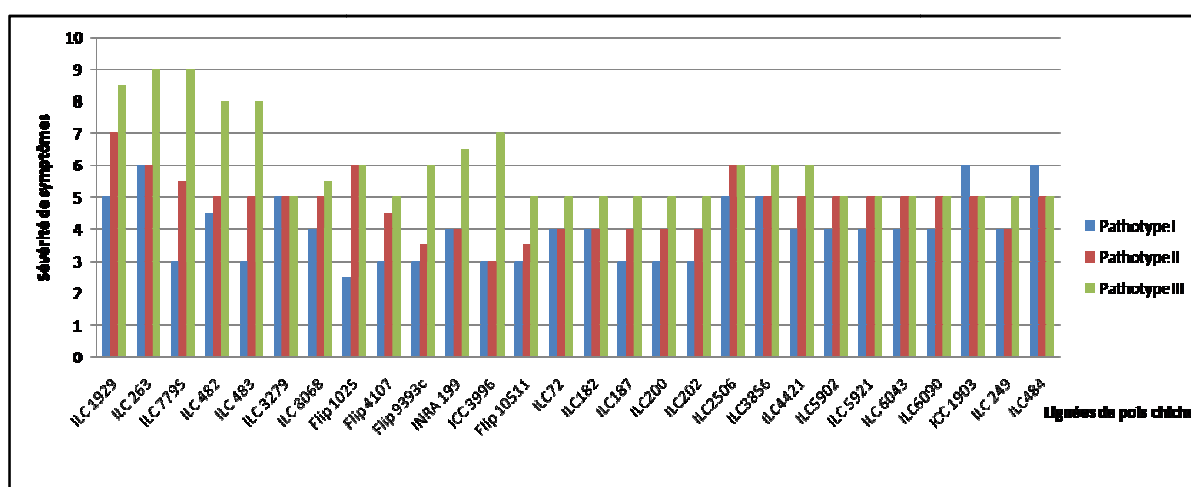


Figure 16: Réaction de 28 lignées de pois chiche aux trois pathotype de *A. rabiei*.

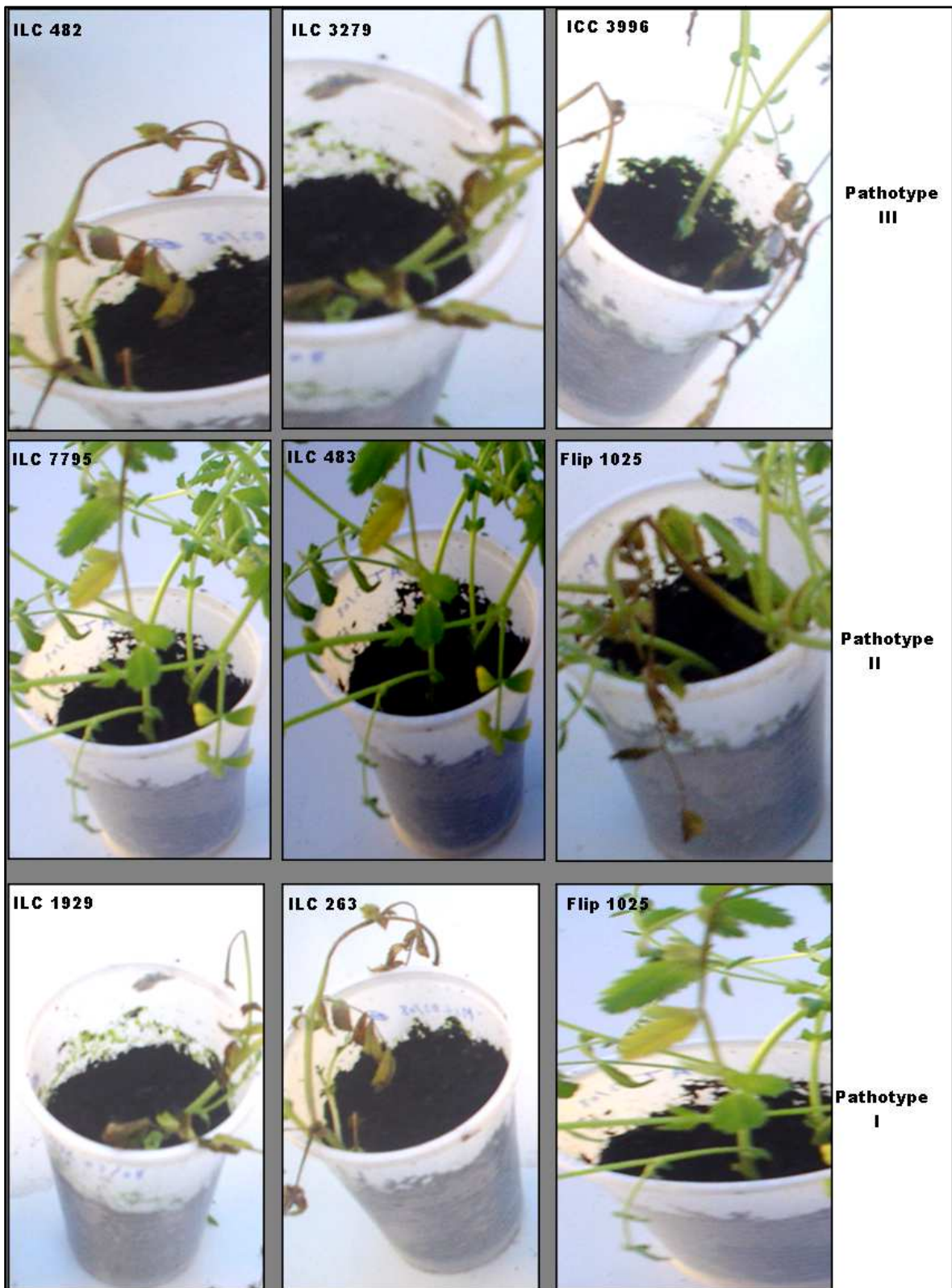


Figure 17: Symptômes de l'antracnose sur les plantules de pois chiche.

Le dendrogramme de similarité (Figure 18) montre des classes différentes de réaction de ces lignées aux trois isolats. Il nous indique aussi la résistance des trois lignées (F10-5/11, ICC3996 et INRA199) et nous confirme la sensibilité des deux lignées (ILC263 et ILC1929).

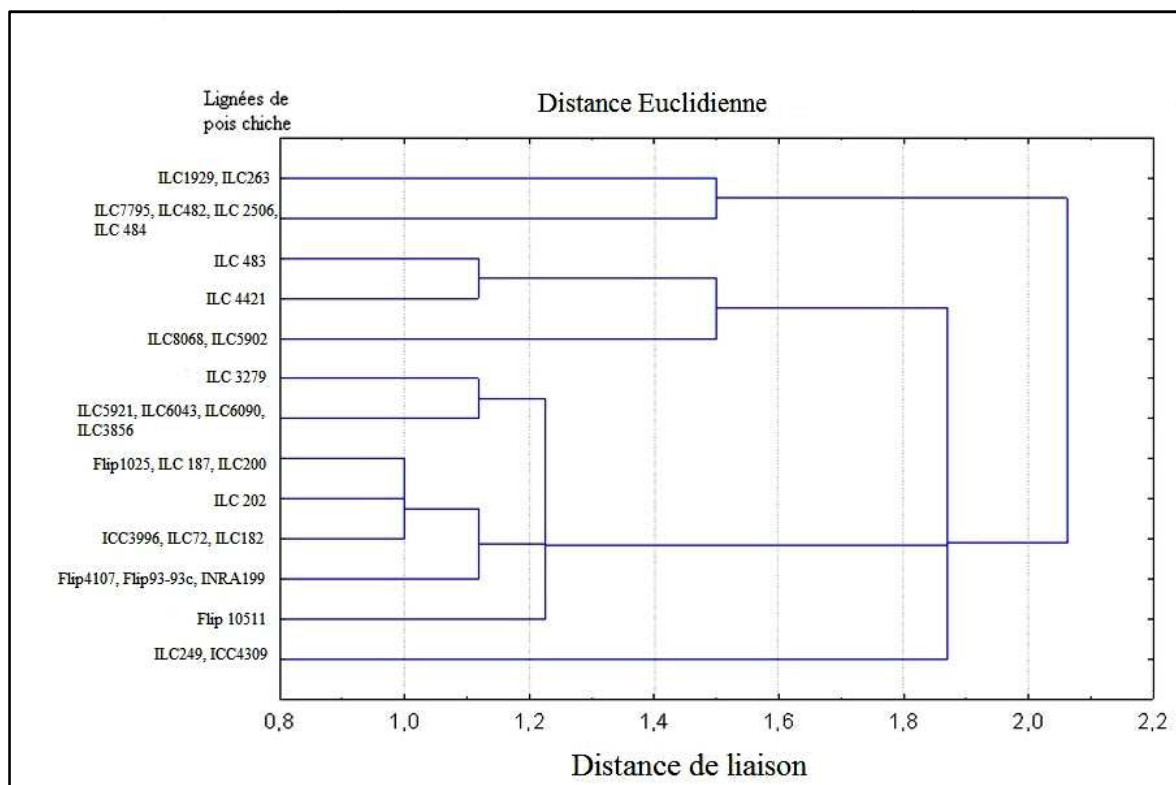


Figure 18: Dendrogramme montrant la similitude et le regroupement successif des lignées de pois chiche basé sur leur réaction aux pathotypes de *A. rabiei*.

Un effet hautement significatif ($P < 0,01$) a été observé dans la réaction des lignées de pois chiche aux trois pathotype de *A. rabiei* (Tableaux 22 et 23 ; Annexe 09).

Tableau 22: Agressivité des trois pathotypes de *A. rabiei* sur les lignées de pois chiche.

	Isolats			F calculé	C.V.
	Sba 02	At 02	Mos 02		
Agressivité (Moyenne $\pm \delta$)	7.76 ^c \pm 0.59	4.84 ^b \pm 0.68	6.80 ^a \pm 1.43	98.22**	21.8%

** Effet hautement significatif à $P < 0.01$; δ : Ecart-type; C.V. : Coefficient de variation; a, b et c : Groupes homogènes.

Tableau 23: Reaction de 28 lignées de pois chiche vis-à-vis de 3 pathotypes de *A. rabiei*.

Lignées de pois chiche	Sévérité (Moyenne \pm δ)	F calculé
ILC 1929	6.83 ^a \pm 0.52	
ILC 263	7 ^a \pm 0.85	
ILC7795, ILC 482, ILC 2506, ILC484	5.83 ^{ab} \pm 0.52	
ILC 483	5.33 ^{bc} \pm 0.6	
ILC 4421	5b ^{cd} \pm 0.85	
ILC 3279, ILC 8068, ILC 5902 ILC 5921, ILC 6043, ILC 6090, ILC3856	4.83 ^{bcd} \pm 1.16	9.45**
Flip 1025, ILC 187, ILC 200 ILC 202	4.66 ^{cd} \pm 1.16	
Flip 4107, Flip 93-93C INRA 199, ICC 3996, ILC72 ILC 182	4.33 ^{cd} \pm 0.85	
Flip 10511, ILC249, ICC1903	4.33 ^d \pm 0.52	

** Effet hautement significatif à $P < 0.01$; δ : Ecart-type; C.V. : Coefficient de variation; a, b, c et d : Groupes homogènes.

4.3. Discussion

L'objectif principal de cette étude est la recherche de sources de résistance à *A. rabiei* dans le potentiel génétique de 28 lignées de pois chiche. De nombreuses recherches sur le screening du pois chiche pour la résistance à l'antracnose ont été effectuées et une longue liste serait nécessaire pour mentionner les génotypes de pois chiche signalés comme étant résistants. Ce screening a été signalé dans de nombreux pays, dont l'Inde (Reddy et Singh, 1984; Singh et al., 1984; Singh et Reddy, 1990; Haware et al., 1995), la Syrie, le Liban (Reddy et Kabbabeh 1985, Udupa et al., 1998 ; ICARDA, 2003), la région de Palouse des Etats-Unis (Jan et Wiese, 1991 ; Chen et al., 2004), l'Italie (Pouilles Porta-et al., 1996), Pakistan (Jamil et al., 2002 ; Iqbal et al., 2003 ; Iqbal et al., 2004, Malik et al., 2005 ; Ilyas et al. 2007 ; Ghazanfer et al., 2010), l'Espagne (Navas-Cortes et al., 1998), l'Australie (Khan et al., 1999, Nasir et al. 2000), la Tunisie (Hamza et al., 2000), Canada (Chongo et al., 2004 ; Vail et Banniza, 2008), la Turquie (Dolar et al., 1994 ; Türkkkan et Dolar, 2009) et l'Algérie (Zikara-Zine et Bouznad, 2007).

Udupa et Weigand (1997) ont suggéré qu'il est possible de déterminer la résistance et la sensibilité du pois chiche en fonction de leur réaction à trois pathotypes de *A. rabiei* : le pathotype I pour déterminer les lignées de pois chiche sensibles, le pathotype II pour les lignées tolérantes et le pathotype III pour les lignées de pois chiche résistantes.

Au Pakistan, la sensibilité de la lignée ILC 263 a été rapportée par Iqbal et al. (2004), et la lignée ILC 1929 par Reddy et Kabbabeh (1985). Les cultivars de pois chiche ILC3279 et ICC3996 enregistrés comme résistants à l'antracnose pendant plusieurs années dans le monde (Singh et al., 1984 ; Labdi, 1995 ; Nasir et al., 2000), montrent une certaine sensibilité ces dernières années (ICARDA, 2003). Ainsi, nos résultats confirment cette réaction de sensibilité chez ces cultivars.

Malgré l'importance de l'utilisation des cultivars résistants dans la lutte contre cette maladie, il est difficile d'obtenir un niveau de résistance stable (Iqbal et al., 2003). Les causes de cette dégradation rapide de la résistance variétale chez le pois chiche sont dues à la variabilité pathogénique de l'agent pathogène et la présence du téléomorphe *Didymella rabiei* (Kov. v. Arx.) dans les débris de la culture précédente (Navas-Cortes et al., 1990 ; Trapero-Casas et Kaiser, 1992). Les ascospores de *D. rabiei* (stade parfait de *A. rabiei*) sont une source importante d'inoculum primaire jouant un rôle important dans la pathogénicité et l'épidémiologie de *A. rabiei* (Nasir et al., 2000).

La tolérance des lignées de pois chiche ILC 482 et ILC 483 décrite par plusieurs auteurs (Nasir et al., 2000 ; Iqbal et al., 2004), n'est pas confirmée vis-à-vis de 2 pathotypes (II et III) de *A. rabiei* dans nos travaux. De même, cette sensibilité de ces deux lignées a été signalé par d'autres auteurs comme Singh et Reddy (1990), ce qui corrobore nos résultats. Par ailleurs, notre étude, à travers le screening des lignées effectué, montre leur comportement différent vis-à-vis des pathotypes confrontés.

4.4. Conclusion

Les résultats de cette étude nous alerte sur la possibilité de changements dans la population de *A. rabiei* (nouveaux pathotypes ou apparition de la forme sexuée *Didymella rabiei*), pouvant être observés en Algérie. Aussi de nouvelles sources de résistance sont susceptibles d'être incorporés dans de nouvelles variétés largement cultivées. La surveillance continue de la population de l'agent pathogène ainsi que des cultivars est impérative pour le contrôle de la maladie. Un suivi permanent et continu du niveau de la résistance au sein de nos cultivars restera un défi, mais il sera essentiel pour soutenir la production de pois chiche

dans les zones où l'ascochytose constitue une menace majeure (Régions de Sidi Bel Abbés, de Mascara et d'Ain Témouchent).

Chapitre 5

Evaluation des espèces spontanées de *Cicer* pour la résistance à *Ascochyta rabiei*

5.0. Introduction

Les cultivars résistants sont difficiles à obtenir en raison de l'évolution continue de l'agent pathogène *A. rabiei* et l'apparition de nouveaux pathotypes qui permettent de surmonter la résistance de ceux existants. Par ailleurs, il est judicieux de mieux valoriser les nouveaux outils d'amélioration dans la sélection de nouveaux génotypes de pois chiche résistants au sein des lignées des espèces spontanées du genre *Cicer*.

Dans ce chapitre, nous décrivons la réaction de 25 lignées de 5 espèces spontanées originaires du Proche-Orient fournies par l'ICARDA vis-à-vis de 3 pathotypes de *A. rabiei* originaires du Nord ouest algérien.

5.1. Matériel et Méthodes

5.1.1. Matériel fongique

Trois isolats de *Ascochyta rabiei* utilisés dans cette étude sont obtenus par isolement à partir d'échantillons prélevés sur tiges, feuilles et gousses de pois chiche présentant des symptômes de l'antracnose. Ces isolats représentent trois pathotypes selon leur degré d'agressivité (Tableau 24).

5.1.2. Matériel végétal

Nous avons utilisé 25 lignées de 5 espèces spontanées différentes de *Cicer* et une lignée sensible de pois chiche (ILC1929) comme témoin (Tableau 25), originaires de l'ICARDA et fournies par l'INRAA/URO, Sidi Bel Abbès.

5.1.3. Purification des cultures et conservation des isolats

Les isolats ont été conservés dans des boîtes de Petri contenant le milieu de culture CDA (Chickpea Seed-Meal Dextrose Agar) à 4°C (Jamil et *al.*, 2002). Pour le test, les isolats sont repiqués et maintenus dans le milieu CDA à une température de 20 ± 2 °C (Dolar et *al.*, 1994).

Tableau 24: Isolats de *Ascochyta rabiei* et origine, date d'isolement et degré d'agressivité.

Isolats	Origines	Dates d'isolement	Pathotypes
Sba 02	Sidi Bel Abbas	Mars 2008	I (Faiblement agressif)
At 02	Ain Témouchent	Mars 2008	II (Moyennement agressif)
Mos 02	Mostaganem	June 2008	III (Hautement agressif)

Tableau 25 : Lignée de pois chiche et lignées d'espèces spontanées de *Cicer*.

Espèces	Lignées
<i>Cicer arietinum</i>	ILC1929
<i>C. judaicum</i>	ILWC4
	ILWC43
	ILWC148
	ILWC168
	ILWC256
<i>C. bijugum</i>	ILWC0
	ILWC195
	ILWC241
	ILWC285
	ILWC286
<i>C. cuneatum</i>	ILWC37
	ILWC40
	ILWC185
	ILWC187
	ILWC232
<i>C. echinospermum</i>	ILWC0
	ILWC180
	ILWC181
	ILWC235
	ILWC246
<i>C. reticulatum</i>	ILWC81
	ILWC104
	ILWC237
	ILWC247
	ILWC290

ILC: International Legume *Cicer* ; ILWC: International Legume Wild *Cicer*.

5.1.4. Obtention des plantules et préparation de l'inoculum

Les graines de pois chiches utilisées sont stérilisées avec l'hypochlorite de sodium (à 2%) pendant 3 minutes puis rincées 3 fois avec l'eau distillée stérile. Ensuite, elles sont semées dans des pots de 10 cm × 6 cm, contenant une tourbe stérile, à raison de 2 graines par pot et 4 répétitions pour chaque traitement.

Les colonies des isolats sont immergées dans l'eau distillée stérile puis grattées par une spatule de verre stérile. La suspension est ajustée à 5×10^5 conidies/ml à l'aide d'une cellule de Malassez (Labdi, 1995). Tous les isolats utilisés dans cette étude sont proviennent d'une culture monospore.

5.1.5. Inoculation des plantules

Deux semaines après le semis, dans une miniserre (boîte en plastique de 48cm x 22cm) les plantules sont prêtes pour être inoculées avec les isolats de *A. rabiei*. Dans chaque essai, Les plantules sont humidifiées avec de l'eau distillée stérile avec un pulvérisateur à pression. Après pulvérisation, les plantules sont inoculées avec une suspension de spores (5×10^5 spores/ml). Afin de maintenir une humidité suffisante, les plantules sont vaporisées avec de l'eau distillée stérile 2 fois par jour (Türkkan et Dolar, 2009).

5.1.6. Notations des symptômes

La sévérité de la maladie est notée 21 jours après l'inoculation, selon l'échelle (1 à 9) de Reddy et Singh (1984), basé sur l'intensité des symptômes (chapitre 2, page 72).

A partir de cette échelle, les lignées de pois chiche classé de 1.0 à 4.9 sont considérées comme résistantes et celles qui sont classées de 5.0 à 9, sont considérées sensibles (Türkkan et Dolar, 2009).

5.1.7. Analyse statistique

Les variances (σ^2), les moyennes (\bar{x}) et les écart-types (σ) des diverses répétitions ont été calculés et analysés selon le logiciel de statistiques STAT BOX 6.0.4. GRIMMERSOFT. Le dispositif utilisé est la randomisation totale unifactorielle (un facteur étudié : Résistance/Sensibilité). Le test choisi est le test de Newman-Keuls ($P_{0.05}$ et $P_{0.01}$).

5.2. Résultats

L'intensité des symptômes de l'anthracose sur les plantules des lignées des espèces spontanées est différente.

Une résistance importante a été observée chez les lignées des espèces *Cicer judaicum*, *C. cuneatum* et *C. reticulatum* par rapport aux autres espèces (Figure 19 ; Tableau 26). Nous obtenons: 14 lignées résistantes à Sba02 (pathotype I) (ILWC4, ILWC43, ILWC148, ILWC168, ILWC195, ILWC285, ILWC286, ILWC37, ILWC40, ILWC232, ILWC246, ILWC81, ILWC104, ILWC247), 15 lignées résistantes à At02 (pathotype II) (ILWC4, ILWC43, ILWC168, ILWC256, ILWC195, ILWC285, ILWC286, ILWC37, ILWC40, ILWC185, ILWC232, ILWC0, ILWC246, ILWC104, ILWC246), et 14 lignées résistantes à Mos02 (pathotype III) (ILWC4, ILWC43, ILWC148, ILWC168, ILWC195, ILWC285, ILWC286, ILWC37, ILWC40, ILWC232, ILWC246, ILWC81, ILWC104, ILWC247).

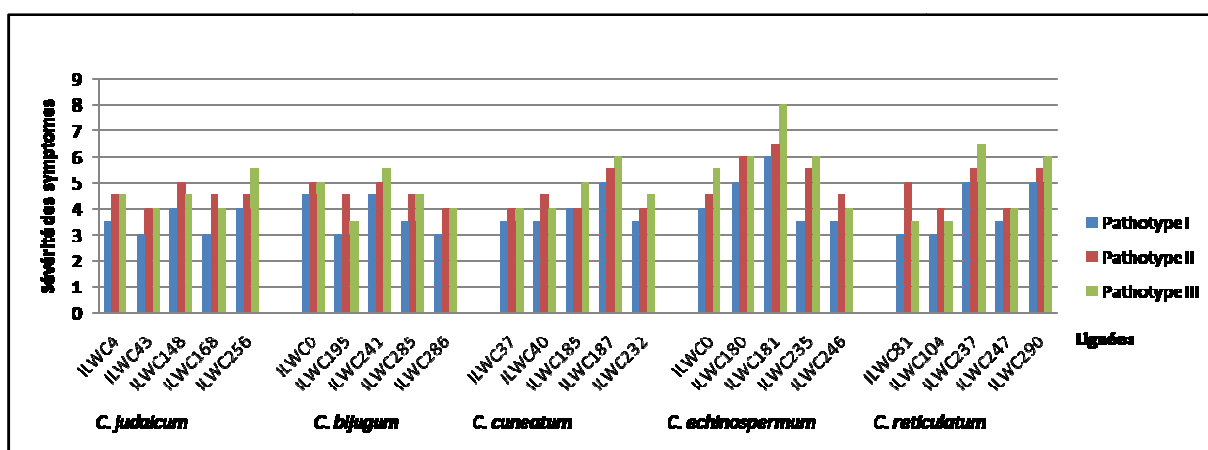


Figure 19: Agressivité de trois pathotypes de *A. rabiei* sur les lignées des espèces spontanées de *Cicer*.

Tableau 26 : Sensibilité ou résistance des lignées des espèces spontanées de *Cicer* à trois isolats de *A. rabiei* (pathotype I, II et III).

Espèces	Lignées	Pathotype I	Pathotype II	Pathotype III
<i>Cicer arietinum</i>	ILC1929	S	S	S
<i>C. judaicum</i>	ILWC4	R	R	R
	ILWC43	R	R	R
	ILWC148	R	S	R
	ILWC168	R	R	R
	ILWC256	S	R	S
<i>C. bijugum</i>	ILWC0	S	S	S
	ILWC195	R	R	R
	ILWC241	S	S	S
	ILWC285	R	R	R
	ILWC286	R	R	R
<i>C. cuneatum</i>	ILWC37	R	R	R
	ILWC40	R	R	R
	ILWC185	S	R	S
	ILWC187	S	S	S
	ILWC232	R	R	R
<i>C. echinospermum</i>	ILWC0	S	R	S
	ILWC180	S	S	S
	ILWC181	S	S	S
	ILWC235	S	S	S
	ILWC246	R	R	R
<i>C. reticulatum</i>	ILWC81	R	S	R
	ILWC104	R	R	R
	ILWC237	S	S	S
	ILWC247	R	R	R
	ILWC290	S	S	S

R : résistante (1 – 4.9) ; S : Sensible (5 – 9) (Türkkan et Dolar, 2009).

D'après ces résultats, ces espèces spontanées montrent une source importante et intéressante de résistance à *A. rabiei* (>50%) (Tableau 26). Mais malheureusement, deux espèces seulement (*Cicer reticulatum* et *C. echinospermum*) qui sont fertiles et peuvent être utilisées comme source de résistance (Collard et al., 2003).

L'évaluation de la résistance des espèces spontanées du genre *Cicer* a montré une réaction large et variable mais importante, qui devra être à l'avenir utilisée dans le programme de création de nouveaux cultivars de pois chiche hybrides résistants à l'antracnose.

Un effet hautement significatif ($P < 0.01$) a été observé dans la réaction des lignées vis-à-vis des 3 isolats (Tableaux 27, 28 et 29 ; Annexes 10, 11, 12, 13, 14, 15 et 16).

Tableau 27 : Réaction des lignées des espèces spontanées de *Cicer* à l'isolat Sba 02 de *A. rabiei* (pathotype I) (Annexe 17).

Espèces	Lignées	Moyenne $\pm \delta$
<i>Cicer arietinum</i>	ILC1929	6.5 ^a \pm 2.51
<i>C. judaicum</i>	ILWC4	3.5 ^c \pm 1
	ILWC43	3 ^c
	ILWC148	4 ^{bc} \pm 1.15
	ILWC168	3 ^c
	ILWC256	4 ^{bc}
<i>C. bijugum</i>	ILWC0	4.5 ^{abc} \pm 1
	ILWC195	3 ^c
	ILWC241	4.5 ^{abc} \pm 1
	ILWC285	3.5 ^c \pm 1
	ILWC286	3 ^c
<i>C. cuneatum</i>	ILWC37	3.5 ^c \pm 1
	ILWC40	3.5 ^c \pm 1
	ILWC185	4 ^{bc} \pm 1.15
	ILWC187	5 ^{abc}
	ILWC232	3.5 ^c \pm 1
<i>C. echinospermum</i>	ILWC0	4 ^{bc} \pm 1.15
	ILWC180	5 ^{abc}
	ILWC181	6 ^{ab} \pm 1.15
	ILWC235	3.5 ^c \pm 1
	ILWC246	3.5 ^c \pm 1
<i>C. reticulatum</i>	ILWC81	3 ^c
	ILWC104	3 ^c
	ILWC237	5 ^{abc}
	ILWC247	3.5 ^c \pm 1
	ILWC290	5 ^{abc}
Test F		4.11**
C.V.		23.63%

** Effet hautement significatif (P<0.01, Test de Newmann-Keuls à 1%) ; δ : Ecart-type ; C.V. : Coefficient de variation.

Tableau 28 : Réaction des lignées des espèces spontanées de *Cicer* à l'isolat At 02 de *A. rabiei* (pathotype II) (Annexe 18).

Espèces	Lignées	Moyenne $\pm \delta$
<i>Cicer arietinum</i>	ILC1929	8.5 ^a \pm 1
<i>C. judaicum</i>	ILWC4	4.5 ^b \pm 1
	ILWC43	4 ^b \pm 1.15
	ILWC148	5 ^b
	ILWC168	4.5 ^b \pm 1
	ILWC256	4.5 ^b \pm 1
<i>C. bijugum</i>	ILWC0	5 ^b
	ILWC195	4.5 ^b \pm 1
	ILWC241	5 ^b
	ILWC285	4.5 ^b \pm 1
	ILWC286	4 ^b \pm 1.15
<i>C. cuneatum</i>	ILWC37	4 ^b \pm 1.15
	ILWC40	4.5 ^b \pm 1
	ILWC185	4 ^b \pm 1.15
	ILWC187	5.5 ^b \pm 1
	ILWC232	4 ^b \pm 1.15
<i>C. echinospermum</i>	ILWC0	4.5 ^b \pm 1
	ILWC180	6 ^b \pm 1.15
	ILWC181	6.5 ^b \pm 1
	ILWC235	5.5 ^b \pm 1
	ILWC246	4.5 ^b \pm 1
<i>C. reticulatum</i>	ILWC81	5 ^b
	ILWC104	4 ^b \pm 1.15
	ILWC237	5.5 ^b \pm 1
	ILWC247	4 ^b \pm 1.15
	ILWC290	5.5 ^b \pm 1.91
Test F		3.82**
C.V.		20.99%

** Effet hautement significatif (P<0.01, Test de Newmann-Keuls à 1%) ; δ : Ecart-type ; C.V. : Coefficient de variation.

Tableau 29 : Réaction des lignées des espèces spontanées de *Cicer* à l'isolat Mos 02 de *A. rabiei* (pathotype III) (Annexe 19).

Espèces	Lignées	Moyenne $\pm \delta$
<i>Cicer arietinum</i>	ILC1929	9 ^a
<i>C. judaicum</i>	ILWC4	4.5 ^{cd} \pm 1
	ILWC43	4 ^{cd} \pm 1.15
	ILWC148	4.5 ^{cd} \pm 1
	ILWC168	4 ^{cd} \pm 1.15
	ILWC256	5.5 ^{cd} \pm 1
<i>C. bijugum</i>	ILWC0	5 ^{cd}
	ILWC195	3.5 ^d \pm 1
	ILWC241	5.5 ^{cd} \pm 1
	ILWC285	4.5 ^{cd} \pm 1.91
	ILWC286	4 ^{cd} \pm 1.15
<i>C. cuneatum</i>	ILWC37	4 ^{cd} \pm 1.15
	ILWC40	4 ^{cd} \pm 1.15
	ILWC185	5 ^{cd}
	ILWC187	6 ^{bcd}
	ILWC232	4.5 ^{cd} \pm 1
<i>C. echinospermum</i>	ILWC0	5.5 ^{cd} \pm 1
	ILWC180	6 ^{bcd} \pm 1.15
	ILWC181	8 ^{ab} \pm 1.15
	ILWC235	6 ^{bcd} \pm 1.15
	ILWC246	4 ^{cd} \pm 1.15
<i>C. reticulatum</i>	ILWC81	3.5 ^d \pm 1
	ILWC104	3.5 ^d \pm 1
	ILWC237	6.5 ^{bc} \pm 1
	ILWC247	4 ^{cd} \pm 1.15
	ILWC290	6 ^{bcd} \pm 1.15
Test F		6.55**
C.V.		21 28%

** Effet hautement significatif (P<0.01, Test de Newmann-Keuls à 1%) ; δ : Ecart-type ; C.V. : Coefficient de variation.

5.3. Discussion

Plusieurs chercheurs dans le monde, ont rapporté l'importance de ces espèces dans la résistance aux différents stress qui affectent la culture de pois chiche (Nene et Haware, 1980 ; Haware et al., 1992 ; Singh et Reddy, 1993 ; Singh et Weigand, 1994 ; Singh et al., 1994 ; Singh et al., 1998 ; Shah et al., 2005 ; Pande et al., 2006 ; Aryanmanesh, 2007).

Sur le plan pathologique, il existe un spectre très large de variabilité chez les isolats de *A. rabiei* (Navas-Cortes et al., 1998 ; Chongo et al., 2004 ; Vail et Banniza, 2008 ; Türkkan et Dolar, 2009). Il faut donc utiliser dans le test de screening, 2 ou 3 classes d'agressivité de l'agent pathogène pour faciliter l'interprétation des résultats (Udupa et al., 1998). Dans notre

essai, nous avons utilisé trois isolats qui représentent trois pathotypes de *A. rabiei* selon leur degré d'agressivité.

De même en Australie, Collard et *al.* (2003) ont utilisé un seul isolat pour le test de screening des lignées et ont rapporté l'existence d'une résistance importante chez les lignées des espèces spontanées à cet isolat.

Les lignées de *C. judaicum* ont une résistance plus importante que les lignées des autres espèces. Ces résultats ont été signalés également par Singh et *al.* (1991) en Syrie, au Liban et en Turquie. Nous remarquons que la majorité des lignées que nous avons testé, n'ont pas été étudiées ailleurs, 7 lignées seulement ont montré une similarité de leur réaction vis-à-vis de *A. rabiei*. Une lignée ILWC 81 (*Cicer reticulatum*) nous semble résistante, mais elle est sensible selon les travaux de Stamigna et *al.* 1998, et Collard et *al.* (2003).

L'absence de résultats complètement similaires avec les autres recherches, est liée peut être aux méthodes choisies (nombre d'isolats, nature et concentration de l'inoculum, plantules inoculées par des isolats séparément ou mixtes ...etc.).

Les lignées de trois espèces *C. judaicum*, *C. bijugum* et *C. reticulatum*, ont donné un niveau très élevé de résistance à l'anthracnose. *C. reticulatum*, nous semble capable d'être utilisée à l'avenir pour ses caractères de résistance aux cultivars importants de pois chiche, par hybridation ou par d'autres méthodes appropriées. Car, plusieurs cultivars de pois chiche sélectionnés et cultivés dans le monde résistants pendant plusieurs années sont devenus plus tard sensibles quand ils furent cultivés à grande échelle.

5.4. Conclusion

Le screening de nombreuses lignées d'espèces spontanées de *Cicer* a montré un comportement différent vis-à-vis de trois pathotypes de *A. rabiei*. L'évaluation de la réaction des espèces spontanées a révélé la présence d'une résistance significative par rapport aux cultivars de pois chiches connus (ILC 3279, et ILC72 ICC3996), dans différents pays (Aryamanesh 2007).

Les espèces spontanées *Cicer Judaicum*, *C. bijugum* et *C. reticulatum*, ont donné un très haut niveau de résistance contre l'ascochytose du pois chiche. Cependant seule *C. reticulatum* peut être utilisé à l'avenir pour transférer ses caractères de résistance aux cultivars de pois chiche sensibles et souvent cultivés.

Ces résultats pourraient être utiles pour choisir des pathotypes représentatifs pouvant être utilisés pour identifier les groupes résistants spécifiques en vue de leur utilisation dans un programme de lutte. Une hybridation interspécifique (*Cicer arietinum* × *Cicer* sp.), entre les lignées d'espèces spontanées résistantes et les cultivars de pois chiche sensibles peut être envisagée afin de juguler les méfaits de cette maladie d'une part et de limiter l'utilisation de fongicides d'autre part.

Chapitre 6

Lutte biologique *in vitro* contre *A. rabiei* par l'utilisation de *Trichoderma harzianum*

6.0. Introduction

En dépit des pertes économiques qu'ils entraînent, le contrôle de microorganismes phytopathogènes reste toujours limité à des mesures prophylactiques ; la désinfection du sol n'est jamais complète en raison d'une part, de la difficulté de sa réalisation et d'autre part, à l'induction de souches résistantes (Camporota, 1985).

Cependant, la lutte biologique par l'utilisation des microorganismes antagonistes peut être envisagée comme un autre moyen pour combattre l'antracnose du pois chiche provoqué par *A. rabiei* dans le cadre d'un programme de lutte intégrée.

Dans le but de chercher d'autres alternatives de lutte contre ce champignon, et dans une optique de lutte biologique ci-dessous présentée par l'interaction entre *Ascochyta rabiei* et un agent antagoniste actif en lutte biologique sur divers agents pathogènes : le *Trichoderma harzianum* (Dugan et al., 2005).

Cette étude porte sur l'évaluation de l'effet antagoniste de *Trichoderma harzianum* sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei*, agent causal de l'antracnose du pois chiche (*Cicer arietinum* L.).

6.1. Matériel et Méthodes

6.1.1. Matériel fongique

6.1.1.1. Le pathogène : *Ascochyta rabiei*

Les isolats d'*Ascochyta rabiei* utilisés dans cette étude, proviennent d'isolement effectués sur des échantillons de tiges, feuilles et gousses de pois chiche présentant des symptômes de l'antracnose (Tableau 30).

6.1.1.2. L'antagoniste : *Trichoderma harzianum*

La souche de l'antagoniste *Trichoderma harzianum* a été fournie par le laboratoire de Phytopathologie de l'université de Chlef (Code : 091095).

Tableau 30 : Isolats de *Ascochyta rabiei* avec origine et date d'isolement.

Isolats	Origines	Dates d'isolement
At0108	Ain Témouchent	Mars 2008
Sba0108	Sidi Bel Abbés	Mars 2008
Sba0208	Sidi Bel Abbés	Mars 2008
Msc0108	Mascara	Avril 2008
Ad0108	Ain Defla	Avril 2008
Mos0108	Mostaganem	Juin 2008
Mos0208	Mostaganem	Juin 2008
Msc0208	Mascara	Novembre 2008
Msc0308	Mascara	Novembre 2008
Msc0408	Mascara	Novembre 2008
At0208	Ain Témouchent	Novembre 2008
At0308	Ain Témouchent	Novembre 2008
Rel0109	Relizane	Septembre 2009
Rel0209	Relizane	Septembre 2009
Rel0309	Relizane	Septembre 2009
Chl0110	Chlef	Juillet 2010

6.2. Méthodes

6.2.1. Purification et conservation des isolats

Les isolats sont conservé dans des boites de Petri contenant le milieu de culture CDA (Chickpea Seed Meal Dextrose Agar) (Dolar et *al.*, 1994). Ces isolats sont maintenus dans le milieu dans une étuve à une température de 20 ± 2 °C (Jamil et *al.*, 2002).

6.2.2. Confrontation directe

Nous avons effectué la méthode de Howell (2003) pour évaluer l'action inhibitrice de *T. harzianum* sur la croissance mycélienne de *A. rabiei*. Nous diposons dans des boîtes de Pétri contenant 15 ml de milieu de CDA, diamétralement opposés, deux explants (5 mm de diamètre) issus de colonie de *A. rabiei* et de *T. harzianum* (Fig. 20). Quatre répétitions sont réalisées. Les témoins sont constitués de colonies de *A. rabiei* dans des boites de Pétri sans antagoniste. La croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei* est évaluée par la mesure du rayon des colonies pendant 7 jours.

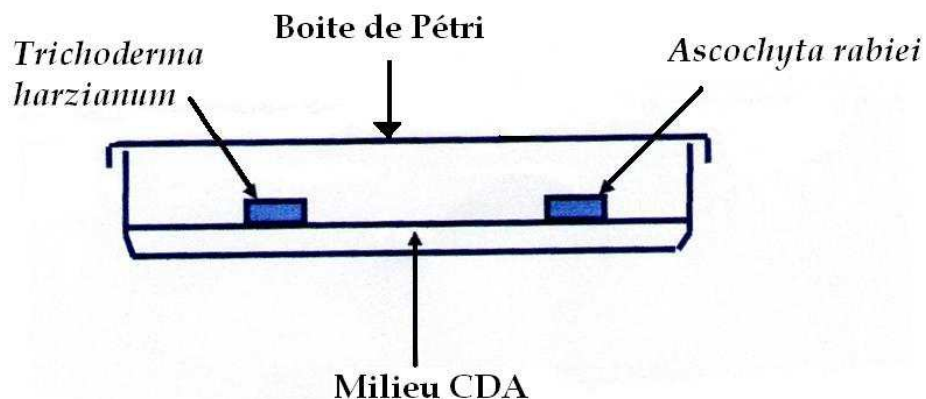


Figure 20 : Technique de confrontation directe.

6.2.2.1. Evaluation de la croissance mycélienne

Pour l'estimation de la croissance mycélienne, la technique utilisée est celle indiquée par Rapilly (1968). Cette méthode consiste à mesurer la croissance mycélienne linéaire journalière des colonies jusqu'au septième jour, selon la formule suivante:

$$L = (D - d) / 2$$

L : Croissance mycélienne (mm).

D : Diamètre de la colonie (mm).

d : Diamètre de l'explant (5mm).

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

$$V(\text{mm/j}) = \sum (L_n - L_{n-1}) / n$$

V : Vitesse de croissance mycélienne (mm/j),

L_n , L_{n-1} ... Croissances mycéliennes pendant le jour n.

Le taux d'inhibition (%), est calculé comme suit :

$$TI (\%) = (L_t - L) \times 100 / L_t$$

TI : Taux d' inhibition (%).

L_t : Croissance mycélienne journalière du témoin.

L : Croissance mycélienne journalière des isolats de *A. rabiei* en présence de *T. harzianum*.

6.2.3. Confrontation indirecte

Cette technique consiste à déposer au centre de chaque boîte de Pétri contenant le milieu de culture CDA (Chickpea Seed-Meal Dextrose Agar) un explant de 5mm de

diamètre prélevé à partir de colonies de *Trichoderma harzianum* et *A. rabiei*. La partie inférieure contenant *Trichoderma harzianum* est scellé avec une autre contenant le pathogène, par une bande de para film de façon à éviter toute contamination et toute perte de gaz (Fig. 21) (Camporota, 1985). Quatre répétitions sont faites avec un témoin non traité.

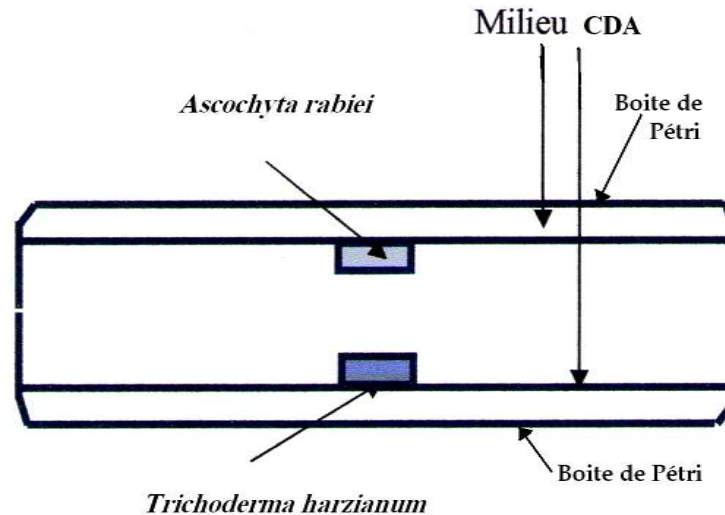


Figure 21 : Technique du test des substances volatiles (Confrontation indirecte).

6.2.4. Analyse statistique

Le dispositif utilisé est une randomisation totale unifactorielle avec le test de Newman et Keuls ($P_{0,05}$ et $P_{0,01}$). L'analyse a été faite à l'aide du logiciel STAT BOX 6.0.4. (GRIMMERSOFT).

6.3. Résultats

6.3.1. Confrontation directe

Nous constatons que la croissance mycélienne chez le témoin est toujours plus importante par rapport à celle obtenue avec les confrontations (Pathogène – Antagoniste). Nous remarquons que les moyennes de la croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei* sous l'effet de *T. harzianum* (Figure 22), avec création d'une zone d'inhibition (Fig. 23), sont toujours inférieures (1.23 et 4.16 mm/j) que celles du témoin (2.93 à 7.50 mm/j). Cette réduction est suivie par un arrêt complet de la croissance.

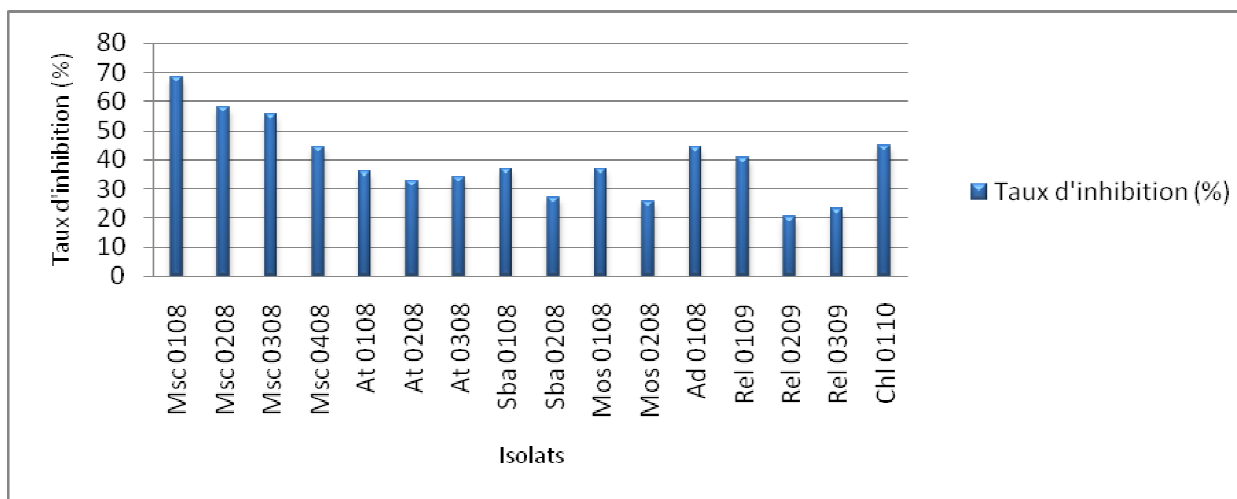


Figure 22: Taux d'inhibition (TI) de la croissance mycélienne de *A. rabiei* sous l'effet de *T. harzianum*.

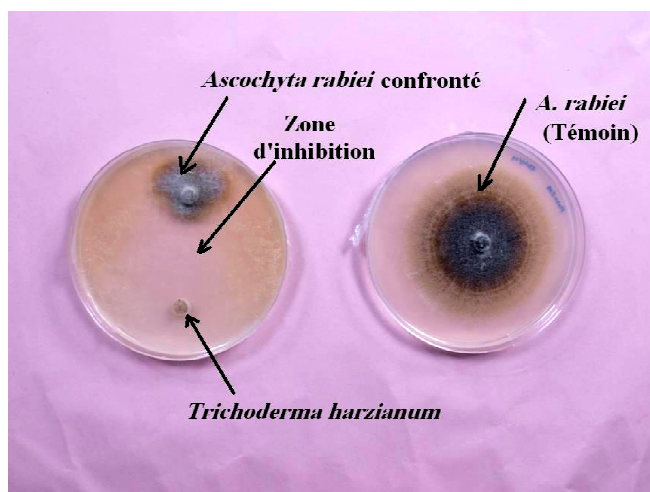


Figure 23 : Effet antagoniste de *T. harzianum* sur la croissance mycélienne de *A. rabiei* (Exemple de l'isolat Msc0108).

Nous remarquons que le taux d'inhibition est très important pour la plupart des isolats (20 à 68%) (Fig. 22). Cela, explique l'existence d'une action inhibitrice sur la croissance mycélienne de *A. rabiei* par *T. harzianum*.

L'analyse statistique des résultats montre un effet hautement significatif de l'action antagoniste de *T. harzianum* sur la croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei* ($P < 0.01$) (Tableau 31).

Tableau 31 : Moyennes de croissance mycélienne (mm/j) des isolats de *A. rabiei* confrontés avec *T. harzianum*.

Isolats	Croissances mycéliennes (mm/j) (Moy ± σ)		Test F	C.V.
	Témoin (mm/j)	<i>A. rabiei</i> confronté avec <i>T. harzianum</i> (mm/j)		
At0108	3,43 ^a ± 0,4	2,2 ^b ± 0,26	19,55**	5,36%
Sba0108	3,1 ^a ± 0,1	1,96 ^b ± 0,15	115,5**	5,1%
Sba0208	3,36 ^a ± 0,15	2,46 ^b ± 0,05	91,12**	3,96%
Msc0108	3,86 ^a ± 0,32	1,23 ^b ± 0,25	124,82**	1,32%
Ad0108	5,06 ^a ± 0,11	3,83 ^b ± 0,76	07,64*	2,27%
Mos0108	4,06 ^a ± 0,05	2,56 ^b ± 0,4	40,5**	08,7%
Mos0208	3,53 ^a ± 0,25	2,63 ^b ± 0,15	28,03**	6,75%
Msc0208	3,46 ^a ± 0,25	1,46 ^b ± 0,2	112,5**	9,36%
Msc0308	2,93 ^a ± 0,11	1,3 ^b ± 0,17	184,69**	6,95%
Msc0408	7,5 ^a ± 0,5	4,16 ^b ± 0,76	40**	1,07%
At0208	3,06 ^a ± 0,11	2,06 ^b ± 0,11	112,5**	04,5%
At0308	3,43 ^a ± 0, 2	2,26 ^b ± 0,05	87,5**	05,3%
Rel0109	5,06 ^a ± 0,11	3 ^b ± 0,5	48,65**	09%
Rel0209	4,9 ^a ± 0,36	3,1 ^b ± 0,28	42,25**	08,1
Rel0309	4,06 ^a ± 0,11	3,13 ^b ± 0,11	98**	03,21
Chl0110	6,16 ^a ± 0,28	3,4 ^b ± 0,17	202,61**	04,98

C.V. : Coefficient de variation ; * Effet Significatif (P≤0,05) ; ** Effet hautement significatif (P≤0,01) ; σ : Ecart type ; Moy : Moyenne.

6.3.2. Confrontation à distance

La croissance mycélienne (1,25 à 7,5 mm/j) des isolats de *A. rabiei* est toujours inférieure à celle du témoin (2,93 à 7,50 mm/j). Les valeurs du taux d'inhibition (20 à 80%) montrent qu'il existe un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne par les substances volatiles de *T. harzianum* (Figures 24 et 25).

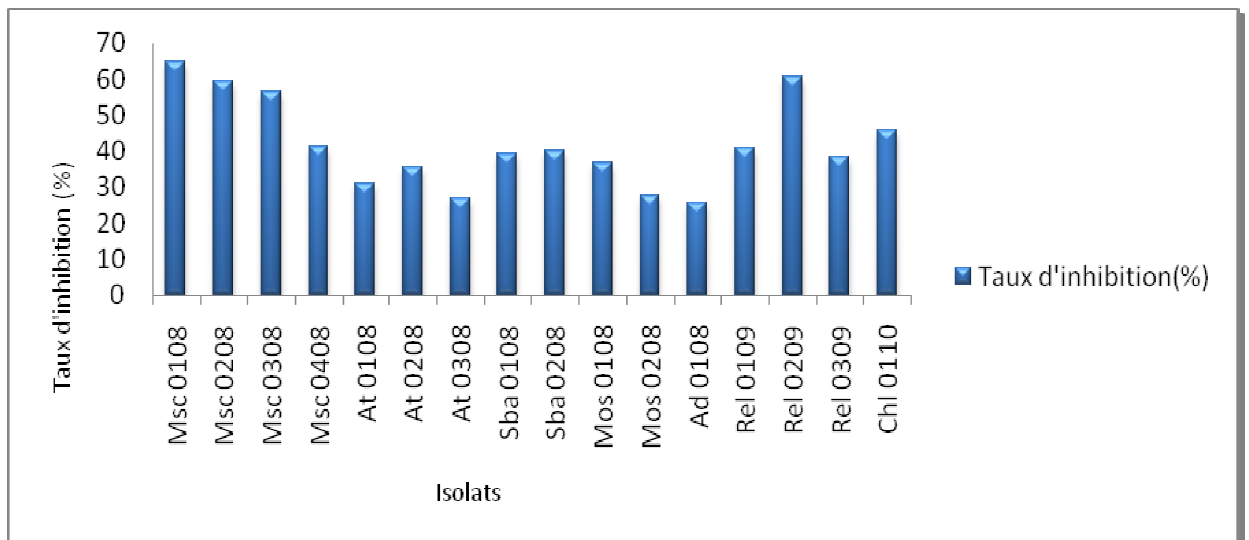


Figure 24 : Taux d' inhibition (TI) de croissances mycéliennes de *A. rabiei* sous l'effet des substances volatiles de *T. harzianum*.

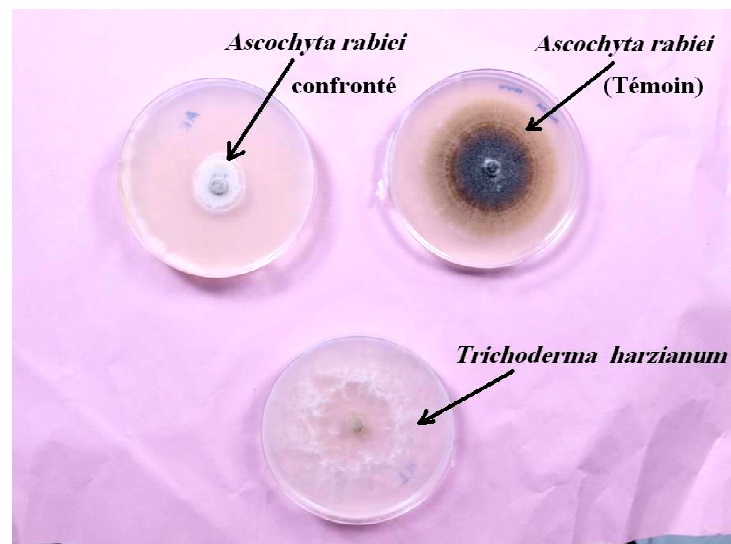


Figure 25 : Effet des substances volatiles de *T. harzianum* sur la croissance mycélienne de *A. rabiei*.

Les résultats de l'analyse statistique montrent un effet hautement significatif de l'action de *T. harzianum* sur la croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei* ($P < 0.01$) (Tableau 32).

Tableau 32 : Moyennes de croissance mycélienne (mm/j) des isolats de *A. rabiei* confrontés indirectement avec *T. harzianum* (Effet des substances volatiles).

Isolats	Croissances mycéliennes (mm/j) (Moy ± σ)		Test F	C.V.
	Témoin (mm/j)	<i>A. rabiei</i> confronté avec <i>T. harzianum</i> (mm/j)		
At0108	3,33 ^a ± 0,4	2,3 ^b ± 0,26	19,53**	5,32%
Sba0108	3,2 ^a ± 0,1	1,94 ^b ± 0,16	114,5**	5,7%
Sba0208	3,76 ^a ± 0,12	2,26 ^b ± 0,10	92,14**	3,86%
Msc0108	3,56 ^a ± 0,32	1,25 ^b ± 0,24	120,12**	1,30%
Ad0108	5,17 ^a ± 0,13	3,84 ^b ± 0,74	07,72*	2,34%
Mos0108	4,11 ^a ± 0,06	2,61 ^b ± 0,42	41,5**	8,7%
Mos0208	3,63 ^a ± 0,25	2,63 ^b ± 0,20	22,03**	6,65%
Msc0208	3,36 ^a ± 0,25	1,36 ^b ± 0,2	102,5**	9,36%
Msc0308	3,0 ^a ± 0,11	1,31 ^b ± 0,16	174,09**	6,85%
Msc0408	7,15 ^a ± 0,5	4,19 ^b ± 0,86	41,23**	1,17%
At0208	3,16 ^a ± 0,11	2,04 ^b ± 0,12	122,5**	5,5%
At0308	3,23 ^a ± 0,2	2,36 ^b ± 0,15	88,5**	5,13%
Rel0109	5,06 ^a ± 0,11	3 ^b ± 0,5	46,65**	8%
Rel0209	5,9 ^a ± 0,66	03,3 ^b ± 0,28	40,25**	9,1
Rel0309	4,06 ^a ± 0,11	2,50 ^b ± 0,11	98,26**	4,31
Chl0110	6,16 ^a ± 0,28	3,34 ^b ± 0,17	201,61**	4,85

C.V. : Coefficient de variation ; * Effet Significatif ($P \leq 0,05$) ; ** Effet hautement significatif ($P \leq 0,01$) ; σ : Ecart type ; Moy : Moyenne.

6.4. Discussion

Le potentiel des espèces de *Trichoderma* comme agent de lutte biologique contre les maladies des plantes a été identifié la première fois pendant les années 1930s (Howell, 2003). Pendant des années, l'antagonisme de *T. harzianum* a été étudié pour beaucoup de maladies des plantes (Wells et al., 1972 ; Schirmbock et al., 1994 ; Elad et kapat, 1999 ; Yedidia et al., 1999 ; Harman, 2000 ; Sharon et al., 2001 ; Yedidia et al., 2001 ; Roco et Péres, 2001 ; Ozbay et Newman, 2004).

L'antagonisme qui existe entre les microorganismes peut être utilisé pour lutter contre les parasites phytopathogènes. Navas - Cortés (1992) a remarqué que lorsqu'il enterre le champignon *A. rabiei* dans un sol stérile il y a une production énorme de pycnides et de pseudothèces que dans un sol naturel ; il a conclu que le champignon est affecté par d'autres microorganismes saprophytes.

Wang et al. (2003) ont rapporté que le champignon antagoniste, *Trichoderma viride* influence le développement et la survie de *A. rabiei*. La bactérie *Rhizobium native* produit un acide antifongique, qui limite le développement de *A. rabiei* dans le sol (Khokhar et al.,

2001). Au laboratoire, Dugan et al. (2005) ont trouvé que les deux formes, *Ascochyta rabiei* et *Didymella rabiei* sont inhibés par *Aureobasidium pullulans* et *Clonostachys rosea*.

Howell (2003) a signalé que *T. harzianum* attaque les champignons phytopathogènes par mycoparasitisme et production d'antibiotiques. Ce mycoparasitisme se fait à l'aide des appressoria qui se fixent à la surface des cellules des champignons en sécrétant des enzymes spécifiques qui lysent les parois cellulaires des parasites (Harman et al., 2004). Kuçuk et al. (2007) ont démontré que les enzymes β 1,3 glucanase et chitinase sont capables d'hydrolyser les parois cellulaires des champignons parasites.

L'antibiose est un autre mode d'antagonisme effectué par *T. harzianum* par la sécrétion de substances volatiles comme les glio-viridines et les glio-toxines, substances qui jouent des rôles d'antibiotiques, capables d'inhiber le développement de plusieurs deutéromycètes phytopathogènes (Howell, 2003).

D'après ces travaux, il serait intéressant de mesurer l'effet antagoniste *in situ* de *T. harzianum* sur l'antracnose sur les plantes de pois chiche ou sur semences comme traitement préventif à l'égard de l'inoculum primaire en vue de bloquer le démarrage de la maladie.

6.5. Conclusion

Ce présent travail qui consistait à étudier l'effet antagoniste *in vitro* de *Trichoderma harzianum* sur la croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei*, a démontré un effet inhibiteur significatif de l'antagoniste sur la croissance mycélienne de *A. rabiei* aussi bien pour la méthode dite de confrontation directe que pour celle des substances volatiles. Les résultats nous indiquent qu'il y a un effet antagoniste effectué par *T. harzianum* sur le développement de *A. rabiei*.

Nous pensons qu'il serait intéressant de mesurer l'effet antagoniste *in situ* de *T. harzianum* sur l'antracnose sur les plantes de pois chiche ou sur semences comme traitement préventif à l'égard de l'inoculum primaire en vue de prévenir la maladie.

Chapitre 7

Effets de trois fongicides de synthèse (manèbe, chlorothalonil et azoxystrobine) sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* et l'incidence de l'antracnose du pois chiche

7.0. Introduction

La sélection variétale pour l'obtention de cultivars résistants aux maladies, demeure de l'avis de tous, l'objectif numéro un pour contrôler les maladies. Cependant et vue la gravité des affections, les interventions par la lutte chimique seront toujours nécessaires en cas d'apparition brutales d'épidémies quand les conditions climatiques et culturales sont favorables aux développements des ascochytozes (Imtiyaz et *al.*, 2011).

Ci-dessous, nous présentons une évaluation de l'effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* de trois fongicides de synthèse (Manèbe « Manebe80[®] », Chlorothalonil « Bravo[®] » et Azoxystrobine « Ortiva[®] »), sur la croissance mycélienne de cinq isolats de *A. rabiei* originaires du nord ouest algérien, et sur l'incidence de l'antracnose du pois chiche.

7.2. Matériel et Méthodes

7.2.1. Matériel fongique

Les isolats de *Ascochyta rabiei* utilisés dans cette étude, ont été obtenus par isolement réalisé à partir des tiges et des gousses de pois chiche présentant des symptômes de l'antracnose. Les cinq isolats retenus, sont originaires de cinq régions différentes du nord ouest algérien (Mascara, Ain Témouchent, Tlemcen, Sid Bel Abbès et Relizane).

7.2.2. Fongicides de synthèse

Dans le but d'étudier l'action de certaines matières actives de synthèse sur la croissance mycélienne de *A. rabiei*, trois fongicides ont été utilisés. Il s'agit de Manebe 80[®] (m.a. manèbe), de Bravo[®] (m.a. chlorothalonil) et d'Ortiva[®] (m.a. azoxystrobine) (Tableau 33).

Tableau 33 : Fongicides de synthèse utilisés pour le test d'inhibition de la croissance mycélienne de *A. rabiei*.

Nom commercial	m.a.	Présentation	[] de m.a.	Famille chimique	Formule chimique	Mode d'action
Manèbe80®	manèbe	WP	500g/l	Dithiocarbamates	C ₄ H ₆ MnS ₄ N ₂	Contact
Ortiva®	azoxystrobine	SP	125g/l	Strobilurines	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅	Systemique
Bravo®	chorothalonil	SC	500g/l	Chloronitriles	C ₈ Cl ₄ N ₂	Contact

WP: Poudreux émulsionnable ; SP: Solide poudreux ; SC: Solide cristallin ; m.a.: Matière active.

7.2.3. Lignées de pois chiche

7.2.4. Purification et conservation des isolats

Les isolats sont conservés dans des boîtes de Petri contenant le milieu de culture CDA (Chickpea Seed Meal Dextrose Agar), sa composition pour un litre (1L) est : 200g de pois chiche, 20g Agar Agar, 15g Dextrose, pH=5.5 (Dolar et al., 1994). Ces isolats sont cultivés dans le milieu et maintenus dans une étuve à une température de 20±2 °C (Jamil et al., 2002).

7.3. Test *in vitro* de l'inhibition de la croissance mycélienne

Les trois fongicides de synthèse ont été incorporés aseptiquement, à la dose homologuée (2,5 g/l pour le Manèbe, 0,6g/l pour l'azoxystrobine et 0,5 g/l pour le chlorothalonil) (Hibar et al., 2007), dans le milieu de culture CDA maintenu en surfusion à une température de 40 à 45°C. Après écoulement et solidification du mélange (milieu de culture et fongicide), des explants d'agar de 5 mm de diamètre, portant l'agent pathogène, ont été déposés au centre de boîtes de Petri. Puis les cultures sont incubées dans une étuve à une température de 20 ± 2 °C correspondant à l'optimum de croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* (Trapero-Casas et Kaiser, 1992).

7.3.1. Evaluation de la croissance mycélienne et du taux d'inhibition

La mesure du diamètre moyen de chaque colonie, calculé à partir de deux diamètres perpendiculaires, a été effectuée après 7 jours d'incubation. Quatre répétitions par traitement élémentaire ont été réalisées.

$$C = \frac{\sum i \frac{(D-d)}{2}}{n(j)} \text{ (mm/j)}$$

C : Moyenne de la croissance mycélienne (mm/j).

D : Diamètre de la colonie (mm) pendant le jour *i*.

d : Diamètre de l'explant (5mm).
n : Nombre de jours (j).

Le taux d'inhibition (TI%) de la croissance mycélienne est déterminé en se basant sur la formule suivante:

$$\text{TI (\%)} = \frac{Co \text{ Témoin} - C \text{ traité}}{Co \text{ Témoin}} \times 100$$

Avec :

TI (%) : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne ; C: Diamètre moyen des colonies en présence du produit actif ; Co : Diamètre moyen des colonies témoins.

7.3.2. Analyse statistique

Le dispositif expérimental utilisé dans cet essai est la randomisation totale unifactorielle avec 4 répétitions, le facteur étudié est inhibition de croissance mycélienne représentée par le taux d'inhibition (%) et l'unité expérimentale est la croissance mycélienne (mm). L'analyse statistique est l'ANOVA (analysis of variance) par le logiciel de stat StatBox 6.0.4 GrimmerSoft. Pour tous les tests, le niveau de signification a été évalué aux seuls 5% et 1%. Le cas échéant, la comparaison des moyennes est faite sur la base du test de student (*t-test*) de Newmann-Keuls afin de distinguer des groupes homogènes selon les valeurs des moyennes des variables testées.

7.4. Test de lutte chimique *in vivo*

Les trois fongicides de synthèse sont préparés pour l'inoculation des folioles à la dose homologuée (2,5 g/l pour le Manèbe, 0,6g/l pour l'azoxystrobine et 0,5 g/l pour le chlorothalonil) (Hibar et *al.*, 2007), les colonies des isolats sont immergées dans l'eau distillée stérile puis grattées par une spatule de verre stérile. La suspension est ajustée à 5×10^5 conidies/ml à l'aide d'une cellule de Malassez, cette suspension contient l'inoculum avec l'eau distillée stérile pour le témoin, et l'inoculum est mélangé avec le fongicide dans l'eau distillée stérile pour les traités.

Les graines de pois chiches utilisées sont stérilisées avec l'hypochlorite de sodium (à 2%) pendant 3 minutes puis rincées 3 fois avec de l'eau distillée stérile. Ensuite, elles sont semées dans des pots de 10 cm × 6 cm, contenant une tourbe stérile, à raison de 2 graines/pot. Après 15 jours, on peut enlever des folioles pour faire le test d'inoculation à raison de 3 folioles pour chaque traitement (Fig. 26).

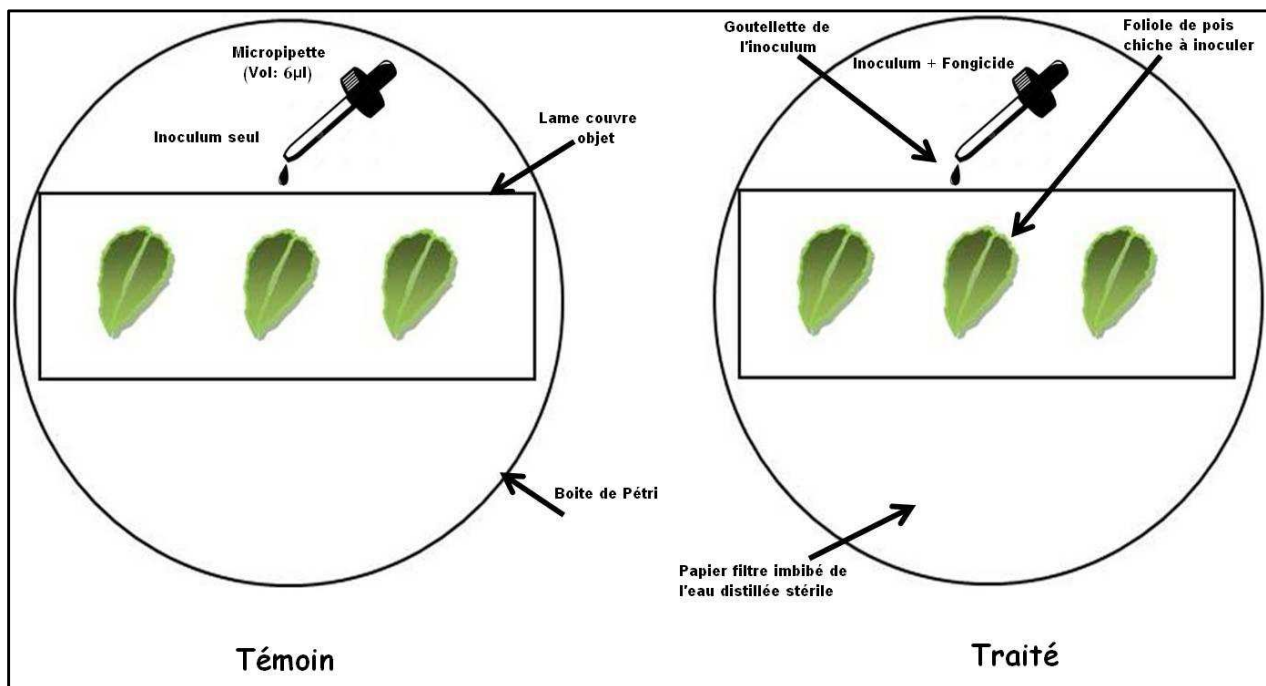


Figure 26 : Test d'inoculation par *A. rabiei* de folioles détachées de pois chiche, sous l'effet des fongicides de synthèse.

7.4.1. Notations des symptômes

L'évaluation des symptômes est effectuée 15 jours après l'inoculation des folioles de pois chiche. La sévérité de la maladie est notée selon l'échelle de Dolar (1997), (1, 3, 5 et 7), qui représentent respectivement 0%, 25%, 50% et 100% de la surface de la nécrose). Cet échelle est basé sur le pourcentage de la surface de l'infection par rapport la surface complète de la foliole.

Les lignées de pois chiche classées de 1.0 à 4.9 sont considérées comme résistantes et celles qui sont codées de 5.0 à 7 sont sensibles (Dolar, 1997).

7.4.2. Evaluation de la réduction de l'incidence de l'anthracnose

Sur la base des notations des symptômes, on calcule l'incidence de la maladie de l'anthracnose (IM%) en utilisant la formule suivante :

$$IM\% = \frac{\sum (\text{Notations} \times \text{Nbre folioles infectées})}{\text{Notation la plus élevée} \times \text{Nbre totale des folioles}} \times 100$$

A l'aide de ces pourcentages, nous pouvons calculer la réduction de l'antracnose (RIM%) par l'utilisation de la formule suivante :

$$RIM\% = \frac{IM\% \text{ Témoin} - IM\% \text{ traitée}}{IM\% \text{ Témoin}} \times 100$$

7.5. Résultats

7.5.1. Lutte chimique *in vitro*

L'évaluation de l'efficacité des produits testés repose sur le calcul du taux d'inhibition de la croissance mycélienne.

Nous remarquons que la croissance mycélienne des isolats testés est inférieure par rapport au témoin (Figures 27, 28 et 29).

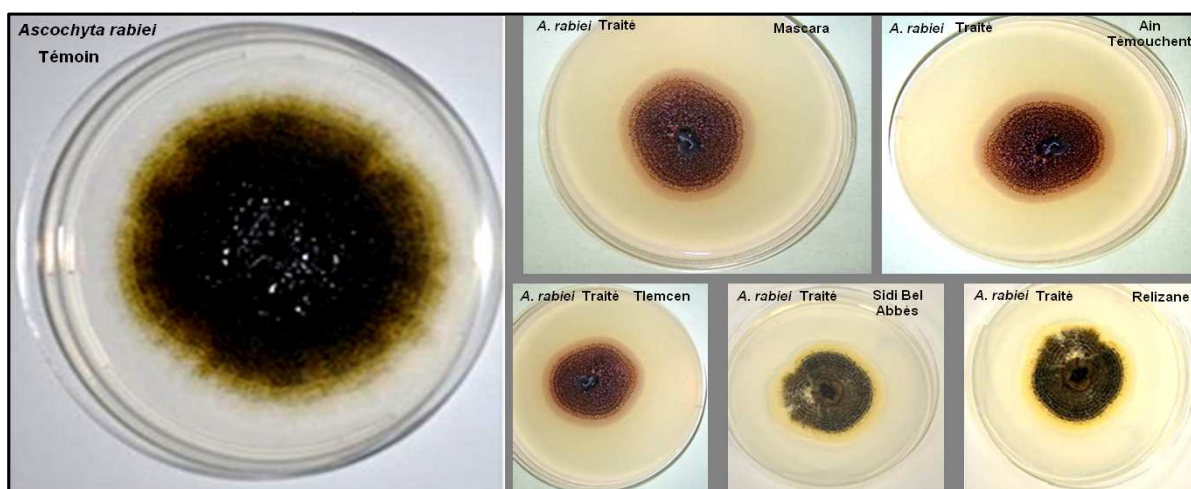


Figure 27 : Effet du fongicide de synthèse 'Manèbe' sur la croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei*.

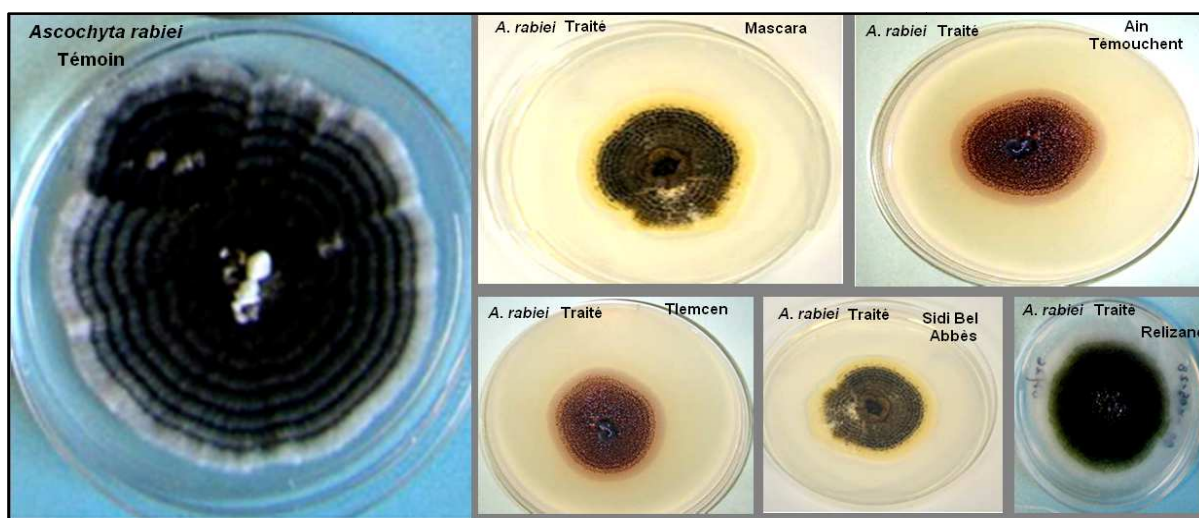


Figure 28 : Effet du fongicide de synthèse 'Azoxystrobine' sur la croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei*.

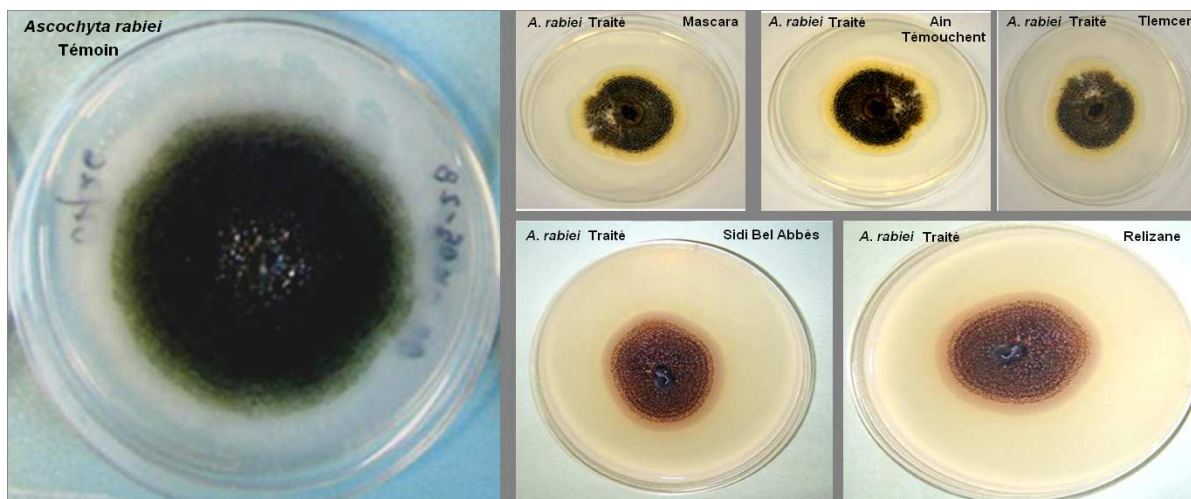


Figure 29 : Effet du fongicide de synthèse ‘Chlorothalonil’ sur la croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei*.

En effet, le taux d’inhibition (TI%) est très important sur la croissance mycélienne des isolats, il varie entre 30 et 66% (Figure 30), avec une inhibition importante pour le fongicide ‘Chlorothalonil’ qui permet une inhibition de 53 à 66% selon l’isolat (Annexes 20 et 21).

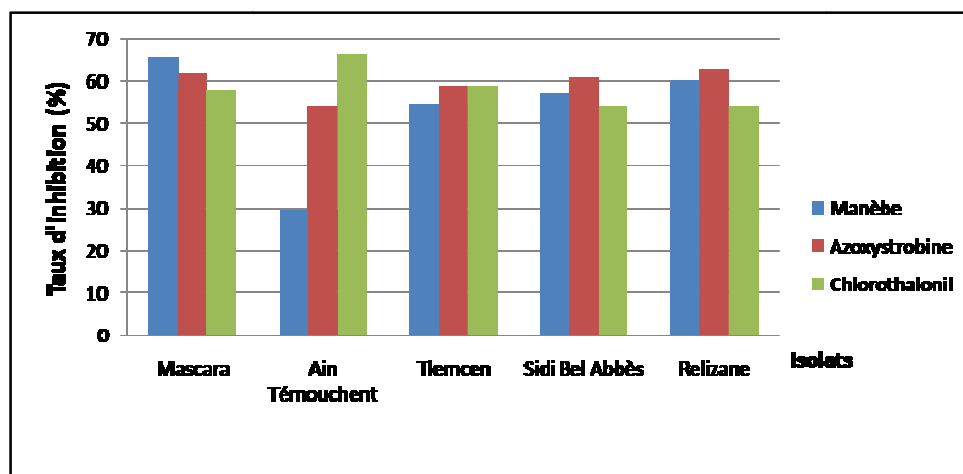


Figure 30 : Taux d’inhibition (TI%) de la croissance mycélienne de 5 isolats de *A. rabiei* sous l’effet de trois fongicides de synthèse (manèbe, chlorothalonil et azoxystrobine).

Les résultats obtenus ont montré la fiabilité de l’essai de lutte chimique (C.V. < 20%), et l’analyse de variance (ANOVA) a révélé une interaction hautement significative ($P < 0.01$), entre les produits testés et les isolats de *A. rabiei* utilisé dans cette étude (Tableaux 34, 35, 36, 37 et 38).

Tableau 34 : Effets de trois fongicides de synthèse sur la croissance mycélienne de l'isolat de Mascara.

	Fongicides					
	Manèbe		Azoxystrobine		Chlorothalonil	
	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin
$x \pm \delta$	2.12 ^b ±0.8	6.12 ^a ±0.5	2.5 ^b ±0.5	6.5 ^a ±0.5	2.75 ^b ±0.5	6.5 ^a ±0.5
F calculé	56.88**		96**		96.94**	
C.V.	18.18%		12.83%		11.68%	

x : Moyenne de croissance mycélienne ; δ : Ecart-type ; C.V. : Coefficient de variation ; ** : Effet hautement significatif.

Tableau 35 : Effets de trois fongicides de synthèse sur la croissance mycélienne de l'isolat de Aïn Témouchent.

	Fongicides					
	Manèbe		Azoxystrobine		Chlorothalonil	
	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin
$x \pm \delta$	3 ^b ±0.8	4.25 ^a ±0.5	3 ^b	6.5 ^a ±0.5	2.25 ^b ±0.5	6.5 ^a ±0.5
F calculé	6.81*		147**		123.85**	
C.V.	18.68%		8.59%		12.34%	

x : Moyenne de croissance mycélienne ; δ : Ecart-type ; C.V. : Coefficient de variation ; ** : Effet hautement significatif ; * : Effet significatif.

Tableau 36 : Effets de trois fongicides de synthèse sur la croissance mycélienne de l'isolat de Tlemcen.

	Fongicides					
	Manèbe		Azoxystrobine		Chlorothalonil	
	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin
$x \pm \delta$	2.5 ^b ±0.5	5.5 ^a ±0.5	3 ^b	7.25 ^a ±0.5	3 ^b	7.25 ^a ±0.5
F calculé	54**		289**		289**	
C.V.	14.43%		6.9%		6.9%	

x : Moyenne de croissance mycélienne ; δ : Ecart-type ; C.V. : Coefficient de variation ; ** : Effet hautement significatif.

Tableau 37 : Effets de trois fongicides de synthèse sur la croissance mycélienne de l'isolat de Sid Bel Abbès.

	Fongicides					
	Manèbe		Azoxystrobine		Chlorothalonil	
	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin
$x \pm \delta$	3.12 ^b ±0.6	7.25 ^a ±0.5	2.5 ^b ±0.5	6.75 ^a ±0.5	3 ^b ±	6.5 ^a ±0.5
F calculé	105.3**		123.85**		147**	
C.V.	10.95%		11.68%		8.6%	

x : Moyenne de croissance mycélienne ; δ : Ecart-type ; C.V. : Coefficient de variation ; ** : Effet hautement significatif.

Tableau 38 : Effets de trois fongicides de synthèse sur la croissance mycélienne de l'isolat de Relizane.

	Fongicides					
	Manèbe		Azoxystrobine		Chlorothalonil	
	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin
$x \pm \delta$	2.6 ^b ±0.2	6.5 ^a ±0.5	2.5 ^b ±0.5	6.75 ^a ±0.5	3 ^b	6.5 ^a ±0.5
F calculé	151.73**		123.85**		147**	
C.V.	9.75%		11.68%		8.6%	

x : Moyenne de croissance mycélienne ; δ : Ecart-type ; C.V. : Coefficient de variation ; ** : Effet hautement significatif.

7.5.2. Lutte chimique *in vivo*

Les produits testés ont montré une efficacité en réduisant la sévérité de la maladie de l'antracnose par rapport aux témoins (Tableau 39 ; Figures 31 et 32), avec un pourcentage de réduction allant jusqu'à 80%. Nous remarquons que le fongicide systémique 'Azoxystrobine' a pu réduire la sévérité de l'antracnose entre 71 et 80% par rapport aux deux autres produits (manèbe et chlorothalonil), dont l'action n'a pu dépasser 47% d'inhibition (moyenne inférieure à 40%) (Figures 33, 34 et 35).

Tableau 39: Réduction de l'incidence de la maladie de l'antracnose (RIM %) sur trois lignées de pois chiche sous l'effet de trois fongicides de synthèse.

Fongicides	Manèbe			Chlorothalonil			Azoxystrobine		
Lignées Isolats	ILC48 2	ILC48 4	FLIP102 5	ILC48 2	ILC48 4	FLIP102 5	ILC48 2	ILC48 4	FLIP102 5
Mascara	43	43	24	43	24	24	78	75	71
Aïn Témouchent	43	43	43	20	41	41	80	80	80
Tlemcen	43	47	24	43	43	43	80	80	71
SBA	43	43	29	43	41	43	75	75	80
Relizane	43	41	30	41	43	43	78	78	73
Moyenne de réduction (%)	39			38			77		

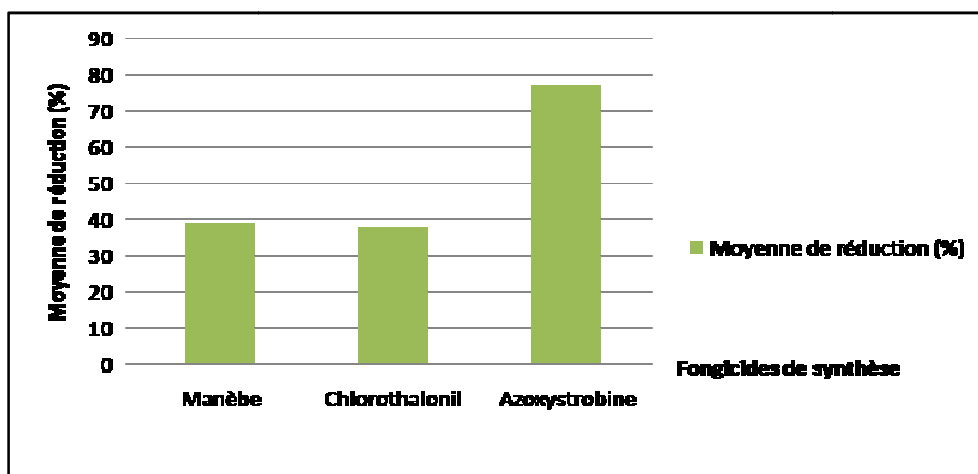


Figure 31 : Moyennes des réductions de la sévérité de l'antracnose (en %) du pois chiche sous l'effet de 3 fongicides de synthèse (manèbe, chlorothalonil et azoxystrobine).

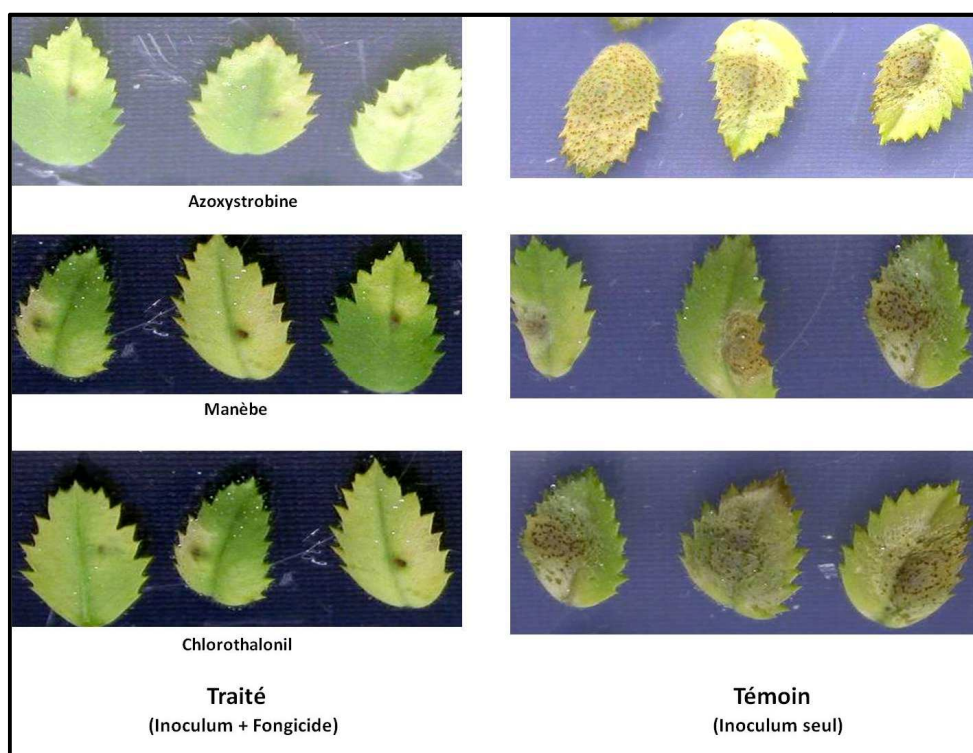


Figure 32 : Symptômes de *A. rabiei* sur folioles de pois chiche en présences et en absence de 3 fongicides de synthèse (manèbe, chlorothalonil et azoxystrobine).

D'après ces résultats, nous pouvons dire que les fongicides de type pénétrants ou systémiques ont la capacité de réduire la croissance des parasites phytopathogènes plus importantes que ceux des fongicides de contact.

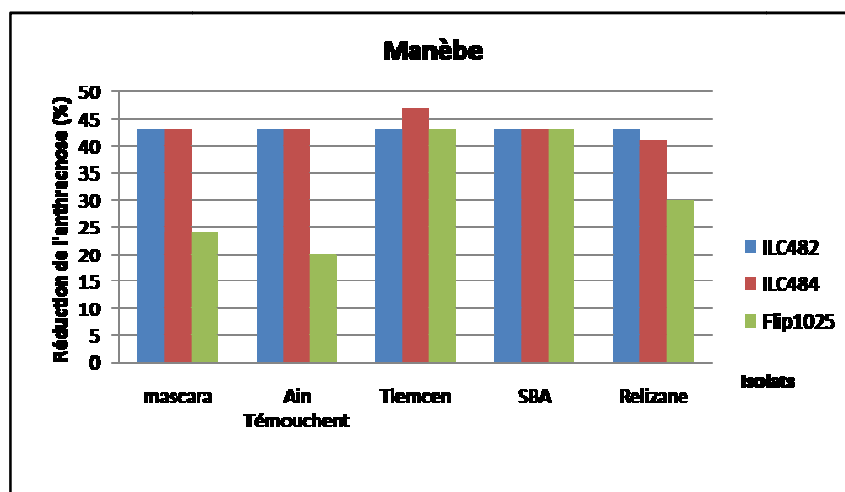


Figure 33 : Réduction de la sévérité de l'antracnose (en %) du pois chiche sous l'effet du fongicide 'Manèbe'.

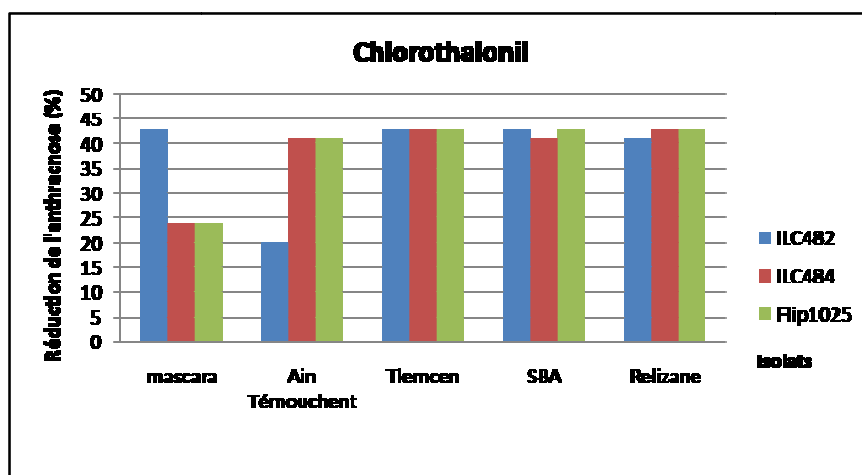


Figure 34 : Réduction de la sévérité de l'antracnose (en %) du pois chiche sous l'effet du fongicide 'Chlorothalonil'.

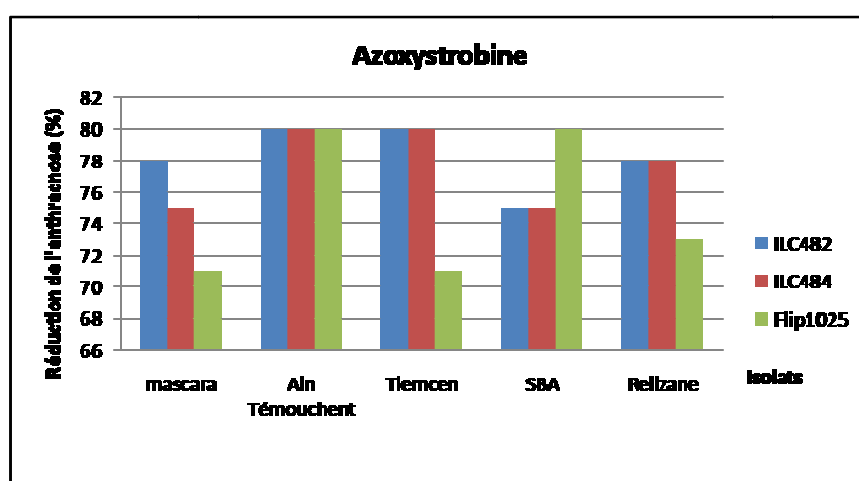


Figure 35 : Réduction de la sévérité de l'antracnose (en %) du pois chiche sous l'effet du fongicide 'Azoxystrobine'.

7.6. Discussion

L'efficacité des trois fongicides de synthèse, manèbe « Manebe80[®] », chlorothalonil « Bravo[®] » et azoxystrobine « Ortiva[®] » sur la croissance mycélienne, a été signalée sur plusieurs parasites comme *Fusarium roseum*, agent de la pourriture sèche des tubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum*) (Triki et al., 1996), et *Fusarium solani*, agent responsable de la mort subite du soja (*Glycine maxima*) induisant ainsi une inhibition de la croissance mycélienne d'environ 66% (McLeane et Lawrence, 1994). En étudiant l'effet d'autres fongicides de la même famille chimique sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei*, Chang et al. (2007) ont montré que les Diothiocarbamates (comme manèbe) et les strobilurines (comme l'azoxystrobine) sont plus efficaces sur la croissance mycélienne de *A. rabiei*. Bahous et al. (2005) ont rapporté que l'azoxystrobine entraîne un taux d'inhibition de 70% sur *Helminthosporium oryza*, agent de l'helminthosporiose du riz (*Oryza sativa*). Hibar et al. (2007) montrent que le manèbe a un spectre d'action très faible sur la croissance mycélienne de certains champignons phytopathogènes (*Phytophthora infestans*, agent du mildiou de la pomme de terre ; *Erysiphe graminis f. sp. tritici*, agent de l'oïdium des céréales ; *Alternaria alternata*, agent de l'alternariose de la tomate ... etc.), mais une action significative sur la germination des conidies (inoculum primaire).

Wise et al. (2008) ont rapporté un taux d'inhibition de l'azoxystrobine variant entre 30 et 45% sur la croissance mycélienne de *Alternaria solani*, agent de l'alternariose de la tomate (*Lycopersicon esculentum*), et de *Uncinula necator*, agent de l'oïdium de la vigne (*Vitis vinifera*). Dans notre essai, nous avons remarqué un taux d'inhibition de la croissance mycélienne important (30 à 66%) sur les isolats de *A. rabiei* sous l'effet du fongicide azoxystrobine, plus marqué que celui signalé par Wise et al. (2008).

L'efficacité de l'inhibition de la croissance mycélienne par le fongicide Chlorothalonil a été rapportée par Daayf et Platt (2002) sur *Phytophthora infestans*, agent responsable du mildiou de la pomme de terre, avec un taux d'inhibition de 70%. Cette inhibition a été obtenue dans notre essai sur *A. rabiei* pour l'isolat de Aïn Témouchent avec un taux de 66%.

Cette étude a révélé que les trois fongicides de synthèse (manèbe, azoxystrobine et chlorothalonil), sont efficaces sur la croissance mycélienne de *A. rabiei*.

Aussi l'efficacité des trois fongicides de synthèse (Manèbe, Chlorothalonil et Azoxystrobine), sur l'incidence des maladies fongiques, a été signalée sur plusieurs

parasites comme *Venturia inaequalis*, agent de la tavelure du pommier (*Malus sylvestris* L.), *Venturia pirina*, agent de la tavelure du poirier (*Pyrus communis* L.), *Phytophthora palmivora*, agent de la pourriture brune des cabosses du Cacaoyer (*Theobroma cacao*), et *Rhizoctonia solani*, agent de la brûlure pelliculaire du Riz (*Oryza sativa*) (Obanor et al., 2005).

Le fongicide systémique Azoxystrobine a montré une réduction très importante (70%) sur *Sclerotium rolfsii*, agent causal du flétrissement des tiges de la tomate (*Lycopersicon esculentum* L.), *Fusarium graminearum*, agent du flétrissement du blé (*Triticum durum*), et *Phytophthora cactorum*, agent de la pourriture des racines et du collet du pommier (*Malus sylvestris* L.) (Matheron et Porchas, 2000). Dans notre essai, nous avons pu trouver une similitude de ces résultats (80% de réduction de symptômes sous l'effet de ce même fongicide).

Le fongicide de contact Manèbe a pu réduire jusqu'à 48% le développement du mildiou du concombre (*Cucumis sativus* L.) causé par *Pseudoperonospora cubensis* (Chaudhry et al., 2009), et jusqu'à 60% le développement du mildiou du piment (*Capsicum annum*) causé par *Phytophthora capsici*. Par contre, nos résultats ne semblent pas confirmer ces résultats sur *A. rabiei* (20 à 47% de réduction).

L'autre produit de contact, le Chlorothalonil provoque une action inhibitrice de 50% sur *Uromyces phaseoli*, agent des rouilles du haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) (Pohronezny et al., 1987), de 20 à 25% sur *Pseudopeziza medicaginis*, agent des taches communes de la luzerne (*Medicago sativa*), et *Colletotrichum trifolii*, agent de l'anthracnose de la luzerne (Gray et al., 1987). Ces résultats sont proches des niveaux que nous avons obtenu sur l'anthracnose du pois chiche (jusqu'à 43% de réduction).

D'après ces résultats, nous remarquons l'importance des fongicides de type pénétrant ou systémique comme azoxystrobine dans la stratégie de lutte chimique curative ou préventive contre cette maladie. Il est donc possible d'intégrer la lutte chimique dans le programme global d'action intégrée en vue de juguler cette maladie, en agissant sur l'agent responsable *A. rabiei* de plus en plus agressif.

7.7. Conclusion

Ce présent travail a permis d'étudier l'effet *in vitro* et *in vivo* de trois fongicides de synthèse (Manèbe, Chlorothalonil et Azoxystrobine), sur la croissance mycélienne de *A. rabiei* et l'incidence de la maladie de l'anthracnose. La fiabilité de l'action chimique a été

observée, avec une réduction de l'incidence de l'antracnose selon le fongicide. Cette réduction est importante dans les cas des variétés importantes du point de vue économique (rendement, productivité, précocité ... etc.), mais sensibles comme ILC 72, ILC482 et ILC484, sélectionnées et cultivées pendant plusieurs années et considérées comme étant résistantes à l'antracnose, mais finalement classées comme étant sensibles.

Chapitre 8

Conclusion Générale

Ce présent travail a permis d'étudier la pathogénicité, la variabilité pathogénique, l'antagonisme microbien et la lutte chimique sur des isolats de *Ascochyta rabiei*, agent de l'antracnose du pois chiche, et les recherches de sources de résistance de lignées de pois chiche et d'espèces spontanées de *Cicer* vis-à-vis de ce pathogène redoutable.

La détermination de la variabilité pathogénique de 16 isolats de *A. rabiei*, nous a permis de distinguer 3 pathotypes et 4 races physiologiques différents sur la base de la réaction de l'ensemble de ces lignées à l'agressivité et la virulence de *A. rabiei*. La distribution des trois pathotypes est différente d'une région à une autre: Le pathotype II (moyennement agressif) est observé dans toutes les wilayas de cette région. 1 isolat (6,25%) de pathotype I (Faiblement agressif), 3 isolats (18,75%) de pathotype III (Hautement agressif), et les 12 autres isolats (75%), représentant le pathotype II. Même la répartition des races est différente : La race 1 (avirulente) est représentée par un seul isolat de la région de «Sidi Bel Abbès». La race 4 (virulente) a été trouvée dans toutes les wilayas de la région. Toutefois, la race 5 (virulente) a été observée dans la wilaya de « Mascara », et la race 6 (virulente) a été identifiée à Mostaganem, et représentée par un seul isolat.

L'étude de l'effet de la concentration de l'inoculum sur la sévérité des symptômes de *A. rabiei*, a montré qu'à partir de la concentration 10^5 spores / ml, on observe des symptômes de l'antracnose caractéristiques de l'infection. En dessous de cette concentration, aucun symptôme n'est observé sur les plantules testées.

Le test de screening des lignées de pois chiche et des espèces spontanées de *Cicer*, a montré une différence de réaction vis-à-vis des isolats de *A. rabiei*. Le screening de 28 lignées de pois chiche confrontés à deux pathotypes (I et II) a révélé 2 lignées sensibles, 16 lignées résistantes, et 10 autres tolérantes. Nous observons que toute la gamme de lignées de pois chiche est sensible à l'isolat Mos02 (pathotype III).

Pour les espèces spontanées, une résistance importante a été observée chez les lignées de *Cicer judaicum*, de *C. cuneatum* et de *C. reticulatum* par rapport aux deux autres espèces (*Cicer echinospermum* et *Cicer bijugum*). Sur l'ensemble des lignées étudiées: 13 sont résistantes à Sba02, 15 résistantes à At02 et 14 résistantes à Mos02. Deux espèces seulement (*Cicer reticulatum* et *C. echinospermum*), fertiles avec *Cicer arietinum* peuvent être utilisées comme source de résistance (Collard et al., 2001).

L'effet antagoniste de *Trichoderma harzianum* sur les isolats a été observé dans les deux tests effectués (confrontation directe de l'antagoniste avec le pathogène et confrontation à distance avec les substances volatiles émises par ce même antagoniste). Dans la confrontation directe, nous avons remarqué que le taux d'inhibition varie entre 20 et 68% pour la plupart des isolats, ce qui explique l'existence d'une action inhibitrice induite par l'antagoniste. Les valeurs du taux d'inhibition (20 à 80%) dans le deuxième test, montrent qu'il existe un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne par les substances volatiles de *T. harzianum*.

L'étude de la lutte chimique par l'utilisation de trois fongicides de synthèse (manèbe, azoxystrobine et chlorothalonil), sur la croissance mycélienne de 5 isolats de *A. rabiei*, indique une action inhibitrice des fongicides avec des taux d'inhibition variant de 30 à 66%, et une réduction de l'incidence de la maladie entre 20 et 80% selon le fongicide. Cette réduction peut être intéressante dans les cas des variétés importantes du point de vue économique (rendement, productivité, précocité ... etc.), mais sensibles à l'anthracnose comme ILC 72, ILC482 et ILC484. D'après ces résultats, la solution complémentaire par la lutte chimique peut être appréciable à l'égard de l'anthracnose du pois chiche sur les variétés sensibles pendant les saisons où l'épidémie devient grave.

Cependant, dans la détermination des pathotypes, actuellement ce terme est préféré à d'autres : races, biotypes ... etc., pour identifier la virulence de leurs isolats (Udupa et Weigand, 1997 ; Udupa et al., 1998). En outre, il est difficile d'étudier la variabilité pathogénique de *A. rabiei* et de la comparer avec d'autres recherches qui utilisent des méthodes et des lignées de pois chiche différentes. L'importance de la détermination de la variabilité pathogénique peut être valorisée dans un programme de sélection de pois chiche pour la résistance aux pathotypes agressifs de *A. rabiei*. Il est nécessaire à l'avenir

de déterminer le comportement des cultivars locaux de pois chiche vis-à-vis de l'anthraxose pour tracer une stratégie efficace de lutte contre ce parasite.

Compte tenu des résultats obtenus en lutte biologique *in vitro* par l'utilisation de *T. harzianum* sur le développement de *A. rabiei*, il serait intéressant de mesurer l'effet inhibiteur *in situ* de *T. harzianum* sur l'anthraxose, sur plantes de pois chiche ou sur semences comme traitement préventif à l'égard de l'inoculum primaire en vue de juguler la maladie dans une vision de lutte intégrée.

En ce qui concerne la lutte chimique, et après une éventuelle expérience sur le terrain, les fongicides testés peuvent apporter une solution de lutte appréciable à l'égard du parasite notamment pour les cas des variétés à haut rendement et sensibles comme Flip88-85 et ICC12-004 (ICARDA, 2003).

Enfin, l'évaluation de la résistance des espèces spontanées de *Cicer* à *A. rabiei* indique la présence d'une résistance non négligeable par rapport aux cultivars de pois chiche connus (ILC3279, ILC72 et ICC3996) dans différents pays (Aryamanesh, 2007 ; Singh et al., 2008). Les lignées de trois espèces *C. judaicum*, *C. bijugum* et *C. reticulatum*, qui ont montré un niveau très appréciable de résistance à l'anthraxose, peuvent être utilisées pour transférer leurs caractères de résistance aux cultivars importants de pois chiche.

Références bibliographiques

- ❖ Agrios GN (2004) Plant pathology, 5th ed. ELSEVIER, Academic Press Pub. San Diego, California, USA. 948p.
- ❖ Ahmad F, Slinkard AE, Scoles GJ (1987) The cytogenetic relationship between *Cicer judaicum* Boiss. and *Cicer chorassanicum* (Bge.) M. Pop. *Genome* 29: 883-886.
- ❖ Ahmad F (1988) Interspecific hybridization and genetic relationships among the annual *Cicer* L. species. PhD thesis, Université de Saskatchewan, Canada.
- ❖ Ahmad F, Slinkard AE, Scoles GJ (1988) Investigations into the barrier(s) to interspecific hybridization between *Cicer arietinum* L. and eight other annual *Cicer* species. *Plant Breeding* 100: 193-198.
- ❖ Ahmad F, Ahmad I, Aqil F, Ahmed WA, Sousche YS (2006) Plant growth promoting potential of free-living diazotrophs and other rhizobacteria isolated from Northern Indian soil. *Biotechnol J.* 01:1112–1123.
- ❖ Akem C (1999) *Ascochyta* blight of chickpea : Present status and future priorities. *Int. J. Pest Manag.* 45 : 131-137.
- ❖ Alwawi H, Moulla M, Choumane W (2009) Genotype-environment interaction and genetics parameters in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Middle East J. Scientific Research* 04(3): 231-236.
- ❖ Ameziane EA (1979) Quelques aspects de la biologie d'*Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. Thèse DEA an Agronomie, Université de Rennes I. 28 p.
- ❖ Ameziane EA (1981) Modalité d'expression de la résistance d'un cultivar de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) à *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. Thèse de Docteur – ingénieur. ENSA Rennes. 41 p.
- ❖ Ameziane EA (1985) L'anthracnose du pois chiche. ICARDA, Annual report : 55-59.
- ❖ Anonyme (1988) Le pois chiche et la lentille. Ed. ITGC, Alger. 45p.
- ❖ Armstrong CL, Gossen BD, Chongo G (1999) Investigations of *Ascochyta rabiei* teleomorph occurrence in Saskatchewan. *Canadian Journal of Plant Pathology* 21: 193 (Résumé).
- ❖ Armstrong CL, Chongo G, Gossen BD, Duczek LJ (2001) Mating type distribution and incidence of the teleomorphe of *Ascochyta rabiei* (*Didymella rabiei*) in Canada. *Can. J. Plant Pathol.* 23 : 110-113.

- ❖ Armstrong CL, Gossen BD, Chongo G (2004) Impact of continuous or interrupted leaf wetness on infection of chickpea by *Ascochyta rabiei*. *Can. J. Plant Pathol.* 26 : 134-141.
- ❖ Armstrong CL, Wolf T, Chongo G, Gan Y, Hogg T, Lafond G, Johnson E, Banniza S (2008) The effect of carrier volume on *Ascochyta* blight (*Ascochyta rabiei*) control in chickpea. *Crop Protection* 27: 1020 – 1030.
- ❖ Aryamanesh N (2007) chickpea improvement through genetic analysis and quantitative trait locus (QTL) mapping of ascochyta blight resistance using wild *Cicer* species. Thèse Ph.D., Université d’Australie occidentale, Australie. 143p.
- ❖ Askerov IB (1968) Ascochytiopsis of chickpea. In: an annotated bibliography of chickpea diseases 1915-1976. Nene, Y. L., Mencictu, A., Sinclair, J. B. et Royse, D. J. ed. ICRISTAT, Inde : 03. (Résumé).
- ❖ Atik O, Ahmed S, Abang MM, Imtiyaz M, Hamwiah A, Baum M, El-Ahmed A, Murad S, Yabrak MM (2013) Pathogenic and genetic diversity of *Didymella rabiei* affecting chickpea in Syria. *Crop Protection* 46 : 70-79. doi 10.1016/J.CROPRO.2012.12.012.
- ❖ Badami PS, Mallikarjuna N, Moss JP (1997) Interspecific hybridization between *Cicer arietinum* and *C. pinnatifidum*. *Plant Breeding* 116: 393-395.
- ❖ Bahous M, Ouazzani Touhami A, Badoc A, Douira A (2005) Effets de l’azoxystrobine sur la pyriculariose, l’helminthosporiose et la curvulariose du riz. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* 144: 27-46 ; doi 10.4141/CJPS07019.
- ❖ Bedi PS, Aujla SS (1969) Variability in *Phyllosticta rabiei* (Pass.) Trott., the incitant of blight disease of gram. *J. of Research Punjab Agricultural University* 06: 103-106.
- ❖ Berger J, Abbo S, Turner NC (2003) Ecogeography of annual wild *Cicer* species: the poor state of the world collection. *Crop Science* 43: 1076-1090.
- ❖ Bouznad Z (1989) Contribution à la connaissance du genre *Ascochyta*. Cas particulier de l’étude biologique, ultrastructural et cytochimique des relations hôte- parasite chez le couple *Pisum sativum* L. et *Ascochyta pisi* Lab. Thèse de doctorat d’état de l’université de Pierre et Marie Curie, Paris VI. 217p.
- ❖ Bouznad Z (1991) Bilan et programme de pathologie des légumineuses alimentaires. Projet de développement agricole de Sidi Bel Abbés.
- ❖ Bouznad Z, Maatougui MEH, Labdi M (1996) Importance et distribution géographique des maladies fongiques des légumineuses alimentaires en Algérie. In : Proceeding du symposium régional sur les maladies des céréales et des légumineuses

- alimentaires, 11-14 Novembre 1996, Rabat (Maroc). Projet Mghrébin PNUD/RAB/91/007.
- ❖ Bruns R, Barz W (2001) Studies on cell number and nuclei in spores and on ploidy level in *Ascochyta rabiei* isolates. *Journal of Phytopathology* 149 : 253-258.
 - ❖ Camporota P (1985) Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* spp. Vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Agronomie*: 05 (7) : 613-620.
 - ❖ Chandirasekaran R (2007) Options for reducing *Ascochyta* blight severity in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Thèse de Master en sciences végétales. Université de Saskatchewan, Saskatoon, Canada. P. 1-20.
 - ❖ Chang KF, Ahmed HU, Hwang SF, Gossen BD, Strelkov SE, Blade SF, Turnbull GD (2007) Sensitivity of field populations of *Ascochyta rabiei* to chlorothalonil, mancozeb and pyraclostrobin fungicides and effect of strobilurin fungicide on progress of ascochyta blight of chickpea. *Canadian Journal of Plant Sciences* 87(4): 937-944.
 - ❖ Chaudhry SE, Iqbal J, Mustafa A (2009) Efficacy of different fungicides for the control of downy mildew of cucumber. *The Journal of Animal & Plant Sciences* 19(4): 202-204.
 - ❖ Chen W, Coyne CJ, Peever TL, Muehlbauer FJ (2004) Characterization of chickpea differentials for pathogenicity assay of ascochyta blight and identification of chickpea accessions resistant to *Didymella rabiei*. *Plant Pathology* 53: 759-769.
 - ❖ Cho S, Chen W, Muehlbauer FJ (2004) Pathotype-specific genetic factors in chickpea (*Cicer arietinum* L.) for quantitative resistance to ascochyta blight. *Theoretical and Applied Genetics* 109: 733–739.
 - ❖ Chongo G, Buchwaldt L, Andeson K, Gossen BD (2000) Saskatchewan chickpea disease survey-1999. *Can. Plant Dis. Surv.* 80 : 86-87.
 - ❖ Chongo G, Buchwaldt L, Andeson K, Gossen B D, Lafond GP, May WE, Johnson EN, Hogg T (2003) Foliar fungicides to manage *Ascochyta* blight (*Ascochyta rabiei*) of chickpea in Canada. *Can. J. Plant Pathol.* 25 : 135-142.
 - ❖ Chongo G, Gossen BD, Buchwaldt L, Adhikari T, Rimmer SR (2004) Genetic diversity of *Ascochyta rabiei* in Canada. *Plant Disease* 88: 04 – 10.
 - ❖ Collard B, Ades PK, Pang ECK, Brouwer JB, Taylor PWJ (2001) Prospecting for sources of resistance to ascochyta blight in wild *Cicer* species. *Australasian Plant Pathology* 30: 271-276.

- ❖ Coram TE, Pang ECK (2005) Isolation and analysis of candidate ascochyta blight defence genes in chickpea. Part II. Microarray expression analysis of putative defence-related ESTs. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 66: 201–210.
- ❖ Croser JS, Ahmad F, Clarke HJ, Siddique KHM (2003) Utilization of wild *Cicer* in chickpea improvement- Progress, constraints, and prospects. *Australian Journal of Agricultural Research* 54: 429-444.
- ❖ Daayf F et Platt HW (2002) Variability in responses of US–8 and US–11 genotypes of potato and tomato isolates of *Phytophthora infestans* to commercial fungicides in vitro. *American Journal of Potato Research* 79: 433–441.
- ❖ Dahiya BS, Waldia RS, Kumar R (1988) Relationship between leaf and seed characteristics in chickpea. *International Chickpea Newsletter* 18: 6-7.
- ❖ Demirci F, Bayraktar H, Babaliogullu I, Dolar FS, Maden S (2003) *in vitro* and *in vivo* effects of some fungicides against the chickpea blight pathogen, *Ascochyta rabiei*. *Journal of Phytopathology* 151 : 519-524.
- ❖ Dey SK, Singh G (1994) Seed-Born infection of *Ascochyta rabiei* in chickpea and its transmission to aerial plant parts. *Phytoparasitica* 22 : 31-37.
- ❖ Djellali A (1988) Etude en plein champ de la résistance du pois chiche à l'antracnose. Thèse Ing. En Agronomie. INA, Al-Harrach, Alger, Algérie. 47p.
- ❖ Dolar FS, Gurcan A (1993) The role of phytoalexins on the resistance to *Ascochyta* blight (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.) in chickpeas. *J. Turk. Phytopathol.* 22 : 17-26.
- ❖ Dolar FS, Tenuta A, Higgins VJ (1994) Detached leaf assay for screening chickpea for resistance to ascochyta blight. *Canadian Journal of Plant Pathology* 16: 215 – 220.
- ❖ Dolar FS (1997) Effect of leaf age and inoculum Concentration on resistance of detached chickpea leaflets to two different races of *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. *Tarim Bilimleri Dergisi* 3(1): 19-23.
- ❖ Doukken-Bouchard F, Miller S, McCall P, Mcvigar R (2011) Scouting and management of ascochyta blight in chickpea. AAF Canada, Pesticide Risk Reduction Program Pest management Centre, Saskachewan, Canada. 19p.
- ❖ Dugan FM, Lupien SL, Hernandez-Bello M, Peever TL, Chen W (2005) Fungi resident in chickpea debris and their suppression of growth and reproduction of *Didymelle rabiei* under laboratory conditions. *J. Phytopathol.* (Berlin) 153: 431-439.
- ❖ Duke JA (1981) Handbook of legumes of world economic importance. Plenum Press, NewYork. pp. 52-57.
- ❖ Elad Y, chet I, Boyle P, Henis Y (1983) Parasitism of *Trichoderma spp* on

- Rhizoctonia* and *Sclerotium rolfsii* beans electrom microscope and fluorescens microscope. *Phytopathology* 73: 85-88.
- ❖ Elad Y, Kapat A (1999) The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant pathology* 105: 177-189.
 - ❖ Elaoufir A (2001) Etude du flétrissement vasculaire du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) causé 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. Ph. D. de la faculté des sciences de l'agriculture, Univ. Laval, Québec, Canada. 178p.
 - ❖ FAO (2013) Statistics division (23 Février 2013 ; 11:19). <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. [Disclaimer](#) © FAO 2013.
 - ❖ Frenkel O, Shtienberg D, Abbou S, Sherman A (2007) Sympratic ascochyta complex of wild *Cicer judaicum* and domesticated chickpea. *Plant Pathology* 56: 464-471.
 - ❖ Galloway J, MacLoad WJ (2003) *Didymella rabiei*, the telomorph of *Ascochyta rabiei*, found on chickpea stubble in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 32: 127-128.
 - ❖ Gan YT, Siddique KHM, Mcleod WJ, Jayakumar P (2006) Management options for minimizing the damage by ascochyta blight (*Ascochyta rabiei*) in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Research* 97: 121-134.
 - ❖ Gray FA, Fernandez JA, Horton JI (1987) Efficacy of Chlorothalonil for control of spring black stem and common leaf spot of Alfalfa. *Plant Disease* 71: 752-755.
 - ❖ Gaur PM, Gour VK (2003) Broad-few-leaflet and outwardly curved wings: two new mutants of chickpea. *Plant Breeding* 122: 192-194.
 - ❖ Gaur PM, Singh RD (1996) Evaluation of chickpea cultivars for resistance to ascochyta blight. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology* 26: 50-55.
 - ❖ Ghazanfar MU, Sahi ST, Javed N, Wakil W (2010) Response of advanced lines of chickpea against chickpea blight disease. *Pakistan Journal of Botany* 42(5): 3423-3430.
 - ❖ Goodwin M (2005) Profil de la culture de pois chiche au Canada. Ed. AAFC (Agriculture et Agri-Food Canada). Ottawa, Ontario, Canada. 28p.
 - ❖ Gorlenko MV, Bushkova LN (1958) Perfect state of the causal agent of ascochytose of chickpea [In Russian]. *Plant Prof.*, 03:60 [In: *Rev. Appl. Mycol.* 37: 695 (1958)].

- ❖ Gossen BD (2004) Resistance to strobilurin fungicides in *Ascochyta rabiei*. Proc 5th Canadian Pulse Research Workshop, Lodon, ON, Nov. 29-30.
- ❖ Gossen BD, Miller PR (2004) Survival of *Ascochyta rabiei* in chickpea residue on the Canadian prairies. *Can. J. Plant Pathol.* 26:142-147.
- ❖ Hamza S, Samir S, Rebai A, Salah R, Kahl G, Moncef H (2000) Pathotype variation of the representative genotypes of *Ascochyta rabiei* in the Beja region. *Journal of Plant Pathology* 82: 23–28.
- ❖ Harman GE (2000) Myths and dogmas of biocontrol : changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease* 84: 377-393.
- ❖ Harman GE, Howell CR, viterbo A, Chet I, Lorito M (2004) *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews – Microbiology* 02: 43-66.
- ❖ Harveson R.M, Markell SG, Goswami R, Urrea CA, Burrows ME, Dugan F, Chen W, Skoglund LG (2011) *Ascochyta* blight of chickpeas. Online. *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2011-0103-01-DG.
- ❖ Haware MP, Narayana Rao J, Pundir RPS (1992) Evaluation of wild *Cicer* species for resistance to four chickpea diseases. *International Chickpea Newsletter* 27: 16-18.
- ❖ Haware MP, Van Rheenen HA, Prasad NSS (1995) Screening of *ascochyta* blight resistance in chickpea under controlled environment and field conditions. *Plant Disease* 79: 132-135.
- ❖ Hawkes JG (1977) The importance of wild germplasm in Plant Breeding. *Euphytica* 26 : 615-621.
- ❖ Hawtin GC, Singh KB (1984) Prospects end potential of winter sowing of chickpea in the mediterranean region. *In: Ascochyta blight and winter sowing of chickpeas.* Saxena, M. C. And Singh, K. B., eds.
- ❖ Hernandez-Bello MA, Chilvers MI, Akamatsu H, Peever TL (2006) Host specificity of *Ascochyta* spp. infecting legumes of the *Viciae* and *Cicerae* tribes and pathogenicity of an interspecific hybrid. *Phytopathology* 96:1148-1156.
- ❖ Hibar K, Daami-Remadi M, El Mahjoub M (2007) Effets de certains fongicides de synthèse et biologiques sur la croissance mycélienne et l'agressivité de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Tropicultura* 25 (3): 146-152.
- ❖ Howell CR (2003) Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 87: 04-10.

- ❖ Huisman J, Van Der Poel AFB (1994) Aspects of the nutritional quality and use of cool season food legumes in animal feed. P. 53-76. *In* : Muehldauer, F. J. et Kaiser, W. J. (Eds.) Expanding the production and use of cool season food legumes. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
- ❖ ICARDA (2003) Annual report of ICARDA 2003. International Center for the Agricultural Research in the Dry Areas, Aleppo, Syria. pp. 33-36.
- ❖ Ilyas MB, Chaudhry MA, Javed N, Ghazanfar MU, Khan MA (2007) Sources of resistance in chickpea germplasm against ascochyta blight. *Pakistan Journal of Botany* 39(5): 1843-1847.
- ❖ Imtiyaz M, Abang MM, Malhotra RS, Ahmad S, Bayaa B, Udupa M, Baum M (2011) Pathotype IV, a new highly virulent pathotype of *Didymella rabiei*, causing ascochyta blight in chickpea in Syria. *Plant Disease* 95 (9): 1192.
- ❖ Iqbal SM, Hussain S, Bakhsh A, Bashir M (2002) Sources of resistance in chickpea against ascochyta blight disease. *International Journal of Agriculture & Biology* 04(4): 488-490.
- ❖ Iqbal SM, Bakhsh A, Ghafoor A, Ayub N, Bashir M (2003) Reaction of chickpea genotypes to the isolates of *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. *Pakistan Journal of Plant Pathology* 2(1): 39-47.
- ❖ Iqbal SM, Ghafoor A, Ayub N (2004) Screening of chickpea germplasm against ascochyta blight disease. *Pakistan Journal of Agricultural Research* 18 (1): 8-15.
- ❖ Jamil FF, Sarwar N, Sarwar M, Khan JA, Geistlinger J, Kahl G (2000) Genetic and pathogenic diversity withing *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. populations in Pakistan causing blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Physiological and Molecular Plant pathology* 57: 243-254.
- ❖ Jamil FF, Haq I, Sarwar N, Alam SS, Khan JA, Hanif M, Khan IA, Sarwar M, Haq MA (2002) Screening of ten advanced chickpea lines for blight and wilt resistance. *The Nucleus* 39: 95-100.
- ❖ Jan H, Wiese MV (1991) Virulence forms of *Ascochyta rabiei* affecting chickpea in the Palouse. *Plant Disease* 75: 904-906.
- ❖ Jayakumar P, Gossen BD, Gan YT, Banniza S, Warkentin TD (2005) *Ascochyta* blight of chickpea : Infection and host resistance mechanisms. *Canadian J. of Plant Pathol.* 27 : 499-509.

- ❖ Jhorar OP, Mathauda SS, Singh G, Butler DR, Mavis HS (1997) Relationship between climatic variables and *Ascochyta* blight of chickpea in Punjab (India). *Agr. Forest Meteor.* 87: 171-177.
- ❖ Jhorar OP, Butler DR, Mathauda SS (1998) Effects of leaf wetness duration, relative humidity, light and dark on infection and sporulation by *Didymella rabiei* on chickpea. *Plant Pathology* 47: 586-594.
- ❖ Jimenez-Diaz RM, Trapero-Casas A (1988) Improvement of chickpea resistance to wilt and root rot diseases. In : Proceeding on present status and future prospects of chickpea crop production and improvement in the mediterranean countries. 11-13 Jul., Zaragoza, Spain.
- ❖ Kaiser WJ (1972) Occurrence of three fungal diseases of chickpea in Iran. *FAO Plant Prot. Bull.* 20 : 74-78.
- ❖ Kaiser WJ (1981) Control of *Ascochyta* blight of chickpea through clean seed. ICARDA, Alep, Syrie. P. 117-122.
- ❖ Kaiser WJ (1987) Testing and production of healthy plant germplasm. Technical Bulletin n°02, Copenhagen, Denmark : Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries.
- ❖ Kaiser WJ, Hannan RM (1988) Seed transmission of *Ascochyta rabiei* on chickpea and its control by seed treatment fungicides. *Seed Sci. Tech.* 16 : 625-637.
- ❖ Kaiser WJ (1992) Epidemiology of *Ascochyta rabiei*. Pages 117-134 In: Disease resistance breeding in chickpea. Singh, K. B. et Saxena, M. C., eds. ICARDA, Alep, Syrie.
- ❖ Kaiser WJ (1997) Intra and international spread of *Ascochyta* pathogens of chickpea, faba bean and lentil. *Canadian Journal of Plant Pathology* 19: 215-224.
- ❖ Kaiser WJ, Coca FW, Vega S (2000 a) First report of *Ascochyta* blight of chickpea in Latin America. *Plant Disease* 84 : 102.
- ❖ Kaiser WJ, Ramsey MD, Makouk KM, Bretag TW, Acikgog N, Kumar J, Nutter F W Jr (2000 b) Foliar diseases of cool season food legumes and their control. In : Knight, R. (ed.), Linking research and marketing opportunities for pulses in the 21 st century. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. P. 437-455.
- ❖ Kamal M (1981) The status of chickpea production and research in Morocco. Proceeding of workshop on *Ascochyta* blight and winter sowing of chickpea. (Saxena, M. C. and Singh, K. B. eds.). ICARDA, 4-7 May, Alep. Syrie. pp. 247-257.
- ❖ Kamal M (1988) Le pois chiche d'hiver. *Hommes, Terre et Eaux* 18 : 45-47.

- ❖ Kanouni H, Taleei A, Okhovat M (2011) Ascochyta blight (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab.) of chickpea (*Cicer arietinum* L.): Breeding strategies for resistance. *International Journal of Plant Breeding and Genetics* 5(1): 1-22. doi : 10.3923/ijpbg.2011.1.22.
- ❖ Katiyar RP, Sood OP (1985) Screening chickpea for resistance to ascochyta blight. *International Chickpea Newsletter* 13: 19-21.
- ❖ Kerem Z, Lev-Yadun S, Gopher A, Weinberg P, Abbo S (2007) Chickpea domestication in the Neolithic Levant through the nutritional perspective. *Journal of Archaeological Science* 34 : 1289-1293. doi: 10.1016/j.jas.2006.10.025.
- ❖ Khan MSA, Ramsey MD, Corbiere R, Infantino A, Porta-Puglia A, Bouznad Z, Scott ES (1999) Ascochyta blight of chickpea in Australia: Identification, Pathogenicity and Mating Type. *Plant Pathology* 48: 230-234. doi: 10.1046/j.1365-3059.1999.00338.x.
- ❖ Khokhar SN, Khan MA, Chaudri MF (2001) Some characters of chickpea – nodulating *Rhizobia* native to thal soil. *Pak. J. Bio. Sci.* 04 : 1016-1019.
- ❖ Khune MM, Kapoor JM (1980) *Ascochyta rabiei* sunonymous with *Phoma rabiei*. *Indian Phytopathology* 33 : 119-120.
- ❖ Kim YJ, Hwang BK, Park KW (1989) Expression of age related resistance in pepper plants infected with *Phytophthora capsici*. *Plant Disease* 74: 127-129.
- ❖ Kimber RBE, Scott ES, Ramsey MD (2006) Factors influencing transmission of *Didymella rabiei* (ascochyta blight) from inoculated seed of chickpea under controlled conditions. *European Journal of Plant Pathology* 114:175–184. doi: 10.1007/s10658-005-4037-z
- ❖ Kovics GV, Holly L, Simay EI (1986) An ascochytoxis of the chickpea (*Cicer arietinum* L.) caused by *Didymella rabiei* (Kov.).V. Arx. Imperfect *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. [In Hungarian]. *ACTA Phytopathologica &Entomologia Hungarica* 21: 147-150.
- ❖ Kuçuk C, Kivanç M, Kinaci E, Kinaci G (2007) Efficacy of *Trichoderma harzianum* (Rifaii) on inhibition of ascochyta blight disease of chickpea. *Annals of Microbiology* 57: 665-668.
- ❖ Labdi M (1990) Contribution à l'étude de la variabilité d'isolats de *Ascochyta rabiei*, Agent de l'antracnose du pois chiche en Algérie. Diplôme d'agronomie approfondie, DAA, Ecole nationale supérieure agronomique de Montpellier. 36p.
- ❖ Labdi M (1995) Etude de la résistance à l'antracnose (*Ascochyta rabiei*) chez le pois chiche (*Cicer arietinum* L.). Thèse de Doctorat, ENSA Montpellier, France. 143p.

- ❖ Ladizinsky G, Adler A (1976 a) Genetic relationships among the annual species of *Cicer* L. *Theoretical and Applied Genetics* 48: 197-203.
- ❖ Ladizinsky G, Adler A (1976 b) The origin of chickpea *Cicer arietinum* L. *Euphytica* 25: 211-217.
- ❖ Le Driant (2011) Flore Alpesv & Pulsatille, eds. Frank LEDRIANT, Novembre 2011. [http// : www.florealpes.com/index.php](http://www.florealpes.com/index.php). (version 3.60, nov. 2011©).
- ❖ Lev-Yadun S, Gopher A, Abbo S (2000) The cradle of agriculture. *Science* 288: 1602–1603.
- ❖ Lichtenzveig J, Scheuring C, Dodge J, Abbo S, Zhang HB (2005) Construction of BAC and BIBAC libraries and their applications for generation of SSR markers for genome analysis of chickpea, *Cicer arietinum* L. *Theoretical and Applied Genetics* 110: 492-510.
- ❖ Lulsdorf M, Mallikarjuna N, Clarke H, Tar'an B (2005) Finding solutions for interspecific hybridisation problems in chickpea (*Cicer arietinum* L.). In: 4th International Food legumes Research Conference, Oct. 18-22, pp 44. New Delhi, India.
- ❖ Luthra JC, Sattar A, Bedi KS (1935) Life-history of gram blight [*Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. Trot.] on gram (*Cicer arietinum* L.) and its control in the Punjab. *Agriculture and Livestock in India* 05: 489-498.
- ❖ Maatougui EH, Bouznad Z, Labdi M (1996) Chickpea in Algeria. In : Adaptation of Chickpea in the West Asia and North Africa Region. (N P Saxena, M C Saxena, C Johansen, S M Virmani, and H Harris eds. INRAA & ICRISAT, 1996). pp.89-99.
- ❖ Mabsoute L, Meskine M, Bouznad Z, Kharrat M (1996) Résultats des surveillances sur les maladies cryptogamiques des principales légumineuses alimentaires dans le Maghreb. pp : 43-50. In : *Proceeding du symposium régional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires*, 11-14 Novembre 1996, Rabat (Maroc). Projet Mghrébin PNUD/RAB/91/007.
- ❖ Maden S, Singh D, Mather SB, Neergard P (1975) Detection and location of seed-born inoculum of *Ascochyta rabiei* and its transmission in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Seed Sci. And Technol.* 03 : 667-681.
- ❖ Maheshwari RV, Bhan-Bhanushally T (1984) C.N.G. 146 chickpea : An answer to *Ascochyta* blight. *International chickpea Newsletter* 10 : 7-9.

- ❖ Makhloufia Y (1991) Etude de la contribution de fongicides à la survie de plantes de pois chiche (Variété Sebdou) vis-à-vis de l'antracnose. Thèse d'ing. Et. Agronomie, Centre Univ. Mascra. 73p.
- ❖ Malhotra RS, Pundir KP, Slinkard AE (1987) Genetic resources of chickpea. 11-34
In : Saxena, M. C. et Singh, K. B. Eds. The chickpea CAB International, Wallingford, U. K.
- ❖ Malhotra RS, Singh KB (1989) Detection of epistasis in chickpea. *Euphytica* 40: 169 - 172.
- ❖ Malhotra RS, Pundir RPS, Kaiser WJ (2000) *Cicer* species -conserved resources, priorities for collection and future prospects. In '*Linking research and marketing opportunities for pulses in the 21st century*'. (Ed.): R Knight. pp. 603–622. *Kluwer Academic Publishers*.
- ❖ Malik BA, Tufail M (1981) Chickpea production in Pakistan. *In* Ascochyta blight and winter sowing of chickpeas. Proceeding of the workshop held in ICARDA, 4-7 May, Aleppo, Syria. Saxena, M. C. et Singh, K. B. Eds. *Martinus Nijhoff / Dr. W. Junk Publishers of ICARDA, The Hague, The Netherlands* : 229-235.
- ❖ Malik BA, Rahman MS (1992) Breeding for ascochyta blight resistance desi chickpea in Pakistan. In 'Disease resistance breeding in chickpea'. (Eds KB Singh and MC Saxena) pp.77-85. (ICARDA: Aleppo, Syria).
- ❖ Malik SR, Iqbal SM, Iqbal U, Ahmad I, Haqqani AM (2005) Response of chickpea lines to *Ascochyta rabiei* at two growing stages. *Caspian Journal of Environmental Sciences* 3(2): 173-177.
- ❖ Matern M, Knights T, Meredith K, Bretag T, Brouwer JB, Hawthorne BW (2002) 'Update Ascochyta-resistant chickpeas.' Ground Cover Vol. 39, April 2002. (<http://www.grde.com.au/growers/ge/ge39/pulses.htm#update>).
- ❖ Matheron ME, Porchas M (2000) Comparison of new fungicides to manage *Sclerotinia* leaf drop of lettuce in 2000. Eds. University of Arizona College of Agriculture 2000 Vegetable Report, index at <http://ag.arizona.edu/pubs/crops/az1177/>.
- ❖ Mclean KS, Lawrence GW (1994) *In vitro* suppression of *Fusarium solani*, the causal agent of sudden death syndrome of soybean (Abstr.). *Phytopathology* 84: 1115.
- ❖ Milgroom MG, Peever TL (2003) Population biology of plant pathogens. *Plant Disease* 87: 608 – 617.

- ❖ Millan T, Rubio J, Iruela M, Daly K, Cubero JI, Gil J (2003) Markers associated with ascochyta blight resistance in chickpea and their potential in marker-assisted selection. *Field Crops Research* 84: 373-384.
- ❖ Morrall RAA, McKenzie DL (1974) A note on the inadvertent introduction to North America of *Ascochyta rabiei*, a destructive pathogen of chickpea. *Plant Disease Rep.* 58 : 342-345.
- ❖ Muehlbauer FJ, Kaiser WJ (1994) Using host plant resistance to manage biotic stresses in cool season food legumes. *Euphytica* 73: 1-10.
- ❖ Muehlbauer FJ, Kaiser WJ, Simon CJ (1994) Potential for wild species in cool season food legume breeding. *Euphytica* 73: 109-114.
- ❖ Muehlbauer FJ, Kaiser WJ, Kusmenoglu I (1998a) Registration of 'Dwelley' chickpea. *Crop Science* 38: 282-283.
- ❖ Muehlbauer FJ, Kaiser WJ, Kusmenoglu I (1998b) Registration of 'Sanford' chickpea. *Crop Science* 38: 282.
- ❖ Millan T, Rubio J, Iruela M, Daly K, Cubero JI, Gil J (2003) Markers associated with ascochyta blight resistance in chickpea and their potential in marker-assisted selection. *Field Crops Research* 84: 373-384.
- ❖ Nasir M, Bretag TW, Kaiser WJ, Meredith KA, Brouwer JB (2000) Screening of chickpea germplasm for ascochyta blight resistance. *Australasian Plant Pathology* 29: 102-107.
- ❖ Navas-Cortes JA, Trapero-Casas A, Jimenes-Diaz RM (1990) Role of teleomorph of *Ascochyta rabiei* in the epidemiology of ascochyta blight of chickpea in Spain, pp. 289-290, In: Proceedings of 8th Congress of Mediterranean Phytopathology Union. Agadir, Morocco.
- ❖ Navas-Cortés JA (1992) El teleomorfo de *Ascochyta rabiei* en España ; Detection desarrollo y papel en la epidemiología de la rabia del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). Thèse de Ph. D., Université de Cordoba, Cordoba, Espagne.
- ❖ Navas-Cortes JA, Trapero-Casas A, Jimenes-Diaz RM (1995) Survival of *Didymella rabiei* in chickpea straw debris in Spain. *Plant Pathology* 44: 332-339.
- ❖ Navas-Cortes JA, Peres-Artes E, Jimenes-Diaz RM, Llobel A, Bainbridge BW, Heale JB (1998) Mating type, pathotype and RAPDs analysis in *Didymella rabiei*, the agent of *Ascochyta* blight of chickpea. *Phytoparasitica* 26 (3): 199-212. doi: 10.1007/BF02981435.

- ❖ Nene YL (1980) Diseases of chickpea. Pages 171-178 In: Proceedings of the international workshop on chickpea improvement, ICRISAT, 28 Fév. – 2 Mars 1979, Hyderabad, Inde. ICRISAT, Patanchero, Inde.
- ❖ Nene YL (1981) A review of Ascochyta blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). In : Saxena, M. C. et Singh, K. B. Eds. Proceeding on workshop on *Ascochyta* blight and winter sowing chickpeas, 4-7 May 1981. Alep, Syrie. ICARDA, 17-33.
- ❖ Nene YL (1982) A review of ascochyta blight of chickpea. *Tropical Pest Management*, 28: 61-70.
- ❖ Nene YL (1984) A review of ascochyta blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). In 'Ascochyta blight and winter sowing of chickpea'. Netherlands. (Eds MC Saxena and KB Singh) p. 17–34. (Martinus, Nijhoff., The Hague).
- ❖ Nene YL, Haware MP (1980) Screening of chickpea for resistance to wild. *Plant Disease* 64: 379-380.
- ❖ Nene YL, Reddy MV (1987) Chickpea diseases and their control. In 'The chickpea'. (Eds MC Saxena and KB Singh) pp. 233-270. (CAB International: Wallingford, UK)
- ❖ Nene YL, Sheila VK (1992) Important disease problems of kabuli chickpea. In 'Disease resistance breeding in chickpea'. (Eds KB Singh and MC Saxena) pp. 11-22. (ICARDA: Aleppo, Syria).
- ❖ Obanor FE, Walter M, Jones EE, Jaspers MV (2005) *in vitro* effects of fungicides on conidium germination of *Spilocaea oleagina*, the cause of olive leaf spot. *New Zealand Plant Protection* 58: 278-282.
- ❖ Ozbay N, Newman SE (2004) The effect of the *Trichoderma harzianum* strains on the growth of tomato seedlings. *Acta Horticulture* 635:131-135.
- ❖ Ozkilinc H, Frenkelb O, Abbo S, Eshed R, Sherman A, Shtienberg D, Ophir R, Can C (2010) A comparative study of Turkish and Israeli populations of *Didymella rabiei*, the ascochyta blight pathogen of Chickpea. *Plant Pathology* 59: 492–503. doi: 10.1111/j.1365 3059. 2009.02226.x.
- ❖ Pal M, Singh B (1990) New chickpea genotypes resistant to ascochyta blight. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology* 20: 60-61.
- ❖ Pande S, Siddique KHM, Kishore GK, Bayaa B, Gaur PM, Gowda CLL, Bretag TW, Crouch JH (2005) *Ascochyta* blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review of biology, pathogenicity and disease management. *Australian Journal of Agricultural Research* 56: 317-332.

- ❖ Pande S, Ramgopal D, Kishore GK, Mallikarjuna N, Sharma M, Pathak M, Narayana Rao J (2006) Evaluation of wild *Cicer* species for resistance to *Ascochyta* blight and *Botrytis* grey mold in controlled environment at ICRISAT, Patancheru, India. *International Chickpea and Pigeonpea Newsletter* 13:25-27.
- ❖ Pande S, Sharma M, Gaur PM, Gowda CLL (2010) Host Plant Resistance to *Ascochyta* Blight of Chickpea. Information Bulletin No. 82. Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 40 pp. ISBN 978-92-9066-525-0. Order code: IBE 082.
- ❖ Pande S, Sharma M, Gaur PM, Tripathi S, Kaur L, Basandrai A, Khan T, Gowda CLL, Siddique KHM (2011) Development of screening techniques and identification of new sources of resistance to *ascochyta* blight disease of chickpea. *Australasian Plant Pathology* 40: 149-156.
- ❖ Pandey BK, Singh US, Chaube HS (1987) Mode of infection of *Ascochyta* blight as caused by *Ascochyta rabiei*. *J. Phytopathol.* (Berlin) 119 : 88-93.
- ❖ Pieters R, Tahiri A (1986) Methods for screening resistance in chickpea to *ascochyta* blight. *Euphytica* 35: 1007-1010.
- ❖ Pohronezny K, Francis J, Fong WG (1987) Strategies for chemical control of snap bean rust in Florida and their compatibility with canadian residue tolerances. *Plant Disease* 71: 639-642.
- ❖ Porta-Puglia A, Crino P, Mosconi C (1996) Variability in virulence to chickpea of an italian population of *Ascochyta rabiei*. *Plant Disease* 80: 39-41. doi: D-1995-1130-06R.
- ❖ Pundir RPS, van der Maesen LJG (1983) Interspecific hybridization in *Cicer*. *International Chickpea Newsletter* 08: 4-5.
- ❖ Pundir RPS, Mengesha MH (1995) Cross compatibility between chickpea and its wild relative, *Cicer echinospermum* Davis. *Euphytica* 83 : 241-45.
- ❖ Punithalingam E, Holliday P (1972) *Ascochyta rabiei*. CMI (Commonw. Mycol. Inst.). *Descr. Pathog. Fungi & Bact.* 34 : 337.
- ❖ Rapilly F (1968) Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Ed. *Ann. Epiphyt.* 101p.
- ❖ Reddy MV, Singh KB (1980) Effect of inter-row spacing on the reaction of chickpea lines to *Ascochyta* blight. *International Chickpea Newsletter* 03: 13.
- ❖ Reddy MV (1986) Control of seed-born diseases of chickpea and lentil. (Srivastava, J. P. et Simarski, L. T. , Eds.). *Seed Production and Technology*: 207-218.

- ❖ Reddy MV, Singh KB, Nene YL (1981) Screening technics for *Ascochyta* blight and winter sowing of chickpea. (Saxena, M. C. et Singh, K. B. Eds.). *ICARDA*, 4-7 May, Alep, Syrie. 45-53.
- ❖ Reddy MV, Singh KB (1983) Foliar application of Bravo 500® for *Ascochyta* blight control. *International chickpea Newsletter* 06: 18-19.
- ❖ Reddy MV, Singh KB (1984) Evaluation of a world collection of chickpea germplasm accessions for resistance to ascochyta blight. *Plant Disease* 68: 900-901.
- ❖ Reddy MV, Kabbabeh S (1985) Pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. in Syria and Lebanon. *Phytopathologia Mediterranea* 24: 265-266.
- ❖ Reddy MV (1986) Control of seed-born diseases of chickpea and lentil. (Srivastava, J. P. et Simarski, L. T. , Eds.). *Seed Production And Technology*: 207-218.
- ❖ Reddy MV, Singh KB (1990) Management of *Ascochyta* blight of chickpea through integration of host-plant tolerance and foliar spraying of Chlorothalonil. *Indian J. of Plant Protection* 18: 65-69.
- ❖ Rhaïem A, Chérif M, Harrabi M, Strange RN (2006) First report of *Didymella rabiei* on chickpea debris in Tunisia. *Tunisian Journal of Plant Protection* 01: 13-18.
- ❖ Rhaïem A, Chérif M, Peever TL, Dyer PS (2008) Population structure and mating system of *Ascochyta rabiei* in Tunisia: evidence for the recent introduction of mating type 2. *Plant Pathology* 57 : 540–551 Doi: 10.1111/j.1365-3059.2007.01779.x
- ❖ Roco A, Péres LM (2001) *in vitro* biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* on *Alternaria alternata* in the presence of growth regulators. *EJB Electronic Journal of Biotechnology* 04: 68-73.
- ❖ Shahid AA, Husnain T, Riazuddin S (2008) *Ascochyta* blight of chickpea: Production of phytoalexins and disease management. *Biotechnology Advances* 26: 511-515.
- ❖ Schirmbock M, Lorito M, Wang YL, Hayes CK, Arisan-Atlac I, Scala F, Harman GE, Kubicek CP (1994) Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 4364-4370.
- ❖ Setti B, Bencheikh M, Henni J, Neema C (2008) Effect of pea cultivar, pathogen isolate, inoculums concentration and leaf wetness duration on ascochyta blight caused by *Mycosphaerella pinodes*. *Phytopathologia Mediterranea* 47(3): 214–222.

- ❖ Setti B, Bencheikh M, Henni J, Neema C (2009) Comparative aggressiveness of *Mycosphaerella pinodes* on peas from different regions in western Algeria. *Phytopathologia Mediterranea* 48: 195-204.
- ❖ Shah TM, Ulhassan M, Haq MA, Atta BA, Alam SS, Ali H (2005) Evaluation of *Cicer* species for resistance to *Ascochyta* blight. *Pak. J. Bot.* 37 (2): 431-438.
- ❖ Shahid AA, Husnain T, Riazuddin S (2008) *Ascochyta* blight of chickpea: Production of phytoalexins and disease management. *Biotechnol. Advances* 26: 511-515.
- ❖ Sharma D, Jodha NS (1984) Pulse production in semi-arid regions of India. *Proceedings of pulse production, constraints and opportunities*, pp: 241-265.
- ❖ Sharon E, Bar-Eyal M, Chet I, Herra-Estrella A, Kleifeld O, Spiegel Y (2001) Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 91: 687-693.
- ❖ Shtienberg D, Vintal H, Brener S, Retig B (2000) Rational management of *Didymella rabiei* in chickpea by integration of genotype resistance and postinfection application of fungicides. *Phytopathology* 90 : 834-842.
- ❖ Shuklah BB, Pandey BK, Rathi YS (1984) Screening of chickpea. Germplasm against *Ascochyta* blight. *International Chickpea Newsletter* 11: 28-30.
- ❖ Shukla A, Pandya BP (1988) Evaluation of chickpea germplasm. *Indian Journal of Pulses Research* 01: 89-95.
- ❖ Singh G, Kapoor S, Singh K (1982) Screening chickpea for gray mold resistance. *International Chickpea Newsletter* 07: 13-14.
- ❖ Singh KB, Saxena MC, Agridley HE (1983) Screening chickpea for cold tolerance and frost resistance. In : Workshop on *Ascochyta* blight and winter sowing of chickpea. ICARDA, Alep, Syrie.
- ❖ Singh KB, Reddy MV, Nene YL (1984) International testing of chickpeas for resistance to *ascochyta* blight. *Plant Disease* 68: 782-784.
- ❖ Singh G, Kapoor S (1985) Screening for combined resistance to *Botrytis* gray mold and *ascochyta* blight of chickpea. *International Chickpea Newsletter* 12: 21-22.
- ❖ Singh KB (1987) Chickpea breeding. P. 127-162. In: Saxena, M. C. et Singh, K. B. Eds. The chickpea . CAB International, U. K.
- ❖ Singh KB (1988) Winter chickpea: Problems and potential in the mediterranean region. In proceeding on present status production and improvement in the mediterranean countries. 11-13 July 1988, Zaragoza, Espagne.

- ❖ Singh RP, Singh BD (1989) Recovery of rare interspecific hybrids of gram *Cicer arietinum* × *C. cuneatum* L. through tissue culture. *Current Science* 58: 874-76.
- ❖ Singh KB (1990) Status of chickpea in the world. *International chickpea Newsletter* 22: 10-16.
- ❖ Singh KB, Malhotra RS, Saxena MC (1990) Sources for tolerance to cold in *Cicer* species. *Crop Science* 30: 1136-38.
- ❖ Singh KB, Reddy MV (1990) Patterns of resistance and susceptibility to races of *Ascochyta rabiei* among germplasm accessions and breeding lines of chickpea. *Plant Disease* 74: 127-129.
- ❖ Singh KB, Holly L, Bejiga G (1991) A catalog of Kabuli chickpea germplasm: An evaluation report of winter-sown Kabuli chickpea land races, breeding lines and wild *Cicer* species. ICARDA, P.O. Box 5466, Aleppo, Syria. 398 pp.
- ❖ Singh KB, Reddy MV (1992) *Ascochyta* blight resistant chickpea germplasm accessions. *International Chickpea Newsletter* 26: 21-23.
- ❖ Singh KB, Reddy MV, Haware MP (1992) Breeding for resistance to *ascochyta* blight in chickpea. In: Disease resistance in chickpea, (Singh K.B. and M.C. Saxena eds.). ICARDA, Aleppo, Syria, pp. 23-54.
- ❖ Singh KB, Reddy MV (1993) Resistance to six races of *Ascochyta rabiei* in the world germplasm collection of chickpea. *Crop Science* 33:186-189.
- ❖ Singh KB, Weigand S (1994) Identification of resistant sources in *Cicer* species to *Liriomyza cicerina*. *Genetic Resources and Crop Evolution* 41: 75-79.
- ❖ Singh KB, Malhotra RS, Halila MH, Knights EJ, Verma MM (1994) Current status and future strategy in breeding chickpea for resistance to biotic and abiotic stresses. *Euphytica* 73, 137-49.
- ❖ Singh F, Diwakar B (1995) Chickpea: Botany and production practices. Skill Development Serie no. 16. ICRISAT edit., Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, Inde. 64p.
- ❖ Singh KB, RS Malhotra, Saxena MC (1995) Additional sources of tolerance to cold in cultivated and wild *Cicer* species. *Crop Science* 35: 1491-1497.
- ❖ Singh KB, Reddy MV (1996) Improving chickpea yield by incorporating resistance to *ascochyta* blight. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 509-515.
- ❖ Singh KB, Vito MD, Greco N, Saxena MC (1996) Registration of ILWC 292, a chickpea cyst nematode-resistant germplasm of *Cicer reticulatum* Ladiz. *Crop Science* 36: 1421-1422.

- ❖ Singh KB, Ocampo B (1997) Exploitation of wild *Cicer* species for yield improvement in chickpea. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 418-423.
- ❖ Singh KB, Malhotra RS, Saxena MC, Bejiga G (1997) Superiority of winter sowing over traditional spring sowing of chickpea in the mediterranean region. *Agronomy Journal* 89 : 112-118.
- ❖ Singh KB, Ocampo B, Robertson LD (1998) Diversity for abiotic and biotic stress resistance in the wild annual *Cicer* species. *Genetic Resources and Crop Evolution* 45: 09-17.
- ❖ Singh A, Singh NP, Asthana AN (1999a) Genetic potential of wide crosses in chickpea. *Legume Research* 22: 19-25.
- ❖ Singh NP, Singh A, Asthana AN (1999b) Studies on inter-specific crossability barriers in chickpea. *Indian journal of Pulses Research* 12: 13-19.
- ❖ Singh R, Sharma P, Varshney RK, Sharma SK, Singh NK (2008) Chickpea improvement: role of wild species and genetic markers. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* 25 : 267-314.
- ❖ Skrypetz S (2001) Pois chiches : Situation et perspectives. Bulletin Bimensuel. Ed. DPS & DPC & AAC. Canada. 4p.
- ❖ Skrypetz S (2006) Pois chiches : Situation et perspectives. Bulletin Bimensuel. Ed. DAM & DPS & DPC & AAC. Canada. 4p.
- ❖ Stamigna C, Mancinelli R, Crino P, Infantino A, Porta-Puglia A, Saccardo F (1998) Multiple resistance to diseases in wild relatives of chickpea (*Cicer arietinum* L.). In '3rd European conference on grain legumes'. Valladolid, Spain. (Ed. AEP) pp. 221-222.
- ❖ Stewart HE (1990) Effect of plant age and inoculum concentration on expression of major gene resistance to *Phytophthora infestans* in detached potato leaflets. *Mycological Research* 94: 823-826.
- ❖ Toker C, Uzun B, Cagiran MI (1999) Screening and selection for resistance to ascochyta blight (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.) of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under field conditions. *Journal of Turkish Pathology* 28: 101-110.
- ❖ Trapero-Casas A, Kaiser WJ (1992 a) Influence of temperature, wetness period, plant age and inoculation concentration on infection and development of *Ascochyta* blight of chickpea. *Phytopathology* 82 : 589-596.
- ❖ Trapero-Casas A, Kaiser WJ (1992 b) Development of *Didymella rabiei*, the teleomorph of *Ascochyta rabiei*, on chickpea straw. *Phytopathology* 82 : 1261-1266.

- ❖ Trapero-Casas A, Navas-Cortés JA, Jimenez-Diaz RM (1996) Airborne ascospores of *Didymella rabiei* as a major primary inoculum for *Ascochyta* blight epidemics in chickpea crops in Southern Spain. *European J. Plant Pathology* 02: 237-245.
- ❖ Trapero-Casas A, Luque-Marquez F, Kaiser WJ (2012) The development of the teleomorph of *Ascochyta rabiei* on culture media. *European Journal of Plant Pathology* 134: 773-782. doi 10.1007/s10658-012-0053-y.
- ❖ Triki MA, Priou S, El Mahjoub M (1996) Lutte chimique et biologique contre *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Fusarium roseum* var. *sambucinum* et *Phytophthora erythroseptica*, agents des pourritures des tubercules de pomme de terre. *Annales de l'INRAT* 69: 185-196.
- ❖ Tripathi HS, Singh RS, Chaube HS (1987) Effect of fungicidal seed and foliar application on chickpea *Ascochyta* blight. *Indian Phytopathology* 40 (1) : 63-66.
- ❖ Türkkan M, Dolar FS (2009) Determination of pathogenic variability of *Didymella rabiei*, the agent of ascochyta blight of chickpea in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 33: 585-591. doi: 10.3906/tar-0901-34
- ❖ Udupa SM, Weigand F (1997) Pathotyping of *Ascochyta rabiei* isolates of Syria. DNA markers and breeding for resistance to ascochyta blight in chickpea. In: *Proceedings of The Symposium on "Application of DNA Fingerprinting for Crop Improvement: Marker Assisted Selection of Chickpea for Sustainable Agriculture in The Dry Areas* (Udupa S. M. et Weigand F. eds.). ICARDA, 11-12 April 1994, Aleppo, Syria.
- ❖ Udupa SM, Weigand F, Saxena M, Kahl G (1998) Genotyping with RAPD and microsatellite markers resolves pathotype diversity in the ascochyta blight pathogen of chickpea. *Theoretical and Applied Genetics* 97: 299-307.
- ❖ Upadhyaya HD, Thudi M, Dronavalli N, Gujaria N, Singh S, Sharma S, Varshney RK (2011) Genomic tools and germplasm diversity for chickpea improvement. *Plant Genetic Resources – Characterization and utilization* 9 (1). pp. 45-58. doi.org/10.1017/S1479262110000468.
- ❖ Vail S, Banniza S (2008) Structure and pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* populations on chickpea in the Canadian prairies. *Plant pathology* 57: 665-673. doi: 10.1071/AP09014-0815-3191/09/040392.
- ❖ Van der Maesen LJG (1972) '*Cicer* L., A Monograph of the Genus with Special Reference to Chickpea (*Cicer arietinum* L.), its Ecology and Cultivation.' (Mededelingen Landbouwhogehogeschool: Wageningen).

- ❖ Van der Maesen LJG (1980) Growing wild chickpeas. *International Chickpea Newsletter* 02: 3-4.
- ❖ Van Der Maesen LJG, Pundir RPS (1984) Availability and use of wild *Cicer* germplasm. *Plant Genet. Newsletters* 57 : 19-24.
- ❖ Van Der Maesen LJG (1987) Origin, history and taxonomy of chickpea. p. 11-34. In: Saxena, M. C. & Singh, K. B. Eds. The chickpea CAB International, Wallingford, U. K.
- ❖ Van Rheenen HA, Pundir RPS, Miranda JH (1993) How to accelerate the genetic improvement of a recalcitrant crop species such as chickpea. *Current Science* 65 : 414-17.
- ❖ Verma MM, Sandhu JS, Brar HS, Brar JS (1990) Crossability studies in different species of *Cicer* (L.). *Crop Improvement* 17: 179-81.
- ❖ Verma MM, Ravi, Sandhu JS (1995) Characterization of the interspecific cross *Cicer arietinum* L. x *C. judaicum* (Boiss). *Plant Breeding* 114: 549-551.
- ❖ Vir S, Grewal JS (1974) Physiological specialization in *Ascochyta rabiei*, the causal organism of gram blight. *Indian Phytopathology* 27: 265-266.
- ❖ Vir S, Grewal JS, Gupta VP (1975) Inheritance of resistance to ascochyta blight in chickpea. *Euphytica* 24: 209-211.
- ❖ Wadud A, Riaz M (1988) Screening of desi chickpea germplasm for resistance to ascochyta blight in Pakistan. *International Chickpea Newsletter* 18: 17-19.
- ❖ Wang H, Hwang SF, Chang KF, Turnbull GD, Howard RJ (2003) Suppression of important pea diseases by bacterial antagonists. *Biocontrol Dordrecht* 04: 447-460.
- ❖ Wells HD, Bell DK, Jaworski CA (1972) Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 62: 442-447.
- ❖ Warren RC, King JE, Colhoun J (1971) Reaction of potato leaves to infection by *Phytophthora infestans* in relation to position on the plant. *Trans. British Mycological Society* 57: 501-514.
- ❖ Wieltzien HC, Kaack HJ (1981) Epidemiological aspects of chickpea Ascochyta blight. In : *Ascochyta* blight and winter sowing of chickpeas. ICARDA, 4-7 May 1982. Saxena, M. C. et Singh, K. B. Eds. The Hague, The Netherlands : *Martinus Nijhoff / Dr Junk Publ.* p. 35-40.
- ❖ Wiese MV, Kaiser WJ, Smith LJ, Muehlbauer FJ (1995) *Ascochyta rabiei* of chickpea. Ed. AG. Communication Center. Univ. De Idaho. Moscow, Russie. 4p.

- ❖ Williams PC, Singh U (1987) Nutritional quality and evaluation of quality in breeding programmes. In: *The chickpea*. Saxena MC & Singh KB eds. CAB International, Wallingford, UK, pp. 329-356.
- ❖ Wilson A, Kaiser WJ (1995) Cytology and genetics of sexual incompatibility in *Didymella rabiei*. *Mycologia* 87 : 795-804.
- ❖ Wise KA, Bradley CA, Pasche JS, Gudmestad NC (2008) Baseline sensitivity of *Ascochyta rabiei* to azoxystrobin, pyraclostrobin and boscalid. *Plant Disease* 92 : 295-300.
- ❖ Wise KA, Bradley CA, Pasche JS, Gudmestad NC (2009a) Resistance to QoI fungicides in *Ascochyta rabiei* from chickpea in the northern Great Plains. *Plant Disease* 93:528–536.
- ❖ Wise KA, Henson RA, Bradley CA (2009b) Fungicide seed treatment effects on seed-borne *Ascochyta rabiei* in chickpea. *HortTechnology* 19(3): 533-537.
- ❖ Yedidia I, Benhamou N, Chet I (1999) Induction of defense responses in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 1061-1070.
- ❖ Yedidia I, Srivastva AK, Kapulnik Y, Chet I (2001) Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant Soil* 235: 235-242.
- ❖ Zaatri M (1987) Contribution à l'étude de l'antracnose de pois chiche. Aspects de la résistance et races physiologiques. Thèse d'Ing. En agronomie. INA. EL-Harrach. Alger. 49p.
- ❖ Zachos DG, Panagopoulos CG, Makris SA (1963) Researchs on the biology, epidemiology and the control of anthracnose of chickpea. *Ann. Inst. Phytopathol. Benaki, N. S.* 05 : 167-192.
- ❖ Zaïdi H, Wirth F (1994) La défense des cultures en Afrique du Nord – En considérant le cas de la Tunisie. Ed. GTZ, Eschborn, Allemagne. 372p.
- ❖ Zikara-Zine F, Bouznad Z (2007) Virulence et groupes de compatibilité dans les isolats d'*Ascochyta rabiei* en Algérie. *INRA Algérie - Recherche Agronomique* 19 : 48 – 55.
- ❖ Zoghbi S (1991) La vulgarisation de la culture du pois chiche dans la wilaya de Sétif. *CIHEAM- Options Méditerranéennes Vol. 2, N° 01* : 113-122.
- ❖ Zohary D, Hopf M (2000) Domestication of plant in the old world. 3rd edition., Oxford University Press, New York, pp. 316.

Annexe 01

Principaux pays producteurs de pois chiche (Skrypetz, 2006)

Pays	Productions (Tonnes)	Pourcentages par rapport à la production totale (%)
Inde	5700000	66
Turquie	610000	7
Pakistan	400000	4,6
Australie	304000	3,5
Iran	280000	3,2
Mexique	240000	2,7
Maynmar	230000	2,6
Canada	163000	2
Ethiopie	135000	1,6
Irak	100000	1,2
Etats-Unis	67000	0,8
Syrie	55000	0,7
Espagne	40000	0,4
Maroc	40000	0,4
Autres pays	286000	3,3
Totale	8650000	100

Annexe 02

Evolution de superficies, de productions et de rendements de pois chiche en Algérie durant la période 1963-2010 (FAO, 2013)

Années	Superficies (ha)	Productions (Tonnes)	Rendements (Qx/ha)
1963	17000	9200	5.4
1964	18230	9347	5.1
1965	30790	15427	5.0
1966	21150	10142	4.7
1967	24630	11781	4.7
1968	35740	16707	4.6
1969	28930	11980	4.1
1970	23780	10745	4.5
1971	21400	10765	5.0
1972	22920	9370	4.0
1973	30460	12153	3.9
1974	32900	16588	5.0
1975	33980	24767	7.2
1976	33250	25379	7.6
1977	33980	25662	7.5
1978	41180	21628	5.2
1979	41350	16663	4.0
1980	42100	15839	3.7
1981	43230	16806	3.8
1982	34450	9268	2.6
1983	40540	9858	2.4
1984	47900	12582	2.6
1985	50580	16289	3.2
1986	57740	18239	3.1
1987	69620	25870	3.7
1988	52280	14615	2.7
1989	40800	20464	5.0
1990	33560	14772	4.4

(Suite annexe 02)

Années	Superficies (ha)	Productions (Tonnes)	Rendements (Qx/ha)
1991	44530	24187	5.4
1992	41840	26132	6.2
1993	41590	24887	5.9
1994	46000	15394	3.3
1995	37860	15725	4.1
1996	33240	24478	7.3
1997	30810	16158	5.2
1998	29550	18143	6.1
1999	27720	13070	4.7
2000	19480	6661	3.4
2001	19290	12312	6.3
2002	19330	14971	7.7
2003	22850	19102	8.3
2004	23079	16367	7.0
2005	23348	13727	5.8
2006	21252	12706	5.9
2007	20681	14294	6.9
2008	20361	11211	5.5
2009	22274	17840	8.0
2010	22600	21200	9.3

Annexe 03

Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture utilisé : CDA (Chickpea seed-meal Dextrose Agar), sa composition est la suivante :

- Pois chiche.....200g.
- Glucose.....15g.
- Gélose (Agar Agar).....20g
- pH.....5,5 à 5,8.
- Eau distillée.....1000 ml.

Les étapes de préparation du milieu sont :

Prendre 200g de graines de pois chiche et rincer dans l'eau courante, puis laisser ces graines dans l'eau distillée pendant 12 h et faire bouillir pendant une heure. On filtre le jus sur mousseline, ajouter 15g de glucose au filtrat, et compléter avec l'eau distillée le volume à 1000ml. Ajuster le pH à 5,5 ; mettre la gélose (Agar Agar) et faire bouillir jusqu'à la dissolution de l'agar.

Autoclaver pendant 20 min à 120 C°, puis couler le milieu sous hotte, dans des boîtes de Pétri stériles, laisser refroidir pour la solidification (Figure 36).

Enfin, conserver les boîtes de Pétri au frigo à une température de 4 à 5 C°.

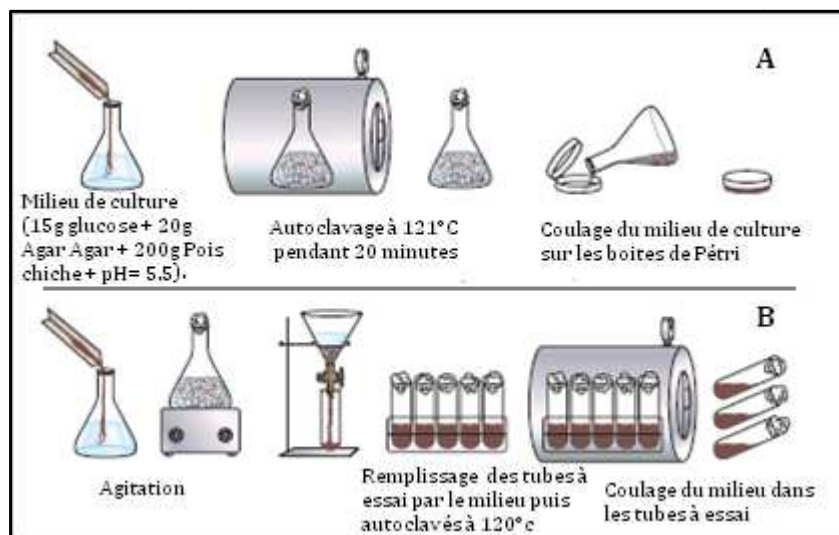


Figure 36: Préparation du milieu de culture CDA (Chickpea Seed-Meal Agar) (A : coulage sur les boîtes de Pétri ; B : coulage sur les tubes à essai inclinés).

Annexe 04

Préparation de la suspension de spores

1- Comptage des spores

Le comptage se fait au microscope à l'aide de la cellule de *Malassez* (Figure 38). Le comptage se fait suivant la diagonal. Si le comptage est en dessous de 6 spores par carreau, on compte les 25 carreaux. Un carreau est composé de 16 petits carreaux, délimités par trois (3) traits (type sans rebords) ou par deux (2) traits (type avec rebords). Les spores contenues dans un carreau constituent un comptage.

Il faut compter les spores dans la partie ombragée, le côté en haut à gauche puis lire ensuite les carreaux vers le bas (Figure 37). Les spores qui sont sur la ligne sont comptées si plus que la moitié est dedans, et non comptées, si moins dans le cas contraire.

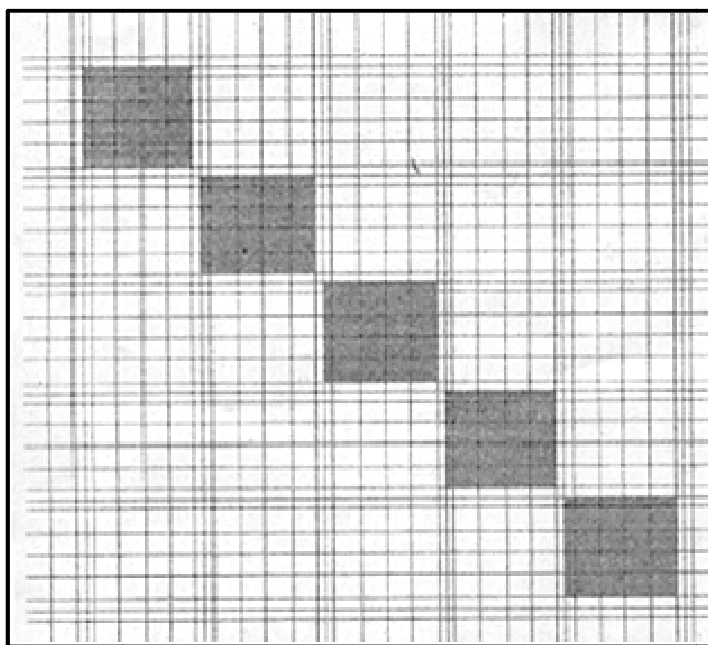


Figure 37 : Cellule de Malassez observée au microscope ($G \times 10$).

2- Calcul de la concentration

Après avoir fait les comptages des 5 carreaux de chaque côté de la lame, on effectue leur somme puis on multiplie par cinq pour avoir le total sur 25 carreaux. Ensuite on calcule la moyenne des sommes pour les deux différents côtés. Soient a et b, les différentes sommes :

$$x = \frac{a + b}{2}$$

x : Compte moyen de 25 carreaux (comptage pour 5 carreaux multiplié par 5).

Alors pour trouver la concentration par ml de la dilution utilisée, il faudra faire :

$$X \times 10^4 = C \text{ spores / ml}$$

Si ' n ' est le nombre de fois dilué, alors la concentration de spores dans la solution originale sera égale à :

$$C' \times 10^n = C \text{ spores / ml}$$

n : Nombre de dilutions ;

C' : Solution diluée ;

C : Solution originale.

Dans notre expérience, on a utilisé la concentration 10 spores / ml. Pour obtenir cette concentration, il faut trouver 10 spores par 25 carreaux ($X=10$).

Annexe 05

1-Groupes homogènes du facteur étudié F1 (Agressivité)

F1	Libellés	Moyennes	Groupes homogènes	
11.0	Mos2	8,321	A	
2.0	Msc2	7,036		B
3.0	Msc3	6,964		B
12.0	Rel1	5,929		C
10.0	Mos1	5,75		C
6.0	At2	5,75		C
7.0	At3	5,75		C
14.0	rel3	5,714		C
16.0	Tle1	5,679		C
13.0	Rel2	5,607		C
4.0	Msc4	5,607		C
15.0	chl1	5,393		C
5.0	At1	5,321		C
8.0	Sba1	5,321		C
1.0	Msc1	5,25		C
9.0	Sba2	2,464		D

2-Groupes homogènes du facteur étudié F2 (Résistance)

F2	Libellés	Moyennes	Groupes homogènes		
1.0	llc 1929	8,438	A		
2.0	F8	7,344		B	
3.0	lcc1903	6,922		C	
4.0	llc249	6,469			D
5.0	llc482	6,281			D
6.0	llc3279	3,078			E
7.0	lcc3996	1,656			F

Annexe 06

Données de regroupements d'essais, interaction : isolat – lignée

Isolats	Lignées	Sévérité des symptômes	Résiduelle	ddl	Nombre de Blocs
1 (Msc1)	1 ^a (Ilc 1929)	8,75	1,27199996	336	4
1 (Msc1)	3 (Icc1903)	7,25			
1 (Msc1)	4 (Ilc249)	5,5			
1 (Msc1)	5 (Ilc482)	5			
1 (Msc1)	6 (Ilc3279)	2			
1 (Msc1)	7 (Icc3996)	1			
2 (Msc2)	1 (Ilc 1929)	8,5			
2 (Msc2)	2 (F8)	7,75			
2 (Msc2)	3 (Icc1903)	8,25			
2 (Msc2)	4 (Ilc249)	7,75			
2 (Msc2)	5 (Ilc482)	7,5			
2 (Msc2)	6 (Ilc3279)	6,5			
2 (Msc2)	7 (Icc3996)	3			
3 (Msc3)	1 (Ilc 1929)	9			
3 (Msc3)	2 (F8)	8			
3 (Msc3)	3 (Icc1903)	7,75			
3 (Msc3)	4 (Ilc249)	7,25			
3 (Msc3)	5 (Ilc482)	8,25			
3 (Msc3)	6 (Ilc3279)	6,75			
3 (Msc3)	7 (Icc3996)	1,75			
4 (Msc4)	1 (Ilc 1929)	8,5			
4 (Msc4)	2 (F8)	7,5			
4 (Msc4)	3 (Icc1903)	7,5			
4 (Msc4)	4 (Ilc249)	6,75			
4 (Msc4)	5 (Ilc482)	7			
4 (Msc4)	6 (Ilc3279)	1			
4 (Msc4)	7 (Icc3996)	1			
5 (At1)	1 (Ilc 1929)	7,25			
5 (At1)	2 (F8)	7			
5 (At1)	3 (Icc1903)	6,5			
5 (At1)	4 (Ilc249)	6,5			
5 (At1)	5 (Ilc482)	6			
5 (At1)	6 (Ilc3279)	3			
5 (At1)	7 (Icc3996)	1			
6 (At2)	1 (Ilc 1929)	7,5			
6 (At2)	2 (F8)	7,5			
6 (At2)	3 (Icc1903)	7,5			
6 (At2)	4 (Ilc249)	6,75			
6 (At2)	5 (Ilc482)	5,5			

a : Nombre de répétition.

(Suite Annexe 06)

Isolats	Lignées	Sévérité des symptômes	Résiduelle	ddl	Nombre de Blocs
6 (At2)	6 (Ilc3279)	4,5	1,27199996	336	4
6 (At2)	7 (Icc3996)	1			
7 (At3)	1 (Ilc 1929)	8,5			
7 (At3)	2 (F8)	8,5			
7 (At3)	3 (Icc1903)	7,25			
7 (At3)	4 (Ilc249)	6			
7 (At3)	5 (Ilc482)	6,5			
7 (At3)	6 (Ilc3279)	2,5			
7 (At3)	7 (Icc3996)	1			
8 (Sba1)	1 (Ilc 1929)	9			
8 (Sba1)	2 (F8)	7,5			
8 (Sba1)	3 (Icc1903)	7,25			
8 (Sba1)	4 (Ilc249)	6			
8 (Sba1)	5 (Ilc482)	5,5			
8 (Sba1)	6 (Ilc3279)	1			
8 (Sba1)	7 (Icc3996)	1			
9 (Sba2)	1 (Ilc 1929)	7,75			
9 (Sba2)	2 (F8)	2,5			
9 (Sba2)	3 (Icc1903)	1			
9 (Sba2)	4 (Ilc249)	2			
9 (Sba2)	5 (Ilc482)	1,5			
9 (Sba2)	6 (Ilc3279)	1,5			
9 (Sba2)	7 (Icc3996)	1			
10(Mos1)	1 (Ilc 1929)	9			
10(Mos1)	2 (F8)	7,5			
10(Mos1)	3 (Icc1903)	7,25			
10(Mos1)	4 (Ilc249)	6,5			
10(Mos1)	5 (Ilc482)	6			
10(Mos1)	6 (Ilc3279)	3			
10(Mos1)	7 (Icc3996)	1			
11(Mos2)	1 (Ilc 1929)	9			
11(Mos2)	2 (F8)	9			
11(Mos2)	3 (Icc1903)	9			
11(Mos2)	4 (Ilc249)	8,5			
11(Mos2)	5 (Ilc482)	7,5			
11(Mos2)	6 (Ilc3279)	7,5			
11(Mos2)	7 (Icc3996)	7,75			
12(Rel1)	1 (Ilc 1929)	8,75			
12(Rel1)	2 (F8)	7,5			

(Suite Annexe 06)

Isolats	Lignées	Sévérité des symptômes	Résiduelle	ddl	Nombre de Blocs
13(Rel2)	3 (Icc1903)	6,25	1,27199996	336	4
13(Rel2)	4 (Ilc249)	7			
13(Rel2)	5 (Ilc482)	7,5			
13(Rel2)	6 (Ilc3279)	1,5			
13(Rel2)	7 (Icc3996)	1			
14(rel3)	1 (Ilc 1929)	8,25			
14(Rel3)	2 (F8)	7,75			
14(Rel3)	3 (Icc1903)	7			
14(Rel3)	4 (Ilc249)	6,5			
14(Rel3)	5 (Ilc482)	6,5			
14(Rel3)	6 (Ilc3279)	3			
14(Rel3)	7 (Icc3996)	1			
15(Ch11)	1 (Ilc 1929)	8,75			
15(Ch11)	2 (F8)	6,5			
15(Ch11)	3 (Icc1903)	6,5			
15(Ch11)	4 (Ilc249)	6,5			
15(Ch11)	5 (Ilc482)	6,5			
15(Ch11)	6 (Ilc3279)	1,5			
15(Ch11)	7 (Icc3996)	1,5			
16(Tle1)	1 (Ilc 1929)	8			
16(Tle1)	2 (F8)	8,25			
16(Tle1)	3 (Icc1903)	7			
16(Tle1)	4 (Ilc249)	6,5			
16(Tle1)	5 (Ilc482)	6,5			
16(Tle1)	6 (Ilc3279)	2,5			
16(Tle1)	7 (Icc3996)	1			
13(Rel2)	3 (Icc1903)	6,25			
13(Rel2)	4 (Ilc249)	7			
13(Rel2)	5 (Ilc482)	7,5			
13(Rel2)	6 (Ilc3279)	1,5			
13(Rel2)	7 (Icc3996)	1			
14(Rel3)	1 (Ilc 1929)	8,25			
14(Rel3)	2 (F8)	7,75			
14(Rel3)	3 (Icc1903)	7			
14(Rel3)	4 (Ilc249)	6,5			
14(Rel3)	5 (Ilc482)	6,5			
14(Rel3)	6 (Ilc3279)	3			
14(Rel3)	7 (Icc3996)	1			
15(ch11)	1 (Ilc 1929)	8,75			

(Suite Annexe 06)

Isolats	Lignées	Sévérité des symptômes	Résiduelle	ddl	Nombre de Blocs
15(ch11)	2 (F8)	6,5	1,27199996	336	4
15(ch11)	3 (Icc1903)	6,5			
15(ch11)	4 (Ilc249)	6,5			
15(ch11)	5 (Ilc482)	6,5			
15(ch11)	6 (Ilc3279)	1,5			
15(ch11)	7 (Icc3996)	1,5			
16(Tle1)	1 (Ilc 1929)	8			
16(Tle1)	2 (F8)	8,25			
16(Tle1)	3 (Icc1903)	7			
16(Tle1)	4 (Ilc249)	6,5			
16(Tle1)	5 (Ilc482)	6,5			
16(Tle1)	6 (Ilc3279)	2,5			
16(Tle1)	7 (Icc3996)	1			

ddl, degré de liberté.

Annexe 07

Distribution géographique des pathotypes de *A. rabiei* dans la région du nord ouest algérien

	Mascara	Aïn Temouchent	Sidi Bel Abbès	Mostaganem	Relizane	Chlef	Tlemcen
Pathotype I	0 ^a	0	1	0	0	0	0
Pathotype II	2	3	1	1	3	1	1
Pathotype III	2	0	0	1	0	0	0

a : Nombre d'isolats d'une région pour chaque pathotype.

Annexe 08

1-Données de regroupements d'essais, interaction : isolat – lignée pour la concentration 10^4 conidies/ml

Lignées	Isolats	Sévérité des symptômes	Résiduelle	ddl	Nombre de blocs
1 (ILC1929)	1 (Sba 02)	3			
1 (ILC1929)	2 (Mos 02)	4	0,667	12	4
2 (ICC3996)	1 (Sba 02)	1			
2 (ICC3996)	2 (Mos 02)	2			

ddl, Degré de liberté.

2-Données de regroupements d'essais, interaction : isolat – lignée pour la concentration 10^5 conidies/ml

Lignées	Isolats	Sévérité des symptômes	Résiduelle	ddl	Nombre de blocs
1 (ILC1929)	1 (Sba 02)	6			
1 (ILC1929)	2 (Mos 02)	8	1,58299994	12	4
2 (ICC3996)	1 (Sba 02)	3,5			
2 (ICC3996)	2 (Mos 02)	5			

ddl, Degré de liberté.

3-Données de regroupements d'essais, interaction : isolat – lignée pour la concentration 5×10^5 conidies/ml

Lignées	Isolats	Sévérité des symptômes	Résiduelle	ddl	Nombre de blocs
1 (ILC1929)	1 (Sba 02)	8,5	0,72899997	12	4
1 (ILC1929)	2 (Mos 02)	8,75			
2 (ICC3996)	1 (Sba 02)	4			
2 (ICC3996)	2 (Mos 02)	5,5			

ddl, Degré de liberté.

4-Données de regroupements d'essais, interaction : isolat – lignée pour la concentration 10^6 conidies/ml

Lignées	Isolats	Sévérité des symptômes	Résiduelle	ddl	Nombre de blocs
1 (ILC1929)	1 (Sba 02)	8,5	2,06299996	12	4
1 (ILC1929)	2 (Mos 02)	8,75			
2 (ICC3996)	1 (Sba 02)	2,5			
2 (ICC3996)	2 (Mos 02)	6			

ddl, Degré de liberté.

Annexe 09

Notations de la sévérité des symptômes sur les lignées de pois chiche 15 jours après l'inoculation par les isolats de *Ascochyta rabiei*

Lignées	Sévérité des symptômes ^a		
	Sba 02	At 02	Mos 02
ILC 1929	5	7	9
	5	7	7
	5	7	9
	5	7	9
ILC 263	5	7	9
	5	7	9
	7	5	9
	7	5	9
ILC7795	3	7	9
	3	5	9
	3	5	9
	3	5	9
ILC 482	5	5	9
	5	5	9
	5	5	9
	5	5	9
ILC 483	3	5	9
	3	5	7
	3	5	7
	3	5	7
ILC 3279	5	5	5
	5	5	5
	5	5	7
	5	5	3
ILC 8068	5	3	7
	3	3	7
	3	5	5
	5	5	3
Flip 1025	3	5	5
	1	5	5
	3	7	5
	3	7	9

^a : Sévérité de maladie est notée de 1 à 9, selon l'échelle de Reddy et Singh (1984).

(Suite Annexe 09)

Lignées	Sévérité des symptômes ^a		
	Sba 02	At 02	Mos 02
Flip 4107	3	3	3
	3	5	5
	3	5	7
	3	5	5
Flip 93-93C	3	3	9
	3	5	5
	3	3	5
	3	3	5
INRA 199	3	3	9
	5	3	9
	3	5	5
	5	5	3
ICC 3996	3	3	5
	3	3	7
	3	3	9
	3	3	7
Flip 10511	3	3	5
	3	3	5
	3	5	5
	3	3	5

^a : Sévérité de la maladie est notée de 1 à 9, selon l'échelle de Reddy et Singh (1984).

Annexe 10

Données de regroupements d'essais, interaction : Isolat (Pathotype I) –
lignée d'une espèce spontanée

Lignées	Moyennes de Notations	Résiduelle	ddl	Nb Blocs
1 (ILC1929)	6,5			
2 (ILWC4)	3,5			
3 (ILWC43)	3			
4 (ILWC148)	4			
5 (ILWC168)	3			
6 (ILWC256)	4			
7 (ILWC0)	4,5			
8 (ILWC195)	3			
9 (ILWC241)	4,5			
10(ILWC285)	3,5			
11(ILWC286)	3			
12(ILWC37)	3,5			
13(ILWC40)	3,5			
14(ILWC185)	4	0,88499999	78	4
15(ILWC187)	5			
16(ILWC232)	3,5			
17(ILWC00)	4			
18(ILWC180)	5			
19(ILWC181)	6			
20(ILWC235)	3,5			
21(ILWC246)	3,5			
22(ILWC81)	3			
23(ILWC104)	3			
24(ILWC237)	5			
25(ILWC247)	3,5			
26(ILWC290)	5			

Nb : Nombre ; **ddl** : Degré de liberté.

Annexe 11

Données de regroupements d'essais, interaction : Isolat (Pathotype II) – lignée d'une espèce spontanée

Lignées	Moyennes de Notations	Résiduelle	ddl	Nb Blocs
1 (ILC1929)	8,5			
3 (ILWC43)	4			
4 (ILWC148)	5			
5 (ILWC168)	4,5			
6 (ILWC256)	4,5			
7 (ILWC0)	5			
8 (ILWC195)	4,5			
9 (ILWC241)	5			
10(ILWC285)	4,5			
11(ILWC286)	4			
12(ILWC37)	4			
13(ILWC40)	4,5	1,051	78	4
14(ILWC185)	4			
15(ILWC187)	5,5			
16(ILWC232)	4			
17(ILWC00)	4,5			
18(ILWC180)	6			
19(ILWC181)	6,5			
20(ILWC235)	5,5			
21(ILWC246)	4,5			
22(ILWC81)	5			
23(ILWC104)	4			
24(ILWC237)	5,5			
25(ILWC247)	4			
26(ILWC290)	5,5			

Nb : Nombre ; **ddl** : Degré de liberté.

Annexe 12

Données de regroupements d'essais, interaction : Isolat (Pathotype III) – lignée d'une espèce spontanée

Lignées	Moyennes de Notations	Résiduelle	ddl	Nb Blocs
1 (ILC1929)	9			
3 (ILWC43)	4			
4 (ILWC148)	4,5			
5 (ILWC168)	4			
6 (ILWC256)	5,5			
7 (ILWC0)	5			
8 (ILWC195)	3,5			
9 (ILWC241)	5,5			
10(ILWC285)	4,5			
11(ILWC286)	4			
12(ILWC37)	4	1,141	78	4
13(ILWC40)	4			
14(ILWC185)	5			
15(ILWC187)	6			
16(ILWC232)	4,5			
17(ILWC00)	5,5			
18(ILWC180)	6			
19(ILWC181)	8			
20(ILWC235)	6			
21(ILWC246)	4			
22(ILWC81)	3,5			
23(ILWC104)	3,5			
24(ILWC237)	6,5			
25(ILWC247)	4			
26(ILWC290)	6			

Nb : Nombre ; **ddl** : Degré de liberté.

Annexe 13

Analyse de variances de l'essai de screening des lignées des espèces spontanées de *Cicer* aux isolats de *A. rabiei*

1. Interaction : Pathotype I – lignées

	S.C.E	ddl	C.M.	TEST F	P	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	159,962	103	1,553				
VAR.FACTEUR 1	90,962	25	3,638	4,113	0		
VAR.RESIDUELLE 1	69	78	0,885			0,941	23,63%

S.C.E.: Somme carré des écarts, ddl: Degré de liberté, C.M.: Carré moyen, E.T.: Erreur type, C.V.: Coefficient de variation.

2. Interaction : Pathotype II – lignées

	S.C.E	ddl	C.M.	TEST F	P	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	182,615	103	1,773				
VAR.FACTEUR 1	100,615	25	4,025	3,828	0		
VAR.RESIDUELLE 1	82	78	1,051			1,025	20,99%

S.C.E.: Somme carré des écarts, ddl: Degré de liberté, C.M.: Carré moyen, E.T.: Erreur type, C.V.: Coefficient de variation.

3. Interaction : Pathotype III – lignées

	S.C.E	ddl	C.M.	TEST F	P	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	275,962	103	2,679				
VAR.FACTEUR 1	186,962	25	7,478	6,554	0		
VAR.RESIDUELLE 1	89	78	1,141			1,068	21,28%

S.C.E.: Somme carré des écarts, ddl: Degré de liberté, C.M.: Carré moyen, E.T.: Erreur type, C.V.: Coefficient de variation.

Annexe 14

Classement des lignées des espèces spontanées (*Cicer* sp.) en groupes homogènes selon leur réaction au pathotype I

F1	Libellés	Moyennes	Groupes Homogènes		
1.0	ILC1929	6,5	A		
19.0	ILWC181	6	A	B	
15.0	ILWC187	5	A	B	C
18.0	ILWC180	5	A	B	C
24.0	ILWC237	5	A	B	C
26.0	ILWC290	5	A	B	C
9.0	ILWC241	4,5	A	B	C
7.0	ILWC0	4,5	A	B	C
6.0	ILWC256	4		B	C
4.0	ILWC148	4		B	C
14.0	ILWC185	4		B	C
17.0	ILWC00	4		B	C
16.0	ILWC232	3,5			C
12.0	ILWC37	3,5			C
13.0	ILWC40	3,5			C
21.0	ILWC246	3,5			C
25.0	ILWC247	3,5			C
10.0	ILWC285	3,5			C
2.0	ILWC4	3,5			C
20.0	ILWC235	3,5			C
22.0	ILWC81	3			C
5.0	ILWC168	3			C
3.0	ILWC43	3			C
8.0	ILWC195	3			C
23.0	ILWC104	3			C
11.0	ILWC286	3			C

Annexe 15

Classement des lignées des espèces spontanées (*Cicer* sp.) en groupes homogènes selon leur réaction au pathotype II

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	ILC1929	8,5	A	
19.0	ILWC181	6,5		B
18.0	ILWC180	6		B
15.0	ILWC187	5,5		B
24.0	ILWC237	5,5		B
26.0	ILWC290	5,5		B
20.0	ILWC235	5,5		B
7.0	ILWC0	5		B
9.0	ILWC241	5		B
4.0	ILWC148	5		B
22.0	ILWC81	5		B
13.0	ILWC40	4,5		B
21.0	ILWC246	4,5		B
10.0	ILWC285	4,5		B
5.0	ILWC168	4,5		B
6.0	ILWC256	4,5		B
8.0	ILWC195	4,5		B
2.0	ILWC4	4,5		B
17.0	ILWC00	4,5		B
16.0	ILWC232	4		B
14.0	ILWC185	4		B
3.0	ILWC43	4		B
25.0	ILWC247	4		B
23.0	ILWC104	4		B
12.0	ILWC37	4		B
11.0	ILWC286	4		B

Annexe 16

Classement des lignées des espèces spontanées (*Cicer* sp.) en groupes homogènes selon leur réaction au pathotype III

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
1.0	ILC1929	9	A			
19.0	ILWC181	8	A	B		
24.0	ILWC237	6,5		B	C	
18.0	ILWC180	6		B	C	D
15.0	ILWC187	6		B	C	D
26.0	ILWC290	6		B	C	D
20.0	ILWC235	6		B	C	D
9.0	ILWC241	5,5			C	D
6.0	ILWC256	5,5			C	D
17.0	ILWC00	5,5			C	D
14.0	ILWC185	5			C	D
7.0	ILWC0	5			C	D
4.0	ILWC148	4,5			C	D
16.0	ILWC232	4,5			C	D
2.0	ILWC4	4,5			C	D
10.0	ILWC285	4,5			C	D
3.0	ILWC43	4			C	D
13.0	ILWC40	4			C	D
12.0	ILWC37	4			C	D
25.0	ILWC247	4			C	D
5.0	ILWC168	4			C	D
21.0	ILWC246	4			C	D
11.0	ILWC286	4			C	D
22.0	ILWC81	3,5				D
8.0	ILWC195	3,5				D
23.0	ILWC104	3,5				D

Annexe 17

Notations des degrés de sévérité de l'antracnose sur les lignées des espèces spontanées de *Cicer* après 15 jours de l'inoculation par l'isolat

Sba 02 de *Ascochyta rabiei*

Espèces	Lignées	Notations
<i>Cicer arietinum</i>	ILC1929	9
		6
		6
		6
<i>C. judaicum</i>	ILWC4	5
		3
		3
		3
	ILWC43	3
		3
		3
		3
	ILWC148	3
		5
		3
		5
	ILWC168	3
		3
		3
		3
ILWC256	5	
	5	
	3	
	3	

(Suite annexe 17)

Espèces	Lignées	Notations
<i>C. bijugum</i>	ILWC0	5
		3
		5
		5
	ILWC195	3
		3
		3
		3
	ILWC241	3
		5
		5
		5
	ILWC285	3
		3
		5
		3
ILWC286	3	
	3	
	3	
	3	
<i>C. cuneatum</i>	ILWC37	5
		3
		3
		3
	ILWC40	5
		3
		3
		3
	ILWC185	5
		3
		5
		3
	ILWC187	5
		5
		5
		5
ILWC232	5	
	3	
	3	
	3	

(Suite annexe 17)

Espèces	Lignées	Notations
<i>C. echinospermum</i>	ILWC0	5
		5
		3
		3
	ILWC180	5
		5
		5
		5
	ILWC181	7
		7
		5
		5
	ILWC235	3
		3
		3
5		
ILWC246	3	
	5	
	3	
	3	
<i>C. reticulatum</i>	ILWC81	3
		3
		3
		3
	ILWC104	3
		3
		3
		3
	ILWC237	5
		5
		5
		5
	ILWC247	5
		3
		3
3		
ILWC290	5	
	5	
	5	
	5	
	5	

Annexe 18

Notations des degrés de sévérité de l'antracnose sur les lignées des espèces spontanées de *Cicer* après 15 jours de l'inoculation par l'isolat

At 02 de *Ascochyta rabiei*

Espèces	Lignées	Notations
<i>Cicer arietinum</i>	ILC1929	9
		9
		7
		9
<i>C. judaicum</i>	ILWC4	5
		5
		5
		3
	ILWC43	5
		5
		3
		3
	ILWC148	5
		5
		5
		5
	ILWC168	5
		5
		5
		3
ILWC256	5	
	5	
	5	
	3	

(Suite annexe 18)

Espèces spontanées	Lignées	Notations
<i>C. bijugum</i>	ILWC0	5
		5
		5
		5
	ILWC195	3
		5
		3
	ILWC241	5
		5
		5
		5
	ILWC285	5
		5
		5
		3
	ILWC286	3
3		
5		
5		
<i>C. cuneatum</i>	ILWC37	5
		5
		3
		3
	ILWC40	5
		5
		5
		3
	ILWC185	5
		5
		5
		3
	ILWC187	5
		5
		7
		5
ILWC232	5	
	5	
	3	
	3	

(Suite annexe 18)

Espèces	Lignées	Notations
<i>C. echinospermum</i>	ILWC0	5
		5
		5
		3
	ILWC180	5
		5
		7
		7
	ILWC181	7
		7
		7
		5
	ILWC235	3
		3
		3
5		
ILWC246	7	
	5	
	5	
	5	
<i>C. reticulatum</i>	ILWC81	5
		5
		5
		5
	ILWC104	5
		3
		5
		3
	ILWC237	5
		7
		5
		5
	ILWC247	5
		3
		5
3		
ILWC290	5	
	7	
	5	
	7	
	5	

Annexe 19

Notations des degrés de sévérité de l'antracnose sur les lignées des espèces spontanées de *Cicer* après 15 jours de l'inoculation par l'isolat

Mos 02 de *Ascochyta rabiei*

Espèces	Lignées	Notations
<i>Cicer arietinum</i>	ILC1929	9
		9
		9
		9
<i>C. judaicum</i>	ILWC4	5
		3
		5
		3
	ILWC43	3
		5
		3
		5
	ILWC148	5
		5
		3
		5
	ILWC168	3
		5
		3
		5
	ILWC256	5
		5
		5
		7

(Suite annexe 19)

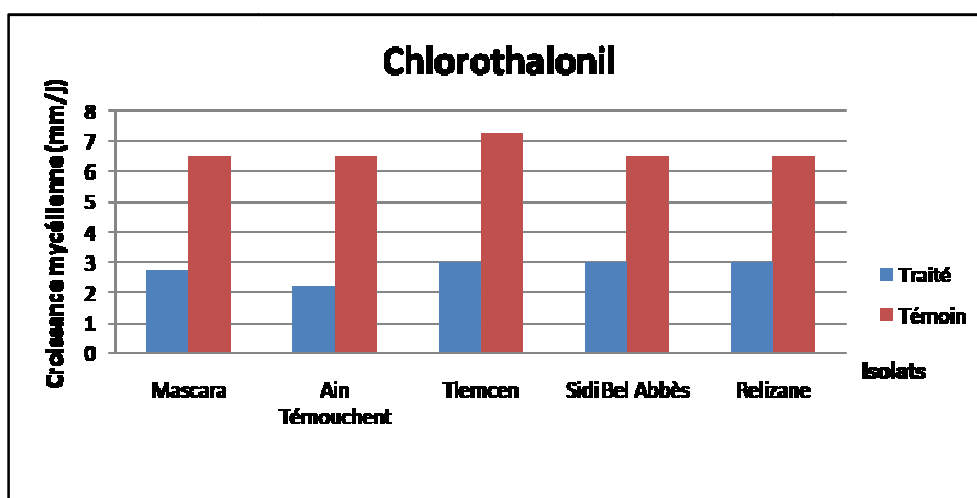
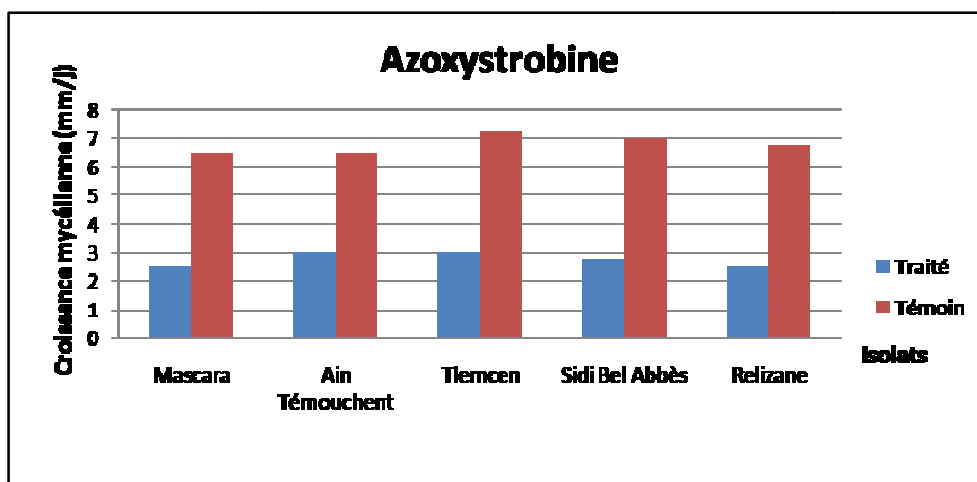
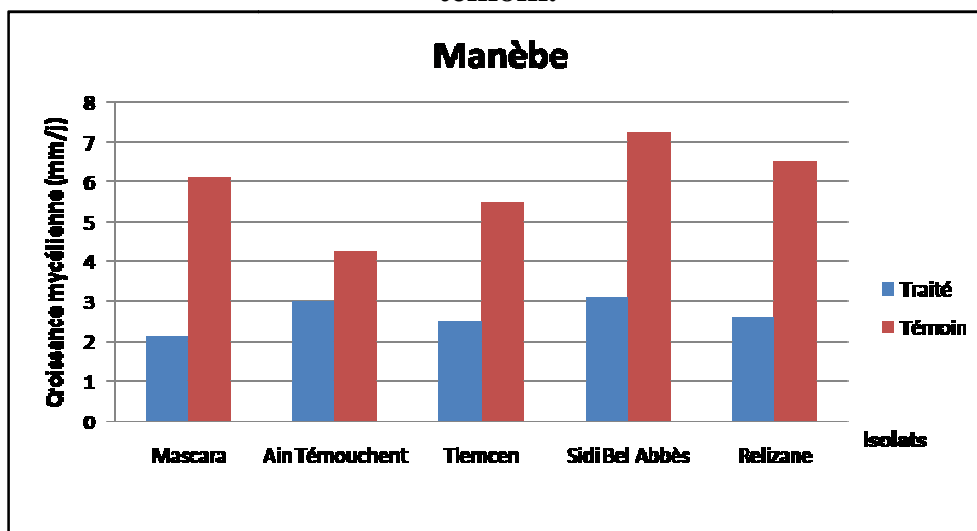
Espèces	Lignées	Notations
<i>C. bijugum</i>	ILWC0	5
		5
		5
		5
	ILWC195	3
		3
		5
		3
	ILWC241	5
		5
		7
		5
	ILWC285	3
		3
		7
		5
ILWC286	3	
	5	
	3	
	5	
<i>C. cuneatum</i>	ILWC37	3
		5
		3
		5
	ILWC40	5
		5
		3
		3
	ILWC185	5
		5
		5
		5
	ILWC187	5
		7
		5
		7
ILWC232	5	
	5	
	5	
	3	

(Suite annexe 19)

Espèces	Lignées	Notations
<i>C. echinospermum</i>	ILWC0	5
		5
		5
		7
	ILWC180	5
		7
		5
		7
	ILWC181	7
		7
		9
		9
	ILWC235	7
		7
5		
5		
ILWC246	3	
	5	
	3	
	5	
	5	
<i>C. reticulatum</i>	ILWC81	3
		5
		3
		3
	ILWC104	3
		5
		3
		3
	ILWC237	7
		7
		7
		5
	ILWC247	5
		5
		3
		3
	ILWC290	5
5		
7		
7		

Annexe 20

Graphes des moyennes de croissances mycéliennes des isolats de *Ascochyta rabiei* sous l'effet de 3 fongicides de synthèse par rapport au témoin.



Annexe 21

Croissances mycéliennes des isolats de *Ascochyta rabiei* traités et témoin (mm/jour)

Isolats (régions)	Fongicides					
	Manèbe		Azoxystrobine		Chlorothalonil	
	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin
Mascara	3	5.5	3	6	3	6
	2.5	6	3	6	3	7
	2	7	2	7	3	6
	1	6	2	7	2	7
Ain Témouchent	3	4	3	6	2	6
	3	4	3	6	2	7
	4	5	3	7	3	6
	2	4	3	7	2	7
Tlemcen	2	5	3	7	2	7
	3	5	3	7	2	7
	2	6	3	8	2	7
	3	5	3	7	2	7
Sidi Bel Abbès	2.5	7	3	7	3	7
	3	7	3	7	3	7
	3	8	3	7	3	6
	4	7	2	7	3	6
Relizane	2.5	7	3	7	3	7
	2.5	7	3	7	3	7
	2.5	6	2	7	3	6
	3	6	2	6	3	6