

République Algérienne Démocratique et Populaire

#

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Agronomiques

Mémoire en vue de l'Obtention de Diplôme de Master

Option : Protection des cultures

Thème

**Effet *in vitro* de *Trichoderma harzianum* et de champignons endophytes isolés de *Cicer arietinum* sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei***

Présenté par: Melle MAHIEDDINE Houaria et Melle OTSMANE Lalia

Devant le jury:

Mr. GHOULAMALLAH A.	Président	MCB. U .Mostaganem
Mr. YUCEF BENKADA M.	Encadreur	Pr. U.Mostaganem
Mme. SAIAH .F	Examinatrice	MCB. U.Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire de Protection des Végétaux

Année universitaire : 2018/2019

## *Remerciements*

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu Le Tout Puissant pour nous avoir donné le courage, la force et la volonté pour réaliser ce travail. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti.*

*Avant de présenter ce travail, nous tenons à remercier tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à sa réalisation :*

*Nos remerciements vont tout d'abord à Monsieur **YOUCEF BENKADA MOKHTAR** professeur à l'université de Mostaganem, pour avoir accepté de diriger ce travail. Qu'il trouve ici, l'expression de notre profonde reconnaissance, notre immense gratitude et notre grand respect, pour tous ses efforts, son savoir, ses idées et ses encouragements.*

*Un remerciement spécial à Monsieur **MAHOUT DJAMEL**, Maître de conférences à l'université de Mostaganem qui nous a porté son aide et ses conseils pour finaliser ce travail*

*A monsieur **GHOULLAMALLAH amine** Maître de conférences A à l'Université de Mostaganem pour l'honneur d'avoir accepté de présider ce travail.*

*À Madame **SAIAH Farida**, Maître de conférences B à l'université de Mostaganem, pour l'honneur d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements à Monsieur **BENDAHMANE boubekeur seddik**, professeur à l'université de Mostaganem pour son aide et ses conseils à la réalisation de ce travail*

*Nos remerciements à Mr **ABDELMOUMEN Djilali** Maître de conférences A à l'université de Mostaganem pour son aide et ses conseils apportés notamment pour l'étude statistique.*

*Nos remerciements s'adressent également à Mme **BADAOU Ikrām**.*

*Enfin un grand remerciement à tous nos enseignants du département agronomie pour leur contribution à la réalisation de notre cursus universitaire.*

## *Dédicace*

*Nous avons le grand honneur de Didier ce travail :*

*A la mémoire de mon père*

*A ma très chère mère pour le soutien qu'elle m'a fourni abondamment*

*Je le souhaite une vie longue prospère*

*A ma 2ème famille qui ont été toujours là pour moi, tonton Djilali, ma tante Halima que dieu le garde en bonne santé*

*A ma chère sœur Wahiba,  
n'oublie jamais tous l'amour que  
j'ai pour toi, tu es ma meilleure  
amie, tu restas dans mon  
cœur.*

*A mes chères sœurs*

*A mes chers frères*

*A mes copines Rania, Fatima,  
Alia Riheb et Rym, mes collègues  
pour leur Fidél soutien pendant  
les années d'étude et pour les  
excellents souvenirs.*

*A tous ma famille*

*A tous ceux qui nous ont  
conseillés encadrés, encouragés,  
orientés pour parfaire et améliorer  
mes connaissances*

*Je remercie ma copine Satia pour  
sa disponibilité constante*

*A tous les collègues de la  
spécialité protection des cultures.*



*Houaria.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à mes parents qui m'ont accompagnée et soutenue tout au long de mon parcours universitaire que dieu les protège.*

*A mes chères et mes frères.*

*Une spéciale dédicace à mes intimes : Satia , Rania , Houwaria , Akila.*

*Tous mes collègues de la spécialité protection des cultures.*

*J'espère que je serais pardonné par celles et ceux que j'ai oublié de citer.*

***Lalia***



# Table des matières

*Résumé*

*Listes des figures*

*Liste des tableaux*

*Abréviation*

*Introduction*..... 1

## *PARTIE 01 : Revue bibliographique*

### *Chapitre 1 : Généralité sur pois chiche*

1. Généralités sur le pois chiche ( <i>Cicer arietinum</i> L.) .....	3
1.1. Origine et distribution géographique.....	3
1.2. Situation de la culture du pois chiche.....	4
1.2.1. Dans le monde .....	4
1.2.2. En Algérie.....	5
1.2.2.1. Evolution des superficies, production et rendement.....	5
1.2.2.2. Principales zones de culture.....	6
1.3. Caractères taxonomique et morphologiques de la plante .....	8
1.3.1. Taxonomie .....	8
1.3.2. Morphologie.....	8

3.3. Types de pois chiche.....	10
1.3.3.1. Le type Kabuli.....	11
1.3. 4. Les espèces de pois chiche.....	11
1.4. Valeur nutritionnelle et énergétique.....	12
1.5. Importance agronomique.....	13
1.6. Cycle de culture et exigences édaphique et climatique.....	13
1.6-1- Cycle de culture.....	13
1.6.2. Exigence édaphique et climatique de la culture.....	14
1 ;7. Conduite de la culture de pois chiche.....	15
1.7.1. Choix de la parcelle.....	15
7.2. Implantation.....	15
7.3. Date et conditions de semis.....	16
7.4. Fertilisation.....	16
1.7. 5. Désherbage.....	16
1. 8. Exigence écologiques du pois chiche.....	17
1.8. 1. Exigences climatiques.....	17
1.8.1.1. Température.....	17
1 .8.1.2. Pluviométrie.....	17
1.8.1.3. Lumière.....	17
1.8.2. Exigences édaphiques et nutritionnelles.....	18
1.9. Les maladies et ennemis du pois chiche.....	18
1.9. 1. Les maladies virales.....	19
1.9. 2. Les maladies bactériennes.....	19
1. 9. 3. Les maladies fongiques.....	19
1.9. 4. Les ravageurs et les nématodes.....	21
1.9. 5. Les mauvaises herbes.....	21

## *Chapitre 2 : L'anthraxose du pois chiche*

2.1. Répartition géographique et importance économique de la maladie .....	22
--	----

2.2. Taxonomie et reproduction de l'agent pathogène.....	23
2.2.1. Taxonomie et caractéristiques de <i>Ascochyta rabiei</i> .....	23
2.2.2. La reproduction.....	25
2.2.2.1. La reproduction sexuée.....	25
2.2.2.2. La reproduction asexuée.....	25
2.3. Symptomatologie de la maladie.....	26
2.4. Biologie et épidémiologie du pathogène.....	27
2.4.1. Survie du pathogène.....	27
2.4.2. Epidémiologie du pathogène.....	28
2.5. Pathogénicité.....	30
2.5.1. Histopathologie.....	30
2.5.2. Les pathotoxines et les enzymes impliquées dans l'infection.....	30
2.5.3. Variabilité du pouvoir pathogène.....	30
2.6. Le polymorphisme génomique.....	31
2.6.1. Polymorphisme de séquence.....	31
2.6.2. Polymorphisme de nombre d'unités de répétition.....	32
2.7. Méthodes de lutte contre l'anthracnose.....	32
2.7.1. Lutte culturale.....	32
2.7.2. Lutte chimique.....	33
2.7.3. Lutte biologique.....	33
2.7.4. Lutte génétique.....	34

### *Chapitre 3 : lutte biologique*

3.1. Généralité sur la lutte biologique.....	36
3.2. L'intérêt de la lutte biologique.....	36
3.3. Types de lutte biologique .....	37
3.4. Principaux organismes utilisés en lutte biologique.....	38
3.5. Présentation du <i>Trichoderma</i> .....	41
3.5.1. Généralité.....	42
3.5.2. Taxonomie.....	42
3.5.3. Mécanisme d'action du <i>Trichoderma</i> .....	42
3.5.3.1. Action antibiose.....	42
3.5.3.2. Action par mycoparasitisme.....	42
3.5.3.3. Compétition.....	42
3.5.3.4. Elicitation .....	43
3.6. Les champignons endophytes .....	43
I.6. 2. Rôles des champignons endophytes.....	43

# *PARTIE 02 : Etude expérimentale*

## *Chapitre 1 : Matériels et méthodes*

1.1. Objectif .....	44
1.2. Matériel et méthodes .....	44
1.2.1. Matériel fongique.....	44
1.2.1.1. Agent pathogène.....	44
1.2.1.2. Les antagonistes.....	44
1.2.3. Milieu de culture.....	45
1.2.4. Technique d'isolement et purification d' <i>Ascochyta rabiei</i> .....	45
1.2.5. L'obtention des cultures monospores.....	46
1.2.6. Technique d'évaluation de la croissance mycélienne.....	46
1.2.6.1. Caractérisation cultural.....	46
1.2.6.2. Caractérisation morphologique.....	46
1.2.5.3. Caractérisation macroscopique.....	47
1.2.6.4. Caractérisation microscopique.....	47
1.2.6.5. Evaluation de la sporulation .....	47
1.3. Etude « <i>in vitro</i> » de confrontation des antagonistes avec <i>Ascochyta rabiei</i> .....	47
1.3.1. Méthode de confrontation directe.....	47
1.3.2. Méthode de confrontation indirecte .....	48
1.4. Etude statistique.....	49

## *Chapitre 2 : Résultats et discussions*

### **2.1. Résultats**

2.1.1. Isolement et identification des champignons à partir du végétal.....	50
2.1.2. Isolement et identification des champignons antagonistes.....	51
2.1.2.1. Endophyte 1.....	52
2.1.2.2. Endophyte 2.....	53
2.1.3. Résultats d'antagonistes.....	54
2.1.3.1. <i>Ascochyta rabiei</i> et <i>Trichoderma harzianum</i> .....	54
2.1.3.1.1. Confrontation direct.....	54
2.1.3.1.2. Confrontation indirect.....	56
2.1.3.2. <i>Ascochyta</i> et les endophytes .....	57
2.1.3.2.1. Confrontation direct.....	57

<b>2.1.3.2.2. Confrontation indirect</b> .....	59
<b>2.1.3.2.2.1. <i>Ascochyta</i> et endophyte 1</b> .....	59
<b>2.1.3.2.2.2. <i>Ascochyta</i> et <i>Alternaria</i></b> .....	59
<b>2.2. Discussions</b> .....	61
<b><i>CONCLUSION</i></b> .....	62
<b><i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE</i></b> .....	65
<b><i>ANNEXES</i></b> .....	66

# Résumé

De part son importance économique et nutritionnelle, le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est considéré comme une plante stratégique qu'il faudra développer notamment en Algérie.

Cependant, plusieurs facteurs peuvent poser des problèmes à son extension à l'instar des maladies fongiques qui affectent cette culture parmi lesquels, l'anthracnose causée par *Ascochyta rabiei* qui est à l'origine de pertes de rendements considérables.

La présente étude évalue l'efficacité 'antagoniste de *Trichoderma harzianum* et de deux isolats fongiques endophytes sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei*.

Dix-huit (18) isolats de *A. rabiei* collectés dans différentes régions du Nord-ouest algérien, permet quatre (4) sont retenus pour une confrontation *in vitro* , avec les trois l'antagonistes.

Un effet inhibiteur hautement significatif est observé sur la croissance mycélienne pour les deux tests effectués (confrontation directe avec le phytopathogène et à distance avec les substances volatiles émises par l'antagoniste)

**Mots clés** : Lutte biologique, antagonistes, croissance mycélienne, pois chiche, *Ascochyta rabiei*.

## **summary**

Due to its economic and nutritional importance, chickpea (*Cicer arietinum* L.) is considered as a strategic plant which will have to be developed especially in Algeria.

However, several factors may be problematic in its spread, as are the fungal diseases that affect this crop, among which, anthracnose caused by *Ascochyta rabiei*, which causes considerable yield losses.

The present study evaluates the efficacy antagonist of *Trichoderma Harzianum* and two endophytic fungal isolates on the mycelial growth of *Ascochyta rabiei*.

18 isolates of *A. rabiei* collected in different regions of northwestern Algeria, are confronted *in vitro* with the antagonist. A highly significant inhibitory effect is observed on the mycelial growth for the two tests carried out (direct confrontation with the phytopathogen and at a distance with the volatile substances emitted by the antagonist)

**Key words**: Biological control, antagonists, mycelial growth, chickpea, *Ascochyta rabiei*.

## *Listes des figures*

- **Figure 1** : Dissémination du pois chiche à travers l’Ancien Monde, de la plante annuelle D’hiver (*C. reticulatum*, pro géniteur sauvage) .....2
- **Figure 2** : Evolution de la production de pois chiche dans le monde.....3
- **Figure 3** : Evolution des superficies emblavées, de la production et du rendement du pois Chiche en Algérie.....5
- **Figure 4** : La morphologie du pois chiche (*Cicer arietinum*, L) .....9
- **Figure 5** : type de pois chiches .....9
- **Figure 6** : Fructifications sexuelles de *Didymella rabiei* .....24
- **Figure 7** : Monture humide de structures fructifères provenant de résidus de pois chiches infectés et hivernés.....25
- **Figure 8** : Dégâts de l’antracnose de pois chiche.....25
- **Figure 9** : Symptômes d’antracnose .....26
- **Figure 10** : Cycle épidémique de l'antracnose du pois chiche.....28
- **Figure 11** : Organes de pois chiche. (tige et gousse ) nécrosés .....44
- **Figure 12** : Technique de la confrontation directe sur milieu solide *in vitro*.....47
- **Figure 13** : Présentation schématique de la confrontation indirecte.....48
- **Figure 14** : Aspects cultureux des isolats de *Ascochyta rabiei* sur milieu de culture CDA.....49
- **Figure 15**: Exemple de conidies de *Ascochyta rabiei* .....50
- **Figure 16** : Aspect cultureux des isolats d’endophyte sur milieu de culture PDA.....51
- **Figure 17** : Observation microscopique des Conidies.....52
- **Figure 18** : Aspect cultureux des isolats endophytes sur milieu de culture PDA.....52
- **Figure 19** : Observations microscopique des champignons endophytes.....53
- **Figure 20** : Effet inhibiteur d’antagoniste sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* par une confrontation directe.....53
- **Figure 21** : La croissance mycélienne de 4 isolats de *Ascochyta rabiei* en présence de *Trichoderma harzianum* (confrontation directe).....54
- **Figure 22**: Effet inhibiteur d’antagoniste sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* (confrontation indirect).....55

- **Figure 23:** La croissance mycélienne de 4 isolats d'*Ascochyta rabiei* en présence de *Trichoderma harzianum* (confrontation indirect).....56
- **Figure 24:** Effet inhibiteur d'antagoniste sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* par une confrontation directe.....57
- **Figure 25:** La croissance mycélienne de 2 isolats de *Ascochyta rabiei* en présence des champignons endophytes (confrontation directe).....58
- **Figure 26 :** Effet inhibiteur d'antagoniste sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* (confrontation indirecte).....58
- **Figure 27:** Effet inhibiteur d'antagoniste sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* par une confrontation indirecte.....59
- **Figure 28 :** La croissance mycélienne de 2 isolats de *Ascochyta rabiei* en présence des endophytes ((confrontation indirect).....59

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b> : Principaux pays producteurs de pois chiche dans le monde. ....	4
<b>Tableau 2</b> : Principales zones de culture de pois chiche en Algérie.....	6
<b>Tableau 3</b> : Composition organique et minérale du pois chiche.....	11
<b>Tableau 4</b> : Durées des stades de développement phénologiques d'une culture de pois chiche de printemps.....	13
<b>Tableau 5</b> : Principales maladies fongiques du pois chiche dans le monde .....	19
<b>Tableau 6</b> : Pertes quantitatives de rendement causées par <i>Ascochyta rabiei</i> dans certains pays.....	22
<b>Tableau 7</b> : présentation des isolats utilisés dans les tests antagonistes.....	43

## *Abréviations*

- °C: degré Celsius
- µg : microgramme
- FAO: Food Organization Agricultural
- ha : hectare
- L : croissance mycélienne
- Qx : Quintaux
- t : tonne
- f. sp. : forme spéciale
- ICARDA: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas; Aleppo; Syria.
- ICRISAT: International Crops Research For The Semi-Arid Tropics; Hyderabad; India.
- PDA : Milieu Potato Dextrose Agar
- CDA: Chickpea Seed-Meal Dextrose Agar

## **Résumé**

De part son importance économique et nutritionnelle, le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est considéré comme une plante stratégique qu'il faudra développer notamment en Algérie.

Cependant, plusieurs facteurs peuvent poser des problèmes à son extension à l'instar des maladies fongiques qui affectent cette culture parmi lesquels, l'anthracnose causée par *Ascochyta rabiei* qui est à l'origine de pertes de rendements considérables.

La présente étude évalue l'efficacité 'antagoniste de *Trichoderma harzianum* et de deux isolats fongiques endophytes sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei*.

Dix-huit (18) isolats de *A. rabiei* collectés dans différentes régions du Nord-ouest algérien, permet quatre (4) sont retenus pour une confrontation *in vitro*, avec les trois l'antagonistes.

Un effet inhibiteur hautement significatif est observé sur la croissance mycélienne pour les deux tests effectués (confrontation directe avec le phytopathogène et à distance avec les substances volatiles émises par l'antagoniste)

**Mots clés** : Lutte biologique, antagonistes, croissance mycélienne, pois chiche, *Ascochyta rabiei*.

## **summary**

Due to its economic and nutritional importance, chickpea (*Cicer arietinum* L.) is considered as a strategic plant which will have to be developed especially in Algeria.

However, several factors may be problematic in its spread, as are the fungal diseases that affect this crop, among which, anthracnose caused by *Ascochyta rabiei*, which causes considerable yield losses.

The present study evaluates the efficacy antagonist of *Trichoderma Harzianum* and two endophytic fungal isolates on the mycelial growth of *Ascochyta rabiei*.

18 isolates of *A. rabiei* collected in different regions of northwestern Algeria, are confronted *in vitro* with the antagonist. A highly significant inhibitory effect is observed on the mycelial growth for the two tests carried out (direct confrontation with the phytopathogen and at a distance with the volatile substances emitted by the antagonist)

**Key words**: Biological control, antagonists, mycelial growth, chickpea, *Ascochyta rabiei*.

## INTRODUCTION GENERALE

Les légumineuses alimentaires représentent, de par la superficie qu'elles occupent, une place importante dans le système agraire et l'agroéconomie de nombreux pays du monde.

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est considéré parmi les aliments de base des Algériens, il peut être consommé de plusieurs façons, en graines il fournit au consommateur une source importante de protéines. Sa paille est également utilisée dans l'alimentation et l'engraissement des animaux (Jukanti *et al.* 2012).

En Algérie, le pois chiche est cultivé dans plusieurs zones agro écologiques (Zine-Zikara *et al.*, 2015). Durant la période 2010-2014 la superficie moyenne occupée est d'environ 29287, 2 hectares avec une production moyenne qui atteint les 290 600 quintaux (MADR, 2015).

Les données de prospections réalisées sur les zones de culture du pois chiche en Algérie montrent la présence et l'extension de l'antracnose provoquée par *Ascochyta rabiei* avec des dégâts importants. Bouznad *et al.* (1996), Mabsoute *et al.* (1996) signalent qu'en Algérie et dans les autres pays du Maghreb, l'antracnose constitue une contrainte majeure à la culture de pois chiche.

Tout programme de lutte contre l'antracnose et tout programme d'introduction de nouveaux cultivars en Algérie doit s'appuyer sur une bonne connaissance de la variabilité morphologique, pathogénique et la diversité génétique des populations de l'agent pathogène.

Différentes méthodes de lutte peuvent être envisagées contre cette maladie, la lutte culturale, la lutte chimique, la lutte génétique et la lutte biologique. Cette dernière représente une alternative intéressante pour une bonne protection des cultures de pois chiche tout en respectant l'environnement écologique.

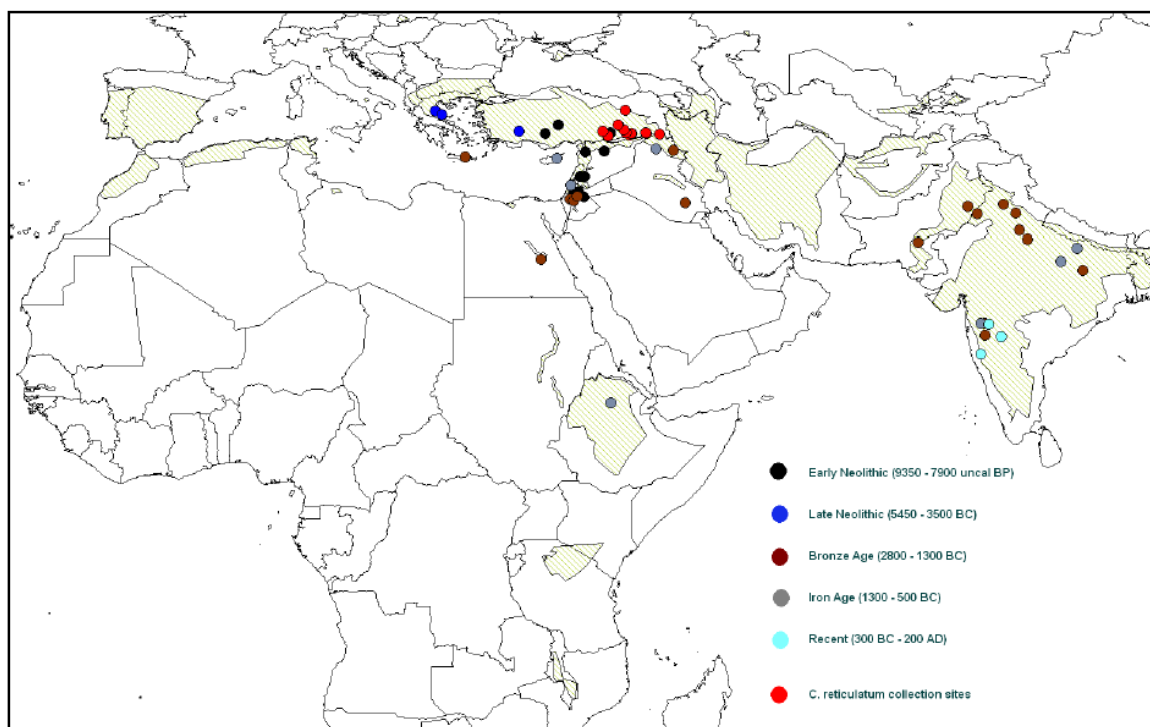
Dans ce cadre, l'objectif de notre travail consiste à évaluer les effets *in vitro* de deux isolats de *Trichoderma harzianum* et deux champignons endophytes isolés sur la plante hôte sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* agent responsable de l'antracnose de pois chiche.

**Chapitre 1. Généralités sur le pois chiche (*Cicer arietinum* L.)****1.1. Origine et distribution géographique**

Le pois chiche cultivé, *Cicer arietinum* L. est parmi les premières légumineuses à graines domestiquées par l'homme depuis l'antiquité (Van der Maesen, 1987)

Le pois chiche est probablement originaire des régions de l'est de la Méditerranée, notamment, la Palestine actuelle et la Syrie. La Turquie est considérée comme le centre d'origine du pois chiche, car c'est dans ce pays que son ancêtre présumé a été signalé.

Apparu en Ethiopie à l'âge du fer, le pois chiche a consolidé sa distribution dans le sud et l'ouest de l'Asie, ces deux régions dominant encore aujourd'hui la production mondiale. (Fig.1).

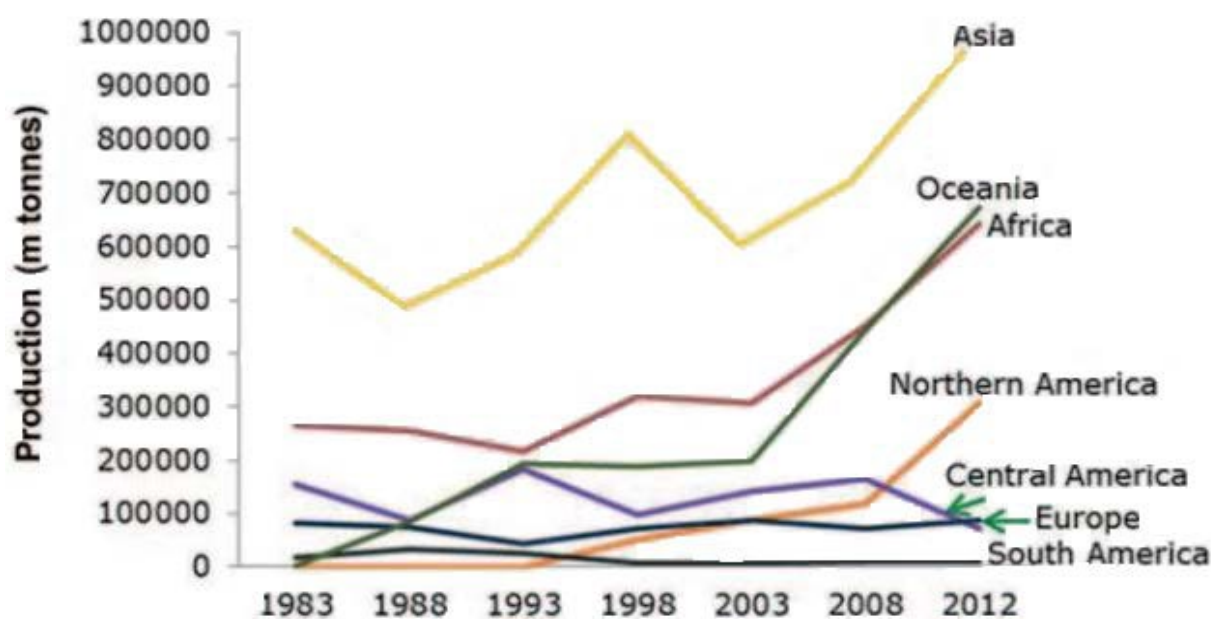


**Figure 1:** Dissémination du pois chiche à travers l'Ancien Monde, de la plante annuelle D'hiver (*C. reticulatum*, pro géniteur sauvage) étroitement répartie en méditerranée, aux Cultures répandues (zones hachurées). (Berger, 2014).

## 1.2. Situation de la culture du pois chiche

### 1.2.1. Dans le monde

Le pois chiche est cultivé dans les 5 continents et dans plus de 50 pays (FAO, 2015). Plus de 90% des superficies sont situées dans les pays développés. Le continent asiatique (sud et sud-est) détient 9% de la production mondiale (Gaur *et al.*, 2012 ; Millán *et al.*, 2015) (Fig.2). Les rendements de cette culture dépendent de l'importance des attaques parasitaires et des conditions climatiques, notamment le volume des pluies. La sécheresse est le principal facteur limitant le rendement. La valeur des pertes causées annuellement par cette dernière est estimée à 1,2 milliards de dollars dans le monde (Houasli *et al.* 2014). Pendant les vingt dernières années, le pois chiche a été classé troisième légumineuse à grains la plus cultivée dans le monde, après le haricot sec et le petit pois (FAO, 2015).



**Figure 2** : Evolution de la production de pois chiche dans le monde (Millán *et al.* 2015).

Les plus grands pays producteurs de cette espèce sont : l'Inde, l'Australie, le Myanmar (Ex. Birmanie), l'Éthiopie, la Turquie, l'Iran, le Mexique, les États Unis d'Amérique et le Canada (Tab.1). L'Inde produit les 2/3 de la production mondiale. Il est le premier pays producteur, mais il en est aussi le plus gros importateur (Fabre, 2008; Ghosh *et al.*, 2013 FAO, 2015) Les plus grands pays exportateurs sont: l'Australie, l'Inde, le Mexique, l'Argentine, l'Éthiopie, le Canada, les États-Unis d'Amérique, la République-Unie de Tanzanie, les Émirats arabes unis

et la Turquie, alors que les principaux pays importateurs sont l'Inde, le Bangladesh, l'Espagne, l'Algérie, les Émirats arabes unis, l'Espagne et le Pakistan (FAO, 2015). Par ailleurs, le Canada exporte plus de la moitié de sa production et vise le marché indien et européen (55 % de la récolte type Desi, 45 % de type Kabuli), alors que la Turquie est un grand exportateur et produit essentiellement des grains de type Kabuli (Fabre, 2008). La production mondiale est composée à 85 % du type Desi et à 25 % du type Kabuli. Les pays du sous-continent indien et l'Australie produisent surtout le type Desi, alors que le reste des pays produisent le type Kabuli (Fabre, 2008).

**Tableau 1:** Principaux pays producteurs de pois chiche dans le monde, campagne 2014 (FAO, 2016).

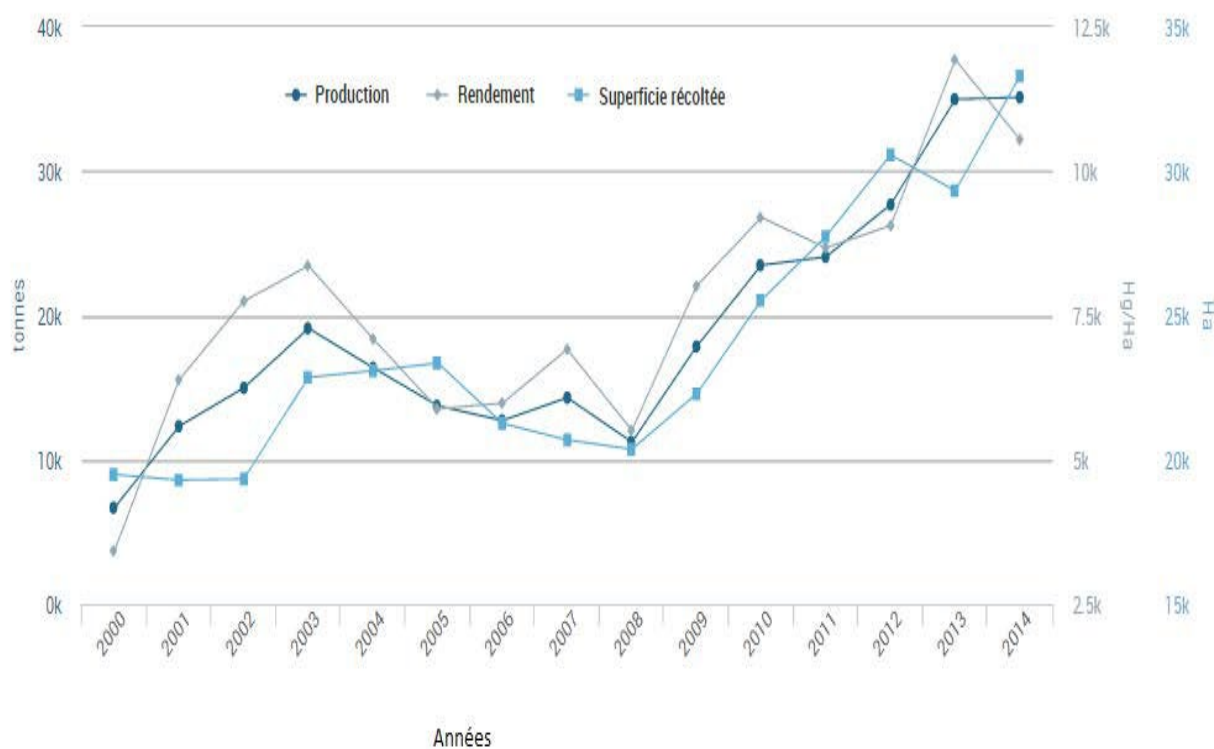
Pays	Superficie (ha)	Production (tonnes)	Rendement (qx/ha)
Inde	9 927 000	9 880 000	9,953
Australie	507 800	629 400	12,395
Myanmar	384 212	562 163	14,631
Ethiopie	239 755	458 682	19,131
Turquie	388 169	450 000	11,593
Pakistan	949 513	399 030	4,202
Iraq	594 489	261 616	4,401
Mexique	106 434	171 665	16,129
Uta unis d'Amérique	85 834	127 369	14,839
canada	66 000	123 000	18,636

## 1.2.2. En Algérie

### 1.2.2.1. Evolution des superficies, production et rendement

En Algérie, le pois chiche constitue la seconde légumineuse cultivée après la fève (*Vicia faba* L.) (Abdelguerfi et al., 2001). La superficie du pois chiche a augmenté durant la période 1961- 1990. Par la suite, elle présente une régression constante passant de 47 061 durant la période 1981-1990 à 21 799 ha durant la période 2001-2010. Les productions fluctuent d'une décennie à l'autre. Les productions les plus importantes ont été observées durant la décennie

1991-2000, avec une production en 1992 de 261 320 qx. La production de l'année 2010 a atteint 234 737 qx. Les rendements sont très variables d'une décennie à l'autre. Ils varient en moyenne de 3 à 7 qx/ha (Zine-Zikara et *al.*, 2015). La production de pois chiche en Algérie a commencé à présenter une hausse importante après 2008, année durant laquelle on enregistre les chiffres les plus bas depuis le début du 21<sup>ème</sup> (Fig. 3). En 2013, nous remarquons une légère baisse des superficies emblavées mais ceci est resté sans répercussion sur la production qui n'a pas cessé d'augmenter. En 2014, les superficies consacrées au pois chiche sont plus importantes, ce qui donne lieu à une meilleure production (35 118 tonnes en 2014 contre 34 980 tonnes en 2013), cependant le rendement à l'hectare est plus faible (10, 54qx/ha contre 11, 93qx/ha).



**Figure 3:** Evolution des superficies emblavées, de la production et du rendement du pois Chiche en Algérie ; entre 2000 et 2014 (FAO, 2015).

La hausse de la production enregistrée ces dernières années peut être attribuée à l'extension des terres réservées aux légumineuses, atteignant durant la saison 2013-2014 une Superficie de plus de 33 295 hectares, ainsi qu'à l'adhésion des agriculteurs au programme National de développement des filières légumineuses. Les fellahs adhérant à la production de Pois chiche bénéficient d'un soutien du Fonds National de Régulation Agricole et de développement Rural, de l'ordre de 7.000 DA/q pour l'acquisition des semences.

Au cours des 30 dernières années, le rendement est passé de 2,62 qx/ha à 9,36 qx/ha, mais cela reste trop faible par rapport aux besoins de la population. L'Algérie importe plus de 200% de sa production (66 000 tonnes) (Madrid *et al.*, 2015).

### 1. 2.2.2. Principales zones de culture

La région nord de l'Algérie englobe la majorité des superficies cultivées en légumineuses alimentaires, avec plus de 52,83 % pour la région nord-ouest) (Zine-Zikara *et al.*, 2015). Le pois chiche est cultivé dans les zones de culture de blé dur c'est-à-dire les terres fertiles où la moyenne pluviométrique est supérieure à 400 mm et où le sol est profond avec une rétention hydrique importante (Tab. 2). La culture de printemps est surtout localisée au nord-ouest du pays (Tlemcen, Aïn Temouchent, Sidi Bel Abbes) au nord-est (Skikda, Guelma, Mila) et au centre (Chlef, Tipaza, Tizi-ouzou, Bouira). Aïn Temouchent et Tissemsilt sont les régions les plus productives (FAO, 2016).

**Tableau 2** : Principales zones de culture de pois chiche en Algérie (Anonyme, 1988).

Zones	Pluviométrie moyenne (mm/an P-1P)	Localisation
Plaines littorales et sub-littorales	$P > 600$	Alger, Guelma, Annaba et Skikda.
Plaines d'altitude de 700 à 900 m	$500 < P < 600$	Saida, Tiaret, Médéa Guelma, Bordj Bou Arreridj, Setif et le nord des Aures.
Hautes plaines telliennes	$400 < P < 500$	Tlemcen, Aïn Temouchent, chlef, Relizane, Mila, Sidi BelAbbes, Bouira et Tizi-ouzou.

Les wilayat qui totalisent plus 90 % de la superficie cultivée en pois chiche en Algérie sont respectivement : Aïn Temouchent (23,98 %), Tlemcen (20,48 %), Mascara (12,54 %), Mostaganem (8,81 %), Chlef (6,48 %), Sidi Bel Abbes (5,42 %), Skikda (4,11 %), Guelma (3,94 %), Aïn Defla (2,57 %), Médéa (1,79 %) et Relizane (1,29 %) (Zine-Zikara *et al.*, 2015)

### 1.3. Caractères taxonomique et morphologiques de la plante :

#### 1.3.1. Taxonomie

Sur le plan taxinomique, la classification du pois chiche ce présente comme suit: (Yadav et *al.* 2007, Moreno et Cubero, 1978).

- **Sous-règne** : Tracheobionta
- **Division** : Magnoliophyta
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Sous-classe** : Rosidae
- **Ordre** : Fabales
- **Famille** : Fabacées
- **Espèce** : *Cicer arietinum* L.

#### 1.3.2. Morphologie

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est une espèce herbacée, annuelle diploïde. Cette espèce manifeste une grande variabilité phénotypique et génotypique. Deux types se Distinguent, le type "Kabuli" et le type "Desi".

Le premier, originaire de Kabul, est largement répandu dans le monde (Singh et *al.*, 1983); c'est le seul type cultivé dans le bassin méditerranéen (JimeneDiaz et Trapero-Casas, 1988). La collection des lignées de ce type, maintenue à l'ICARDA, est désignée par le préfixe ILC (Reddy et Singh, 1984. 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 maintenues à l'ICRISAT est désignée par le préfixe ICC (Van der Maessen, 1987).

Le système racinaire mixte, dont la croissance s'arrête au démarrage de la floraison, permet à la plante d'explorer un grand volume de sol et lui confère une tolérance à la sècheresse (Slama, 1998). Il est composé d'une racine principale pivotante qui peut atteindre un mètre de profondeur et des racines secondaires traçantes. La profondeur dépend des techniques culturales, de l'état du système racinaire et de la nature du sol. En effet, la semelle du labour peut entraver l'élongation de la racine principale. Les nodules, développés sur les racines

permettent la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique pour satisfaire 80% des besoins de la plante en azote assimilable.

Cette fixation symbiotique est à son optimum à la floraison et chute très rapidement par la suite (Slama, 1998).

Les feuilles ont la forme imparipennée et sont composées de 7 à 15 folioles ovales et dentelées (Fig.4B) sans vrilles, en position alternée sur un rachis. Les faces inférieures des feuilles sont couvertes par un duvet formé de poils unis et pluricellulaires. Ces poils renferment des glandes qui synthétisent des acides organiques tels que l'acide oxalique (Slama, 1998). Comme pour les feuilles,

La tige est couverte par des poils unis et pluricellulaires. Selon les génotypes de pois chiche, à une certaine hauteur, la tige se ramifie en deux ou trois branches pour donner des ramifications secondaires et par la suite des ramifications tertiaires (Fig. 4A)

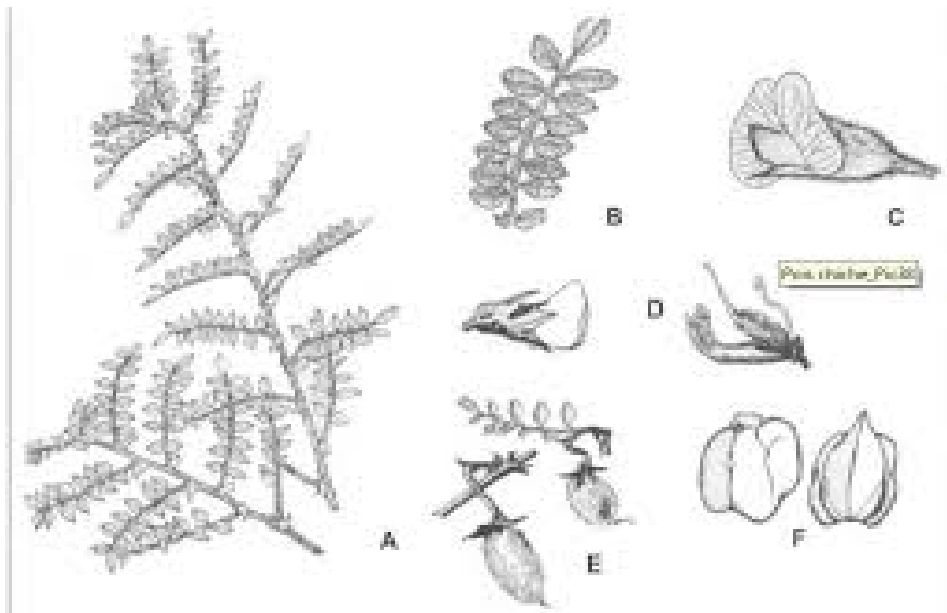
Les fleurs sont zygomorphes, articulées, solitaires ou en grappes de deux fleurs insérées sur des pédoncules axillaires à l'aisselle des feuilles et au niveau des bifurcations (Fig. 4C)

Le pois chiche est une espèce autogame (Ladizinsky, 1987) caractérisée par une floraison massive. Seulement son taux de nouaison est faible et varie de 28 à 37% respectivement chez les types Kabuli et Desi. L'apparition des premières fleurs dépend de plusieurs facteurs tels que la précocité de la variété, la date et la densité du semis et des techniques culturales.

La floraison est rapide durant les jours longs et lente durant les jours courts, selon les génotypes elle est de 30 à 45 jours. Toutefois, comme le pois chiche est une espèce à croissance indéterminée, sous des conditions hydriques favorables et des températures clémentes, les branches continuent à se développer, à fleurir et à produire des gousses et des graines) (Berger et *al.*, 2006 ; Ben Mbarek, 2011).

Les gousses sont ovales et réniformes, contiennent en général 1 à 2 graines (Fig. 4E) parfois 3 graines. Elles n'éclatent pas à la maturité.

Les graines sont plus au moins rondes, pourvues d'un bec, leur taille et leur aspect varient selon les variétés, (Fig. 4) tout comme leur couleur: blanche, jaune et noire (Soltani et *al.*, 2006).



**Figure 4** : La morphologie du pois chiche (*Cicer arietinum*, L) **A** : tige feuillue ; **B** : feuilles composé de 16 folioles ; **C** : fleur zygomorphe ; **D** : étamines pistil et ovaires ; **E** : gousses en dévalement ; **F** : graines. (Zohary et Hopf ,1988).

### 3. 3. Types de pois chiche

Deux types de pois chiche sont cultivés : Kabuli ou macrosperma et Desi ou microsperma (Singh, 1987; Toker, 2014). La distinction se fait sur la base de la taille et de la coloration des graines, des fleurs et des plantes. Des différences significatives existent dans l'épaisseur du tégument externe de la graine entre les types Desi et Kabuli. Ce dernier a une couche de graisse beaucoup plus mince (Wood et al., 2011). (Fig. 5)



**Figure 5**: type de pois chiches ; Kabuli à gauche et Desi à droite (myfavouritepastime.com)

### 1.3.3.1. Le type Kabuli

Essentiellement cultivé et consommé dans le bassin méditerranéen, appelé aussi Garbanzo, il est caractérisé par la couleur du feuillage qui varie du vert clair au vert foncé et une floraison blanchâtre. Il a un port érigé ou semi érigé permettant la mécanisation de la récolte. La hauteur de la plante varie entre 30 et 90 cm et peut même dépasser un mètre dans un sol fertile et profond ayant une alimentation hydrique suffisante. Les graines ont une couleur claire et sont couvertes d'un tégument mince. Le type Kabuli se subdivise en deux sous-groupes (Van Der Maesen, 1972).

- Le gros Kabuli dont les graines ont un diamètre de 8 à 9 mm et un poids de mille graines variant de 410 à 490 g,
- Le petit Kabuli dont les graines sont caractérisées par une forme plus régulière, un diamètre de l'ordre de 7 mm et un poids de mille graines de 265 g environ

### 1.3.3.2. Le type Desi

Il constitue 85 % de la production mondiale et fait partie des habitudes alimentaires de l'Inde. Il est également cultivé et consommé en Ethiopie, en Iran, au Canada, au Mexique et en Australie (Fabre, 2008). Il est caractérisé par un feuillage dont la couleur tend du vert violacé au glauque et une floraison violacée de couleur sombre (marron clair à noire), de forme irrégulière et à surface ridée, la graine est plus petite (Benmbarek, 2011). Le port de la plante est retombant avec un aspect touffu.

Le poids de 1000 graines varie de 100 à 130 grammes (Benmbarek, 2011). Ce type est caractérisé par plus de fibres mais moins d'amidon et moins de matières grasses (Gil et al., 1996).

## 1.3. 4. Les espèces de pois chiche

Le genre *Cicer* comprend un grand nombre d'espèces. Afin de trouver des liens parentaux entre les espèces annuelles sauvages et cultivées du genre *Cicer*, Ladizinsky et Alder (1975) ont effectué des croisements interspécifiques entre les trois espèces sauvages *C. judaicum* Boiss., *C. pinnatifidum* Jaub et Spach et *C. bijucum* Rech. Et l'espèce cultivée *C. arietinum* L. mais les hybrides ainsi obtenus ne sont pas viables. Van-Der Maessen (1979) a décrit les espèces du genre *Cicer* et les a répartis en trois groupes:

- **Espèces annuelles sauvages** : *C. reticulatum*, *C. echinospernum*, *C. bijucum*, *C. judaïcum*, *C. pinnatifidum*, *C. cuneatum*, *C. yamashitae*, *C. chorassanicum* ;
- **Espèces pérennes sauvages** : *C. montbretii*, *C. microphyllum*, *C. rechingeri*, *C. anotolicum*, *C. floribundum*, *C. pengens*, *C. graecum*.
- **Espèce annuelle cultivée** : *C. arietinum* L.

#### 4. Valeur nutritionnelle et énergétique

A travers le monde, le pois chiche est un aliment de base. Les cultivars du type «gros Kabuli» sont les plus appréciés par le consommateur, en raison de la très importante valeur alimentaire de ses graines, le pois chiche est destiné, en sa majeure partie, pour la consommation humaine et le reste est utilisé pour le bétail comme fourrage. Il est dépourvu de tout facteur antinutritionnel. Il a également une composition alimentaire très riche en protéines digestibles et contient une fraction lipidique qui renferme des acides non saturés tels que les acides linoléiques et (Tab 3), (Upadhyaya et *al.*, 2001; Namvar et Sharifi, 2011 ; Jukanti et *al.*, 2012).

**Tableau 3 : Composition organique et minérale du pois chiche (ICRISAT, 2008).**

Composition organique (en %)		Composition minérale (en mg/100g)	
Protéine	23	Phosphore	340
Carbohydrates totaux	64	Calcium	190
Amidon	47	Magnésium	140
Lipides	5	Fer	7
Fibres grossières	6	Zinc	3
Sucre solubles	6		
Matière minérale	3		

Les pois chiches, sont de plus en plus intégrés à des régimes alimentaires sains pour favoriser le bien-être général et réduire le risque d'être malade. Comme ils sont riches en fibres, faibles en sodium et en matière grasse, et qu'ils ne contiennent pas de cholestérol, ils sont indiqués

pour maintenir le cœur en bonne santé et pourraient aider à prévenir les maladies coronariennes et cardiovasculaires (Jukanti et *al.*, 2012).

### **1.5. Importance agronomique**

Dans les régions semi-arides du bassin méditerranéen où les ressources en eau sont en constante régression, les agriculteurs se rendent compte, de plus en plus, du rôle appréciable que jouent les légumineuses à graines dans la fertilisation organique du sol, surtout, dans le système de l'agriculture durable (Pacucci et *al.*, 2006). En fait, le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est cultivé sur une large gamme de zones bioclimatiques qui s'étendent du subtropical, l'Inde et le nord-est de l'Australie, aux zones arides et semi arides des régions du Bassin méditerranéen et de l'Australie Méridionale (Malhotra et *al.*, 1987 cité par Ansar Ahmad, 2010). Le pois chiche peut fixer, par voie symbiotique, plus de 1,40 qx/Ha d'azote atmosphérique et satisfaire plus de 80% de ses besoins en azote. En raison des importantes quantités d'azote, incorporées dans le sol et délaissées dans les résidus, la culture du pois chiche maintient, pour une longue durée, la fertilité du sol et entre dans le système d'agriculture durable (Ben Mbarek, 2011).

### **1.6. Cycle de culture et exigences édapho- climatique**

#### **1.6.1- Cycle de culture**

Dans le bassin méditerranéen, le pois chiche est considéré comme une culture de printemps et d'hiver. Le début généralement rapide de la sécheresse du printemps impose le choix d'une formation précoce de gousses comme stratégie primordiale pour éviter le stress hydrique. Toutefois, le pois chiche semble exiger des températures quotidiennes moyennes assez élevées (au-dessus de 15°C) pour réussir la formation de gousses à partir des fleurs précoces. Donc, outre la floraison précoce il est nécessaire d'avoir une tolérance aux températures sub-optimales du printemps. En général, la plante se développe vigoureusement et complète son cycle évolutif en 4 mois. C'est une plante rustique connue pour sa résistance à la sécheresse. Grâce à son enracinement profond, elle peut supporter les terrains secs et peut se développer dans les zones à faible pluviométrie (ICRISAT, 1990).

Le pois chiche est habituellement cultivé au printemps en raison de sa sensibilité à *Ascochyta rabiei*, agent inducteur de l'anthracnose, et au froid. Certains cultivars sont toutefois capables de supporter des basses températures qui atteignent -8°C sans qu'ils ne soient affectés, à condition que ces basses températures soient de courte durée. En tant que culture de

printemps, le pois chiche est souvent soumis à d'importantes variations climatiques et à une importante microflore parasitaire (Singh, 1988).

### 1.6.2. Exigence édaphique et climatique de la culture

Le pois chiche est peu exigeant en qualité du sol. A l'origine, les premiers écotypes ont été collectés à partir des sols marginaux, rocheux, à texture grossière et des sols profonds à texture fine dont le pH est neutre ou alcalin, variant de 7,3 à 8,2 (Berger et *al.*, 2003). Néanmoins, il est adapté aux sols bruns et bruns foncés (Jaiswal et Singh, 2001.) Une température ambiante variant de 20 à 30 °C le jour et de l'ordre de 20 °C la nuit, assure un bon développement végétatif du pois chiche. Le pois chiche du type Kabuli craint les gels et il est facilement infecté par les champignons telluriques. Au moment du semis, la température du sol doit être supérieure à 10 °C. En fait, un sol relativement chaud permet une réduction de l'exposition des semences aux maladies, une germination des graines et une émergence des plants rapides (Jaiswal et Singh, 2001). Par comparaison aux autres espèces de la tribu des Viciées, grâce à son système racinaire profond, le pois chiche est doté d'une certaine rusticité et d'une tolérance à la sécheresse (Verghis et *al.*, 1999). D'après Wery, (1990), une consommation en eau de 100 à 150 mm confirme que le pois chiche est doté de bonnes capacités pour extraire l'eau stockée dans le sol. Néanmoins, quel que soit le type de culture, de printemps ou d'hiver, et le type de pois chiche, Desi ou Kabuli, la phase critique pour les besoins en eau est entre les phases phénologiques fin floraison et stade laiteux (Verghis et *al.*, 1999). Slama (1998) a énoncé que le pois chiche craint le stress hydrique durant les stades de floraison et de remplissage des graines. Allen et *al.* (1998) ont délimité le cycle cultural du pois chiche de printemps à 95 jours et l'ont réparti en quatre phases phénologiques (Tab4).

**Tableau 4 :** Durées des stades de développement phénologiques d'une culture de pois chiche de printemps (Allen *et al.*, 1998).

Phases	Stade phénologiques	Durées (jours)
I	Initial	20
II	développement	25
III	croissance	35
V	maturité	25

Saxena, (1990) a rapporté que dans les régions du bassin méditerranéen, où la pluviométrie moyenne varie de 273 à 736 mm/an, le pois chiche (*Cicer arietinum L.*) est conduit en culture pluviale. D'après Saxena (1985), les géotypes de pois chiche, du type Kabuli, sont, généralement, cultivés dans les régions où les précipitations moyennes sont supérieures à 400 mm/an. Saxena (1987) a remarqué que le pois chiche peut être conduit sous des conditions pluviales caractérisées par de grandes variations dans le temps, inter et intra annuelles, et dans l'espace, en quantités, en fréquence et en durée. Le même auteur a remarqué que la consommation en eau du pois chiche dépend de l'humidité dans le sol. Il a rapporté qu'il y a une corrélation positive et hautement significative entre la dose d'eau d'irrigation administrée et le rendement en graines escompté. En fait, avec une dose d'irrigation qui varie de 110 à 240 mm, le rendement en graines varie de 0,9 à 3 t/ha. Pour une culture de pois chiche de printemps, les besoins hydriques sont de 297 mm dans les zones arides et de 413 mm dans les zones humides (Saxena, 1987)

## **1. 7. Conduite de la culture de pois chiche**

### **1.7.1. Choix de la parcelle**

Pour assurer une bonne croissance de la culture, il est recommandé d'éviter :

- Les sols hydromorphes : la culture étant très sensible à l'excès d'eau (asphyxie racinaire)
- Les sols froids et les limons battants, qui ralentissent et pénalisent la levée,
- Les sols acides et les sols sableux, où le rhizobium est absent,
- Une parcelle avec un stock grainier important, notamment en présence de morelle, xanthium ou datura, en raison du risque de déclassement de la récolte.

Il faut en revanche préférer une parcelle bien exposée, avec un bon drainage, un pH compris entre 7 et 9 et indemne de flores difficiles. La culture valorise bien les sols argilo calcaires, même superficiels.

### **1.7.2. Implantation**

Comme toute légumineuse à graines, le pois chiche apprécie un travail assez profond qui facilite la mise en place des nodosités (labour, décompacteur). La reprise peut se faire avec un outil de travail à dents ou à disques pour affiner le lit de semences.

Le roulage n'est pas nécessaire après le semis car la plante, au port érigé, est facilement récoltable, ce qui évite de tasser le sol. Il est à réserver aux situations avec de nombreuses pierres pouvant gêner la récolte ou aux mauvaises implantations sur sols motteux et très secs, afin de favoriser le contact sol-grain

### **7.3. Date et conditions de semis**

Selon les secteurs de production, le semis est réalisé entre la mi-décembre et la mi-avril. Semez lorsque le sol est bien ressuyé car la réussite de l'implantation est déterminante pour la suite de la campagne. Un semoir à céréales ou de précision peut être utilisé pour implanter le pois chiche.

La profondeur de semis doit être de 4 à 5 cm (et au minimum de 3 cm). Privilégiez un semis profond (jusqu'à 6 cm) si vous semez tôt (meilleure résistance au froid)

### **7.4. Fertilisation**

Pas d'apport d'azote pour le pois chiche, sauf en l'absence de populations natives de rhizobium

N'apportez jamais d'azote au semis : la culture utilise principalement l'azote atmosphérique via ses nodosités et un apport entraverait la nodulation puis le fonctionnement de la symbiose, qui commence en début de cycle dès que les nodosités sont en place.

En l'absence constatée de nodosités (ex : parcelle inadaptée, zone septentrionale, etc.), un apport est envisageable dans les régions où un arrêté préfectoral le permet et hors des zones vulnérables. L'objectif de rendement préalable devra être revu à la baisse. Dans tous les cas, en zones vulnérables, respectez les doses plafond fixées dans les arrêtés préfectoraux. Une exigence moyenne en phosphore et potasse. Raisonniez les apports à la rotation en fonction de votre analyse de sol.

Pour un rendement de 20 à 30 qx/ha, le pois chiche exporte de 15 à 20 unités  $P_2O_5$  et 15 à 20 unités de  $K_2O$ .

### **1.7. 5. Désherbage**

Le pois chiche est une culture peu concurrentielle des adventices. Compte tenu d'un déficit de solution en post-levée, une stratégie à base d'un herbicide de prélevée reste préférable.

## 1. 8. Exigence écologiques du pois chiche

### 1.8. 1. Exigences climatiques

#### 1.8.1.1. Température

La culture de pois chiche est très vulnérable aux facteurs atmosphériques (Chaux et Foury, 1994). En effet, la température exerce une forte influence sur les phases végétatives et reproductrices de la plante (Summerfield et *al.*, 1979). La température optimale de germination des graines se situe entre 28 et 33° C (Singh et Diwakar, 1995; Covelle et *al.*, 1986), celles-ci germent toutefois entre 10 et 45 °C (Singh et Diwakar, 1995). Selon Girrard (1985) et Verret (1982), les besoins de températures du pois chiche d'hiver varient entre 18 et 29 °C le jour et autour de 20 °C la nuit.

Le pois chiche souffre dans les environnements chauds (Lopez-Bellido et *al.*, 2004). Des températures supérieures à 32° C limitent le rendement en grains en accélérant leur maturité (Nielson, 2001). De même, les températures élevées, entre la floraison et la maturité, se répercutent sur la réduction de la taille des graines et du rendement (Lopez-Bellido et *al.*, 2004).

#### 1.8.1.2. Pluviométrie

Les besoins en eau du pois chiche sont limités entre 110 et 240 mm par an pour produire des rendements en grains allant de 9 à 30 qx / ha (Singh et Bushan, 1979) , Cependant, comme la plupart des légumineuses à graines, le pois chiche est sensible à la sécheresse, notamment durant la floraison (Girrard, 1985). A ce stade, un déficit hydrique se traduit par une diminution du nombre de gousses, du poids de 1000 grains, et une augmentation du nombre de gousses vides (Wery, 1986), Le pois chiche est cultivé principalement comme culture de précipitation, en hiver dans les climats subtropicaux et au printemps dans la région méditerranéenne et les climats tempérés.

#### 1.8.1.3. Lumière

La plupart des légumineuses à graines préfèrent le soleil et réagissent à l'ensoleillement en fournissant un grand rendement. L'intensité de la lumière et la durée d'éclairement sont des facteurs importants pour la nodulation et la fixation de l'azote (Lie, 1971). Le pois chiche est une plante de jours longs, mais fleurit dans toutes les photopériodes (Smithson et *al.*, 1985; Summerfield et *al.*, 1979).

### 1.8.2. Exigences édaphiques et nutritionnelles

Le pois chiche se cultive dans différents types de sols (Bejija et Van der Maesen, 2006) mais semble préférer les sols meubles, profonds, plus ou moins argileux avec une bonne capacité de rétention (Singh et Diwakar, 1995; Moolani et Chandra, 1970 ; Saxena, 1987) ou les sols limoneux profonds qui lui fournissent des sels solubles (Moolani et Chandra, 1970). Ces sols retiennent plus de 200 mm d'eau sur une profondeur d'un mètre (Saxena, 1987).

Le pois chiche ne supporte pas les sols mal drainés qui favorisent le développement de maladies cryptogamiques (Plancquaert et Wery, 1991). Les sols très calcaires sont également à proscrire car ils donnent des graines qui cuisent mal. La culture ne supporte pas les sols salins (Bejija et Van der Maesen, 2006). Pour mieux assimiler les éléments nutritifs par les racines, le pH optimum du sol doit se situer entre 5,7 et 9 (Singh et Diwakar, 1995). Les doses minérales recommandées incluent 20 à 30 kg d'azote et 40 à 60 kg de phosphore par hectare. Si les sols sont pauvres en potassium, une application de 17 à 25 kg/ha est recommandée. Les principaux oligoéléments dont la plante a besoin sont : le soufre (S), le zinc (Zn), le fer (Fe), le bore (B) et du molybdène (Mo) (Gaur et *al.*, 2010)

### 1.9. Les maladies et ennemis du pois chiche

Le pois chiche est une culture vivrière importante. Cette culture subit plusieurs maladies graves qui l'attaquent à tous les stades de développement. Dans plusieurs pays, la production du pois chiche est limitée par l'action de plusieurs facteurs de stress dont les plus importants restent les maladies causées par une large gamme d'organismes phytopathogène comprenant des champignons (Tab. 5) des bactéries telles que *Xanthomonas campestris* pv. *Cassiae* et des virus (Nene et *al.*, 1991).

D'après Kumari et *al.* (2008) et El Aoufir (2001) certaines maladies virales sont économiquement importantes puisqu'elles sont responsables d'une réduction des rendements. Parmi elles, la maladie filiforme causée par le virus filiforme du pois chiche (*CpFV*), le nanisme buissonneux causé par le virus *Chickpea bushy dwarf* virus (*CpBDV*) et le rabougrissement causé par (*CpSDAV*).

**1.9. 1. Les maladies virales :**

Les virus sont disséminés dans les cultures par les insectes vecteurs et les semences, les plus importants sont (Nene et Reddy, 1987).

- PLRV (Pea Leaf Roll Virus = Virus de l'enroulement de pois) : Il provoque la décoloration et la déformation des plantes (Nene et Reddy, 1987).
- BLRV (Bean Leaf Roll Virus = Virus de l'enroulement du haricot) : Il provoque le nanisme des plantes (Trapero – Casas, 1999).
- BYMV (Bean Yellow Mosaic Virus : Virus de la *mozaïque* du haricot)

**1.9. 2. Les maladies bactériennes :**

IL y a une seule bactérie, qui peut attaquer le pois chiche, c'est *Xanthomonas compestris pv. Cassiae*. Elle provoque la pourriture de la plante (ICARDA, 1985).

**1.9. 3. Les maladies fongiques :**

Certaines d'entre elles sont économiquement importantes puisqu'elles sont responsables d'une réduction des rendements (Alaoufir, 2001), (Tab. 5)

Ascochyteose : principale maladie du pois chiche, sur l'ensemble du territoire. Un semis trop précoce accroît le risque. Le respect des règles agronomiques est indispensable (délai de retour, origine des semences et choix de la parcelle).

Stratégie de lutte : Amistar 0,8 l/ha dès l'apparition des premiers symptômes (généralement autour de la floraison). Prosaro est également homologué sur Ascochyteose et oïdium. Pour ces deux spécialités commerciales, deux applications possibles à 15 jours d'intervalle.

Le traitement de semences avec Vitavax (thirame et carboxine) à 0,25 l/q est une première lutte contre l'Ascochyteose. Ce produit a la particularité d'être homologué sous l'usage pois "traitement semences" champignons autres que pythiacées (l'ancien catalogue à l'usage des légumineuses).

**Tableaux 05 :** Principales maladies fongiques du pois chiche dans le monde(Mahiout,djamel 2017).

Maladies	Agents responsables	Références
Anthracnose	<i>Ascochyta rabiei</i>	Akem (1999); Haware et al. (1986) ; Bayaa et Chen (2011); Sharma et Ghosh (2016).
Phoma « blight »	<i>Phoma medicaginis</i>	Haware et Nene (1981); Nene et al. (1991); Nene et al. (2012)
Alternariose	<i>Alternaria alternata</i> (syn. <i>A. tenuis</i> Nees)	Bhargava (1988); Bhargava (1995); Nene et al.(2012).
Rouille	<i>Uromyces ciceris</i>	Khouader et al. (2013) ; Stuteville et al. (2010) ;Nene et al. (1991).
Sclerotiniose	<i>Sclerotiniasclerotiorum</i> <i>Sclerotinia minor</i> <i>Sclerotinia trifoliorum</i>	Sharma et al. (1999); Chen et al. (2006); Njamber et al. (2007); Nene et al. (1991).
Mildiou	<i>Perenospora ciceris</i>	Agarwal et al. (2003).
Oidium	<i>Leveillula taurica</i> (Lév.)	Attanayake et al. (2008) ; Nene et al. (2012);
Pourriture grise	<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	Agarwal et al. (1999) ; Pande et al. (2006) ; Pande et al. (2010) ; Haware et al. (1992) ; Hosen et al. (2010) ; Nene et al. (1991).
Flétrissement vasculaire	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i>	Sharma et Muehlbauer (2007) ; Nene et al. (2012) ; Jimenez-Diaz et al.,(2015); Belabid et Fortas (2011); Maitlo et al. (2016).
Pourriture noire des racines	<i>Fusarium solani</i>	Cherif et al. (2007) ; Nene et al. (2012) ;
Fonte de semis	<i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.	Kaiser et Hannan (1983); Nene et al. (2012).
Pourriture racinaire	<i>Phytophthora megasperma</i> f. sp. <i>medicaginis</i>	Du et al. (2013). Intizar-ul-Hassan et al. (2012).
Fonte de semis	<i>Pythium debaryanum</i> <i>Pythium irregular</i> <i>Pythium ultimum</i> <i>Pythium</i> spp.	Trapero-Casas et al. (1990); Nene et al. (2012).
Verticilliose	<i>Verticillium albo-atrum</i> <i>Verticillium dahliae</i>	Bhatti et al. (1983); Nene et al. (2012).
Complexe flétrissement de	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Verticillium albo-atrum</i> <i>Rhizoctonia bataticola</i> <i>Rhizoctonia solani</i>	Trapero-casas et Jimenez-Diaz (1985); Pande et al. (2007) ; Nene et al. (2012) ; Omri Ben Youssef et al. (2010). Benfreha et al. (2014) ; Nene et al. (1991);
Pourriture humide des racines	<i>Rhizoctonia solani</i>	Nene et al. (1991); Omri et al. (2010). Nene et al. (2012).
Pourriture sèche	<i>Rhizoctonia bataticola</i>	Nene et al. (1991); Nene et al. (2012). Ganeshamoorthi et Dubey (2015).

#### 1.9. 4. Les ravageurs et les nématodes

Le pois chiche est la légumineuse la plus tolérante aux insectes, peut-être du fait de l'importante quantité d'acide malique secrétée par les feuilles. Des attaques de ravageurs rencontrés sur d'autres cultures comme les taupins et quelques dégâts de noctuelles (*Helicoverpa armigera*) qui percent les gousses et mangent les jeunes graines ont été observés. Mais seule la mineuse (*Liriomyza cicerina*) qui creuse des galeries dans les feuilles pourrait présenter un risque sérieux. Par contre, le pois chiche est résistant aux sitones, aux pucerons et aux bruches (Gaur *et al.*, 2010).

Le puceron *Aphis carceivora* Koch, le vecteur du virus *Chickpea bushy dwarf virus* (CpBDV) qui provoque le rabougrissement (Schwinghamer *et al.*, 2009).

L'infestation des graines par les insectes de cet ordre est redoutable L'espèce *Callosobruchus maculatus* (La bruche du pois chiche) provoque une perte en poids et en éléments nutritifs de la graine (Gaur *et al.*, 2010).

Parmi les parasites qui peuvent causer des dégâts importants sur le pois chiche, les nématodes (ICRISAT, 1990):

- *Rotylenchulus reniformis* agent causal de la galle des racines.
- *Heterodera ciceri* et *Heterodera rosii* agents causals des racines perlées.
- *Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne artiellia*, *Meloidogyne incognita* et *Meloidogyne javanica* agents causals de la maladie des nœuds des racines.
- *Pratylenchus brachyurus* et *Pratylenchus thornei* causants des lésions des racines.

#### 1.9. 5. Les mauvaises herbes :

Les mauvaises herbes posent un grand problème pour la culture de pois chiche en Algérie. Parmi les espèces les plus importantes qui se trouvent presque sur tous champs de pois chiche (Labdi, 1990 b ; Melakhessou, 2007).., on peut citer :

- Le liseron des champs (*Convolvulus arvensis*).
- Le mouron des oiseaux (*Polygonum aviculare*).
- Le chardon (*Carduus sp*).
- La moutarde des champs (*Sinapis arvensis*).

**Chapitre 2. L'antracnose du pois chiche****2.1. Répartition géographique et importance économique de la maladie**

L'antracnose est considérée comme une des maladies les plus dévastatrices qui affectent le pois chiche en provoquant des lésions nécrotiques sur toutes les parties aériennes (Champion, 1997 ; Zerroug et al. 2007). L'agent causal *Ascochyta rabiei* (Téléomorphe *Didymella rabiei*) est un champignon imparfait qui regroupe dans son cycle biologique deux stades de reproduction.

La maladie est 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). Elle fut aussi signalée en Amérique latine et en Bulgarie (Kaiser et al. 2000). Elle se trouve maintenant dans 35 pays producteurs de cette culture (Kaiser et al. 2000). Elle a été signalée dans tous les pays producteurs de pois chiche, dans les zones à humidité élevées et à pluviométrie supérieure ou égale à 150 mm avec des températures comprises entre 15 et 20 °C (Jan et Weisse, 1991; Wiese, 1995).

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.

Les pertes occasionnées par ce pathogène sont différentes d'un pays à un autre (Tab. 6), pouvant atteindre jusqu'à 100 % (Singh et al. 1998 ; Singh et Reddy, 1990). Au Maroc, celles-ci ont atteint 97% en 1972, avec un rendement moyen de 0.2 qx/ha, alors que dans les conditions normales, le rendement est estimé à 6.5 qx/ha. En Tunisie, cette maladie cause des chutes de rendement de l'ordre de 40% (Djerbi et al. 1978).

**Tableau 6:** Pertes quantitatives de rendement causées par *Ascochyta rabiei* dans certains pays (Nene et Reddy, 1987).

Pays	Années	Pertes (%)	Références
Bulgarie	1936	20-50	Kovachevski (1936)
Ex USSR	1956	100	ICARDA (1983)
Grèce	1957-1958	10-20	Demeterides et al (1959)
Maroc	1971	2-40	Kamal (1984)
Espagne	après- guerre	20-100	Cubera (1984)
Syrie	1981	5-30	El Mott (1984- 1982)
Syrie	1982	30	ICARDA (1982)
Tunisie	1981	40	Mtaiki et Hamadi(1984)

## 2.2. Taxonomie et reproduction de l'agent pathogène

### 2.2.1. Taxonomie et caractéristiques de *Ascochyta rabiei*

La forme asexuée de l'agent de l'antracnose a été identifiée en premier. Selon Corbaz (1956), c'est Labrousse, en 1931, qui le premier, donna le nom de *Phyllosticta rabiei* à ce champignon. Ces observations relèvent une proportion de deux à quatre % spores bicellulaires. Labrousse mentionne que « Les différences systématiques entre les genres *Phyllosticta* et *Ascochyta* sont si artificielles que la position d'une espèce dans l'un ou l'autre genre est une question d'appréciation personnelle »

Agrios (1988) proposa la classification suivante:

- **Subdivision :** *Deuteromycotina*
- **Classe :** *Coelomycetes*
- **Ordre :** *Sphaeropsidales*
- **Genre :** *Ascochyta*
- **Espèce :** *Ascochyta rabiei*

Kovachevski découvrit en Bulgarie, en 1936, la forme sexuée (téléomorphe) sur des débris de cultures et attribue à celle-ci le nom de *Didymella rabiei* (syn. *Mycosphaerella rabiei* Kovachevski). Il l'inclut dans la subdivision des *Ascomycotina*, la classe des *Loculoascomycètes* et l'ordre des *Dothidéales*.

Plus tard, d'autres travaux rapportèrent l'existence du téléomorphe en URSS (Gorlenko et Bushkova, 1958), en Grèce (Zachos et al. 1963), en Espagne (Trapero-casas et Kaiser, 1992b ; Navas-Cortés et al. 1995), aux Etats-Unis (Kaiser, 1981 ; Kaiser et Hannan, 1987b ; Trapero-casas et Kaiser, 1992 b), en France (Ameziane, 1985) en Turquie (Kaiser et Kusmenoglu, 1997), au Canada (Armstrong et al. 2001), en Australie (Galloway et MacLeod, 2003) et récemment en Tunisie (Rhaiem et al. 2006).

La forme parfaite *Didymella rabiei* a également été observée sur des débris de culture en Algérie (Kaiser, 1997). D'un point de vue systématique, Agrios (1988) rattacha la forme parfaite à:

- **Classe** : Ascomycètes
- **Sous-classe** : Loculoascomycètes
- **Ordre** : Sphaeriales
- **Famille** : Sphaeriacees
- **Genre** : *Didymella* (*Mycosphaerella*)
- **Espèce** : *Didymella rabiei*

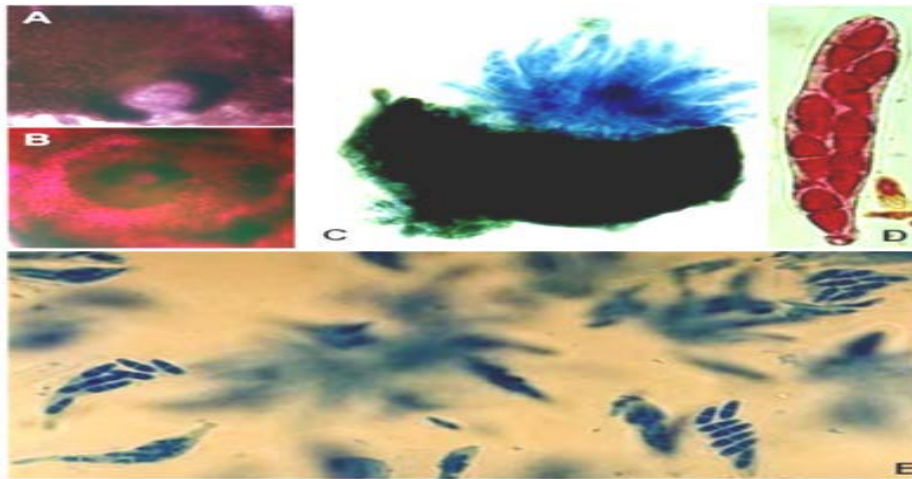
Plus récemment, la forme parfaite (<https://gd.eppo.int/taxon/mycora>) est rattachée à :

- **Règne** : *Fungi*
- **Phylum** : *Ascocmycota*
- **Sous-phylum** : *Pezizomycotina*
- **Classe** : *Dothideomycetes*
- **Sous-classe** : *Pleosporomycetidae*
- **Ordre** : *Pleosporales*
- **Famille** : *Didymellaceae*
- **Genre** : *Didymella*
- **Espèce** : *Didymella rabiei* (Kovatsch.).

## 2.2.2. La reproduction

### 2.2.2.1. La reproduction sexuée

La reproduction sexuée, dite « parfaite » se distingue par la production de Pseudothèces se développant sur des substrats naturels (tiges de pois chiches ou de débris de Récolte). De couleur brun noirâtre à noir, les pseudothèces sont subglobuleuses et mesurent entre 120 et 270  $\mu\text{m}$  de diamètre. Elles renferment des asques cylindriques, bituniqués, portant chacune 8 ascospores hyalines. Chaque ascospore, de forme ovoïde, est divisée en deux cellules inégales, et mesure 9.5-16 x 4.5-7  $\mu\text{m}$  (Traperos-Casas et Kaiser, 1992) (Fig. 6)



**Figure 6 :** Fructifications sexuelles de *Didymella rabiei* (Rhaïem et Chérif, 2006).

**A-B :** pseudothèces avec bec et ostiole (x 400) ; **C :** pseudothèce avec asques (x 400);

**D :** asque avec ascospores (x 1000); **E :** asque en forme de moufles (x 400)

*A. rabiei* est hétérothallique, cependant les deux mating types (Mat1-1 et Mat1-2) ne sont pas présents dans toutes les régions de culture de pois chiche (Khan et *al.* 1999b). La présence du téléomorphe (*Didymella rabiei*) dans le cycle de *A. rabiei* contribue à la variabilité de 25 Populations du pathogène, ce qui peut générer de nouvelles combinaisons de gènes de virulence et ainsi créer de nouveaux pathotype (Pande et *al.* 2005).

### 2.2.2.2. La reproduction asexuée

La reproduction asexuée, dite « imparfaite » ou végétative, caractéristique de l'anamorphe, se distingue par la production de pycnides en forme de poires, de couleur marron foncé à noir. Les pycnidiospores sont ovales à oblongues, droites ou légèrement incurvées à l'une ou aux deux extrémités et mesurent 6-12 x 4-6  $\mu\text{m}$  (Nene, 1982) (Fig. 7).



**Figure 7:** Monture humide de structures fructifères provenant de résidus de pois chiches infectés et hivernés, présentant des pycnidium et des conidies (à gauche) et un pseudothécium avec asques et ascospores (à droite) (Robert M. Harveson, et *al* 2011)

### 2.3. Symptomatologie de la maladie

Au champ, l'antracnose apparaît d'abord sous forme de petites plages visibles de loin. Dans des conditions de températures et de précipitations favorables, la maladie peut se propager rapidement et affecter sévèrement toutes les plantes (Fig. 8).



**Figure 8 :** Dégâts de l'antracnose de pois chiche

L'agent pathogène, responsable de l'antracnose, provoque des lésions sur toutes les parties aériennes de la plante (les feuilles, les pétioles, les fleurs, les gousses, les branches et les tiges) (Sharma et Ghosh, 2016). Sur feuilles, les lésions (Fig. 9A) se présentent sous forme de taches rondes avec des marges brunes foncé et un centre gris clair portant des pycnides de couleur gris foncé ou brun foncé. Les folioles atteintes jaunissent et finissent par tomber (Bayaa et Chen, 2011). Sur les tiges et les pétioles, les lésions s'allongent et deviennent ovales, souvent avec des pycnides disposées en cercles concentriques (Fig. 9B). Les tiges se cassent habituellement au niveau des nécroses annulaires. La partie de la tige située au-dessus de la nécrose, flétrit, jaunit et se dessèche (Nene, 1982). (Fig.9B). Les lésions sur les gousses sont généralement rondes et contiennent des pycnides disposées en cercles concentriques (Fig.9C).. Le champignon pénètre dans la gousse et infecte la graine en

développement. Les gousses produisent souvent des graines ratatinées et ne parviennent pas à développer une semence viable (Kaiser, 1972 ; Bayaa et Chen, 2011).

Le champignon se présente sous forme de mycélium dans toutes les parties de la graine. Les spores se trouvent souvent à la surface de la graine, alors que les pycnides sont localisées dans les téguments (Champion, 1997). L'infection des semences provoque une décoloration de la graine et parfois des chancres profonds de forme ronde ou irrégulière sur celles-ci. Les plantules, émergeant à partir de graines infectées, montrent des lésions brunes à la base de la tige, 7 à 10 jours après la germination des graines (Bayaa et Chen, 2011)



**Figure 9** : Symptômes de *Ascochyta rabiei* sur le pois chiche. (A : sur les feuilles, B : sur les tiges et C : sur les gousses) (Anonyme)

## 2.4. Biologie et épidémiologie du pathogène

### 2.4.1. Survie du pathogène

Le champignon se conserve sous deux formes au niveau des semences et des débris de cultures: mycélium et / ou organes de reproduction (Kaiser, 1973). Entre 10 et 35 °C, *A. Rabiei* peut survivre jusqu'à 20 mois sur des tiges de pois chiche infectées (Kaiser et Hanan, 1987), jusqu'à 5 mois sur la surface des graines infectées (Singh et al. 1995).

Le stade téléomorphe assure la longue survie du pathogène mais n'est jamais observé sur des plantes récemment infectées (Pande et al. 2005). Les températures basses et les humidités élevées sont nécessaires à l'initiation et au développement des pseudothèces.

*A. rabiei* peut être hébergée par certaines espèces spontanées telles que *Brassica nigra* (Moutarde noire), *Descurania sophia* (herbe sophia), *Galium aparine* (Gaillet gratteron), *Lamium amplexicaule* (Lamier) et *Triticum aestivum* (blé) (Bayaa et Chen, 2011).

Les débris de récolte contribuent à conserver ce parasite en vie sous forme de pycnides et de périthèces. C'est pourquoi la culture de pois chiche ne doit pas revenir sur la même parcelle pendant au moins deux années (Zachos et al. 1963). Le champignon peut survivre au-delà de deux ans dans les semences infectées et se conserver même à une température dépassant 45 °C (Kaiser, 1972). Sattar (1933) rapporte qu'entre 25 et 30 °C, 50 % des spores présentes dans la graine survivent pendant 5 mois, alors qu'à 35 °C, seulement 5 % peuvent survivre pendant la même durée.

#### 2.4.2. Epidémiologie du pathogène

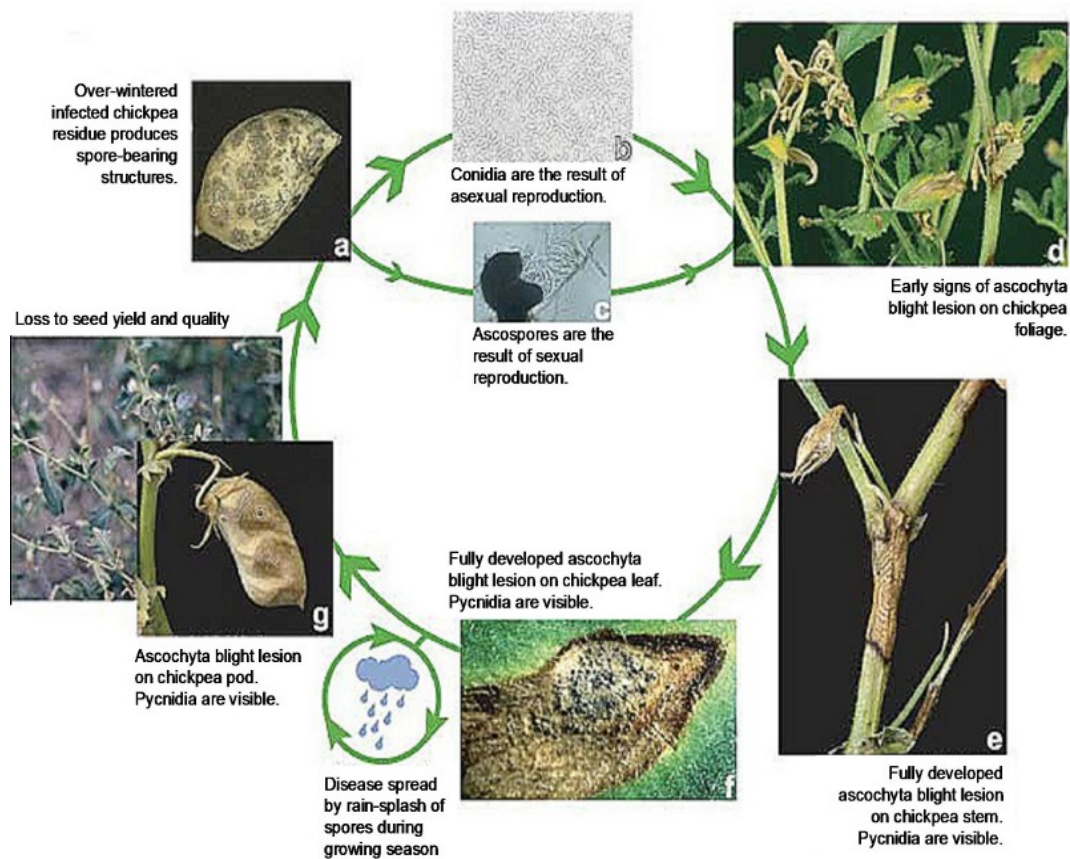
Les contaminations primaires proviennent de trois principales sources : des graines contaminées, des résidus de cultures et de cultures voisines contaminées (Kaiser, 1973). Le champignon hivernant sous sa forme parfaite sur les chaumes de pois chiche infectés constitue une source d'inoculum primaire (Luthra et al. 1935 ; Navas-Cortes et al, 1995) (Fig. 10).

Les graines infectées produisent des plantes infectées qui pourront servir comme source d'inoculum secondaire, toutefois pour *Ascochyta rabiei*, le contact entre les lésions du tégument ou des cotylédons et la plante émergente est nécessaire pour la transmission de l'agent pathogène. Dans ces lésions, le champignon sporule abondamment, produit des pycnides contenant des conidies qui peuvent être disséminées par les éclaboussures de pluie (Bayaa et Chen, 2011).

La libération d'ascospores viables à partir de périthèces commence durant l'automne hiver, et cesse après 8 semaines si les tissus infectés sont maintenus à la surface du sol (Kaiser et Hanan, 1987). Les ascospores libérées sont disséminées par le vent et constituent l'inoculum primaire (Trapero-Casas et Kaiser, 1987; Armstrong et al. 2001) (Fig.10).

Les travaux de Trapero-Casas et Kaiser (1992), aux Etats Unis, montrent que dans des conditions naturelles au champ, le développement de pseudothèces commence au cours de l'automne et de l'hiver. Les ascospores sont libérées dans l'air dès la fin de la saison hivernale, Jusqu'à la fin de la saison de printemps. Le nombre d'ascospores par unité de surface de tissu de résidus de pois chiches fortement infestés est d'environ 15.000 par mm<sup>2</sup>.

En absence du vent et par temps sec, la dissémination des pycnidiospors se fait par contact, d'où la propagation circulaire de la maladie autour des premiers plants contaminés (Zacho et *al.*, 1963). Lorsque les températures sont comprises entre 15 et 25 °C, 95 % les ascospores et les pycnidiospors germent au bout de 6 à 7 heures. Alors qu'à 0 ou 35 °C, la germination n'a pas lieu (Trapero-Casas et Kaiser, 2007). Les températures, autour de 10 °C la nuit et autour de 20 °C le jour, accompagnées d'un temps nuageux, favorisent la propagation de la maladie. La maturation des pseudothèces a lieu entre 5 et 10 °C (Nene et *al.* 1991). Les épidémies sont favorisées par une durée d'incubation courte, des températures assez élevées du printemps et des pluies fréquentes de la fin de l'hiver jusqu'au début du printemps, ce qui entraîne un développement conséquent de la maladie (Zachos et *al.* 1963).



**Figure 10** : Cycle épidémique de l'antracnose du pois chiche (Tivoli et Banniza, 2007) .

La gravité de cette dernière est affectée par la durée d'humectation de la feuille (Shtienberg et *al.* 2006), une durée d'environ 17 heures peut produire une grave infection (Pande et *al.* 2005) qui est fortement réduite lors des périodes sèches. Une durée de 2, 4 ou 6 heures d'humectation des feuilles suffit pour initier l'infection (Armstrong-Cho et *al.* 2004).

## 2.5. Pathogénicité

### 2.5.1. Histopathologie

La pénétration à l'intérieur du tissu de l'hôte se fait à travers la cuticule des folioles et des tiges, et par les ouvertures naturelles (stomates, lenticelles) en seulement 24 heures après l'inoculation (Pandey et al. 1987). Le champignon infecte la plante par pénétration directe de l'épiderme, après la formation de structures d'infection appelées appressoriums (Höhl et al. 1990; Köhler et al. 1995).

En contact avec les tissus de l'hôte, les conidies germent après 12 heures (Pandey et al. 1987). Après la pénétration, les hyphes se développent simultanément entre les cellules épidermiques et les cellules du parenchyme palissadique, désintégrant la structure interne des feuilles (Pandey et al. 2005). La pénétration de la cuticule se fait non seulement par voie mécanique, mais aussi par l'action des enzymes hydrolytiques car les appressoriums ne sont pas mélanisés (Tenhaken, 1992). Le champignon se propage sous l'épiderme, principalement dans l'espace intercellulaire, envahissant les cellules et provoquant un effondrement rapide des tissus des feuilles par plasmolyse. Une fois les folioles infectées, le champignon s'installe dans la tige en passant par les vaisseaux des pétioles (Tenhaken, 1992). Les hyphes s'agrègent et forment des pycnides qui émergent à l'extérieur à partir des tissus infectés et effondrés (Pande et al. 2005). Au septième jour, la plupart des cellules non lignifiées sont détruites (Pandey et al., 1987; Pande et al., 2005 ; ILarслан et Dolar, 2002).

### 2.5.2. Les pathotoxines et les enzymes impliquées dans l'infection

Des toxines appelées solanapyrones A, B et C sont impliquées dans la pathogénicité de *A. rabiei* (Alam et al. 1989). Latif et al. (1993) signalent une substance toxique appelée Cytochalasine D.

*A. rabiei* secrète aussi une phytotoxine de nature protéique composée de 14 acides aminés et ayant un poids de 7,6 kDa (Chen et Strange, 1994 ; Jayakumar, 2005). Selon Kaur (1995), il existerait une forte corrélation entre la production *in vitro* de solanapyrones par différents isolats et leur pathogénicité. D'autre part, des analyses fonctionnelles du gène de Diels-alderase Sol5 de *Ascochyta rabiei* indiquent que les solanapyrones ne sont pas requises pour la pathogénicité (Kim et al. 2015).

### 2.5.3. Variabilité du pouvoir pathogène

En général, la variabilité du pouvoir pathogène peut s'exprimer sur les deux composantes du pouvoir pathogène : virulence et agressivité (Belabid et Fortas, 2011).

La virulence caractérise la capacité d'un biotype (ou pathovar) à surmonter la résistance verticale d'une variété (Lepoivre, 2003), par contre, l'agressivité exprime le pouvoir pathogène d'un parasite défini par rapport à la résistance horizontale des variétés de l'hôte.

Le constat que les nouvelles variétés peuvent perdre leur résistance peu d'années après leur installation dans certaines régions ont conduit les chercheurs à s'interroger sur la variabilité du pouvoir pathogène chez *Ascochyta rabiei*.

Le terme pathotype été utilisé récemment pour décrire les niveaux d'agressivité des isolats avec un petit ensemble de génotypes différentiels (Udupa et al. 1998; Jamil et al. 2000; Chen et al. 2004). Trois pathotypes ont été identifiés (Udupa et Weigand, 1997; Chen et al. 2004 ; Benzohra et al. 2015).

Plusieurs auteurs confirment la présence d'un nouveau pathotype très agressif, désigné comme étant le pathotype IV, capable de surmonter la résistance des lignées ICC- 12004 et ICC-3996 (Imtiaz, 2011).

## **2.6. Le polymorphisme génomique**

L'analyse de la variation génétique des populations du pathogène est une condition préalable importante pour comprendre la coévolution des pathosystèmes des plantes (Sarwar et al. 2013).

### **2.6.1. Polymorphisme de séquence**

La séquence est la seule méthode exhaustive de recherche de polymorphisme dans un fragment d'ADN. L'utilisation en routine de cette technique reste peu développée, à cause du nombre de loci et des grands effectifs généralement nécessaires dans les études de génétique (Tagu et Moussard, 2003).

La technique RADP, décrite par William et al. (1990), est largement utilisée pour l'identification ou la différenciation des souches d'agents pathogènes telles que *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (Belabid et Fortas, 2011 ; Ali et al. 2012 a), *Ascochyta rabiei* (Udupa et al. 1998 ; Jamil et al. 2010).

Ces techniques moléculaires sont utilisées dans plusieurs investigations pour l'étude de la diversité génétique de *A. rabiei*, de la relation entre les marqueurs moléculaires et pathotypes et des relations phylogénétiques (Jamil et al. 2000; Navas-Cortès et al. 1998 ; Khan et al. 1999; Santra et al. 2001).

Les marqueurs moléculaires couramment utilisés pour évaluer la variation génétique de *A. rabiei* sont basés sur la technique RFLP (polymorphisme de longueur des fragments de

restriction). Cette technique repose sur la comparaison des profils de fragments obtenus par les enzymes de restriction suite à l'existence d'un polymorphisme dans la séquence d'une molécule d'ADN par rapport à une autre.

Des mutations apparaissant sur une séquence d'ADN reconnue par une enzyme de restriction provoquent des longueurs de fragments de restriction différentes. Les produits de restriction sont ensuite séparés sur gel d'acrylamide ou d'agarose en présence d'un marqueur de poids moléculaire (Tagu et Moussard, 2003).

### **2.6.2. Polymorphisme de nombre d'unités de répétition**

Les microsatellites (SSR) sont constitués de répétition en tandem de motifs mono, di-, tri- ou tétra nucléotidiques (Tagu et Moussard, 2003). Plusieurs chercheurs utilisent les marqueurs microsatellites pour détecter des variations génétiques parmi les isolats de *A. rabiei* (Bayraktar, 2007; Nourollahi et al., 2011 ; Ali et al., 2012). La technique PCR est utilisée pour révéler les loci microsatellites qui sont des marqueurs codominants et multi alléliques.

## **2.7. Méthodes de lutte contre l'antracnose**

### **2.7.1. Lutte culturale**

Les pratiques culturales, visant à la protection intégrée des cultures, peuvent agir sur l'ensemble du cycle de l'agent pathogène et ainsi participer à un système de protection durable (Meynard et al., 2003).

Selon ces derniers, les systèmes de culture ont un effet sur :

- La taille de l'inoculum primaire et sa localisation,
- Le développement et la localisation de l'épidémie,
- La coordination des cycles biologiques des plantes et de leurs agents pathogènes,
- L'équilibre écologique

Une rotation triennale est aussi recommandée car l'inoculum présent sur les débris de pois chiche peut survivre plus de 12 mois (Bayaa et Chen, 2011).

L'enfouissement des résidus de culture après la récolte contribue à l'accélération de la décomposition des débris des plantes nécrosées et entraîne par conséquent une baisse de la viabilité des propagules du pathogène (Nene et Reddy, 1987). Inversement, lorsque les conditions météorologiques sont extrêmes (températures inférieures à -30 °C), cette technique peut aider à préserver les débris, ainsi l'inoculum peut devenir disponible à nouveau lors du semis, lorsque les débris sont entraînés à la surface du sol.

D'autres pratiques culturales consistent à semer profondément les graines (de sorte que les graines infectées soient incapables de sortir du sol), à espacer les rangs et à réduire la densité de semis (100-120 kg/ha au lieu de 180 kg/ha), de façon à éviter une densité végétale élevée, propice à une humidité excessive dans le couvert (Bayaa et Chen, 2011).

On peut envisager la destruction des foyers primaires de l'infection et le buttage des plantes (Kaiser, 1973 ; Nene, 1984) et de pratiquer une rotation culturale, particulièrement avec le blé, pour contribuer à la destruction de l'inoculum primaire (Kaiser, 1981).

### 2.7.2. Lutte chimique

Le traitement des semences avec des fongicides systémiques (azoxystrobine) peut aussi aider à protéger les jeunes plantes des infections foliaires par *A. rabiei* (Bayaa et Chen, 2011) ou bien avec des formulations tels que le métalaxyl, le captan, le thiabendazole et le benomyl (Wise et al. 2011).

Les fongicides foliaires réduisent efficacement l'infection en retardant le développement secondaire de celle-ci, réduisant ainsi la propagation de la maladie. En raison de la nature polycyclique de la maladie et de la sensibilité de l'hôte durant tout le cycle de la culture, l'application de fongicides en temps opportun est nécessaire (Chongo et al. 2003; Bayaa et Chen, 2011).

Le développement de la résistance à la suite d'applications répétées d'un fongicide, les effets aigus et chroniques sur l'Homme et la faune, et la pollution de l'environnement sont les principaux problèmes rencontrés en lutte chimique (Lopez-Fernandez et al. 2012; Campbell et al. 2012).

### 2.7.3. Lutte biologique

La lutte biologique est l'utilisation d'un ensemble de méthodes visant à détruire les micro-organismes nuisibles aux plantes cultivées par l'emploi judicieux de leurs ennemis naturels tels que les bactéries, les champignons, les insectes, les virus et les nématodes. La protection conférée par un agent biologique peut être basée sur un ou plusieurs mécanismes d'action :

La compétition pour les éléments nutritifs ou l'espace, le parasitisme, la production de substances toxiques pour le pathogène (antibiose) et/ou la stimulation des défenses naturelles de la plante (Yedidia et al. 1999 ; Haas et al. 2000).

Les travaux de Wang et al. (2003) ont montré que le champignon *Trichoderma viride* influence le développement et la survie de *A. rabiei* dans des essais en laboratoire, Dugan et

*al.* (2005) n'a trouvé que *A. rabiei* et son téléomorphe (*Didymella rabiei*) sont inhibées en présence de champignons tels que *Aureobasidium pullulans* et *Clonostachys rosea*.

#### 2.7.4. Lutte génétique

La sélection et les semis de cultivars hautement résistants sont les moyens les plus économiques et l'une des pratiques les plus importantes dans le contrôle de l'antracnose (Singh et *al.* 1981 ; Singh et Reddy, 1991). Bien qu'aucun génotype de pois chiche n'ait une immunité complète à l'antracnose, certains cultivars présentent toutefois un haut degré de résistance ou de tolérance à la maladie.

Les centres de l'ICARDA et l'ICRISAT développent un programme de recherche sur la création d'un matériel végétal résistant. Plusieurs variétés sont déjà mises au point (Nene et *al.*, 1981; Singh et Reddy, 1989).

Les essais au champ, réalisés en Inde durant 12 années (Kaur et *al.*, 2012), montrent que les lignées 'ILC200' et 'ILC 3279' sont résistantes ; en contradiction avec les travaux de Iqbal et *al.* (2010) qui mentionnent que l'ILC 3279 n'est pas hautement résistante.

En Algérie, Djaoui (1985) montre que les variétés locales (Ain Timouchent, Oran, Sebdo) sont très sensibles à tous les isolats de *Ascochyta rabiei*. Les travaux s'orientent actuellement vers les espèces sauvages.

A partir d'un croisement de *Cicer judaicum* et de *C. pinnatifidum*, Singh et Reddy (1993) ont obtenu une accession résistante au champ et même en serre. Collard et *al.* (2001) notent que certaines accessions de *C. bijugum*, *C. echinospermum* et *C. pinnatifidum* sont résistantes. Shah et *al.* (2005) ont enregistré la résistance de 14 accessions de *C. bijugum* , 1 de *C. echinospermum* , 12 de *C. judaicum* , 15 de *C. pinnatifidum* , 1 de *C. reticulatum* , et 3 de *C. yamashitae*.

La résistance à *A. rabiei* serait gouvernée par un seul gène dominant (Haafiz et Achraf, 1953 ; Vir et *al.*, 1975; Singh et Reddy, 1983; Iqbal et *al.*, 2004). Pour Labdi (1995) cette résistance est rarement monogénique et serait le plus souvent sous le contrôle de plusieurs gènes avec des effets d'interaction inter-alléliques diverses.

La plupart des programmes de sélection dans le monde se sont fortement appuyés sur deux génotypes de type Kabuli, ILC72 et ILC3279, en tant que sources de résistance contre l'antracnose (Muehlbauer et *al.*, 1998 a; Muehlbauer and Kaiser, 2002; Rubio et *al.*, 2004).

Des marqueurs moléculaires liés à deux QTL majeurs et un QTL mineur conférant la résistance à l'antracnose sont identifiés en utilisant des lignées recombinantes issues de croisements interspécifiques comme *C. arietinum* x *C. reticulatum* (Ali et *al.*, 2011). Les QTL

analysés permettant d'identifier des marqueurs moléculaires pourraient être utilisés pour évaluer la diversité des régions génomiques spécifiques à l'antracnose et pour mesurer les relations génétiques entre génotypes (Hamwiah et *al.*, 2013).

### Chapitre 3: Lutte biologique

#### 3.1. Généralité sur la lutte biologique

Au début du XXème siècle l'appellation "lutte biologique" a été proposée pour désigner toute méthode phytosanitaire mettant en œuvre un organisme vivant. En 1919, Smith a défini la lutte biologique comme l'utilisation des ennemis naturels pour le contrôle des maladies phytopathogène. L'étude de Sanford en 1926 sur les facteurs influençant la pathogénicité de la bactérie *S.scabies* matérialise ce concept en observant que des microorganismes saprophytes pouvaient entraîner une diminution de l'intensité de ce pathogène du sol.

Quelques années plus tard, Weindling a démontré que le champignon *Trichoderma lignorum* parasitait d'autres champignons du sol. En 1964, De Bach a donné une nouvelle définition à la lutte biologique : « c'est l'action des parasites, prédateurs ou pathogènes dans le maintien de la densité de la population des microorganismes à un niveau inférieur de celle observée en leur absence ».

Dans le sens écologique strict, l'application de la lutte biologique peut être considérée comme une stratégie pour restaurer la biodiversité dans les agro-écosystèmes par l'addition des antagonistes naturels (parasite ou prédateur). (Altieri, 1999 ; Nautiyal et *al.*, 2000).

La lutte biologique connaît ces dernières années un regain de popularité dû en partie à un certain échec de la lutte chimique. Les traitements chimiques tels que les fongicides donnent de bons résultats à court terme mais à long terme l'accumulation de leurs résidus dans l'environnement représente un danger qu'on ne peut plus négliger. En revanche, la lutte biologique a une efficacité relative et demande plus de connaissances et d'observations, mais à long terme, elle est beaucoup plus intéressante sur le plan environnemental et économique. (Corbaz, 1990 ; Toussaint, 1996).

#### 3.2. L'intérêt de la lutte biologique

En plus de son rôle dans la restauration de la biodiversité dans les écosystèmes, la lutte biologique présente un rôle important dans le contrôle des maladies phytopathogène. Emmert et Handelsman (1999) affirment que la lutte biologique peut être aussi efficace dans le contrôle des maladies phytopathogène que l'utilisation des fongicides.

Singh et *al.* (2003) ont montré que *Pseudomonas fluorescens* peut réduire de 78% la maladie de la pourriture du collet de la plante de piment rouge causé par *Sclerotium rolfsii*. Mao et *al.* (1998) montrent également, une réduction en plein champ des maladies de la tomate due aux *S. rolfsii*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici* par l'utilisation de deux agents biologiques *Gliocladium vireus* et *Burkholderia cepacia*.

Le genre *Trichoderma* a été particulièrement étudié et plusieurs espèces ont révélé un grand effet antagoniste contre des agents pathogènes responsable de maladies des plantes, d'autant plus que plusieurs produits phytosanitaires à base d'espèce de ce genre sont commercialisés (Rao et Krishnappa, 1995 ; Kaur et Mukhopadhyay, 1992 ; Fravel, 2005 et Errakhi, 2008).

### 3.3. Types de lutte biologique

La lutte biologique peut être divisée en trois catégories bien distinctes : classique, par augmentation et par protection.

La méthode classique vise l'implantation d'un antagoniste exotique dans un milieu où sévit un ravageur exotique (Cloutier et Cloutier, 1992). En l'absence du ou des ennemis qui contrôlent ses populations dans son aire de répartition d'origine, le ravageur n'a presque aucun obstacle à sa prolifération autre que la culture ou le milieu dont il dépend. C'est ainsi que plusieurs cas de lutte biologique ont été réalisés par l'introduction d'un ennemi naturel dans la nouvelle région, dans le but qu'il s'implante et se développe, pour contrôler le ravageur à long terme. Ce mode de lutte demande néanmoins beaucoup de recherche avant sa mise en place, surtout afin de s'assurer que l'espèce introduite s'acclimate et s'attaque spécifiquement au ravageur exotique et non aux organismes indigènes (Weeden et *al.*, 2007).

Un exemple de lutte biologique classique serait l'introduction de la coccinelle asiatique, *Harmonia axyridis* Pallas, contre les pucerons (hémiptères de la super-famille Aphidoidea), plusieurs espèces étant également exotiques (Roy et Wajnberg, 2008 et voir section 2.1).

Dans le cas de la lutte biologique par augmentation, le but est de contrôler un ravageur indigène en augmentant l'occurrence de son ou ses ennemis naturels, naturellement présents mais en quantité insuffisante (Cloutier et Cloutier, 1992) ou d'introduire à répétition d'un ennemi qui ne survivrait pas, par exemple, aux conditions hivernales (U.S. Congress, Office of Technology Assessment, 1995). De grandes quantités d'antagonistes sont libérées, le plus souvent à plusieurs reprises, pour contrôler les ravageurs. Un exemple de lutte biologique par augmentation serait la libération de grandes quantités d'un champignon parasite naturellement

présent dans les sols, *Beauveria bassiana*, contre la punaise terne, *Lygus lineolaris* Palisot de Beauvois (Jamal, 2008). Les ravageurs indigènes ont toujours des ennemis mais ces derniers sont parfois défavorisés par certaines conditions du milieu (utilisation de pesticides à large spectre). La lutte par protection vise à augmenter l'occurrence des ennemis naturels en changeant le milieu et les pratiques culturales. C'est sans doute le mode de lutte biologique le plus important et facilement disponible car il demande souvent peu d'efforts et que les ennemis sont adaptés à l'environnement visé (Weeden et al., 2007; U.S. Congress, Office of Technology Assessment, 1995)). Par exemple, certaines espèces d'insectes prédateurs comme les coccinelles du genre *Hyppodamia*, se nourrissent de pollen quand les proies deviennent plus rares. Malheureusement, elles ne peuvent pas se reproduire sous cette diète, ce qui peut faire chuter les populations. Cette situation peut être évitée en pulvérisant sur les cultures une solution de sucre et d'hydrolysate de levures, ce qui remplace temporairement les pucerons (Johnson, 2000).

### **3.4. Principaux organismes utilisés en lutte biologique**

Les principaux sont les micro-organismes, les nématodes, les insectes et les arachnides. Les organismes bénéfiques utilisés en lutte biologique (Annexe 1) doivent avoir un bon taux de reproduction, être spécifiques, avoir une bonne capacité d'adaptation et leur cycle de vie doit être synchronisé à celui du ravageur (Weeden et al., 2007).

Les auxiliaires qu'on cherche à utiliser sont le plus souvent des insectes entomophages ou des acariens entomophages ou parasites. Un prédateur bien connu est par exemple la coccinelle qui se nourrit de pucerons. Contre la pyrale, *Ostrinia nubilalis* ravageur du maïs, on utilise couramment une espèce de trichogramme qui est un micro-hyménoptère (*Trichogrammatidae*) dont les larves se développent au détriment des œufs de pyrale.

D'autres auxiliaires peuvent aussi être des bactéries ou des virus qui provoquent certaines maladies chez les insectes nuisibles. On parle de muscardines dans le cas de champignons.

Dans certains cas, des poissons peuvent également être utilisés. Ainsi, pour lutter contre la prolifération des anophèles, moustiques vecteurs du paludisme, l'Institut Pasteur d'Algérie introduisit avec succès dans ce pays en 1926 un petit poisson du Texas, la gambouse (*Gambusia*) qui se nourrit des larves de moustiques peuplant les eaux stagnantes.

#### **➤ Les prédateurs**

Les prédateurs sont principalement des espèces autonomes qui consomment directement un grand nombre de proies pendant toute leur durée de vie.

Les coccinelles, et en particulier leurs larves qui sont actives au printemps/été dans l'hémisphère nord, sont des prédateurs voraces de pucerons, et peuvent également consommer d'autres insectes de petites tailles, tels que les acariens, et les petites larves de Lépidoptères.

Les larves de nombreuses espèces de Syrphes se nourrissent également principalement de pucerons (une larve peut en dévorer jusqu'à cinquante par jour, ou 1000 dans sa durée de vie). Elles mangent également d'autres insectes de petites tailles, tels que les Tetranychidae. Les adultes se nourrissent de nectar et de pollen, dont ils ont besoin pour la production d'œufs.

D'autres prédateurs utiles dans la lutte des ravageurs de jardin comprennent les chrysopes, les Anthocoridae, les Staphylinidae et autres Coléoptères, moucheron prédateurs de pucerons, araignées, etc., ainsi que des prédateurs plus larges, tels que les grenouilles, les crapauds, les chauves-souris (les microchiroptères insectivores) et les oiseaux.

### ✓ **Les Hyménoptères**

À l'exception de quelques groupes supérieurs prédateurs (*Formicidae*, *Sphecidae*, *Vespidae*), les Hyménoptères utilisés en lutte biologique sont avant tout des parasites (parasitoïdes), utilisés contre des phytophages.

Parmi les insectes parasitoïdes, les Hyménoptères sont, de loin, les plus fréquemment utilisés en lutte biologique contre des ravageurs avec 88 % des essais de lutte contre 12 % pour les Diptères, essentiellement des *Tachinidae*.

La plupart des tentatives de lutte biologique par Hyménoptères ont été faite avec des insectes appartenant aux deux supers familles suivantes : les *Chalcidoidea* (58 %) et les *Ichneumonoidea* (31 %).

### ✓ **Les micro-organismes**

Les micro-organismes pathogènes comprennent les bactéries, les champignons et les virus. Ils tuent ou affaiblissent leur hôte et sont relativement spécifiques à l'hôte. Diverses maladies microbiennes des insectes sont naturelles, mais peuvent également être utilisées en tant que pesticides biologiques.

#### ➤ **Les bactéries**

Les bactéries utilisées pour la lutte biologique infectent les insectes par leur tube digestif, ce qui rend difficile leur utilisation pour le contrôle des insectes "suceurs" comme les pucerons et les cochenilles. *Bacillus thuringiensis* est l'espèce bactérienne la plus largement utilisée pour la lutte biologique, avec au moins quatre sous-espèces utilisées pour contrôler les

insectes nuisibles tels que les lépidoptères, les coléoptères, et les diptères. La bactérie est disponible en sachets de spores séchées qui sont mélangées avec de l'eau et pulvérisés sur les plantes vulnérables, tels que les *Brassica* et les arbres fruitiers. *Bacillus thuringiensis* est également intégrée dans certaines cultures génétiquement modifiées, dans le but de les rendre résistantes aux ravageurs ciblés.

### ➤ **Les Champignons**

Les champignons utilisés pour lutter contre les insectes sont connus comme les champignons entomopathogènes. Par exemple, au moins quatorze espèces connues attaquent les pucerons. *Beauveria bassiana* est utilisé pour gérer une grande variété d'insectes nuisibles, notamment les aleurodes, les thrips, les pucerons et les charançons. Et *Trichoderma harzianum* contre

L'anthracnose du pois et pois chiche

Il y a quelque exemple suivant :

#### **Champignons prédateurs**

\_ *Arthrobotrys irregularis* sur larves M.

\_ *Paecilomyces lilacinus*

#### **\_ Champignons ovocides**

\_ *Paecilomyces lilacinus*

\_ *Verticillium (chlamydosporium, lamellicola...)*

#### **\_ Champignons à spores adhésives**

\_ *Hirsutella rhossiliensis, H. minnesotensis*

\_ *Drechmeria coniospora*

\_ *Verticillium balanoides*

### ➤ **Les Virus**

Les virus d'insectes sont des organismes pathogènes obligatoires qui se reproduisent uniquement dans un insecte hôte. Ils peuvent fournir un moyen de lutte efficace et durable d'une espèce d'insectes nuisibles. Certains virus sont disponibles dans le commerce, mais beaucoup d'autres sont naturellement présent dans les systèmes agricoles et forestiers, et peuvent déclencher des épidémies de leur insecte hôte sans intervention humaine.

Les baculovirus sont spécifiques à certaines espèces d'insectes hôtes et se sont révélés être utiles dans la lutte biologique. Par exemple, le virus spécifique à la spongieuse (*Lymantria dispar*) (en anglais : *Lymantria dispar* multicapsid nuclear polyhedrosis, LdMNPV) peut agir comme régulateur naturel des populations de ce ravageur des forêts de feuillus et a été utilisé pour traiter de grandes zones forestières en Amérique du Nord sévèrement attaquées. Les larves sont tuées par le virus ingéré, et laissent des particules virales sur le feuillage qui infectera d'autres larves.

### **3.5. Présentation de *Trichoderma***

#### **3.5. 1. Généralité**

Depuis plus de soixante ans les propriétés antagonistes des *Trichoderma* sont connues c'est l'un des agents antagonistes le plus étudié. Ces dernières années :

Ils vivent dans le sol et les litières forestières, et hydrolysent la cellulose qui constitue leur nutrition, ils agrémentent volontiers leur « menu » d'autre champignon, comme ils prouvent produire des substances inhibitrices de leur croissance.

En 1932 déjà, WEINDLING proposait l'emploi de *Trichoderma viride* comme agent de la lutte biologique contre les maladies de fonte de semis

Depuis cette époque, plusieurs tentatives d'utilisation des *Trichoderma* se sont succédées avec des résultats contradictoires et souvent décevants

Une révision taxonomique des genres *Trichoderma* est réalisée par des travaux de (MUGHGHO, 1968, et RIFAT, 1969).

Les *Trichoderma* intéressent depuis longtemps les industriels en tant qu'agent cellulosique. En tant qu'agent biologique *Trichoderma* a été étudié surtout en Israël, aux Etats-Unis et en France. Les recherches ont porté sur son écologie, ses mécanismes d'action et sa sélection des souches les plus performantes. Parallèlement à cela ; des essais de lutte sont réalisés à petite échelle avec des résultats assez encourageants, ce qui permet aujourd'hui de généraliser leur utilisation.

Le genre *Trichoderma* a été décrit par FRIES, (1629) in PERSON, (1794) sous le nom de moisissure verte. Cette moisissure offrait aux biologistes de nombreuses voies de recherches.

- L'étude de la taxonomie et des caractères morphologiques des *Trichoderma*.
- L'étude de l'écologie de *Trichoderma*. Les TULSAN (1965) l'ont attaché à la forme parfaite *Hypocrua rufa*.

### **3. 5. 2. Taxonomie**

- Classe : *Adelomycète*
- Ordre : *Hhyphales*
- Famille : *Mucidinacées*
- Genre : *Trichoderma*
- Espèce : *Trichoderma harzianum*

### **3.5.3. Mécanisme d'action du Trichoderma**

Les *Trichoderma* agissent différemment sur les parasites par trois modes actions

#### **3.5.3.1. Action par antibiose**

Elles s'effectuent pour la production de substances antibiotique c'est la forme la plus fréquente d'antagonisme entre micro-organisme. Elle résulte de la production de deux types de substance inhibitrice : volatiles ou non volatiles (Maslouhi 1989)

En effet, *Trichoderma* exerce une action fongistatique à distance atteignant notamment les jeunes hyphes c'est surtout le fait de *Trichoderma harzianum*

On peut rencontrer chez les espèces de *Trichoderma* des souches capables d'inhiber la croissance mycélienne de *Rhizctonia solani* (Olivier in Davet, 1987)

#### **3.5.3.2. Action par mycoparasitisme**

Dans ce cas, l'antagoniste attaque le pathogène en perçant les hyphes et les envahissant, *Trichoderma* est un champignon connu pour ce type d'action (Elad, et al 1983).

Il s'attaque à son hôte en enroulant son mycélienne autour des hyphes de l'hôte ; il peut se fixer aussi par des crochets, après contact ; il secrète des enzymes de type B (1-3) glucanase, le mycoparasitisme pénètre dans les cellules d'hôte et Y consomme le contenu (Maslouhi 1989).

#### **3.5.3.3. Par compétition**

Les substances nutritives se trouvent en générale en quantité limité et les microorganismes entrent en compétition pour se les procurer.

Exceptionnellement lorsqu'un micro habitat tellurique est riche en substrat nutritif ; la compétition s'exerce sur leur l'espace, (Maslouhi, 1989).

#### **3.6.3.4. Par Élicitations**

Des travaux préliminaires de (Molot, 1983) montrent que les filtrats de culture de *Trichoderma* contiennent des fractions électriques d'une résistance au pathogène dans les feuille des végétaux. En règle générale les mécanismes antiparasitaires varient non seulement selon les protagonistes présents mais également selon les fonctions de milieu.

### **3.7. Les champignons endophytes**

Les champignons sont les microorganismes les plus fréquemment isolés en tant qu'endophytes (Strobel et *al.*, 2004). Le terme endophyte a été utilisé pour la première fois par De Bary en 1866 pour décrire les champignons qui colonisent l'intérieur des tissus végétaux des tiges et des feuilles (Moricca et Ragazzi, 2008).

La définition la plus couramment utilisée pour décrire les champignons endophytes est celle de Petrini (1991), qui définit les endophytes comme étant tous les microorganismes vivant de façon intra et/ou intercellulaire (Pimentel et *al.*, 2011) dans les organes végétaux internes à un certain moment de leur vie et peuvent coloniser les tissus végétaux internes sans causer de dommages apparents chez l'hôte (Hyde et Soyong, 2008).

Ils ont longtemps pensé que ces champignons ne montraient aucune fonction, ni intérêt. Cependant, ces dernières années, les endophytes ont été exploités (Moricca et Ragazzi, 2008) comme source de composés antimicrobiens, antioxydants, anticancéreux, insecticides, etc. (Maheshwari, 2006).

#### **I.7. 2. Rôles des champignons endophytes**

Les champignons endophytes reçoivent la nutrition, la protection, et la possibilité de se propager grâce à leurs hôtes (Clay et Schardl, 2002); et en retour la plante hôte bénéficie aussi de certains avantages procurés par l'endophyte.

Protection contre les insectes, Certains endophytes peuvent aussi protéger leurs hôtes contre les insectes en produisant des métabolites secondaires (Spiering et *al.*, 2005).

Protection contre les microorganismes pathogènes, Plusieurs mécanismes peuvent être utilisés par les endophytes pour inhiber les microorganismes phytopathogène.

**Chapitre 1****Matériel et méthodes****1.1. Objectif**

Ce travail consiste à évaluer l'effet « *in vitro* de *Trichoderma harzianum* » et deux champignons endophytes sur le développement (croissance mycélienne) de *Ascochyta rabiei*, À cet effet, deux méthodes de confrontation (directe et indirecte) sont testées.

**1.2. Matériels et Méthodes****1.2.1. Matériel fongique****1. 2. 1. 1 Agent pathogène :**

Les isolats de *Ascochyta rabiei* utilisés dans cette étude ont été obtenus par isolement à partir d'échantillons de tiges, de feuilles et de gousses de pois chiche présentant des symptômes caractéristiques d'antracnose. Les échantillons ont été collectés dans certaines régions de l'ouest Algérien (Tab.7).

**Tableau 07** : présentation des sites d'isolement

Région (wilaya)	Sites	date
1. Ain témouchent	(1) hammam bouhdjer	juin 2014
2. Ain témouchent	(2) hammam bouhdjer	Juin 2014
3. Mostaganem	(1) mesra (yanaro)	Juin 2014
4. Mostaganem	(2) sidi Lakhdar	Juin 2014
5. Mascara	Mascara (1-2-3)	Juin 2014
6. Sidi Bellabes	(1) belarbi	Juillet 2018
7. Sidi Bellabes	(2) ITCMI	Juillet 2015
8. Sidi Bellabes	(3) belarbi (guerbenzou)	Juillet 2018

**1.2.1.2. Les antagonistes**

Les manipulations portant sur l'étude de pouvoir antagoniste contre *Ascochyta rabiei* agent responsable de l'antracnose du pois chiche ont été réalisés par l'utilisation de « *Trichoderma harzianum* » acquit au niveau de laboratoire de phytopathologie de l'université

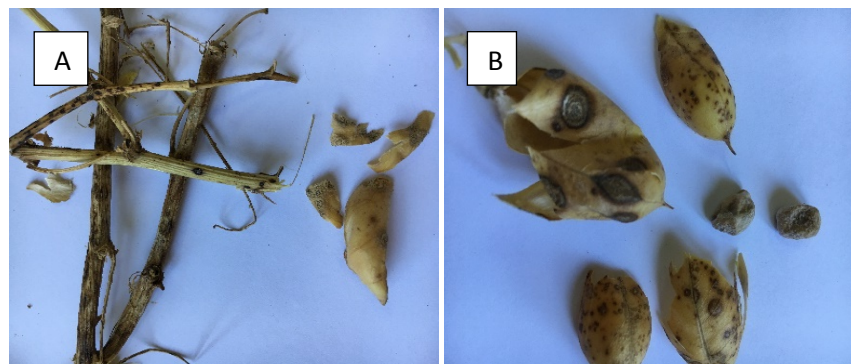
de Mostaganem et de deux champignons endophytes obtenus par isolement à partir d'organes de plantes de pois chiche (tiges, feuilles et gousses) présentant des symptômes d'antracnose.

### 1.2.3. Milieux de culture utilisés

Selon les besoins expérimentaux, deux types de milieux de culture (CDA et PDA) sont retenus. La composition des milieux de culture utilisés est indiquée en **annexe N°1**. Le choix d'un milieu de culture est basé sur son adéquation pour un bon développement du pathogène. Pour la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei*, le milieu PDA est choisi. Le milieu de pois chiche (Chickpea Seed-Meal Dextrose Agar), favorise une bonne croissance mycélienne et une sporulation importante (Singh et Reddy, 1990 ; Trapero-Casas et Kaiser, a et b, 1992 ; Basandrai et *al.*, 2005 ; Bayraktar et *al.*, 2007).

### 1.2.4. Technique d'isolement et purification de *Ascochyta rabiei*

Les zones nécrosées (Fig.11) contiennent non seulement l'agent pathogène, mais également des saprophytes qui peuvent compliquer l'isolement du parasite en cause. Les échantillons de 1 à 2 mm de longueur sont nettoyés superficiellement à l'aide d'un coton imbibé d'alcool à 96%. Ils sont ensuite désinfectés pendant 3 minutes, dans une solution d'hypochlorite de sodium à 2 %, et rincés trois (3) fois avec l'eau distillée stérile pendant 1min, sachés sur du papier filtre stérile puis déposés aseptiquement sur un milieu de culture CDA à raison de quatre (4) fragments par boîte de Pétri et mis en incubation à 22 °C sous une photopériode de 12 heures. Dès l'apparition des filaments mycéliens autour des petits fragments, des observations microscopiques sont effectuées, Une fois l'identification primaire de *Ascochyta rabiei* est établie, des repiquages successifs sont réalisés afin d'obtenir des cultures pures.



**Figure 11:** Organes de pois chiche (tiges **A**, gousses **B**) nécrosés  
(originale 2019)

### 1.2.5. L'obtention des cultures monospores

Après purification des souches isolées, un repiquage a été effectué sur milieu CDA (annexe 2) les boîtes de pétri sont mis à incuber à 20°C sous régime photopériodique, condition favorable à la conidiogénèse (BARRAULT et al 1990), une suspension mère est alors réalisée dans de l'eau distillée stérile. Par dilution successive, on obtient une suspension conidienne d'une concentration (1000 conidies /ml) telle quelle permette, à l'aide d'une pipette pasteur de déposer sur une lamelle stérilisé 4 à 5 microgoutte ne renferment qu'un nombre réduit de conidies à défaut d'une seule.

L'observation du nombre de conidies présentes dans une microgoutte est faite au microscope, le dessèchement de la microgoutte étant évité par l'usage d'une chambre humide de VAN TIAGHAM préalablement stérilisée, après avoir été repérées, les microgouttes ne renferment qu'une seule conidie sont individuellement captés par capillarité à l'aide d'un petit triangle de papier filtre stérilisé. Ce dernier est aseptiquement déposé à la surface d'un substrat nutritif (CDA gélosé) et mis à incubé à 22°C et à obscurité.

### 1.2.6. Technique d'évaluation de la croissance mycélienne

Des explants circulaires de 5 mm de diamètre sont prélevés à l'aide d'un emporte-pièce stérile à partir d'une colonie jeune de 10 jours. Chaque explant est déposé au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu CDA. Le diamètre de la colonie a été évalué en mesurant les diamètres perpendiculaires de la colonie au bout du dixième jour de culture. Pour chaque isolat, nous avons réalisé 6 répétitions. Les boîtes sont mises à incuber à  $20 \pm 2$  °C sous une lumière blanche alternée (photopériode de 12 heures).

#### 1.2.6.1. Caractérisation cultural

La caractérisation des isolats obtenus est basée sur les caractères morphologiques du champignon et l'aspect cultural (la couleur des colonies, aspect du mycélium, couleur du cirrhe, zonations) exprimés sur milieu de culture CDA.

#### 1.2.6.2. Caractérisation morphologique

Les caractères sont observés sur des thalles âgés de 10 jours et provenant d'un clone (culture monosporale) de façon à éviter les variations morphologiques qui seraient dues à plusieurs souches. Toutes les cultures sont soumises à des conditions identiques : température de  $22 \pm 0,5$  °C, lumière alternée (12h de photopériode).

De nombreuses espèces fongiques ont des exigences générales identiques ou même très proches, mais chaque espèce ne manifeste une croissance et une sporulation optimales que dans des conditions particulières. Ces dernières sont surtout déterminées par la qualité et la quantité des éléments nutritifs présents dans le milieu de culture (Moreau, 1953).

Dans le cas de *A. rabiei* l'utilisation du milieu de culture CDA est recommandée. Ce dernier étant favorable à sa croissance mycélienne (Kaiser, 1973; Labdi, 1990). Il permet aussi une bonne sporulation chez ce pathogène. Aussi, toutes nos études morphologiques et culturelles sont réalisées sur ce milieu.

#### **1.2.6.3. Caractérisation macroscopique**

L'étude des caractères macroscopiques des isolats est basée sur la description morphologique de colonies incubées pendant 15 jours sur les deux milieux (CDA et PDA) à une température de 22°. Les critères retenus pour la caractérisation des colonies sont les suivants :

- Couleur de la face supérieure des colonies
- Aspect de mycélium
- Abondance des pycnides
- Croissance mycéliennes (mm)

#### **1.2.6.4. Caractérisation microscopique**

Dans cette partie l'étude de quatre critères est réalisée afin de caractériser les isolats au microscope :

- Couleur des pycnides
- Forme des pycnides
- Forme des conidiospores
- Nombres des pycnidiospores

#### **1.2.6.5. Evaluation de la sporulation**

Elle est réalisée après son apparition sur des cultures *in vitro* du champignon. La sporulation de *Ascochyta rabiei* étant difficile à obtenir, nous avons eu recours à un stress thermique (froid et chaud). La technique consiste à verser 10 ml d'eau distillée stérile dans la boîte contenant la colonie du parasite, après 20min d'incubation à température (25°C), les colonies sont raclées superficiellement à l'aide d'une tige en verre afin de libérer les pycnidiospores.

La suspension du spore est filtrée à l'aide d'une mousseline puis collectée dans un erlenmeyer. À partir de celle-ci nous avons prélevé «3 échantillon de 100 ul. Chaque échantillon est déposé sur une lame de malassez puis recouvert d'une lamelle. Le nombre de conidies est compté sous microscope optique.

### 1.3. Etude « *in vitro* » de confrontation des antagonistes avec *Ascochyta rabiei*

L'étude de l'effet antagoniste des deux isolats de *Trichoderma harzianum* et les champignons endophytes sur l'agent causal de l'antracnose du pois chiche « *Ascochyta rabiei* » est réalisée en utilisant les techniques de confrontation directe et indirecte.

#### 1.3. 1. Méthode de confrontation directe

La technique de la confrontation directe décrite par Sivan et Chet (1989), consiste à

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = (\text{R témoin} - \text{R test}) / \text{R témoin} \times 100$$

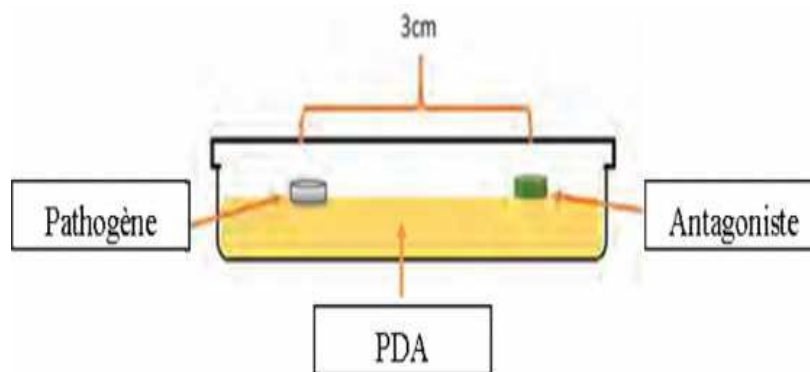
Co-ensemencer dans la même boîte de Pétri contenant un milieu CDA, deux pastilles gélosées prélevées à partir de cultures de l'antagoniste et du pathogène prélevée à partir d'une culture âgée de 7 jours. Les témoins représentent uniquement le pathogène ou l'antagoniste repiqué au centre de la boîte de Pétri contenant le milieu CDA. Les boîtes sont par la suite incubées à 20°C et une photopériode de 12h pendant 10 jours (Fig.12).

Les notations sont prises chaque jour en mesurant la croissance mycélienne des deux antagonistes en suivant le même sens de mesure (de l'explant vers le centre de la boîte).

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène est calculé selon la formule de Datta et *al.* (2004.).

R témoin: distance radiale max de la croissance du champignon pathogène

R test: distance radiale sur une ligne en direction de l'antagoniste. Après 2 à 10 jours d'incubation la région d'interface a été observée sous microscope optique en vue d'étudier le mode d'action du l'antagoniste testé.



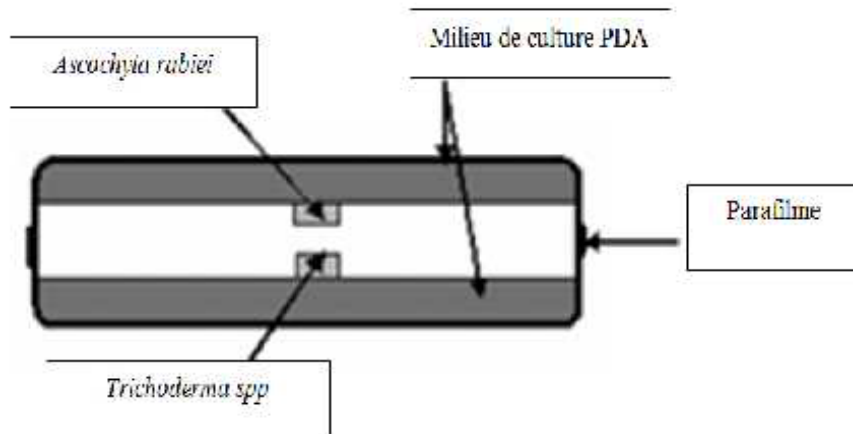
**Figure 12 :** Technique de la confrontation directe sur milieu solide.

#### 1.3. 2. Méthode de confrontation indirecte

Appelée aussi confrontation à distance. Cette méthode consiste à repiquer l'antagoniste et le pathogène dans deux boîtes séparées, un assemblage est réalisé par superposition des

deux boîtes, l'antagoniste (*Trichoderma harzianum*. Ou champignons endophytes) en bas et *A. rabiei* en haut (Fig.13).

La jonction entre les deux boîtes est assurée par des couches de para film afin d'éviter toute déperdition des substances volatiles. Les conditions de culture sont identiques à celles de la confrontation par contact direct sur milieu de culture



**Figure 13** : Présentation schématique de la confrontation indirecte *in vitro*. (BAYOU Rima.BELBAZ Nacira.2017)

#### 1.4. Etude statistique

Les résultats obtenus sont soumis à une analyse de variance selon le dispositif expérimental retenu suivie d'une comparaison de moyenne selon test de Newman-keuls au risque  $\pm d 0.05$  sous le logiciel statistique STATBOX (version 6.01).

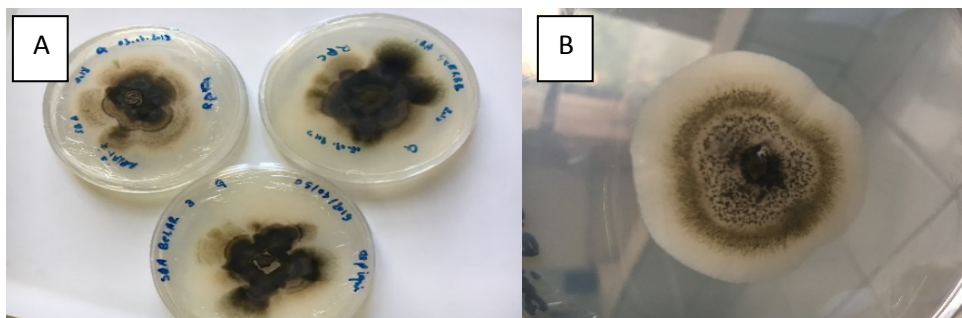


**Chapitre 2****Résultats et discussion****2.1. Résultats**

L'objectif de cette étude porte sur la caractérisation de 16 isolats de *Ascochyta rabiei* obtenus dans différentes régions de culture de pois chiche du nord-ouest algérien. Le deuxième volet consiste à évaluer l'effet antagoniste *in vitro* de trois champignons sur la croissance mycélienne des isolats de *Ascochyta rabiei*.

**2.1.1. Isolement et identification des champignons à partir du végétal**

A partir des tiges et des gusses des plants infectés du pois chiche, on note un développement d'isolats fongiques crémeux à faible vitesse de croissance. Après 15 jours d'incubation sur milieu CDA à  $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ , pH = 5,8 et une photopériode de 12 h, les résultats obtenus montrent certaines différences macroscopiques entre les trois isolats retenus (Fig. 14). Selon les isolats l'aspect des cultures est variable, par la couleur des colonies, l'abondance du mycélium et la couleur des pycnides. On observe également une différence assez importante dans la moyenne de croissance des isolats de *Ascochyta rabiei*, selon les milieux de culture utilisés (CDA ou PDA). L'incubation des cultures sous un cycle d'éclairage alternatif (16 heures d'éclairage, 8 heures d'obscurité) est à l'origine de la zonation observée au niveau de l'ensemble des colonies. Les hyphes mycéliens de *Ascochyta rabiei* ont un développement relativement long (environ 15 jours), elles sont d'abord crémeuses, puis prennent des teintes extrêmement variées selon les isolats et le milieu (noir, vert clair ou foncé, marron et brun).

**Figure**

**14:** Aspects culturels des isolats de *Ascochyta rabiei* sur milieu de culture CDA, (Aspect générale de trois isolats (A), isolat avec apparition des pycnides (B)), (originale 2019).

L'observation microscopique réalisée sur les isolats de *Ascochyta rabiei* montre la présence de pycnidiospores à l'intérieur des pycnides (Fig.15). Le stade imparfait est caractérisé par la

Formation des pycnides apparaissant sous forme du point noir visibles à l'œil nu, portant des Conidies ou pycnidiospors.

#### - Les pycnides

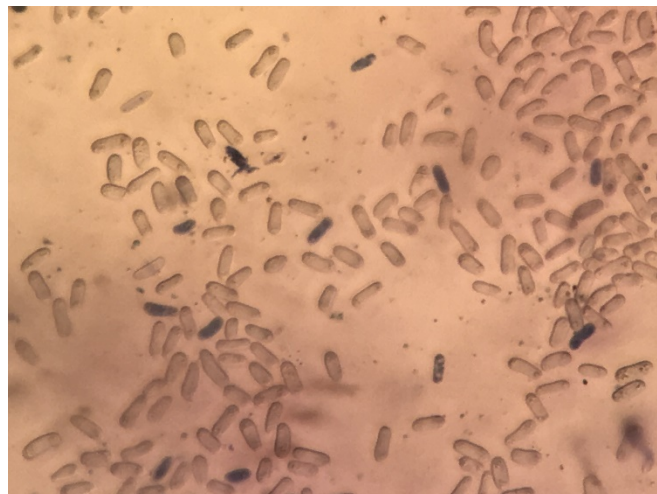
Elles sont caractérisées sous forme de « carpospores » communément appelées « Pycnides », ils sont globuleux et forment toujours une véritable cavité, leur couleur varie du blanc au brun foncé selon les milieux de culture. Les pycnides sont disposées en cercles concentriques et munies d'un ostiole .

#### - Les pycnidiospors

Ce sont des conidies qui sortent à maturité en masse des pycnides engluées dans un mucus (Cirrhe). Elles sont hyalines, cylindriques ou ellipsoïdales et ovales à oblongues, les extrémités des conidies sont étroites ou légèrement incurvées et arrondies. Certaines sont bicellulaires présentant une cloison excentrique qui provient des parois latérales mais la plupart sont unicellulaires.

Les pycnides observées sont de forme sphérique ou en forme de poire, contenant de nombreuses spores hyalines unicellulaires (pycnidiospors) et occasionnellement bicellulaires naissant ou conidies sur de courts conidiospores intégrés dans une masse mucilagineuse.

Pour chaque isolat nous avons compté entre 3 à 4 % de spores qui présentent une cloison (bicellulaires), les autres étant monocellulaires. Les conidies sont hyalines droites, cylindriques et arrondies à l'une ou aux deux extrémités (Fig.15).



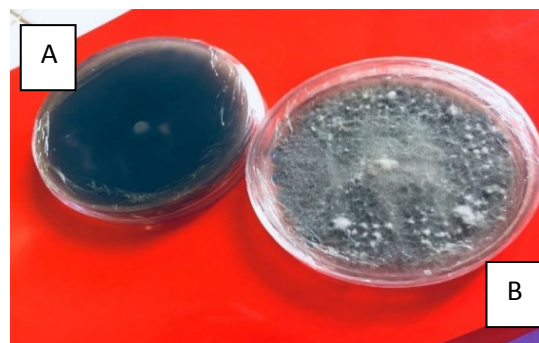
**Figure 15 :** Conidies de *Ascochyta rabiei* observé à la microscopie (x 40) (Originale, 2019).

#### 2.1.2. Isolement et identification des champignons endophytes

L'observation morphologique et microscopique de cultures obtenues par isolements à partir de fragments de plants de pois chiche infectés montre que les isolats obtenus sont caractéristiques à savoir :

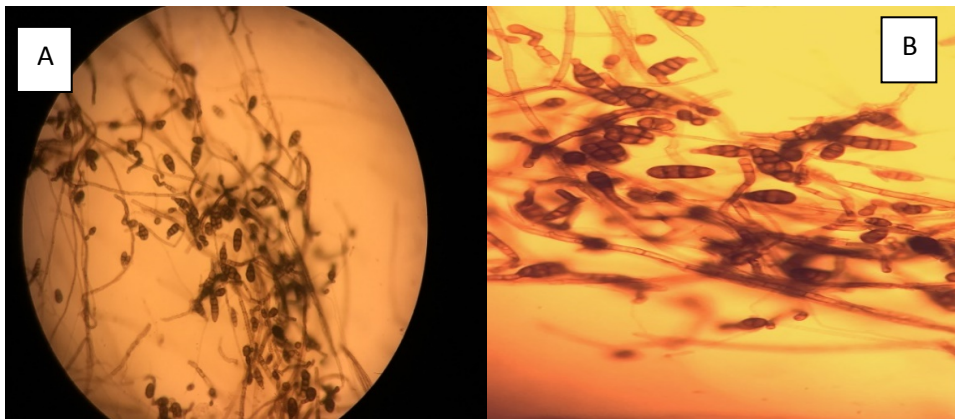
#### 2.1.2.1. Endophyte 1

Après 7 jours d'incubation sur PDA, les isolats fongiques présentent une variation considérable entre les caractères morphologiques. La couleur de la colonie varie du clair au foncé à une teinte olivâtre verdâtre et grisâtre. La majorité des colonies ont un aspect duveteux ou cotonneux, avec variations de la croissance mycélienne et des bordures régulières et irrégulières (Fig.16)



**Figure 16:** Aspect cultureux des isolats endophytes obtenus sur milieu de culture PDA .(face inférieure (A) et face supérieure (B))(Originale ,2019).

Les conidies observées se présentent en chaîne ou solitaire, leur formes varient d'oblique à ovale ou enclavées, de couleur brune jaunâtre à brune foncé, avec 1 à 8 transepta et 1 à 3 longisepta., (Fig.17) .



**Figure 17** : Observation microscopique des conidies (A X 10 ET B X40) (Originale, 2019).

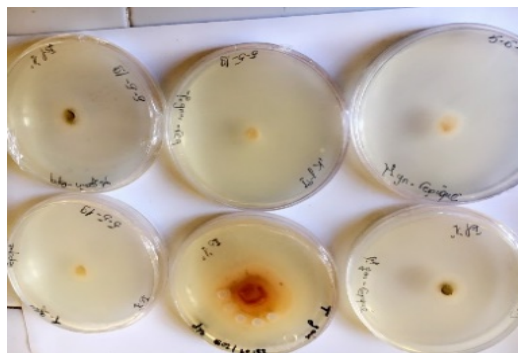
Les conidies sont septées avec cloisons transversales et longitudinales, les cellules sont multi nucléées (pluricellulaires) de couleur foncée généralement piriformes de tailles variable selon les espèces (Rotem, 1994),

D'après les observations morphologiques (macro et macroscopiques) réalisées et en s'appuyant sur une comparaison avec la clé de détermination des champignons ; nous pensons que le champignon endophyte (1) appartient genre *Alternaria* sp.

#### 2.1.2.2. Endophyte 2

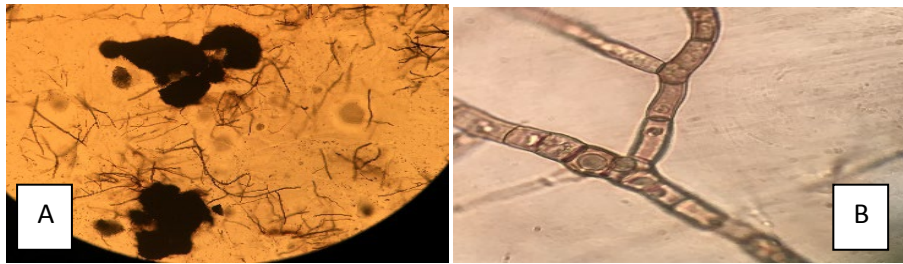
##### Observation microscopique

Après 7 jours d'incubation sur PDA, les isolats fongiques présentent une variation des caractères morphologiques. La couleur de la colonie est rose claire à beige, (Fig. .18)



**Figure 18** : Aspect culturaux des isolat d'endophyte sur milieu de culture PDA, (Originale,2019).

Les pycnides sont de couleur marron foncé avec un bec allongés, leur mycélium est cloisonné bien ramifié de couleur marron, (Fig. 19)



**Figure 19** : Observation microscopique du champignon endophyte 2, ( A X10 la pycnide, X40 le mycélium ),(originale,2019).

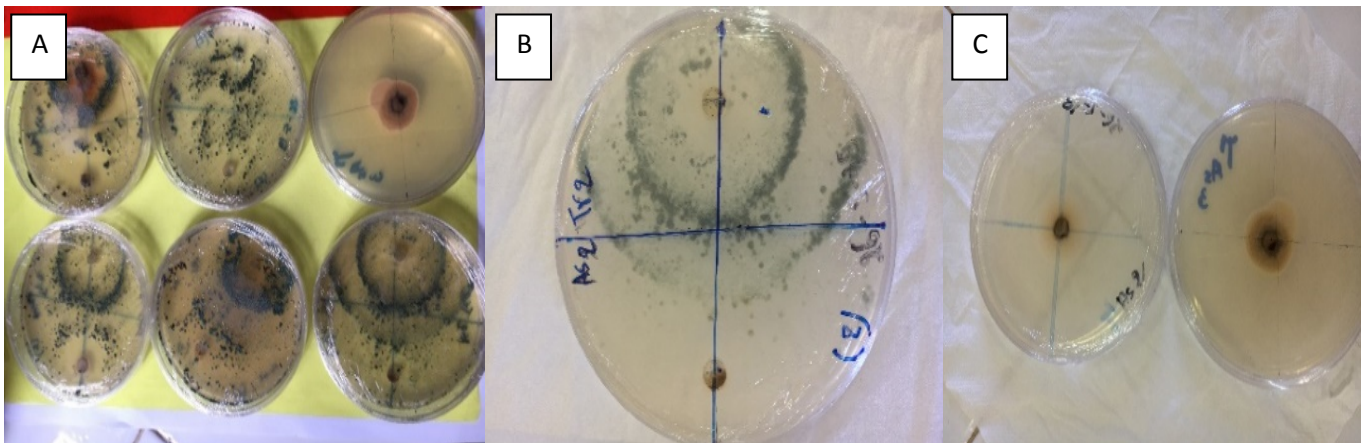
Les éléments recueillis après les observations macroscopiques et microscopiques n'ont pas permis d'identifier ce champignon.

### 2.1.3. Résultats d'antagonistes

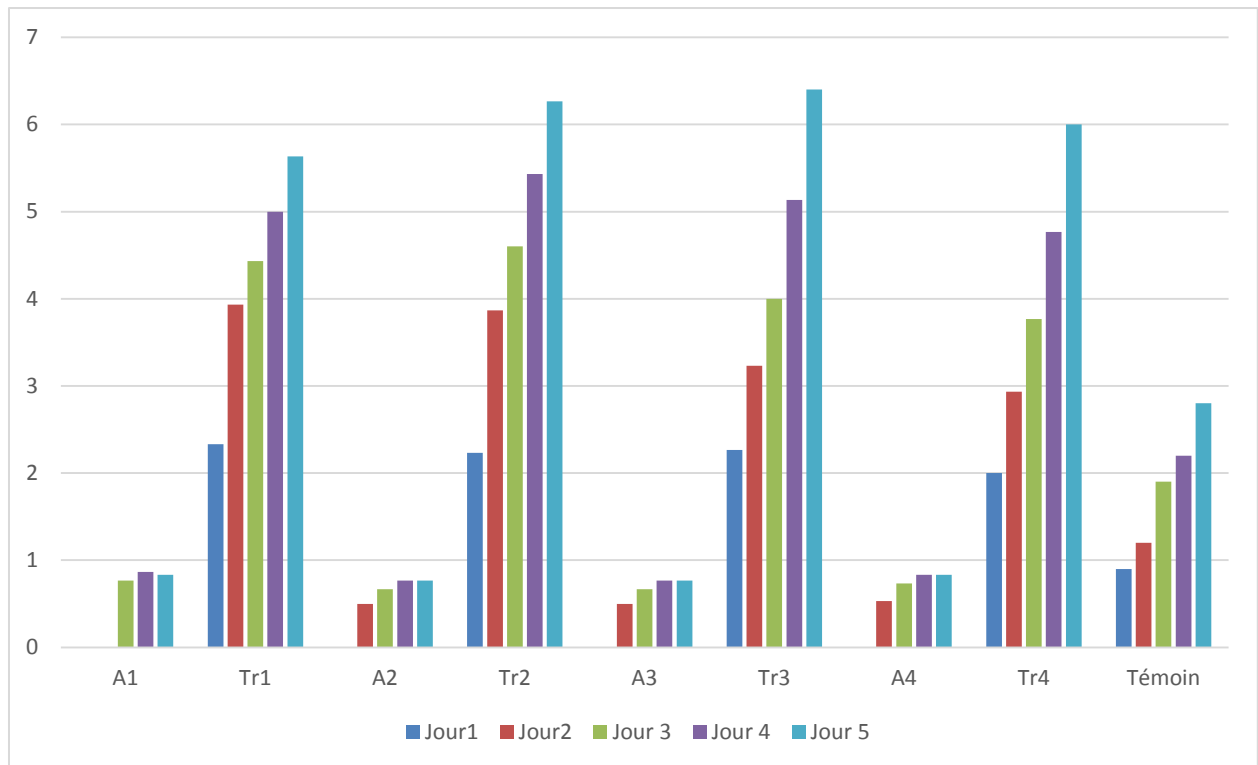
#### 2.1.3.1. *Ascochyta rabiei* et *Trichoderma harzianum*

##### 2.1.3.1.1. Confrontation directe

Les résultats obtenus montrent que la croissance mycélienne des souches de *Ascochyta rabiei* est différente suite à l'action antagoniste exercée par *Trichoderma harzianum*. (Fig. 20 et 21).



**Figure 20** : Effet inhibiteur d'antagoniste sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* par confrontation directe ( A :face supérieure des colonies ,B :face inférieure et C :témoin )  
(Originale ,2019)



**Figure 21** : La croissance mycéliennes de 4 isolats de *Ascochyta rabiei* (A1 ;A2,A3 et A4) en présence de *Trichoderma harzianum* (confrontation directe).

D'après ce résultat on constate que pour les souches témoins de *Ascochyta rabiei*, la croissance mycélienne est supérieure à celles des isolats mis en confrontation avec *Trichoderma harzianum*.

Ces résultats montrent également que pour l'ensemble des confrontations *Ascochyta rabiei* – *trichoderma harzianum* les colonies de ce dernier envahissent celles de *Ascochyta rabiei* avec une vitesse de croissance variable selon les isolats

Après 24 h d'incubation, les souches de *Ascochyta rabiei* n'ont pas été influencées par la présence de *Trichoderma harzianum* et ont montrées une vitesse de croissances proche des souches de témoins, à l'instar de la souche A1 qui a enregistré 0,1 cm en présence de *Tr harzianum* 2,1 cm et 0,9cm pour le témoin.

Dès le deuxième jour, l'influence de *Trichoderma harzianum* devient remarquable sur les croissances des souches de *Ascochyta rabiei* (confrontées)

Après 4 jours d'incubation on note la formation d'une zone d'inhibition suivi par un ralentissement des souches confrontées à l'antagonisme, comme c'est le cas de la souche 3 où

la croissance mycélienne est de 1,8 cm avec *Trichoderma harzianum* 6,4 cm et 2,8cm concernant le témoin.

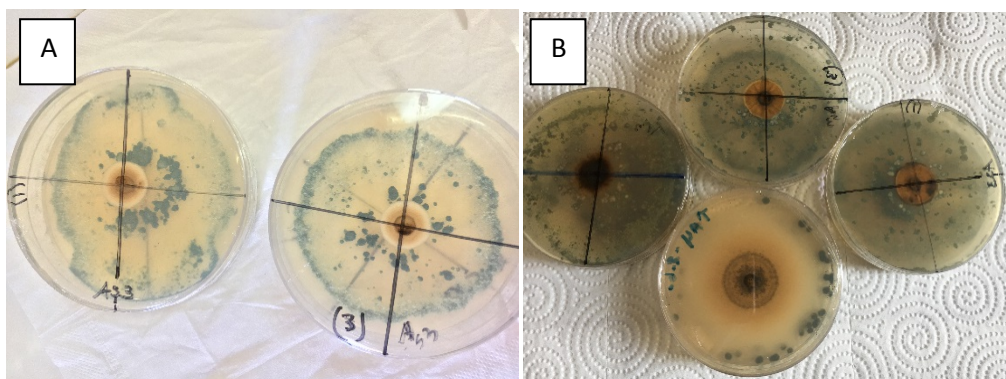
L'analyse de la variance calculé avec le test NEWMAN-KEULS au seuil de 5% montre une action significative des *Trichoderma harzianum* sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei*, aussi une différence significative entre les facteurs étudiés, souche parasites; souche antagoniste et leur interactions.

#### 2.1.3.1.2. Confrontation indirecte

Les résultats obtenus à travers ce test, sont illustrés par les figures 22 et 23 et mentionnés par les tableaux 3 et 4 (Annexes).

Ces résultats montrent une action inhibitrice des colonies de *Trichoderma harzianum* sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* comparativement aux témoins.

L'influence de *Trichoderma* a été remarquée dès les premières heures du test, où on a enregistré une différence de croissance mycélienne entre les souches de *Ascochyta rabiei* confrontées à l'antagoniste et ceux du témoin.



**Figure 22 :** Effet inhibiteur d'antagoniste *Trichoderma harzianum* sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* par rapport au témoin par une confrontation indirecte (A : après 4 jours et B : après 10 jours) (Originale, 2019)

**Figure 23:** La croissance mycélienne de 4 isolats d'*Ascochyta rabiei* (A1, A2, A3 et A4) en présence de *Trichoderma harzianum* (confrontation indirecte).

-A titre d'exemple, la croissance mycélienne de la souche A4 après 24 heures d'incubation se présente comme suit : 0,5 cm avec *Trichoderma harzianum* 1,6 cm et 0,9 cm pour le témoin.

On remarque que la souche A2, est fortement inhibé par la substance émise par *Trichoderma harzianum*, l'isolat 3 enregistre après 4 jours d'incubation une croissance mycélienne de 0,9 cm en présence de *Trichoderma harzianum* et 5,2 cm et 2,8 cm pour le témoin.

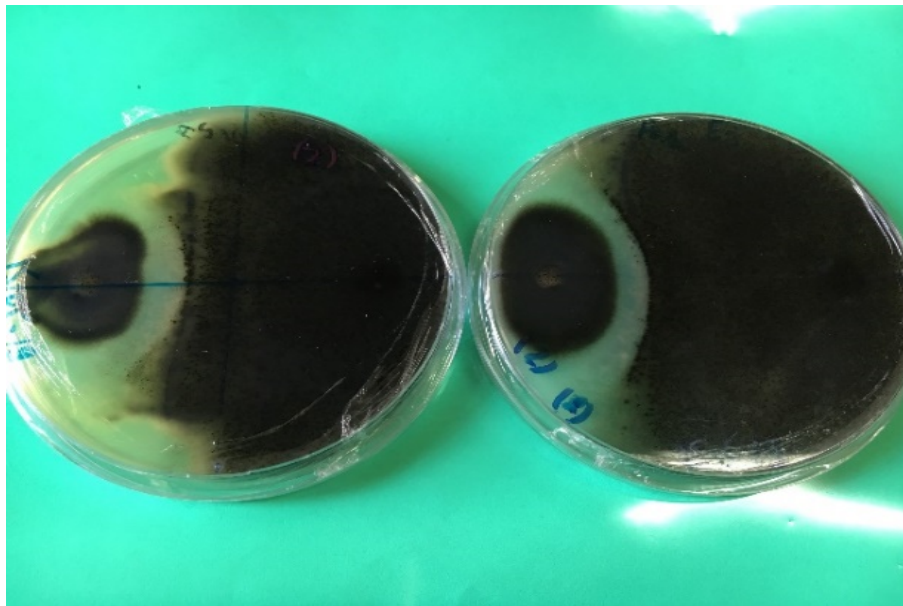
A l'exception de la souche A3, ce test montre que l'influence de *Trichoderma harzianum* exercée sur toutes les autres souches ne représente pas de différence.

A l'instar de la première technique (confrontations directe), l'analyse de la variance révèle une différence significative pour les trois facteurs (*Ascochyta rabiei*, antagoniste et leur interaction).

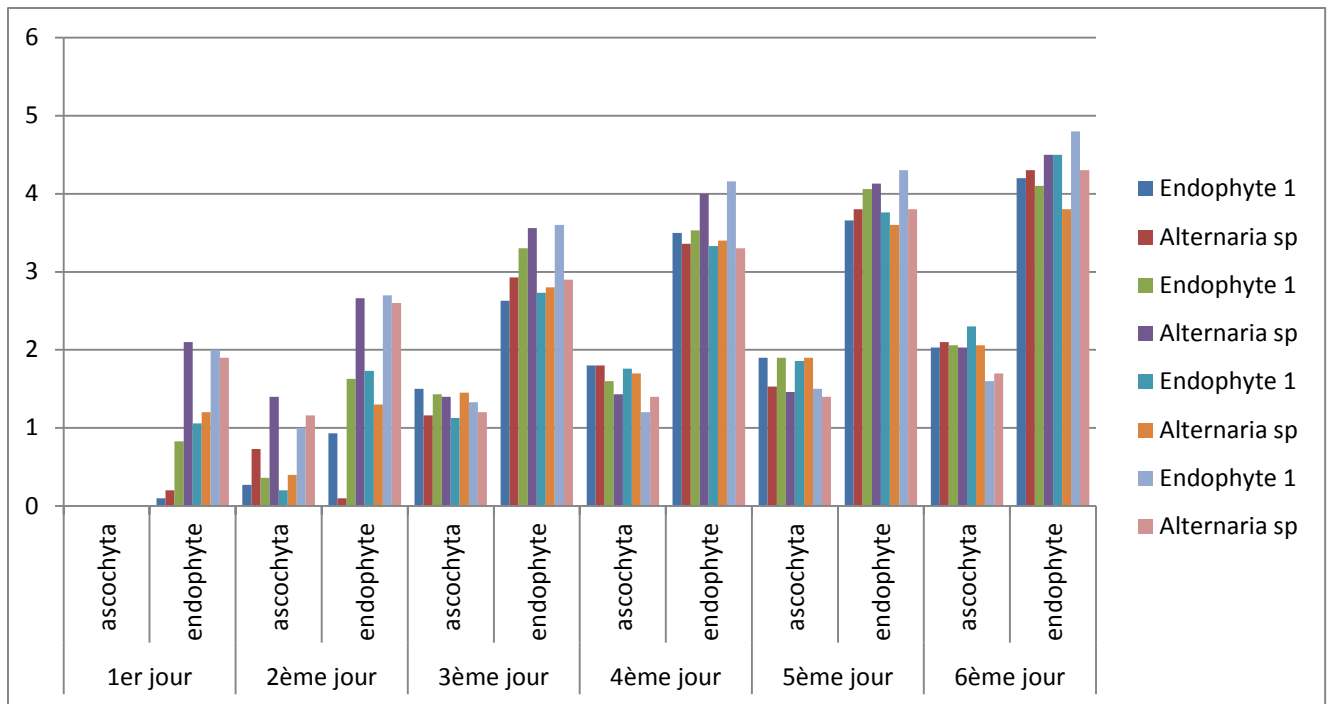
### 2.1.3.2. *Ascochyta* et les endophytes

#### 2.1.3.2.1. Confrontation directe

Pour les deux champignons endophytes (*Alternaria*. Sp et endo 2), les résultats obtenus montrent une action inhibitrice à l'égard des isolats de *Ascochyta rabiei* comme le montre les figures 24 et 25.



**Figure 24:** Effet inhibiteur des champignons endophytes sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* par confrontation directe (Originale ,2019)



**Figure 25:** La croissance mycéliennes de 4 isolats de *Ascochyta rabiei* (A1 ; A2, A3 et A4) en présence des champignons endophytes (*endo 1* et *Alternaria sp*) (confrontation directe)

### Les résultats obtenus montrent

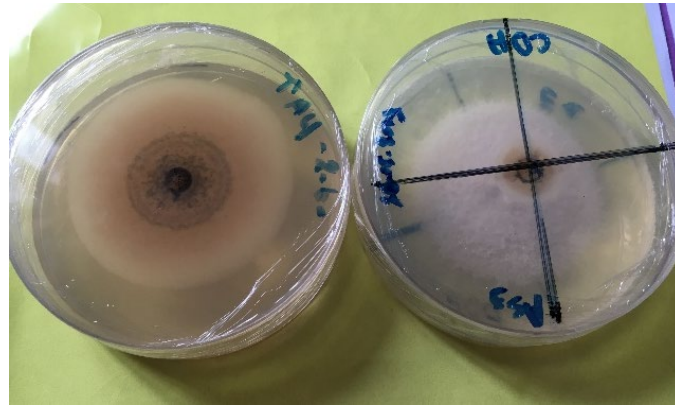
Les observations effectuées au cours de nos mesures, montrent que la croissance mycélienne de pathogène *A. rabiei* à la présence des deux différents endophytes est faible par rapport au témoin. Au 6<sup>ème</sup> jour le développement de l'isolat 1 d'*Ascochyta rabiei* est de 2.03 cm de diamètre à la présence d'*endophyte 1* (4.2 cm) et de 2.1 cm à la présence d'*Alternaria sp.* (4.3 cm), l'isolat 2 montre un développement de 2.06 cm à la présence d'*endophyte 1* (4.1 cm) et de 2.03 à la présence d'*Alternaria sp.* (4.5 cm), 2.3 cm et 2.06 cm pour l'isolat 3 d'*Ascochyta rabiei* à la présence d'*endophyte 1* et *Alternaria sp.* (4.5 cm et 3.8 cm à l'ordre pris) avec 1.6 cm et 1.7 cm de développement pour l'isolat 4 à la présence d'*endophyte 1* et *Alternaria sp.* avec un développement de 4.8 cm et 4.3 cm de ces derniers.

On remarque que la croissance d'isolat 4 d'*Ascochyta rabiei* est faible par rapport aux autres isolats (isolat 1, isolat 2, isolat 3) à la présence des deux endophytes (*endophyte 1* et *Alternaria sp.*) se qui montre un effet d'inhibition par ces agents antagonistes.

#### 2.1.3.2.2. Confrontation indirecte

##### 2.1.3.2.2.1. *Ascochyta* et endophyte 1

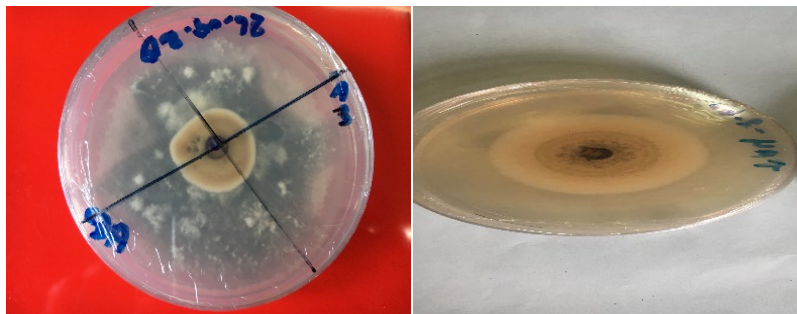
Les résultats obtenus montrent un effet inhibiteur exercé par endophyte 1 sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei*



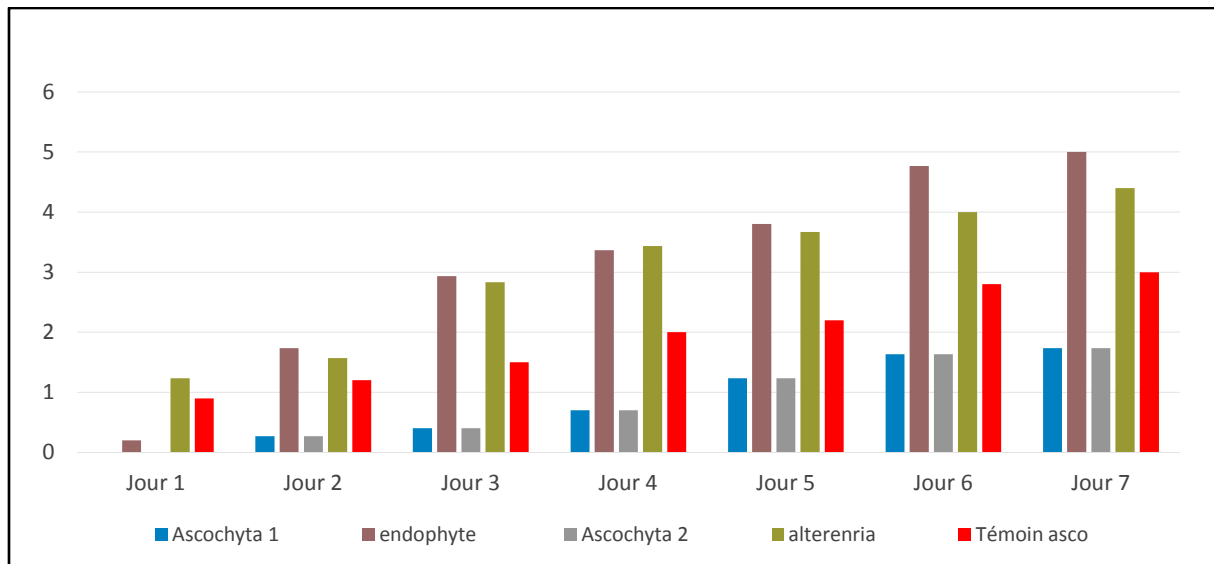
**Figure 26 :** Effet inhibiteur de endophyte 1 sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* par une confrontation indirecte (Originale ,2019)

#### 2.1.3.2.2.2. *Ascochyta* et *Alternaria* sp

La technique utilisé a permis de constaté une réduction de la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* sous l'effet de *Alternaria* sp. Cette inhibition peut être interprété grâce à l'action de substances volatiles émissent par le champignon antagoniste,(Fig.,27 et 28) .



**Figure 27:** Effet inhibiteur de *Alternaria* sp sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* par une confrontation indirecte (Originale ,2019)



**Figure 28 :** La croissance mycélienne de 2 isolats de *Ascochyta rabiei* (A1 et A2) en présence d'*Alternaria* sp et endophyte 1 (confrontation indirect)

Selon l'histogramme présent, on remarque qu'il y a une faible croissance mycélienne des 2 isolats d'*Ascochyta rabiei* à la présence d'endophyte et *Alternaria* par rapport au témoin avec une absence de développement pour chaque isolat en 1<sup>er</sup> jour.

Le deuxième jour, *Ascochyta rabiei* montre un développement de 0.3 cm pour chaque isolat avec un développement de 1.8 cm pour l'endophyte et 1.7 pour *Alternaria*.

Après 6 jours, les deux isolats d'*Ascochyta rabiei* arrivent au diamètre de 1.6 cm de développement avec une croissance de 4.7 cm d'endophyte et 4 cm d'*Alternaria*.

Cette réduction est suivie par un arrêt complet de la croissance de pathogène. En ce qui concerne les agents antagonistes (endophyte et *Alternaria* sp) leur croissance à la fin de l'incubation est 5 cm pour l'endophyte et 4.3 pour *Alternaria* sp.

## 2.2. Discussions

La lutte biologique est considérée comme le moyen de lutte alternative à la lutte chimique le plus efficace et économique contre les maladies des plantes.

Cette étude consiste en une approche de contrôle biologique de *Ascochyta rabiei* qui est l'agent responsable de l'antracnose du pois chiche, en utilisant un agent antagoniste d'un genre largement utilisé dans la lutte biologique (*Trichoderma harzianum*). Parallèlement, deux

champignons endophytes obtenus par isolement à partir d'échantillon de plantes de pois chiche présentant des symptômes de l'antracnose sont également testés.

L'effet antagoniste des isolats (*Trichoderma harzianum* et les deux endophytes) ont été testés, en utilisant deux techniques de confrontation (directe et indirecte)

L'étude morphologique des isolats de *A. rabiei* a permis de dégager quelques données permettant d'élargir les connaissances sur ce champignon. Cette étude montre une variabilité au niveau cultural, morphologique.

Au niveau cultural, la couleur des colonies varie entre le vert clair et vert – olive. La couleur des pycnides varie entre le brun et le noir selon l'isolat, sauf la couleur brune foncée chez les isolats Sba3. Les mêmes résultats ont été signalés par Benzohra (2009), et Ali et al. (2009). Tous les isolats présentent un mycélium de type rasant. Les isolats Sba3 présentent un mycélium de type aérien.

Nos résultats indiquent que la vitesse de croissance mycélienne des isolats de *A. rabiei* montrent que celle-ci est différente. Ces résultats sont en adéquation avec ceux obtenus par Khouaidjia (2000), Basandrai et al. (2005) et Ali et al. (2009),

L'étude montre que l'abondance des pycnides est faible chez tous les isolats. La sporulation varie également d'un isolat à un autre. Les résultats que nous avons obtenus montrent que le milieu CDA est le plus favorable aussi bien pour la croissance que pour la sporulation des isolats, qui se développent bien sur ce type de milieu contenant des quantités relativement importantes de composés organiques, en plus d'un apport minéral, (Singh et Reddy, 1990 ; Tropero-casas et Kaiser, a et b, 1992 ; Basandrai et al., 2005 ; Bayraktar et al., 2007).

L'ensemble des champignons antagonistes (*T. Harzianum* et endophytes) testés ont un effet inhibiteur important sur le développement de l'agent pathogène.

Le potentiel des espèces de *Trichoderma* en tant qu'agent de lutte biologique contre les maladies des plantes a été identifié pour la première fois au cours des années 1930 (Howell, 2003). Pendant de nombreuses années, l'antagonisme de *T. harzianum* a été étudié pour de nombreuses maladies des plantes (Wells et al., 1972, Schirmbock et al., 1994, Elad et Kapat 1999, Yedidia et al. 2000, Sharon et al., 2001, Yedidia et al. , 2001, Roco et Peres, 2001, Ozbay et Newman, 2004). L'antagonisme existant entre les micro-organismes peut être utilisé pour lutter contre les parasites phytopathogènes. Navas-Cortés (1992) a noté que lorsque le champignon *A. rabiei* est enterré dans un sol stérile, il se produit une énorme production de pycnides et de pseudothèces 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* influait sur le développement et la survie de *A. rabiei*. La bactérie native *Rhizobium* produit un acide antifongique, ce qui limite le développement de *A. rabiei* dans le sol (Khokhar et al 2001). En laboratoire, Dugan et al. (2005) ont constaté que les deux formes, *Ascochyta rabiei* et *Didymella rabiei*, sont inhibées par *Aureobasidium pullulans* et *Clonostachys rosea*. Howell (2003) a rapporté que *T. harzianum* attaque les champignons phytopathogène par le mycoparasitisme et la production d'antibiotiques. ce mycoparasitisme est obtenu par appressorium, qui se lie à la surface des cellules fongiques 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 <sup>2</sup> 1,3 glucanase et chitinase sont capables d'hydrolyser les parois cellulaires des champignons parasites. L'antibiose est un autre mode d'antagonisme mis en œuvre par *T. harzianum* par la sécrétion de substances volatiles telles que les glio-viridines et les glio-toxines, substances jouant le rôle d'antibiotiques, capables d'inhiber le développement de plusieurs deutéromycètes. phytopathogène (Howell, 2003). Sur la base de ces travaux, il serait intéressant de mesurer l'effet antagoniste *in situ* de *T. harzianum* sur l'antracnose sur les plantes de pois ou sur semence comme traitement préventif à l'égard de l'inoculum primaire en vue de bloquer le démarrage de la maladie.

Les techniques de confrontation directe et indirecte sur milieu solide nous a permis d'évaluer l'effet de deux autres antagonistes (*Alternaria sp* , endophyte 2) sur le développement de l'agent pathogènes *Ascochyta rabiei*.

Les résultats obtenus montrent que les deux antagonistes endophytes testés ont un effet inhibiteur important sur les croissances mycéliennes de l'agent pathogène.



## Conclusion

L'antracnose du pois chiche causée par *Ascochyta rabiei*, peut engendrer des pertes de rendements considérables sur la culture du pois chiche qui peuvent atteindre jusqu'à 90 % en condition optimales de développement du pathogène. Différentes méthodes de lutte peuvent être utilisées pour endiguer la maladie. Pour un meilleur respect à l'environnement, la lutte biologique peut être une alternative à la lutte chimique coûteuse et polluante. Dans cette optique, le présent travail qui consiste à étudier l'effet antagoniste *in vitro* de *Trichoderma harzianum*, endo 1 (champignon non identifié) et *Alternaria sp* sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei*. Pour les deux techniques utilisées (confrontation directe et indirecte), Les résultats obtenus montrent un effet inhibiteur de la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei*.

Cette étude révèle un effet antagoniste important exercé par les isolats *Trichoderma harzianum* sur le développement de *Ascochyta rabiei*, et notamment par confrontation directe. Les deux champignons endophytes (*Alternaria sp* et endo 1) possèdent également des aptitudes intéressantes pour la réduction de la croissance mycélienne de l'agent pathogène.

Cette approche de lutte biologique montre que les champignons antagonistes testés sur *Ascochyta rabiei* peuvent être utilisés dans le cadre d'une lutte biologique afin de préserver la culture de pois chiche contre l'antracnose.

Ces résultats préliminaires doivent cependant être confirmés par d'autres travaux *in vitro* avant leur application *in situ*.

## Références bibliographique

- ❖ Abbo S., Redden R.J.s. In: Yadav S.S., Redden B., Gopher A., 2003. The chickpea, summer cropping, and a new model for pulse domestication in the ancient Near East. *Quart Rev Biol* 78: 435-438.
- ❖ Abdelguerfi A. Laouar, M., 1999. Autoecology of spontaneous legumes used for forage and-or grazing in Algeria. In Etienne M. (ed.). Dynamics and sustainability of Mediterranean pastoral systems Zaragoza: CIHEAM Cahiers Options Méditerranéennes 39:97-101.
- ❖ Abdelguerfi A., Laouar M., Hamdi N., Bouzid H., Zidouni F., Laib M., Bouzid, L., Zine F., 2001. Les légumineuses alimentaires en Algérie : situation, état des ressources phylogénétiques cas du pois chiche à Béjaia. 3èmes journées Scientifiques de l'INRAA, Béjaia, 11-13
- ❖ Abdelguerfi-Laouar M., Zine F., Bouzid L., Laib M., Kadria, A., 2000. Caractérisation Préliminaire de Quelques Cultivars Locaux de « *Cicer arietinum* » Collectés dans La Région de Tizi- Ouzou. *Recherche Agronomique* 7: 51-65.
- ❖ Agarwal A., Tripathi H. S., 1999. Biological and chemical control of botrytis gray mould of chickpea. *J Mycol Plant Pathol* 29: 52-56.
- ❖ Agarwal D.K., Kulshreshtha M., Bhalla K., Sarbhoy A. K., 2003. Peronospora ciceris-a new species on *Cicer arietinum*. *J Mycopathol Res* 41(1): 71-73.  
agent causal de l'antracnose du pois chiche (*Cicer arietinum* L.)
- ❖ Agrios G.N., 1988. Plant pathology. Third Edition. San Diego, California: Academic Press, Inc. 803p.
- ❖ Agrios G.N., 1997. Plant Pathology, 4th ed. San Diego: Academic Press, 635 p.
- ❖ Agrios G.N., 2005. Plant Pathology. 5th ed. Amsterdam:Elsevier/Academic Press.
- ❖ Aist J.R., 1976. Papillae and related wound plugs of plant cells. *Annu Rev Phytopathol* 14:145–163.
- ❖ Akem C., 1999. Ascochyta blight of chickpea: Present status and future priorities. *Int. J. Pest Manag.* 45: 131-137.
- ❖ Alajaji S.A., El-Adawy T.A., 2006. Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods. *J Food Compositio. Analysis* 19: 806 – 812.
- ❖ Alam S.S., Bilton J.N., Slawin A.M.Z., et al., 1989. Chickpea blight: production of the phytotoxins solanapyrones A and C by *Ascochyta rabiei*. *Phytochemistry* 28: 2627-2630.
- ❖ Ali H., Alam S.S, Iqbal N., 2013. Genetic and Pathogenic Variability of *Ascochyta rabiei* Isolates from Pakistan and Syria as Detected by Universal Rice Primers. *J Plant Pathol Microb* 4: 212 doi:10.4172/2157-7471.1000212.  
Alimentaires en Algérie et à l'Ouest du pays. Actes de l'Atelier Régional sur la Recherche
- ❖ Anonyme, 1988. Le pois chiche et la lentille. Ed. ITGC, Alger, 45p.
- ❖ Armstrong C.L., Chong G., Gossen B.D., 2001. Mating type distribution and incidence of the teleomorph of 2T 2T *Ascochyta rabiei* 2T 2T (*Didymella rabiei*) in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology* 23(1): 110-113.
- ❖ Attanayake K.P.R.N., Glawe D. A., McPhee K. E., Dugan, F. M., Chen, W., 2008. First Report of Powdery Mildew of Chickpea (*Cicer arietinum*) Caused by *Leveillula taurica* in Washington State.[en ligne] Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2008-0702-01-BR

- ❖ Bayaa B., Chen W., 2011. Ascochyta blight of chickpea. In:0T Chen W0T, Sharma HC, Muehlbauer FJ, eds.2T 2T *Compendium of Chickpea and Lentil Diseases and Pests*. p. 34-40.
- ❖ Bayaa B., Chen W., 2011. Ascochyta blight of chickpea. In:0T Chen W0T, Sharma HC, Muehlbauer FJ, eds.2T 2T *Compendium of Chickpea and Lentil Diseases and Pests*. p. 34-40.
- ❖ Bayraktar H., Dolar F.S., Tor M., 2007. Determination of genetic diversity within *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., the cause of ascochyta blight of chickpea in turkey. *J Plant Pathol* 89(3): 341-347.
- ❖ Bayraktar H., Dolar F.S., Tor M., 2007. Determination of genetic diversity within *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., the cause of ascochyta blight of chickpea in turkey. *J Plant Pathol* 89(3): 341-347.
- ❖ Bedi P.S., Aujla S.S., 1970. Factors affecting the mycelial growth and size of pycnidia produced by *Phyllosticta rabiei* (Pass.) Trot. the incitant of gram blight. *J. Res. Punjab Agric. Univ.* 4:606-609.
- ❖ Bejiga G., Vander maesen L.J.G., 2006. *Cicer arietinum* L. In Brink, M. & Belay, G. Ressources végétales de l'Afrique tropicale (PROTA) 1: cereals and pulses/cereals et legumes secs. PROTA, Wageningen, Pays bas, 46-51.
- ❖ Bejiga G., Vander maesen L.J.G., 2006. *Cicer arietinum* L. In Brink, M. & Belay, G. Ressources végétales de l'Afrique tropicale (PROTA) 1: cereals and pulses/cereals et legumes secs. PROTA, Wageningen, Pays bas, 46-51.
- ❖ Belabid L .et Fortas Z., 2011. La fusariose vasculaire de la lentille dans le nord-ouest Algérien. Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* (Schlecht) Emend. S.et H.f.sp lentiles .(Vasaud. Et Sirini.) .159p.
- ❖ Belabid L., Fortas Z., 2011. La fusariose vasculaire de la lentille dans le nord-ouest Algérien. Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* (Schlecht) Emend. S. et H. f. sp. *lentis* (Vasud. et Srini.). Ed. Universitaires européennes, Allemagne, 159p.
- ❖ Benhamou N., 2009. La résistance chez les plantes. Principes de stratégie défensive et applications agronomiques. Editions TEC & DOC, Lavoisier, Paris. 376 p.
- ❖ Benhamou N., Lafontaine P.J., 1995. Ultra structural and cytochemical caractrisation of elicitorinduced responses in tomato root tissues infected by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Planta*, 197:89-102.
- ❖ Benhamou N., Lafontaine P.J., Nicole M., 1994. Seed treatment with chitosan induces systémique résistance to *Fusarium* crown and root rot in tomato plants. *Phytopathology* 84: 1432-1444.
- ❖ Benmbarek K., 2011. Comportement du pois chiche (*Cicer arietinum*) du type « Kabuli » vis-à-vis du stress hydrique et identification des génotypes tolérants la sécheresse; Thèse. Doctorat., Institut Supérieur Agronomique de Chott Meriem –Tunisie.
- ❖ Benzohra I.E., Bendahmane B.S., Youcef Benkada M., Labdi M., 2015. Screening of 15 Chickpea Germplasm Accessions for Resistance to *Ascochyta rabiei* in North West of Algeria. *American- Eurasian J Agric Environ Sci* 15(1): 109-114.
- ❖ Berger J., Abbo S. and Turner N.C., 2003. Ecogeography of annual wild *Cicer* species: The poor state of the world collection. *Plant Genetic Resources*. *Crop Sci.* 43:1076-1090.
- ❖ Berger J.D., 2014. An evolutionary perspective on the role of phenology in the specific adaptation of chickpea. *Legumes Perspectives* (3):8-11.
- ❖ Champion0T 0T R0. 1997.2T 0T2TIdentifier les champignons transmis0T2T 2Tpar les semences. Techniques et Pratiques. Paris, FRA : INRA Editions, 398 p.
- ❖ Chaux C., Fourry C., 1994. Production légumières secs, Tome 3, Légumineuses fourragères, Légumes fruits. Technique et Documentation. Lavoisier Paris, pp 3-15.

- ❖ Chen W., Coyne C.J., Peever T.L., Muehlbauer F.J., 2004. Characterization of chickpea differential for pathogenicity assay of ascochyta blight and identification of chickpea accessions resistant to *Didymella rabiei*. *Plant Pathol* 53: 759-769.
- ❖ Chen W., Schatz B., Henson B. et al., 2006. First Report of Sclerotinia Stem Rot of Chickpea Caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in North Dakota and Washington, *Plant disease*
- ❖ Chen W., Sharma B. (eds) Chickpea breeding and management. CAB International, Wallingford,
- ❖ Chen, Y.M., Strange, R.N. (1994). Production of a proteinacious phytotoxin by *Ascochyta rabiei* grown in expressed chickpea sap. *Plant Pathol.* 43: 321-327.
- ❖ Chérif M., Arfaoui A., Rhaïem A., 2007. Phenolic compounds and their role in biocontrol and resistance of chickpea to fungal pathogenic attacks. *Tunisian J Plant Protection* (2): 7-21.
- ❖ Chongo 18TG., 18TBuchwaldt 18TL., 18TGossen B.D. 18Tet al., 2003. Foliar fungicides to manage ascochyta blight *Ascochyta rabiei*] of chickpea in Canada. *Can. J. Plant Pathol* 25 (2): 135–142.
- ❖ Corbaz R. 1956. Recherches sur le genre *Didymella* Sacc. Thèse présentée à l'Ecole Polytechnique Fédérale, Zurich, pour l'obtention du grade de Docteur des Sciences naturelles, 415p.
- ❖ Corbaz, R., 1990. Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. PPUR presses polytechniques, 286 p.
- ❖ Cubero J.I., 1984. Genetic resources and their exploitation-chickpea, faba bean and lentils, pp 131-144 (Eds J.R. Witcomb and W. Erskine) Martinus Nijhoff, The Hague, The Netherlands.
- ❖ Datta B.S., Das A.K. et Ghosh S.N., 2004. Fungal antagonists of some plantpathogens. *Mycopathology*, 1: 15 - 17.
- ❖ Emmert E.A.B. et Handelsman J., 1999. Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS. Microbiol. Lett*, 171:1-9.  
et étude de son interaction avec *Medicago truncatula* Gaertn.2.3.5.8...
- ❖ Fabre C., 2008. Pois chiche. Fiche Technique Production Développée en Languedoc Roussillon. [Enligne], 18T[http://www.gard.chambagri.fr/fileadmin/Pub/CA30/Internet\\_CA30/Documents\\_Internet\\_CA30/Diversification\\_Fiches/Fiche\\_Pois\\_Chiche.pdf](http://www.gard.chambagri.fr/fileadmin/Pub/CA30/Internet_CA30/Documents_Internet_CA30/Diversification_Fiches/Fiche_Pois_Chiche.pdf)18T).
- ❖ Fabre, 2008; Ghosh et al., 2013 FAO, 2015) from Pakistan and Syria as Detected by Universal Rice Primers. *J Plant Pathol Microb* 4: 212.
- ❖ FAO, 2015. Statistical database of the Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- ❖ FAO, 2016. [En ligne], <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC>.
- ❖ Galloway J., MacLeod W.J., 2003. *Didymella rabiei*, the teleomorph of *Ascochyta rabiei*, found in chickpea stubble in Western Australia. *Austr Plant Pathol* 32: 127- 128.
- ❖ Ganeshamoorthi P., Dubey S.C., 2015. Morphological and pathogenic variability of *R. solani* isolates associated with wet root rot of chickpea in India. *Legume Research* 38 (3):389-395.
- ❖ Gaur P.M., Tripathi S., Gowda C.L.L., et al. 2010. Chickpea Seed Production Manual. Patancheru, Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 28 pp.
- ❖ Gaur, P.M., A.K. Jukanti, R.K. Varshney. 201). Impact of genomic technologies on chickpea breeding strategies. *Agron. J.* 2:199–221. Doi: 10.3390/agronomy2030199.
- ❖ Gil J., Nadal S., Luna D., Moreno M.T., De Haro A., 1996. Variability of some physico-chemical characters in Desi and Kabuli chickpea types. *J. Sci. Food Agric.* 71: 179-184.
- ❖ Girrard C., 1985. Installation du pois chiche de printemps. *In: Bulletin FNAMS semences* 25-27.

- ❖ Haafiz A., Achraf, M. 1953. Studies on the inheritance of resistance to *Mycosphaerella* blight in gram. *Phytopathology* 43: 580-581.
- ❖ Haware M.P., Nene Y.L., 1981. Phoma blight: A new disease of chickpea. *Plant Disease* 65:282-282.
- ❖ Höhl B., Weidemann C., Höhl U., Barz W., 1991. Isolation of solanapyrones A, B and C from culture filtrates and germination fluids of *Ascochyta rabiei* and aspects of phytotoxin action. *J. Phytopathol* 132: 193–206.
- ❖ Höhl B.M., Pfautsch M., Barz W., 1990. Histology of disease development of resistant and susceptible cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L) inoculated with spores of *Ascochyta rabiei*. *J. Phytopathol* 129: 31–45.
- ❖ Hosen M.I., Ahmed A.U., Islam M. R., 2010. Physiological variability and *in vitro* antifungal activity against *Botrytis cinerea* causing botrytis gray mold of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Spanish j Agric Res*
- ❖ ICRISAT, 2008. Chickpea kabuli variety ICCV6. Plant material description. *Icrisat Bull*, 12.
- ❖ ICRISAT, 2008. Chickpea kabuli variety ICCV6. Plant material description. *Icrisat Bull*, 12.
- ❖ ICRISAT, 1990. Chickpea in The nineties proceeding of the 2nd International workshop on chickpea improvement, 4-8 dec 1989, ICRISAT Center, India, Patancheru, AP 502, 324, India.
- ❖ Ilarsan H., Dolar F.S., 2002. Histological and Ultrastructural Changes in Leaves and Stems of Resistant and Susceptible Chickpea Cultivars to *Ascochyta rabiei*. *J Phytopathol* 150(6): 340-348.
- ❖ Imtiaz M., Abang M.M, Malhotra R.S, et al., 2011. Pathotype IV, a new and highly virulent pathotype of *Didymella rabiei*, causing *Ascochyta* blight in chickpea in Syria. *Plant Disease* 95: 1192-1192.
- ❖ Intizar-ul-Hassan M., Ali S., Mohsan M., Idrees A., 2012. Evaluation of chickpea germplasm against collar rots disease caused by *Phytophthora megasperma*. *Mycopath* 10(1):13-15.
- ❖ Jamil E.F., Sarwar N., Sarwar M., Khan J.A., Geistlinger J., Kahl G., 2000. Genetic and pathogenic diversity within *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. populations in Pakistan causing blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Physiol Mol Plant Pathol* 57: 243-254.
- ❖ Jamil F. F., Sarwar M., Sarwar N., Khan J. A., Zaid, H. M., Yousaf S., Imran H. M., Haq I., 2010. Genotyping with RAPD markers resolves pathotype diversity in the *Ascochyta* blight and *Fusarium* wilt pathogens of chickpea in Pakistan. *Pak J Bot* 42(2): 1369-1378.
- ❖ Jan H., Wiese M.V., 1991. Virulence forms of *Ascochyta rabiei* affecting chickpea in the Palouse *Plant Disease* 75: 904-906.
- ❖ Jukanti A. K., Gaur P. M., Gowda C.L.L., Chibbar R.N., 2012. Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. *British J Nutrition* 108: 11-26.
- ❖ Kaiser J., Kusmenoglu I., 1997. Distribution of mating types and the teleomorph of of2T 2T *Ascochyta rabiei* 2T 2Ton Chickpea in Turkey [en ligne], 81(11).
- ❖ Kaiser W., 1997a. Inter- and intranational spread of *ascochyta* pathogens of chickpea, faba bean, and lentil. *Can J Plant Pathol* 19: 215-224.
- ❖ Kaiser W.J., 1972. Occurrence of three fungal diseases of chickpea (*Cicer arietinum*) in Iran. *FAO Plant Protect Bull* 20: 73–8.
- ❖ Kaiser W.J., 1973. Factors affecting growth, sporulation, pathogenicity and survival of *Ascochyta rabiei*. *Mycologia* 65: 444-457.
- ❖ Kaiser W.J., 1981. Diseases of chickpea, lentil, pigeon pea and therapy bean in continental United States and Puerto Rico. *Economic Botany* [en ligne], 35 (3): 300-320.
- ❖ Kaiser W.J., 1997b. The teleomorph of *Ascochyta rabiei* and its significance in breeding chickpea. In: Application of DNA Fingerprinting for Crop Improvement: Marker-Assisted

- Selection of Chickpea for Sustainable Agriculture in the Dry Areas (Eds Udupa SM, Weigand F), pp. 3–21. ICARDA, Aleppo, Syria.
- ❖ Kaiser W.J., Hannan R. M., 1987. First report of *Mycosphaerella rabiei* on chickpeas in the Western Hemisphere. *Plant Disease* 71: 192.
  - ❖ Kaiser, W.J., Hannan, R.M., 1983. Etiology and control of seed decay and preemergence damping-off chickpea by *Pythium ultimum*. *Plant Disease* 67: 77-81.
  - ❖ Kauffman S., Dorey S., Fritig B., 1999. Les stratégies de défense des plantes. *Pour la Science* 262: 30-37.
  - ❖ Kaur L., Sandhu J.S., Malhotra R.S., Imtiaz M., Sirari A., 2012. Sources of stable resistance to ascochyta blight in exotic kabuli chickpea. *J Food Legumes* 25(1): 79-80.
  - ❖ Kaur S., 1995. Phytotoxicity of solanapyrones produced by the fungus *Ascochyta rabiei* and their possible role in blight of chickpea (*Cicer arietinum*). *Plant Science* 109: 23-29.
  - ❖ Khan H.R., McDonald G.K. Rengel Z., 1998a. Assessment of the Zn status of chickpea by plant analysis. *Plant Soil* 198:1-9.
  - ❖ Khan M.S.A., Ramsey M.D., Corbière R. et al. 1999b. Ascochyta blight of chickpea in Australia: identification, pathogenicity and mating type. *Plant Pathology* 48: 230-234.
  - ❖ Khan M.S.A., Ramsey M.D., Scott E.S., 1999. Host range studies with an Australian isolate of *Ascochyta rabiei*. *Australian Plant Pathology* 28: 170-173.
  - ❖ Khanna-Chopra R., Sinha S.K., 1987. Chickpea: physiological aspects of growth and yield. In: The chickpeas. M.C. Saxena and K.B. Singh eds. CAB International, U.K. pp. 163-189.
  - ❖ Khouader M., Benkirane R., Touhami A.T., Douira A., 2013. Étude de quelques Pucciniales liés aux plantes cultivées au Maroc. *Journal of Applied Biosciences* 72: 5869–5882.
  - ❖ Kovachevski I. C., 1936. The blight of chickpea (*Cicer arietinum*), *Mycosphaerella rabiei*. Ministry of Agriculture and National Domains, Plant Protection Institute, Sofia, Bulgaria.
  - ❖ Labdi M., 1990. Contribution à l'étude de la variabilité d'isolats d'ascochyta rabiei, agent de l'antracnose du pois chiche en Algérie. Mémoire pour l'obtention de diplôme d'agronomie Approfondie. ENSA de Montpellier. 36 p.
  - ❖ Labdi M., 1995. Etude de la résistance à l'antracnose (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab.) chez le pois chiche (*Cicer arietinum* L.). Thèse de Doctorat de l'ENSA Montpellier, 155p.
  - ❖ Labdi M., Belabid A., Bekki H., Irekti, H., Ouzzane A.H., 2009a. Situation de légumineuses
  - ❖ Ladizinsky G., 1975. A new *Cicer* from Turkey. Notes of the Royal Botanic Garden Edinburgh 34:201-202
  - ❖ Ladizinsky G., Abbo S., 2015. The Search for Wild Relatives of Cool Season Legumes. *Plant Science*, DOI 10.1007/978-3-319-14505-1\_2.
  - ❖ Ladizinsky G., Alder A., 1976a. Genetic relationships among annual species of *Cicer* L. *Theor Appl. Genet* 48 (4):197-203
  - ❖ Ladizinsky G., 1989. Pulse domestication: Fact and Fiction. *Econ. Bot* 43: 131-133.
  - ❖ López-Bellido L., López-Bellido R.J., Castillo J.E., López-Bellido F.J., 2004. Chickpea response to tillage and soil residual nitrogen in a continuous rotation with wheat: I. Biomass and seed yield *Field Crop Res* 88: 191-200.
  - ❖ Lopez-Fernandez O., Rial-Otero R., Gonzalez-Barreiro C., Simal-Gandara J., 2012. Surveillance of fungicidal dithiocarbamate residues in fruits and vegetables. *Food Chemistry* 134: 366-374.
  - ❖ Luthra J.C., Sittar A., Bedi K.S., 1935. Life-history of gram blight [*Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. *Phyllosticta rabiei* (Pass.) Trot.] on gram (*Cicer arietinum* L.) and its control in the Punjab. *Agriculture and Livestock in India*, 5: 489–98.
  - ❖ Madrid E., Bouhadida M., Dolar S., Kharrat M., Houasli C., Rubio J., 2015. Chickpea production in Mediterranean Basin. *Legume Perspectives* 10:5-7.

- ❖ Mahiout ,D,2017. Contribution à la caractérisation de *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.,
- ❖ Muehlbauer F.J, Kaiser W.J., Kusmenoglu I., 1998a. Registration of ‘Sanford’ chickpea. *Crop Science*38:282.
- ❖ Muehlbauer F.J., Kaiser W.J., 2002. Registration of “Evans” chickpea. *Crop Science* 42, 301.
- ❖ Nene Y.L, Haware M.P., Reddy M.V., 1981. Chickpea diseases: resistance screening techniques. Information Bulletin No. 10. Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 10 pp.
- ❖ Nene Y.L., 1982. A review of *Ascochyta* blight of chickpea. *Tropical Pest management* 28 (1):61-70.
- ❖ Nene Y.L., 1984. A review of *Ascochyta* blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Pages 17-23 in: Proc. Workshop *Ascochyta* Blight Winter Sowing Chickpeas. M.C. Sawena and K.B. Singh, Eds, ICARDA, Aleppo, Syria.
- ❖ Nene Y.L., Reddy M.V., 1987. Chickpea diseases and their control. In: Sexena MC, Singh KB, eds. *The Chickpea*. Wallingford, UK: CAB International, 233–370.
- ❖ Nene Y.L., Reddy M.V., Haware M.P., et al. (1991). Field Diagnosis of Chickpea Diseases and their Control. *Information Bulletin* No.28. India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 52 pp.
- ❖ Nene Y.L., Reddy M.V., Haware M.P., Ghanekar A.M., et al., 2012. Field Diagnosis of Chickpea Diseases and their Control. *Information Bulletin* No. 28 (révisé). Patancheru, A.P. 502 324, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 60 pp.
- ❖ Nene Y.L., Sheila V.K., Sharma S.B., 1996. A world list of chickpea and pigeonpea pathogens. Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi- Arid Tropics.
- ❖ Omri B., Youssef N., Krid S., Rhouma A., Kharrat M., 2010. First report of *Rhizoctonia solani* AG 2-3 on chickpea in Tunisia. *Phytopathol Mediterr* 49:253–257.
- ❖ Pande S., Galloway G., Gaur P.M. et al., 2006. Botrytis grey mould of chickpea : A review of biology, epidemiology and disease management. *Austr J Agric Res* 57: 1137-1150.
- ❖ Pande S., Narayana Rao J., Sharma M., 2007. Establishment of the Chickpea Wilt Pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in the Soil through Seed Transmission. *Plant Pathol Journal* 23(1):3-6.
- ❖ Pande S., Sharma M., Krishna Kishore G., Shivram L., Naga Mangala U., 2010. Characterization of *Botrytis cinerea* isolates from chickpea: DNA polymorphisms, cultural, morphological and virulence characteristics. *African Journal of Biotechnology* [Enligne], 9(46):7961-7967, (page consultée le 15/11/2016) <http://www.academicjournals.org/AJB>.
- ❖ Pande S., Siddique K.H.M. et al., 2005. *Ascochyta* blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.): A review of biology, pathogenicity, and disease management. *Australian J Agricultural Res* 56: 317–332.
- ❖ Pandey B.K., Singh U.S, Chaube H.S. (1987). Mode of Infection of *Ascochyta* Blight of Chickpea caused by *Ascochyta rabiei*. *J Phytopathol* 119(1): 88–93
- ❖ R.M., Howie J.H., 2006. *Medicago truncatula* cultivars. In : *Medicago truncatula* handbook. [https://www.noble.org/globalassets/docs/medicagohandbook/m-truncatula\\_cultivars.pdf](https://www.noble.org/globalassets/docs/medicagohandbook/m-truncatula_cultivars.pdf)
- ❖ Reddy M.V., Singh K.B., 1984. Evaluation of a world collection of chickpea germplasm lines for resistance to *ascochyta* blight. *Plant Dis* 68: 900-901.
- ❖ Rhaïem A, Cherif M., Peever T.L., Dyer P.S., 2008. Population structure and mating system of *Ascochyta rabiei* in Tunisia: evidence for the recent introduction of mating type 2. *Plant Pathol* 57:540–51.
- ❖ Rhaïem A., Cherif M., 2006. First Report of *Didymella rabiei* on Chickpea Debris in Tunisia. *Tunisian J Plant Protect* 1: 13-18.

- ❖ Rhaïem A., Cherif M., Dyer P.S., Peever T.L., 2007. Distribution of mating types and genetic diversity of *Ascochyta rabiei* populations in Tunisia revealed by mating-type-specific PCR and random amplified polymorphic DNA markers. *J Phytopathol* 155: 596–605.
- ❖ Saxena M.C., 1987. Agronomy of chickpea. Pages 207-232 in *The chickpea* (Saxena, M . C, and Singh, K.B., eds.). Wallingford, Oxon , UK: CAB International.  
Scientifique et le développement de l'Agriculture. Mostaganem. 12-13 janvier 2009
- ❖ Sharma K.D., Muehlbauer F.J., 2007. Fusarium wilt of chickpea: physiological specialization, genetics of resistance and resistance gene tagging. *Euphytica* 157, 1-14.
- ❖ Sharma M., Ghosh R., 2016. An Update Genetic Resistance of Chickpea to Ascochyta blight. *Agronomy*, [en ligne], 6(18) : 1-15, (page consultée le 7 novembre 2016).  
18Thttp://oar.icrisat.org/9378/1/agronomy-06-00018.pdf18T.
- ❖ Shtienberg D., Kimber R.B.E., Mc Murray L., Davidson J.A., 2006. Optimisation of the chemical control of ascochyta blight in chickpea. *Austral Plant Pathol* 4T354T(6): 3T715-724
- ❖ Singh F., Diwakar B., 1995. Chickpea Botany and Production Practices. Manual. Skill development series no. 16. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics Patancheru, Andhra Pradesh, India.
- ❖ Singh G., Bhushan L.S., 1979. Water use efficiency and yield of dryland chickpeas as influenced by P fertilization and stored soil water and crop season rainfall. *Agric. Water manage* 2: 299-305.
- ❖ Singh G., Singh K.B., Kapoor S., 1982. Screening for sources of resistance to *Ascochyta* blight of chickpea. *International Chickpea Newsletter* 6: 15-17.
- ❖ Singh K.B. (1987). *In: The chickpea*, pp 127-162 (eds. M.C. Saxena and K.B. Singh) Wallingford, Oxon.
- ❖ Singh K.B., Hawtin G.C., Nene Y.L., Reddy M.V., 1981. Resistance in chickpea to ascochyta blight. *Plant Dis* 65: 586-587.
- ❖ Singh K.B., Reddy M.V., 1983. Inheritance of resistance to Ascochyta blight in chickpea. *Crop Sci* 23:9-10.
- ❖ Singh K.B., Reddy M.V., 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 K.B., Reddy M.V., 1991. Advances in disease resistance breeding in chickpea. *Advanced Agronomy* 45: 191–222.
- ❖ Singh K.B., Reddy M.V., 1993. Sources of resistance to ascochyta blight in wild *Cicer* species. *Eur. J. Plant Pathol* 99: 163-167.
- ❖ Singh K.B., Reddy M.V., Haware M.P., 1989. Breeding for resistance to ascochyta blight in chickpea. *In: Disease Resistance Breeding in Chickpea*, Eds K.B. Singh and M.C. saxena, ICARDA.
- ❖ Singh K.B., Reddy, M.V., 1989. Genetics of resistance to Ascochyta blight in four chickpea lines. *Crop Sci* 29: 657-659.
- ❖ Slama F., 1998. *Les cultures industrielles et les légumineuses à graines*. Tunis: Ed. CUD.
- ❖ Stuteville D.L., Graves W.L., Dixon L.J., Castlebury L.A., Minnis A. M., 2010. *Uromyces cicerisarietini*, the cause of chickpea rust: New hosts in the Trifolieae, Fabaceae. *Plant Dis* 94:293-297.
- ❖ Summerfield R.J., Minchin F.R., Roberts E.H., Hadley P., 1979. The effect of photoperiod and air temperature on the growth and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *in: Workshop International sur l'amélioration du pois chiche*, ICRISAT, Hyerabad, India, 28 Feb-2 march.

- ❖ Tagu D., Moussard C., 2003. Principes des techniques de biologie moléculaire, INRA Editions, Mieux comprendre, INRA, Paris. teleomorph of *Ascochyta rabiei* (*Didymella rabiei*) in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology* 119: 59–76
- ❖ Tenhaken R., 1992. Virulenzfaktoren phytopathogener Pilze Biochemische und molecularbiologische Untersuchungen zur Infektion der Kichererbse durch *Ascochyta rabiei*. Dissertation, Universität Münster, Münster, Germany.
- ❖ Tivoli B., Banniza S., 2007. Comparison of the epidemiology of ascochyta blights on grain legumes. *Eur J Plant Pathol* 119: 59–76
- ❖ Trapero-Casas A., Jiménez-Díaz R.M., 1985. Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in southern Spain. *Phytopathology* 75:1146–51.
- ❖ Trapero-Casas A., Kaiser W.J., 1987. Factors influencing development of the teleomorph of *Ascochyta rabiei*. *Int Chickpea Newslett* 17: 27–28.
- ❖ Trapero-casas A., Kaiser W.J., 1992b. Development of *Didymella rabiei*, the teleomorph of *Ascochyta rabiei*, on chickpea straw. *Phytopathology* 82(11): 1261-1266.
- ❖ Trapero-Casas, A., Kaiser W. J., 2007. Differences between ascospores and conidia of *Didymella rabiei* in spore germination and infection of chickpea. *Phytopathology* 97: 1600–1607.
- ❖ Trapero-casas A., Kaiser W.J., Ingram D.M., 1990. Control of Pythium Seed Rot and Preemergence Damping-off in the U.S. Pacific Northwest and Spain. *Plant Disease* 78(8): 563-569.
- ❖ Van Der Maesen L.J.G., 1972. *Cicer* L., A Monograph of The Genus, With Special Reference to the Chickpea (*Cicer arietinum* L.), Its Ecology and Cultivation. Meded. Landbouwhoges. Wageningen 72(10): 342p. <http://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/195431>
- ❖ Van Der Maesen L.J.G., Maxted N., Javadi F., Coles S., Davies A.M.R., 2007. Taxonomy of the genus *Cicer* revisited. In: Yadav, S.S., Redden, B., Chen, W., Sharma, B. (eds), Chickpea breeding and management. CAB International, Wallingford, pp. 14-28. <http://www.fieldcrops.org/assets/pdf/product512cbd51831a3.pdf>.
- ❖ Van Der Plank J. E., 1968. La résistance des plantes aux maladies. Traduit de l'anglais par H. Barat. Ed. Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, 223 p.
- ❖ Van Etten H.D., Mansfield J.W., Bailey J.A., Farmer E.E., 1994. Two classes of plant antibiotics: phytoalexins versus “phytoanticipins”. *Plant Cell* 6: 1191-1192.
- ❖ Van Loon L.C., Pierpoint W.S., Boller T., Conejero V., 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. *Plant Mol Biol Rep* 12: 245-264.
- ❖ Vanderschuren H., Lentz E., Zainuddin I., Gruissem W., 2013. Proteomics of model and crop plant species: status, current limitations and strategic advances for crop improvement. *J Proteom* 93:5–19.
- ❖ White D., Chen W.D., 2006. Genetic transformation of *Ascochyta rabiei* using Agrobacterium mediated transformation. *Current Genetics* 49: 272-280.
- ❖ White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J.W., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M.A. Innis, D.H. Gelfand, J. Sninsky & T.J. White (eds.), PCR Protocols: A Guide to Methods and applications (pp. 315-322). New York, NY, Wiley.
- ❖ Williams S.J., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski A., Tingey S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res* 18: 6531- 6535.
- ❖ Wise K.A., Bradley C.A., Markell S., Pasche J., et al., 2011. Sensitivity of *Ascochyta rabiei* populations to prothioconazole and thiabendazole. *Crop Protection* 30: 1000-1005.
- ❖ Wood J.A, Grusak M.A., 2007. Nutritional value of chickpea. In Chickpea breeding and management. pp. 101-142 [SS Yadav, R Redden, W Chen and B Sharma, editors]. Wallingford, UK: CAB International.

- ❖ Wood J.A., Knights E.J., Chocty M., 2011. Morphology of Chickpea Seeds (*Cicer arietinum* L.): Comparison of desi and kabuli Types. *Int J Plant Sci* 172 (5): 632-643.
- ❖ Xu P., Blancaflor E.B., Roossinck M.J., 2003. In spite of induced multiple defense responses, tomato plants infected with Cucumber mosaic virus and D satellite RNA succumb to systemic necrosis. *Mol Plant Microbe Interact* 16: 467-476.
- ❖ Yadav S.S., Redden R.J., Chen W., Sharma B., 2007. Chickpea Breeding and Management. CAB International, Oxfordshire, UK. ISBN 1-84593-213-7.
- ❖ Yedidia I., Benhamou N., Chet I., 1999. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl Environ Micro* 65:1061-70.
- ❖ Zachos D.G., Panagopoulos C.G., Markis E.T., 1963. Recherches sur la biologie, l'épidémiologie et la lutte contre l'antracnose du pois-chiche. *Ann Inst Phytopathol Banaki* 5: 167-192.
- ❖ Zikara-Zine F., Bouznad Z., 2007. Virulence et groupes de compatibilité dans les isolats de *Ascochyta rabiei* en Algérie. Ed. INRA Algérie- *Recherche Agronomique* 19: 48-55
- ❖ Zine-Zikara F., Bouzid L., Yekkour A., 2015. Le pois chiche en Algérie : situation, potentialités et perspectives. *Recherche Agronomique* 27: 35-47
- ❖ Zohary D., Hopf M., Weiss E., 2012. Domestication of Plants in the Old World. Oxford University Press, Oxford.

## Annexes

**Milieu de culture: PDA; pH  $5,6 \pm 0,2$ .**

**Composants Quantités (g/L)**

Pomme de terre	200
D-Glucose	20
Agar	20

**Milieu de culture: CDA; pH  $5,6 \pm 0,2$ .**

**Composants Quantités (g/L)**

Graines du pois chiche	200
D-Glucose	20
Agar	20