



MEMOIRE

Présenté à la Faculté des Sciences
Département des Sciences Agronomiques

Pour obtenir le Diplôme de

Master Académique en Protection des Végétaux

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Agronomiques

Thème

Effet de quelques paramètres trophiques sur la croissance et la sporulation d'un isolat de l'Ouest algérien de *Didymella rabiei* Kovatsch. Arx., agent de l'ascochytose du pois chiche *Cicer arietinum* L.

Présenté par :

M^{elle} Manel ALLAL et M^{elle} Souad CHETTOUH

Devant le Jury :

Président	CHERIEF A.	MAA	Université M ^{ed} Boudiaf de M'sila
Encadreur	TIAIBA A.	MCB	Université M ^{ed} Boudiaf de M'sila
Examineur	MIMECHE F.	Pr	Université M ^{ed} Boudiaf de M'sila

يهدف هذا العمل تأثير وسط الزرع ودرجة حموضته على نمو وإنتاج الأبواغ
Didymella rabiei (Kovatschevski) Arx, anamorphe *Ascochyta rabiei* (Passerini) Labrousse
الأسكوكيتي الذي يصيب الحمص (*Cicer arietinum* L.). في نهاية التجارب ظهر ان
oatmeal agar Czapek. فيما يخص درجة الحموضة أثرت
Czapek من الوسط الثاني اين ظهرت بدون تأثير. عكس النمو ، نتائج تقييم إنتاج الأبواغ أظهرت أن
5.5 Czapek
الكلمات المفتاحية : *Cicer arietinum* *Didymella rabiei*,

Résumé

Ce travail consiste à étudier l'effet du milieu de culture et de son pH sur la croissance et la sporulation de *Didymella rabiei* (Kovatschevski) Arx, anamorphe *Ascochyta rabiei* (Passerini) Labrousse, agent de l'ascochyte du pois chiche (*Cicer arietinum* L.). Au terme des essais, la croissance mycélienne du pathogène s'est montrée meilleure sur le milieu oatmeal agar, qui est un milieu organique, contrairement au milieu minéral de Czapek. Quant au pH, son effet s'est avéré plus marquant sur milieu Czapek que sur le deuxième milieu où il est pratiquement sans effet. Contrairement à la croissance, les résultats de l'évaluation de la sporulation montre que le nombre des pycniospores est plus important sur milieu Czapek à un point de pH de 5,5 que dans le cas des autres conditions de culture.

Mots clés : *Didymella rabiei*, *Cicer arietinum*, Croissance, Sporulation, Milieu, pH.

Abstract

This work aims to study the effect of the cultural medium and its pH on the growth and sporulation of *Didymella rabiei* (Kovatschevski) Arx, anamorph *Ascochyta rabiei* (Passerini) Labrousse, agent of ascochyta blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). At the end of the tests, the mycelial growth of the pathogen was shown to be better on the oatmeal agar medium, which is an organic medium, unlike the Czapek mineral medium. For the pH, its effect proved to be more significant on Czapek medium than on the second medium where it is practically without effect. On the other hand to the growth, the evaluation of the sporulation shows that the number of the pycniospores is more important on Czapek medium at pH 5.5 than in the case of the other culture conditions.

Key words: *Didymella rabiei*, *Cicer arietinum*, Growth, Sporulation, Medium, pH.

Dédicaces

A ma Mère et à mon Père

Manel

Dédicaces

A la mémoire de ma Mère

A mon Père et ma Belle-mère

A mes frères Mohammed, Elhadj, Ahmed et Yabia

Souad

Remerciements

Nous remercions tout d'abord notre clément Dieu qui nous a donné la puissance pour que nous puissions terminer ce travail.

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères, à notre directeur de mémoire M. **Ammar TIAIBA**, enseignant au département des sciences agronomiques de l'université de M'sila, à qui nous devons beaucoup, nous le remercions aussi pour ses conseils, ses orientations et sa disponibilité.*

Nos vifs remerciements vont également à :

*M. **Abdelkader CHERIEF**, Chef de département des sciences agronomiques de l'université de M'sila, d'avoir accepté de présider le jury de soutenance et d'examiner notre travail ;*

*M. **Fateh MIMECHE**, enseignant au département des sciences agronomiques de l'université de M'sila, d'avoir accepté de juger notre travail ;*

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui nous ont conseillé et aidé dans la réalisation de ce travail.

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Le pois chiche, <i>Cicer arietinum</i> L.	12
02	Evolution des superficies et des productions du pois chiche en Algérie.	14
03	L'anamorphe et le téléomorphe de <i>D. rabiei</i> .	17
04	Symptômes de <i>Ascochyta rabiei</i> sur pois chiche.	20
05	Symptômes de l'ascochytose du pois chiche.	20
06	Cycle biologique de <i>A. rabiei</i> sur le pois chiche.	21
07	<i>Ascochyta rabiei</i> , culture âgé de 21jours, milieu Oatmeal Agar.	26
08	Evaluation de la croissance mycélienne.	29
09	Effet du milieu de culture et du pH sur la croissance de <i>A. rabiei</i> .	31
10	Effet du milieu de culture sur la croissance mycélienne de <i>A. rabiei</i> .	32
11	Effet du pH du milieu Czapek sur la croissance mycélienne de <i>A. rabiei</i> .	33
12	Effet du pH du milieu oatmeal agar sur la croissance de <i>A. rabiei</i> .	33
13	Effet du milieu de culture et du pH sur la sporulation de <i>A. rabiei</i> .	34

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Classification du pois chiche	11
02	Composition biochimique du pois chiche pour 100g de poids frais	15
03	Composition du milieu Oatmeal Agar	27
04	Composition du milieu Czapek Dox Agar	27
05	Identification des lots expérimentaux	28
06	Dispositif statistique relatif à la variable	30
07	Dispositif statistique relatif à la variable Sporulation.	30

Table des Matières

.....	<i>i</i>
Résumé	<i>i</i>
Abstract	<i>i</i>
Dédicace	<i>ii</i>
Remerciements	<i>iv</i>
Listes des tableaux et des figures	<i>v</i>
Table des matières	<i>vii</i>
Introduction générale	<i>ix</i>
<i>Chapitre premier</i>	
Ascochyte du pois chiche	
	11
I. Le pathosystème <i>Cicer arietinum</i> / <i>Ascochyta rabiei</i>	11
I.1 La plante hôte : le pois chiche <i>Cicer arietinum</i> L.	11
I.1.1 Origine et historique.....	11
I.1.2 Classification et caractères botaniques.....	11
I.1.3 Caractères agronomiques.....	12
I.1.4 Cycle et saisons de la culture.....	13
I.1.5 Types de cultivars.....	13
I.1.6 Le pois chiche en Algérie.....	14
I.1.7 Importance nutritive du pois chiche.....	15
I.2 Le pathogène : <i>Ascochyta rabiei</i> (Pass.) Labrousse	16
I.2.1 Nomenclature.....	16
I.2.2 Classification.....	16
I.2.3 Biologie et épidémiologie de l'agent pathogène.....	17
I.2.3.1 Conservation et contamination primaire.....	17
I.2.3.2 Contamination secondaire.....	18
I.2.4 Symptomatologie.....	19
I.2.5 Cycle épidémique.....	19
II. Méthodes et moyen de lutte	22
II.1 Lutte culturale	22
II.2 Lutte génétique	22
II.3 Lutte chimique	23
II.3.1 Traitement de semences.....	23

II.3.2	Application foliaire de fongicides.....	23
II.4	Lutte biologique.....	24
	Objectif du travail.....	25
	<i>Chapitre deuxième</i>	
	Matériel et Méthodes	26
II.1	Matériel.....	26
II.1.1	Matériel fongique.....	26
II.1.2	Milieus de culture.....	26
II.1.2.1	Le milieu <i>Oatmeal Agar</i> (OA).....	27
II.1.2-2	Le milieu <i>Czapek Dox Agar</i> (CZ).....	27
II.2	Méthodologie.....	28
II.2.1	Conduite des essais	28
II.2.2	Protocole expérimental	28
II.2.3	Croissance mycélienne.....	28
II.2.4	Sporulation.....	29
II.2.5	Traitement statistique.....	30
II.2.5.1	Analyse de variance et comparaison des moyennes.....	30
II.2.5.2	Dispositifs statistiques.....	30
	<i>Chapitre troisième</i>	
	Résultats et discussion	31
III.1.	Résultats.....	31
III.1.1	Croissance mycélienne.....	31
III.1.2	Sporulation.....	34
III.2	Discussion.....	35
	Conclusion et perspectives.....	36
	Références bibliographiques.....	37
	Annexes.....	42

Introduction générale

En Algérie divers types des légumineuses sont cultivées et parmi lesquelles il y a lieu de citer le pois chiche. Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est en importance, la troisième légumineuse alimentaire cultivée, après le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) et le petit pois (*Pisum sativum* L.), dans le monde (Goodwin, 2005 ; Gan et al., 2006).

La production du pois chiche en Algérie n'a pas augmenté en raison d'une faible productivité avec un rendement instable d'une année à une autre. Les causes de cette régression sont surtout d'ordre agronomique mais surtout d'ordre phytosanitaire (Labdi, 1995 ; Shahid et al., 2008).

Les contraintes agronomiques se manifestent dans la date de semis et les adventices, lorsque le semis se fait surtout en hiver (Pois chiche d'hiver), il provoque la coïncidence de la croissance de la plante avec les mauvaises herbes (Saxena, 1983). Les contraintes abiotiques sont généralement la sécheresse et les gelées printanières.

La sécheresse cause un grand problème pour le pois chiche du printemps, tandis que les gelées printanières touchent surtout le pois chiche d'hiver (Wery, 1990). Pour cela il était préférable de cultiver le pois chiche d'hiver pour éviter la sécheresse (Labdi, 1990 b). Cependant en Algérie, cette période coïncide avec de fortes attaques d'une maladie très grave et cause de grandes pertes de rendement et de qualité de la récolte, il s'agit d'une maladie foliaire d'origine cryptogamique à savoir l'ascochytose.

L'ascochytose est causée par *Ascochyta rabiei*. C'est la maladie la plus fréquemment rencontrée et celle qui cause le plus de dégâts (Zikara-Zine et Bouznad, 2007). Les données de plusieurs années de prospections, ont montré la présence et l'extension de l'antracnose avec des baisses de rendement pouvant aller jusqu'à 100 % (Bouznad et al., 1996). Mabsoute et al. (1996) signalent qu'en Algérie ainsi que dans les autres pays du Maghreb, l'ascochytose reste la contrainte majeure de la culture du pois chiche. La maîtrise et la lutte contre cette maladie passe entre autre par la connaissance et la caractérisation de son agent causal.

C'est dans cet optique que nous nous sommes proposé d'étudier l'effet de quelques paramètres trophiques à savoir le milieu de culture et de son pH sur la croissance mycélienne et la production de pycnidiospores d'un isolat de *Didymella rabiei*, téléomorphe (anamorphe *Ascochyta rabiei*) originaire de l'Ouest algérien, Sidi Belabes plus précisément. Par ailleurs, nous tenant à signaler qu'à priori l'étude

concernait plusieurs isolats au lieu d'un seul, car des contaminations de nos cultures fongiques ont eu lieu en dehors de notre volonté.

En guise de mémoire de fin d'étude, ce travail est conçu sous forme d'un document subdivisé en trois chapitres. Un premier chapitre rapporte les dernières connaissances traitant le sujet de l'ascochytose du pois chiche, un deuxième consacré aux matériel et méthodes utilisés dans nos travaux expérimentaux et un dernier chapitre rapportant les résultats obtenus, leur interprétation et leur discussion.

Chapitre premier

Ascochyte du pois chiche (*Cicer arietinum* L.)

L'ascochyte du pois chiche est une maladie cryptogamique causée par le champignon *Ascochyta rabiei*, il s'agit d'une maladie très destructrice et peut causer de lourdes pertes lorsque les conditions environnementales sont favorables. Cependant il en résulte une dépréciation de la qualité des grains et dans certains cas les pertes de rendement peuvent être totale sur des variétés sensibles et non traitées (Schwartz et al., 2007).

I. Le pathosystème *Cicer arietinum* / *Ascochyta rabiei*

I.1. La plante hôte : le pois chiche *Cicer arietinum* L.

I.1.1. Origine et historique

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est une plante de la famille des fabacées ou légumineuses, voisine du petit pois mais d'un genre botanique différent. L'origine de pois chiche se trouverait soit dans le Sud-est de la Turquie soit dans les zones voisines de Syrie et d'Iran. Les restes des plus anciennes graines de pois chiche remontent à 7000 ans avant Jésus-Christ (Toker, 2009), mais est maintenant cultivé partout dans les régions semi-arides du monde (Jodha et Rao, 1987).

Le pois chiche se développe dans des environnements écologiquement divers, semi- arides l'Inde, la région méditerranéenne, Afrique Oriental, Amérique et l'Europe. On le cultive dans plus de 45 pays, sur tous les continents. C'est une source de protéines de qualité pour les habitants des pays en voie de développement (Redden et Berger J.D, 2007).

I.1.2. Classification et caractères botaniques

Le tableau ci-après rapporte la classification de l'espèce *C. arietinum* L. (pois chiche)

Tableau 01 : Classification du pois chiche, D'après Singh et Diwakar (1995).

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

Sur le plan botanique, le pois chiche est une espèce diploïde ($2n = 16$), annelle et autofécondée qui produit des graines de grandes dimensions et globuleuses (Figure 01). C'est une plante herbacée annuelle, dressée ou rampante, couverte de poils glanduleux. Sa germination est du type hypogé (les cotylédons restent souterrains). Ses racines peuvent atteindre un mètre de profondeur, mais la plupart se trouvent dans les premiers centimètres (Duke, *in* Melakhessou, 2007).

Sa tige anguleuse a une hauteur de 0.20 à 1 mètre de haut, ses feuilles se composent de 7 à 17 folioles ovales et dentées. Les fleurs peuvent être blanches, bleues ou violettes, solitaires et pédonculées. Les gousses sont renflées avec 1 à 2 graines presque rondes (Figure 01). Le poids de 100 grains varie de 200 à 600 gr (Van Der Maesen, *in* Melakhessou, 2007).

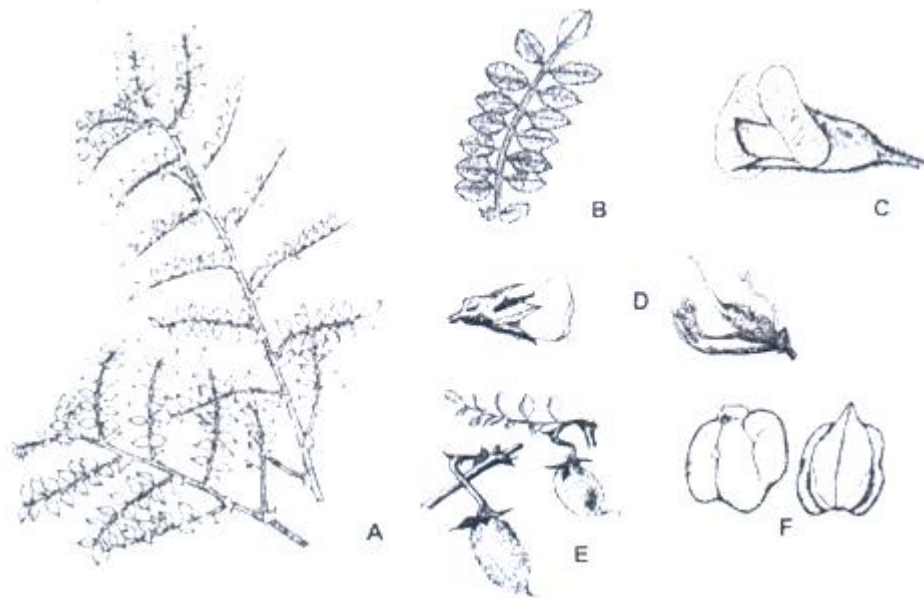


Figure 01 : Le pois chiche, *Cicer arietinum* L. : tige feuillue (A), feuille composée de 16 folioles (B), fleur zygomorphe (C), étamines, pistil et ovaire (D), gousses en développement (E), graines (F), d'après Zohary et Hopf, 1988)

I.1.3. Caractères agronomiques

Le pois chiche se développe bien dans des conditions d'humidité adéquates et à des températures variant entre 21 et 29°C le jour et proches de 20°C la nuit. La durée de la maturation dépend de la chaleur et de l'humidité disponibles, mais varie entre 95 et 105 jours pour le pois chiche « Desi » et entre 100 et 110 jours pour le pois chiche « Kabuli ». Le pois chiche résiste relativement bien à la sécheresse en raison de sa longue racine pivotante. Il n'est pas bien adapté aux zones de grande humidité, aux sols salins et lents à se réchauffer au printemps, ainsi qu'aux sols détrempés ou gorgés

d'eau, Il est préférable de ne pas semer le pois chiche dans des terres basses, à proximité de marécages ou dans des sols à forte teneur en matières organiques, afin de prévenir une maturation inégale ou prolongée (Skrypetz, 2001). D'après Zoghbi (1991), le pois chiche s'insère bien dans un système avec les céréales, il entre dans une rotation quadriennale :

- ✓ Pour les régions de faible potentialité de pluviométrie inférieure à 500mm /an :
Pois chiche – Blé – Jachère- Blé ;
- ✓ Pour les régions de forte potentialité de pluviométrie supérieure à 500 mm/an:
Pois chiche – Blé – Fourrage –Blé.

I.1.4. Cycle et saisons de la culture

Dans le bassin méditerranéen, le pois chiche est considéré comme une culture de printemps. En général, la plante se développe vigoureusement et complète son cycle évolutif en 4 mois (Bryssine, *in* Elaoufir, 2001). Le pois chiche est habituellement cultivé au printemps en raison de sa sensibilité au froid et à *Ascochyta rabiei*, agent inducteur de l'ascochyte (Singh, 1988).

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

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

I.1.5. Types de cultivars

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

La collection des lignées de ce type, maintenue à l'ICARDA (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas), 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 maintenue à l'ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics), est désignée par le préfixe ICC (Van Der Maesen , 1987).

I.1.6. Le pois chiche en Algérie

En Algérie, la culture du pois chiche occupe une superficie moyenne de 27 000 ha, pour une production nationale qui oscille entre 17800 et 35000 tonnes par an (figure 02)

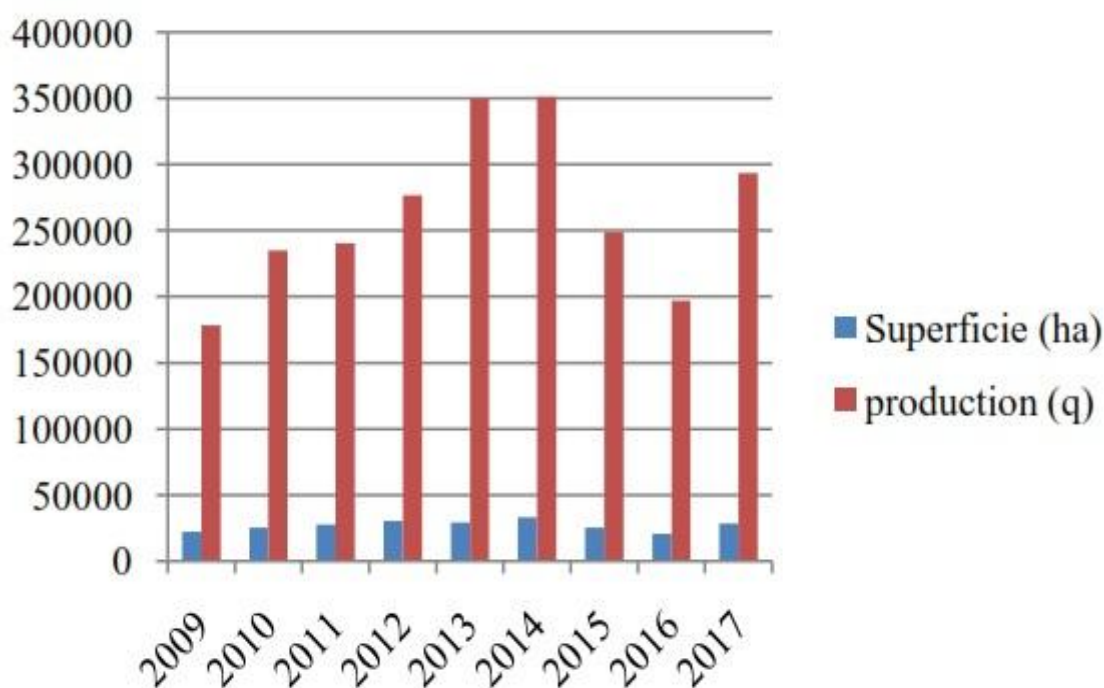


Figure 02 : Evolution des superficies et des productions du pois chiche en Algérie, période 2007-2017, (Statistiques Agricoles, Ministère de l'agriculture et du développement rural, www.madr.gov.dz, consulté le 25-05-2022).

L'Algérie est contrainte d'importer annuellement des quantités importantes de pois chiche pour faire face aux besoins sans cesse croissants. L'accroissement des superficies et l'amélioration des rendements permettront une diminution de ces importations. L'introduction de cette culture dans la rotation permettra aux agriculteurs d'augmenter leurs revenus par la diminution des superficies en jachère,

notamment dans les zones potentielles où la pluviométrie annuelle est située entre 450 et 600 mm, ainsi qu'une économie dans les amendements en engrais azotés utilisés dans la culture des céréales.

I.1.7. Importance nutritive du pois chiche

Du fait de sa richesse nutritive (tableau 02), le pois chiche rentre dans la composition de plusieurs plats algériens. Il est constitué majoritairement d'un sucre lent (l'amidon: 41%), d'un taux appréciable de protéines (23%) (Muehlbauer et Tullu, 1997), de sels minéraux (4%) et de vitamines (0,003%). Il est à signaler que ses protéines renferment une diversité d'acides aminés et ses matières grasses sont composées d'acides gras essentiels (Ramalho et Portugal, 1990).

Tableau 02 : Composition biochimique du pois chiche pour 100g de poids frais, d'après Desaulnier et Dubost (2003)

Elément	Quantité	Elément	Quantité
Eau	60 g	Phosphore	132 mg
Lipides	2,6 g	Potassium	335 mg
Fibres	8,6 g	Calcium	56 mg
Protéines	8,9 g	Vitamine B1	0,1 mg
Glucides	27,4 g	Vitamine E	1,2 mg
Magnésium	53 mg		

I.2. Le pathogène : *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labrousse

I.2.1. Nomenclature

L'ascochytose du pois chiche est causée par un ascomycète appelé *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labrousse, anamorphe, (téléomorphe : *Didymella rabiei* Kovachevski, synonyme : *Mycosphaerella rabiei* Kovachevski). Ce champignon a été décrit pour la première fois comme *Zythia rabiei* en 1867 par Passerini (Khune et Kapoor, 1980).

En 1930 Labrousse proposa le nom de *Phyllosticata rabiei* (Pass.). Une année plus le même auteur abandonna le nom *Phyllosticata rabiei* et proposa le nom *Ascochyta rabiei* après avoir constaté la présence d'un faible taux de pycnidiospores septées ou bicellulaires (figure 03) sur des plants de pois chiche inoculés artificiellement (Porta-Pugli, 1990 ; Singh et Reddy, 1996).

Bien qu'actuellement le nom *A. rabiei* (Pass.) Lab. soit très utilisé, l'abondance des rapports décrivant la fréquente présence des téléomorphes oriente de plus en plus les taxonomistes à utiliser les noms *Mycosphaerella rabiei* syn. *Didymella rabiei* (Kovachevski) (Shahid et al., 2008).

I.2.2. Classification

Anciennement et avant la mise en évidence du téléomorphe du champignon, l'anamorphe *A. rabiei* se classé selon Agrios (1988) comme suit :

- ✓ Division : *Eumycètes*
- ✓ Subdivision : *Deuteromycètes*
- ✓ Classe : *Coelomycètes*
- ✓ Ordre : *Spharopsidales*
- ✓ Genre : *Ascochyta*
- ✓ Espèce : *A. rabiei*

Par ailleurs et selon Bahr et al. (2016), *Didymella rabiei* (Kovatschevski) Arx, anamorphe *Ascochyta rabiei* (Passerini) Labrousse, se classe comme suit :

- ✓ Règne : *Fungi*
- ✓ Phylum : *Ascocmycota*
- ✓ Sous-phylum : *Pezizomycotina*
- ✓ Classe : *Dothideomycetes*
- ✓ Sous-classe : *Pleosporomycetidae*
- ✓ Ordre : *Pleosporales*

- ✓ Famille : *Didymellaceae*
- ✓ Genre : *Didymella*
- ✓ Espèce : *Didymella rabiei*

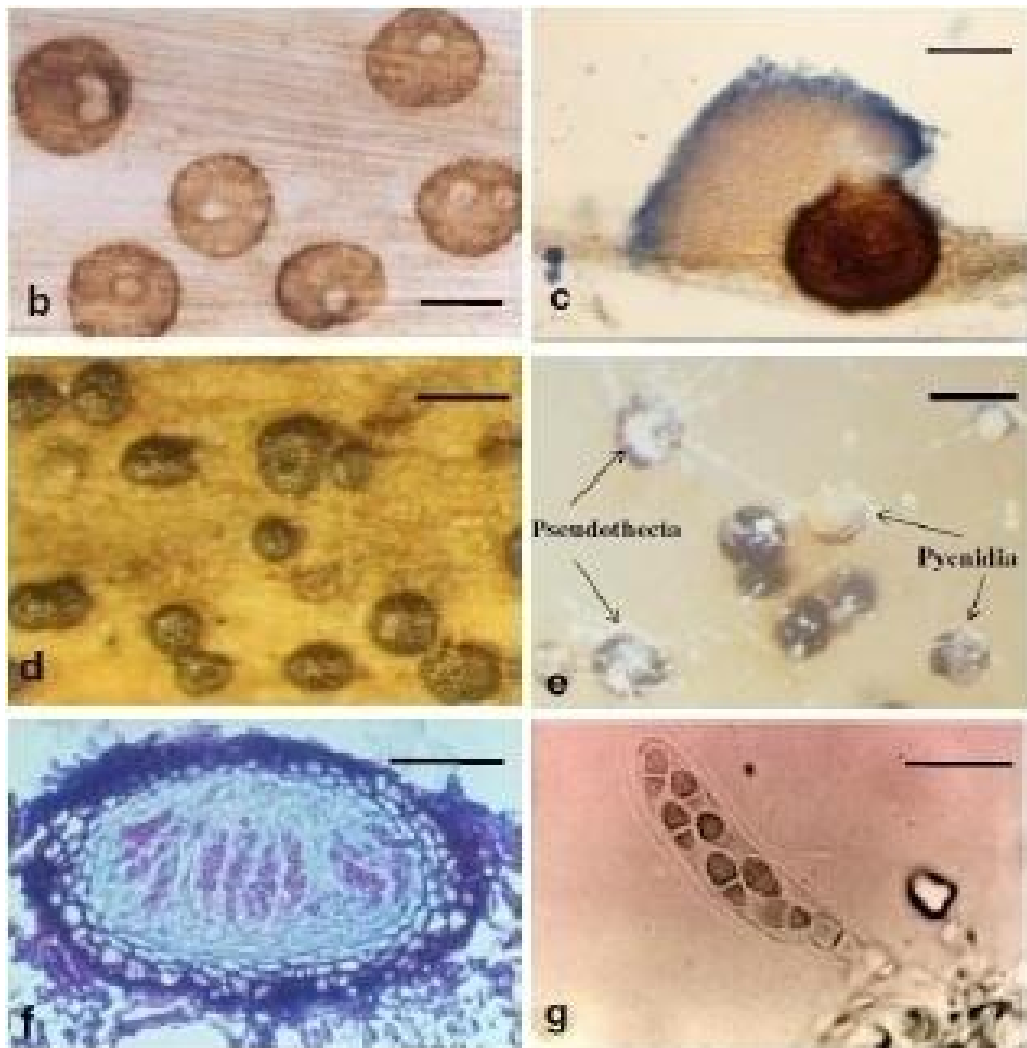


Figure 03 : L'anamorphe et le téléomorphe de *D. rabiei*. (b, c) Pycnides sur tissus de la tige du pois chiche. (d) Pseudothèces sur tissus de la tige du pois chiche. (e) Pseudothèces et pycnides sur le milieu eau Gélosée additionné de 40 g de poudre de tige du pois chiche. (f) Pseudothèce avec asque et ascospores. (g) Détail d'asque et d'ascospores. Trapero-Casas & *al.* (2012).

I.2.3. Biologie et épidémiologie de l'agent pathogène

I.2.3.1. Conservation et contamination primaire

Le champignon peut survivre pendant deux ans ou plus dans les tissus infectés et les débris de récolte et plus de 5 ans au niveau de semences infectées (Kaiser et *al.*, 1987). Reddy et Singh (1984) ont montré que le champignon perd son

pouvoir pathogène après 8 mois dans le sol. *A. rabiei* survit donc en saprophyte sur les débris de culture et peut même s'y reproduire. Cette conservation est un moyen de contamination des cultures de pois chiche (Kaiser, 1972). Cependant, la principale voie d'introduction du champignon dans une culture se fait par le biais de la semence (Kaiser, 1972 ; Maden et *al.*, 1975). Les graines infectées constituent donc la source principale d'infection primaire (Nene, 1984).

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

Les contaminations primaires ont généralement pour origine soit, des semences infectées, soit des résidus de récoltes ou de cultures voisines (Zachos et *al.*, 1963). En effet, l'emploi de telles semences constitue un facteur favorable à l'installation du pathogène dans la culture, cependant, l'apparition de la maladie reste dépendante des conditions climatiques.

Quant aux résidus des cultures, ils assurent la conservation du pathogène en vie sous forme de pycnides (Forme asexuée) ou de pseudothèces (Forme sexuée) (Milgroom et Peever, 2003). Trapero-Casas et *al.* (1996) ont trouvé que les ascospores de *Didymella rabiei* sont la source majeure de l'inoculum au sud de l'Espagne, avec une production de 15.000 ascospores par mm² du tissu infecté.

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

I.2.3.2. Contamination secondaire

Les contaminations secondaires et par conséquent l'évolution de la maladie sont déterminés par la température et la pluviométrie (Zachos et *al.*, 1963). Elles sont favorisées par le stade conidien ; c'est-à-dire, après la germination où les conditions climatiques deviennent favorables (Trapero- Casas et Kaiser, 1992).

I.2.4. Symptomatologie

Les symptômes suivent une évolution qui peut être divisée en plusieurs étapes (figure 04 et 05) :

- ✓ Les premiers symptômes correspondent à l'apparition de taches vertes claires sur les folioles de la plante. Les taches sont circulaires en spots. Des pycnides apparaissent ensuite en cercles concentriques sur la foliole qui brunit, se dessèche et finit par tomber (Nene, 1982).
- ✓ Des lésions apparaissent ensuite sur tige et pétiole. Sur les pétioles et les ramifications de la tige principale, des taches brunes allongées (3-4 cm) ponctuées de pycnides noires peuvent former un anneau ; la portion située au dessus du point d'attaque flétrit, jaunit et se dessèche. Ces organes peuvent se briser au niveau du point de l'infection sous l'action mécanique du vent ou sous leur propre poids (Nene, 1981).
- ✓ Sur la tige principale, au niveau du collet, les taches brunes parfois nombreuses et confluentes évoluent en chancre profond amenant la mort de la plante entière (Nene, 1981).
- ✓ Sur les gousses apparaissent des taches concaves de dimensions variables. Les taches brunes ont une bordure sombre et parfois une lisière rouge.
- ✓ Les graines en formation, d'apparence saine, peuvent porter à maturité des lésions de la maladie : Présence de taches brunes avec ou sans pycnides visibles. Une attaque sévère sur la plante provoque la formation de graines déformées, (Kaiser, 1972 ; Ameziane, 1985).

I.2.5. Cycle épidémique

Dans les conditions défavorables, le parasite se conserve sous forme de pycnides ou de pseudothèces dans et sur les graines et les débris de récolte (Wiese et al., 1995). Les débris et les semences infectées, sont la source de l'inoculum primaire.

Après l'infection, les conidies produites, sont dispersées par le vent ou les gouttelettes d'eau véhiculées par les courants d'air et c'est la contamination secondaire (Wiese et al. , 1995), la figure 06 illustre les principales étapes de la maladie.

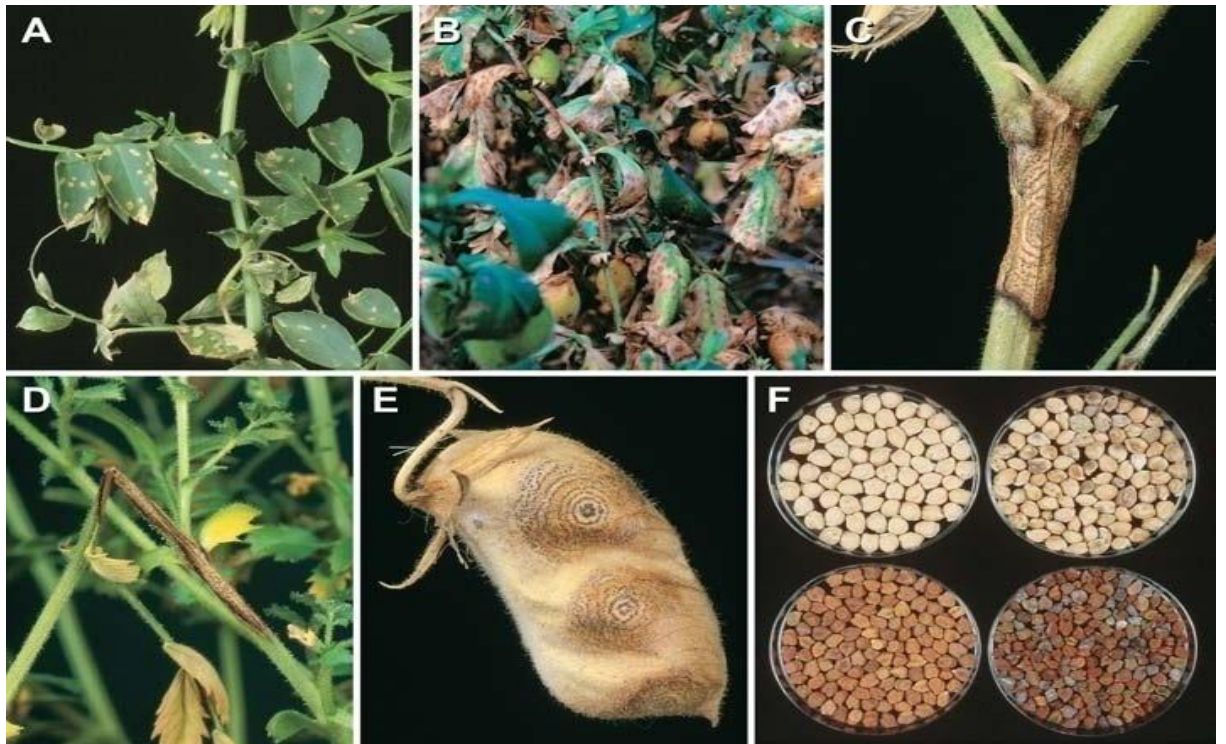


Figure 04 : Symptômes de *Ascochyta rabiei* sur pois chiche. **A**, Nécroses brunes sur les folioles ; **B**, Nécroses sévères sur les folioles ; **C**, Lésion sur une tige avec des pycnides ; **D**, Tige cassée ; **E**, Lésions avec des anneaux nécrotiques des pycnides sur une gousse ; **F**, Semences saines et infectées de pois chiche (Gauche et droite, respectivement), des deux types, kabuli et desi (haut et bas, respectivement) (Jayakumar et *al.*, 2005).



Figure 05 : Symptômes de l'ascochyte du pois chiche : (G) sur graines, (H) sur folioles, (I) Sur tige, (J) sur gousse. Islam & *al.* (2017).

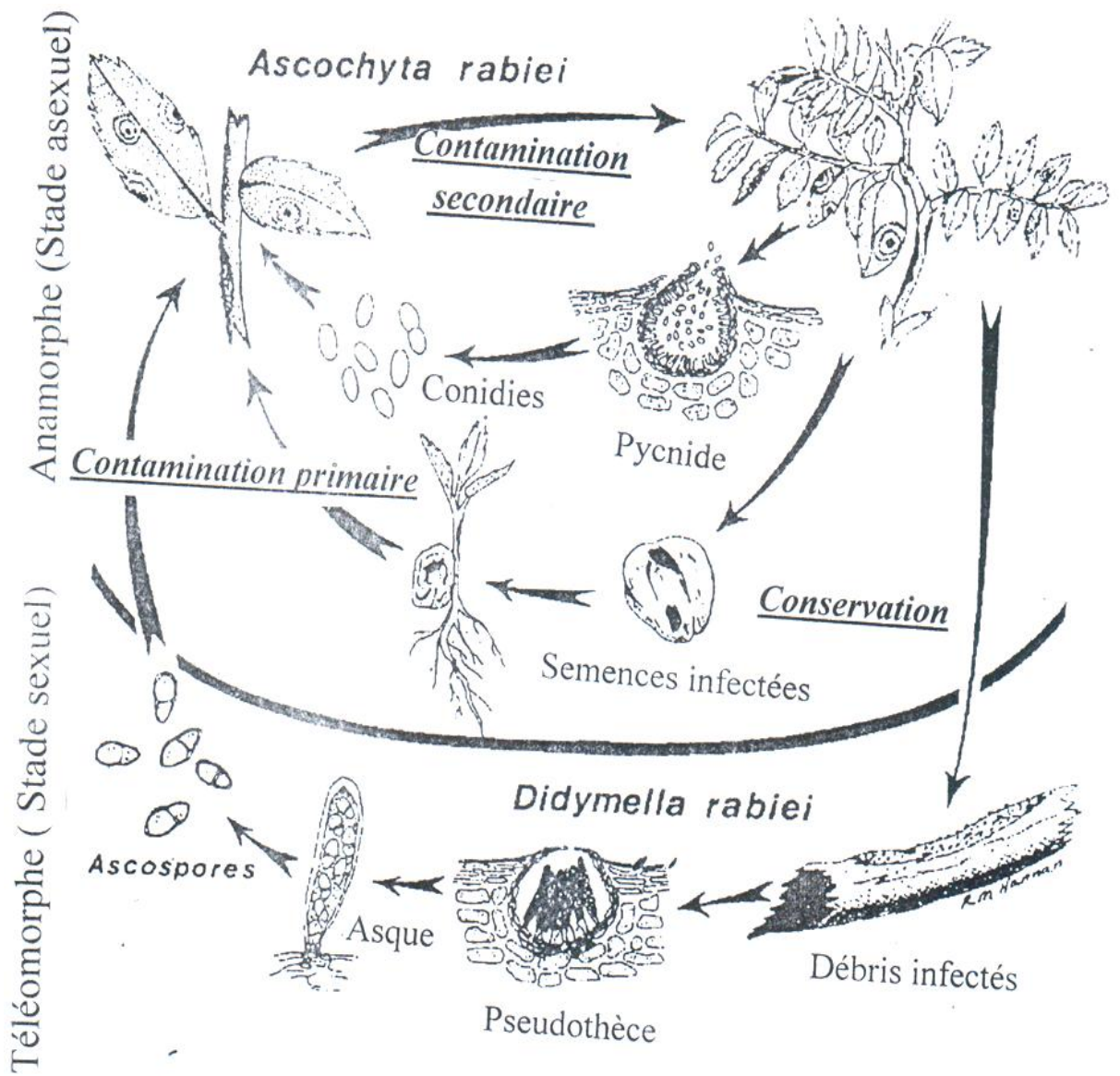


Figure 06 : Cycle biologique de *A. rabiei* sur le pois chiche (Wiese et al., 1995).

II. Méthodes et moyen de lutte

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

II.1. Lutte culturale

L'utilisation de semences saines est l'une des meilleures méthodes pour réduire les dégâts causés par l'ascochyte. *A. rabiei* peut survivre plusieurs années dans les débris de récolte (Navas-cortés et *al.*, 1998 ; Gossen, 2004). Donc, ces débris sont la source principale de l'inoculum primaire, pour cette raison, il faut les brûler ou enfouir profondément, en raison que ce champignon perd sa viabilité en deux mois dans une profondeur de 10 à 40 cm (Kaiser, 1987).

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

Kaiser et *al.* (2000) ont trouvé que dans les régions tropicales, une jachère de deux ans entre deux cultures de pois chiche, peut réduire la sévérité de la maladie. Certains travaux ont démontré que l'espace entre rangées de la culture n'a aucune influence sur l'incidence de la maladie (Reddy et Singh, 1984).

II.2. Lutte génétique

La lutte génétique constitue l'un des moyens les plus économiques pour combattre l'anthracnose (Reddy et *al.*, 1981). A cet effet, les centres de recherches de l'ICARDA (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas) en Syrie et l'ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics) en Inde, ont développé un programme de recherches pour la création d'un matériel végétal résistant. Plusieurs variétés ont déjà été mises au point (Nene, 1981 ; Singh et Reddy, 1989).

En Algérie, les variétés ILC 482, ILC 3279, Flip 84-79c et Flip 84-9c, sont cultivées et elles deviennent résistantes à l'anthracnose (Labdi, 1995). Cependant, elles sont devenues très vite sensibles lorsqu'elles furent cultivées à grande échelle chez les producteurs. Ce changement de comportement est attribué à l'apparition de nouvelles races physiologiques (Vir et Grewal, 1974 ; Reddy et Kabbabeh, 1985).

II.3. Lutte chimique

II.3.1. Traitement de semences

Les semences de pois chiche infectées, est la source principale de l'inoculum primaire (Dey et Singh, 1994). L'application d'un traitement de semences, par Thiabendazole en mélange avec le bénomyl, a donné des résultats plus importants que lorsqu'ils sont utilisés séparément (Kaiser et Hannan, 1988).

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

La performance de traitement de semences sur le champs dépendent des conditions de l'environnement (Demirci et al., 2003). Le traitement de semences n'est pas éradiquant du pathogène, qui peu être observé au niveau des graines récoltées (Kaiser et Hannan , 1987).

Bien que le traitement de semences avec des fongicides systémiques est efficace pour réduire la croissance mycélienne et la sporulation de *A. rabiei*, il devient inefficace contre *Didymella rabiei*.

II.3.2. Application foliaire de fongicides

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

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

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

La décision d'appliquer les traitements avant ou après l'infection, est largement liée à la saison de culture. Dans les régions où la culture de pois chiche

connaît une courte saison, les traitements préventifs sont bénéfiques, mais dans les régions qui connaissent une saison longue, les traitements préventifs sont inefficaces et non économiques (Gan et *al.*, 2006).

L'application d'un traitement foliaire avec le sulfate de cuivre ou captane peut réduire le niveau de la maladie (Nene, 1982). Le chlorothonil (Bravo®), est un fongicide de contact, on peut l'utiliser contre *A. rabiei* (Reddy et Singh, 1984). Le mancozèbe (Dithane®) a été testé au Canada pour contrôler l'antracose du pois chiche, mais est inefficace (Chongo et *al.*, 2003).

Les fongicides du groupe Strobilurines, comme Azoxystrobine et Pyraclostrobine, ont été étudiés au Canada ces dernières années, les chercheurs ont remarqués que la matière active, Azoxystrobine, est efficace contre *A. rabiei* (Demerci et *al.*, 2003 ; Armstrong et *al.*, 2008). Mais, Gossen (2004) a trouvé que certains isolats, sont résistants aux fongicides du groupe Strobilurines. On peut utiliser Bosalid (Lance®) comme un fongicide efficace contre cette maladie (Chongo et *al.*, 2000). L'efficacité des traitements foliaires, est liée à la rémanence des fongicides, la couverture foliaire et le stade de la plante dans le champ (Reddy et Singh, 1990).

II.4. Lutte biologique

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

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

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

Objectif du travail

Notre travail consiste à étudier l'effet du milieu de culture, du pH ainsi que leur interaction sur la cinétique de la croissance mycélienne et la production de pycniospores par un isolat de l'Ouest algérien de *Didymella rabiei* Kovatsch. Arx. téléomorphe, anmorphe *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labrousse, agent de l'ascochytose du pois chiche *Cicer arietinum* L., notons que ce travail s'inscrit dans une série de travaux de caractérisation des isolats algériens des agent causals de l'ascochytose des légumineuse alimentaires.

Chapitre deuxième

Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel fongique

Notre matériel fongique est constitué du champignon *Ascochyta rabiei*, agent causal de l'ascochytose du pois chiche. Il s'agit de culture monosporee provenant des isollements à partir de plantes de pois chiche présentant des symptômes de l'ascochytose (figure 07).

L'isolement a été effectué courant le mois de mai au début du mois de février à partir de chaumes de culture de pois chiche (tiges et gousses) portant les symptômes d'ascochytose. L'origine géographique de l'isolat est la région de Sidi Belabes (Algérie), sise à l'ouest algérien ; région où le pois chiche est très cultivé.



Figure 07 : *Ascochyta rabiei*, culture âgé de 21jours, milieu Oatmeal Agar (Originale 2022)

II.1.2. Milieux de culture

Le choix d'un milieu de culture est basé sur son adéquation pour un bon développement du pathogène. Etant donné qu'il s'agit d'un champignon hétérotrophe, deux milieux de culture ont été retenus pour l'ensemble des essais, le milieu *Czapek Dox Agar* (CZ) et le milieu *Oatmeal Agar* (OA). Selon Rappilly (1968), la composition des deux milieux est la suivante :

II.1.2.1. Le milieu *Oatmeal Agar* (OA)

a. Composition

La composition du milieu Oatmeal Agar ou milieu à l'avoine est détaillée dans le tableau 03.

Tableau 03 : Composition du milieu Oatmeal Agar (OA)

Ingrédient	Quantité
Farine d'avoine	40g
Agar agar	15g
Eau q.s.p.	1000ml

b. Préparation

Faire bouillir, pendant 15 à 20minutes, 40g de farine d'avoine dans 200ml d'eau, filtrer sur mousseline. Ajouter au filtrat 15g d'agar agar, compléter le volume à 1000ml. Autoclaver pendant 30 minutes à 121° C.

II.1.2.2. Le milieu *Czapek Dox Agar* (CZ)

a. Composition

La composition du milieu CZ est rapportée dans le tableau ci-après :

Tableau 04 : Composition du milieu Czapek Dox Agar (CZ)

Ingrédient	Quantité
NaNO ₃	2g
K ₂ HPO ₄	1g
MgSO ₄	0.5g
KCl	0.5g
FeSO ₄	0.01g
Saccharose	30g
Agar agar	15g
Eau q.s.p.	1000ml

b. Préparation

Dans différents volume d'eau distillée faire dissoudre séparément les substances minérales, une fois dissoutes mélanger l'ensemble des solutions. Ajouter le

saccharose toute en chauffant et en agitant, compléter le volume à 1000ml, ajouter l'agar agar, agiter pour la bien dissoudre. Autoclaver pendant 30 minutes à 121° C.

NB : Au terme de la préparation des deux milieux, chacun des deux est subdivisé en deux parties égales en volume et puis une partie de chacun est ajustée à un point de pH de 5,5 alors que, la deuxième partie de chacun est ajustée à un pH de 6,5.

II.2. Méthodologie

II.2.1. Conduite des essais

Les essais consistent à suivre la croissance mycélienne et la sporulation d'un isolat de *Ascochyta rabiei*, agent causal de l'ascochytose du pois chiche, sous les effets de deux milieux de culture et de deux points de pH.

II.2.2. Protocole expérimental

En vue de cerner l'effet des deux facteurs étudiés, à savoir le milieu de culture et le pH sur la croissance mycélienne et la sporulation de *A. rabiei*, 04 lots expérimentaux (tableau 05) ont été constitués sur la base des critères suivants :

- ✓ Un isolat de *A. rabiei* ;
- ✓ Deux milieux de culture, le milieu OA et le milieu CZ ;
- ✓ Deux points de pH à savoir un pH à 5,5 et un deuxième à 6,5.

Cependant, la combinaison de 01 isolat x 02 milieux x 02 pH fait ressortir 04 lots expérimentaux. En guise de répétition de traitement, chaque lot expérimental est constitué de trois boîtes de Pétri.

Tableau 05 : Identification des lots expérimentaux

Milieu de culture	Milieu OA		Milieu CZ	
pH	5,5	6,5	5,5	6,5
Lots expérimentaux	OA-5,5	OA-6,5	CZ-5,5	CZ-6,5

II.2.3. Croissance mycélienne

Cet essai consiste à évaluer la croissance mycélienne d'un isolat d'*Ascochyta rabiei* en fonction du milieu de culture et du pH. A cet effet, des disques mycéliens de 8mm de diamètre chacun, pris aseptiquement à l'aide d'un emporte pièce, de la périphérie croissante de la culture de l'isolat, sont déposés au centre des

boîtes de Pétri, préalablement coulées séparément avec 10 ml des milieux CZ et OA. Les boîtes ensemencées sont ensuite mises à incuber à $20 \pm 1^\circ \text{C}$, température optimale de à la croissance des *Ascochyta spp.*

La croissance mycélienne dans l'ensemble des boîtes est alors évaluée tout les quatre jours en mesurant au moins deux diamètres perpendiculaires de la colonie (figure 08) et ce jusqu'à ce que les cultures fongiques atteignent le bord des boîtes de Pétri (Tegegne & *al.*, 2008).



Figure 08 : Evaluation de la croissance mycélienne (Originale, 2022).

II.2.4. Sporulation

Au terme des mesures de la croissance mycélienne, la sporulation du champignon est évaluée par comptage du nombre de spores dans chaque boîte des lots expérimentaux ayant subi les traitements milieux de culture combinés aux pH.

Dans la boîte contenant la colonie de champignon, il est versé 10ml d'eau distillée stérile, 15 minutes après, la colonie est raclée superficiellement, à l'aide d'une tige en verre aseptisée, pour déloger et libérer les conidies. La suspension sporale obtenue est alors filtrée à travers quatre couches de compresse médicale stérile afin d'éliminer les particules mycéliennes.

Sur chaque suspension sporale, trois comptages de pycniospores sont réalisées sous microscope optique en utilisant l'hémocytomètre de Thoma. Le nombre de pycniospores par ml est alors obtenu suivant la formule ci-dessous :

$$N = n / V \text{ dont}$$

n = le nombre d'éléments comptés ;

N = le nombre d'éléments par microlitre (μl) ;

V = le volume de comptage pour la cellule de Thoma : $V = 0,1\mu\text{l}$.

II.2.5. Traitement statistique

II.2.5.1. Analyse de variance et comparaison des moyennes

Les résultats issus de l'ensemble des tests ont subi des traitements statistiques en utilisant le software Statbox 6.4, (*Optima*®, Floirac, France.). Les effets des différents traitements et de leurs interactions ainsi que les données relatives aux différentes variables mesurées ont fait l'objet d'analyse de variance (ANOVA).

Si nécessaire, le test de Newman et Keuls au seuil de 5% est appliqué pour la comparaison des moyennes des différents traitements (Vessereau, 1992).

II.2.5.2. Dispositifs statistiques

Suivant l'essai et les variables mesurées, différents dispositifs statistiques sont adoptés.

- ✓ Un dispositif à trois critères de classification à savoir les facteurs Milieu de culture, pH et Temps (factoriel en randomisation totale avec répétitions) a été adopté pour l'analyse de variance relative à la variable croissance mycélienne (tableau 06) ;
- ✓ Un dispositif à deux critères de classification *i.e.* les facteurs Milieu de culture et pH (factoriel en randomisation totale avec répétitions) a été adopté pour l'analyse de variance relative à la variable Sporulation (tableau 07).

Tableau 06 : Dispositif statistique relatif à la variable Croissance mycélienne.

Facteur 1 (F1)		Facteur 2 (F2)		Facteur 3 (F3)				
Milieu de Culture		pH		Temps				
Md1	Md2	Nv1	Nv2	Nv1	Nv2	Nv3	Nv4	Nv5
CZ	OA	5,5	6,5	0	4	8	12	16

Md : Modalité ; *Nv* : Niveau.

Tableau 07 : Dispositif statistique relatif à la variable Sporulation.

Facteur 1 (F1)		Facteur 2 (F2)	
Milieu de Culture		pH	
Md1	Nv1	Nv1	Md2
OA	CZ	5,5	6,5

Md : Modalité ; *Nv* : Niveau.

Chapitre troisième

Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Croissance mycélienne

La cinétique croissance mycélienne de l'isolat étudié, est suivie pendant seize jours sur deux milieux de culture différents à savoir le milieu oatmeal agar (OA) et le milieu Czapek (CZ) ainsi que deux points de pH à savoir 5,5 et 6,5. Les résultats obtenus à cet égard sont illustrés dans les figures 09.

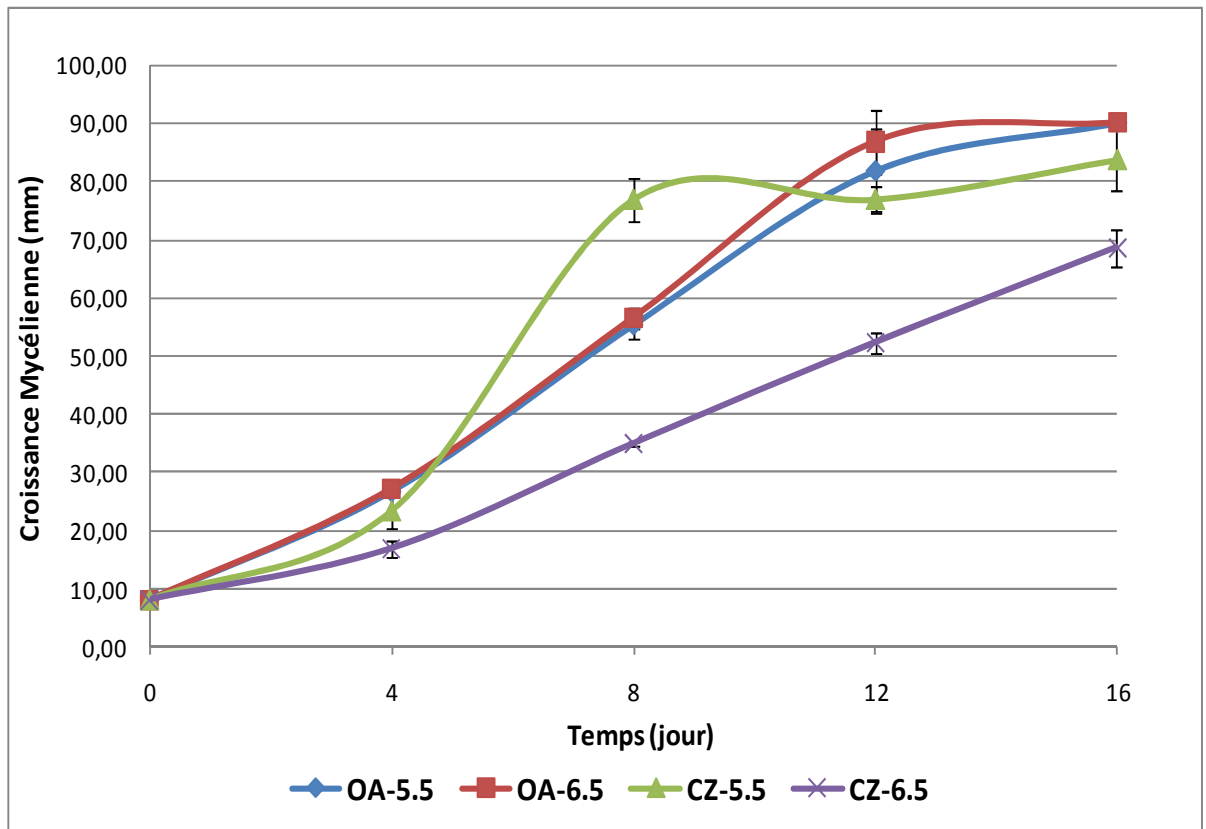


Figure 09 : Effet du milieu de culture et du pH sur la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei*.

Des résultats inhérents à l'étude de l'effet du type de milieu de culture et de son pH sur la croissance mycélienne de *A. rabiei* ainsi que leur analyse laissent apparaître un effet très significatif des facteurs milieu de culture ($P < 0,01$).

De la figure 09, il apparaît clairement que le milieu Czapek couplé à un pH de 6,5 est le moins favorable à la croissance du pathogène tandis que, le reste des

conditions étudiées, c'est-à-dire le milieu CZ à pH 5,5 et le milieu OA à n'importe quel pH, semblent plus propice à la croissance, en particulier s'il s'agit du milieu CZ à 5,5.

Par ailleurs, la comparaison de la croissance mycélienne du champignon du point de vue milieu de culture et indépendamment du pH montre clairement que le milieu OA est plus favorable que le milieu CZ (figure 10). A cet effet, sur milieu OA la croissance enregistre une moyenne oscillant autour de 53mm contre 37,7mm sur le milieu CZ.

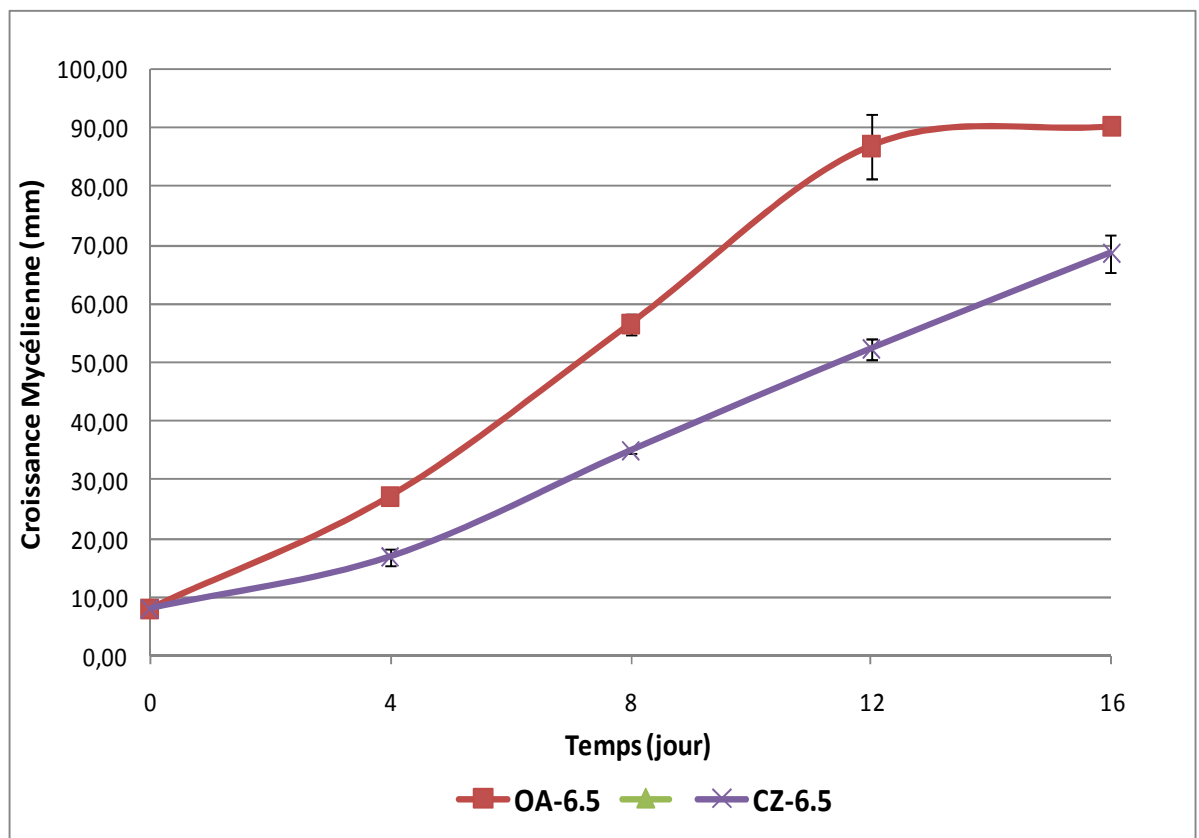


Figure 10 : Effet du milieu de culture sur la croissance mycélienne de *A. rabiei*

S'agissant de l'effet du pH, la croissance mycélienne de l'isolat étudié s'est montrée également très significativement sensible au point de pH ($P = 0,01$), les moyennes enregistrées dans ce sens sont de l'ordre de 50,4mm à pH 5,5 contre 40,3mm à pH 6,5. Cette tendance est très remarquable particulièrement sur le milieu CZ où un pH de 5,5 favorise mieux la croissance qu'un pH de 6,5 (figure 11). En revanche le pH du milieu OA paraît sans effet sur la croissance dans la mesure où les deux courbes de la croissance sur le même milieu et à deux pH différents sont presque superposables (figure 12). Cependant le traitement statistique de l'effet de l'interaction

entre le facteur milieu et le facteur pH sur la croissance mycélienne s'est montré hautement significatif ($P < 0,01$).

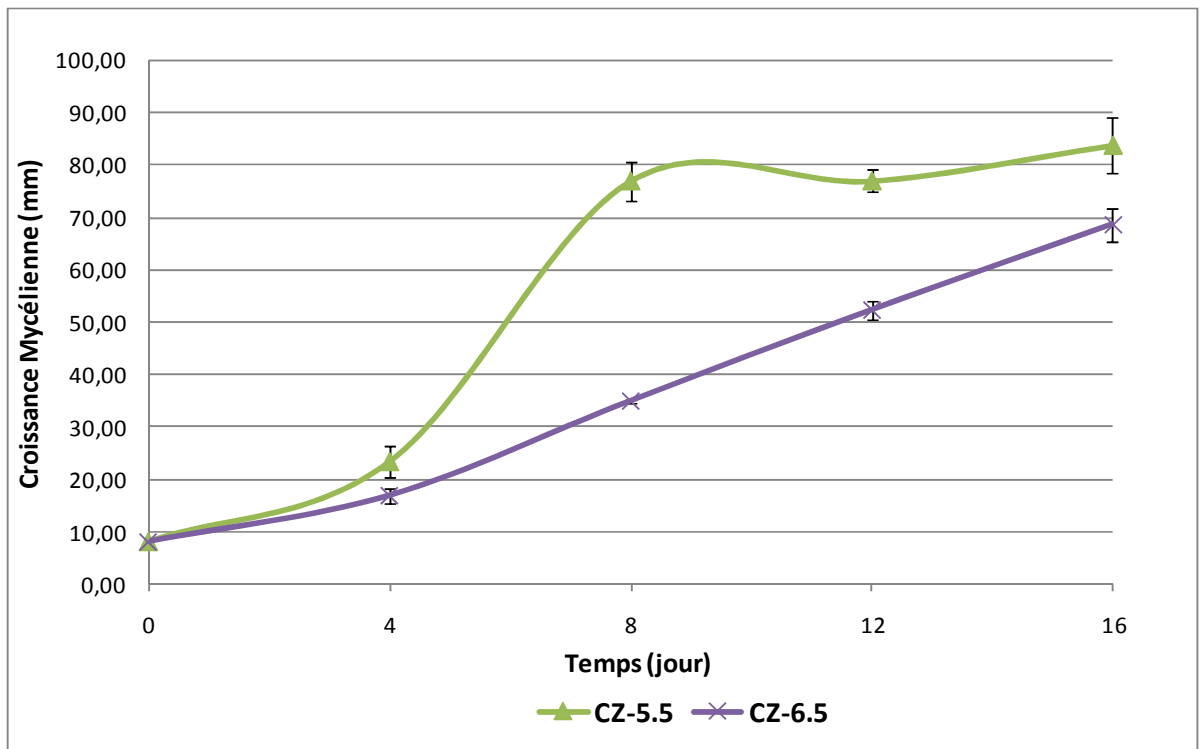


Figure 11 : Effet du pH du milieu Czapek sur la croissance mycélienne de *A. rabiei*

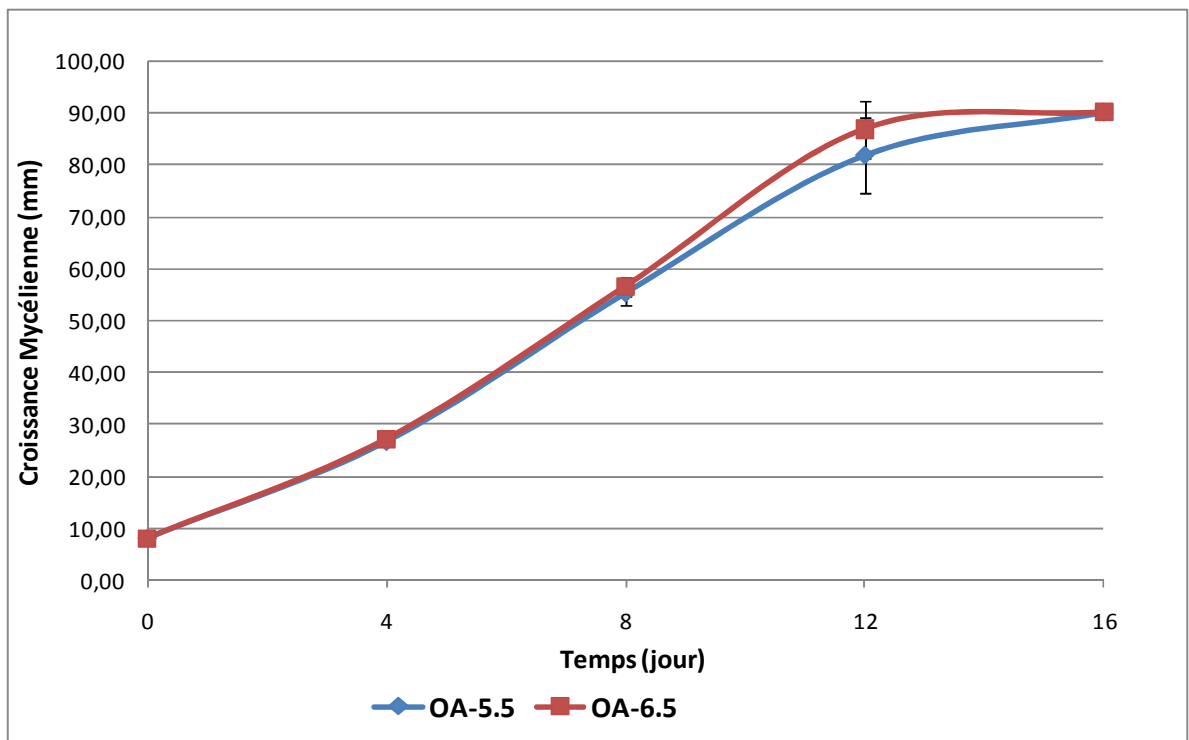


Figure 12 : Effet du pH du milieu oatmeal agar sur la croissance mycélienne de *A. rabiei*

III.1.2. Sporulation

Au terme de l'évaluation de croissance mycélienne des cultures fongiques, le nombre de pycniospores est déterminé suivant le traitement ou dans l'ensemble des lots expérimentaux. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 13.

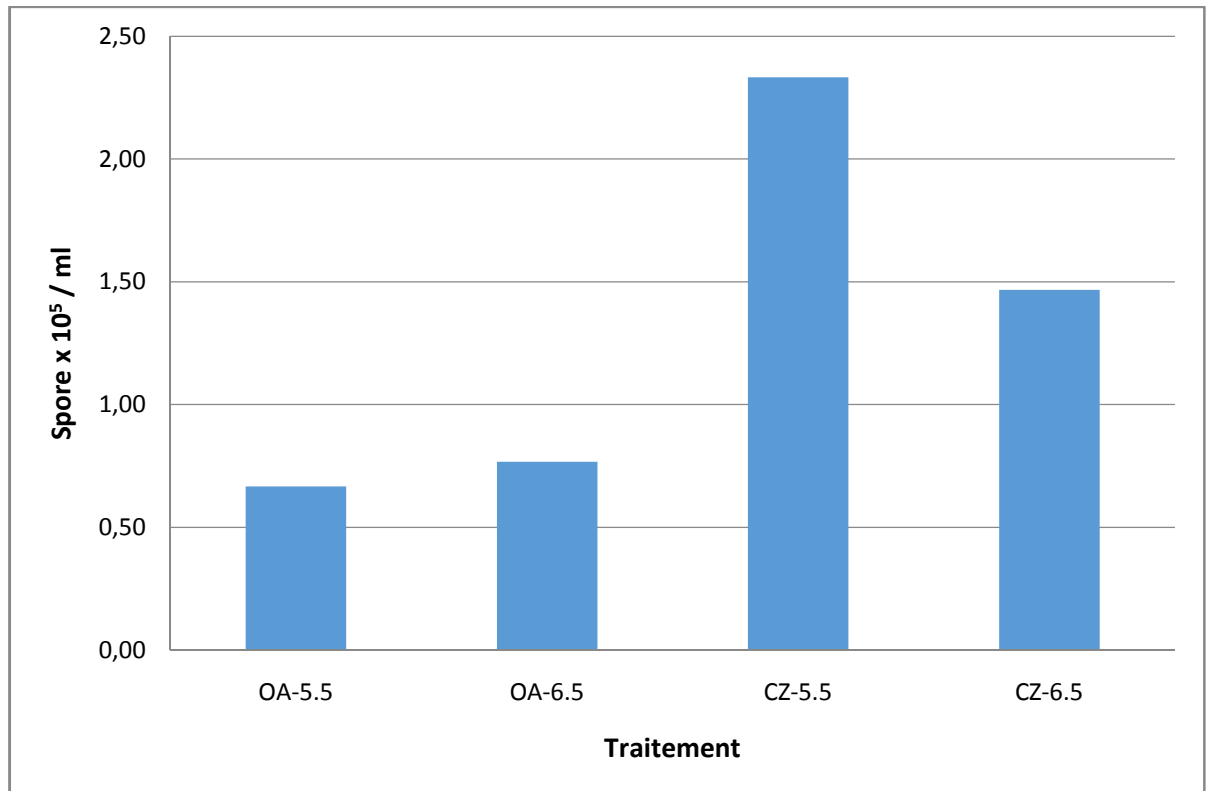


Figure 13 : Effet du milieu de culture et du pH sur la sporulation de *A. rabiei*

A priori et indépendamment du pH, le milieu Czapek s'est distingué par rapport au milieu oatmael agar en favorisant davantage la sporulation quelque soit son pH, le nombre de spores frôle les $2,5 \cdot 10^5$ sur milieu CZ alors que sur milieu OA il n'atteint même pas les 10^5 spores/ml. En revanche les différences dans le nombre de spores d'un milieu à un autre est statistiquement insignifiantes.

Quant à l'effet du pH sur le nombre de spores produites, les données sont contradictoires suivant le milieu. Sur milieu OA c'est à un pH de 6,5 que le nombre de spores est légèrement supérieur que si le pH est de 5,5. Par contre sur milieu CZ c'est à un point de pH de 5,5 que le nombre de spores est supérieur que dans le cas où le pH est de 6,5. L'analyse statistique des résultats montre également que le pH n'a pas joué un rôle déterminant dans le nombre de spores. Concernant l'interaction milieu de culture/pH est aussi statistiquement non significative.

III.2. Discussion

Didymella rabiei (Kovatschevski) Arx, anamorphe *Ascochyta rabiei* (Passerini) Labrousse est un champignon phytopathogène responsable de l'ascochytose du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) ainsi que d'autre plante essentiellement appartenant au genre *Cicer*. En plus, il s'agit d'une espèce se développant en parasite et dont les conditions de milieu influençant son développement se confondent souvent avec celles conditionnant l'aspect épidémiologique de la maladie qu'il la cause (Shahid & *al.*, 2008).

A. rabiei est une espèce qui se cultive facilement sur une grande variété de milieux artificiels où il y développe généralement un mycélium pâle dans lequel émergent des pycnides marron contenant des pycniospores (Bruns & Barz, 2001).

La croissance et le développement d'un champignon est liée au milieu et à sa composition où il se trouve. La qualité des éléments composant le milieu de culture conditionne amplement le comportement d'un champignon (Lepoivre, 2003). Des études de la biologie des souches de *A. rabiei* ont montré que les sources carbonées et azotées, leurs combinaisons ainsi que les conditions physicochimiques affectaient sa croissance mycélienne et sa sporulation (Ameziane, 1985).

L'ensemble des résultats inhérents à la croissance mycélienne montre clairement que le milieu oatmeal agar est plus propice à la croissance que le milieu Czapek. En effet, le milieu oatmeal agar de part sa composition assure à notre sens l'ensemble des besoins nécessaires à la croissance de *A. rabiei*. Il s'agit d'un milieu dont l'ingrédient de base est une céréale, à savoir l'avoine qui est comme toute céréale, une source riche et équilibrée en substrats carboné, azoté et minéral ainsi que d'autres facteurs de croissance essentiels à la croissance des champignons. En outre, le milieu oatmeal agar est un milieu organique dont la richesse nutritionnelle dépasse celle du milieu Czapeck qui est un milieu minéral moins riche que les milieux organiques (Rapilly, 1968).

En ce qui concerne le pH du milieu, des résultats obtenus il en ressort que l'influence de ce facteur est fortement liée à la composition du milieu de culture. Cependant, le champignon s'est révélé plus sensible au pH lorsqu'il est cultivé sur le

milieu minéral, à savoir le milieu Czapek que lorsqu'il l'est sur milieu organique ou le milieu oatmeal agar. Selon plusieurs auteurs, le pH du milieu, influence amplement la croissance et l'initiation de la sporulation. Un pH compris entre 05 et 06 les favorise, alors que des pH très acide ou très basique les inhibe (Gamliel-Atinsky, 2005).

Contrairement à la croissance mycélienne, la sporulation de *A. rabiei*, s'est avérée favorisée sur le milieu Czapek que sur le milieu oatmeal agar. De tels constat s'explique à notre sens par le faite que des conditions favorable à la croissance ne le sont pas à la sporulation, c'est-à-dire que le nombre de pycniospores produites par le champignon s'est trouvé plus important sur le milieu Czapek qui s'est montré moins favorable à la croissance mycélienne alors que, le milieu oatmeal agar s'est distingué en favorisant la croissance au détriment de la sporulation. Quant à l'effet pH, particulièrement à l'égard de la sporulation, il paraît que les deux points de pH testés dans notre étude sont plutôt favorables (Gamliel-Atinsky, 2005).

Conclusion et perspectives

De nombreuses maladies affectent les plantes. Les agents pathogènes qui en sont responsables se caractérisent non seulement par leur nature (virus, bactérie, champignon), leur mode d'action mais aussi par les effets qu'ils provoquent. Les champignons filamenteux sont les pathogènes les plus importants des plantes devant les virus et les bactéries. Ils sont à l'origine de nombreuses maladies de feuilles, de racines, de fruits ou des maladies systémiques provoquant des dépérissements généralisés qui affectent le rendement et déprécient la qualité des récoltes.

Parmi les maladies des plantes cultivées, il y a lieu de citer l'ascochytose des légumineuses qui est provoquée par des Sphaeropsidales appartenant au genre *Ascochyta* incluant différentes espèces qui parasitent une large gamme de légumineuses cultivées. A ce titre, L'ascochytose causée par *A. rabiei* est la plus importante et la plus dévastatrice des maladies inféodées au pois chiche à travers le monde y compris l'Algérie où elle cause beaucoup de pertes. La maîtrise de la maladie par la mise en place de méthodes de lutte raisonnée passe inéluctablement par la connaissance de l'épidémiologie de la maladie ainsi que de la biologie et de l'écologie de l'agent pathogène.

Notre contribution, qui s'inscrit dans la ligne de la caractérisation des isolats algériens de *A. rabiei*, nous à permis de révéler l'importance des conditions trophiques dans la croissance et le développement de cet agent pathogène. La comparaison de sa croissance mycélienne suivant le milieu de culture et son pH nous ont laissé conclure que le milieu organique, à savoir le milieu oatmeal agar s'est avéré favorable à la croissance que le milieu minéral Czapek. En revanche, ce dernier milieu s'est montré plus propice à la production de pycniospores.

Concernant le point de pH, au terme des essais, il nous à paru que son effet était plus marqué lorsque le champignon est cultivé sur le milieu Czapek où le nombre de spores est plus important à 5,5 qu'à 6,5, par contre, l'effet de ce facteur s'est révélé presque nul si le pathogène est cultivé sur le milieu oatmeal agar.

En fin, il serait préférable et complémentaire de lancer d'autres études pour caractériser d'autres isolats algériens en testant d'autres facteurs édaphiques avant de passer à des études de caractérisation pathogénique *in-planta*.

Références Bibliographiques

- Agrios, G. N. 1988. Plant pathology, 4th ed. Academic Press, London. pp. 271-272.
- Agrios, G. N. 2004. Plant pathology, 5th ed. ELSEVIER, Academic Press Pub. San Diego, California, USA.p. 207-500
- Elaoufir, A. 2001. Etude du flétrissement vasculaire du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) causé par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceri*. Evaluation de la fiabilité de l'analyse isoenzymatique et de la compatibilité végétative pour la caractérisation des races physiologiques. Ph. D. de la faculté des sciences de l'agriculture, Univ. Laval, Québec, Canada. 178p.
- Jimenez-Diaz, R. M. et Trapero-Casas, A. 1988. Improvement of chickpea resistance to wilt and root rot diseases. In : Proceeding on present status and future prospects of chickpea crop production and improvement in the mediterranean countries. 11-13 Jul., Zaragoza, Spain.
- Jodha, N.S. & Rao, KVS., 1987: Chickpea: World importance and distribution. In: Saxena MC, Singh KB, editors. The Chickpea, pp. 1-34. CAB International
- Kamal, M. 1988. Le pois chiche d'hiver. *Hommes, Terre et Eaux* 18 : 45-47.
- Khune, M. M. et Kapoor, J. M. 1980. *Ascochyta rabiei* sunonymous with *Phoma rabiei*. *Indian Phytopathology* 33 : 119-120.
- Malhotra, R. S., Pundir, K. P. et Slinkard, A. E. 1987. Genetic ressources of chickpea. 11-34 In : Saxena, M. C. et Singh, K. B. Eds. The chickpea CAB International, Walling- Ford, U. K.
- Porta-Puglia A., 1990. *Status of Ascochyta rabiei of chickpea in the Mediterranean basin. Options Méditerranéennes - Séries Séminaires* 9 : 51-54.
- Porta-Puglia, A., Crino, P. et Mosconi, C. 1996. Variability in virulence to chickpea of an italian population of *Ascochyta rabiei*. *Plant Disease* 80: 39-41
- Schwartz, S.J., Zamboanga, B. L., & Jarvis, L. H. (2007). Ethnic identity and acculturation in Hispanic early adolescents: Mediated relationships to academic grades, prosocial behaviors, and externalizing symptoms. *Cultural Diversity and Ethnic Minority Psychology*, 13(4), 364–373.
- Shahid, A. A., Husnain, T. et Riazuddin, S. 2008. *Ascochyta* blight of chickpea: Production of phytoalexins and disease management. *Biotechnology Advances* 26: 511-515
- Singh, K. B. 1987. Chickpea breeding. P. 127-162. In : Saxena, M. C. et Singh, K. B. Eds. The chickpea . CAB International, U. K.
- Singh, K. B. 1988. Winter chickpea : Problems and potential in the mediterranean region. In proceeding on present status production and improvement in the mediterranean countries. 11-13 July 1988, Zaragoza, Espagne
- Singh, K. B. 1988. Winter chickpea : Problems and potential in the mediterranean region. In proceeding on present status production and improvement in the Mediterranean countries. 11-13 July 1988, Zaragoza, Espagne.
- Singh, K. B. 1990. Status of chickpea in the world. *International chickpea Newsletter* 22 : 10-16.

- Singh, K. B. et Ocampo, B. 1993. Interspecific hybridization in annual *Cicer* species. *J. Genet. Breed.* 47 : 199-204.
- Singh, K. B. et Reddy, M. V. 1983. Inheritance of resistance to *Ascochyta* blight in chickpea. *Crop Sci.* 23 : 9-10.
- Singh, K. B. et Reddy, M. V. 1989. Genetics of resistance to *Ascochyta* blight in four chickpea lines. *Crop Sci.* 29 : 657-659.
- Singh, K. B. et 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. et Reddy, M. V. 1996. Improving chickpea yield by incorporating resistance to *Ascochyta* blight. *Theor. Appl. Genet.* 92: 509-515.
- Singh, K. B., Reddy, M. V. et Nene, Y. L. 1984. International testing of chickpeas for resistance to *Ascochyta* blight. *Plant Disease* 68 : 782-784.
- Singh, K. B., Hawtin, G. L., Nene, Y. L., et Reddy, M. V. 1981. Resistance in chickpea *Ascochyta* blight. *Plant Disease* 65 : 586-587.
- Singh, K. B., Kumar, J., Smithson, J. B. et Haware, M. P. 1987. Complementation between genes for resistance to race 1 of *Fusarium oxysporum f. sp. Ciceri* in chickpea. *Plant Pathology* 68 : 782-784.
- Singh, K. B., Saxena, M. C. et Agridley, H. E. 1983. Screening chickpea for cold tolerance and frost resistance. *In* : Workshop on *Ascochyta* blight and winter sowing of chickpea. ICARDA, Alep, Syrie.
- Skrypetz, S. 2001. Pois chiches : Situation et perspectives. Bulletin Bimensuel. Ed. DPS & DPC & AAC. Canada. 4p.
- Toker, C., 2009: A note on the evolution of kabuli chickpeas as shown by induced mutations in *Cicer reticulatum* Ladizinsky. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 10.1007/s10722-008-9336-8.
- Redden, R., Berger, J.D., 2007: History and origin of chickpea. In: Yadav SS, Redden R, Chen W, Sharma B. (eds). Chickpea Breeding and Management. CABI: Wallingford, UK. pp.1-13.
- Van Der Maesen, L. J. G. 1987. Origin, history and taxonomy of chickpea. p. 11-34. *In* : Saxena, M. C. et Singh, K. B. Eds. The chickpea CAB International, Wallingford, U. K.
- Zoghbi, S. 1991. La vulgarisation de la culture du pois chiche dans la wilaya de Sétif. *CIHEAM- Options Méditerranéennes Vol. 2, N° 01* : 113-122.
- Reddy, M. V., Singh, K. B. et Nene, Y. L. 1981. Screening technics for *Ascochyta* blight and winter sowing of chickpea. (Saxena, M. C. et Singh, K. B. Eds.). ICARDA, 4-7 May, Alep, Syrie. 45-53.
- Kaiser, W.J., 1972 : *Factors affecting growth, sporulation, pathogenicity and survival of Ascochyta rabiei*. *Mycologia*, 65, pp 444-547.
- Kaiser, W.J., Hannan, R. and Trapero-Casas, A., 1987: *Survival of Ascochyta rabiei on chickpea debris*. *Phytopathology*. 77:124.

- Maden, S., Singh, D., Mathur, S.B., Neergaard, P., 1975: Detection et location of seed-borne inoculum of *Ascochyta rabiei* et its transmission in chickpea (*Cicer arietinum*). *Seed Science et Technology* 3, 667-681. 8.
- Nene, Y. L. 1984. A review of *Ascochyta* blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in *Ascochyta* blight and winter sowing of chickpeas. *ICARDA*, 17-35.
- Labdi, M. 1990 a. Contribution à l'étude de la variabilité d'isolats de *Ascochyta rabiei*, Agent de l'antracnose du pois chiche en Algérie. Diplôme d'agronomie approfondie, DAA, Ecole nationale supérieure agronomique de Montpellier. 36p.
- Zachos, D. G., Panagopoulos, C. G. et Makris, S. A. 1963. Researchs on the biology, epidemiology and the control of anthracnose of chickpea. *Ann. Inst. Phytopathol. Benaki, N. S.* 05 : 167-192.
- Milgroom, M. G. et Peever, T. L. 2003. Population biology of plant pathogens. *Plant Disease* 87: 608 – 617.
- Trapero-Casas, A., Navas-Cortés, J. A. et Jimenez-Diaz, R. M. 1996. Airborne ascospores of *Didymella rabiei* as a major primary inoculum for *Ascochyta* blight epidemics in chickpea crops in Southern Spain. *European J. Plant Pathol.* 02 : 237-245.
- Adib, F. 1995. Etude de la variabilité biologique et pathogénique de quelques isolats d'*Ascochyta rabiei*, agent de l'antracnose du pois chiche. Influence des sels de la résistance. Thèse d'ingénieur en Agronomie, Centre Univ. de Mascara. 58p.
- Trapero-Casas, A. et Kaiser, W. J. 1992 a. Development of *Didymella rabiei*, the teleomorph of *Ascochyta rabiei*, on chickpea straw. *Phytopathology* 82 : 1261-1266.
- Nene, Y. L. 1981. A review of *Ascochyta* blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). In : Saxena, M. C. et Singh, K. B. Eds. Proceeding on workshop on *Ascochyta* blight and winter sowing chickpeas, 4-7 May 1981. Alep, Syrie. *ICARDA*, 17-33.
- Nene, Y. L. 1982. A review of *Ascochyta* blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Tropical Pest Management* 28 : 61-70.
- Ameziane, E. A. 1985. L'antracnose du pois chiche. *ICARDA*, Annual report : 55-59.
- Wiese, M. V., Kaiser, W. J., Smith, L. J. et Muehlbauer, F. J. 1995. *Ascochyta rabiei* of chickpea. Ed. AG. Communication Center. Univ. De Idaho. Moscow, Russie. 4p.
- Jayakumar, P., Gossen, B. D., Gan, Y. T., Banniza, S. et Warkentin, T. D. 2005. *Ascochyta* blight of chickpea : Infection and host resistance mechanisms. *Canadian J. of Plant Pathol.* 27 : 499-509.
- Navas-Cortés, J. A., Péres-Artés, E., Jiménes-Diaz, R. M., Llobell, A., Bainbridge, B. W. et Heale, J. B. 1998. Mating type, pathotype and RAPDs analysis in *Didymella rabiei*, the agent of *Ascochyta* blight of chickpea. *Phytoparasitica* 26 (3): 199-212.
- Gossen, B. D. 2004. Resistance to strobilurin fungicides in *Ascochyta rabiei*. Proc 5th Canadian Pulse Research Workshop, Lodon, ON, Nov. 29-30.
- Kaiser, W. J., Ramsey, M. D., Makouk, K. M., Bretag, T. W., Acikgog, N., Kumar, J. et Nutter, F. W. Jr. 2000 b. Foliar diseases of cool season food legumes and their

- control. In : Knight, R. (ed.), Linking research and marketing opportunities for pulses in the 21 st century. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. P. 437-455.
- Reddy, M. V. et Singh, K. B. 1984. Evaluation of a world collection of chickpea germplasm accessions for resistance to *Ascochyta* blight. *Plant Disease* 65 : 586-587.
- Vir, S. et Grewal, J. S. 1974. Physiology specialization in *Ascochyta rabiei*, the causal organism of blight. *Indian Phytopathology* 27 : 355-360.
- Reddy, M. V. et Kabbabeh, S. 1985. Pathogen variability and race establishment in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. in Syria and Lebanon. *Phytopathol. Medi.* 24 : 265-266.
- Dey, S. K. et Singh, G. 1994. Seed-Born infection of *Ascochyta rabiei* in chickpea and its transmission to aerial plant parts. *Phytoparasitica* 22 : 31-37.
- Kaiser, W. J. et Hannan, R. M. 1988. Seed transmission of *Ascochyta rabiei* on chickpea and its control by seed treatment fungicides. *Seed Sci. Tech.* 16 : 625-637.
- Demirci, F., Bayraktar, H., Babaliogullu, I., Dolar, F. S. et Maden, S. 2003. In vitro and in vivo effects of some fungicides against the chickpea blight pathogen, *Ascochyta rabiei*. *Journal of Phytopathology* 151 : 519-524.
- Chongo, G., Buchwaldt, L., Gossen, B.D., Lafond, G.P., May, W.E., Johnson, E.N., Hogg, T., 2003: Foliar fungicides to manage ascochyta blight (*Ascochyta rabiei*) of chickpea in Canada. *Can. J. Plant Pathol.* 25, 135–142.
- Gan, Y. T., Siddique, K. H. M., Mcleod, W. J. et P. Jayakumar. 2006. Management options for minimizing the damage by *Ascochyta* blight (*Ascochyta rabiei*) in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Res.* 97 : 121-134.
- Armstrong, C. L., Wolf, T., Chongo, G., Gan, Y., Hogg, T., Lafond, G., Johnson, E. et Banniza, S. 2008. The effect of carrier volume on *Ascochyta* blight (*Ascochyta rabiei*) control in chickpea. *Crop Protection* 27: 1020 – 1030.
- Reddy, M. V. et Singh, K. B. 1990. Management of *Ascochyta* blight of chickpea through integration of host-plant tolerance and foliar spraying of Chlorothalonil. *Indian J. of Plant Protection* 18 : 65-69.
- Navas-Cortés, J. A. 1992. El teleomorfo de *Ascochyta rabiei* en España ; Detection desarrollo y papel en la epidemiología de la rabia del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). Thèse de Ph. D. , Université de Cordoba, Cordoba, Espagne.
- Wang, H., Hwang, S. F., Chang, K. F., Turnbull, G. D. et Howard, R. J. 2003. Suppression of important pea diseases by bacterial antagonists. *Biocontrol Dordrecht* 04 : 447-460.
- Khokhar, S. N., Khan, M. A. et Chaudri, M. F. 2001. Some characters of chickpea – nodulating *Rhizobia native* to thal soil. *Pak. J. Bio. Sci.* 04 : 1016-1019.
- Dugan, F. M., Lupien, S. L., Hernandez-Bello, M., Peever, T. L. et Chen, W. 2005. Fungi resident in chickpea debris and their suppression of growth and reproduction of *Didymelle rabiei* under laboratory conditions. *J. Phytopathol.*(Berlin) 153 : 431-439.

- Chandirasekaran, R. 2007. Options for reducing *Ascochyta* blight severity in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Thèse de Master en sciences végétales. Université de Saskachewan, Saskatoon, Canada. P. 1-20.
- Desaulnier M., Dubost M., 2003. Table de composition des aliments, volume 2. Département de nutrition, université de Montréal, Canada.
- Muehlbauer F.J., Tullu A., 1997. *cicer arietinum* L. Newcrop fact sheet Prudue University centre for new crop & plant products.
- Ramalho Ribeiro J.M.C., Portugal Melo I.M., 1990. Composition and nutritive value of chickpea. Options Mediterranean's--Série Séminaires. 9: 107-111.
- Trapero-Casas A., Luque-Márquez F. & Kaiser W.J. (2012). Development of the teleomorph of *Ascochyta rabiei* on culture media. *European Journal of Plant Pathology* 134: 773–782.
- Islam W., Qasim M., Noman A., Idrees A. & Wang L. (2017). Genetic Resistance in Chickpea Against *Ascochyta* Blight: Historical Efforts And Recent Accomplishments. *The Journal of Animal & Plant Sciences* 27(6): 1941-1957.
- Rapilly F. 1968. Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *INRA, France*.
- Tegegne G., Pretorius J.C. & Swart W.j. 2008. Antifungal properties of *Agapanthus africanus* L. extracts against plant pathogens. *Grop protection* 27:1052-1060.
- Vessereau A. 1992. Méthodes statistiques en biologie et en agronomie. 540p.
- Singh, F. and Diwakar, B. 1995. Chickpea Botany and production Practices. Skill Development series ICARDA India ., 16 : 502 – 324.
- Bahr L., Castelli M. V., Barolo M. I., Ruiz Mostacero N., M. E. Tosello, Lopez S. N. 2016. *Ascochyta* blight: isolation, characterization, and development of a rapid method to detect inhibitors of the chickpea fungal pathogen *Ascochyta rabiei*. *Fungal biology*, 1-9.
- Bruns R. & Barz W. (2001). Studies on Cell Number and Nuclei in Spores and on Ploidy Level in *Ascochyta rabiei* Isolates. *J. Phytopathology* 149 : 253-258.
- Lepoivre P., 2003. Phytopathologie : Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. *De boeck, Press. Agro. de Gembloux*.
- Gamliel-Atinsky E., Shtienberg D., Vintal H., Nitzni Y., et Dinoor A., 2005. Production of *Didymella rabiei* Pseudothecia and Dispersal of Ascospores in a Mediterranean Climate. *Phytopathology* Vol. 95, N°11, pp1279-1286, *The American Phytopathological Society*.
- Zohary D. et Hopf M. 1988. Domestication of plants in the old world. Univ. Press. Oxford, UK.

Annexes

Annexe I

Analyse de variance de la variable Croissance Mycélienne.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	C.V.
Variation Totale	57342,22	59	971,902			
F1 : Milieu de Culture	3502,633	1	3502,633	40,828	0	
F2 : pH	1529,031	1	1529,031	17,823	0,00018	
F3 : Temps	41088,27	4	10272,07	119,736	0	
VAR.INTER F1*2	1967,805	1	1967,805	22,938	0,00004	
VAR.INTER F1*3	2367,457	4	591,864	6,899	0,00028	
VAR.INTER F2*3	1726,922	4	431,731	5,032	0,0023	
VAR.INTER F1*2*3	1728,539	4	432,135	5,037	0,00229	
VAR.RESIDUELLE 1	3431,566	40	85,789			0,20423237

Comparaison des moyennes de la variable Croissance Mycélienne. (Facteurs 1*2)

F1 * F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0 2.0	OA pH6	53,671	A	
1.0 1.0	OA pH5	52,313	A	
2.0 1.0	CZ pH5	48,486	A	
2.0 2.0	CZ pH6	26,936		B

Annexe II

Analyse de variance de la variable Sporulation.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	C.V.
Variation Totale	14,249	11	1,295			
F1 : Milieu de Culture	4,201	1	4,201	3,773	0,08575	
F2 : pH	0,441	1	0,441	0,396	0,55216	
VAR.INTER F1*2	0,701	1	0,701	0,629	0,45518	
VAR.RESIDUELLE 1	8,907	8	1,113			0,80648112