

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE M'SILA



MEMOIRE

Présenté

A LA FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

Pour l'obtention de
Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie (DES)

OPTION : **MICROBIOLOGIE**

Par

BOUKHNISSA S. BRAKHLIA H. GOUARIR K. TIAIBA D.

THEME

Effet de quelques milieux de culture sur la croissance de deux isolats de *Ascochyta rabiei*

M. Ammar TIAIBA

Encadreur

M. Noui HENDEL

Examineur

Promotion : 2010 / 2011

Travail réalisé aux laboratoires du département des sciences de la nature et de la vie de l'université de M'sila

ملخص

عزلتين من أصلين جغرافيين مختلفين
Ascochyta rabiei (Pass.) Labrousse (téléomorphe : *Didymella rabiei* Kovachevski, syn :
Mycosphaerella rabiei Kovachevski)
زرعنا في الأوساط Sabouraud , CDA , PDA. تتبع النمو القطري لهاتين العزلتين في الأوساط المختلفة أظهر
النتائج التالية :
• نمو متماثل تقريبا لكلا العزلتين في كل من الأوساط المستعملة.
• النمو في الوسط CDA كان أحسن لكلا العزلتين.

كلمات مفاتيح: *Ascochyta rabiei*, عزلة, وسط الزرع, النمو.

Summary

Two isolates of *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. (téléomorphe. *Didymella rabiei* Kovachevski, syn: *Mycosphaerella rabiei* Kovachevski) from different area were grown on PDA, Sabouraud and CDA medium. The study of the radial growth of both isolates on different medium revealed the following results:

- Nearly identical Growth of the isolates of each of the media used;
- The ability of CDA to a better medium for both isolates growing

Keywords: *Ascochyta rabiei*, isolate, culture medium, growth.

Résumé

Deux isolats de *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. (téléomorphe : *Didymella rabiei* Kovachevski, syn : *Mycosphaerella rabiei* Kovachevski) d'origine géographique différente ont été cultivés sur les milieux PDA, CDA et Sabouraud. Le suivi de la croissance radiale des deux isolats sur les différents milieux à révéler les résultats suivant :

- Croissance presque identique des deux isolats sur chacun des milieux utilisés ;
- L'aptitude du milieu CDA à une meilleure croissance pour les deux isolats

Mots clés : *Ascochyta rabiei*, isolat, milieu de culture, croissance.

Dédicace

*A nos parents, nos frères et sœurs, tous nos
proches et amis ainsi qu'à tous les collègues de la
promotion 2010/2011, option microbiologie.*

BOUKHNISSA S.

BRAKHLIA H.

GOUARIR K.

TLAIBA D.

Remerciements

Nous remercions tout d'abord ALLAH de nous avoir donné le courage, la patience et la volonté Pour arriver á ce niveau d'étude et réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos remerciements à notre directeur de mémoire M. TLAIBA Ammar, enseignant au département des sciences agronomiques de l'université de M'sila, pour ses conseils, ses enseignements et sa disponibilité.

Nos remerciements vont également à M. HENDEL Noui, enseignant au département des sciences de la nature et de la vie de nous avoir honorées de juger ce travail, qu'il trouve ici tout notre respect et notre reconnaissance.

Nos vifs remerciements vont aussi à (aux) :

- Enseignants du département des sciences de la nature et de la vie de l'université de M'sila ;*
- Personnels laborantins du département des sciences de la nature et de la vie de l'université de M'sila ;*
- Personnels administratifs du département des sciences de la nature et de la vie de l'université de M'sila*
- Personnels de la bibliothèque de l'université de M'sila.*
- Collègues de la promotion 2010-2011, option microbiologie ;*
- Toute personne qui a contribué de loin ou de prés à la réalisation de ce travail.*

Liste des tableaux

Tableau	Titre du tableau	Page
01	Désignation des isolats de <i>Ascochyta rabiei</i>	20
02	Identification des lots expérimentaux	21
03	Dispositif statistique	22
04	Croissance radiale des deux isolats sur les trois milieux de culture	24
05	Analyse de variance relative à la variable croissance radiale	27

Liste des figures

Figure	Titre de la figure	Page
01	Cycle biologique de <i>Ascochyta rabiei</i> téléomorphe <i>Didymella rabiei</i>	09
02	Symptômes de l'antracnose du pois chiche	15
03	Cycle de l'antracnose du pois chiche	16
04	Conduite de l'expérimentation	23
05	Croissance radiale des deux isolats sur les différents milieux de culture	24
06	Croissance radiale des deux isolats sur le milieu CDA	25
07	Effet du milieu de culture sur la croissance radiale de l'isolat Armos	26
08	Effet du milieu de culture sur la croissance radiale de l'isolat Artm	26
09	Aspect de colonies de <i>A. rabiei</i>	28

Introduction

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 bactéries (LEPOIVRE, 2003). 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'antracnose des légumineuses, connue sous le nom anglo-saxon d'« *Ascochyta blight* » et provoquée par des Sphaeropsidales appartenant au genre *Ascochyta* incluant différentes espèces qui parasitent une large gamme de légumineuses cultivées. A ce titre, *Ascochyta pisi*, *A. pinodes* et *A. pinodella* constituent le complexe parasitaire causant l'antracnose du pois, concernant la fève et la lentille, les agents causals sont respectivement *A. fabae* et *A. lentis*. (ALLARD et al., 1993 ; SHAHID et al., 2008) alors que sur pois chiche on rencontre *A. rabiei*.

L'antracnose causée par *A. rabiei* est la plus importante et la plus dévastatrice maladie inféodée au pois chiche. Elle sévit dans une trentaine de pays à travers le monde y compris l'Algérie où elle cause beaucoup de pertes. L'absence de moyens efficaces et la sévérité des attaques peuvent conduire parfois à l'anéantissement total de la culture. Cependant 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.

C'est dans cette optique que nous nous sommes proposé à étudier deux isolats d'origine algérienne d'*A. rabiei* ; l'agent causal de l'antracnose du pois chiche, étude que nous la consacrons à l'évaluation de la croissance du champignon sur différents milieux organiques dans le but de le caractériser ultérieurement sur le plan bioécologique.

La présente contribution est conçue sous forme d'un document qui rapporte dans sa première partie une synthèse bibliographique traitant l'antracnose du pois chiche et le champignon phytopathogène *A. rabiei*. Dans sa deuxième partie, le document traite l'aspect pratique de l'étude ainsi que les résultats obtenus des travaux expérimentaux, travaux qui ont été réalisés dans le laboratoire de microbiologie du département des sciences de la nature et de la vie de l'université de M'sila.

Première partie : **Données Bibliographique**

Chapitre premier : ***Ascochyta rabiei***

I-1. Nomenclature

Ascochyta rabiei (Pass.) Labrousse anamorphe (téléomorphe : *Didymella rabiei* Kovachevski, synonyme : *Mycosphaerella rabiei* Kovachevski) 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 tard 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 sur des plants de pois chiche inoculés artificiellement (PORTA-PUGLI, 1990, SINGH et al., 1997).

Bien qu'actuellement le nom *A. rabiei* (Pass.) Lab. soit très utilisé, les débats sont toujours en cours et prennent comme base de discussion le pourcentage des spores septées. Par ailleurs, 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). S'agissant des spores, BRUNS et BARZ (2001) ont constaté que des isolats de *A. rabiei* ont montré une grande variabilité dans le nombre de cellules par spore ainsi que le nombre de noyaux par cellule qui était en général un, deux ou quatre noyaux par spore.

I-2. Taxonomie

L'agent causal de l'anthracnose du pois chiche *Ascochyta rabiei* (Pass.) lab. appartient à la subdivision des Deuteromycotina, à la classe des Coelomycètes, à l'ordre des Sphaeropsidales, et à la famille des Sphaeropsidaceae (AGRIOS, 1988). Quand à *D. rabiei* syn. : *M. rabiei*, est classé parmi les ascomycètes en référence à son mode de reproduction sexuée (PEEVER, 2007).

I-3. Reproduction

Suivant le cycle biologique, *A. rabiei* se reproduit selon les deux modes de reproduction connus chez certains champignons à savoir la reproduction sexuée aboutissant à la forme sexuée ou parfaite (Téléomorphe) et la reproduction asexuée générant la forme imparfaite ou l'anamorphe (Figure 01).

I-3-1. Reproduction sexuée

A. rabiei étant *D. rabiei* = *M. rabiei* est haploïde hétérothallique nécessite la présence de deux types de thalles dits groupes de compatibilité et appelés MAT 1-1 et MAT 1-2 pour l'accomplissement de la reproduction sexuée. Par cette voie, le stade téléomorphe contribue à l'hétérozygotie des descendants à l'intérieur de la population du champignon et peut mener à l'augmentation de leur adaptation générale aux contraintes du milieu (BARVE et *al.*, 2003). A l'issue de la reproduction sexuée des pseudothèces contenant des ascospores sont alors formées. Le cycle de vie de ce champignon comporte une seule génération sexuée par saison et qui a lieu courant l'hiver sur les débris du pois chiche infectés (PEEVER et *al.*, 2004).

I-3-2. Reproduction asexuée

Contrairement à la reproduction sexuée, le stade anamorphe évolue souvent pendant la saison de culture de la plante hôte en accomplissant plusieurs générations. Ce mode de reproduction s'effectue par la formation de structures reproductrices caractéristiques des Sphaeropsidales dites pycnides qui contiennent à leurs tours des conidiospores appelées également pycnidiospores (KHAN et *al.*, 1999).

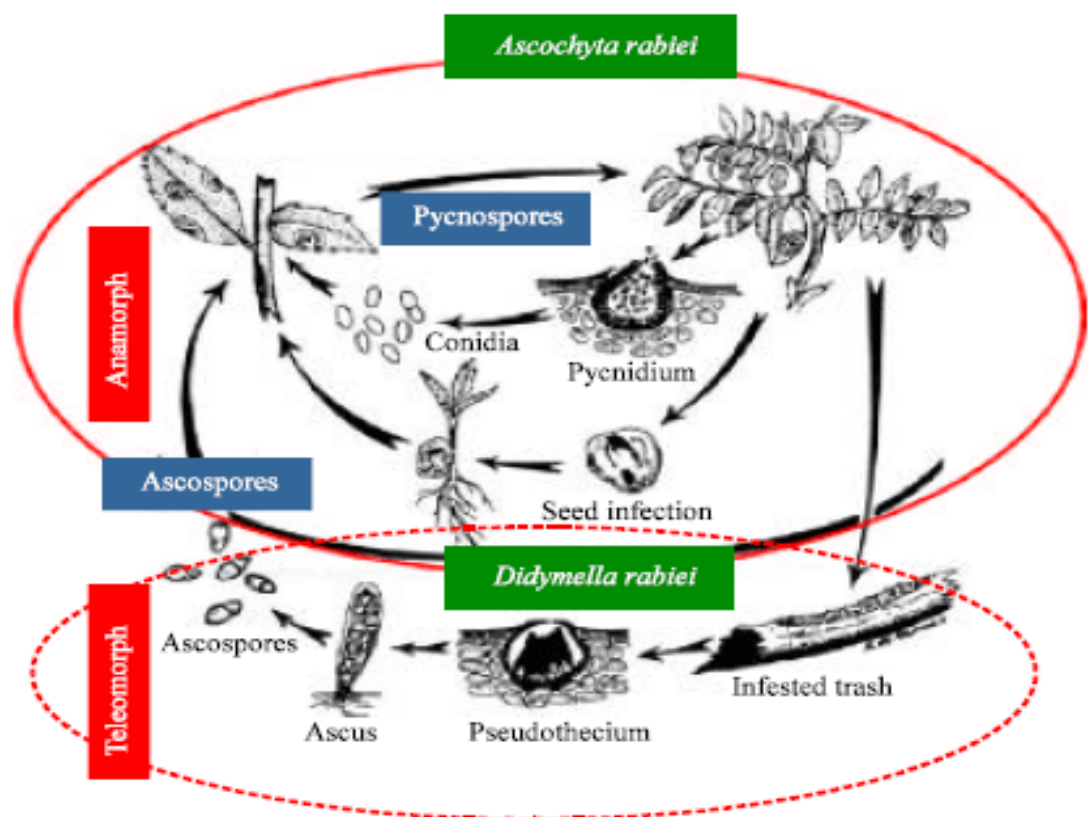


Figure 01: Cycle biologique de *A. rabiei* (téléomorphe *D. rabiei*).
d'après KANOUNI et *al.*, (2011)

I-4. Plante hôte

Plusieurs plantes sauvages appartenant au genre *Cicer* (*C. reticulatum*, *C. pinnatifidum*, *C. echinospermum*, *C. bijugum*, *C. judaicum*) peuvent être affectées par *A. rabiei*. Parmi les plantes cultivées, le pois chiche *Cicer arietinum* L. est la plante hôte de *A. rabiei* (OZKILINC et al., 2010). Il s'agit d'une légumineuse appartenant à la famille des *Fabaceae*, cultivées pour ces pois qui constituent un aliment de grande valeur nutritive facilement conservable en prévision de périodes de pénurie. Le pois chiche est caractérisé par sa haute teneur en glucides assimilable et en protéines (20% de matières azotées environ) en dépit de sa grande richesse en vitamines et minéraux.

I-5. Influence des facteurs de l'environnement

A. rabiei est un champignon phytopathogène 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 à savoir l'antracnose du pois chiche.

Les conditions de développement de la maladie dépendent du niveau de l'inoculum primaire, de l'humidité, de la pluviométrie et de la température qui permettent la germination des conidies d'une part et favorisent la contamination secondaires d'autre part. La lumière et les éléments nutritifs sont également les facteurs qui affectent la croissance, la sporulation et la survie du champignon (MAKHLOUF, 1991).

I-5-1. La température

La température a un effet plus important sur le cycle de vie de *A. rabiei* et le processus d'infection et du développement de la maladie. La température optimale pour l'infection et le développement oscille autour de 20°C (TRAPPERA-CASAS et KAISER, 1992a).

L'action de la température se situe davantage sur la faculté germinative des conidies. En effet des pycnidiospores récoltées à la surface de semences de pois chiche et dont les pycnides sont âgés de plus d'une année et conservées à 02 à 04°C ont montré une faculté germinative qui n'atteint guère les 33% alors que, les asques et les ascospores se développent mieux à une température de 05 à 10° C. (MEADEN et al., 1975 ; NAVAS-CORTÉS et al., 1998).

Selon TRAPPERA-CASAS et KAISER (1992b) les températures basses allongent la période de latence et les limites de développement de l'infection se situent entre 05 et 30° C avec

une sévérité maximale à 20° C. d'après les mêmes auteurs, la croissance mycélienne et la sporulation diminuent aux environs de 25° C et elles se trouvent inhibées à 32° C.

I-5-2. La durée d'humectation foliaire

ARMSTRONG et *al.* (2004) ont trouvé que la sévérité de la maladie est accentuée avec l'augmentation de la durée d'humectation foliaire (leaf wetness period : LWD). Cette sévérité a été réduite par un temps sec avoisinant les 06 heures après inoculation. Le LWD minimum pour l'apparition de symptômes est de 04 à 08 heures (JOHOR et *al.*, 1998)

I-5-3. L'humidité relative

Plusieurs auteurs admettent que le développement et la prolifération de *A. rabiei* sont favorisés par une humidité saturante proche de la saturation. WEILTZIEN et KAACK (1981) rapportent que l'infection peut s'effectuer suite à une incubation de 10 heures à humidité saturante et à une température comprise entre 9°C et 21°C.

I-5-4. La lumière

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

I-5-5. Le pH

Dans les milieux de cultures, un autre facteur, à savoir le pH, qui selon plusieurs auteurs, influence l'initiation de la sporulation. Un pH compris entre 05 et 06 favorise une bonne sporulation, alors que des pH très acide ou très basique l'inhibent (GAMLIEL-ATINSKY, 2005).

En fin il y a lieu de citer d'autres facteurs qui influencent fortement le comportement et le développement de *A. rabiei*, il s'agit essentiellement de facteurs intervenant dans la dissémination de l'agent pathogène tels que la pluie et le vent.

I-6. Nutrition et parasitisme

In-vitro, 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 ainsi que leurs combinaisons affectaient la croissance mycélienne et la sporulation (AMEZIANE, 1979)

D'un point de vue nutritionnel dans les tissus de l'hôte, l'étude des modalités du parasitisme de *A. rabiei* a montré que ce champignon se comporte comme un parasite nécrotrophe

c'est-à-dire tuant d'abord les cellules de l'hôte avant de les coloniser. Dans cette action à distance, les enzymes de macération jouent un rôle important (AMEZIANE, 1981 ; TIVOLI et BANNISA 2007). De la même étude, il ressort également que cette espèce fongique utiliserait préférentiellement les glucides par rapport aux acides organiques. Son développement parasitaire serait lié l'existence de peptides et d'amidon dans les cultures où elle s'installe.

I-7. 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 restant des récoltes. Les débris et les semences infectées constituent la source de l'inoculum primaire.

Après l'infection, les conidies produites sont dispersées par le vent ou les gouttelettes d'eau véhiculées par les courants d'air, c'est la contamination ou l'inoculum secondaire (WEISE et *al.*, 1995 ; TIVOLI et BANNISA, 2007).

I-8. Processus infectieux

Lorsqu'il y a contact entre les conidies et la surface du tissu de l'hôte, les conidies vont germer 12 heures après la contamination (PAN DEY et al ,1987). Le tube germinatif s'allonge et sécrète une substance mucilagineuse pour adhère à la cuticule (HOHL et *al.*, 1990). La pénétration à l'intérieur du tissu de l'hôte à travers la cuticule des folioles et des tiges par les ouvertures naturelles (stomates, lenticelle) à lieu généralement 24 heures après l'inoculation.

A. rabiei forme des appressoria typiques à l'intérieur des stomates (LLARSLAN et DOLLAR, 2002). Cependant l'appressorium pénètre non seulement par voie mécanique, mais aussi grâce aux enzymes hydrolytiques essentiellement des xylanases, des exo-polygalacturanases et des cutinases (TENHAKER, 1992 ; TENHAKER et BARZ, 1991).

A l'intérieur des tissus, le champignon se propage sous l'épiderme au niveau des espaces intercellulaires, il envahit les cellules et provoque leur destruction. Ces attaques entraînent la formation de zones nécrotique et le développement de pycnides

Généralement les symptômes ne sont observés que trois jours après l'inoculation. Le quatrième jour, les nécroses deviennent visibles. Cinq à six jours après, les pycnides mûrissent et s'arrangent en cercles au niveau des tissus infectés de l'hôte.

Au septième jour, la plupart des cellules non lignifiées sont détruites (PAN DEY et *al.*, 1987 ; LARSLAN et DOLLAR, 2002). Au niveau des feuilles infectées, GAUR (2000), révèle que la production des pigments chlorophylliens est plus réduite que chez les feuilles saines.

I-9. Les phytotoxines

L'agressivité du champignon *A. rabiei* est liée à la production de phytotoxines (KAUR, 1995). Ces phytotoxines sont également à l'origine entre autres des nécroses caractéristiques de l'antracnose. En effet, TIVOLI et BANNISA (2007) identifient chez *A. rabiei* trois types de toxines. Il s'agit de la solanopyrones A, B et C isolées à partir de filtrat de culture ou de spores germées du champignon. Selon KAUR (1995), la solanopyrone A est plus toxique que la solanopyrone B et C et elle semble qu'elle inhibe la germination des graine et l'élongation des cotyles et des racelles de la plante hôte.

Chapitre deuxième : L'anthracnose du pois chiche

II-1. Répartition géographique et importance de la maladie

Le pois chiche est connu par sa très haute sensibilité à l'attaque des maladies hautement destructives et spécialement l'anthracnose causée par *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. (TRIPATHI et *al.*, 1987). Cette maladie est l'une des contraintes majeures pour la production de cette légumineuse dans tous les pays où elle est cultivée. Elle a pu entraîner dans certaines régions et en années pluvieuses, l'anéantissement total des récoltes (MAKHLOUFIA, 1991).

L'anthracnose du pois chiche connue sous le nom anglo-saxon de « *Ascochyta blight* » a été décrite la première fois en 1911 par Butler au Pakistan (NENE, 1981 ; NENE et REIDY, 1987). Actuellement Elle s'étend de l'Asie de l'ouest jusqu'à l'Amérique du nord et l'Amérique latine en passant par l'Europe et l'Afrique du nord (OZKILINC et *al.*, 2010) KAISER et *al.*, 2000 l'ont signalé également en Australie.

En Algérie, cette maladie n'est pas récente, elle a déjà suscité une étude menée par L'Aumont et Chevasses en 1956 et qui a concerné la sélection de lignées résistantes, ce qui revient à dire qu'elle y existait bien avant cette date. Depuis, la maladie est devenue le facteur limitant de la production de pois chiche (MAKHLOUFIA, 1991).

Les chiffres concernant l'évolution exacte des pertes occasionnées par cette maladie en Algérie, n'ont pas été estimés jusqu'à présent. Cependant, il a été rapporté que ce pathogène a entraîné la destruction de parcelles entières durant les années de forte pluviométrie (ZAATRI, 1987 ; DJELLALI, 1988).

II-2. Symptomatologie

L'étymologie du terme « Anthracnose » vient du grec : *anthrax* signifiant ulcère et *ose* qui signifie maladie, c'est une altération nécrotique des parties aériennes de la plante (MAKHLOUFIA, 1991).

Plusieurs auteurs ont décrit les symptômes de l'anthracnose du pois chiche. La majorité des description sont semblables et concernent toutes les parties aériennes de la plante (Figure 02).

Selon KAISER (2000), SHAHID et *al.* (2008), Les symptômes suivent une évolution qui peut être divisée en plusieurs étapes:

♦ Les premiers symptômes correspondent à l'apparition de taches vertes claires sur les folioles de la plante. Les taches sont circulaires en spots. Des pycnides apparaissent en suite sous forme de cercles concentriques. La foliole atteinte brunit alors, se dessèche et finit par tomber.

♦ Des lésions apparaissent ensuite sur tiges et pétioles. Sur les pétioles et les ramifications de la tige principale, des taches brunes allongées (03 à 04 cm) ponctuées de pycnides noires formant 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 l'effet de leur propre poids.

♦ Sur la tige principale, au niveau du collet, les taches brunes parfois nombreuses et confluentes évoluent en chancre profond conduisant la mort de la plante entière.

♦ 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 provoque la formation de gaines déformées.



Figure 02 : Symptômes de l'anthracnose du pois chiche : (a) premiers symptômes sur feuilles, (b) lésions sur tige et rupture suite à la sévérité de l'attaque, (c) symptômes sur gousses, (d) dégâts finaux. d'après KANOUNI et *al.* (2011)

II-3. Cycle de maladie

En dehors de la saison de la culture de la plante hôte et dans les conditions défavorables, l'agent causal à savoir *A. rabiei* se conserve sous forme de pycnides mais, surtout sous forme de pseudothèces sur les débris et les chaumes du pois chiche et les graines récoltées. Tous les auteurs s'accordent que les deux sources suscitées constituent l'inoculum primaire qui s'effectue via les ascospores issues des pseudothèces.

Dés lors et une fois la plante hôte soit cultivée et les conditions d'environnement sont réunis la maladie s'installe. Cependant les conidies produites, sont dispersées par le vent ou les gouttelettes d'eau véhiculées par les courants d'air ce qui assure ainsi l'inoculum secondaire (Figure 03). La maladie se manifeste d'abord dans de petites zones mais, se propage rapidement lorsque les conditions optimales pour la maladie l'emportent (KAISER, 2000 ; PEEVER, 2007 ; SHAHID *et al.*, 2008).

Dans des conditions appropriées, le développement de la téléomorphe du champignon, *D. rabiei*, peut se produire sur des chaumes de pois chiche infestés. Les pseudothèces initiales se développent sur les résidus à l'automne et continuent à se développer au printemps suivant. Début du mois de mars, les pseudothèces matures libèrent des ascospores sur une période de deux mois (ARMSTRONG *et al.* 2001).

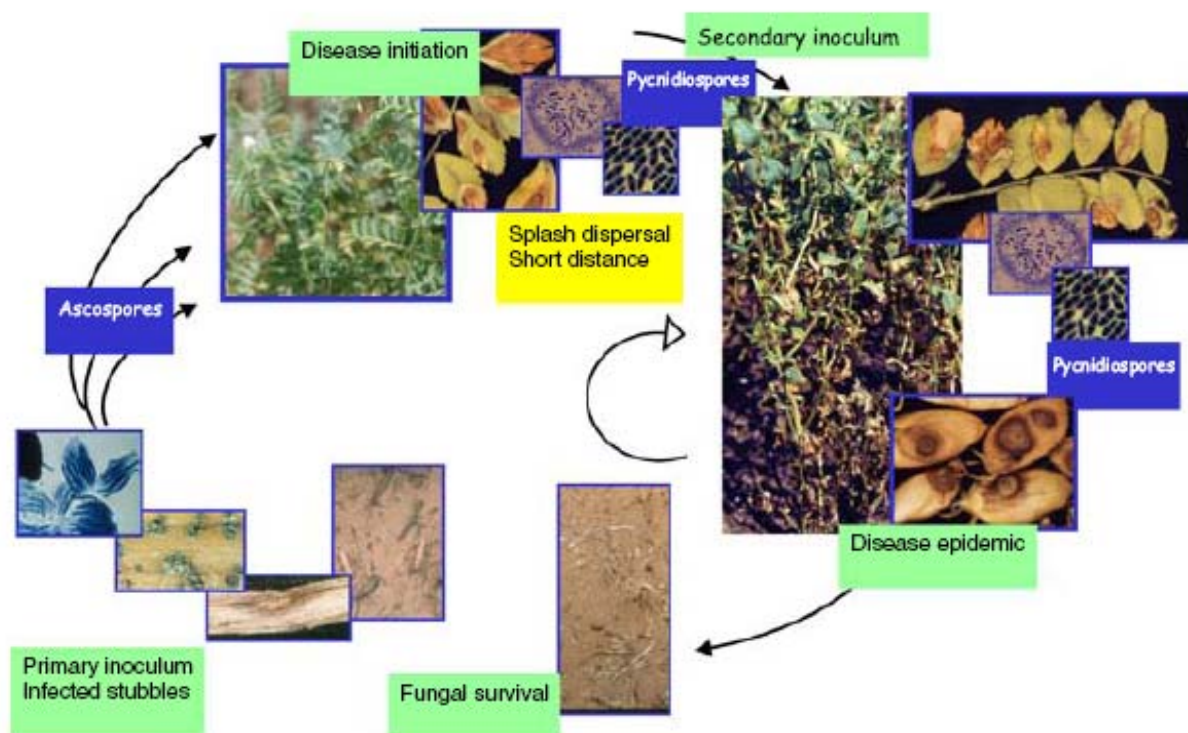


Figure 03 : Cycle de l'anthracnose du pois chiche. d'après TIVOLI et BANNISA (2007)

II-4. Méthodes et moyens de lutte

Devant l'ampleur de cette maladie redoutable, les recherches s'orientent actuellement vers la mise au point de moyens de lutte appropriés. Les méthodes les plus raisonnées consistent à utiliser de façon complémentaires, les différentes techniques de lutte culturale, génétique, chimique et biologique.

II-4-1. Lutte culturale

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

A. rabiei peut survivre plusieurs années dans les débris du pois chiche après la récolte [NARRAS-CORTES *et al.*, 1995 ; BOSSON et MILLIR, 2004). Donc, ces débris sont la source principale d'inoculum primaire après les semences. Pour cette raison, il faut les brûler ou les enfouir profondément car d'après KAISER (1981) perd sa viabilité en deux mois dans une profondeur de 10 à 40 cm.

La pratique d'une rotation convenable, particulièrement avec le blé peut être une voie de réduction du niveau de l'inoculum primaire (KAISER, 1981). De plus, une culture de pois chiche ne doit pas revenir sur une même parcelle durant au moins 04 à 06 ans [AMEZIANE, 1985).

II-4-2. Lutte génétique

La lutte génétique constitue l'un des moyens les plus économiques dans la lutte contre l'anthracnose (REDDY *et al.*, 1981 ; MAHESHWERI *et al.*, 1984) .Cette méthode consiste essentiellement à créer des variétés résistantes (NENE, 1981 ; SINGH et REDDY, 1989).

II-4-3. Lutte chimique

II-4-3-1. Traitement de semences

Les semences de pois chiche infectées est la source principale de l'inoculum primaire (NENE et REDDY, 1987 ; DEY ET SINGH, 1994). Le traitement de semences par un mélange de thiabendazole et du benomyl à donner des résultats intéressants, en revanche, ces deux même produits se sont montrés moins efficaces lorsqu'ils sont appliqués séparément (KAISER et HANNAN, 1988). DEMIRCI *et al.*, (2003) rapportent un taux de réduction du niveau de l'inoculum séminicole avoisinant les 90% suite à un traitement au carbendazime ou au chlorothalonil.

Par ailleurs STEINBERG et *al.*, (2000) révèlent que certaines applications de fongicides systémiques, malgré leur efficacité pour réduire la croissance mycélienne et la sporulation de *A. rabiei*, se sont avérées inefficaces contre *D. rabiei*.

II-4-3-2. Application foliaire de fongicides

L'application foliaire de fongicides ne contrôle qu'un seul cycle de pathogène, et elle ne peut pas contrôler le recyclage de la maladie (KAISER et HAN NAN, 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 peuvent être inefficaces (STEINBERG et *al.*, 2000).

Le moment et le nombre d'application de fongicides jouant un rôle plus important pour atteindre une lutte efficace et obtenir le maximum de rendement (CHONG 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).

Deuxième partie : ***Partie expérimentale***

Objectif de l'étude

La présente expérimentation a été réalisée pour étudier le comportement de deux isolats de *Ascochyta rabiei*, agent causal de l'anthracnose du pois chiche, sur différents milieux de culture.

L'objectif visé à travers ce travail est de définir le milieu qui favorise le mieux la croissance mycélienne. A noter que cette dernière est l'un des caractères culturels les plus importants caractérisant une espèce fongique et qui est en relation étroite avec le milieu de culture. Une fois définie, le milieu de culture peut être utilisé pour étudier d'autres caractères culturels et de définir les optimum de croissance en fonction des facteurs de milieu et d'ambiance tels que le pH, la température, la lumière ...etc.

Chapitre premier : Matériel et méthodes

I.1. Matériel fongique

Le matériel fongique est constitué de deux isolats de *Ascochyta rabiei*. Il s'agit de l'agent causal de l'anthracnose du pois chiche.

L'origine géographique des deux isolats qui ont constitué notre matériel fongique est le nord ouest algérien, plus précisément la région de Mostaganem et la région de Ain-témouchent ; régions où la culture du pois chiche est très pratiquée.

L'isolement a été effectué courant une période allant de la fin du mois de mai au début du mois d'avril à partir d'échantillons de tiges, de feuilles et de gousses de pois chiche présentant les symptômes d'anthracnose (Tableau 01). Signalons que les deux isolats utilisés sont issus de cultures pures et monosporées

Tableau 01 : Désignation des isolats de *A. rabiei*

Isolats de <i>A. rabiei</i>	Origine	date d'isolement
Armos	Mostaganem	Fin mai/Début avril 2010
Artm	Ain Témouchent	Fin mai/Début avril 2010

I.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, trois milieux de culture organiques et solide ont été retenus. Le milieu PDA (*Potato Dextrose agar*), le milieu CDA (*Chickpea seed meal Dextrose Agar*) et le milieu Sabouraud-Gélose.

I.2.1. Le milieu PDA (*Potato Dextrose agar*)

Composition : pour un volume de 1000 ml, le milieu PDA est constitué des ingrédients suivant :

- Pomme de terre 200g
- Glucose (facultatif) 20g
- Gélose 20g
- Eau q.s.p. 1000ml

Préparation : Peler, laver, couper en tranche la pomme de terre. Cuire 15 à 20 minutes dans 200ml d'eau, filtrer sur mousseline et presser. Ajouter le glucose au filtrat, compléter le volume à 1000ml, ajouter la gélose, la dissoudre. Autoclaver 30 minutes à 104° C.

I.2.2. Le milieu CDA (*Chickpea seed meal Dextrose Agar*)

Composition : Le milieu CDA est un milieu à base de pois chiche et dont la composition est ci-après :

- | | |
|-------------------------|--------|
| • Farine de pois chiche | 200g |
| • Glucose (facultatif) | 15g |
| • Gélose | 20g |
| • Eau q. s. p. | 1000ml |

Préparation : Prendre 200g de graines de pois chiche, les rincer dans de l'eau courante, laisser ces graines dans l'eau distillée pendant 12 heures et faire bouillir ensuite pendant une heure. Filtrer sur mousseline, ajouter 15g de glucose au filtrat, et compléter avec l'eau distillée le volume à 1000ml. Additionner la gélose et faire bouillir jusqu'à la dissolution de l'agar. Autoclave pendant 20 min à 120° C.

I.2.3. Le milieu Sabouraud-gélose.

Composition : Il s'agit d'un milieu couramment utilisé pour la numération et la culture des champignons. Ce milieu est composé de :

- | | |
|--------------|--------|
| • Glucose | 30g |
| • Peptone | 10g |
| • Gélose | 20g |
| • Eau q.s.p. | 1000ml |

Préparation : concernant ce milieu, nous l'avons utilisé sous une forme prête à couler après fonte.

I.3. Protocol expérimental.

L'expérimentation consiste à suivre et à évaluer dans le temps la croissance radiale ou diamétrale des deux isolats de *A. rabiei* séparément sur les trois milieux de culture suscités. En combinant les isolats aux milieux de culture, six lots expérimentaux ont été constitués (Tableau 02). Chaque lot est constitué de trois boîtes de Pétri en guise de répétitions.

Tableau 02 : Identification des lots expérimentaux.

Isolats	Milieux de culture		
	PDA	CDA	Sabouraud
<i>Armos</i>	<i>Armos-PDA</i>	<i>Armos-CDA</i>	<i>Armos-Sabouraud</i>
<i>Artm</i>	<i>Artm-PDA</i>	<i>Artm-CDA</i>	<i>Artm-Sabouraud</i>

Lot 1. *Armos-PDA* : L'isolat *Armos* cultivé sur le milieu PDA ;

- Lot 2.** *Armos-CDA* : L'isolat *Armos* cultivé sur le milieu *CDA* ;
- Lot 3.** *Armos-Sabouraud* : L'isolat *Armos* cultivé sur le milieu *Sabouraud* ;
- Lot 4.** *Artm-PDA* : L'isolat *Artm* cultivé sur le milieu *PDA* ;
- Lot 5.** *Artm-CDA* : L'isolat *Artm* cultivé sur le milieu *CDA* ;
- Lot 6.** *Artm-Sabouraud* : L'isolat *Artm* cultivé sur le milieu *Sabouraud*.

I.4. Conduite de l'expérimentation

Des disques mycéliens de 01cm de diamètre pris aseptiquement à l'aide d'un emporte-pièce à partir de cultures monospores et jeunes appartenant aux deux isolats, sont déposés au centre des boîtes de Pétri coulées préalablement. L'incubation a lieu à 22° C. La mise en culture de chaque isolat sur chacun des trois milieux est répétée trois fois (Figure 07).

I.5. Mesure de la croissance

Le suivie de la croissance radiale a été effectuée tous les trois jours et ce jusqu'au douzième jour à partir de la mise en culture.

Deux diamètres perpendiculaires au minimum ont été évalués sur les colonies au troisième, au sixième, au neuvième et au douzième jour. La croissance radiale est déduite de la moyenne des deux diamètres de chaque mesure effectuée (SERGHAT et *al.*, 2004).

I.5. Traitements statistiques des résultats

Un dispositif de traitements statistiques à trois critères de classification (trifactoriel en randomisation totale avec répétitions) a été adopté pour l'analyse de la variance relative à la croissance radiale (Tableau 03).

Tableau 03 : Dispositif statistique

Facteur 1 (F1)		Facteur 2 (F2)			Facteur 3 (F3)				
Isolat		Milieu de culture			Temps				
<i>Mod. 1</i>	<i>Mod. 2</i>	<i>Mod. 1</i>	<i>Mod. 2</i>	<i>Mod. 3</i>	<i>Niv. 1</i>	<i>Niv. 2</i>	<i>Niv. 3</i>	<i>Niv. 4</i>	<i>Niv. 5</i>
<i>Armos</i>	<i>Artm</i>	<i>PDA</i>	<i>CDA</i>	<i>Sabouraud</i>	<i>0 (t₀)</i>	<i>3^{ème} jour</i>	<i>6^{ème} jour</i>	<i>9^{ème} jour</i>	<i>12^{ème} jour</i>

Mod. : Modalité ; *Niv.* : Niveau

- Critères de classification : l'isolat avec deux modalités, le milieu de culture avec trois modalités et le temps avec cinq niveaux;
- Nombre de répétitions : trois répétitions;
- Nombre de variables mesurées : une variable.

L'analyse de variance des différents résultats est suivie s'il y a lieu d'une comparaison de moyennes des différents traitements et de leurs interactions en utilisant le test de *Newman-Keuls*.

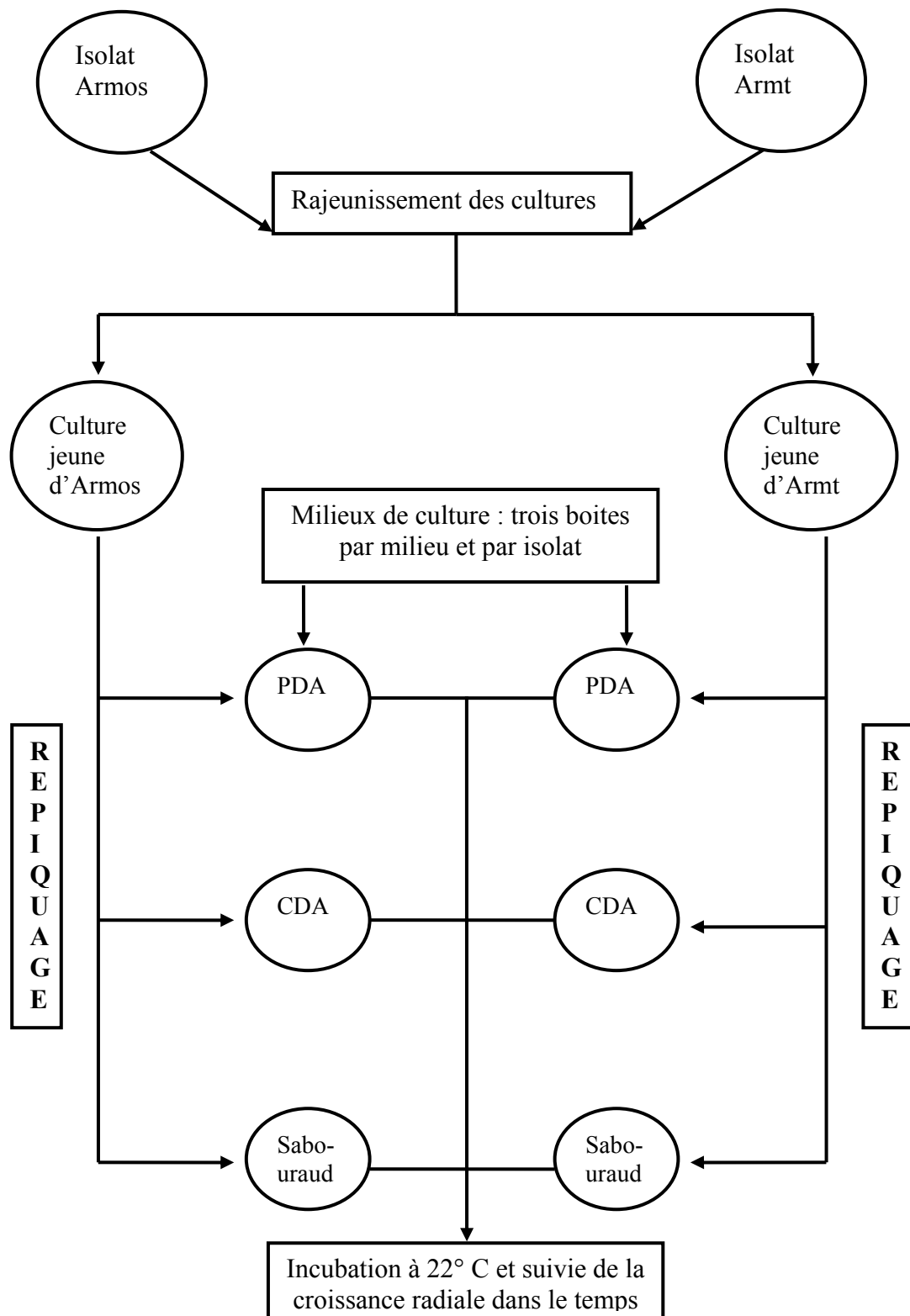


Figure 04 : Conduite de l'expérimentation

Chapitre deuxième : Résultats et discussion

II.1. Résultats

Le suivi de la croissance radiale des isolats Armos et Armt de *A. rabiei* sur les trois milieux de culture à savoir le milieu PDA, le milieu CDA et le milieu Sabouraud, est rapporté dans le tableau 04 et représenté graphiquement dans la figure 04.

Globalement les résultats obtenus nous font apparaître un comportement plus ou moins similaire des deux isolats en matière de croissance. Néanmoins une démarcation nette est à constater à partir du sixième jour de culture quand il s'agit de la croissance suivant les différents milieux de culture et le temps d'incubation.

Tableau 04 : Croissance radiale des deux isolats sur les trois milieux de culture
(Moyenne en cm $\pm$ Ecart-type)

	Isolat Armos			Isolat Artm		
	PDA	CDA	Sabouraud	PDA	CDA	Sabouraud
00 jour	01,00 $\pm$ 0,00	01,00 $\pm$ 0,00	01,00 $\pm$ 0,00	01,00 $\pm$ 0,00	01,00 $\pm$ 0,00	01,00 $\pm$ 0,00
03^{ème} jour	02,13 $\pm$ 0,21	02,20 $\pm$ 0,10	01,97 $\pm$ 0,06	01,52 $\pm$ 0,08	01,60 $\pm$ 0,10	01,42 $\pm$ 0,08
06^{ème} jour	04,20 $\pm$ 0,17	04,20 $\pm$ 0,44	02,97 $\pm$ 0,31	04,03 $\pm$ 0,06	04,97 $\pm$ 0,06	03,00 $\pm$ 0,35
09^{ème} jour	04,70 $\pm$ 0,61	06,25 $\pm$ 0,74	03,90 $\pm$ 0,70	05,43 $\pm$ 0,40	07,25 $\pm$ 0,66	03,48 $\pm$ 0,45
12^{ème} jour	05,34 $\pm$ 0,15	08,00 $\pm$ 0,78	05,39 $\pm$ 0,98	06,95 $\pm$ 0,25	07,93 $\pm$ 0,40	05,28 $\pm$ 0,75

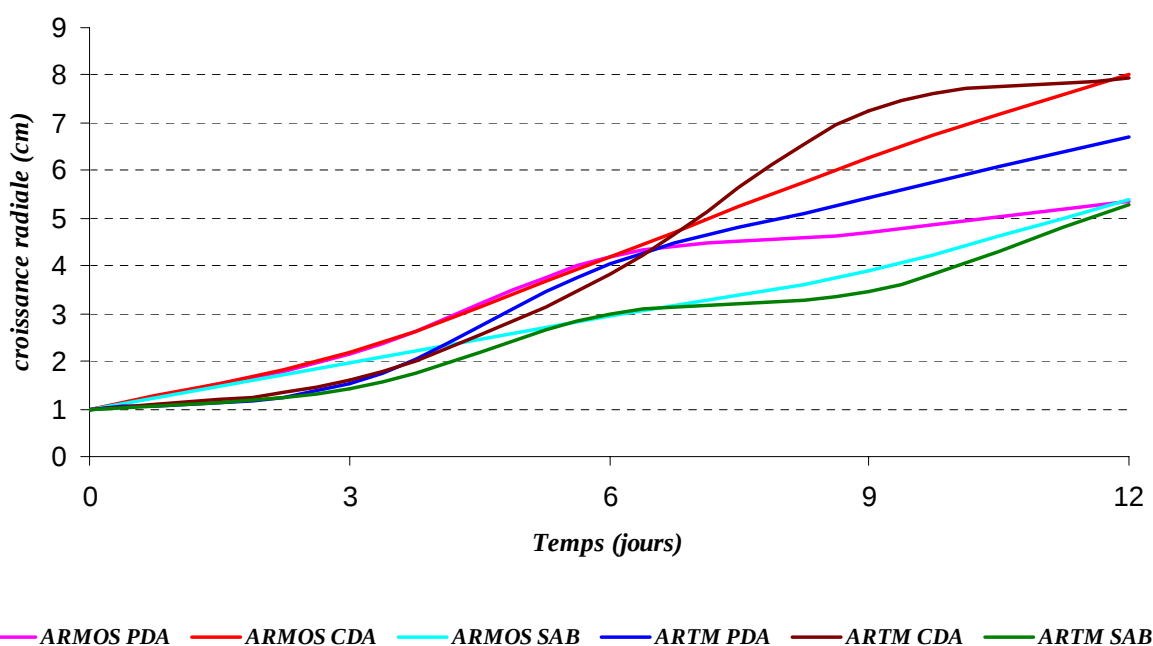


Figure 05 : Croissance radiale des deux isolats sur les différents milieux de culture

L'analyse statistique des résultats relatifs aux différents facteurs étudiés nous révèle bien l'effet non significatif de l'isolat. Les deux isolats croissent au même rythme le long des douze jours d'incubation. A juste titre la figure 05 montre clairement que sur le milieu CDA, Armos et Armt suivent sensiblement la même allure en matière de croissance pour atteindre un diamètre de colonie de l'ordre de $08,00 \pm 0,78$ et de $07,93 \text{cm} \pm 0,40$ respectivement après avoir démarré de 01cm au moment de la mise en culture, chose qui explique ainsi les effets hautement significatifs du temps d'incubation et de son interaction avec le facteur isolat ($P < 0,01$).

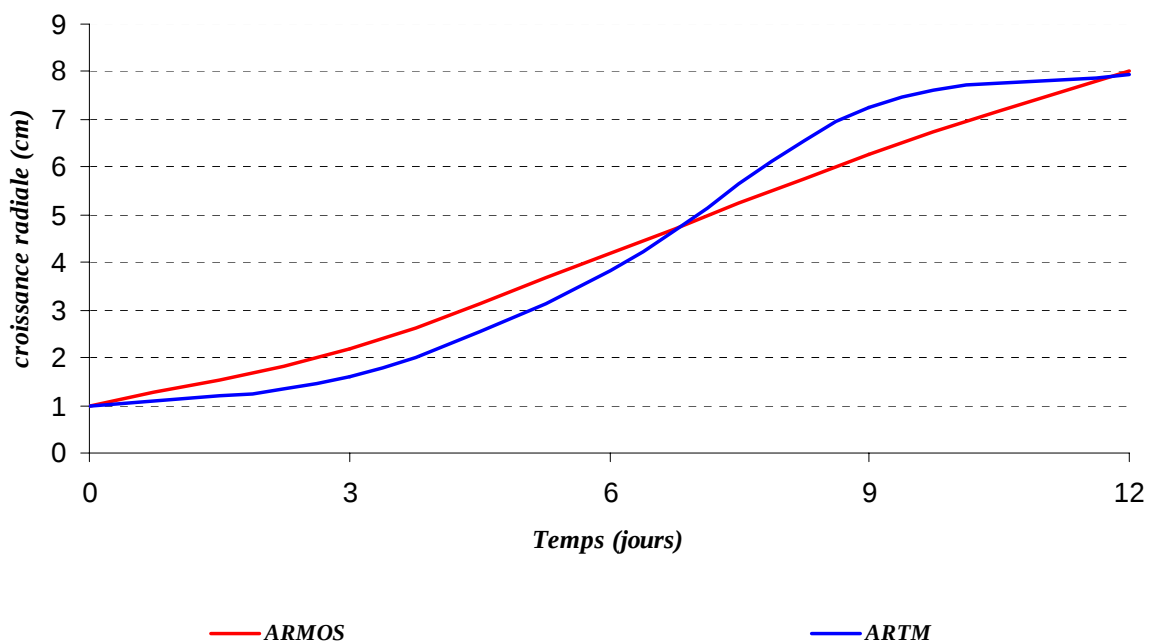


Figure 06 : Croissance radiale des deux isolats sur le milieu CDA

Par ailleurs, le type de milieu de culture semble jouer un effet significativement marqué. Cependant nous avons constaté que quelque soit l'isolat, la croissance varie d'une manière hautement significative ($P < 0,01$) avec la variation du milieu. La meilleure croissance est enregistrée sur le milieu CDA (Figure 06 et 07).

A titre d'exemple et au terme de l'incubation, l'isolat Armos cultivé sur le milieu CDA atteint $08,00 \text{cm} \pm 0,78$ contre $05,34 \pm 0,15$ et $05,39 \text{cm} \pm 0,98$ lorsqu'il est cultivé sur PDA et Sabouraud respectivement. L'isolat Armt a suivi la même tendance atteignant les $07,93 \text{cm} \pm 0,40$ de diamètre de colonie sur CDA alors qu'il n'enregistre sur PDA et Sabouraud que $06,95 \pm 0,25$ et $05,28 \text{cm} \pm 0,75$ respectivement.

Le facteur temps, qui a lui seul influencé significativement la croissance, nous semble pas de même lorsqu'il interagit avec le facteur milieu. En-deçà de six jours d'incubation, les

moyennes de croissance enregistrées appartiennent au même groupe et leur ségrégation n'a lieu qu'au-delà de six jours.

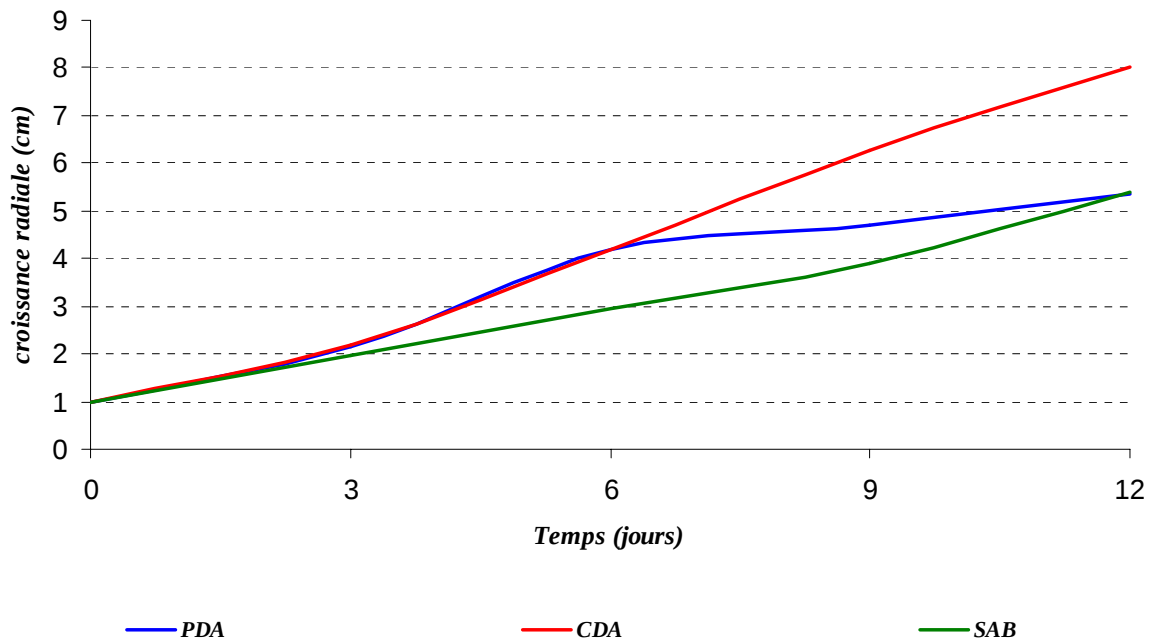


Figure 07 : Effet du milieu de culture sur la croissance radiale de l'isolat Armos

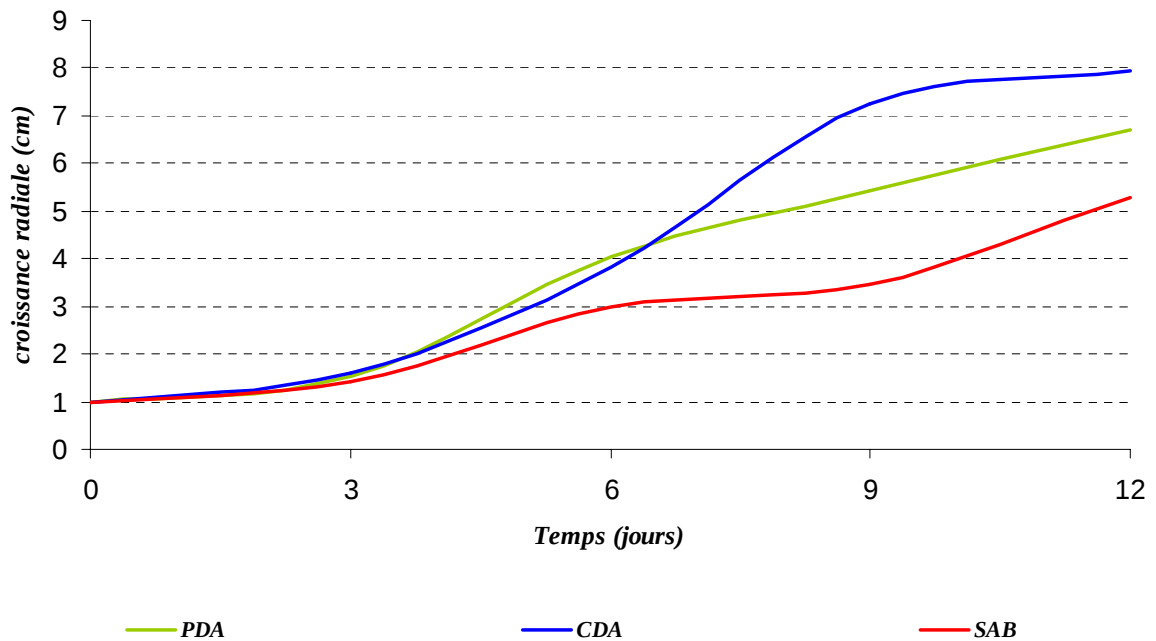


Figure 08 : Effet du milieu de culture sur la croissance radiale de l'isolat Artm

Tableau 05 : Analyse de variance relative à la variable croissance radiale

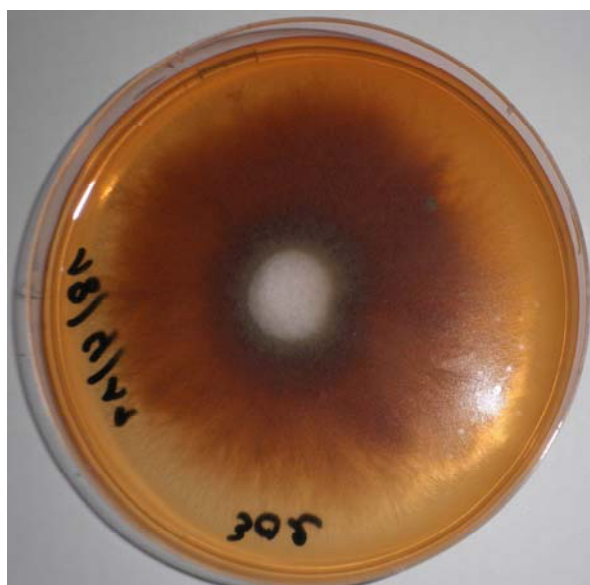
Variation	DDL	TEST F calculé	TEST F théorique ^(a)	Probabilité	Signification de l'effet	C.V.
Variation due à l'isolat (F1)	01	001,834	04,00	0,17738	NS	
Variation due au milieu de culture (F2)	02	095,797	04,98	0,00000	**	
Variation due au temps (F3)	04	538,108	03,65	0,00000	**	
Variation due à l'interaction F1xF2	02	002,904	03,15	0,06105	NS	
Variation due à l'interaction F1xF3	04	004,844	03,65	0,00198	**	
Variation due à l'interaction F2xF3	08	018,217	02,82	0,00000	**	
Variation due à l'interaction F1*2*3	08	003,134	02,82	0,00508	**	
Résiduelle	60					11,31%

DDL : degré de liberté, **C.V.** : coefficient de variation, **NS** : non-significatif, ****** : hautement significatif, **(a)** : valeurs tirées des tables de SNEDECOR (VESSEREAU, 1992)

II.2. Discussion

La croissance mycélienne d'une espèce fongique est liée au milieu de culture et de sa composition (LEPOIVRE, 2003). Cependant la meilleur croissance mycélienne de *A. rabiei* sur le milieu CDA comparativement aux milieux PDA et Sabouraud peut être imputé à la richesse du milieu CDA, particulièrement en peptides. AMEZIANE (1981) et TIVOLI et BANNISA (2007) rapportent une explication corroborant la notre quand il explique le développement parasitaire de souches de *A. rabiei*. Par ailleurs, le milieu CDA est un milieu riche à base de pois chiche qui est une plante appartenant à la famille des légumineuses connues pour leur teneur importante en matière azoté et en glucides.

Quand à la similarité du comportement des deux isolats sur les différents milieux utilisés, le suivie de la croissance mycélienne ne peut à elle seule éloigner la thèse d'une possible variabilité. Selon BASANERAI et al., (2005), ALI et al., (2009) et OZKILINC et al., 2010, la ressemblance phénotypique et culturelle ne réfute pas la possibilité d'une variabilité génétique de *A. rabiei* isolé de différentes régions.



a



b



c



d

Figure 09 : Aspect de colonies de *A. rabiei*, (a) sur Sabouraud, (b) sur PDA, (c) sur CDA, (d) vue microscopique (X40). Original (2011)

Conclusion

Au terme de la présente étude, il nous a paru clairement que les deux isolats n'ont pas présenté une variabilité vis-à-vis de leur croissance, néanmoins cette constatation ne nous permette pas de tirer une quelconque conclusion en ce qui concerne leur appartenance à une seule population ou des populations différentes. En revanche, nous avons pu définir un milieu de culture à priori adéquat pour une caractérisation plus ou moins complète des populations locales de *A. rabiei*.

En matière de recommandation, notre modeste contribution à l'étude de deux isolats locaux de l'agent causal de l'anthracnose du pois chiche à savoir *A. rabiei* ouvre la voie pour étudier d'autres caractères cultureux et morphologiques en essayant de tester les effets de d'autres facteurs de milieu et d'ambiance.

La maîtrise de l'anthracnose du pois chiche passe inéluctablement par la connaissance de la biologie et de l'écologie de l'agent causal, connaissance qui permette de mettre au point des moyens de lutte appropriés visant en finalité l'amélioration des rendements et de la production sur le plan quantitative et qualitative.

Références Bibliographiques

- AGRIOS G. N.**, 1988. Plants pathology, 4th ed. Academie Press, London. Pp 271-272-
- ALLARD C. BILL L. TOURAUD G.**, 1993. L'anthracnose du pois. Revue bibliographique et synthèse. *Agronomie* 13 pp 05-24. Elsevier-INRA.
- AMEZIANE E. A.**, 1979. Quelques aspects de la biologie de *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. Thèse DEA , Université de Rennes I (France). 28 p.
- AMEZIANE E. A.**, 1981. Modalité d' expression de la résistance d' un cultivar de pois chiche (*Cicer arietinum* L .) à *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. Thèse de Docteur - ingénieur . ENSA Renne (France). 41 p.
- AMEZIANE E. A.**, 1985. L'anthracnose du pois chiche. *Annual report*. pp 55-59.
- ARMSTRONG C. L., CHONGO G. GOSSEN B. D. et DUCZEK, L. J.**, 2001. Mating type distribution and incidence of the teleomorph of *Ascochyta rabiei* (*Didymella rabiei*) in Canada. *Can. J. Plant Pathol.* 23. pp110-113.
- ARMSTRONG, C. L., CHONGO G. GOSSEN, B. D. et GHONGOM G.** 2004. Impact of continuous or interrupted Leaf wetness on infection of chickpea by *Ascochyta rabiei*. *Can. J. Plant Pathol.* 26. pp 134-141.
- BARVE M.P., ARIE T., SALIMATH S., MUEHLBAUER F.J. et PEEVER T.L.**, 2003. Cloning and characterization of the mating type (MAT) locus from *Ascochyta rabiei* (teleomorph: *Didymella rabiei*) and a MAT phylogeny of legume-associated *Ascochyta* spp. *Fungal Genetics and Biology* 39: pp151-167. ACADEMIC PRESS.
- DEMIRCI F., BAYRAKTER 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. pp519-524.
- DEY S. K et SINGH G.** 1994. Seed-Born infection of *Ascochyta rabiei* in chickpea and its transmission to aerial plant parts. *Phytoparasitica* 22. pp 31-37.
- DJELLALI A.** 1988. Etude en plein champ de la résistance du pois chiche à l'anthracnose. Thèse Ing. en Agronomie. INA, Al-Harrach Alger, Algérie. 47p.
- 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.
- GAN Y. T., SIDDIQUE K. H. M., MACLEOD W. J. et JAYAKUMAR P.** 2006. Management options for minimizing the damage by *Ascochyta* blight (*Ascochyta rabiei*) in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Res.* 97. pp 121-134.
- GAUR R. B.** 2000. Influence of *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. On chlorophyll of chickpea. *Indian Journal of Plant Pathology* 28. pp 08-210.
- HOHL B., PFANTSCH M. et BARZ W.** 1990. Histology of disease development on resistant and susceptible cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.) inoculated with spores of *Ascochyta rabiei*. *J. Phytopathol. Berlin* 129. pp 31-45.
- ILARSLAN H. et DOLAR F. S.** 2002. Histological and ultra structural changes in leaves and stems of resistant and susceptible chickpea cultivars to *Ascochyta rabiei*. *J. of Phytopathol. Berlin* 150. pp 340-348.
- KAISER W. J.** 1981. Control of *Ascochyta* blight of chickpea through seed. *ICARDA. Alep. Syrie.* pp 117-122.

- 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. pp 625-637.
- KAISER W. J., COCA F. W.** et **VEGA S.** 2000a. First report of *Ascochyta blight* of chickpea in Latin America. *Plant Disease* 84. pp102-107.
- KANOUNI H. TALEEI A.** et **OKHOVAT M.** 2011. *Ascochyta blight* (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab.) of chickpea (*Cicer arietinum* L.) Breeding strategies for resistance. *Intern. J. Plant Breeding and Genetics.* 5(1): pp01-22. *Academics Journals Inc.*
- KAUR S.** 1995. Phytotoxicity of solanapyrones produced by the fungus *Ascochyta rabiei* and their possible role in blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Sci.* 109. pp 23-29.
- KAUR, S.,** 1995. Phytotoxicity of solanapyrons produced by the fungus *Ascochyta rabiei* and their possible role in blight of chickpea (*Cicer arietinum*). *Plant Science*, 109. pp23–29.
- KHAN M. S. A., RAMSEY M. D., CPRDIÈRE R., INFANTINO A., PORTA – PUGLIA, A., BOUZNAD Z.** et **SCOTT E. S.** 1999. *Ascochyta blight* of chickpea in Australie : Identification, pathogenicity and mating – type. *Plant Pathology* 48. pp 230-234.
- KHANA M. S. A., RAMSEYB M.D., CORBIÈRE R., INFANTINOD A., PORTA-PUGLIAD A., BOUZNADE Z.** et **SCOTTA E. S.,** 1999. *Ascochyta blight* of chickpea in Australia: identification, pathogenicity and mating type. *Plant Pathology* 48: pp230–23. *BSPP.*
- KHUNE M. M.** et **KAPOOR J. M.** 1980. *Ascochyta rabiei* synonymous with *Phoma rabiei*. *Indian Phytopathology* 33. pp 119-120.
- LEPOIVRE P.,** 2003. *Phytopathologie : Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte.* De boeck, Press. Agro. de Gembloux.
- MADEN S., SINGH D., MATHER S. B.** et **NEERGARD P.** 1975. Detection and location of seed-born inoculums of *Ascochyta rabiei* an dits transmission in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Seed Sci. And Technol.* 03. pp 667-681.
- MAHESHWARI R. V.** et **BHAN-BHANUSHALLY T.** 1984. C. N. G. 146 chickpea : An answer to *Ascochyta blight*. *International chickpea Newsletter*, n°10. pp 7-9.
- MAKHLOUFIA Y.** 1991. Etude de la contribution de fongicides à la survie de plantes de pois chiche (Variété Sebdou) vis-à-vis de l' anthracnose. *Thèse d' ing. En Agronomie, Centre Univ. De Mascra.* 73p.
- NAVA-CORTES J. A., PERES-ARTES R., JIMENES-DIAZ R. M., LIBALL A., BAINBRIDGO 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). pp 199-212.
- NAVAS-CORTES J. A.** 1992. El teleomorfo de *Ascochyta rabiei* en Espania : Detection desarrollo y papel en la epidemiologia de la rabia del garbonzo (*Cicer arietinum* L.). *Thèse de Ph. D., Université de Co. Doba, Cordoba, Espagne.*190p.
- NAVAS-CORTES J. A., TRAPERO-CASAS A.** et **JIMENEZ-DIAZ R. M.** 1998. Influence of relative humidity and temperature on development of *Didymella rabiei* on chickpea debris. *Plant Pathology* (1998) 47 : pp57–66. *BSPP.*
- NENE Y. L.** 1981. A review of *Ascochyta blight* of chickpea (*Cicer arietinum* L.). In: **SAXENA M. C.** et **SINGH k. b.**. Proceeding on workshopon *Ascochyta blight* and winter sowing chickpea, 4-7 May 1981. Alep, Syrie. *ICARDA.* pp 17-33.
- NENE Y. L.** et **REDDY M. V.** 1987. Chickpea diseases and their control. In :

Saxena, M. C. et Singh, K. B.. The chickpea. *C A B International. Oxen. England. pp 233-270.*

OZKILINC H., FRENKEL O., ABBO S., ESHED R., SHERMAN A., SHTIENBERG D., OPHIR R. et CAN C. 2010. A comparative study of Turkish and Israeli populations of *Didymella rabiei*, the ascochyta blight pathogen of chickpea. *Plant Pathology* 59, pp492–503. *BSPP.*

PANDEY B. K., SINGH U. S. et CHAUBE H. S. 1987. Mode of infection of *Ascochyta blight* as caused by *Ascochyta rabiei*. *J. Phytopathol. Berlin* 119, pp 88-93.

PEEVER T. L. 2007. Role of host specificity in the speciation of *Ascochyta* pathogens of cool season food legumes. *Eur J Plant Pathol* 119: pp119–126. *KNPV*

PEEVER T. L., SALIMATH S. S., SU G., KAISER W. J. et MUEHLBAUER F. J. 2004. Historical and contemporary multilocus population structure of *Ascochyta rabiei* (teleomorph: *Didymella rabiei*) in the Pacific Northwest of the United States. *Molecular Ecology* 13: pp 291–309. *Blackwell Publishing Ltd.*

PORTA-PUGLI A., 1990. Status of *Ascochyta rabiei* of chickpea in the Mediterranean basin. *Options Méditerranéennes - Série Séminaires – n° 9: pp 51-54. CIHEAM*

REDDY M. V. SINGH K. B. et NENE. Y. L. 1981. Sereening techniques for *Ascochyta blight* and winter sowing of chickpea. In: Saxena. M. C. et Singh, K. B. Eds . *ICARDA. 4-7 May. Alep, Syrie. pp 45-53.*

REDDY, M. V. 1986. Control of seed-born diseases of chickpea and lentil. (Srivastava, J. P. et SIMARSKI, L. T., Eds.). *Seed Production And Technology. 22. pp 207-218.*

SERGHAT S., MOURIA A., OUZZANI T. A., BADO C. et DOUIRA A. 2004. Effet de quelques fongicides sur le developpement

in-vitro de *Pyricularia grisea* et *Helminthosporium oryzae*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* 134, pp07-18.

SHAHID A. A., HUSNAIN T. et RIAZUDDIN S. 2008. Ascochyta blight of chickpea: Production of phytoalexins and disease management. *Biotechnology Ascochyta Advances* 26. pp 511-515.

SHAHID A. A., HUSNAIN T., RIAZUDDIN S., 2008. Ascochyta blight of chickpea: Production of phytotoxins and disease management. *Biotechnology Advances* 26 pp 511–515. *Elsevier.*

SINGH K. B. et REDDY M. V. 1989. Genetics of resistance to *Ascochyta blight* in four chickpea lines. *Crop Sci.* 29. pp 657-659.

TENHAKEN R. 1992. Virulenzfaktoren phytopathogener pilze biochemische und molekularbiologische untersuchungen zur infektion der kicherebse duech *Ascochyta rabiei*. *Dissertation, Univ. Münster, Münster, Allemagne.*

TENHAKEN R. et BARZ W. 1991. Characterization of enzymes from the chickpea pathogen *Ascochyta rabiei*. *biochem Biophys. Biol. Virol.* 46. pp 51-57.

TIVOLI B. ET BANNIZA S., 2007. Comparison of the epidemiology of ascochyta blights on grain legumes. *Eur. J. Plant. Pathol.* 119. pp59–76. *KNPV.*

TRAPERO-CASAS A. et KAISER W. J. 1992a. Development of *Dedimella rabiei*, the teleomorph of *Ascochyta rabiei*, on chickpea straw. *Phytopthology* 82. pp 1261-1266.

TRAPERO-CASAS A. et KAISER W. J. 1992b. Influence of temperature, wetness period, plant age and inoculation concentration on infection and development of *Ascochyta blight* of chickpea. *Phytopathology* 82. pp 589-596.

VESSEREAU A., 1992. Méthodes statistiques en biologie et en agronomie. 2ème éd. *Tech. & Doc. Lavoisier.*

WIELTZIEN H. C. et **KAACK H. J.** 1981. Epidemiological aspects of chickpea *Ascochyta blight*. In : *Ascochyta blight* and winter sowing of chickpeas. ICARDA, 4-7 May 1982. Saxena M. C. et **Singh K. B.**. Martinus Nijhoff / Dr Junk Publ. pp 35-40.

ZAATRI M. 1987. Contribution à l' étude de l' anthracnose de pois chiche. Asoects de la résistance et races physiologiques. *Thèse d' Ing. En agronomie. INA. EL-Harrach. Alger.* 49p.