

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Amar TELIDJI - Laghouat -
Faculté des Sciences
Département des Sciences Agronomiques

- جامعة عمار ثلوي
- كلية العلوم
- الفلاحيّة



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

***En vue de l'obtention du diplôme de Master en Agronomie
Option : Protection Des Végétaux et d'Environnement***

Thème

***Identification et caractérisation des
Fusarium isolés à partir des grains de blé***

Présenté par : **BEN ALI Fatima Zohra**

Le : 25 juin 2014

Encadré par : **Mme TOUATI S. ; Maître-assistante A**

BEN ALI Fatima Zohra

Identification et caractérisation de *Fusarium* isolées à partir de grains de blé

Résumé :

Les céréales occupent une place importante en Algérie de part leur diversité ainsi que l'intérêt nutritionnel et agronomique. Aussi comme beaucoup de produits agricoles, ils sont le siège d'une mycoflore qui peut se développer aussi bien en plein champ qu'au cours du stockage. L'incidence population biologique sur la qualité de conservation de ces produits devient une problématique aussi bien pour leur valeur nutritionnelle. Parmi la flore qui se développe, le *Fusarium* est un producteurs potentiel de mycotoxines et dont certaines sont très dangereuse pour la santé humaine et/ou animale (trichothécène ,Zearaléone).

L'objectif de ce travail est d'identifier les différentes espèces de *Fusarium* isolées à partir des semences de blé et d'identifier leur pouvoir toxinogène.

Les résultats ont permis de mettre en évidence plus de 15 espèces appartenant au genre *Fusarium*, nous avons obtenu une grande diversité d'espèces avec une dominance de *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum*.

L'étude du pouvoir toxinogène réalisée par la technique CCM, révèle que certains isolats comme le *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum*, sont toxinogènes.

Mots clés : céréales, identification, potentiel toxinogène, *Fusarium*, mycotoxines trichothécène .

الزهرء تحديد وتوصيف الفيوزاريوم المعزولة

مرتبة هامة نظرا لتنوعها ولفائدتها الغذائية والزراعية. مثل العديد من المنتجات الزراعية، الحبوب من نمو الفطريات التي يمكن لها التطور التخزين. تأثير مثل هذه المجمعات البيولوجية على نوعية حفظ المنتجات تصبح مشكلة بالنسبة لقيمتها الغذائية. و من هذه الفطريات *Fusarium* هو المنتجين للسموم الفطرية وبعضها خطير / أو الحيوانية (زيرالينون، تركوتسين) ..

الهدف هذه هو تعيين مختلف فطريات *Fusarium* تقيم السمية .

بتبين 51 ينتمي *Fusarium* الكبير هيمنة

Fusarium graminearum *Fusarium culmorum*

تقنية الرقيقة *Fusarium*

Fusarium graminearum *Fusarium culmorum* .

المفتاحية : , التعين , السمية, *Fusarium*, ميكوتكسين، تركوتسين

BEN ALI Fatima Zahra

Identification and characterization of *Fusarium* isolated from wheat grains

Abstract:

Cereals prominently in Algeria because of their diversity and the nutritional and agronomic interest. Also like many agricultural products, they are the seat of a fungal population may grow as well in the field than in storage. The impact on biological population keeping quality of these products becomes a problem both for their nutritional value. Among the flora that grows, *Fusarium* is a potential mycotoxin producers, some of which are very dangerous to human health and / or animal (trichothecene zearalenone). The objective of this work is to identify the different species of *Fusarium* isolated from wheat seeds and identify toxin power of these .

The results were used to highlight more 15 species belonging to the genus *Fusarium*; we got a great diversity of species with a dominance of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum*. The study of toxigenic power produced by the CCM technique reveals that some isolates as *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* are toxigenic.

Keywords: cereal, identification, toxigenic power *Fusarium* trichothecene mycotoxins.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes parents qui je veux leur dire que je ne peux pas vous donner tous ce que le monde renferme malgré mon grand amour pour vous ,mais une chose que je vous donne et cela pour toujours c'est tout respect et mon cœur jusqu'à dernier souffle .

A mes frères et mes sœurs

A notre fleur épanouie Meriem

A mes chères amies : SALIHA, , Souad, Khaira , ,Zineb, chahra,Sara

Et Mes collègues et mes ami(e) s qui nous ont connus de près ou de loin; Qui seront toujours dans mon cœur.

A toute la promotion d'Agronomie

2013-2014

Fatima Zohra

Remerciement

Avant tout, je remercie DIEU de m'avoir donné la force, la patience et le courage pour accomplir.

Au terme de ce travail, j'exprime agréablement mes sincères remerciements à ma promotrice, Mme. TOUATI S., maitre assistante à l'université Ammar Telidji (Laghouat) pour avoir accepté de m'encadrer, pour sa patience, sa disponibilité et ces conseils judicieux m'ayant permis d'améliorer mon travail; qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect et reconnaissance.

Nous tenons tout d'abord à remercier le membre de jury pour avoir accepté de jury mon travail.

je voudrais aussi souligner mon extrême gratitude à l'égard de mes enseignants qui m'ont soutenu tout au long de mon cursus universitaire ainsi qu'à tous les personnels du laboratoire. Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

J'adresse mes profonds remerciements à toutes mes amies et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Fatima Zohra

TABLE DES MATERES

Résumé	
Dédicaces	
Remerciements	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES ABREVIATIONS	
INTRODUCTION	
PARTIIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : DONNEES SUR LES CEREALES	5
I.1.Origine de blé	5
I.2.Importance économique	5
I.3. Situation de la culture de blé en Algérie	5
I.4.Classification	6
I.5.Cycle biologique	7
I.6.Principales contraintes sur culture de blé en Algérie	8
I.6.1.Contraintes abiotiques	8
I.6.2.Contraintes biotiques	9
CHAPITRE II : LA FUSARIOSE ET MYCOTOXINES ASSOCIEES	11
II. 1.Les différents types de Fusariose	11
II.2. La symptomatologie	12
II.2.1. La Fonte de semis	12
II.2.2.Fusariose des épis, des graines « Gal de l'épi »	12
II.2.3.Fusarioses du pied, de la tige et des nœuds :	13
II.2.4.Pourriture racinaire	14
II.3. Agent causal <i>Fusarium spp</i>	15
II.3.1. Etiologie	15
II.3.2Classification classique	15
a. L'anamorphe	15
b. Les téléomorphes	15
II.3.3.Caractères macroscopiques	16
II.3.4.Caractères microscopiques	16

II.4. Épidémiologie	19
II.4.1. La dissémination	19
II.4.2L'infection et la colonisation des épis	20
II.5. Mycotoxines	21
II.5.1.Définition des mycotoxines	22
II.5.2. Les mycotoxines associées aux fusarioses	22
II.5.3Origines et principaux mécanismes d'élaboration des mycotoxines	23
II.5.4.Facteurs de production des mycotoxines	23
II.5.5 Mode d'action des mycotoxines	24
II.5.6.Les trichothécènes	24
II.6.Principaux méthodes de détection des isolats toxigène	25
II.7.Réglementation	26
II.8. Méthodes de lutte	26
II.8.1. Application des fongicides	26
II.8.2.Pratiques culturales	27
II.8.3. Lutte biologique	27
II.8.4. Résistance des cultivars	28
PARTIE II : MATERIEL ET METHODES	
II.1.Matériel végétale	30
II.2. Méthodes d'isolement	31
II.2.1.Méthode d'isolement à partir de la semence	31
a. Echantillonnage et prise d'essai	31
b. Stérilisation superficielle des grains	31
II.2.2.Isolement	31
a. Isolement sur le Dichloran chloramphenicol Peptone Agar (DCPA)	31
b. Lecture des résultats d'isolement (milieux DCPA)	32
II.3. Méthodes de purification	33
III.3.1. Repiquage successif	33
III.3.2. La culture Monospore par scarification	33
II.4. Calcule de la fréquence et l'abondance des espèces de <i>Fusarium</i>	34
III.5.1.La fréquence	34
III.5.2.L'abondance	34
II.5. Identification des isolats isolés	34

II.6. Méthodes de conservation des isolats	35
II.7. Détection du potentiel toxigène des isolats de <i>Fusarium</i>	35
II.7.1 Mise en culture des isolats de <i>Fusarium</i> pour la production des spores en milieu liquide CMC	35
II.7.2 Milieu synthétique pour mycotoxines	36
II.7.3. Extraction et purification des trichothécènes TCTB à partir du milieu de culture MS:	36
II.7.4 Analyse des trichothécènes B par CCM	37
PARTIE III : RESULTAT ET DISCUSSION	
I.1. Résultats de l'isolement et d'identification de la mycoflore fusarienne associée aux semences	41
I.2. I.2. Résultat d'identification de la mycoflore fusarienne	47
I.3. Résultat d'extraction des mycotoxines et la migration sur la plaque CCM....	55
CONCLUSION	59
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	62
ANNEXES	73

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : les différents stades de développement du blé.....	08
Figure 02 : symptômes à la levée	12
Figure : 03 les symptômes (A) : Fusariose sur du blé printemps, (B) organes fructifères noirs sur orge, (C) Grains de blé endommagés par le <i>Fusarium</i> ; à gauche – grains sains; au centre grains momifiés; à droite grains infectés teintés.....	13
Figure 04: les symptômes sur pied, tige nœud	14
Figure 05: symptômes des pourritures racinaires.....	14
Figure 06 : Mycellium, sporodochie et spores du genre <i>Fusarium</i> (Gx2500).....	17
Figure 07 : Spores de <i>F.avenaceum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. graminearum</i> et <i>F. poae</i> (Leslie et Summerell, 2006) in Boutigny (2007). (échelle : 25 µm).....	17
Figure 08 :Macroconidies septées <i>Fusarium</i> :(A) <i>Fusarium solani</i> , (B) <i>Fusarium longipeps</i>	18
Figure 09 : Deux types de spores de <i>Fusarium</i> : (A)Microconidies de <i>Fusarium moniliforme</i> et(B) chlamydospores de <i>Fusarium equiseti</i> . (Nelson et al , 1994).....	18
Figure10 : Monophialides et polyphialides des espèces de <i>Fusarium</i> , (A) <i>Fusarium Moniliforme</i> ; (B) <i>Fusarium subglutinans</i> (18).(Nelson et al, 1994).....	19
Figure11 : Cycle biologique de la fusariose de céréales.....	21
Figure12 : Illustration de la Méthode Geves	32
Figure 13: récapitulatif du protocole d'analyse de grains de céréales pour la détection de <i>Fusarium</i> spp.....	33
Figure 14: La production des spores au milieu MS.....	36
Figure 15: Séparation de deux phases, la phase organique et le milieu MS.....	38
Figure 16: Extraction des mycotoxines par la rota-vapeur.....	38
Figure 17 : La phase de la migration.....	39
Figure 18: Colonies de <i>Fusarium</i> formées sur DCPA.....	41
Figure 19: Caractères macroscopiques et microscopique des espèces de <i>Fusarium</i> obtenu.....	50
Figure 20: Caractères macroscopiques et microscopique des espèces de <i>Fusarium</i> obtenu.....	52
Figure 21: Caractères macroscopiques et microscopique des espèces de <i>Fusarium</i> obtenu	54
Figure 22 : CCM pris sous UV montrant la migration.....	55

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Taxonomie et répartition géographique des blés	6
Tableau 2 : Inventaire des maladies fongiques du blé et de l'orge recensées en Algérie ...	10
Tableau 03 : Mycotoxines et champignons responsables de leur production.....	22
Tableau 04: liste des lots des variétés et des lignées de blé analysés.....	30
Tableau 05: liste des isolats obtenus.....	42
Tableau 06: Mycoflore Fusarienne chez les variétés et les lignées de blé.....	43
Tableau 07: abondance et niveau d'infestation des espèces de <i>Fusarium</i> isolés à partir des échantillons de blé selon la région de récolte	44
Tableau 08: abondance d'infestation des espèces de <i>Fusarium</i> isolées à partir des échantillons de blé selon les espèces des céréales	44
Tableau 09: Abondance d'infestation des espèces de <i>Fusarium</i> isolées à partir des échantillons de blé selon les variétés.....	45

LISTE DES ABREVIATION

CCM : chromatographie sur couche mince

CMC : Carboxy méthyl cellulose

DCPA: Dicholoran chloramphenicol Peptone Agar

DON : le déoxynivalénol (ZEA)

FAO: Food and Agriculture Organization

MS : Mycotoxin Synthetic medium

PDA: Potato Dextrose Agar (PDA).

SAU : surface agricole utile

sp : espèce non identifiée

TCTB : trichothécènes B

ZEA : zéaralénone

rpm : rend par minute

Introduction

INTRODUCTION :

Les céréales constituent de loin la ressource alimentaire la plus importante dans le monde à la fois pour la consommation humaine et pour l'alimentation du bétail.

Le secteur des céréales est d'une importance cruciale pour les disponibilités alimentaires mondiales (Djermoun, 2009).

Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins.

En Algérie la filière céréalière constitue l'une des principales filières de la production agricole, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale, une superficie de 3,3 millions ha et concerne près de 600 000 agriculteurs (60% du total des agriculteurs), Une production céréalière annuelle d'une valeur qui avoisine les 02 milliard de dollars en 2012(KEHAL, 2012).

Bien que différentes mesures aient été prises pour améliorer la production nationale des céréales et assurer notre sécurité alimentaire en cette denrée de base, la qualité des grains récoltés continue à être appréciée sur la base du poids spécifique, de l'humidité, des taux de métadinage et des impuretés. Or, la qualité sanitaire des grains récoltés dépend étroitement de la présence de moisissures et de leurs mycotoxines. Ces contaminants biologiques constituent actuellement un problème majeur de sécurité sanitaire des aliments.

Parmi les problèmes phytosanitaires affectant la qualité des grains de blé, la fusariose de l'épi ou *Fusarium Head Blight* (FHB) est connue comme l'une des maladies les plus destructrices dans les principales zones de production du blé à savoir l'Europe et l'Amérique du Nord (Bottalico et Perrone, 2002).

Depuis son développement spectaculaire au Nord de l'Algérie ces dernières années, cette étude a été engagée pour identifier les agents responsables et analyser leur pouvoir toxino-gène.

L'importance économique de la fusariose est attribuée aux pertes de rendements considérables (avortement des fleurs, diminution du nombre et du poids des grains) et à l'altération de la qualité des grains par les mycotoxines (Lori *et al.*, 2009). Différentes fusariotoxines peuvent être produites sur les grains issus d'épis contaminés. Il s'agit essentiellement des trichothécènes, zéaralénone et fumonisine. Les trichothécènes sont constitués de deoxynivalenol (DON) et nivalenol (NIV) dont la toxicité n'est pas identique.

Les NIV sont considérés comme plus toxiques à l'homme et aux animaux alors que les DON peuvent être en plus phytotoxiques (Bottalico, 1998). Au champ, de nombreux facteurs sont susceptibles d'influencer les niveaux de contamination des grains en fusariotoxines, notamment les facteurs climatiques, les pratiques culturales, le potentiel toxinogènes des souches, l'abondance et la dispersion de l'inoculum et la sensibilité variétale.

Au cours de ce travail de mémoire nous nous sommes proposés de :

- i) évaluer le taux de contamination des graines et d isoler les *Fusarium* qui lui sont associés.
- ii) identifier les isolats de *Fusarium* associées à la maladie à l'aide d'analyses morphologiques.
- iii) analyser le potentiel toxinogène des isolats et de caractériser le type de mycotoxine produit moyennant des tests physico-chimiques CCM.

Les résultats de ce travail de mémoire sont présentés en deux chapitres dont le premier est consacré à l'évaluation du taux d'infestation des graines par les *Fusarium*. De plus, une partie de ce chapitre est consacrée à l'identification des espèces pathogènes responsables de la fusariose de l'épi.

L'identification des agents fongiques, isolés à partir de grains d'épis attaqués, a été réalisée au moyen d'une identification morphologique. Les résultats obtenus ont servis à déterminer les principales espèces associées à la maladie.

Le deuxième chapitre s'intéresse à l'évaluation du, potentiel toxinogène de la collection d'isolats de *Fusarium*, les espèces les plus dominantes, ont été vérifiés. Cette collection a été, ainsi, caractérisée par leurs types de mycotoxines produits en se basant sur des tests physico-chimiques et le dosage de ces toxines a été fait par la spectrophotométrie.

Partie I

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I : DONNEES SUR LE BLE

I.1 Origine de blé :

Le blé est l'une des premières espèces cueillies et cultivées par l'homme au proche Orient, il y a environ 10.000 à 15.000 ans avant J.C (Hervé, 1979) .Des restes de blés, diploïde et tétraploïde, ont été découverts sur des sites archéologiques au proche Orient d'après Harlan (1975) et on croit que le blé dur provient des territoires de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran selon Feldmen (2001).

La culture du blé s'est diffusée vers le Nord-Ouest par les plaines côtières du bassin méditerranéen et au travers des Balkans (URSS) puis en suivant la vallée du Danube (Allemagne) pour arriver à la vallée du Rhin (France) entre 5000 et 6000 avant J.C.

Les restes archéologiques montrent que le blé atteint l'Ouest de l'Europe 5000 avant J.C environ. Dans le même temps, il diffuse vers l'Asie et l'Afrique.

Son introduction en Amérique, et plus encore en Australie, n'est que très récente. L'évolution du blé s'est donc produite dans de nombreux écosystèmes, de manière relativement indépendante jusqu'au XIX siècle (Bonjean, 2001).

I.2.Importance économique :

La céréaliculture est considérée comme l'une des premières activités agricoles dans le monde. C'est une culture stratégique d'intérêt économique mondiale.les céréales contribuent aujourd'hui pour une grande part dans l'alimentation humaine grâce à leurs teneurs en protéines et en calories soient assimilées directement ou transformées en protéines animales (Boulassel, 1998).

A l'échelle mondiale, les céréales occupent une vaste superficie, 666.50 millions d'hectares dont la production 2 306 million tonne (FAO, 2012).

I.3. Situation de culture de blé en Algérie :

La culture des céréales a été, est, restera rassemblement pendant longtemps encore la spéculation prédominante de l'agriculture algérienne dont les céréales occupent une part important dans la production végétales avec une superficie de 3.2 millions d'hectares, soit 40% de la SAU.

Leur aire de culture s'étend depuis le littoral jusqu'à des hauts plateaux mais elle est plus concentrée dans les zones des plaines intérieures et les hauts plateaux et les zones de littoral, elle est seulement secondaire.

La céréaliculture est une activité essentielle, du point de vue consommation, puisque les blés constituent une part croissante de la ration alimentaire et puisque les orges et les maïs concurrent, de manière non moins essentielle, à la production de la viande et des œufs consommés en Algérie (Chehat, 1994).

Le résultat de la campagne céréalière **2011/2012 traduit l'effort et la dynamique** qui est enregistrée au niveau de cette filière :

- Avec une production de blé attendue évaluée entre 56 et 58 Millions de quintaux (2^{ème} niveau de production record après celui de 2009).
- Un rendement moyen national à près de 18 Qx /ha, avec des pointes qui dépasseront les 85 Qx/ha contre un rendement de:
 - _ 8 Qx/ha en 1980;
 - _ 12 Qx/ha en 2000 ;
 - _ 18 Qx/ha en 2012.

La valeur de la production de blé attendue de cette campagne avoisine les 02 milliard de dollar; alors qu'elle était à 1.5 milliard en 2010. (KEHAL, 2012).

La production des blés est faible, elle est compensée par une augmentation des importations pour pouvoir répondre aux besoins nationaux, ce qui rend l'Algérie le quatrième pays importateur de blé dans le monde (FAO, 2013).

I.4.Classification :

Le blé est une monocotylédone de la famille des *Poaceae* appartenant au genre *Triticum*. Cette plante annuelle produit un fruit sec indéhiscent, le caryopse.

D'après la classification de Maire (1955) et Crete (1965), la taxonomie et la répartition des trois espèces (Blé dur, Blé tendre) sont présentées dans le Tableau 1.

Tableau 1: Taxonomie et répartition géographique des blés

Famille	Genre	Espèce	Nom commun
Gramineae (poaceae)	<i>Triticum</i>	<i>Triricum durum Desf.</i>	Blé dur
		<i>Triticum aestivum L.</i>	Blé tendre

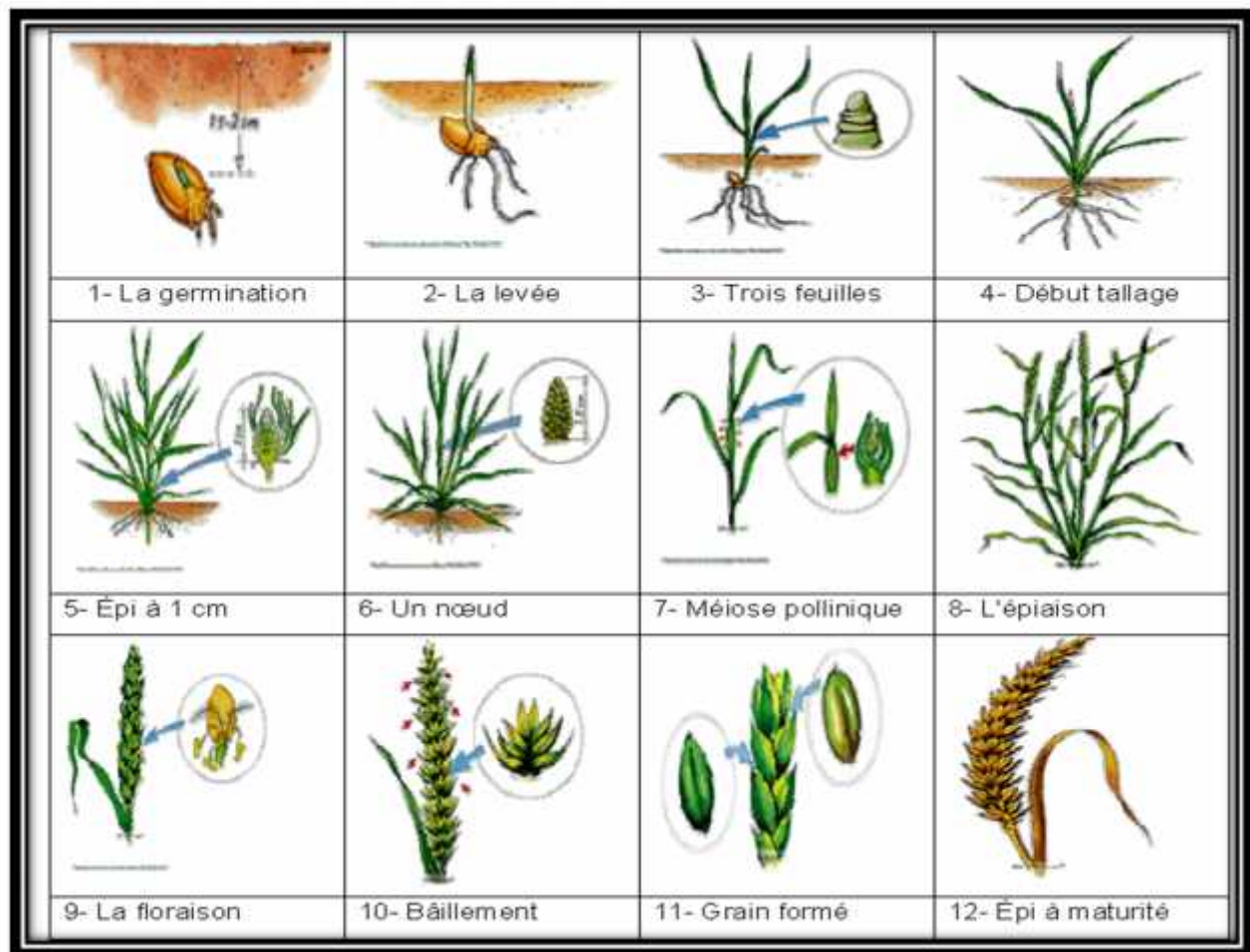
(Maire ,1955 et Crete ,1965)

I.5.Cycle biologique :

Le grain de blé comporte trois parties distinctes. Le germe est riche en lipides, protéines, vitamines et éléments minéraux ; il représente environ 3% du poids du grain. Il est éliminé à la mouture pour éviter le rancissement et augmenter la durée de conservation. Les enveloppes sont constituées par le péricarpe, le tégument séminal et l'assise protéique (Bozzini, 1998).

Le cycle de développement biologique de céréale se compose de cinq phases végétatives au cours desquelles la plante passe d'un stage végétatif à un autre ou développe de nouveaux organes selon : (CIRAD-GRET ,2002).

- a. Germination –levée : Elle débute par le passage du grain de l'état de vie ralentie à l'état de vie active. La germination se traduit par l'émergence de la radicule et des racines séminales et celle du coléoptile.
- b. Le stade 3 feuilles : Dès que la première feuille a percé l'étui, ce dernier s'arrête de croître et se dessèche. La première feuille fonctionnelle s'allonge, puis la deuxième jusqu'à la quatrième toutes en position alterne.
- c. Tallage : Pendant cette phase, des talles apparaissent d'une façon synchrone. Le tallage se caractérise par l'entrée en croissance des bourgeons différenciés à l'aisselle des feuilles.
- d. Montaison : Les entre-nœuds d'un certain nombre de talle herbacées s'allongent très rapidement, tandis que sur le dernier nœud s'élève l'épi continuant à se former.
- e. Epiaison-floraison : Cette étape a une durée peu variable : 32 jours environ. C'est au cours de cette période que s'achève la formation des organes floraux et s'effectue la fécondation, sans que rien ne vienne signaler cette pollinisation interne.
- f. La formation du grain : Le cycle s'achève par la maturation qui dure en moyenne 45 jours. Les grains vont progressivement se remplir et passer par différents stades tels que les stades laiteux, puis pâteux, au cours desquels la teneur en amidon augmente et le taux d'humidité diminue. Durant cette phase, les réserves migrent depuis les parties vertes jusqu'aux grains. Quand le blé est mûr, le végétal est sec et les graines des épis sont chargées de réserves.



(Saaboudi, 2007)

Figure 01 : les différents stades de développement du blé.

I.6. Principales contraintes sur culture de blé en Algérie :

La céréaliculture algérienne connaît de faibles rendements attribués entre autre à une maîtrise insuffisante de l'un des principaux facteurs de production et divers stress mécaniques, physiologique et biologique dont les plus importants sont les contraintes abiotique (climat, facteurs de productionetc.) et les contraintes biotiques (maladies, ravageurs ...etc.) (Kheyar *et al.*,2007, Saaboudi *et al.* ,2007)).

I.6.1.Contraintes abiotiques : dont les plus importantes sont :

- Le non maîtrise de la mécanisation des différentes étapes de l'itinéraire technique (Kheyar *et al.* ,2007)
- L'utilisation des variétés anciennes à faible rendement (Sayoud et Benbelkacem, 1996).
- Les aléas climatiques : insuffisance de la pluviométrie (la sécheresse), le gel hivernal, le gel printanier, les coups de chaleurs ...etc (Sayoud et Benbelkacem, 1996).

I.6.2 Contraintes biotiques

✓ Les adventices :

Elles engendrent des chutes de rendement allant jusqu'à 30% de la production potentielle (Azizi, 1993).

✓ Les ravageurs :

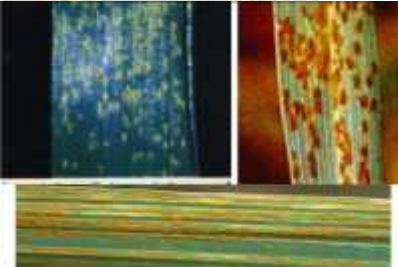
Parmi les ravageurs connus en Algérie : les pucerons (*Aphis* sp) ; la mouche de Hesse ou cécidomyie (*Mayetiola destructor*) et les nématodes qui causent des pertes de rendement et de la qualité de la récolte et peuvent être des vecteurs de certain virus (Haddadi, 1999).

✓ Les maladies :

Les maladies des céréales influent sur la stabilité du rendement des différentes variétés et sur la qualité des grains récoltés (Belaid, 1996).

En Algérie, les principales maladies rencontrées sont les rouilles, la Fusariose et la septoriose.....etc (Bendif, 1994 ; Sayoud et *al.*, 1999 cités par Boulal et *al.* (2007).

Tableau 2 : Inventaire des maladies fongiques du blé et de l'orge recensées en Algérie (Boulal et al., 2007)

Maladies	Agent pathogène	Importance		Les symptômes
		Blé dur	Blé tendre	
Charbon nu	<i>Ustilago tritici</i> <i>Ustilago nuda</i>	*	*	
Carie	<i>Tilletia caries</i> <i>Tilletia foetidea</i>	*	**	
Piétin échaudage	<i>Gaeumannomyces graminis</i>	*	*	
Septoriose	<i>Septoria tritici</i>	***	*	
Oïdium	<i>Erysiphe graminis</i> F.sp. tritici	*	*	
Rouille brune Rouille jaune Rouille noire	<i>Puccinia tritici</i> <i>Puccinia striiformis</i> <i>Puccinia graminis</i> F.sp. tritici	**	**	
Tache helminthosporienne	<i>Pyrenophora Tritici repentis</i>	**	*	

(Boulal et al.,2007)

(*) : Rare à peu importante; (**) : Assez importante; (***): Très importante; (/): Absente sp)

CHAPITRE II : LA FUSARIOSE ET MYCOTOXINES ASSOCIEES

II. 1. Les différents types de Fusariose :

La Fusariose est une maladie fongique courante des céréales. Elle est causée principalement par *Fusarium spp*, un champignon qu'on trouve sur toute une gamme d'hôtes, dont le blé, l'orge, l'avoine, le maïs, le seigle. Elle frappe toutes les céréales communes, mais elle est particulièrement visible sur le blé de printemps (Richard, 2004).

La fusariose n'est pas une maladie récente .En effet, elle a été décrite pour la première fois en 1884 en Angleterre.

Depuis, des études ont montré qu'aucune région du monde où l'on cultive des céréales n'était épargnée (Placinta, D'Mello et *al.*, 1999). Un grand nombre de plantes cultivées souffrent de pathologies associées à la présence de *Fusarium*(AFSSA,2009).La fusariose a fait l'objet de plusieurs revues se focalisant sur les céréales dites « à petits grains » (Sutton, 1982).

Il existe plusieurs formes de fusariose pouvant affecter les différentes parties de la plante depuis les racines jusqu'à l'épi, en passant par la tige.

Enfin, le terme "fusariose" des céréales sujet de cette étude regroupe trois maladies (Parry *et al.*, 1995) :

- "Seedling Blight" : fusariose des semences, provoquent des manques à la levée et des fontes des semis
- "Foot Rot" : fusariose du collet, entraînant la nécrose de ces tissus
- "Head Blight" : fusariose de l'épi

Cependant bien que les trois maladies provoquent des symptômes différents, il n'est pas rare que les phytopathologues éprouvent des difficultés à clairement les identifier. En effet, ces espèces peuvent cohabiter et d'autres agents pathogènes peuvent également être présents comme par exemple *Aspergillus* et *Penicillium*.

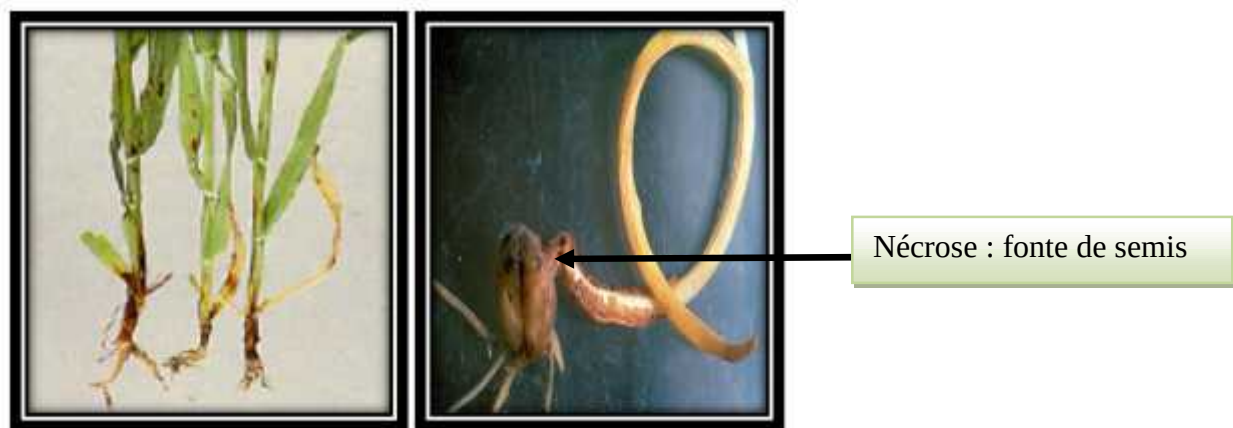
Chez le blé, les pertes économiques liées à la fusariose causées par une diminution du rendement varient selon la culture, les années et les pays. Les années où les conditions climatiques sont favorables à la fusariose, *F. graminearum* et *F. culmorum* seraient responsables à eux seuls d'une diminution de 30 à 40 q/ha selon (Bayer Cropscience).

II.2. La symptomatologie:

II.2.1. La Fonte de semis :

Les agents de fusariose peuvent provoquer un manque à la levée ou une fonte de semis. Les semences infectées germent mais les pousses et les racines se nécrosent et meurent. Les plantules infectées présentent un coléoptile et des racines altérées. Dans les cas d'infection par *Fusarium spp* une coloration lie de vin peut apparaître au niveau du collet (F.R.E.D.E.C.,2002). Ces plants peuvent être entièrement détruits et s'ils survivent ils demeurent nains et les symptômes les plus caractéristiques sont la présence de tache brunes suivies d'un brunissement sur les racines et à la base de la tige (Lacroix, 2002).

Par la suite, les symptômes d'attaque par les *Fusarium spp* sont surtout visibles sur les feuilles situées au niveau de la base de la tige. *Microdochium nivale* est de plus capable de provoquer de sévères attaques sur feuilles. (F.R.E.D.E.C.,2002) (Figure 02).



(INPV, 2008)

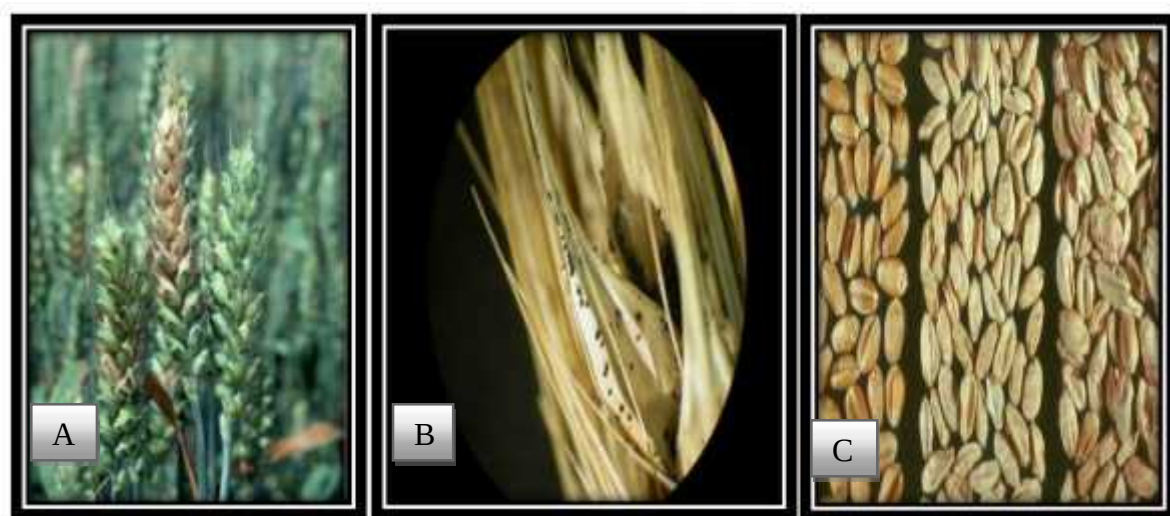
Figure 02 : symptômes à la levée

II.2.2. Fusariose des épis, des graines « Gal de l'épi »

Les symptômes sont très visibles dans le champ car ils se manifestent par un blanchiment prématuré d'une partie ou de la totalité de l'épi. Les premiers symptômes apparaissent souvent au centre de l'épi d'où ils progressent ensuite vers le haut et vers le bas. La maladie se développe et se propage parfois très rapidement et peut affecter la totalité de l'épi (F.R.E.D.E.C.,2002).

Une coloration allant de rose à orange saumoné peut apparaître sur les épillets infectés, surtout lors de périodes d'humidité prolongées, mais chez l'orge l'infection peut donner aux épillets une coloration foncée et être confinée à quelques groupes d'épillets sur certains épis. Les grains mûrs peuvent être ratatinés, légers, blanc crayeux ou parfois roses (on parle alors de grains momifiés ou endommagés par le *Fusarium*), chez l'orge la grosseur du grain n'est

pas aussi sérieusement affectée que chez le blé. Les grains momifiés sont souvent plus lourdement contaminés par les mycotoxines (Richard, 2004)(Figure 03)



(Richard, 2004).

Figure : 03 les symptômes (A) : Fusariose sur du blé printemps, (B) organes fructifères noirs sur orge, (C) Grains de blé endommagés par le *Fusarium*; à gauche – grains sains; au centre grains momifiés; à droite grains infectés teintés.

- L'épi contaminé présente un dessèchement précoce et un échaudage de tout ou d'une partie des épillets selon le point de contamination.

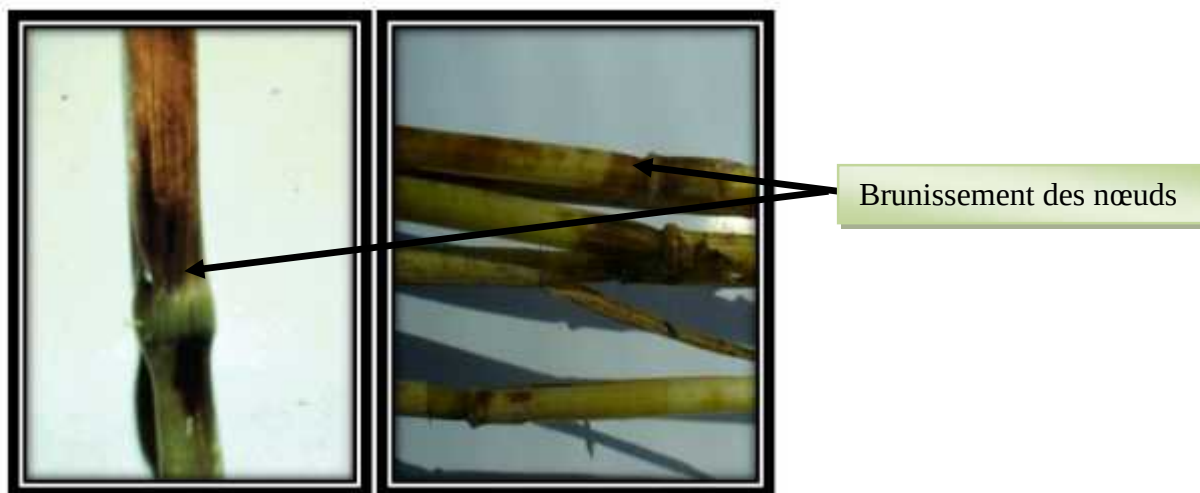
Dans le cas d'une infection par *Microdochium nivale*, un liseré elliptique brunâtre peut apparaître sur le dos des glumes.

- Les graines fusariées peuvent présenter une coloration blanchâtre à rose, ils peuvent aussi conserver un aspect de graine saine ou de simple graine échaudée. (F.R.E.D.E.C.,2002).

II.2.3.Fusarioses du pied, de la tige et des nœuds :

La fusariose peut attaquer les premiers centimètres de racine et la base de la tige (fusariose du plateau de tallage et des racines) et provoquant l'échaudage de la plante. Cette maladie se développe préférentiellement sur des blés stressés, suite à des à-coups climatiques et des sécheresses au printemps. Le blé dur y est particulièrement sensible. (Bouas et *al.*, 2012) la fusariose de la tige et des nœuds présente un brunissement diffus qui peut progressivement se généraliser sur une grande partie de la tige. Absence de stroma ou de plaque mycélienne. Le plus souvent, un anneau brun violacé est observé sur les nœuds (Figure 04).

Les symptômes restent cantonnés aux niveaux superficiels de la tige et présentent donc peu de nuisibilité.



(Bouas,et al.,2012)

Figure 04: les symptômes sur pied, tige nœud

II.2.4.Pourriture racinaire :

Les symptômes pouvant s'observer au champ sont les pertes à la levée, le dessèchement des jeunes plantules et enfin l'apparition des épis blancs prématurés et improductifs. Cette maladie est aussi caractérisée par la présence des taches nécrotiques ou noirâtres sur le collet, le rhizome ou les racines, avec une étendue. Dans les cas graves, la pourriture peut être généralisée à toute la partie basale de la plante (Sayoud et *al.*, 1999)(Figure05).



(Sayoud et al.,1999)

Figure 05: symptômes des pourritures racinaire

II.3. Agent causal *Fusarium* spp :

II.3.1. Etiologie

C'est en 1809 que Link décrit le genre *Fusarium* pour la première fois. Le genre *Fusarium* tient son nom du latin *Fusus*, car ses spores sont en forme de fuseau.

La fusariose de l'épi peut être causée par une vingtaine d'espèces du genre *Fusarium* et une espèce du genre *Microdochium*. Parmi ces espèces, cinq sont principalement responsables de la fusariose, il s'agit de *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae* et *Microdochium nivale* (Parry et al., 1995). La distribution et la prédominance de ces espèces pathogènes sont, pour une grande part, déterminées par l'espèce céréalière, la région et les conditions climatiques. Il est toutefois assez commun de trouver un mélange de plusieurs espèces et de différentes souches sur le même épi (Doohan et al., 2003 in Boutigny 2007).

En Europe les espèces *F. graminearum*, *F. avenaceum* et *F. poae* sont prédominantes. Puis, les espèces *F. culmorum*, *F. tricinum* et *F. sambucinum* sont également importantes.

II.3.2. Classification classique

a. L'anamorphe

C'est la forme imparfaite des champignons dont la reproduction asexuée est inconnue. La multiplication asexuée fait intervenir des conidies de formes et d'organisations très variées. Dans la classification conservant la division des Deuteromycota, le genre *Fusarium* doit être placé dans: (Botton et al., 1985).

Classe: Hyphomycètes, thalle filamenteux septé

Ordre: Tuberculariales, présence de sporodochies

Famille: Tuberculariaceae : seule famille de l'ordre

b. Les téléomorphes

C'est la forme parfaite des champignons dont la reproduction sexuée est connue. Les téléomorphes de *Fusarium* sont des Hypocréales appartenant à la sous-division des Ascomycotina. (Botton et al., 1985).

Classe: Hymenoascomycètes, présence d'un ascocarpe avec couche fertile.

Ordre: Hypocréales

Sous-classe : Pyrenomycetideae, l'ascocarpe est un périthèce

Famille: Hypocreaceae, ascospores non filiformes multiseptées

Les formes parfaites de *Fusarium* sont: *Gibberella*

Sacco Nectria (Fr.)

Il existe également *Michrodochium nivale* autrefois appelé *Fusarium nivale*. Il a été exclu du genre *Fusarium* dans les années 80. Cette espèce est responsable de fusarioses importantes et provoque les mêmes symptômes sur céréales que les autres *Fusarium*, c'est pourquoi les *Michrodochium nivale* sont communément cités dans les publications avec les *Fusarium*, même s'ils ne produisent pas de mycotoxines.

Les *M. nivale* sont classés en deux sous-variétés: *M. nivale* var. *nivale* et *M. nivale* var. *majus* (Nelson *et al.*, 1994). Les différents *Fusarium* s'attaquent préférentiellement à une culture céréalière. Ainsi *Fusarium moniliforme* se développera principalement sur des cultures de maïs, alors que *Fusarium graminearum* se développera sur orge, blé ou maïs

II.3.3. Caractères macroscopiques

L'instabilité des cultures sur le plan morphologique est un phénomène commun dans le genre *Fusarium*. Elle a amené à distinguer différents morphotypes. Elle pose par ailleurs des problèmes au niveau de la reconnaissance des espèces qui est basée uniquement sur des caractères morphologiques (Nelson, 1981).

Plusieurs grands types morphologiques peuvent être observés. Ils ont été classés en suivant les descriptions de Nelson (1981). L'aspect du mycélium aérien permet de les identifier. Parmi les types morphologiques qu'on peut avoir :

- Type sporodochial : mycélium duveteux peu épais, parsemé d'amas muqueux de couleur orangée représentant des pionnotes (organe donnant naissance à des macroconidies)
- Type duveteux : mycélium aérien peu épais et relativement peu dense
- Type cotonneux: mycélium aérien épais et très serré
- Type ras : pas de mycélium aérien, aspect muqueux

Il ressort donc que microconidies et macroconidies portent des informations codant pour des variations morphologiques dont l'origine n'est pas cernée actuellement, variations qui s'expriment dans les thalles régénérés. Ces variations sont la plupart du temps réversibles de sorte qu'il est impossible de les maîtriser.

II.3.4. Caractères microscopiques

Les *Fusarium* ont un thalle à croissance généralement rapide, blanc à crème, jaune brunâtre, rose, rouge, violet ou lilas. Les conidiophores parfois très ramifiés forment sur le thalle des coussinets (sporodochies) et portent des masses de spores d'aspects graisseux (Figure06).



(Champion, 1997)

Figure 06 : Mycellium, sporodochie et spores du genre *Fusarium* (Gx2500),

Les phialides sont plus ou moins allongées et peuvent produire deux types de conidies:

- Des macroconidies fusiformes, souvent courbées, pluriseptées, avec une cellule basale pédicellée, portant une sorte de talon,
- Des microconidies petites, généralement septées, piriformes, fusiformes ou ovoïdes.

Certaines espèces produisent les deux types de spores, d'autres ne forment que des macroconidies . Les chlamydospores sont présentes ou absentes, terminales ou intercalaires, différenciées par le mycélium ou par les conidies (Botton *et al.*, 1985).

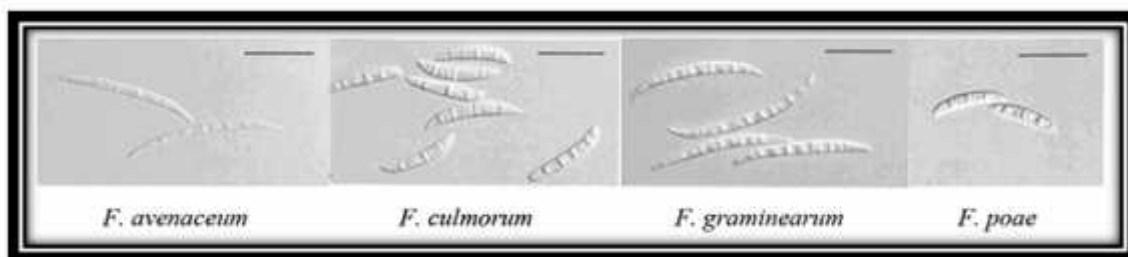
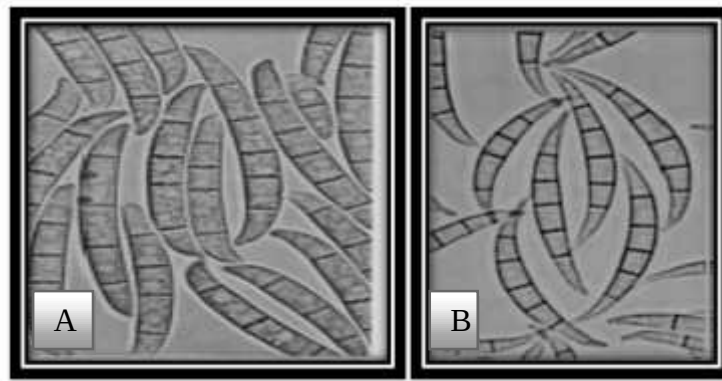


Figure 07 : Spores de *F.avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* et *F. poae* (Leslie et Summerell, 2006) in Boutigny (2007). (échelle : 25 µm)

La détermination morphologique de l'espèce d'un isolat de *Fusarium sp* repose sur l'observation de nombreuses caractéristiques anamorphiques. Lorsque toutes les informations sont recueillies, l'identification pourra être réalisée en utilisant les clés de références de Nelson *et al.* (1981) . Ces clés permettent d'identifier la très grande majorité des espèces de *Fusarium spp* que l'on peut isoler des céréales. Toutefois, il n'est pas à exclure que pour certains isolats, l'identification soit impossible par les moyens classiques (dégénérescence de la souche, nouvelle espèce, variant inconnu d'une espèce donnée, etc.). Il est préférable de laisser la mention "*Fusarium sp.*" lorsque que certains critères manquent ou semblent contradictoires(Figure07).



(Nelson et al, 1994).

Figure 08 :Macroconidies septées *Fusarium* :(A) *Fusarium solani*, (B)*Fusarium longipeps* .

Deux cas des figures(Figure 08,09) peuvent se présenter :

1. les microconidies sont produites de façon très abondante.

Il est alors nécessaire d'observer directement au microscope le mycélium aérien de la culture (grossissement x 50 ou x 100) afin de définir le mode de production des microconidies :en chaînette et ou en fausse tête, ou de façon solitaire ;sur conidiophore long ou court, renflé ou flexueux ;à partir de monophialide et ou de polyphialide ;on identifiera aussi la ou les formes des microconidies : Globuleuse, citriforme, fusiforme, ovale, allantoïde, hétérogène.

2.les microconidies ne sont pas produites de façon abondante

Dans ce cas, seule la forme des microconidies sera identifiée et le type de phialides sur lesquelles elles sont produites sera déterminé (monophialide et ou polyphialide) (Figure10).

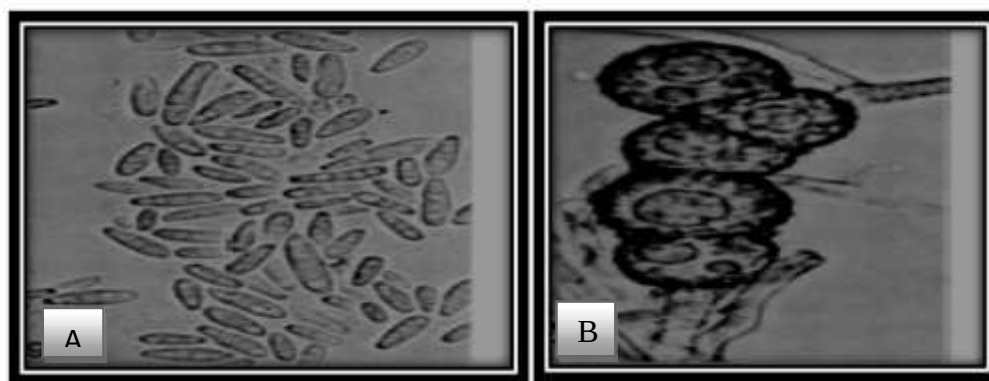


Figure 09 : Deux types de spores de *Fusarium* : (A)Microconidies de *Fusarium moniliforme* et(B) chlamydospores de *Fusarium equiseti* . (Nelson et al , 1994)

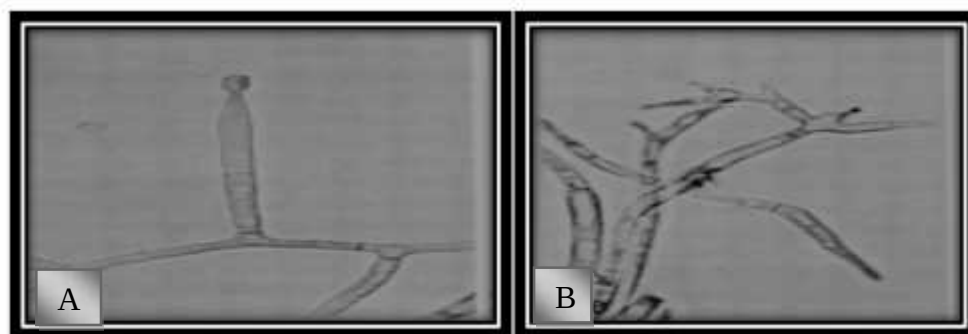


Figure 10 : Monophialides et polyphialides des espèces de *Fusarium* , (A) *Fusarium Moniliforme* ; (B) *Fusarium subglutinans* (18). (Nelson et al, 1994).

II.4. Epidemiologie :

Le cycle infectieux de *Fusarium sp* est rapporté sur la Figure 11.

La contamination se fait par les propagules qui se trouvent sur le sol, dans les débris végétaux où le champignon se conserve. Toutes les espèces de *Fusarium* sont capables de survivre en saprophytes sur les débris végétaux (Parry et al., 1994). La principale source d'inoculum vient donc des débris de céréales qui donnent aux moisissures un site d'abondante sporulation durant la saison de croissance végétale suivante. La contamination peut se faire par les conidies germées et tombées sur le sol, par des fragments de mycélium ou par les spores de résistance du champignon: les chlamydospores. Dans le cas de formes sexuées de *Fusarium* comme *Giberrella zeae* f.c. *Fusarium graminearum*, les ascospores représentent également une importante source de contamination des épis.

II.4.1. La dissémination

Les spores sont principalement dispersées par temps de pluie par les éclaboussures qui projettent les conidies ou les ascospores sur les plants de céréales et leurs épis. Les hauteurs et distances maximales de dispersion sont pour *F. culmorum* et *F. poae* de 60 cm et 70 cm, respectivement (Horberg, 2002).

Cependant lorsque les ascospores sont entraînées par le vent, elles peuvent être dispersées sur de plus longues distances. Un élément contaminant peut être détecté à plusieurs kilomètres de distance de sa source de production. D'une manière générale, les ascospores semblent être les éléments contaminants les plus prolifiques dans la fusariose des épis ce qui explique que les *Fusarium graminearum*, dont la forme sexuée est connue, soient les plus virulents dans la fusariose des épis (Bergstrom et shields, 2002; Fraclet et al., 1999).

Les agents contaminants peuvent également être dispersés par les insectes. Ces derniers constituent une source de dissémination qui peut être très importante, surtout dans les pays

chauds. Les insectes et larves d'insectes endommagent l'enveloppe des grains, ce qui favorise la pénétration de l'inoculum à l'intérieur de la graine. Plusieurs types d'insectes attaquent la plante et prédisposent celle-ci à une infection par des champignons avant que l'épi ne se forme (Wisdotrom,1992).

II.4.2.L'infection et la colonisation des épis

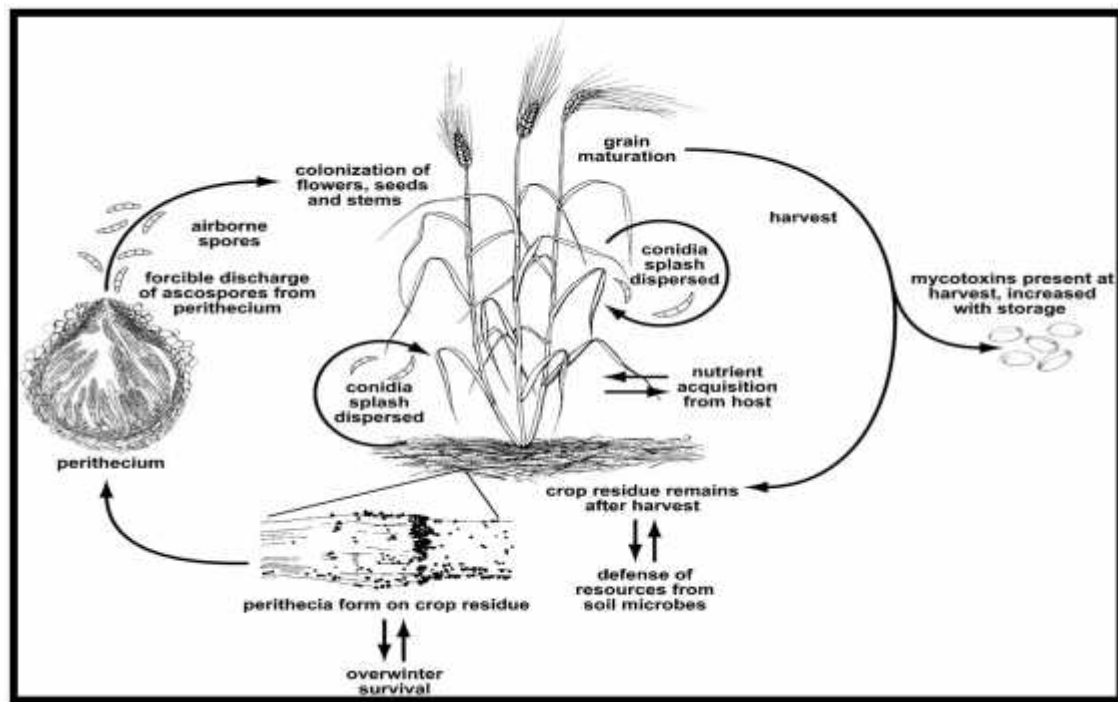
Le développement des anthères semble être la période de plus grande sensibilité des épis de céréales à l'infection par *Fusarium*. On a affirmé que la fusariose des épis est une infection de la fleur en évoquant le fait que les spores disséminées par le vent se logent dans les parties internes des fleurs (champion,1997).

L'hypothèse fut confirmée plus tard par l'inoculation des épis de blé à des stades de développements différents cela démontra que la maladie était plus sévère quand l'inoculation se faisait à la floraison. Des études similaires révélèrent que l'infection du blé par *F.avenaceum* et *F. culmorum* était plus sévère lorsque l'inoculation se faisait à la floraison. D'autres études confirment l'augmentation de l'infection des épis de céréales lors du développement des anthères. De tels résultats laissent supposés que les anthères sont le site initial de l'infection. Ceci fut confirmé par les études, qui remarquèrent que l'infection initiale se faisait *via* les anthères libres (Lauzon ,2004).

L'incidence et la sévérité de la fusariose des épis durant la saison de croissance sont influencées à la fois par l'inoculum mais aussi par les conditions météorologiques Charmette et (Bussieras,1993)

Suite à l'inoculation d'épis de blé avec *F. graminearum*, les premiers symptômes d'infection sont observés après six jours dans des conditions humides. Quand les conditions deviennent sèches, les symptômes ne sont observés qu'à la faveur d'une première pluie ou d'une forte rosée. Ainsi, une rapide progression du développement de la fusariose des épis peut s'enregistrer après 3-4 jours de temps chaud et humide. Quand les épis de blé sont inoculés avec *F. graminearum* à 25°C, et exposés pendant 36 à 48h avec une humidité constante, respectivement 18% et 77% des épis apparaissent infectés. L'humidité et la température influent également sur la quantité d'épis infectés au niveau d'une parcelle: il faut, par exemple, 20°C et 60h d'humidité constante pour obtenir 30% d'épis infectés. Cependant, lorsque les températures sont trop faibles, l'infection est très limitée; c'est le cas pour des températures de l'ordre de 15°C. Le cas de *Fusarium graminearum* : L'infection par *F. graminearum* apparaît fréquemment à 25°C et peu d'épis développent des symptômes sans une période d'humidité d'au moins 24 h après l'inoculation (jeunot, 2005).

De façon générale, les *Fusarium* se développent sur épis à la faveur d'une forte humidité à partir de l'épiaison (au moins 48 heures à 100% d'humidité). Les *Fusarium roseum* préfèrent des températures assez chaudes, au-dessus de 20°C et les *M. nivale* se développent à des températures plutôt inférieures à 20°C. Lors des années humides favorables aux fusarioses, les parcelles de blés implantées après une culture de maïs, sorgho, voire céréales à paille, sont les plus touchées, en particulier si les résidus de ces précédents n'ont pas été enfouis (Snyd.et Hansen, 1999).



(Trail ,2009)

Figure11 : Cycle biologique de la fusariose de céréales

II.5. Mycotoxines :

Les mycotoxines sont restées négligées jusqu'au début des années 1960, lorsque une terrible épidémie est survenue en Angleterre et qu'en l'espace de quelque mois de plus de cent milles dindons sont mort .Un lien fut établi entre tous les cas signalés ; la cause de la maladie a été imputée à un facteur toxique présent dans la farine d'arachide brésilienne, utilisée comme source de protéine pour l'alimentation animale. Cet événement dénommé autrefois tout simplement « Turkey-Disease » a donné le départ d'une série d'études et de recherche physico-chimiques et toxicologique sur les substances actives élaborées par les champignons (Zindine, 2004).

II.5.1.Définition des mycotoxines :

Selon Nguyen (2007) les mycotoxines sont des métabolites secondaires, de faible poids moléculaire, élaborées par certaines espèces fongique au niveau de plusieurs produits agricoles bruts ou transformés et des conditions environnementales bien spécifique.

Ces substances toxiques sont des exotoxines excrétées dans les substrats, et peuvent provoquer par ingestion des maladies dites mycotoxines(Bhatnagar et *al.*, 2002).

II.5.2. Les mycotoxines associées aux fusarioses :

Les moisissures du genre *Fusarium* produisent plusieurs types de mycotoxines regroupées sous le terme de fusariotoxines.

Les principaux fusariotoxines qui apparaissent assez souvent dans les grains et qui présentent une importance agro économique et sanitaire on distingue plusieurs familles.

Le tableau donne un aperçu sur quelques mycotoxines, et indique les espèces qui les génèrent

Tableau 03 : Mycotoxines et champignons responsables de leur production.

Espèces de Fusarium	Mycotoxines produites
<i>F.pseudograminearum</i> <i>F. graminearum</i> <i>F.flocciferum</i> <i>F.cerealis</i> <i>F.culmorum</i> <i>F.lumulosporum</i>	Trichthécènes B(DON,A-DON ,NIV) et /ou Zearalénone
<i>F.venenatum</i> <i>f.robustum</i> <i>F.tumidum</i> <i>F.sabacinum</i> <i>F.poeae</i> <i>f.sporotrichioides</i>	Trichthécènes A(T-2,HT-2) et /ou Trichthécènes B(NIV ,FX)
<i>F.verticilloides</i> <i>F.sacchari</i> <i>F.fujikuroi</i> <i>F.poliferatum</i> <i>F.subglutinans</i> <i>F.nygamai</i>	Fumonisines et /ou Beauvericine et /ou Monoliformine

(Dreyfus et *al.*.,2007)

II.5.3 Origines et principaux mécanismes d'élaboration des mycotoxines

Les mycotoxines appartiennent à des groupes chimiques très variés, comprenant des polycétoacides (Aflatoxines, Patuline, Citrinine, Acide penicillique, Zearalénone, Stérigmatocystine), des dérivés terpéniques (Fusarenone déoxynivalenol- toxine-T₂) des acides aminés (alcaloïdes de l'ergot- acide aspergillique) (Bounar, 2009).

La présence de ces toxines dans un substrat peut être le résultat de trois mécanismes différents :

- la toxine est un métabolite secondaire propre au champignon
- le champignon peut transformer un composé peu ou pas toxique en un produit toxique par le jeu des bioconversions.
- le champignon, en parasitant un végétal, peut entraîner, soit une exacerbation de certaines réactions métaboliques de la plante, conduisant à des concentrations anormalement élevées d'un constituant habituel, soit la formation par le végétal de produits toxiques n'existant pas la plante saine (Kammoun, 2010).

II.5.4 Facteurs de production des mycotoxines

Les métabolites secondaires sont très hétérogènes ; leur mécanisme de régulation se révèle très complexe et dépend :

- Des facteurs intrinsèques

la fréquence des souches toxigènes ainsi que le potentiel toxigénique des différentes souches dépendent de l'espèce, voire du génotype de la souche considérée (Yin *et al.*, 2008).

- Des facteurs extrinsèques

L'activité hydrique nécessaire à la toxinogénèse est supérieure à celle permettant la croissance fongique (Pfohl-Leszkowicz, 2002), alors que la gamme de pH permettant la toxinogénèse est plus restreinte que celle permettant la croissance fongique (Keller, 1997). Généralement la production des mycotoxines est plus sensible à la variation de composition de l'air que la croissance fongique (Cairns-Fuller *et al.*, 2005), en effet une augmentation de la teneur en CO₂ et une réduction en O₂ provoquent une chute importante en mycotoxine (Taniwaki *et al.*, 2001).

La température optimale pour l'élaboration des mycotoxines est généralement proche de la température optimale de croissance, mais le plus souvent, légèrement inférieure (Pfohl-Leszkowicz, 2002).

La composition qualitative et quantitative du substrat peut influencer la production des mycotoxines (Payne et Hagler, 1983). Les insectes et les acariens prédisposent les grains à la production des mycotoxines (Hell *et al.*, 2000 ; Hubert *et al.*, 2007).

II.5.5 Mode d'action des mycotoxines :

Les sites majeurs du mécanisme d'action des mycotoxines se situent à différents niveaux :

Certaines mycotoxines agissent au niveau moléculaire en provoquant des dommages à l'ADN (acide désoxribonucléique) (Stettler et Sengstag, 2001).

Certaines mycotoxines telles les trichothécènes (Raymond *et al.*, 2003), interagissent directement avec les enzymes et les coenzymes (Shen *et al.*, 1994). Dans certains cas les mycotoxines découplent les phosphorylation oxydatives et inhibent certaines chaînes respiratoires (Aléo *et al.*, 1991).

Cependant, certaines toxines affectent la paroi cellulaire et les membranes et d'autres sont à l'origine de la diminution des défenses immunitaire (Minervin, 2005)

Pour qu'une substance soit considérée comme responsable d'une mycotoxine chez l'homme, cinq conditions doivent être remplies (Pfohl-Leszkowicz, 1999) :

- Existence de la mycotoxine dans l'alimentation,
- Exposition de l'homme à cette mycotoxine,
- Corrélation entre l'exposition et l'incidence de maladies,
- Reproductibilité des symptômes caractéristique chez les animaux,
- Mode d'action similaire chez l'homme et les animaux.

II.5.6. Les trichothécènes :

Les trichothécènes constituent le groupe de mycotoxines produites par *Fusarium* le plus important avec près de 150 trichothécènes isolés chimiquement. Toutefois, seuls les trichothécènes de type A et B semblent avoir une réelle importance sur les cultures de céréales (Smith *et al.*, 1994). Les espèces produisant des trichothécènes, comme *F. graminearum* s.l. sont très cosmopolites, ce qui explique l'importance de ces mycotoxines à l'échelle mondiale (Fink et Grunmels, 1999).

Les principales mycotoxines produites par le genre *Fusarium* et en particulier le complexe d'espèces *Fusarium graminearum* sont les trichothécènes B, notamment le déoxynivalénol (DON), le nivalénol (NIV) et leurs dérivés acétylés (Ward *et al.*, 2008).

Il a été possible d'identifier sur des bases génétiques trois chémotypes caractérisant les trichothécènes de type B produits par une souche de *Fusarium* (Desjardins, 2006) :

3-ADON : Souches produisant du DON et du 3-ADON.

15-ADON : Souches produisant du DON et du 15-ADON.

NIV : Souche produisant du NIV et de la fusarénone X.

Les différentes espèces de *Fusarium* ne possèdent pas tous le même chémotype (Alexander *et al.*, 2011). De plus, deux isolats d'une même espèce de *Fusarium* ne synthétisent pas nécessairement non plus les mêmes trichothécènes B (Talas *et al.*, 2011).

F. poae est considérée comme l'espèce principale productrice de NIV que *F. graminearum* s.l. est considérée comme une espèce produisant majoritairement du DON (Bottalico et Perrone, 2002). Certaines souches de *F. graminearum* s.l. sont productrices de NIV. Les trois chémotypes sont présents chez *Fusarium graminearum* s.s. et *F. asiaticum*. Seuls les chémotypes 3-ADON et NIV ont été observé pour *F. acaciae-mearnsii*, *F. mesoamericanum*, *F. austroamericanum*, *F. cortaderiae* et *F. brasilicum*.

Enfin, seul le chémotype 3-ADON a été observé pour *F. ussurianum*, seul le chémotype 15-ADON a été observé pour *F. boothii*, *F. vorosii* et *F. aethiopicum* et seul le chémotype NIV a été observé pour *F. meridionale* et *F. gerlachii* (Wang *et al.*, 2011).

II.6.Principaux méthodes de détection des isolats toxigène

L'analyse des mycotoxines est essentiellement basée sur des dosages physico-chimiques permettant une séparation chromatographique en HPLC, CG, CCM.

- La chromatographie sur couche mince (ccm) constitue la methodes de base, qui pemet une séparation efficace des produits, leur identification et leur quantification avec précision (Frayssinet et Frémy, 1991)
- La chromatographie en phase gazeuse (CG), est une technique qui utilise des gaz comme phase mobile pour la séparation des composés .son application est limitée à certaines mycotoxines et notamment les trichotécène (Arbault et Daussant ,2005). La GC couplée à la spectrométrie de masse facilite l'identification de la mycotoxine recherchée.
- Chromatographie liquide haute performance (CLHP) constitue une méthode de référence, permettant la quantification et l'identification décontamination présents à des teneurs très faible .A l'heure actuelle , L'HPLC ,couplée à la spectrométrie de masse s'imposes comme technique de choix pour l'analyse quantitative de la majorité des mycotoxines (Xie *et al.*,1997) .

II.7.Réglementation

De fait que les mycotoxines peuvent avoir des effets graves, en particulier celle qui sont cancérigènes, tant au plan sanitaire et nutritionnel que sur les échanges commerciaux nationaux et internationaux, de nombreux pays ont promulgué une législation relative aux mycotoxines dans les aliments afin de préserver la santé du consommateur et les intérêts économiques du pays (Kammoun, 2010).

L'établissement des limites réglementaires est différent d'un pays à un autre. Dans l'UE (l'union européenne) le niveau maximum de trichothécènes est de 2 µg pour trichothécènes B/Kg et 4 µg pour le total trichothécènes (Van Egmond et Jonker, 2004)

Le règlement n° 856/2005 du 6 juin 2005 a publié des doses journalières tolérables, temporaires ou non et/ou des teneurs maximales autorisées (fixées ou proposées) pour plusieurs fusariotoxines, dont les trichothécènes B, et en particulier le deoxynivalénol. Aucune réglementation avec un taux unique n'a été fixée.

Par contre, différents taux correspondants à différents types d'utilisation possible des denrées destinées à l'alimentation humaine ont été établis. Les taux fixés sont par exemple de 1250 µg/kg pour les céréales, et de 1750 µg/kg sur blé dur. Un taux de 750 µg/kg est fixé pour les produits de première transformation des céréales (farines, pâtes) (Bar-L'hégouac'h, 2004)

II.8. Méthodes de lutte :

Pour réduire les risques de la fusariose du blé, diverses mesures peuvent être classifiées comme court et à long terme. Les moyens à court terme incluent l'utilisation de fongicides, les pratiques culturales, et le contrôle biologique. Tandis que pour le moyen à long terme la plus prometteuse est l'utilisation de génotype résistant (Wagacha et Muthomi, 2007).

Ces moyens de lutte ont pour but de réduire le réservoir d'inoculum, de freiner la dispersion des propagules et de prévenir l'infection de l'épi. Ainsi, plusieurs moyens de lutte peuvent être envisagés.

II.8.1. Application des fongicides

L'utilisation d'un fongicide est faite dans le but de réprimer suffisamment le champignon pathogène, pour ne pas dépasser les seuils limitant de grains fusariés, et de toxines dans les grains. En effet, des études réalisées par Haidukowski *et al.* (2004) ont montré que l'utilisation de fongicides permet de réduire la sévérité de la maladie de 77% et le niveau des mycotoxines produites par les espèces du genre *Fusarium* de 89%. Plusieurs fongicides à base d'époxiconazole, propiconazole, prochloraz, azoxystrobin, et tébuconazole (ou tébuconazole-azoxystrobin) ont été testés pour réduire l'infection primaire des épillets de blé (Simpson *et al.*, 2001 ; Magan *et al.*, 2002 ; Nicholson *et al.*, 2003 ; Blandino *et al.*, 2006).

II.8.2. Pratiques culturales

Les pratiques culturales recommandées pour le contrôle de la fusariose de l'épi incluent l'élimination des résidus, la rotation des cultures et la fertilisation azotée adéquate (Wagacha et Muthomi, 2007).

Les résidus contaminés, laissés à la surface du sol, constituent la principale source d'inoculum. L'élimination des résidus de cultures antérieures et leur enfouissement par un labour est un premier moyen de lutte contre la maladie, réduisant les sources d'inoculum (Jones, 2000). Ceci est d'autant plus nécessaire lorsque le plan de rotation prévoit une succession de céréales ou céréale après maïs. D'ailleurs, Champeil *et al.* (2004) ont montré que les débris de maïs, de blé, d'orge, et d'autres céréales constituent une source d'inoculum. La rotation culturale apporte des effets bénéfiques relatifs à la fertilité des sols, et à l'élimination de certains adventices. La rotation des cultures n'empêchera pas l'apparition de la fusariose, mais peut en réduire la gravité. Les cultures de plantes non hôte au champignon, telles que les légumineuses et le colza, peuvent réduire la fusariose de l'épi (Champeil *et al.*, 2004). D'autres études ont montré que la rotation peut réduire la contamination du blé par les mycotoxines. A ce sujet, Dill-Macky et Jones (2000) ont noté une réduction des mycotoxines dans les grains de 25% à 49% lorsque la culture précédente est du soja plutôt que respectivement du blé et du maïs. La fertilisation peut jouer aussi un rôle dans la lutte contre la fusariose de l'épi (Wagacha et Muthomi, 2007).

II.8.3. Lutte biologique

Quelques efforts ont été faits contre l'infection des grains par les espèces du genre *Fusarium* par l'identification d'antagonistes biologiques. Parry *et al.* (1995) ont mentionné que la meilleure période d'application d'antagoniste biologique est durant la floraison.

Diamond et Cooke (2003) ont rapporté que l'inoculation des épis par *Phoma betae* a pu réduire les symptômes de la fusariose de l'épi causés par *F. culmorum* de l'ordre de 60%. Les bactéries du genre *Bacillus*, *Pseudomonas*, et *Lysobacter* sont les plus utilisées pour la lutte biologique contre la fusariose de l'épi (Schisler *et al.*, 2002 ; Da Luz *et al.*, 2003 ; Khan *et al.*, 2004). D'ailleurs Jochum *et al.* (2006) ont montré la possibilité d'utiliser la bactérie *Lysobacter enzymogenes* pour réduire la sévérité de la fusariose de l'épi. Il s'agit d'une bactérie antagoniste qui a induit la résistance de 5 cultivars de blé surtout en combinaison avec le fongicide tébucon. Deux souches de *Pseudomonas fluorescens* ont montré aussi un niveau satisfaisant d'inhibition de la croissance *in vitro* et *in vivo* de *F. culmorum* (Kurek *et al.*, 2003).

II.8.4. Résistance des cultivars

La sélection de cultivar résistant est une tâche de longue durée exigeant le développement de méthodes de sélection très poussées. En plus, une variété ne doit pas seulement résister à l'infection au niveau de l'épi, mais aussi à l'accumulation de mycotoxines dans les grains (Koch *et al.*, 2006). En effet, tous les cultivars, même les moins vulnérables à la fusariose, peuvent être sérieusement touchés quand le *Fusarium* est présent en forte concentration, et lorsque les conditions environnementales sont favorables au développement et à la propagation de la maladie. L'importance du choix d'un cultivar dans les premiers travaux de sélection pour la résistance à la fusariose de l'épi fut très vite reconnue.

Kang et Buchenauer (2000) ont rapporté que les cultivars résistants à la fusariose de l'épi sont capables de développer des réactions de défense actives pendant l'infection et la diffusion de l'espèce *Fusarium* dans les tissus hôtes. Généralement, la résistance à la fusariose de l'épi est contrôlée par plusieurs gènes dont les effets s'additionnent ; ce type de résistance est appelée résistance quantitative (Schiff *et al.*, 2001). Les régions chromosomiques impliquées dans la résistance quantitative sont appelées « Quantitative Trait Loci » (QTL), dont l'effet est contrôlé par l'environnement (Fuentes-Granados *et al.*, 2005 ; Gang *et al.*, 2008

Partie II

Matériels et méthodes

II. Matériel et méthode

II.1. Matériel végétale :

Des échantillons de semences de diverses variétés et lignées de blés ont fournis par des structures spécialisées, il s'agit de l'INRA de Sétif et INPV d'Alger d'El Harrach, ITGC de Sétif et l'OAIC de Laghouat.

Le tableau 04 nous renseigne sur les différents échantillons, leurs provenances et l'année de récolte.

Tableau 04: Liste des lots des variétés et des lignées de blé analysés.

Code expérimentale	Espèces	Nom de la variété	Région géographique	Année de Récolte
BT ₁	Blé tendre	ARZ	I.T.G.C Alger	2012
BT ₂	Blé tendre	AIN ABID	I.T.G.C Alger	2012
BT ₃	Blé tendre	HD 12220	I.T.G.C Alger	2012
BT ₄	Blé tendre	HD12220	Sidi Makhlouf	2012
BD ₁	Blé dur	Vitron	I.T.G.C Alger	2012
BD ₂	Blé dur	Chen's	Kheng Alger	2012
BD ₃	Blé dur	Bensalem	Aflou	2012
BD ₄	Blé dur	MBB	I.T.G.C Alger	2012
BD ₅	Blé dur	ARBIA	Sidi Makhlouf	2012
BD ₆	Blé dur	ARBIA	Ksar Elhiran	2012
BD ₇	Blé dur	VITRON	El-Assafia	2012
BD ₈	Blé dur	WAHA	I.T.G.C Sétif	2013
BD ₉	Blé dur	Bousselam	I.T.G.C Sétif	2013
BD ₁₁	Blé dur	GTA/DUR	I.T.G.C Sétif	2013
BD ₁₂	Blé dur	Vitron	I.T.G.C Sétif	2013
BD ₁₃	Blé dur	BENI MESTINA	I.T.G.C Sétif	2013
BD ₁₄	Blé dur	SIGUS	I.T.G.C Sétif	2013
L1	R ₂₁	INTER_16/SNITAN Altar84/Stint3/NIGRI.	I.T.G.C Sétif	2013
L2	R ₂₃	TARRO1/2*YUAN1//AJAI A13/ YAZI/3 NETTA4/	I.T.G.C Sétif	2013
L3	R ₂₄	Altar84/Stint//Stver_45/3sto	I.T.G.C Sétif	2013
L4	R ₂₅	Iarasha A573	I.T.G.C Sétif	2013
L5	R ₂₆	INTER_16/SNITAN/USDA 595/3/D67.3/RABI//....	I.T.G.C Sétif	2013
L6	R ₂₇	CFJ2/RASCON_39/Tilo_1	I.T.G.C Sétif	2013
L7	R ₂₈	Stot//Altar84/Ald*2/3/IM	I.T.G.C Sétif	2013
L8	R ₂₁₁	CMH85.797//CADO/BOO MER-3/4/ARMENT//SRN-	I.T.G.C Sétif	2013
L9	R ₂₁₄	TARRO1/2*YUAN1//AJAI A13/ YAZI/3/ SOMAT3/	I.T.G.C Sétif	2013
L10	R ₂₁₅	PLATA10/6/MQUE/4/USD	I.T.G.C Sétif	2013
L11	R ₂₁₆	POD20//SULA/ACO89/3/S ORA/2*PLATA12//SOMA	I.T.G.C Sétif	2013
L12	R ₂₁₇	T3/4/ Iarasha2		
L13	R ₂₁₈	SMAT3/PHAX1/TILO1/L OTUS4/3/ GUANETTA4/	I.T.G.C Sétif	2013

II.2. Méthodes d'isolement :

II.2.1. Méthode d'isolement à partir de la semence

a. Echantillonnage et prise d'essai

Le prélèvement des grains de céréales pour l'analyse à été fait s'effectuer de façon à être représentatif du lot global dont il est issu (parcelle, parcelle élémentaire, silo, ect.).

L'analyse d'un échantillon de grains reçu au laboratoire s'effectuera sur un sous échantillonnage représentatif .ces grains analysés seront prélevés aléatoirement.

b. Stérilisation superficielle des grains :

Les manipulations décrites sont à réaliser de préférence en atmosphère stérile. Au minimum, 100 grains seront analysés pour la détection et l'identification des différentes espèces de *Fusarium spp.*

L'objectif de la stérilisation superficielle des grains est d'éliminer toutes les pollutions externes d'origines fongiques ou bactériennes.

Les grains sont placés dans un panier tamis à maille de 0,5-1 mm (type « moustiquaire ») suivent le cycle de désinfection suivant :

- 10 min dans un pot de prélèvement contenant 100 ml d'une solution d'hypochlorite de Sodium à 2° (Chompion ,1997)
- 1 min dans un bécher contenant 300 ml d'eau distillée stérile (opération effectuée 3fois de suite).
- Les grains sont ensuite égouttés placés à sécher sur du papier filtre stérile (compter 15 min minimum sous la zone stérile).

II.2.2. Isolement :

La méthode de Geves

Nous avons déposé les grains après désinfection sur milieu gélosé DCPA. Ceci permet de déterminer la mycroflore interne du grain (Jounot, 2005) (Figure12).

a. Isolement sur le Dicholoran chloramphenicol Peptone Agar (DCPA)

Parmi les grains parfaitement séchés, au minimum 100 grains sont prélevés de façon aléatoire sur le papier filtre et placés directement a l'aide d'une pince stérile 10 graines par dans boite de pétri de 90 mm contenant le DCPA .

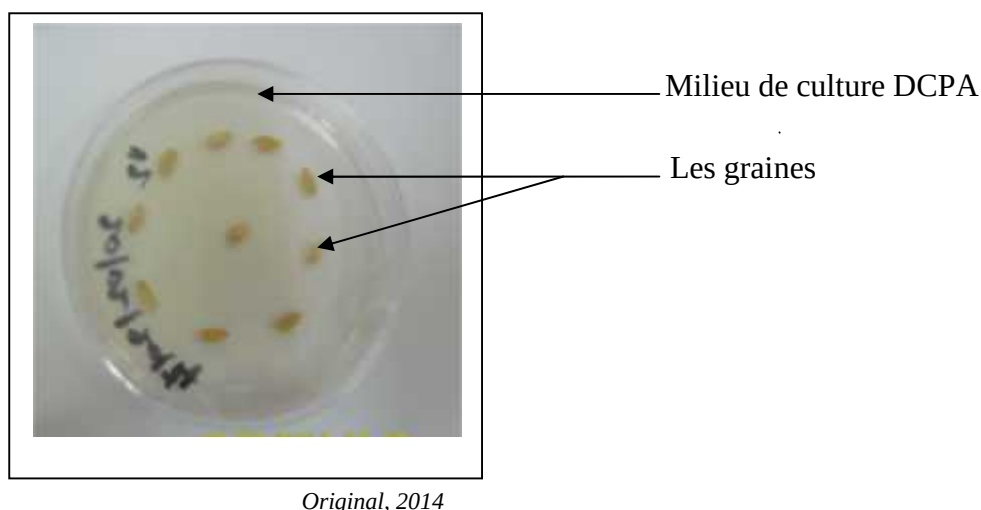
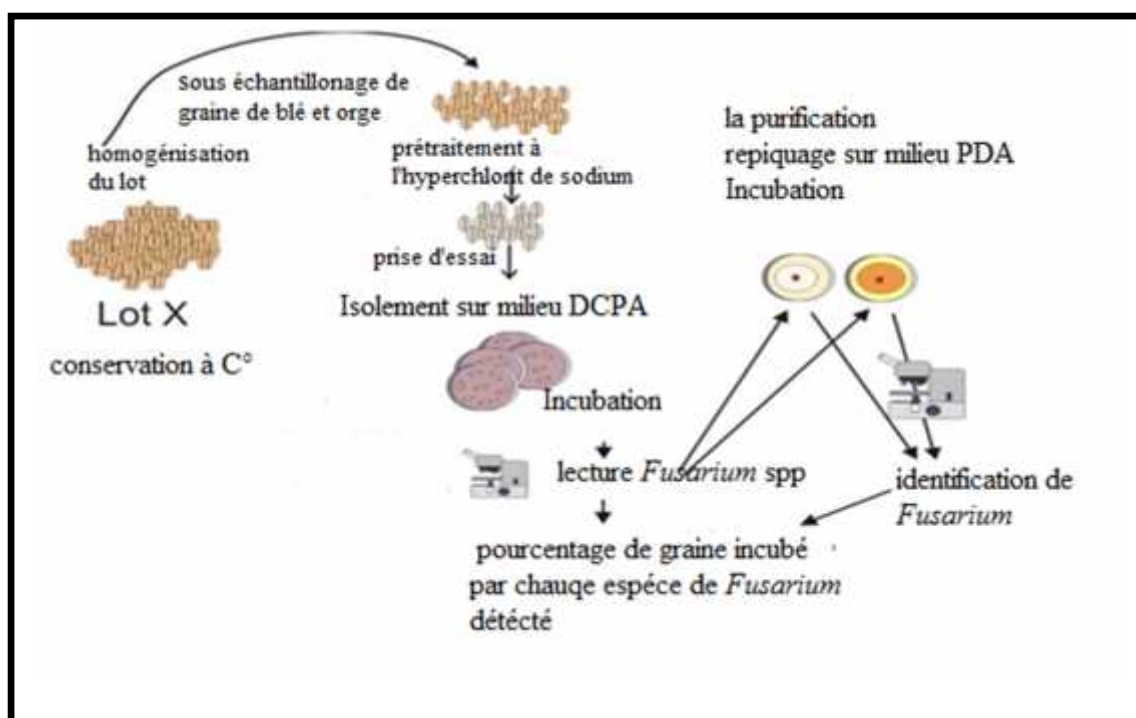


Figure12 : Illustration de la Méthode Geves

Les boîtes de pétri DCPA sont incubées 10 jours dans un étuve à 25°C en alternance éclairage obscurité 12h /12h.

b. Lecture des résultats d'isolement (milieux DCPA).

Après 10 jours d'incubation, les isolats infectant les grains se sont bien développés sur le milieu semi sélectif DCPA. Ce dernier ne permet pratiquement aucune pigmentation du thalle des champignons qui s'y développent. Les cultures apparaissent donc généralement blanches à rose très pâle. Le milieu étant semi sélectif, seuls les champignons du genre *Fusarium* vont se développer de manière conséquente sur le milieu (vitesse de croissance radiale >2 mm / jour et mycélium aérien abondant). Les autres genres de champignons peuvent croître mais vont présenter une vitesse de croissance radiale relativement faible (< 2 mm/ jour) et un mycélium aérien très peu abondant voire inexistant. De plus, il a été montré que ce milieu était plus efficace que le milieu PDA pour la détection des *Fusarium spp...* Il est toutefois à noter que pour certaines espèces (*Fusarium.culmorum*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium Verticelloïdes* *Fusarium suglutanans*) .l'extrême abondance de leur sporulation(sporodochia évoluant en pionnotes) déprime le mycélium aérien jusqu'à rendre l'aspect de la culture ras grasieux. Néanmoins, la vitesse de croissance radiale de ces espèces sur le milieu DCPA dépasse très largement 2 mm / jour. Le protocole général d'analyse est synthétisé dans la figure 14.



(INPV ;2008)

Figure 13: récapitulatif du protocole d'analyse de grains de céréales pour la détection de *Fusarium* spp.

II.3. Méthodes de purification :

Afin d'avoir une étude précise comportant des résultats conformes à l'espèce étudiée, cette dernière doit être pure. Cette pureté étant obtenue par deux techniques souvent utilisées qui sont :

III.3.1. Repiquage successif :

Consiste à faire plusieurs repiquage successifs de nos isolats sur milieu PDA jusqu'à l'obtention d'une culture pure.

Du DCPA, la colonie est transférée sur milieu PDA pour une étude spécifique et une détermination de l'espèce. Les boîtes sont ensuite incubées 10 jours dans les mêmes conditions que pour les incubations sur DCPA (INPV, 2002).

III.3.2 La culture Monospore par scarification :

Cette technique a pour l'objectif d'isoler une seule spore.

Le mode opératoire consiste à mettre un morceau d'implant de l'échantillon dans un flacon contenant 6 ml d'eau distillée; après agitation au vortex (pour homogénéiser), à l'aide d'une anse nous avons prélevé un peu de milieu puis nous l'avons étalé sur un côté de la boîte en faisant des allées et retour « scarification ». Après avoir flambé l'anse, nous avons prélevé à nouveau; scarifier un autre côté de la boîte.

Les boîtes sont ensuite incubées sous une lumière continue et à une température 25°C.

Après 24 heures d'incubation, lorsque les spores commencent à émettre des tubes germinatifs, un prélèvement monosporel repiqués en boîte pétri contenant du PDA. Après 7 à 10 jours d'incubation, les colonies sont pures.

II.4. Calcule de la fréquence et l'abondance des espèces de *Fusarium*

III.5.1.la fréquence :

nous renseigne sur le nombre de fois la présence d'un champignon dans les lots de semence analysés. Elle est calculée par le rapport :

$\text{Nombre des lots présentant le champignon} / \text{nombre totale de lots analysés}$

III.5.2.L'abondance :

est déterminée par le nombre total des individus de chaque espèce dans l'échantillon totale (Bounar, 2009).

II.5. Identification des isolats isolés :

Les isolats monospores sont ainsi identifiés sur la base des caractéristiques morphologiques et microscopique à l'aide de différentes clés de détermination (Champpion,1997 ;Leyral et al.,1997 ;Barnett et Hunnter, 1999 ;Leslie et Summerell,2006).

III.4.1.Caractères macroscopiques :

observation se fait à l'oeil nu et à la loupe binoculaire en se basant essentiellement sur l'aspect culturelle des isolats et la coloration du mycélium sur milieu PDA, le diamètre de la colonie, de leur revers et présence des exsudats etc.

III.4.2.Caractères microscopique :

observation faites à l'aide d'un microscope optique après la réalisation d'un étalement de mycélium entre lame et lamelle et on ajoute une goutte de bleu de coton.

L'identification des espèces de *Fusarium* spp, est basée sur les critères établis par Tousson et Nelson (1981).

- La taille et la forme des macroconidies.
- La présence ou l'absence des microconidies.
- L'aspect et la coloration du mycélium sur milieu PDA
- La présence ou l'absence de chlamydospores.

II.6. Méthodes de conservation des isolats :

Les champignons, une fois purifiés, sont conservés en tubes sur des milieux courants tels que le milieu PDA (Botton et *al.*, 1990). Il est prudent d'utiliser un système rationnel d'étiquetage de façon à ce que chaque isolat, tout en étant désigné par un minimum de signe, puisse être identifié sans ambiguïté (Davet et *al.*, 1997).

Une fois repiqués dans les tubes inclinés sont incubés à température ambiante pendant 7 jours et conservés à $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Bensmira, 2006). Les isolats doivent être repiqués tous les 6 mois (Botton et *al.*, 1990).

II.7. Détection du potentiel toxigène des isolats de *Fusarium*

L'identification du potentiel toxigène des isolats de *Fusarium* a été basée sur une méthode physico-chimique, la chromatographie sur couches minces (CCM) qui permet de tester la pureté des composés et de séparer les constituants d'un échantillon entre deux phases selon leur différence d'affinité pour l'une ou l'autre phase.

Pour déterminer le type de trichothécènes produit et identifier les chémotypes DON et NIV des isolats de *Fusarium*, un total de trois isolats de *Fusarium* ont été pris au hasard et analysés par CCM, il s'agit de *Fusarium graminearum* et deux isolats de *Fusarium Culmorum*, *Fusarium poae*, *Fusarium verticillioides*.

Celle-ci a été réalisée en utilisant des plaques de CCM prêtes à l'emploi comportant déjà une couche de 0,25 mm de gel de silice (Trucksess, 1984, Ipcs, 1990)

Les extraits secs des isolats testés au cours de cet essai ont été extraits selon le protocole de (Boutigny, 2010).

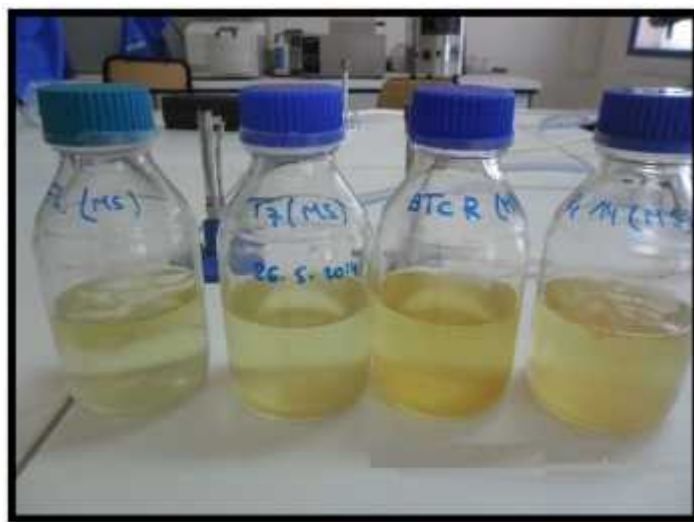
II.7.1 Mise en culture des isolats de *Fusarium* pour la production des spores en milieu liquide CMC :

Le milieu liquide CMC, est utilisé pour donner une meilleure sporulation des *Fusarium*. Les cultures standard sont réalisées en fioles Erlenmeyer contenant 100 ml de milieu de culture liquide inoculé avec des explants de 6 mm de diamètre, prélevés d'une colonie pure de chaque souche âgée de sept jours. Les flacons hermétiquement fermés, sont incubés à $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 8 jours avec une agitation permanente de 150 rpm. Après incubation, les cultures sont arrêtées par filtration sur des filtres en polyéthylène stériles.

II.7.2 Milieu synthétique pour mycotoxines :

Un milieu de culture liquide synthétique a été mis au point pour l'étude (milieu MS : "MycotoxinSynthetic medium). Ce milieu contient du 0,5 g/L de KH_2PO_4 , 0,6 g/L de K_2HPO_4 , 0,017 g/l de MgSO_4 , 1 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 mg/L de biotine, 20g/L de glucose, et 0,1 ml/l d'une solution de sels minéraux 50X (Vogel, 1956). Dans un premier temps, le glucose est dissout dans l'eau puis autoclavé 30 min à 105°C ; puis, les différentes solutions des autres constituants sont additionnées stérilement.

Les 100 ml de filtrat obtenus du milieu CMC sont additionnés à 200 ml de milieu MS dans des conditions stérile, sont ensuite incubés à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 5 jours pour la production des les mycotoxines(Figure14).



Original, 2014

Figure 14: la production des spores au milieu MS

II.7.3.Extraction et purification des trichothécènes « TCTB » à partir du milieu de culture liquide MS :

Pour l'extraction, 300 ml d'acétate d'éthyle sont ajoutés à 150 ml de milieu MS, on vortexe pendant 1 min. Après décantation (30 min-1 h) jusqu'à l'apparition de deux phase, toute la quantité du surnageant est prélevée pour être évaporé sous vide à l'aide d'un rotavapeur.

L'extrait sec est repris avec 2ml de méthanol/eau (1/1, V/V).

II.7.4 Analyse des trichothécènes B par CCM :

A. Principe

Le mélange est fixé sur un support appelé phase stationnaire (un gel de silice déposé en couche mince sur une plaque d'aluminium). Il est entraîné par un solvant approprié (phase mobile ou éluant) qui migre par capillarité sur la plaque. Les constituants du mélange se séparent par migration différentielle : chacun d'eux est d'autant plus entraîné par l'éluant qu'il est plus soluble dans celui-ci et moins adsorbé sur la phase stationnaire.

Après migration les taches doivent être révélées ; c'est la détection qui se fait :

Par observation à la lumière UV si la plaque de silice comporte un indicateur de fluorescence.

B. Mode opératoire :

a- Préparation de la cuve :

L'atmosphère de la cuve doit être saturée en vapeur d'éluant c.à.d. 10 ml de notre système solvant éthyle d'acétate et hexane (8/2) (Figure15).

Ceci impose d'avoir une cuve bien fermée et préparée un certain temps à l'avance, et le niveau de l'éluant au fond de la cuve doit être de 5 à 8 mm.

b- Les plaques de CCM :

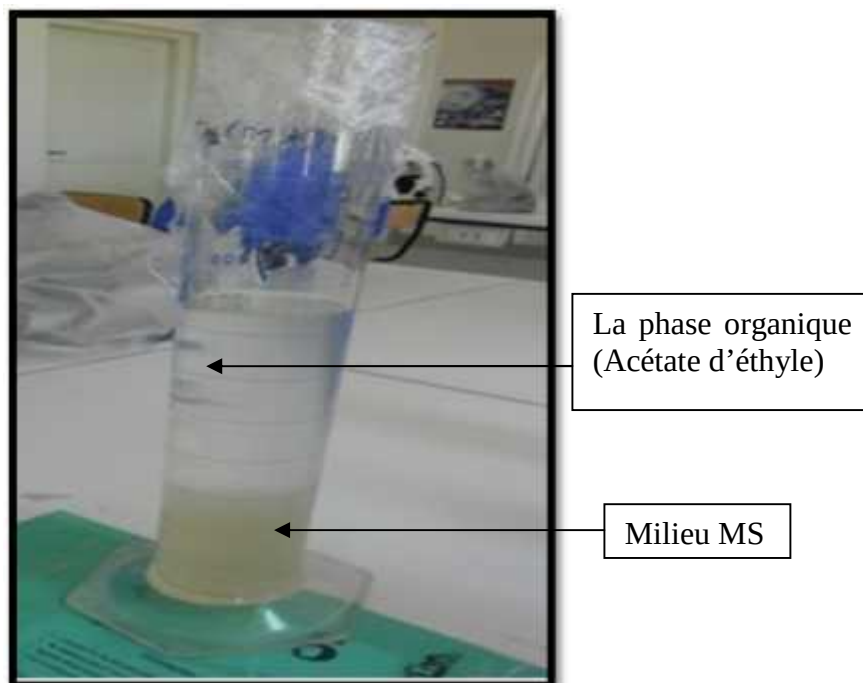
On repère à l'avance l'emplacement où seront effectués les dépôts, pour cela on trace un léger trait de crayon parallèle au bord inférieur de la plaque à une distance de 2 cm. Les dépôts seront effectués sur cette ligne, à 1cm du bord de la plaque et espacés de 1cm (Figure17).

Les solutions avec lesquelles on va réaliser les dépôts doivent être des solutions diluées. Des tubes capillaires en verre sont utilisés Pour effectuer les dépôts et qui doivent se faire en une durée très brève afin d'éviter l'étalement de ces derniers.

c- Révélation :

Nous avons fait une révélation aux UV qui ont permis de mettre en évidence sous forme de taches sombres des substances qui absorbent les UV, une autre méthode de révélation est utilisée, il s'agit d'une méthode chimique cependant, une coloration permet de détecter des quantités très faibles : le chlorure d'alumine, qui chauffé à 120°C pendant 7 minutes permet d'obtenir une coloration bleue fluorescente. Cette réaction est pertinente en particulier pour le DON, le NIV et la fusarénone X (Truckness M.W., 1984 ; IPCS, 1990). C'est d'ailleurs cette

méthode qui a été reconnue par l'AOAC pour le DON dans le blé (IPCS, 1990). On peut atteindre avec cette méthode des limites de détection de l'ordre de $20 \mu\text{g/kg}$ dans les aliments (Kamimura, 1981).



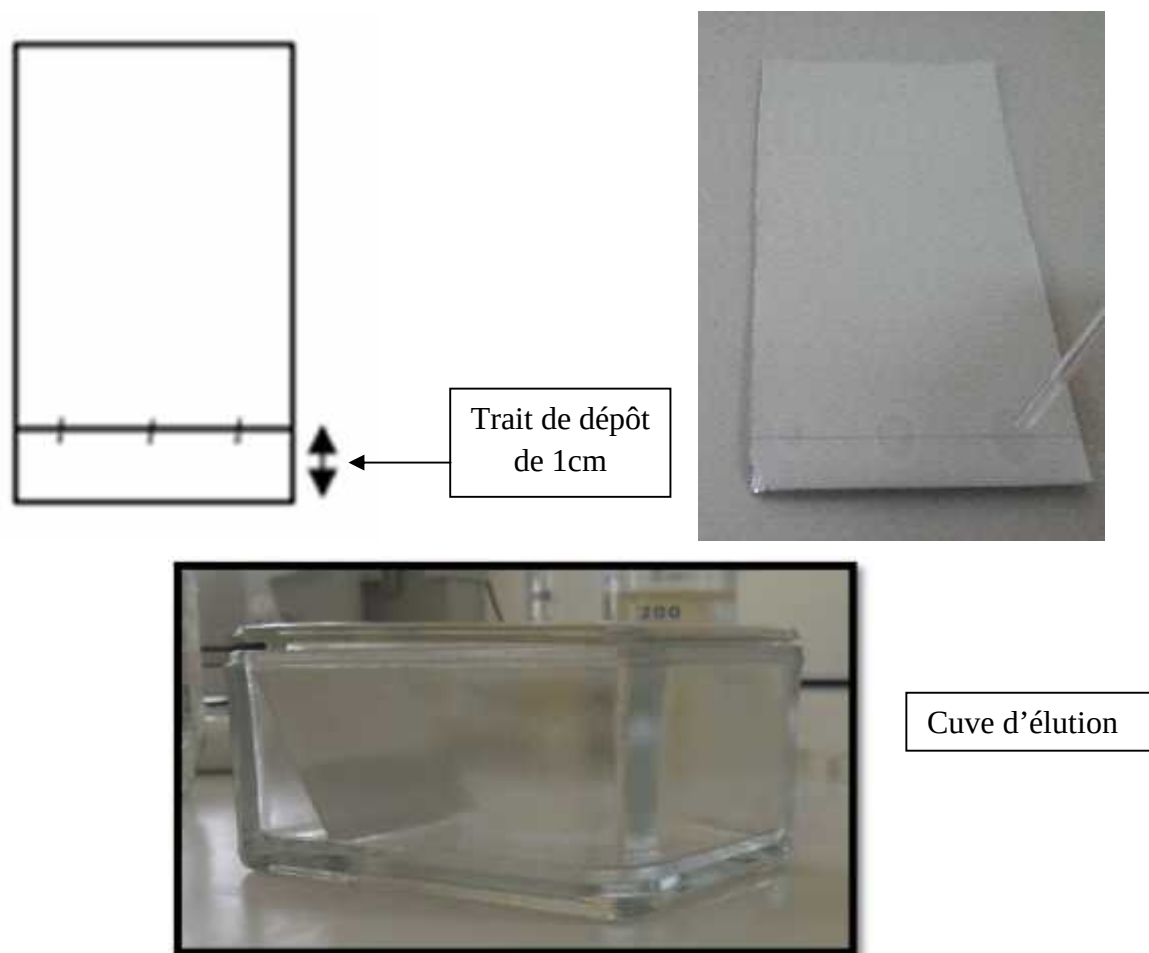
Original, 2014

Figure 15: séparation de deux phases, la phase organique et le milieu MS.



Original, 2014

Figure 16: extraction des mycotoxines par la rota-vapeur



Original, 2014

Figure 17 : la phase de la migration.

Partie III

Résultats et discussions

I. Résultats de l'isolement et d'identification de la mycoflore fusarienne associée aux semences.

La recherche des *Fusarium* concerne l'ensemble de la mycoflore interne présente au niveau des semences de blés. A cet effet des isoléments sont effectués sur des semences entières désinfectées, nous avons identifié les différents isolats en se basant sur la description précise des caractères cultureux et microscopique, avec l'utilisation des différentes clés d'identification (Champpion,1997 ;Leyral et al.,1997 ;Barnett et Hunnter, 1999 ;Leslie et Summerell,2006).



(Original, 2014)

Figure 18: Colonies de *Fusarium* formées sur DCPA

Le DCPA est un milieu sélectif pour les *Fusarium* isolés à partir des semences comme les céréales (Tremblay et al,201 2). les colonies sont bien formées avec une bonne production conidiale qui est stimulée par le dichloran, par contre les autres genres de champignon sont supprimés par le fongicide dichloran et l'antibiotique chloramphenicol, qui limitent la croissance de ces micro-organismes. (Andrews et al ,1986).

Les colonies développées sur le milieu semi sélectif ont été transférées sur milieu PDA pour l'identification.

Après l'isolement et la purification des isolats au niveau du laboratoire de phytopathologie de l'université de Laghouat, nous avons obtenu une gamme d'isolat qui est présentée dans le tableau ci-dessous:

Tableau 05: liste des isolats obtenus.

N° d'isolat		la variété	La région	Année de récolte
1	BT ₃	HD1220	I.T.G.C(Alger)	2012
2	BT ₃	HD1220	I.T.G.C (Alger)	2012
3	BD ₇	Vitron	El-Assafia	2012
4	BD ₂	Vitron	Kheng	2012
5	BT ₄	HD1220	SidiMakhlouf	2012
6	BD ₇	Vitron	El-Assafia	2012
7	DB ₅	/	Ksar-Elhيران	2012
8	BD ₈	WAHA	I.T.G.C Sétif	2013
9	BD ₂	Vitron	Kheng	2012
10	BD ₇	Vitron	El-Assafia	2012
11	BD ₁	Vitron	I.T.G.C(Alger)	2013
12	orge	orge	El-Assafia	2013
13	BD1	Vitron	I.T.G.C(Alger)	2013
14	BT ₁	ARZ	Aflou	2012
15	BD ₂	Chen's	I.T.G.C(Alger)	2012
16	BD ₂	Chen's	I.T.G.C(Sétif)	2012
17	BT ₁	ARZ	I.T.G.C(Alger)	2012
18	BD2	Chen's	Aflou	2012
19	BD ₇	Virton	El- Assafia	2012
20	BD ₄	Virton	Aflou	2012
21	BD ₈	WAHA	I.T.G.C (Sétif)	2012
22	BD9	BOUSSLAM	I.T.G.C (Sétif)	2013
23	BD ₁	Virton	I.T.G.C(Sétif)	2013
24	BD ₉	BOUSSLAM	I.T.G.C (Sétif)	2013
25	L ₉	R ₂ 14	IT.G.C (Sétif)	2013
26	L ₂	R ₂ 3	I.T.G.C (Sétif)	2013
27	L ₃	R ₂ 4	I.T.G.C (Sétif)	2013
28	BD ₁	vitrons	I.T.G.C(Sétif)	2013
29	BD ₁₁	GTA /DUR	I.T.G.C (Sétif)	2013
30	BD ₈	WAHA	I.T.G.C (Sétif)	2013

I.1. Évaluation du taux de contamination des semences par les *Fusarium* :

Les résultats des isollements à partir des graines de blé sont présentés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau 06: Mycoflore Fusarienne chez les variétés et les lignées de blé.

Le nom de la variété ou de ligne	N° de graines contaminées par le <i>Fusarium</i> /100GA	Autre contamination	Semences saines
ARZ	60	40	0
Vitron	70	30	0
Chen's	30	53	17
AIN ABID	0	37	63
HD 1220	41	54	5
Vitron	66	44	0
Bensalem	5	20	75
MBB	0	10	70
Orge	8	25	67
HD 1220	15	54	31
Var Ksar Elhiran	21	25	45
WAHA	70	28	2
BOUSSELAM	73	27	0
GTA/DUR	17	44	39
BENI MESTINA	18	27	55
SIGUS	13	11	76
Virton	79	18	3
R ₂ 1	20	10	70
R ₂ 3	6	16	78
R ₂ 4	10	10	80
R ₂ 5	21	15	64
R ₂ 6	20	5	75
R ₂ 7	15	34	51
R ₂ 8	11	9	80
R ₂ 11	18	4	78
R ₂ 14	17	24	59
R ₂ 15	15	13	72
R ₂ 16	16	15	69
R ₂ 17	10	11	79
R ₂ 18	11	33	66

Tableau 07: abondance et niveau d'infestation des espèces de *Fusarium* isolés à partir des échantillons de blé selon la région de récolte

Région géographique	Année de récolte	Echantillons			Echelle de contamination				
		Blé dur	Blé tendre	Orge	>0 à <2,5%	>2,5 % à <5%	>5 % à < 10%	>10% à < 20%	>25%
Laghouat	2012	3	1	1		1	1	2	1
Alger	2013	2	3		2				3
Sétif	2014	18					2	13	3

Original, 2014

Tableau 08: abondance d'infestation des espèces de *Fusarium* isolées à partir des Echantillons de blé selon les espèces des céréales

Isolat de <i>Fusarium</i>	Espèces (céréales)	Echelle de contamination				
		>0 à <2,5%	>2,5 % à <5%	>5 % à < 10%	>10% à < 20%	>25%
<i>F. graminearum</i>	Blé tendre	2		1	4	4
	Blé dur	3		1	2	6
<i>F. poae</i>	Blé tendre	1	2	3	4	3
	Blé dur	2				
<i>F. culmorum</i>	Blé tendre	2	1	2	3	2
	Blé dur	3	1	6	1	5
<i>F. tricinctum</i>	Blé tendre			4	3	
	Blé dur	3	1			

Original, 2014

Tableau 09: Abondance d'infestation des espèces de *Fusarium* isolées à partir des Echantillons de blé selon les variétés

Espèce	La variété	<i>F.gramine-arum</i>	<i>F.culmorum</i>	<i>F.avenam</i>	<i>F. poae</i>
Blé tendre	HD12220 Alger	1	2		1
	AIN ABID				2
	HD12220Laghout	2			
	ARZ				
Blé dur	Vitron Assafia			3	2
	Chen's	1		5	1
	Bousselam		2		
	MBB		2		
	WAHA				
	GTA/DUR	2			
	Vitron kheng			2	
	SIGUS			1	
	BENI MESTINA	1			
	Vitron Sétif	1			
Lignées	R ₂ 1			2	
	R ₂ 3		4	1	3
	R ₂ 4				
	R ₂ 5				
	R ₂ 6		1		
	R ₂ 7	1			
	R ₂ 8	1			
	R ₂ 11				
	R ₂ 14	5			
	R ₂ 15				
	R ₂ 16				
	R ₂ 17				
	R ₂ 18				

Original,2014

Parmi tous les échantillons analysés nous constatons que les variétés, provenant de Sidi Maklouf, variété Ksar Elhira, WAHA et Chen's de l'ITGC sont les moins contaminées ; alors que les plus contaminés sont Vitron provenant de kheng, ARZ de l'ITGC, et Vitron de la région de El- Assafia Vitron de sétif.

En outre les variétés Bensalem de la région d'Aflou, AIN ABID, MBB, SIGUS, BENI MESTINA de L' ITGC n'ont présentées aucune contamination par le *Fusarium*.

Par contre les lignées ont montré une faible contamination par les *Fusarium*, nous avons noté un taux d'infestation de 20%.

Nous avons constaté que le blé dur est plus sensible à la fusariose par rapport au blé tendre, avec taux de contamination de 30% Pour blé dur et un taux plus faible pour le Blé dur 60%.

Nos résultats sont similaires à d'autres travaux réalisés sur la résistance du blé à la fusariose.

La Fusariose de l'épi pose un problème de qualité et précisément de sécurité alimentaire par la production des TCTB au niveau de la graine de blé (Lugauskas et *al.*,2006 ; Kumar et *al.*,2008) La flore Fusarienne mise en évidence dans nos différents lots analysés est comparable à celle identifiées sur semence depuis des années par plusieurs chercheurs notamment Neergaard (1977) ;Richardson (1990) et Sauer et *al.*, (1992) ; Ioos et *al.*,2004

Les résultats montrent que dans les lots analysés, les agents saprophytes sont prédominants par apport aux *Fusarium*.

L'inventaire réalisé et le calcul de l'abondance des *Fusarium*, révèlent que la mycoflore est dominée par l'espèce *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* pour la majorité des lots analysés.

D'après les résultats de l'analyse des semences, la variété Virton, chen's , Bousselam, GTA/DUR ont montré un taux de contamination plus élevé par le *Fusarium culmorum*, . *Fusarium graminearum*

I.2. Résultat d'identification de la mycoflore fusarienne :

Les résultats de l'analyse sanitaire des différentes variétés des céréales analysées ont révélé la présence au niveau des semences une gamme d'isolats de *Fusarium* abondante et diversifiée qui sont présentés dans les figures ci-après:

Isolat. N°1. *Fusarium culmorum* (W.G .smith) Saccardo

Classification:

Classe :Adenomycetes

Ordre :moniliales

Famille :Tuberculariacées

Genre *Fusarium*

Section *Discolor*

Caractères culturels : cette moisissure pousse rapidement sur PDA et au malt .les colonies sont duveteuses, d'abord blanche à jaunâtres ou roses puis ocracées à rouges brunâtre .le revers est rouge à pourpre.

Morphologie microscopique : les phialides, courtes et large, formées sur le mycélium aérien, sont groupées en sporodochies .les microconidies sont absentes .les macroconidies sont fusiformes, courbées et septées (5 cloisons en moyenne, 3-8).La cellule apicale est courte et pointue (26-50X 4-7µm) .les chlamydospores, intercalaire ou terminales, formées par le mycélium ou par les conidies, sont sub-globuleuses, brunâtres, lisses ou verruqueuses (9-14µm de diamètre). Dans les planches sont présentés les principaux caractères morphologique de *F .culmorum* (Tubuc ,2007) .

Isolat. N°2, isolate N°11. *Fusarium graminearum*

Classification

Classe :Adenomycete

Ordre :Moniliales

Famille :Tuberculariacées

Genre : *Fusarium*

Section : *Discolor*

Forme parfaite : **Giberella zeae**

Caractères culturels : ce champignon se développe vite sur géloses PDA et au malt. Les colonies, floconneuses, sont au début roses grisâtres ou rouges à pourpres, puis deviennent brun vineux. Le revers est rouge à pourpre. Le pigment diffuse dans la gélose.

Morphologie microscopique : les phialides (10-14 X 3,5-5µm) peuvent s'agréger en sporodochies les microconidies sont absentes .les macroconides sont fusiformes, courbées, et présentent 3 à 7 septum .la cellule terminale est longue et pointue (25-62 X 2,5-5µm).les chlamydospores, intercalaires, formées par le mycélium rarement dans les conidies, sont globuleuses, hyalines à brun pâle (8-12µm en diamètre).

Dans la nature *.graminearum* est capable de former des périthèces, superficiels, ovoïdes, grains de tubercules (140-250µm) sur un grand nombre de graminées .les asques, clavés, contiennent 8 ascospores, hyalines ou brun très clair, fusiforme.

. Isol. N°3. *Fusarium poae*

Classification:

Classe :Adenomycetes

Ordre :moniliales

Famille :Tuberculariacées

Genre *Fusarium*

sur milieu PDA ,cet isolat donne des colonies a mycélium aérien duveteux et abondant de couleur qui varie du rouge, blanc avec des reflets plus ou moins jaune dans sa partie aérienne et devient rouge ou jaune au contact de l'agar .Les préparations microscopiques montrent la présence de macro conidies, hétérogènes et d'une taille moyenne à grande a une forme de faucille qui comportent en général 4 à 5 cloisons .la face dorsale courbée a une cellule basale très distinctement pédiforme et à une cellule apicale en forme de bec, les micro conidies sont absentes .Ces caractéristiques. Correspondent à l'espèce *Fusarium poae* selon la clé de Leslie et Summerell (2006).

Isolat. N°4 . Isol. N°13. *Fusarium Verticelloides*

Classification

Classe : Adnomycetes

Ordre :Moniliales

Famille :Tuberculariacées

Genre : *Fusarium*

Forme parfaite : *Giberella fujikuroi*

Caractères culturels

Ce champignon se développe rapidement sur les milieux classiques de culture (PDA et gélose au malt). Le thalle, d'abord blanc à pêche ou rose saumon, devient violet.

Le mycélium aérien est dense, floconneux d'aspect poudreux. Le revers peut être violet foncé, crème.

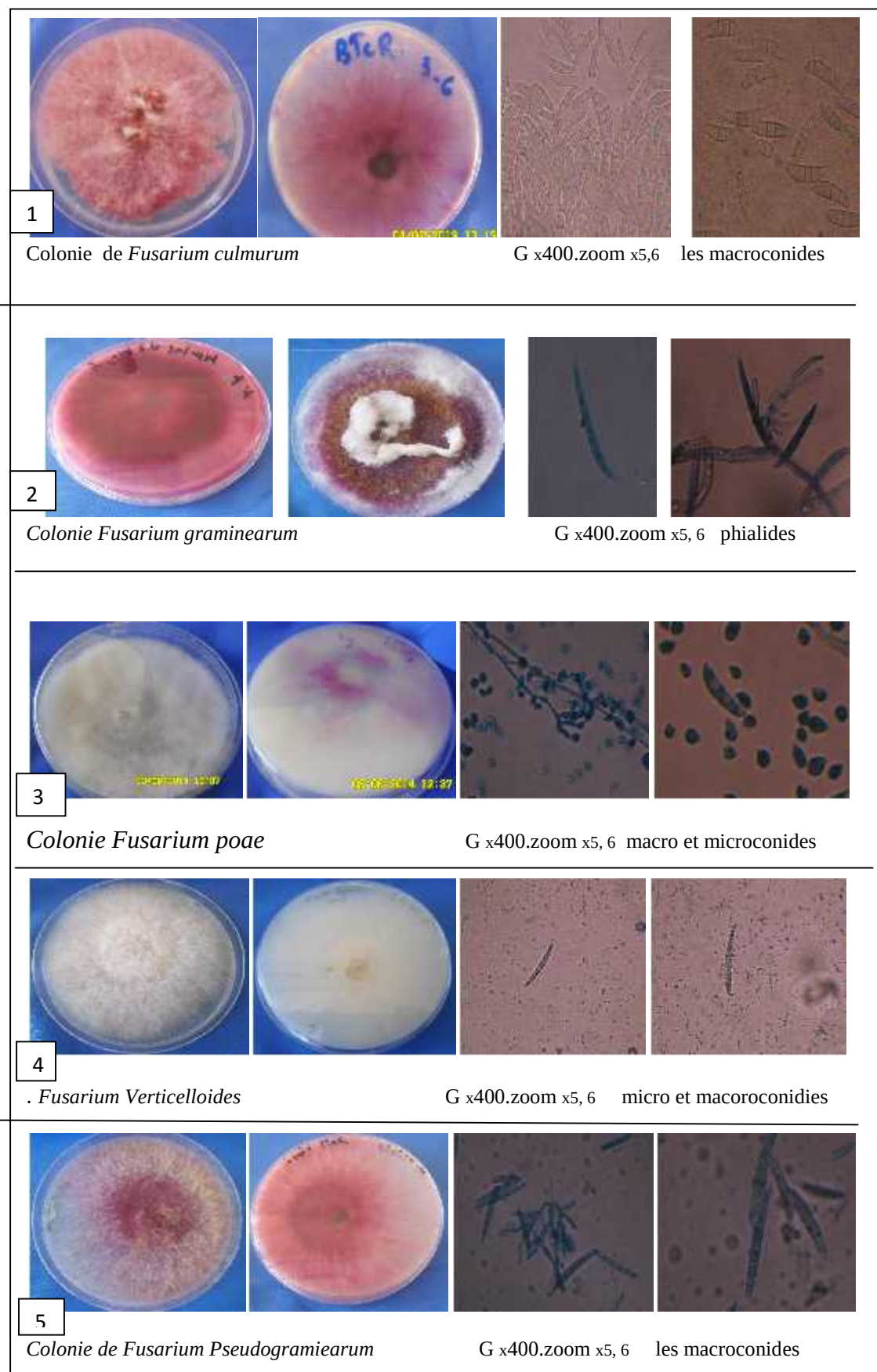
Morphologie microscopique

Les microphialides, sont formées sur le mycélium aérien (20-30 x 2,5-4 µm).

Les microconidies ellipsoïdales sont disposées en chaînes elles ont un aspect fusiformes, unicellulaires ou parfois uni septées. Leur taille est d'environ 5-12 x 1,5-2,5 µm. Les macrophialides sont groupées par 2 ou 3 une ramification courte. Les macroconidies sont rares, en fuseau allongé, avec 3 à 7 cloisons. Les chlamydospores sont absentes.

. Isolat. N°5. *Fusarium Pseudograminearum*

Cultivé sur PDA, cet isolat donne des colonies de couleur rouge et qui vire vers le marron. Le mycélium est aérien, abondant. La production d'un pigment rouge dans l'agar est également observée. Les préparations microscopiques montrent la présence des macroconidies effilées, longues, étroites et arquées sur toute la longueur. Elles mesurent (50-80) x (2,5-4) µm, et possèdent jusqu'à 7 colonies alors que les microconidies sont absentes (Lesli et Summerll(2006).

Figure 19: Caractères macroscopiques et microscopique des espèces de *Fusarium* obtenu

Isolat. N°7, N°9. *Fusarium foentens***Classification:**

Classe :Adenomycetes

Ordre :monilales

Famille :Tuberculariacées

Genre : *Fusarium*

Cultivé sur PDA, cet isolat donne des colonies a mycélium blanc, aérien, abondant .La production d'un pigment rouge dans l'agar est également observée. Les préparations microscopiques montrent la présence de macro conidies, longues , présentant 3 à 5 sépta, la cellule basale pédicellée et la cellule apicale plus ou moins pointue, Les micro conidies sont de forme napiforme à fusiforme bicellulaire, Cette description correspond à *Fusarium foentens* selon Leslie et Summerell (2006).

Isolat. N°6 .N°8. *Fusarium sambucinm***Classification**

Classe :Adenomycete

Ordre :Moniliales

Famille :Tuberculariacées

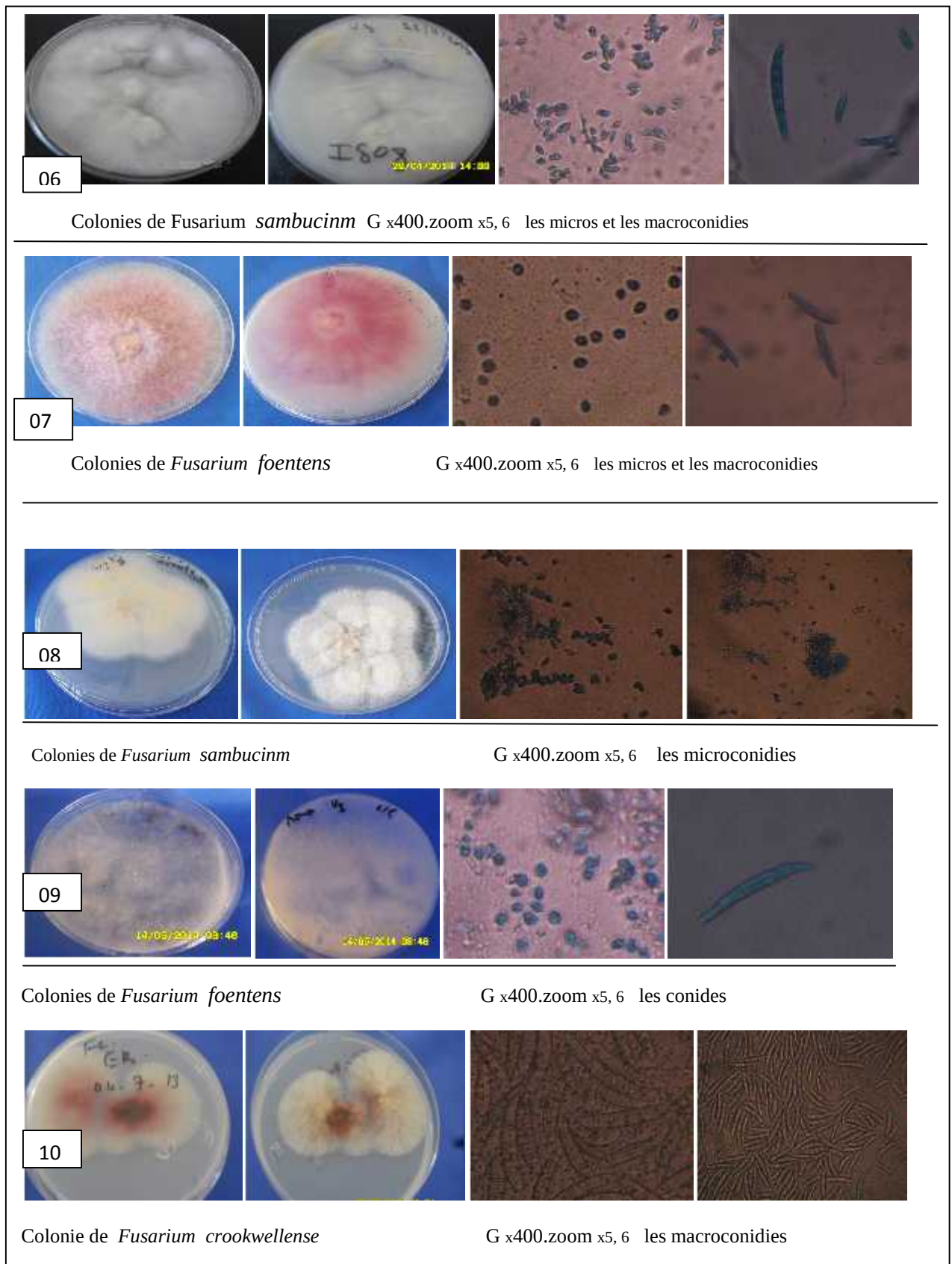
Genre : *Fusarium*

Section :*Discolor*

Caractères culturels : cette moisissure pousse rapidement sur PDA et au malt .les colonies sont duveteuses, d'abord blanche à jaunâtres ou roses puis ocracées à rouges brunâtre .le revers est rouge à pourpre.

Isolat. N°10. *Fusarium crookwellense*

sur milieu PDA ,cette isolat donne des colonies a mycélium aérien duveteux et abondant de couleur qui varie du rouge, blanc avec des reflets plus ou moins jaune dans sa partie aérienne et devient rouge ou jaune au contact de l'agar .Les préparations microscopiques montrent la présence de macro conidies abondantes, homogènes et d'une taille moyenne à grande a une forme de faucille qui comportent en général 4à5 cloisons .la face dorsale plus courbées que la face ventrale a une cellule basale très distinctement pédiforme et à une cellule apicale en forme de bec, les micro conidies sont absentes (Leslie et Summerell (2006).

Figure 20: Caractères macroscopiques et microscopique des espèces de *Fusarium* obtenu

Isolat. N°12, *Microdochium nivale*

Classe : Adnomycetes

Ordre : Moniliales

Famille : Tuberculariacées

Genre : *Fusarium*

Isolat. N°14. *Fusarium sporotrichioides*.

Cultivé sur PDA, cet isolat donne des colonies de couleur rose dense par fois blanc, un pigment rouge qui se forme au contact de l'agar ; le mycélium est cotonneux aérien abondant. Sa croissance est lente. Les préparations microscopiques montrent la présence de macro conidies sont épaisses et légèrement arquées, de forme et de taille hétérogènes, et possèdent jusqu' à 5 cloisons alors que les microconidies sont absente Leslie et Summerell (2006).

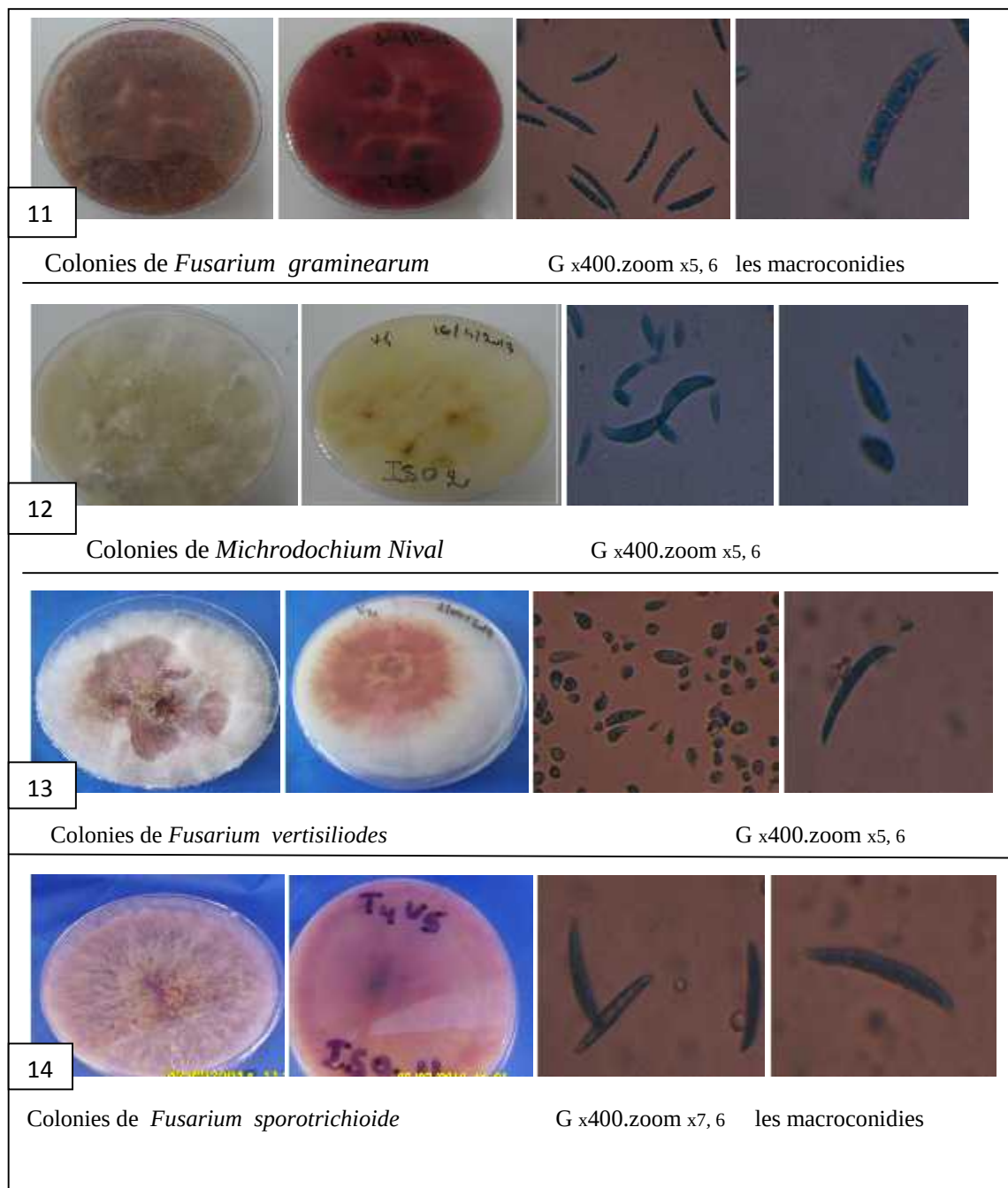


Figure 21: Caractères macroscopiques et microscopique des espèces de *Fusarium* obtenu

I.3.Résultat d'extraction des mycotoxines et la migration sur la plaque CCM

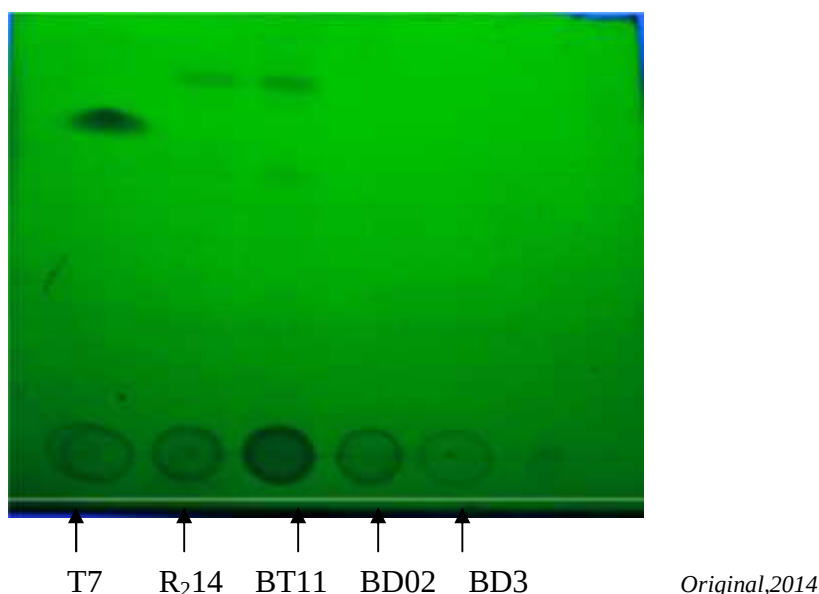


Figure 22 : CCM pris sous UV montrant la migration

L'identification du potentiel toxigène des isolats de *Fusarium* a été basé sur la méthode de la chromatographie en couche mince (CCM).

Après le dessèchement de la plaque à l'air et éventuellement au sèche-cheveux pour évaporer entièrement l'éluant, rien n'a été observé sur la plaque, mais l'utilisation d'une lampe UV permet de mettre en évidence sous forme de taches sombres des substances qui absorbent les UV, elle (Figure. 22)

La révélation par l'utilisation des rayons UV montre des taches sombres sur la plaque. La densité optique diffère d'une tache à une autre, ces taches se présentent sous forme de bandes avec l'apparition d'une tache sphérique, c'est le cas des mycotoxines issues de l'extraction à partir de l'isolat T7.

L'isolat T7 et BT11 sont les deux de *F.culmorum*, mais la révélation sur plaque CCM montre que les deux isolats produisent des toxines de profile différent, soit de type de taches, soit le (rf) traversé par les toxines de chaque isolat.

Chez l'isolat DB06 nous ne remarquons qu'une seule tache sous forme sphérique, cependant chez l'isolat BT11 nous remarquons des bonds linéaires. Pour l'isolat R₂14 les

taches apparues sont identiques au celles de l'isolat BT11 avec le même (rf), mais une densité optique qui est un peu moins.

L'utilisation de l'appareil photospectromètre nous a permis de quantifier la dose des TCTB synthétisées par chaque souche. Les résultats obtenus montre que la D.O à une longueur d'onde de 230 nm de chaque isolats est ; 3,12 pour le R₂14, 3,18 pour la BD06 et 4 pour la BT11.

La quantification de la dose des TCTB produite par ces isolats a été estimée par l'utilisation de photospectromètre. Selon Boutigny (2010) les TCTB sont visibles à une longueur d'onde de 230 nm, ainsi les résultats obtenus montrent que les deux R214 et BT11 ont une densité optique plus élevée que celle de l'isolat BD06.

La technique C.C.M a révélé que les isolats testés sont toxigènes, la production des trichothécènes B par les 3 isolats : *Fusarium culmorum*(1), *Fusarium graminearum* , *Fusarium culmorum*(2) est confirmée, cependant les deux autres isolats : *Microdochium nival*, *F.pseudograminearum* n'ont montré aucune bande sur la plaque CCM.

Les résultats montrent que les deux isolats BT11 et R214 ont le même profil cad qu'ils ont produit le même type de toxine cependant le 3^{ème} isolat BD06 a un profil différent ce qui nous laisse dire qu'il produit un autre type de toxine. Sachant que le BT11 et de chémotype DON/ 3Adon et le BD06 est de chémotype NIV/FX, nous avons pu identifier le chémotype de l'isolat R214 qui a le même profil que BT11, c.à.d. que l'isolat R214 produit de DON/3ADON.

L'analyse des profils par CCM ont montré que seulement les 3-ADON et FX ont été produits à des niveaux détectables (Figure22). Nous supposons que les formes acétylées sont favorisées par le milieu liquide.

Les résultats obtenus ont montré une grande variation des niveaux des trichothécènes produits selon le milieu de culture et selon les isolats considérés.

Différentes mycotoxines peuvent être produites, il s'agit essentiellement des mycotoxines appartenant à la famille des trichothécènes et plus précisément au sous groupe des trichothécènes B (TCTB). Parmi les espèces productrices de TCTB, il est possible de distinguer, d'une part, les isolats de chémotype DON qui synthétisent du Deoxynivalenol (DON) et ses formes acétylées (3- et 15-ADON) produite par *Fusarium culmorum*, *Fusarium*

graminearum et d'autre part, les isolats de chémotype NIV qui synthétisent du Nivalénol (NIV). Les NIV sont considérés comme plus toxiques à l'homme et aux animaux alors que les DON peuvent être plus phytotoxiques (Bottalico, 1998).

Cette étude a révélé que le *F. culmorum* est l'espèce toxigène prédominante et son potentiel à produire des trichothécènes, en plus son caractère phytopathogène, la rend particulièrement importante en termes de menace phytosanitaire.

L'effet chémotype a bien apparue dans ce test, car les deux isolats, BD06 et BT11 qui sont de même espèce (*F. culmorum*) ne montrent pas les mêmes taches sur la plaque CCM. Cependant l'isolat BT11 et l'isolat R₂14, et malgré ils sont des espèces différentes mais ils présentent des taches qui sont identiques avec une seule différence qui est la densité optique de ces dernières.

L'analyse des extraits des TCTB par le spectrophotomètre montre que la concentration des toxines produites par l'isolat BT11 est la plus élevée que celles produites par le R₂14 et T7.

Dans le test d'agressivité des deux isolats, les résultats obtenus montrent que l'isolat BT11 est plus agressif que l'isolat R₂14 et la D.O de l'isolat BT11 est importante par rapport à celle de l'isolat R₂14, nous constatons qu'il y a une corrélation entre la quantité des toxines produites et l'agressivité des isolats, ceci peut être expliqué par le rôle que jouent les TCTB dans l'agressivité des *Fusarium*. Beaucoup de travaux confirment nos résultats nous citons les travaux de Hestbjerg *et al.*, (2002) qui ont montré une corrélation positive entre agressivité et niveau de DON produit dans des plantules d'orge inoculées par des isolats de *F. culmorum* et aussi les résultats obtenus par les travaux de Kammoun (2010) et Boutigny (2007).

Conclusion

CONCLUSION

Le blé constitue une céréale d'importance primordiale d'un point de vue économique et en tant que denrées alimentaires pour l'homme. En Algérie la culture du blé est parmi les grandes cultures ayant une importance dans la politique agricole du pays. Elle représente, en effet, environ 60% des cultures céréalières. Toutefois, au cours de son développement, la culture du blé est sujette à la variation des conditions climatiques et aux attaques de pathogènes pouvant influencer négativement la production en quantité et en qualité.

L'importance économique de la fusariose de l'épi de blé est attribuée aux pertes de rendement considérables et à l'altération de la qualité des grains. L'ingestion des grains contaminés a des effets toxiques chroniques aussi bien chez l'homme que chez les animaux (Gutzwiller *et al.*, 2005).

C'est dans ce contexte que ce travail de mémoire a été entrepris dans le but d'étudier différents aspects reliés à la fusariose de l'épi du blé en Algérie.

La première partie de cette étude a visé l'évaluation des taux d'infestation des grains de blé et orge par les *Fusarium* et l'identification des espèces de *Fusarium* qui lui sont associées.

Il s'agit d'une étape indispensable pour lutter contre cette maladie, surtout que les espèces associées à la fusariose de l'épi sont susceptibles de coloniser les grains de blé et d'en altérer la qualité par la production des mycotoxines.

En se basant sur les caractéristiques morphologiques des *Fusarium* isolés, 15 espèces ont été identifiées à savoir parmi les quelle : les plus fréquent : *F. culmorum*, *F. pseudograminearum*, *F. avenaceum* et *Microdochium. nival*, *Fusarium poae*.

La deuxième partie de ce travail a porté sur la caractérisation du potentiel toxigène d'une collection de *Fusarium* par CCM. La quantification a été faite par le spectrophotomètre du degré de contamination dans les échantillons de blé, en utilisant le test de détection de potentiel toxigène.

Les résultats obtenus avec la méthode chromatographique des échantillons analysés montrent la présence de mycotoxine (NIV, DON) dans les grains, qui influe directement sur la qualité des graines de point de vue organoleptique ou bien sur la santé de consommateur.

De part les conclusions des résultats, nous suggérons que l'évaluation de l'état sanitaire des semences doit être poursuivi et la mise en œuvre des moyens et des technique doit être la plus rapide et la plus large ; la réglementation et la surveillance doivent être accentuées en établissement des plan de contrôles mycotoxine pertinent. Ainsi la disponibilité des techniques simple et fiable pour le suivi de la contamination est essentielle. Il faut convient de

ne pas négliger la question des agents fongique ni des mycotoxines, car l'état de traces ils peuvent nuire à la santé du consommateur et par conséquent à l'économie du pays.

Notre travail offre des perspectives dans différentes directions :

- Il serait souhaitable d'étudier le développement et la distribution de la fusariose de l'épi du blé sur plusieurs années. De plus, pour évaluer l'ampleur de cette maladie sur le rendement, il serait préférable d'estimer les pertes de production de la maladie dans les principales régions céréalières; Approfondir les recherches sur la sensibilité variétale du blé à la fusariose de l'épi dans le but de déterminer des gènes responsables de la résistance à la maladie. C'est une tâche difficile, mais sa retombée est très utile en matière de lutte contre cette maladie.
- Mettre en place un système de contrôle et de surveillance de la contamination du blé par les mycotoxines. Cela permet sans doute de garantir la qualité et l'innocuité des produits céréaliers largement consommés en Algérie;
- En dernier lieu, la prévention contre le développement des champignons et la production des mycotoxines, qui nécessite la formation et sensibilisation appropriées aux agriculteurs, des commerçants et des transporteurs.

Référence bibliographique

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

AFSSA (Agence française de la sécurité sanitaire des aliments),2006 évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaines et animales. « rapport synthétique » ,<http://www.afssa.fr/Documents/RCCP-Ra-Mycotoxines> .181p.

Aléo, M .D., Wyatt, R. D and Scnelmann ,R.G., 1991.The role of altered mitochondrial function in citrinin induced toxicity to rat renal proximal tubule suspensions. *Toxicol.Appel.Pharmacol.*109:455-463p.

Anderson, J.A., Chao, S., et Liu, S. 2007. Molecular Breeding Using a Major QTL for Fusarium Head Blight Resistance in Wheat. *Crop Science* 47:112-119.

Andrews S, Pitt J I,1986. Selective medium for isolation of *Fusarium* species and dematiaceous hyphomycetes from cereals. 6 March 1986.Vol. 51, n° 6.

Aouali, S. Douici ,A.2005. *Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie : symptômes développement et moyens de lutte*. ITGC El Harrach, Alger51pp.

Aoki T., O'Donnelle K., 1999 .Morphological Molecular characterization of *Fusarium Pseudograminearum* sp .nov.,formerly recognized as the Group 1 population of *F.graminearum* *mycologia*,91,597-609p.

Arora, D.1986. Champignons démythifiés : Un guide complet des champignons charnus. Berkeley.

Azizi F. ,1993 contribution à l'étude de la distribution géographique d'*Heterodera avenae* dans Mitidja Essai de quelques variétés vis à vis de cette espèce Mémoire ingénieur en science Agronomique INA El-harrache Alger. 67pp.

Bar-L'helgouac'h,H ,C.2004.Quality control of cereal and pulses.Ed: Arvalis- Institut de végétal.Paris.268p.

Barrios M.J. Medina L.M Lopez. M.C. and Jordano R. 1996 .Mycotoxins in cheeses *Alimentaria* 270: 93-89.

Bayer Cropscience (http://fusariose.bayercropscience.fr/fusariose_epis/degats.html).

Bensamira, S.2006 .Isolement et caractérisation de souches de milieux extrêmes (sol salin de la région de Biskra) productrice de cellulase thermostable a intérêt industrielle. Thèse de magistère. Constantine. Université de Mentouri. 166p.

Blandino, M., Minelli, L., et Reyneri, A. 2006. Strategies for the chemical control of Fusarium head blight: effect on yield, alveographic parameters and deoxynivalenol contamination in winter wheat grain. *European Journal of Agronomy* 25: 193-201.

Bonjean A.,2001- Histoire de la culture des céréales et en particulier celle de blé tendre (*Triticum aestivum* L.).Dossier de l'environnement de l'INRA,N°21 :29-37.

Booth C., 1971. The Genus *Fusarium*, Commonwealth Mycology Institute, Kew, Surrey, England. 237pp.

Bottalico, A. 1998. *Fusarium* disease of cereals: species complex and related mycotoxin profiles in Europe. *Journal of Plant Pathology* 80: 85-103.

Bottalico, A., et Perrone, G. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 108: 611-624.

Botton B., Bretton A.,Feuvere M.,Guy Ph.,Larpent JP.,Veau P.1985.*Moisissures utile et nuisible*, Importance industrielle. Biotechnologie .Masson .139à 145pp.

Botton B., Bretton A.,Feuvere M.,Guy Ph.,Larpent JP.,Veau P.1990.*Moisissures utile et nuisible*, Importance industrielle 2^{ème} éd. paris .Masson .512pp.

Bouas A., Hellias R., Vallade S., Verdierv J., 2012. *Céréales : symptômes de piétin échaudage et présence de fusariose du plateau de tallage* .ARVALIS-Institut du végétal.

Boufenar-Zaghouane, F. et Zaghouane, O. 2006. Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge, avoine). 1^{ière} édition. ITGC : Alger. 153p.

Boulal H., Zaghouane O., EL Mourid M. et Rezgui S., 2007. Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blés et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Ed. TIGC.

Boulassal A. ,1998 utilisation rationnelle de l'irrigation d'appoint sur deux varieties de blé dur (waha et Ascad 65).thèse de Magistère en science Agronomique INA El-Harrach Alger. 76pp.

Bounar, R.2009 Recherche sur l'état sanitaire des semences de céréales et légumineuses alimentaire : mise en évidence des mycotoxines et leur effet sur la germination .thèse de magister .El Harrache .Institut Nationale Agronomique (INA).120p.

Boutigny,A.,2007.étude de l'effet de composés du grain de blé dur sur la régulation de la voie de biosynthèses des trichothécènes B purification de composés inhibiteurs ,analyse des mécanisation impliqués .Thèse de doctorat. Université de Bordeaux 1.202p.

Burgess L. W., Summerell B.A., Bullock S., Gott K.P., Backhouse D. 1994.Laboratory manual for *Fusarium* research, 3nd Ed. University of Sydney, Sydney, Australia.

Broyde H, Dore T, 2013. *Effets des pratiques agricoles sur la contamination des denrées par les mycotoxines issues de Fusarium et Aspergillus spp.* Cah Agric, vol. 22, n 8, avril 2013.

Cairns-Fuller, V., Aldred, D .and Magan, N., 2008Water,temperature and gas composition interactions affect growth and ochratoxin A production by isolates of *Penicillium verrucosum* on wheat grain *J Appl.Microbiol.*,99:1215-1221p.

Champeil A. Doré T. Fourbet J.2004. *Fusarium* head blight:epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by *Fusarium* in wheat grains. Thèse de doctorat .UMR of Agronomy INRA.INA-Grignon, France.132pp.

Champion R., 1997. Identifier les champignons transmis par les semences. Ed : INRA. Paris.398pp.

Chehat F, 1994. *Impacte des reformes économique sur la céréaliculture Algérienne option Méditerrané.* 1994. n 8 .105-115p.

Chermette R., Bussieras J., 1993, Parasitologie vétérinaire. Mycologie .éd : Service de parasitologie de l'école nationale vétérinaire de maison-Alfort.

CIRAD-GRET, 2002. MEMOENTO de l'Agronomie. Ministère des Affaires étrangères. Décembre 2002 paris joui-11bd de sebastopol ,497pp.

Crete P., 1965. *Précis de botanique.* Systématique des angiospermes. Tome II. Masson et Cie, 429 p.

Da Luz, W.C., Stockwell, C.A., et Bergstrom, C.A. 2003. Biological control of *Fusarium graminearum*. In: K.J. Leonard, et W.R. Bushnell, Editors, 2003. *Fusarium* Head Blight of Wheat and Barley, American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN,p 381-394.

- Davet ,P. Rouxel,F.1997.détection et isolement des champignons du sol INRA.Paris .201pp.
- Dreyfus J., Lagache F., 2007. Les Fusariotoxines. Du service régional de la protection des végétaux de Haute-Normandie.5p.
- Diamond, H., et Cooke, B. 2003. Preliminary studies on biological control of Fusarium ear blight complex of wheat. Crop Protection 22: 99-107p.
- Dill-Macky, R., et Jones, R.K. 2000. The effect of previous crop residues and tillage on Fusarium head blight of wheat. Plant Disease 84: 71-76p.
- Djermoun, A. 2009. *La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques* Département d'Agronomie. Université de Hassiba Benbouali de Chlef Nature et Technologie. n° 01/Juin 2009. Pages 45 à 53 .
- Dhoro M., 2010. identification and differentiation of *Fusarium* species using selected molecular methods. Submitted to the Department of Biochemistry University of Zimbabwe in partial fulfillment of the requirements for the Degree of master of philosophy.
- ESMISAB.2006. (Ecole Supérieure de Microbiologie et Sécurité Alimentaire de Brest).généralité sur le genre *Fusarium*. [l'ESMISAB](http://esmisab.univ-brest.fr/scientifique/) ,[Mycologie](#) ,[Principaux groupes](#),[Les Fusarium](#) <http://esmisab.univ-brest.fr/scientifique/> .
- Eudes F., 1998. Etude de l'impact des Trichothécènes de Fusarium chez le blé et Sélection in vitro pour la résistance a la fusariose de l'épi. Thèse de doctorat. Université Laval. Quebec.
- Eyal ,Z.Scharen,AL ;Proesscott, J.M..and van ginkel,m.1987.the septoria diseases of wheat.
- FAO,2012 .Bulletin sur l'offre et la demande de céréales 2012, [http://site.339/default aspex](http://site.339/default.aspex) www.faostat .Fao.org site .339/aspex / .
- Fayret J.Quenin H.and PermyA. 1996. Evaluation de d'état sanitaire des semences de tournesol .*La protection des végétaux* 487(10) :37-40 p.
- Feldmen M., 2001 - Origin of cultivated wheat. Dans Bonjean A.P. et Angus W.J. (ed). The world wheat Book: a history of wheat breeding. Intercept limited, Andover, Angle Terre, 358.
- Fuentes-Granados, R.G., Mickelson, H.R., Busch, R.H., Dill-Macky, R., Evans, C.K.,

- F.R.E.D.E.C.2002.les principale maladies d blé transmises par les semences. Station d'étude sur la lutte biologique, intégrée et raisonnée. éd. décembre 2002.Loos-en-Gohelle.4p.
- Gang, D.T., Feng, L., Qin, C.Z., Zhi, Z.Z., Lin, S.X., Yong, C., Jun, C.L., et Qiang, Z.M.A. 2008. Mapping of QTLs Associated with Resistance to *Fusarium* Head Blight Using an "Immortalized F₂" Population, *Acta Agronomica Sinica* 34: 539-544.
- Hadadi,F , 1999,*Aperçu sur l'état d'infestation des quelque régions céréalières d'Algérie pal les nématodes à kyste des céréales ,proceeding du symposium régional sur les maladies des céréales et légumineuse alimentaire*, Nabeul,Tunissia 10-12 Novembre .561pp.
- Hamadache, A., 2003.les temps des grandes cultures. ITGC, Alger.26pp.
- Henry Y. et De Buyser J., 2001. L'origine des blés. De la graine à la plante. éd. Belin, Paris.69-72pp.
- Haidukowski, M., Pascale, M., Perrone, G., Pancaldi, D., Campagna, C., et Visconti, A.2004. Effect of fungicides on the development of *Fusarium* head blight, yield and deoxynivalenol accumulation in wheat inoculated under field conditions with *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85: 191-198 p.
- Harlan J.R., 1975 - Our vanishing genetics resources. *Science*, 188:618-621.
- Hell, K.,Cadwell,k.f.,Setamou, M. and Schulthess,F .2000.Influence of insect infection on aflatoxin contamination of stored maize in four agroecological region of Benin *African Entomology* 8: 169-177p.
- Hervé Y ., 1979 - Introduction à l'amélioration des plantes. Cours. École nationale supérieure agronomique de Rennes.
- Horberg H.M., 2002 .patterns of splash dispersed of *Fusarium Poae* et *Fusarium culmorum*. *European journal of plant Pathology*, 108.73-80.p.
- Hubert,J.,Stejskal, V.,Munzbergova,Z.,kubatova, A.,Vanova,M.and Zdarkova,E.,2007.mites and fungi in heavily infested stores in the Czech Republic,*J.Econ.Entomol.*,97(6):2144-2153p.
- Jochum, C.C., Osborne, L.E., et Yuen, G.Y. 2006. *Fusarium* head blight biological control with *Lysobacter enzymogenes* strain C3. *Biological Control* 39: 336-344 p.

Jounot, B.2005. Les fusariotoxines sur les céréales détection risque et nouvelle réglementation. Thèse de doctorat. Nancy .université Henry Poincaré.111pp.

Kammoun G. L., Gargouri S., Barreau, C., Richard-Forget, F., et Hajlaoui M.R. 2010. Trichothecenes chemotypes of *Fusarium culmorum* infecting wheat in Tunisia.International Journal of Food Microbiology 140: 84-89.

Kang, Z., et Buchenauer, H. 2000. Cytology and ultrastructure of the infection of wheat spikes by *Fusarium culmorum*. Mycological Research 104: 1083-1093p.

Kehal N., 2012. Remontée de la Filière Céréales pour une meilleure sécurité alimentaire, Réunion du Comité Interprofessionnel des Céréales(OAIC).

Keller ,SE., Sullivan,T.M.and Chirtel,S.,1997.Factors affecting the growth the *Fusarium proliferatum* and the production of Fumonisin B1 oxygen and pH. *Journal of industrial microbiology and biotechnology* 19:305-309.

Kellili H., 2010.contribution à l'étude de la complexe entomologie des céréales dans la région des hautes plaines d'Est Algérienne. Mémoire magister en sciences Agronomiques Université El Hadj Lakhdar.Batna .188pp.

Khan, S.H., Idress, M., Muhammad, F., Mahmood, A. et Zaidi, S.H. 2004. Incidence of shisham (*Dalbergia sissoo* Roxb.) decline and *In vitro* response of isolated fungus spp., to various fungicides. International Journal of Agriculture and Biology 6: 611-614p.

Kheyyar M.O. ,Amara M. ,Harrad F.,2007.la mécanisation de a céréaliculture algérienne : constat et perspectives. Annales de l'institut national agronomique .Ed. INA. Alge. Vol 28.n°1.95-102pp.

Koch, H.J. Christodulos, P., et Maerlaender, B. 2006. Evaluation of environmental and management effects on *Fusarium* head blight infection and deoxynivalenol concentration in the grain of winter wheat. European Journal of Agronomy 24: 357-366p.

Kumar V.Singh G.P.and Babu A.M, 2004. Surface ultrastructural studies on the germination, penetration and conidial development of *Aspergillus flavus* Link: Fries infecting silkworm, *Bombyx Mori* Linn. *Mycopathologia* 157(1) :127p.

- kurek, E., Jaroszuk, C.S., et Shtssls, J.Z. 2003. Rye (*Secale cereale*) growth promotion by *Pseudomonas fluorescens* strains and their interactions with *Fusarium culmorum* under various soil conditions. *Biological Control* 26: 48-56 p.
- Lacroix M., 2002 Maladies des céréales et de Luzerne : *diagnostic, dépistages et prévention* club des sols de Témiscouata. Québec. 25pp.
- Lauzon M., Dion Y. Rioux S., 2004. *L'épidémiologie de la fusariose chez le blé et l'orge*. Bulletin d'information. Grandes culture .n 06.7 juillet 2004.3p.
- Leslie J.F., Summerell B.A.2006. *The Fusarium Laboratory Manual* ,Blackwell Publishing.369 pp.
- Leyral, G., Vierling, E. 1997. *Micobiologie et de toxicology des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires*. 2^{ème} Ed : doin. France.272p.
- Link H.F.1809.Observation in ordines plantarum naturalis.Dissertatio I,Mag.Ges.naturf. freunde .Berlin.33pp.
- LNPV, 2008. Laboratoire national de la protection des végétaux. Toutes céréales, détection et identification des espèces de *Fusarium* spp. et *Microdochium nivale* sur grains de céréales par isolement mycologique semi-sélectif et étude microbiologique. France.28pp.
- LNPV, 2002. Laboratoire national de la protection des végétaux. Toutes céréales, détection et identification des espèces de *Fusarium* spp. et *Microdochium nivale* sur grains de céréales par isolement mycologique semi-sélectif et étude microbiologique. France.20pp.
- Lori, G. A., Sisterna, M. N., Sarandon, S. J., Rizzo, I., et Chidichimo, H. 2009. *Fusarium head blight in wheat : impact of tillage and other agronomic practices under natural infection*. *Crop Protection* 28: 495-502.
- Mahieu O.,Koninckxloo M.,2010. C.A.R.A.H.résultats d'essais 2010 Protection fongicide du froment.18pp.
- Lugauskas , A.Raila,A.Railiene M.and Raudoniene V.2008 .Toxicmicromycetes in grain raw material during its processing . *Ann.Agric.Environ.Med*.13:147-161.
- Maire R., 1955. *Flore de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara)*. Vol 3. éd. Paul Lechevalier,Paris ,399 p.

- Magan, N., Hope, R., Colleate, A., et Baxter, E.S. 2002. Relationship between growth and mycotoxin production by *Fusarium* species, biocides and environment. *European Journal of Plant Pathology* 108: 685-690.
- Mazza G.1983.Rapid Assay for detection of microorganisms producing DNA-damaging metabolites .*Appl.Environ. microbiol.*45(6). 1949-1952pp.
- Mesterházy, Á. 1995. Types and components of resistance to *Fusarium* head blight of wheat.*Plant Breed.* 114: 377-386.
- Mesterházy, Á., Bartok, T., Mirocha, C.G., et Komoroczy, R. 1999. Nature of wheat resistance to *Fusarium* head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. *Plant Breeding* 118: 97-110p.
- Milus, E.A., et Parsons, C.E. 1994. Evaluation of foliar fungicides for controlling *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Disease* 78: 697-699p.
- Miller,B.S.,Lee, M.S., Hughes,J.W.and Pomeranz,Y.,1980.Measuring high moisture content of cereal grains by pulsed nuclear magnetic resonances .*Cereal Chemistry*,57:126-129p.
- Mitchell,D.,Parra,R.,Aldred,D.,and Magan,N.,2004.Water and temperature relation of growth and ohratoxin Aproduction by *Aspergillus carbonarius* stains from grapes in Europe and Israel. *Journal of Applied Microbiology* 97:439-445p.
- Moreau,C.1974.les mycotoxines. In Bourgeois C. M., J.F.Mescle, J.Zucca. 1974.*Microbiologie Alimentaire*. Tomel : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments.672p.
- Neergaard.P.1977.Seed pathology , The Macmillan press L.T.D,London 839p.
- Nelson P. E., Toussoun, T. A. , Cook R. J (1981). *Fusarium: diseases, biology and Taxonomy*. Pennsylvania State University Press, University Park, 446-452pp.
- Nelson P.E., Dignani M.C., Anaissie E.J. 1994. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clinical Microbiology*, 479-504.pp
- Nicholson, P., Chandler, E., Draeger, R.C., Gosman, N.E., Simpson, D.R., Tamssett, M.,et Wilson, A.H. 2003. Molecular tools to study epidemiology of *Fusarium* Head Blight in cereals. *European Journal of Plant Pathology* 109: 691-703p.

Ngugeny,N. 2007. Identification des espèces de moisissures,potentielement productrices de mycotoxines dans le riz commercialise dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam étude des condition pouvant réduire la production des mycotoxines thèse de doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse.145p.

Parry D.W., Nicholsoon P.,1994 .the cereal *Fusarium* complex .Ecology of plants pathogens WALLIGFORD, Dk:CAB International,301-20 .

Parry D.W.,Pettitt T.R.,Jenkinson P.Lees AK.,1995. Development of a PCR assay to detect *Fusarium poae* in wheat ,plant pathology ,45,383-391 .

Payne,G.A.,Hagler,W.M.,1983.Effect of specific amino acids on *Aspegillus flavus* in defined media *App.Environ. Mccrobiol.*4:805-812p.

Pfohe-Leszkowicz.,1999. Les mycotoxines dans l'alimentation .Evaluation et gestion du risque Tec et Doc London- Paris-Newyork 478 p.

Pfohe-Leszkowicz.,2000. Ecology of moulds and Mycotoxins :Situation in france. Chies de nutition et de diététique, 35(6):379-388p.

Raymond, S.L.,Smithe,T.k.and Swamy,H.V.,2003.Effects of a blend of grains naturally contaminated with *Fuasrium* mycotoxines on feed intak serum chemistry and hermatology of hores and the efficacy of polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent *J.Anim.Sci* 81:2123-2130p.

Richard, M.2004.santé de l'environnement. La fusariose chez les céréales dans le Canada atlantique Agriculture et Agroalimentaire Canada .Centre de recherches sur les cultures et les bestiaux.440 University Ave., Charlottetown. Mars 2004.

Richardson M. J.1990.An annotated list of seed-brone diseases ,4thedn. Interntional seed testing association,Zurich, Switzerland.

Saaboubi S., 2007 .Effets comparatifs de deux outils aratoires (disque –dents) et de différents précédents culturaux sur les propriétés physique d'un sol cultivé en céréales dans la région de Timgad. Mémoire magister en sciences Agronomiques. Université El Hadj Lakhdar-Batna, 188pp.in -Crete P., 1965. *Précis de botanique*. Systématique des angiospermes. Tome II. Masson et Cie, 429 p.

Sauer D.B., Meronuck R.A. and Christensen, C.M. 1992. Microflora .In storage of cereal grains and their products. (Sauer, D.B.) American Association of cereal chemists USA pp.313-340.

Sayoud, R. et Benbelkacem A., 1993. *la recherche variétale sur le blé en Algérie céréaliculture en Algérie* ITGC Alger 26 :3-8.p.

Sayoud, R. et Benbelkacem A., 1996, *situation des maladies des céréales en Algérie proceeding du symposium régional sur les maladies des céréales et légumineuse alimentaire* INRA Rbat, Maroc ,390pp.

Sayoud, R., Ezzahiri, B., Bouznad, Z. 1999. *Les maladies des céréales et des légumineuses Alimentaire au Maghreb*. ITGC.Alger ,63pp.

Shen, H.M., Shi, C.Y., Lee, B. L. and Ong, C.N., 1994. Aflatoxin B1 induced lipid peroxidation in rat liver, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 127 :145-150p.

Schiff, C.L., Wilson I.W., et Somerville, S.C. 2001. Polygenic powdery mildew disease resistance in *Arabidopsis thaliana*. Quantitative trait analysis of the accession Warschau-1. *Plant Pathology* 50: 690-701 p.

Schisler, D.A. Khan, N.I., Boehm, M.J., et Slininger, P.J. 2002. Greenhouse and field evaluation of biological control of Fusarium head blight on durum wheat. *Plant Disease* 86: 1350-1356 p.

Simpson, D. R., Weston, G. E., Turner, J. A., Jennings, P., and Nicholson, P. 2001. Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *European Journal of Plant Pathology* 107: 421-431p.

Snyd. et Hansen, 1999. *Mycologia*. www.inra.fr/hyp3/photogene/3fusro2.htm .

Stettler, P.M. and Sengstag C., 2001. Liver carcinogen aflatoxin B1 as an inducer of mitotic recombination in a human cell line *Molecular carcinogenesis* 31(3):125-138p.

Sutton Snijders 1982 et ,Perkowski 1990; Parry and Jenkinson 1995; Goswami and Kistler 2004.

Taniwaki ,M.H., Hocking, A.D. AND Fleet ,G.H., 2001. Growth of fungi and mycotoxin production in cheese under modified atmospheres. *International Journal of Food microbiology*, 68: 125-133p.

Thompson, W.G., Wiersma, J.V., Xie, W., Dong, Y., et Anderson, J.A. 2005. Resource allocation and cultivar stability in breeding for *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. *Crop Science* 45: 1965-1972.

Trail F, 2009. For Blighted Waves of Grain: *Fusarium graminearum* in the Postgenomics Era *Plant Physiology*, American Society of Plant Biologists January 2009, Vol.103–110.149.pp.

Tremblay L. Simard N. Pageau D. Rioux S.2012. Pour en savoir plus sur la fusariose. Centre de recherche sur les graines : *brochure Fusariose* .Février .UPA.ED . Québec.N°12_ 0007.

Van Egmond,H.p.,Jonker,M.A.2004.Worldwide regulation on aflatoxins-the situation in 2002.*J.Toxical.Toxin Rev.*23 (2,3):273-293.

Wagacha, J.M., et Muthomi, J.W. 2007. *Fusarium culmorum*: infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat.*Crop Protection* 26: 877-885.

Widstrom N.W.1992.Aflatoxin in developing maize: interaction among involved biota and pertinent econiche factors.*Handbook of Appl.Mycology: mycotoxins in ecological systems*, 5.23-58pp.

Wisniewska, H., et Kowalczyk, K. 2005. Resistance of cultivars and breeding lines of spring wheat to *Fusarium culmorum* and powdery mildew. *Journal of Applied Genetics* 46:35-40.

Yin,Y.N.,Yan,L.Y.,Jiang, J.H.and Ma,Z.H.,2008. Biological control of aflatoxin contamination of crops.*Journal of Zheijiang Unversity Science* 9(10):787-792p.

Zinedine ,A.2004.Détermination des mycotoxines dans les aliments et etude de la reduction des alfatoxines par des batérie lactique isolées des ferments panaires traditionels.thèse de doctorat. Université sidi Mohamed ben Abdallah fes.162p.

ANNEXES

Annexe

Compositions des milieux de culture .

Dichloran chloramphenicol Peptone Agar (DCPA)

- Peptone bactériologique 15,0 g
- K₂ HPO₄ 1,0 g
- MgSO₄7H₂O 0,5g
- Chloramphénicol 0,2 g
- Crystal violet en solution aqueuse 1 ml
- Agar 15,0 g
- Eau distillée 1000 ml

« Potato Dextrose Agar » PDA

- Agar-agar 20 g
- Pomme de terre 200 g
- Dextrose (Glucose) 20 g
- Eau distillée 1000 ml

Lactophénol :

Phénol	20 g
Acide lactique	20 ml
Glycérol	20 ml
Eau distillée	1000 ml

Bleu de coton :

Lactophénol

Bleu de méthylène	0.5g
-------------------	------