

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 d'Agronomie

- جامعة عمار ثليجي -  
كلية العلوم  
الفلاحية



## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme Master II en Agronomie  
Option : Protection des végétaux et de l'environnement

### *Thème*

Contribution à l'étude de la Fusariose de l'épi :  
pathogénie et comportement variétal.

présentées par Regue Fatima Zohra

Encadré par : Me Touati Hattab Sihem, Maître-assistant A

Septembre 2014

**Résumé :**

La fusariose de l'épi ou *Fusarium* Head Blight (FHB) est une maladie fongique causée par plusieurs espèces de *Fusarium* dont *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* qui sont des agents pathogènes de la première importance dans les champs céréaliers.

L'objectif de ce travail est l'étude de cette maladie nouvellement observée en Algérie. Cela implique, d'une part, l'identification des espèces impliquées, et la connaissance de leur pathogénie et de leur agressivité ; et d'autre d'étudier le comportement variétal de dix variétés de blé dur et blé tendre vis-à-vis de deux isolats *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*.

La sensibilité de 10 variétés de blé dur et de blé tendre à la fusariose de l'épi a été évaluée par inoculation au stade floraison. Les résultats ont révélé que toutes les variétés testées sont sensibles à la fusariose et l'étude de la pathogénie et de l'agressivité des deux espèces a montré que *F. culmorum* est plus agressive que *F. graminearum*. L'isolement des germes fongiques a révélé l'identification de trois espèces à savoir : *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* et *F. poae*.

**Mots clés:** Fusariose de blé, *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, agressivité, sensibilité variétal.

## الخلاصة

يعتبر مرض لفح السنابل من بين الامراض الاكثر ضراوة للقمح يسبب فطر الفزاريوم هذا المرض و من بين اصناف الفطر المسبب له يوجد نوع *Fusarium culmorum et Fusarium graminearum* و هما من مسببات المرض في مجال الحبوب اذ انها تسبب خسائر العائد.

يهدف هذا العمل الى دراسة المرض الجديد في الجزائر. و في البداية تحديد انواع الفطريات المتواجدة في حبوب القمح مع تقويم المقدرة الامراضية لهذه الفطريات و في المرحلة الثانية تم تقييم 10 اصناف من القمح الصلب و اللين لمرض لفح السنابل باعتماد على الإعداء اصطناعي للسنابل با استعمال عزلات الفطر *Fusarium culmorum et Fusarium graminearum*.

بينت النتائج حساسية كل اصناف القمح المدروسة لهذا المرض و ان جميع العزلات المستعملة لها قدرة إمراضيه و ضراوة مع وجود قدرة اقوى لـ *Fusarium culmorum* مقارنة مع *Fusarium graminearum*. كما بينت تحديد انواع الفطريات وجود ثلاث عزلات و هي *Fusarium culmorum , Fusarium graminearum et Fusarium poae*

كلمات مفتاحية : قمح, فيزاريوم كلموروم, فيزاريوم كرامينيورم, ضراوة المرض.

**Abstract:**

The Fusarium ear blight in cereal or Fusarium Head Blight (FHB) is a fungal disease caused by a several species of *Fusarium* whose *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum* which are the agents' pathogens of primary importance grain in the fields .

The objective of this work is to study this disease, which is underestimated in Algeria it involves in the first instance, identification of fungy species present in wheat grains, and the knowledge of their pathogeny and their aggressiveness; and, in the second instance, is to study the comporment of ten wheat variety to *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*.

The sensitive of ten varieties of wheat to Fusarium head blight, was estimated by inoculation with *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*. The results revealed that all varieties of durum and bread wheat tested are sensitive to *Fusarium* and the study of the pathogeny and aggressiveness of two species showed that *F. culmorum* is more aggressive than *F. graminearum*. The isolation of the fungal germs revealed the presence of three species: *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* and *F. poae*.

**Keywords:** *Fusarium* head blight, *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, aggressivety, sensitivity of varieties.



## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A ma très chère mère pour son soutien et son affection durant ces années d'études, que DIEU la protège.*

*A ma famille*

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

*Fatima Zohra*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A ma très chère mère pour son soutien et son affection durant ces années d'études, que DIEU la protège.*

*A ma famille*

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

*Fatima Zohra*

## **Remerciements**

*Je remercie avant tout DIEU tout puissant, pour la volonté, la santé, et la patience qu'il m'a donné durant toutes ces années d'études, afin je puisse en arrive là.*

*J'adresse mes plus vifs remerciements à ma promotrice, Madame Touati Sihem pour avoir bien voulu m'encadrer, pour ses précieux conseils et pour son suivi tout au long de la réalisation de ce mémoire. J'espère qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*J'adresse mes vifs remerciements aux membres du jury pour avoir bien voulu évaluer ce travail*

*J'exprime aussi mes remerciements à Madame Ameer Djamila pour son accueil, et sa disponibilité*

*Je ne peux passer sous silence, de remercier toute l'équipe du laboratoire de, pour leur amitié, et leur aide.*

*J'aimerais remercier ma chère mère de m'avoir soutenue le long des mes années d'études avec amour et patience et aussi mon mari, pour son soutien et sa patience tout au long de ce parcours. Il a toujours su m'aider et m'encourager.*

*Enfin, je ne pourrais finir son remercier toute la promo 2014 particulièrement mes amis :Karima, Ikram, Silaa, Yahi, Sara, chahra , aroua pour leur grande qualité humaine, leur encouragement et leur soutien moral pendant les moments les plus difficiles.*

*Fatima Zohra*

## **Remerciements**

*Je remercie avant tout DIEU tout puissant, pour la volonté, la santé, et la patience qu'il m'a donné durant toutes ces années d'études, afin je puisse en arrive là.*

*J'adresse mes plus vifs remerciements à ma promotrice, Madame Touati Sihem pour avoir bien voulu m'encadrer, pour ses précieux conseils et pour son suivi tout au long de la réalisation de ce mémoire. J'espère qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*J'adresse mes vifs remerciements aux membres du jury pour avoir bien voulu évaluer ce travail*

*J'exprime aussi mes remerciements à Madame Ameer Djamila pour son accueil, et sa disponibilité*

*Je ne peux passer sous silence, de remercier toute l'équipe du laboratoire de, pour leur amitié, et leur aide.*

*J'aimerai remercier ma chère mère de m'avoir soutenue le long des mes années d'études avec amour et patience et aussi mon mari, pour son soutien et sa patience tout au long de ce parcours. Il a toujours su m'aider et m'encourager.*

*Enfin, je ne pourrais finir son remercier toute la promo 2014 particulièrement mes amis :Karima, Ikram, Silaa, Yahi, Sara, chahra , aroua pour leur grande qualité humaine, leur encouragement et leur soutien moral pendant les moments les plus difficiles.*

*Fatima Zohra*

# SOMMAIRE

Résumé.....	I
Dédicace.....	IV
Remerciements.....	V
Liste des tableaux.....	IX
Liste des figures .....	X
Liste des abréviations.....	XI
INTRODUCTION .....	1
Partie I Synthèse bibliographique .....	4
1. HISTORIQUE ET REPARTITION.....	5
2. IMPORTANCE ECONOMIQUE DE LA CULTURE.....	5
3. MORPHOLOGIE DE BLE .....	5
PROBLEME PHYTOSANITAIRE DU BLE .....	8
1. MALADIES RENCONTREES CHEZ LE BLE .....	8
2. LA FUSARIOSE DE BLE .....	8
2.1. Historique de la fusariose .....	8
2.2. Symptomologie .....	9
2.2.1. A la levée .....	9
2.2.2. Sur tige a la montaison .....	9
2.2.3. Sur le col de l'épis .....	10
2.2.4. Sur l'épi .....	10
2.2.5. Sur graine .....	10
2.3. cycle infectieux de la maladie .....	11
2.4. Importance économique .....	12
2.5. L'agent causal de la fusariose de blé .....	13
2.6. Identification des agents responsable de la fusariose de l'épi .....	14
2.6.1. Identification morphologique .....	14
2.6.2. Identification moléculaire .....	14
3. LES MYCOTOXINES PRODUITES PAR L'ESPECE <i>FUSARIUM</i> .....	14
3.1. Les trichothécènes .....	15

3.2. Toxicité des trichothécènes .....	15
3.3. Zéaralénone .....	16
3.4. Toxicité de Zéaralénone .....	16
<b>4. MOYEN DE LUTTE CONTRE LA FUSARIOSE DE L'EPI .....</b>	<b>16</b>
a. Pratiques culturales .....	16
b. Utilisation de fongicides .....	17
c. Moyens de lutte biologique .....	17
d. Résistance des cultivars .....	17
<b>Partie II Matériel et méthodes .....</b>	<b>19</b>
<b>1. MATERIEL .....</b>	<b>20</b>
1.1. Matériel végétal .....	20
1.2. Matériel fongique .....	20
<b>2. METHODES .....</b>	<b>21</b>
2.1. Echantillonnage .....	21
2.2. Désinfection des semences .....	21
2.3. Isolement .....	21
A. milieu DCPA .....	21
<b>3. METHODES DE PURIFICATION .....</b>	<b>23</b>
3.1. Repiquage successif .....	23
3.2. Culture de la monospore par sclarification .....	23
<b>4. IDENTIFICATION DE L'AGENT PATHOGENE .....</b>	<b>23</b>
4.1. Identification macroscopique .....	23
4.2. Identification microscopique .....	24
<b>5. METHODE DE CONSERVATION DES ISOLATS.....</b>	<b>24</b>
<b>6. ETUDE DE PATHOGENICITE DES ISOLATS DE FUSARIUM</b>	
<b>GRAMINEARUM ET FUSARIUM CULMORUM ET LA SENSIBILITE DES</b>	
<b>VARIETES DE BLE A LA FUSARIOSE DE L'EPI.....</b>	<b>24</b>
6.1. Préparation de l'inoculum .....	25
6.2. L'inoculation .....	27
6.3. Notation des symptômes .....	28
<b>Partie III Résultats et discussions .....</b>	<b>30</b>
<b>1. RESULTATS DES ISOLEMENTS .....</b>	<b>31</b>
<b>2. IDENTIFICATION DES ISOLATS OBTENUS .....</b>	<b>32</b>

<b>2.1 Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques des souches</b>	<b>33</b>
<b>identifiées .....</b>	
2.1.1. <i>Fusarium graminearum</i> .....	33
2.1.2. <i>Fusarium culmorum</i> (W.G. Smith) Saccardo .....	33
2.1.3. <i>Fusarium poae</i> .....	33
<b>3. RESULTAT DE LA PATHOGENIE DES DEUX ESPECES DE <i>FUSARIUM</i></b>	<b>35</b>
<b>ET SENSIBILITE DES VARIETES DE BLE DUR ET BLE TENDRE</b>	
.....	
<b>3.1. Prise des données et notations sur plants de blés.....</b>	<b>35</b>
<b>3.2. Sensibilité des variétés de blé testées a la fusariose de blé .....</b>	<b>35</b>
3.2.1. sensibilité des variétés vis-à-vis de <i>F.culmorum</i> .....	35
3.2.2. sensibilité des variétés vis-à-vis de <i>F. graminearum</i> .....	38
<b>3.3. discussion .....</b>	<b>40</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>43</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>45</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>53</b>

## Liste des tableaux

Tableau 1 : liste des variétés de blé analysée. ....	20
Tableau 2: Echelle d'évaluation utilisée pour l'estimation de la sévérité de l'infection par <i>Fusarium</i> sur épi .....	29
Tableau 3: taux de contamination de la semence par le <i>Fusarium</i> .....	31
Tableau 4 : liste des isolats identifiés .....	32
Tableau 5 : analyse de variance pour BT11.....	36
Tableau 6 : moyennes des indices d'attaques pour l'isolat BT11 .....	36
Tableau 7 : répartition des groupes homogènes pour essai 1.....	38
Tableau 8 : analyse de variance pour R214.....	38
Tableau 9 : moyennes des indices d'attaques pour l'isolat R214 .....	39

## Liste des figures

Figure 1 : morphologie du plant , de l'épi, de l'épillet et de la fleur de blé.....	7
Figure 2:symptomes de la fusariose sur un champs de blé.....	9
Figure 3:Symptomes de la fusariose sur racine, et sur tige de blé. ....	10
Figure 4 : La progression de la fusariose dans les épis de blé .....	10
Figure 5 : Symptômes de la fusariose sur grains.....	11
Figure 6 : cycle biologique de <i>Fusarium</i> sur céréale .....	12
Figure 7 : illustration de la méthode de Geve .....	22
Figure 8: les étapes de préparation de l'inoculum.....	26
Figure 9 : étape de pulvérisateur .....	27
Figure 10: échelle d'évaluation de l'INRA .....	28
Figure 11 : Aspects morphologiques et microscopiques (G x 40) des espèces fongiques isolées à partir des grains de blé .....	34
Figure 12 :moyenne de degré d'attaque obtenue sur dix variétés de blé inoculé par <i>Fusarium culmorum</i> au stade floraison .....	37
Figure 13:moyenne de degré d'attaque obtenue sur dix variétés de blé inoculé par <i>Fusarium graminearum</i> au stade floraison .....	39

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>DCPA</b>	Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar
<b>DON</b>	Désoxynivalénol
<b><i>F</i></b>	<i>Fusarium</i>
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organisation
<b>f. sp</b>	Forma specialis
<b>G</b>	Agrandissement
<b>LNPV</b>	Laboratoire National de Protection des Végétaux
<b>TCT</b>	Trichothécène

# Introduction

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole. Elles sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale (Slama *et al.*, 2005). Le blé, en particulier, constitue une céréale importante, d'un point de vue économique et en tant que denrées alimentaires pour l'homme. Il existe une tendance mondiale à une demande accrue pour le blé tant dans les pays industrialisés que dans les pays en voie de développement (kamoun, 2010).

En Algérie, tout comme en Afrique du Nord, la culture représente la principale spéculation et draine plusieurs activités de transformation; en semoulerie, en boulangerie et en industrie alimentaire. Elle constitue également la base de l'alimentation et occupe une place privilégiée dans les habitudes alimentaires des populations aussi bien dans les milieux ruraux qu'urbains (Boulal *et al.*, 2007).

Le blé est la cible de nombreux pathogènes à l'origine de diverses maladies. Parmi celles-ci, la fusariose est caractérisée par des symptômes survenant sur différentes parties de la plante comme les racines, les épis et la tige. Les responsables sont des champignons appartenant au genre *Fusarium*.

Le centre international pour l'amélioration du maïs et du blé ("International Maize and Wheat Improvement Center, CIMMYT") a identifié la fusariose comme un facteur majeur limitant la production de blé dans de nombreuses parties du monde (Goswami et Kistler, 2004).

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 (Pirgozliev *et al.*, 2003).

En outre, parmi les espèces du genre *Fusarium*, certaines ont la capacité à produire des mycotoxines, métabolites secondaires dont la toxicité pour l'homme, les animaux et les plantes est avérée. Ces dernières sont regroupées sous le terme de fusariotoxines: la zéaralénone, les fumonisines, les trichothécènes (jeunot, 2005).

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).

La réglementation européenne s'est précisée en 2005 en matière de fusariotoxines (mycotoxines de *Fusarium*) sur les céréales et leurs produits dérivés (règlement n°856/2005 du 6 Juin 2005, modification votée par le CPCASA le 20/07/07, en vigueur le 01/10/07) et des teneurs maximales autorisées ont été fixées. Par conséquent, la biosynthèse des fusariotoxines dans les céréales doit impérativement être réduite au champ ( Boutigny, 2007).

Au champ, de nombreux facteurs sont susceptibles d'influencer les niveaux de contamination des grains en fusariotoxines, notamment les facteurs climatiques, les pratiques culturales, la présence d'inoculum et sa dispersion et le substrat (facteur variétal). L'utilisation de variétés résistantes à la fusariose pourrait constituer une stratégie de lutte contre l'accumulation de mycotoxines dans les grains. Cependant, chez le blé dur, il n'existe pas de variétés résistantes à la fusariose. La résistance chez certaines variétés pourrait résulter de processus naturels. Ces processus pourraient être d'une part la transformation métabolique des mycotoxines aboutissant à leur "détoxification" ou d'autre part l'inhibition de la biosynthèse des mycotoxines par des composés endogènes des blés. La glycosylation, qui permet une détoxification des mycotoxines, est un processus qui existe naturellement chez certaines variétés de blé ( Boutigny, 2007).

L'objectif de notre travail est la recherche d'espèce *Fusarium* présent au niveau des grains de blé. De plus l'étude de la pathogénie des deux isolats de *Fusarium* et d'étudier la sensibilité de dix variétés de blé dur et tendre à la fusariose de l'épi en utilisant les isolats de *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*. En effet, le travail s'articule autour de trois principaux volés :

1. Isolement et identification des isolats obtenus à partir des graines de blé dur et blé tendre;
2. Etude de comportement variétal de dix variétés de blé dur et blé tendre aux deux espèces de *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* par la méthode d'inoculation artificielle au stade floraison;
3. Etude de la pathogénicité et l'agressivité de deux isolats : *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*.

# Partie synthèse bibliographique

## 1. HISTORIQUE ET REPARTITION

Le blé est une céréale originaire du croissant fertile. Cette ressource a d'abord été utilisée par l'homme, il y a plus de 10000 ans, grâce à la cueillette dans les espaces sauvages. Entre -8900 et -7500, la culture du blé a été instituée passant d'un usage sauvage de la plante à un usage domestique. Cette culture s'est étendue à l'Asie centrale, à l'Europe du sud et à l'Egypte entre -7500 et -6200 (Feldman and Millet, 2001).

Le blé est aujourd'hui une céréale primordiale à travers le monde, aussi bien sur le plan économique que sur celui de l'alimentation. On parle souvent du blé tendre (*Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*) et du blé dur (*Triticum turgidum* L. ssp. *Durum*) (Leplat, 2005). La production de blé est facile car il s'adapte à des sols et des climats variés. L'existence de variétés adaptées à différents milieux et résistantes à de nombreuses maladies permet de cultiver le blé dans de nombreux pays.

## 2. IMPORTANCE ECONOMIQUE DE LA CULTURE

L'histoire de la civilisation humaine et celle de la culture du blé ont évolué conjointement. Le blé constitue la première ressource en alimentation humaine. L'importance des surfaces consacrées au blé sur la planète dépasse celle de toutes les autres cultures (BONJEAN et PICARD, 1990).

Parmi les pays producteurs de blé dans le monde, la Chine, les Etats Unis, la France, l'Inde, la Turquie, le Canada et l'Ukraine (CLEMENT-GRANDCOURT et PRAT., 1970; PASTRE et ROA, 1993).

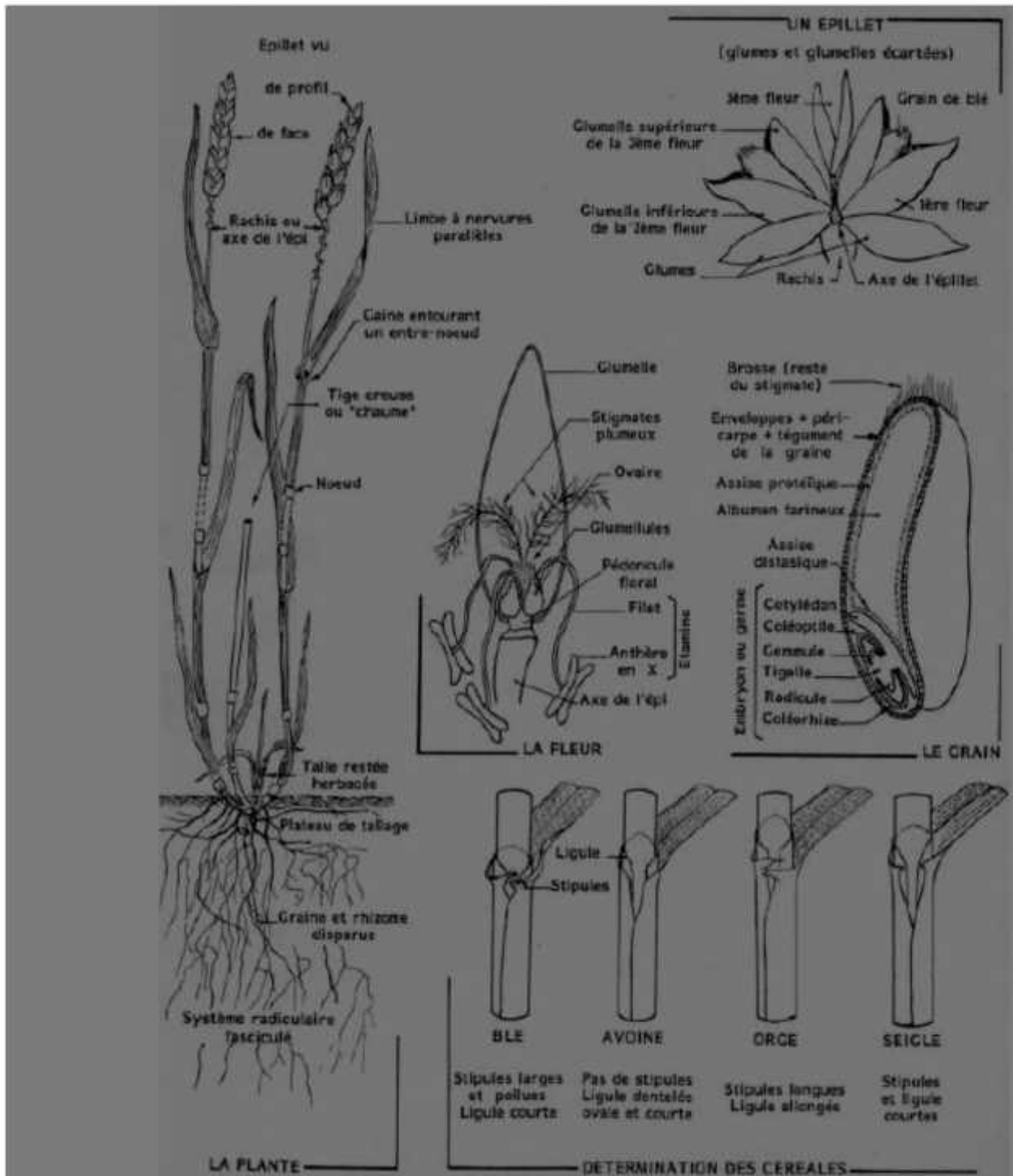
Le blé est la deuxième plante cultivée au monde en termes de quantités (653 millions de tonnes en 2010), derrière le maïs (826 millions de tonnes), et la première en termes d'échanges commerciaux (125 millions de tonnes échangées en 2010 ; (FAO, 2011).

## 3. MORPHOLOGIE DU BLE

Les blés sont des plantes à feuilles alternées, formées d'une tige (chaume) portant un épi constitué de deux rangées d'épillets sessiles et aplatis (figure 1). A l'extrémité des chaumes, les épillets sont constitués par des fleurs nombreuses petites et peu visibles. Les fleurs sont dépourvues de pétales et sépales entourées de deux glumelles. Chaque fleur contient trois étamines et un ovaire surmonté de deux styles plumeux. La fleur du blé est dite cléistogame, c'est-à-dire que, le plus souvent, le pollen est libéré avant que les étamines ne sortent de la

fleur. Il s'attache alors aux stigmates, où peut se produire la fécondation. L'autofécondation constitue donc le mode de reproduction le plus fréquent chez les blés. Après fécondation, l'ovaire donnera le grain de blé. Dans le cas du blé, le grain est à la fois le fruit et la graine. Les enveloppes du fruit sont soudées à celles de la graine, on appelle ce type de fruit un caryopse.

Le grain est principalement constitué d'amidon (environ 70%), de protéines (10 à 15%) et de pentosanes (8 à 10%) et contient aussi en faibles quantités des lipides, de la cellulose, des sucres libres, des minéraux et des vitamines (Feillet, 2000). Les sons de blé sont constitués principalement de polysaccharides, incluant des arabinoxylanes, des xyloglucanes et de la cellulose, mais contiennent aussi des quantités significatives d'acides phénoliques, de lignine et de protéines (Parker *et al.*, 2005).



Source : Soltner, 1998.

Figure 1 : morphologie du plant, de l'épi, de l'épillet et de la fleur du blé.

## PROBLEMES PHYTOSANITAIRES DU BLE

### 1. MALADIES RENCONTREES CHEZ LE BLE

Au cours de sa croissance, le blé peut-être soumis à un certain nombre d'agressions de natures diverses. Il peut subir la pression de plantes adventices telle que les graminées, comme le vulpin (*Alopecurus*), le ray-grass (*Lolium*), et le paturin (*Poa*), ou des dicotylédones comme le coquelicot (*Papaver rhoeas* L.), la stellaire (*Stellaria*). Il peut être aussi victime d'attaques dues à des ravageurs, comme les limaces, les nématodes et les cécidomyies (*Sitodisplosis mosellana* Gehin) (Goswami and Kistler, 2004). Les zabres sont des insectes dangereux à tous les stades de leur développement ; la larve remonte de la terre pendant la nuit et dévore les parties inférieures et tendres du pied de blé ; les adultes s'attaquent aux grains et peuvent causer de grandes pertes de production. les insectes causent des blessures qui favorisent les infections fongiques (Sutton, 1982).

De nombreuses maladies fongiques peuvent attaquer les différents organes du blé, à différents stades de son développement. Les symptômes dûs à ces maladies peuvent apparaître sur les tiges de blé, comme dans les cas du piétin-verse (l'agent causal : *Pseudocercospora herpotrichoides*), du piétin-échaudage (agent causal : *Gaeumannomyces graminis*) et du rhizoctone (agent causal : *Rhizoctonia cerealis*) et ceux qu'ils peuvent apparaître sur les feuilles, comme pour les rouilles brun ou jaune (agent causal : *Puccinia*), la septoriose des feuilles (agent causal : *Septoria tritici*) et l'helminthosporiose (agent causal : *Helminthosporium tritici*). Certains maladies affectent l'épi comme dans le cas du charbon couvert (agent causal : *Tilletia laevis*), du charbon nu (agent causal : *Ustilago nuda*.) et de la carie (agent causal : *Tilletia caries*) ou encore sur plusieurs parties de de la plante, comme dans le cas de la septoriose de l'épi, de l'oïdium et de la fusariose qui attaque à la fois les semences, les tiges et les épis de blé (Goswami and Kistler, 2004).

### 2. LA FUSARIOSE DE BLE

#### 2.1. Historique de la fusariose

La fusariose a été décrite pour la première fois en 1884 en Angleterre. Depuis, la fusariose a progressé à travers le monde et de récentes épidémies ont été rapportées en Asie, au Canada, en Europe et en Amérique. C'est d'Amérique du Nord, et en particulier des Etats-Unis, que sont partis les premiers efforts concernant l'étude de la fusariose. La fusariose peut infester de

nombreuses plantes ayant un fort intérêt économique, ce qui peut entraîner de lourdes conséquences financières (Goswami *et* Kistler, 2004).

## **2.2. Symptomatologie**

La fusariose des céréales se manifeste à différentes étapes de la croissance des végétaux. Comme la figure le présente, l'infection peut se manifester à la levée, à la montaison, sur feuilles dès la montaison, sur le col de l'épi, sur l'épi et sur les grains.



Source :BASF,2012

Figure 2: symptômes de la fusariose dans un champ de blé.

### **2.2.1. A la levée**

Les pertes à la levée sont importantes avec des semences d'épis fusariés. Les *Fusarium* (*F. roseum* mais aussi *Microdochium nivale*) sont présents dans tout le grain (téguments, réserves et embryon). Des traitements de semences spécifiques sont indispensables.

### **2.2.2. Sur tiges à la montaison**

Au début de la montaison, les attaques de *Fusarium* sur tige (figure 3) sont souvent superficielles. A la fin de la montaison, le *Fusarium roseum* peut s'installer sur la couronne racinaire (pourriture brune) notamment après des alternances sécheresse-humidité. Ces symptômes entraînent de l'échaudage en fin de cycle. En période hivernale humide, c'est *Microdochium nivale* qui s'installe à la base du pied et sur les gaines.



Source : BASF,2012, INRA,2009

Figure 3: Symptômes de la fusariose sur racine, et sur tige de blé.

### 2.2.3. Sur le col de l'épi

Un brunissement du col de l'épi peut apparaître dès l'épiaison, avec parfois progression des symptômes sur le rachis en cours de remplissage des grains.

### 2.2.4. Sur l'épi

Les symptômes de la fusariose de l'épi sont décelables peu après la floraison. Les épillets atteints (glumes et fleurons) semblent avoir mûri (blanchi) prématurément par comparaison aux épis sains qui sont vert (Maaro, 2009)



Source : INRA, 2011.

Figure 4 : La progression de la fusariose dans les épis de blé

### 2.2.5. Sur grains

Les grains fusariés sont blancs, roses ou en partie noirâtres, d'aspect duveteux, avec une amande souvent dégradée. En contamination par *M. nivale*, ces grains n'ont pas de coloration

rose. Par contre, une augmentation de la moucheture peut être constatée. Les pertes de rendement sont directement liées à la proportion de grains fusariés. Chez le blé, les grains fusariés sont petits et ridés. Ils ont souvent un aspect crayeux.ref



Source : BASF, 2012.

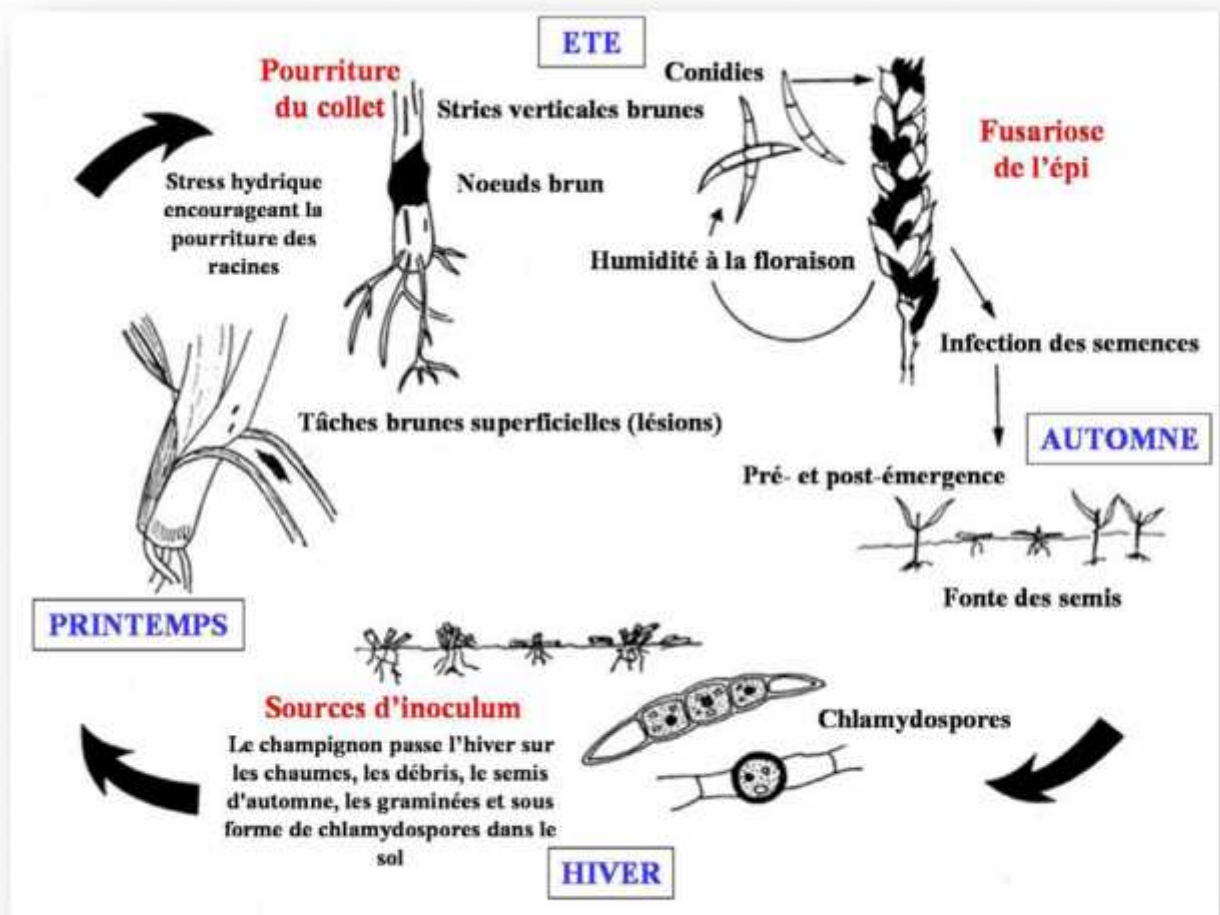
Figure 5 : Symptômes de la fusariose sur grains.

### **2.3 Cycle infectieux de la maladie**

L'inoculum primaire pour l'initiation de la maladie provient principalement de débris de plantes infectées. Il peut également provenir d'adventices ou de semences infectées (Champeil *et al.*, 2004, Parry *et al.*, 1995). Le champignon en conditions défavorables se comporte en organisme saprophyte sur des résidus de cultures et survit sous forme de mycélium ou de chlamydospores (Sutton, 1982). Au printemps, lorsque les conditions deviennent favorables, le champignon se développe et permet la formation de macroconidies mais également de périthèces et d'ascospores (Markell and Francl, 2003, Trail, 2009). Les ascospores sont éjectés des périthèces puis dispersés par le vent, la pluie ou les insectes jusqu'aux plantes hôtes et peuvent atteindre les épis en floraison. Le stade de développement de la plante influence également le degré de contamination, l'anthèse correspondant à une période de plus grande sensibilité du blé à la fusariose de l'épi (Sutton, 1982) Chez le blé, le dépôt des spores sur les épis en fleur initie le processus d'infection (Parry *et al.*, 1995, Sutton, 1982, Trail *et al.*, 2002). Ces spores germent dans la partie médiane de l'épi, là où l'humidité est la plus importante (Champeil *et al.*, 2004, Walter *et al.*, 2009).

Dans un premier temps, le champignon se développe à l'extérieur des glumes, sans colonisation vasculaire ou pénètre les enveloppes *via* les stomates (Brown *et al.*, 2010, Champeil *et al.*, 2004). Les hyphes intercellulaires deviennent ensuite abondants puis se

développent le long de l'épicarpe entre le lemme et la paléole. Les hyphes atteignent ensuite l'endosperme puis le rachis et se propagent dans la tige pour toucher les épillets adjacents (Brown *et al.*, 2010, Jansen *et al.*, 2005).



Source : Parry, 1990.

Figure 6 : Cycle biologique de *Fusarium* sur céréales.

## 2.4. Importance économique

La fusariose est une maladie des céréales à petits grains qui sévit à travers le monde, elle est causée par plus de 17 espèces de champignons responsables de développement des fusarioses. (Parry *et al.*, 1955).

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 (Pirgozliev *et al.*, 2003). Les grains de blé fusariés sont petits, légers, ridés et parfois couverts d'un duvet blanc ou rose (Champeil *et al.*, 2004). Après inoculation d'épis de blé par *F. culmorum*, Häni (1981) a observé des pertes de rendement de 60%. Au cours d'études menées en champs avec du blé infecté artificiellement, Arseniuk *et al.* (1993) ont observé que le poids de 1000 grains, le nombre de grains par épi et le poids moyen des épis étaient réduits de 15%, 18% et 22% respectivement. La fusariose affecte également les qualités nutritives et technologiques des grains, ce qui a des conséquences néfastes lors des processus de transformations industrielles des grains. Il a été mis en évidence que l'invasion du grain de blé par *F. graminearum* entraînait la dégradation des grains d'amidon, des protéines de réserve et des parois cellulaires (Bechtel *et al.*, 1985). Dexter *et al.* (1997) ont observé que les farines issues d'échantillons de blé contenant des grains contaminés par *Fusarium* présentaient des qualités de panification (cuisson) non satisfaisantes. La fusariose peut également diminuer la qualité des futures semences. En effet, semer des graines de céréales infectées par *Fusarium* peut entraîner des symptômes de fontes de semis et des symptômes de fusariose de la tige chez les plantules, ainsi qu'une diminution du nombre d'épi et du poids des grains (Pirgozliev *et al.*, 2003).

## 2.5. L'agent causal de la fusariose de blé

L'agent principal responsable de la fusariose du blé est *Fusarium graminearum* Schwabe, mais environ une vingtaine d'espèces appartenant au genre *Fusarium* et une appartenant au genre *Microdochium* peuvent être impliquées dans le complexe provoquant cette maladie (Arseniuk *et al.*, 1999). Les principales espèces responsables de la maladie sont : *F. graminearum*, sont *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. poae* et *M. nivale* (Bottalico and Perrone, 2002; Ioos *et al.*, 2004; Parry *et al.*, 1995).

Dans l'espèce *F. graminearum*, deux groupes se distinguent : les membres du groupe 1 et les membres du groupe 2 ; classées en deux espèces différentes *F. pseudograminearum* et *F. graminearum* respectivement (Aoki et O'Donnell, 1999). Notons aussi que l'espèce *M. nivale* possède deux sous-espèces *M. nivale* var. *nivale* et *M. nivale* var. *majus* (Arseniuk *et al.*, 1999; De Hoog *et al.*, 2000 ; Simpson *et al.*, 2001; Champeil *et al.*, 2004).

## 2.6. Identification des agents responsables de la fusariose de l'épi

### 2.6.1. Identification morphologique

Une étude réalisée par Burgess et al. (1994) sur les espèces de *Fusarium* a montré que la morphologie de la colonie et sa couleur ne peuvent être utiles qu'en travaillant dans des conditions standards. L'identification morphologique des espèces du genre *Fusarium* nécessite la culture des isolats sur différents milieux de cultures, les plus utilisées sont les milieux PDA, CLA, et SNA. Sur le milieu PDA, les caractéristiques macroscopiques peuvent être observées, alors qu'en culture sur CLA et SNA, les caractéristiques microscopiques peuvent être déterminées, telles que l'observation des microconidies, des sporodochies, et des conidiophores (Burgess *et al.*, 1991).

### 2.6.2. Identification moléculaire

Compte tenu de la difficulté de l'identification morphologique, l'identification moléculaire est de plus en plus utilisée. Elle est généralement basée sur l'amplification, par PCR (Polymerase chain Reaction), de régions spécifiques (Hsu *et al.*, 2003). Cette technique se caractérise par sa simplicité, sa rapidité et son extrême sensibilité avec le potentiel théorique de détecter une seule molécule cible (Edwards *et al.*, 2002). Plusieurs amorces spécifiques sont disponibles pour l'identification exacte des espèces de *Fusarium* et *Microdochium* impliquées dans la fusariose de l'épi. Ainsi une ou plusieurs couples d'amorces spécifiques ont été synthétisées pour les espèces *F. graminearum*, *F. pseudograminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *M. nivale*, et d'autres espèces de *Fusarium*.

## 3. LES MYCOTOXINES PRODUITES PAR L'ESPECE *FUSARIUM*

Le terme mycotoxine vient du grec «mycos» qui signifie champignon et du latin «toxicum» qui signifie poison (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005). C'est à partir de 1960, qu'il a été démontré que les moisissures pouvaient produire des toxines significatives dites mycotoxines. Les mycotoxines sont des métabolites secondaires, de faibles poids moléculaire, sécrétées par des moisissures appartenant principalement aux genres *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Alternaria* (Perkowski *et al.*, 2004; Prandini *et al.*, 2009).

Les moisissures du genre *Fusarium* produisent plusieurs types de mycotoxines regroupées sous le terme de fusariotoxines deux types Les toxines produites par le *Fusarium.culmorum*

et *Fusarium.graminearum* sont : la zéaralénone ( ZEA) et les trichothécènes ( comme le DON )

### **3.1. Les trichothécènes**

Les trichothécènes (TCT) constituent une famille de métabolites secondaires caractérisées par une structure sesquiterpènes qui inhibe la synthèse de protéines (Kimura *et al.*, 2006).

Les TCT ont une double liaison en position C-9,10 et une fonction époxyde en position C-12,13 qui sont responsables de leur toxicité (Veronica *et al.*, 2009). Ils sont produits principalement par les champignons tels que *Fusarium*, *Myrothecium*, et *Trichothecium* (Miller et Trenholm, 1994).

*Fusarium sporotrichioides*, *F. poae (tricinctum)* et *F. equiseti* sont les principales espèces qui produisent les trichothécènes du groupe A ; les principaux représentants de ce groupe sont la toxine T-2 (T-2) et la toxine HT-2 (HT-2) ; la toxine T-2 est considérée la molécule la plus toxique (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

Les trichothécènes du groupe B sont produites, principalement, par *Fusarium graminearum*, *F. nivale* et *F. culmorum*. Les principales mycotoxine du groupe B sont le nivalénol (NIV) et le déoxynivalénol (DON). Le déoxynivalénol (encore appelé) vomitoxine est reconnu comme la mycotoxine la plus répandue (DiMello *et al.*, 1997).

Les trichothécène de groupes A et B peuvent être produites aussi par d'autres espèces de *Fusarium*: *F. acuminatum* et *F. sambuccinum* produisent des trichothécènes du groupe A et *F. croockwellense* des trichothécènes du groupe B.

Le groupe C réuni des trichothécènes produites par les espèces de genres *Trichoderma* et *Trichothecium*. Les trichothécènes du groupe D sont produites par les espèces de genres *Myrothecium* et *Stachybotrys*; les trichothécènes de ce groupe, les plus connues, sont la roridine, la verrucarine et les satratoxines (DiMello *et al.*, 1997; Placinta *et al.*, 1999).

### **3.2. Toxicité des trichothécènes**

Historiquement, les trichothécènes ont été reconnus responsables d'intoxications humaines, et en particulier de l'aleucie toxique alimentaire, survenue en Russie dans les années 1942-1947 (Joffe, 1983). Par la suite, d'autres cas d'intoxications alimentaires humaines associées

aux trichothécènes ont été rapportés en Chine, en Inde et au Japon (Eriksen, 2003). Une étude réalisée par Hsia *et al.* (1988) a montré qu'il y a une corrélation positive entre le niveau des trichothécènes et le développement du cancer de l'oesophage chez l'homme. Chez les animaux, les trichothécènes provoquent des retards de croissance, des troubles de la fertilité, des troubles de l'immunité, une perte d'appétence et des troubles gastro-intestinaux (vomissements) (Rocha *et al.*, 2005; Veronica *et al.*, 2009).

### **3.3. Zéaralénone**

La zéaralénone (ZEA) ou toxine F-2 est produite par les espèces appartenant au genre *Fusarium*, en particulier *F. graminearum*, *F. semitectum*, *F. equiseti*, *F. crookwellense* et *F. culmorum*. Elle peut être également synthétisée par *F. tricinctum*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichoides* et *F. laterium*. La production de cette mycotoxine est favorisée lorsque les températures sont situées entre 10 et 15°C.

### **3.4. Toxicité de Zéaralénone**

Depuis son isolement en 1962, on a observé des effets toxiques de la zéaralénone dans plusieurs espèces dont les porcs (Swamy *et al.*, 2002a; Greene *et al.*, 1990), les vaches (Diekman et Green, 1992), les agneaux (Hufstedler *et al.*, 1996), les poulets (Swamy *et al.*, 2002b ; Chi *et al.* 1980), les dindes (Allen *et al.*, 1983), le cheval (Minervini *et al.*, 2006), les rongeurs (Yang *et al.*, 2006 ; Perez-Martinez *et al.*, 1997). Cette mycotoxine induit un hyperoestrogénisme chez les animaux (Rainey *et al.*, 1991).

## **4. MOYEN DE LUTTE CONTRE LA FUSARIOSE DE L'EPI**

Différents moyens de lutte existent, cependant la prévention reste la meilleure arme contre les épidémies de fusariose en champ.

a. Pratiques culturales La production de spores infectieuses à partir des déchets végétaux présents dans les champs est la première étape du cycle infectieux de *F. graminearum*. Il convient donc de ne pas réutiliser les déchets végétaux pour fumer les cultures. Au niveau du semis, il est recommandé de semer les céréales dans un sol bien travaillé. Idéalement le sol doit favoriser une germination et une levée rapide. De cette manière la jeune plante peut être plus robuste pour faire face à une infection. Une pratique d'alternance de culture apporte des effets bénéfiques compte tenu de la préservation

nécessaire des ressources du sol. De plus, elle induit une variation naturelle de la flore favorable à la résistance aux pathogènes. De plus la culture de variétés résistantes est à privilégier (Hatsch, 2004).

b. Utilisation des fongicides

De nombreux fongicides sont disponibles pour lutter contre les champignons. Pour empêcher la fonte des semis des céréales, les semenciers enrobent, lors du conditionnement, les graines de fongicide (captane ou thirame). La graine bénéficie alors d'une protection lors de la germination ainsi que lors du début de la croissance de la plantule (Didier, 2004).

c. Moyens de lutte biologique

De nombreux agents de bio-contrôle sont actuellement disponibles dans le commerce. Le principe repose sur l'hyper-parasitisme. Certains champignons sont des parasites d'autres champignons. C'est le cas pour de nombreuses espèces du genre *Trichoderma*. *T. harzianum* a été décrit comme capable de contrôler les pathologies induites par *F. oxysporum* sur le bananier (Thangavelu *et al.*, 2004).

d. 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. Suite à leurs essais, Schroeder et Christensen (1963) ont distingué la résistance à l'infection primaire (type I) et la résistance à la propagation de l'agent pathogène dans les tissus (type II). Ensuite, deux autres types de résistances basées sur la dégradation des mycotoxines (type III) (Miller et Arnison, 1986) et sur la tolérance des concentrations élevées de mycotoxines (type IV) (Wang et Miller, 1988) ont été proposés.

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).

## Partie Matériels et méthodes

## 1. MATERIEL

### 1.1. Matériel végétal

Les échantillons de la semence de blé dur et tendre utilisé dans cette études sont au total de 10 variétés , ont été collectés de divers structures spécialisées comme ITGC Alger , ITGC Sétif et L'OAIC Laghouat . Les échantillons ont été par la suite conservés dans des sacs en papier à 4 °C jusqu'à utilisation. La date et le site de collecte ont été indiqués dans le tableau 01.

Le tableau 01 : liste des variétés de blé analysée.

Code expérimentale	Espèces	Nom de variété	Région géographique	Année de récolte
BT1	Blé tendre	ARZ	ITGC Alger	2012
BT2	Blé tendre	HD12220	ITGC Alger	2012
BD3	Blé dur	Boussalem	ITGC Sétif	2013
BD4	Blé dur	Waha	ITGC Sétif	2013
BD5	Blé dur	GTA dur	ITGC Sétif	2013
BD6	Blé dur	WAHABI	ITGC Sétif	2013
BD7	Blé dur	CIRTA	Biskra	2013
BD8	Blé dur	Vitron	ITGC Sétif	2013
BD9	Blé dur	Figus	ITGC Sétif	2013
BD10	Blé dur	BENI-MESTINA	ITGC Sétif	2013

### 1.2. Matériels fongique

Au cours de cette étude nous avons utilisé deux isolats de *Fusarium* qui ont été isolés à partir de blé présentant les symptômes de la fusariose de l'épi et identifiés au laboratoire de mycologie du département d'Agronomie. Et d'autres isolats de *Fusarium* ont été identifiés au cours de ce travail de mémoire.

## 2. METHODES

### 2.1. Echantillonnage

Le prélèvement des grains de céréales a été réalisé sur dix lots d'une façon à prélever 100 grains de chaque lot. L'échantillonnage a été fait d'une façon aléatoire .

### 2.2. Désinfection des semences

Les manipulations décrites sont à réaliser de préférence en atmosphère stérile (hotte à flux laminaire, Poste de Sécurité Microbiologique, etc.). Après leur désinfection de surface : Au minimum, 100 grains seront analysés pour la détection et l'identification des différentes espèces de *Fusarium* spp.

L'objectif de la stérilisation de surface des grains est d'éliminer toutes les pollutions externes d'origines fongique ou bactérienne. Pour l'analyse de céréales à petits grains (LNPV, 2002).

Les grains sont placés dans une passoire et suivent le cycle de désinfection suivant :

- 10 min dans un cristalliseur contenant une solution d'hypochlorite de Sodium à 13°C diluée à 2% ;
- 1min dans un cristalliseur contenant de l'eau stérile (opération effectuée 3 fois de suite).
- Les grains sont ensuite égouttés et placés à sécher sur du papier filtre stérile (compter 15 min minimum sous la hotte à flux laminaire).

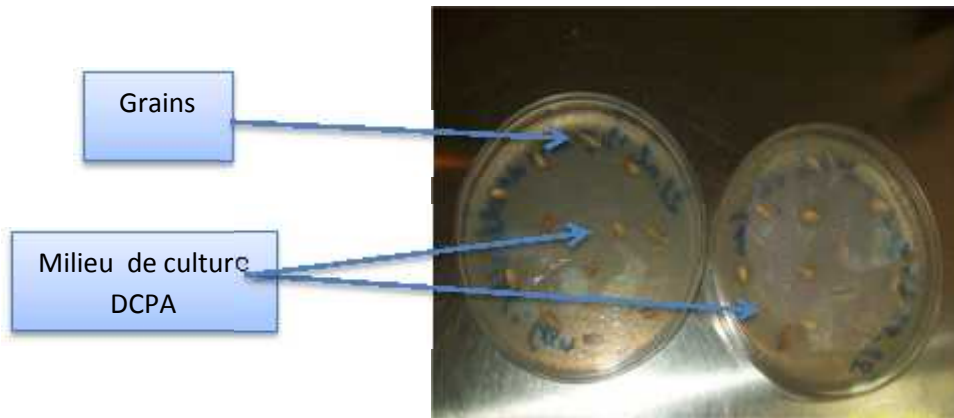
**Note :** Durant chacune des trois étapes, la passoire est agitée vigoureusement afin d'assurer ainsi une désinfection et un rinçage plus efficace.

### 2.3. Isolement

#### A. milieu DCPA

Cette méthode consiste à déposer des graines, préalablement désinfectées en surface et séchées, sur milieu gélosé. Ceci permet de déterminer la mycoflore interne de la graine, (Jeunot, 2005).

Après désinfection les grains sont placés à l'aide d'une pince stérile dans des boîtes de pétri de 90 mm coulées avec le milieu DCPA (voir annexe ) à raison de dix grains par boîte, (LNPV, 2002). Les boîtes de pétris DCPA sont incubées 10-12 jours dans une étuve à une température de 25°C.



Source : original, 2014

Figure 7 : Illustration de la méthode Geve.

**Note :** l'incubation des boîtes de DCPA peut aussi être effectuée sans enceinte climatique en les plaçant dans des boîtes de plexiglas transparentes dont le couvercle reste légèrement ouvert. Ces boîtes d'incubations sont placées sur les paillasses ou sur des étagères du laboratoire à une température de 22°C±3°C et permettent une alternance éclairage obscurité (garantissant au moins 6 heures d'obscurité). L'alternance de la lumière naturelle du jour est parfaitement suffisante.

Après 10-12 jours d'incubation, les *Fusarium* spp. 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. De plus, il a été montré que ce milieu était significativement plus efficace que le milieu PDA pour la détection des *Fusarium* spp. (LNPV, 2002).

### **3. METHODES DE PURIFICATION**

#### **3.1. Repiquage successif**

Chaque colonie de *Fusarium* se développant sur les graines a été isolée et placée dans une « sous-culture » sur milieu agar de dextrose de pomme de terre (PDA).

Un repiquage successifs des isolats sur milieu PDA a pour but d'obtention d'isolat pure, est réalisé pour l'évaluation des caractères morphologiques des colonies isolés, (Nirenberg, 1981).

#### **3.2. La culture monospore par scarification**

Cette technique a pour l'objectif d'isoler une seul 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 coté de la boite en faisant des allées et retour « scarification ». Après avoir flambé l'anse, nous avons prélevé à nouveau; scarifier un autre côté de la boite.

Après 24h d'incubation, les spores commencent à émettre des tubes germinatifs, un prélèvement monosporal est alors effectué en boite d pétri contenant du PDA. Après 7 à 10 jours d'incubation, les colonies obtenues sont pures et repiquées dans des tubes à essai pour conservation.

### **4. IDENTIFICATION D'ISOLAT FONGIQUE**

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).

#### **4.1. Identification macroscopique**

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

#### 4.2. Identification 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.

#### 5. METHODES DE CONSERVATION DES ISOLATS

Les champignons, une fois purifiés, sont conservés en tubes sur des milieu 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).

#### 6. ETUDE DE PATHOGENICITE DES ISOLATS DE *FUSARIUM GRAMINEARUM* ET *FUSARIUM CULMORUM* ET LA SENSIBILITE DES VARIETES DE BLE A LA FUSAROSE DE L'EPI

Dans le but d'étudier la pathogénie des deux espèces de *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum* et le comportement variétal de blé dur et tendre vis-à-vis de ses deux espèces qui sont responsables de la fusariose de l'épi, une inoculation artificielle a été réalisée sous serre.

Le dispositif expérimental utilisé pour cet essai est celui d'un bloc aléatoire complet à deux facteur : le facteur (a) représente les deux isolas de *Fusarium gamineraum* ; *Fusarium culmrum*, le facteur (b) représente les dix variétés de blé, Pour cette expérimentation, Cela correspond à 60 traitements.

Les semences ont été placées à une profondeur de 2 cm, dans des sacs noirs en plastiques pour destinée la production des plants en pépinières (15 cm de diamètre) remplis avec un mélange stérile de sable, tourbe et de terreau (1 :1 :1 v/v/v), à raison de 5 semences par pot.

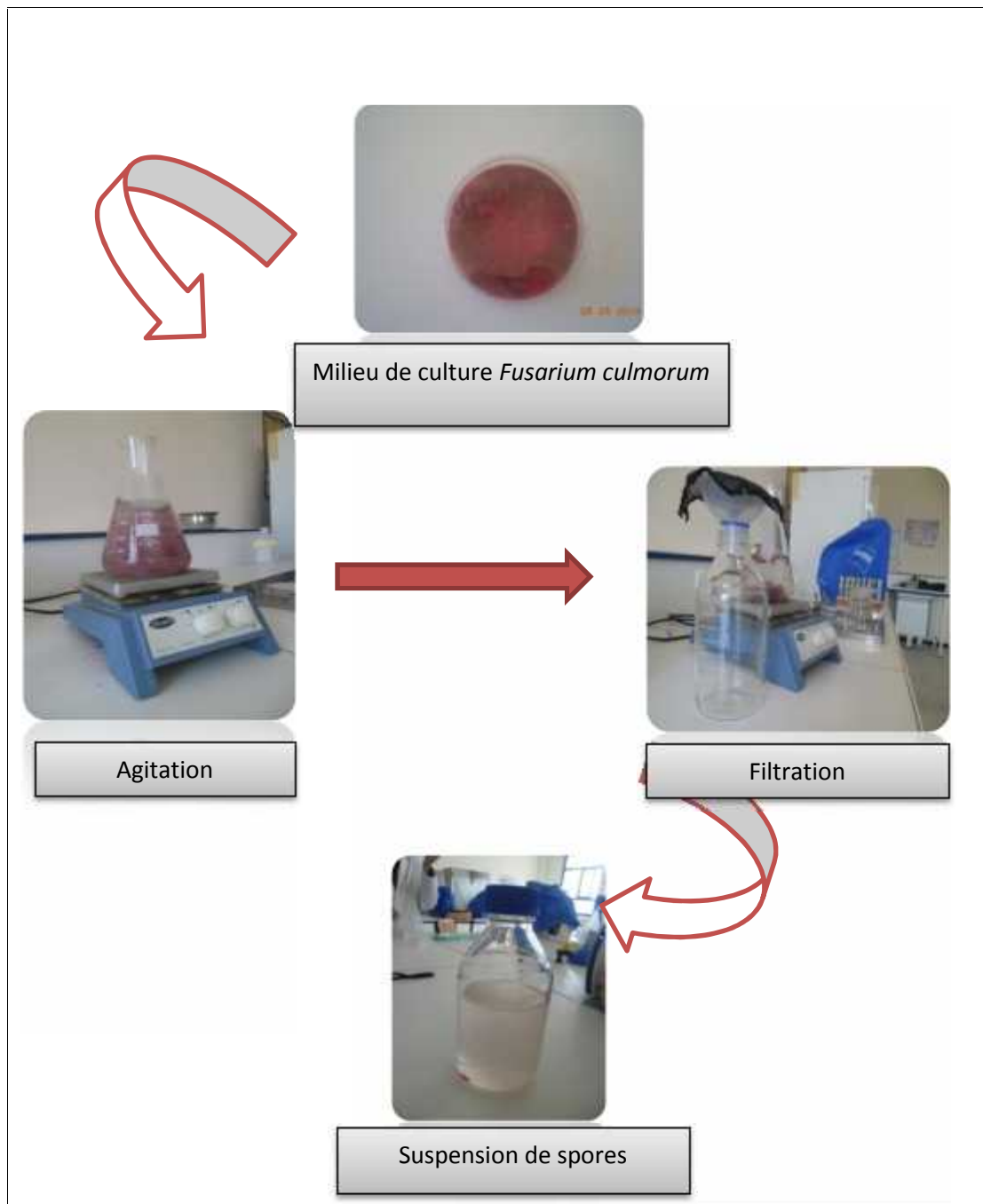
Les sacs sont déposés selon le bloc aléatoire complet, dans une serre a une température de 25°C, le blé étant une plante de jours long. L'irrigation est faite régulièrement selon les besoins des plantes

Les essais ont été réalisés sur dix variétés de blé dur et tendre qui ont été choisis selon leurs niveaux de sensibilité à la fusariose.

### **6.1. Préparation de l'inoculum**

Pour la préparation de l'inoculum, chacun des deux isolats *F. culmorum* et *F.graminearum* portant le code BT11, R214 ont été cultivé sur des boîtes de pétries contenant le milieu PDA. Après l'achèvement de 9 jours d'incubation à 25°C, 10 ml d'eau distillée stérile a été versés dans chaque boîte de culture de *F. culmorum* et *F.graminearum*. Les spores ont été récupérées par un raclage des surfaces de culture. La suspension résultante contenant des macroconidies a été filtrée sur de la mousseline pour séparer les conidies des fragments mycéliens. La solution sporale ainsi obtenue, a été ajustée avec de l'eau distillée de façon à avoir une concentration de  $10^6$  spores/ml a l'aide d'une cellule de thomas .

Les deux suspensions de spores de *F. culmorum* et *F.graminearum* ainsi préparées ont ensuite été stockées à 4°C quelques heures jusqu'à l'inoculation.



Source : original, 2014.

Figure 8 : Les étapes de préparation de l'inoculum.

## 6.2. L'inoculation

L'inoculation des épis est réalisée au stade floraison, ce dernier est atteint quand 50% des étamines sont sorties. L'inoculum préparé à partir des cultures âgées de 9 jours la concentration de la suspension de spores est ajustée à  $10^6$  spores/ml. Après humidification des épis, l'inoculation est réalisée à l'aide d'un pulvérisateur (figure9). On recouvre la partie aérienne avec un sac en plastique pour maintenir une certaine humidité relative 100% pendant 48 h, temps nécessaire à la germination des spores.



Source : original, 2014.

Figure 9 : étape de pulvérisation .

### 6.3. Notation des symptômes

La notation des symptômes visibles sur l'épi est sans doute le critère de sélection le plus simple. Le système de notation utilisé est basé sur une échelle de 1 à 9. L'échelle de Michel (2001) utilisée dans l'institut Agroscope (Mascher et *al.*, 2005), suit une progression logarithmique ce qui facilite la saisie des notes au champ et rend la notation plus fiable.



Source : INRA, 2009.

Figure10 : Echelle d'évaluation de l'INRA.

La sévérité de la maladie est évaluée selon une échelle de notation globale allant de 0 à 9, sachant que 9 correspond à une sensibilité maximale et 0 à l'absence totale des symptômes (Tableau 02).

Tableau 02 : Echelle d'évaluation utilisée pour l'estimation de la sévérité de l'infection par *Fusarium* sur épi.

Note	Part de l'épi infectée	Description des symptômes
1	0.5%	Sans symptômes
2	2.5%	Traces de symptôme, un épillet sur 10 épis montre des symptômes.
3	10%	10% des épillets de chaque épi sont infectés.
4	25%	Un quart des épillets épi sont infectés.
5	50%	La moitié des épillets d'un épi sont infectés.
6	75%	Trois quarts des épillets d'un épi sont infectés.
7	90%	10% des épillets d'un épi ne sont pas infectés.
8	97.5%	Peu d'épillets d'un épi ne sont pas infectés.
9	100%	Tous les épis sont morts.

Source : Mascher et *al.*,2005.

Comme le diverdisement de l'épi était très précoce et s'est généralisé rapidement pour tous les plants nous avons opté pour la notation des symptômes au niveau du collet, les plantes inoculées ainsi que les plantes témoins ont été soigneusement arrachées et les racines ont été lavées sous le robinet. Ensuite, les symptômes caractérisés par un brunissement au niveau du collet ont été évalués selon une échelle d'agressivité (indice de la sévérité : IS) qui se base sur la longueur de la lésion par rapport à la longueur de la plantule (Fernandez et Chen, 2005). Cette échelle comprend les niveaux suivants :

- 00 : Plante saine.
- 01 : Moins que 25% du collet est attaqué.
- 02 : De 26% à 50% du collet est attaqué.
- 03 : De 51% à 75% du collet est attaqué.
- 04 : Plus que 76% du collet est attaqué.
- 05 : Plante morte.



## Partie Résultats et discussion

## 1. RESULTATS DES ISOLEMENTS

Les résultats d'isolement nous ont permis d'estimer le taux de contaminations des grains de blés par le complexe fusarien, nous avons constaté que les variétés Boussalem, ARZ, HD1220 sont les plus contaminées, alors que les variétés les moins contaminées sont WAHABI, GTA/DUR. Une large gamme d'isolat de *Fusarium* a été obtenue mais seulement trois isolats ont été identifiés et cela a été réalisé par la méthode d'isolement sur deux milieux nutritifs différents.

Le milieu PDA favorise la sporulation du mycélium de certain *Fusarium* mais pas le développement de l'espèce car plusieurs repiquages sont souvent nécessaires, étant un milieu riche et non sélectif, il favorise le développement d'un large spectre de moisissures envahissantes (LNPV ,2002).

Le milieu DCPA est un milieu sélective, il permet l'obtention de sporodochie sans la gêne que représentent les autres contaminants. Cette méthode présentée est employée en France pour les analyses officielles, notamment dans le cadre des expérimentations nationales et les mises au point de méthodes de lutte, (LNPV, 2002).

Tableau 0 3 : taux de contamination de la semence par le *Fusarium*.


Nom de variétés	taux des graines contaminées par <i>Fusarium</i> (%)	Autres contaminants (%)	Semences saines
ARZ	60	40	0
HD1220	70	30	0
WAHA	30	70	0
BOUSSALEM	73	27	0
GTA/DUR	20	42	38
WAHABI	35	15	50

Source : original, 2014

## 2. IDENTIFICATION DES ISOLATS OBTENUS

L'identification des isolats de *Fusarium* basée sur la clé d'identification établies par Leselie *et. al* ,2006 a révélé que les deux espèces de *Fusarium* de blé les plus fréquentes au niveau des graines de blé sont : *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum* cependant *Fusarium poae* a été le moins présent. D'autres champignons saprophytes ont été identifiés à savoir *Alternaria* spp (Voir tableau04).

Tableau 04 : Liste des isolats identifiés.

Espèce	Origine d'isolement	Variétés	Espèces fongique	Code
Blé tendre	Graines	HD1220 Alger	<i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium Graminearum</i> <i>Fusarium poae</i>	BT1
	Graines	ARZ		BT2
Blé dur	Graines	Boussalem	<i>Fusarium culmorum</i>	BD2
	Graines	GTA/DUR	<i>Fusarium graminearum</i>	BD3

Source : original, 2014.

## 2.1 Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques des isolats identifiés

### 2.1.1. *Fusarium graminearum*

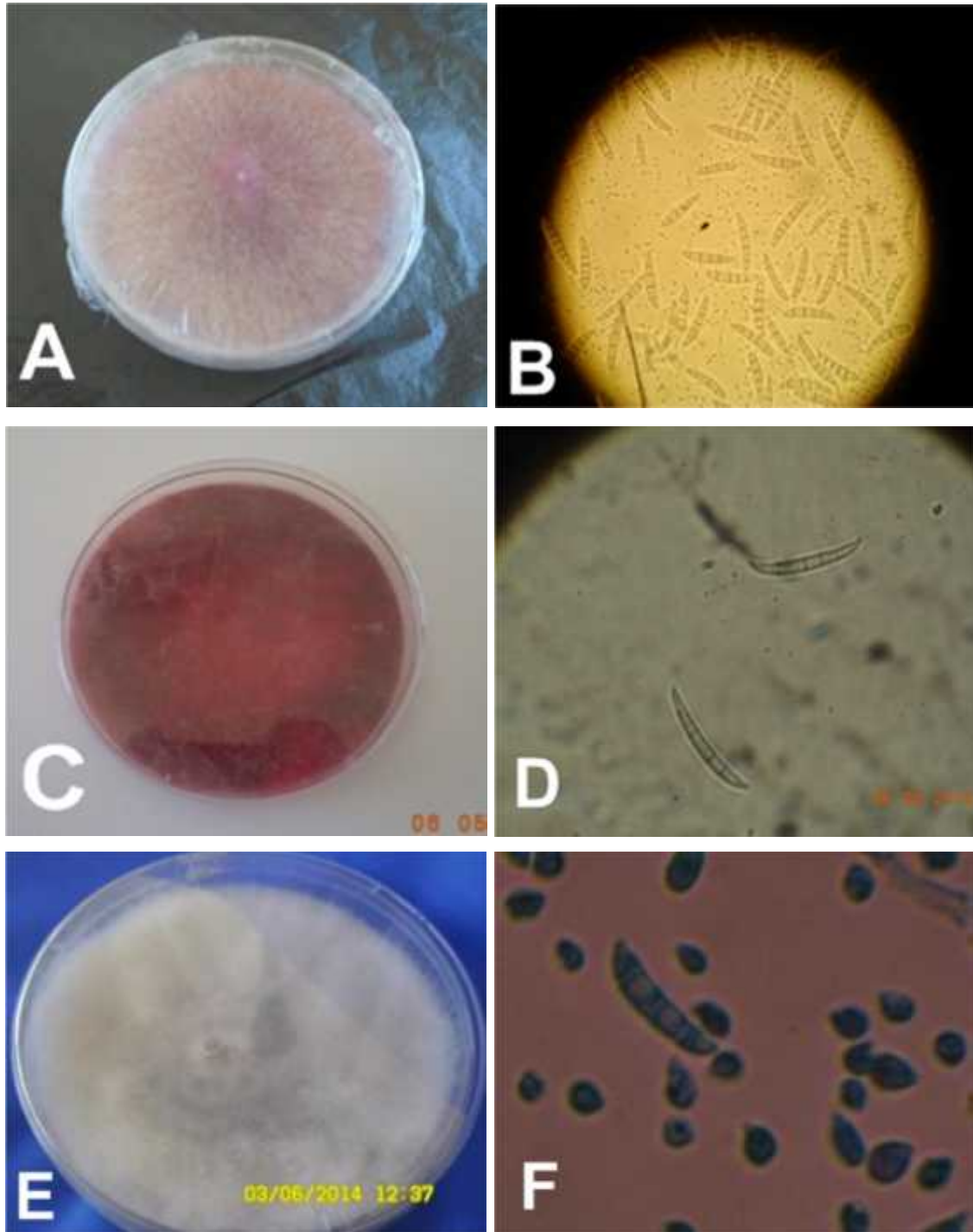
Cette espèce est caractérisée par une abondance des macroconidies fusiformes, courbes et septées avec une cellule terminale longue et pointue, Les microconidies sont absentes. Les chlamydospores sont intercalaires, formées par le mycélium rarement dans les conidies sont globuleuses, hyalines à brun pâle. Le mycélium développe une couleur rose au début puis rouge à pourpre

### 2.1.2. *Fusarium culmorum*(W.G. Smith) Saccardo

Les colonies sont duveteuses, d'abord blanches à jaunâtres ou roses puis ocracées à rouges brunâtre. Le revers est rouge à pourpre. Les phialides, sont courtes et larges formées sur le mycélium aérien et groupées en sporodochies. Les microconidies sont absentes cependant Les macroconidies sont fusiformes, courbées et septées (5 cloisons en moyenne, 3-8).et La cellule apicale est courte et pointue.

### 2.1.3. *Fusarium poae*

selon la clé de Leslie et Summerell (2006) 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 à5 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. 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.



Source : Original, 2014

Figure 11 : Aspects morphologiques et microscopiques (G x 40) des espèces fongiques isolées à partir des grains de blé : (A) des colonies de *Fusarium culmorum* de couleur rouge, (B) macroconidies ; (C) Les colonies de *Fusarium graminearum* de couleur rouges à pourpres., (D) les macroconidies sont fusiformes, courbées et les microconidies sont absentes, (E) ) des colonies de *Fusarium poae* 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, (F) des macro conidies, hétérogènes et d'une taille moyenne à grande a une forme de faucille.

### **3. RESULTAT DE LA PATHOGENIE DES DEUX ESPECES DE *FUSARIUM* ET SENSIBILITE DES VARIETES DE BLE DUR ET BLE TENDRE**

Au cours de cet essai nous nous sommes intéressés au développement de la maladie au stade floraison et grain pâteux, la sensibilité des deux variétés de blé tendre et trois variétés de blé dur vis-à-vis de la fusariose de l'épi a été étudiée. Une inoculation artificielle des différentes variétés a été réalisée sous serre.

#### **3.1. Prise des données et notations sur plants de blés**

Malgré les conditions difficiles de travail où s'est déroulée notre expérimentation nous avons noté que les deux isolats testés ont causés l'apparition des symptômes de la fusariose de l'épi.

Les notations sont faites 18 jours après inoculation. Les épillets inoculés sont partiellement ou complètement desséchés et certains sont échaudés une couleur brune est observée au niveau du rachis, ainsi une couleur rose est bien visible chez certains épis.

Les résultats ont montré que les deux isolats testés de *Fusarium* ont causé l'apparition d'une décoloration au niveau basal des épis. L'effet variétal est présent par rapport aux deux espèces de *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* ce dernier est plus agressif que *Fusarium graminearum*.

#### **3.2. Sensibilité des variétés de blé testées à la fusariose de blé**

##### **3.2.1. Sensibilité des variétés vis-à-vis de *F.culmorum***

D'après l'analyse de la variance (ANOVA), les résultats obtenus sont hautement significatifs car la PROBA est de 0.005 (tableau 05).

Tableau 05 : Analyse de variance pour l'isolat BT11.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
<b>Var TOTALE</b>	8,686	29	0,300		
<b>Var. FACTEUR 1</b>	5,539	9	0,615	3,912	0,005
<b>VAR.RESIDUELLE 1</b>	3,147	20	0,157		

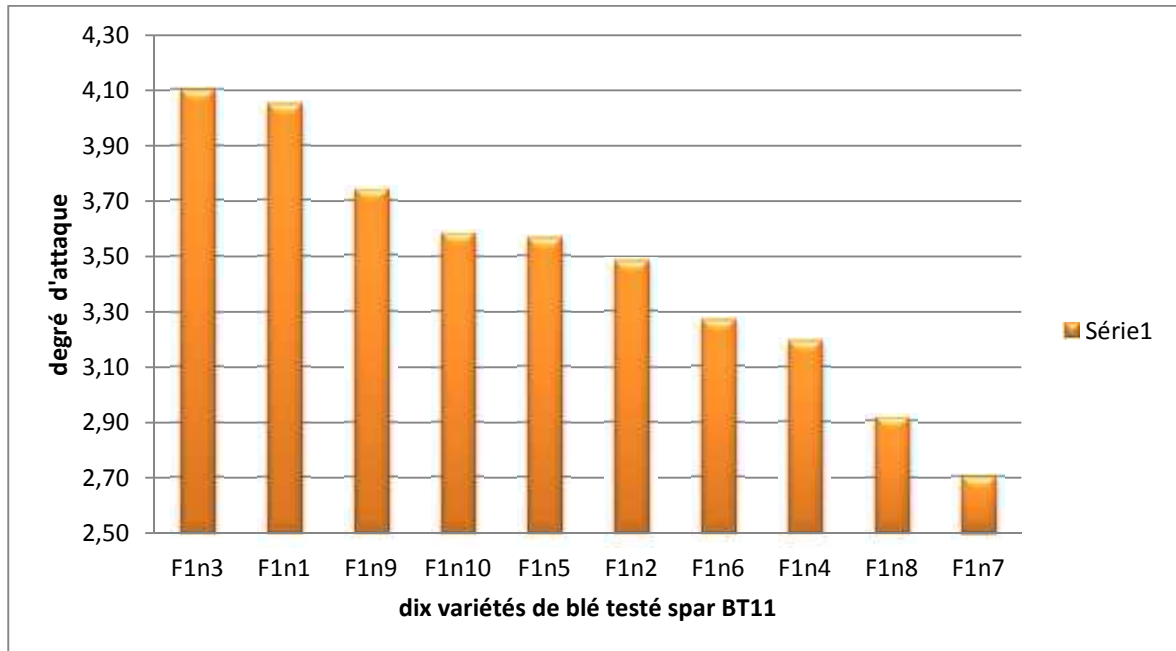
L'inoculation de l'épi par l'isolat de BD11, a induit des indices d'attaques qui varient entre 2,70 et 4.10 selon les variétés voir tableau 06.

Tableau 06 : moyennes des indices d'attaques pour l'isolat BT11.

	Variété	Moyenne
<b>F1n1</b>	Boussalem	4,050
<b>F2n2</b>	Cirta	3,483
<b>F3n3</b>	Waha	4,100
<b>F4n4</b>	ARZ	3,192
<b>F5n5</b>	HD1220	3,567
<b>F6n6</b>	GTA dur	3,267
<b>F7n7</b>	Wahabi	2,700
<b>F8n8</b>	Vitron	2,917
<b>F9n9</b>	Figus	3,742
<b>F10n10</b>	BENI-MESTINA	3,583

Les résultats d'analyse statistique sont significatifs pour l'essai 1 avec l'isolat *Fusarium culmorum*. On constate aussi que le degré d'attaque diffère de chaque variété avec un écart type moins important, la variété Waha s'est montrée significativement plus touchée avec un degré d'attaque important de 4.10, suivis par la variété Boussalem avec un degré d'attaque de 4.05, la variété Vitron a aussi montré un degré d'attaque de 3.74, par ailleurs il n'y a pas eu de différence entre les deux variétés Figus, HD1220, qui ont présenté des moyennes d'attaque similaires qui varient entre 3.58 et 3.56. par contre Wahabi s'est montrée tolérante

avec une moyenne de 2.70. Cet essai nous laisse dire que la majorité des variétés sont sensibles au *Fusarium culmorum*.



Source : original, 2014

Figure 12 : Moyenne des degrés d'attaque des dix variétés de blé inoculées par *F. culmorum* au stade floraison.

Le test de Newman-Keuls, nous a permis de classer les variétés en trois groupes homogènes. Le groupe (A) comprend les variétés Boussalem et Waha, le groupe (B) contient deux variétés Wahabi et Vitron et le groupe (AB) comprend six variétés qui sont (Cirta, ARZ, HD1220, Figus, BENI-MESTINA, GTA dur) (voir Tableau 07).

Tableau 07 : répartition des groupes homogènes pour essai 1.

Id	Modalité	Moyenne	Groupes homogènes	
3	F1n3	4,100	A	
1	F1n1	4,050	A	
9	F1n9	3,742	A	B
10	F1n10	3,583	A	B
5	F1n5	3,567	A	B
2	F1n2	3,483	A	B
6	F1n6	3,267	A	B
4	F1n4	3,192	A	B
8	F1n8	2,917		B
7	F1n7	2,700		B

### 3.2.2. Sensibilité des variétés vis-à-vis de *F.graminearum*

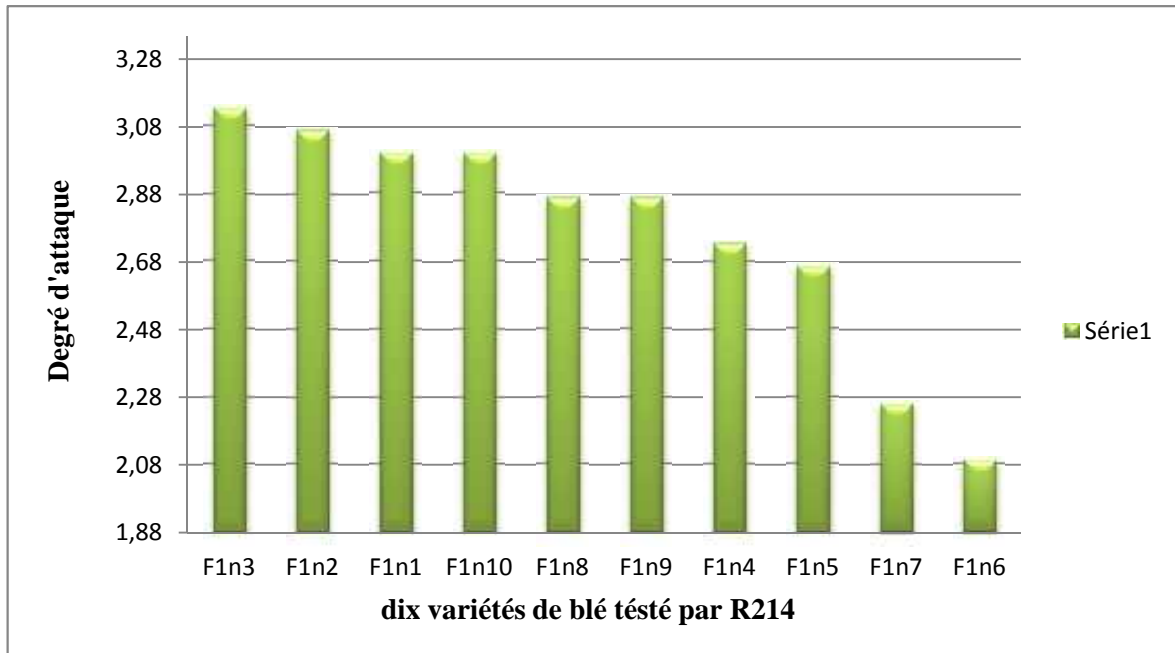
D'après l'analyse de la variance (ANOVA), les résultats obtenus sont non significatifs car la PROBA est de 0.102 (tableau 08).

Tableau 08 : Analyse de variance pour l'isolat R214.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
<b>Var TOTALE</b>	6,919	29	0,239		
<b>Var. FACTEUR 1</b>	3,235	9	0,359	1,952	0,102
<b>VAR.RESIDUELLE 1</b>	3,683	20	0,184		

Concernant l'essai 2 l'espèce *F. graminearum*, s'est montré moins agressive que le *F. culmorum*, les résultats d'analyse statistique était non significatifs cependant nous avons constaté une grande hétérogénéité dans le comportement des variétés vis-à-vis cet isolat (voir figure 13) .

La variété Waha s'est montré la plus sensible avec un indice d'attaque de 3.10 et la variété GTA dur s'est montré la plus résistante avec un indice d'attaque de 2.08.



Source : original, 2014

Figure 13 : Moyennes des degrés d'attaque des dix variétés de blé inoculées par *F.graminearum* au stade floraison.

L'inoculation de l'épi par l'isolat de R214, a induit des moyennes d'attaque qui varient entre 2,80 et 3.10 selon les variétés.

Tableau 09 : moyennes des indices d'attaques pour l'isolat R214.

	Variété	Moyenne
<b>F1n1</b>	Boussalem	3,000
<b>F2n2</b>	Cirta	3,067
<b>F3n3</b>	Waha	3,133
<b>F4n4</b>	ARZ	2,733
<b>F5n5</b>	HD1220	2,667
<b>F6n6</b>	GTA dur	2,092
<b>F7n7</b>	Wahabi	2,258
<b>F8n8</b>	Vitron	2,867
<b>F9n9</b>	Figus	2,867
<b>F10n10</b>	BENI-MESTINA	3,000

### 3.3. Discussion

Les graines de blé forment un excellent substrat pour le développement des moisissures. Les résultats d'isolement ont révélé la présence de *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* qui sont les plus majeurs suivis par *Fusarium poe* qui a été le moins fréquents.

Différentes méthodes d'inoculation ont été décrites dans la littérature pour évaluer la pathogénie et l'agressivité des espèces de *Fusarium*. Ces méthodes incluent : l'inoculation des grains en les plaçant sur du papier filtre imbibé d'inoculum (Brennan *et al.*, 2003; Mesterházy, 1983), l'inoculation des plantules soit en utilisant un sol infesté (Smiley et Patterson, 1996) soit des gains inoculés (Mishra *et al.*, 2003), l'inoculation des plantules par l'ajout sur la surface du substrat de grains inoculés et broyés (Wang *et al.*, 2006) ou par une suspension sporale (Carter *et al.*, 2002).

Le stade le plus sensible à la fusariose de l'épi est la floraison. En effet, l'infection des fleurs tend à se propager et à être retenue par les anthères avant de se propager dans les épillets (Parry *et al.*, 1995). De ce fait, ce test a été conduit au stade floraison, sous serre, Les épis ont été inoculés par pulvérisation au moyen d'une suspension sporale. La même technique d'inoculation a été précédemment utilisée (Miedaner *et al.*, 1996 ; Buerstmayr *et al.*, 1999 ; Mesterházy *et al.*, 1999).

Les Résultats de l'essai d'inoculation par la suspension sporale des isolats de *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* a été évalué et comparé entre elles. Les deux isolats se sont montrés pathogènes sur les plants de blé.

en ce qui concerne l'étude de l'agressivité des espèces de *Fusarium*, les résultats ont montré que l'espèce *F. culmorum* est plus agressive que *F. graminearum*. Fernandez et Chen (2005) ont rapporté que les deux espèces *F. culmorum* et *F. graminearum* sont plus agressive que l'espèce *F. avenaceum*. De plus, Smiley *et al.* (2005) ont rapporté que sous serre, les espèces *F. culmorum* et *F. pseudograminearum* peuvent engendrer des niveaux d'attaques élevés. Les résultats trouvés au cours de cette étude sont aussi en accord avec les travaux de Tunali *et al.* (2006). Ces derniers ont noté une pathogénie élevée, causée par les espèces *F. culmorum* et *F. pseudograminearum*, sur des plantules de blé.

Parmi les moyens de lutte contre la fusariose de l'épi figure la résistance variétale, c'est ainsi au cours de cet essai on s'est intéressé à l'étude de la sensibilité de dix variétés de blé dur et de blé tendre à la fusariose de l'épi. Tenant compte des résultats d'analyse statistique, on constate une différence significative ( $P < 0.05$ ) pour le traitement par l'isolat de *F. culmorum*, cette signification nous a permis de classer les variétés en fonction de leur sensibilité. La variété Waha est la plus sensible, au contraire la variété Wahabi est la plus résistante. Tandis que pour le traitement par *F. graminearum* a montré une différence non significative ( $P > 0.05$ ) ce résultats explique qu'il n'y a pas une différence entre la réaction de dix variétés de blé dur et tendre contre cet espèce malgré que le degré de sévérité le plus élevé été enregistré chez la variété Waha et le plus faible chez la variété GTA dur. Sachant que le *F. graminearum* exige des conditions chaudes, une humidité relative élevée (92%), (Cook, 1981), Et cela nous laisse suggéré d'autres hypothèse, des conditions sous serre pouvaient être non favorable au développement optimal de *F. graminearum* pendant cet essai. En effet, les facteurs climatiques sont connus comme déterminants pour la manifestation de la fusariose de l'épi (Langseth *et al.*, 1995).

Plusieurs études ont suggéré une relation entre le contenu en acides phénoliques des grains et le niveau de résistance à la fusariose chez le blé (McKeehen *et al.*, 1999 ; Siranidou *et al.*, 2002) en tant que constituants des parois cellulaires des grains blé, Les acides phénoliques semblent clairement impliqués dans les mécanismes de résistance à la pénétration du pathogène.

# Conclusion

## CONCLUSION

Les principaux objectifs de notre travail ont porté sur l'étude de la pathogénicité et l'agressivité du *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum*, ainsi que le criblage de dix variétés de blé dur, blé tendre et la caractérisation de leur niveau de sensibilité par l'inoculation des deux isolats de *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum* de plus à cette étude une partie est consacré à l'identification des caractéristiques des souches fongiques isolés à partir des graines de blé dur et blé tendre.

Nos résultats de pathogénie ont montré que les isolats de *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum* sont pathogènes, Quant aux résultats de l'agressivité des isolats testés ont varié entre les deux espèces, montrant que *Fusarium culmorum* est l'espèce la plus agressive tandis que *Fusarium graminearum* a une agressivité réduite. Cette variabilité est à considérer lors de l'établissement de programme de criblage de la résistance à la fusariose de l'épi.

Le screening des variétés de blé dur et tendre par rapport à leur degré de sensibilité a montré que les variétés testées présentent une sensibilité vis-à-vis du *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum*, une seule variété qui a montré une résistance pour le *Fusarium culmorum* est la variété Wahabi en comparaison avec les neuf autres variétés testées. Tandis que la variété GTA Dur a présenté une certaine résistance vis-à-vis le *Fusarium graminearum*.

Sur la base de ces résultats, nous pouvons conclure que le *Fusarium culmorum* est la plus agressif que le *Fusarium graminearum*, et les deux isolats ont engendré des degrés d'attaque différents au niveau des dix variétés testées, cette différence de comportement variétal laissent suggérer qu'au cour de l'interaction avec les deux isolats certaines variétés se sont avérées moins sensibles, cette résistance peut être due à des composés endogènes au niveau de la plante, les acides phénoliques en tant que constituant de la paroi cellulaire semblent clairement impliqués dans les mécanismes de résistance à la pénétration du pathogène (résistance de type I) et à sa prolifération dans l'hôte (résistance de type II).

Ce travail de mémoire ouvre de nouvelles perspectives, qu'il serait intéressant d'approfondir les recherches sur la sensibilité variétale du blé à la fusariose de l'épi en parallèle de déterminer l'accumulation des toxines produites par le pathogène.

Et serait souhaitable d'extraire des acides phénoliques à partir des grains de blé fusariés et broyé dans le but de les identifier et d'étudier l'effet des acides phénoliques libérés des parois vis-à-vis de la toxinogénèse lors de l'interaction entre le champignon et le grain.

## Références bibliographiques

- **Allen N.K., Peguri A., Mirocha C.J., Newman J.A.** 1983. Effects of *Fusarium* cultures, T-2 toxin and zearalenone on reproduction of turkey females, *Poult. Sci.*, 62 (2), 282-289.
- **Aoki, T., et O'Donnell, K.** 1999. Morphological and molecular characterization of *Fusarium pseudograminearum* sp. nov., formerly recognized as the Group 1 population of *F. graminearum*. *Mycologia* 91: 597-609.
- **Arseniuk E., Goral G. & Czembor H.J.** 1993. Reaction of triticale, wheat and rye accessions to graminaceous *Fusarium spp.* infection at the seedling and adult plant growth stages. *Euphytica*, 70, 175-183.
- **BASF Agro.**2012. The Chemical Company. Les maladies du blé. Publier sur internet le 12 Avril 2012.
- **Bechtel D.B., Kaleikau L.A., Gaines R.L. & Seitz L.M.** 1985. The effects of *Fusarium graminearum* infection on wheat kernels. *Cereal Chemistry*, 62, 191-197.
- **Bonjean, Picard.** 1990- Les céréales à paille : origine, histoire, économie sélection. Softword – Groupe ITM, Paris, 208p.
- **Bottalico A. & 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.
- **Bottalico, A.** 1998. *Fusarium* disease of cereals: species complex and related mycotoxin profiles in Europe. *Journal of Plant Pathology* 80: 85-103.
- **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, INRA, ICARDA, Algérie, 176 p.
- **Boutigny, A.L.,** 2007. Etude de l'effet de composés du grain de blé dur sur la régulation de la voie de biosynthèse des trichothécènes B: purification de composés inhibiteurs, analyse des mécanismes impliqués. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux, France.
- **Brennan, J.M., Fagan, B., Van Maanen, A. Cooke, B. M., et Doohan, F. M.** 2003. Studies on in vitro growth and pathogenicity of European *Fusarium* fungi. *European Journal of Plant Pathology* 109: 577-587.
- **Brown, N. A., Urban, M., VAN DE MEENE, A. M. & HAMMOND-KOSACK,** K. E. 2010. The infection biology of *Fusarium graminearum*: defining the pathways of spikelet to spikelet colonisation in wheat ears. *Fungal Biol*, 114, 555-71.

- **Buerstmayr, H., Lemmens, M., Fedak, G., et Ruckenbauer, P. 1999.** Back-cross reciprocal monosomic analysis of *Fusarium* head blight resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 98: 76-85.
- **Burgess, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K. P., et Backhouse, D. 1994.** Laboratory manual for *Fusarium* research, 3rd edn. Sydney, Australia, University of Sydney and Botanical Garden, pp 133.
- **Burgess, L.W., Summerell, B.A., et Nelson, P.E. 1991.** An evaluation of several media for use in identification of some *Fusarium* species. *Australasian Plant Pathology* 20: 86-88.
- **Carter, J.P., Rezanoor, H.N., Holden, D., Desjardins, A.E., Plattner R.D., et Nicholson, P. 2002.** Variation in pathogenicity associated with the genetic diversity of *Fusarium graminearum*. *European Journal of Plant Pathology* 108: 573-583.
- **Champeil, A., Dore, T. & Fourbe, J. F. 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. *Plant Science*, 166, 1389-1415.
- **Champion, R. 1997.** Identifier les champignons transmis par les semences. Techniques et pratiques. INRA édition. 21p.
- **Chapeland-Leclerc, F., Nicolas Papon, N., Thierry Noël, et Villard, J. 2005.** Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoles). *Revue Française des Laboratoires* 373: 61-6.
- **Chi M.S., Mirocha C.J., Weaver G.A., Kurtz H.J., (1980),** Effect of zearalenone on female White Leghorn hens, *Appl. Environ. Microbiol.*, 39 (5), 1026-1030.
- contamination of cereal grain and animal feed with *Fusarium* mycotoxins, *Anim. Feed Sci.*
- **Clement-grandcourt, Prat., 1970,** Les céréales. Collection d'enseignement agricole. 2ème Ed. P351-360.
- **Cook, R.J. 1980.** *Fusarium* foot rot of wheat and its control in the Pacific Northwest. *Plant Disease* 64: 1061-1066.
- **Davet, P et Rouxel, F. 1997.** Détection et isolement des champignons du sol. INRA. Ed : Paris. 201p.

- **Dexter J.E., Marchylo B.A., Clear R.M. & Clarke J.M.** 1997. Effect of *Fusarium* head blight on semolina milling and pasta-making quality of durum wheat. *Cereal Chemistry*, 74, 519-525.
- **Diekman M.A., Green M.L.**, (1992), Mycotoxins and reproduction in domestic livestock, *J. Anim. Sci.*, 70, 1815-1827.
- **DiMello J.P.F., Parker J.K., MacDonald A.M.C., Placinta C.M.**, (1997), *Fusarium* mycotoxins in DiMello J.P.F., Ed. “*Handbook of plant and fungal toxicants*“, CRC Press, Boca Raton FL, 287-301.
- **Edwards, S., O’Callaghan, J., et Dobson, A.D.W.** 2002. PCR based detection and
- **Eriksen, G.S.** 2003. Metabolism and toxicity of trichothecenes. *Acta Universitatis*
- **Feillet P.** 2000. Le grain de blé composition et utilisation. In: INRA EDITIONS, Paris, France, 308p.
- **Fernandez, M.R., et Chen, Y.** 2005. Pathogenicity of *Fusarium* species on different plant Parts of spring wheat under controlled conditions. *Plant Disease* 89: 164-169.
- **Goswami R.S. & Kistler H.C.** (2004) Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Molecular Plant Pathology*, 5, 515-525.
- **Hani F.** 1981. On the biology and control of *Fusarium* diseases of wheat and rye. *Phytopathologische Zeitschrift*, 100, 44-87.
- **Hatsch, D.**2004. Interaction hôte/pathogène : étude du modèle *Humulus lupulus / Fusarium graminearum*. Identification, génomique et transcriptomique du pathogène. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I. 182p.
- **Hsia, C.C., Wu, J.L., Lu, X.Q., et Li, Y.S.** 1988. Natural occurrence and clastogenic effects of nivalenol, deoxynivalenol, 3-acetyl-nivalenol, 15-acetyl-deoxynivaleno, and zearalenone in corn from a high-risk area of oesophageal cancer. *Cancer Detection and Prevention* 13: 79-86.
- **Hsu, M.C., Chen, K.W., Lo, H.J., Chen, Y.C., Liao, M.H., Lin, Y.H., et Li, S.Y.** 2003. Species identification of medically important fungi by use of real-time Light Cycler PCR. *Journal of Medical Microbiology* 52: 1071-1076.
- **INRA.**2012 .Institut National de la Recherche Agronomique, **Site web:** <http://www.inra.fr>, consulter le 05\_06\_2012.
- **Jansen, C., Von Wettstein, D., Schafer, W., Kogel, K. H., Felk, A. & Maier, F. J.** 2005. Infection Patterns In Barley And Wheat Spikes Inoculated With Wild-

Type And Trichodiene Synthase Gene Disrupted *Fusarium Graminearum*. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, 102, 16892-16897.

- **Jeunot, B.** 2005. Les fusariotoxines sur céréales : détection, risque et nouvelles réglementation. Thèse de doctorat. Nancy. Université Henri Poincaré. 111p.
- **Joffe, A.Z. 1983.** Environmental conditions conducive to *Fusarium* toxin formation causing serious outbreaks in animals and man. *Veterinary Research Communications* 7: 187- 193.
- **Kimura, M., Takahashi-Ando, N., Nishiuchi, T., Ohsato, S., Tokai, T., Ochiai, N., Fujimura, M., Kudo, T., Hamamoto, H., et Yamaguchi, I. 2006.** Molecular biology and biotechnology for reduction of *Fusarium* mycotoxin contamination. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 86: 117-123.
- **Kamoun, L.** 2011. La fusariose de l'épi de blé en Tunisie : identification, pathogénie et chémotypage des espèces toxigènes. Thèse de doctorat. Université Tunis EL Manar. 125P.
- **Leslie, J.F., Summerell, B., and Bullock, S.** 2006. The *Fusarium* Laboratory Manuel. Blackwell Publishing. USA. 388p.
- **Leyral, G., Vierling, E.** 1997. Microbiologie et de toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires. 2eme Ed : doin. France. 272p.
- **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.
- **Markell, S. G. & Francl, L. J.** 2003. *Fusarium* Head Blight Inoculum: Species
- **Mascher F., Michel V. et Browne R. A,** 2005. « Sélection de variétés de blé et de triticales résistantes à la fusariose sur épi ». *Agroscope*. 375: 189-194 p.
- **McKeehen J.D., Bush R.H. & Fulcher R.G.** 1999 Evaluation of wheat (*Triticum aestivum* L.) phenolic acids during grain development and their contribution to *Fusarium* resistance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1476-1482.
- **Mesterházy, Á. 1983.** Breeding wheat for resistance to *Fusarium graminearum* and *F. culmorum*. *Z. Pflanzenzüchtg* 91: 285-311.

- **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: 97-110.
- **Miedaner, T., Gang, G., et Geiger, H.H. 1996.** Quantitative-genetic basis of aggressiveness of 42 isolates of *Fusarium culmorum* for winter rye head blight. *Plant Disease* 80: 500-504.
- **Miller, J.D., et Trenholm, H.L. 1994.** Mycotoxins in grain. *Compounds Other Than*
- **Mishra, P.K., Fox, R.T.V., et Culham, A. 2003.** Inter-simple sequence repeat and aggressiveness analyses revealed high genetic diversity, recombination and longrange dispersal in *Fusarium culmorum*. *Annals of Applied Biology* 143: 291-301.
- **Nelson P. E., Toussoun, T. A. , Cook R. J. 1981.** *Fusarium: diseases, biology and Taxonomy.* Pennsylvania State University Press, University Park, 446-452pp.
- **Nirenberg, H. I. 1981.** A simplified method for identifying *Fusarium* spp. occurring on wheat. *Can. J. Bot.* 59. 1599- 1609.
- **Parker M.L., Ng A. & Waldron K.W. 2005.** The phenolic acid and polysaccharide composition of cell walls of bran layers of mature wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Avalon) grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 2539-2547.
- **Parry, D.W., Jenkinson, P., et McLeod, L. 1995.** *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals-a review. *Plant Pathology* 44: 207-238.
- **Pastre, Roa. 1993-** The control of insect pests in oil seed rape : deltamethrin file, PP192-201.
- **Pfohl-Leszkowicz A., 2001,** Définition et origines des mycotoxies in *Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque*, Ed. Tec & Doc, 3-14.
- **Pirgozliev S.R., Edwards S.G., Hare M.C. & Jenkinson P. 2003.** Strategies for the control of *Fusarium* head blight in cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 731-742.

- **Pirgozliev S.R., Edwards S.G., Hare M.C. & Jenkinson P.** 2003. Strategies for the control of *Fusarium* head blight in cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 731-742.
- **Placinta C.M., D'Mello J.P.F., MacDonald A.M.C.,** 1999, A review of worldwide
- **Prandini, A., Sigolo, S., Filippi, L., Battilani, P., et Piva, G. 2009.** Review of predictive models for *Fusarium* head blight and related mycotoxin contamination in wheat. *Food and Chemical Toxicology* 47: 927-931.
- **Rainey M.R., Tubbs R.C., Hardin D.K., Cox N.M.,** 1991, Clinical manifestations of prepubertal exposure to zearalenone *In : gilts, Agri-practice*, 12, 35-41.
- **Rocha, O., Ansari. K., et Doohan, F.M. 2005.** Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: a review, *Food Additives and Contaminants* 22: 369-378.
- **Slama A., Ben Salem M., Ben Naceur M. & Zid E.D. 2005.** Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. Institut national de la recherche agronomique de Tunisie (Inrat). Univ. Elmanar. Tunisie. ([http://www.john-libbeyeurotext.fr/fr/revues/agro\\_biotech/sec/e-docs/00/04/11/2E/telecharger.md](http://www.john-libbeyeurotext.fr/fr/revues/agro_biotech/sec/e-docs/00/04/11/2E/telecharger.md)).
- **Smiley, R.W., Gourlie, J.A., Easley, S.A., et Patterson, L.M. 2005.** Pathogenicity of fungi associated with the wheat crown rot complex in Oregon and Washington. *Plant Disease* 89: 949-957.
- **Sutton J.C.** 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 4, 195-209.
- **Swamy H.V.L.N., Smith T.K., Cotter P.F., Boermans H.J., Sefton A.E.,** 2002a, Effects of feeding blends, of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on production and metabolism in broilers, *Poult. Sci.*, 81 (7), 966 - 975.
- **Swamy H.V.L.N., Smith T.K., Mac Donald E.J.,** 2002b, Effects of feeding blends, of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on brain regional neurochemistry of starter pigs and broiler chickens, *J. Anim. Sci.*, 82, 2131-2139.
- **Tabuc, C.** 2007. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de Doctorat. Université de Bucarest Toulouse. 190p.

- *Technol.*, 78, 21-37.
- **Thangavelu, R., Palaniswami, A., Velazhahan, R.** 2004. Mass production of *Trichoderma harzianum* for managing *Fusarium* wilts of banana, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Vol 103.Issue1. Pp:259-263.
- **Trail, F.** 2009. For blighted waves of grain: *Fusarium graminearum* in the postgenomics era. *Plant Physiol*, 149, 103-10.
- **Tunali, B., Nicol, J., Yelda Erol, F., et Altiparmak, G.** 2006. Pathogenicity of Turkish crown and head scab isolates on stem bases on winter wheat under greenhouse conditions. *Journal of Plant Pathology* 5: 143-149.
- **Veronica, M.T., Lattanzio, A. , Michelangelo, P., et Visconti, A.** 2009. Current analytical methods for trichothecene mycotoxins in cereals. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 28: 758-768.
- **Wang, B., Brubaker, C.L., Tate, W., Woods, M.J., Matheson, B.A., et Burdon, J.J.** 2006. Genetic variation and population structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Vasinfestum* in Australia. *Plant Pathology* 55:746-755.

# Annexes

**Annexe 1.** Compositions des milieux de culture.

## Dichloran chloramphenicol Peptone Agar (DCPA)

- Peptone bactériologique 15,0 g
- $K_2 HPO_4$  1,0 g
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  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

**Annexe 2.** Les photos des résultats.**Photo 1 :** Variété moins sensible Wahabi .**photo 2 :** Variété la plus sensible Waha.

