



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : RAHMANI Sabrina

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION : Protection des végétaux et de l'environnement

Thème

***Contribution à l'étude de la Fusariose du blé : pathogénie
des isolats de Fusarium et identification du potentiel
toxinoène.***

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
Mr. GOUZI Hicham	MCA	Président
Mme. AMEUR Djamila	MAA	Examinatrice
Mme. TOUATI Sihem	MAA	Promotrice
Mme. GACEMI Safia	Magister	Co- Promotrice

Promotion : Juin 2015

Résumé

La Fusariose de l'épi est l'une des maladies les plus courantes du blé. Elle est causée par un complexe d'espèces dont les plus courantes par *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae*. Ces champignons infectent les épis de blé au moment de la floraison, ces *Fusarium* impliquées peuvent conduire à la contamination des grains par diverses mycotoxines, qui ont un effet néfaste sur la santé humaine et animale.

L'objectif de notre travail était d'estimer le taux de contamination de cinq lots d'échantillons de blé d'étage bioclimatique différents, quatre isolats ont été identifiés : *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae* et *F. pseudograminearum*. En parallèle une caractérisation d'une gamme de dix espèces de *Fusarium* qu'ont été effectuées, la vitesse de la croissance et potentiel toxigène, en utilisant la méthode de CCM qui a été utilisé pour identifier les espèces toxigènes

L'étude de la pathogénie et la sensibilité des variétés et lignées de blé testées vis à vis de deux isolats de *Fusarium culmorum* de chémotype différents, et la corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et la résistance des variétés et lignées contre la Fusariose de l'épi.

Mots clés : La Fusariose de l'épi, blé, résistance variétale des TCTB, composés phénoliques.

Abstract

The Fusariosis of ear is one of the most important diseases of wheat. It is caused by a complex of species of which most current are *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae*. These fungi infect wheat ears at the time of flowering; these implied species can lead to the contamination of the grains by various mycotoxins which have a harmful effect on the human health and animal.

The aim of our work was to estimate the rate of contamination of five batches of wheat samples of bioclimatic stage different, four isolates were identified: *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae* and *F. pseudograminearum*.

In parallel, the characterization of a range of ten species of *Fusarium* were carried out, the speed of the growth and toxinogenic potential by using the method of CCM which enabled us to identify the toxinogenic species.

The study of pathogenesis and the sensitivity of the varieties and lines of wheat tested against two isolates of *Fusarium Culmorum* of chemotype different and the correlation between the contents of phenolic compounds and resistances of the varieties and lines against Fusariosis of ear.

Keyword: Fusariosis of ear, wheat, *Fusarium* complex, mycotoxins, contents of phenolic.

يعد الفوزاريوم من أهم أمراض القمح و ينجم عن مجموعة معقدة من الأنواع, الأكثر شيوعا هي *F. culmorum*.
F. graminearum, *F. poae* هذه الفطريات تصيب القمح في مرحلة الأزهار و هذه الأنواع المعنية يمكن أن تؤدي إلى
إصابة الحبوب بمختلف أنواع السموم الفطرية و التي يكون لها تأثير سلبي على صحة الإنسان و الحيوان.

الهدف من هذه الدراسة هو تقدير معدل إصابة خمسة عينات من القمح من الأقاليم المناخية, تم تحديد أربع عزلا
F. pseudograminearum و *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae*

في نفس الوقت, تحديد صفات عشرة أنواع من الفوزاريوم التي استعملت. أيضا سرعة النمو و السمية المحتملة وذلك
باستخدام طريقة CCM التي مكنتنا من التعرف على الأنواع السامة.

و أيضا, دراسة المرضية و حساسية الأصناف المختبرة فيما يتعلق بعزلتين من كيموتيب مختلفة, و العلاقة بين
مستويات المركبات الفينولية و مقاومة الأصناف المختبرة ضد فوزاريوم السنابل .

الكلمات المفتاحية: فوزاريوم السنابل, القمح, السموم الفطرية , CCM, من كيموتيب, المركبات الفينولية .

Dédicaces

Je dédie ce travail à ma source d'inspiration, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite... à ma mère.

A mon père

A ma famille qui était ma source d'encouragement tout au long de mes études.

A mes amis

Remerciements

Au terme de ce travail je tiens à remercier respectivement tous ceux qui m'ont aidée soutenue, et encouragée pour la réalisation de ce mémoire

J'exprime mes sentiments de reconnaissance à Ma promotrice, Madame TOUATI Sihem, dont la disponibilité, le savoir faire, et le soutien ne m'a jamais fait défaut

*Je tiens à remercier
l'honorable membre de jury*

Je tiens à remercier aussi Madame GACEM Safia, qui a bien voulu assumer la tâche de Co-encadreur et qui a su m'aider avec efficacité.

Je remercie également Madame AMEUR Djamila pour son aide et ses conseils

Je ne saurais oublier Madame HOUYOU Zohra et Monsieur MOULAI Adel pour leur collaboration et leur générosité

Je dois remercier Monsieur MALEK pour son aide et ses conseils précieux

Et finalement, Je remercie tout particulièrement Monsieur BENAHCEN Rachid et Monsieur BOUBRIMA Youcef pour l'encouragement

Sommaire

Résumé

Dédicaces

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION 1

Partie I : Contexte bibliographique

I. Le blé 3

I.1. Généralités 3

I.2. Importance économique 4

I.3. Morphologie de la plante 5

I.4. Composition histologique et chimique du grain 6

I.5. Besoin du développement 8

I.6. Cycle végétatif 8

I.7. Pathologie de la plante 10

II. La Fusariose 11

II.1. Les symptômes 11

II.2. Cycle biologique 13

II.2 Interaction hôte-pathogène 16

III. Les mycotoxines 18

III.1 Les trichothécènes 18

III.2. Identification de chémotypes 19

III.3. Le rôle des TCTB dans le développement de la fusariose : 19

III.4. Méthodes de détection des mycotoxines 20

III.5. La réglementation 21

IV. Les composés phénoliques 22

IV.1. Généralités 22

IV.2. Classification des polyphénols 22

IV.3. Rôles, intérêts et propriétés des polyphénols.....	24
IV.3.1. Les acides phénoliques et les mécanismes de résistance des grains de blé à la Fusariose.....	24
V. Moyens de lutte	26
V.1. Les pratiques culturales.....	26
V.2. La lutte chimique	26
V.3. La lutte biologique	26
V.4. La résistance variétale.....	27

Partie II : Matériel et méthodes

I. Prospections et échantillonnage.....	28
II. Isolement et identification morphologique des champignons associés à la Fusariose de l'épi.....	28
III. Comparaison de la vitesse de croissance des isolats de <i>Fusarium</i>	30
IV. Analyse par CCM du potentiel toxigène des isolats de <i>Fusarium</i>	31
IV.1. Extraction des TCTB à partir de milieux de cultures MSM.....	31
IV.2. Analyse des TCTB par CMC.....	33
V. Sensibilité des variétés de blé les plus cultivées et quelques lignées à la Fusariose de l'épi.....	35
V.1. Préparation de l'inoculum.....	36
V.2. Inoculation	36
VI. Extraction et dosages des acides phénoliques.....	37
VI.1. Matériel végétal	37
VI.2. Extraction des composés phénoliques	38
VI.3. Analyse des acides phénoliques par spectrophotomètre :.....	41

Partie III : Résultats et discussions

RÉSULTATS	42
I. Evaluation de la distribution de la Fusariose de l'épi et identification des espèces fongiques impliquées	42
I.1. Résultats des isolements	42
I.2. Identification des espèces associées à la maladie.....	43
I.3. La vitesse de la croissance des isolats de <i>Fusarium</i>	44
I.4. Analyse par CCM du potentiel toxigène	45
DISCUSSION.....	47

II. Etude de la pathogénie de <i>Fusarium culmorum</i> et la sensibilité des variétés et lignées de blé vis à vis de la Fusariose	49
II.1. les composés phénoliques	54
II.1.1. Rendement des extractions	54
II.1.2. analyse quantitative des extraits	55
DISCUSSION.....	56
Conclusion	59

Liste des figures

Figure 01 : Morphologie de la plante, de l'épi, de l'épillet et de la fleur du blé.....	5
Figure 02 : Coupe d'un grain de blé.....	7
Figure 03 : Schéma illustrant le cycle de développement de blé	9
Figure 04: Spores de, <i>F. culmorum</i> , <i>F. graminearum</i> et <i>F. poae</i> (Leslie et Summerell, 2006)	11
Figure 05: Photographies d'épis de blé fusarié	12
Figure 06: Grains de blé sains et fusariés.....	13
Figure 07: cycle biologique de <i>Fusarium graminearum</i> , principal agent responsable de la fusariose des épis de blé (trail ,2009)	14
Figure 08: Photographie illustrant la cinétique d'apparition des symptômes de fusariose des épis de blé	16
Figure 09: Modèle d'interaction entre l'hôte, le pathogène et leur environnement.....	17
Figure 10: Structure générale des trichothécènes.....	18
Figure 11: Structure générale des phénols.....	22
Figure 12: Récapitulatif du protocole d'analyse de grains de céréales pour la détection de <i>Fusarium spp.</i> Et <i>Microdochium nivale</i> (INPV, 2008)	30
Figure 13: Séparation de deux phases	32
Figure 14: Extraction de l'extrait par rotavap	32
Figure 15: CCM monodimensionnelle	34
Figure 16: Préparation de l'inoculum en suspension sporale.....	36
Figure 17: Inoculation des plants d'épis de blé par la suspension sporale	36
Figure 18: Poudre obtenue après le broyage de matériel végétal.....	38
Figure 19: Ampoule a décanté.....	39
Figure 20: Procédure d'extraction.....	40
Figure 21: Aspect morphologiques et microscopiques (G x 40) des espèces fongiques isolées à partir des grains de blé	44

Figure 22: Courbe présentant la vitesse de la croissance des différents isolats	44
Figure 23: Révélation de la plaque CCM sous les rayons UV	45
Figure 24: Symptômes de la Fusariose de l'épi.....	49
Figure 25: Moyenne d'indice d'attaque des deux isolats de la première notation après sept jours d'inoculation.....	50
Figure 26: Moyenne d'indice d'attaque de deux isolats de la deuxième notation après quatorze jours d'inoculation	51
Figure 27: Moyenne d'indice d'attaque de deux isolats de la troisième notation après vingt-un jours d'inoculation.....	51
Figure 28: Moyenne d'indice d'attaque de deux isolats de la quatrième notation après vingt-huit jours d'inoculation.....	52
Figure 29: Intervalles de confiance des surfaces sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC, Area Under Disease Progress Curve)	53
Figure 30: Histogramme des composés phénoliques de la phase d 'acétate d'éthyle	54
Figure 31: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	55

Liste des tableaux

Tableau 1 : Distribution histologique des principaux constituants du grain du blé	7
Tableau 2 : Les principales classes de composés phénoliques.....	23
Tableau 3 : Les échantillons récoltés dans les différents étages bioclimatiques.....	28
Tableau 4 : Liste des isolats utilisés pour la vitesse de la croissance.....	31
Tableau 5 : Liste des variétés et des lignées utilisées	35
Tableau 6 : Taux de contamination de la semence par <i>Fusarium</i>	42
Tableau 7 : Liste des isolats utilisés pour la CCM.....	46
Tableau 8 : Teneurs des extraits d'acétate d'éthyle en composés phénolique.....	55

Liste des abréviations

15-ADON :	15-acétyl-déoxynivalénol
3-ADON :	3-acétyl-déoxynivalénol
AS :	Assafia
CCM :	chromatographie sur couche mince
CIC :	Centre International des Céréales
CMC :	Carboxyméthylcellulose
DCPA :	Dichloranchlormphenicol Peptone Agar
DON :	Déoxynivalénol
<i>F :</i>	<i>Fusarium</i>
FAO :	Food and Agriculture Organization
INPV :	Institut national de la protection des végétaux
LNPV :	Laboratoire national de la protection des végétaux
MADR :	Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural
MBB :	Mouhamed Ben Bachir
MS :	Mycotoxine Synthèse medium
NIV :	Nivalenol
PDA :	Potato Dextrose Agar (PDA)
OCDE :	Organisation de Coopération et du Développement Economique
Qx :	quintaux
Rpm :	rotation par minute
SAU :	surface agricole utile

TCTB : trichothécènes B

ZEA : zéaralénone

Introduction

INTRODUCTION

A l'heure où les recommandations alimentaires se font de plus en plus nombreuses, il est bon de se tourner vers des aliments présents depuis des millénaires, comme les céréales qui regroupent le blé, le seigle, l'orge et le triticale, etc.

Le blé a une place essentielle dans l'alimentation humaine et animale. En ce qui concerne son utilisation, selon l'OCDE, la consommation alimentaire humaine est prédominante et représente environ 69% de la consommation totale de blé.

L'Algérie est l'un des plus gros consommateurs de céréales dans le monde, elle consacre une bonne partie de ses revenus pour l'approvisionnement des blés (OCDE, 2007).

Les céréales ont occupé une superficie de l'ordre de 3,7 millions d'hectares emblavée, produisant ainsi un peu plus de 33 millions de quintaux. L'analyse par espèce montre la prédominance du blé dur de près de 46 %, suivi de l'orge (28 %) et de blé tendre (23%) (MADR, 2008).

La FAO estime que chaque année 5 à 10 % des grains récoltés sont perdus, altérés et même déclassés à cause de leur mauvais état sanitaire et qu'au moins un quart (25%) de cette récolte est contaminée par les mycotoxines, liées à des attaques des champignons pernicieuses affecte toute la chaîne alimentaire, allant de la production à la consommation. Lorsqu'un ensemble de conditions environnementales ainsi que les techniques incorrectes de lutte, de récolte, de stockage et de transport sont réunies (FAO, 2003).

La fusariose de l'épi n'est pas une maladie récente chez le blé, mais depuis quelques années, son incidence a augmenté considérablement partout, cette maladie constitue un défi constant à la production de blé. La fusariose de l'épi entraîne des pertes de rendement, mais ce sont surtout les toxines produites dans le grain par les champignons pathogènes qui causent le plus de problèmes à toute la filière des grains. Grains fusariés ne signifie pas nécessairement qu'il y a présence de toxines, mais que le risque de toxicité est réel. Par ailleurs, l'absence de grains fusariés ne garantit pas que les grains soient exempts de toxines.

La marge de manœuvre pour maîtriser les teneurs en trichothécènes est beaucoup plus limitée et la stratégie la plus prometteuse repose sur le choix variétal, c'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude. A l'heure actuelle, il n'existe pas de variétés de blé résistantes à la fusariose et à l'accumulation de trichothécènes. Les différents programmes de sélection qui ont été mis en œuvre ont essentiellement été construits sur la présence de symptômes liés à la fusariose, sans prendre en compte la composante mycotoxines. Signalons que la corrélation symptômes/mycotoxines est très controversée dans la littérature. Il est ainsi nécessaire de mettre en place une stratégie de sélection de résistance spécifique à l'accumulation de mycotoxines.

Concernant la contamination du blé par *Fusarium* et ses mycotoxines, les mécanismes naturels des céréales limitant l'accumulation de mycotoxines dans les grains et le rôle des acides phénoliques dans les mécanismes de résistance sera décrit.

Le premier objectif de ce travail de mémoire s'attachera de connaître le degré de contamination des échantillons de blé récoltés durant la campagne agricole 2013-2014 et ainsi de mesurer les traits de vie des isolats de *Fusarium* et identifier le potentiel toxigène de la flore Fusarienne. De façon qualitative (quelles espèces ?). Cette analyse permettra d'identifier les espèces les plus importantes en terme de contamination en toxines

Le second objectif de ce mémoire donc était d'étudier le comportement de quatre variétés de blé et quatre lignées de blé vis à vis de deux isolats de *Fusarium* de chémotype différents. Dans les mécanismes naturels décrits chez les plantes pour limiter les degrés d'attaque figure la présence de composés endogènes interférant avec les voies de toxinogénèse et parmi ces composés, les acides phénoliques semblent être de bons candidats.

Pour atteindre nos objectif il est essentiel de quantifier la production de ces composés phénoliques in planta au stade floraison car le *Fusarium* initie la biosynthèse de trichothécènes à ce stade critique. Notre démarche a reposé sur l'établissement de cinétique d'infection réalisée après inoculation de deux souches toxigènes sur quatre variétés et quatre lignées de blé. Après quantification des acides phénolique des variétés et lignées de blé une constatation sur l'impact de ces molécules sur la sévérité de la Fusariose de l'épi a été précisée.

Partie I :

***Contexte
bibliographique***

I. Le blé

I.1. Généralités

Depuis la naissance de l'agriculture, le blé est à la base de la nourriture de l'homme (Ruel, 2006). C'est une espèce connue depuis la plus haute antiquité, dont il constitue la base alimentaire des populations du globe (Yves et de Buyer, 2000). Pendant plusieurs siècles, il a été vénéré comme un dieu et associé à la pluie, l'agriculture et la fécondité (Ruel, 2006).

Le blé est une plante annuelle herbacée, monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* de la famille des graminées. Aujourd'hui, deux espèces dominent la production, il s'agit du blé tendre (*Triticum aestivum*) et du blé dur (*Triticum durum*). 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. Il existe des blés d'hiver et des blés de printemps, leurs périodes de plantation et de récoltes dans l'année sont différentes. Plus de vingt mille variétés de blé existent et des centaines de nouvelles sont créées chaque année (Feillet, 2000).

Les blés constituent la première ressource en alimentation humaine, et la principale source de protéines. Ils fournissent également une ressource privilégiée pour l'alimentation animale et de multiple application industrielle. La presque totalité de la nutrition de la population mondiale est fournie par les aliments en grains dont 95% sont produits par les principales cultures céréalières (Bonjean et Picard, 1990).

La qualité technologique d'un blé dépend de sa dureté et de sa composition en protéines et en amidon. Les professionnels séparent en général deux grands types de blé selon leur degré de vitrosité. Le blé dur se différencie du blé tendre par son grain à albumen vitreux avec une amande dure et sa plus forte teneur en protéines. Le blé dur est tétraploïde avec un équipement chromosomique $4n=28$ chromosomes alors que le blé tendre est hexaploïde, avec $6n=42$ chromosomes (Feillet, 2000). Plus sensible au froid que le blé tendre, le blé dur est cultivé dans des zones du monde relativement restreintes et caractérisées par une faible pluviométrie et des sols pauvres. Sa culture est développée autour du bassin méditerranéen et dans les pays de climat tempéré chaud, comme l'Australie et l'Argentine notamment. Cette plante n'est connue qu'à l'état cultivé. Le blé dur est un blé non panifiable. Il est généralement cultivé pour la production de semoule et la fabrication de pâtes alimentaires.

I.2. Importance économique

La production mondiale de blé a presque triplé en l'espace de 44 ans, passant ainsi de 222 millions de tonnes en 1961 à plus de 626 millions de tonnes en 2005. Début juillet 2007, les prévisions de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) établissaient la production mondiale de blé en 2007 à 619 millions de tonnes. Si l'on se réfère aux études et aux projections publiées par la FAO qui prennent en compte le développement démographique mondial, les besoins devraient encore s'accroître dans les années à venir, pour atteindre sans doute 1000 millions de tonnes de blé en 2020 (FAO).

L'union européenne a enregistré une grande progression de son offre en termes de volume passant ainsi de 35 millions de tonnes en 1961 à environ 108 millions de tonnes en 2006. En Europe, cinq pays ont contribué pour plus des quatre cinquièmes de la production entre 1961 et 2005. Ce sont respectivement : la France (24,8 millions de tonnes soit 34,5% de l'offre européenne), l'Allemagne (13,4 millions de tonnes soit 18,6% de l'offre européenne), le Royaume-Uni (9,7 millions de tonnes soit 13% de l'offre européenne), l'Italie (8,6 millions de tonnes soit 11,9% de l'offre européenne) et l'Espagne (4,9 millions de tonnes soit 6,9% de l'offre européenne) (Clement, 1981).

Au Maghreb, on note que la consommation totale connaît une progression encore plus importante du fait de la démographie dans ces pays. En Algérie, on est ainsi passé de 1,2 MT en 1961 à 6,4 MT en 2003 (+ 427%).

Prenant en considération les éléments qui caractérisent la production de blé, on peut facilement prédire que celle-ci ne pourrait satisfaire la demande d'une population qui dépasse actuellement 32 millions d'habitants et qui est potentiellement et traditionnellement consommatrice de ce produit. A titre indicatif, la production du blé pour la campagne 2004/2005 a été de l'ordre de 2 600 000 (MT) alors que la demande annuelle dépasse largement les 6 000 000 MT. Grâce à la campagne 2009-2010 l'Algérie a atteint l'autosuffisance avec une récolte estimée à 2.722.500 quintaux jusqu'à la fin juin, dont 57% de blé dur. Selon l'OAIC, la surface emblavée durant la campagne labours-semailles 2010-2011 pourrait atteindre les 3,5 millions d'hectares, soit une augmentation prévisible de 8% par rapport à la campagne précédente.

I.3. Morphologie de la plante

Les blés sont des plantes à feuilles alternes, 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 de fleurs petites et peu visibles. Les fleurs sont dépourvues de pétales et 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.

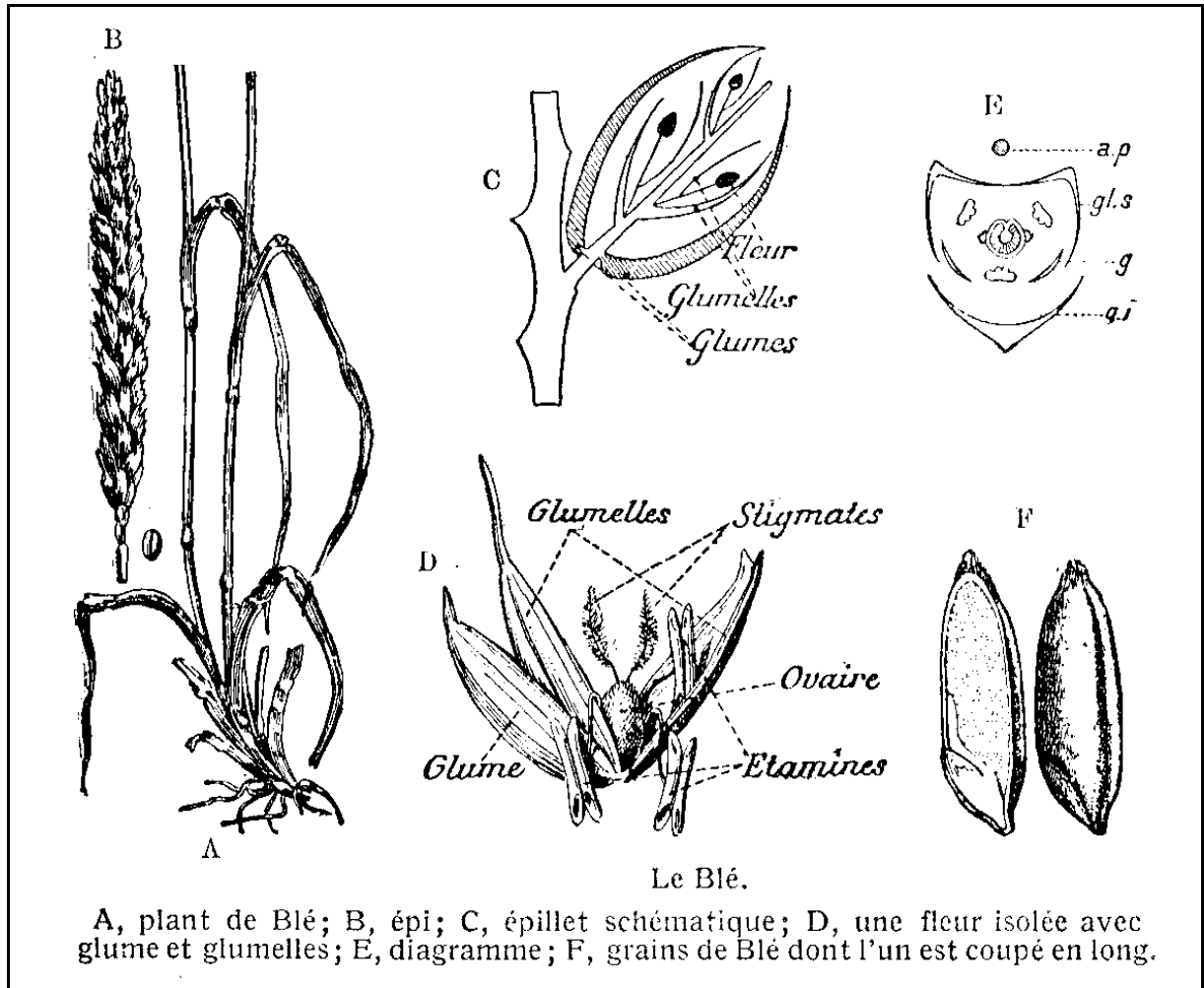


Figure 01 : Morphologie du plant, de l'épi, de l'épillet et de la fleur du blé (Boutigny, 2007).

I.4. Composition histologique et chimique du grain

Le grain de blé est formé de trois régions :

✓ L'albumen : constitué de l'albumen amylicé (au sein duquel subsistent des cellules remplies de granules d'amidon dispersées au milieu d'une matrice protéique et dont les parois cellulose sont peu visibles) et de la couche à aleurone (80 - 85 %) ;

✓ Les enveloppes de la graine et du fruit, formé de six tissus différents ; épiderme nucelle, téguments séminal (enveloppe de la graine), cellule tubulaire, cellule croisées, mésocarpe et épicarpe (13- 17%) ;

✓ Le germe (3%), composé d'un embryon (lui-même formé du coléoptile, de la gemmule, de la radicule, le coléorizhe et de la coiffe) et du scutellum.

Le grain de blé est principalement constitué d'amidon (environ 70%), de protéine (10 à 15% selon les variétés et les conditions de culture) et de pentosanes (8 à 10%) : les autres constituants, pondéralement mineurs (quelques % seulement), sont les lipides, la Cellulose, les sucres libres, les minéraux et les 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).

Ces constituants se répartissent de manière inégale au sein des différentes fractions histologiques du grain. L'amidon se retrouve en totalité dans l'albumen amylicé, les teneurs en protéines du germe et de la couche à aleurone sont particulièrement élevées ; les matières minérales abondent dans la couche à aleurone.

Les pentosanes sont les constituants dominants de cette dernière et du péricarpe. La cellulose représente près de la moitié de celui-ci, les lipides voisinent ou dépassent les 10% dans le germe et dans la couche à aleurone.

Tableau 01 : Distribution histologique des principaux constituants du grain de blé.

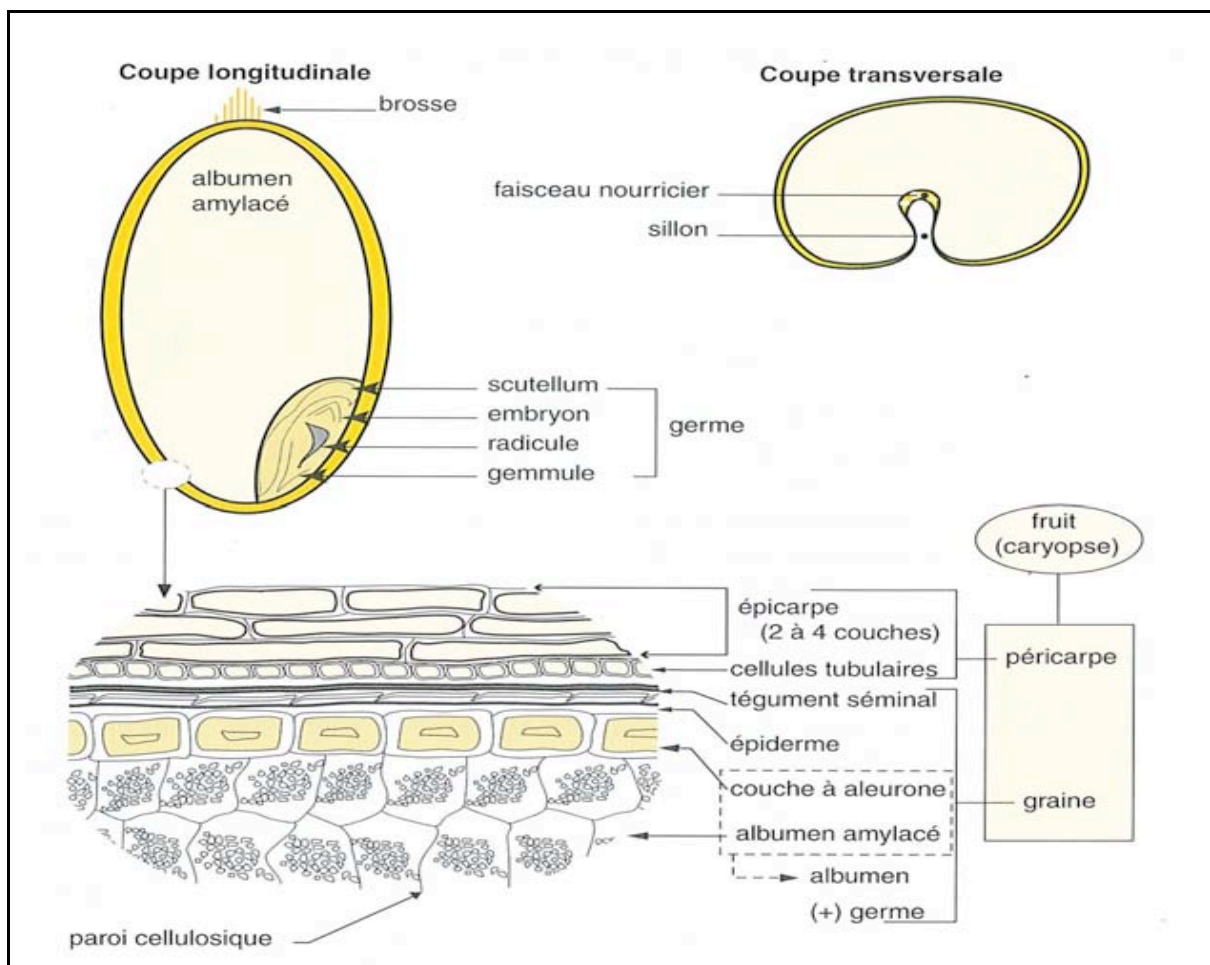
	Grain		Péricarpe ⁽¹⁾		Aleurone		Albumen		Germe	
	%G	%T	%G	%T	%G	%T	%G	%T	%G	%T
Protéines	13,7	10	4,4	30	15,3	12,0	73,5	31	6,8	
Lipides	2,7	0	0	9	23,6	2	62,9	12	13,5	
Amidon	68,9	0	0	0	0	82	100	0	0	
Sucres réducteurs	2,4	0	0	0	0	1,8	62,7	30	37,3	
Pentosanes	7,4	43	35,1	46	43,8	1,6	18,3	7	2,9	
Cellulose	2,8	40	87,1	3	7,6	0,1	3,1	2	2,2	
Minéraux	1,9	7	22,6	12	43,6	0,5	22,6	6	9,7	

Source : (Feillet, 2000).

%G = % du constituant dans le grain.

%T=% du constituant dans le tissu.

(1) % du tissu dans le grain.

**Figure 02** : Coupe d'un grain de blé (Feillet, 2000).

I.5. Besoin du développement

Le blé dur n'a pas les mêmes exigences que le blé tendre. Il a des besoins élevés en ensoleillement, une faible résistance au froid et à l'humidité.

Le blé dur peut être cultivé dans toutes les régions, cependant, les pluies importantes au cours de la maturation peuvent affecter la qualité des grains.

Le blé dur exige, une terre qui provient de la décomposition poussée du fumier (Clément, 1981), Saine, drainant bien mais pas trop sujet au stress hydrique surtout pendant la période de l'accumulation des réserves dans le grain. L'installation du blé dur dans les terres ressuyant mal, le rend plus sensibles aux maladies cryptogamiques telles que le piétin et les fusarioses (Benmansour, 2005).

La température optimale est la température à partir de laquelle la croissance est considérée comme maximale pour le blé, elle est généralement de 20°C (Ezzahiri., 2001).

Le blé a des exigences en eau de l'ordre de 500 à 600 mm/an, bien répartis sur le cycle. Une bonne alimentation en eau est particulièrement importante entre l'épiaison et la floraison et entre les stades « grains laiteux » et « grains pâteux ».

I.6. Cycle végétatif

Le cycle du blé débute par la germination d'une graine après humidification. La levée commence quand la plantule sort de terre, la coléoptile forme un étui protégeant les premières feuilles. Il apparaît un renflement dans la partie supérieure du rhizome qui grossit et forme le plateau de tallage. Ensuite, le stade 3 feuilles est une phase repère pour le développement du blé ; c'est à partir de ce stade qu'il entre en vernalisation, pendant 6 à 8 semaines. Des bourgeons se forment à l'aisselle des feuilles et donnent des pousses appelées talles. Le tallage commence au début de l'hiver et se poursuit jusqu'à la reprise du printemps. Il est marqué par l'apparition d'une ou plusieurs tiges secondaires qui donneront chacune un nouvel épi. L'épi se développe au sommet du bourgeon terminal puis commence le stade de montaison correspondant à la montée de l'épi et à l'allongement des entre-nœuds. Enfin l'épiaison, en mai ou juin, a lieu lorsque la gaine éclatée laisse entrevoir l'épi qui va s'en dégager peu à peu.

À ce stade, le nombre total d'épis est défini, de même que le nombre total de fleurs par épi. La reproduction se fait par cléistogamie, ou autopollinisation automatique puisque les fleurs ne s'ouvrent pas. La floraison s'observe à partir du moment où quelques anthères sont visibles dans le tiers moyen de l'épi, elles entraînent l'ouverture des épillets et sortent

en dehors des glumelles, laissant l'entrée possible aux agents pathogènes comme ceux responsables de la fusariose des épis. (Figure3)

Environ 15 jours après la floraison, le blé commence à changer de couleur : il perd sa couleur verte pour tourner au jaune - doré. 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.

Afin de caractériser précisément les stades de développement du blé, le phytopathologiste Néerlandais Jan C. Zadoks a proposé une échelle en 1974. Cette échelle est aujourd'hui couramment utilisée en recherche et en agriculture (Zadoks et *al.*, 1974).

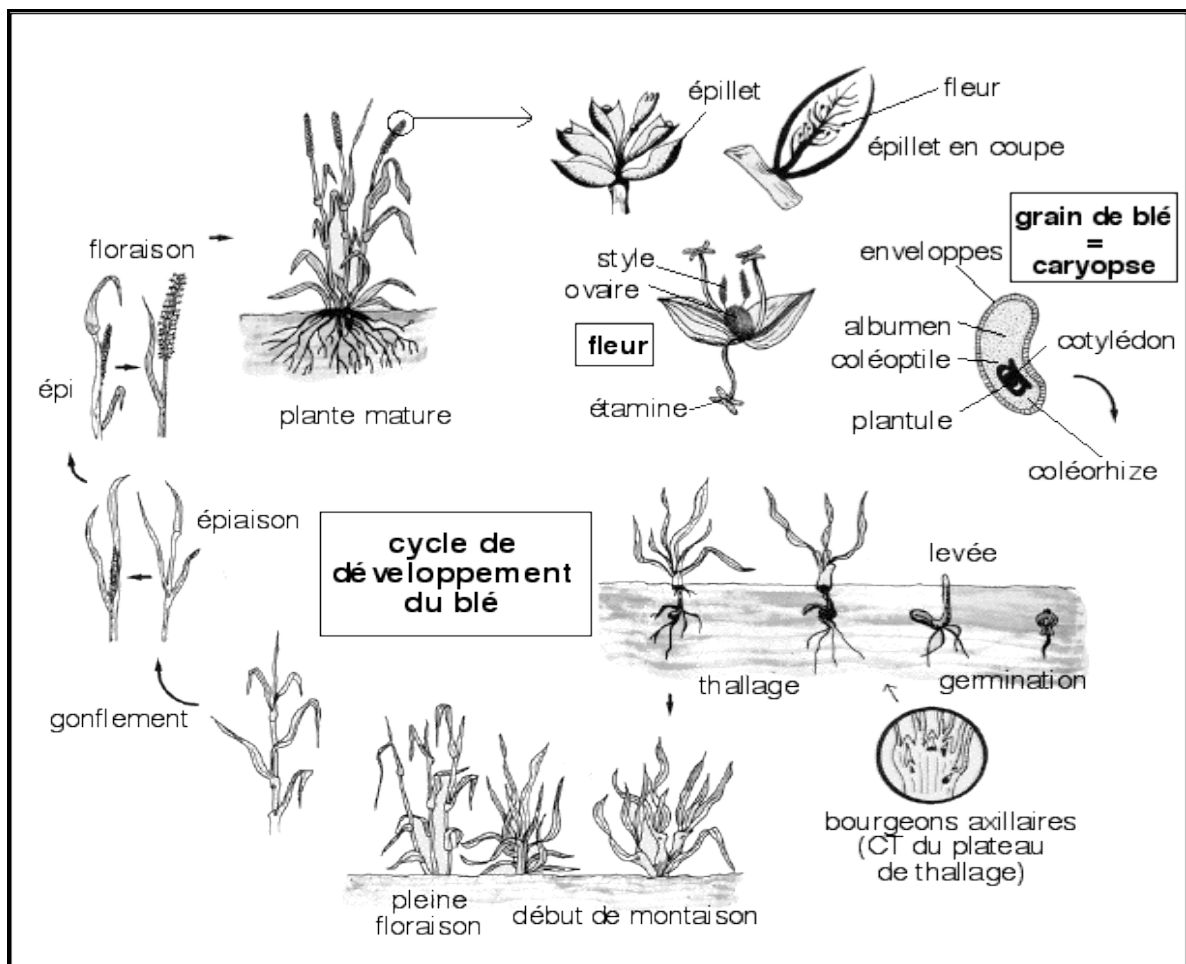


Figure 03 : Schéma illustrant le cycle de développement du blé (www.univ-lehavre.fr).

I.7. Pathologie de la plante

Le blé peut être attaqué par de nombreuses maladies à différents stades de son développement, ces attaques peuvent occasionner des pertes importantes. (Ezzahiri, 2001).

De différentes maladies fongiques peuvent affecter le blé en des différents stade de développement tel que : le piétin verse et le piétin échaudage (agent causal : *Gaeumannomycesgraminis*), les septorioses (agents causal : *Septoriatritici*, ex. *Septoria*), la carie (agent causal : *Tilletiatritici*), l'oïdium (agents causal : *Erysiphegraminis*), le charbon nu (agent causal : *Ustilagotritici*), le charbon foliaire (agent causal: *Urocystisagropyri*), les rouilles brune, noire et jaune (agent causal : *Puccinia*), les fusarioses (agent causal: *Fusarium*). Ces attaques peuvent occasionner des pertes importantes lorsque les variétés utilisées sont sensibles et que les conditions de l'environnement sont favorables à l'expansion des maladies.

Les maladies fongiques ont une influence sur le rendement puisqu'elles contaminent pour certaines une partie de la feuille voire la totalité (ex : la septoriose) ce qui inhibe le rendement photosynthétique. Certaines maladies affectent les épis et les grains (ex : la carie, le charbon, la fusariose). De plus, certaines espèces fongiques synthétisent des mycotoxines qui s'accumulent dans les grains, c'est le cas pour la plupart des espèces responsables de la fusariose.

II. La Fusariose

Contrairement à ce qu'on pourrait penser, la fusariose n'est pas une maladie récente. En effet, elle 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 (Goswami et Kistler, 2004). 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.

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 fusarioses du blé sont causées par un complexe fongique de deux genres : *Fusarium* et *Microdochium* (Simpson *et al.*, 2001). Les principales espèces communes responsables des fusarioses sur blé sont : *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. poae*, et *Microdochium nivale* (anciennement nommée *Fusarium nivale*) (Parry *et al.*, 1995 ; Miedaner, 1997 ; Tekauz *et al.*, 2000 et Brennan *et al.*, 2003).



F. culmorum

F.graminearum

F. poae

Figure 04: Spores de, *F. culmorum*, *F. graminearum* et *F. poae* (Leslie et Summerell, 2006).

II.1. Les symptômes

Lorsque les conditions climatiques sont favorables, la fusariose peut attaquer à tous les stades de développement et tous les organes de la plante, depuis les racines jusqu'aux épis. Le terme "fusariose" des céréales regroupe trois types de symptômes (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 Notre travail concerne plus particulièrement la fusariose de l'épi.

La Fusariose des épis de blé est caractérisée par le flétrissement des épis et une sénescence prématurée, les épis apparaissent alors blanchâtres. Les grains de blé fusariés sont petits, légers, ridés et parfois couverts d'un duvet blanc. Si l'infection est plus tardive, les grains peuvent être de taille normale mais ils se décolorent en rose. Les symptômes observés sur orge sont semblables à ceux observés sur blé décrit plus haut (McMullen et al., 2008).

Certaines espèces de *Fusarium* qui infectent les céréales peuvent produire une ou plusieurs mycotoxines, présentes sur blé en Europe ces dernières années (Bottalico et Perrone, 2002) ; (Waalwijk et al, 2003 ; Ioos et al., 2004 ; Roháček et Hudec, 2005 ; Schollenberger et al., 2007). Parmi les fusariotoxines présentes sur blé en Europe, les trichothécènes, la zéaralénone et les fumonisines sont les plus rencontrées. Notre étude concerne plus particulièrement les trichothécènes.



Figure 05: Photographies d'épis de blé fusariés (Dorothee siou, 2013).



Figure 06: Grains de blé sains et fusariés (Boutigny, 2007).

II.2. Cycle biologique

La Fusariose de l'épi peut être causée par une vingtaine d'espèces du genre *Fusarium* (Parry et al, 1995). Le nom donné à *Fusarium* est relié à l'allure fusiforme de ses spores.

Les espèces des genres *Fusarium* et *Microdochium* sont capables de survivre sous forme de mycélium saprophyte ou de chlamydospores, sur les résidus des cultures et sur les graminées spontanées (Parry et al., 1995). Le vent et les précipitations sont les facteurs responsables de la dispersion de l'inoculum du pathogène. Les gouttes de pluie permettent la dispersion des spores du pathogène, notamment à partir du sol, et les transportent jusqu'au niveau de l'épi (Horberg, 2002 ; Paul et al, 2004). Les acariens (*Siteroptes graminum*), et les thrips (*Lemthrips dennicornis*) peuvent être à l'occasion des vecteurs importants de la maladie (Sutton, 1982 ; Parry et al, 1995; Schmale et al., 2005).

L'infection naturelle des fleurs peut avoir lieu à tout moment entre l'émergence des épis et la maturité. Mais une forte réceptivité et un développement rapide de la maladie se réalisent lors de l'anthèse (Couture, 1982). Miller et al (2004), ont observé que les espèces du genre *Fusarium* se développent d'abord sur les anthères et le pollen puis progressent vers l'ovaire. Le pollen, riche en polysaccharides, favoriserait le développement du champignon (Sutton, 1982). Selon les espèces et les conditions climatiques, le champignon persiste et se multiplie. Récemment, une étude réalisée en Argentine par (Lori et al. 2009), a montré que le climat est le facteur principal du développement de la maladie. Les conditions les plus propices à l'infection sont des pluies fréquentes, humidité élevée (92-94%), et température supérieure à 15 °C (Mackintosh et al, 2007, Parry et al, 1995). La sévérité et le développement de l'infection sont largement influencés aussi par la sensibilité de la variété de blé (Hecker et al, 2004).

L'infection d'une plante par *Fusarium* peut avoir plusieurs origines :

Le champignon colonise ainsi la plante-hôte de l'épi à la tige. Certains grains infectés tombent au sol pendant la récolte formant une nouvelle source d'inoculum. Le champignon est alors sous la forme asexuée, *Fusarium*. Des conidies se trouvent ainsi au niveau du sol et en cas de chute de gouttes d'eau, ces conidies sont disséminées par phénomène de « splashing ». D'autre part, quand le champignon se trouve au sol, il produit des chlamydospores, une forme asexuée de spores à paroi épaisse lui permettant de passer l'hiver.

La spore qui se trouve sur la plante hôte germe en produisant un mycélium. Les hyphes qui forment le mycélium parviennent à pénétrer dans la plante, c'est-à-dire à l'infecter, par des ouvertures naturelles ou des blessures à la surface de la plante. Lorsque le Champignon s'est introduit dans un tissu, celui-ci progresse d'abord de manière intercellulaire, c'est la phase asymptomatique de la maladie. Le champignon rejoint les vaisseaux conducteurs du xylème et se développe ainsi dans la moelle de la tige. Cela permet au champignon de se développer dans l'ensemble de la plante. C'est le début de la phase symptomatique avec formation de nécroses sur la tige et décoloration des tissus.

Les hyphes progressent dans les tissus vivants de l'hôte de façon radiale et induisent une colonisation intracellulaire et nécrotrophique des cellules de l'hôte. Ceci se traduit par l'apparition des premiers symptômes de décoloration « bleaching » 2 à 4 jours après l'infection. Les symptômes de nécrose peuvent également être associés à des tâches brunes des glumes et rachis (Christ et *al.*, 2011 ; Bottalico et Perrone, 2002). Le pathogène circule via le rachis et colonise préférentiellement les épillets adjacents et plutôt inférieurs à l'infection (Argyris et *al.*, 2005). Cette propagation dans le rachis entraîne un dysfonctionnement du système vasculaire associé à une maturation précoce de la partie de l'épi supérieure à l'infection, l'échaudage.



Figure 08: Photographie illustrant la cinétique d'apparition des symptômes de fusariose des épis de blé. De gauche à droite : l'apparition des premiers symptômes de décoloration 3 jours après l'infection) ; la colonisation des épillets adjacents et l'échaudage de la partie supérieure (Dorothee siou, 2013).

II.2 Interaction hôte-pathogène

Selon Logrieco (2002), il n'est pas rare d'isoler ou de détecter jusqu'à neuf espèces différentes sur un même épi. Des événements de compétition entre ces espèces sont susceptibles d'influencer la colonisation du champignon dans les tissus végétaux ainsi que sur sa production de toxines. Une modulation de la toxinogénèse par le stress induit par une espèce compétitrice est en accord avec l'idée que la production de trichothécènes serait un élément de réponse au stress environnant chez *Fusarium* (Marin et al., 1998; Velei et al., 2001).

Les conditions météorologiques variables d'une année sur l'autre font qu'il y a « des années à *Fusarium* » par opposition à des années où les niveaux de contamination par le champignon sont plus faibles et moins fréquents. Vigier, et al, (2001) ont en particulier montré que le nombre de jours entre juillet et septembre pendant lesquels l'humidité relative atteint ou dépasse 80 % est positivement associé à la sévérité des symptômes de fusariose et à la teneur en DON des grains de céréale, Les caractéristiques physiques, biologiques et biochimiques de la plante hôte. En effet, les différentes espèces et variétés de plantes céréalières hôtes possible de *Fusarium* présentent des degrés divers de résistance/susceptibilité à la Fusariose.

Le cycle de vie, l'équipement enzymatique, le potentiel toxigène de *Fusarium* sont autant de facteurs qui peuvent déterminer la virulence et/ou le degré d'agressivité du pathogène à l'égard de la plante hôte. Le terme pathosystème est parfois utilisé pour désigner l'ensemble des caractéristiques de la plante hôte et du pathogène.

Il est difficile à l'heure actuelle de pouvoir tirer des conclusions générales claires sur ces interactions. De plus, la chronologie des contaminations par telle ou telle espèce semble également avoir un impact important sur les espèces présentes et si l'espèce la moins pathogène est désavantagée, l'espèce la plus pathogène n'est pas avantagée pour autant (Simpson, Thomsett et al., 2004). Les facteurs environnants sont également à prendre en compte puisque l'humidité et la température peuvent favoriser une espèce par rapport à une autre. (Figure 9)

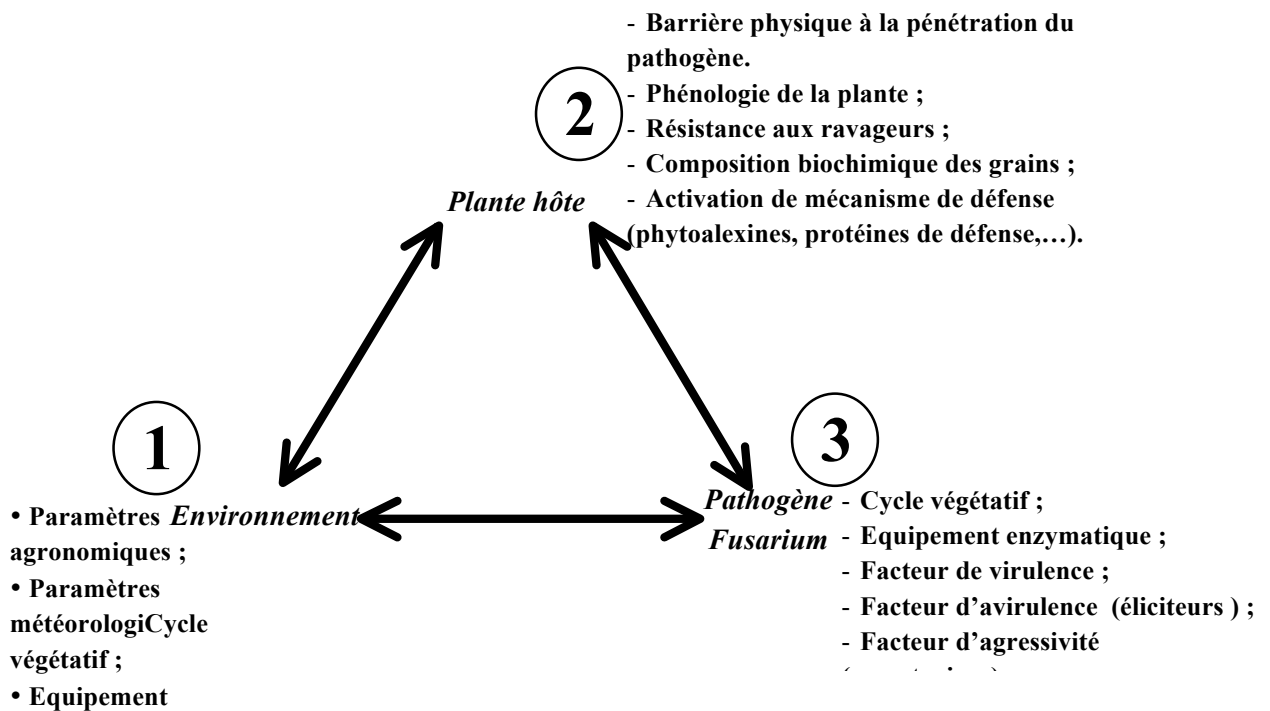


Figure 09: Modèle d'interaction entre l'hôte, le pathogène et leur environnement (Simpson, 2004).

III. Les mycotoxines

Les mycotoxines sont des molécules aux structures chimiques très variées. Ce sont des métabolites secondaires synthétisés par des champignons filamenteux parmi lesquels les genres principaux sont *Aspergillus*, *Penicilium*, *Fusarium*, *Alternaria* et *Claviceps* (Steyn, 1995). Les espèces de *Fusarium* produisent différents types de mycotoxines parmi lesquelles les plus fréquentes sont les trichothécènes, les fumonisines et la zéaralénone (Prandini et al., 2009). Ces mycotoxines sont connues pour être produites au champ, mais également lors du stockage du grain si de l'eau est disponible (Langseth et al., 1997).

III.1 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* sont très cosmopolites, ce qui explique l'importance de ces mycotoxines à l'échelle mondiale. Il existe une différence géographique pour la répartition des mycotoxines produites par *Fusarium*. Par exemple, on retrouve davantage de trichothécènes de type B en Europe et en Amérique du Nord que de trichothécènes de type A (Favre et al., 2004).

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 (Wang et al., 2011).

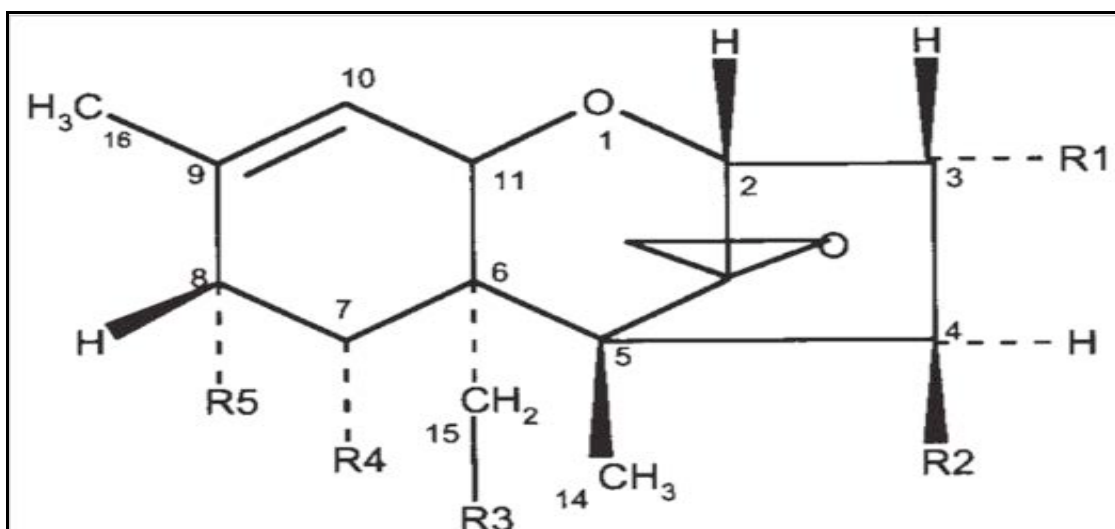


Figure 10: Structure générale des trichothécènes (Ponts, 2005).

III.2. Identification de chémotypes

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, 2004) :

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., 2004). De plus, deux isolats d'une même espèce de *Fusarium* ne synthétisent pas nécessairement non plus les mêmes trichothécènes B (Talas et al., 2011). Cependant, la prédominance des individus de chémotype DON dans la nature leur suggère un avantage sélectif pour l'infection des céréales et en particulier le blé. Malgré tout un maintien des deux chémotypes (Xu et Nicholson, 2009). Au sein d'une même espèce, il existe différents chémotypes et parmi les individus d'un même chémotype, la capacité de production de toxines in vitro (ou potentiel toxigène) est très variable.

III.3. Le rôle des TCTB dans le développement de la fusariose :

La production de métabolites par un organisme a un coût non négligeable, ce qui suppose une utilité de chacun de ces métabolites. Un avantage probable pour un organisme à produire des métabolites secondaires est la survie dans son environnement, tant pour se protéger contre les événements négatifs de cet environnement, que pour assurer sa nutrition (Fox et Howlett, 2008). Etant donné leur phytotoxicité et la pathogénicité des *Fusarium* vis-à-vis des plantes, les trichothécènes pourraient également être impliquées en tant que facteur de pathogénicité (ou pouvoir pathogène), c'est-à-dire dans le développement des champignons dans l'épi. En effet, une agressivité plus importante sur épi a été observée pour les souches productrices de ces molécules par rapport à des souches mutantes, non productrices (Proctor et al., 2002 ; Desjardins et al., 2001, Nicholson et al., 1998).

Cependant, d'après les travaux d' Arseniuk et al. (1999), même si une perturbation par mutation de la voie de biosynthèse des trichothécènes diminue la pathogénicité de *F. graminearum*, celle-ci n'est pas supprimée. (Gosman et al., 2010) ont également mis en évidence la relation entre la résistance à la colonisation de l'épi (résistance de type II) et la production de DON et, d'après (Bai et al., 2001), des mutants non producteurs de toxines ne s'étendent pas aux épillets adjacents. La production de DON ne serait donc pas nécessaire à la pathogénicité mais jouerait un rôle dans la virulence du champignon ; les

trichothécènes seraient donc des facteurs de virulence essentiels à la colonisation des épis et grains de blé par *Fusarium*.

L'expression des gènes de biosynthèse des toxines commence immédiatement après l'infection. Ces toxines produites en avant du front de l'infection ne seraient donc pas indispensables à l'initiation de la maladie mais faciliteraient la colonisation de leur hôte. Ceci suppose que d'autres facteurs interviennent dans le pouvoir pathogène de la fusariose tels que les enzymes de dégradation des parois, par exemple (Schwarz et al., 2002).

Enfin, un dernier rôle majeur des trichothécènes et notamment du DON évoqué dans la littérature serait dans la compétition avec d'autres microorganismes (champignons ou bactéries) (Xu et Nicholson, 2009).

Dès les premières minutes de l'interaction entre *Fusarium* et la plante, un dialogue moléculaire se met en place et engendre un changement massif dans l'expression des gènes. Chez le champignon *Fusarium*, des gènes liés à la virulence et à la pathogénicité ont été mis en évidence lors d'études sur l'interaction *F. graminearum*/hôte. Certains gènes Tri ou des gènes codant pour des lipases sont directement impliqués (Proctor et al., 1995).

La production de DON serait un facteur de virulence clé lors de l'infection du blé par *F. graminearum* (Jansen et al., 2007 et Proctor et al., 1995). La production de trichothécènes joue un rôle dans la progression du champignon d'un épillet à l'autre. La toxine inhiberait la production de callose au niveau du rachis qui constituerait une barrière physique pour limiter la progression du champignon (Jansen et al, 2007). Ceci permettrait donc au champignon de progresser plus rapidement chez l'hôte. De plus, la production de trichothécènes semble être tissu-spécifique au moment de l'infection et fortement induite au niveau du rachis (Ioos et al., 2004).

III.4.Méthodes de détection des mycotoxines

Les mycotoxines sont extraites avec des solvants spécifiques. Selon la méthode d'analyse, la purification de l'extrait se réalise soit sur colonne ou par partition avec des solvants appropriés. Il existe différentes méthodes qui permettent l'analyse des mycotoxines dans les denrées alimentaires. L'analyse de l'extrait peut se faire par des méthodes physico- chimiques qui sont généralement basées sur la chromatographie.

Il existe un grand nombre de modes de chromatographie dont la classification a été faite en fonction des mécanismes de séparation. Les facteurs qui interviennent dans le partage des molécules à séparer entre les phases fixe et mobile sont : la solubilité dans un solvant liquide, la taille, la polarité, la charge électrique, la présence de groupements d'atomes

formant des sites particuliers. Parmi les techniques de chromatographie, il existe : La chromatographie liquide haute performance (HPLC) (Desjardins et *al.*, 2000; Ponts et *al.*, 2006; Wang et *al.*, 2011), et la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS) (Kim et *al.*, 2003; Llorens et *al.*, 2006 ; Milanez et *al.*, 2006 ; Perkowskiet *al.*, 2008). Ces techniques sont fiables et permettent d'identifier et de quantifier les diverses toxines, même présentes à des taux très faibles, mais ils ont un coût élevé (Raimbault et *al.*, 2002 et Le Boulc'h et *al.*, 2000).

III.5. La réglementation

En Algérie, les teneurs en mycotoxines dans les aliments ne sont pas encore réglementées. En revanche, dans différents pays européens, il existe des normes prescrites pour veiller à la sécurité alimentaire. Ces normes sont fixées pour les principaux ingrédients alimentaires dérivés des céréales et elles sont de plus en plus destinées à être appliquées sur les produits bruts. Les teneurs maximales sont fixées à un niveau qui tient compte de l'exposition actuelle de l'homme par rapport à la dose tolérable de la toxine en question. En effet, les mycotoxines ne présentent un risque potentiel pour la santé humaine et animale que lorsqu'elles sont ingérées en conditions chroniques (Pestka, 2007).

Le comité scientifique de l'alimentation humaine (CSAH) a évalué les toxines du *Fusarium* et émis une série d'avis sur le déoxynivalénol (DON) en décembre 1999, sur la zearalenone en juin 2000, sur les fumonisines en octobre 2000 (avis actualisé en avril 2003), sur le nivalénol en octobre 2000, et il a procédé à une évaluation groupée des trichothécènes en février 2002.

De nouvelles réglementations de la Commission Européenne se sont précisées en 2005 en matière de fusariotoxines sur les céréales et leurs produits dérivés. 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 deoxynivalenol. 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 d'après la réglementation n°856/2005 du 6 Juin 2005.

IV. Les composés phénoliques

IV.1. Généralités

Les plantes ont à leur disposition un arsenal de métabolites secondaires plus important que les animaux, certainement lié à leur immobilité physique pour fuir leurs prédateurs. Les plantes ont par conséquent développé des mécanismes de défense basés sur la synthèse de composés chimiques parmi lesquels, les composés phénoliques (Georgé et *al.*, 2005).

Les composés phénoliques sont des substances naturelles caractéristiques du métabolisme secondaire, ils correspondent à une large série de structures chimiques qui ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. (Figure 11)

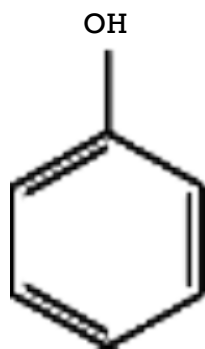


Figure 11: Structure générale des phénols (Packer, 2001).

Ils constituent un groupe de substances variées et ubiquistes. En font partie les flavonoïdes, les tanins les dérivés phénylpropanoïdes tels que les lignanes, les esters et amides hydroxybenzoïques, les stilbènes, les coumarines, les acides hydroxybenzoïques, les xanthones et de nouveaux composés sont identifiés continuellement (Marouf, 2000; Hopkins, 2003; Georgé et *al.*, 2005).

IV.2. Classification des polyphénols

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées). Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, etc.) (Herbert, 1989; Macheix et *al.*, 2005 et Beta et *al.*, 2005).

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant de simple phénol en C₆ aux flavonoïdes en C₁₅ et à des molécules proches.

Tableau 02: Les principales classes de composés phénoliques

Squelette carboné	Classe
C₆	Phénols simples
C₆ – C₁	Acides hydroxybenzoïques
C₆ – C₃	Acides hydroxycinnamiques coumarines
C₆ – C₄	Nephtoquinones
C₆ – C₂ – C₆	Stibènes
C₆ – C₃ – C₆	Isoflavonoïdes, flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> • Flavonols • Anthocyanes • Flavanones Flavanols
(C₆ – C₃)₂	Lignanes
(C₆ – C₃)_n	Lignines
(C₁₅)_n	Tanins

Source: (Harborne, 1980; Macheix *et al.*, 1990)

IV.3. Rôles, intérêts et propriétés des polyphénols

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux.

Ils peuvent en effet intervenir dans:

➤ La fertilité, la pigmentation, la signalisation et la protection contre des agents biotiques et abiotiques et encore la formation de polymères structuraux comme la lignine; (Guignard et *al.*, 1985; Maury et Legrand 2000; Brouillard et *al.*, 1997 et Macheix et *al.*, 2005)

➤ Des travaux plus anciens (Nitsch, 1961) ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques: croissance cellulaire, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation.

➤ Les cellules végétales répondent aux stimuli environnementaux en synthétisant les métabolites secondaires qui peuvent les protéger contre les agents de l'agression (Misirli et *al.*, 2001) lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. Ces réactions aboutissent à la formation au niveau de la blessure d'un tissu cicatriciel résistant aux infections (Fleuriet et Macheix, 1990; Macheix et *al.*, 2005 et Brouillard et *al.*, 1997).

➤ Dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume et qualité nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules) et des produits qui en dérivent par transformation; (Macheix et *al.*, 2005 et Dicko et *al.*, 2006).

➤ Dans la variation de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des besoins fermenté ...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini; (Amiot et *al.*, 1997; Fleuriet et Macheix, 1990; Lattanzio et *al.*, 1994 et Macheix et *al.*, 1990).

IV.3.1. Les acides phénoliques et les mécanismes de résistance des grains de blé à la Fusariose

Plusieurs travaux ont mis en évidence une possible relation entre les teneurs en acides phénoliques des grains et le degré de résistance à la Fusariose chez le blé (Siranidou, Kang et *al.*, 2002). Ces acides phénoliques peuvent être solubles ou encore liés à la paroi. Ils peuvent donc jouer un rôle dans le renforcement de la paroi ou encore comme molécules

antifongiques lorsqu'ils sont solubles ou lorsque la paroi est dégradée sous l'activité d'enzymes fongiques de dégradation des parois végétales (CWDE : Cell Wall Degrading Enzymes).

Il est possible de classer les composés antimicrobiens des plantes en deux catégories

- Les phytoalexines : composés antimicrobiens synthétisés de novo qui s'accumulent sur le site de l'infection.
- Les phytoanticipines : composés constitutifs des plantes qui interviennent sous forme native ou après transformation, généralement hydrolyse.

En réponse à l'infection, il a été observé une augmentation des teneurs en acides phénoliques dans les grains de blé résistent à la fusariose (Reid et *al.*, 1992 et Siranidou et *al.*, 2002). Cette augmentation des teneurs en acides phénoliques pourrait provenir d'une synthèse (phytoalexine) ou d'une libération des acides phénoliques des parois (phytoanticipine).

La présence des acides phénoliques dans les complexes des parois cellulaires suggère un rôle constitutif de ces composés. Les formes liées à la paroi de l'acide férulique peuvent subir une hydrolyse par des feruloylsterase fongique et se retrouver disponibles pour l'interaction *In vitro* (Guiraud et *al.*, 1995).

Les céréales contiennent des acides phénoliques solubles, en faibles quantités. Dans les sons de blé, le contenu en acides phénoliques solubles (libre et estérifié) est d'environ 80 µg/g (Kim et *al.*, 2006). Ces concentrations dans le grain de blé ne permettent pas d'attribuer un rôle fongitoxique significatif aux acides phénoliques solubles

V. Moyens de lutte

V.1. Les pratiques culturales

L'inoculum principal étant conservé dans les résidus de culture, un travail du sol permet l'enfouissement des résidus et donc limite les risques d'apparition de la maladie (Champeil et *al.*, 2004). Certaines cultures, comme le maïs et le blé, sont plus sensibles aux attaques de fusariose ; les résidus issus de ces cultures sont des sources d'inoculum pour l'année suivante. Il est donc nécessaire d'intégrer cette sensibilité dans la rotation des cultures, en évitant la succession de cultures sensibles (Parry et *al.*, 1995). L'irrigation, la fertilisation azotée et le contrôle des adventices jouent également un rôle dans le développement de la Fusariose (Muthomi, 2000) mais ils restent mineurs par rapport aux deux leviers présentés précédemment.

V.2. La lutte chimique

Une fois la culture installée, le recours à la lutte chimique est toujours possible mais avec une efficacité limitée. Toutefois, appliqué à la bonne dose et au bon stade, un traitement à l'aide d'un produit spécifique est un levier supplémentaire pour lutter contre la fusariose. La diversité des agents pathogènes ainsi que les différences d'efficacité des matières actives d'une espèce à l'autre complexifient cette lutte. En effet, les travaux de Simpson et *al.*, (2001), soulignent la sensibilité des champignons du genre *Fusarium* aux triazoles et ceux du genre *Microdochium* aux strobilurines. Depuis, des résistances sont apparues limitant l'intérêt des strobilurines dans cette lutte.

De nouvelles solutions ont été récemment développées couplant par exemple plusieurs familles chimiques comme les triazolinthione et triazole pouvant réduire jusqu'à 70% de la maladie au champ.

V.3. La 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 *Phomabetaea* 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 et 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).

V.4. La résistance variétale

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.

Schroeder et Christensen (1963) ont distingué plusieurs types de résistance chez le blé : il s'agit de 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.

La meilleure approche permettant de lutter efficacement contre la Fusariose serait donc une approche intégrée combinant de bonnes pratiques culturales, l'utilisation de variétés tolérantes ainsi qu'une application fongicide à la bonne dose et au bon stade de développement de la plante (Wagacha et Muthomi, 2007). Toutefois, l'amélioration des pratiques culturales reste le levier de lutte le plus efficace contre la Fusariose de l'épi.

Partie II :

Matériel et méthodes

I. Prospections et échantillonnage

Des échantillons de 500 g de grains ont été collectés durant la campagne 2013 /2014 de façon aléatoire après la moisson des champs, situés dans différentes régions céréalières, appartenant à 3 étages bioclimatiques à savoir : le littoral et sublittoral, les hauts plateaux et la région aride inférieure.

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 pour chaque échantillon.

Tableau 03: Les échantillons récoltés dans les différents étages bioclimatiques.

<i>Etages bioclimatiques</i>	<i>Régions</i>	<i>Variétés</i>
Haut plateaux	Bordj Bou Arreridj	-MBB -GTA
Littoral et sublittoral	Oued smar (Alger)	VITRON
Arides inférieure	-El assafia (Laghouat) - Bordj snoussi	-VITRON _{AS} -BOUSSELAM

II. Isolement et identification morphologique des champignons associés à la Fusariose de l'épi

Pour l'isolement et l'identification des espèces fongiques, des sous échantillons de 100 grains de blé ont été préparés à partir de 500 g provenant de différents champs de blé. Les grains ont été d'abord désinfectés superficiellement dans une solution d'hypochlorite de Sodium 2% pendant 4 min, puis rincés 2 fois à l'eau distillée stérile. Les grains ainsi

désinfectés ont été séchés sur papier filtre stérile. Les grains ont été repiqués dans des boîtes de Pétri contenant du milieu DCPA (Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar);

Composé (dans un 1000ml d'eau distillée : 15g peptone bactériologique ; 1g K₂HPO₄ ; 0,5g MgSO₄.7H₂O ; 0,2g Chloramphénicol ; 0,2g Dichloran et 50mg Crystal violet) sont incubées 10-12 jours dans une étuve à une température de, 25°C en alternance éclairage-obscurité 12h/12h. ANDREWS S., PITT J. (1986) et adaptée par B. Cahagnier, INRA Nantes, comm. Pers.

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'incubation peuvent être placées sur les paillasses ou sur des étagères du laboratoire pourvu que celui-ci soit climatisé (22°C±3°C) et permette une alternance 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 blanche 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 >2mm /jour et mycélium aérien abondant). Les autres genre de champignons peuvent croître mais vont présenter une vitesse de croissance radiale relativement faible (>2mm /jour) et un mycélium aérien très peu abondant voire inexistant.

De plus, il a été montré que ce milieu était significativement plus efficace que le milieu PDA pour la détection des *Fusarium spp.* Il est toutefois à noter que pour certaines espèces (*F. culmorum*, *F. proliferatum*, *F. moniliforme* et *F. subglutinans*), l'extrême abondance de leur sporulation (sporodochia évoluant en pionnotes) déprime le mycélium aérien jusqu'à rendre l'aspect de la culture ras et gras. Néanmoins, la vitesse de la croissance radiale de ces espèces sur le milieu DCPA dépasse très largement 2 mm/jour.

Ensuite, pour l'identification morphologique des espèces fongiques associées à la Fusariose de l'épi, les colonies qui se sont développées à partir des grains et qui semblent appartenir à ce complexe, ont été repiquées sur un nouveau milieu PDA. Après 5 à 7 jours d'incubation à 25 °C, les différentes colonies ont été séparées en groupes selon l'aspect des colonies. Ensuite, des cultures monosporales ont été préparées à partir des colonies représentatives de chaque groupe puis repiquées sur milieux PDA.

Sur PDA, la morphologie des colonies à savoir la densité, la pigmentation du mycélium, ainsi que l'extension de la colonie ont été notées. Les caractéristiques microscopiques ont été déterminées, il s'agit de l'observation des types de spores développées, de la forme, de la taille et de la septation des macroconidies, ainsi que de la présence ou de l'absence des chlamydospores et périthèces. Les espèces appartenant au genre *Fusarium* ont été identifiées morphologiquement en utilisant les clés d'identification de Lesslie et *al.*, (2006).

Ensuite, le taux d'infestation de la maladie a été évalué par le pourcentage de grains à partir desquels le complexe fongique associé à la fusariose de l'épi s'est développé.

Les espèces identifiées ont été conservées en tubes inclinés sur PDA.

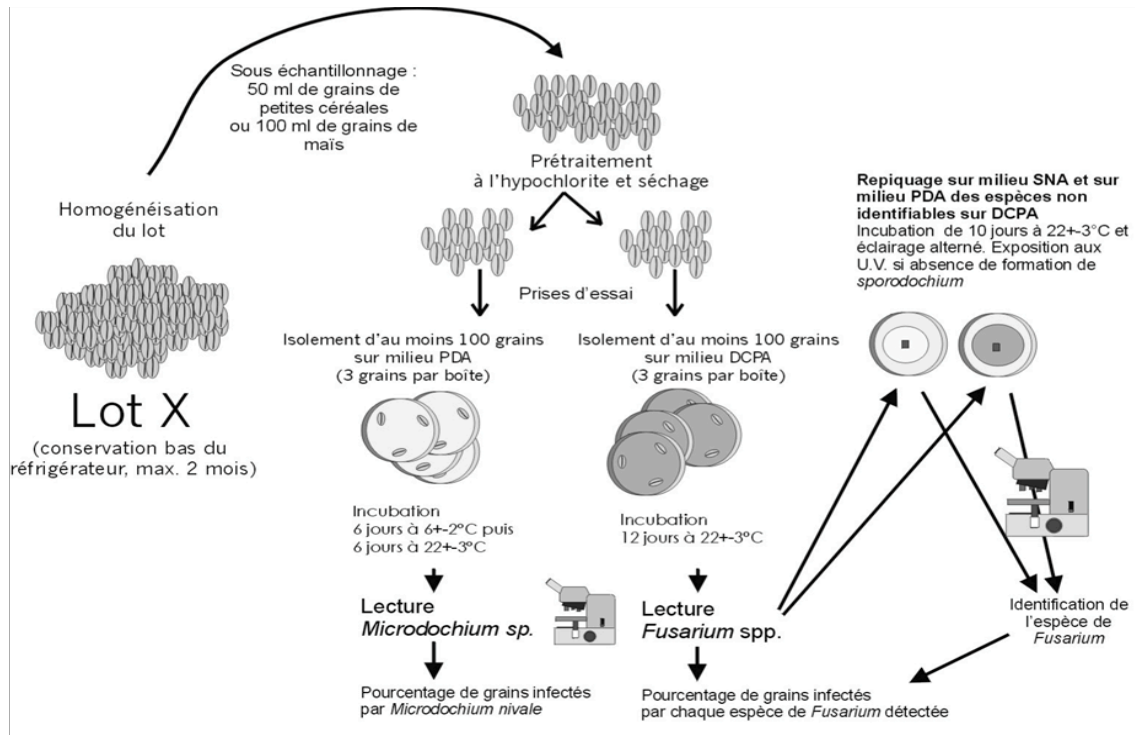


Figure 12: Récapitulatif du protocole d'analyse de grains de céréales pour la détection de *Fusarium spp.* Et *Microdochium nivale* (INPV, 2008).

III. Comparaison de la vitesse de croissance des isolats de *Fusarium*

Au cours de cet essai, 10 isolats de *Fusarium* ont été choisis arbitrairement. Ces isolats ont été utilisés d'une part pour évaluer leur vitesse de croissance et d'autre part leur potentiel toxigène. Des boîtes de pétri de 9 cm de diamètre contenant le milieu PDA sont ensemencées par des explants (4mm de diamètre) de cultures des différents isolats de *Fusarium*, âgés de 7 jours à raison de 2 répétitions pour chaque isolat. Les explants sont déposés au centre de la boîte, des mesures de la croissance mycélienne sont effectuées régulièrement tous les jours.

Tableau 04: Liste des isolats utilisés

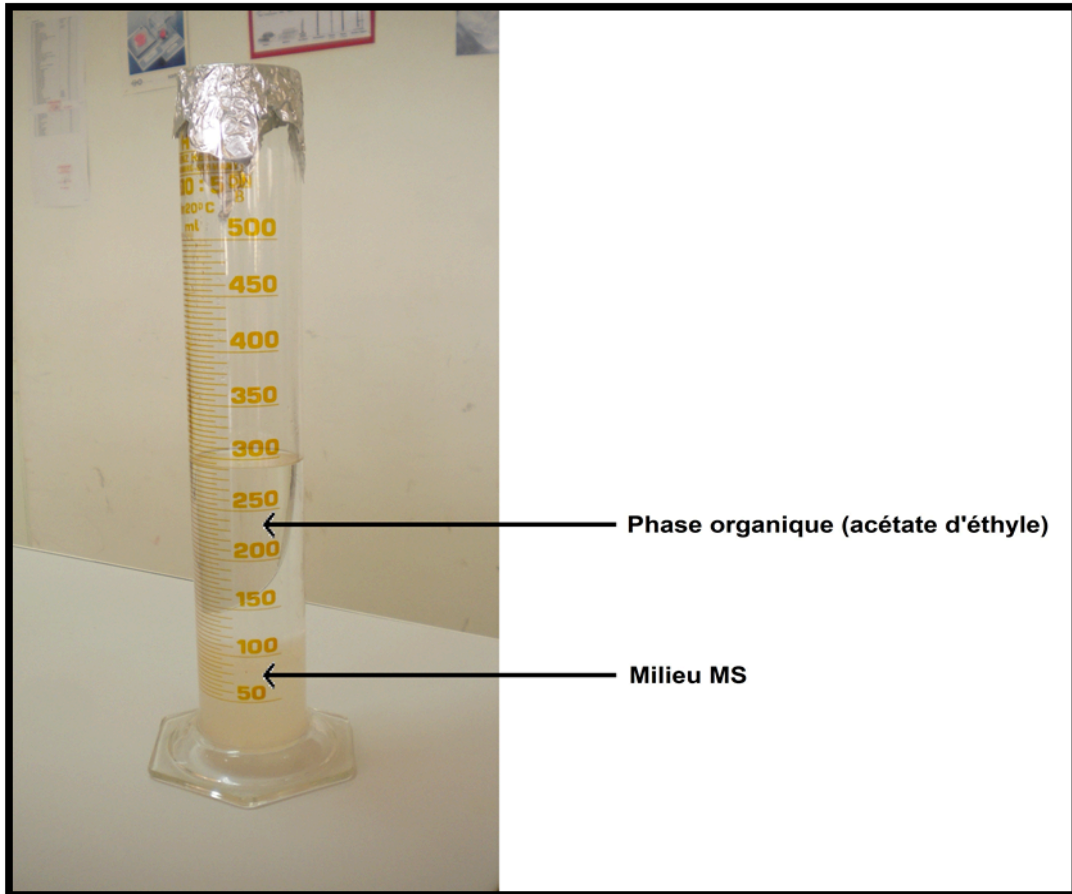
<i>N° d'isolat</i>	<i>Code expérimental</i>	<i>Espèces</i>	<i>Organe d'isolement</i>	<i>Année d'isolement</i>
Iso1	F ₁ C.D014	<i>F.culmorum</i>	Graine	2014
Iso2	F ₂ C.N013	<i>F.culmorum</i>	Graine	2013
Iso3	F ₃ C.014	<i>F.culmorum</i>	Lignée	2014
Iso4	F ₄ P.013	<i>F.pseudograminearum</i>	Graine	2014
Iso5	F ₅ P.011	<i>F.pseudograminearum</i>	Epi	2011
Iso6	F ₆ C.014	<i>F.culmorum</i>	Graine	2014
Iso7	F ₇ C.014	<i>F.culmorum</i>	Graine	2014
Iso8	M ₈ .013	<i>Microdochium</i>	Graine	2013
Iso9	F ₉ G.014	<i>F.graminearum</i>	Racine	2014
Iso10	F ₁₀ C.013	<i>F.culmorum</i>	Graine	2013

IV. Analyse par CCM du potentiel toxigène des isolats de *Fusarium*

IV.1. Extraction des TCTB à partir de milieux de cultures MSM

Les isolats ont été repiqués sur des boîtes PDA incubées 7 jours à 25 °C à l'obscurité.

Pour l'induction de la production des mycotoxines, le milieu de culture liquide MSM (Mycotoxin Synthetic Medium) de Vogel (1956) [0,5 g/L de KH₂PO₄ ; 0,6g/L de K₂HPO₄ ; 0,017g/L de MgSO₄ ; 1g/L de (NH₄)₂SO₄ ; 0,1 mg/L de biotine ; 20 g/L de glucose ; et 0,1mL/L d'une solution de sels minéraux 50X] a été utilisé. La préparation de ce milieu de culture consistait dans un premier temps à faire dissoudre le glucose dans l'eau, puis à l'autoclaver 30 min à 105 °C ; puis, les différentes solutions des autres constituants ont été additionnées stérilement. Un volume de 100 mL du milieu MSM a été réparti stérilement dans des fioles erlenmeyer de 200 ml. Après inoculation des fioles avec des explants de 6mm de diamètre, prélevés d'une colonie pure de chaque souche âgée de 7jours. Les flacons hermétiquement fermés ont été incubés à l'obscurité à 25°C. Pour chaque isolat trois répétitions ont été testées. Après 14 jours de culture, les cultures ont été arrêtées.



(Originale, 2015).

Figure 13: Séparation des deux phases



(Originale, 2015).

Figure 14: Evaporation de l'extrait par rotavap

IV.2. Analyse des TCTB par CCM

Le milieu CMC utilisé pour favoriser une meilleure production des spores des *Fusarium*. Le principe de cette technique c'est de mettre les cultures standard en fioles Erlenmeyer contenant 100ml de milieu de culture liquide inoculé avec des explants, prélevés d'une colonie pure de chaque souche âgée de sept jours. Les flacons sont hermétiquement fermés, sont incubés à 25°C pendant huit jours. Après incubation, les cultures sont arrêtées par filtration sur des filtres en polyéthylène stériles.

L'identification du potentiel toxigène des isolats de *Fusarium* a été basée sur une méthode physico-chimique, la chromatographie sur couche mince (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 par l'autre phase.

Pour déterminer le type de trichotécènes produit et identifier les chémotype DON et NIV, dix isolats de *Fusarium* ont été pris au hasard et analysés par CCM.

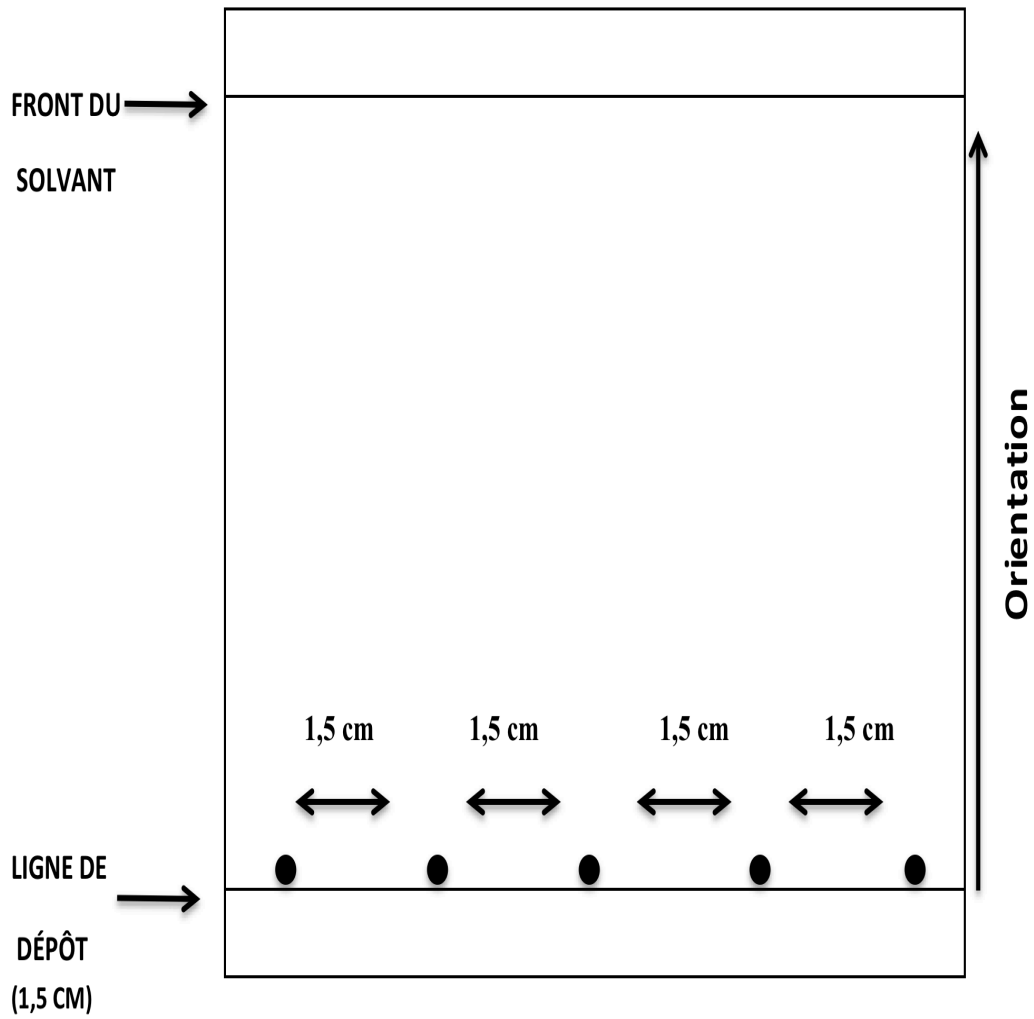
Celle-ci a été réalisée en utilisant des plaques de CCM prêtes à l'emploi comportant déjà une couche de 0,25mm de gel de silice(Trucksess, 1984 et IPCS, 1990).

Les extraits secs des isolats testés au cours de cet essai ont été extraits selon le protocole de Boutigny (2007).

La chromatographie est placée dans la cuve en vapeur de solvant, en prenant soin d'éviter tout contacte entre le dépôt ponctuel et le solvant.

La CCM est développés à une distance de migration de 10 cm à l'abri de la lumière et à température ambiante, dans un solvant d'éluant constitué d'acétate d'éthyle et hexane de volume (8/2) respectivement.

Après migration et évaporation du produit d'éluant et l'utilisation d'un révélateur: Chlorure d'alumine, la plaque est examinée sous UV. La présence des mycotoxines, se traduit par une fluorescence bleue. Cette réaction est pertinente en (IPCS, 1990). On peut atteindre avec cette méthode des limites de détection de l'ordre de 20 µg/Kg dans les aliments (Kamimura, 1981).



(Originale, 2015).

Figure 15: CCM monodimensionnelle

V. Sensibilité des variétés de blé les plus cultivées et quelques lignées à la Fusariose de l'épi

La sensibilité des variétés de blé dur et de blé tendre les plus cultivées en Algérie et quatre lignées à l'espèce *F. culmorum*, qui est responsable de la fusariose de l'épi, a été étudiée suite à des inoculations artificielles des épis sous conditions naturelles.

Ce test d'inoculation a été aussi effectué dans le but de comparer la pathogénie de deux isolats de *Fusarium culmorum* entre eux de chémotype différents DON et NIV.

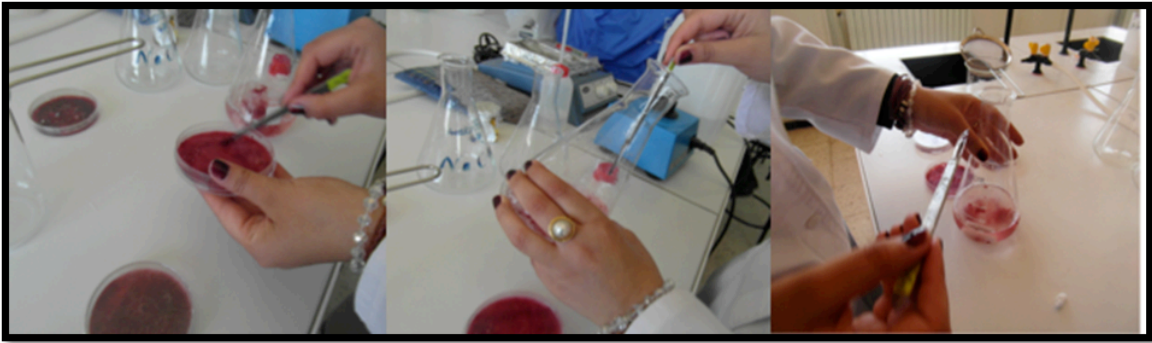
Huit variétés de blé dont 3 variétés de blé dur (CIRTA ; BOUSSELAM ; WAHBI), 1 variété de blé tendre (ARZ) et 4 lignées (15BD ; 3BD ; 1BD et V18BD) ont été étudiées. Les semences des diverses variétés ont été semées dans des pots en plastiques (15 x 15 cm²) à raison de 5 graines par pot, contenant un substrat constitué de 50% terre de jardin et 50% compost. Les pots ont été arrangés en randomisation totale avec deux facteurs et trois répétitions mis dans une ferme en plein air. L'irrigation a été maintenue régulièrement avec une solution nutritive de NPK (20-20-20).

Tableau 5: Liste des variétés et des lignées utilisées

<i>Variétés et lignées</i>	<i>Région géographique</i>	<i>Année de récolte</i>
CIRTA BD	Sétif	2012
BOUSSELAM BD	Sétif	2012
WAHBI BD	Sétif	2012
ARZ BT	Sétif	2012
L15BD	Sétif	2012
L3BD	Sétif	2012
L1BD	Sétif	2012
LV18BD	Sétif	2012

V.1. Préparation de l'inoculum

Dans cet essai, deux isolats de *F. culmorum* ont été utilisés, Chaque isolat a été cultivé parallèlement sur 5 boîtes contenant du milieu PDA pendant 10 jours et à 25 °C. Les spores ont été récupérées par grattage et filtration des cultures. Ensuite, les suspensions sporales obtenues ont été ajustées à l'aide de la cellule de Malassez à la concentration de 10⁶ spores/ mL (Figure16).



(Originale, 2015).

Figure 16: Préparation de l'inoculum en suspension sporale.

V.2. Inoculation

L'inoculation a été réalisée au moment de la floraison par pulvérisation de 3 mL de suspension sporale additionnés de 0,025% de Tween 20. Cette opération a été effectuée à l'aide d'un pulvérisateur donnant un jet homogène et continu. Un total de 12 épis (quatre épis par pot, trois pots par variété) ont été inoculés et un pot témoin a été pulvérisé avec de l'eau distillée stérile. Une fois inoculées, les plantes ont été couvertes par des sachets en plastique pour le maintien d'une humidité relative supérieure à 90%. Le suivi des plantes inoculées a été fait quotidiennement pour observer le développement des symptômes (figure17).



(Originale, 2015).

Figure 17: Inoculation des plants d'épis de blé par la suspension sporale.

Analyse des données

L'incidence de la fusariose sur les différentes variétés testées, a été estimée chaque période de 7 jours (7, 14, 21, et 28 jours après l'inoculation des épis) par le nombre des épillets infestés par épi (trois épis par pot, trois pots par variété). Puis, ces mesures ont été transformées en surface sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC, Area Under Disease Progress Curve). Des valeurs faibles de l'AUDPC suggèrent une tolérance/résistance élevée. L'AUDPC a été définie par Shaner et Finney (1977), et il est utilisé pour résumer la progression de la maladie.

L'AUDPC standardisée est calculée la formule suivante :

$$AUDPC = \sum_{i=1}^n [(Y_i + Y_{i+1})/2][(X_i - X_{i+1})]$$

Avec n = nombre total d'observations = 4 ; Y_i = nombre d'épillets infestés à chaque observation; (x_{i+1} - x_i) = durée séparant deux observations consécutives = 7 jours.

Pour chaque variété testée, les moyennes d'AUDPC ont été calculées sur la base des Moyennes de valeurs obtenues à partir des 9 épis (trois épis par pot, trois pots par variété).

Ensuite les données ont été soumises à une analyse de la variance en utilisant le logiciel stat box végétal.

La comparaison des moyennes a été réalisée par les tests Duncan avec un seuil De 5%.

VI. Extraction et dosages des acides phénoliques

VI.1. Matériel végétal

➤ Récolte des plantes

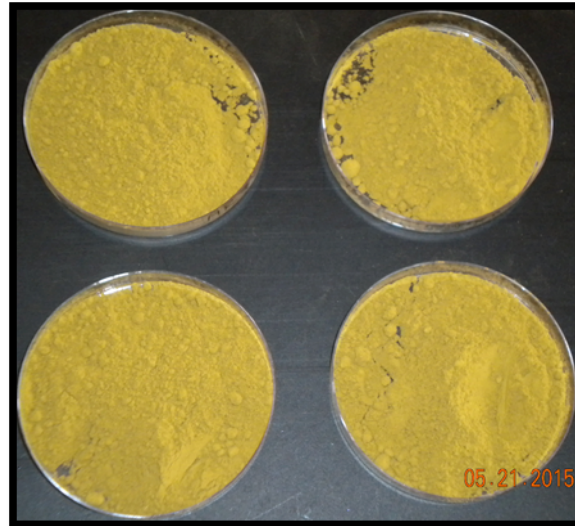
La récolte des épis a été effectuée au stade de floraison.

➤ Séchage

Les échantillons ont été séchés à l'abri de la lumière et à température ambiante.

➤ Broyage

Une fois le matériel séché, il subit un broyage jusqu'à avoir une poudre fine (figure 18).



(Originale, 2015).

Figure 18: Poudre obtenue après le broyage de matériel végétal.

VI.2. Extraction des composés phénoliques

La méthode d'extraction utilisée pour les composés phénoliques est celle de (Hertog et *al.*, 2006) modifiée (Djerdane et *al.*, 2007). L'opération est réalisée en trois étapes.

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour extraire les principes actifs (Djerdane et *al.*, 2007).

La masse choisie est de 5g de poudre de chaque variété, elle est macérée dans un mélange hydro-alcoolique (méthanol /eau 80/20 : V/V) pendant 48h à température ambiante et à l'obscurité.

Après filtration les extraits hydro-alcooliques subissent une évaporation dans un rota-vapeur à une température de 50°C.

Extraction liquide-liquide

Les extractions sont parmi les méthodes les plus utilisées en analyse pour séparer les mélanges, Elles reposent sur la différence d'affinité d'un soluté entre deux phases qui permet de transférer un soluté d'une phase liquide à une autre phase liquide non-miscible. (Demirdjian, 2007).

Au laboratoire, on travaille sur des volumes de solution à extraire on utilise des ampoules à décanter (figure19) on choisit une ampoule de volume qui convient à la phase liquide qui occupe au max la moitié de l'ampoule.



(Originale, 2015).

Figure 19: Ampoule a décanter.

Ether de pétrole : élimine les pigments chlorophylliens, caroténoïdes, les lipides et tous composés non phénoliques.

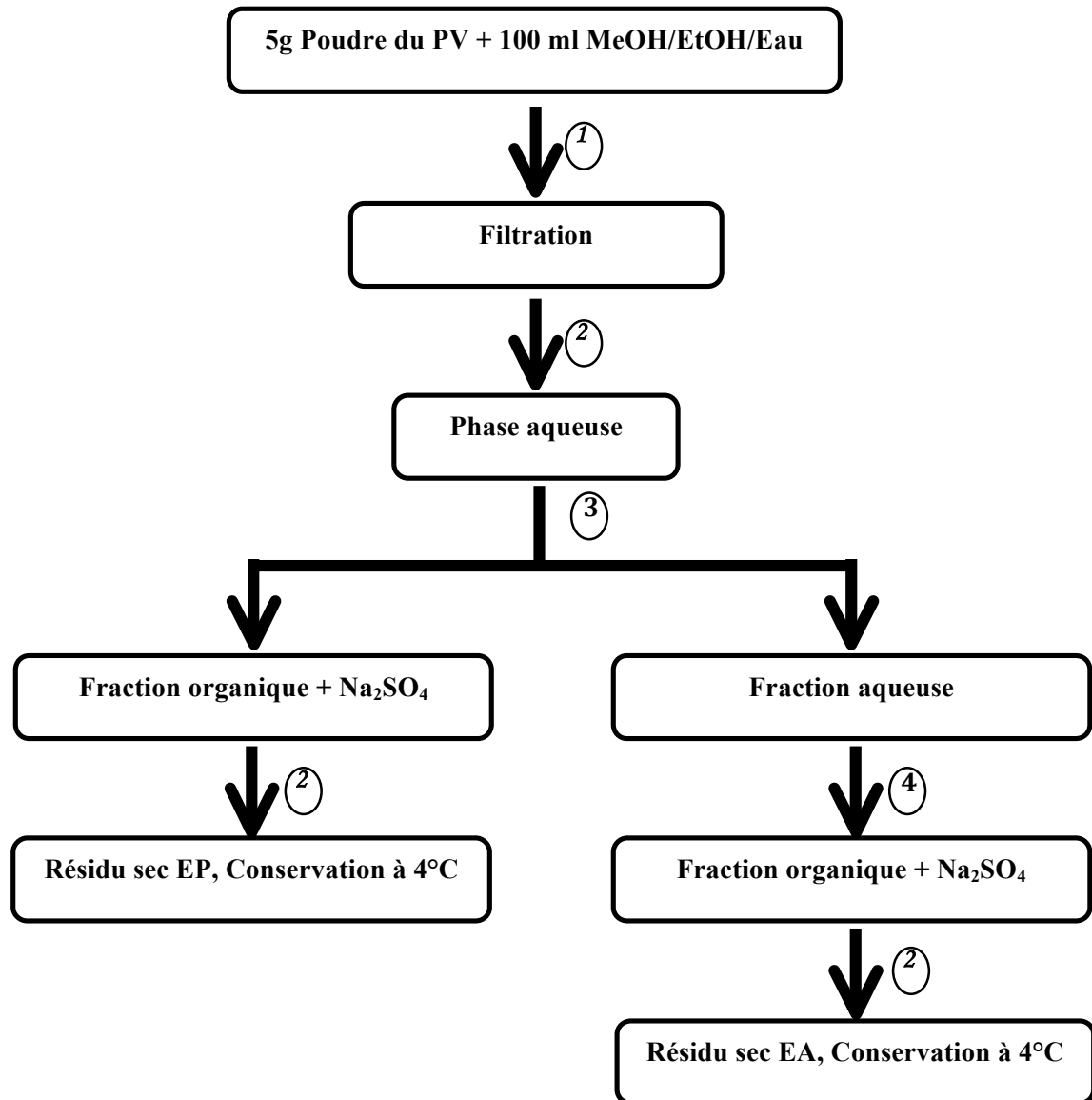
La phase aqueuse de chaque extrait est lavée un ou plusieurs fois jusqu'à l'épuisement total avec un demi-volume de l'éther de pétrole dans une ampoule à décanter afin d'éliminer toutes traces de composés apolaires (pigments, lipides, etc.).

Pour l'élimination de toute trace d'eau, on utilise le sulfate de sodium anhydre Na_2SO_4 puis une filtration de la phase organique qui est suivi par une évaporation.

Acétate d'éthyle : cette extraction entraîne les mono-o-glucosides et partiellement les di-o-glucosides.

La phase aqueuse ainsi obtenue est ensuite lavée plusieurs fois avec l'acétate d'éthyle.

Les résidus obtenus après évaporation sont conservés à 4°C et à l'obscurité jusqu'à leur utilisation.



1: Filtration.

2: Evaporation 55°C sous pression réduite.

3: Extraction par l'éther de pétrole.

4: Extraction par l'acétate d'éthyle.

EP : extrait d'éther de pétrole

EA : extrait d'acétate d'éthyle

(Originale, 2015).

Figure 20: Procédure d'extraction.

VI.3. Analyse des acides phénoliques par spectrophotomètre :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par Singleton et Ross (1965) avec le réactif de folin –Ciocalteu (Ragae et *al.*, 2006). Le réactif est formé d'acide phosphotungestique H₃PW₁₂O₄₀ et d'acide phosphomolybdique H₃PMo₁₂O₄, qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₃), ce qui nous aide à mesurer par un spectrophotomètre les phénols dans le visible à une longueur d'onde de l'ordre 760 nm.

La molécule standard choisie dans ce travail pour l'analyse quantitative des composés phénoliques est l'acide gallique ; Une courbe d'étalonnage a été obtenue à partir des solutions de différentes concentrations de la molécule standard. 100µl de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 500µl du réactif de Folin-Ciocalteu. Après incubation pendant 2 minutes, 2ml de carbonate de sodium à 20% ont été ajoutés, puis les solutions ont été secouées immédiatement et sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante.

L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760nm dans un spectrophotomètre.

Analyse statistique des résultats

Les moyennes des traits de croissance de chaque isolat avec deux répétitions aussi l'indice d'attaque de sévérité et l'intervalle de la confiance AUDPC ont été calculées en utilisant l'Excel. La comparaison des indices de la sévérité de la maladie a été estimée par l'analyse de la variance ANOVA en utilisant statbox végétal.

Partie III :

Résultats et discussion

RÉSULTATS

I. Evaluation de la distribution de la Fusariose de l'épi et identification des espèces fongiques impliquées

La fusariose de l'épi est connue comme l'une des maladies les plus redoutables du blé dans les régions céréalières humides et sub-humides de par le monde (McMullen et *al.*, 1997; Gilchrist et Dubin, 2002). La période critique pour le développement de cette maladie débute à l'épiaison et s'étend jusqu'à la floraison des épis de blé. Pendant cette période, la pluie et l'humidité associées à des températures fraîches favorisent l'infestation et le développement épidémique de la maladie. Une fois que les spores sont présentes sur la plante, il existe différentes voies de pénétration des *Fusarium spp.*

On peut citer l'infection via des blessures infligées par des ravageurs et les anthères chez le blé (Sutton 1982, Miller, et *al.*, 2004, Schmale, et *al.*, 2005). Plusieurs espèces fongiques, notamment de *Fusarium* et *Microdochium*, peuvent être impliquées dans la maladie et la prédominance de chacune des espèces varie en fonction des années, des régions et même des parcelles (Smiley, 2002). L'identification de l'espèce impliquée est nécessaire pour un meilleur contrôle de la maladie.

I.1. Résultats des isolements

Les résultats des isolements à partir de la graine montrent un taux de contamination élevé pour les semences analysées.

Tableau 06: Taux de contamination de la semence par *Fusarium*

Variétés	Taux de contamination par <i>Fusarium</i> %	Autres contaminants %	Graines saines %
MBB	26	16	58
GTA	21	56	23
VITRON _{AS}	32	58	10
VITRON	50	20	30
Blé dur	39	24	37

Les résultats obtenus ont permis d'estimer le taux de contamination des grains de blé par le complexe Fusarien, nous avons constaté que la variété VITRON est la plus contaminée avec un taux de contamination de 50%, alors que les variétés les moins contaminées sont MBB, GTA, VITRO respectivement avec des taux de 26%, 21%, 32%.

Le milieu DCPA est un milieu sélectif, il permet l'obtention de colonies de *Fusarium* sans gêner les autres contaminants, cette méthode 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).

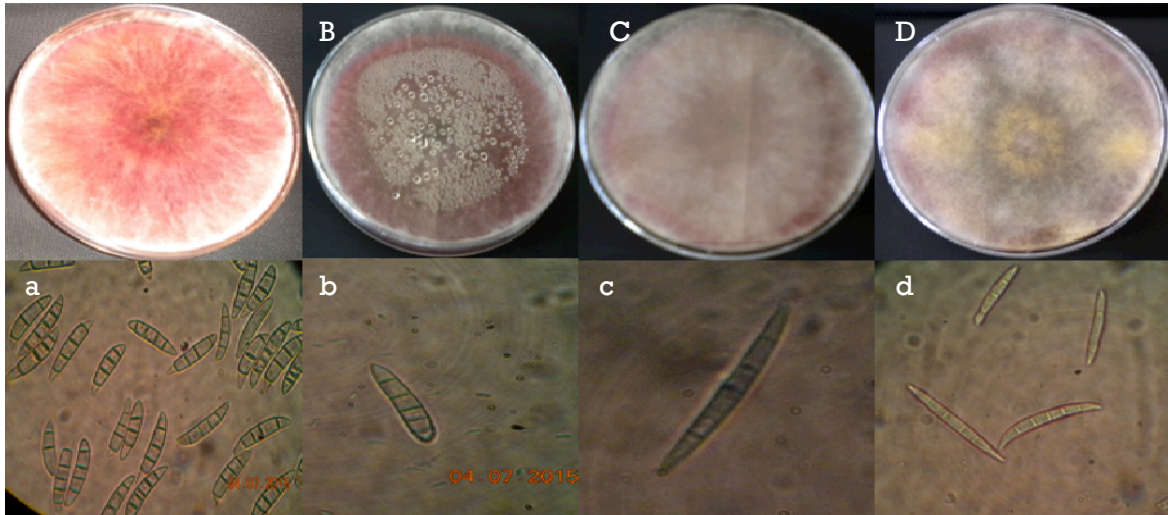
Le milieu PDA est un milieu riche et non sélectif, favorise le développement d'un large spectre de moisissures envahissantes. Ainsi la sporulation du mycélium des *Fusarium* est favorisée par ce milieu (LNPV, 2002).

I.2 Identification des espèces associées à la maladie

Les résultats des cinq lots d'échantillons de blé analysés ont montré un taux de contamination de 33,6% par le genre *Fusarium*, les colonies développées sur le milieu semi sélective ont été transférées au milieu PDA pour l'identification.

L'identification a montré la présence de quatre espèces fongiques à savoir *F.culmorum*, *F .poae*, *F. graminearum*, *F. pseudograminearum* (Figure 21).

La détermination morphologique de l'espèce d'un isolat de *Fusarium* repose sur l'observation de nombreuses caractéristiques anamorphiques sur des milieux de culture bien définis, l'identification pourra être réalisée en utilisant les clés de références de Leslie et al. (2006). Ces clés permettent d'identifier la très grande majorité des espèces de *Fusarium*. 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.).



(Originale, 2015).

Figure 21: Aspect morphologiques et microscopiques (G x 40) des espèces fongiques isolées à partir des grains de blé : (A) colonie de *F. culmorum*, rose à rouge brunâtre ; (B) colonie rouge à blanc de *F. poae* ; (C) colonie duveteuse de *F. graminearum* floconneuse, rose grisâtre à rouge ; (D) colonie de *F. pseudograminearum* couleur rouge et qui vire vert le marron ; (a) Macroconidies fusiformes, courbées et septées de *F. culmorum*; (b) présence de microconidies à Paine visible, les macroconidies courbées et septées de *F. poae* ; (c) Macroconidies fusiformes courbées et septées de *F. graminearum* ; (d) Macroconidies effilées, longues, étroites et septées de *F. pseudograminearum*.

I.3. La vitesse de la croissance des isolats de *Fusarium*

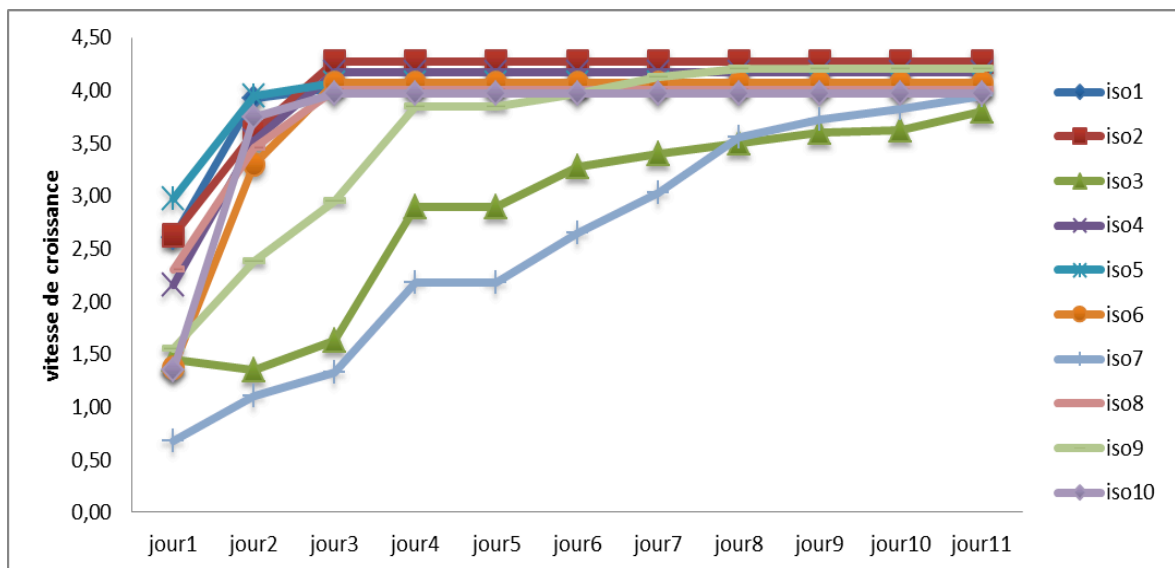
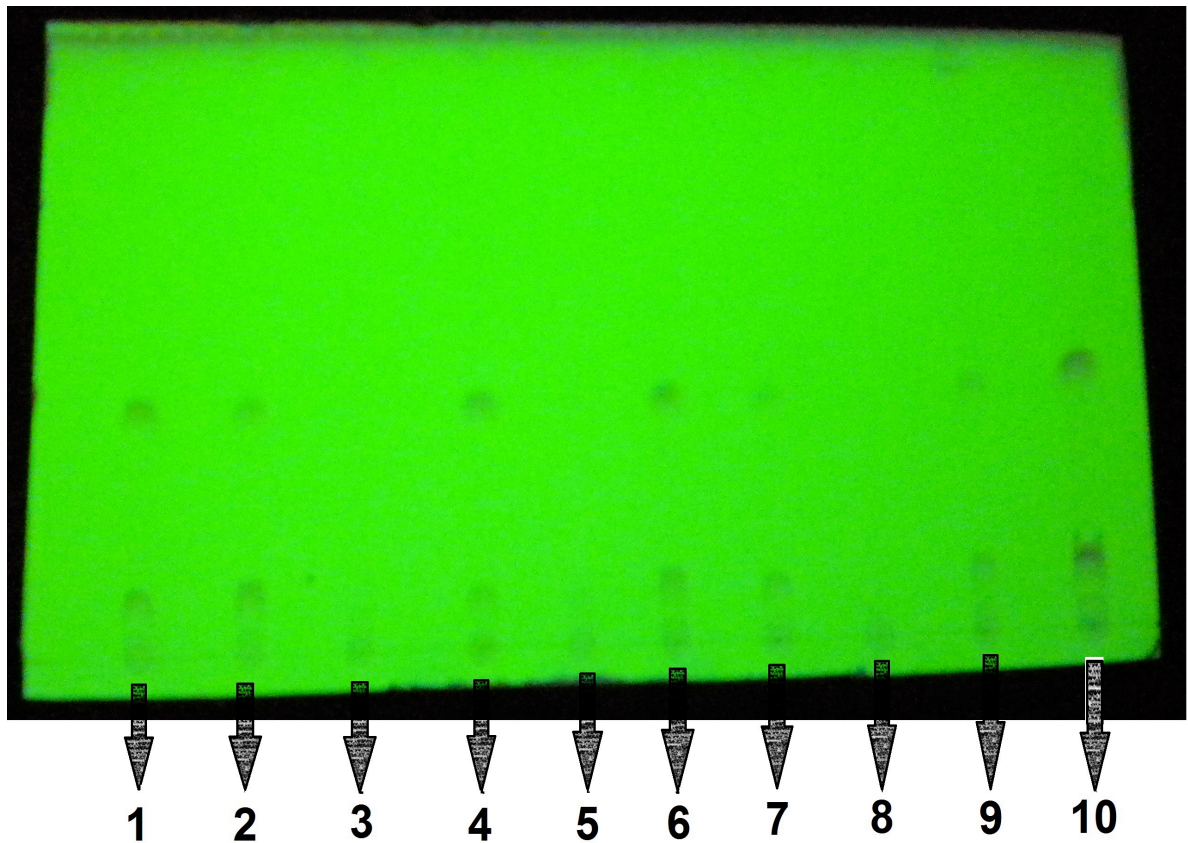


Figure 22: Courbe présentant la vitesse de la croissance des différents isolats.

La mesure de croissance radiale sur PDA a permis de déterminer la vitesse de croissance des souches. Les 10 isolats appartenant aux différentes espèces du *Fusarium* ont été incubés à une température de 27°C, les diamètres ont été mesurés chaque jour pendant 11 jours. Deux répétitions ont été faites correspondant à deux boîtes de pétri par souche.

Les résultats obtenus au bout du 4^{ème} jours d'incubation pour les isolats 1, 2, 4, 5, 6, 8 et 10, montrent que la croissance était dans sa limite, car le champignon a envahi toute la boîte avec des moyennes variables, respectivement de 4,03cm ; 4,28cm ; 4,18cm ; 4,08cm ; 4,08cm ; 4cm et 3,98cm, cependant une lente croissance a été constatée pour les autres isolats 3, 7 et 9 respectivement de 2,90cm ; 2,18cm ; 2,38cm.

I.4 Analyse par CCM du potentiel toxigène



(Originale, 2015)

Figure 23: Révélation de la plaque CCM sous les rayons UV.

Tableau 07: Liste des isolats utilisés pour la CCM

<i>N° d'isolats</i>	<i>Code</i>	<i>Espèces</i>
Iso1	F ₁ C.D014	<i>F. culmorum</i>
Iso2	F ₂ C.N013	<i>F. culmorum</i>
Iso3	F ₃ C.014	<i>F. culmorum</i>
Iso4	F ₄ P.013	<i>F.pseudograminearum</i>
Iso5	F ₅ P.011	<i>F.pseudograminearum</i>
Iso6	F ₆ C.014	<i>F. culmorum</i>
Iso7	F ₇ C.014	<i>F.culmorum</i>
Iso8	M ₈ .013	<i>Microdochium</i>
Iso9	F ₉ G.014	<i>F. graminearum</i>
Iso10	F ₁₀ C.013	<i>F. culmorum</i>

La chromatographie sur couche mince est une méthode physique qui nous a permis de faire l'identification du potentiel toxigène de 10 espèces de *Fusarium*.

Après le séchage total de la plaque, rien n'a été observé sur la plaque, mais dès que l'utilisation de la lampe UV qui nous a permis de voir des taches sombres des substances figure (23).

La technique de CCM nous a permis de détecter que les souches F₁C.D011, F₂C.N011, F₆C.014, F₇C.014, F₉G.013 et F₁₀C.012 sont toxigènes, les autres souches F₃C.013, F₅P.013 et F₈C.013 n'ont montré aucune migration sur la plaque CCM.

Les résultats montrent que les souches F₁C.D011, F₄P.014, F₆C.014 et F₁₀C.012 ont le même profil ; ils ont produit le même chémotype cependant les souches F₂C.N011 et F₇C.014 ont produit un autre type de toxine. En revanche l'absence de pouvoir toxigène par les autres souches F₃C.013, F₅P.013 et F₈C.013.

DISCUSSION

Dans cette partie, nous avons caractérisé les isolats étudiés, mesuré les différents traits de vie des isolats et caractérisé la sévérité des espèces isolées sur épi.

L'identification morphologique des espèces isolées à partir des graines ont montré que *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae* et *F. pseudograminearum* sont les espèces les plus fréquentes (33, 6%).

La vitesse de croissance des souches étudiées, n'était pas similaire mais il y a une ressemblance de la croissance chez certain souche comme les *F. culmorum* et *F. graminearum*, mais a part *F. pseudograminearum* et *Microdochium* ont marqué une lente croissance.

La raison de cette croissance mycélienne rapide des l'isolats 1, 2, 4, 5, 6, 8, et 10 est la forte respiration permettant un développement remarquable dans un bout de temps très court, d'autre facteurs comme La température joue un rôle prépondérant dans la croissance mycélienne (Bourgois, 1989).

Selon les travaux qui ont été faits au sein de Laboratoire National de la Protection des Végétaux en France pour la détection et l'identification des espèces de *Fusarium* et *Microdochium* des céréales, les espèces du genre *F. culmorum* et *F. graminearum* ils ont une croissance très rapide (LNPV, 2002). Nos résultats confirment que les espèces *F.culmorum* et *F. graminearum* étaient les plus rapides dans leur croissance.

En revanche les autres isolats *F.pseudograminearum*, *F. avenaceum* et *Microdochium* ont marqué une croissance lente et progressive par rapport aux autres espèces mentionnés parce que ils n'ont pas les mêmes caractéristiques.

L'examen de la chromatographie sous UV, nous a permis de détecter les isolats qui ont une migration remarquable et d'autres isolats qui n'ont pas marqué une migration.

La CCM confirme par la pulvérisation de révélateur qu'il y a des isolats toxigènes, sachant que le F1C.D011 est de chémotype DON/15Adon et le F2C.N011 de chémotype NIV/FX, ce qui nous a aidé d'identifier les autres isolats. L'isolat F4P.014 a le même profile que F1C.D011, c'est a dire il est de chémotype DON/15Adon, par contre l'isolat F6.C014 et F10C.012 ont le même profile que F1C.D011, F4P.014 de chémotype DON/15Adon, avec une quantité très importante pour l'isolat F10C.012. Tandis que l'isolat F7C.014 a le même profile que F2C.N011 donc il produit NIV/FX, l'isolat F9G.013 il a deux chémotype, NIV/FX et produit en plus la ZEA. Concernant les autres isolats F3C.013, F5P.013 et F8C.013 ils ne sont pas toxigène.

Les résultats obtenus ont montré une grande variation des niveaux des trichotécènes produits selon les isolats considérés.

Différentes mycotoxines peuvent être produites, il s'agit essentiellement des mycotoxines appartenant à la famille des Trichotécènes et plus précisément aux sous groupe des trichotécènes 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 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 Nivaleol. Les NIV sont être plus toxique (Bottalico, 1998).

Le potentiel toxigène peut être considéré comme une caractérisation d'une souche de *Fusarium*. Il est défini par la capacité du champignon a produire des mycotoxines, de façon qualitative (chémotype DON/ADON ou NIV/FX) et quantitative (Ponts, 2005).

II. Etude de la pathogénie de *Fusarium culmorum* et la sensibilité des variétés et lignées de blé vis à vis de la Fusariose

L'étude de la pathogénie et de l'agressivité de ces espèces aide à mieux comprendre l'épidémiologie du complexe fongique associé à la fusariose du blé afin d'entreprendre des stratégies de lutte appropriées. Plusieurs études ont été conduites sur la pathogénie et l'agressivité des espèces de *Fusarium* sur blé (Mishra et al., 2003 ; Smily et al., 1996 ; Wu et al., 2005 ; Akinsanmi et al., 2006 ; Qu et al., 2008).

Une semaine après l'inoculation des épis, des symptômes ont commencé à apparaître sur les épis inoculés. A la fin de l'essai (vingt-huit jours après l'inoculation), tous les épis inoculés ont été complètement atteints (Figure 24).



(Originale, 2015).

Figure 24: Symptômes de la Fusariose de l'épi ; (A, B) présence de Symptômes sur les épi inoculés ; (C) absence d'attaque sur les épi témoins

La technique d'inoculation, de deux isolats de *Fusarium culmorum* de chémotype différents, a été testée sur quatre variétés et quatre lignées de blé dur et tendre. Les résultats ont montré que tous les isolats ont induit une décoloration au niveau d'épi engendrant des indices de sévérités différents. Quatre notations ont été réalisées au cours de cet essai, la première notation a sept jours, deuxième a quatorze jours, la troisième a vingt-un jours et la quatrième a vingt-huit jours, a fin de d'étudier la cinétique de la maladie.

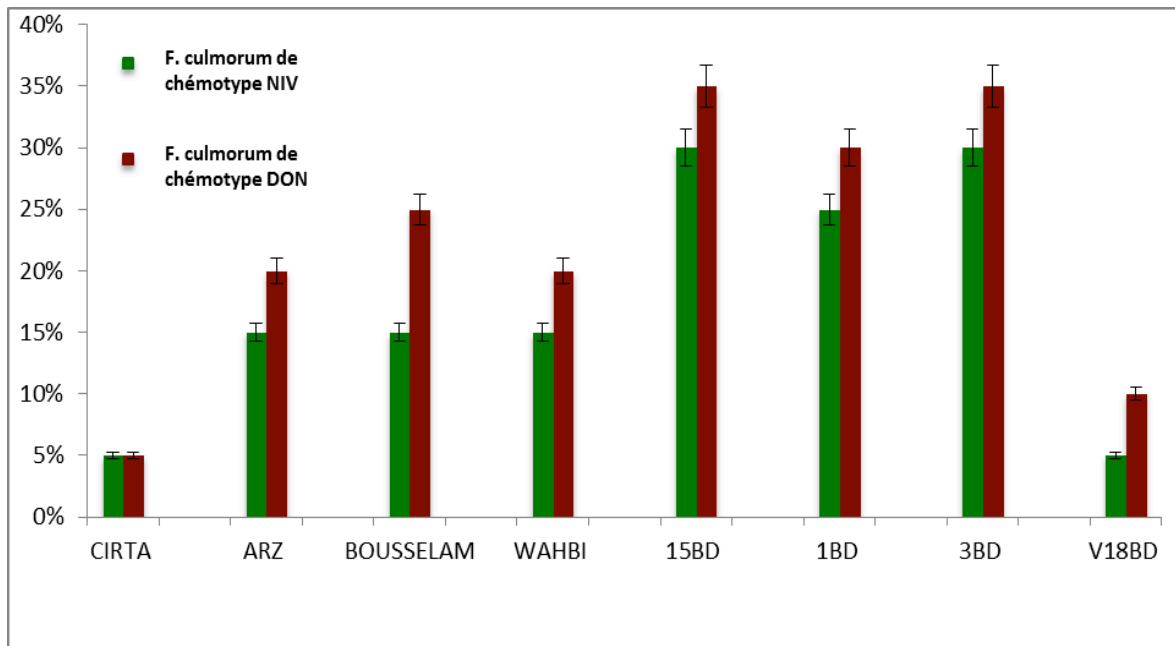


Figure 25: Moyenne d'indice d'attaque des deux isolats de la première notation après sept jours d'inoculation.

Les lignées 15 BD, 3BD et 1BD ont montré des indices d'attaque les plus élevés respectivement de 35%, 35% et 30%; cependant les variétés ARZ, BOUSSELA et WAHBI se sont montrées moins attaquées respectivement de 15%, 15%, 15% pour la variété CIRTA et la lignée V18. Les indices d'attaque notés varient entre 5%.

Les résultats des analyses statistiques (ANOVA) obtenus par l'essai de randomisation totale pour chaque semaine d'inoculation, destiné à comparer l'indice d'attaque entre les variétés et les lignées testées ont montré qu'il existe une différence très hautement significative $P > 0,0001$.

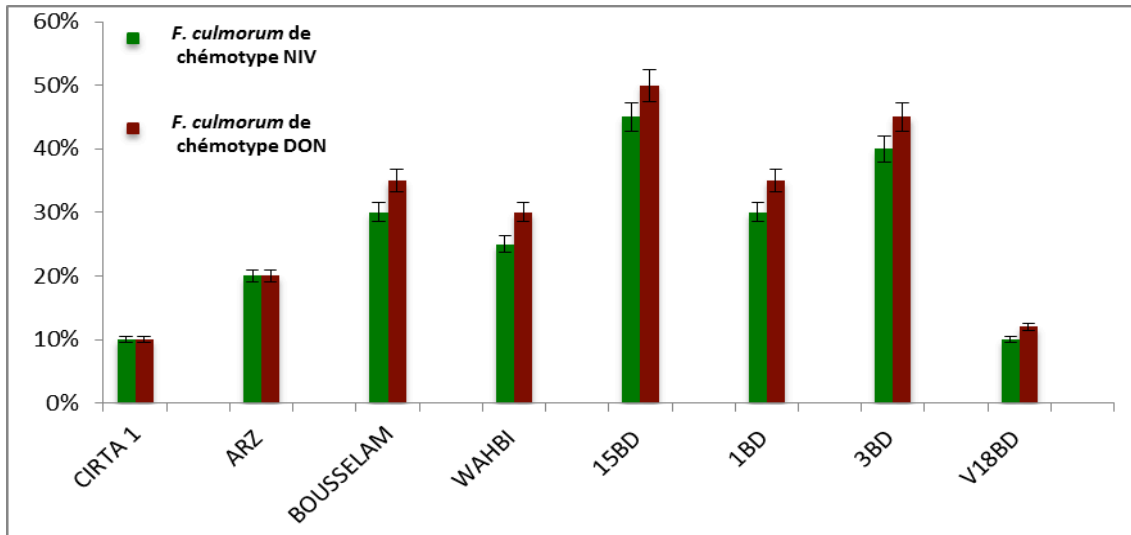


Figure 26: Moyenne d'indice d'attaque de deux isolats de la deuxième notation après quatorze jours d'inoculation.

Les résultats de la deuxième notation réalisée après jours d'inoculation sont représentés par l'histogramme ci-dessus (Figure 25).

Nous pouvons lire à travers cet histogramme que les indices d'attaque chez BOUSSELAM, 15BD, 1BD, 3BD sont les plus élevés avec des pourcentages respectivement de 35%, 50%, 35% et 45%. Tandis que CIRTA, ARZ et V18BD se sont montrées encore une fois résistantes avec des indices d'attaque de 10%, 20% et 10%.

D'après analyses statistiques (ANOVA) obtenus par l'essai de randomisation totale pour la deuxième notation d'inoculation, destiné à comparer l'indice d'attaque entre les variétés et les lignées testées ont montré qu'il existe une différence très hautement significative $P > 0,0001$.

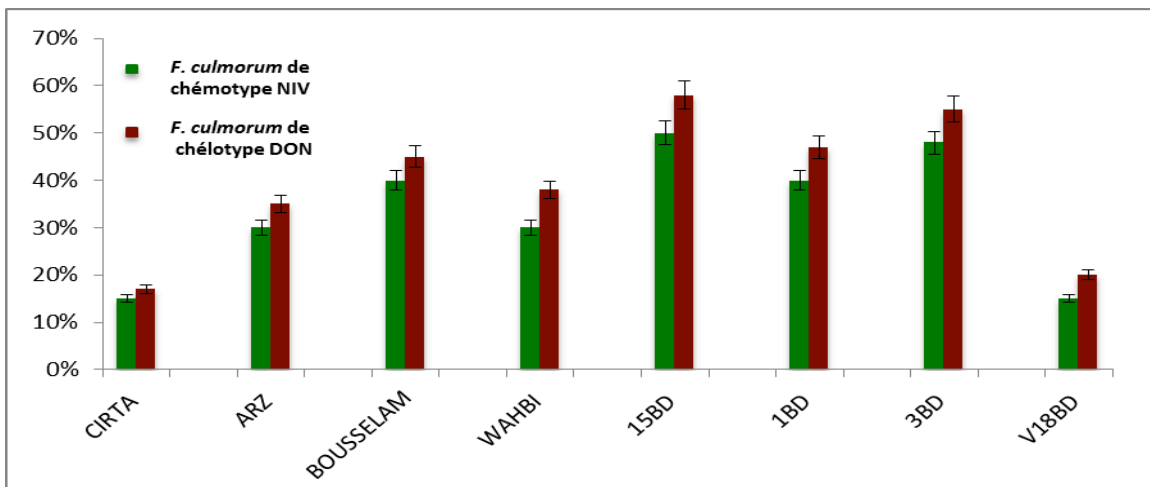


Figure 27: Moyenne d'indice d'attaque de deux isolats de la troisième notation après vingt-un jours d'inoculation.

Dans la troisième notation nous avons constaté un changement remarquable, dans les valeurs des indices d'attaque concernant toutes les variétés et les lignées inoculées par les deux isolats de *Fusarium culmorum*, les variétés et les lignées qui apparaissent plus sensibles sont 15BD, 1BD, 3BD et BOUSSELAM respectivement de 58%, 47%, 55%, et 45%. Ces résultats obtenus nous ont permis de constater que les variétés CIRTA, WAHBI, ARZ et la lignée V18BD sont les plus tolérantes aux *F. culmorum* de chémotype DON et *F. culmorum* de chémotype NIV.

D'après l'analyse statistique (ANOVA) obtenu pour la troisième notation d'inoculation, destiné à comparer l'indice d'attaque entre les variétés et les lignées testées ont montré qu'il existe une différence très hautement significative $P > 0,0001$.

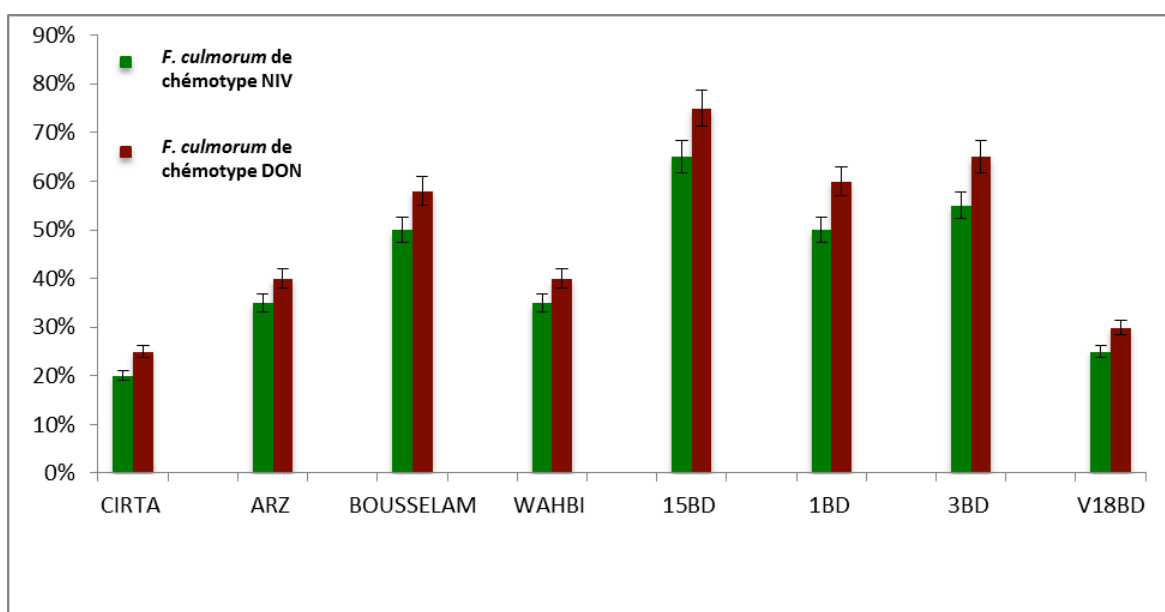


Figure 28: Moyenne d'indice d'attaque de deux isolats de la quatrième notation après vingt-huit jours d'inoculation.

Après 28 jours d'inoculation des épis, tous les épillets inoculés sont complètement atteints (Figure 20), les résultats obtenus ont montré que les variétés et les lignées testées sont presque similaires, à l'exception de variétés CIRTA, WAHBI, ARZ et la lignée V18BD qui ont enregistrés des indices d'attaque compris entre 25%, 35%, 35% et 25%.

Les résultats suggèrent l'effet légèrement élevé de la maladie sur la variété CIRTA, WAHBI, ARZ et la lignée V18, nous laissent dire que ces variétés et la lignée qui ont été testées sont résistantes à la fusariose de l'épi, tandis que BOUSSELAM, 15BD, 1BD et 3BD ont présenté des pourcentages d'indice d'attaque respectivement de 58%, 75%, 60% et 65% sont les plus sensibles.

En fonction de ces résultats et d'après l'ANOVA nous devant conclure qu'il existe une différence très hautement significative entre les variétés et les lignées inoculées au bout de vingt-huit jours $p > 0,0001$.

A travers cet essai nous avons constaté qu'il y a un effet chémotype des deux souches qui ont servi à l'inoculation des variétés et lignées testées.

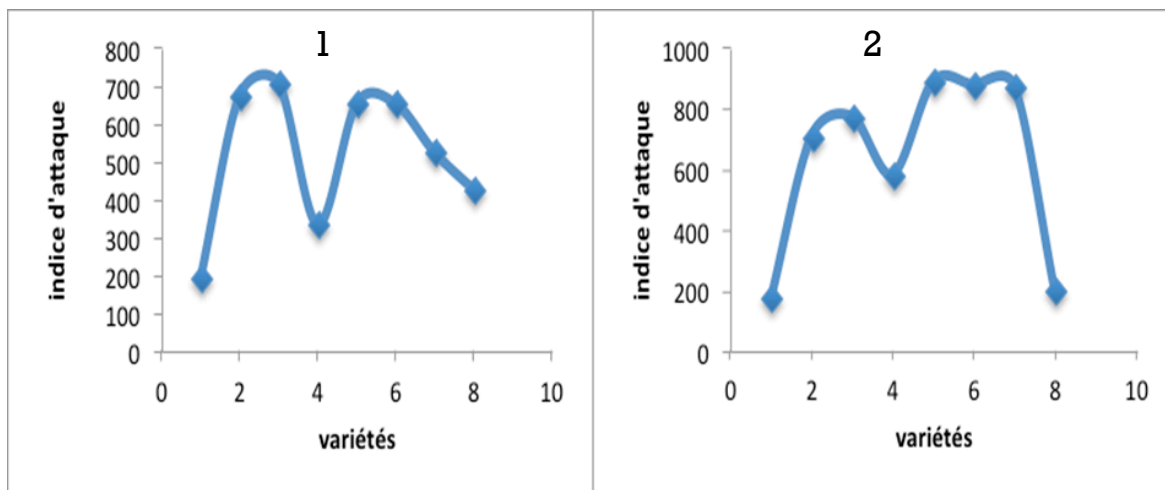


Figure 29: Intervalles de confiance des surfaces sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC, Area Under Disease Progress Curve) pour les deux isolats.

1 : *F. culmorum* de chémotype NIV

2 : *F. culmorum* de chémotype DON

Au cours de ce test, les valeurs des épillets infestés par épi on été transformées en surface sous la courbe de progression de la maladies (AUDPC) estimé à chaque période. Nous avons souhaité classer ces souches de manière à identifier plus au moins agressives. Nous avons choisi d'utiliser l'AUDPC pour les différencier puisque cette mesure est facile a mettre en œuvre et souvent utilisée pour caractériser l'agressivité des souches (Alvarez et al., 2010).

Tout d'abord, nous avons remarqué qu'il y a une différence entre les deux isolats d'après les symptômes et les valeurs d'AUDPC obtenus lors de l'inoculation. L'isolat de *F. culmorum* de chémotype NIV s'est développé moins vite que la souche de *F. culmorum* de chémotype DON, cela veut dire qu'il y a une différence significative entre les souches. A partir de ces résultats nous pouvant soupçonner que *F. culmorum* de chémotype DON est plus agressif que *F. culmorum* de chémotype NIV. Bai et al., 2001 ont mis en évidence le rôle du DON dans la propagation des souches dans l'épi.

II.1. les composés phénoliques

II.1.1. Rendement des extractions

Les premières extractions réalisées en utilisant mélange hydro alcoolique permettent l'extraction des composés endogènes de la plante puis la séparation par un solvant moyennement polaire (acétate d'éthyle), ce qui donne les rendements des extraits de chaque variétés et lignées de blé présentés dans la figure30.

Pour qu'une extraction soit optimale et efficace elle doit respecter plusieurs facteurs tels que les propriétés chimiques de soluté (solubilité), le transfert de matière, qui dépend de la taille des particules et de la structure du matériel végétal, le type de solvant choisi et de sa viscosité (Mitra, 2003).

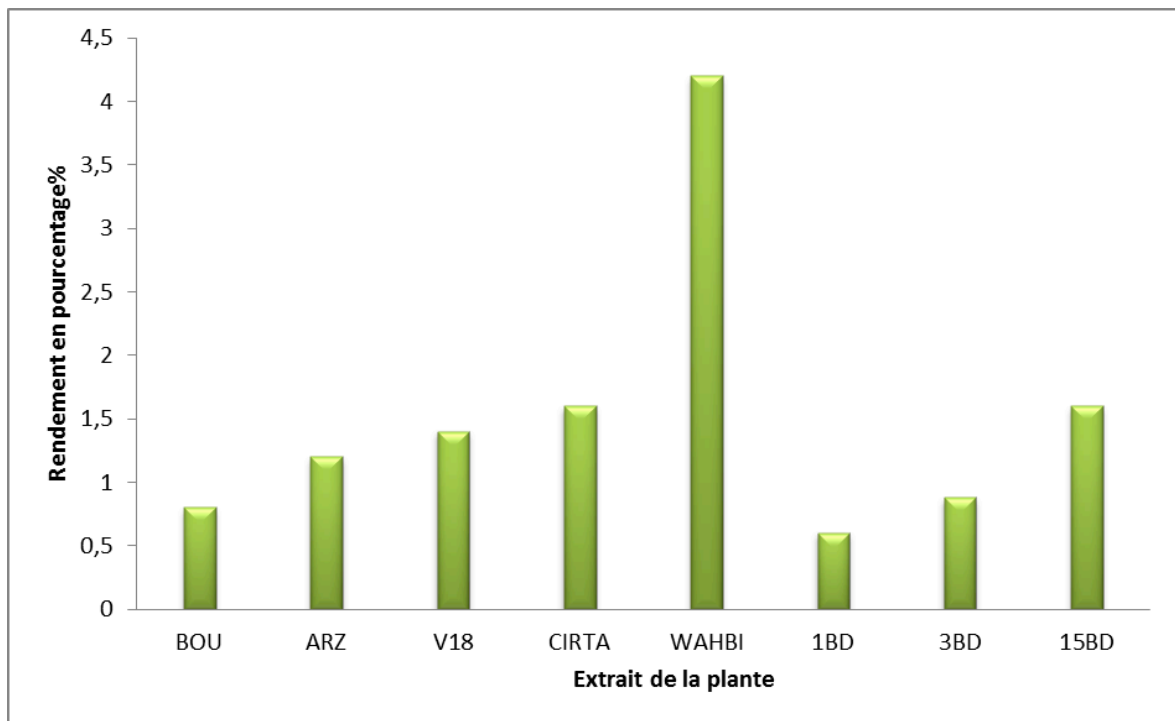


Figure 30: Histogramme des composés phénoliques de la phase d 'acétate d'éthyle.

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une grande variabilité dans le rendement entre les variétés et les lignées testées, nous constatant que le rendement le plus élevé a été donné par la variété WAHBI suivi par CIRTA, ARZ et les lignées 15BD, V18BD qui ont donné des rendements qui varient entre 4,2-1,2%. Tandis que la variétés BOUSSELAM suivi par les lignées 1BD et 3BD ont donné des rendements les plus faible qui varient entre 0,88-0,6%

II.1.2. analyse quantitative des extraits

Dans cette partie, de l'analyse quantitative des extraits.

Nous avons essayé de calculer les teneurs des extraits en composés phénoliques en suivant la méthode du folin-ciocalteu, à l'aide de la courbe d'étalonnage de la molécule standard présenté dans la figure 31.

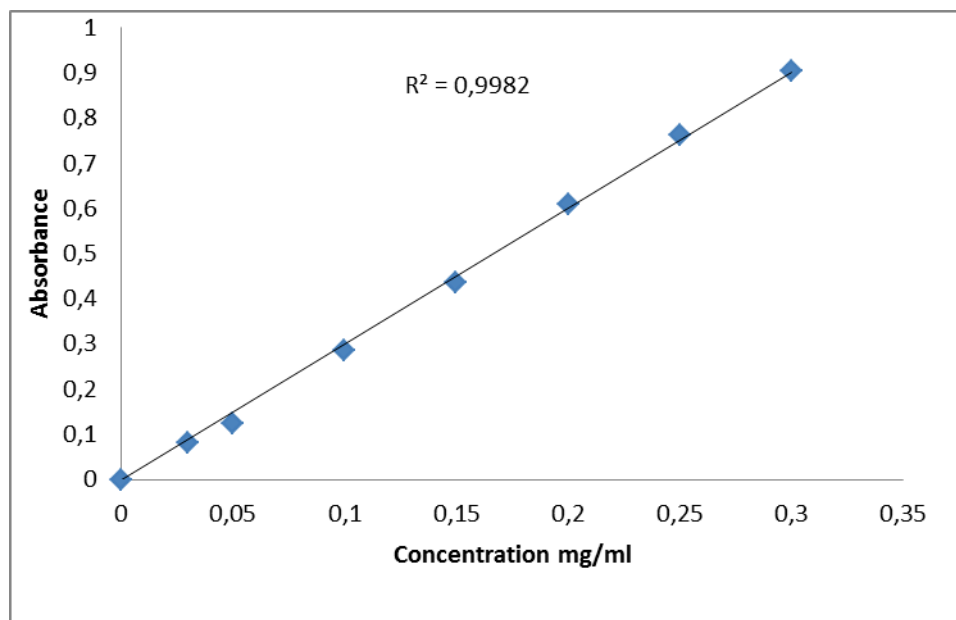


Figure 31: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats obtenus (tableau 8) montrent des teneurs en composés phénoliques variant entre 0,35mg /g et 1,43mg/g.

Tableau 08: Teneurs des extraits d'acétate d'éthyle en composés phénoliques

Variétés	Teneur en composés phénoliques mg AGE/g DW
CIRTA	0,63
ARZ	1,43
BOUSSELAM	0,47
WAHBI	0,66
15BD	0,41
3BD	0,35
1BD	0,77
V18BD	0,50

En effet la valeur la plus importante est celle de l'extrait d'ARZ, suivi par 1BD, WAHBI et CIRTA qui varient entre 1,43-0,63 mg/g.

D'autre part les autres extraits relativement sont les plus pauvres en composés phénoliques V18BD, BOUSSELAM, 15BD et 3BD, qui varient entre 0,50-0,35 mg/g.

DISCUSSION

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) ou en plaçant un fragment d'agar mycélien à la base du collet (Fernandez et Chen, 2005 ; Tunali et al., 2006), ou bien l'inoculation des coléoptiles en couvrant leurs bouts par des pièces de papiers filtres imbibés de suspension sporale (Wu et al., 2004).

La technique d'inoculation par une suspension sporale que nous avons utilisée, a été déposée sur les épis de blé, avec deux souches *F. culmorum* de chémotype DON et *F. culmorum* de chémotype NIV. Les résultats ont montré que les deux souches sont pathogènes sur les variétés et les lignées de blé avec des degrés d'attaque différents.

D'après les résultats que nous avons obtenue l'espèce *F. culmorum* de chémotype DON occasionne des degrés d'attaque légèrement élevée que *F. culmorum* de chémotype NIV.

Les analyses statistiques de cette étude ont montré qu'il y a une différence très hautement significative entre l'agressivité des souches obtenus.

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, Les épis ont été inoculés par pulvérisation au moyen d'une suspension sporale (Miedaner et al., 1996 ; Buerstmayr et al., 1999 ; Mesterházy et al., 1999). Les résultats de cet essai ont indiqué que toutes les variétés testées ont montré des symptômes d'attaque de la fusariose de l'épi montrant leur sensibilité vis-à-vis à cette maladie.

Les résultats obtenus une importante très hautement significative des variétés et des lignées testées par *F. culmorum*, qui nous a permis de classer en fonction de la plus

sensible vers la moins sensible respectivement de 15BD, 3BD, 1BD et BOUSSELAM. Par contre les plus résistantes sont respectivement de CIRTA, V18BD, ARZ et WAHBI.

Au cours de ce test, le pourcentage des épillets infestés par épi qui ont été transformées en surface sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC) estimée à chaque période d'une semaine. Les résultats ont indiqué que, pour la majorité des variétés testées, les niveaux d'infection sont variables selon l'espèce et l'isolat. Des études antérieures, ont montré que des estimations visuelles des symptômes de la fusariose de l'épi, sont suffisantes pour étudier la sensibilité variétale, sans avoir besoin d'identifier les dommages causés aux grains (Bakele *et al.*, 1994; Mesterházy, 1995).

Dans le test d'agressivité des deux isolats, les résultats obtenus montrent que *F.culmorum* de chémotype DON et plus agressif que *F. culmorum* de chémotype NIV, on consigne qu'il y a effet du chémotype sur l'agressivité des isolats, ceci peut être expliqué par le rôle qu'ils jouent les TCTB dans l'agressivité des *Fusarium*. Beaucoup de travaux confirment ce que n'a eu comme résultats apportant sur les travaux de Hestbjerg *et al.*, (2002) qui ont montré une corrélation positive entre agressivité et niveau de DON produit dans des plantules de blé inoculées par des isolats de *F. culmorum*. Sans oublier les travaux de Kammoun (2010) et Boutigny (2007).

L'agressivité des souches sous l'effet d'une pression de sélection exercée par les hôtes sur la Population de l'agent pathogène (Rapilly *et al.*, 1989). Cette pression peut favoriser les éléments de la population les plus aptes à se multiplier chez un cultivar déterminé, et une érosion de la résistance générale pourrait en résulter (Beye et Lafay 1988).

Les acides phénoliques, composés des céréales, ont fait l'objet d'un certain nombre d'études concernant leur potentielle implication dans les mécanismes de défense des plantes contre les espèces du genre *Fusarium*. Au cours des travaux précédents, menés en condition *in vitro*, le rôle inhibiteur de l'acide férulique vis-à-vis de la synthèse de TCTB a été démontré (Boutigny *et al.*, 2009) ainsi que celui d'extraits naturels d'acides phénoliques issus de sons de blé (Boutigny *et al.*, 2010).

C'est donc naturellement que notre choix s'est porté sur ces métabolites secondaires. Jusqu'alors, les études qui ont tenté de mettre en relation le degré de résistance d'hybrides à *Fusarium* et les teneurs en acides phénoliques se sont focalisées sur des analyses réalisées au stade mature, sur des épis prélevés à la récolte ou encore dans les soies à différents stades de développement (Reid *et al.*, 1992). Or au stade floraison, la composition du grain en acides phénoliques est très importante. Pour répondre à cette

hypothèse nous avons quantifié les teneurs en acides phénoliques au stade floraison.

Dans cette étude, nous avons quantifié les acides phénoliques libres (extraction à l'acétate d'éthyle). Il s'est avéré que les huit variétés utilisées pour notre étude possèdent des profils qualitatif et quantitatif différents concernant les acides phénoliques solubles, permettant de discriminer les huit variétés d'un point de vue quantitatif. Les acides phénoliques solubles sont essentiellement représentés par l'acide chlorogénique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide caféique (Siradinou et *al.*, 2002).

Les résultats du dosage des composés phénoliques ont montrés que toutes les variétés étudiées contiennent des composés phénoliques avec des proportions plus au moins différentes.

Ces résultats pourrait confirmé que le blé est considéré comme produit particulièrement riche en composés phénoliques (Slavin et *al.*, 1999) qui est le cas pour la majorités des céréales (Reid et al., 1992) . Ce test montre qu'il y a une corrélation entre la composition en ces métabolites et la résistance du végétal contre la Fusariose de l'épi de blé, chez les variétés ARZ, WAHBI et CIRTA qui sont riches en composés phénolique avec des quantités de 1,43mg/g, 0,66mg/g et 0,63mg/g .

Selon les travaux de Siradinou et *al.*, (2002), les teneurs en acides phénoliques libres seraient supérieures chez certaines variétés de blé plus résistantes à des temps précoce.

Conclusion

Conclusion

Le blé est la principale espèce des céréales cultivées, il est à base de régime alimentaire pour l'homme. L'Algérie est l'un des plus gros consommateurs de céréales dans le monde, elle consacre une bonne partie de ses revenus pour l'approvisionnement des blés, la production locale présente une caractéristique fondamentale qui oscille, entre 0,9 et 4,9 millions de tonnes. Le reste est satisfait par l'importation. Les faibles rendements sont dus à la combinaison de plusieurs facteurs, tel que les conditions climatiques et aux attaques pathogènes.

Au cours de cette étude, nous avons pu évaluer le taux de contamination des grains de blé qui viennent de trois étages bioclimatiques différents (Laghouat, Bordj Bou Arreridj et Alger) par les *Fusarium* et passant à l'identification morphologique des espèces associées à la Fusariose de l'épi, Les espèces les plus répondues sont *Fusarium culmorum*, *Fusarium. Poae*, *Fusarium. Graminearum*, et *Fusarium. psedograminearum*.

Ils sont des agents pathogènes de premières importances pour la culture de blé, qui entraîne non seulement une réduction du rendement mais contamine les graines par des toxines potentiellement nuisible.

Dans cette partie nous avons aussi caractérisé les isolats étudiés, mesuré leurs différents traits de vie et leur productivité en toxine, en utilisant la méthode chromatographie pour la détection des toxines.

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

La deuxième partie a porté sur l'étude de la pathogénie et la sensibilité des variétés et lignées de blé vis à vis de deux isolats de *Fusarium culmorum* de chémotype Différents, et la relation de la teneur des ses variétés et lignées en composés phénoliques et la résistance à la Fusariose de l'épi.

La technique d'inoculation par suspension a été adoptée pour réaliser les tests de la pathogénie. Les résultats montre que *Fusarium culmorum* de chémotype DON et *Fusarium culmorum* de chémotype NIV sont presque similaire par rapport a leur agressivité envers les variétés et les lignées testées avec une différence exigü, la caractérisation de la

sensibilités montre que les variétés et les lignées testées sont sensible avec une proportion plus au moins différentes. Les plus sensibles sont 15BD, 3BD, 1BD et BOUSSELAM, les moins sensibles sont CIRTA, V18BD, ARZ et WAHBI.

Le dernier volet de cette étude concerne les composés phénoliques qui contribuent à la défense et la protection de la plante. D'après les résultats que nous avons obtenu, les variétés et les lignées dont elles avaient une teneur en composés phénoliques sont celles qui étaient résistantes au *Fusarium culmorum*.

La lutte contre la fusariose sur épi des céréales doit combiner des mesures préventives, l'utilisation de variétés résistantes qui ont la capacité de réduire le risque d'infection et de limiter les effets négatifs en cas d'infection, Les pools de sélection du blé et du triticales présentent une grande diversité de types de résistance. Le but de la sélection est de combiner au mieux les différents types de résistance dans un cultivar.

Des méthodes modernes de sélection prennent également en compte la faculté des génotypes à réduire l'accumulation de mycotoxines dans les graines et cernent mieux la base physiologique de la réaction de résistance.

*Références
bibliographiques*

- **Akinsanmi, O.A., Backhouse, D., Simpfendorfer, S., etChakraborty, S.** 2006. Pathogenic variation of *Fusarium* isolates associated with head blight of wheat in Australia. *Journal of Phytopathology* 154: 513-521.
- **Alexander, NJ, McCormick, SP, Larson, TM &Jurgenson, JE** .2004.Expression of Tri15 in *Fusariumsporotrichioides*. *Current Genetics* 45: 157-162.
- **Alvarez CL, Somma S, Moretti A, Fernandez Pinto V,** 2010. Aggressiveness of *Fusariumgraminearum* sensu stricto isolates in wheat kernels in Argentina. *Journal of Phytopathology* 158, 173–181.
- **Andrews, S. etPitt, J.I.** 1986. Selective medium for isolation of *Fusarium* species and dematiaceous hyphomycetes from cereals. *AppI. Environ. Microbial.*
- **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.
- **Argyris J, TeKrony D, Hershman D, VanSanford D, Hall M, Kennedy B, Rucker M, Edge C,** 2005. *Fusarium head blight infection following point inoculation in the greenhouse compared with movement of Fusariumgraminearum in seed and floral components.* *Crop Science* 45, 626–634.
- **Arseniuk, E., Foremska, E., Goral, T., Chelkowski, J.** 1999. *Fusarium head blight reactions and accumulation of deoxynivalenol (DON) and some of its derivatives in kernels of wheat, triticale and rye.* *Journal of Phytopathology* 147, 577-590
- **Bai G, Shaner G,** 1994. *Scab of wheat: Prospects for control.* *Plant Disease* 78, 760–766.
- **Bai GH, Desjardins AE, Plattner RD,** 2001. *Deoxynivalenol-nonproducing Fusariumgraminearum causes initial infection, but does not cause disease spread in wheat spikes.* *Mycopathologia* 153, 91–98.
- **Bai GH, Desjardins AE, Plattner RD,** 2001. *Deoxynivalenol-nonproducing Fusariumgraminearum causes initial infection, but does not cause disease spread in wheat spikes.* *Mycopathologia* 153, 91–98.
- **Bakele, G.T., Wilcoxon, R.D., Suganda, T., Busch, R.R. ETWarners, D.D.** 1994. *Comparison of the methods for estimating head blight reaction spring wheat cultivars infected with Fusariumgraminearum.* *International Journal of Tropical Plant Diseases* 12: 89-100.
- **BenmansourBrixciGormat, N.** 2005. *Etude microbiologique et mycologique des blés stockés dans la region de telemcen et l'influence des facteurs physiques sur l'aflatoxinogénese. Mémoire de magister.* UniversitéAbdouBekrBelkaid TELEMEN. P. 106.
- **Beta T., Nam S., Dexter J. E. et Sapirstein H.D.,** 2005. Phenolic Contents and

Antioxydant activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. *Cereal Chem.* 82(4), 390 – 393.

- **Beye, I. et J.F. Lafay**, 1988. Verticilliose de tomate: conséquences des interactions entre l'agressivité de l'agent pathogène et la résistance de l'hôte au niveau des populations. *Agronomie* 8: 435-439.
- **Bonjean., Picard.** 1990. Les céréales à paille : origine, histoire, économie et sélection. Paris: Softword-Groupe ITM. 208p.
- **Bottalico, A.** 1998. *Fusarium disease of cereals: species complex and related mycotoxin profiles in Europe.* *Journal of Plant Pathology* 80: 85-103.
- **Bottalico, A. Perrone, G.** 2002. *Toxinogenic Fusarium species and mycotoxins associated with head blight in small grains cereals in Europe,* *European Journal of Plant Pathology* 108, 667-673.
- **Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J,** 1989. **Microbiologie alimentaire.** *Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments.* Lavoisier. Paris. P. 216-244.
- **Boutigny, A. L., C. Barreau, et al.** (2009). "Ferulic acid, an efficient inhibitor of type B trichothecene biosynthesis and Tri gene expression in *Fusarium* liquid cultures." *Mycol Res* **113**(Pt 6-7): 746-53.
- **Boutigny, A. L., V. Atanasova-Pénichon, et al.** (2010). "Natural phenolic acids from wheat bran inhibit *Fusarium culmorum* trichothecene biosynthesis in vitro by repressing Tri gene expression." *European Journal of Plant Pathology*: 1-12.
- **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.
- **Buerstmayr, H., Lemmens, M., Fedak, G., et Ruckebauer, P.** 1999. *Back-cross reciprocal monosomic analysis of Fusarium head blight resistance in wheat (Triticum aestivum L.).* *Theoretical and Applied Genetics* 98: 76-85.
- **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., et Fourbet 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.

- **Christ DS, Gödecke R, von Tiedemann A, Varrelmann M**, 2011. *Pathogenicity, symptom development, and mycotoxin formation in wheat by Fusarium species frequently isolated from sugar beet*. *Phytopathology* 101, 1338-1345.
- **Clément J-M.**,1981. Larousse agricole.
- **Couture, L.** 1982. *Réceptivité de cultivars de céréales de printemps à la contamination des grains sur inflorescence par les Fusarium spp.* *Canadian Journal of Plant Science* 62: 29-34.
- **-Da Luz, W.C., Stockwell, C.A., et Bergstrom, C.A.** 2003. *Biological control of Fusariumgraminearum*. 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.
- **Demirdjian, H.** 2007. Professeur agrégé responsable du site ENS-DGESCO *Culture Sciences- Chimie*.
- **Desjardins, AE, Brown, DW, Yun, SH, Plattner, RD, Lee, T & Turgeon, BG** .2001. *Using a Gibberellazae Mat locus knockout to test the importance of ascospores in a wheat FHB field epidemics*. *Proceedings of 2nd Canadian Workshop on Fusarium head blight*, pp. 93. Eastern Cereal and Oilseed Research Center, Ottawa (ON) CANADA.
- **Desjardins, AE, Jarosz, AM, Plattner, RD, Alexander, NJ, Brown, DW & Jurgenson, JE.**2004. *Patterns of trichothecene production, genetic variability, and virulence to wheat of Fusariumgraminearum from smallholder farms in Nepal*. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 52: 6341-6346.
- **Diamond, H., et Cooke, B.** 2003. *Preliminary studies on biological control of Fusarium ear blight complex of wheat*. *Crop Protection* 22: 99-107.
- **Djerdane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Les gards, J.F. et Stoker, P.** 2007. *Screening of Some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity*. *Eur Food Res Technol.* pp 224 *Environmental Medicine* 12: 39-45.
- **Ezzahiri, B.**,2001. Département en phytopathologie, IAV HassanII, président de l'association marocaine de protection des plantes (AMPP).
- **FAO**, 2013. *Manuels sur l'application du système de l'analyse des risques-points critiques pour leur maîtrise (HACCP) pour la prévention et le contrôle des mycotoxines*. Rome 2003, 88p.
- **Favre, L., Verdal-Bonnin, M.N., Pinson-Gadais, L., Roumet P., Barreau, C., et Richard-**
- **Feillet, P.** 2000. *Le grain de blé composition et utilisation*. In: INRA EDITIONS, Paris, France, p. 308.
- **Forget, F.** 2004. *Does biochemical composition of durum wheat kernels influence*

trichothecenes B (TCT B) contamination levels. In: 2nd International symposium on *Fusarium* Head Blight., Orlando, Florida, USA.

- **Fox EM, Howlett BJ, 2008.** Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology. *Current opinion in microbiology* 11, 481-487.
- **Gilchrist, L., et Dubin, H.J.** 2002. *Fusarium* head blight. In: *Bread Wheat*. Eds Curtis, B.C. Rajaram S., et Gomez Macpherson, H. *Improvement and Production*. FAO Plant Production and Protection Series No. 30.
- **Glynn NC, Hare MC, Parry DW, Edwards SG.** 2005. *Phylogenetic analysis of EF-1 alpha gene sequences from isolates of Microdochium nivale leads to elevation of varieties majus and nivale to species status*. *Mycol. Res.* 109:872–80.
- **Gosman N, Srinivasachary, Steed A, Chandler E, Thomsett M, Nicholson P,** 2010. *Evaluation of type I Fusarium head blight resistance of wheat using non-deoxynivalenol-producing fungi*. *Plant Pathology* 59, 147-157.
- **Goswami R.S., et Kistler H.C.** 2004. *Heading for disaster: Fusarium graminearum on cereal crops*. *Molecular Plant Pathology* 5: 515-525.
- **Goswami RS, Kistler HC,** 2004. *Heading for disaster: Fusarium graminearum on cereal crops*. *Molecular Plant Pathology* 5(6), 515–525.
- **Guignard J. L., Cosson L. et Henry M.,** 1985. *Abrégé de phytochimie*. Edition Masson, 133 – 154
- **Hecker, A., Bänziger, I., Jenny, E., Forrer, H.R., et Vogelgsang, S.** 2004. *Less Fusarium toxins by choosing the right varieties? (in German)* *Agrarforschung* 11: 384-389.
- **Hestbjerg, H., Felding, G., et Elmholt, S.** 2002. *Fusarium culmorum infection of barley seedlings: correlation between aggressiveness and deoxynivalenol content*. *Journal of Phytopathology* 150: 308-312.
- **Horberg, H.M.** 2002. *Patterns of splash dispersed conidia of Fusarium poae and Fusarium culmorum*. *European Journal of Plant Pathology* 108: 73-80. in Australia. *Plant Pathology* 55:746-755. *International Journal of Food Microbiology* 140: 84-89.
- **Ioos, R, Belhadj, A & Menez, M,** 2004. *Occurrence and distribution of Microdochium nivale and Fusarium species isolated from barley, durum and soft wheat grains in France from 2000 to 2002*. *Mycopathologia* 158: 351-362.
- **Ioos, R., Belhadj, A., et Menez, M.** 2004. *Occurrence and distribution of Microdochium nivale and Fusarium species isolated from barley, durum and soft wheat grains in France from 2000 to 2002*. *Mycopathologia* 185: 351-362.
- **Jansen, AB, Poca, E, Rigaud, M, Freyssinet, G et Pages, M,** 1997. *Molecular characterization of L2 lipxygenase from maize embryos*. *Plant Molecular Biology* 33:

605-614.

- **Jochum, C.C., Osborne, L.E., et Yuen, G.Y.** 2006. *Fusarium head blight biological control with *Lysobacter* strain C3*. *Biological Control* 39: 336-344
- **Kammimura, H., Yasuda, K., Saito, K., Ibe, A., Nagayama, T., Ushiyama, H., Naoi, Y.** 1981. Simultaneous detection of several *Fusarium* mycotoxins in cereals, grain and foodstuffs. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1067-1073.
- **Kammoun G. L., Gargouri S., Barreau, C., Richard-Forget, F., et Hajlaoui M.R.** 2010.
- **Kang, Z., et Buchenauer, H.** 2000. *Cytology and ultrastructure of the infection of wheat spikes by *Fusarium culmorum**. *Mycological Research* 104: 1083-1093.
- **Khan, S.H., Idress, M., Muhammad, F., Mahmood, A. et Zaidi, S.H.** 2004. Incidence of
- **Kim, S.K., Park, P.J., Byun, H.G., Je, J.Y., Moon, S.H., et Kim, S.H.** 2003. *Recovery of fish bone from hoki (*Johnius belengeri*) frame using a proteolytic enzyme isolated from mackerel intestine*. *Journal of Food Biochemistry* 27: 255-266
- **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-
- **Kurek, E., Jaroszuk, C.S., et Shtsels, 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.
- **Langseth, W., Hoie, R., et Gullord, M.** 1995. *The influence of cultivars, location and climate on deoxynivalenol contamination of Norwegian oats 1985-1990*. *Acta Agriculturae Scandinavica* 45: 63-67.
- **Leonard KJ, Bushnell WR,** 2003. *Fusarium head blight of wheat and barley*. St. Paul, U.S.A.: APS Press.
- **Leslie, J., Summerell, B.** 2006. *The *Fusarium* laboratory manual*. Illustrated. 1ere Ed: Blackwell Publishing. 387p.
- **Llorens, A., Hinojo, M.J.M, Mateo, R., Gonzalez-Jaen, M.T., Valle-Algarra, F.M., Logrieco, A., et Jimenez, M.** 2006. *Characterization of *Fusarium* spp. isolates by PCR-RFLP analysis of the intergenic spacer region of the rRNA gene (RDNA)*. *International Journal of Food Microbiology* 106: 287-306.
- **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.
- - **Macheix, J. J., Fleuriet, A. et Jay- Allemand, C.H.** 2005. *Les composés phénoliques des végétaux*. *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes*. 192p.

- **Mackintosh, C.A., Lewis, J., Radmer, L.E. Shin, S., Heinen, S.J., Smith, L.A., Wyckoff, M.N., Dill-Macky, R., Evans, C.K., Kravchenko, S., Baldrige, G.D., Zeyen R.J., et Muehlbauer, G.J.** 2007. *Overexpression of defense response genes enhances the resistance of wheat to Fusarium Head Blight*. Plant Cell Reports 26: 479-488.
- **Marin, S, Sanchis, V, Rull, F, Ramos, AJ etMagan, N,** 1998.*Colonization of maize grain by Fusariummoniliforme and Fusariumproliferatum in the presence of competing fungi and their impact on fumonisin production*. Journal of Food Protection 61: 1489-1496.
- **Macheix J.J, Fleuriet A et Billot U.** (1990). Fruit phenolics. CRC Press Inc, Boca Raton Florida, 378 p.
- **McMullen, M., Jones, R., et Gallenberg, D.** 1997. *Scab of wheat and barley: a re-emerging disease of devastating impact*. Plant Disease 81: 1340-1348.
- **Mesterhazy A, Bartok T, Mirocha CG, Komoroczy R,** 1999. *Nature of wheat resistance to Fusarium head blight and the role of deoxynivalenol for breeding*. Plant Breeding 118, 97-110.
- **Mesterházy, Á.** 1983. *Breeding wheat for resistance to Fusariumgraminearum and F. culmorum*. Z. Pflanzenzüchtg 91: 285-311
- **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: 97-110.
- **Miedaner, T.** 1997. *Breeding wheat and rye for resistance to Fusarium diseases*. Plant Breeding 116: 201-220.
- **Miedaner, T., Gang, G., et Geiger, H.H.** 1996. *Quantitative-genetic basis of aggressiveness of 42 isolates of Fusariumculmorum for winter rye head blight*. Plant Disease 80: 500-504.
- **Milanez, T.V., Valente-Soares, L.M., et Baptista, G.G.** 2006. *Occurrence of trichothecenemycotoxins in Brazilian corn-based food products*. Food Control 17: 293-298
- **Miller S.S., Chabot D.M.P., Ouellet T., Harris L.J., et Fedak G.** 2004. *Use of a Fusariumgraminearum strain transformed with green fluorescent protein to study infection in wheat (Triticumaestivum)*. Canadian Journal of Plant Pathology 26: 453-463.
- **Miller, J.D., et Arnison, P.G.** 1986. *Degradation of deoxynivalenolby suspension cultures of the fusarium head blight resistant wheat cultivar Frontana*. Canadian Journal of Plant Pathology 8: 147-150.
- **Mishra, P.K., Fox, R.T.V., et Culham, A.** 2003.*Inter-simple sequence repeat and aggressiveness analyses revealed high genetic diversity, recombination and long-range*

dispersal in Fusariumculmorum. Annals of Applied Biology 143: 291-301.

- **Mitra, S.** 2003. Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry. John Wiley & Sons edition. Hoboken, New Jersey. 162, 458p.
- **Muthomi, J.W., Schutze, A., Dehne, H.W., Mutitu, E.W., et Oerke, E.C.** 2000. *Characterisation of Fusariumculmorum isolates by mycotoxin production and aggressiveness to winter wheat*. Journal of Plant Disease and Protection 107: 113-23.
- **Nicholson P, Simpson DR, Weston G, Rezanoor HN, Lees AK, Parry DW, Joyce D,** 1998. *Detection and quantification of Fusariumculmorum and Fusariumgraminearum in cereals using PCR assay*. Physiological and molecular plant pathology 53, 17-37.
- **Parker M.L., Ng A. & Waldron K.W.** (2005) The phenolic acid and polysaccharide composition of cellwalls 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.
- **Parry, D.W., Jenkinson, P., et McLeod, L.** 1995. *Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals-a review*. Plant Pathology 44: 207-238
- **Paul, P.A., El-Allaf, S.M., Lipps, P.E., et Madden, L.V.** 2004. *Rain splash dispersal of Gibberellazeae within wheat canopies in Ohio*. Phytopathology 94: 1342-1349.
- **Pestka, J.J.** 2007. *Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks*. Animal Feed Science and Technology 137: 283-298.
- **Pirgozliev, SR, Edwards, SG, Hare, MC et Jenkinson, P,** 2003. *Strategies for the control of Fusarium head blight in cereals*. European Journal of Plant Pathology 109: 731-742
- **Ponts N,** 2005. *Influence de stress oxydatifs sur la biosynthèse de mycotoxines de Fusarium spp. contaminantes de l'épi de maïs*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux, France.
- **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.
- **Proctor RH, Desjardins AE, McCormick SP, Plattner RD, Alexander NJ, Brown DW,** 2002. *Genetic analysis of the role of trichothecene and fumonisin mycotoxins in the virulence of Fusarium*. European Journal of Plant Pathology 108, 691-698.
- **Proctor, RH, Hohn, TM & McCormick, SP,** 1995. *Reduced Virulence of Gibberellazeae Caused by Disruption of a Trichothecene Toxin Biosynthetic Gene*. Molecular Plant-Microbe Interactions 8: 593- 601.
- **Raimbault, J.M., Orlando, D., Grosjean, F., et Leuillet, M.** 2002. *Méthodes d'échantillonnage et de quantification des mycotoxines - Réussir à trouver des aiguilles dans une meule de foin*. Perspectives Agricoles 278: 32-35.

- **Rapilly, F., H. Richard, M. Skajennilkoff, Cauderon et J. Roussel.** 1989. Pressions de selection exercées par le noyau ou le cytoplasme de l'hôte sur l'agressivité d'un parasite.
- **Reid L.M., Mather D.E., Arnason J.T., Hamilton R.I. & Bolton A.T.** (1992) Changes in phenolic constituents of maize silks infected with *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Botany*, 70, 1697-1702.
- **Rohacik, T., et Hudec, H.** 2005. *Influence of agro-environmental factors on Fusarium infestation and population structure in wheat kernels*. *Annals of Agricultural and*
- **Ruel T.,** 2006. Document sur la culture du blé, édition Educagri.
- **Schmale, D.G., Shah, D.A., et Bergstrom, G.C.** 2005. *Spatial patterns of viable spore deposition of Gibberellae in wheat fields*. *Phytopathology* 95: 472-479.
- **Schollenberger, M., Müller, H.M., Rühle, M., Terry-Jara, H., Suchy, S., Plank, S., et Drochner, W.** 2007. *Natural occurrence of Fusarium toxins in soy food marketed in Germany*. *International Journal of Food Microbiology* 113: 142-146.
- **Schroeder, H.W., et Christensen, J.J.** 1963. *Factors affecting resistance of wheat to scab caused by Gibberellae*. *Phytopathology* 53: 831-838.
- **Shaner, G., et Finny, R.E.** 1977. *The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildew resistance in Knox wheat*. *Phytopathology* 67: 1051-1056.
- **Shisham (Dalbergiasisoo Roxb.).** *Decline and In vitro response of isolated fungus spp., to various fungicides*. *International Journal of Agriculture and Biology* 6: 611- 614.
- **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- 431.
- **Simpson, D.R., Thomsett, M.A., et Nicholson, P.** 2004. *Competitive interactions between Microdochium nivale var. majus, M. nivale var. nivale and Fusarium culmorum in planta and in vitro*. *Environmental Microbiology* 6: 79-87.
- **Siranidou E., Kang Z. & Buchenauer H.** (2002) Studies on symptom development, phenolic compounds and morphological defence responses in wheat cultivars differing in resistance to *Fusarium* head blight. *Journal of Phytopathology*, 150, 200-208.
- **Slavin, J. L., Martini, M. C., Jacobs J., David, R., Marquart, L. (1999).** Plausible mechanisms for the protectiveness of whole grains. *American J. of Clinical Nutrition*, 70:459–463.
- **Smiley, R.W.** 2002. *Soilborne crop pathogens under direct seeding: Fusarium*. Northwest direct seed conference proceedings, p 70-88.
- **Smiley, R.W., et Patterson, L.M.** 1996. *Pathogenic Fungi associated with Fusarium foot rot of winter wheat in the semiarid Pacific Northwest*. *Plant Disease* 80: 944-949.

- **Smith J.F., di Menna M.E., McGowan L.T.,** (1990), reproductive performance of coopworthewesfillowing oral doses of zeralenone before and after mating, *J. Reprod. Fert.*, 89, 99-106.
- **Steyn, PS,** 1995. *Mycotoxins, general view, chemistry and structure.* *Toxicology Letters* 82-83: 843-851
- **Sutton, J.C.** 1982.*Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by Fusariumgraminearum.* *Canadian Journal of Plant Pathology* 4: 195-209.
- **Tekauz, A., McCallum, B., et Gilbert, J.** 2000. *Review: Fusarium head blight of barley in western Canada.* *Canadian Journal of Plant Pathology* 22: 9-16.
- **Trail F,** 2009. *For blighted waves of grain: Fusariumgraminearum in the postgenomics era.* *Plant Physiology* 149(1),103-110.Trichothecegeneschemotypes of *Fusariumculmorum* infecting wheat in Tunisia.
- **Vigier, B, Reid, LM, Dwyer, LM, Stewart, DW, Sinha, RC, Arnason, JT et Butler, G,** 2001. *Maize resistance to Gibberella ear rot: symptoms, deoxynivalenol, and yield.* *Canadian Journal of Plant Pathology* 23: 99-105.
- **Vilei, EM & Frey, J,** 2001. *Genetic and biochemical characterization of glycerol uptake in Mycoplasma mycoides subsp. mycoidesSC: its impact on H2O2 production and virulence.* *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 8: 85-92.
- **Vogelgsang S, Sulyok M, Hecker A, Jenny E, Krska R, Schuhmacher R, Forrer HR,** 2008. *Toxigenicity and pathogenicity of Fusariumpoae and Fusariumavenaceum on wheat.* *European Journal of Plant Pathology* 122, 265–276.
- **Waalwijk, C., Kastelein, P., Vries, I.d., Kerényi, Z., Lee, T.v.d., Hesselink, T., Kohl, J. etKema, G.** 2003. *Major changes in Fusarium spp. in wheat in the Netherlands.* *European Journal of Plant Pathology* 109: 743-754.
- **Wagacha, J.M., et Muthomi, J.W.** 2007. *Fusariumculmorum: infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat.* *Crop Protection* 26: 877-885.
- **Wang JH, Ndoye M, Zhang JB, Li HP, Liao YC,** 2011. *Population structure and genetic diversity of the Fusariumgraminearum species complex.* *Toxins* 3, 1020-1037.
- **Wang, B., Brubaker, C.L., Tate, W., Woods, M.J., Matheson, B.A., et Burdon, J.J.** 2006.*Genetic variation and population structure of Fusariumoxysporum f. sp. Vasinfectum.*
- **Wang, Y.Z. et Miller, J.D.** 1988. *Effects of metabolites on wheat tissue in relation to Fusarium head blight resistance.* *Journal of Phytopathology* 122: 118-125.
- **Wu, A.B., Li, H.P., Zhaco, C.S., et Liao, Y.C.** 2005. *Comparative pathogenicity of Fusariumgraminearum isolates from China revealed by wheat coleoptile and floret*

inoculations. Mycopathologia 160: 75-83.

- **Wu, T.G., V.V., Keasler, Mitchell, B.M., et Wilhelmus, K.R.** 2004. *Immunosuppressant affects the severity of experimental Fusarium solani keratitis*. The Journal of Infectious Diseases 190: 192-198.
- **Xu X.M., Nicholson P.**, 2009. *Community ecology of fungal pathogens causing wheat head blight*. Annual Review of Phytopathology 47, 83–103.
- **Yves. H et Buyer. J.**, 2000. L'origine des blés. Pour les sciences hors series n°26.60-62 pp.
- **Zadoks, J.C., Chang, T.T., et Konzak, C.F.** 1974. *A decimal code for the growth stages of cereals*. Weed Research 14: 415-421.

Webographie

- www.univ-lehavre.fr.

Annexes

Annexe I

Composition des milieux de culture

Potato Dextrose Agar (PDA)

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

Dichloran Chloramphénicol Peptone Agar (DCPA)

Pour un litre de milieu

- Peptone bactériologique 15g
 - K_2HPO_4 1g
 - $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5g
 - Chloramphénicol 0,2g
 - Crystal violet en solution aqueuse 1ml
 - Agar 15g
 - Eau distillée 1000ml
-
- 0,2g de dichloran dans 100ml d'éthanol.
 - 50 mg de Crystal violet dans 100ml d'eau distillée.

ANNEXE II

Tableau des moyennes des notations des symptômes

La première semaine

Isolats	variétés	moyenne
T7	CIRTA1	0,00
BTCR	CIRTA2	0,00
	ARZ1	4,56
	ARZ2	4,56
	BOUSSELAM1	4,56
	BOUSSELAM2	3,22
	WAHBI1	2,78
	WAHBI2	3,44
	15BD1	10,56
	15BD2	10,44
	1BD1	5,11
	1BD2	7,67
	3BD1	3,44
	3BD2	10,00
	V18 1	1,11
	V18 2	0,00

La deuxième semaine

Isolats	variétés	moyenne
T7	CIRTA1	0,00
BTCR	CIRTA2	1,00
	ARZ1	10,56
	ARZ2	10,89
	BOUSSELAM1	11,89
	BOUSSELAM2	12,89
	WAHBI1	4,33
	WAHBI2	8,56
	15BD1	15,67
	15BD2	13,67
	1BD1	12,33
	1BD2	13,11
	3BD1	10,33
	3BD2	13,00
	V18 1	5,56
	V18 2	1,67

La troisième semaine

Isolats variétés moyenne

T7	CIRTA1	4,11
BTCR	CIRTA2	3,78
	ARZ1	14,44
	ARZ2	15,89
	BOUSSELAM1	15,33
	BOUSSELAM2	16,56
	WAHBI1	6,00
	WAHBI2	12,89
	15BD1	19,22
	15BD2	18,33
	1BD1	16,89
	1BD2	19,00
	3BD1	15,67
	3BD2	17,89
	V18 1	9,56
	V18 2	4,89

La quatrième semaine

Isolats variétés moyenne

T7	CIRTA1	9,89
BTCR	CIRTA2	7,56
	ARZ1	18,78
	ARZ2	19,22
	BOUSSELAM1	18,78
	BOUSSELAM2	22,56
	WAHBI1	10,89
	WAHBI2	16,78
	15BD1	24,33
	15BD2	21,00
	1BD1	21,89
	1BD2	22,89
	3BD1	21,11
	3BD2	21,33
	V18 1	14,33
	V18 2	7,56

Tableau d'indice d'attaque en pourcentage

La première semaine

Variétés **T7** **BTCR**

CIRTA	5%	5%
ARZ	15%	20%
BOUSSELAM	15%	25%
WAHBI	15%	20%
15BD	30%	35%
1BD	25%	30%
3BD	30%	35%
V18BD	5%	10%

La deuxième semaine

Variétés **T7** **BTCR**

CIRTA 1	10%	10%
ARZ	20,00%	20,00%
BOUSSELM	30%	35%
WAHBI	25%	30%
15BD	45%	50%
1BD	30%	35%
3BD	40%	45%
V18BD	10%	12%

La troisième semaine

Variétés **T7** **BTCR**

CIRTA	15%	17%
ARZ	30%	35%
BOUSSELAM	40%	45%
WAHBI	30%	38%
15BD	50%	58%
1BD	40%	47%
3BD	48%	55%
V18BD	15%	20%

La quatrième semaine

Variétés T7 BTCR

CIRTA	20%	25%
ARZ	35%	40%
BOUSSELAM	50%	58%
WAHBI	35%	40%
15BD	65%	75%
1BD	50%	60%
3BD	55%	65%
V18BD	25%	30%

Analyse d'ANOVA

La semaine 1 :

Tableau 07 : Analyse de la variance pour 7 jours d'inoculation

SOURCE	DL	SC	CM	F	P
VARIÉTÉS	15	5176,1	345,1	15,39	0,000
ERREUR	32	717,3	22,4		
TOTAL	47	5893,5			

La semaine 2 :

Tableau 08 : Analyse de la variance pour 14 jours d'inoculation

SOURCE	DL	SC	CM	F	P
VARIÉTÉS	15	10096,8	673,1	16,43	0,000
ERREUR	32	1310,7	41,0		
TOTAL	47	11407,5			

La semaine 3 :

Tableau 09 : Analyse de la variance pour 21 jours d'inoculation

SOURCE	DL	SC	CM	F	P
VARIÉTÉS	15	12640,6	842,7	18,20	0,000
ERREUR	32	1481,3	46,3		
TOTAL	47	14121,9			

La semaine 4 :

Tableau 10 : Analyse de la variance pour 28 jours d'inoculation

SOURCE	DL	SC	CM	F	P
VARIÉTÉS	15	12869,9	858,0	18,09	0,000
ERREUR	32	1518,0	47,4		
TOTAL	47	14387,9			

Tableau d'indice d'agressivité AUDPC

isolats	variétés	AUDPC
T7	CIRTA	196,00
	ARZ	676,67
	BOUSSELAM	707,78
	WAHBI	336,00
	15BD	656,02
	1BD	655,26
	3BD	526,14
	V18	427,78
BTCR	CIRTA	172,67
	ARZ	707,78
	BOUSSELAM	773,11
	WAHBI	583,33
	15BD	888,22
	1BD	877,33
	3BD	871,11
	V18	197,56