



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE : DES SCIENCES

DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : Daoud Halla

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

FILIERE : SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION : PROTECTION DES VEGETAUX

Thème

Caractérisation morphologique et biochimique des espèces
de *Fusarium* spp. responsables de la fusariose du maïs

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	qualité
MALLEM Hamida	MCA	Président
ZAZA Messaouda	MAA	Examineur
TOUATI-HATTAB Sihem	MCD	Encadreur

Promotion 2022

Titre du mémoire : Caractérisation morphologique et biochimique des espèces de *Fusarium* spp. responsables de la fusariose du maïs

Nom : Halla

Prénom : Daoud

Encadreur : Mme, Touati

Résumé :

Fusarium Ear Rot (FER) sur maïs est causée par le genre *Fusarium*. La fusariose s'est imposée comme l'une des préoccupations importantes des différents acteurs de la filière maïsicole compte tenu des pertes économiques considérables. La contamination des grains par les mycotoxines ajoute une dimension sanitaire au problème de fusariose.

Cette maladie est connue dans les régions tempérées d'Europe, d'Amérique du Nord et de l'Asie. Au cours de ces dernières années, la maladie a émergé surtout sur maïs dans les régions céréalicultures en Algérie.

L'identification morphologique a permis de montrer l'implication de six espèces à savoir :

F. culmorum, *F. verticillioides*, *F. thapsinum*, *F.konzum*, *F. napiforme*, *F. sporotrichioides*, *F. oxysporum* . L'effet de la température sur la croissance des isolats in vitro a montré que l'optimum de la croissance mycélienne pour les espèces de *F. Sporotrichioides*, *F. culmorum* et *F. verticillioides*(2) a été enregistré à 25°C. L'essai de l'évaluation de l'agressivité sur collet a montré que tous les isolats ont induit les symptômes typiques de la pourriture sur collet avec une variabilité dans l'agressivité des isolats mais à des degrés très faibles. Nos isolats ont été identifiés comme étant de chémotype DON et NIV/FX après identification par HLPC-DAD des TCTB produits après 15 jours d'incubation. Les résultats ont montré que les isolats n'ont pas produit de ZEA dans les extraits des trois échantillons étudiés.

Mots clé: Maïs -Fusariose- *Fusarium* spp.- Croissance in vitro - Agressivité. -TCTB

Memory title: Morphological and biochemical characterization of *Fusarium* spp. Responsible for Fusarium wilt in maize

Name: Halla

First name: Daoud

Supervisor : Mme, Touati

Summary :

Fusarium EarRot (FER) on corn is caused by the genus *Fusarium*. Fusarium wilt has emerged as one of the major concerns of the various players in the malsiculture sector given the contamination of grains by mycotoxins adds a sanitary dimension to the problem of fusarium wilt. This disease is known in temperate regions of Europe, North America and Asia. In recent years, the disease has emerged mainly in the cereal-growing regions of Algeria

Morphological identifications showed the involvement of six species, namely : *F.culmrum*, *F.sporotrichioides*, *F.oxysporum*. The effect of isolates in vitro showed that the optimum of mycelial growth for species of *F.Sporotrichioides*, *F.Culmorum* and *F.Verticillioides* (2) was recorded at 25°C. The collar aggressiveness test showed that all isolates induced the typical symptoms of crown rot with variability in the isolates but to very low degrees. Our isolates were identified by HPLC-DAD of the TCTBs produced after 15 days of incubation. The results showed that the isolates did not produce ZEA in the extracts of the three samples studied.

Keywords : corn *Fusarium* head blight, *Fusarium* spp

عنوان المذكرة:

اللقب: داود الاسم الأول: هالة المشرفة: السيدة تواتي

ملخص:

يحدث تعفن الاذن الفيوزاريوم *Fusarium Ear Rot (FER)* على الذرة بسبب جنس *fusarium* برز ذبول الفيوزاريوم كواحد من الاهتمامات الرئيسية لمختلف الجهات الفاعلة في صناعة الذرة بنظر الى الخسائر الاقتصادية الكبيرة يضيف تلوث الحبوب بالسموم الفطرية بعدا صحيا لمشكلة ذبول الفيوزاريوم

هذا المرض معروف في المناطق المعتدلة في اوربا وأمريكا الشمالية واسيا في السنوات الأخيرة ظهر المرض بشكل رئيسي في الذرة في مناطق زراعة الحبوب في الجزائر

تحديد *Fusarium spp.* تم الحصول عليها من حبوب الذرة الهدف من هذا العمل هو دراسة التعرف على السموم الفطرية التي تفرزها العزلات الفطرية والنمط الكيميائي المسؤول عن الطرق التحليلية لتحديد السموم الفطرية كروماتوجرافيا سائلة عالية الأداء (HPLC) وكروماتوجرافيا على الطبقة الرئيسية ودراسة تأثير درجة الحرارة على نمو 5 عزلات من *Fusarium spp* في المختبر أظهرت دراسة تأثير درجة الحرارة ان النمو الأمثل يقع عند 25°C لغالبية العزلات ونمو بعض العزلات عند 30°C

اظهر اختبار العدوانية أن جميع العزلات تسببت في أعراض نموذجية لتعفن الرقبة مع تباين. في عدوانية العزلات ولاكن بدرجات منخفضة جدا تم التعرف على سلالاتنا على أنها من النمط الكيمياء DON و FX / NIV بعد 15 يوما من الحضانة اظهرت النتائج ان العزلات لم تنتج ZEA في مستخلصات العينات الثلاث المدروسة

الكلمات المفتاحية: الذرة، *Fusarium Ear Rot (FER)*، فوزاريوم، سموم فطرية

Dédicaces

Je dédie cet acte humble à ma chère mère, gentille, honorable et affectueuse : pour moi, êtes un symbole de bonté par excellence, une source de tendresse et un exemple de dévouement qui ne cesse jamais d'être le mien Encouragez-moi et priez pour moi.

A' mon cher père je prie dieu d'avoir pitié de toi et de te placer parmi les gens du paradis

A' mes frères et sœurs, je vous dédie ce travail avec mes meilleurs vœux de bonheur, de santé et réussite. Je vous exprime à travers mes sentiments de fraternité et d'amour.

A' mes chers amis, merci pour les bons moments que nous avons passés ensemble.

Le remercie également ma chère amie WISSAM pour son soutien.

Remerciements

Avant tout je remercie ALLAH (الله), le miséricordieux, le compatissant, l'unique, le tout puissant, le tout puissant, le seigneur des cieux et de la terre pour m'avoir protégée, m'aidée et me permis d'accomplir ce travail. C'est un plaisir de garder ces lignes en gage de gratitude envers ceux qui ont contribué directement ou indirectement au développement de cet ouvrage notamment ma directrice de recherche Mme Touati Siham, que je remercie infiniment pour son aide, ses conseils et ses corrections du manuscrit, sa patience, sa confiance et ses encouragements envers moi. Mes remerciements vont également aux membres du jury Mme Mallem H et Mme Zaza M d'avoir accepté de lire et d'examiner mon mémoire comme je remercie mon enseignante Mme Houyou zohra son aide pendant la réalisation de ce mémoire. J'adresse également mes remerciements à tous les enseignants et membres du Département des sciences agronomiques et à tous les membres du laboratoire

Résumé	
ملخص	
Abstract	
Dédicaces	
Remerciements	
Liste des tableaux	IV
Liste des figures	V
Liste des abréviations	VII
Introduction générale.....	2

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le Mais.....	4
I.1. Généralités.....	4
I.2. Importance économique.....	4
I.2.1. Dans le monde.....	4
I.2 .2. En Algérie.....	7
I.3. Biologie et physiologie du maïs.....	7
I.4. Phases de développement de maïs.....	10
1.4.1. La phase végétative	10
I.4.2. La phase de la reproduction.....	10
I.4.3. Le développement du grain et la maturation.....	10
I .5. Les agents pathogènes et maladies du maïs.....	11
II .LA FUSARIOSE.....	13
II.1. Les différentes espèces fusariennes inféodées au maïs.....	14
II.2. Epidémiologie de l'infection sur épi de maïs.....	16
II.3. Les toxines produites par les champignons du genre <i>Fusarium</i>	18
II.3.1. Les Fumonisines	19
II.3.2. Les Trichothécènes	20
II.3.3. La zéaralénone	21
II.4. Toxicité et Législation.....	21
II.5. Méthodes analytiques de détermination des mycotoxines.....	22

II.5.1. Méthodes chromatographiques.....	22
II.5.1.1. Chromatographie sur couche mince.....	22
II.5.1.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	23
II.5.1.3Chromatographie liquide à haute performancee (HPLC)	23
II.5.2. Méthodes immunochimiques.....	23
II .6. Quelles stratégies pour diminuer l’accumulation des mycotoxine.....	23
II. 6.1. Pratiques culturales.....	24
II.6.2. Lutte biologique.....	24
II.6.3. La lutte chimique.....	24

MATERIEL ET METHODE

I. Matériel	27
I.1.Matériel végétal.....	27
I.2.Matériel fongique	27
II. Méthodes.....	27
II.1. Purification des isolats de <i>Fusarium</i> spp.	27
II.2. Identification morphologique des isolats de <i>Fusarium</i> spp.....	28
II .2.1. Mensuration des conidies.....	28
II.3. Etude de l’effet de la température sur le taux de croissance mycélienne des isolats de <i>Fusarium</i> spp.	28
II.4. Pathogène et agressivité des espèces de <i>Fusarium</i>	28
II.4.1. Inoculation par fragments mycéliens.....	29
II. 4.2. Analyses statistiques.....	30
II.5. Extraction et identification des TCTB et ZEA.....	30
II.5.1. Préparation d’inoculum.....	30
II.5.2. Préparation de milieu liquide (MS).....	30
II.5.3. Extraction des TCTB et ZEA	31
II.6. Méthodes analytiques.....	31
II.6.1. Principe méthodes.....	31

II.6.2. Analyse par chromatographie sur couche mince. (CCM).....	31
II.6. 3. Analyse par chromatographe liquide haute performance (HPLC-DAD)	32

RESULTATS ET DISCUSSION

I. Identification des isolats sur milieu PDA	34
II. Effet de la température sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Fusarium</i> spp. sur milieu PDA.....	40
III. Etude de l'agressivité des espèces <i>Fusarium</i> spp.différent au niveau de collet.....	43
IV. Analyses de la production des trichothécènes pour les isolats de <i>Fusarium</i> spp. par HPLC	46
Conclusion générale	53
Références bibliographique	56

Liste des tableaux

Tableau 01 : production de maïs en Algérie (2015/2019) (MARD).	7
Tableau 02 : La principale de Fumonisines.	20
Tableau 03 : La température optimale de chaque espèce de <i>Fusarium</i> spp.	40
Tableau 04 : Répartition des isolats en groupes homogènes selon l'analyse de comparaison de Tukey Pairwise à un interval de confiance de 95%.....	45

|

Liste des figure

Figure 01 : Principaux pays producteurs de blé, de riz et de maïs dans le monde	6
Figure 02 : plant de maïs	9
Figure 03 : Structure du grain de maïs (x30) d'après le Wheat Flour Institute (Chicago, USA).	9
Figure 04 : les différents stades de développement du grain de maïs (photographies de Chad Lee, University of Kentucky et stades définis par Nielsen, University of Purdue 2013).....	11
Figure 05 : Quelques ravageurs du maïs.	12
Figure 06 : Fusariose de l'épi.	14
Figure 07 : Les principaux systèmes taxonomiques du genre <i>Fusarium</i>	14
Figure 08 : Cycle de vie de <i>F. graminearum</i> . Cet asomycète est capable de survivre dans le sol et les déchets végétaux. L'infection peut débuter par l'émission de microconidies (spores asexués) ou d'ascospores (spores sexués). <i>Fusarium graminearum</i> peut infecter plusieurs plantes hôtes.....	17
Figure 09 : Les différentes types de toxine produites par espèces de <i>Fusarium</i> spp. sur maïs.....	18
Figure 10 : Structure générale des Fumonisines.....	19
Figure 11 : Structure des trichothécènes de type B.	20
Figure 12 : Structure chimique de la zéaralénone.....	21
Figure 13 : Technique d'inoculation par fragment mycélien.....	29
Figure 14 : Chromatographe sur couche mince (CCM).....	31
Figure 15 : Aspect morphologique et microscopique de <i>F. culmorum</i> (Gx100et40).....	35
Figure 16 : Aspect morphologique et microscopique (Gx40et 100) des colonies du complexe <i>F. verticillioides</i>	36
Figure 17 : Aspect morphologique et microscopique (Gx100 et40) de <i>Fusarium thapsinum</i> , <i>F. konzum</i>	37

Figure 18 : Aspect morphologique et microscopique (Gx100 et 40) de <i>F. napiforme</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. oxysporum</i>	38
Figure 19 : Diamètre moyen (cm) des espèces de <i>Fusarium</i> spp. Après 4 jours d'incubation à 20,25 ,30°C.....	41
Figure 20 : Cinétique de croissance du mycélium des isolats de cultivés sur milieu PDA à, 20°C, 25°C, 30°C.....	42
Figure 21 : Indice de sévérité de <i>Fusarium</i> spp. Sur des plantules de blé cultivar « Vitron ».....	43
Figure 22 : Variation dans l'agressivité des différentes espèces de <i>Fusarium</i> spp....	44
Figure 23 : Analyse par chromatographie en phase liquide (HPLC/DAD) de <i>F. sporotrichioides</i> producteur de DON.....	47
Figure24 : Dosage de la quantité de NIV par chromatographie en phase liquide (HPLC/DAD) de deu <i>F. culmorum</i> producteur de NIV/FX.....	47

Liste des abréviations

CCM :	Chromatographie sur couche mince
<i>F</i> :	<i>Fusarium</i>
FER :	<i>Fusarium Ear Rot</i>
FUM :	Fumonisines
HPLC :	Chromatographie sur couche mince
MON :	Moniliformine
NIV :	Nivaline
TCTB :	Trichothécènes de type B
TCTA :	Trichothécènes de type A
UV :	Ultraviolet
ZEA :	Zéralénone
ELLISA :	L'enzyme linked immunosorbent assay
PDA :	Potatoes Dextrose Agar
NIV :	Nivaline
ECD :	Electron capture Detector
FID :	Flamme ionisation detector
CSAH :	Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine
DON :	Déoxynivalénol



**INTRODUCTION
GENERALE**

Introduction

Les cultures de céréales dont le maïs sont la cible de nombreux pathogènes à l'origine de diverses maladies. Parmi celles-ci, la fusariose est caractérisée par des symptômes survenant sur différentes parties de la plante comme les racines, les épis et la tige.

Cette maladie peut provoquer des pertes de rendements importantes, à l'origine de pertes économiques conséquentes. Chez le maïs, en fonction des espèces fusariennes incriminées, deux types de fusariose de l'épi, le *Fusarium Ear Rot* (FER) et le *Gibberella Ear Rot* (GER), sont distinguées.

En outre, parmi les espèces du genre *Fusarium*, certaines ont la capacité à produire des mycotoxines. Ces métabolites secondaires fongiques sont de nature multiple et différentes familles sont susceptibles d'être retrouvées dans les grains de maïs. La fusariose de type FER (*Fusarium Ear Rot*) est liée aux espèces fusariennes de la section *Liseola* (*F. proliferatum* et *verticillioides* essentiellement) capables de produire des fumonisines. L'autre grand groupe de *Fusarium*, provoquant les symptômes typiques de « *Gibberella Ear Rot* » ou GER est majoritairement représenté par *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*. Ces deux espèces sont productrices de trichothécènes (TCT) ou de zéaralénone (ZEN), voire des deux toxines.

Aussi, la problématique mycotoxine est au centre des préoccupations des filières céréalières dont la filière maïsicole. Les fumonisines du groupe B et notamment la fumonisine B1 (FB1) sont considérées comme les plus importantes du fait de leur occurrence et leur toxicité.

La contamination des grains par ces mycotoxines ajoute une dimension sanitaire au problème de la fusariose. Caractérisées par une toxicité aiguë avérée à doses élevées, ces mycotoxines seraient responsables d'une toxicité chronique à plus faible dose. Leur consommation régulière pourrait entraîner des pathologies diverses et en particulier des cancers de l'œsophage pour les fumonisines.

C'est pourquoi la commission européenne a fixé des limites à ne pas dépasser en TCTB (et plus précisément en déoxynivalenol ou DON, le représentant majeur de cette famille de toxines) pour les lots de maïs destinés à la consommation humaine (CE n°856/2005, et n°1126/2007). La maîtrise de la contamination des céréales en TCTB présente donc un double enjeu, économique et sanitaire. Plusieurs facteurs peuvent influencer les niveaux de contamination au champ. Parmi ceux-ci se trouvent le climat, les pratiques culturales comme le labour, le

précédent cultural, l'usage de fongicides et le choix des variétés cultivées. Afin de limiter ces contaminations, un des leviers le plus prometteur s'appuie sur la sélection génétique de plantes résistantes aux *Fusarium* spp. (Ponts, 2010).

L'utilisation de variétés de maïs résistantes à la fusariose et à l'accumulation de trichothécènes pourrait constituer une nouvelle approche pour maîtriser ce problème de fusariose et de contamination des grains par des mycotoxines (Schaafsma et Hooker, 2007).

Dans ce contexte, notre démarche est orientée autour de deux axes de travail. Le premier axe s'est attaché à caractériser et identifier des isolats de *Fusarium* spp. cette partie consiste à :

- ✓ Identifier l'espèce des isolats de *Fusarium* spp.
- ✓ Etudier l'effet d'une gamme de températures sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. sur milieu PDA.
- ✓ Evaluer l'agressivité des isolats sur le collet des plants de blé.

Le deuxième axe de ce travail de mémoire a pour objectif d'identifier le potentiel toxigène des isolats et déterminer le type de mycotoxines produites par HPLC et CCM.

Avant la présentation des résultats obtenus, le contexte bibliographique concernant la contamination du maïs par les *Fusarium* spp. Et leurs mycotoxines, les facteurs limitant l'apparition de la maladie et l'accumulation des fusariotoxines dans les grains, ainsi seront décrits. La démarche des expérimentations sera ensuite présentée et les chapitres suivants exposeront les résultats obtenus. Une discussion générale et des perspectives concluront ce manuscrit.



Synthèse
bibliographique

I. LE MAÏS

I.1.Généralités

Le maïs, également appelé blé d'inde au Canada, est une plante annuelle herbacée, monocotylédone de la famille des poacées originaire de Mésopotamie. Il s'agit d'une plante cultivée à la fois comme céréale par une importante teneur en amidon de ses grains, mais également comme plante fourragère.

L'histoire du maïs commence il y a 9.000 ans, dans une haute vallée du Mexique, où s'écoule le fleuve Rio Balsas <https://www.semae-pedagogie.org>. Plusieurs théories divergent à propos de l'origine du maïs actuel qui n'existe pas à l'état sauvage. Certains pensent comme (Mangelsdorf, MacNeish et *al.*, 1964) qu'un maïs sauvage existait avant l'arrivée de l'homme, ce qui les oppose aux partisans de Beadle (Beadle, 1981) qui pensent que le maïs est issu de la pression de sélection induite par l'homme de la téosinte, théorie la plus probable, vu que le maïs actuel et la téosinte sont capables de produire des hybrides.

La culture des grains de maïs se développe très rapidement. Le maïs fut introduit en Europe à la fin du XVe siècle après la découverte du Nouveau Monde par Christophe Colomb. Du sud de l'Espagne, il s'est diffusé dans toutes les régions d'Europe méridionale au climat suffisamment chaud et humide, le Portugal (1515) où il est appelé milho (« gros millet marocain ») <https://googleweblight.com/>.

Le véritable essor de la culture du maïs a lieu en Amérique après la Seconde Guerre Mondiale grâce aux progrès génétiques conduisant notamment à l'augmentation des rendements par le développement de premières générations issues de croisement de lignées pures, aussi appelées hybrides F1, plus adaptés aux conditions climatiques du Nord de l'Europe (Tenailon et Charcosset, 2011).

I.2. Importance économique

I.2.1. Dans le monde

D'après la Food and Agriculture Organization (FAO), plus de 872 millions de tonnes de maïs ont été produites en 2012 dans le monde, en progression jusqu'à plus d'un milliard de tonnes en 2013 (<http://faostat.fao.org>), ce qui en fait la céréale la plus produite devant le riz, le blé et l'orge. Une dizaine de pays est à l'origine de la majeure partie de la production mondiale de maïs. Les Etats-Unis et la Chine avec 273 et 205 millions de tonnes en 2012, respectivement,

sont les plus gros producteurs. Durant la période 2021/2022 les États-Unis sont arrivés à 380 millions de tonnes (Statista.html. 2021/2022).

Le maïs est la première céréale cultivée dans le monde en termes de quantité et de surface, devant le blé et le riz. Durant la période 2021/2022 Les États-Unis et la Chine sont de loin les plus gros producteurs avec 380 et 166 millions de tonnes respectivement (www.fao.org). La France, premier producteur européen, se place au huitième rang mondial avec une production oscillant autour de 14 millions de tonnes.

La production de maïs en volume dans le monde en 2021/2022, par pays. Durant cette période, les États-Unis avaient produit du maïs d'un volume supérieur à 380 millions de tonnes. Le maïs est une plante à graines cultivée pour l'alimentation. L'origine de cette graine reste inconnue, mais de nombreux historiens pensent que le maïs a été domestiqué pour la première fois dans la vallée de Tehuacan, au Mexique. Les types de maïs incluent le maïs sucré, le maïs à éclater, le maïs sauvage, le maïs corné, le maïs tendre, le maïs creux et le maïs dent (<https://fr.statista.com/>).

La France arrive en 9ème position ; c'est le deuxième producteur européen derrière l'Ukraine avec une production d'environ 15 millions de tonnes de maïs grain en 2012 (FAO).

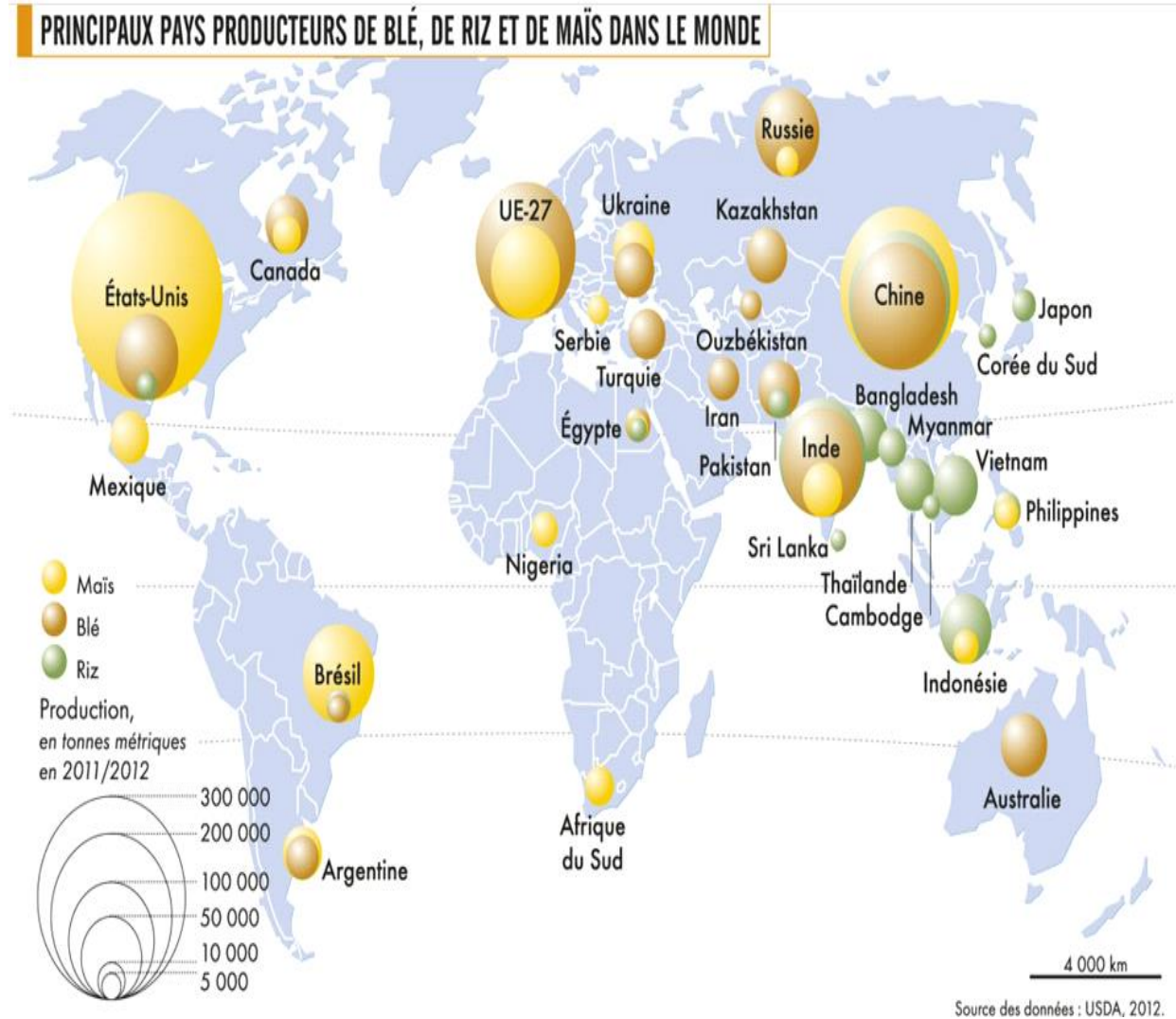
Les principaux pays importateurs de maïs sont le Japon, le Mexique, la Corée, le Vietnam et l'Iran, suivis par l'Espagne, l'Égypte, les Pays-Bas, l'Italie et la Colombie, toujours selon les données de 2018. (<https://fr.statista.com/>).

En 2019-2020, le maïs est la première céréale produite dans le monde avec 1 091 millions de tonnes (Mt). Le marché mondial du maïs est porté par les États-Unis, le Brésil, l'Argentine, l'Ukraine et accessoirement par l'Afrique du sud.

La Chine, deuxième producteur mondial 254 millions de tonnes (Mt), après les États-Unis (333 Mt), croule sous ses stocks et en plus elle importe 5 millions de tonnes de gains seulement. Cinq pays se partagent majoritairement le marché mondial du maïs. Le Brésil et l'Afrique du Sud font partie du cartel alors qu'ils ne font pas partie des huit grands pays exportateurs de céréales, essentiellement producteurs de blé (Figure 01).

Le maïs occupe une place importante dans l'alimentation humaine et on le retrouve également dans de nombreux produits dérivés pour ne citer que les corn flakes, le maïs doux, l'huile de maïs riche en acide linoléique, la polenta, les tortillas, les pains. Le maïs est également

utilisé pour la production de bio-éthanol (4% de la production de maïs grain française) dont la France est le premier producteur européen avec 12 millions d’hectolitres produits en 2012 ce qui représente un quart de la production européenne (données AGPM, AGPB).



Source : USDA, 2012

Figure 01 : Principaux pays producteurs de blé, de riz et de maïs dans le monde.

I.2 .2. En Algérie

Le maïs occupe une part importante dans la structure des importations céréalières de l'Algérie depuis des années. Les besoins exprimés sont estimés à 30 millions de quintaux par année (Belaid,2016).

Le maïs est, depuis longtemps, surtout cultivé dans les départements d'Oran et de Constantine, le département d'Alger venant loin derrière ses voisins et les territoires du Sud ne lui consacrant que des superficies réduites. » (Naili, 2013).

Parmi les régions ayant un fort potentiel pour la production de maïs, Naâma, Biskra, Ouargla et Ghardaïa avec des rendements qui sont estimés entre 80 et 100 quintaux/ha. A moyen terme, cette superficie sera élargie afin de contribuer activement à la réduction de la facture des importations (Tableau 01) (Naili, 2013).

Lors de la saison agricole 2020-2021 une surface a été consacrée la production du maïs ensilage a dépassé 500 has à Oran. Ce type de culture est développé au périmètre irrigué de la plaine de Malta à Hassiane Toul Sidi Chahmi et El Kerma (<https://www.aps.dz>).

Tableau 01 : production de maïs en Algérie (2015/2019) (MARD).

ANNEE	SUP	PROD	RDT
2015	712	27941	39 ,3
2016	817	36865	45 ,1
2017	2025	26335	13 ,0
2018	1241	55125	44,4
2019	1533	63683	41,5

I.3. Biologie et physiologie du maïs

Le maïs a la particularité de Posséder de nombreuses racines adventives au niveau du premier nœud à la base de la tige (Pons,2010).

Le maïs est une plante herbacée annuelle de hauteur variable et constituée d'une tige unique de gros diamètre, constituée d'un empilement de nœuds et d'entrenœuds.

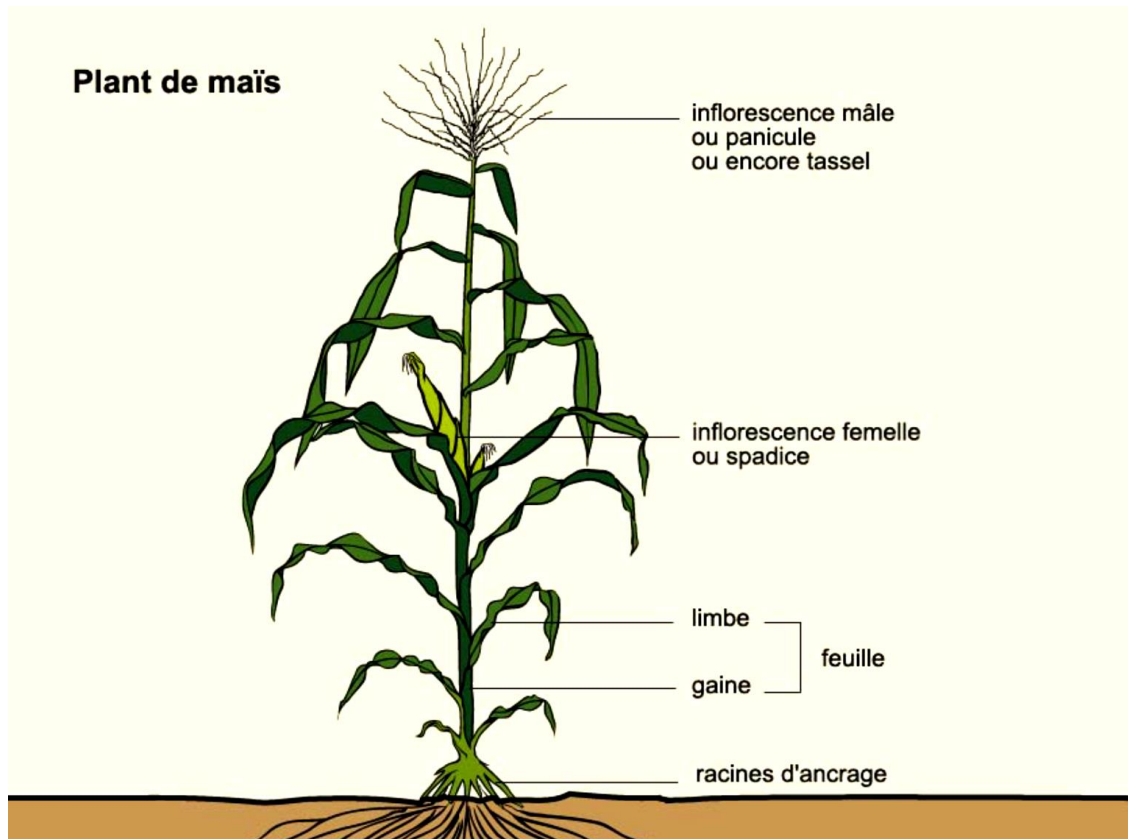
Au niveau de chaque nœud sont insérés une feuille et un bourgeon axillaire. Selon les variétés, chaque plante porte entre 15 et 20 feuilles, de grande tailles (jusqu'à 10 cm de large et 1 mètre de long) et réparties alternativement d'un côté et de l'autre de la tige. (<https://www.semae-pedagogie.org/>).

Les fleurs femelles sont groupées en épis insérés à l'aisselle des feuilles médianes (les plus grandes). Et les fleurs mâles sont groupées dans une panicule terminale qui apparaît après la dernière feuille. À l'extrémité supérieure, les spathes laissent dépasser les stigmates filiformes ou soies. Un épi peut contenir environ 500 grains à maturité, parfois mille. Un pied donne naissance à trois ou quatre épis, mais un seul atteint généralement un développement complet. <https://www.techno-science.net>.

Le grain de maïs est un caryopse (fruit sec indéhiscent) composé de trois parties :

- ✓ Le péricarpe, enveloppe extérieure
- ✓ L'albumen, tissu de réserve du grain, est composé d'une couche à aleurone et de grains d'amidon.
- ✓ L'amidon est un polysaccharide de glucose, mélange de deux homopolymères, l'amylose (polyoside de glucose légèrement ramifié) et l'amylopectine (polyoside constitué d' α -D-glucopyranose).
- ✓ Le germe, constitué de l'embryon et du scutellum, est riche en lipides et protéines (L. gauhier,2015).

Un certain nombre de métabolites secondaires entrent également dans la composition du grain de maïs et en particulier trois classes : les caroténoïdes, les tocophérols et les composés phénoliques. Parmi les caroténoïdes, quatre composés majeurs ont été identifiés : la lutéine zéaxanthine suivis du β -carotène et de la β -cryptoxanthine (Watson 1962; Webe1987).



Source : <http://www.afd.be/~plant-ch/mais/conaiss/AGmais.htm>

Figurier 02 : plant de maïs.

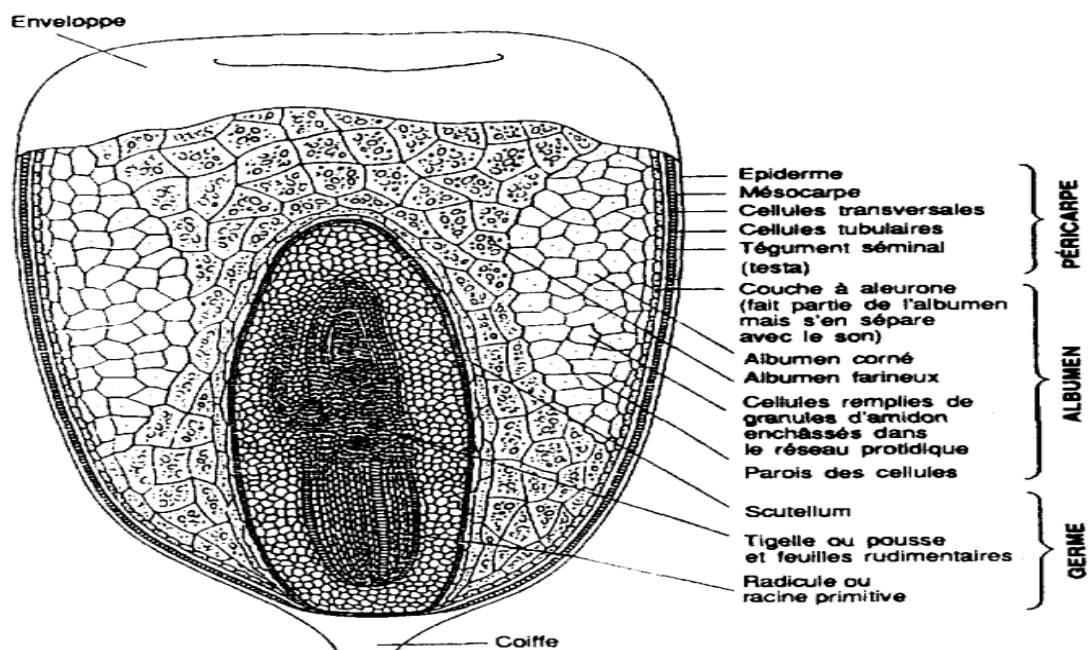


Figure 03: Structure du grain de maïs (x30) d'après le Wheat Flour Institute (Chicago, USA).

I.4. Phases de développement de maïs

1.4.1. La phase végétative

Correspond à la formation des racines, de la tige et des feuilles. Dès que la température du sol atteint 10°C, la germination a lieu. Puis les premières feuilles apparaissent à la surface du sol : c'est la levée. A ce stade, apparaissent les racines des couches superficielles du sol. (<https://www.maisculturedurable.com/>).

1.4.2. La phase de la reproduction

La phase de reproduction correspond à la formation et au développement des organes reproducteurs. Entre le stade 50 % des feuille visible soit 8 à 10 feuilles, et le stade « sortie de la panicule » se détermine le nombre potentiel d'ovules. Ce stade marque la fin de la floraison et le point de départ de la fécondation et du remplissage des grains ainsi que la maturation des épis. La fécondation des fleurs femelles par le pollen se déroule généralement en juillet-août. À cette période la culture est particulièrement sensible au manque d'eau et d'éléments nutritifs. (<https://www.maisculturedurable.com/>).

1.4.3. Le développement du grain et la maturation

Les stades Reproductifs traités ici au nombre de six, de R1 à R6, ne concernent que le développement du Grain. Ces stades sont décrits dans le Tableau 02.R1 correspond à l'émergence des soies et à la Pollinisation.

Deux à trois jours sont nécessaires pour permettre la fécondation de tous les Ovules sachant qu'un grain de pollen met environ 24 heures pour longer les soies. Au stade R2, l'embryon est complètement formé et l'endosperme est abondant. L'épi a atteint sa taille Définitive et les soies commencent à dégénérer. Le stade R3 est synonyme d'accumulation d'amidon et les grains accusent une couleur jaune à l'extérieur. Au stade R4, l'endosperme du Grain prend une consistance pâteuse due à une teneur quasiment optimale d'amidon.

La Déshydratation du grain commence au stade R5, s'initiant depuis le sommet du grain. Au Stade R6, le grain est considéré mature avec une teneur de 30% environ en humidité (S. Pons,2010).

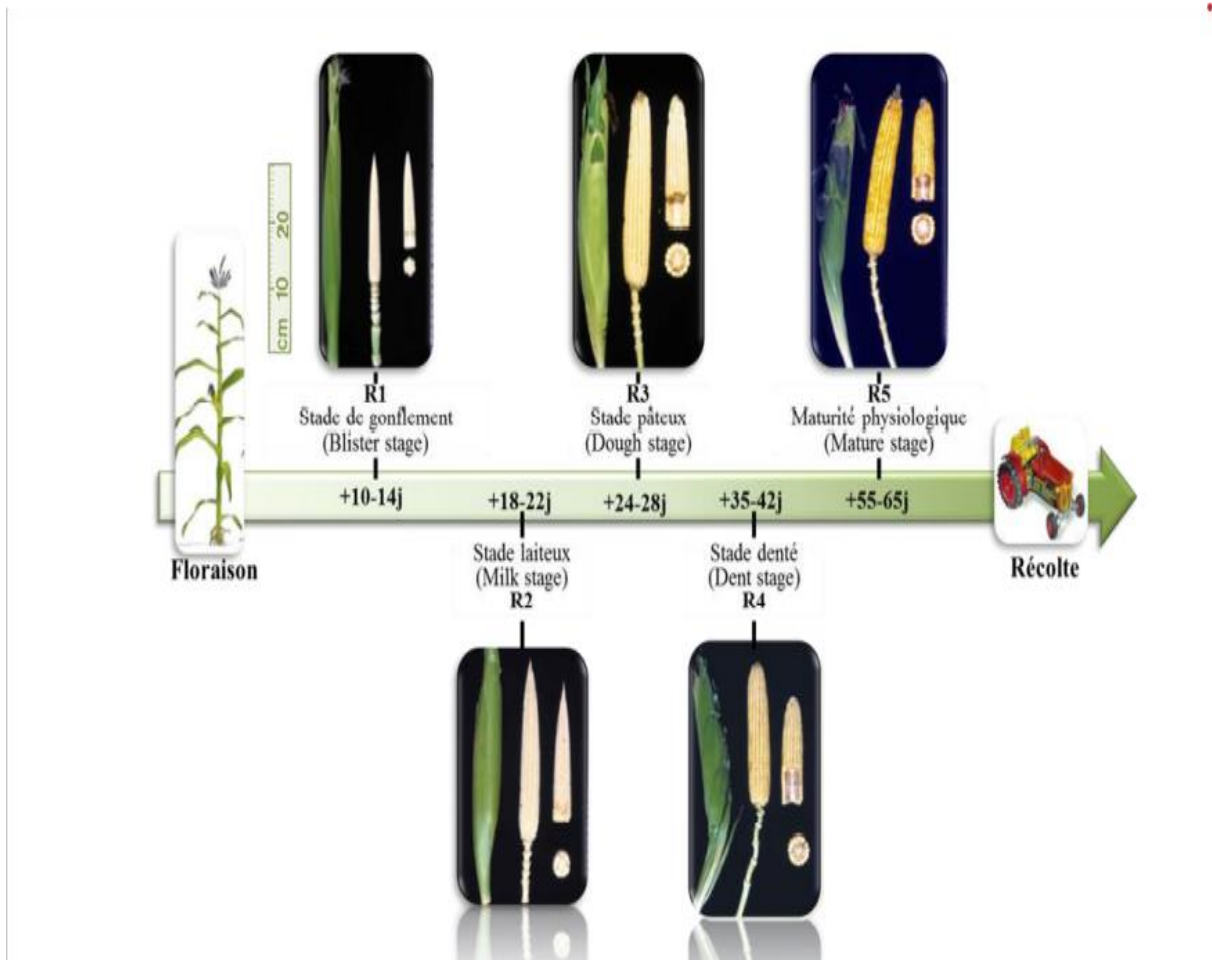


Figure 04: les différents stades de développement du grain de maïs (photographies de Chad Lee, University of Kentucky et stades définis par Nielsen, University of Purdue 2013).

I.5. Les agents pathogènes et maladies du maïs

Du semis au stockage du grain de maïs, les ravageurs ainsi que les maladies du maïs sont nombreux (Pons, 2010). De nombreux pathogènes sont susceptibles de provoquer d'importants dégâts chez le maïs. Plusieurs ravageurs tels que les insectes s'attaquent aux racines (taupins, chrysomèle, Scutigérelle) et aux parties aériennes (pyrale, sésamie, cicadelle, noctuelle, puceron, oscarie). Tandis que les oiseaux et certains mammifères comme le sanglier ou les rongeurs peuvent attaquer les épis et les grains dès le semis, mais aussi à maturité. Certains virus (Striures, nécroses, nanisme, mosaïques) (L. Gauthier, 2015). Quelques bactéries de type *Erwinia*, *Enterobacter* et *Pseudomonas* se développent sur le maïs. Ces bactéries vivent dans la tige, exploitant des voies d'entrées naturelles, type blessure (S. PONS, 2010).

Un grand nombre de maladies fongiques peuvent détériorer différentes parties de la plante à plusieurs stades de son cycle de vie. Parmi celles-ci on peut notamment citer l'antracnose (*Colletotrichum graminicola*), la rouille (*Puccinia sorghi*), le charbon (*Ustilago maydis*), l'helminthosporiose (*Exserohilum turcicum*) ou encore la fusariose (*Fusarium* spp.). En plus de provoquer de sérieuses pertes de rendement, certaines espèces fongiques produisent des mycotoxines qui s'accumulent dans les grains, ce qui induit un réel enjeu pour la santé publique. (L. gauthier,2015).



Source : <http://www.inra.fr/hyppz/RAVAGEUR/3ostnub.htm>.

Figure 05 : Quelques ravageurs du maïs.

II .LA FUSARIOSE

La fusariose est une maladie fongique qui affecte les cultures céréalières telles que le blé, l'orge, l'avoine ou le maïs. Cette maladie est principalement associée à un complexe d'espèces fongiques du genre *Fusarium* qui peuvent infecter toutes les parties de la plante :

- L'épi (« ear rot » pour le maïs ou « head blight » pour les céréales à petits grains).
- Les semences (« seedling blight »)
- Le collet et les racines (« crown and foot rot ») (gauthier,2015)

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. Toutefois, au Canada, cette maladie a été détectée pour la première fois près de 40 ans plus tard (<https://www.agrireseau.net.pdf>)

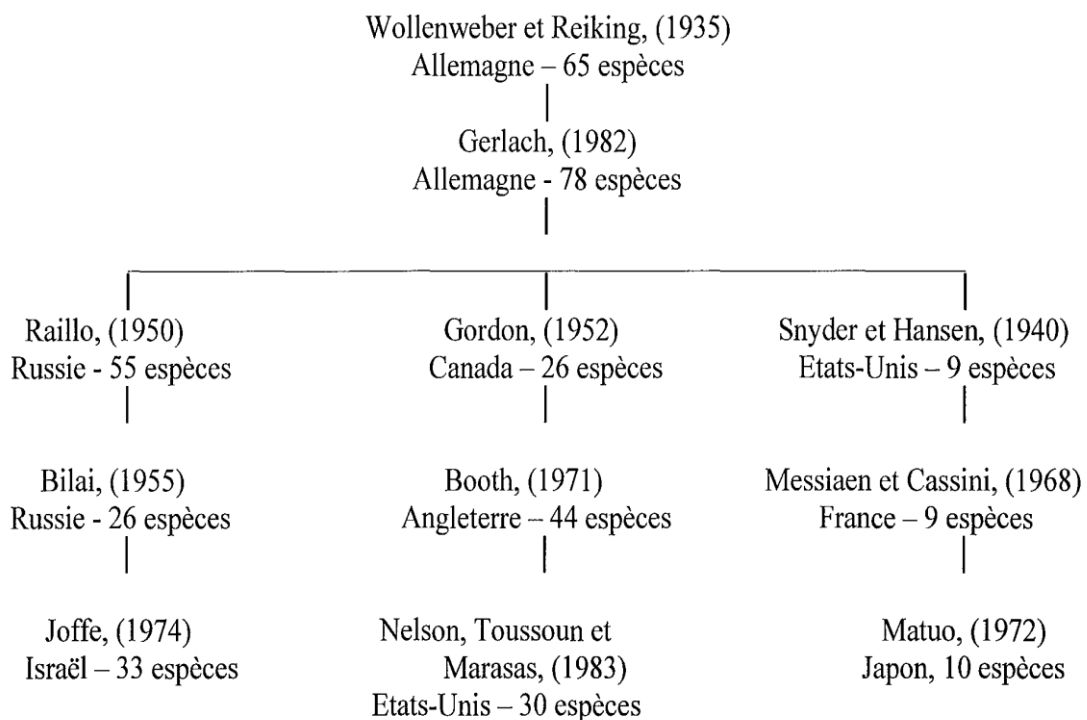
Les champignons phytopathogènes responsables de la fusariose chez le maïs appartiennent exclusivement au genre *Fusarium* tandis que chez le blé on retrouve également *Microdochium nivale* et *M. majus* (Parry, 1995). Chez le maïs, la fusariose de l'épi regroupe deux maladies distinctes liées à différents agents pathogènes. Le *Gibberella* Ear Rot Ou GER est causée par les espèces fusariennes de la section *Discolor*, principalement *F. graminearum* Schawbe (téléomorphe *Gibberella zea* (Schwein.) Petch), *F. culmorum*, *F. Poae*, et *F. avenaceum* (Logrieco *et al.*, 2002). Le *Fusarium* Ear Rot ou FER est causée par les espèces de la section *Isola* formant le complexe *Gibberella fujikuroi* qui comprend les espèces majoritaires *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, et *F. subglutinans* (Logrieco,2002).

Du fait des tel 'infection se propage en général à partir du sommet de l'épi, impliquant un passage par le Canal des soies au préalable, donnant aux grains une couleur allant du rose au pourpre. La seconde, désignée sous le terme FER pour *Fusarium* Ear Rot, est caractérisée par Des symptômes différents, causés par les espèces de la section *Liseola*, souvent appelé complexe d'espèces « *Gibberella fujikuroi* », qui comprend notamment *Fusarium* (S. PONS, 2010).



Source : http://www.ent.iastate.edu/imagegal/plantpath/corn/Fusarium/Fusarium_insect_inj.html

Figure 06 : Fusariose de l'épi.



Source :(d'après Nelson, 199).

Figure 07 : Les principaux systèmes taxonomiques du genre *Fusarium*.

II.1. Les différentes espèces fusariennes inféodées au maïs

La première et véritable description du genre *Fusarium* a été réalisée par Link en 1809. Il doit son nom du latin *fusus* (fuseau) en rapport à la forme de ses macroconidies fusiformes et cloisonnées. Il appartient à la division des Ascomycètes et à la famille des Nectriacées. A l'heure actuelle nous utilisons principalement un classement dérivé de celui de Nelson *et al.* (1983) lesquels regroupent les *Fusarium* dans 15 sections. (SIOU,2013).

Les espèces pathogènes toxigènes les plus répandues sur le blé et le maïs. Il s'agit de *Fusarium graminearum* (anamorphe de *Gibberella zeae*) et *Fusarium culmorum* appartenant à la section *Discolor*, ainsi que *Fusarium verticillioides* (anamorphe de *Gibberella moniliformis*) et *Fusarium proliferatum* (anamorphe de *Gibberella fujikuroi*) appartenant à la section *Liseola* (Samuels. 2001).

Sur maïs l'espèce Fusarienne toxigène prépondérante en Europe est *F. graminearum* (teleomorph : *Gibberellazeae*) de la section *Discolor* (Cuomo, Guldener *et al.*, 2007).

Par ordre de fréquence d'isolement arrivent ensuite les trois principales espèces associées aux symptômes de *FER*, allant du blanc au rose : *F. verticillioides*, *F. proliferatum* et *F. subglutinans*, bien que cette dernière soit souvent moins présente en Europe et plutôt retrouvée sur le continent nord-américain (Vigier, Reid *et al.*, 1997). À la différence des espèces des sections *Discolor* et *Sporotrichiella*, les espèces de la section *Liseola* peuvent être asymptomatiques (Munkvold et Carlton ,1997). *F. verticillioides* et *F. proliferatum* sont les principaux producteurs de fumonisines.

Fusarium culmorum est aussi fréquemment isolé du maïs, cette espèce serait cependant plus inféodée à des cultures du nord de l'Europe (Logrieco, 2002). Avec *F. graminearum*, ces deux espèces sont aussi les principales productrices de trichothécènes B et de zéaralénone.

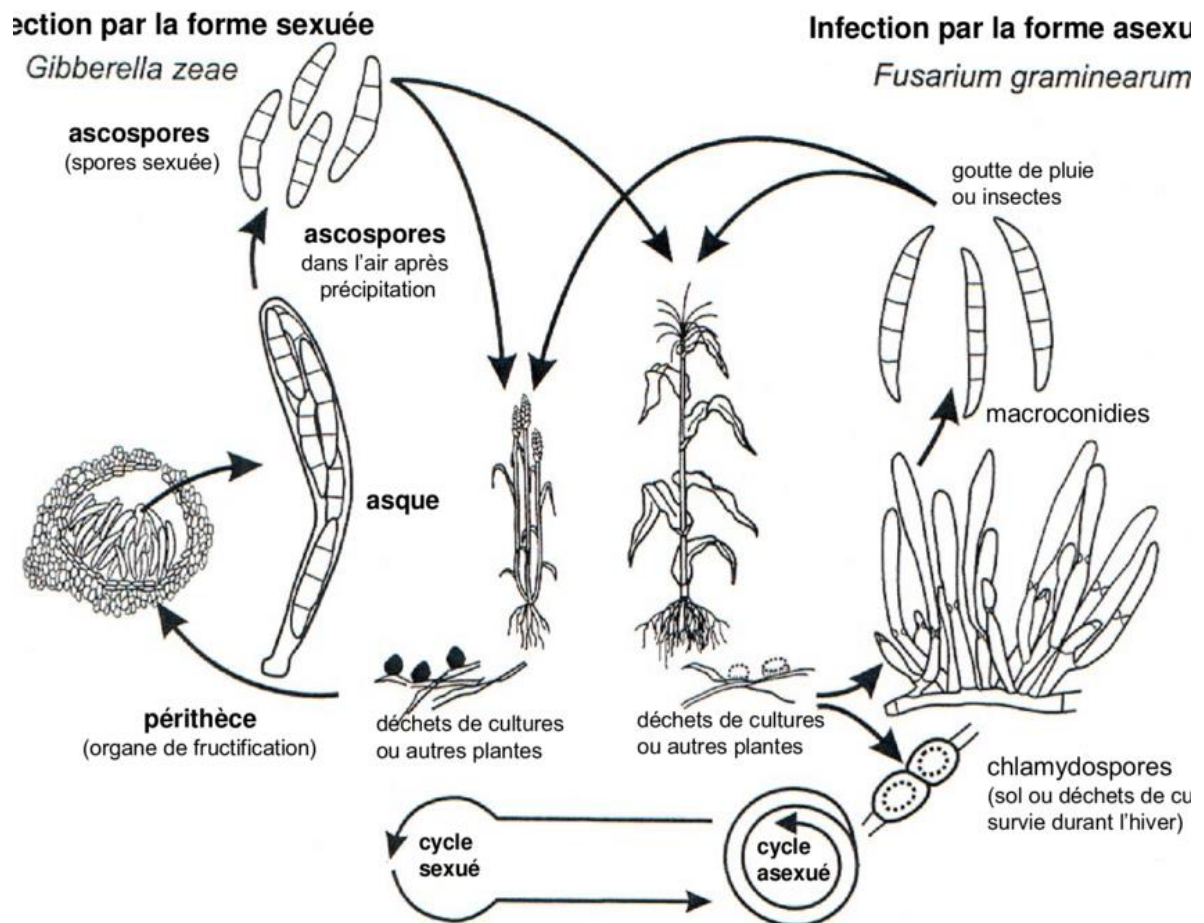
S'ensuivent ensuite des espèces plus minoritaires, comme *F. crookwellense* et *F. avenaceum* (teleomorph : *Gibberella avenacea*) appartenant également à la section *Discolor* ainsi que *F. poae* et *F. sporotrichioides* (section *Sporotrichiella*) (Logrieco, 2002). *F. graminearum* et *F. culmorum*, associés à ces espèces provoquent des symptômes allant du rouge au pourpre communément appelé *GER* ou « *maize ear rot* ».

II.2. Epidémiologie de l'infection sur épi de maïs

Le maïs étant généralement cultivé en rotation courte avec une ou deux autres cultures, on retrouve très souvent des résidus de culture de maïs dans le sol. Ces résidus sont la source d'inoculum de *F. graminearum* principale chez le maïs (Muzkol, 2003), devant les Semences, la rhizosphère et l'inoculum aérien. Le grain de maïs semé peut être déjà contaminé et alors devenir une source d'inoculum importante (Parry and Jenkinson 1995). Si le grain arrive à germer, c'est le moyen d'infection le plus rapide et le plus efficace pour le champignon car les parties aériennes de la plante sont alors contaminées et il en résulte généralement des dégâts assez importants tel que la fonte des semis (Caron, 1993).

Cependant, le plus généralement, l'inoculum situé au niveau du sol nécessite des vecteurs comme le vent, la pluie, ou les insectes pour atteindre les épis. L'épi peut également être infecté suite à une blessure du grain par un insecte, même si cette Voie d'infection reste mineure (Matarese, 2012).

Comme présenté sur la (Figure 08), *F. graminearum* survit sous forme de mycélium ou de chlamydospores (forme saprophyte) puis se propage par la formation de périthèces sur les résidus. Les ascospores éjectées par les périthèces peuvent être dispersées par le vent, l'eau ou les insectes avant d'atteindre les épis de maïs. La voie d'inoculation primaire se fait via le canal des soies juste après leur émergence (Munkvold, 2003).



Source : Boutigny et al., 2009

Figure 08 : Cycle de vie de *F. graminearum*. Cet asomycète est capable de survivre dans le sol et les déchets végétaux. L'infection peut débuter par l'émission de microconidies (spores asexués) ou d'ascospores (spores sexués). *Fusarium graminearum* peut infecter plusieurs plantes hôtes.

Au printemps, quand les conditions de température et d'humidité sont maximales, ce sont principalement les ascospores issues de la reproduction sexuée qui sont libérées des périthèces. La maturation des périthèces prend environ deux semaines et la décharge des ascospores a lieu principalement la nuit à des températures douces (10°C à 20°C), lorsque l'humidité ambiante n'est pas saturante après déshydratation des périthèces. Les spores sont éjectées à 5 mm du périthèce en moyenne (Trail, Gaffoor et *al.*, 2005) et l'intervention de vecteurs est obligatoire pour atteindre les soies situées en hauteur. Des pluies accompagnées de températures comprises entre 15°C et 25°C favoriseraient la production des périthèces sur les résidus de culture, cette production n'est pas permise pour des températures en dessous de 15°C et supérieures à 30°C (Dufault, De Wolf et *al.*, 2002a ; Dufault, De Wolf et *al.*, 2002b).

II.3. Les toxines produites par les champignons du genre *Fusarium*

Certaines espèces de *Fusarium* ont la capacité de produire des mycotoxines. Ces mycotoxines sont un problème supplémentaire pour les filières touchées par la fusariose. En effet, aux pertes de rendement s'ajoute une dimension sanitaire, un problème de santé publique lié à la contamination des grains. Ces molécules toxiques, issues du métabolisme secondaire fongique, sont nocives pour l'homme comme pour les animaux d'élevage. Il existe différentes mycotoxines, produites par les mêmes ou différentes espèces de *Fusarium*. Les fumonisines, les trichothécènes et la zéaralénone sont les fusariotoxines majoritairement retrouvées sur maïs (Pons,2010).

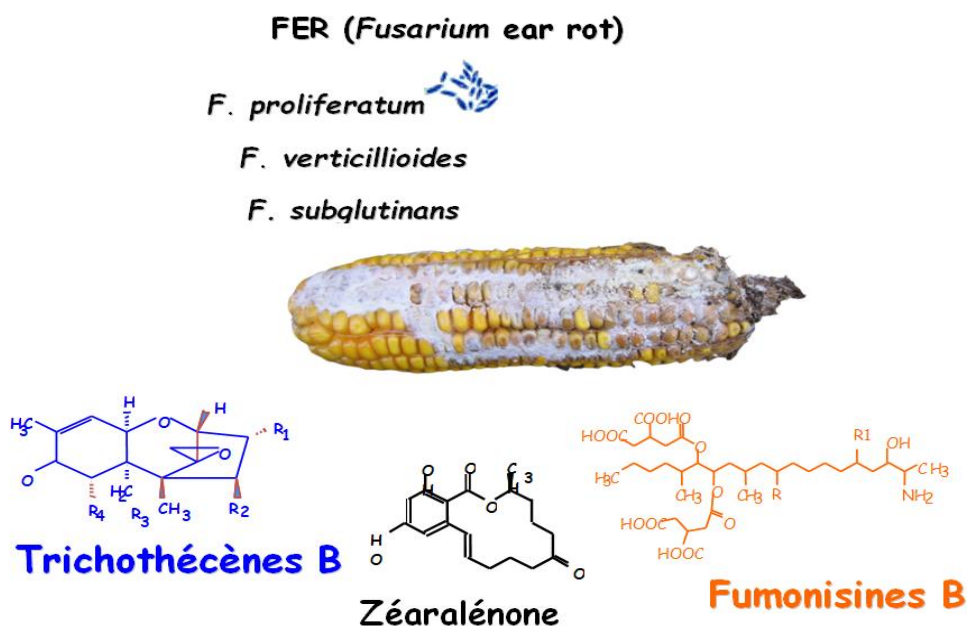
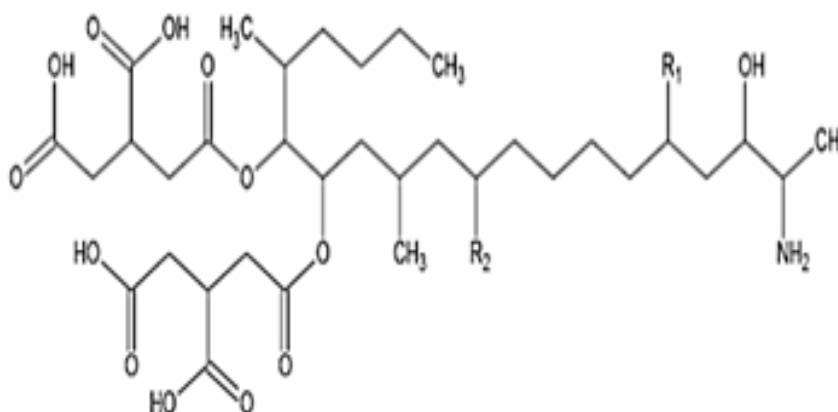


Figure 09: Les différents types de toxine produites par espèces de *Fusarium* spp. sur maïs.

II.3.1. Les Fumonisines

Les fumonisines sont principalement produites par les espèces *F. verticillioides* (syn. *Moniliforme*) et *F. proliferatum* appartenant à la section *Liseola* et donc associées aux symptômes de FER. Les fumonisines, amino-polyalcools dérivés de l'alanine, constituent un groupe de mycotoxines structurellement liées. Leur squelette commun est doté d'une chaîne de 20 carbones diestérifiée en C14 et C15. La fumonisine B1 ou FB1 est la forme majoritairement retrouvée sur les maïs. Le foie est la principale cible de la FB1 (Casteel, Turk et *al.*, 1993). Plus d'une soixantaine de fumonisines ont été décrites jusqu'à présent (Bartok, 2006) mais les fumonisines B1, B2 et B3 restent les fumonisines les plus abondamment produites par les champignons *F. verticillioides* et *F. proliferatum*. Les fumonisines sont produites par les espèces de la section *Liseola*. Le principal producteur est de loin *F. moniliforme* qui est rencontré dans le monde entier. C'est aussi l'un des champignons les plus couramment rencontrés sur maïs. Ce dernier peut contenir de fortes teneurs en fumonisines bien que les épis montrent une apparence normale c'est-à-dire sans pourriture ni décoloration des grains (Figure 10 et tableau 02).

Ce sont des molécules polaires. Les fumonisines sont des solides amorphes solubles dans l'eau, mais non solubles dans les solvants apolaires. Elles ont un poids moléculaire de 722g/mole. Le point de fusion est d'environ 105°C (Vesonder, 1992). Les FBs n'absorbent pas les ultraviolets et ne sont pas fluorescentes, c'est pourquoi, pour les détecter, il convient de les dériver. Les spectres infrarouges révèlent des pics d'absorption à 3450, 2934, 1729 et 1632 cm⁻¹. La Fumonisine B1 a une rotation optique $[\alpha]_D = -28^\circ$.



Source : Tabuc, 2007.

Figure 10: Structure générale des Fumonisines.

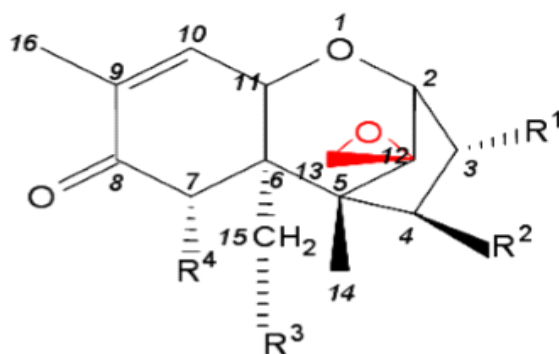
Tableau 02 : La principale de Fumonisines.

Dénomination	R1	R2	Formule brute	Masse moléculaire
Fumonisine B1	OH	OH	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₅	721,838
Fumonisine B2	OH	H	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	705,839
Fumonisine B3	H	OH	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	705,839
Fumonisine B	H	H	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₃	689,840

Par comparaison, le maïs produit en Europe présente des niveaux de contamination plus faibles.

II.3.2. Les Trichothécènes

Les trichothécènes consistent en une grande famille de mycotoxines avec plus de 60 métabolites sesquiterpénoïdes produits par un certain nombre de genres fongiques, y compris *Fusarium*, *Myrothecium*, *Phomopsis*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichothecium* etc. (Cole et Cox, 1981). Ils sont divisés en quatre groupes principaux, avec des types A et B représentant les composés les plus importants. Le type A comprend les toxines T2, HT2, néosolaniol (NEO), diacétoxyscirpénol (DAS), alors que le type B correspond au désoxynivalénol (DON) et ses dérivés 3-ADON, 15-ADON et fusarénone-X (Placinta et coll., 1999). Les trichothécènes les plus préoccupants pour la nourriture et la consommation d'aliments sont le DON et la T2 chez le maïs-grain (Bhavnagar et coll., 2002).



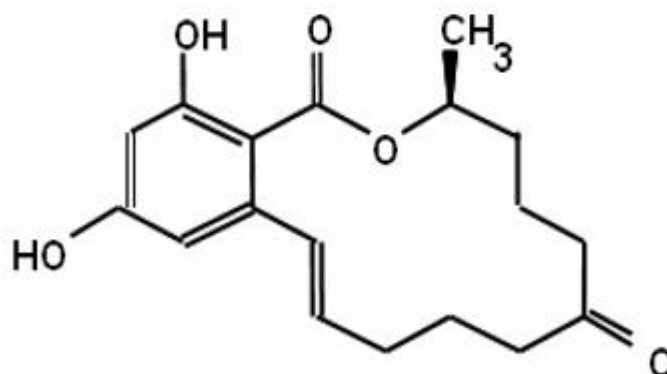
Trichothécènes B	R1	R2	R3	R4
Deoxynivalenol (DON)	OH	H	OH	OH
3-acetyl deoxynivalenol (3-ADON)	O-CO-CH ₃	H	OH	OH
15-acetyl deoxynivalenol (15-ADON)	OH	H	O-CO-CH ₃	OH
Nivalenol (NIV)	OH	OH	OH	OH
Fusarenone X (FX)	OH	O-CO-CH ₃	OH	OH

Source : (L. gauthier)

Figure 11 : Structure des trichothécènes de type B.

II.3.3. La zéaralénone

Durant la décennie 1960, une substance oestrogénique a été isolée de cultures de *F. graminearum* qui avait causé des symptômes oestrogéniques chez la souris (Miller, 1995). Ce composé oestrogénique et non stéroïdien a été caractérisé et nommé Zéaralénone (ZEN) (Urry et coll., 1966). Parmi les mycotoxines de *Fusarium*, la ZEN est plus largement distribuée dans les produits agricoles et se retrouve souvent à des concentrations relativement élevées, en particulier dans le maïs (Logrieco et coll., 2003). De nombreuses espèces de *Fusarium* ont la capacité de synthétiser la ZEN qui se retrouve souvent avec certaines toxines trichothécènes (Placinta et coll., 1999). Le *F. graminearum* est la principale espèce productrice de ZEN chez le maïs-grain en Amérique du Nord (Logrieco et coll., 2002).



Source : <https://oatao.univ-toulouse.fr/7142/1/jard.pdf>

Figure 12 : Structure chimique de la zéaralénone.

II.4. Toxicité et Législation

Les trichothécènes présentent un large spectre d'effets toxiques, en particulier gastrointestinaux et immunotoxiques à très faible dose. La toxicité a été surtout étudiée pour le déoxynivalénol (revue par (Pestka and Smolinski ,2005) et les données sont plus limitées concernant le nivalénol et presque inexistantes pour les dérivés acétylés du déoxynivalénol et nivalénol. plusieurs toxicoses que l'on soupçonne être liées à une consommation de céréales très contaminées en trichothécènes ont été décrites.

Les seuils réglementaires sont fixés selon les doses journalières tolérables (DJT) établies par le Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine (CSAH). À titre d'exemple, le

consommateur doit être exposé à des doses inférieures à 1 µg/kg/j pour le DON et de 0,7 µg/kg/j pour le NIV. Le règlement n°856/2005 du 6 juin 2005 révisée le 28 septembre 2007 lors de la commission n°1126/2007 autorise des lots de maïs bruts non transformés contenant au maximum 1750 µg/kg de déoxynivalénol, 4000 µg/kg de fumonisines B1 + B2 et 350 µg/kg de zéaralénone.

II.5. Méthodes analytiques de détermination des mycotoxines

Pour l'analyse des mycotoxines habituellement présentes à l'état de traces dans les aliments (c'est-à-dire en quantité inférieure au ppb, soit inférieure au µg/kg). Il existe toute une panoplie de méthodes fondées essentiellement sur le principe de la séparation chromatographique des molécules puis de leur détection par spectrophotométrie ou par fluorimétrie. Les méthodes physico-chimiques comme la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie gazeuse (CPG) ou la chromatographie liquide haute performance (CLHP) permettent la quantification des mycotoxines. Note : 1 ppb (part per billion, partie par milliard) = 10⁻⁹. (<https://elearning.univ-usto.dz/>).

II.5.1. Méthodes chromatographiques

L'analyse proprement dite des mycotoxines s'effectue essentiellement par techniques chromatographiques telles que :

1. La chromatographie sur couche mince (CCM),
2. la chromatographie liquide haute performance (CLHP),
3. la chromatographie gazeuse (GC) couplée ou non à la spectrométrie de masse (GC-MS),
4. la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (<https://elearning.univ-usto.dz/>)

II.5.1.1. Chromatographie sur couche mince

La CCM a été la première technique employée. Bien que le seuil de détection qui peut être obtenu par ce type de technique est moins intéressant que par CLHP, • Ce type de technique permet une détection qualitative ou semi-qualitative. Elle reste très utilisée dans les pays en voie de développement car, d'une part elle est peu coûteuse, facile à mettre en place, ne requérant pas d'appareillage sophistiqué, et, d'autre part, elle est suffisante pour rechercher des

teneurs élevées de mycotoxines auxquelles sont confrontés ces pays. (<https://elearning.univ-usto.dz/>).

II.5.1.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Les méthodes de chromatographie Gazeuse couplée aux détecteurs a ionisation de flamme (flamme ionisation detector (FID), électron capture Detector (ECD) et spectrométrie de masse (MS) étaient les méthodes les plus couramment employés pour la détermination quantitative simultanée des trithothécenes dans les céréales et les produits dérivés. La chromatographie gazeuse couplée à un détecteur MS (GC /SM) offre l'avantage de la confirmation de l'identité des pics chromatographiques et peut être aussi utilisée pour détecter plusieurs mycotoxines simultanément

II.5.1.3Chromatographie liquide à haute performancee (HPLC)

La chromatographie liquide haute performance (HPLC) ou simplement La *chromatographie* en phase *liquide* (CPL) ou *liquid chromatography* (LC) est une technique séparative utilisée en analyse quantitative, qualitative et principalement employée dans le domaine de la chimie analytique comme outil scientifique majeur mais aussi dans des domaines variés tels que la Toxicologie et la Biochimie.(<https://www.analyticaltoxicology.com/>)

II.5.2. Méthodes immunochimiques

Les tests immunochimiques sont basés sur les interactions entre les anticorps et les antigènes que constituent les mycotoxines. Les anticorps doivent être fortement spécifiques pour identifier les composés structurellement très différents. Les analyses immunochimiques telles quel'enzyme linked immunosorbent assay (ELLISA) sont devenues très populaires dans le criblage de mycotoxines (Zheng et *al.*, 2006). Plusieurs études ont développé et utilisé les méthodes immunochimiques pour l'analyse des Trichothécènes, l'OchratoxinesA, la Zéaralénone et la Fumonisine B1 dans les céréales (Zheng , 2006).

II .6. Quelles stratégies pour diminuer l'accumulation des mycotoxines

Certaines études ont identifié différents éléments des pratiques culturelles qui pourraient contribuer à réduire la fusariose : le choix d'un hybride plus tolérant ou résistant, la rotation des cultures, le travail du sol, l'application de fongicides, les dates de semis et de récolte. Selon Hooker et Schaafsma (2005), les facteurs année (climat et emplacement géographique) et hybride ont le plus grand impact sur la concentration en DON et en fumonisine B1 (FB1). De

plus, selon leur étude, l'effet du précédent cultural contribuait pour 9 à 18 % de la variance de l'accumulation en DON et de 9 % pour le FB1 dans le maïsgrain. Cependant, d'autres pratiques culturales comme le travail du sol ou la fertilisation azotée n'avaient pas un grand effet sur les deux toxines évaluées. (<https://www.agrireseau.net/>).

II. 6.1. Pratiques culturales

Les pratiques culturales recommandées pour le contrôle de la fusariose de l'épi incluent l'élimination des résidus, la rotation des cultures et la fertilisation azotée adéquate (Wagacha et Muthomi, 2007). Les résidus contaminés, laissés à la surface du sol, constituent la principale source d'inoculum. L'élimination des résidus de cultures antérieures et leur enfouissement par un labour est un premier moyen de lutte contre la maladie, réduisant les sources d'inoculum (Jones, 2000). Ceci est d'autant plus nécessaire lorsque le plan de rotation prévoit une succession de céréales ou céréale après maïs. La rotation culturale permet de réduire significativement les risques de fusariose (Mc Mullen et al., 1997). Elle consiste à éviter de cultiver deux espèces hôtes (blé, maïs, orge) de *Fusarium* deux années consécutives et à alterner avec des espèces non hôtes en particulier après une culture de maïs qui laisse de nombreux débris végétaux en surface du sol. Le labour va permettre de réduire la formation d'inoculum primaire en limitant par enfouissement les débris végétaux disponibles pour le développement saprophytique de *Fusarium* et la formation d'ascospores au printemps (Dill-Macky and Jones, 2000).

II.6.2. 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. (1995) ont mentionné que la meilleure période d'application d'antagoniste biologique est durant la floraison. Diamond et Cooke (2003) ont rapporté que l'inoculation des épis par *Phoma betae* a pu réduire les symptômes de la fusariose de l'épi causés par *F. culmorum* de l'ordre de 60%. Les Bactéries du genre *Bacillus*, *Pseudomonas*, et *Lysobacter* sont les plus utilisées pour la lutte biologique contre la fusariose de l'épi (Schisler. 2002). D'ailleurs Jochum. (2006) ont montré la possibilité d'utiliser la bactérie *Lysobacter enzymogenes* pour réduire la sévérité de la fusariose de l'épi

II.6.3. La lutte chimique

La lutte fongicide est considérée comme peu efficace en vis-à-vis de la FHB (McMullen et al., 1997). Elle est peu utilisée en raison de son coût élevé (Yuen and Schoneweis, 2007) et du

faible laps de temps propice à la réalisation des traitements lors de la Floraison des céréales. Il a cependant été montré que le tébuconazole (de la famille des Triazoles) et le benomyl (de la famille des carbamates) diminuent l'incidence de la maladie .



**MATERIEL ET
METHODES**

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

Pour la réalisation du teste de pathogénicité des isolats des *Fusarium* spp nous avons choisi la variété de blé dur vitrons. C'est la variété de blé dur la plus cultivée en Algérie et présente une sensibilité à la fusariose du blé.

I.2. Matériel fongique

Dans cette présente étude, nous avons travaillé sur une gamme de 20 isolats de *Fusarium* spp. Ces isolats ont été obtenus à partir de grains de maïs récoltés au cours des années 2019 et 2018 dans un travail précédent réalisé par Chelbak Khadija 2020.

II. Méthodes

II.1. Purification des isolats de *Fusarium* spp.

- Technique de la « single spore » par scarification :

Le protocole a été établi dans le laboratoire MycSA Bordeaux par Christian Barreau. Les suspensions de spores requises pour inoculer les boîtes de pétri contenant le milieu PDA, ont été obtenues en ajoutant un morceau d'implant de chaque échantillon dans 6 mL d'eau distillée stérile par tube suivi par une agitation modérée, de façon à obtenir une faible concentration finale de 10^2 spores/mL par comptage sur cellule de Thoma.

Enfin, chaque boîte a été inoculée par 10 µL d'une suspension sporale, à l'aide d'une anse de platine un étalement sous forme des striés (scarification) ou bien en forme de L sont réalisées ce qui permet la sédimentation des spores dans la gélose. Puis les boîtes ont été placées à l'obscurité à 25 °C. Après 24 heures d'incubation, les spores commencent à émettre des tubes germinatifs, un prélèvement monosporale est effectué et repiqué en boîte pétri contenant le milieu PDA. Après 7 à 10 jours d'incubation, les colonies obtenues sont pures.

II.2. Identification morphologique des isolats de *Fusarium* spp.

La détermination morphologique d'une espèce de *Fusarium* spp. repose sur l'observation de nombreuses caractéristiques anamorphiques sur le milieu 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 aussi. 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 chlamydo-spores et peritheces.

Avec toutes les informations l'identification pourra être réalisée en utilisant les différentes clés de références de Aoki et O'Donnell (1999), Mady et *al.*, 2015 et Leslie et Summerell (2006).

II .2.1. Mensuration des conidies

À partir des cultures âgées de 15 jour et à l'aide d'un microscope optique étalonné, des mensurations des conidies ont été réalisées sur plusieurs conidies pour les 20 isolats de *Fusarium* spp.

II.3. Etude de l'effet de la température sur le taux de croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp.

Ce test a été réalisé suivant le protocole établi par Akinsanmi et *al.*, (2006), afin d'établir l'effet d'une gamme de températures sur la croissance mycélienne des 5 isolats de *Fusarium* spp. il s'agit de 2 isolats de *F. Graminurum* , 2 isolats de *F. Sporotrichioides* , 2 isolats de *F. verticillioides* et *F. Thapsinum*,, et de déterminer la température optimale de leur croissance. Des explants mycéliens (6 mm de diamètre) provenant de cultures âgées de 10 jours de chaque isolat ont été déposés dans des boites contenant le milieu PDA et incubés aux températures 20, 25 et 30°C à l'obscurité. Deux répétitions ont été réalisées pour chaque isolat et chaque température. Des mesures quotidiennes de la croissance mycélienne ont été prises après 24 h, 48 h, 72 h et 96 h d'incubation.

II.4. Pathogène et agressivité des espèces de *Fusarium*

Selon un dispositif expérimental complètement aléatoire, un test d'inoculation sous serre à été effectué dans le but d'étudier la pathogène des principales espèces isolées de *Fusarium* entre elles, et d'étudier l'agressivité de 8 espèces de *Fusarium*, il s'agit de 2 isolats de *F. culmorum*, 2isolatsde *F. Sporotrichioides*, 2isolats de *F. verticillioides* et *F.Thapsinum*, par inoculation au stade trois feuilles.

Les semences ont été placées à une profondeur de 2cm, dans des pots en plastique remplis avec un mélange de sable et terreau (1 :2), a raison de 3 semences par pot. L'irrigation a été faite régulièrement suivant les besoins des plantes. L'inoculation a été réalisée sur des plantules

au stade de 3 à 4 feuilles correspondant respectivement à ZGS 12 et ZGS 13 selon l'échelle de Zadoks *et al.* (1974).

II.4.1. Inoculation par fragments mycéliens

L'inoculation a été préparé à partir de culture pures développées sur milieu PDA a l'obscurité et à 25°C. Après 8 jours d'incubation un fragment de 1 cm² a été découpé à partir des colonies de champignons développés, et déposé adjacent à la plantule au niveau du collet. Des plantules inoculées par des fragments de PDA, ne contenant pas de champignon, ont été utilisées comme témoin négatif.



Figure 13: Technique d'inoculation par fragment mycélien

(A) : Témoin ; (B) : Dépôt de fragment mycélien de *Fusarium* au niveau du collet.

➤ **Notation des symptômes :**

Trois semaines après l'inoculation, les plantes inoculées ainsi que les plantes témoins ont été soigneusement arrachées et les racines ont été lavées sous le robinet.

Ensuite, les symptômes caractérisés par un brunissement au niveau du collet ont été évalués selon une échelle d'agressivité (indice de la sévérité :IS) qui se base sur la longueur de la lésion par rapport à la longueur de la plantule (fernandez et, 2005). Cette échelle comprend les niveaux suivants :

- 0 : plante saine ;
- 1 : moins que 25% de collet est attaqué ;
- 2 : De 26% à 50% de collet est attaqué ;

- 3 : De 51% 75% de collet est attaqué ;
- 4 : plus que 75% du collet est attaqué ;
- 5 : plante morte.

Enfin, pour comparer l'agressivité des différents isolats testés, ces derniers ont été classés selon trois groupes :

- Isolats faiblement agressifs : $IS \leq 2$
- Isolats moyennement agressifs : $2 < IS < 4$
- Isolats fortement agressifs : $IS \geq 4$

II. 4.2. Analyses statistiques

Les résultats relatifs aux mesures de la croissance mycélienne et l'étude de l'agressivité des isolats sur collets, sont interprétés après une analyse de la variance (ANOVA) pour deux facteurs (ANOVA) et les corrélations de Pearson, par l'utilisation du logiciel XLSTAT version 2016. Les différences entre les isolats pour les paramètres étudiés sont comparées par le biais du test Tukey au seuil de 5%.

II.5. Extraction et identification des TCTB et ZEA.

II.5.1. Préparation d'inoculum

Toutes les souches de *Fusarium* de la mycothèque sont conservées à 4°C en tubes inclinés de PDA. Les souches utilisées sont préalablement repiquées sur tube incliné de PDA et placées 6 jours à l'étuve à 25°C à l'obscurité. Les suspensions de spores sont réalisées par ajout de 6 ml de milieu Eau distille puis ajustés. La concentration en spores est déterminée par comptage sur Cellule de Malassez ou Thomas puis ajustée à 10^6 Spores / ml final dans le milieu.

II.5.2. Préparation de milieu liquide (MS)

Le milieu de culture liquide MS (Mycotoxine Synthétique Medium) de Vogel (1956) [KH₂PO₄ ; K₂HPO₄ ; MgSO₄ ; (NH₄)₂SO₄ ; biotine ; glucose ; et d'une solution de sels minéraux] 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 40 et 100 ml du milieu MS a été réparti stérilement dans des flacons et inoculées avec une suspension de spores à la concentration finale de 10^6 spores / ml. Et incubé à l'obscurité à 25°C pendant 15 jours.

II.5.3. Extraction des TCTB et ZEA

Un volume de 20 ml de milieu de culture est extrait par 40 ml d'acétate d'éthyle. Après décantation, 5 et 10 ml de la phase organique contenant les TCTB et ZEA sont évaporés à sec à 45°C dans rota-vap. Les extraits secs sont alors stockés au frais en attendant l'analyse.

II.6. Méthodes analytiques

II.6.1. Principe méthodes

Toutes les analyses ont été réalisées sur une chaîne HPLC (High Performance Liquide Chromatographie) Hewlett-Packard Che Station Séries 1100 (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) couplées soit à un détecteur à barrette de diodes DAD (Diode Array Detector) et CCM.

II.6.2 Analyse par chromatographie sur couche mince. (CCM)

Sur une plaque CCM de on a déposé 15 à 20 fois des substances à séparer à 1,5 cm du bord inférieur et latéraux et 1,5 cm entre les dépôts. Après séchage complet des dépôts, on place la plaque dans une cuve saturée d'un mélange de solvants, éthyle acétate / hexane (8/2 jusqu'à une hauteur de 1 cm d'hauteur. Quand le fond du solvant a parcouru une distance suffisante, on retire la plaque en prenant environ. Quand le front du solvant a parcouru une distance suffisante, on retire la plaque on a marqué le front de migration et on laisse sécher la mycotoxine sous lumière ultra-violet (UV).



Figure 14 : Chromatographie sur couche mince (CCM)

II.6. 3. Analyse par chromatographe liquide haute performance (HPLC-DAD)

Les extraits secs sont repris dans 200 μL d'un mélange méthanol/eau (1 :1, v/v) avant l'analyse en HPLC. La procédure d'analyse utilisée est celle décrite par Bil y *et al.* (2004). La séparation des cinq TCT B (NIV, DON, FX, 15-ADON et 3-ADON) est réalisée sur une colonne ZORBAX Eclipse[®] XDB-C8 (5 μm , 150 mm x 4,6 mm) (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) maintenue à 40°C. La phase mobile est constituée d'eau MilliQ acidifié à pH 2,6 avec de l'acide phosphorique (solvant A) et d'acétonitrile (solvant B). Le débit est fixé à 1 mL/min pour une durée totale d'analyse de 45 min. Les conditions du gradient sont les suivantes : 5-30% B en 14 min, 30-90% B en 10 min, 90% B pendant 5 min, 90-5% B en 2 min puis 5% B pendant 14 min. Le volume d'injection est de 5 μL . Les surfaces des pics sont mesurées à 230 nm. L'identification des différents TCT B se fait grâce à leur temps de rétention. La quantification des 5 TCT B est réalisée par étalonnage externe.

**RESULTATS ET
DISCUSSION**

I. Identification des isolats sur milieu PDA

Les identifications morphologiques basées sur les critères cultureux (la coloration du mycélium, la présence ou l'absence de pigment dans le milieu ainsi que sa couleur) et microscopiques (la présence ou absence des micros et macro conidies présence des cellules conidiogènes annélidiques, la forme et la taille des conidies) établis par Leslie et *al.*, (2006) ; Ismail et *al.*, (2015) et par Samuel et Hallet, (1983) ; ont permis de confirmer l'appartenance de nos isolats au genre *Fusarium*.

Les colonies obtenues de *Fusarium* présentent le plus souvent un mycélium peu abondant blanc rosé ou rose jaune, la texture du thalle est duveteuse. Les cultures sont de couleur blanche à rose saumon, des nappes de sporodochies de couleur orange vif sont présentes très souvent à la périphérie de la culture, mais parfois dispersées sur la culture ou en nappes concentriques.

L'identification morphologique a permis de montrer l'implication de six espèces à savoir :

F. culmorum, *F. verticillioides*, *F. thapsinum*, *F.konzum*, *F. napiforme*, *F. sporotrichioides* ,
F. oxysporum .

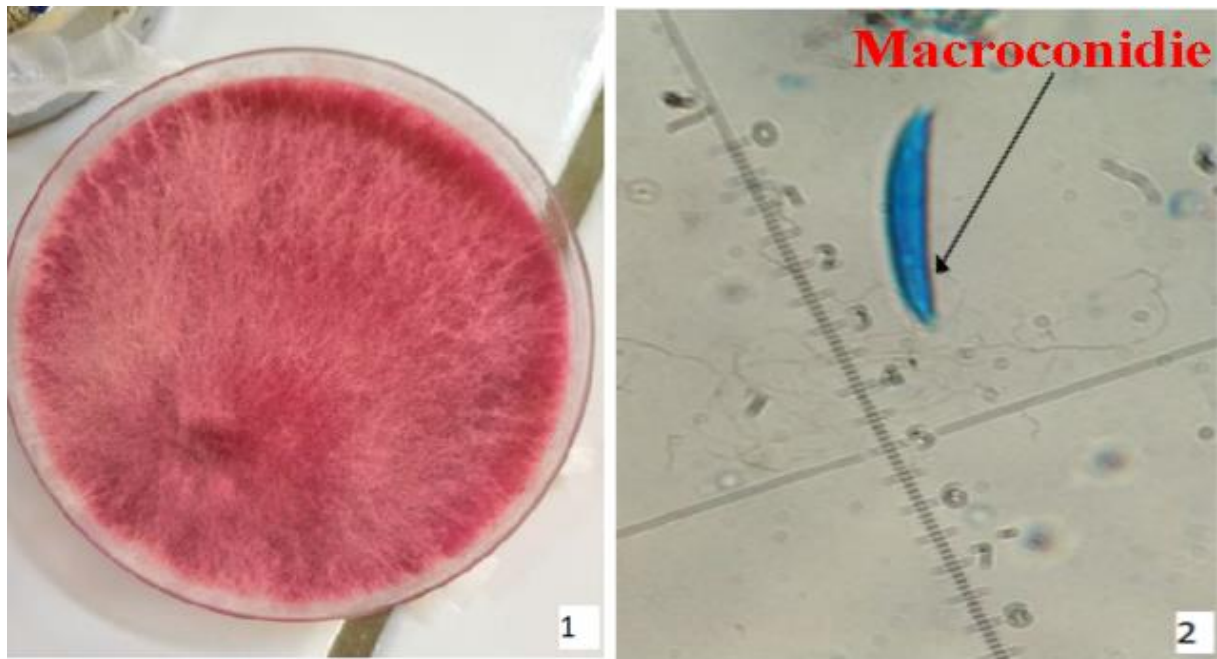


Figure 15: Aspect morphologique et microscopique de *F. culmorum* (Gx100et40)

(1) mycélium abondant, aérien, blanc à jaune, parfois rosé.

(2), Macroconidies fusiformes, courbées et septées de *F. culmorum*, dont la cellule apicale est courte et pointue (4-7 μm de diamètre). (Leslie et *al.*, 2006).

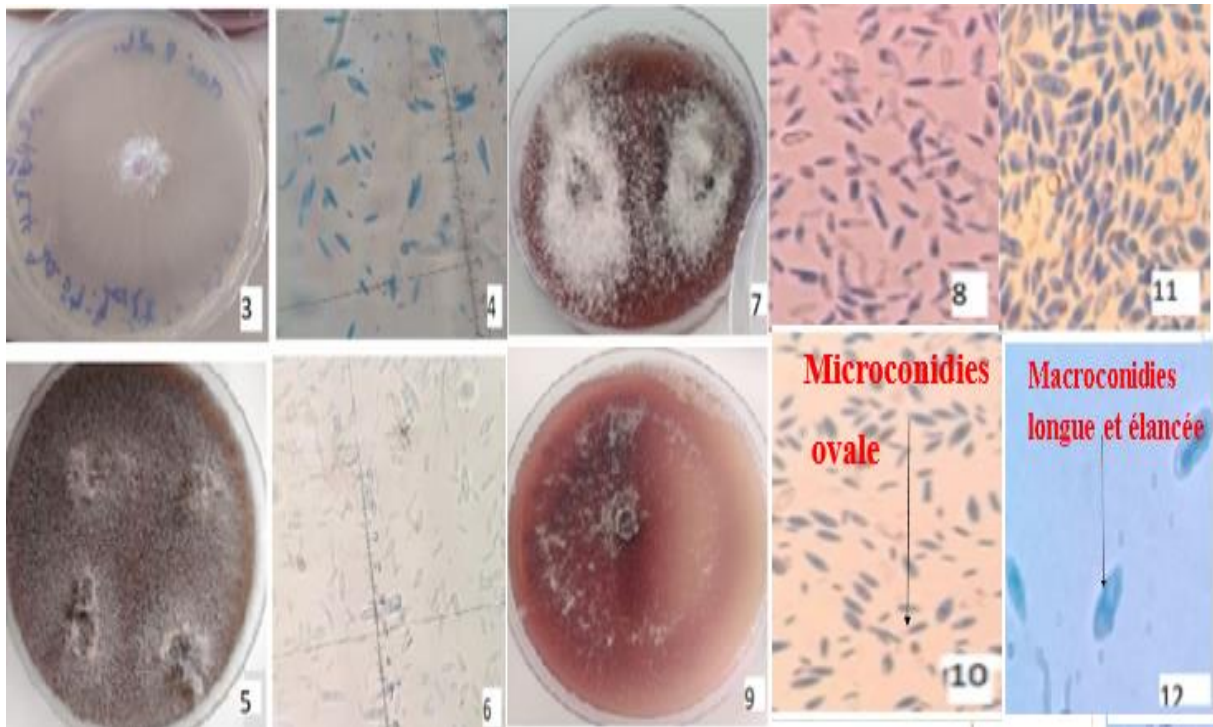


Figure 16 : Aspect morphologique et microscopique (Gx40et 100) des colonies du complexe *F. verticillioides*.

Initialement les cultures ont un mycélium blanc mais peuvent développer des pigments violets avec l'âge. Pigmentation dans l'agar varie, allant de pas de pigmentation ou orange grisâtre à gris violet, violet foncé ou magenta foncé (presque noire).

Les Macroconidies porte une forme relativement longue et élancée, légèrement falciforme ou droite, et à paroi mince., Les microconidies forme ovale à massue avec une base aplatie (Leslie et *al.*, 2006 ; Ismail et *al.*, 2015).

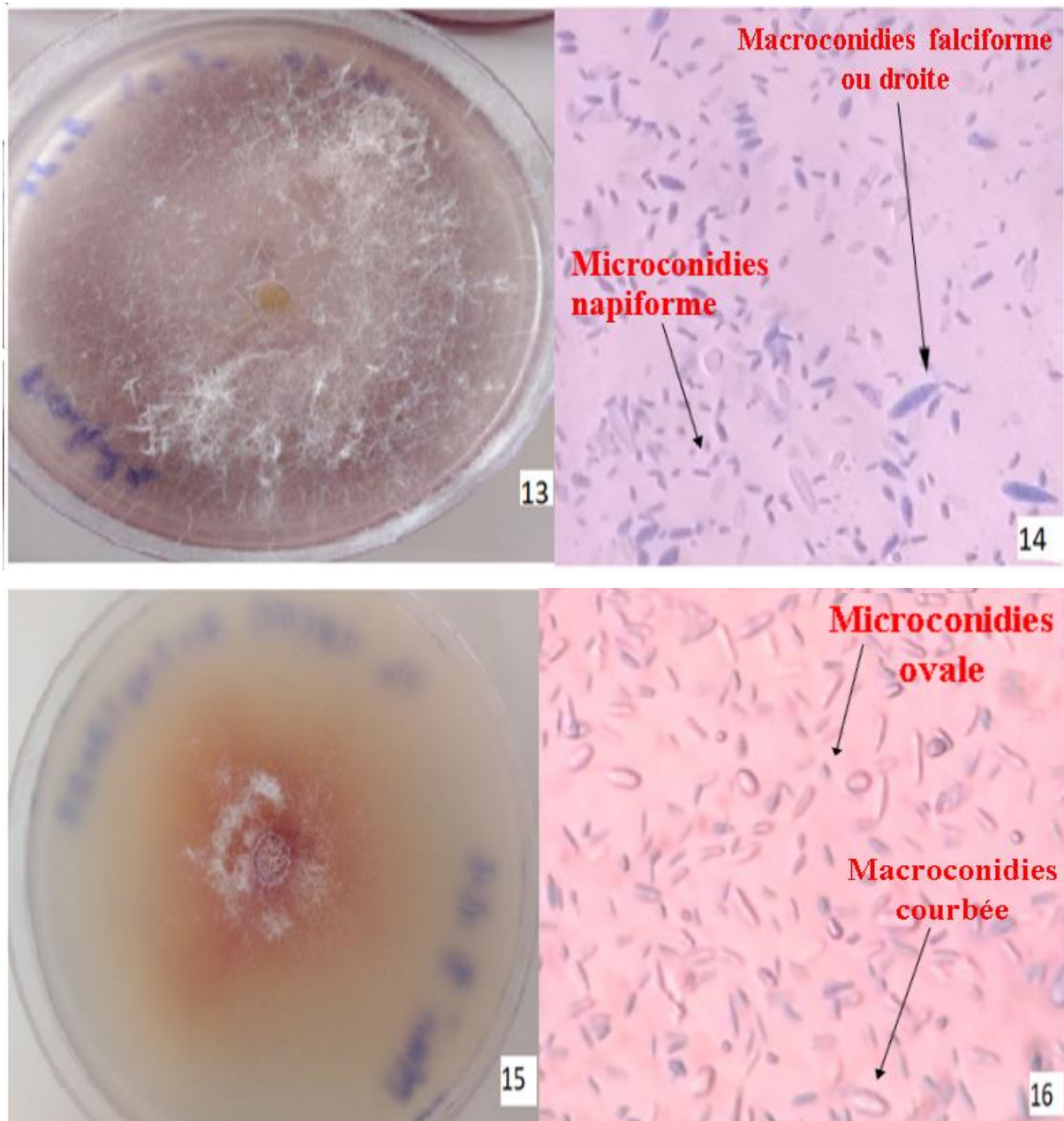


Figure 17 : Aspect morphologique et microscopique (Gx100 et40) de *Fusarium thapsinum* , *F. konzum*:

(13) Les cultures ont un mycélium blanc abondant qui peut foncer (pigments violets) avec l'âge. La pigmentation dans la gélose est assez variable. La plupart des souches produisent un pigment jaune d'autres souches peuvent ne produire des pigments violets dans la gélose. ;(14) les Macroconidies porte une forme relativement élancée, légèrement falciforme ou droite, et la forme de microconidies ovale, septation habituellement en forme de massue avec une base aplatie mais parfois napiforme. (Leslie et *al.*, 2006 ; Ismail et *al.*,2015).

(15) les colonies ont un mycélium floconneux initialement blanc mis qui peut devenir violet avec l'âge. La gélose peut être sans pigment ou devenir violette ou rouge ; (16) les microconidies porte une forme ovale, hyalines, la forme de macroconidies paroi fin, élancée et droite à légèrement courbée. (Leslie et *al.*, 2006).

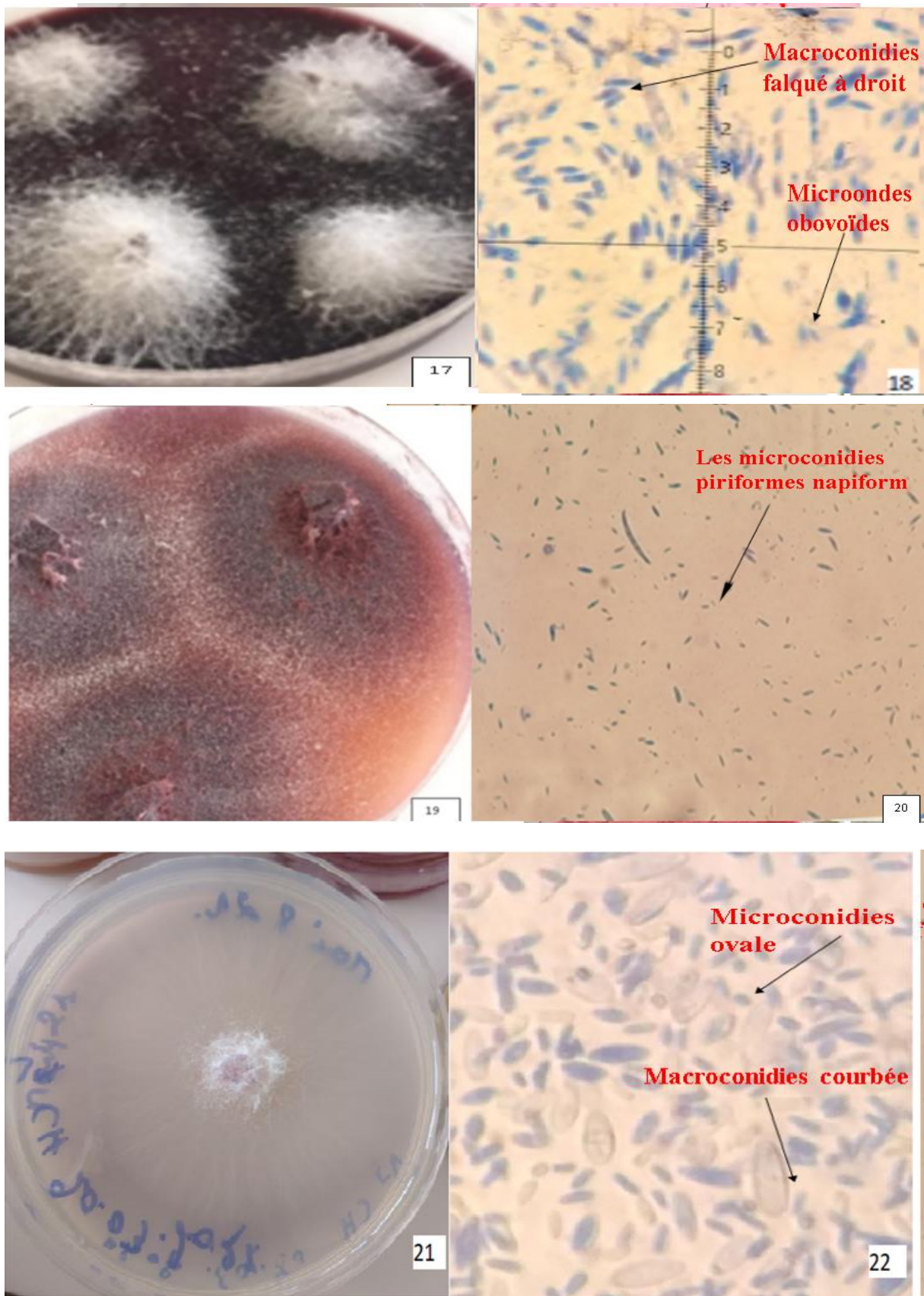


Figure 18 : Aspect morphologique et microscopique (Gx100 et 40) de *F. napiforme* , *F. sporotrichioides* , *F. oxysporum*.

(17) colonies blanches floconneuses avec des pigments violets dans la gélose ;(18) les Microconidies septé, ovoïde, Hyaline. Les Macroconidies Modérément long, hyalin et falqué à droit (Leslie et *al.*, 2006).

(19) Les mycéliums sont abondants et se développent de manière dense et rapide. Initialement, la culture est blanche ou rouge pâle, mais avec l'âge, le pigment s'assombrit. Des pigments rouges sont produits dans gélose ;(20) les Macroconidies porte une Forme Falciforme à presque semi- lunaire courbée et effilée, les microconidies cloisonnement microconidies piriformes et napiform, ellipsoïdales à fusoides (Leslie et *al.*, 2006).

(21)Le mycélium peut être floconneux, clairsemé ou abondant et sa couleur varie du blanc au violet pale. *Oxysporum* produits un pigment violet pâle à violet foncé ou magenta foncé dans la gélose, mais certains isolats ne produisent aucun pigment ;(22) Les macroconidies sont de longueur courte à moyenne, droite à légèrement courbée, relativement élancée et à paroi mince. Les microconidies forme septation ovale, elliptique ou réniforme. (Leslie et *al.*, 2006).

II. Effet de la température sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. sur milieu PDA

Les 5 isolats appartenant aux différentes espèces de *Fusarium* spp ont été incubées à différentes températures (20°C, 25°C et 30°C) afin de déterminer la température optimale pour chaque espèce. Les résultats de ce test ont révélé une variabilité entre les espèces de *Fusarium* spp. Les diamètres moyens de la croissance des isolats de *Fusarium* spp. obtenus après 4 jours d'incubation à différentes températures sont illustrés au niveau du tableau suivant

Tableau 03 : La température optimale de chaque espèce de *Fusarium* spp.

Isolat	Température		
	20°C	25°C	30°C
<i>F. sporotrichioides</i>	2,33	4,1	3,66
<i>F. culmorum</i>	1,93	4,06	3,66
<i>F. verticillioides(1)</i>	2,4	2,3	2,9
<i>F. verticillioides(2)</i>	2,5	3,73	2,33
<i>F. thapsinum</i>	2,46	3,63	4

L'optimum de la croissance mycélienne pour les espèces de *F. Sporotrichioides*, *F. Culmorum* et *F. verticillioides(2)* a été enregistré à 25°C, les diamètres mesurés pour chaque espèce sont respectivement de **4,1cm, 4,06cm et 3,73cm.**

Pour *F. verticillioides* et *F. thapsinum* la température de croissance optimale a été notée à 30°C avec des diamètres respectivement de 2,9cm et 4cm.

En effet avons aussi constaté qu'après quatre jours d'incubation les espèces *F. Sporotrichioides*, *F. culmorum*, et *F. vertisillioides* se sont bien développées à 25°C, tandis que l'espèces *F. thapsinum* et *F. Sporotrichioides* ont montré un taux de croissance important à 30°C (Figure 19).

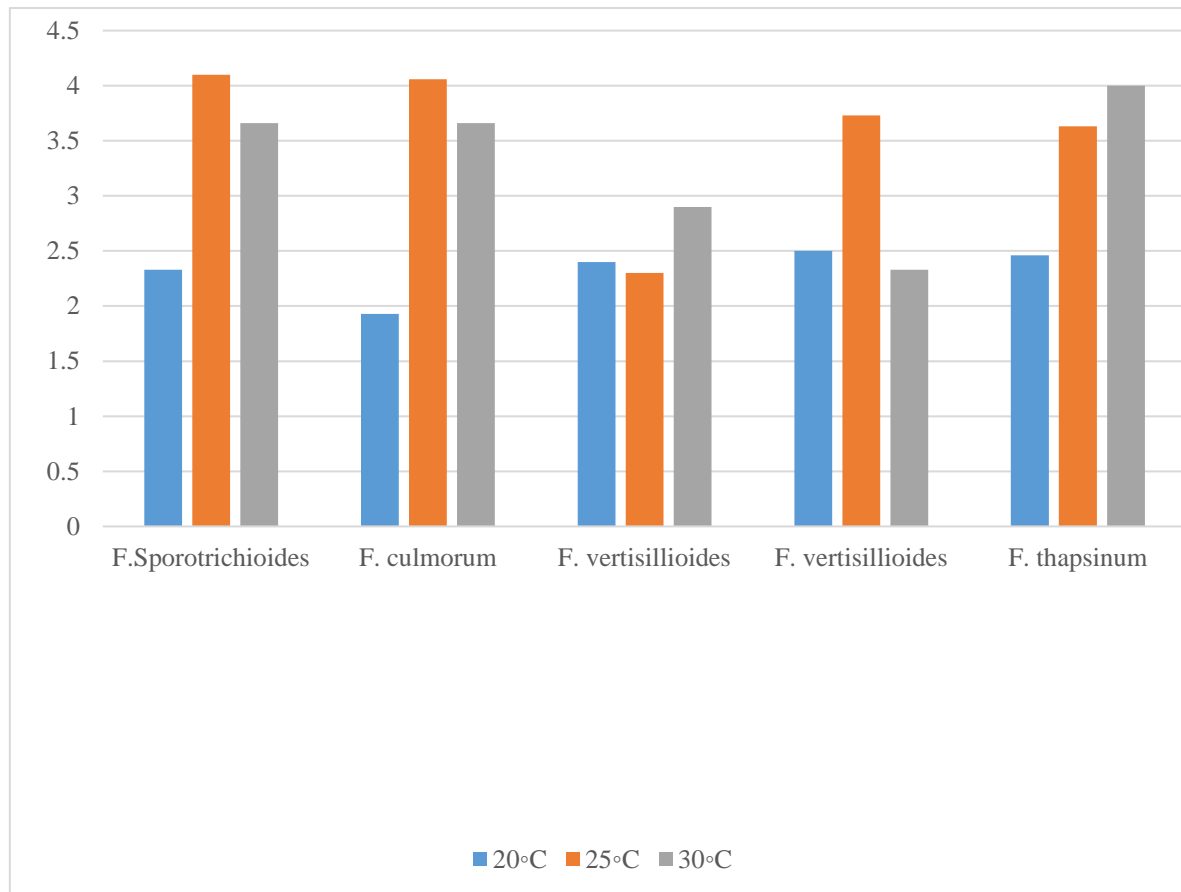


Figure 19 : Diamètre moyen (cm) des espèces de *Fusarium* spp. Après 4 jours d'incubation à 20,25 ,30°C.

Tous les isolats se sont marqués par une augmentation de la croissance mycélienne entre 25 C et 30 C dès 24h d'incubation, avec une grande diversité dans la vitesse de la croissance radiale et la potentialité du développement mycélien entre espèces et même entre isolats de la même espèce.

Explication :

Nous avons embrassé que chacun *F. sporotrichioides* , *F. culmorum*, *F. thapsinum* , la température était de 25et30°C ce qui est la température appropriée pour une croissance rapide et notable, mais à la température 20°C, le taux de croissance était faible, comme pour *F. verticillioides*, la croissance était petite et lente , toutes températures 20,25 et 30°C

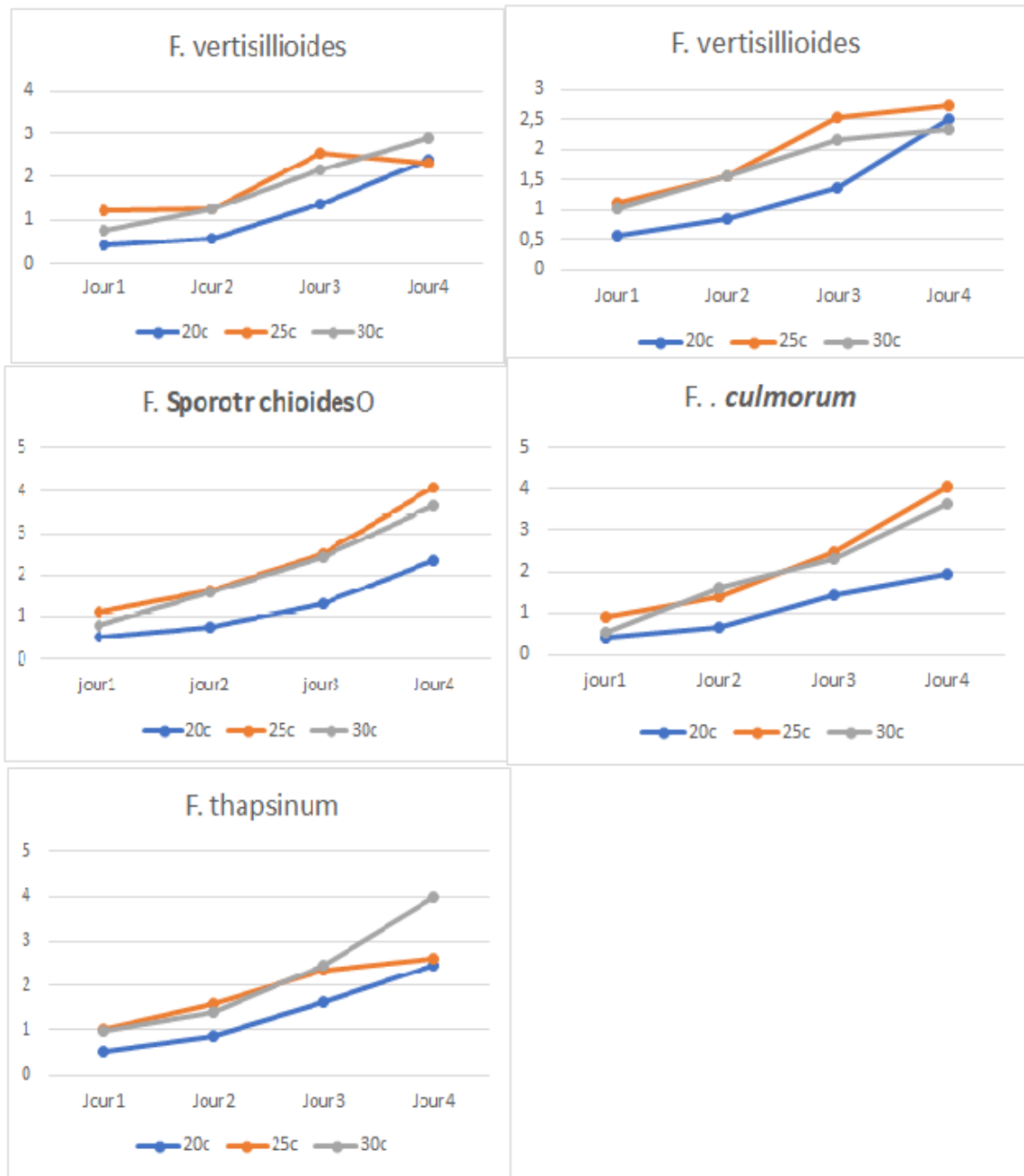


Figure 20: Cinétique de croissance du mycélium des isolats de cultivés sur milieu PDA à, 20°C, 25°C, 30°C.

On remarque que toutes les espèces ont poussé rapidement pendant les quatre jours à une température de 25 et 30°C, quant à la température de 20, la croissance a été faible et lente, dans toutes les espèces.

III. Étude de l'agressivité des espèces *Fusarium* spp. différent au niveau de collet

Dans ce premier essai d'inoculation par fragments mycéliens sur le collet de blé dur (Vitrons) 8 espèces de *Fusarium* spp. ont été testées. Les résultats de cette étude ont montré que toutes les espèces testées ont engendré l'apparition d'un brunissement au niveau du collet, tandis que les plantules témoins n'ont pas montré de symptômes d'attaque

Les résultats ont montré aussi que l'indice de sévérité de la maladie est variable selon les espèces et selon les isolats. En effet, l'indice de sévérité varie de 25% à 30% pour l'espèce *F. verticillioides*, et *F. thapsinum*, de 15% pour l'espèce *F. sporotrichioides* ; *F. thapsinum* s'est montré très agressif avec un indice d'attaque de 35% pour l'espèce de *F. verticillioides* nous avons noté le même indice d'attaque pour les deux isolats de l'ordre de $\approx 30\%$, et enfin pour les deux espèces de *F. culmorum*, *F. sporotrichioides* l'indice d'attaque est respectivement de 25% 7.5%. (Figure 21).

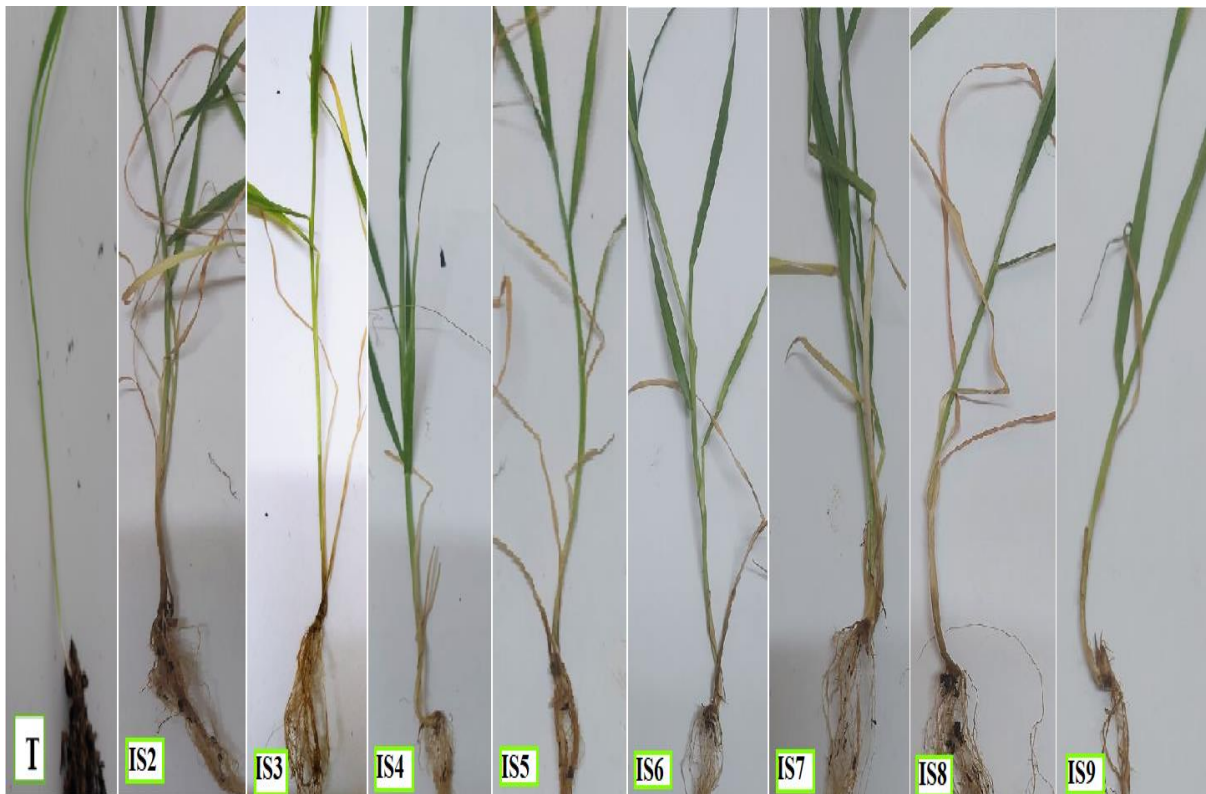


Figure 21 : Indice de sévérité de *Fusarium* spp. Sur des plantules de blé cultivar « Vitron »

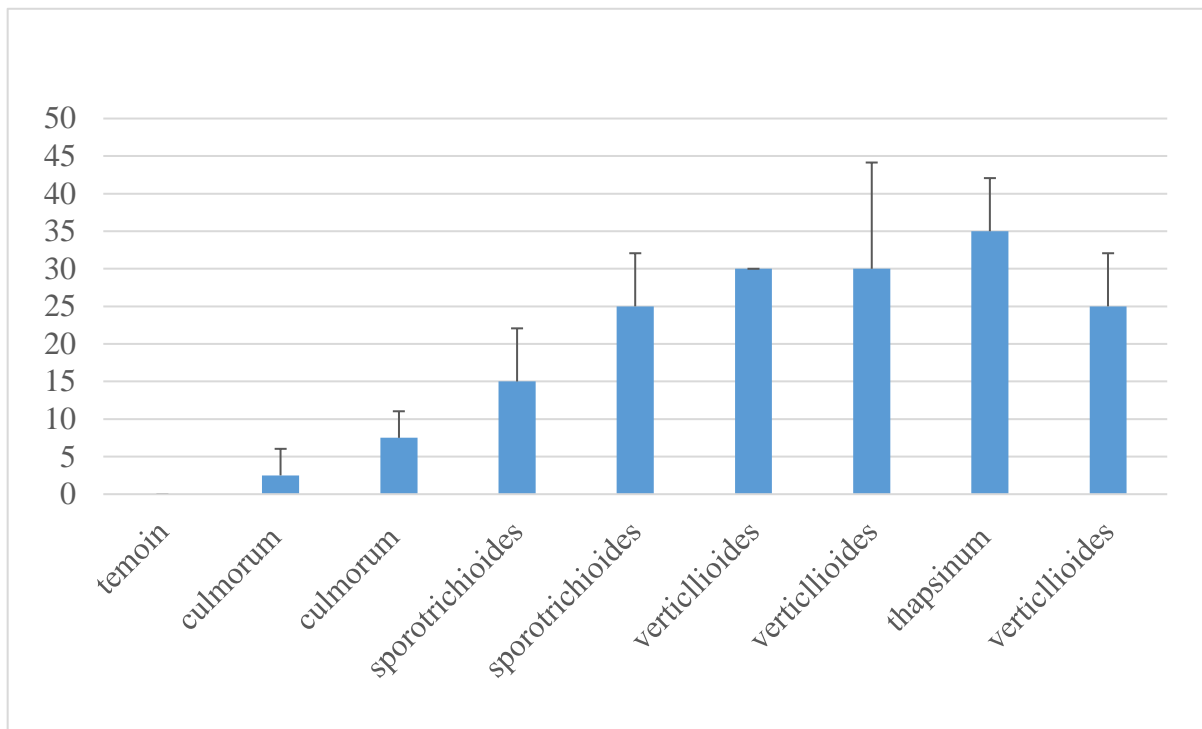


Figure 22 : Variation dans l'agressivité des différentes espèces de *Fusarium* spp.

Les interactions variétés x isolats ont été exploitées par une analyse de variance ANOVA réalisée avec le logiciel XL STAT version 16. Les analyses de la variance ont montré que les résultats sont hautement significatifs ($p= 0.004$) dans leur capacité de causer la nécrose au niveau du collet.

Les résultats de l'interaction F1 * F2 analysés par les tests de comparaison de TukeyPairwise à un intervalle de confiance de 95%, ont classé les isolats dans 5 groupes.

L'isolat 18 est le plus agressif sur la variété vitron avec une moyenne d'indice d'attaque de 25%, représenté dans le groupe A, par contre l'isolat I1a enregistré la plus faible moyenne d'indice d'attaque de 2.5%, représenté dans le groupe C. Ces tests ont permis aussi de représenter ces données par un model « Interval Plot » (Tableau 4).

Tableau 04: Répartition des isolats en groupes homogènes selon l'analyse de comparaison de Tukey Pairwise à un interval de confiance de 95%.

Isolats	Groupes homogènes
I8	A
I7	AB
I6	AB
I9	ABC
I5	ABC
I4	ABC
I3	BC
I2	C
I1	C

IV. Analyses de la production des trichothécènes pour les isolats de *Fusarium* spp. par HPLC

Compte tenu de ces données, nous nous sommes proposés d'analyser le potentiel toxigène de trois isolats de *Fusarium* spp. Dans un premier temps, est d'identifier la capacité de ces deux isolats de produire des toxines et déterminer le chémotype des isolats de *F. culmorum* et

F. sporotrichioides et *F. verticillioides* par HPLC. La zearalenone n'a pas pu être détecté par HPLC /DAD par faute de détecteur UV et la détection Fluo pour Zéaralénone est entre 275 et 450 nm. Les extraits de filtrats de culture des 3 isolats de *Fusarium* ont été soumis à une séparation par chromatographie sur couche mince.

La recherche de la ZEA dans les extraits des trois échantillons étudiés est négative. L'interprétation a été réalisée sous rayonnement ultraviolet (Figure 23.).

D'après (Bougtiny, 2007) il semble que les fluctuations intra expérimentations du potentiel toxigène de *Fusarium* en cultures standard pourraient, au moins en grande partie, être reliées à une interruption de la voie de biosynthèse des trichothécènes dans certaines fioles.

Cette interruption de la voie de biosynthèse entraînerait l'accumulation d'intermédiaires de la voie, ceci pourrait être relié à un développement morphologique différent du mycélium selon les fioles.

Le potentiel toxigène est défini par la capacité d'un champignon à produire des mycotoxines, de façon qualitative (chémo type DON/ADON ou NIV/FX) et quantitative (Ponts, 2005).

Nos souches ont été et identifiées comme étant de chémotypes DON et NIV après identification par HLPC-DAD des TCTB produits après 15 jours d'incubation.

L'analyse des profils chromatographiques, a montré que isolats *F. sporotrichioides* a produit le DON et *F. culmorum* a produit le NIV. Les résultats obtenus ont montré une variation des niveaux des trichothécènes produits selon les isolats considérés. L'isolat de chémo type DON produit quant à son potentiel toxigène un niveaux de toxines de chémo type DON est bien supérieurs à celui de l'isolat NIV/FX.

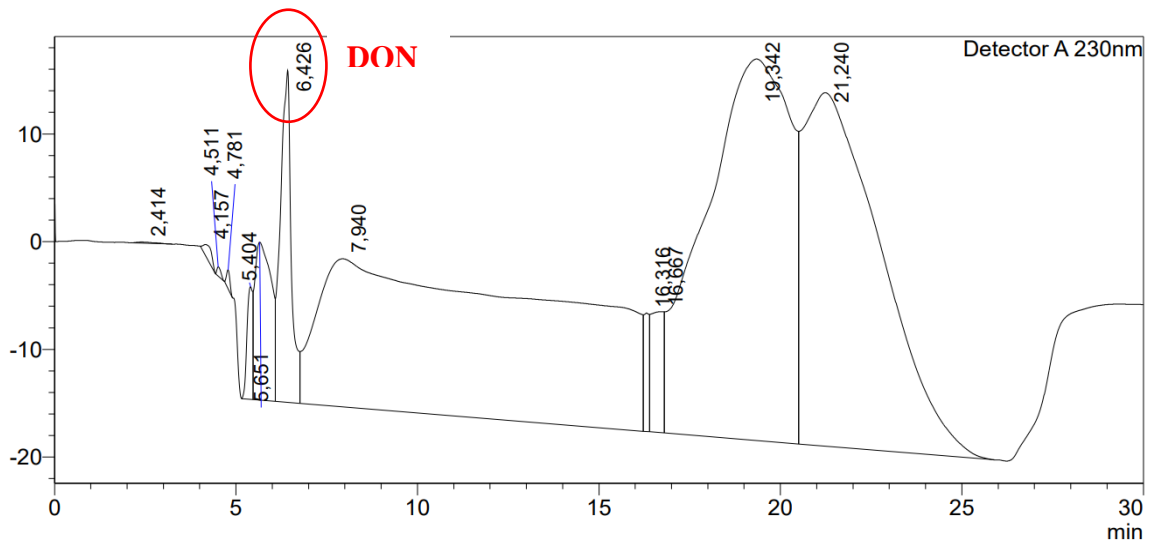


Figure 23: Analyse par chromatographie en phase liquide (HPLC/DAD) de *F. sporotrichioides* producteur de DON.

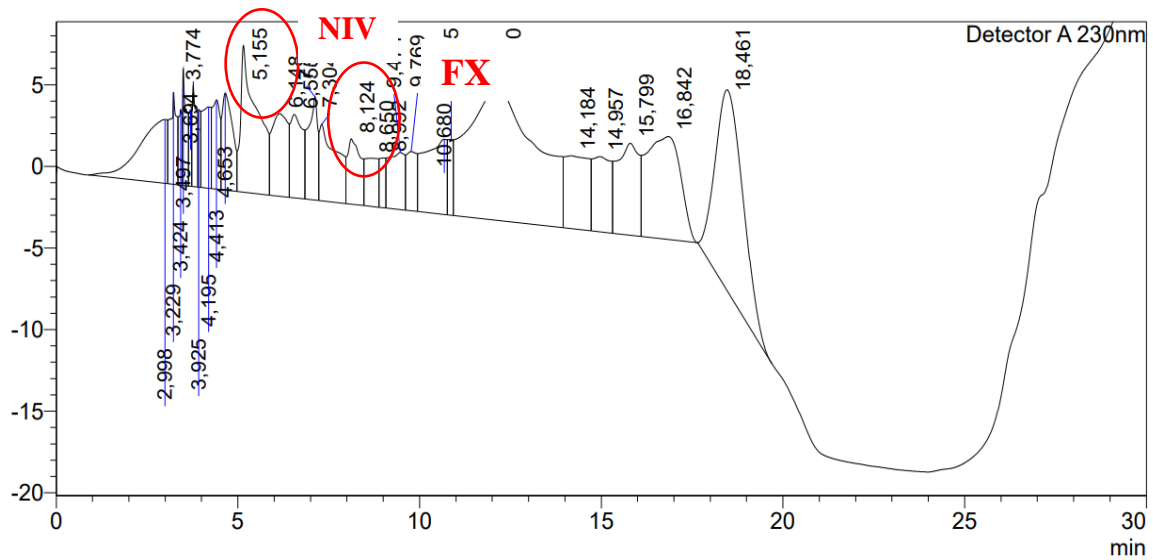


Figure 24: Dosage de la quantité de NIV par chromatographie en phase liquide (HPLC/DAD) de *F. culmorum* producteur de NIV/FX.

Discussion :

L'identification morphologique des espèces fongique isolées des grains de maïs a été basée sur les différents critères morphologiques proposés par Leslie et al. (2006) ; Ismail et al., (2015) ; par Samuel et hallet. (1983) une collection de 20 isolats du genre *Fusarium* a été purifiée et exploitée pour l'identification.

Notre travail qui a porté sur l'observation macroscopique (l'aspect cultural, la coloration du mycélium, présence ou absence ainsi que sa couleur) et microscopique (la forme et microscopique (la forme et la taille des macroconidies, microconidies), a abouti à la détermination de *F. culmorum*, *F. thapsinum*, *F. konzum*, *F. verticillioides*, *F. sporotrichioides*, *F. napiforme*, *F. oxysporum*.

Nos résultats d'identification morphologique des espèces de *Fusarium* spp. confirme les résultats obtenus précédemment en Algérie par khoweild, (2016) et Chelbek, (2020). Ces résultats sont aussi en accord avec ceux classiquement obtenus dans les pays du nord de l'Europe comme le nord de la France, l'Allemagne, la Norvège, la Belgique, la Pologne ou les pays- Bas (Isebaert et al.,2005 ; krysinska-traczyk et al., shothorst et al.,2004., schollenberger et al.,2006).

Plusieurs travaux sont en accord avec ces résultats et qui montre que sur maïs, l'espèce *Fusarium* toxigène prépondérante en Europe est *F. graminearum* (teleomorph : *Gibberella zeae*) de la section *Discolor* dont le génome de 36,1 Mb a été entièrement séquencé et dont les quatre chromosomes regrouperaient environ 11640 gènes (Cuomo, Guldener et al., 2007).

Fusarium culmorum est aussi fréquemment isolé du maïs, cette espèce serait cependant plus inféodée à des cultures du nord de l'europe (Logrieco 2002). Avec *F. graminearum*, ces deux espèces sont aussi les principales productrices de trichothécènes B et de zéaralénone ;

S'ensuivent ensuite des espèces plus minoritaires, comme *F. crookwellense* et *F. avenaceum* (teleomorph : *Gibberella avenacea*) appartenant également à la section *Discolor* ainsi que *F. poae* et *F. sporotrichioides* (section *Sporotrichiella*) (Logrieco 2002).

Par ordre de fréquence d'isolement arrivent ensuite les trois principales espèces associées aux symptômes de FER, allant du blanc au rose : *F. verticillioides*, *F. proliferatum* et *F. subglutinans*, bien que cette dernière soit souvent moins présente en Europe et plutôt retrouvée sur le continent Nord-Américain (Vigier, Reid et al., 1997).

L'étude de la croissance mycélienne de 5 isolats à différentes températures (20 °C ,25° C, 30° C) a montré que l'intervalle de croissance des espèces de *Fusarium* spp. est situé entre 25° C avéré que l'optimum de la croissance mycélienne de l'espèce est situé à et 25 C pour les isolats *F. sporotrichioides*, *F. culmorum* et *F. verticillioides* l'exception de *F. thapsinum* qui est enregistré à 30°C. Les résultats obtenus dans cette étude sont en accord avec ceux obtenus par Brennan et al., (2003) qui ont trouvé que la température optimale de croissance de *F. culmorum* est 25°C, et ont signalé que la croissance mycélienne de *F. culmorum* augmente entre 20 et 35°C.

Selon Burgess et al. (1994), la croissance mycélienne de *F. verticillioides* augmente à températures 25°C, ils rapportent que le diamètre moyen de la colonie de *F. Verticillioide* après 3 jours d'incubation est comprise 3.73cm, ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans ce présent travail.

Au cours de cette étude, la technique d'inoculation par fragment mycélien a été adoptée pour tester la pathogénicité et l'agressivité des espèces de *Fusarium* spp. Sachant que cette méthode d'inoculation a été précédemment utilisée par Fernandez et Chen (2005) et Tunali et al., (2006).

Dans cette expérience, nous avons testé l'agressivité des isolats isolés du maïs sur blé. Les résultats ont montré que les isolats ont induit une décoloration au niveau du collet. L'étude de l'agressivité des espèces de *Fusarium* spp. montré que les espèces *F. thapsinum* et *F. verticillioides* sont les plus agressifs suivi par *F. sporotrichioides*, Alors que l'espèce *F. culmorum* est la moins agressif.

Plusieurs études n'étaient pas d'accord avec nos résultats, En étudiant l'agressivité de plusieurs espèces de *Fusarium*, vis-à-vis de la pourriture des racines, Fernandez et Chen (2005) ont rapporté que les espèces *F. culmorum* sont plus agressives qu'outres l'espèce *Fusarium*. De plus, smiley et al. (2005) ont rapporté que sous serre, l'espèces *F. culmorum* peuvent engendrer des niveaux d'attaques élevés tunali et al. (2006) ont noté une pathogénie élevée causée par l'espèces *F. culmorim* sur des plantules de blé.

Brennan, Fagan et al. (2003) ont montré que in vitro, *F. graminearum* et *F. culmorum* étaient les espèces les plus pathogènes comparées à *F. poae* et *F. avenaceum*, indiquant que les différentes espèces n'ont pas toutes le même pouvoir pathogène.

Nous concluons que *F. Culmorum* qui provient de semences de maïs, et modérément agressif sur le blé.

Au cours de cette étude nous avons identifié le potentiel toxigène de trois isolats de *F. culmorum*, *F. verticillioides* et *F. sporotrichioides* et défini la capacité de ces isolats à produire des TCTB. Les résultats obtenus nous laissent supposer que seulement deux isolats testés possèdent le gène Tri5 codant pour la trichodiène synthase, une enzyme clé dans la biosynthèse des trichothécènes, il s'agit de *F. culmorum*, et *F. sporotrichioides*.

Comme décrit précédemment la diversité des espèces fusariennes susceptibles d'infecter les épis de maïs est très large. Cette diversité se retrouve au sein d'une espèce donnée, puisqu'il existe des souches présentant des caractéristiques très différentes en termes de toxigénèse.

Des résultats comparables ont été rapportés par Logrieco et al., (2003) qui ont confirmé qu'en régions méditerranéennes, tous les isolats de *F. culmorum* analysés se sont avérés de chémotype 3-AcDON. Dans beaucoup de pays européens, cette dominance a été rapportée comme en France, Italie, la Pologne, la Russie, l'Allemagne et la Hongrie (Boutigny et al., 2014 ; Mugrabi de Kuppler et al., 2011 ; Quarta et al., 2005 ; Ward et al., 2008 ; Christ et al., 2011 et Tóth et al., 2004), et aussi en Inde (Venkataramana et al., 2013) et aux USA (Ward et al., 2008). Cependant, une proportion élevée d'isolats de *F. culmorum* de chémotype NIV a été rapportée en Espagne, Corée du Sud et en Chine (Llorens et al., 2006, Ok et al., 2014, Ndoye et al., 2012).

En outre, plusieurs études signalent la coproduction de la forme acétylée de la part d'une même souche (Alvarez et al., 2009 ; Christ et al., 2011 ; Kawakami et al., 2014 ; Korn et al., 2011 ; Mugrabi de Kuppler et al., 2011 ; Sugiura et al., 1990 ; Spolti, 2014 ; Szecsi et al., 2005 ; Talas, 2012 ; Ward et al., 2002 ; Yli - Mattila et al., 2009 et Llorens and al., 2006). *F. verticillioides* et *F. proliferatum* sont les principaux producteurs de fumonisines. Ce qui explique le résultat négatif de production de TCTB chez *F. verticillioides*.


Les espèces de champignon du genre *Fusarium*, tels *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides* et *F. poae*, sont les producteurs majeurs des trichothécènes nonmacrocycliques (Boutigny, 2007).

La caractérisation génétique et biochimique de la voie de biosynthèse des trichothécènes a été entreprise chez *F. sporotrichioides* et *F. graminearum*. Ces études ont mené à la

détermination de toutes les étapes biochimiques conduisant à la biosynthèse des trichothécènes A et B à partir du métabolisme des isoprenoides (Kimura et *al.*, 2007).

De plus, les résultats obtenus ont montré que les niveaux d'ADON et NIV /FX produits in vitro par les isolats de *F. culmorum* et *F. sporotrichioides* sont différents.

Des situations similaires à ceux décrits pour le chémotype génétique peuvent survenir, pour l'analyse biochimique, puisque la production de toxines in vitro est très variable et peut ne pas représenter le potentiel toxigène réel de la souche (Malbrán et *al.*, 2014 ; Mirocha et *al.*, 1989 ; Muller et Schwadorf, 1993). Seule au champ, l'inoculation in planta peut montrer la capacité réelle toxigène de chaque souche (Gang et *al.*, 1998). La production de toxines est souvent variable entre les isolats (Spolti et *al.*, 2014) et certaines souches ne produisent aucune toxine dans des conditions de laboratoire (Tan et *al.*, 2012).



**CONCLUSION
GENERALE**

Conclusion

Le maïs est une céréale cultivée pour son grain et utilisée dans l'alimentation humaine et animale. Comme les autres céréales est la plus exposée à la contamination fongique. Le développement fongique sur ces substrats peut avoir plusieurs conséquences telles que l'altération de produit, diminution des qualités nutritives apparition des maladies ou accumulation de composés toxique (mycotoxine).

La fusariose de l'épi est une maladie dévastatrice causée par un complexe d'espèces du genre *Fusarium* et. Lors de cette étude, nous avons réalisé une identification moléculaire des espèces de *Fusarium* spp.

L'identification morphologique des agents responsables a permis d'identifier 7 espèces à savoir : *F. culmorum* ; *F. verticillioides* ; *F. thapsinum* ; *F. konzum* ; *F. napiforme* ; *F. sporotrichioides* et *F. oxysporum*.

La connaissance des espèces de *Fusarium* majoritaires permet de mieux appréhender le risque sanitaire constitué par les mycotoxines que ce champignon produit et de mettre en place des moyens de lutte adaptés en prenant en compte des facteurs tels que le climat.

Le test de l'effet d'une gamme de température sur la croissance mycélienne *in vitro* des isolats de *Fusarium* spp. a montré que l'optimum de la croissance mycélienne pour les espèces de *F. Sporotrichioides*, *F. Culmorum* et *F. verticillioides* (2) a été enregistré à 25°C. Pour *F. verticillioides* et *F. thapsinum* la température de croissance optimale a été notée à 30°C.

L'étude de l'agressivité des isolats de *Fusarium* spp. isolés à partir du maïs sur le collet du blé a montré que tous les isolats ont induit les symptômes typiques de la pourriture racinaire, mais avec des indices d'attaques inférieur à 40%. En effet nous avons noté que les isolats testés sont faiblement agressifs. Les résultats ont montré aussi que l'indice de sévérité de la maladie est variable selon les espèces et selon les isolats.

Enfin, on a identifié les mycotoxines associe aux espèces de *Fusarium* spp., par la chromatographie sur couche mince CCM et chromatographe liquide haute performance HPLC. Nos isolats ont été identifiées comme étant de chémotypes DON et NIV/FX. La zearalenone n'a pas pu être détectée par HPLC /DAD par défaut de détecteur UV. La recherche de la ZEA dans les extraits des trois échantillons étudiés sur CCM est négative. L'interprétation a été réalisée sous rayonnement ultraviolet.

En perspectives, il est intéressant de pousser les études pour une connaissance globale des différentes espèces *Fusarium* responsables de la contamination des grains en Algérie. Il est nécessaire d'effectuer un échantillonnage plus large dans les principales régions céréalières du pays et dans les différents étages bioclimatiques, afin d'identifier les espèces existantes, leur pouvoir pathogène et leur fréquence selon les régions.

La disponibilité d'une classification des cultivars de maïs pour réduire les risques de contamination par les mycotoxines.

Mettre en en place un système de contrôle et de surveillance de la contamination de maïs par ces mycotoxines.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

Référence bibliographique

1. (<https://www.agri-mag.com>)
2. (<https://www.agrireseau.net/>)
3. (www.djamel-belaid.fr)
4. (<https://elearning.univ-usto.dz/>)
5. (<https://elearning.univ-usto.dz/>)
6. (<https://fr.statista.com/>)
7. (<https://oatao.univ-toulouse.>)
8. (<https://oatao.univ-toulouse.fr/7142/1/jard.pdf>)
9. (<https://www.agrireseau.net/grandescultures/documents/FeuilletInformationFusariosedf>)
10. (<https://www.aps.dz/r->)
11. (<https://www.maisculturedurable.com/>)
12. (<https://www.semae-pedagogie.org>)
13. (<https://www.semae-pedagogie.org>)
14. .(<https://www.analyticaltoxicology.com/>)
15. www.afd.be/~plant-ch/mais/conais/AGmais.htm
16. www.ent.iastate.edu/imagegal/plantpath/corn/Fusarium/Fusarium_insect_inj.html
17. <http://www.inra.fr/hyppz/RAVAGEUR/3ostnub.htm>
18. <https://googleweblight.com/>.
19. <https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Mais.html>)
20. <https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Mais.html>
21. BARTOK, T., szécsi, A., Bartok, M. 2006. Détection of new fumonisin.
22. Bartók, T., Szécsi, Á., Szekeres, A., Mesterházy, Á., Bartók, M., 2006. Detection of new fumonisin.
23. Beadle, G. W. (1981). "Origin of corn : pollen evidence." Science 213(4510) : 890.
24. Belaid, D.,2016. La culture du maïs en Algérie.
25. Belaide, G.W.,1981. ORIGIN OF CORN – Pollen evidence. Science 213, 890-892.
26. Bhatnagar, D., Brown, R., Ehrlich, K., Cleveland, T.E. 2002. Mycotoxins contaminating cereal grain crops: their occurrence and toxicity. Applied Mycology and Biotechnology. 2 : 171-196.

27. Bily, A.C., L. M. Reid, M. E. Savard, R. Reddy, B.A. Blackwell, C.M. Campbell, A. Krantis, T. durst ,B.J.R. Philogene, J.T.Arnason, and C. Regnault-Roger. 2004. Analysis of fusarium graminearum mycotoxins in different biological matrices by LC/MS. *Mycopathologia*
28. Boutigny, AL., Atanasova-Pénichon, V., Benet, M., Barreau, C and Richard-Forget, F.,2010. Natural phenolic acids from wheat bran inhibit Fusarium culmorum trichothecene biosynthesis in vitro by repressing Tri gene expression. *Eur J Plant Pathol.*, 127: 275–286
29. Brennan et al., (2003). Studies on in vitro growth and pathogenicity of European Fusarium fungi. *European Journal of Plant Pathology* 109 : 577-587
30. Burgess et al., 1991. An evaluation of several media for use in identification of some Fusarium species. *Australasian Plant Pathology* 20 : 86-88.
31. Caron, D., L. Dupont De Dinechin, et al. (2006). Fusarium graminearum sur les résidus de culture des blés et des maïs et en fonction du travail du sol. CR 8ème CIMA AFPP Tours,293-303
32. Casteel, S. W., J. R. Turk, et al. (1993). "Chronic toxicity of fumonisin in weanling pigs." *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 5(3) : 413.
33. Chelbak Khadidja ,2020 Identification de fusarium responsable des contaminations de grains de maïs et détection des mycotoxines associées
34. Cole, R.J., Cox, R.H. 1981. Handbook of toxic fungal metabolites. Academic Press, New York, 93p.
35. Comby, M., Ptas,S., Profizi ,C., Randoux, B., Reignault, P., Halama ,P.,Siah, A., Adam ,F., Khatiri, Z, Hamada ,W., Barakat I, El Guilli ,M., Chtaina, N., Jacquard ,C., Courteaux, B., Sanchez, L., Ait Barka, E., Baillieul, F.,Clément, C. 2018. Le biocontrôle des stress biotiques et abiotiques chez le blé : c'est possible. P79
36. Cuomo, C.A., Güldener, U., Xu, J.R., Trail, F., Turgeon, B.G., Di Pietro, A. 2007. The *Fusarium graminearum* genome reveals a link between localized polymorphism and pathogen
37. Dill-Macky, R., and Jones, R.K. (2000). The Effect of Previous Crop Residues and Tillage on Fusarium Head Blight of Wheat. *Plant Disease* 84, 71-76Disease 86: 1350-1356
38. Dufault, N., E. De Wolf, P. Lipps, and L. Madden. 2002a. Identification of environmental variables that affect perithecial development of *Gibberella zeae*. p. 141. In S.M. Canty, J. Lewis, L. Diler, and R.W. Ward (ed.) Proc. of the National *Fusarium* Head Blight Forum, Erlanger, KY. 7–9 Dec. 2002. Michigan State Univ., East Lansing

39. Dufault, N., E. De Wolf, P. Lipps, and L. Madden. 2002b. Relationship of temperature and moisture to *Gibberella zeae* perithecial development in a controlled environment. p. 142–144. In S.M. Canty, J. Lewis, L. Diler, and R.W. Ward (ed.) Proc. of the National *Fusarium* Head Blight Forum, Erlanger, KY. 7–9 Dec. 2002. Michigan State Univ., East Lansing
40. Fernandez et chen, 2005. Pathogenicity of *Fusarium* species on different plant parts of spring wheat under controlled conditions. *Plant Disease* 89: 164-169
41. Isbaert, S., Haesaert, G., devreese, R., Maene, P., Fremaut, F., & Vlaemynck, G (2005). *Fusarium* spp. and fusarium mycotoxines in maiz : à problem for Flanders ? communications in agricultural and applied biological sciences, 70(3),129.
42. Ismail, M.A., Abdel-Hafez, S.I., Hussein, N.A., & Abdel-Hameed, N.A. (2015). Contribution to the genus *Fusarium* in Egypt.
43. Kryszka-Traczyk, J., & Dutkiewicz, J. (2007). Levels of fungi and mycotoxins in the samples of grain and grain dust collected from five various cereal crops in eastern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 14(1).
44. Léa GAUTHIER. 2015. Approche métabolomique pour la compréhension des mécanismes de résistance à *Fusarium graminearum* et accumulation de trichothécènes chez le maïs
45. Leslie, J.F., & Summerell, B.A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. In: Blackwell publishing, 388 p
46. Logrieco, A., Bottalico, A., Mulé, G., Moretti, A., Perrone, G. 2003. Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *European Journal of Plant Pathology*. 109(7) : 645-667
47. Logrieco, A., Mule, G., Moretti, A., Bottalico, A. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. *European Journal of Plant Pathology*. 108(7) : 597-609
48. Logrieco, A., Mule, G., Moretti, A., Bottalico, A., 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 108, 597 609
49. Magan N & Aldred D (2007). Post-harvest control strategies: minimizing mycotoxins in the food chain. *Int J Food Microbiol* 119 : 131-139.
50. Mangelsdorf, P. C., R. S. MacNeish, et al. (1964). "Domestication of Corn." *Science* (New York, NY) 143(3606) : 538.

51. Matarese, F., Sarrocco, S., Gruber, S., Seidl-Seiboth, V., Vannacci, G., 2012. Biocontrol of Fusariumhead blight: interactions between Trichoderma and mycotoxigenic *Fusarium*. *Microbiology-Sgm* 158,98-106.
52. Matarese, F., Sarrocco, S., Gruber, S., Seidl-Seiboth, V., Vannacci, G. 2012. Biocontrol of Fusariumheadblight: interactions betweenTrichoderma and mycotoxigenicFusarium. *Microbiology-Sgm* 158, 98-106
53. McMullen, M., Jones, R., and Gallenberg, D. (1997). Scab of Wheat and Barley: A Reemerging Disease of Devastating Impact. *Plant Disease* 81, 1340-1348
54. Miller, J.D. 1995. Fungi and mycotoxins in grain: Implications for stored product research. *Journal of Stored Products Research*. 31(1) : 1–16.
55. Munkvold GP, McGee DC, and Carlton WM. (1997). Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology* 87: 209-217.
56. Munkvold, 2003. Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize earsEuropean Journal of Plant Pathology 109, 705–713
Mycotoxines. *Micropathological* 161/261-73. Doi : 10.1007/s 11046-006-021
57. Naili, N., Hazami, M., Attar, I., & Farhat, A. (2013). In-field performance analysis of ground source cooling system with horizontal ground heat exchanger in Tunisia. *Energy*, 61, 319-331.
NelsoMemorialSymposium. APSPress, pp 1–14
58. Parry, D.W., Jenkinson, Y.P., McLeod, P., 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cerealsareview. *Plant Pathology* 44, 207-238
59. Parry, D.W., Jenkinson, Y.P., McLeod, P., 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals—areview. *Plant Pathology* 44, 207-238.
60. Placinta, C., D’Mello, J.P., Macdonald, A.M. 1999. A review of worldwide contamination ofcereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology*78(1) : 21-37
61. Reid, L.M., Sinha, R.C., 1998. Maize maturity and the development of Gibberella ear rot symptomsand deoxynivalenol after inoculation. *European Journal of Plant Pathology* 104, 147-154.
62. Rotter, B. A. (1996). "Invited review: Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin)." *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 48(1): 1-34.
63. Samuels GJ, Nirenberg HI, Seifert KA. (2001). Perithecial species of fusarium. In:Summerell BA, Leslie JF, Backhouse D, BrydenWL (eds) *Fusarium*: Paule.

64. Samuels GJ, NirenbergHI, Seifert KA. (2001). Perithecial species of fusarium. In : Summerell BA, Leslie JF, Backhouse D, BrydenWL (eds) fusarium : paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press, pp 1-14
65. Schisler, D.A. Khan, N.I., Boehm, M.J., et Slininger, P.J. 2002. Greenhouse and field evaluation of biological control of Fusarium head blight on durum wheat. Plant
66. SCHOLLENBERGER, M., MÜLLER, H.M., RÜFLE, M., Suchy, S., Plank, S., & Drochner, W. (2006). Natural Occurrence of 16 Fusarium toxins in grains and feedstuffs of plant origin from Germany. Mycopathologia, 161(1), 43-52
67. Sébastien PONS, 2010 Importance du choix variétal dans la maîtrise des niveaux de contamination en trichothécènes B des récoltes de maïs
68. Tenaillon M., Charcosset, A. 2011. A European perspective on maize history. Comptes Rendus Biologiques, Elsevier Masson, 334(3), pp. 221-228.
69. Tenaillon, M.I., Charcosset, A., 2011. A European perspective on maize history. Comptes Rendus Biologies 334, 221-228.
70. Trail F., I. Gaffoor, S. Vogel. 2005. Ejection mechanics and trajectory of the ascospores of Gibberella zeae (anamorph Fusarium graminearum). Fungal Genetics and Biology 42: 528–533.
71. Tunali et al., 2006. Pathogenicity of Turkish crown and head scab isolates on stem bases on winter wheat under greenhouse conditions. Journal of Plant Pathology 5: 143-149
72. Urry, W.H., Wehrmeister, H.L., Hodge, E.B., Hidy, P.H. 1966. The structure of zearalenone. Tetrahedron Letters. 22 : 3109-3114.
73. Vesonder R.F., Labeda D.P. et Peterson RE. (1992). Phytotoxic Activity of selected watersoluble metabolites of *Fusarium* against *Lemma minor* (L. Duckweed). Mycopathologia, 118 185-189
74. Vesonder R.F., Labeda D.P. et Peterson RE., (1992). Phytotoxic Activity of selected
75. Vigier B, Reid LM, Seifert KA, Stewart DW and Hamilton RI. (1997). Distribution and prediction of *Fusarium* species associated with maize ear rot in Ontario. Canadian Journal of Plant Pathology 19: 60-65
76. Vogel, H.J., 1956. A convenient growth medium for *Neurospora* (Medium N). Microbial Genetics Bulletin 13, 42-43.
77. Wagacha, J.M., et Muthomi, J.W. 2007. *Fusarium culmorum*: infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. Crop Protection 26: 877-885

78. watersoluble metabolites of *Fusarium* against *Lemma minor* (L. Duckweed). Mycopathologia, 118 185-189.
79. Yuen, G.Y., and Schoneweis, S.D. (2007). Strategies for managing Fusarium head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. Int J Food Microbiol 119, 126-130
80. Zadoks et al .1974. Decimal code for the growth stages of cereals. Weed Research 14,415-42
81. ZhengM,RichardJL, Binder J ,2006. Areview of rapid methods for the analysis of mycotoxins. Micropathological 161 : 261-73.doi : 10.1007 /s11046-006-0215-6.
82. Toussoun, T.A. et Nelson, p. E. 1976. Fusarium a pictorial guide to the identification of fusarium species according to the taxonomic system of synder and hansen. Second edition the persel perselvania University park and london.43p
83. Booth, C. 1971. The genus fusarium. Common wealth Mycological Institute, kew, surrey , England, p237
84. Samuels,G. J. 2006. Trichoderma : Systematics, the sexual state, and ecology. phytopathology 96 :195-206.
85. Burgess, L. W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K. P., et Backhouse, D. 1994. Laboratory manual for Fusarium research, 3rd edn . Sydney Australia , University of Sydney and botanical Garden, pp133.
86. Tunali, B., Nicol ,J.,Yelda Erol F. et Altiparmak, G. 2006. Pathogenicity of turkish crown and head scab isolates on stem bases on winter wheat greenhouse condition . Journal of plant pathology 5 :143-149.
87. Smiley, R.W., Gourle, J.A., et Patterson, L.M. 2005. Pathogenicity of fungi associated with the wheat crown rot complex in oregon and Washington. Plant Disease 89 :949-957.
88. Burgess, L.W., Backhouse, D. et summerell, B., 2001. Crown rot wheat. In Summerell, B.A., leslie, I.F., Backhouse, D., Bryden W.L., Burgess, L.W. (Eds), Fusarium- paul E Nelson Memorial symposium. The American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN, USA, pp. 271-294.
89. Chakraborty, S., Obanor, F., Westecott, R. et Abeywickrama, K. 2010. Wheat crown rot pathology 100 :1075- 1065.
90. Boughalleb, N., Souli, M., Karbous, B. et Mahjoub, M.E. L., 2006. Identification et répartition géographique des fusarioses affectant l'épi et le pied du blé dans certaines régions du Nord de la tunisie EPPO Bulletin 36, 51.
91. Gargouri, S., 2003. Evaluation de l'incidence de la pourriture du pied et étude de la diversité génétique de la structure des populations des espèces de Fusarium associées à la

maladi. Thèse de doctorat, Université de tunis el manar, Faculté des sciences de tunis
département de biologie tunisi, 108 pp

- 92.** Mergoum, M., 1997. Evaluation of durum wheat germplasm to root rot (*Fusarium culmorum* and *cochliobolus sativus*) in Morocco. Plant Research Newsletter 109 : 11-14.

PDA (Potato Dextrose Agar)

Pour un litre de milieu :

- 200g pomme de terre
- 20g agar agar
- 20g glucose
- 1000 ml H₂O distillée

Milieu MS

Ce milieu contient

- 20 g/L de glucose
- 0,5 g/L de KH₂PO₄
- 0,6 g/L de K₂HPO₄
- 0,017 g/L de (NH₄)₂SO₄