

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 TELIDJI - Laghouat -
Faculté des Sciences
Département des Sciences Agronomiques

جامعة عمار ثليجي - الاغواط -
كلية العلوم
قسم العلوم الفلاحية



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

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

Thème

***Complexe fongique de pourriture
racinaire et la fusariose de l'épi,
caractérisations pathologiques et
toxinogènes***

Présentée par : *YAHY Yakoub*

Soutenu le : 25/06/2014

Devant le Jury
Mr Ait Saleh B.
Mm Zaza M
Mm Touati S

Président.
Examinatrice
Promotrice

Résumé

YAHY Yakoub

Titre : complexe fongique de pourriture racinaire et la fusariose de l'épi, caractérisations pathogènes et toxigène.

Le blé constitue la première ressource alimentaire humaine. Cette culture est menacée par plusieurs maladies dont la fusariose, qui affecte le rendement mais aussi la qualité sanitaire de la récolte par la présence des toxines sur les graines. Cette maladie endémique est provoquée par un complexe des champignons de genre *Fusarium* ; c'est le complexe fusarienne.

Dans la littérature, le complexe de pourriture racinaire constitue les différentes espèces fusariennes qui engendrent des symptômes sur les racines, collet et même tige. Ce complexe peut se trouver au niveau de l'épi où il engendre la fusariose de l'épi.

L'objectif de ce travail est d'isoler des espèces de *fusarium* et les identifier. Des tests ont été aussi réalisés ont montré que le *fusarium graminearum* est plus agressif que *Fusarium culmorum*. Deux méthodes d'inoculation sont appliquées sur les collets de cinq lignées de blé dur par les deux espèces précédentes, et les résultats obtenus ont montré que l'inoculation directe par le mycélium a des caractères pathogéniques plus sévère et plus rapide que l'inoculation par la suspension sporale.

L'étude de potentiel toxigène par une technique physicochimique (CCM) a montré que les isolats BD11, BD06 et R214 sont toxigènes tandis que les isolats T1 ET T1 ne sont pas toxigènes.

Mots clés : blé, complexe fusarien, complexe de pourriture racinaire, potentiel toxigène, CCM.

العنوان مركب العفن الجذري و فوزاريوم السنابل خصائص ممرضة و سمية

يعتبر القمح من الموارد الأساسية لغذاء الإنسان .

هذه الزراعة مهددة بعدة أمراض منها مرض الفوزاريوم الذي يؤثر على الإنتاج و كذلك النوعية الصحية للبذور هذا المرض المستوطن يسببه مركب فطري يسمى مركب الفوزاريوم.

اصطلاحا مركب عفن الجذور يشكل مجموعة من الأعراض تسببها اجناس من الفوزاريوم على الجذور الساق و الجذع. و كذلك السنابل حيث يسمى فوزاريوم السنابل.

في دراستنا هذه قمنا باستخراج و تحديد بعض اجناس الفيزاريوم. بعض التجارب بينت ان الفيزاريوم قرامينيوم هو الاكثر ضراوة و طريقتين في الالقام المرضي تمت في هذا العمل بينت ان الامراض المباشر بواسطة

البحث عن الاجناس النباتية للقمح المقاومة للفوزاريوم سمحت بتاكييد ان الجنس النباتي ل1 هو الاكثر حساسية للقمح.

دراسة القدرة التسميمية بواسطة طريقة فيزيوكيميائية (س س م) سمحت لنا بمعرفة أن العزلة ب د 11 و ب د 06 و ر 2 14 تملك قوة سمية و ت 1 و ت 2 غير سامان.

الكلمات الرئيسية القمح ,عفن الجذور , مركب الفوزاريوم ,القدرة التسميمية

YAHYI Yakoub

Title: root rot complex and Fusarium head blight, pathogenic and toxigenic characters

Wheat is the first human food resource. This culture is threatened by several diseases including Fusarium, which affects the performance but also the health quality of the crop by the presence of toxins in the seeds. This endemic disease is caused by a complex of fungi Fusarium; is the *Fusarium* complex.

In the literature, the complex root rot is different Fusarium species that causes symptoms on the roots, crown and stalk. This complex can be found at the ear where it generates FHB.

The objective of this work is to isolate Fusarium species and identify them. The testes were also carried out showed that the *Fusarium culmorum* more aggressive than *Fusarium graminearum*. Two inoculation methods are applied to the collars five durum wheat lines by the two preceding species, and the results have shown that the direct inoculation of the mycelium more severe and rapid pathogenic character inoculation spore suspension.

The study of potential toxin by a physicochemical technique (CCM) showed that isolates BD11, BD06 and R214 are toxigenic isolates while T1 AND T1 are not toxigenic.

Keywords : wheat, *Fusarium* complex, the the complexe root rot, Fusarium head blight. Potential toxin, CCM

TABLE DE MATIERE

Introduction.....	1
Chapitre I : données bibliographiques.	
I.1. Le blé.....	3
I.1.1. Position systématique et taxonomique de blé	3
I.1.2. La morphologie.....	3
I.1.3. Cycle végétatif	4
I.1.4. Historique de la culture de blé.....	5
I.1.5. Importance de blé	6
I.1.5.1. Importance de blé dans le monde.....	6
I.1.5.2. Importance de blé en Algérie.....	6
I.1.6. Les principales contraintes de la culture	
de blé en Algérie.....	8
I.1.6.1. Les contraintes abiotiques.....	8
I.1.6.2. Les contraintes abiotique.....	8
I.2. La Fusariose.....	11
I.2.1. Symptômes.....	11
I.2.2. Le complexe fusarien.....	13
I.2.3.1. Caractères cultureux généraux.....	14
I.2.3.2. Morphologie microscopique.....	15
I.2.5. Les relations entre espèces du complexe.....	16
I.2.6. Cycle de vie.....	16
I.2.6.1. Sources de	
contamination (inoculum primaire).....	16
I.2.6.2. La dissémination.....	17
I.2.6.3. Infection et développement des champignons.....	18

I.2.7. Conditions favorables au développement de la maladie.....	18
I.2.7.1. Les facteurs climatiques.....	18
I.2.7.2. Les facteurs agronomiques.....	19
I.2.7.3. Les facteurs physiologiques.....	19
I.2.8. Notion de résistance contre la fusariose.....	19
I.2.9.Méthodes de lutte.....	20
I.2.9.1. Les pratiques culturales.....	20
I.2.9.2. La lutte génétique.....	20
I.2.11.3.La lutte chimique.....	21
I.2.9.4. La lutte intégrée	21
I.3. Mycotoxines.....	22
I.3.1. Généralités.....	22
I.3.2.Le rôle des mycotoxines.....	23
I.3.3. Les Fusariotoxine	23
I.3.3.1. Les trichothécènes.....	24
I.3.3.2. Les zéaralénone.....	24
I.3.3.3. Rôle des TCTB	24
dans le développement de la fusariose.....	25
I.3.4. Identification de chémotypes.....	25
I.3.5. Principales méthodes de détection des mycotoxines	25
I.3.6.La sélection variétale : une stratégie prometteuse pour limiter les TCTB dans les grains de blé	26
I.3.7. La réglementation	26
II. Matériel et méthodes	28
II.1. Matériels	28
II.1.1. Matériel végétal	28
II.1.2. Matériel fongique.....	28

II.2. Méthodes	29
II.2.2. Méthodes d'isolement.....	29
II.2.2.1. Méthodes d'isolement à partir de la semence.....	29
II.2.2.1.1. Echantillonnage et prise d'essai.....	29
II.2.2.1.2. Désinfection des semences.....	29
II.2.2.1.3. Isolement selon la méthode de Geves.....	30
 Méthode DichloranChloramphenicol Peptone Agar (DCPA).....	30
II.2.2.1.4. Isolement à partir de plants malades.....	32
II.2.2. Calcul de la fréquence et l'abondance des espèces fongiques.....	33
II.2.3. Méthode de purification	33
II.2.3.1. Repiquage successif	33
II.2.3.2. Purification des isolats par la culture monospore (single spore) par scarification.....	33
II.2.3.3. Méthode de conservation.....	33
II.2.4. Méthode d'identification et caractérisation.....	34
II.Caractérisation macroscopique microscopique de 'isolat sur milieu PDA.....	34
II.2.5.Etude de la pathogénie des isolats et de la sensibilité des lignées	36
II.2.5.1. Inoculation par suspension sporale.....	36
II.2.5.2. Inoculation par fragments mycéliens.....	37
II.2.5.3. Notation des symptômes.....	38
II.2.6. Etude du potentiel toxigenese des isolats de <i>Fusarium</i>	39
II.2.6.1. Culture des fragments mycéliens sur le milieu CMC	39
II.2.6.2. Culture des spores dans le milieu MS.....	40
II.2.6.3.Extraction des mycotoxines sur un milieu liquide.....	40
II.2.6.3. Préparation de CCM.....	41
II.2.6.4.Révélation de chromatogramme.....	42
Résultats et Discussion.....	43

III. Résultat des isolements.....	43
III.1. Evaluation des techniques.....	43
III.2. Résultat de la purification.....	44
III.2. 1. Repiquage successif.....	44
III.2.2. Culture monospore.....	45
III.2.3. Le taux d'infection des graines	45
III.4. Résultat de la conservation.....	47
III.5. Identification des isolats.....	48
Discussion	51
III.6. Etude de la pathogénie des isolats et de la sensibilité des lignées	52
III.6.1. Comparaison des techniques d'inoculation.....	52
III.6.2. Agressivité de BD11 et R₂14.....	53
III.6.3. Sensibilité des lignées de blé testées à la fusariose	54
6.3.1. Sensibilité des lignées vis-à-vis le <i>F.culmorum</i>.....	54
6.3.2. Sensibilité des lignées vis-à-vis de <i>F.graminearum</i>.....	58
Discussion	63
III.Extraction des mycotoxines et la migration sur la plaque CCM.....	65
Discussion	66
Conclusion.....	69
Références bibliographique.....	71

LISTE DES ABREVIATIONS :

%: pourcentage

°C: degré Celsius

CCM : chromatographie sur couche mince

CMC :Carboxyméthylcellulose

DCPA:Dichloranchloramphenicol Peptone Agar

DON : le déoxynivalénol (ZEA)

FAO: Food and Agriculture Organization

g: Gramme

h : heure

ha : hectare

LNPV : Laboratoire National de Protection des Végétaux (France)

ml : Millilitre

mm : Millimétré

MS : Mycotoxin Synthetic medium

NIV: Nivalenol

PDA: Potato Dextrose Agar (PDA).

Qx : quintaux

rpm : rend par minute

SAU : surface agricole utile

sp : espèce non identifiée

TCTB :trichothécènes B

ZEA : zéaralénone

Liste de tableau

N°	TITRE	PAGE
01	Les superficies, la production et le rendement du blé dur et du blé tendre en Algérie dans les années 2009 et 2010	7
02	Les principales maladies fongiques du blé en Algérie	9
03	Les principales maladies, adventices et ravageuses du blé en Algérie	10
04	Les mycotoxines associées aux différentes espèces de <i>Fusarium</i>	26
05	Matériel végétale utilisé.	28
06	Les différents isolats fusariens utilisés	29
07	Taux de contamination des 100 graines analysées. (%)	45
08	Indice moyen de sévérité de <i>F.culmorum</i> et <i>F.graminearum</i> sur les cinq lignées testées.	52
09	Analyse de variance. Cas d'infection par mycélium de BD11.	54
1	Répartition de groupes homogènes en cas d'inoculation par le mycélium de BD11.	54
11	Analyse de la variance. Cas d'inoculation par suspension sporale de BD11.	57
12	Répartition de groupes homogènes en cas d'inoculation par suspension sporale de BD11.	57
13	Analyse de variance. Cas d'inoculation par mycélium de R ₂ 14.	60

Liste des figures

N°	TITRE	PAGE
01	Morphologie du plant, de l'épi, de l'épillet et de la fleur du blé.	4
02	Les phases de cycle végétal du blé.	5
03	Répartition de la superficie emblavée en 2008 en Algérie.	7
04	Symptômes de la fusariose sur les différentes parties de blé	12
05	Morphologie d'espèces de <i>Fusarium</i> sur PDA	14
06	Morphologie de conidies de <i>Fusarium</i> spp	15
07	Cycle de vie de <i>F. graminearum</i> , principal agent responsable de la fusariose des épis de blé	17
08	Micrographie de l'infection d'une cellule de l'épiderme du lemme par un hyphes de <i>Fusarium culmorum</i>	18
09	Structure générale des trichothécènes	23
10	Effet inhibiteur de 20ppm de DON	24
11	Les étapes de la désinfection	30
12	Ensemencement des grains de blé sur DCPA	31
13	Plantes de blé portant des symptômes de pourriture de collet utilisées pour l'isolement	32
14	Récapitulatif du protocole d'analyse de grains de céréales pour la détection de <i>Fusarium</i> spp. et <i>Microdochium nivale</i>	34
15	Préparation de l'inoculum en suspension sporale	36
16	Inoculation des plantules de blé par suspension sporale	37
17	Inoculation des plantules de blé par mycélium	37
18	Indice de sévérité de <i>Fusarium</i> sur des plantules des lignées de blé dur montrant les quatre niveaux d'attaque	38
19	Séparation de deux phases, la phase organique et le milieu MS	40
20	Extraction des mycotoxines par la routa-vapeur	41
21	Préparation de CCM.	42
22	Résultat de la méthode d'isolement des champignons à partir de racine de blé sur milieu PDA	44
23	Résultat de la méthode d'isolement des champignons à partir des graines de blé sur milieu DCPA	44
24	Taux de contamination des graines de chaque lignée sur DCPA	46
25	Aspect macroscopique et microscopique de <i>Fusarium graminearum</i>	48

26	Aspect macroscopique et microscopique de <i>Fusarium poae</i>	49
27	Aspect macroscopique et microscopique de <i>Fusarium pseudograminearum</i>	50
28	Indices moyen de sévérité de <i>F.culmorum</i> et <i>F.graminearum</i> sur les cinq lignées testées	53
29	Indices de sévérité moyens obtenus sur des plantules de lignée inoculées par le mycélium de BD11.	55
30	Degré de symptômes au collet des plantes inoculées par le mycélium d'isolat BD11	56
31	Indices de sévérité moyens obtenus sur des plantules de lignée inoculées par la suspension sporale de BD11.	58
32	Degré de symptômes au collet des plantes inoculés par la suspension sporale d'isolat BD1	59
33	Degré de symptômes au collet chez les plantes inoculées par le mycélium d'isolat R ₂ 14	61
34	Degré de symptômes au collet inoculés par la suspension sporale d'isolat R ₂ 14	62
35	Révélation de la plaque CCM sous les rayons UV.	65

Les céréales sont les plantes les plus cultivées au monde par la superficie et par le volume récolté, c'est le blé qui est le plus important (Pastre et Roa, 1993). Il tient de loin, la première place quant à l'occupation des terres agricoles, parce qu'elles servent de base à l'alimentation des habitants. Le blé, en particulier, constitue une céréale importante, d'un point de vue économique et en tant que denrées alimentaires pour l'homme.

Cette culture a été la principale spéculation de l'Algérien par sa transformation en semoulerie, en boulangerie et en industrie alimentaire, elles constituent la base de notre alimentation. Désormais, la production céréalière à l'échelle des besoins nationaux devient un impératif pour notre indépendance économique.

La vocation céréalière de l'Algérie ne date pas d'hier, elle remonte bien loin dans l'histoire. L'Algérie était le grenier de la "Rome antique" pour le blé (ZABAT, 1980).

En agriculture, les maladies fongiques sont l'une des contraintes les plus importantes pour la production de blé. Parmi ces maladies, on retrouve un cas particulier, la fusariose, qui affecte les rendements mais aussi la qualité sanitaire de la récolte par la présence de toxines dans les grains. Cette maladie endémique, est provoquée par un complexe d'espèces de champignons phytopathogènes, le « complexe fusarien », à large spectre d'hôtes (Miedaner, 1996). Il regroupe les genres *Microdochium* et *Fusarium*.

La variabilité de cette maladie, au niveau de son incidence et de la production de mycotoxines, pose de nombreux problèmes en agriculture et agroalimentaire. D'une manière générale, les relations entre les niveaux de maladie observés au champ, les concentrations en mycotoxines à la récolte et la présence de champignon dans les grains sont complexes et très mal comprises.

Ainsi, la présence d'épis fusariés ne serait pas toujours liée à une présence abondante de toxines et, réciproquement, l'absence de symptômes visibles ne signifie pas une absence de toxines dans les grains. Ceci rend difficile l'évaluation du risque lié à la présence de toxines par simple observation de la maladie. Pour expliquer ces constatations, différentes hypothèses peuvent être avancées. Par exemple, la diversité d'espèces ayant des caractéristiques épidémiologiques différentes pourrait être la source de différences de niveau d'infection avec par exemple des espèces plus agressives ou produisant d'avantage de toxines que d'autres (Brennan et al., 2003). D'autre part, les infections multiples associant différentes espèces du complexe fusarien sont fréquentes dans les champs et conduisent à des interactions dont les conséquences sur la production de toxines *in planta* sont peu connues (Xu et al., 2005 ; Simpson et al., 2004 ; Miedaner et al., 2004 ; Reid et al., 1999).

Dans un contexte général d'optimisation de la gestion des cultures et donc de la protection des plantes, il apparaît primordial de développer des connaissances sur l'épidémiologie de la fusariose de l'épi encore peu connue et d'identifier les déterminants épidémiologiques de l'accumulation de toxines pour développer des méthodes de lutte efficaces. Comprendre la relation entre la contamination de l'épi et la production de toxines, dans le cadre d'un complexe d'espèces interagissant entre elles, apparaît également essentiel à la compréhension du développement épidémiologique de la maladie et de son impact sur la qualité des récoltes.

Ce travail a pour objectif de réaliser une étude comparative de l'agressivité entre isolats de *Fusarium*, une comparaison dans la réaction de cinq lignées de blé dur obtenues de l'ITGC de Sétif contre ces espèces fusariennes.

Enfin, nous avons étudié le potentiel toxigène des isolats de *Fusarium* par une extraction, une identification et une quantification des toxines.

Pour cela les principaux objectifs visés dans ce travail de thèse sont :

Objectif 1 :

- Isolements de flore fusarienne à partir des graines de blé et plants de blé fusariés.
- Purification de la gamme d'isolats obtenus par la technique monospore.
- La caractérisation morphologique de notre gamme d'isolats et l'identification de différentes espèces de *Fusarium* en se basant sur la clé d'identification de Leslie et al (2006)

Objectif 2 :

- Etude de la pathogénie et l'agressivité de deux isolats de *Fusarium*.
- Etude de la Sensibilité variétale de cinq lignées de blé dur vis-à-vis de la fusariose.

Objectif 3 :

- Etude du potentiel toxigène des isolats de *Fusarium* par une méthode physicochimique CCM.

I.1. le blé

Le blé est une espèce annuelle qui fait partie de la classe botanique des Monocotylédones et de la famille des Graminées. C'est une espèce autogame de jours longs. C'est la première céréale cultivée et largement consommée en Algérie et dans le monde. (Hamadache, 2001).

I.1.1. Position systématique et taxonomique de blé

Comme les autres céréales, le blé est une monocotylédone appartenant à l'ordre des *Poales* et à la famille des *Poaceae* ou *Graminées* (Clement-Grandcourt et Prat, 1970, Bonjean et Picard, 1990).

Le blé est caractérisé par des critères morphologiques particuliers (chaume – épillet – présence de scutellum, etc). (Bonjean et Picard, 1990).

En Algérie, deux espèces sont essentiellement cultivées :

- Le blé dur *Triticum turgidum* var. *durum* possédant $2n=28$ chromosomes, dont l'aire d'extension est surtout constituée de zones arides et semi-arides.
- Le blé tendre *Triticum aestivum* var. *aestivum* possédant $2n = 42$ chromosomes dont

l'adaptation agrotechnique est très large (Bonjean et Picard, 1990)

Règne : végétale

Embranchement : Stomatifères

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Monocotylédones,

Ordre : Glumales

Famille : Graminées :(graminacées),(Poacées)

Genre : *Triticum*

I.1.2. La morphologie

Le blé se présente comme une plante herbacée à feuilles assez larges (Bonjean et Picard 1990).

La tige ou chaume ne commence à prendre son caractère de tige qu'au début de la montaison Celle-ci, d'abord pleine, devient creuse sauf au niveau des nœuds qui restent pleins (Clement-Grandcourt et Prat, 1970).

Les feuilles sont alternées, ligulées et engainantes (Bonjean et Picard 1990).Elles ont des nervures parallèles et sont terminées en pointe (Clement-Grandcourt et Prat, 1970)

L'inflorescence est toujours en épillets associés en inflorescence complexe, épis ou grappes

d'épillets, se recouvrant étroitement les uns aux autres. La fécondation est autogame Le fruit est un caryopse ou grain (Clement-Grandcourt et Prat, 1970; Bonjean et Picard 1990). Les racines sont de type fasciculé peu développées ; 55 % du poids total des racines se trouve entre 0 et 25 cm de profondeur (Clement-Grandcourt et Prat, 1970).

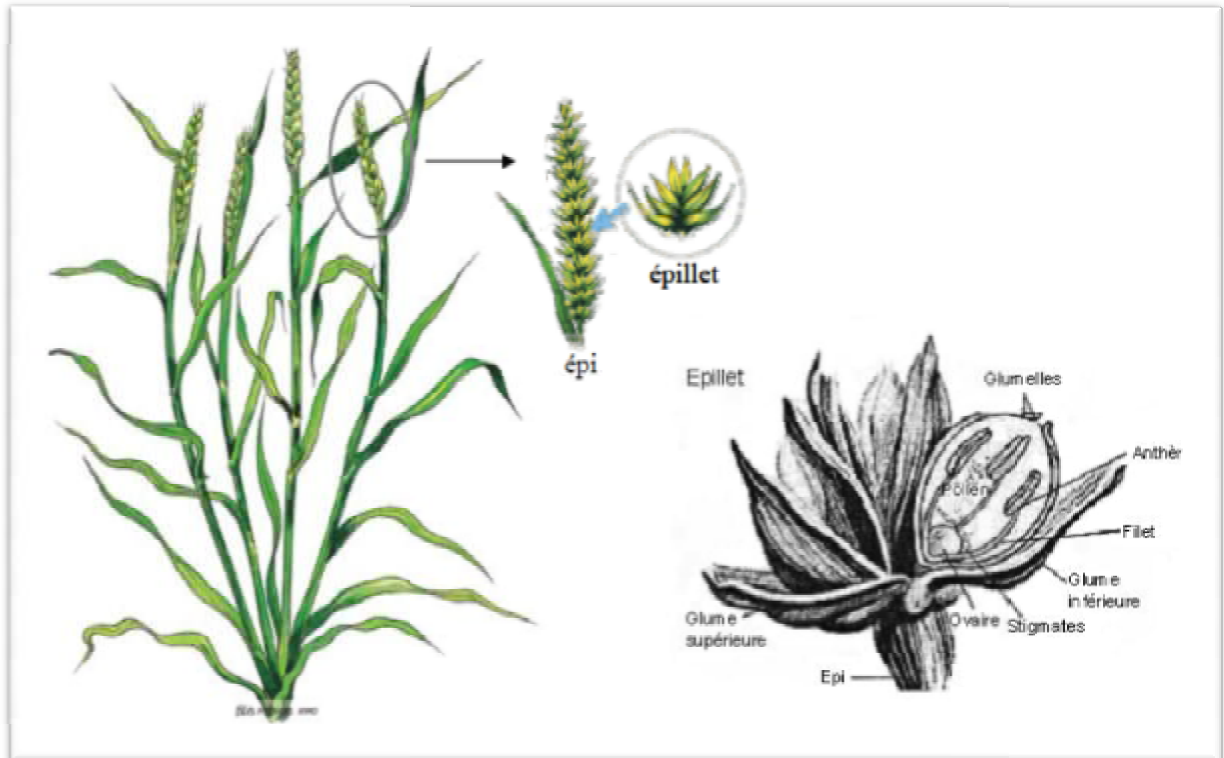


Figure 1 : Morphologie du plant, de l'épi, de l'épillet et de la fleur du blé. (Boutigny, 2007)

I.1.3. Cycle végétatif

On distingue trois périodes importantes dans le cycle végétatif du blé : une période végétative, une période de reproduction et une période de maturation.

La période végétative qui s'étend du semis au début de la montaison, elle est subdivisée en trois phases, la phase germination-levée, la phase levée-tallage et la phase tallage montaison. La période de reproduction s'étend de la montaison à la fécondation, cette période subdivisée en deux phases, montaison et épiaison. La dernière période c'est elle de la maturation qui correspond à l'accumulation de l'amidon dans les grains et à la migration très active des réserves (glucides et protéines) vers le grain (Clement-Grandcourt et Prat, 1970).

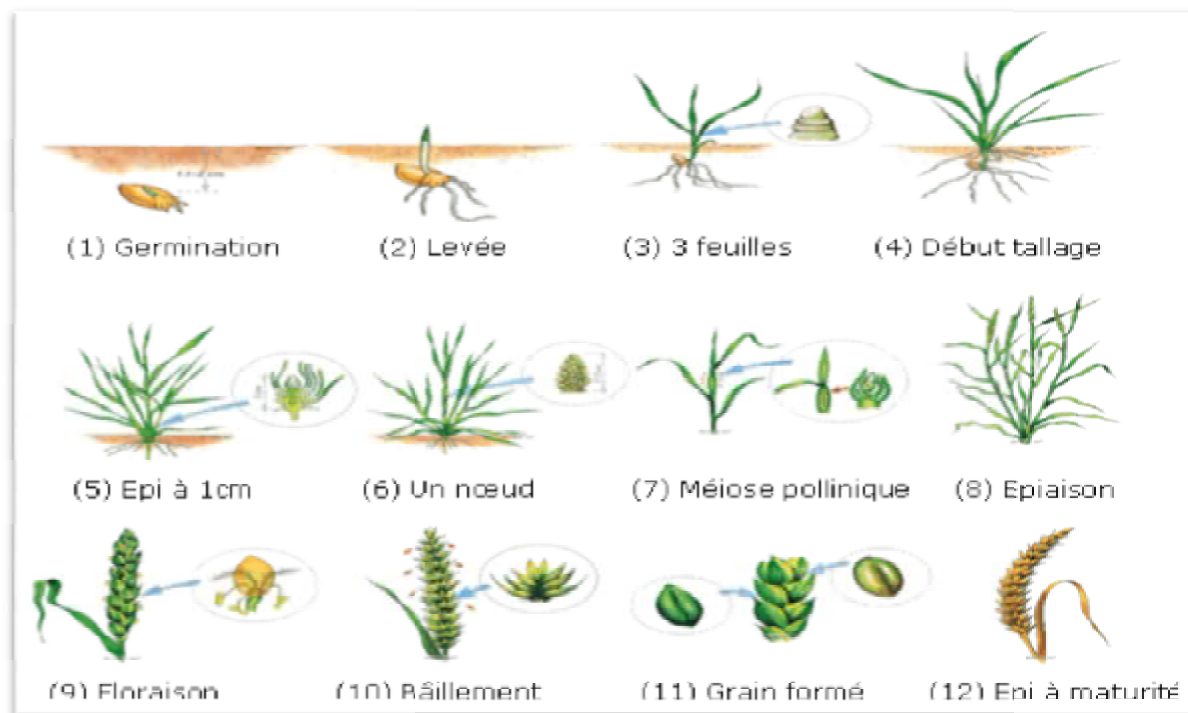


Figure 2 : Les phases de cycle végétal du blé.

I.1.4. Historique de la culture de blé

La saga du blé accompagne celle de l'homme et de l'agriculture; sa culture précède l'histoire et caractérise l'agriculture néolithique, née en Europe il y a 8000 ans. La plus ancienne culture semble être le blé dur dans le croissant fertile de la Mésopotamie (Feillet, 1977).

La route la plus ancienne de diffusion des céréales vers les pays du Maghreb fut à partir de la péninsule Italienne et de la Sicile.

En Algérie, On admet généralement que la culture de blé dur a commencé et s'est développée au lendemain de la conquête Arabe. La plupart des auteurs s'accordent pour considérer que la céréaliculture algérienne est depuis cette date et jusqu'à la colonisation, très largement dominée par le blé dur Laumont et Erroux (1961) In Hazmoune (2001).

Le blé tendre était inconnu en Afrique du Nord avant l'arrivée des français. Le fellah qui ne cultivait que le « guehmah » (blé dur) se mit à la « farnia », (SE, 1949).

I.1.5. Importance de blé

I.1.5.1. Importance de blé dans le monde

Depuis plus de 10.000 ans, l'histoire de la civilisation humaine et celle de la culture du blé ont évolué conjointement le blé constitue la première ressource en alimentation humaine et la principale source d'hydrates de carbone des pays de la zone tempérée. L'importance des surfaces consacrées au blé sur la planète dépasse celle de toutes les autres cultures (Bonjean et Picard ,1990).

Parmi les pays producteurs de blé dans le monde, la Chine, les Etats Unis, la France, l'Inde, la Turquie, le Canada et l'Ukraine (Clement-Grandcourt et Prat, 1970. 1970; Pastre et Roa , 1993).

Le blé est, avec 220 millions d'hectares, la céréale la plus cultivée dans le monde. Le blé joue un rôle essentiel dans alimentation directe et également indirecte d'une très large fraction de humanité avec une production annuelle dépassant 716,1 million de tonne.(FAO,2014)

I.1.5.2. Importance de blé en Algérie

La superficie totale de l'Algérie est de 238 millions d'hectares dont 191 millions sont occupés par le Sahara. La superficie agricole représente 3% de ce total.

La surface agricole utile est de 7,14 millions d'hectares, dont près de la moitié est laissée en jachère chaque campagne. Les cultures herbacées couvrent 3,8 millions d'hectares. La céréaliculture constitue la principale activité, notamment dans les zones arides et semi-arides. Les terres annuellement emblavées représentent 3,6 millions d'hectares, soit 50% des terres labourées (MADR, 2007).

Tableau 1 : Les superficies, la production et le rendement du blé dur et du blé tendre en Algérie dans les années 2009 et 2010

	Culture	Superficie (ha)	Production (qx)	Rendement (qx/ha)
2009	Blé dur	1 262 842	20 010 378	15,8
2009	Blé tendre	585 733	9 520 791	16,3
2010	Blé dur	1 181 774	18 089 739	15,3
2010	Blé tendre	573 954	7 962 041	13,9
Taux d'accroissement 2009/2010	Blé dur	-6	-10	-3
	Blé tendre	-2	-16	-15

(source :MADR, 2010)

Au cours de la campagne agricole 1997/1998, les céréales ont occupé un peu plus des 4/5 soit une superficie de l'ordre de 3,7 millions d'hectares emblavée, produisant ainsi un peu plus de 33 millions de quintaux L'analyse par espèce montre la prédominance du blé dur de près de 46 %, suivi de l'orge (28%) et de blé tendre (23%). (INRAA,2008).

Dans la même campagne agricole, Le blé occupait 57 % des terres cultivées avec une superficie totale de 2,5 millions d'hectares. Cette culture est concentrée essentiellement dans la région des Hauts Plateaux dont on peut citer Oum Et. Bouaghi, Tiaret, Sétif. Souk Ahras, Tébessa, Sidi Bel Abbès et Saida (INRAA, 2006).

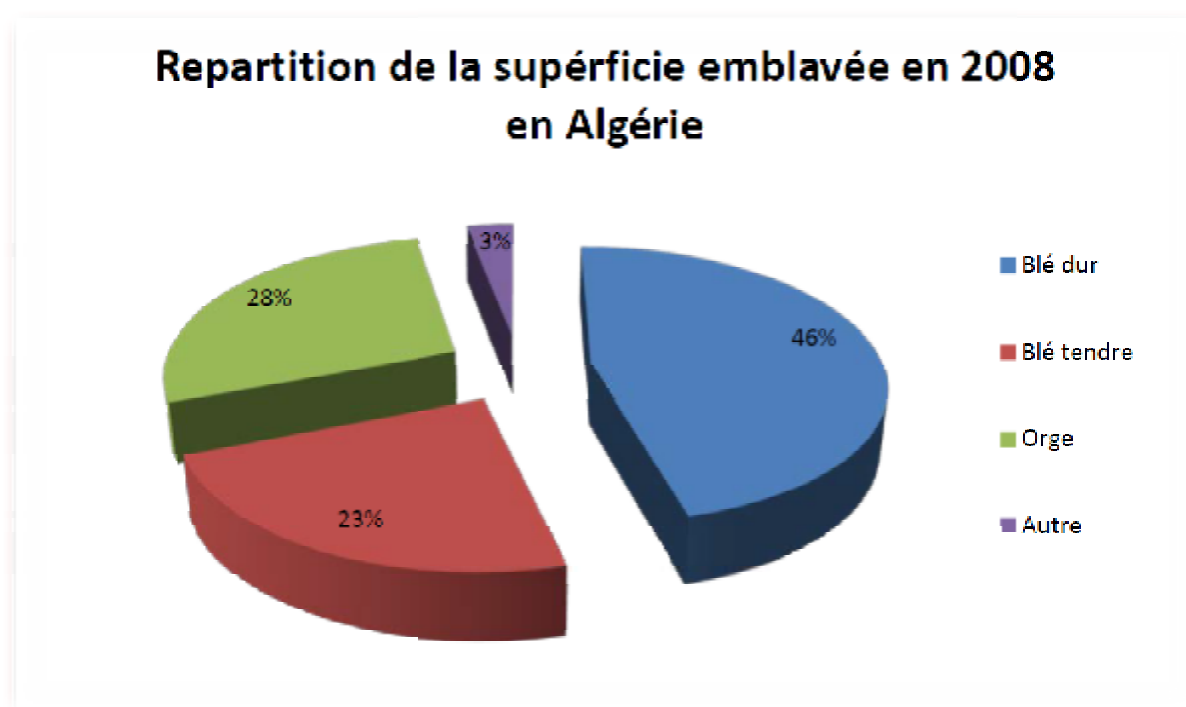


Figure 3 : Répartition de la superficie emblavée en 2008 en Algérie. (KALLOU, 2008)

I.1.6. Les principales contraintes de la culture de blé en Algérie

I.1.6.1. Les contraintes abiotiques

La production céréalière en Algérie est fortement dépendante des conditions climatiques. Cela se traduit d'une année à l'autre par des variations importantes de la SAU, de la production et du rendement. Ainsi, le manque de précipitations, mais aussi la mauvaise répartition des pluies pendant l'année expliquent en grande partie la forte variation de la production céréalière. (Djarmoun , 2009), les gelées tardive et siroccos précoces et les autre facteurs abiotiques contribuant à la baisse des rendements comme la perturbations dans la réalisation de l'itinéraire technique, le bas niveau de technicité de l'exploitant agricole, semis mal effectué et les façons culturales non appropriées (Feliachi, 2002)

I.1.6.2. Les contraintes biotiques

Le blé et tout les céréales peuvent être attaqués par de nombreuses maladies et ravageurs à différents stade de développement. Ces attaques peuvent occasionner des pertes importantes lorsque les variétés sont sensibles et les conditions environnementales sont favorables.

Selon Feliachi (2002) une estimation sur les pertes causées par les ennemies du blé que soit lors de la récolte ou lors de stockage est voisine de 30%. Ces pertes sont causées par plusieurs agents nuisibles tels que les champignons, les bactéries, les virus, les nématodes, les insectes et les adventices.

Les différentes maladies fongiques de blé sont présentées dans le tableau (3) ainsi que les autres ennemies de cette culture sont présentées dans le tableau (4)

Tableau 3 : Les principales maladies fongique du blé en Algérie.

Maladie et organes atteints	Nom de la maladie	Agents causaux	Transmise par semence	source	
Fontes De semis	Fonte de semis (damping-off)	<i>Septoria nodorum</i>	Oui	(Aouali et Douici-Khalfi,2009) (Zillinsky,1983) (Weise,1987) (Simon et al., 1989)	
		<i>Fusarium spp.</i>	Oui		
		<i>Michrodochium nivale</i>	Oui		
Le pied de blé	Piétin verse (eyespot)	<i>Pseudoscercospella herpotrichoides</i>		(Zillinsky,1983) (Simon et al., 1989)	
	Piétin échaudage (take-all)	<i>Gaeumannomyces graminis</i>		(Aouali et Douici-Khalfi,2009)	
	Fusariose du pied (common foot rot)	<i>Fusarium spp.</i> <i>Cochliobulus sativus</i> <i>Michrodochium nivale</i>	Oui Oui Oui	(Weise,1987)	
Les feuilles et épi	Rouille brune (leaf rust)	<i>Puccinia recondita</i>	Non	(Kolmer et al.,2009) (Aouali et Douici-Khalfi,2009)	
	Rouille noir (stem rust)	<i>Puccinia graminis</i>	Non		
	Rouille jaune (stripe rust)	<i>Puccinia striiformis</i>	Non		
	Septoriose ,tache des glumes (glume blotch)	Tache septorienne du blé (Septoria leaf blotch)	<i>Stagnospora nodorum</i>	Oui	(Aouali et Douici-Khalfi,2009) (Weise,1987)
				Non	
	Tache helminthosporienne (tan spot)	<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	Faible	(Aouali et Douici-Khalfi,2009) (Weise,1987)	
	Charbon foliare (flug smut)	<i>Urocystis agropyri</i>	Oui		
	Oïdium (powdrey mildew)	<i>Blumeria graminis</i>	Néant		
L'épi	Carie commune (common bunt)	<i>Tilletia caries</i>	Oui	(Weise,1987) (Simon et al., 1989) (Aouali et Douici-Khalfi,2009) (Marshall,2009)	
		<i>Tilletia laevis</i>	Oui		
	Charbon nu (loose smut)	<i>Ustilago tritici</i>	Oui		
	Gale de l'épi (head blight, head scab)	<i>Fusarium spp.</i> <i>Michrodochium nivale</i>	Oui Oui		

Tableau 4 : Agentes causals des principales maladies, adventices et ravageuses du blé en Algérie.

Bio agresseurs	Nom scientifique	source
Les bactéries	<i>Clavibacter tritici</i> <i>Erwinia rhapontici</i> <i>Xanthomonas translucense</i> <i>Pseudomonas viridiflava</i> <i>Pseudomonas fuscovaginae</i> <i>pseudomonas syringae pv. artofaciens</i>	(Boukhris,1992) (Djebari,2005)
Les virus	BYDV (Barley Yellow Dwarf virus) WSIMV (Wheat Streak Mosaic Virus) WSSMV (Wheat Spindle Streak Moasic Virus) BSMV (Barley Stripe Mosaic Virus)	(Sayoud,1987),(Boubetra et Mohamedi,1998) (Benmokhtar et Kafi,1999)
Les nematodes	<i>Heterodera avenae</i>	(Harrouche,1998)
Les adventices	<i>Avena sterlis</i> (folle avoine) <i>Phalaris paradoxa</i> (l'alpiste) <i>Sinapis arvensis</i> (Moutarde des champs) <i>Medicago hispida</i> (luzerne)	(Hammadache,1995, Tanji,2002)
Les ravageurs	Les insectes (la punaise des céréales) Les oiseux (les moineaux, la tortuelle) les rangeurs (les rats des champs et les souris)	 (Taghli, 1986)

I.2. La fusariose

La fusariose de l'épi a été décrite pour la première fois par W. G. Smith en 1884 et nommée « gale du blé » (« wheat scab »), terme modifié en 1920 par Atanasoff en « maladie de *Fusarium* », « *Fusarium* blight », puis « fusariose » par Douin en 1926 (Leonard et Bushnell, 2003). C'est une maladie destructive du blé (*Triticum aestivum*) qui peut dévaster une culture quelques semaines avant la récolte.

Elle peut être associée à la fois à de fortes pertes de rendement (avortement et faible poids des grains), une réduction de leur qualité germinative ou encore une diminution de leur qualité par la présence de toxines dans les grains.

Outre le blé, elle est également retrouvée sur de nombreuses autres plantes comme l'avoine (*Avena sativa* L.), l'orge (*Hordeum vulgare* L.), le riz (*Zizania palustris* L.), le maïs (*Zea mays* L.), le sorgho (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) ou encore l'accacia (Mill.), l'Eucalyptus, et l'oeillet (*Dianthus caryophyllus* L.) ce qui en fait une maladie à très fort impact agroéconomique au niveau mondial puisque des champignons du genre *Fusarium* ont été retrouvés dans les sols de chaque continent excepté en Antarctique (Miedaner, 1997).

I.2.1. Symptômes

Lorsque les conditions climatiques sont favorables, la fusariose peut attaquer à tous les stades de développement et tous les organes de la plante, depuis les racines jusqu'aux épis. Le terme "fusariose" des céréales regroupe trois types de symptômes (Parry *et al.*, 1995) :

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

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

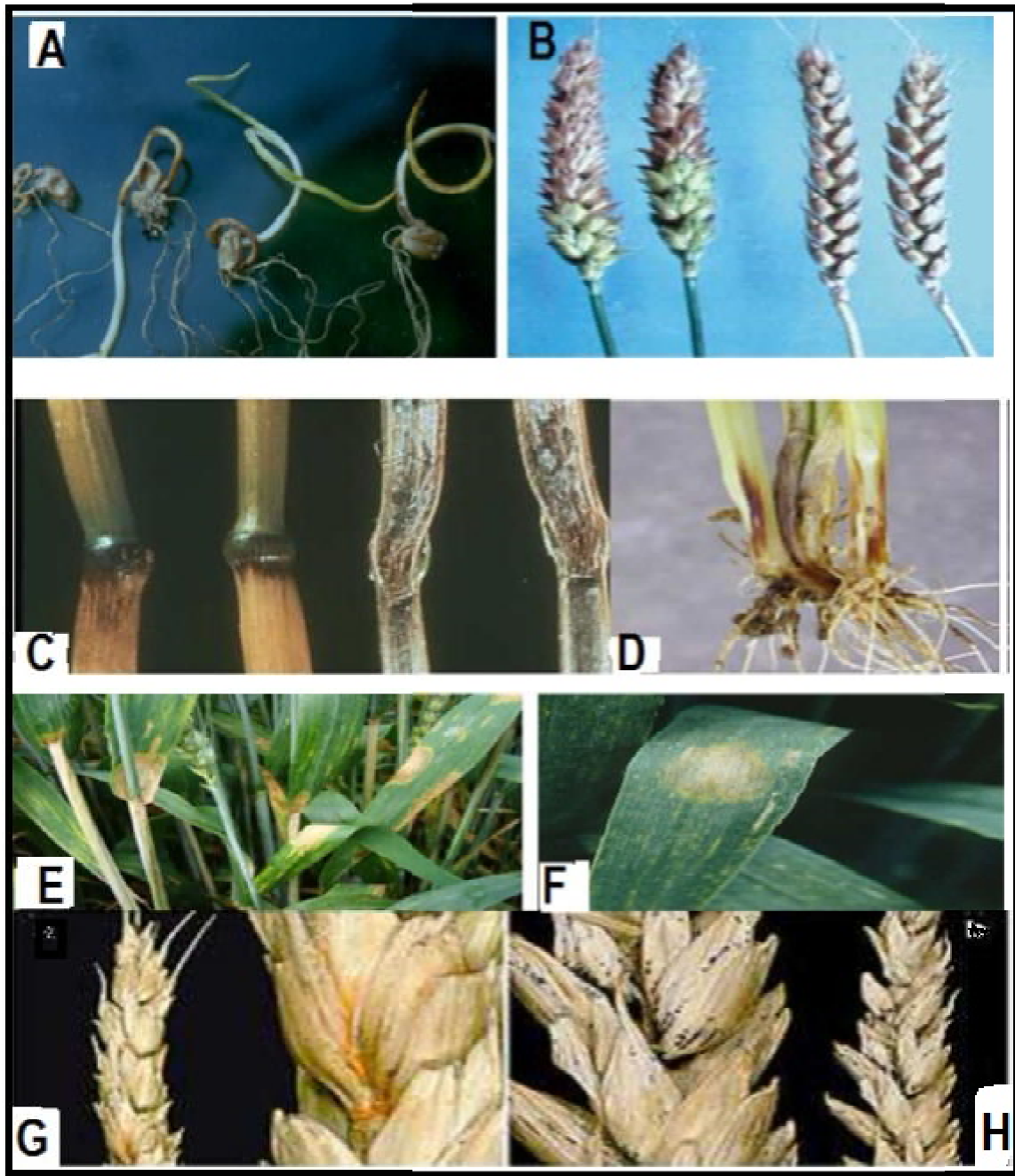


Figure 4 : Symptômes de la fusariose sur les différentes parties de blé. A ; fonte de semis. B ; sur l'épi. C et D ; sur tige. E et F ; sur feuilles (*M.nivale*). G et H ; sur épillets. (maladie de grande culture, 2009)

I.2.2. Le complexe fusarien

La fusariose est associée à un complexe d'espèces regroupant deux genres de champignons phytopathogènes, *Fusarium* et *Microdochium* (Arseniuk *et al.*, 1999). Ces 2 genres regroupent environ 19 espèces capables d'induire la fusariose de l'épi de blé et d'orge (Liddell, 2003). Les espèces les plus fréquentes en Europe sont *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *M. nivale* et *M. majus* (Xu et Nicholson, 2009 ; Xu *et al.*, 2005), avec une fréquence plus faible de *F. culmorum* et plus forte de *F. poae* depuis 2000 en France (Ioos *et al.*, 2004).

Ce complexe n'est responsable seulement de la fusariose de l'épi mais aussi sur une maladie appelée la pourriture racinaire, et selon Agrios *et al.*, (2005), la fusariose de l'épi est soit accompagnée ou précédée par des attaques sur le collet et les racines.

La pourriture racinaire, la pourriture du pied et la pourriture commune, sont des noms qui se rapportent à une même maladie d'origine fongique et qui peut affecter le blé. Initialement, le terme de pourriture racinaire était utilisé pour les maladies des céréales qui se caractérisent par des nécroses sur les talles inférieures, le collet, entre nœuds, et les racines causées par un complexe de communautés fongique (Schilling *et al.*, 1996). La dominance de chaque espèce fongique responsable est influencée par les conditions climatiques (Gargouri, 2001)

I.2.3. Le genre *Fusarium*

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. Ce classement a été amendé par Burgess *et al.* (1994), puis par d'autres chercheurs grâce à l'utilisation des techniques de biologie moléculaire (Leslie et Summerell, 2006). De nombreuses espèces fusariennes ont été identifiées dans la nature dont les principales capables d'induire la fusariose de l'épi de blé: *F. tricinctum*, *F. poae*, *F. langsethiae*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. arthrosporioides*, *F. avenaceum*, *F. sporotrichioides*, *F. equiseti* et *F. crookwellense* (Xu et Nicholson, 2009).

Les champignons du genre *Fusarium* sont capables de produire des métabolites secondaires toxiques, les mycotoxines, dont la présence augmente l'incidence de la maladie sur les productions agricoles.

Il est possible de distinguer deux types de spores de *Fusarium* qui tous deux conduisent à la contamination des grains de céréales (Sutton, 1982). En effet, *Fusarium spp.* peuvent posséder deux modes de reproduction : un mode asexué (anamorphe), avec production de conidies et/ou de chlamydospores, et un mode sexué (téléomorphe) avec production d'ascospores.

I.2.3.1. Caractères culturels généraux

Les *Fusarium* poussent sur milieu Sabouraud, mais se développent mieux sur gélose au malt ou sur milieu PDA (potato-dextrose-agar). Leur température optimale de croissance est comprise entre 22 et 37°C.

Sur les milieux de culture, les *Fusarium* forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur variable (blanche, crème, jaune, rose, rouge, violette ou lilas) selon les espèces. Le revers peut être crème, rouge à pourpre, lilas ou violet. Les pigments diffusent souvent dans la gélose (Chermette et Bussieras, 1993)

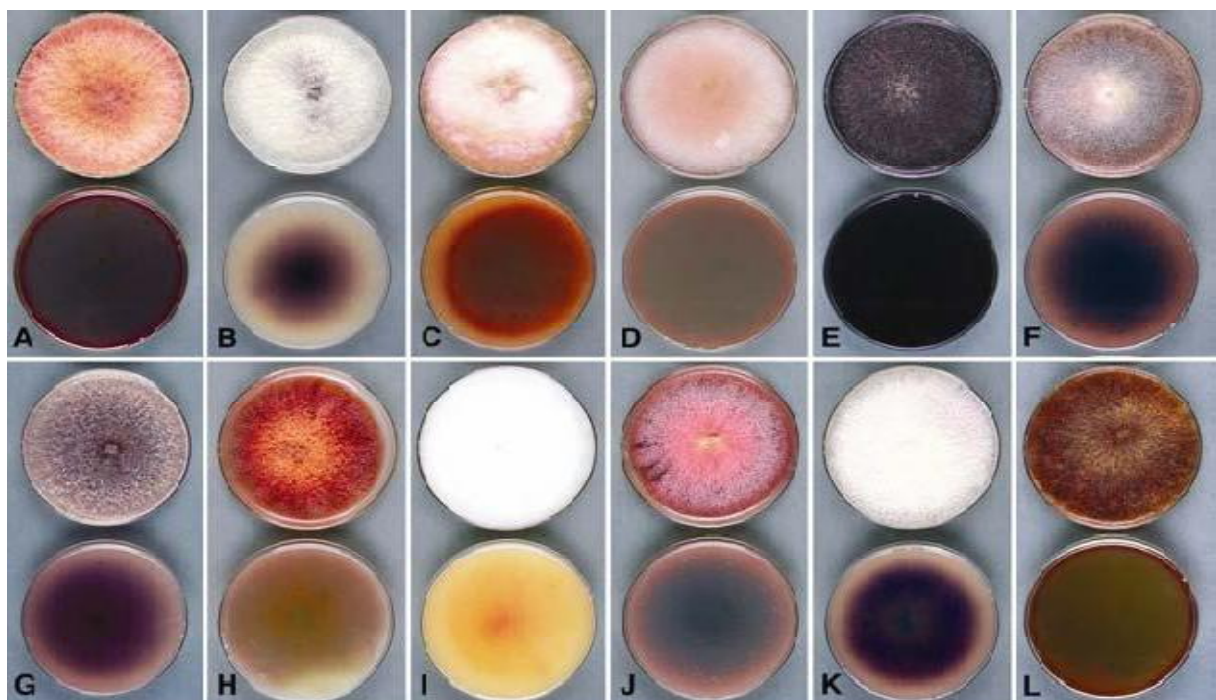


Figure 5 :Morphologie d'espèces de *Fusarium* sur PDA (Sumerell et *al.*, 2003)

(La boîte du haut de chaque paire correspond au mycélium aérien, celle du bas à la vue de dessous) A, *F. poae*. B, *F. oxysporum*. C, *F. acuminatum*. D, *F. nelsonii*. E, *F. subglutinans*. F, *F. nygamai*. G, *F. pseudonygamai*. H, *F. lateritium*. I, *F. thapsinum*. J, *F. decemcellulare*. K, *F. verticillioides*. L, *F. culmorum*.

I.2.3.2. Morphologie microscopique

Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées.

- Les conidiophores, parfois très ramifiés, forment sur le thalle des coussinets (sporodochies) et portent des masses de spores.

- Les phialides, plus ou moins allongées, présentent, le plus souvent, un site de bourgeonnement unique (monophialide) situé à l'extrémité d'un col allongé (*F. solani*) ou court et trapu (*F. oxysporum*). Chez d'autres espèces comme *F. proliferatum*, les phialides présentent plusieurs sites de bourgeonnement (polyphialides).

- Les phialides produisent deux types de conidies :

Les microconidies – uni- ou bicellulaires, piriformes, fusiformes, cylindriques ou ovoïdes, isolées, solitaires ou groupées, disposées en verticille ou plus rarement en chaînettes (*F. verticilloides*) ;

Les macroconidies – conidies pluricellulaires à cloisons seulement transversales, souvent groupées en paquets. Les macroconidies sont fusiformes, souvent courbées, avec une cellule basale pédicellée, formant un sort de talon plus ou moins visible.

Les chlamydo-spores, sont parfois présentes, en position terminale ou intercalaire (Roquebert, 1998).

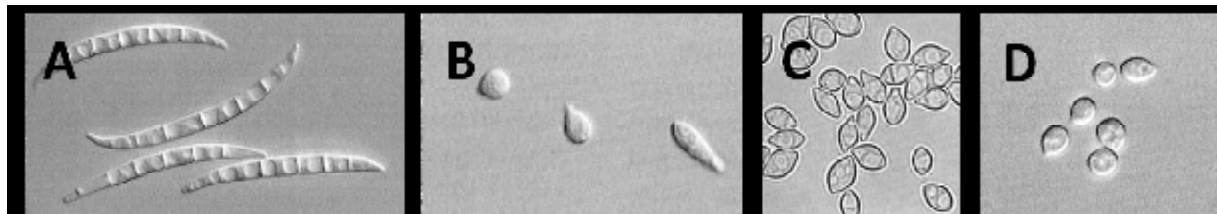


Figure 6 : Morphologie de conidies de *Fusarium* spp. (Leslie *et al.*, 2006)

(Macroconidies de *F. graminearum* (A) et microconidies de *F. sporotrichioides* (B), *F. tricinctum* (C) , *F. poae*

I.2.4 Le genre *Microdochium*

Il appartient à la famille des Tuberculariacées et regroupe deux espèces, *M. nivale* et *M. majus* (Glynn *et al.*, 2005), provoquant les mêmes symptômes sur épi que les *Fusaria* ainsi que des symptômes sur feuilles. Ces deux espèces ne produisent pas de mycotoxines.

I.2.5. Les relations entre espèces du complexe

Plusieurs de ces espèces peuvent être retrouvées ensemble, à l'échelle de la région, de la parcelle et également sur un même épi, où elles forment le complexe fusarien (Xu et Nicholson, 2009). En effet, la fusariose de l'épi est souvent causée par un mélange de 2 ou 3 agents pathogènes du complexe (Xu, 2005 ; Audenaert, 2009).

La sévérité, l'incidence et la prévalence de chaque espèce varient selon la localisation géographique et les années (liées aux variations climatiques et aux pratiques culturales ; Oerke *et al.*, 2010). Ainsi, dans chaque région sont retrouvées chaque année les mêmes espèces mais à des fréquences différentes.

Associé à cela, certaines espèces comme les *F. poae*, *M. majus* et *M. nivale* ont été décrites comme moins agressives comparées aux autres espèces (Gosman *et al.*, 2010 ; Brenna *et al.*, 2003). La présence sur un même épi de plusieurs de ces espèces est susceptible de modifier leur équilibre et leur dynamique de production de toxines. En effet, comme dans tout écosystème, des interactions peuvent avoir lieu entre souches, soit intra-, soit inter-spécifiques (Xu, 2009 ; Liggitt, 1997) et potentiellement modifier leur développement et leur toxinogénèse.

I.2.6. Cycle de vie

I.2.6.1. Sources de contamination (inoculum primaire)

La contamination se fait par les propagules qui se trouvent sur le sol, dans les débris végétaux où le champignon se conserve. Toutes les espèces de *Fusarium* sont capables de survivre en saprophytes sur les débris végétaux (Parry *et al.*, 1995).

L'inoculum est formé principalement de macroconidies ou microconidies et d'ascospores (Xu *et al.*, 2005 ; Champeil *et al.*, 2004 ; Bai et Shaner, 1994).

Trois sources d'inoculum peuvent être à l'origine du développement de fusarioses :

- Les résidus de culture infectés l'année précédente (source principale) (Champeil *et al.*, 2004 ; Osborne et Stein, 2007) et les chlamydospores qui survivent dans le sol (Arsan *et al.*, 2011). La survie des champignons sur résidus peut atteindre plus de 2 ans après récolte (Pereyra *et al.*, 2004 ; Audenaert *et al.*, 2009)
- Les semences infectées (Xu et Nicholson, 2009).
- Les plantes hôtes (*Agrostis*, *Bromus*, *Medicago*, *Festuca*...), peuvent également jouer le rôle de réservoir de *Fusarium* sans présenter de symptômes visibles (Leonard et Bushnell, 2003 ; Champeil *et al.*, 2004).

I.2.6.2. La dissémination

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

Cependant lorsque les ascospores sont entraînées par le vent, elles peuvent être dispersées sur de plus longues distances. Un élément contaminant peut être détecté à plusieurs kilomètres de distance de sa source de production (Bergstrom et Shields, 2002 ; Fracl *et al.*, 1999).

Les insectes et larves d'insectes peuvent également être une source de dissémination, ils endommagent l'enveloppe des grains, ce qui favorise la pénétration de l'inoculum à l'intérieur de la graine. Plusieurs types d'insectes attaquent la plante et prédisposent celle-ci à une infection par des champignons avant que l'épi ne se forme. C'est le cas des pucerons et des asticots (Widstrom, 1992).

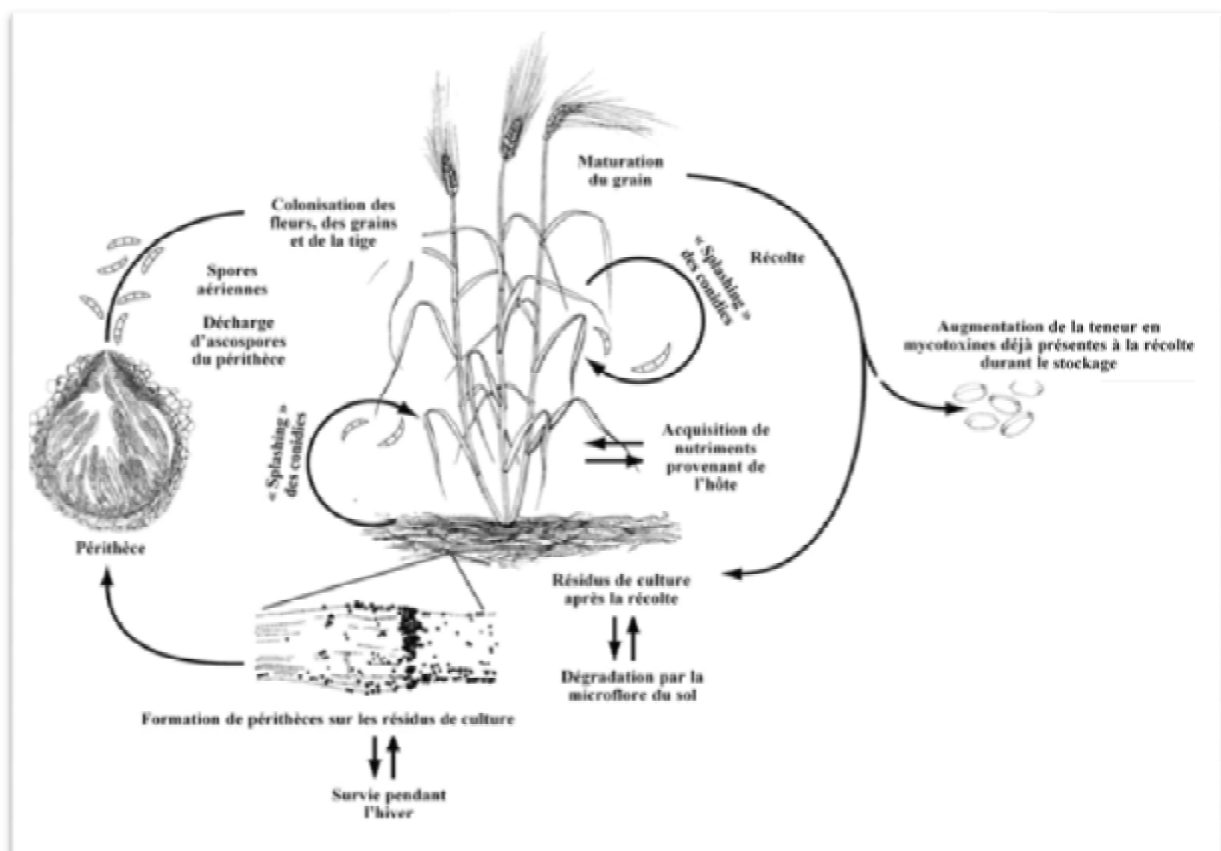


Figure 7 : Cycle de vie de *F. graminearum*, principal agent responsable de la fusariose des épis de blé (Trail, 2009).

I.2.6.3. Infection et développement des champignons

La fusariose de l'épi de blé est donc initiée par le dépôt de spores matures sur des épis de blé en fleur. Ces spores germent, colonisent les anthères extrudées, généralement dans la partie médiane de l'épi, où commence la floraison et où l'humidité est supérieure à celle des autres épillets (Walter *et al.*, 2010 ; Leonard et Bushnell, 2003). Ils entrent dans la fleur et se développent afin de rejoindre la graine en formation, les bractées florales et le rachis.

Dans un premier temps, les tubes germinatifs se développent en surface et forment un réseau dense de mycélium à l'intérieur de l'épillet et autour de l'ovaire 24 à 26 heures après l'inoculation (Brown *et al.*, 2010). Ensuite, sur le front de l'infection, le champignon se développe de façon intercellulaire et se nourrit des exsudats extracellulaires mais n'induit pas encore de symptômes visibles (Guenther et Trail, 2005).

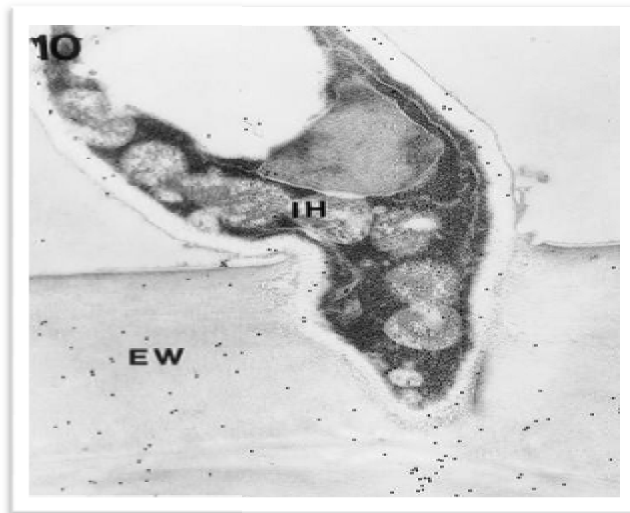


Figure 8 : Micrographie de l'infection d'une cellule de l'épiderme du lemme par un hyphé de *Fusarium culmorum* (Kang et Buchenauer, 2002).

EW : Paroi de la cellule de l'épiderme : IH : Hyphe du parasite.

I.2.7. Conditions favorables au développement de la maladie

La sévérité de la fusariose est conditionnée par trois facteurs indépendants des champignons : les facteurs climatiques, les facteurs agronomiques et les facteurs physiologiques de la plante hôte (Bai et Shaner, 1994 ; Sutton, 1982 ; Walter *et al.*, 2009 ; Alvarez *et al.*, 2010).

I.2.7.1. Les facteurs climatiques

Les facteurs climatiques, en particulier l'humidité et la température, jouent un rôle primordial puisqu'ils conditionnent la germination et l'infection des champignons. Chaque espèce responsable de la fusariose a un optimum de température et d'humidité différents. Des

individus de la même espèce mais ayant des origines géographiques différentes vont également avoir des optima différents, en référence avec le climat de leur région d'origine (Xu et Nicholson, 2009 ; Doohan *et al.*, 2003), et d'après Kang et Buchenauer, 2002, les ascospores des champignons responsable de la fusariose germent si l'humidité relative (HR) est supérieure à 85% et la température avoisine les 25-30°C.

I.2.7.2. Les facteurs agronomiques

Ils jouent un rôle principalement dans la conservation de l'inoculum primaire. Par exemple, un précédent cultural sensible à la fusariose (maïs, blé, orge), c'est-à-dire potentiellement infecté lors de son cycle, est une source potentielle d'inoculum pour la culture suivante via ses résidus. Egalement, un travail du sol augmenterait la dégradation des résidus en favorisant l'activité microbienne et donc limiterait la colonisation des résidus par *F. graminearum* (Pereyra *et al.*, 2004)

I.2.7.3. Les facteurs physiologiques

Les facteurs physiologiques de la plante hôte sont nombreux et influencent plus ou moins le développement de la fusariose. L'intensité de la maladie dépend non seulement de la quantité d'inoculum initial et de la virulence des souches pathogènes, mais aussi des caractéristiques physiologiques de la plante (taille, densité d'épillets...), son état de stress, son stade de développement, la date et la durée de la floraison et le niveau de résistance de la variété (Xu *et al.*, 2005 ; Champeil *et al.*, 2004 ; Bai et Shaner, 1994 ; Audenaert *et al.*, 2009).

I.2.8. La notion de résistance contre la fusariose

Mesterhazy *et al.* (1999) ont décrit 5 types différents de résistance de l'hôte vis-à-vis de la fusariose. Le type I correspond à une résistance à l'infection, le type II à une résistance à la progression du champignon dans l'épi, le type III se réfère à la capacité de l'hôte à empêcher la synthèse de mycotoxines ou promouvoir leur dégradation, le type IV à la résistance de la plante à l'infection des grains et le type VI à la tolérance à l'infection.

I.2.9. Méthodes de lutte

I.2.9.1. Les pratiques culturales

L'inoculum principal étant conservé dans les résidus de culture, un travail du sol permet l'enfouissement des résidus et donc limite les risques d'apparition de la maladie (Champeil *et al.*, 2004). Certaines cultures, comme le maïs et le blé, sont plus sensibles aux attaques de fusariose ; les résidus issus de ces cultures sont des sources d'inoculum pour l'année suivante.

Il est donc nécessaire d'intégrer cette sensibilité dans la rotation des cultures, en évitant la succession de cultures sensibles (Parry *et al.*, 1995). L'irrigation, la fertilisation azotée et le contrôle des adventices jouent également un rôle dans le développement de la fusariose (Wagacha et Muthomi, 2007) mais ils restent mineurs par rapport aux deux leviers présentés précédemment.

Au contraire, certaines pratiques culturales telle l'irrigation intensive augmenteraient l'incidence des blés fusariés (Teich *et al.*, 1987). Des études ont observé qu'un apport d'azote à 100 kg/ha pouvait réduire la fusariose du blé mais qu'un apport à 200 kg/ha l'augmentait (Teich et Nelson, 1984). Divers fongicides existent, cependant leur efficacité aux champs contre la fusariose et la mycotoxinogénèse est controversée (Pirzgoliev *et al.*, 2003 ; Champeil *et al.*, 2004). L'utilisation des fongicides est délicate et le moment d'application est important.

I.2.9.2. La lutte génétique

Aujourd'hui, peu de variétés de blé sont résistantes à la fusariose. Cependant, il existe des variétés tolérantes, possédant des niveaux de résistance partiels permettant de limiter les pertes de rendements et l'accumulation des toxines dans la récolte.

I.2.9.4 La lutte biologique

La lutte biologique est une méthode prometteuse contre la fusariose (Schisler *et al.*, 2002). Par exemple, au cours d'études menées en serre, l'inoculation des épis de blé à l'anthèse avec le champignon *Phoma betae* réduit de 60% la sévérité des symptômes de fusariose causé par *F. culmorum* (Diamond et Cooke, 2003). Au cours d'essais aux champs, Khan *et al.* (2004) rapportent que les levures *Cryptococcus* sont capables de diminuer la sévérité de la fusariose, l'antagoniste le plus efficace réduisant la sévérité de la fusariose de 50-60 %.

I.2.9.3. La lutte chimique

Une fois la culture installée, le recours à la lutte chimique est toujours possible mais avec une efficacité limitée. Toutefois, appliqué à la bonne dose et au bon stade, un traitement

à l'aide d'un produit spécifique est un levier supplémentaire pour lutter contre la fusariose. La diversité des agents pathogènes ainsi que les différences d'efficacité des matières actives d'une espèce à l'autre complexifient cette lutte. En effet, les travaux de Simpson *et al.* (2001) soulignent la sensibilité des champignons du genre *Fusarium* aux triazoles et ceux du genre *Microdochium* aux strobilurines. Depuis, des résistances sont apparues limitant l'intérêt des strobilurines dans cette lutte. De nouvelles solutions ont été récemment développées couplant par exemple plusieurs familles chimiques comme les triazolinthione et triazole pouvant réduire jusqu'à 70% de la maladie au champ.

I.2.9.4. La lutte intégrée

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

I.3. Les Mycotoxines

I.3.1. Généralités

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques produits par certaines souches de champignons dans les milieux où elles se développent, principalement dans les matières premières d'origine végétales (céréales, légumes, fruits). Plusieurs centaines de mycotoxines ont pu être identifiées et environ une trentaine de ces molécules a une véritable importance en termes de santé animale et humaine (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002).

Les mycotoxines diffusent dans le substrat qu'elles contaminent même après la destruction du champignon responsable de leur production. Peu labiles, elles sont souvent actives à très faibles doses, thermostables, stables dans le temps et résistantes aux traitements biologiques et aux processus de transformation. Ainsi, lorsqu'elles sont présentes dans le grain, on les retrouve tout au long de la chaîne alimentaire. (Prandini *et al.*, 2007)

Les fusariotoxines produites par les *Fusarium* sont principalement des Trichothécènes. Ce sont des inhibiteurs de synthèse protéique des cellules eucaryotes (Cumagun *et al.*, 2004) et de l'activation des gènes de défense de la plante (Wagacha et Muthomi, 2007). (fusariose epid) elles sont responsables d'effets indésirables sur la santé humaine ou animale en cas de consommation d'aliments contaminés et peuvent ainsi provoquer une grande variabilité de symptômes comme des altérations du foie, des reins, du système nerveux central, des dérèglements hormonaux ou encore une réduction des défenses immunitaires (Prandini *et al.*, 2007).

I.3.2. Le rôle des mycotoxines

La production de métabolites par un organisme a un coût non négligeable, ce qui suppose une utilité de chacun de ces métabolites. Un avantage probable pour un organisme à produire des métabolites secondaires est la survie dans son environnement, tant pour se protéger contre les événements négatifs de cet environnement, que pour assurer sa nutrition (Fox et Howlett, 2008). Etant donné leur phytotoxicité et la pathogénicité des *Fusarium* vis-à-vis des plantes, les trichothécènes pourraient également être impliquées en tant que facteur de pathogénicité (ou pouvoir pathogène), c'est-à-dire dans le développement des champignons dans l'épi. En effet, une agressivité plus importante sur épi a été observée pour les souches productrices de ces molécules par rapport à des souches mutantes, non productrices (Proctor *et al.*, 2002 ; Desjardins *et al.*, 1996, Nicholson *et al.*, 1998). Cependant, d'après les travaux d'Arzeniuk *et al.* (1999), même si une perturbation par mutation de la voie de biosynthèse des

trichothécènes diminue la pathogénicité de *F. graminearum*, celle-ci n'est pas supprimée.

Gosman *et al.* (2010) ont également mis en évidence la relation entre la résistance à la colonisation de l'épi (résistance de type II) et la production de DON et, d'après Bai *et al.* (2001), des mutants non producteurs de toxines ne s'étendent pas aux épillets adjacents. La production de DON ne serait donc pas nécessaire à la pathogénicité mais jouerait un rôle dans la virulence du champignon ; les trichothécènes seraient donc des facteurs de virulence essentiels à la colonisation des épis et grains de blé par *Fusarium*. L'expression des gènes de biosynthèse des toxines commence immédiatement après l'infection. Ces toxines produites en avant du front de l'infection ne seraient donc pas indispensables à l'initiation de la maladie mais faciliteraient la colonisation de leur hôte. Ceci suppose que d'autres facteurs interviennent dans le pouvoir pathogène de la fusariose tels que les enzymes de dégradation des parois, par exemple (Schwarz *et al.*, 2002).

I.3.3. Les Fusariotoxine

Les espèces de *Fusarium* produisent différents types de mycotoxines parmi lesquelles les plus fréquentes sont les trichothécènes, les fumonisines et la zéaralénone (Placinta *et al.*, 1999). Ces mycotoxines sont connues pour être produites au champ, mais également lors du stockage du grain si de l'eau est disponible (Langseth *et al.*, 1997).

I.3.3.1. Les trichothécènes

Les trichothécènes constituent le groupe de mycotoxines produites par *Fusarium* le plus important avec près de 150 trichothécènes isolés chimiquement. Toutefois, seuls les trichothécènes de type A et B semblent avoir une réelle importance sur les cultures de céréales (Smith *et al.*, 1994).

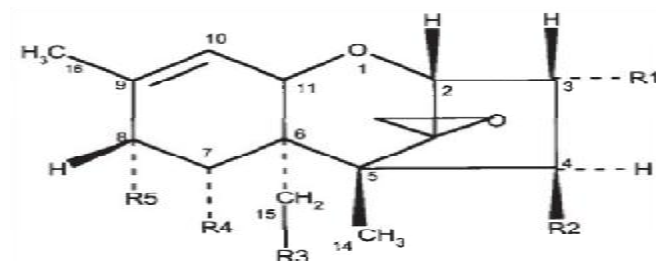


Figure 9 : Structure générale des trichothécènes. (Boutigny, 2007)

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

I.3.3.2. Les zéaralénone

La zéaralénone (ZEA) produite par *F. graminearum*, *F. culmorum* ou encore *F. equiseti* majoritairement trouvées sur les céréales. La ZEA est une mycotoxine à effet oestrogénique qui provoque des perturbations endocriniennes à la puberté (Rapport Final de l' Afssa, 2009).

I.3.3.3. Rôle des TCTB dans le développement de la fusariose

Le DON inhibe la germination du blé comme le montre la figure 9 avec un témoin traité à 20ppm de DON (A) et un témoin traité avec de l'eau (B) (Rocha *et al.*, 2005). Ce phénomène s'expliquerait par l'action inhibitrice du DON sur l'activité du facteur d'élongation EF-1 α impliqué dans la croissance cellulaire. traités avec de l'eau (B) (Rocha *et al.*, 2005).

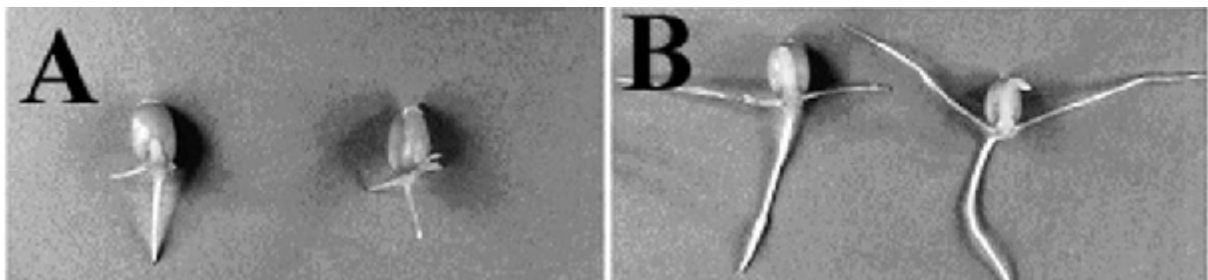


Figure 10 : Effet inhibiteur de 20ppm de DON (A) appliqué sur des grains de blé, et grains de blés traités avec de l'eau (B) (Rocha *et al.*, 2005)

Parmi les nombreux effets cellulaires des trichothécènes, et en particulier des trichothécènes B, citons l'inhibition des synthèses protéiques qui a lieu dans les grains et les gaines foliaires de blé ainsi que dans les grains de maïs. Ces mycotoxines interfèrent avec le site actif de la peptidyl-transferase des ribosomes, ce qui inhibe l'initiation, l'élongation ou la terminaison des synthèses protéiques (Rocha *et al.*, 2005).

Les trichothécènes sont phytotoxiques même A de très faibles concentrations, ils perturbent la germination des graines et entraînent le flétrissement, des chloroses, des nécroses et autres symptômes sur de nombreuses variétés de plantes (Rocha *et al.*, 2005).

1.3.4. Identification de chémotypes

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

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

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

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

Les différentes espèces de *Fusarium* ne possèdent pas tous le même chémotype

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

Le tableau illustre les différentes mycotoxines produites par les espèces de *Fusarium* (Bottalico et Perrone, 2002).

1.3.5. Principales méthodes de détection des mycotoxines

Les mycotoxines se trouvent généralement à l'état de traces dans les matières premières céréalières, et leur mise en évidence est délicate. Pour les détecter, les identifier et les quantifier, il existe un ensemble de méthodes allant de bioessais aux techniques très élaborées en passant par les techniques physico-chimiques. (Cahangnier, 1998) Les techniques physico-chimiques permettent une séparation chromatographique en HPLC, CG et CCM

- La chromatographie sur couche mince CCM constitue la méthode de base, qui permet une séparation efficace des produits, leurs identifications et leur quantification avec précision (Frayssinet et Frémy, 1991). La chromatographie en phase gazeuse CG, est une technique qui utilise le gaz comme phase mobile pour la séparation des composés. Son application est limitée à certaines mycotoxines et notamment les trichothécènes (Arbaut et Daussant, 2005).
- Chromatographie liquide haute performance (HPLC) constitue une méthode de référence, permettant la quantification et l'identification des contaminants présents à des teneurs très faibles. A l'heure actuelle, l'HPLC, couplée à la spectrométrie de masse s'impose comme technique de choix pour l'analyse quantitative de la majorité des mycotoxines (Xie et al., 1997).

Tableau 6 : Les mycotoxines associées aux différentes espèces de *Fusarium* (Bottalico et Perrone, 2002; Waalwijk *et al.*, 2003; Ioos *et al.*, 2004; Rohacik et Hudec, 2005; Schollenberger *et al.*, 2007)

Espèces	Mycotoxines
<i>F. graminearum</i>	TCTB, ZEA
<i>F. pseudograminearum</i>	TCTB
<i>F. culmorum</i>	TCTB, ZEA
<i>F. avenaceum</i>	MON, BEA, ENN
<i>F. poae</i>	TCTB (NIV)
<i>F. tricinctum</i>	MON, BEA
<i>F. sambucinum</i>	TCTA, BEA, ZEA
<i>F. sporotrichioides</i>	TCTA
<i>F. equiseti</i>	TCTA, TCTB, ZEA
<i>F. acuminatum</i>	TCTA
<i>F. crookwellense (cerealis)</i>	TCTB, ZEA

I.3.6. La sélection variétale : une stratégie prometteuse pour limiter les TCTB dans les grains de blé :

Des travaux réalisés sur des coléoptiles de blé ont montré que certaines variétés résistantes à la fusariose pouvaient tolérer des concentrations 10 à 1000 fois supérieures en trichothécènes que les variétés sensibles (Wang et Miller, 1988). Eudes *et al.* (2000) ont également distingué des différences de sensibilité aux trichothécènes parmi 11 cultivars de blé. Une hypothèse serait que des modifications de la peptidyl transférase des variétés de blé résistantes rendraient cette enzyme insensible au DON (Miller et Ewen, 1997). Une autre hypothèse expliquant ses différences de sensibilité aux trichothécènes serait que, comme l'ont constaté Miller *et al.* (1986), les variétés résistantes pourraient dégrader plus rapidement le DON que les variétés sensibles ou seraient capables de le détoxifier.

I.3.7. La réglementation

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

ingérées en conditions chroniques (Pestka, 2007). Elles peuvent induire des intoxications aiguës comme ; la perte de poids, la perte d'appétit, des dermatites, des vomissements, des diarrhées, des hémorragies et des nécroses de plusieurs organes (Coppock *et al.*, 1985). Les trichothécènes ont aussi un pouvoir cancérogène et des effets génotoxiques (Coulombe, 1993).

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériels :

1.1. Matériel végétal :

La variété de blé dur Vitron a été choisie pour l'isolement de différentes espèces fusariennes responsable de la pourriture racinaire.

Échantillons de semences de cinq lignées de blé dur en cours de sélection généalogique, été fournis par l'ITGC de Sétif.

Tableau 5 : Le matériel végétale utilisé dans ce travail.

Lignée de blé dur				
Code expérimental	Espèce	Code de référence	Région géographique	Année de récolte
L1	Bled dur	CMH85.797//CADO/BOOMER-33/4/ARMENT//SRN-3/NIGRI.	ITGC. Sétif	2013
L2		TARRO1/2*YUAN1//AJAIA13/YAZI/3/ SOMAT3/ PHAX1//	ITGC. Sétif	2013
L3		PLATA10/6/MQUE/4/USDA573//QFN/ AA7/3ALBA-/5/AVO/HUV/	ITGC. Sétif	2013
L4		POD20//SULA/ACO89/3/SORA/2*PLATA12// SOMAT3/4/	ITGC. Sétif	2013
L5		SMAT3/PHAX1/TILO1/LOTUS4/3/GUANAY/5/ NETTA4/	ITGC. Sétif	2013
Variété de blé				
-	Blé dur	Viitron	El-Assafia (Laghouat)	2014

1.2. Matériel fongique

Les isolats de *Fusarium* utilisés dans cette étude ont été obtenus à partir d'un gamme des isolats conservés dans le laboratoire de département d'agronomie – Laghouat- (tableau6)

En outre le matériel fongique pathogène utilisé est obtenu au cours de ce travail par isolement à partir des graines des lignées du blé dur et aussi à partir de l'épi, de racine et de collet du blé.

Tableau 6 : Les différents isolats fusarien utilisés.

N° d'isolat	Isolat	Année d'isolement	Organe d'isolement	Variété de blé	Origine	Espèce
1	BD11	2011	épi	ANZA	Blida	<i>F.culmorum</i>
2	BD06	NO	épi	Vitron	Bouira	<i>F.culmorum</i>
3	V2	2013	épi	Vitron	El-Assafia	
4	V3	2013	épi	Vitron	El-Assafia	
22	Rn3.05.14	2014	racine	Vitron	El-Assafia	
24	R ₂ 14	2013	semence	Lignée 1	ITGC Sétif	

2. Méthodes

2.2. Méthodes d'isolement

2.2.1. Méthodes d'isolement à partir de la semence

Méthode utilisée par le laboratoire national de protection de végétaux (LNVP, France).

2.2.1.1. Echantillonnage et prise d'essai

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

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

Nous devons noter ici que les plants de blé dur testés de la région d'El-Assafia sont prélevés à partir d'un champ irrigué par aspersion.

2.2.1.2. Désinfection des semences

Les manipulations décrites sont à réaliser de préférence en atmosphère stérile (hotte à flux laminaire, Poste de Sécurité Microbiologique, etc.). Après leur désinfection de surface :

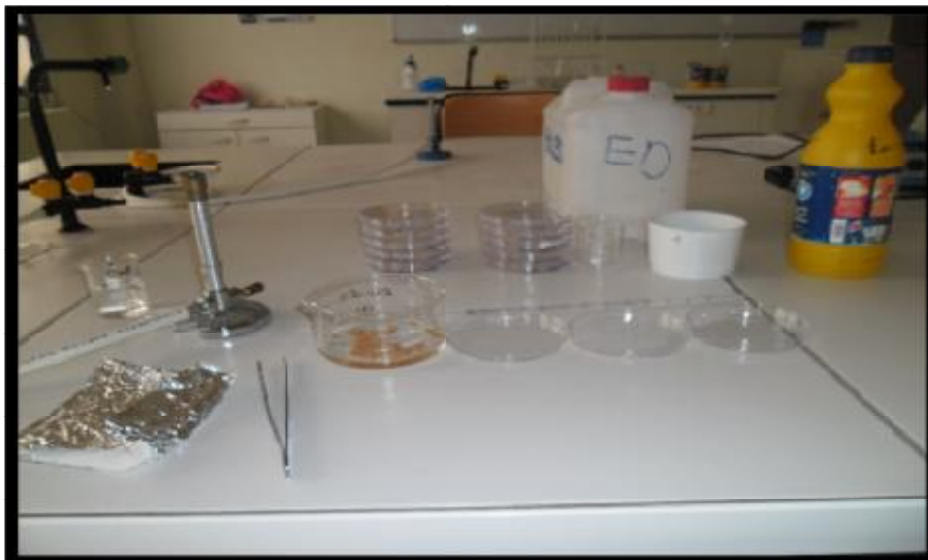
Au minimum, 100 grains seront analysés pour la détection et l'identification des différentes espèces de *Fusarium spp.*

L'objectif de la stérilisation de surface des grains est d'éliminer toutes les saprophytes externes d'origines fongique ou bactérienne. Pour l'analyse de céréales à petits grains : 50 ml de grains sont stérilisés en surface.

Les grains sont placés dans un panier tamis à maille de 05-1 mm (type "moustiquaire") et suivent le cycle de désinfection suivant :

- 10 min dans un bécher contenant 100 ml d'une solution d'hypochlorite de Sodium à 2%. (Champion, 1996)
- Trois rinçages dans 03 bains successifs d'eau distillée stérile pendant 5 minutes chacun.
- Dessèchement entre deux feuilles de papiers filtre stériles.

Durant chacune des trois phases, le panier est agité vigoureusement afin de remettre en suspension les grains et d'assurer ainsi une désinfection et un rinçage plus efficace.



(original,2014)

Figure 11 : Les étapes de la désinfection.

2.2.1.3. Isolement selon la méthode de Geves

Cette méthode consiste à déposer des grains, préalablement désinfectés en surface et séchés, sur milieu gélosé. Ceci permet de déterminer la mycoflore interne du grain, (Junot, 2005).

Méthode Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar (DCPA)

Après désinfection les grains sont placés à l'aide d'une pince stérile dans des boîtes de pétri de 90 mm coulées avec le milieu DCPA (voir annexe I) à raison de dix grains par boîte,

(LNPV, 2002). Les boîtes de pétri DCPA sont incubées 10-12 jours dans une enceinte climatique illuminée réfrigérée à $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ en alternance éclairage- obscurité 12h/12h.

L'incubation des boîtes de DCPA peut aussi être effectuée sans enceinte climatique en les plaçant dans des boîtes de plexiglas transparentes dont le couvercle reste légèrement ouvert. Ces boîtes d'incubations peuvent être placées sur les paillasses ou sur des étagères du laboratoire pourvu que celui ci soit climatisé ($22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) et permette une alternance éclairage obscurité (garantissant au moins 6 heures d'obscurité).

L'alternance de la lumière naturelle du jour est parfaitement suffisante.

Après 10-12 jours d'incubation, les *Fusarium spp.* infectant les grains se sont bien développés sur le milieu semi sélectif DCPA. Ce dernier ne permet pratiquement aucune pigmentation du thalle des champignons qui s'y développent. Les cultures apparaissent donc généralement blanches à rose très pâle. Le milieu étant semi sélectif, seuls les champignons du genre *Fusarium* vont se développer de manière conséquente sur le milieu (vitesse de croissance radiale >2 mm / jour et mycélium aérien abondant). Les autres genres de champignons peuvent croître mais vont présenter une vitesse de croissance radiale relativement faible (<2 mm / jour) et un mycélium aérien très peu abondant voire inexistant.

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



(Original,2014)

Figure 12 : Ensemencement des grains de blé sur DCPA.

2.2.1.4. Isolement à partir de plants malades

Les différentes étapes de l'isolement d'un agent pathogène à partir du tissu de l'hôte comprennent le choix de l'échantillon végétal et sa désinfection superficielle (pour éliminer les organismes saprophytes), le dépôt du fragment désinfecté sur milieu de culture nutritif et l'obtention d'une culture axénique du parasite, (Lepoivre, 2003). En l'absence de saprophytes, il est possible d'isoler directement le parasite à partir de fructifications.

La méthode d'isolement est la même que celle utilisée pour les semences.

Les échantillons qui présentent les symptômes de la maladie sont découpés, ensuite désinfectés dans l'hypochlorite de sodium dilué à 2 % pendant 10 minutes, suivie d'un rinçage dans 3 bains successifs d'eau distillée stérile pendant 5 minutes chacun, puis sont séchés entre deux feuilles de papier buvard stériles. Les fragments sont déposés à la surface de boîte de Pétri contenant le milieu PDA, puis incubés dans une étuve à 25°C, (Boùreghda, 2005).



(Origine,2014).

Figure 13 : Plantes de blé portent des symptômes de pourriture de collet utilisées pour l'isolement

2.2. Calcul de la fréquence et l'abondance des espèces fongiques

La fréquence : nous renseigne sur le nombre de fois que le champignon est présent dans les lots de semences analysés. Elle est calculée par le rapport.

Nombre de lots présentant le champignon / Nombre total de lots analysée.

Donc nous avonsensemencé 100 graines de chaque lignée dans des boites de Petri contenant le DCPA, puis nous avons calculé le taux d'infection de ces graines par le rapport précédent.

2.3. Méthode de purification

2.3.1. Repiquage successif :

Consiste à réaliser plusieurs repiquages successif des souches sur milieu PDA jusqu'à l'obtention des isolats purs. L'utilisation des milieux sélectifs est possible (Botton et al., 1990).

2.3.2. Purification des isolats par la culture monospore (single spore) par scarification :

Afin de purifier nos souches, nous avons réalisé des cultures monosporales. Cette technique a été mis au point et décrite par Guattani (1954) in Zaatri, 1987.

Le mode opératoire consiste à prendre un tube à essai stérile à bouchon, et on en met 6 ml de l'eau distillée stérile plus un fragment d'implant de l'échantillon. Après l'agitation du tube par un vortex afin de mettre en suspension les spores d'une manière homogène, et à l'aide d'une anse de platine une goutte de la suspension est versée sur du une boite de pétri contenant du PDA, avec un étalement sous forme des striés (scarification) ou bien la forme de L ce qui permet la sédimentation des spores dans la gélose. L'excès d'eau est éliminé. Après une nuit à l'étuve à 25°C, les spores ont commencé à germer.

Lorsque les spores commencent à émettre des tubes germinatifs, un prélèvement monospore est alors effectué sous une loupe binoculaire à l'aide d'une pipette pasteur effilée.

2.3.3. Méthode de conservation

Les champignons, une fois purifiés, sont conservés en tubes sur des milieux courants tels que le milieu PDA, ou les milieux a l'extrait de malt , (Botton et al.,

1990). Il est prudent d'utiliser un système rationnel d'étiquetage de façon à ce que chaque isolat, tout en étant désigné par un minimum de signes, puisse être identifié sans ambiguïté (Davet *et al.*, 1997).

Toutes les géloses inclinées ont été incubées à température ambiante pendant 7 jours et conservé à 4 ± 1 ° C, (Bensmira, 2006). Les souches doivent être repiquées tout les 8 à 10 mois, (Botton *et al.*, 1990).

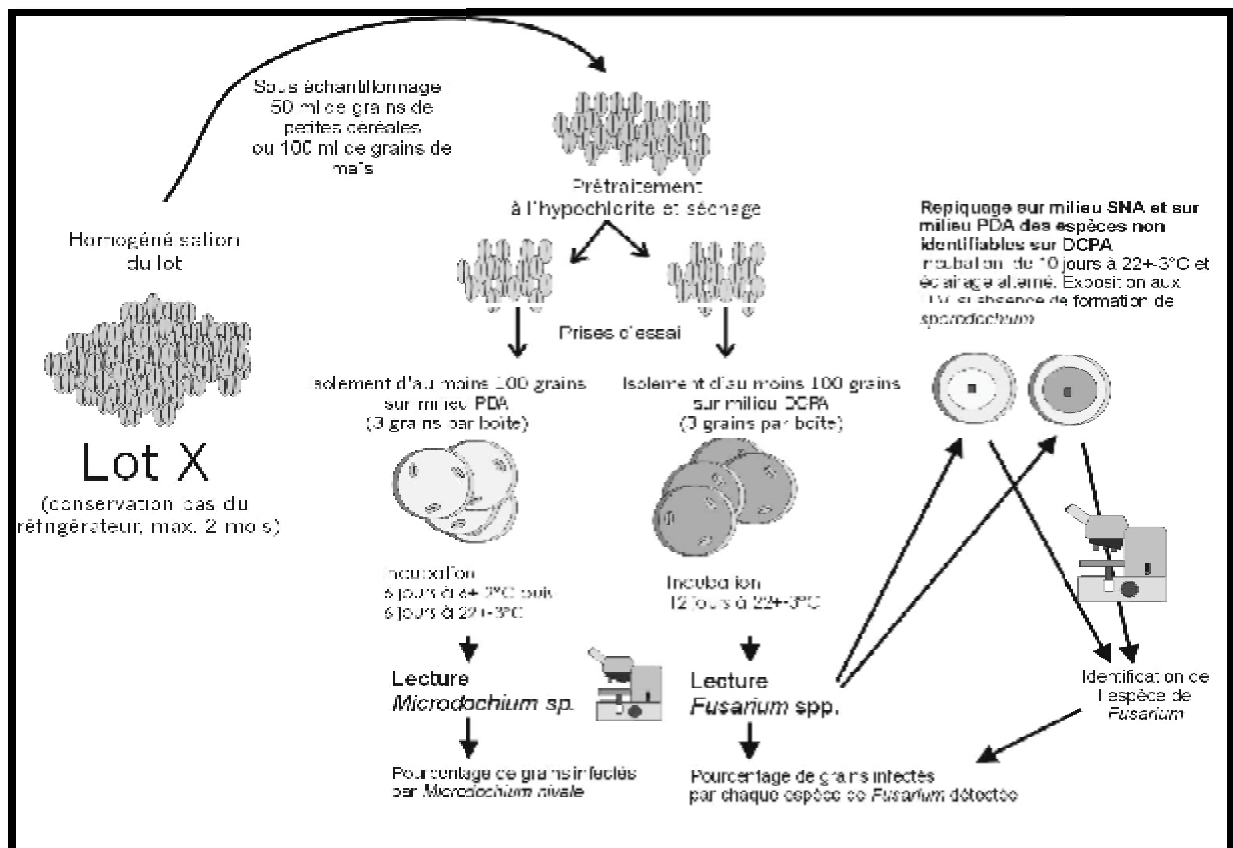


Figure 14 : Récapitulatif du protocole d'analyse de grains de céréales pour la détection de *Fusarium spp.* et *Microdochium nivale*

2.4. Méthode d'identification et caractérisation

La détermination morphologique de l'espèce d'un *Fusarium Sp* repose sur l'observation de nombreuses caractéristiques anamorphiques sur des milieux de culture bien définis. Lorsque toutes les informations présentées ci-dessous sont recueillies, l'identification pourra être réalisée en utilisant la clé de Leslie *et al.* (2006).

Caractérisation macroscopique microscopique de 'isolat sur milieu PDA

La culture de l'isolat sur PDA est étudiée pour l'appréciation de critère macroscopique et plus tard microscopique. On repique des explants de 5 mm de l'isolat dans des boîtes de pétri coulées avec du milieu PDA. On incube à température ambiante dans l'étuve. Après incubation, la caractérisation des espèces de *Fusarium* est basée sur les critères établis par Tousson et Nelson (1976) :

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

La description des espèces du genre *Fusarium* établie par Massian et Cassini (1986), Booth (1971), Lesslie et Summerell (2006) sont également utilisées dans l'identification.

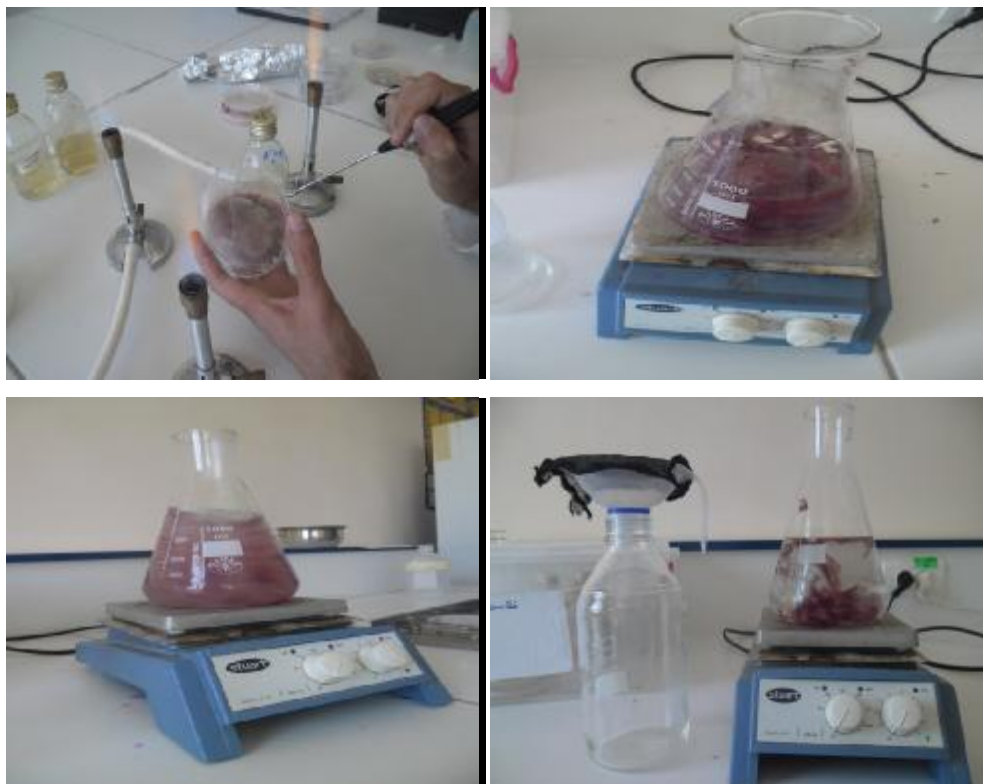
II.2.5. Etude de la pathogénie des isolats et de la sensibilité des lignées

Pour vérifier le pouvoir pathogène de deux isolats de *Fusarium* (*F.culmorum* et *F.graminearum*), 3 graines de chaque lignée obtenues de l'ITGC sont ensemencées dans des gobelets en plastiques contenant deux tiers (2/3) du sol et un tiers (1/3) de terreau organique. Ces deux derniers ont été stérilisés à 120 C° pendant une heure.

La pathogénicité des isolats est évaluée *in vivo* selon 2 méthodes :

II.2.5.1. Inoculation par suspension sporale

Pour la préparation de l'inoculum, chacun des isolats de BD11 et R₂14 ont été cultivés sur plusieurs boîtes contenant le milieu pendant 10 jours et à 25 °C. Puis, La culture est découpée par un scalpel en fragments qui eux-mêmes déposés dans un erlenmeyer contenant 250 ml de l'eau distillée stérile. Après l'agitation par un agitateur la suspension résultante a été filtrée sur de la mousseline pour séparer les conidies des fragments mycéliens. La solution sporale ainsi obtenue, a été ajustée avec de l'eau distillée contenant 0,025% de Tween 20 de façon à avoir une concentration finale de 10⁶ spores/ml.



(original,2014)

Figure 15 : Préparation de l'inoculum en suspension sporale.

Les plantules ont été inoculées au niveau du collet par ajout d'une suspension sporale, et au même temps les plantules témoins ont été inoculées de la même manière par d'eau distillée stérile. Les plantules sont couvertes par des sachets transparents pendant 24h pour créer un microclimat humide pour favoriser la germination des spores.



(Original,2014)

Figure 16 : Inoculation des plantules de blé par suspension sporale

II.2.5.2. Inoculation par fragments mycéliens

L'inoculum a été préparé à partir de cultures pures de l'isolat BD11 (*F. culmorum*) et R₂14 (*F. graminearum*) développées sur milieu à l'obscurité et à 25 °C. Après 8 jours d'incubation, des petits fragments de mycélium ont été découpé à partir des colonies de champignons développés, et déposés 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.



(original,2014)

Figure17 : Inoculation par fragments mycéliens.

II.2.5.3. 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 Chen, 2005). Cette échelle comprend les niveaux suivants :

- 0 : Plante saine.
- 1 : Moins que 25% du collet est attaqué.
- 2 : De 26% à 50% du collet est attaqué.
- 3 : De 51% à 75% du collet est attaqué.
- 4 : Plus que 76% du collet est attaqué.
- 5 : Plante morte.



Figure 18: Indice de sévérité de Fusarium sur des plantules des lignées de blé dur montrant les quatre niveaux d'attaque (1-5) comparés au témoin.

II.2.6. Etude du potentiel toxigénese des isolats de *Fusarium* :

Pour évaluer la capacité toxigénese par la production de différentes Fusariotoxines par des souches de *Fusarium* obtenues localement par isolement à partir des organes de blé montrent des symptômes typiques de la fusariose. Un test de CCM a été réalisé sur trois souches de *Fusarium* qui sont,

R₂14: *Fusarium graminearum*.

BD11: *Fusarium Culmorum*.

BD06: *Fusarium culmorum*.

V2: *Fusarium pseudograminearum*.

V3 : *Fusarium poae*

II.2.6.1. Culture des fragments mycéliens sur le milieu CMC :

Les souches de *Fusarium* qui avaient été purifiées selon la méthode Monospore étaient cultivées sur des boîtes de Pétri contenant un milieu PDA et pendant 10 jours, à 25°C. 15 implants de mycélium ont ensuite été prélevés pour chaque souche et transféré dans 100 ml de milieu CMC liquide contenu dans un Erlenmeyer. Après 8 jours d'incubation à l'obscurité dans une étuve de 26 C° de température avec agitation permanente en 150 rpm, les suspensions obtenues ont été filtrées séparément à l'aide d'une mousseline. La capacité de sporulation des souches correspond donc à la concentration en spores, donnée en nombre de spores produites par ml de suspension récoltée. Ce protocole doit se réaliser dans une zone strictement stérile, cette dernière dans notre travail est une zone limitée par trois becs benzène.

Le milieu CMC c'est un milieu liquide qui favorise la production des spores par le mycélium qui s'y trouve.

II.2.6.2. Culture des spores dans le milieu MS

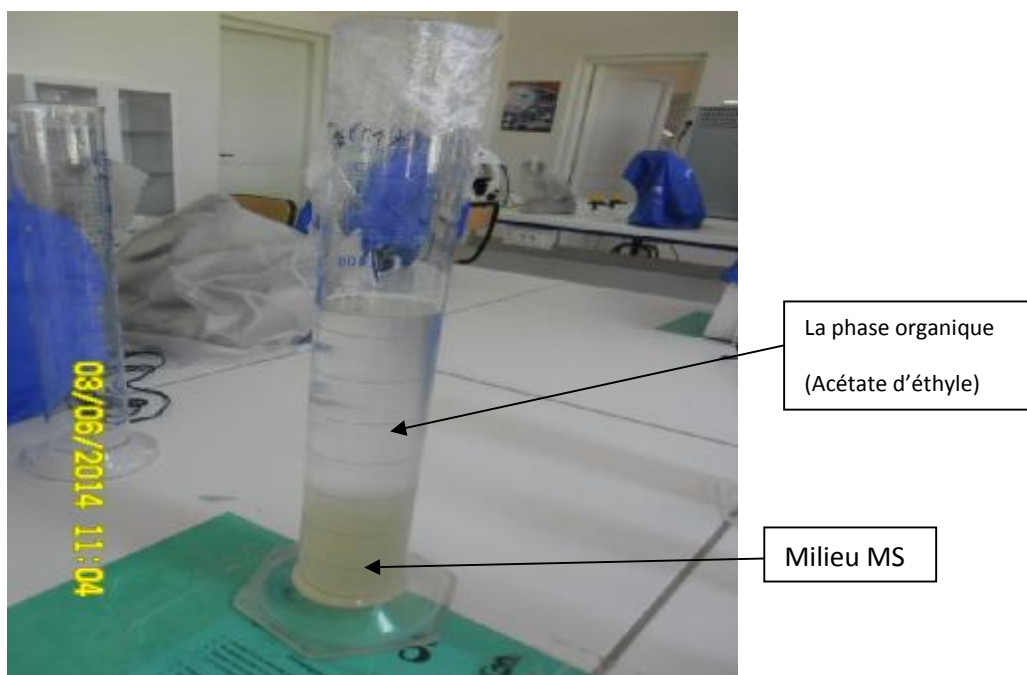
La suspension sporale récoltée est versée dans un flacon en verre stérile contenant 200 ml de milieu MS. les cinq flacons sont incubé pendant 5 jours dans une étuve à une température de 26 C° mais cette fois sans agitation.

Le milieu MS est un milieu liquide qui favorise la production des mycotoxines par les spores qui s’y trouvent.

II.2.6.3. Extraction des mycotoxines sur un milieu liquide

Après 5 jours d’incubation, un volume de suspension de milieu MS est versé dans une éprouvette graduée avec deux volumes d’acétate d’éthyle.

Après la décantation (30-60 min), et par une pipette stérile le surnageant (éthyle acétate) est récupéré dans un ballon.



(Original, 2014)

Figure 19 : Séparation de deux phases, la phase organique et le milieu MS.

Ce dernier est placé dans le routa-vapeur sous une température de bain marie qui égale 60 C° et une rotation de 172 rpm.



(Original, 2014)

Figure 20 : Extraction des mycotoxines par la routa-vapeur

Après l'évaporation totale de la phase liquide, l'extrait sec est récupéré par l'ajout de 2 ml de méthanol/eau (1/1, v/v), et enfin cette solution obtenue est récupérée par une micropipette stérile dans un tube en plastique bien fermé par un bouchon.

II.2.6.3. Préparation de CCM

Pour préparer la CCM, nous traçons un trait à ~1 cm du bord inférieur de la plaque et marquons les futur dépôts, espacés d'environ 0.5 cm.

Par un capillaire nous prenons une goutte de chaque solution et la déposons sur la plaque CCM dans un point de dépôt réservé pour chaque échantillon, puis nous laissons évaporer le solvant, et en tant que les échantillons sont dilués, plusieurs spots ont été déposés.

Après le dessèchement des spots sur la plaque CCM, cette dernière est placée dans la cuve d'élution en veillant à ce que la ligne soit au-dessus du liquide qui contient 10 ml de solvants ; Toluène et méthanol (8/2, v/v).

Lorsque le solvant qui monte a atteint les $\frac{3}{4}$ environ de la hauteur de la plaque (front du solvant), sortir la plaque et marquer immédiatement (car le solvant s'évapore très vite) la hauteur du front à l'aide d'un crayon de papier, puis laisser évaporer le solvant.



(Original, 2014)

Figure 21; Préparation de CCM.

II.2.6.4. Révélation des chromatogrammes

Le principe de révélation repose sur la fluorescence des mycotoxines sous UV et sur la comparaison des rapports frontaux (rf) des spots extraits avec ceux des standards.

III. Résultat des isollements

III.1. Evaluation des techniques

Grâce aux différentes méthodes d'isolement nous avons obtenu une gamme d'isolats de *Fusarium*.

Ces différentes techniques d'isolement nous ont donné une idée sur les avantages et inconvénients de chacune :

- Le PDA, étant un milieu riche et non sélectif, il favorise le développement d'un large spectre de moisissures envahissantes qui vont gêner la sporulation du mycélium de certains *Fusarium*. Toutefois l'aspect cultural peut bien mieux être apprécié sur ce milieu ;
- La technique DCPA semble être la meilleure. La sélectivité du milieu permet une mise en incubation de 12 jours et l'obtention de sporodochie sans la gêne que représentent les autres contaminants. Cette méthode présentée est employée pour les analyses officielles, notamment dans le cadre des expérimentations nationales et les mises au point de méthodes de lutte, (LNPV, 2001). Cela dit un repiquage sur milieu PDA est nécessaire pour l'appréciation de l'aspect cultural car ce milieu ne permet presque aucune pigmentation du thalle.

La technique d'isolement à partir de plant tant avec ou sans désinfection superficielle sur PDA a donné de bons résultats. La diversité des espèces trouvée sur un même plant confirme la théorie selon laquelle il est assez commun de trouver un mélange de plusieurs espèces et de différentes souches sur le même épi (Doohan *et al.*, 2003). La contribution de chaque souche à la lésion de l'épi et l'interaction entre les souches sont encore mal connues, (Mascher *et al.*, 2005).

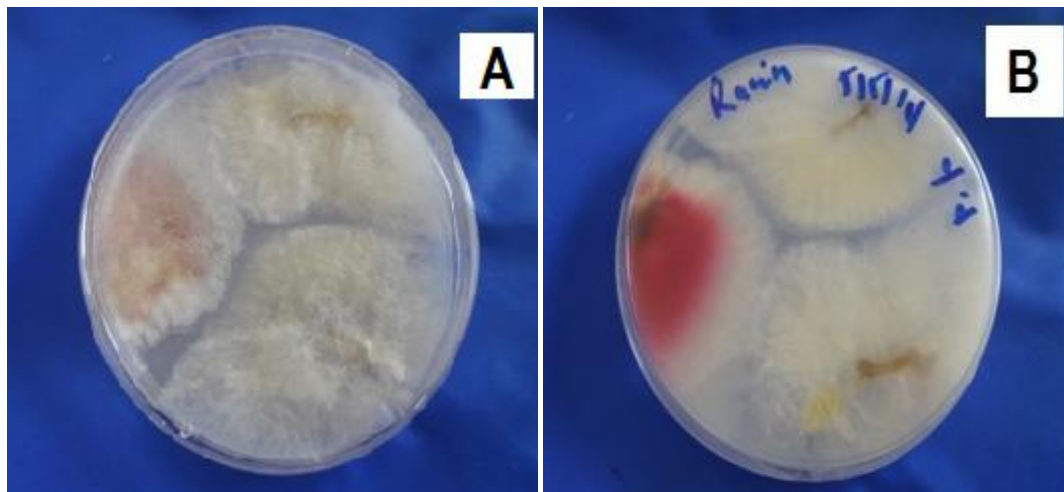


Figure 21 : Résultat de la méthode d'isolement des champignons à partir de racine de blé sur milieu PDA (A), B ; revers de la boîte.

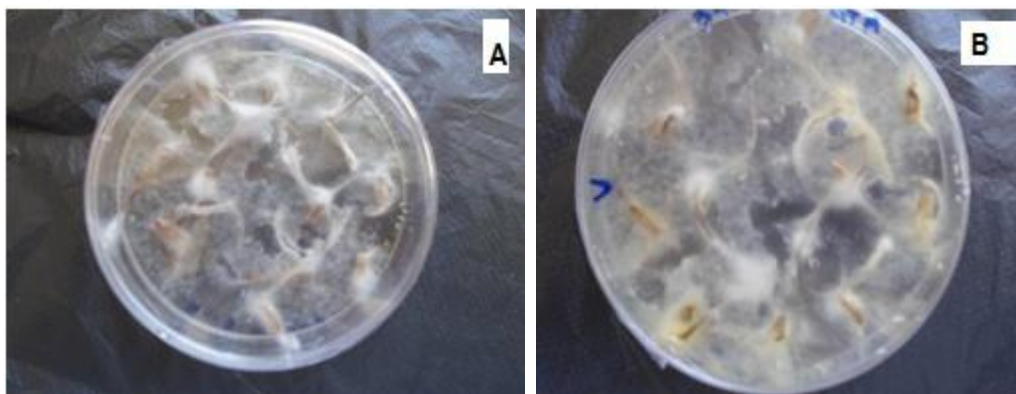


Figure 22: A ; Résultat de la méthode d'isolement des champignons à partir des graines de blé sur milieu DCPA. B ; l'envers de la boîte.

III.2. Résultat de la purification

Les deux techniques de purification ont donné de bons résultats. Mais Certains auteurs comme Nelson et al.(1983)préconisent de transférer les cultures en n'utilisant qu'une conidie.

III.2. 1. Repiquage successif

Tous les isolats développent un mycélium blanchâtre sur le milieu DCPA car ce milieu ne permet aucune pigmentation. La vitesse de croissance est identique à celle qu'on peut observer sur milieu PDA.

III.2.2. Culture monospore

En culture monospore tous les isolats ont développé un aspect duveteux ressemblant à la culture initiale.

III.2.3. Le taux d'infection des graines

La flore fongique trouvée dans les différents lots de semence analysés est comparable à celle identifiée dans la semence depuis des années par plusieurs chercheurs notamment Sauer (1993) avec des espèces des genres *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*,..., etc. nous remarquons une contamination de plus de 33% de la semence par les différentes espèces fongiques par contre Les contaminations par les *Fusarium* représentent 42% de la contamination totale. Chaque lignée montre un taux d'infection différent par rapport aux autres lignées testées. (tableau.7)

Certaines espèces de *Fusarium* tels que *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* sont des pathogènes majeurs de première importance pour les cultures céréalières, agents responsables de la fusariose et qui ont provoqué des pertes sérieuses en Amérique du Nord à la fin des années 1990 (McMullen et al., 1997). Du fait que les *Fusarium* font partie des champignons de champs, ce qui suppose que les semences analysées étaient contaminées au champ, avant le stockage. Toutefois la colonisation peut s'effectuer à la récolte et cause des pertes économiques importantes.

Tableau 7 : Taux de contamination des 100 graines analysées.(%)

Lignée	Graines contaminées par le <i>Fusarium</i>	Autre contaminations	Graines saines
L1	17	24	59
L2	15	13	72
L3	16	15	69
L4	10	11	79
L5	11	33	66

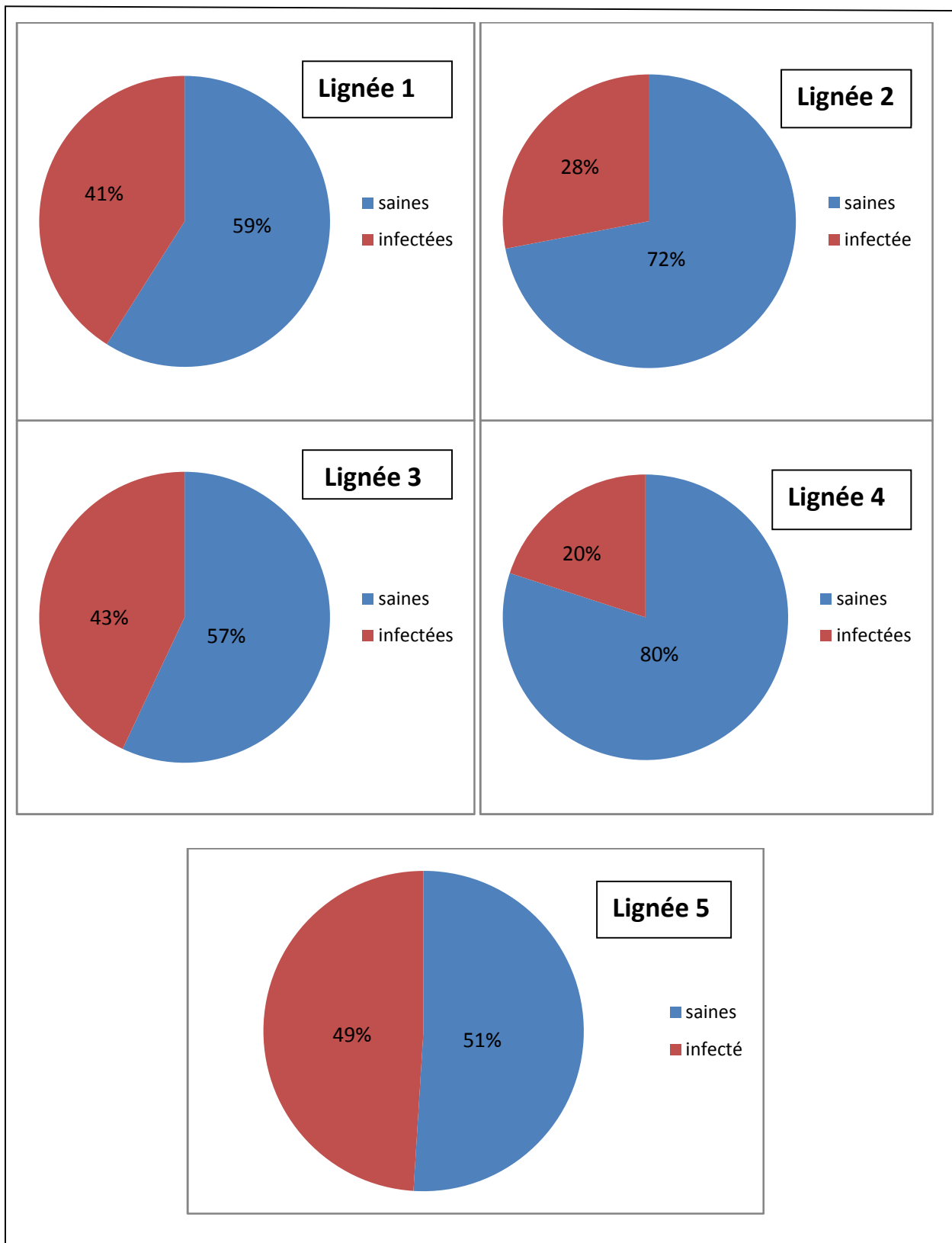


Figure 23 : taux de contamination des graines de chaque lignée sur DCPA.

4. Résultat de la conservation

La technique de conservation est facile, économique et rapide (Fig. 56) mais semble n'être que provisoire à cause de l'accumulation d'eau qui favorise la contamination. En outre la haute teneur en sucres dans ces milieux encourage la mutation chez plusieurs espèces de

Fusarium (Ioos, 2001). D'autres techniques de surgélation ou utilisant le sol comme substrat permettent de conserver les souches jusqu'à 10 ans tout en limitant la variabilité génétique, (Siti Nordahllawate Bt, 2007).

5. Identification des isolats

L'isolat 24: *Fusarium graminearum*

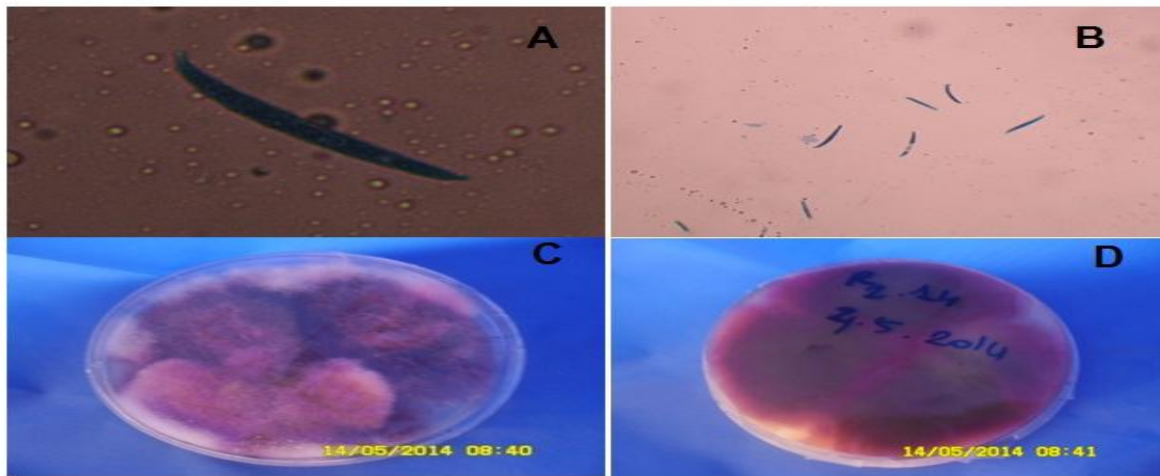


Figure 24 : Aspect microscopique et macroscopique de *F.graminearum*.

A ; macroconidie ($\times 100$, zoom 4), B ; macroconidies ($\times 40$, zoom 4), C : colonie , D: renverse de la colonie.

Sur milieu PDA donne des colonies de couleur rouge. Le mycélium duveteux assez abondant et dense de couleur qui varie du blanc rose au jaune et devient rouge et blanc au contact de l'agar avec des reflets plus ou moins jaunes dans sa partie aérienne. Les macroconidies sont hyaline, plus ou moins longues, droites ou légèrement arquées, la cellule apicale est faiblement allongée et fortement courbée près du bout. Et une cellule basale distinctement pédiforme. Elles mesurent $(25-50) \times (2,5-5) \mu\text{m}$ qui comportent 6 à 7 sépta. Les microconodies sont absentes, les chlamydo-spores sont rare. Cette description correspond à l'espèce *Fusarium graminearum* selon Leslie et Summerell (2006).

L'isolat 22 : *Fusarium poae*.

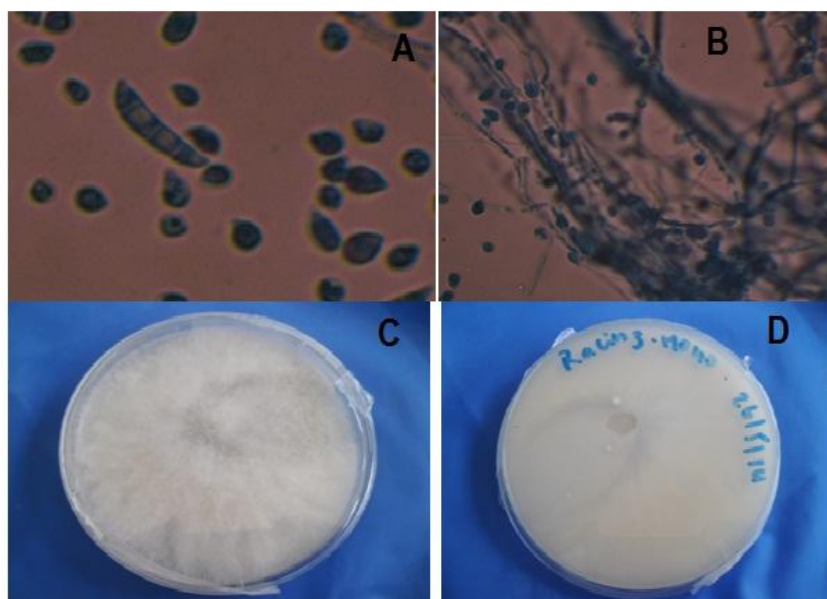


Figure 25 : Aspect microscopique et macroscopique de *F. poae*. A ; macro et microconidie ($\times 40$, zoom 9.1).

B : mycélium ($\times 40$, zoom 4), C : colonie de l'isolat, D : renverse de la colonie.

Sur PDA les colonies sont blanches. Le mycélium aérien est abondant, velues ou feutrées avec présence de microconidies, il est d'abord en couleur pâle, mais évolue en foncé ou brun rougeâtre avec l'âge. Les cultures peuvent avoir une odeur sucrée caractéristique. Les macroconidies sont élancés, relativement courtes, et falciformes presque lunaire. La cellule apicale est courbée et effilée. La cellule basale est bien développée. Elles mesurent $(20-25) \times (2,5-5) \mu\text{m}$ qui comportent 3 à 5 sépta.

Les microconidies sont Globuleuses ou napiform, parfois avec une papille distincte, et généralement 0 - mais parfois 1 – cloison. Les chlamydospores sont très souvent présentes. Cette description correspond à l'espèce *Fusarium poae* selon Leslie et Summerell (2006).

Les chlamydospores ne se considèrent un caractère taxonomique fiable en ce cas car Gerlach et Nirenberg indiquent que vrai chlamydospores sont pas formés par *F. poae* ils décrivent des cellules gonflées avec des murs et granulés épaissies plasma qui se produisent dans les cultures anciennes, et ces structures peut être ce que l'on voit par Nelson et al et utilisé dans leur description de cette espèce.

L'isolat V2 : *Fusarium pseudograminearum*

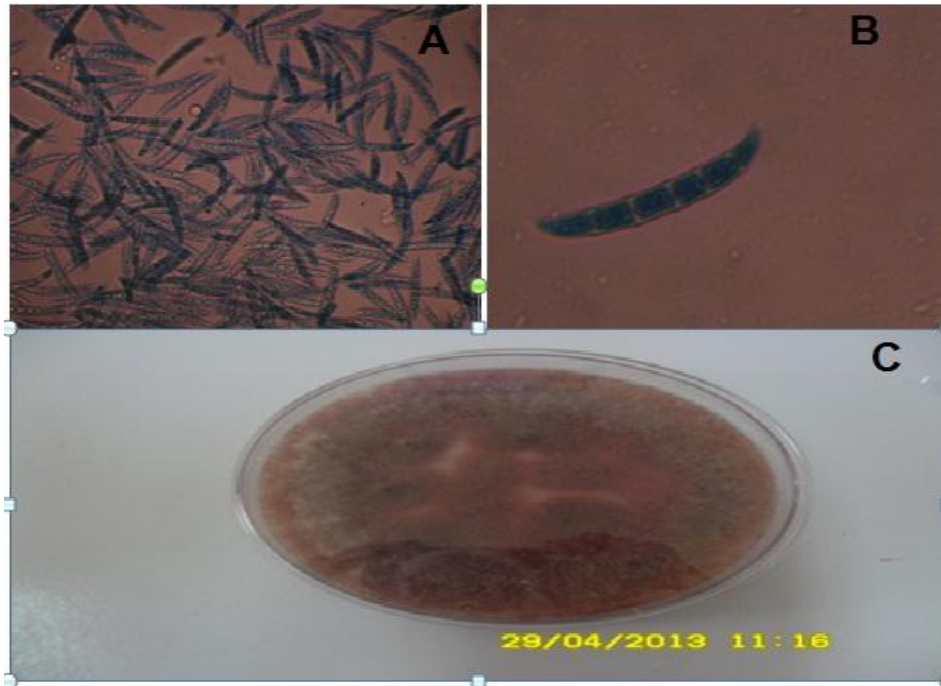


Figure 26 : Aspect macroscopique et microscopique de *F.pseudograminearum*, A : macroconodies.($\times 100$, zoom 6), B:macroconie ($\times 100$, zoom 9.1)

Sur le milieu PDA. Cet isolat donne des colonies de couleur blanche et qui vire vers le rouge. Le mycélium est aérien, abondant. La production d'un pigment rouge dans l'agar est également observé. Les préparations microscopiques montrent la présence des macroconidies effilées, longues, étroites et arquée sur toute la longueur. Elles mesurent $(50-80) \times (2.5-4) \mu\text{m}$, et possèdent jusqu'à 7 colonies alors que les microconidies sont absentes. Ces caractéristiques correspondent à l'espèce *Fusarium pseudograminearum*. Selon la clé de Leslie et Summerell (2006).

Discussion

La détermination morphologique de l'espèce d'un isolat de *Fusarium sp.* repose sur l'observation de nombreuses caractéristiques anamorphiques sur des milieux de culture bien définis. Lorsque toutes les informations nécessaires sont recueillies, l'identification pourra être réalisée en utilisant la clé de références de Leslie et Summerell (2006). Cette clés permettent d'identifier la très grande majorité des espèces de *Fusarium spp.* que l'on peut isoler des céréales. Toutefois, il n'est pas à exclure que pour certains isolats, l'identification soit impossible par les moyens classiques (dégénérescence de la souche, nouvelle espèce, variant inconnu d'une espèce donnée, etc.)

6. Etude de la pathogénie des isolats et de la sensibilité des lignées

6.1. Comparaison des techniques d'inoculation

Dans le premier essai de la comparaison des techniques d'inoculation, 2 isolats de *Fusarium* ont été testés, le *F.culmorm* et *F.graminearum*. Les résultats ont montré qu'indépendamment des techniques d'inoculation, tous les isolats ont induit une décoloration au niveau du collet engendrant des indices de sévérités différents, alors que les plantules témoins n'ont pas montré de symptômes d'attaque.

Les résultats obtenus par les deux techniques ont montré aussi que l'agressivité des isolats testés diffère significativement. Globalement, la technique d'inoculation par fragment de mycélium a induit des indices de sévérité plus élevés que ceux obtenus par la technique d'inoculation par suspension sporale. Toutefois, pour les isolats les plus agressifs et les moins agressifs les résultats sont similaires par les deux techniques d'inoculation.

Tableau 8 : indice moyen de sévérité de *F.culmorum* et *F.graminearum* sur les cinq lignées testées.

Lignée Infection par	L1	L2	L3	L4	L5
Mycélium de l'isolat BD11	3.38	1.88	1.77	2.33	1.55
Suspension sporale de l'isolat BD11	2.77	1.44	1.66	2	1.33
Mycélium de l'isolat R ₂ 14	1.11	0.66	0.55	0.88	0.77
Suspension sporale de l'isolat R ₂ 14	0.88	0.66	0.55	0.77	0.66

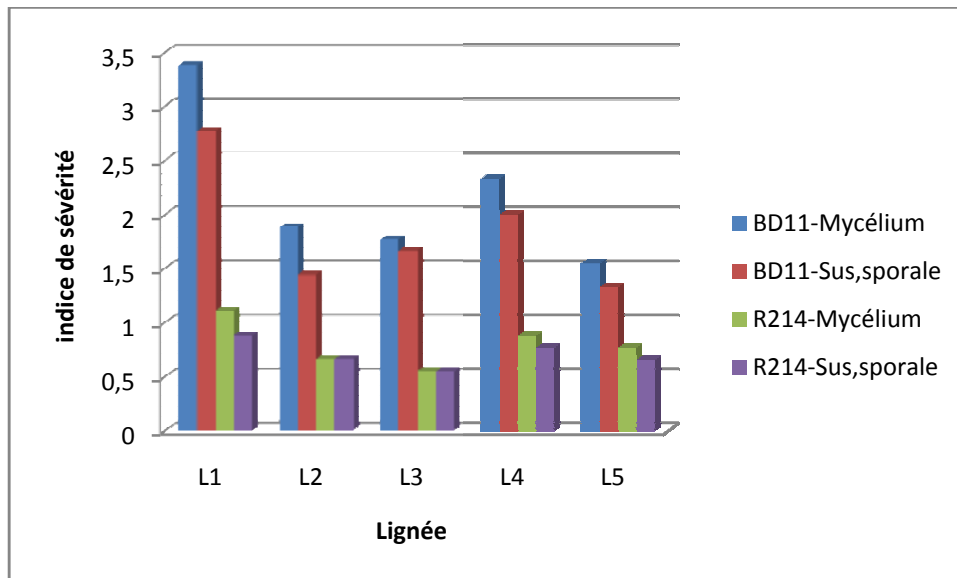


Figure 27 : Indices moyen de sévérité de *F.culmorum* et *F.graminearum* sur les cinq lignées testées.

6.2. Agressivité de BD11 et R₂14

Afin d'évaluer l'agressivité des deux isolats de *F.culmorum* et *Fg.* un suivi est réalisé quotidiennement jusqu'à 15 jours après l'inoculation artificielle, et des notations sont faites après arrachage des plants de blé. Ces dernières sont faites avec une échelle de notation de 0 à 5.

Les premiers symptômes commencent à apparaître 5 jours après l'inoculation du collet par le mycélium, tandis qu'ils n'ont pas apparu qu'après 8 jours de l'inoculation par la suspension sporale.

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 l'espèce. En effet, l'indice de sévérité varie de 1,33 à 3,38 pour l'espèce *F.culmorum*, de 0,66 à 1,11 pour l'espèce *F.graminearum*, donc ce test a montré que l'espèce *F. culmorum* a induit un indice de sévérité de la maladie le plus élevé que celle de l'espèce *F.graminearum*.

6.3. Sensibilité des lignées de blé testées à la fusariose

6.3.1. Sensibilité des lignées vis-à-vis le *F.culmorum*

L'inoculation du collet par le mycélium de l'isolat BD11, a induit des indices de sévérité d'attaque varie entre 1,55 et 3.88 selon les lignées. D'après l'analyse de la variance (ANOVA), les résultats obtenus sont hautement significatifs car la PROBA est de 0.006 (tableau, 9)

Tableau 9 : analyse de variance. Cas d'infection par mycélium de BD11.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
Var.TOTALE	8,596	14	0,614		
Var.FACTEUR 1	6,367	4	1,592	7,144	0,006
VAR.RESIDUELLE 1	2,228	10	0,223		

D'après le tableau qui représente le test de Newman-Keuls, ces traitements (degré de symptômes) sont classés dans un ordre décroissant L1, L4, L2, L3 et L5. Avec un classement de traitements en deux groupes homogènes. Le groupe A contient une seule lignée (L1) qui se distingue de l'autre groupe (B) qui contient quatre lignées qui sont L4, L2, L3 et L5. (Tableau 10)

Tableau 10 : répartition de groupes homogènes en cas d'inoculation par le mycélium de BD11.

Id	Modalité	Moyenne	Groupes homogènes	
1	L1	3,387	A	
4	L4	2,330		B
2	L2	1,887		B
3	L3	1,773		B
5	L5	1,553		B

Ces résultats ont montré que la lignée 1 est la plus sensible à l'isolat, tandis que la lignée 5 la plus résistante (figure28)

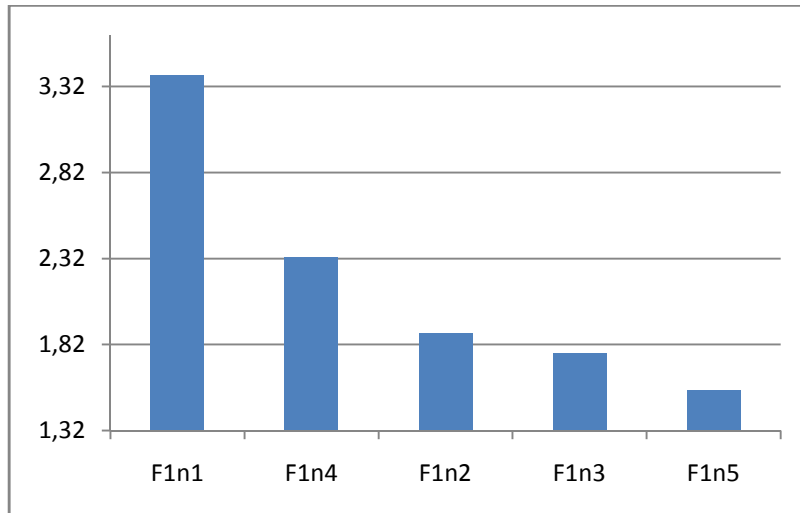


Figure 28 : Indices de sévérité moyens obtenus sur des plantules de lignée inoculées par le mycélium de BD11.

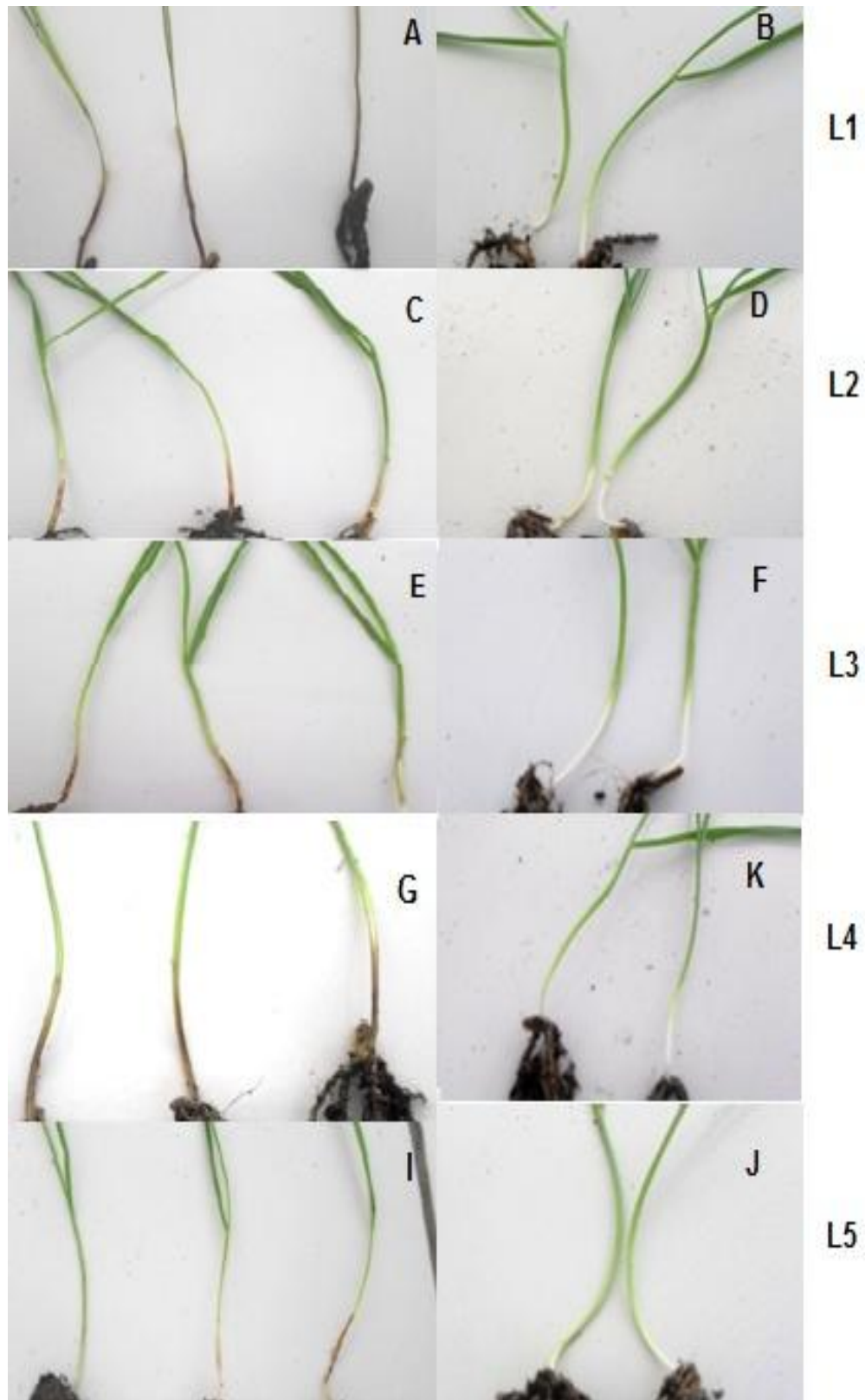


Figure 29 : Degré de symptômes au collet des plantes inoculés par le mycélium d'isolat BD11

Plantes inoculées (à droite), témoins (à gauche).

Résultat et discussion

L'inoculation du collet par la suspension sporale de l'isolat BD11, a induit des indices de sévérité d'attaque varie entre 1,33 et 2,77 selon les lignées. D'après l'analyse de la variance (ANOVA), les résultats obtenus sont significatifs car la PROBA = 0.0046

Tableau 11 : Analyse de la variance. Cas d'inoculation par suspension sporale de BD11.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
Var.TOTALE	6,854	14	0,490		
Var.FACTEUR 1	4,044	4	1,011	3,598	0,046
VAR.RESIDUELLE 1	2,810	10	0,281		

D'après le tableau qui représente le test de Newman-Keuls, ces traitements (degré de symptômes) sont classés dans un ordre décroissant L1, L4, L2, L3 et L5. Avec un classement de traitements en deux groupes homogènes. Le groupe A contient trois lignée (L1, L4 et L3) qui se distingue de l'autre groupe (B) qui contient quatre lignées (L4, L2, L3 et L5).

Tableau 12 : Répartition de groupes homogènes en cas d'inoculation par suspension sporale de BD11.

Id	Modalité	Moyenne	Groupes homogènes	
1	L1	2,773	A	
4	L4	2,000	A	B
3	L3	1,663	A	B
2	L2	1,440		B
5	L5	1,330		B

Ces résultats ont montré que la lignée 1 est la plus sensible à l'isolat BD11, tandis que la lignée 5 est la plus résistante (figure.30).

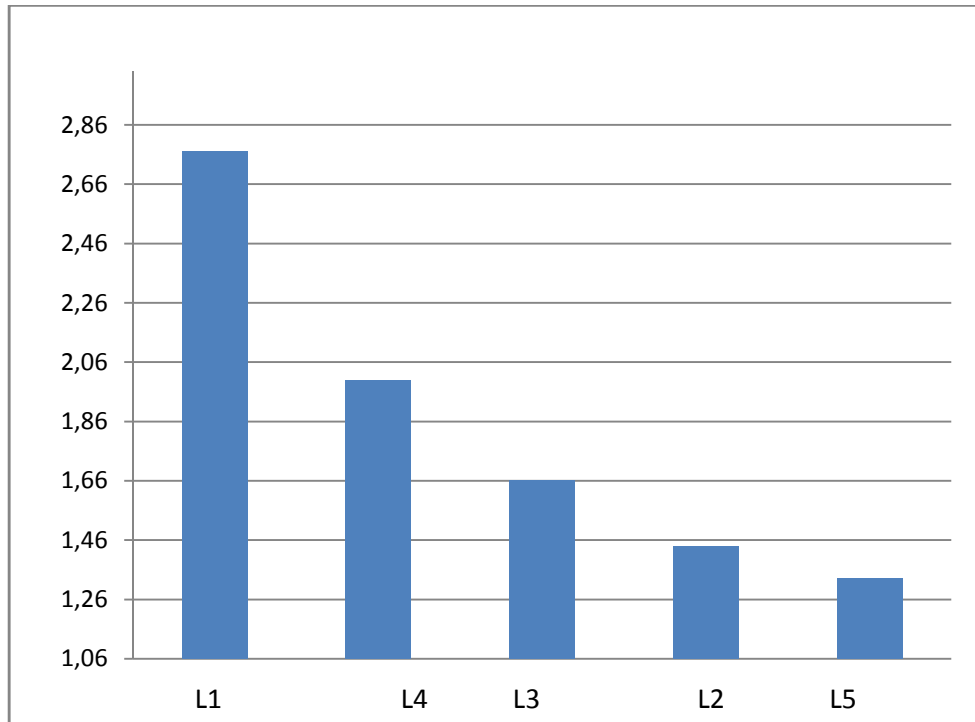


Figure30 : Indices de sévérité moyens obtenus sur des plantules de lignée inoculées par la suspension sporale de BD11.

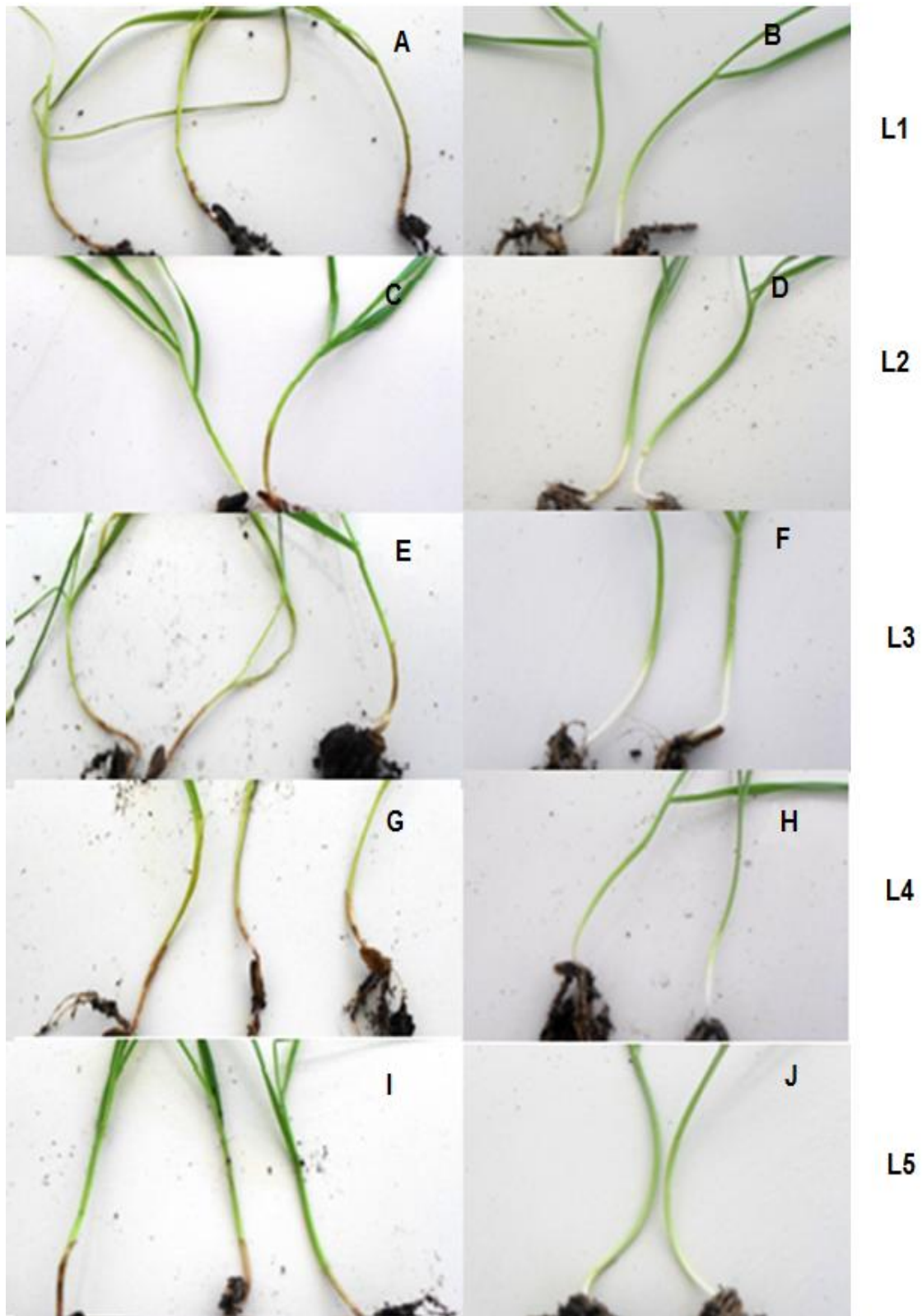


Figure31 : Degré de symptômes au collet des plantes inoculés par la suspension sporale d'isolat BD11 inoculées (à droite), témoins (à gauche).

6.3.2. Sensibilité des lignées vis-à-vis de *F.graminearum*

L'inoculation du collet par le mycélium de l'isolat R₂14, a induit des indices de sévérité d'attaque entre 0,55 et 1,11. L'analyse de la variance a montré que les résultats sont non significatifs (la PROBA > 0,05) (tableau13), ces degrés varient entre 0,66 et 0,88 en cas d'inoculation par la suspension sporale et les résultats obtenus sont aussi non significatifs (PROBA > 0,05).

Tableau13 : Analyse de variance. Cas d'inoculation par mycélium de R₂14.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
Var.TOTALE	2,194	14	0,157		
Var.FACTEUR 1	0,792	4	0,198	1,413	0,299
VAR.RESIDUELLE 1	1,402	10	0,140		

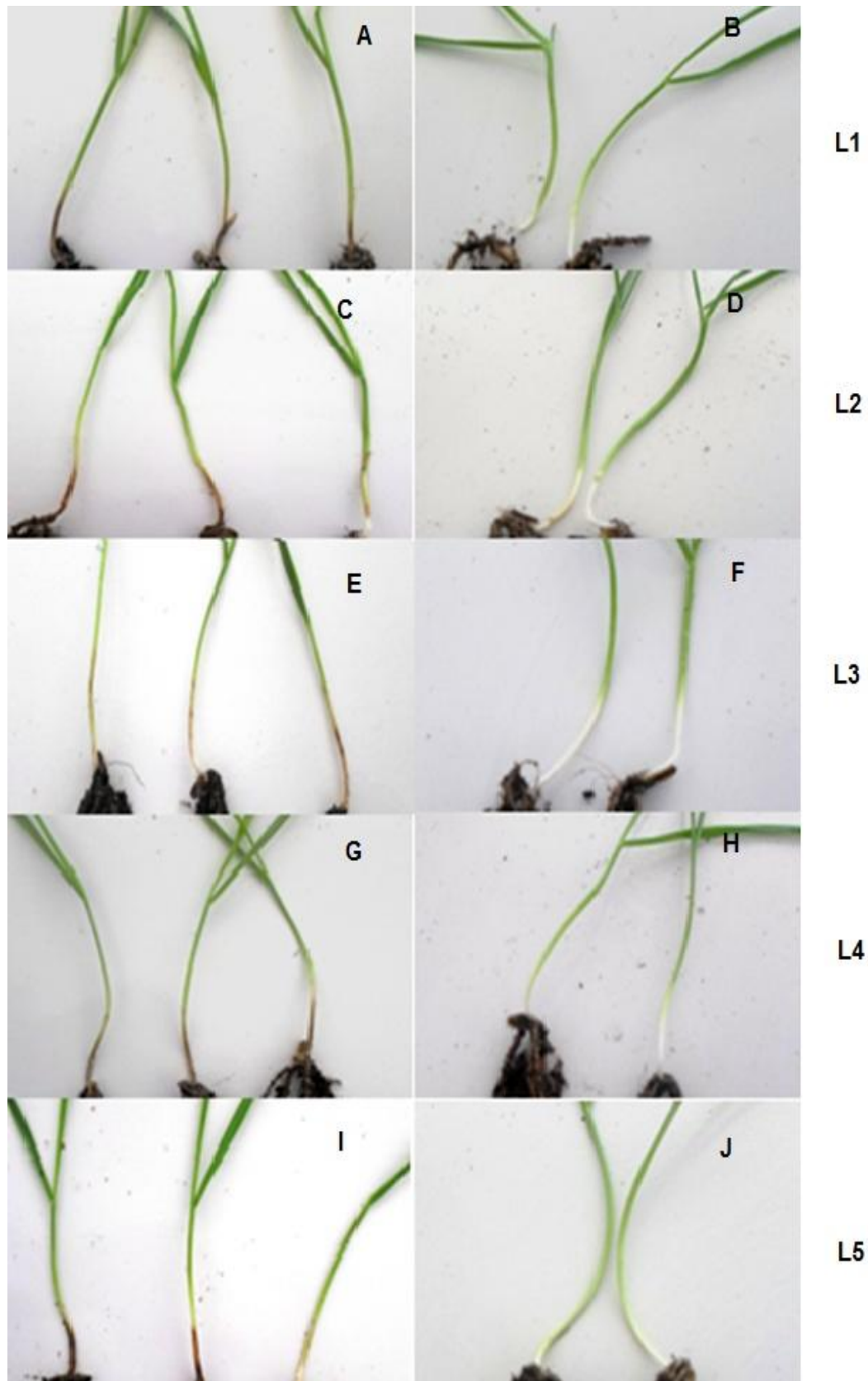


Figure 31 : Degré de symptômes au collet chez les plantes inoculées par le mycélium d'isolat R₂₁₄. Plantes inoculées (à droite), témoins (à gauche).

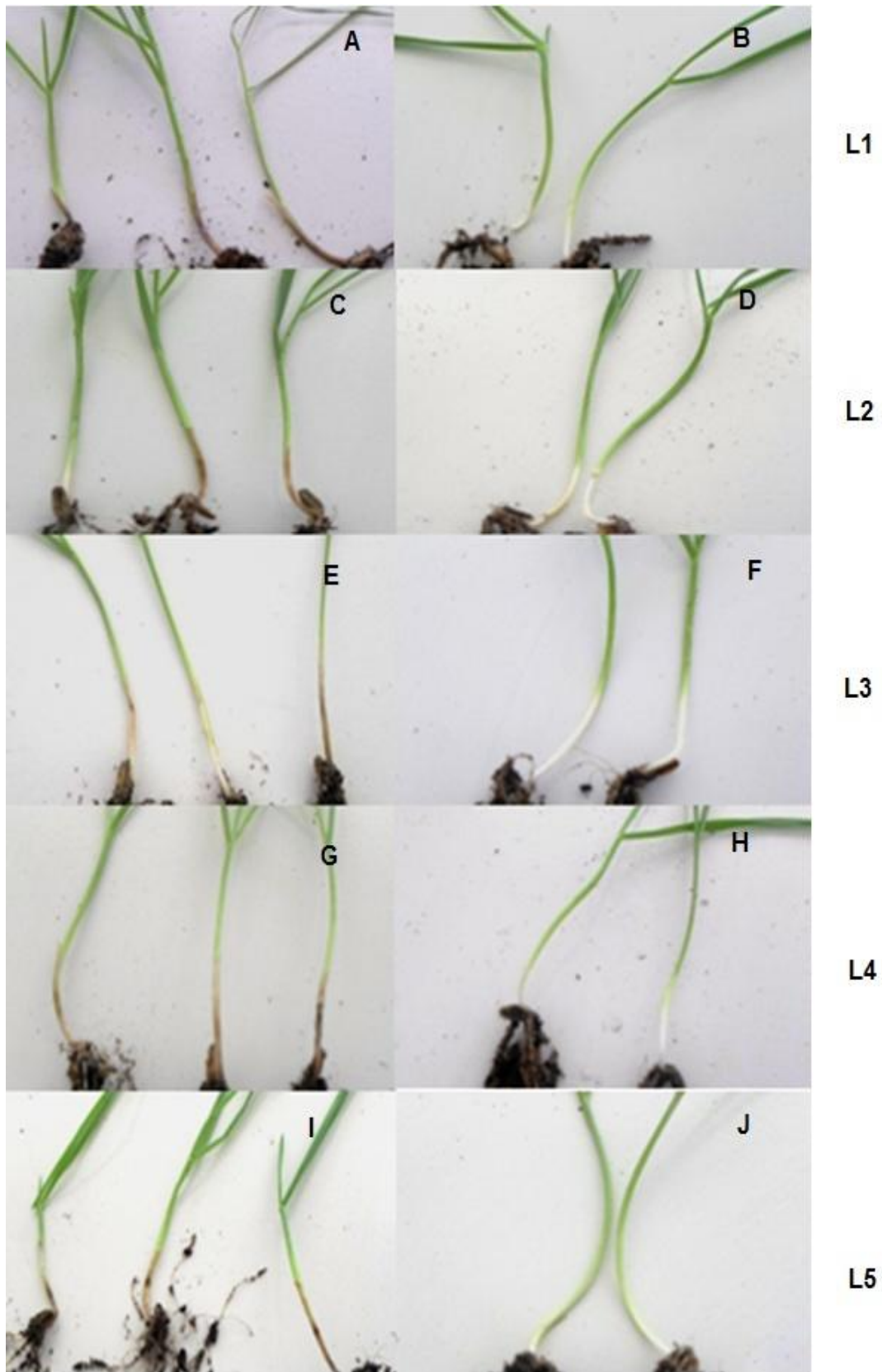


Figure32 : Degré de symptômes au collet inoculés par la suspension sporale d'isolat R₂14.

Plantes inoculées (à droite), témoins (à gauche).

Discussion

Différentes méthodes d'inoculation ont été décrites dans la littérature pour évaluer la pathogénie et l'agressivité des espèces de *Fusarium*. Ces méthodes incluent : l'inoculation des grains en les plaçant sur du papier filtre imbibé d'inoculum (Brennan et al., 2003; Mesterházy, 1983), l'inoculation des plantules soit en utilisant un sol infesté (Smiley et Patterson, 1996) soit des gains inoculés (Mishra et al., 2003), l'inoculation des plantules par l'ajout sur la surface du substrat de grains inoculés et broyés (Wang et al., 2006) ou par une suspension sporale (Carter et al., 2002) ou en plaçant un fragment d'agar mycélien à la base du collet (Fernandez et Chen, 2005 ; Tunali et al., 2006), ou bien l'inoculation des coléoptiles en couvrant leurs bouts par des pièces de papiers filtres imbibés de suspension sporale (Wu et al., 2004).

Les résultats ont montré qu'indépendamment des techniques d'inoculation, tous les isolats ont induit une décoloration au niveau du collet engendrant des indices de sévérités différentes. Ainsi, pour évaluer la pathogénie et l'agressivité des espèces de *Fusarium* les deux techniques peuvent être utilisées. Cependant, la technique d'inoculation par fragment mycélien semble être plus facile et demande moins de temps. De plus, certains isolats de *F. pseudograminearum* n'ont pas pu sporuler abondamment. A cet effet, cette technique a été adoptée pour tester les autres espèces de *Fusarium* et de *Microdochium* sachant que cette méthode d'inoculation a été précédemment utilisée par Fernandez et Chen (2005) et Tunali *et al.* (2006).

Au cours de cette étude, deux techniques d'inoculation ont été évaluées et comparées entre elles: l'inoculation des plantules par une suspension sporale, et l'inoculation par fragment mycélien. Dans les deux cas, l'inoculum a été déposé de manière adjacente à la plantule au niveau du collet.

L'étude de l'agressivité de deux espèces a montré que les espèces *F. culmorum* est plus agressives que *F. graminearum*. En 2005 Smiley *et al.* ont rapporté que les espèces *F. culmorum* et peut engendrer des niveau d'attaque plus élevé que *F. graminearum*. Les résultats trouvés au cours de cette étude sont aussi en accord avec les travaux de Tunali *et al.* (2006). Ces derniers ont noté que la pathogénie causée par l'espèce *F. culmorum* sur des plantules de blé est plus élevée que celle causée par le *F. graminearum*

Afin d'identifier les champignons responsables de la pourriture du pied du blé en Tunisie qui est un pays voisin, des prospections ont été faites par Gargouri *et al.*, (2001) les

champignons les plus fréquemment isolé étaient *F.culmorum* (70%) et *F.graminearum* sont les deux espèces qui causent les dégâts sur le collet du blé (Liu et al., 2008). En étudiant l'agressivité des espèces de *Fusarium* en Tunisie, Kammoun-Gargouri (2010) a montré que l'espèce *F.culmorum* est plus agressive que *F.graminearum*.

Parmi les moyens de lutte contre la fusariose de l'épi figure la résistance variétale, c'est ainsi qu'au cours de cette étude on s'est intéressé aussi à l'étude de la sensibilité de cinq lignée de blé dur. Les résultats de cet essai ont indiqué que toutes les lignées testées ont montré des symptômes d'attaque montrant leur sensibilité vis-à-vis à la fusariose.

Les résultats obtenus dans le cas d'inoculation des plantules par le *F.culmorum* montrent une signification importante qui nous a permet de classer les lignées en fonction de leur sensibilité contre cette espèce. La lignée L1 est la plus sensible, au contraire la lignée L5 est la plus résistante. Cependant les résultats obtenus après l'inoculation de ces lignées par le *F.graminearum* ne sont pas significatifs, ce résultat explique qu'il n'y a pas une différence significative entre la réaction de ces lignée contre cet espèce malgré que le degré de sévérité le plus élevé a été enregistré chez la lignée 1 et le plus faible chez la lignée 5.

Des interactions cultivar \times souche traduisent l'acquisition d'une certaine spécificité de l'agressivité des souches sous l'effet d'une pression de sélection exercée par les hôtes sur la population de l'agent pathogène (Rapilly et al. 1989). Cette pression peut favoriser les éléments de la population les plus aptes à se multiplier chez un cultivar déterminé, et une érosion de la résistance générale pourrait en résulter (Beye et Lafay 1988). Un phénomène semblable pourrait se produire dans le pathosystème blé et *F. graminearum*.

D'autre part le *F. graminearum* exige des conditions chaudes, une humidité relative élevée (92%), (Cook, 1981), cela nous peut donner une autre hypothèse, les conditions climatiques pouvaient être non favorable pour une croissance optimale de l'inoculum de *F.graminearum* pendant test.

Extraction des mycotoxines et la migration sur la plaque CCM

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

Après le dessèchement de la plaque à l'air et éventuellement au sèche-cheveux pour évaporer entièrement l'éluant, rien n'a été observé sur la plaque, mais l'utilisation d'une lampe UV permet de mettre en évidence sous forme de taches sombres des substances qui absorbent les UV, elle (figure 33).

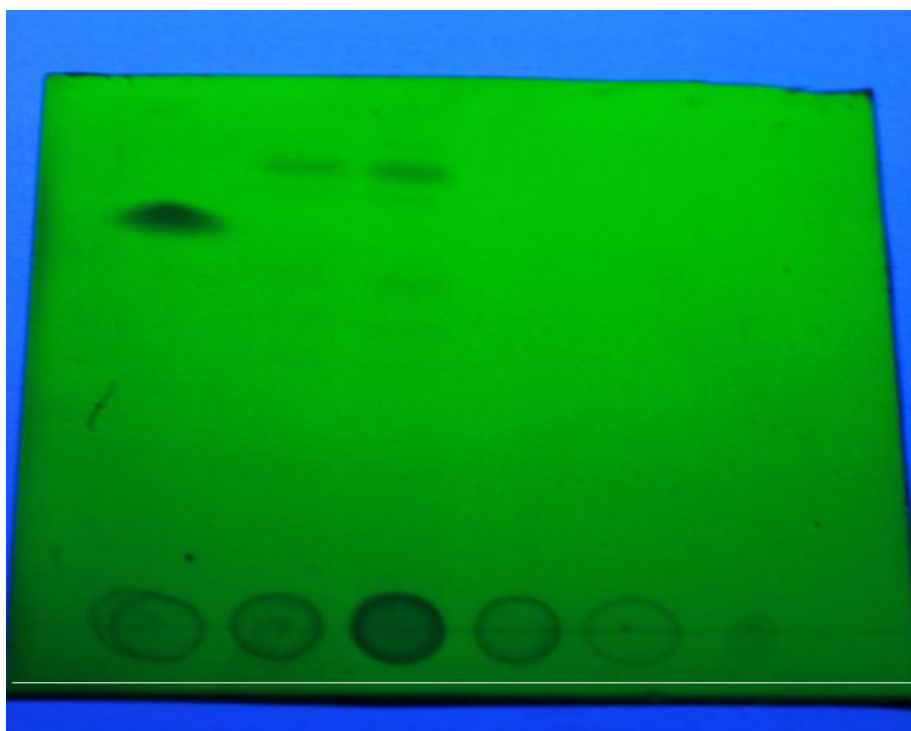


Figure 33: révélation de la plaque CCM sous les rayons UV.

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

Les résultats montrent que les deux isolats BD11 et R₂14 ont le même profil c'est à dire qu'ils ont produit le même type de toxine cependant le 3^{ème} isolat BD06 a un profil différent ce qui nous laisse dire qu'il produit un autre type de toxine. Sachant que le BT11 et de chémotype DON/ 3Adon et le BD06 est de chémotype NIV/FX, nous avons pu identifier le

chénotype de l'isolat R₂14 qui a le même profil que BT11, c'est à dire que l'isolat R₂14 produit de DON/3Adon.

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

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

Différentes mycotoxines peuvent être produites, il s'agit essentiellement des mycotoxines appartenant à la famille des trichothécènes et plus précisément au sous groupe des trichothécènes B (TCTB). Parmi les espèces productrices de TCTB, il est possible de distinguer, d'une part, les isolats de chénotype DON qui synthétisent du Deoxynivalenol (DON) et ses formes acétylées (3- et 15-ADON) produite par *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* et d'autre part, les isolats de chénotype NIV qui synthétisent du Nivalénol (NIV). Les NIV sont considérés comme plus toxiques à l'homme et aux animaux alors que les DON peuvent être plus phytotoxiques (Bottalico, 1998).

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

L'utilisation de l'appareil photospectromètre nous a permis de quantifier la dose des TCTB synthétisées par chaque souche. Les résultats obtenus montre que la D.O à une longueur d'onde de 230 nm de chaque isolats est ; 3,12 pour le R₂14, 3,18 pour la T7 et 4 pour la BD11.

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

Discussion

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

toxino-gène d'une souche a été arbitrairement défini au laboratoire par le type et la teneur en mycotoxines de grains stériles inoculés et placés à 25°C pendant 21 jours ($a_w \approx 1$). En effet, la production de mycotoxines par *Fusarium* serait induite sur certains substrats solides naturels (Megalla et al., 1987 ; Bily, 2003).

Cependant, ces types de milieux sont très complexes tant par leurs structures que par leurs compositions biochimiques et ne facilitent donc pas l'étude de l'influence de composés individuels sur la biosynthèse des mycotoxines (Bakan, 1998 ; Bily, 2003). Les milieux de culture liquides sont généralement mieux adaptés pour ces types de travaux.

L'étude de la production de mycotoxines par *Fusarium* en culture liquide peut s'effectuer à l'aide de différents types de milieux. Nous avons alors défini la notion de potentiel toxino-gène "en cultures liquides" qui, comme le potentiel toxino-gène "sur grains" est défini par la capacité des souches, qualitative (chénotype DON/ADON ou NIV/FX) et quantitative, à produire des mycotoxines en cultures liquides.

La production de mycotoxines par *Fusarium* est également induite sur certains milieux de culture liquide. Dans le premier chapitre de cette thèse, nous avons étudié les variations du potentiel toxino-gène "en cultures liquides" en fonction des souches de *Fusarium*, du dispositif de culture mis en œuvre, du milieu de culture utilisé et du temps. Nous avons également comparé les potentiels toxino-gènes "en cultures liquides" de souches de *Fusarium* à leurs potentiels toxino-gènes "sur grains".

L'effet chénotype a bien apparu dans ce teste, car les deux isolats, T7 et BD11 qui sont de même espèce (*F.culmorum*) ne montrent pas les même taches sur la plaque CCM. Cependant l'isolat BD11 et l'isolat R₂14, et malgré ils sont des espèces différentes mais ils présentent des taches qui sont identiques avec une seule différence qui est la densité optique de ces dernières.

L'analyse des extraits des TCTB par le spectrophotomètre montre que la concentration des toxines produites par l'isolat BD11 est la plus élevée que celles produites par le R₂14 et T7.

Dans le test d'agressivité des deux isolats dans cette thèse, les résultats obtenus montrent que l'isolat BD11 est plus agressif que l'isolat R₂14 et la D.O de l'isolat BD11 est importante par rapport à celle de l'isolat R₂14, nous constatons qu'il ya une corrélation entre la quantité des toxines produites et l'agressivité des isolats, ceci peut etre expliqué par le role que joue les TCTB dans l'agressivité des *Fusarium*. Beaucoup de travaux confirment nos

résultats nous citons les travaux de Hestbjerg *et al.*, (2002) qui ont montré une corrélation positive entre agressivité et niveau de DON produit dans des plantules d'orge inoculées par des isolats de *F. culmorum*. Et aussi les résultats obtenus par les travaux. (Boutigny,2007)

Conclusion

Le blé constitue une céréale d'importance primordiale d'un point de vue économique et en tant que denrées alimentaires pour l'homme. En Algérie la culture du blé est parmi les grandes cultures ayant une importance dans la politique agricole du pays. Elle représente, en effet, environ 50% des cultures céréalières. Toutefois, au cours de son développement, la culture du blé est sujette à la variation des conditions climatiques et aux attaques de pathogènes pouvant influencer négativement la production en quantité et en qualité.

La première partie de cette étude a visé l'isolement et l'identification des espèces fusariennes à partir de plusieurs semences de blé qui viennent de 3 étages bioclimatiques différents (Laghouat, Alger et Sétif). Il s'agit d'une étape indispensable pour renforcer nos connaissances sur les différentes espèces qui affectent le blé dans des régions agricoles différentes. En se basant sur les caractéristiques morphologiques des isolats de fusa isolés, trois espèces ont été identifiées à savoir : *F. graminearum*, *F. pseudograminearum*, *F. poae*.

La deuxième partie de ce travail a porté sur l'étude de la pathogénie et de l'agressivité des deux espèces fusarienne (*F. culmorum* et *F. graminearum*) sur cinq lignées de blé dur, et en même temps l'évaluation de la sensibilité de ces dernières vis-à-vis des deux isolats fusariens. Dans un premier temps, deux techniques d'inoculation ont été testées et comparées entre elles. Toutefois la technique d'inoculation par fragment mycélien semble être plus simple et demande moins de temps. Les résultats obtenus montrent l'uniformité de la technique d'inoculation par fragments mycéliens. Cette dernière a été adoptée pour réaliser les tests de pathogénie. Cette étude a montré aussi que l'agressivité des isolats testés a varié entre les deux espèces testées. *Le Fusarium culmorum* a montré une agressivité plus élevée que le *Fusarium graminearum*.

Suite à ces essais, nous avons pu caractériser la sensibilité de cinq lignées de blé dur à la fusariose du collet. Les résultats ont montré que toutes les variétés testées sont sensibles à la cette maladie, mais chaque lignée présente un niveau de sensibilité différent. Dans le cas l'inoculation par le *Fusarium culmorum*, La lignée L1 est la plus sensible pour les deux méthodes, cependant les lignées L3 et L5 sont les plus résistantes parmi ces lignées testées, et dans le cas de l'inoculation par le *Fusarium graminearum*, le résultat obtenu est non significatif, donc un classement des lignées en fonction de leur sensibilité a cet espèce n'est pas évident.

Conclusion

Le dernier volet de cette étude a porté sur l'évaluation le potentiel toxigène, dans notre étude, trois isolats de *Fusarium* sont testés, deux de *F.culmorum*, et un isolat de *F.graminearum*.

Les résultats montrent que seulement «3 isolats de Fusarium sont toxigènes et produisent deux types de toxines, donc nous avons deux chémotypes ;

- Chémotype1 : DON/3Adon il s'agit des isolats Bd11 et R214 .
- Chémotype 2 : NIV/FX, il s'agit de l'isolat BD06.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFSSA, (2006), "Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport synthétique.
- Agrios, J. TeKrony, D. Hershman, D. VanSanford, D. Hall, M. Kennedy, B. Rucker, M. Edge, C. 2005. *Fusarium* head blight infection following point inoculation in the greenhouse compared with movement of *Fusarium graminearum* in seed and floral components. *Crop Science* 45, 626–634.
- Alexander N. J., McCormick S. P., Waalwijk C., Van Der Lee Theo, Proctor R. H. « The genetic basis for 3-ADON and 15-ADON trichothecene chemotypes in *Fusarium* ». *Fungal Genetics and Biology*. mai 2011. Vol. 48, n°5, p. 485-495.
- Alvarez CL, Somma S, Moretti A, Fernandez Pinto V, 2010. Aggressiveness of *Fusarium* and pertinent economic factors. *Handbook of Appl. Mycology : mycotoxins in ecological*
- Aouali.S., Douici.K.A. (2009). *Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie* : ITGC. P. 10-15.
- Aouli, S.et Douici-Khalfi A. (2009).*Receuil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie*. ITGC. pp.10-15.
- Arbault,P. et Daussant, J. 2005. Méthodes d'analyses immunochimiques pour le contrôle de la qualité dans les IAA. Tec. Et Doc. Lavoisier.409p.
- Arsan MR, Eraky Amal MI. (2011). Aggressiveness of certain *Fusarium graminearum* isolates on wheat seedlings and relation with their trichothecene production. *Plant Pathology* 10(1), 36-41.
- Arseniuk, E., Foremska, E., Goral, T., Chelkowski, J. 1999. *Fusarium* head blight reactions and accumulation of deoxynivalenol (DON) and some of its derivatives in kernels of wheat, triticale and rye. *Journal of Phytopathology* 147, 577-590.
- Arseniuk.E., Foremska.E., Goral.T et Chelkowski.J. (1999). *Fusarium head blight reactions and accumulation of deoxynivalenol (DON) and some of its derivatives in kernels of wheat, triticale and rye*. *Journal of Phytopathology* p. 147, 577-590.
- Audenaert K, Van Broeck R, Bekaert B, De Witte F, Heremans B, Messens K, Höfte M, Haesaert G. (2009). *Fusarium* head blight (FHB) in Flanders: population diversity, inter-species associations and DON contamination in commercial winter wheat varieties. *European Journal of Plant Pathology* 125, 445–458.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bai G, Shaner G. (1994). Scab of wheat: Prospects for control. *Plant Disease* 78, 760–766.
- Bai, G.H., et Shaner, G. 1994. Scab of wheat: prospects for control. *Plant Disease* 78: 760-766.
- Benmokhtar.T., Khafi.D. (1999). *Contribution à l'étude des virus des céréales : caractérisation biologique des virus de la mosaïque du blé et de l'orge WMSV, BSMV*. Mémoire d'ingénieur en agronomie. INA. El-Harrach. 55 p.
- Bensmira, S. (2006). « Isolement et caractérisation de souches de milieux extrêmes (SoL
- Bergstrom G.C. et Shields E.J. (2002). Atmospheric spore dispersal and regional epidemiology of the *Fusarium* head blight fungus. *Phytopathology* pp 92-93.
- Bergstrom G.C. et Shields E.J., (2002). Atmospheric spore dispersal and regional epidemiology of the *Fusarium* head blight fungus. *Phytopathology* pp 92-93.
- Beye, I. et J.F. Lafay. (1988). Verticilliose de la tomate : conséquences des interactions entre l'agressivité de l'agent pathogène et la résistance de l'hôte au niveau des populations. *Agronomie* 8: 435-439.
- Boca Raton FL, 287-301.
- Bonjean., Picard. (1990). *Les céréales à paille : origine, histoire, économie, sélection*. Paris : Softword – Groupe ITM. 208 p.
- Bottalico A., Perrone G. « Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe ». *European Journal of Plant Pathology*. (2002). Vol. 108, n°7, p. 611–624.
- Botton.B., Bretton.A., Fevre M., Guy P., Larpent JP et Veau P. (1990). « *Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle* ». 2^{ème} éd, Paris : Masson. 512 p.
- Boukhris.L. (1992). *Identification des bactéries phytopathogènes transmissibles par la semence du blé en Algérie*. Mémoire Ing. Agro. Département de botanique, INA El harrach, 73 p.
- Bouraghda , H. Cherira Djeghmoum et N'ab il Bouroubi, (2005). « Etude de la croissance *in vitro* et de l'agressivité de quelques isolats de *Fusarium* spp. agent de la gale de l'épi et des
- Bouraghda.H., Djeghmoum.C et Bouroubi.N. (2005). « *Etude de la croissance in vitro et de l'agressivité de quelques isolats de Fusarium spp. Agent de la gale de l'épi et des pourritures*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

racinaires du blé ». Thèse de Magister. EI Harrach : Institut National Agronomique (INA). 8 p.

Boutigny. A. (2007). « Etude de l'effet de composés du grain de blé dur sur la régulation de la voie de biosynthèse des trichothécènes B : purification de composés inhibiteurs, analyse des mécanismes impliqués ». Thèse de doctorat. Université de Bordeaux 1. 202 p.

Brennan JM, Fagan B, Van Maanen A, Cooke BM, Doohan FM. (2003). Studies on *in vitro* growth and pathogenicity of European *Fusarium* fungi. *European Journal of Plant Pathology* 109, 577–587.

Brown NA, Urban M, Van De Meene AML, Hammond-Kosack KE. (2010). The infection biology of *Fusarium graminearum*: Defining the pathways of spikelet to spikelet colonisation in wheat spikes. *Fungal biology* 114, 555-571.

Burgess.LW., Summerell. B.A., Bullock S., Gott. KP & Backhouse.D. (1994). *Laboratory manual for Fusarium research*, 3rd ed. University of Sydney, Sydney, Australia.

Cahangier,B. (1998). Moisissures des aliments peu hydratés. Lavoisier et Doc, Paris 226.

Carter, J.P., Rezanoor, H.N., Holden, D., Desjardins, A.E., Plattner R.D., et Nicholson,

Castegnaro M., Pfohl-Leszkowicz A., (2002), Les mycotoxines : contaminants omniprésents

Champeil, A., Doré, T., Fourbet, J.F. (2004). *Fusarium* head blight: epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by *Fusarium* in wheat grains. *Plant Science* 166, 1389-1415.

CHAMPION, R., (1997). Identifier les champignons transmis par les semences. Techniques et Pratiques. INRA Editions p166 à 197.

Chermette. R., Bussieras.J. (1993). *Parasitologie vétérinaire : Mycologie*. Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort. chez le blé tendre ». *Agronomie* 13, 829-833.

Clement.G., PRAT. (1970). *Les céréales*. Collection d'enseignement agricole. 2ème Ed. p. 351-360.

Cook, R.J. 1981. *Fusarium* diseases of wheat and other small grains in North America. In: Coppock R.W., Swanson S.P., Gelberg H.B., Koritz G.D., Hoffman W.E., Buck W.B.,

Coulombe R.A., (1993), Biological action of mycotoxins, *J. Dairy Sci.*, 76, 880-891.

Cumagun CJR, Bowden RL, Jurgenson JE, Leslie JF, Miedaner T, 2004. Genetic mapping of pathogenicity and aggressiveness of *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) toward wheat. *Phytopathology* 94, 520-526.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Davet.P., Rouxel.F. (1997). « *Détection et isolement des champignons du sol* ». INRA éd. Paris : 201 p.

Deoxynivalenol (vomitoxin) in swine, *Am. J. Vet. Res.*, 46 (1), 169-174.

Desjardins A. E. *Fusarium mycotoxins: chemistry, genetics and biology*. : APS Press, 2006. 280 p.ISBN : 9780890543351.

Desjardins AE, Proctor RH, Bai GH, McCormick SP, Shaner G, Buechley G, Hohn TM, Detection and quantification of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* in cereals

Diamond H. & Cooke B.M. (2003) Preliminary studies on biological control of the *Fusarium* ear blight complex of wheat. *Crop Protection*, 22, 99-107.

DiMello J.P.F., Parker J.K., MacDonald A.M.C., Placinta C.M., (1997), *Fusarium*

Diplôme de Magister. Constantine. Université de Mentouri. 166 p.

Djermoun A. *Revue Nature et Technologie*. n° 01/Juin 2009. Pages 45 à 53.

DOOHAN F. M., BRENNAN J. et COOKE B. M., (2003). "Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals". *Eur. J. Plant Pathol.* 109, 755-768.

ed Dabook. 111p.

édition. Paris. 201 p.

Eudes, F., Comeau, A., Rioux, S., & Collin, J. (2000). Phytotoxicity of eight mycotoxins associated with the fusariosis of wheat spikelets. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 22, 286-292.

Feillet.P. (1977). « *Le grain de blé: Composition et utilisation* ». INRA. Paris : p. 1, 5, 6-281.

Feillet.P. (2000). *Le grain de blé. Composition et utilisation. Mieux comprendre*. INRA. ISSN: 1144- 7605. ISBN: 2- 73806 0896- 8. 308 p.

Feldman.M. (2001). *Origin of cultivated wheat*. In Bonjean A.P. et Angus W.J. (ed). *The world wheat Book: a history of wheat breeding*. Intercept limited, Andover, Angle Terre. p. 3-58.

Fernandez, M.R., et Chen, Y. (2005). Pathogenicity of *Fusarium* species on different plant parts of spring wheat under controlled conditions. *Plant Disease* 89: 164-169.

Fox EM, Howlett BJ. (2008). Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology. *Current Opinion in Microbiology* 11, 481–487.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Frael L., Shaner G., Bergstrom G., Gilbert J., Pedersen W., Dill-Macky R, Corwin B.,
Fusarium head blight and related mycotoxin contamination in wheat. *Food and Chemical
Fusarium* species associated with pokkah boeng on sugarcane”. Master of Science. Malaysia.
Fusarium: Diseases, biology and taxonomy. (Eds Nelson, P.E., Tousson, T.A., et Cook, R.J.)
(The Pennsylvania State University Press, University Park), pp 39-52.
- Gallenberg D. et Wiersma J., (1999). Daily inoculum levels of *Gibberella zeae* on wheat
- Gargouri.S., Hajlaoui. M.R., Gurmech.A et Marrakchi.M. (2001). *Identification des espèces
fongiques associées à la pourriture du pied du blé et leur répartition selon les étages
bioclimatiques.* EPPO/OEPP Bulletin 31. p. 499-503.
- Glynn. NC., Hare. MC., Parry DW & Edwards.SG. (2005). *Phylogenetic analysis of EF-1
alpha gene sequences from isolates of Microdochium nivale leads to elevation of varieties
majus and nivale to species status.* Mycol. Res. P. 109, 872–80.
- Gosman N, Srinivasachary, Steed A, Chandler E, Thomsett M, Nicholson P. (2010).
Evaluation of type I *Fusarium* head blight resistance of wheat using non-deoxynivalenol-
producing fungi. *Plant Pathology* 59, 147-157.
- Gosman N, Srinivasachary, Steed A, Chandler E, Thomsett M, Nicholson P, 2010. Evaluation
of type I *Fusarium* head blight resistance of wheat using non-deoxynivalenol-producing
fungi. *Plant Pathology* 59, 147-157.
- graminearum sensu stricto* isolates in wheat kernels in Argentina. *Journal of Phytopathology
graminearum.* European Journal of Plant Pathology 108: 573-583.
- Grignac., P.H. (1978). *Amélioration variétale de blé dur (Triticum durum Desf).* Annale de
l’INA. El –Harrach : p. 83 -110.
- Guenther J, Trail F. (2005). The development and differentiation of *Gibberella zeae*
(anamorph: *Fusarium graminearum*) during colonization of wheat. *Mycologia*, 97(1), 229-
237.
- Hamadache.A. (2001). *Stades et Variétés de Blé.* ITGC. Alger. 7 p.
- Harlan, J.R. (1975). *Crops and man.* Eds John Wiley and Sons. NY. 350 p. In: *Etude de la
contribution des paramètres pheno morphologiques dans l’adaptation du blé dur (Triticum
durum Desf) dans l’étage bioclimatique semi aride.* Mazouz, L. 2006. Mémoire de
Magister.Fac. Sci. Agro/Univ El-hadj Lakhder-Batna.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Horberg H.M., (2002). *Patterns of splash dispersed conidia of Fusarium poae et Fusarium culmorum*. European Journal of Plant Pathology, 108: 73-80.

Horberg H.M., (2002). *Patterns of splash dispersed conidia of Fusarium poae et Fusarium culmorum*. European Journal of Plant Pathology, 108: 73-80.

IOOS R, (2001). « Le *Fusarium* et *Microdochium* sur grains de céréales en France ». Phytoma, la défense des végétaux- N°539 p52-56.

Ioos.R., Belhadj.A. & Menez. M. (2004). *Occurrence and distribution of Microdochium nivale and Fusarium species isolated from barley: durum and soft wheat grains in France from 2000 to 2002*. Mycopathologia. p. 158, 351-362.

Jeunot.B. (2005). « *Les fusaritoxines sur céréales : détection, risques et nouvelle réglementation* ». Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré. Nancy : 111 p.

JUNOT, B., (2005). « *Les fusaritoxines sur céréales : détection, risques et nouvelle réglementation* ». Thèse de doctorat. Nancy. Université Henri Poincaré. 111 p.

Kallou .R.(2008). *Analyse du marché algérien du blé dur et les opportunités d'exportation pour les céréales français dans le cadre du pôle de compétitivité Quali méditerranée*. Thèse Master of Science .PP83.

Kammoun G. L., Gargouri S., Barreau, C., Richard-Forget, F., et Hajlaoui M.R. 2010.

Kang Z. & Buchenauer H. (2002) *Studies on symptom development, phenolic compounds and morphological defence responses in wheat cultivars differing in resistance to Fusarium head blight*. Journal of Phytopathology, 150

Khan N.I., Schisler D.A., Boehm M.J., Lipps P.E. & Slininger P.J. (2004) *Field testing of antagonists of Fusarium head blight incited by Gibberella zeae*. Biological Control, 29, 245-255.

Kolmer,J.,Chen,X. et Jin,Y.(2009).*Diseases which challenge global wheat production-the wheat rusts., wheat science and trade*.pp.89-124.

Kolmer.J., Chen X & Jin Y. (2009). *Deseases which challenge global wheat production- the wheat rusts*. Wheat science and trade. p. 89-124.

Langseth W., Rudberget T., (1999), *The occurrence of HT-2 toxin and other trichothecenes in Norwegian cereals*, Mycopathologia, 147 (3), 157-165

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Lavoisier, Tec&Doc

Leonard.KJ., Bushnell.WR. (2003). *Fusarium* head blight of wheat and barley. St. Paul, U.S.A.: APS Press.

Lepoivre, (2003), « Phytopathologie: bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes ».

Lepoivre. (2003). « *Phytopathologie: bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes* ». éd Dabook. 111 p.

Leslie.JF., Summerel.A. (2006). *The Fusarium laboratory manuel*.1^{ère} éd. Blackwell Publishing. Ioa. 369 p.

Liddell.C.M. (2003). Systematics of *Fusarium* species and allies associated with *Fusarium* head blight. p. 35- 43 in: *Fusarium head blight of wheat and barley*. K. J. Leonard and W. R. Bushnell, eds. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

M.A.D.R. (2007). Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. Annuaire statistiques, Série B.

manuel for identification. The Pennsylvania State University Press. University Park, Pa: 193 p.

Maladies des grandes cultures : Maladies des céréales ». OMAFRA

ONTARIO, [en ligne]. <http://www.omaf.gov.on.ca/french/crops/pub811/14cereal.htm>. [Page consultée Mai, 2014].

Marshal, D. (2009). Diseases which challenge global wheat production-powdery mildew and leaf and head blights., *wheat science and trade*.155-169.

MASCHER F., MICHEL V. et BROWNE R. A, (2005). « Sélection de variétés de blé et de MCMULLEN et al.,(1997). “Environmental conditions associated with *Fusarium* head blight epidemics of wheat and barley in the Northern Great Plains”, USA. In: Proceedings 1997 National *Fusarium* Head Blight Forum, 10-12. November 1997, St Paul, USA, 46-47.

Mesterházy, Á. (1983). Breeding wheat for resistance to *Fusarium graminearum* and *F. culmorum*. *Z. Pflanzenzüchtg* 91: 285-311.

Mesterházy, Á., Bartók, T., Mirocha, C. G., & Komoróczy, R. (1999). Nature of wheat resistance to *Fusarium* head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. *Plant Breeding*, 118, 97-110.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Miedaner.T. (1997). *Breeding wheat and rye for resistance to Fusarium diseases*: Plant Breeding. p. 116, 201-220.
- Miller J.D. & Arnison P.G. (1986) Degradation of deoxynivalenol by suspension cultures of the *Fusarium* head blight resistant wheat cultivar Frontana. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 8, 147-150.
- Miller J.D. & Ewen M.A. (1997) Toxic effects of deoxynivalenol on ribosomes and tissues of the spring wheat cultivars Frontana and Casavant. *Natural Toxins*, 5, 234-237.
- Mishra, P.K., Fox, R.T.V., et Culham, A. 2003. Inter-simple sequence repeat and aggressiveness analyses revealed high genetic diversity, recombination and long-range dispersal in *Fusarium culmorum*. *Annals of Applied Biology* 143: 291-301.
- Monneveux.P. (1991). *Quelle stratégie pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver ?* In : Chalbi Demarly Y. éd. *L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides*. Ed. AUPELF-UREF. John Libbey. INSA-INRA. P. 165-186.
- Rocha, O, Ansari, K & Doohan, FM (2005) Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: a review. *Food Additives and Contaminants* 22: 369-378.
- Nelson P.E., Toussoun. T.A. & Marasas W.F.O. (1983). *Fusarium species: An illustrated*
- Nicholson P, Simpson DR, Weston G, Rezanoor HN, Lees AK, Parry DW, Joyce D, 1998.
- Oerke EC, Meier A, Dehne HW, Sulyok M, Krska R, Steiner U, 2010. Spatial variability of *Fusarium* head blight pathogens and associated mycotoxins in wheat crops. *Plant Pathology* 59, 671-682.
- P. 2002. Variation in pathogenicity associated with the genetic diversity of *Fusarium*
- Parry D.W., Jenkinson P. & McLeod L. (1995). *Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals—a review*. *Plant Pathology*. p. 44, 207-238.
- Parry DW, Jenkinson P, McLeod L. (1995). *Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals— a review*. *Plant Pathology* 44, 207–238.
- Pathology* 108, 691-698.
- Pereyra SA, Dill-Macky R, Sims AL, 2004. Survival and Inoculum Production of *Gibberella zeae* in Wheat Residue. *Plant Disease* 88, 724-730.
- Pestka J.J., Bondy G.S., (1994), Immunotoxic effects of mycotoxins, in Miller J.D.,

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Pirgozliev S.R., Edwards S.G., Hare M.C. & Jenkinson P. (2003) Strategies for the control of *Fusarium* head blight in cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 731-742.

Placinta C.M., D'Mello J.P.F., MacDonald A.M.C., 1999, A review of worldwide contamination of cereal grain and animal feed with *Fusarium* mycotoxins, *Anim. Feed Sci.*

Prandini A, Sigolo S, Filippi L, Battilani P, Piva G, 2009. Review of predictive models for Proctor RH, Desjardins AE, McCormick SP, Plattner RD, Alexander NJ, Brown DW, 2002. Genetic analysis of the role of trichothecene and fumonisin mycotoxins in the virulence of *Fusarium*. *European Journal of Plant*

racinaires du blé ». Thèse de Magister. El Harrach. Institut National Agronomique (INA). 8 p.

Rapilly, F., H. Richard, M. Skajennikoff, Y. Cauderon et J. Roussel. 1989. Pressions de sélection exercées par le noyau ou le cytoplasme de l'hôte sur l'agressivité d'un parasite Rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture, Algérie ». INRAA / Juin 2006, 65p

Roquebert.M.F. (1998). *Taxonomie des moisissures : Méthodes de culture et techniques d'observation ; Identification*”, in “*Moisissures des aliments peu hydratés*”. Ed. Tec & Doc, p. 39-95.

Sauer L., (1993). « Relation entre les symptômes de fusariose de l'épi et la perte de rendement Schisler D.A., Khan N.I., Boehm M.J. & Slininger P.J. (2002) Greenhouse and field evaluation of biological control of *Fusarium* head blight on durum wheat. *Plant Disease*, 86, 1350-1356.

Schwarz PB, Jones BL, Steffenson BJ, 2002. Enzymes associated with *Fusarium* infection of barley. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 60(3), 130-134.

Série économique : agriculture les céréales en Algérie ». Alger, Algérie : documents algériens. [en ligne]. www.algerroi.net/Alger/documents_algeriens/economique/pages/66_cereales_algerie.htm. [Page consultée Juin, 2011].

Simon, H., Codaccioni, P. et Lecoœur X. (1989). *produire des céréales à paille .Agriculture d'aujourd'hui, sciences, techniques ,application*. pp.168-200.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Simon.H., Codaccioni.P et Lecoecur.X. (1989). *Produire des céréales à paille : Agriculture d'aujourd'hui, sciences, techniques, application*. p. 168-200.

Simpson DR, Weston GE, Turner JA, Jennings P, Nicholson P, 2001. Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *European Journal of Plant Pathology* 107, 421-431.

SITI NORDAHLIAWATE BT MOHAME, S., (2007). "Pathogenicity and aetiology of Smiley, R.W., et Patterson, L.M. 1996. Pathogenic Fungi associated with *Fusarium* foot rot of winter wheat in the semiarid Pacific Northwest. *Plant Disease* 80: 944-949.

Smiley,R,W.,Bakhouse,D.,Lucas,P .et Paulitz,T.C., (2009).*Diseases Which challenge global wheat production-root ,crown ,and Culm rots .,wheat science and trade*.pp.125-152.

Smith J.F., di Menna M.E., McGowan L.T., (1990), Reproductive performance of coopworth ewes following oral doses of zeralenone before and after mating, *J. Reprod. Fert.*, 89, 99-106.

Sobkha de la région de Beskra) productrice de cellulase thermostable a intérêt industriel ». Spikes. *Plant Disease* 83 : 662-666.

Sutton J.C. (1982) Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 4, 195-209.

Sutton. JC. (1982). *Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*. p. 4, 195–209.

systems, 5,23-58.

Talas F., Parzies H., Miedaner T. (2011).Diversity in genetic structure and chemotype composition of *Fusarium graminearum* sensu stricto populations causing wheat head blight in individual fields in Germany ». *European Journal of Plant Pathology*.Vol. 131, n°1, p. 39-48. *Technol.*, 78, 21-37

Teich A.H., Shugar L. & Smid A. (1987) *Soft white winter wheat cultivar field-resistance to scab and deoxynivalenol accumulation*. *Cereal Research Communications*. 15, 109-114.

Toxicology 47(5), 927–931.

Trail F.(2009). For blighted waves of grain: *Fusarium graminearum* in the postgenomics era. *Plant Physiology* 149(1), 103-110.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Trenholm H.D., eds. “*Mycotoxins in grain*”, Eagon Press, Minnesota, 339-358.
- Trichothecenes chemotypes of *Fusarium culmorum* infecting wheat in Tunisia. *International Journal of Food Microbiology* 140: 84-89.
- Tunali, B., Nicol, J., Yelda Erol, F., et Altiparmak, G. 2006. Pathogenicity of Turkish crown and head scab isolates on stem bases on winter wheat under greenhouse conditions. *Journal of Plant Pathology* 5: 143-149.
- Université de SAINS MALAYSIA. 84 p.
- Vavilov, N.L. (1934). *Studies on the origin of cultivated plants*. Bull. Appl. Bot and plant breed X VI. p.1- 25.
- Vesonder B.S., (1985), Preliminary study of the pharmacokinetics and toxicopathy of deoxynivalenol (vomitoxin) in swine, *Am. J. Vet. Res.*, 46 (1), 169-174
- Wagacha JM, Muthomi JW. (2007). *Fusarium culmorum: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat*. *Crop Protection* 26.p 877-885.
- Walter S, Nicholson P, Doohan FM. (2010). Research review: Action and reaction of host and pathogen during *Fusarium* head blight disease. *New Phytologist* 185, 54–66.
- Wang Y.Z. & Miller J.D. (1988) Effects of *Fusarium graminearum* metabolites on wheat tissue in relation to *Fusarium* head blight resistance. *Journal of Phytopathology*, 122, 118-125.
- Weise, M. V. (1987). *Compendium of wheat diseases*. Third printing 1998, APS Press:42-43.
- Widstrom N.W., (1992). Aflatoxin in developing maize: interaction among involved biota and pertinent economic factors. *Handbook of Appl. Mycology : mycotoxins in ecological systems*, 5,23-58.
- Wu, TG, V.V., Keasler, Mitchell, B.M., et Wilhelmus, K.R. 2004. Immunosuppression affects the severity of experimental *Fusarium solani* keratitis. *The Journal of Infectious Diseases* 190: 192-198.
- Xie,W., Mirocha, C.J. et Chen, J.(1997). detection of two naturally occurring structural isomers of partially hydrolyzed fumonisin B1 in corn by on line capillary chromatography fast atom bombardment mass spectrometry. *Journal of agricultural and food chemistry* 45 (4): 1251-12550.
- Xu XM, Nicholson P, 2009. *Community ecology of fungal pathogens causing wheat head blight*. *Annual Review of Phytopathology*. p 47, 83-103.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Zaatri.M. (1987). *Contribution à l'étude de l'arthracnose du pois-chiche : Aspect de la résistance et race physiologique*. Thèse Ing.Agro.Inst.Nat.Agro. El-Harrach.

Zillinsky, F, J. (1983).*Maladies communes des céréales à paille. Guide d'identification* .CIMMYT .141p.

Zillinsky.F.j. (1983). *Maladies communes des céréales à paille*. Guide d'identification CIMMYT. 141 p.