



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



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE : SCIENCES

DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par BENABDERRAHMANE Hadjéra

DOMAINE SCIENCE DE NATURE ET DE LA VIE

FILIERE SCIENCES AGRONOMIQUE

OPTION protection des végétaux et de l'environnement

Thème

**Etude de la pathogénicité et l'agressivité de dix isolats de
Fusarium culmorum sur blé en Algérie et identification de leur
potentiel toxigène**

Jury de soutenance :

Mc Mokhtar-Rahmani M.

Melle Zaza. M

Mme Touati. S

Maitre –assistant A

Président

Examineur1

Rapporteur

Promotion : Juin 2016



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



جامعة عمار ثليجي - الأغواط

كلية/معهد: العلوم

قسم: العلوم الفلاحية

مذكرة ماستر

تقديم الطالب (ة) بن عبد الرحمان هجيرة

ميدان علوم الطبيعة والحياة

شعبة علوم فلاحية

تخصص حماية النباتات والبيئة

موضوع البحث

Etude de la pathogénicité et l'agressivité de dix isolats de *Fusarium culmorum* sur blé en Algérie et identification de leur potentiel toxinogène

أعضاء لجنة المناقشة:

السيد: رحمان مختار

الانسة: زازا مسعودة

السيدة: تواتي سيهام

رئيسا

ممتحن أول

مقررا

الدفعة: جوان -2016

BENABDERRAHMANE Hadjéra

Titre : Etude de la pathogénicité et l'agressivité de dix isolats de *Fusarium culmorum* en Algérie et identification de leur potentiel toxinogène

Résumé

La fusariose est une maladie des plus redoutables du blé. Elle est causée par un complexe d'espèce dont les plus courantes sont *F. culmorum*. Ces champignons infectent les épis et les plantules de blé au moment de la floraison et au stade de trois feuilles, ces espèces impliquées peuvent conduire à la contamination des grains par diverses mycotoxines, qui ont un effet néfaste sur la santé humaine et animale.

L'objectif de notre travail est de caractériser des isolats de *Fusarium culmorum*, dans leur pathogénicité et agressivité et identification de leur potentiel toxinogène, en utilisant la méthode de chromatographie sur couche mince qui nous a permis d'identifier les isolats toxinogènes.

L'étude de la pathogénie et de l'agressivité des dix isolats de *Fusarium culmorum* a montré que la variété de blé dur VITRON est plus sensible que la variété de blé tendre ARZ.

Mots clés : *Fusarium culmorum*, blé, agressivité, toxinogène.

BENABDERRAHMANE Hadjéra

Title : Study the pathogenicity and aggressivity of ten isolats from *Fusarium culmorum* in Algéria and identification of potentiel toxigenic

Abstract

Fusarium head blight is a disease of the most formidable of the wheat. It is caused by a complex of species most common are *f. culmorum*. These fungi infect the ears and wheat seedlings at the time of flowering and the three leaf stage, these species involved can lead to contamination of the grains by various mycotoxins, which have an adverse effect on human and animal health.

The objective of our work is of characterized isolates of *Fusarium culmorum*, in their pathogenicity and aggressiveness and identification of toxigenic potential, using the thin layer chromatography method that allowed us to identify toxigenic isolates.

L'étude de la pathogénie et de l'agressivité des dix isolats de *Fusarium culmorum* a montré que la variété de blé dur VITRON est plus sensible que la variété de blé tendre ARZ.

Key words: *Fusarium culmorum*, wheat, aggressiveness et toxigenic.

بن عبد الرحمان هجيرة

العنوان: دراسة تمييز عدوانية 10 عزلات من فوزاريوم كولوروم في الجزائر و التعريف بطاقتها على السمية.

الخلاصة

يعتبر مرض الفح من بين الامراض الاكثر اضرار للفح من مسبباته فطر فوزاريوم كولموروم. هذا الاخير يسبب تعفن على مستوى السنبله والنبته في وقت الازهار او مرحلة ثلاث ورقات. وتسبب عزلات منه في تدهور البذور من خلال جعل السموم فيها الذي يجعله غير جيد لصحة الانسان والحيوان.

يهدف عملنا هذا في تحديد انواع الفطريات المتواجدة في القمح وفي المرحلة الثانية تقويم القدرة الامراضية للعزلات وطاقاتها على مهاجمة القمح.

بدراسة المرض وحساسية اصناف القمح للفوزاريوم كولموروم. النتائج المحصل عليها كانت متمثلة في ان صنف فيترو من القمح الصلب هو أكثر حساسية للمرض من ارز وهو القمح اللين.

كلمات مفتاحية: فوزاريوم كولموروم, قمح, عدوانية و السمية .

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,

J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

❖ *A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma*

vie ma cher mère et mon cher père qui m'ont

apporté leur appui durant toutes mes années d'étude, pour leur

sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance,

courage et sécurité.

❖ *A mes chers grands parents pour*

Leur sacrifices conseils et ses encouragements.

❖ *A ma très chère sœur yamina*

❖ *Ames frères : saide Ibrahim et zine addine*

❖ *A mes très chères sœur de la vie Khadîdja, Fatna et Asma*

❖ *aux deux familles BENABDERRAHMANE et BAKHIRA*

❖ *A mes amis, Hadjer, A. Bakhta, Fatiha, zohra*

Aïcha, mabrouka, houda, chahira, nafissa, Zineb, Khadîdja, Nassima,

Nesrine , Fatima, Nabila et sara.

❖ *A mes frères de la vie et à tous qui m'ont aidé et connu.*

❖ *A tous mes camarades d'étude en biochimie et agronomie et écologie master et licence .*

Remerciement

Je remercie DIEU tout puissant, maître des cieux et de la terre,

qui m'a permis de mener à bien ce travail.

❖ *Je remercie mon père qui m'a aidé à réaliser ce projet de fin d'étude*

et qui m'a encadré Mme. Touati Sihem qui a me donné sa

*Confiance et le courage pour réaliser ce travail, et je la remercie pour son application et
ses efforts avec moi*

❖ *Je remercie tous mes profs Melle ; Ameer J. Mme ;goudjel M. amara Y. . Mc.*

Gouzi H. Mc.moulai A.Mc. Benhassini .Mc. Makoudi. Mc. Labiade.Mc.

Bakay Melle. Marfoua. M,kadouri et kiudrie Mc. Rahmani. M et Melle Zaza. ,

M. Mc. BENCHATTOUHE

et a tous mes profs qui me donnée les information et l'aidée à mes études et de la vie

les profs de faculté de l'agronomie de l'université de Amar Telidji Laghouat

qui m'ont formé et aidé dans mes études

A tous les travailleurs de l'université et de la cité des filles de Laghouat

et les personne du laboratoire de l'université de Laghouat

❖ **Un tres gran MERCI**

Sommaire

Dédicace	I
Remerciements	II
Sommaire	III
Liste des tableaux	IV
Liste des figures	VI
Liste des abréviations	VII
Introduction	1
partie I : Partie bibliographique	3
I. Le blé	4
1. Généralité.....	4
2. Cycle végétative de blé :	5
2.1. Période végétative.....	5
a. Phase germination - levée.....	5
b. Phase levée – tallage.....	5
c. Phase tallage-montaison.....	6
2.2. Période de reproduction.....	6
a. Phase de la montaison.....	6
b. Phase de l'épiaison.....	6
2.3. Période de maturation.....	6
3. Importance économique.....	7
4. Les maladies fongiques et les agents pathogènes de blé	8
II. Les Fusarioses.....	8
1. Cycle de maladie	8
2. Fusarium roseum.....	10
3. Symptomatologies	11
3.1. Pourritures racinaires	11
3.2. Fusariose de l'épi.....	11
3.3. Fonte des semis (piétin fusarien)	12
I. Les mycotoxine.....	12
1. Les trichothécènes.....	12
2. Zéaralénone.....	13
3. Identification de chémotype.....	13
4. Méthode de détection du potentiel toxigène des isolats phytopathogènes	13
Partie II : Matériel et méthodes	16
II. Matériels	17
II.1.1. Matériels végétale	17
II.2. Matériels fongique.....	17
II. Méthodes	18
II.2.1. Isolement et identification des champignons phytopathogènes de blé	18
II.2.2. Pathogénie et agressivité des isolats de fusarium culmorum	18
II.2.2.1. Inoculation par fragment mycélien au stade de trois à quatre feuille	19
II.2.2.2. inoculation par suspension sporale au stade de floraison	21
II.2.2.3. inoculation des plantules par l'ajout sur la surface du substrat de grains de riz	24

inoculés	
2.3 .Détection du potentiel toxigène de quelques isolats de <i>Fusarium culmorum</i>	25
Culture sur riz et extraction des trichothécènes	25
Analyse de mycotoxine par chromatographie sur couche mince.....	25
Identification de mycotoxine.....	26
Partie III : Résultats et discussion	28
.1Résultats des Isolement et identification des champignons phytopathogènes de blé....	28
2.Etude la pathogénie de l'agressivité des isolats se <i>Fusarium culmorum</i>	29
2.1. Technique d'inoculation par fragment mycélien.....	29
2.2. Technique d'inoculation par suspension sporale.....	31
2.3. Technique d'inoculation des plantules par l'ajout sur la surface du substrat de grains de riz inoculés.....	32
3. Détection du potentiel toxigène de quelques isolats de <i>Fusarium culmorum</i>	35
Conclusion	38
Références bibliographiques	40
Annexes	47

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Cycle végétative de blé.....	07
02	Cycle des fusarioses.....	10
03	Epis blanchâtre.....	11
04	grains échaudés et déformés à tendance blanchâtre ou rosâtre.....	11
05	1a structure générale des trichothécènes.....	13
06	La structure de la zéaralénone, une mycotoxine issue de différents champignons du genre Fusarium.....	13
07	inoculation par fragment mycéliens.....	20
08	schéma du dispositif aléatoire complet du test de l'inoculation par fragment mycélien.....	21
09	Schéma du dispositif aléatoire du test de l'inoculation par suspension sporale au stade de floraison.....	23
10	Schéma du pot qui représente les différentes couches pures d'inoculations sur le collet.....	24
11	Les étapes de détection des mycotoxines.....	27
12	Aspect morphologique et microscopique (G× 100) des espèces fongique isolées à partir des grains de blé : colonie de F. culmorum.....	29
13	Les indices de la maladie des isolats du fusarium culmorum sur le collet au stade 3 feuilles.....	30
14	Moyenne d'indice de sévérité de 10 isolats de F. culmorum après 21 jours d'inoculation de plantules de blé en utilisant la technique d'inoculation par fragment mycélien.....	31
15	Symptômes de la fusariose de l'épi ; B, C, D ET E présence de symptômes sur les épis inoculés ; (A) absence d'attaque sur les épis témoins.....	32
16	Les indices de la maladie obtenue sur des plantules de blé à stades floraison inoculée par dix isolats de fusarium culmorum.....	32
17	Indice de sévérité de F. culmorum sur des plantules de blé cultivar montrant des niveaux d'attaques différents comparés au témoin.....	33
18	Révélation de la plaque CCM sous les rayons UV.....	36

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Différences entre un blé tendre et un blé dur.....	05
2	Structure de la production de blé en % de production totale.....	08
3	Production et importation de blé dans trois pays arabes.....	08
4	Liste des échantillons de blé analysés.....	17
5	liste de souches utilisées.....	18
6	échelle dévaluation utilisée pour l'estimation de la sévérité de l'infection par Fusarium sur épi.....	22
7	Liste des isolats obtenus.....	28

Liste d'abréviations

15-ADON : 15-acétyl-déoxnivalénol

3-ADON : 3-acétyl-déoxnivalénol

CCM : chromatographie sur couche mince

DCPA : Dicholoran Chloramphenicol Peptone Agar

DON : Déoxynivalenol

F : *Fusarium*

g : gramme.

ml : millilitre.

NIV : Nivalenol

PDA : Potato Dextrose Agar

TCT B : Trichothécènes de type B

UV : Ultra violet.

ZEA : Zearalenone

Introduction

Introduction

Les céréales occupent, à l'échelle mondiale, une place primordiale dans les programmes de recherche agronomique. Le blé, en particulier, constitue une céréale importante, d'un point de vue économique et en tant que denrées alimentaires pour l'homme. Il existe une tendance mondiale à une demande accrue pour le blé tant dans les pays industrialisés que dans les pays en voie de développement (Djébali et *al*, 2014 ; Djermoun, 2009).

La filière céréalière constitue une des principales filières de la production agricole en Algérie (Djermoun, 2009). La céréaliculture Algérienne concerne près de 600 000 agriculteurs (60% du total des agriculteurs) et occupe annuellement une superficie d'environ 3,4 millions ha, exerçant au niveau de 372.000 exploitations à dominante céréalière (OAIC, 2013).

De nombreuses maladies fongiques peuvent attaquer les différents organes du blé. La fusariose de l'épi est une des maladies les plus importantes du blé. Elle est causée un complexe d'espèce de *Fusarium*, dont l'espèce la plus fréquent en Algérie est *Fusarium culmorum*.

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

Les NIV sont considérés comme plus toxiques à l'homme et aux animaux alors que les DON peuvent être en plus phytotoxiques (Bottalico, 1998).

Afin de lutter contre cette maladie, différents moyens ont été envisagés. Les seuls moyens de lutte recommandés actuellement aux producteurs sont basés essentiellement sur les pratiques culturales surtout que les fongicides donnent souvent des résultats insuffisants et n'empêchent pas l'accumulation de mycotoxines dans les grains. Devant une telle situation, un grand intérêt doit être accordé à cette maladie.

C'est pour cette raison que nous nous sommes intéressés à la fusariose du blé, notre travail s'est focalisé sur le *Fusarium culmorum*, ainsi nous nous sommes proposés de :

- I) Isolement les champignons responsables de la fusariose de l'épi à partir des grains de blé
- II) identifier les espèces fongiques associées à la maladie à l'aide d'analyses morphologiques
- III) mener une étude sur la pathogénie et l'agressivité des isolats de *F.culmorum* et tester la sensibilité de deux variétés de blé.
- IV) analyser le potentiel toxigène des isolats de *F.culmorum* et de caractériser le type de mycotoxine produit.

Ouvertes par ce travail concluent ce mémoire.

*Partie I : Synthèse
bibliographique*

I. Le blé

1. Généralité

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).

Le blé est une monocotylédone de la famille des Poaceae appartenant au genre *Triticum*. Cette plante annuelle produit un fruit sec indéhiscant, le caryopse. Le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*) sont les deux espèces les plus cultivées dans le monde (Clément, 2010).

Blé tendre et blé dur sont les céréales les plus cultivées mais il existe aussi d'autres blés moins courants. Les épillets sont solitaires sur chaque dent de l'axe et contiennent généralement deux ou trois fleurs fertiles, parfois plus, sauf pour l'engrain, *T. monococcum*, chez lequel ils n'en contiennent qu'une. Leurs glumes sont enveloppantes et à plusieurs nervures. Les lemmes sont aussi larges que les glumes.

Les grains, de couleur fauve, sont rarement visibles sur l'épi à maturité (sauf parfois chez le blé dur).

Les spécialistes classent généralement les blés en trois groupes, chacun représenté chez nous par une espèce :

Triticum monococcum L. (Diploïde) : engrain,

Triticum turgidum L. (tétraploïde) : poulard, amidonnier et blé dur,

Triticum aestivum L. (hexaploïde) : blé tendre et grand épeautre (Marc, 2015).

Les différences qui existent entre un blé tendre et un blé dur sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 01 : Différences entre un blé tendre et un blé dur.

Caractères	Blé tendre	Blé dur
Aspect Génétique	3 génomes A,B et D $2n = 42 = 3x (2x7)$	2 génomes A et B $2n = 28 = 2x (2x7)$
Prédominance	De l'amidon	Des protéines
Aspect De la plante	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Feuilles très étroites, ✓ maturation très rapide 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Feuilles large, ✓ maturation très longue ✓ moisson tardive exigeante du point de vue sol et climat
Forme	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Texture opaque ✓ structure de l'amande farineuse 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Texture vitreuse
Utilisation	Obtention de la farine utilisée dans la fabrication du pain et des biscuites.	Obtention de la semoule à partir de laquelle on fabrique de la galette, du couscous et des pâtes alimentaires.

(Aidani, 2015).

2. Cycle végétative de blé :

2.1. Période végétative

Elle s'étend du semis au début de la montaison, elle est subdivisée en plusieurs phases :

a. Phase germination - levée

La germination commence quand le grain a absorbé environ 25 % de son poids d'eau. Les téguments se déchirent, la racine principale, couverte d'une enveloppe appelée Coleorhize, apparaît, suivie par la sortie de la première feuille, couverte d'une enveloppe appelée Coléoptile. À la surface du sol, puis apparaissent d'autres racines et feuilles. La durée de cette phase varie avec la température de 8 à 15 jours (Clement-grandcourt et Prat, 1970).

b. Phase levée – tallage

On peut distinguer pendant cette phase à travers le coléoptile, un filament ou rhizome, termine par un renflement qui va se gonfler de plus en plus pour former le plateau de tallage qui se forme presque au niveau de la surface du sol. Le plateau de tallage s'épaissit et des racines secondaires se développent très vite.

Des nouvelles feuilles apparaissent et à chacune correspond l'apparition d'une talle.

La place des épillets fait par un simple étranglement sur la partie supérieure du végétal (Clement-grandcourt et Prat, 1970).

c. Phase tallage-montaison

La différenciation des épillets se poursuit par étranglements successifs du côneformateur de l'épi. Les talles herbacées se forment activement (Figure 01) (Clement-grandcourt et Prat, 1970).

2.2. Période de reproduction

Elle s'étend de la montaison à la fécondation :

a. Phase de la montaison

Au cours de cette phase, un certain nombre de talles herbacées vont évoluer vers des tiges couronnées d'épis, tandis que d'autres commencent à régresser. La croissance en taille et en matière sèche est alors active. Cette phase se termine au moment de la différenciation des stigmates. La durée de cette phase est de 29 à 30 jours (Clement-grandcourt et Prat, 1970).

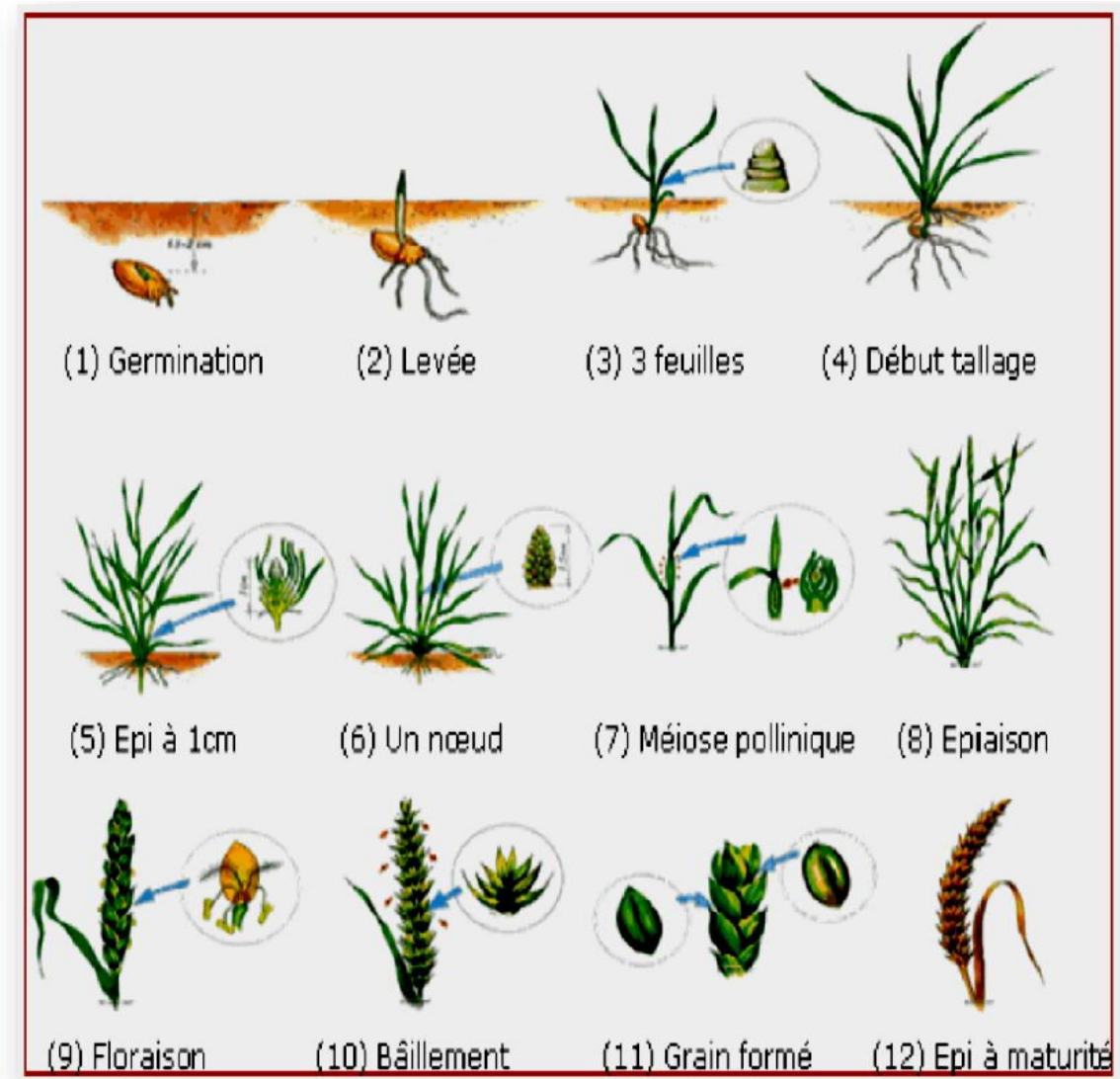
b. Phase de l'épiaison

La vitesse de croissance de la plante est maximale. Cette phase correspond à l'élaboration d'une grande quantité de la matière sèche, à l'organisation détaillée des épillets et à la fécondation. La durée de cette phase est d'environ 32 jours.

Cette phase est suivie par le grossissement du grain qui devient mou et le dessèchement de presque toutes les feuilles. Sa durée est de 16 à 17 jours (Clement-grandcourt et Prat, 1970).

2.3. Période de maturation

Elle correspond à l'accumulation de l'amidon dans les grains et à la migration très active des réserves (glucides et protéines) vers le grain. La durée de cette période est de 25 à 26 jours en moyenne (Clement-grandcourt et Prat, 1970).



(Mahfoud et Lasbahani, 2015)

Figure 01 : Cycle végétative de blé.

3. Importance économique :

Le blé fait partie des trois céréales les plus cultivées dans le monde avec le riz et le maïs. La production mondiale de blé s'élève à 690 Mt en 2008 (Clément, 2010).

L'alimentation humaine et animale est basée sur le blé. Pour la consommation humaine de l'alimentation est représenté environ 69% de la consommation totale de blé. En 2008-2010 la consommation alimentaire de blé est 6 kg par an par habitant, pour la consommation d'animale est de 19% de consommation mondiale de blé et pour la fabrication des agro- carburants et faible de 1% de consommation mondiale de blé. (Gavira et Burny, 2012)

Tableau 02 : Structure de la production de blé en % de production totale.

	63/67	68/72	73/77	78/82	83/87	88/92	86-95	2001	2002	2003	2004
Blé dur	56,65	56,44	42,34	41,67	36,58	39,95	40,99	46,62	48,74	42,27	49,65
Blé tendre	16,01	26,07	29,98	25,26	19,74	15,86	15,99	30,11	28,22	27,26	15,08
Total des blés	72,66	72,51	72,32	66,93	56,32	51,81	56,81	76,73	76,96	69,53	67,73

(Djermoun, 2009)

Tableau 03 : Production et importation de blé dans trois pays arabes

	Algérie			Libye			Arabie saoudite		
	1980	2009	Variation 1980-2009	1980	2009	Variation 1980-2009	1980	2009	Variation 1980-2009
Production de blé (tonnes)	1511430	2,953120	1,95	140500	105000	0,75	141732	1152450	8,13
Superficie cultivée (ha)	2071250	1848580	0,89	272000	133000	0,49	67226	15884	2,91
Rendement (hg/ha)	7297	15975	2,19	5165	7895	1,53	21083	58833	2,79
Import de blé (tonnes)	1695920	5719730	3,37	279357	809962	2,90	172249	1300920	7,55
Import de blé (valeur en 1000\$)	401781	1830350	4,56	63889	272727	4,27	50881	373141	7,33
Population	18811000	34950000	1,86	3063000	6263000	2,04	9801000	26809000	2,74
Blé – Disponibilité alimentaire en quantité (kg/personne/an)	180,8	199,9	1,11	480,8	177,8	0,37	88	89,3	1,01

(Otmame et Kouzmine, 2012).

4. Les maladies fongiques et les agents pathogènes de blé

Le blé peut être attaqué par de nombreuses maladies à différents stades de son développement (Regue, 2014). Tel que : Le Rouille brune des feuilles du blé (*Puccinia recondita*), Tache helminthosporienne (*H. tritici-repentis* ; syn. *Drechslera tritici-repentis* -Forme par faite : *Pyrenophora tritici-repentis*), Tache septorienne des feuilles de blé et (*S. avenae* –Formeparfaite: *Leptosphaeria avenaria*), Charbon nu de l'orge et du blé *U. nuda* (*U. tritiei*). Diverses maladies de la feuille et de l'épi comme *Oïdium* (Blanc) (*Erysiphe graminis*), et la fusariose (*Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*,...) (Zillinsky, 1983).

II. Les Fusarioses

La fusariose est l'une des maladies les plus répandues des céréales (Lacroix, 2008). Elles sont dues à *Fusarium roseum* et *Fusarium nivale*. *Fusarium roseum* fait apparaître un noircissement à la base des tiges et un dessèchement précoce de l'épi. *Fusarium nivale* peut contaminer les épis à partir des débris végétaux contaminés. On observe un dessèchement précoce suivi d'un échaudage d'une partie de l'épi. Cette maladie présente une incidence directe sur les rendements provoquant une diminution du nombre de grains par épi, accompagnée du risque de présence de mycotoxine dans le grain (Fritas, 2012).

1. Cycle de maladie :

Le *Fusarium* persiste et se multiplie sur les résidus végétaux infectés, qu'il s'agisse de céréales, de graminées ou d'autres plantes, cultivées ou non, qui se trouvent dans le champ et dans les environs. Les spores de *Fusarium* se déposent sur les épis à la faveur du vent et des éclaboussures. Les petites céréales sont sensibles à l'infection à partir de la floraison (apparition de l'épi) jusqu'au stade mi-pâteux, voire plus tard selon les caprices du climat. Les conditions les plus propices à l'infection sont des périodes de 48 à 72 heures de forte humidité et des températures de 24 à 30 °C. Des périodes plus longues d'humidité élevée combinées à des températures fraîches peuvent aussi provoquer l'infection. Les infections qui se produisent tôt dans la saison produisent parfois des spores qui, transportées par le vent, peuvent propager la maladie.

La gravité de la *Fusarium*, qui varie selon le champ et l'année, dépend des conditions climatiques, du stade de croissance de la plante et de la présence du pathogène. Plus l'infection survient tôt, plus la maladie est grave. Si un cultivar est très sensible, que l'inoculum abonde au moment de la floraison, et que l'on combine à ces facteurs des conditions atmosphériques favorables, alors la gravité de la brûlure et de la contamination par les mycotoxines sera maximale (Mahfoud et Lasbahani, 2015)

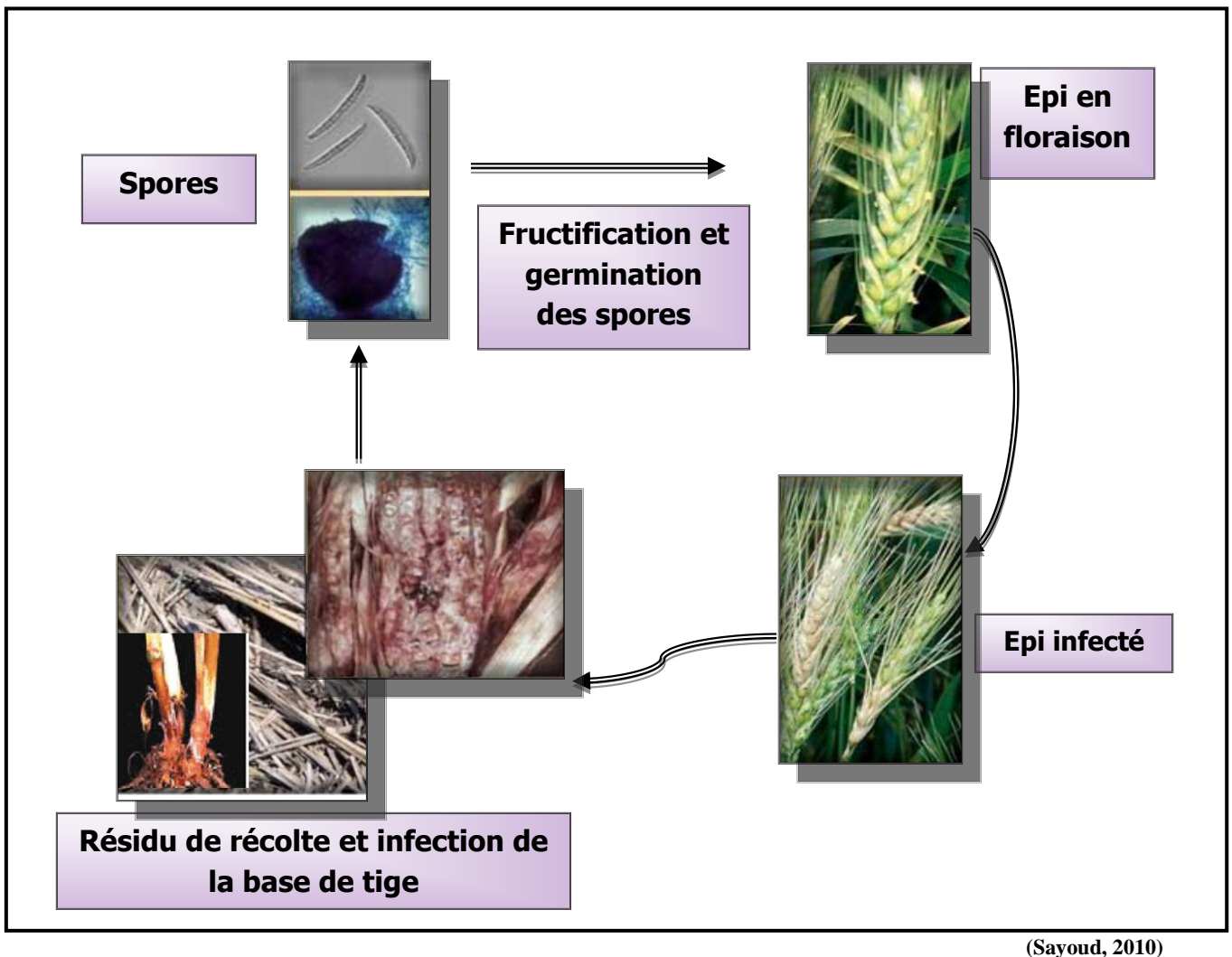


Figure 02 : Cycle des fusarioses

2. Symptomatologies :

2.1. Sur racine :

La pourriture racinaire est aussi connue sous les noms de fusariose du pied, pourriture du pied, encore pourriture commune ou pourriture des racines sèches (El yacoubi, 2012). Les agents responsables de la maladie sont *Helminthosporium sativum*, *Fusarium culmorum* et *fusarium graminearum*. (Ezzahiri, 2001).

Les symptômes pouvant s'observer : la fonte des semis, improductifs, le dessèchement des jeunes plants et l'apparition d'épis blancs prématurés.

En cas d'attaques sévères la pourriture se généralise à toute la partie basale du plant. Cette maladie est aussi caractérisée par la présence des taches nécrotiques noires sur le collet, le rhizome ou même les racines (Aouali et Douici-Khalfi, 2012).

2.2. Sur épi

Le blé demeure la céréale la plus sensible à cette maladie. Les épillets affectés avortent et prennent une teinte blanchâtre et un aspect desséché. Une coloration rosée à saumon apparaît à la marge ou à la base des épillets (Lacroix, 2008).



(Sayoud, 2010)

Figure 03 : épis blanchâtre.

- Chez le blé, les grains fusariés sont petits et ridés (Lauzon et al).



(Sayoud, 2010)

Figure 04 : grains échaudés et déformés à tendance blanchâtre ou rosâtre.

- **sur les grains**

La maladie de la fonte des semis causée par *Fusarium* (*F. culmorum*, *F. graminearum* et *F. avenaceum*) peut avoir été transmise par les résidus ou la semence de culture. Un peuplement qui s'établit mal, une levée inégale, des trous dans le champ ou des manques sont les premiers symptômes d'une infection des plantules ou de la semence.

Les semences pourrissent ou les plantules meurent avant leur levée. Les plantules qui lèvent sont jaunes et rabougries ; leurs racines, leur collet ou la base de leur tige présentent une pourriture allant du brun au brun rouge. La tige peut comporter des stries rougeâtres ou brunes. Les lésions sont de forme et de taille variables. Les plants infectés sont moins vigoureux. La maladie peut aussi frapper des plants plus vieux, ce qui cause une réduction du nombre ou de la taille des talles qui viennent à maturité prématurément et qui comportent des épis blancs et ratatinés (Ontario, 2016).

III. Les mycotoxine

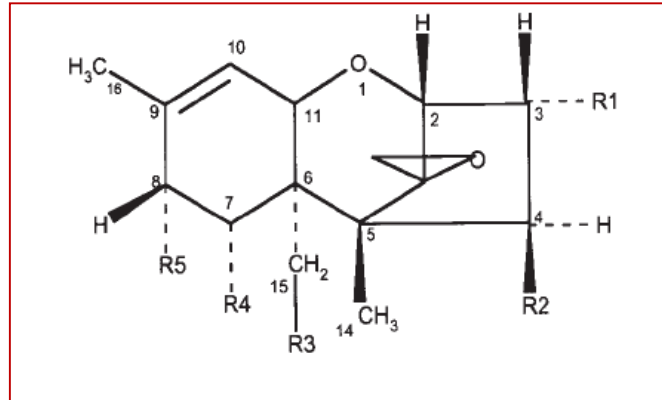
Les mycotoxines sont des métabolites toxiques synthétisés par des champignons microscopiques, notamment dans les stocks de grains humides et chauds. Certaines mycotoxines sont particulièrement toxiques : les ochratoxines et les aflatoxines sont impliquées dans les néphrotoxicoses, la carcinogenèse et sont immunodépressives (Claire König, 2013).

1. Les trichothécènes

Les trichothécènes constituent un groupe d'environ 200 composés dont les principaux sont le déoxynivalénol ou vomitoxine (DON), le nivalénol (NIV), le diacétoxyscirpénol (DAS) et les toxines T-2 et HT-2. Le DON est très fréquemment retrouvé dans les fourrages et les grains de céréales (Niderkorn, 2007).

Les trichothécènes sont composés d'atomes de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Ces mycotoxines dérivent d'un système de trois cycles appelé trichothécane. A ce squelette trichothécane s'ajoutent une double liaison en position 9-10 ainsi qu'un groupement époxyde en position 12-13. On obtient ainsi les 12-13 époxytrichothécènes La structure, la stéréochimie et la numérotation des atomes de carbone sont représentées sur la figure 05

(Balzer, 2004).

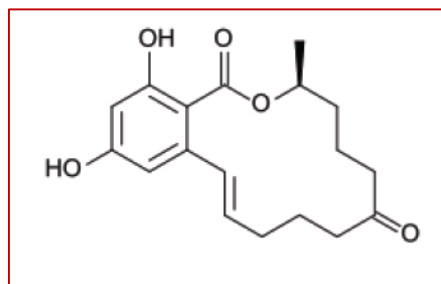


(Balzer, 2004).

Figure 05 : Structure générale des trichothécènes.

2. Zéaralénone

La zéaralénone est une mycotoxine produite par divers champignons des cultures, notamment *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*. La zéaralénone est une toxine commune au maïs et aux produits de maïs, mais il est possible de déceler sa présence dans diverses céréales et le soja et graines, ainsi que dans leurs sous-produits. De plus, la présence de zéaralénone semble être observée sur le foin et la paille et l'herbe ce qui constitue un facteur d'exposition supplémentaire des animaux via le fourrage et la litière (Claire König, 2013).



(Claire König, 2013).

Figure 06 : La structure de la zéaralénone, une mycotoxine issue de différents champignons du genre *Fusarium*.

La présence de zéaralénone est régulièrement observée en association avec d'autres toxines de *Fusarium*, en particulier le déoxynivalénol,

La fusariose de l'épi son principal préjudice provient de la présence de mycotoxines dans les grains. Ces toxines dont la plus connue est la vomitoxine ou DON (désoxynivalénol), sont produites par les *Fusarium* pathogènes qui infectent les épis des céréales au champ. (Claire König, 2013).

3. Identification de chémotype

Il a été possible sur des bases génétiques trois chémotypes caractérisent les trichothécènes de type B produits par une souche de *Fusarium* (Desjardins, 2004) :

- 3-ADON : souche produisant du DON et du 3-ADON ;
- 15-ADON : souche produisant du DON et du 15-ADON ;
- NIV : souche produisant du NIV et de la fusarénone X.

Les différentes espèces de *Fusarium* ne possèdent pas tous le même chémotype (Alexander et al., 2004). De plus, deux isolats d'une même espèce de *Fusarium* ne synthétisent pas nécessairement plus les mêmes trichothécènes B.

Cependant, la prédominance des individus de chémotype DON dans la nature leur suggère un avantage sélectif pour l'infection des céréales et en particulier le blé avec, malgré tout, un maintien des deux chémotypes (Xu et Nicholson, 2009).

4. Méthode de détection du potentiel toxigène des isolats phytopathogènes :

Les mycotoxines sont extraites avec des solvants spécifiques. Selon la méthode d'analyse, la purification de l'extrait se réalise soit sur colonne ou par partition avec des solvants appropriés. Il existe différentes méthodes qui permettent l'identification des isolats toxigènes. L'analyse de l'extrait peut se faire par des méthodes physicochimiques qui sont généralement basées sur la chromatographie. Il existe un grand nombre de modes de chromatographie dont la classification a été faite en fonction des mécanismes de séparation. Les facteurs qui interviennent dans le partage des molécules à séparer entre les phases fixe et mobile sont : la solubilité dans un solvant liquide, la taille, la polarité, charge électrique, la présence de groupement d'atomes formant des sites particuliers. Parmi les techniques de chromatographie, il existe : la chromatographie liquide haute performance (HPLC) (Desjardins et al., 2000 ; Pont et al., 2006 ; Wang et al., 2008), la chromatographie en phases gazeuse couplée à un spectromètre de masse (Kim et al., 2003 ; Lorens et al., 2006 ; Perkowski et al., 2008), et la chromatographie sur couche

mince (CCM) est une technique d'analyses qualitative de séparation des différentes substances d'un mélange (Frayssin et Frémy, 1991)

Partie II :

Matériel et méthodes

II. Matériels et Méthodes

1. Matériels :

1.1. Matériels végétale :

Les échantillons de blé dur et tendre utilisés dans cette étude ont été récoltés de différentes régions céréalières d'Algérie. Ces échantillons ont été conservés dans des sacs en papier à 6°C jusqu'à utilisation. La date et le site de collecte ont été indiqués pour chaque échantillon.

Tableau 04 : Liste des échantillons de blé analysés

Espèces	Nom de variété	Région géographique	Année de récolte
Blé dur	SIMITO	El-Menia (Ghardaïa)	2015
Blé dur	SIMITO	El khimis (Alger)	-
Blé dur	VITRON	Berrouaghia	2014
Blé dur	VITRON	Relizane	2015
Blé dur	MBB	Sétif	-
Blé dur	GTA	Bordj Bou Arreridj	2014
Blé dur	ARZ	Berrouaghia	2014
Blé tendre	BOUSSELAM	Bordj senoussi	2011
Blé tendre	AIN ABID R1	Relizane	2015
Blé tendre	HXD 1220	Relizane	2015

1.2. Matériel fongique

Dix isolats de *Fusarium culmorum* ont été utilisés au cours de cette étude .ces isolats ont été identifiés par PCR en temps réel, ainsi que leur chymotypage au laboratoire INRA bordeaux (tableau 05).

Tableau 05 : liste de souches utilisées.

N° d'isolat	code expérimentale	Espèce	Organe d'isolement	Année d'isolement
1	FC1006	<i>F. culmorum</i>	Epi	2006
2	FC006	<i>F. culmorum</i>	épi	2006
3	FC0L013	<i>F. culmorum</i>	collet	2013
4	FCE010	<i>F. culmorum</i>	épi	2010
5	FC011	<i>F. culmorum</i>	épi	2011
6	FC1013	<i>F. culmorum</i>	graine	2013
7	FC014	<i>F. culmorum</i>	graine	2014
8	FC2013	<i>F. culmorum</i>	graine	2013
9	FC009	<i>F. culmorum</i>	collet	2009
10	FC008	<i>F. culmorum</i>	collet	2008

2. méthodes

2.1. Isolement et identification des champignons responsables de la fusariose de l'épi

Après désinfection de 100 graines de blé de chaque variétés avec de d'hypochlorite de sodium 2%) pendant 3 minute. Les échantillons sont ensuite rincés 3 fois avec de l'eau distillée pendant 2min, 1min et 30s successives, le séchage s'effectue sur papier filtre stérile. La mise en culture s'effectue juste après sur le milieu du DCPA dans des boites pétrie à raison de 10 grains par boite, ensuite les boites sont incubées dans une étuve à 25° C pendant 4 à 5 jours. Les colonies qui apparaissent sur DCPA sont généralement de couleur blanche et rose, elles seront repiquées sur le milieu PDA pour l'identification après purification par la culture monosporale.

L'identification des isolats est basée sur deux critères principaux :

- l'aspect macroscopique (la couleur, texture, forme, présence ou l'absence de la pigmentation.....)
- l'aspect microscopique (forme des macrocolonies, absence ou présence de microconidies, et des chlamydozspores).

2.2. Pathogénie et agressivité des isolats de *Fusarium culmorum* :

Des inoculations artificielles ont été réalisées en plein champ et sous serre dans le but de confirmer la pathogénicité des souches de *Fusarium* et surtout de comparer entre les *Fusarium culmorum* dans leur agressivité, pour répondre à ces objectifs trois méthodes d'inoculations ont utilisées et à différents stades végétatifs :

1 : Inoculation par fragment mycélien au stade de trois à quatre feuille.

2 : inoculation par suspension sporale au stade de floraison.

3 : inoculation des plantules par l'ajout sur la surface du substrat de grains de riz inoculés

1- Inoculation par fragment mycélien au stade de trois feuilles :

Les semences ont été placées à une profondeur de 2cm, dans des sacs noirs en plastique (9 cm de diamètre) remplis avec un mélange de sable, tourbe et de terreau (1 :1 :1 v/v/v), à raison de 4 semences par pot. Le dispositif expérimental est de type bloc aléatoire complet. L'essai été réalisé *In vivo* sous une température de 22°C à 25°C .L'irrigation a été faite régulièrement suivant les besoins des plants.

L'inoculum a été préparé à partir de culture pures âgées de 12 jours. Des fragments de 6 mm ont été découpés à partir des colonies de champignons développés, et déposé adjacent à la plantule au niveau du collet. Des plantules inoculées par des fragments de PDA ne contenant pas de champignon, ont été utilisées comme témoin négatif.



(Original, 2016)

Figure 07 : inoculation par fragment mycéliens.

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 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 mort.

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

- Isolats faiblement agressifs ; $IS \leq 2$
- Isolats moyennement agressifs : $2 < IS < 4$
- Et isolats fortement agressifs : ≥ 4

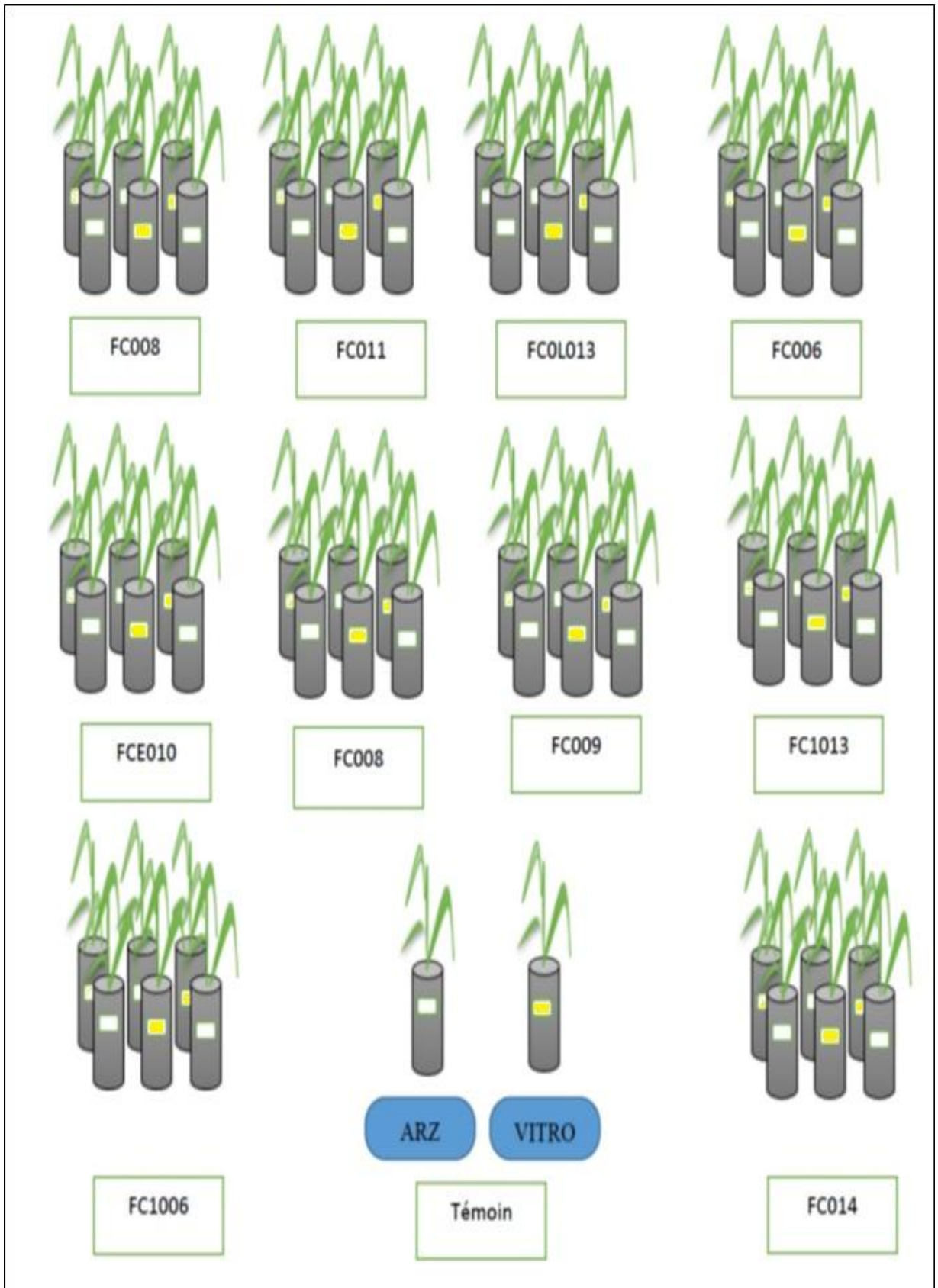


Figure 08 : schéma du dispositif aléatoire complet du test de l'inoculation par fragment mycélien.

2- inoculation par suspension sporulé au stade de floraison :

Les semences ont été placées à une profondeur de 2 cm, dans des sacs noirs en plastique destinés à la production des plants en pépinière (15 cm de diamètre) remplis avec mélange de sable, tourbe et de terreau (1 :1 :1 v/v/v) à raison de 4 semences par pot. Le dispositif expérimental est de type bloc aléatoire complet. L'irrigation a été faite régulièrement suivant les besoins des plantes.

L'inoculum a été préparé à partir de souche de *F. culmorum* âgées de 12j, les spores ont été récupérées par raclage et filtration des cultures. Ensuite la solution sporale obtenue a été ajustée avec de l'eau distillée de façon à avoir une concentration de 10^6 spores/ml.

L'inoculation des épis a été réalisée au stade floraison plein. La contamination a été effectuée par pulvérisation ruissellement des épis. On recouvre la partie aérienne avec un sac en plastique pour maintenir une certaine humidité relative 100 % pendant 24h, temps nécessaire à la germination des spores.

Notation des symptômes :

Tableau 06 : échelle dévaluation utilisée pour l'estimation de la sévérité de l'infection par *Fusarium* sur épi, Michel, 2001, (Lamari, 2014).

Note	Part de l'épi infectée	Description des symptômes
1	0%	Sans symptômes
2	2,5%	Traces de symptômes, un épillet sur 10 épis montre des symptômes.
3	10%	10% des épillets de chaque épi sont infectés
4	25%	Un quart des épillets infectés

5	50%	La moitié des épislets d'un épi sont infectés
6	75%	Trois quarts des épislets d'un épi sont infectés
7	90	10% des épislets d'un épi ne sont infectés
8	97,5	peu des épislets d'un épi ne sont infectés
9	100	Tous les épis sont morts



Figure 09 : schéma du dispositif aléatoire du test de l'inoculation par suspension sporale au stade de floraison.

3- Inoculation des plantules par l'ajout sur la surface du substrat de grains de riz inoculés

La technique utilisée est celle décrite par khalifa (2006). L'inoculum a été préparé sur un substrat à base de riz, qui sont humidifié avec l'eau distillé pendant 2 jour et réparti dans des erlenmeyer de 250 ml à raison de 110g de riz et de 22ml d'eau distillée. Ensuite les erlenmeyers sont autoclavés 2 fois pendant 25 min à 110 °C.

Après autoclavage, chaque erlenmeyer est inoculé par 0,5 mL d'une suspension sporale, de l'agent pathogène à partir de culture âgée de 12 jours. Les erlenmeyers sont ensuite incubés à 25°C dans l'étuve. Après 15 jours d'incubation.

- L'inoculation :

Pour étudier effet des isolats de *Fusarium culmorum* sur le blé tendre et blé dur sur le collet. Ont été placées à une profondeur de 2 cm quatre grain de blé et on fait parallèlement vers haut, le sol humide, ensuite l'inoculum et après le sol (voir figure 10).

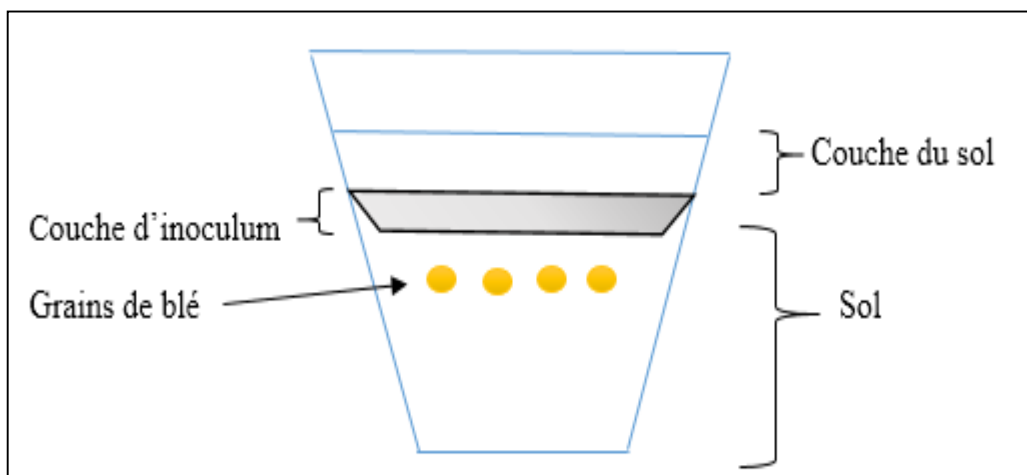


Figure 10 : schéma du pot qui représente les différentes couches pures d'inoculations sur le collet.

Notation des symptômes :

Les plants sont observés régulièrement pour suivre l'évolution et l'apparition des symptômes. La première notion est réalisée au moment de la germination et la deuxième après un mois et demi. L'évolution de la sévérité des symptômes est exprimée selon une échelle de notation à 4 degrés allant de 0 à 5.

- 0 : absence de symptômes.
- 1 : noircissement ou brunissement de 1 à 25% de la surface de collet.
- 2 : noircissement ou brunissement de 26 à 50% de la surface de collet.
- 3 : noircissement ou brunissement de 51 à 75 % de la surface de collet.
- 4 : noircissement ou brunissement plus de 76% de la surface de collet.
- 5 : mort de la plante.

2.3. Détection du potentiel toxigène de quelques isolats de *Fusarium culmorum*

Culture sur riz et extraction des trichothécènes

Le riz a été utilisé pour quantifier les teneurs en trichothécènes de type B (TCTB) produites par les isolats testés. Avant inoculation, le riz a été humidifié avec de l'eau distillée stérile. Puis, 110 g de gains ont été distribués dans des Erlenmeyer de 500 mL, et stérilisés deux fois par autoclavage à 110 °C pendant 25 min comme a été décrit par Bakan et al. (2001). Les isolats de *F. culmorum* ont été repiqués sur des boîtes PDA âgées 14 jours à 25 °C à l'obscurité. Les suspensions de spores obtenues ont été ajustées à 10^6 /mL par comptage sur cellule de Thoma.

Enfin, chaque Erlenmeyer a été inoculé par 0,5 mL d'une suspension sporale, et placé à l'obscurité à 25 °C. Trois répétitions ont été préparées pour chaque isolat testé. Après 3 semaines d'incubation, les milieux de cultures ont été séchés à 75 °C pendant 48 h, puis broyés à fin d'obtenir de fines poudres.

Pour l'analyse, des portions de 5 g de chaque échantillon broyé, ont été extraites par 20 mL d'un mélange acetonitrile : eau (84/16 ; v/v), puis mises en agitation pendant 1 heure. Ensuite 3 mL de la phase organique ont été évaporés à sec dans un rota vap sur un bloc chauffant (50 °C). Les échantillons ont été conservés à -20°C pour l'analyse CCM.

- La phase mobile était constituée d'acetonitrile, en mélange avec de l'eau distillée acidifiée à pH 2,6 avec de l'acide o-phosphorique.
- **Analyse de mycotoxine par chromatographie sur couche mince**

La chromatographie sur couche mince est une méthode d'analyse rapide fondée sur la séparation des constituants d'un mélange par entraînement au moyen d'une phase mobile (le solvant) le long d'une phase stationnaire (la plaque). Une migration différentielle des solutés est obtenue par leur partition entre la phase mobile et la phase fixe. Chaque molécule du mélange à séparer est soumise à une force de rétention (affinité du soluté pour la phase fixe) et à une force de mobilité (entraînement par la phase mobile qui dépend de la solubilité de la molécule dans cette phase). Une chromatographie d'adsorption où la phase stationnaire est le gel de silice (gel de silice 0,25 mm avec indicateur de fluorescence) a été utilisé. Le gel de silice est un adsorbant fort avec une forte bipolarité électrique. L'adsorption est due à l'établissement de liaisons secondaires de surface entre l'adsorbant et la molécule adsorbée.

Mode opératoire :

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

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

Pour la plaque de CCM ; on repère à l'avance l'emplacement où seront effectués les dépôts, pour cela on trace un léger trait de crayon parallèle au bord inférieur de la plaque à une distance de 1,5 cm les dépôts seront effectués sur cette ligne, à 1 cm du bord de la plaque et espèce de 1cm.

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

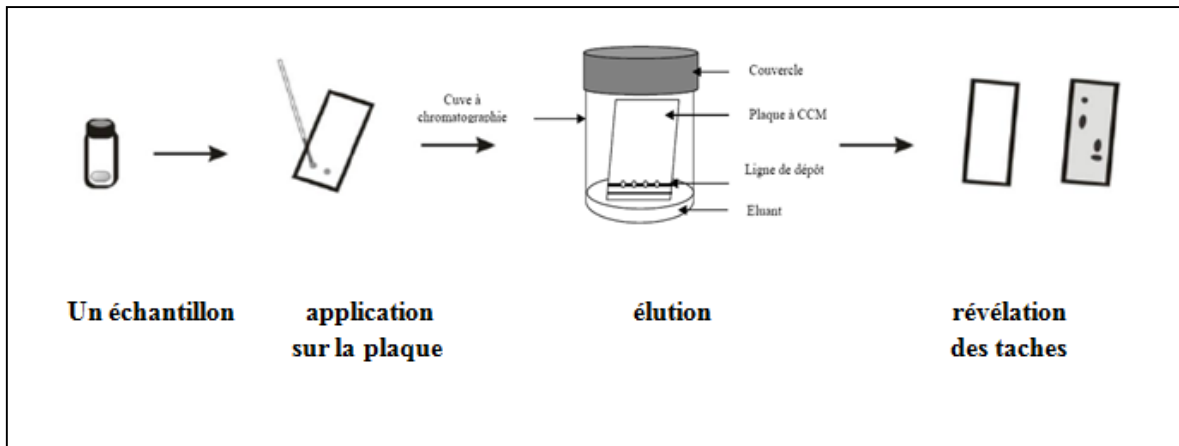


Figure 11 : les étapes de détection des mycotoxines

Identification de mycotoxine : on a identifié le mycotoxine sous lumière ultra violette (UV) à $\lambda = 360$ nm. Après la révélation par chlorure d'alumine.

Partie III :
Résultats et discussion

III. Résultat et discussion :

1. Isolement et identification des champignons responsables de la fusariose du blé

L'analyse des 1000 graines des 10 variétés de blé collectées a révélé la présence de plusieurs espèces de *Fusarium*, cependant nous avons noté une grande présence au niveau des grains de blé de *F. culmorum* (voir figure 12). Ce résultat explique l'objectif de ce présent travail sur la caractérisation pathologique et toxigène de *F. culmorum*.

Après 6 jours d'incubation sur un milieu semi sélectif DCPA seul les champignons du genre *Fusarium* infectant les grains s'y sont bien développés sur le milieu. Les résultats ont montré que 40% des 5 variétés analysées et collectées à partir de différentes régions céréalières, ont été infestées par les espèces des genres *Fusarium* et *Microdochium* (voir tableau 07)

L'identification morphologique a montré la présence de 5 espèces fongiques à savoir *M.nivale*, *F.culmorum*, *F.avenaceum*, *F.pseudograminearum* et le *F. poae*. D'autres champignons saprophytes ont été aussi isolés à savoir *Alternaria spp.* et *penicillium*

Tableau 7 : liste des isolats obtenus

isolats	Espèce	Variété	Origine géographique	organe d'isolement	Année d'isolement
01	<i>Microdochium nivale</i>	GTA	Bordj Bou Arreridj	Grain	2016
02	<i>Fusarium pseudo graminearum</i>	VITRON	Ghilizane	Grain	2016
03	<i>Fusarium poae</i>	SIMITO	Elkhim	Grain	2016
04	<i>Fusarium culmorum</i>	GTA	Bordj Bou Arreridj	Grain	2016
05	<i>Fusarium avenaceum</i>	SIMITO	El-Menia	Grain	2016



(Originale, 2016)

Figure 12 : Aspect morphologique et microscopique des espèces fongique isolées à partir des grains de blé : colonie de *F. culmorum*. (G× 100)

2. Etude la pathogénie et de l'agressivité des isolats de *Fusarium culmorum*

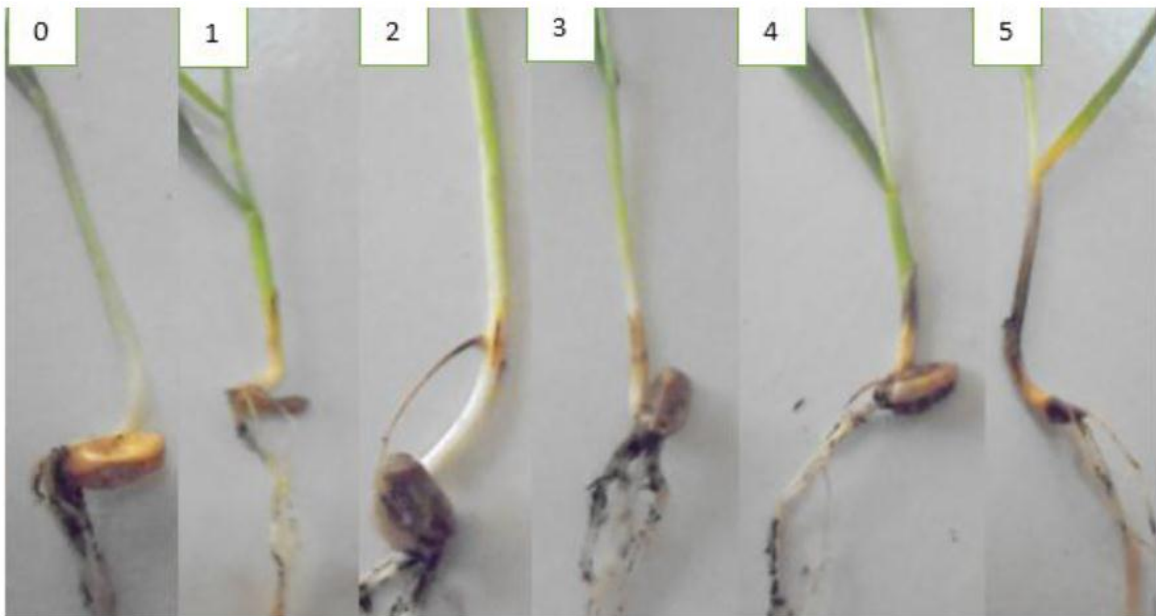
Dans ces trois essais de pathogénicité, 10 isolats de *F.culmorum* ont été testés en utilisant trois méthodes d'inoculations. Les résultats ont montré qu'indépendamment des techniques d'inoculation, tous les isolats ont induit une décoloration au niveau du collet engendrant des indices de sévérités différentes, alors que les plantules témoins n'ont pas montré de symptômes d'attaque. Globalement, la technique d'inoculation par l'inoculum substrat riz a induit des indices de sévérité plus élevés que ceux obtenus par la technique d'inoculation par suspension sporale et fragments mycéliens. Toutefois, pour les isolats les plus agressifs et les moins agressifs les résultats sont similaires par les trois techniques d'inoculation.

2.1. Technique d'inoculation par fragment mycélien

Cette méthode a été adoptée compte tenu de la difficulté de certains isolats à sporuler. 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 (voir figure 13).

Parmi les 10 isolats de *F. culmorum* testés, FC006, FCE010, FC009 et FC014 ont induit un niveau d'indice de sévérité plus que 4 ce sont les isolats les plus agressifs. Alors que les isolats FC2013, FC1013, FC011 et FC1006 ont induit des indices de sévérité inférieure à 2, sont les isolats les moins agressifs (voir figure 14). Nous avons constaté aussi d'après nos résultats que la variété de blé tendre ARZ s'est montrée plus tolérante que la variété de blé dur VITRON qui s'est montrée sensible aux attaques des isolats de *Fusarium*.

Au cours de cet essai, les 4 isolats de *F. culmorum* collectés des épis, 3 isolats obtenus à partir du collet et 3 isolats à partir de la graine ont été testés sur du blé au stade plantule. Les résultats ont montré que tous les isolats testés provenant de l'épi ou du collet ont causé l'apparition d'une décoloration au niveau basal des plantules. Pour les isolats de *F.culmorum* obtenus à partir des épis, l'indice de sévérité (IS) de la maladie a varié de 51,9% à 77,77% ; pour les isolats collectés à partir du collet, l'indice de sévérité était de 1 à 4,5 ; et les isolats obtenus à partir de la graine l'indice de sévérité varie de 2.66 à 5. Cet essai a montré qu'il n'y a pas de différence d'agressivité entre les isolats de *F. culmorum* obtenus de l'épi ou du collet ou bien de la graine



(Originale, 2016)

Figure 13 : Indice de sévérité de *F. culmorum* sur des plantules de blé cultivar montrant les quatre niveaux d'attaque (1-5) comparés au témoin

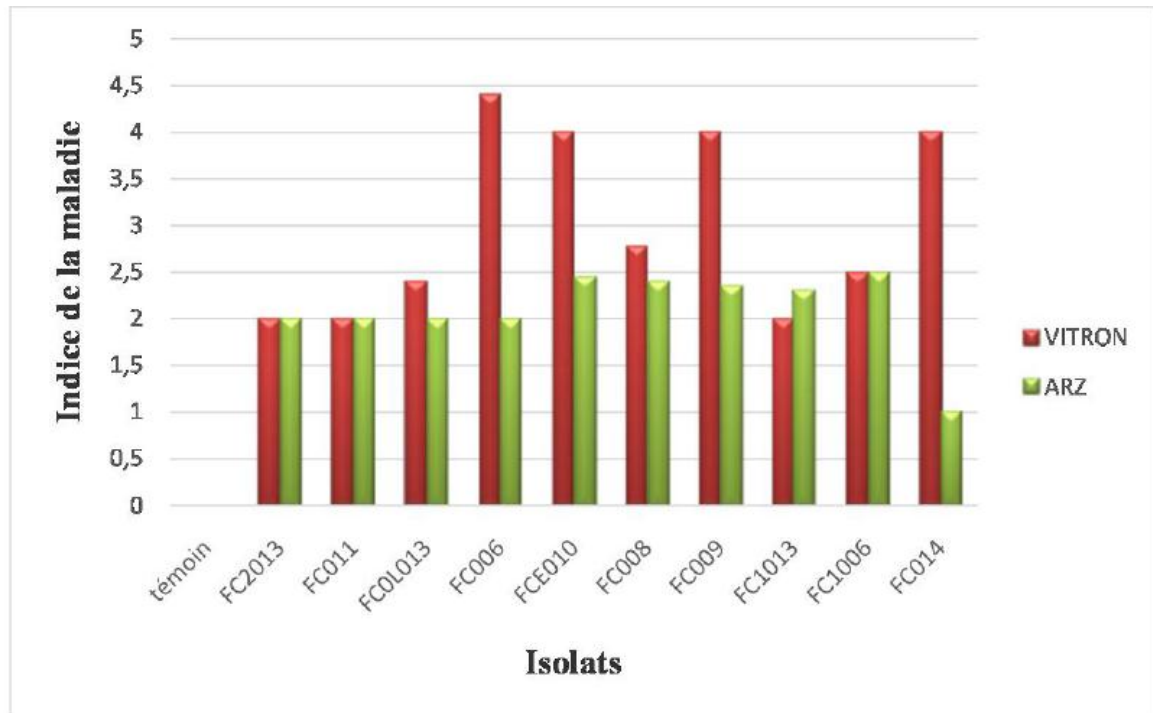


Figure 14 : Moyenne d'indice de sévérité de 10 isolats de *F. culmorum* après 21 jours d'inoculation de plantules de blé en utilisant la technique d'inoculation par fragment mycélien.

2.2. Technique d'inoculation par suspension sporale

Au cours de cet essai, la sensibilité de 2 variétés de blé à la fusariose de l'épi a été étudiée ainsi que l'agressivité des 10 isolats de *F. culmorum*. L'inoculation artificielle des différentes variétés a été réalisée par suspension sporale de *F. culmorum*. Une semaine après l'inoculation des épis, des symptômes de la fusariose sur épillets, ont commencé à apparaître sur les épis inoculés. A la fin de l'essai (21 jours après l'inoculation), tous les épillets inoculés ont été complètement attaqués (voir figure 15). Les épis témoins, n'ont pas montré de symptômes d'attaques. Les résultats obtenus ont montré que pour les deux variétés testées la variété de blé dur s'est montrée très sensible alors que la variété ARZ a montré une certaine tolérance vis à vis des isolats de *Fusarium*.

Les isolats FC006, FC01013, FC014, FC009, FCE010, FC011, FC2013 et FC1006 se sont montrés très agressifs avec des indices d'attaques de 77,77%, 70,55% et 70,22%, 69,44%, 66,11%, 66%, 64%, 63,33% par contre les isolats FC1013, FC008 se sont montrés moins agressifs, nous avons noté des indices d'attaques de 51,90%, 61,66%. (voir figure 16).



(Originale, 2016)

Figure 15 : Symptômes d'attaques de la fusariose de l'épi ; B, C, D ET E présence de symptômes sur les épis inoculés ; (A) absence d'attaque sur les épis témoins

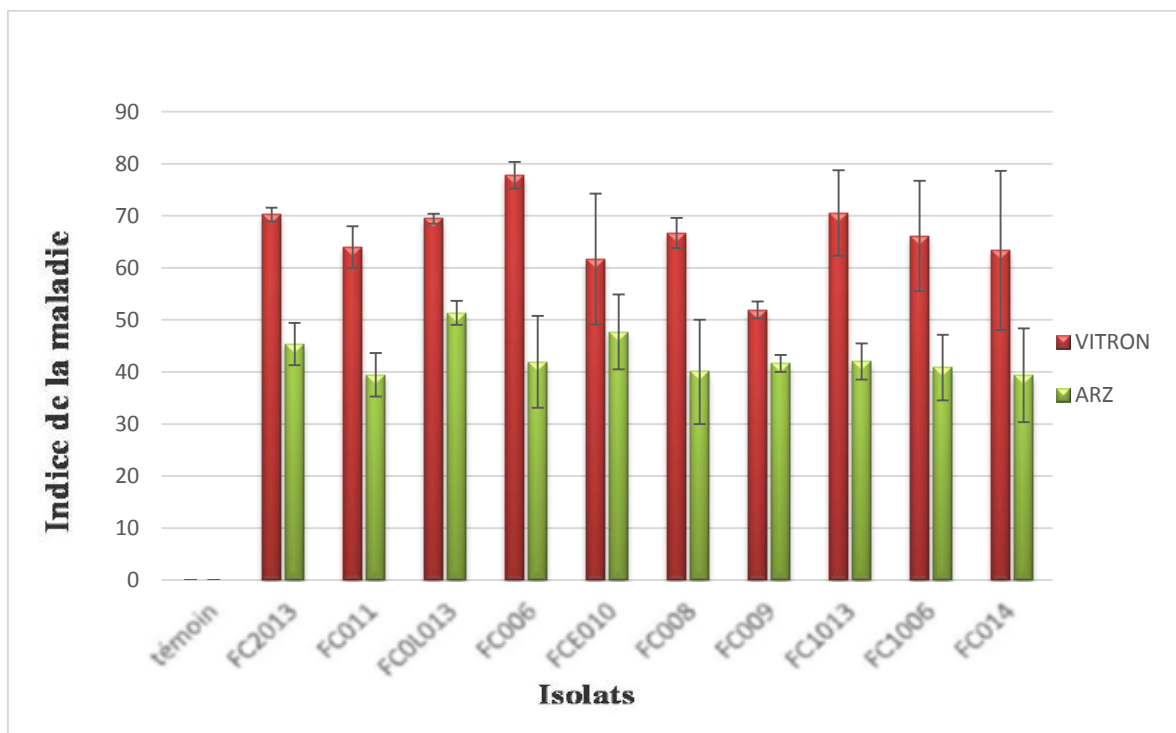


Figure 16 : les indices de la maladie obtenue sur des plantules de blé à stades floraison inoculée par dix isolats de *Fusarium culmorum*.

2.3. Technique d'inoculation des plantules par l'ajout sur la surface du substrat de grains de riz inoculés

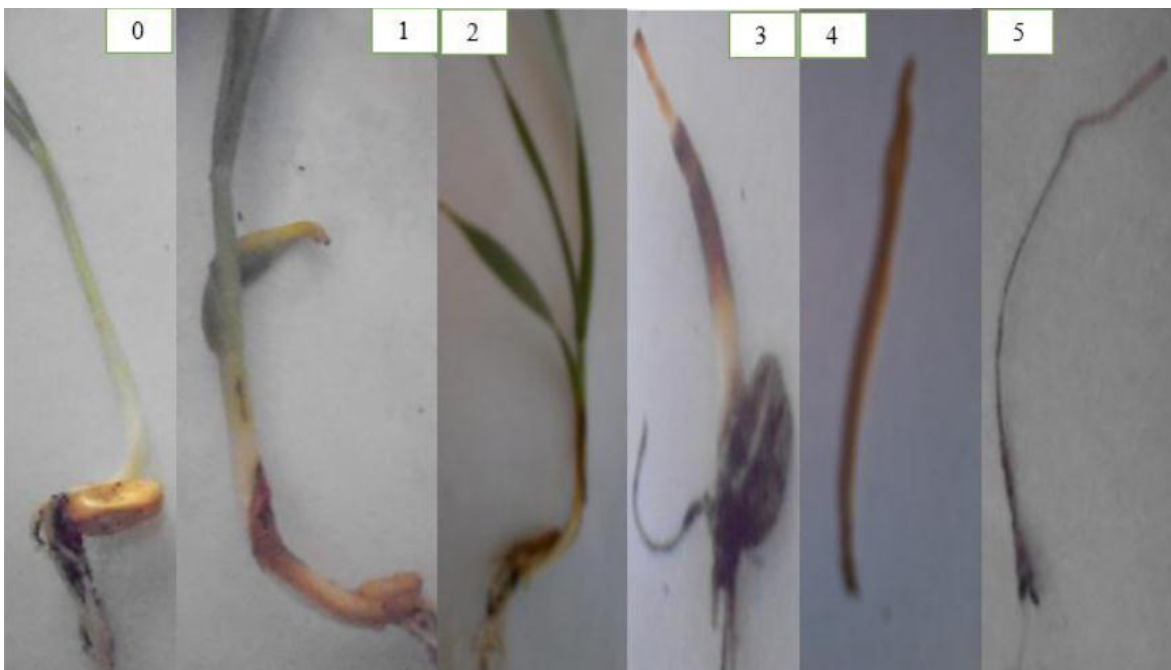
Cette technique elle permet de mettre en contact le champignon directement avec la grain, puis que l'inoculum a été apporté sous forme de riz inoculé dans chaque pot.

Afin d'évaluer l'agressivité des 10 isolats de *Fusarium culmorum* un suivi a été réalisé quotidiennement jusqu'à 38 jour après le semis et des notations ont été faites après arrachage des plants de blé en se basant sur une échelle de notation de notion de à 0 à 5.

Après arrachage des plants, 38 jour après le semis, les symptômes observés sont ; un noircissement ou brunissement au niveau du collet et de tige. Pour le témoin non inoculé, durant la période de l'essai, aucun symptôme n'a été observé. (Voir figure 17)

A partir des résultats obtenus les isolats FC2013, FC0L013, FC1013, FC008, FC006, FC011, et FCE010 ont présentés de fortes attaques avec des indices de sévérités élevés de 5, 5, 5, 4,66, 4,33, 4, 4 pour les deux variétés. Par contre les isolats FC009 et FC1006 se sont montrés moins agressifs, nous avons noté des indices d'attaques de 3,66 et 2,66. (Voir figure 18)

Les Isolats ont attaqué la variété VIRTON avec un indice d'attaque plus élevé par apport à l'ARZ.



(Originale, 2016)

Figure 17 : Indice de sévérité de *F. culmorum* sur des plantules de blé cultivar montrant des niveaux d'attaques différents comparés au témoin

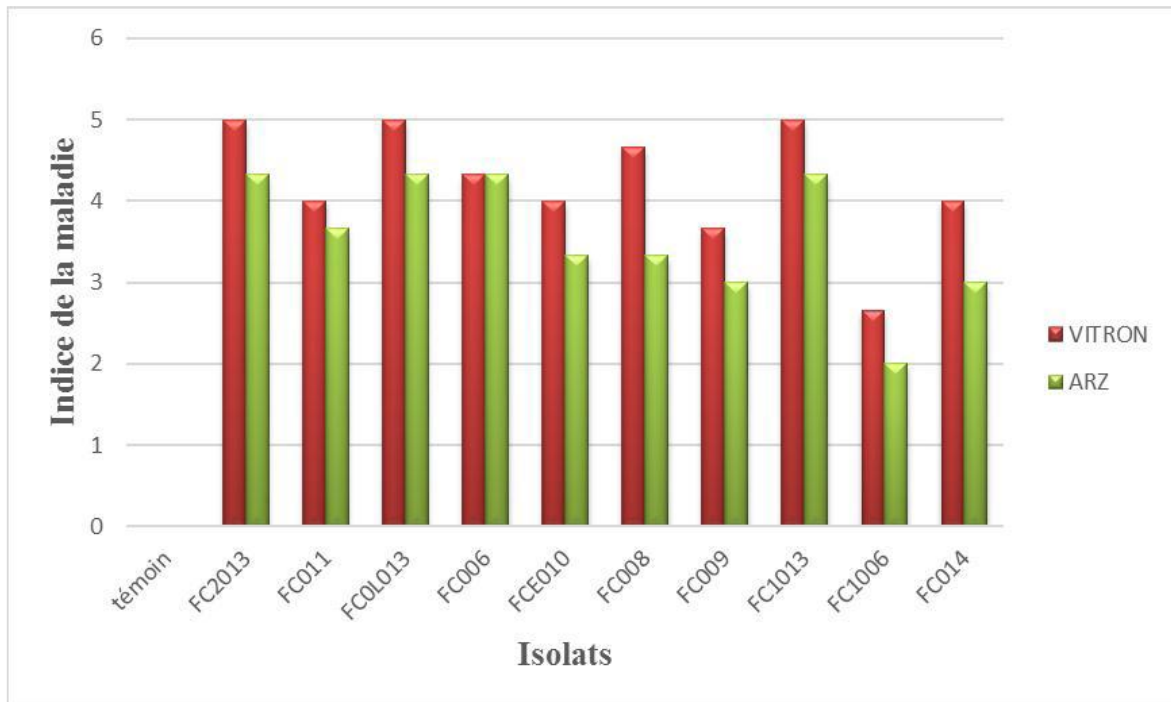


Figure 18 : les indices de la maladie des isolats du *Fusarium culmorum* sur le collet.

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 grains 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).

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

Tous les isolats se sont montrés pathogènes sur plantules, et une différence dans les indices d'attaque a été notée. De plus, 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. Ainsi, pour évaluer la pathogénie et

l'agressivité des espèces de *Fusarium* les trois techniques peuvent être utilisées. Cependant, la technique d'inoculation par fragment mycélien semble être plus facile et demande moins de temps, sachant que cette méthode d'inoculation a été précédemment utilisée par Fernandez et Chen (2005) et Tunali et al. (2006). La même technique d'inoculation a été précédemment utilisée (Miedaner et al., 1996 ; Buerstmayr et al., 1999 ; Mesterházy et al., 1999). Les résultats de cet essai ont indiqué que toutes les variétés testées ont montré des symptômes d'attaque de la fusariose de l'épi montrant leur sensibilité vis-à-vis à cette maladie

Dans le présent travail, la pathogénie d'une collection d'isolats de *F.culmorum* d'origines différentes (collet et épi) a été comparée. Les résultats ont montré qu'il n'y a pas de différence entre l'agressivité des isolats obtenus, du collet, ou de l'épi. Ces résultats sont en accord avec les observations de Tunali et al. (2006) qui ont montré que les isolats de la même espèce originaire de l'épi ou du collet ne diffèrent pas en agressivité. Ces observations peuvent aussi suggérer que les semences ainsi que les débris végétaux peuvent constituer une source d'inoculum pour la pourriture du collet et la fusariose de l'épi.

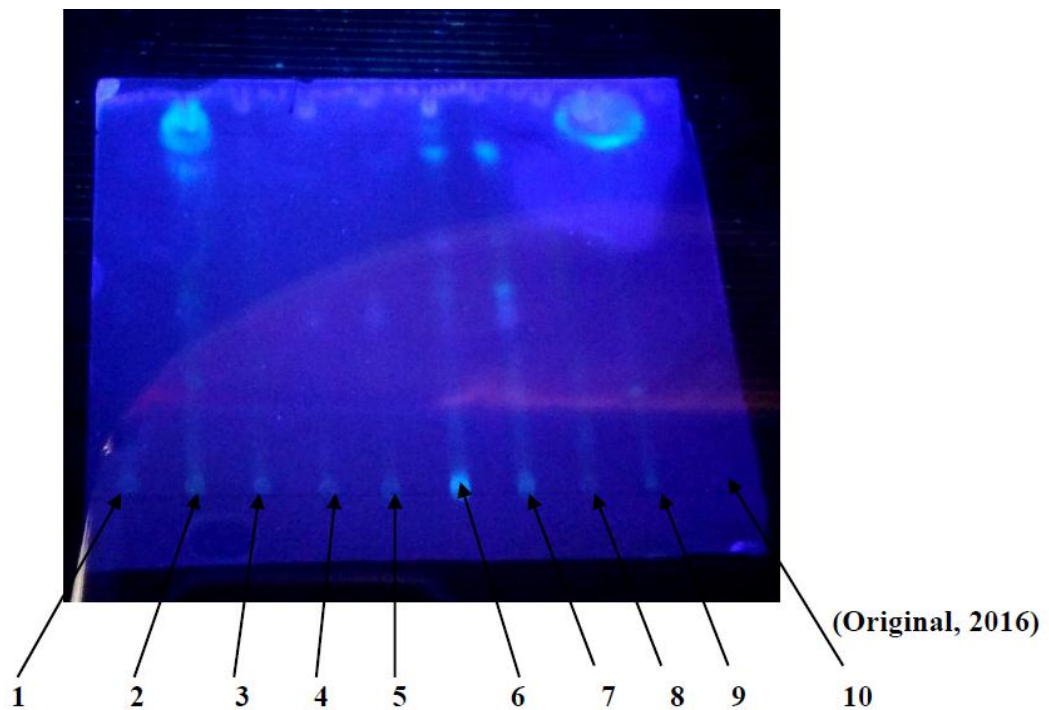
3. Détection du potentiel toxigène de quelques isolats de *fusarium culmorum*

La chromatographie sur couche mince est une méthode physique qui nous permet de faire l'identification du potentiel toxigène de 10 isolats de *Fusarium culmorum*. Après le séchage de la plaque, nous observons aucune trace sur elle, mais dès que l'étatisation de lampe UV qui nous permet de voir des taches sombres des substances est que la longueur d'onde est de 360 les taches sont plus nettes (voir figure 19).

La technique de CCM nous a permis de détecter que tous les isolats sont toxigènes sauf deux isolats, FCE010 et FC009. Car ils n'ont montré aucune migration sur la plaque CCM.

Les résultats ont montré que les quatre isolats, FC0L013, FC011, FC006 et FC1006 sont de chémotypes NIV. Cependant les isolats FC2013, FC008 FC1013 et FC014 sont de chémotype DON. Ce qui explique l'agressivité élevée marquée par les quatre isolats FC2013, FC008 FC1013 et FC014 par rapport aux isolats, FC0L013, FC011, FC006 et FC1006 sachant que le DON est un facteur d'agressivité.

Nous pouvons suggérer qu'il y a une corrélation significative entre l'agressivité et les isolats de chémotype DON



1 :FCE006, 2 : FC2013, 3 :FC0L013, 4 :FC011, 5 :FC006, 6 : FC014,
7 : FC1013, 8 : FC1006, 9 : FC008, 10 : FC009.

Figure 19 : révélation de la plaque CCM sous les rayons UV.

La différence de production des DON pourrait être aussi expliquée par la variabilité génétique entre les isolats. D'ailleurs, Bakan et *al.*, (2002) ont distingué, sur la base de leur polymorphisme génétique, deux groupes de souches de chemotype DON en fonction de leur aptitude quantitative à produire des toxines. En fait, la variation dans les niveaux d'expression des potentiels toxigènes est intimement liée aux régulations des étapes de la biosynthèse des trichothécènes, déterminées par les divers stimuli qu'une souche de *Fusarium* reçoit de son environnement au cours de son cycle de vie (Martins et Martins, 2002 ; Flaherty et al., 2003 ; Champeil et al., 2004 ; Lorens et *al.*,2004 ; Llorens et *al.*, 2006; Walker et *al.*, 2001; Muthomi et *al.*, 2000; Ramirez et al,2004).

Conclusion

Conclusion

Le blé constitue une céréale d'importance primordiale d'un point de vue économique et en tant que denrées alimentaires pour l'homme

En Algérie la culture du blé est parmi les grandes cultures ayant une importance dans la politique agricole du pays. Elle représente, en effet, environ 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 porté sur l'isolement et l'identification des espèces pathogènes qui lui sont associées. Il s'agit d'une étape indispensable pour lutter contre cette maladie.

En basant sur les caractéristiques morphologique des agents pathogènes isolés, nous avons identifié, cinq espèces ont été identifiées à savoir : *Fusarium culmorum* ; *Microdochium nivale* ; *Fusarium pseudo graminearum* ; *Fusarium poae* et *Fusarium avenaceum*. Les identifications morphologiques et des pathogènes isolés ont montré la présence d'une fréquence élevée d'une espèce toxigène à savoir *F. culmorum*.

La deuxième partie de ce travail a porté sur l'étude de Pathogénie et agressivité des isolats de *Fusarium culmorum*. Trois techniques d'inoculation ont été testées aux trois stades végétative différente toute fois la technique d'inoculation par fragment mycélien au stade de trois feuilles, technique d'inoculation par suspension sporale et la technique d'inoculation des plantules par l'ajout sur la surface du substrat de grains de riz inoculés,

Dans les trois cas, l'inoculum a été déposé de manière adjacente à la plantule au niveau du collet et de la graine. Les dix isolats de *Fusarium culmorum* pour les trois techniques, se sont montrés pathogènes sur plantules, et montré aussi une différence dans les indices d'attaque. Cette étude a montré aussi que l'agressivité des isolats testés a varié entre les isolats d'une même espèce.

Le dernier volet de cette étude a porté sur l'identification du potentiel toxigène de dix isolats de *Fusarium culmorum*, les résultats ont montré que 8 isolats sont taxinogènes et produisent du déoxynivalénol (DON) et (NIV).

Bien que l'espèce *F. culmorum* possède une reproduction asexuée, le mouvement du champignon à l'intérieur et entre les régions ainsi que d'autres importations de semences à

partir d'autres pays permettraient probablement au stade sexué de devenir une composante du cycle du champignon (Leslie et Klein, 1996). La présence éventuelle de la reproduction sexuée du pathogène, doit être prise en considération pour mettre au point une stratégie de lutte durable. Nous proposons d'approfondir les recherches sur la sensibilité variétale du blé à la fusariose de l'épi dans le but de déterminer des gènes responsables de la résistance à la maladie. C'est une tâche difficile, mais le résultat est très utile en matière de lutte contre cette maladie.

Et mettre en place un système de contrôle et de surveillance de la contamination du blé par les mycotoxines. Cela permet sans doute de garantir la qualité des produits céréaliers.

Références
Bibliographiques

Référence bibliographique

- Aidani, H. 2015. Effet des attaques de Capucin des grains (*Rhizopertha dominica*) sur les céréales stockées. Estimation sur la perte pondérale et le pouvoir germinatif Cas de blé dur dans la région de Tlemcen. Thèse de master : université aboubakr belkaid.tlemcen. p15.
- Bonjean., Picard.1990. les céréales apaille : Les céréales à paille : origine histoire économie et sélection. Softword-Groupe ITM, Paris, 208p.
- Clément, D. 2010. Identification des critères du grain de blé (*Triticum aestivum* L.) favorables à la production de bioéthanol par l'étude d'un ensemble de cultivars et par l'analyse protéomique de lignées isogéniqueswaxy. thèse docteur d'université : Université Blaise Pascal. 132p.
- Djéballi, N., Tiyab, N., Gargouri S., et *al.* 2014. Effet d'osmo -amorçage des grains sur la germination, la croissance et la résistance du blé dur à *Fusarium culmorum*. Journée Nationale sur la valorisation des résultats de la Recherche dans le domaine des Grandes Cultures p12.
- Djermoun, A.2009. La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. Nature et Technologie. n° 01/Juin 2009. Pages 45 à 53.
- Fritas, S. 2012. Etude bioécologique du complexe des insectes liés aux cultures céréalières dans la region de Batna. (Algérie). Thèse de magister : université aboubakr belkaid.tlemcen. p10.
- Gavira, T. et Burny. PH. 2012. livre blanc « céréale » ULg Gembloux Agro-bio Tech et CRA-W Gembloux. chap 9 .économie. Evolution du marché mondial du blé au cours des cinquante dernières d'années, 9/12p.
- Marc, Y. J. 2015, Petit guide des céréales à paille «promenons-nous dans les champs ». La Garance voyageuse n° 109.p25.
<https://www.google.dz/search?q=Botanique+c%C3%A9r%C3%A9ales+à+paille+«promenons-nous+dans+les+champs+»+La+Garance+voyageuse+n%C2%B0+109.p25.&aq=chrome..69i57.3097j0j8&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

- Otmane, T. Kouzmine, Y. 2012. Bilan spatialisé de la mise en valeur agricole au Sahara algérien, Mythes, réalisations et impacts dans le Touat-Gourara-Tidikelt [consulte mai 2016]. <https://cybergeogeo.revues.org/25732#article-25732>.
- Martin, R. 2004. La Fusariose chez les céréales dans le Canada atlantique. Agriculture et Agroalimentaire Canada. Canada.p2.
- Sayoud, R. 2010. les maladies des céréales et des légumes secs transmises par la semence. Constantine-Blida-Oran. pp8-9.
- CLEMENT-GRANDCOURT et PRAT, 1970- Les céréales. Collection d'enseignement agricole. 2ème Ed. PP351-360.
- Aouali, S et Douici-khalfi, A. 2012. Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie. itgc Alger.p21.
- Lacroix, M. 2008. Guide agronomique des grandes cultures. le bulletin des agriculteurs. p49.
- Lauzon, M., Dion, Y. et Rioux, S. 2007. Fusariose de l'épi chez le blé et l'orge. bulletin technique. Canada. Juin 2007, No 2.01, p1.
- Ezzahiri, B. 2001. Les maladies de blé. transfert de technologie en agriculture. Février 2001, N°77, p2.
- El yacoubi, H. 2012. complexe fongique de la pourriture racinaire du blé tendre au nord-ouest du Maroc. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 2012, 151(1-4), p36.
- Gleizes, J.2013. Des chiffres et des céréales L'essentiel de la filière. Edition 2012-2013. Paris. pp 6-7.
- Claire König, 2013. Les ravageurs, menace pour nos céréales. 03-2016. <http://www.futura-sciences.com/magazines/nature/infos/dossiers/d/botanique-ravageursmenace-nos-cereales-1658/>

- Niderkorn,V. Boudra,H. Morgavi D.P. 2007. Les fusariotoxines : comment limiter leur présence dans les ensilages et leur impact chez les ruminants ? .fouger. France.p113.
- Balzer, A. Tardieu,D. Bailly,J.-D. et Guerre, P. 2004. Les trichothécènes : nature des toxines, présence dans les aliments et moyens delutte. Toulouse.p299.
- Ontario, 2009. Maladies des grandes cultures : Maladies des céréales.15/5/2016. <http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/pub811/14cereal.htm>.
- OAIC, 2013. Note de conjoncture 3éme Trimestre 2013. Ministère de l’agriculture et du développement ruraloffice algérien interprofessionnel des cereales. p3. <http://oaic.office.com/pdf/Note%20de%20Conjoncture.pdf>
- Regue, F.Z. 2014. La fusariose de l’épi dans la région de Laghouat pathogénie et comportement variétal. Thèse de master : université d’amar telidji laghouat.
- 1972. Chapitre 3 : Ble Dur. Économie De La Production.Édition na 415. Parie.
- G.A.M, 2011. Rapport Sur Les Perspectives Du Marché. Agriculture et Agroalimentaire Canada. mars 2011. Vol. 3 n. 1. p 01.
- Zillinsky, F.J. 1983. Maladies communes des céréales il paille : Guide d'identification. centre international pour l'amélioration du maïs et du blé. México.
- Lamari, S. 2014.étude de la pathogénicité de cinq isolats de fusarium sur blé dur. Du diplôme de master. université d’Amar telidji Laghouat. p31.
- Xu XM, Nicholson P, 2009. Community ecology of fungal pathgens causing wheat heat head blight. Annual review of phytopathology 47, 83-103.
- Rahmani, S. 2015. Contribution à l’étude de la fusariose du blé : pathogénie des isolats de *Fusarium* et identification du potentiel toxinogène

- Bottalico, A. 1998. *Fusarium* disease of cereals : species complex and related mycotoxin profiles in Europe. *Journal of plant pathology* 80 :85-103.
- Lori, G. A., Sisterna, M. N., Sarandon, S. J., Rizzo, I., et Chidichimo, H. 2009. *Fusarium* head blight in wheat : impact of tillage and other agronomic practices under natural infection. *Crop Protection* 28 :495-502.
- Mahfoud, A. et Lasbahani, A. 2015. Approche de lutte contre les maladies fongiques du blé : étude de l'efficacité de trois molécules antifongiques (in-vitro et in situ) et l'effet antagoniste de certains microorganismes fongiques (in-vitro). thèse de master : Université des Frères Mentouri Constantine.
- Walker, S., Leath, S., Hagier, W., Murphy, J., 2001. Variation among isolates of *Fusarium graminearum* associated with *Fusarium* head blight in North Carolina. *Plant Disease* 85, 404–410.
- Lorens, A., Hinojo, M.J.M., Mateo, R., Gonzalez-Jaen, M.T., Valle-Algarra, F.M., Logrieco, A., Jimenez, M., 2006. Characterization of *Fusarium* spp. isolates by PCR-RFLP analysis of the intergenic spacer region of the rRNA gene (rDNA). *International Journal of Food Microbiology* 106, 287–306.
- Lauren, D.R., Sayer, S.T., diMenna, M.E., 1992. Trichothecene production by *Fusarium* species isolated from grain and pasture throughout New Zealand. *Mycopathologica* 120, 167–176.
- Ramirez, M.L., Chulze, S., Magan, N., 2006. Temperature and water activity effects on growth and temporal deoxynivalenol production by two Argentinean strains of *Fusarium graminearum* on irradiated wheat grain. *International Journal of Food Microbiology* 106, 291–296.
- Muthomi, J.W., Schutze, A., Dehne, H.W., Mutitu, E.W., Oerke, E.C., 2000. Characterisation of *Fusarium culmorum* isolates by mycotoxin production and aggressiveness to winter wheat. *Journal of Plant Disease and Protection* 107, 113–123.
- Bakan, B., Giraud-Delville, C., Pinson, L., Richard-Molard, D., Fournier, E., Brygoo, Y., 2002. Identification by PCR of *Fusarium culmorum* strains producing large and

small amounts of deoxynivalenol. *Applied and Environmental Microbiology* 68, 5472–5479.

- Champeil, A. Doré, T., Fourbet, J.F. 2004. Fusarium head blight : epidemiological origin of effects of cultural practices o head blight attacks and the productio of mycotoxins by Fusarium in wheat grains. *Plant Science* 166, 1338- 1345.
- Fryssinet, C. et Fremy, J. M. 1991. Dosage des mycotoxines Techniques d'analyse et contrôle dans les industries agro-alimentaire IV : Analyses des constituants alimentaires. Lavoisier pp.349-371.
- Desjardins, A.E., Plattner, R.D., et Gordon, T.R. 2000. Gibberella fujikuroi mating population A and *Fusarium* subglutinans from teosinte species and maize from Mexico and America. *Mycological Research* 104 :865-872.
- Kim, S.k., P.J., Byun, H.G., Je, J.Y., Moon, S.H., et Kim, S.H. 2003. Recovery of fish bone from hoki (*Johnius belengeri*) frame using a proteolytic ezyme isolated from mackerel intestine.
- Fernandez, M.R., et chen, Y. 2005. Pathogenicity of Fusarium species on different plant Parts of spring wheat under controlled condition. *Plant Disease* 89 :164-169.
- Mishra, P.K., Fox, R.T.V., et Culham, A. 2003. Inter- simple sequence repeat and aggressiveness analyses revealed high genetic diverstiy, recombination and longrange dispersal in *Fusarium culmorum*. *Annals of Applied Biology* 143 :291-301.
- Carter, J.P., Reznor, H.N., Holden, D., Desjardins, A.E., Plattner R.D., et Nicholson, P 2002. Variation in pathogenicity associated with the genetic diversity of *Fusarium Graminearum*. *European Journal of plant pathology* 108 : 573-583.
- Llorens, A., Hinjo, M.JM., R., Gonzalez-Jaen, M. T., Valle-Algarra, F. M., Logrico, A., et Jimenez, M. 2006. haracterisation of fusarium spp . isoltaes by PCR-RFLP analysis of the intergenic spacer region of the rRNA gene (rDNA). *International journal of Food Microbiologie* 106 : 287- 306.
- Milanez, T. V., Valente-soares, L. M., et Baptista, G. G. 2006. Occurrence of trichothecene mycotoxins in Brazilian corn-based food products. *Food control* 17 : 293-298.
- Perkowski, J., Busco, M., Stuper, K., KOstecki, M., Matysiak, A., et Szwajkowska-Michalek, L. 2008. concentration of ergosterol in small-grained naturally contaminated and inoculated cereals. *Biologia* 63 : 542- 547.

- Ponts, N., Pinson-Gadiaz, L., Verdal-Bonnin, M.N., Brureau, C., et Richard-Forget, F. 2006. Accumulation of deoxynivalenol and its 15-acetylated form is significantly modulated by oxidative stress in liquid cultures of *Fusarium graminearum*. *FEMS Microbiology Letters* 258 : 102-107.
- Smiley, R. W, Gourlie, J. A., Easley, S. A., et Paterson, L.M. 2005. Pathogenicity of
- Fungi associated with the wheat crown rot complex in Oregon and Washington. *Plant disease* 89 : 949-957.
- Tunali, B., Nicol, J., Yelda Erol, F., et Altiparmak Pathogenicity of Turkish crown and head scab isolates on stem bases on winter wheat under greenhouse conditions. *Journal of Plant Pathology* 5 : 143-149.
- Mesterhazy, A., Bartok, T., Mirocha, C.G., et Komocrozy, R. 1999. Nature of wheat resistance to *Fusarium* head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. *Plant Breeding* 118 : 97-110.

Annexes

Listes annexes

Annexe 01 : composition des milieux de culture

Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar DCPA

- Peptone bactériologique 15,0 g
- K_2HPO_4 1,0 g
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 g
- chloramphénicol 0,2 g
- Crystal violet en solution aqueuse 1 ml
- Agar 15,0 g
- Eau distillée 1000 ml

(Potato Dextrose Agar) PDA

- Agar agar 20 g
- Pomme de terre 200 g
- Dextrose glucose 20 g
- Eau distillée 100 ml

Annexe 02 : la cuve de CCM.



Annexe 03 : lampe UV



Annexe 04 : les indices de sévérité

D'inoculation sur le collet stade trois feuilles :

	VITRON	ARZ
Fc213	2	2
FC011	2	2
FC0L013	2.4	2
FC006	4,5	2
FCE010	4	2,44
FC008	4,77	2,4
FC009	4	2,6
FC1013	2	2,3
FC1006	2,5	2,5
FC014	4	2

D'inoculation sur le collet :

	VITRON	ARZ
Fc213	5	5
FC011	4	4
FC0L013	5	5
FC006	4,33	4,33
FCE010	4	4
FC008	4,6	4,66
FC009	3,66	3,66
FC1013	5	5
FC1006	2,66	2,66
FC014	4	4

D'inoculation au stade de floraison :

	VITRON	ARZ
Fc213	70,22%	45,35%
FC011	64%	39,443333%
FC0L013	69,443333%	51,333333%
FC006	77,77667%	41,943333%
FCE010	61,66667%	47,67667%
FC008	66,66667%	40%
FC009	51,903333%	41,633333%
FC1013	70,553333%%	42%
FC1006	66,11%	40,833333%
FC014	63,333333%	39,333333%

