



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



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE : SCIENCES

DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : Saibi Wissam

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

FILIERE : SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION : PROTECTION DES VEGETAUX

Thème

Les caractéristiques morphologique et biochimique des espèces de
Fusarium spp. responsables de la fusariose du blé

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
OUAISSA Nadjat	MAA	Président
AMEUR Djamila	MAA	Examineur
TOUATI-Hattab Sihem	MCB	Rapporteur

Promotion : Juillet- 2022

Titre du mémoire : les caractéristiques morphologique et biochimique des espèces de fusarium spp responsable de fusariose de blé

Noms : Saibi

Prénoms : Wissam

Encadreur : Mme Touati

Résumé

La fusariose des céréales est une maladie fongique qui sévit à travers le monde, et qui est responsable de pertes considérables de production. Les espèces impliquées peuvent conduire à la contamination des grains par diverses mycotoxines, qui sont dangereuses pour la santé humaine et animale.

Sept isolats *Fusarium* spp., obtenus à partir de grains de blé, sont choisis pour être identifiés. L'étude de l'effet de la température sur la croissance des isolats in vitro a montré que l'optimum de croissance est situé à 20 °C et 30 °C. L'essai de l'évaluation de l'agressivité sur collet a montré que tous les isolats ont induit les symptômes typiques de la pourriture sur collet avec une variabilité dans l'agressivité des isolats. Nos souches ont été et identifiées comme étant de chémotype DON ; DON/15Adon et NIV/FX après identification par HPLC-DAD des TCTB produits après 15 jours d'incubation. La recherche de la ZEA dans les extraits des trois échantillons étudiés est négative.

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

Memory title : : les caractéristiques morphologique et biochimique des espèces de *Fusarium* spp responsable de fusariose de blé

Name: Saibi

First name: Wissam

Supervisor: Ms. Touati

Abstract

Fusarium wilt of cereals is a fungal disease that is rife throughout the world and is responsible for considerable production losses. The species involved can lead to the contamination of grains with various mycotoxins, which are dangerous for human and animal health.

The identification of 7 *Fusarium* spp. obtained from wheat grains, the study of the effect of temperature on the growth of isolates in vitro showed that the optimum growth is located at 20°C and 30°C. The collar-aggressiveness test showed that all isolates induced typical symptoms of collar rot with variability in the aggressiveness of the isolates. Our strains have been identified as being of the DON chemotype; DON/15Adon and NIV/FX after identification by HPLC-DAD of the TCTBs produced after 15 days of incubation. The search for ZEA in the extracts of the three samples studied is negative.

Key words: *Fusarium* wilt- *Fusarium* spp.- In vitro growth - Aggressiveness. -TCTB

عنوان المذكرة: الخصائص المورفولوجية والكيميائية الحيوية لأنواع *Fusarium spp* المسؤولة عن ذبول الفيوزاريوم في القمح.

المشرفة: السيدة تواتي

الاسم: وسام

اللقب: سايبى

ملخص

ذبول الفيوزاريوم للحبوب هو مرض فطري منتشر في جميع أنحاء العالم وهو مسؤول عن خسائر كبيرة في الإنتاج. يمكن أن تؤدي الأنواع المعنية إلى تلوث الحبوب بمختلف السموم الفطرية، والتي تشكل خطورة على صحة الإنسان والحيوان.

تحديد 7 عزلات من *Fusarium spp* التي تم الحصول عليها من حبوب القمح، أظهرت دراسة تأثير درجة الحرارة على نمو العزلات في المختبر أن النمو الأمثل يقع بين 20 درجة مئوية و30 درجة مئوية. كما أظهر اختبار عدوانية العزلات على العنق أن جميع العزلات تسببت في أعراض نموذجية لتعفن الرقبة مع تباين في عدوانيتها. تم التعرف على سلالاتنا على أنها من النمط الكيميائي DON ؛ DON / 15Adon و FX / NIV بعد تحديد HLPC-DAD لـ TCTBs المنتجة بعد 15 يومًا من الحضنة. البحث عن ZEA في مستخلصات العينات الثلاث المدروسة سلبي.

الكلمات المفتاحية: ذبول الفيوزاريوم - الفيوزاريوم - النمو في المختبر - العدوانية - TCTB.

Dédicace

*Avec ma grande gratitude et grand amour, je dédie, ce
modeste travail à :*

*Ma chère mère qui a sacrifié sa vie à bâtir la mienne. A mon
père, que dieu lui fasse miséricorde.*

A mes très chers frères,

A mes deux familles paternelles et maternelle

A Mes amis

*Je dédie ce petit travail, pour leur prouver que leur soutien et
leur aimable présent était bénéfique pour mon cursus*

Remerciements

Avant tout, Je remercie DIEU de donné la force, la patience et le courage pour accomplir ce travail.

Au terme de cette étude, je tiens à exprimer mes sincères remerciements à ma promotrice Mme TOUATI SIHEM HATAB pour avoir accepté de m'encadrer, pour sa patience, sa disponibilité et ces conseils judicieux m'ayant permis d'améliorer mon Travail ; qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect et reconnaissance.

J'exprime mon grand respect et mes remerciements à :

- Mme. OUAISSA N, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury.*
- Mlle AMEUR J, pour m'avoir fait l'honneur d'examiner mon travail.*
- Mlle AMEUR J et Mlle HOUYOU Z, pour leur accueil et leur disponibilité.*

J'exprime mes grands remerciements aussi à :

- Toute l'équipe du laboratoire de pour leur amitié et leur aide.*
- Tout le personnel du département d'Agronomie.*
- Tous ceux qui ont contribué à ma formation.*
- Tout mes enseignants.*
- Toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Table des matière

Résumé	
ملخص	
Abstract	
Dédicaces	
Remerciements	
Liste des tableaux.....	III
Liste des figures.....	IV
Liste des abréviations.....	V
Introduction	2
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
1.1. Généralités	5
1.2. Classification botanique.....	5
1.3. Importance économique.....	5
1.4. Cycle de développement.....	6
1.5. Pathologie.....	7
2. La fusariose	9
2.1. Epidémiologie.....	10
2.2. Symptomatologie	11
2.3. Les mycotoxines.....	12
2.4. Méthodes analytiques des mycotoxines	15
2.5. Stratégies de lutte contre la fusariose	15
MATERIEL ET METHODES.....	19
1. Matériel.....	20
1.1. Matériel végétal	20
1.2. Matériel fongique	20
2. Méthodes	20
2.2. Identification morphologique des isolats.....	20
2.4. Etude de l'effet de température sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Fusarium spp.</i>	21
2.5. Pathogénie et agressivité des espèces de <i>Fusarium spp</i>	21
2.6. Analyses statistiques.....	23
2.7. Extraction et identification des TCTB et ZEA.	23

RESULTATS ET DISCUSSION	26
I. Identification des isolats sur milieu PDA.....	27
II. Effet de la température sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Fusarium</i> spp. sur milieu PDA	31
III. Étude de l'agressivité des espèces <i>Fusarium</i> spp. différent au niveau de collet.....	34
IV. Analyses de la production des trichothécènes pour les isolats de <i>Fusarium</i> spp. par CCM et HPLC	37
Discussion.....	40
CONCLUSION.....	44
REFRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	47

Liste des tableaux

Tableau 1: La production de blé dur en Algérie durant (2015-2019).....	5
Tableau 2 : intervalle des mensurations pour les es pèces de <i>Fusarium</i> spp.	30
Tableau 3: La température optimale de chaque espèce de <i>Fusarium</i> spp	31
Tableau 4: Répartition des isolats en groupes homogènes selon l'analyse de comparaison des moyennes "CM" de Newman - Keuls à 5%	36

Liste des figures

Figure 1: Schéma illustrant le cycle de développement du blé (Feillet, 2000).....	7
Figure 2: Les principales maladies des épis et feuilles du blé.....	8
Figure 3: Types de fusariose (Parry et al., 1995).....	9
Figure 4: Cycle parasitaire des fusarioses des céréales. (Boutigny, 2007).	11
Figure 5 : Symptômes de la fusariose de l'épi chez le blé	12
Figure 6 : Structure chimique de la zéaralénone (ZEA).....	13
Figure 7: Structure chimique des trichothécènes de types B (Cole et Cox, 1981).....	14
Figure 8: Technique d'inoculation par fragments mycéliens.....	22
Figure 9: Chromatographe sur couche mince (CCM).....	25
Figure 10: Aspects morphologiques et microscopiques des espèces de <i>F. concentricum</i> et <i>F. proliferatum</i> (G x 40) et (G x100).....	27
Figure 11: Aspects morphologiques et microscopiques des espèces de <i>Fusarium verticillioides</i> et <i>Fusarium pseudograminearum</i> (G x 40) et (G x100)	28
Figure 12: Aspects morphologiques des espèces de <i>Fusarium</i> spp.(G x100).....	29
Figure 13: Diamètre moyen (cm) des espèces de <i>Fusarium</i> spp. après 4 jours d'incubation à 20,25 et 30°C.....	32
Figure 14: Cinétique de croissance du mycélium des isolats de <i>Fusarium</i> spp. Cultivés sur milieu PDA à 20°C, 25°C, 30°C.	33
Figure 15: Variation dans l'agressivité des différentes espèces de <i>Fusarium</i> spp.	34
Figure 16: Indice de sévérité de <i>Fusarium</i> spp. sur des plantules de blé cultivar « Vitron ».	35
Figure 18: Analyse par chromatographie en phase liquide (HPLC/DAD) de <i>F. culmorum</i> producteur de DON	38
Figure 19: Analyse par chromatographie en phase liquide (HPLC/DAD) <i>F.pseudograminearum</i> producteur de DON/15Adon.....	38
Figure 20: Dosage de la quantité de NIV par chromatographie en phase liquide (HPLC/DAD) de deu <i>F. culmorum</i> producteur de NIV/FX.	39

Liste des abréviations

15aDON 15 = Acétyl-déoxynivalénol

3aDON 3 = Acétyl-déoxynivalénol

ADN = Acide Désoxyribonucléique

ARN = Acide Ribonucléique

CCM = Chromatographe sur couche mince

CGP = Chromatographe

Cm = *Centimètre*

CM = Comparaisons de moyennes

DON = Déoxynivalénol

F = *Fusarium*

FAO = l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

FHB = Fusarium head blight

FX = Fusarenone X

HPLC = Chromatographe liquide haute performance

Min = minute

ml = millilitre

Mm = milli mètre

MSM = milieu synthétique pour mycotoxines

MT = millions de tonnes

NIV = Nivalénol

PAM = Le programme alimentaire mondial

PDA = Potato dextrose agar

PPM = partie par million

QTL= Quantitative Trait Locus

Spp = species pluralis

TCT = Trichothécène

TCTB = Trichothécène de type B

UV = Ultraviolet

ZEA = Zéaralénone

ml = millilitre

INTRODUCTION

Introduction

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place importante dans les systèmes de culture (Mouellef, 2010) et dans les programmes de recherche agricole. En Algérie, cette place est d'autant plus importante que le pays veut atteindre une production stable en céréales, en particulier le blé dur (Kellou, 2008).

En Algérie le blé dur occupe une place primordiale dans l'alimentation des populations (Dahlia, 2010). Il constitue en effet la première ressource en alimentation humaine et la principale source de protéines ; il fournit également une ressource privilégiée pour l'alimentation animale et de multiples applications industrielles (Amokrane, 2001).

Hamadache *et al.*, (2002) indiquent que la cause principale de la faiblesse de la production du blé est le faible niveau de productivité (rendement) obtenu. Cette faible productivité est même due à des contraintes abiotiques (sécheresse surtout), humaines (itinéraires techniques appliqués, vulgarisation, etc..) et des facteurs biotiques (les adventices, les ravageurs et les maladies).

Parmi les maladies, une intense pression parasitaire par de nombreux agents de détérioration tels que, les champignons pathogènes du genre *Fusarium* responsable de la fusariose. Nous citons comme exemples les deux maladies de *Fusarium Foot Rot* (FFR) et *Fusarium Head Blight* (FHB) ou fusariose de l'épi de blé qui ont déjà été signalées en Algérie par Boureghda *et al.* (2010), Touati-Hattabet *al.* (2016) et Larabaet *al.* (2017). Plus précisément cette dernière maladie s'est imposée comme l'une des préoccupations importantes des différents acteurs de la filière blé compte tenu des pertes économiques considérables liées à la diminution des rendements de récolte qu'elle génère (Parry *et al.*, 1995 ; Xu et Berrie, 2005).

En effet, en plus des pertes directes de rendement, les espèces de genre *Fusarium* peuvent synthétiser dans les grains des mycotoxines qui sont des molécules issues du métabolisme secondaire du champignon et ayant des effets néfastes sur la santé humaine et animale. La contamination des grains en mycotoxines peut les rendre impropre à la consommation et soulève un réel problème de santé publique. Leur consommation régulière pourrait entraîner des pathologies diverses et en particulier des cancers de l'oesophage pour les fumonisines ainsi qu'un retard de la croissance et des troubles gastro-intestinaux pour les trichothécènes (Rocha *et al.*, 2005).

L'étude de la pathogénie et de l'agressivité des isolats impliqués dans la fusariose du blé aide à mieux comprendre l'épidémiologie du complexe fongique associé à cette maladie afin d'entreprendre des stratégies de lutte appropriées.

Plusieurs travaux ont été réalisés en Algérie sur la fusariose du blé, des prospections effectuées durant plusieurs campagnes céréalières depuis 2010 par Abdallah (2014) , Touati-Hattab (2016) et Laraba (2017) ont touché les principales régions céréalières en Algérie. Ces prospections ont montré que *F.culmorum* est le premier agent responsable de la fusariose du blé en Algérie suivi par *F.pseudograminearum*. Dans ce contexte nous nous sommes proposé d'étudier le pathosystème Blé/*Fusarium spp*.

Ce travail est dans le but d'étude les caractéristiques morphologique et biochimique des espèces de *Fusarium spp* responsable de fusariose de blé. Cette présente étude consiste à :

- Identifier morphologiquement les isolats de *Fusarium spp* ;
- Etudier l'effet d'une gamme de températures sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium spp* sur milieu PDA ;
- Evaluer l'agressivité des isolats sur le collet des plants de blé de la variété Vitron suivant la technique d'inoculation par fragments mycéliens ;
- Analyse des mycotoxines par HPLC et CCM.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Blé

1.1. Généralités

Le blé dur est l'une des premières espèces cueillies et cultivées par l'homme, depuis plus de 7000 à 10000 ans, dans le croissant fertile, zone couvrant la Palestine, la Syrie, l'Irak et une grande partie de l'Iran (Ferret, 1996).

Le blé est une monocotylédone de la famille des *Poaceae* appartenant au genre *Triticum*. Cette plante annuelle produit un fruit sec indéhiscent, le caryopse. Le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*) sont les deux espèces les plus cultivées dans le monde (Clément Debiton, 2010). La production de blé est facile car il s'adapte à des sols et des climats variés. L'existence de variétés adaptées à différents milieux et résistantes à de nombreuses maladies permet de cultiver le blé dans de nombreux pays. Il existe des blés d'hiver et des blés de printemps, leurs périodes de plantation et de récoltes dans l'année sont différentes (<http://www.unctad.org/infocomm/francais/ble/descript.htm>).

1.2. Classification botanique

Le blé est une plante herbacée, appartenant au groupe des céréales à paille et dont la classification botanique est la suivante :

Embranchement : Spermaphytes

S/Embranchement : Angiospermes

Classe : Monocotylédones

Super ordre : Commeliniflorales

Ordre : Poales

Famille : Graminacées

Genre *Triticum sp.*

1.3. Importance économique

1.4. Cycle de développement

Le cycle de développement du blé comprend trois périodes : végétative, reproductrice et période de maturation

1.4.1. Période végétative

Elle est caractérisée par la croissance et le développement des organes végétatifs et s'étale de la germination aux premières manifestations de l'allongement de la tige principale (début montaison). Elle se divise en trois stades qui sont : Stade germination-levée, Stade levée-tallage (Hadjout Salah, 2013).

1.4.2. Période reproductrice

C'est une phase qui s'étend de la différenciation de l'ébauche d'épillet sur l'apex, marquant ainsi la fin de la période végétative et l'acheminement vers la fonction de reproduction, jusqu'à la fécondation et l'anthèse qui suit quelques jours l'épiaison (Moule, 1980 ; Boufenar-Zaghouane et Zaghouane, 2006)

1.4.3. Période de maturation

Au cours de cette période, l'embryon se développe et l'albumen se charge de substances de réserve ; elle comprend la phase de multiplication cellulaire, qui se termine par le stade grain laiteux et qui coïncide avec le début du palier hydrique. La phase d'accumulation des assimilats, caractérisée par la migration intensive des réserves. Elle se termine par le stade grain pâteux correspondant à la fin du pallier hydrique et enfin la phase de dessiccation où on assiste à une perte rapide du poids d'eau. Le grain devient dur et sa couleur devient jaunâtre. C'est le stade de maturité physiologique (teneur en eau : 13 % à 14 %) (Soltner, 2005).

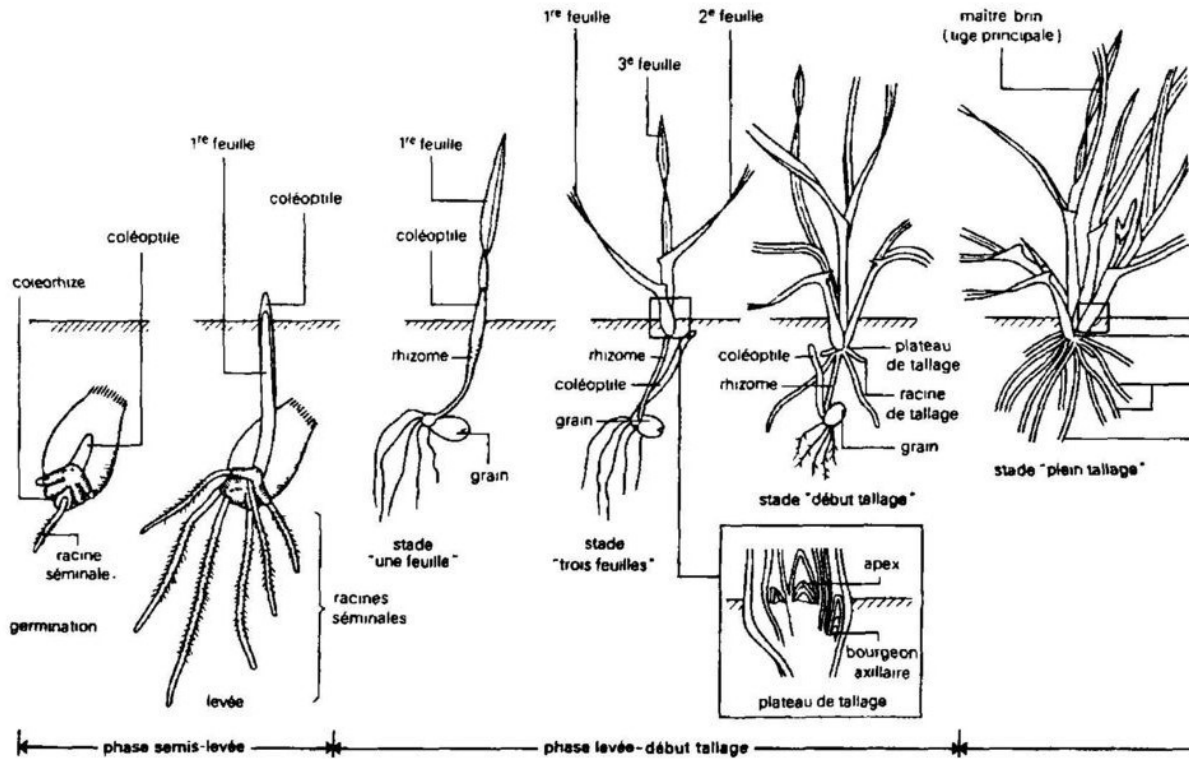


Figure 1: Schéma illustrant le cycle de développement du blé

1.5. Pathologie

Un grand nombre de ravageurs du blé, incluant par exemple des limaces, des pucerons, des nématodes, des cécidomyies, des larves de tipules, peuvent avoir un impact plus ou moins important sur le rendement et la qualité des récoltes. Par exemple, la jaunisse nanisante de l'orge (J.N.O), qui peut également affecter le blé, est une maladie véhiculée par des pucerons, entraînant des anomalies des parties aériennes de la plante (au niveau de l'épi) ainsi que des malformations des grains. Des ravageurs des récoltes stockées existent également, l'un des principaux exemples étant le charançon dont les larves rongent les grains. En plus des pertes de rendement, les insectes causent des blessures qui favorisent les infections fongiques (Sutton, 1982).

De nombreuses maladies fongiques peuvent attaquer les différents organes du blé, à différents stades de son développement. On peut citer par exemple le piétin verse et le piétin échaudage (agent causal : *Gaeumannomyces graminis*), les septorioses (agent causal : *Septoria tritici*, *Septoria nodorum*), la carie (agent causal : *Tilletia tritici*), l'oïdium (agent causal : *Erysiphe graminis*), le charbon nu (agent causal : *Ustilago tritici*), le charbon foliaire (agent causal : *Urocystis agropyri*), les rouilles brune, noire et jaune (agent causal : *Puccinia*), les fusarioses (agent causal : *Fusarium*).

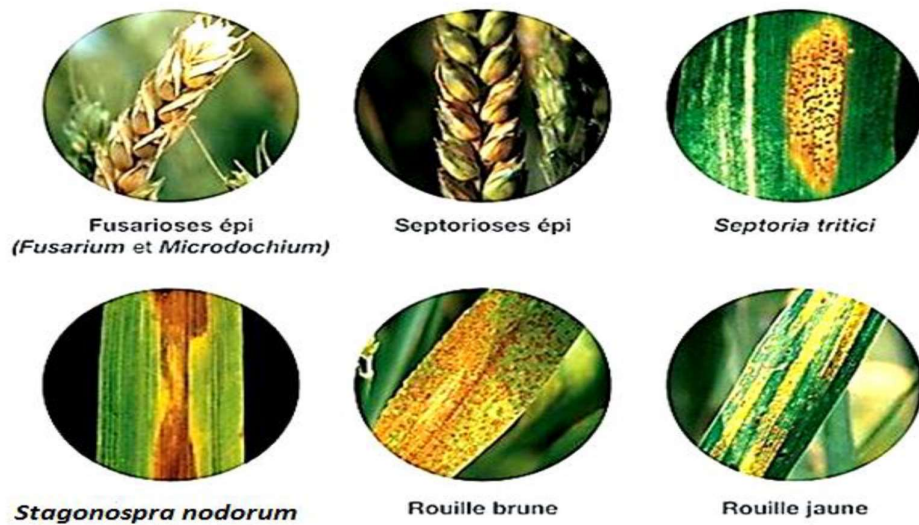


Figure 2: Les principales maladies des épis et feuilles du blé

2. La fusariose

La fusariose est une maladie des céréales dites "à petits grains" qui sévit à travers le monde. Sous des conditions climatiques favorables, la fusariose peut attaquer à tous les stades de développement et tous les organes de la plante, depuis les racines jusqu'aux épis (Parry *et al.*, 1995). Elle peut être aussi associée à différentes céréales telles que le blé tendre (*Triticum aestivum*), l'orge (*Hordeum vulgare*), le maïs (*Zea mays*), le triticale (*Triticosecale* spp.), l'avoine (*Avena sativa*), le seigle (*Secale cereale*) et le riz (*Oryza sativa*) (Jean-Claude Pasquet, 2014).

Le terme "fusariose" des céréales regroupe trois types de maladies (Parry *et al.*, 1995) :

- "Seedling Blight": fusariose des semences.
- "Foot Rot": fusariose du collet.
- "Head Blight": fusariose de l'épi.

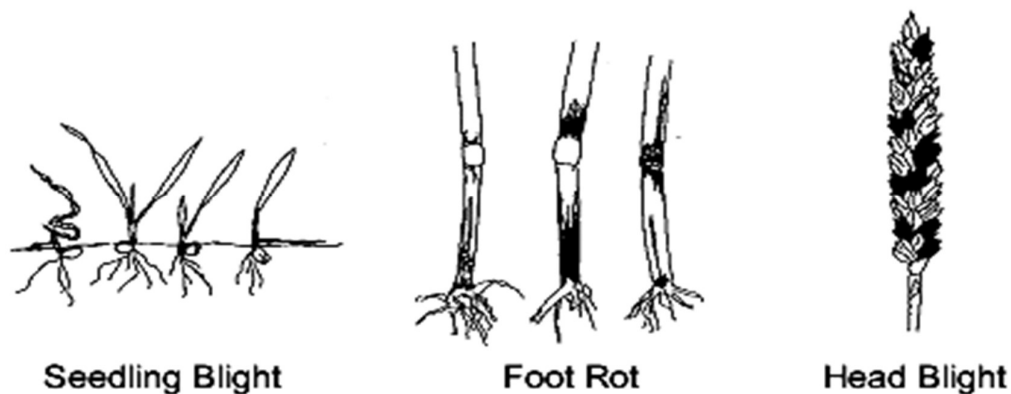


Figure 3: Types de fusariose (Parry *et al.*, 1995)

La fusariose a été décrite pour la première fois en 1884 en Angleterre. Toutefois, au Canada, cette maladie a été détectée pour la première fois près de 40 ans plus tard. Depuis, de cela la fusariose a progressé à travers le monde et de récentes épidémies ont été rapportées en Asie, au Canada, en Europe et en Amérique. Les pertes peuvent atteindre 40% de la récolte (Goswami et Kistler, 2004). Les pertes directes (avortement précoce des fleurs, diminution du nombre et du poids des grains, altération de la qualité nutritive des grains (Pirgozliev *et al.*, 2003)) et indirectes dues à la fusariose sur blé et orge sont difficilement estimables au niveau mondial.

Les pertes directes ont été chiffrées à 2,5 milliards de dollars entre 1993 et 2001 aux Etats-Unis tandis que les pertes indirectes ont été estimées à 5,2 milliards de dollars pour cette même période (Nganje et al., 2004).

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

En 1809 Link est le premier qui nommée le fusarium ou il doit son nom du latin *fuscus* (fuseau) en rapport avec la forme de ses macroconidies fusiformes. Les formes parfaites (téléomorphes) de quelques espèces de ce genre sont connues, et appartiennent au phylum des *Ascomycota*, sous phylum des *Pezizomycotina*, classe des Sordariomycètes, sous classe des Hypocreomycetidées, ordre des Hypocréales, famille des Nectriacées. Pour plusieurs espèces de *Fusarium*, le stade parfait demeure inconnu (Keith et Seifert, 2001 ; Leslie et Summerell, 2006)

2.1. Epidémiologie

Le champignon qui cause la maladie 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 (Zillinsky, 1983 ; Mascher *et al.*, 2005 ; Martin *et al.*, 2007 ; Wegulo *et al.*, 2008).

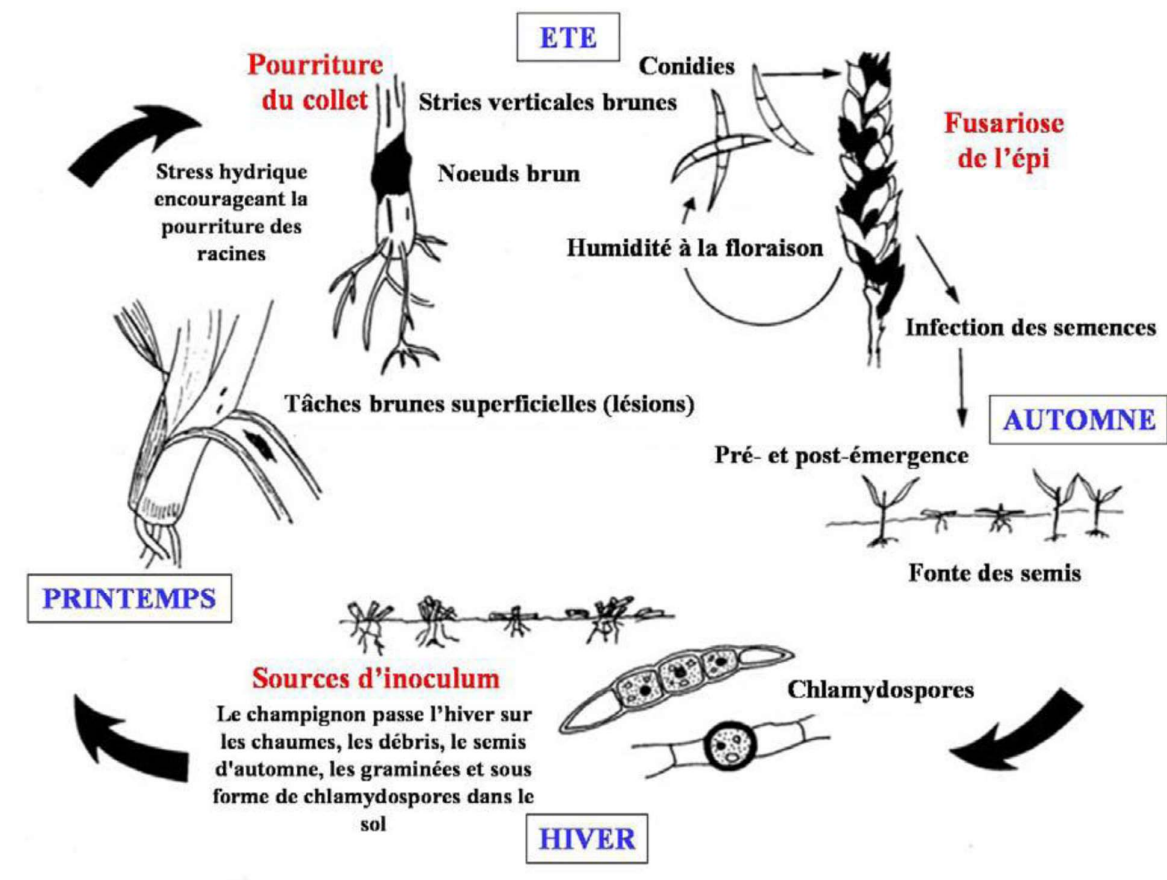


Figure 4: Cycle parasitaire des fusarioses des céréales. (Boutigny, 2007).

2.2. Symptomatologie

Les symptômes de la fusariose de l'épi sont similaires pour toutes les cultures céréalières. Ils sont généralement caractérisés par des colorations variant du rose au saumon orangé qui apparaissent souvent initialement à l'extrémité de l'épi. Chez le blé, les épillets affectés par la fusariose avortent et prennent une teinte blanchâtre et un aspect desséché. Les grains sont petits et ridés avec un aspect crayeux et on peut parfois observer une coloration rose ou orangée correspondant à la fructification du champignon (Bailey *et al.*, 2004).

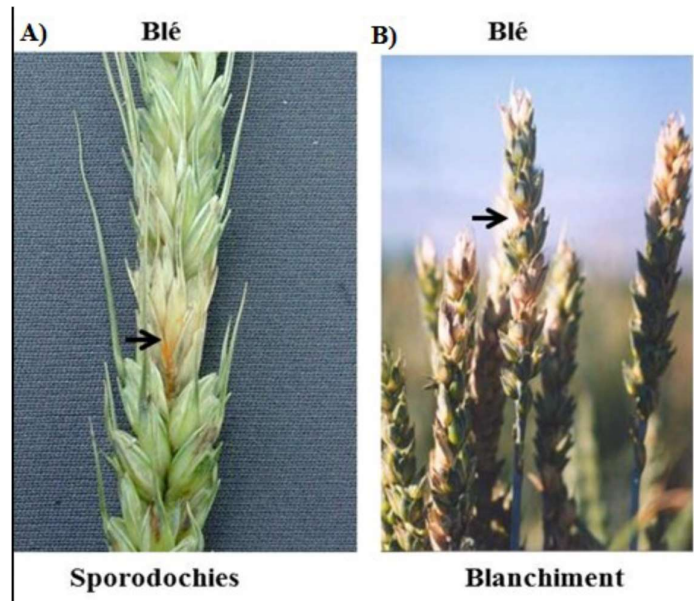


Figure 5 : Symptômes de la fusariose de l'épi chez le blé

A) La présence de sporodochies de couleur orangée sur un épillet de blé qui annonce la présence du *Fusarium*. B) Le blanchiment des épillets sur l'épi

2.3. Les mycotoxines

Le terme mycotoxine vient du grec « mycos » qui signifie champignon et du latin « toxicum » qui signifie poison (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005). C'est à partir de 1960, qu'il a été démontré que les moisissures pouvaient produire des toxines significatives dites mycotoxines (Perkowski *et al.*, 2004). Les mycotoxines sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire produites par des champignons colonisant les cultures et qui constituent une menace potentielle pour la santé humaine et animale (Prandini *et al.*, 2008).

Le genre *Fusarium* produisent plusieurs types de mycotoxines regroupées sous le terme de fusariotoxines: la zéaralénone, les fumonisines, les trichothécènes, la moniliformine, la beauvéricine, la fusarine C et l'acide fusarique. Les trois premières sont les plus étudiées actuellement. Ces toxines contaminent surtout les céréales (Benoît Jeunot, 2005).

2.3.1. La zéaralénone (ZEA)

La zéaralénone est la lactone désaturée à fonction cétone de l'acide résorcyclique (*Zea* : mais ; *RAL* : Resorcyclic acid lacton; ène; one). Est principalement produite par *F.graminearum*, *F. culmorum* et *F. crookwellense*. La toxine est retrouvée principalement sur le maïs, mais elle est également retrouvée sur d'autres céréales comme le blé, le riz ou le sorgho dans des conditions de température adéquate (Benoît Jeunot, 2005).

Elle a aussi un effet mutagène et cancérigène et des effets oestrogènes qui perturbent les équilibres hormonaux liés à la reproduction chez les animaux domestiques (Stakheev *et al.*, 2010).

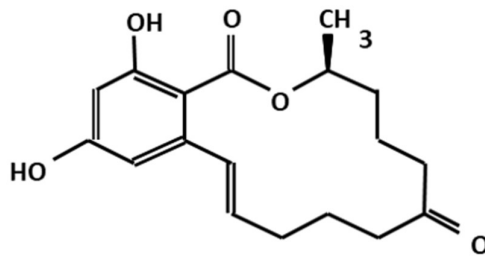


Figure 6 : Structure chimique de la zéaralénone (ZEA)

2.3.2. Les Trichothécènes (TCT)

Les trichothécènes constituent une famille de métabolites secondaires qui sont produits principalement par des espèces de *Fusarium* et par certains autres genres de champignons tels *Myrotecium*, *Trichothecium*, *Trichoderma*, *Cylindrocarpon*, *Cephalosporium*, *Verticimonosporium* et *Stachybotrys* (Betina, 1989). Les trichothécènes sont des sesquiterpènes caractérisés par une double liaison en position C-9,10, une fonction epoxyde en position C-12,13 responsable de leur toxicité et diverses substitutions en positions C-3, C-4, C-15, C-7 ou C-8 (Boutigny.al, 2007).

Les trichothécènes, divisée en 4 groupes A, B, C et D. Le groupe des trichothécènes A est produit principalement par *F. sporotrichoides* et *F. langsethiae*. Le groupe des trichothécènes B est produit principalement par *F. graminearum* et *F. culmorum*. Les trichothécènes de type C et D sont produits par des champignons n'appartenant pas au genre *Fusarium*. Les trichothécènes de type B ou TCTB sont caractérisés en plus de leur fonction époxyde par la présence d'une fonction cétone en position C8. Les molécules constituant les TCTB sont le déoxynivalénol (DON) et ses formes acétylées en position C3 (3ADON) ou en position C15

(15ADON), le nivalénol (NIV) et sa forme acétylée en position C4, la fusarénone X (FX) (Bennett and Klich, 2003).

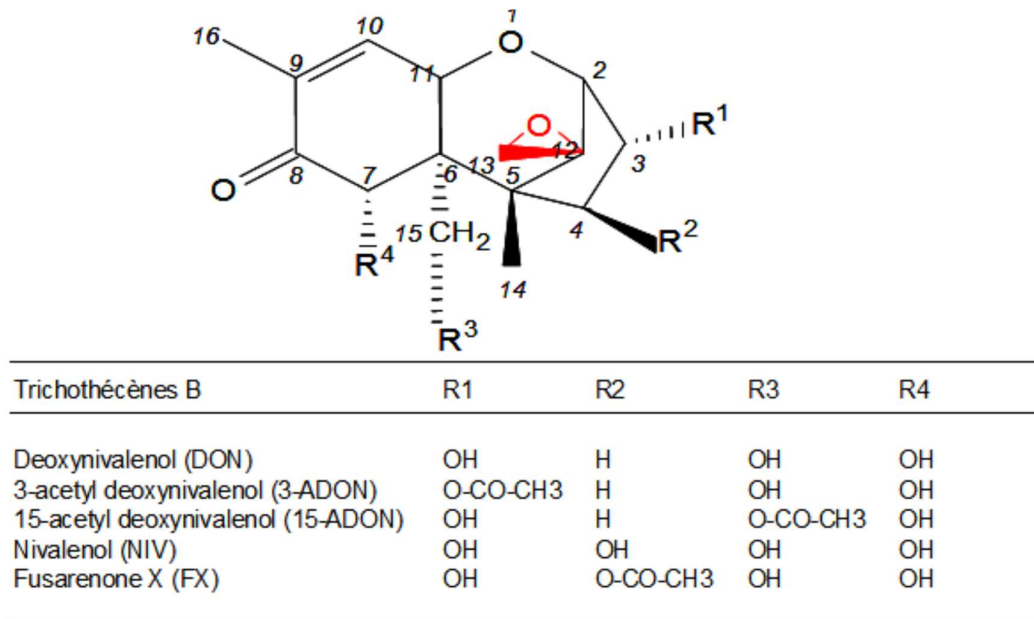


Figure 7: Structure chimique des trichothécènes de types B (Cole et Cox, 1981)

Historiquement, les trichothécènes ont été reconnus responsables d'intoxications humaines, et en particulier de l'aleucie toxique alimentaire, survenue en Russie dans les années 1942-1947 (Joffe, 1983). Par la suite, d'autres cas d'intoxications alimentaires humaines associées aux trichothécènes ont été rapportés en Chine, en Inde et au Japon (Eriksen, 2003). Une étude réalisée par Hsia *et al.* (1988) a montré qu'il y a une corrélation positive entre le niveau des trichothécènes et le développement du cancer de l'oesophage chez l'homme. Chez les animaux, les trichothécènes provoquent des retards de croissance, des troubles de la fertilité, des troubles de l'immunité, une perte d'appétence et des troubles gastro-intestinaux (vomissements). Ces symptômes varient selon les espèces, le temps d'exposition et les teneurs en mycotoxines ingérés (Rocha *et al.*, 2005).

Le caractère **amphiphile** des trichothécènes facilite leurs effets cytotoxiques sur les membranes cellulaires. Une fois traversé la barrière de la membrane plasmique, les trichothécènes entrent dans les cellules où ils interagissent avec leurs cibles, et en particulier les ribosomes et les mitochondries. Les trichothécènes se lient à la sous unité 60S des ribosomes, à la protéine L3, et inhibent l'activité de la peptidyl transférase des ribosomes, inhibant ainsi les étapes d'initiation, d'élongation ou de terminaison de la synthèse protéique et ils affectent également la synthèse de l'ADN et de l'ARN (Rocha *et al.*, 2005).

Les trichothécènes sont également phytotoxiques (Masuda *et al.*, 2007). 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).

Le DON présent à forte concentration (≥ 100 parties par million (ppm)) induit la production de peroxyde d'hydrogène, la PCD et une dégradation de l'ADN. Il faut noter que le DON a des effets inverses en fonction de sa concentration : à faible concentration (10 ppm), celui-ci est capable de protéger des cellules végétales contre la PCD induite par des chocs thermiques ou l'éthanol (Diamond *et al.*, 2013).

2.4. Méthodes analytiques des mycotoxines

Pour analyser des mycotoxines, habituellement présentes à l'état de traces dans les aliments et matrices complexes, il existe toute une panoplie de méthodes fondées essentiellement sur le principe de la séparation chromatographique des molécules, puis de leur détection par spectrophotométrie ou fluorimétrie. Les méthodes physico-chimiques comme la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie gazeuse (CPG) ou la chromatographie liquide haute performance (CLHP) permettent toujours la quantification des molécules. D'autres méthodes, de développement récent, utilisent le principe de l'immunoanalyse. Ainsi, les techniques immunochimiques de type ELISA autorisent suivant leur configuration, soit une détection de type présence ou absence (résultat qualitatif), soit une détection semi-quantitative ou quantitative de la mycotoxine (Benoît Jeunot, 2005).

2.5. Stratégies de lutte contre la fusariose

La lutte contre la FHB fait intervenir un ensemble de pratiques et d'interventions (prophylaxie, lutte chimique, lutte génétique) aboutissant à une conduite raisonnée des cultures.

2.5.1. Pratiques culturales

La rotation culturale permet de réduire significativement les risques de fusariose (McMullen *et al.*, 1997). Elle consiste à éviter de cultiver deux espèces hôtes (blé, maïs, orge) de *Fusarium* deux années consécutives et à alterner avec des espèces non hôtes en particulier après une culture de maïs qui laisse de nombreux débris végétaux en surface du sol. Le labour va permettre de réduire la formation d'inoculum primaire en limitant par enfouissement les débris végétaux

disponibles pour le développement saprophytique de *Fusarium* et la formation d'ascospores au printemps (Dill-Macky and Jones, 2000).

2.5.2. Lutte physique

La réalisation de traitement thermique contre la propagation du *F. graminearum* (Clear *et al.*, 2003).

L'utilisation de la solarisation, qui peut réduire les populations pathogènes et l'incidence de la maladie (Pandy *et al.*, 1996).

2.5.3. Résistance variétale (Lutte génétique)

Actuellement, aucune résistance spécifique de type gène à gène (modèle de Flor) n'a été mise en évidence vis-à-vis de la fusariose des épis (Foroud and Eudes, 2009). La résistance est de nature quantitative, portée par des QTLs (Quantitative Trait Locus). Cinq types de résistance ont pu être identifiés, nommés de I à V. Ces résistances peuvent interagir entre elles et se cumuler. Schroeder et Christensen (1963) ont distingué la résistance à l'infection primaire (type I) et la résistance à la propagation de l'agent pathogène dans les tissus (type II). Ensuite, deux autres types de résistances basées sur la dégradation des mycotoxines (type III) (Miller et Arnison, 1986) et sur la tolérance des concentrations élevées de mycotoxines (type IV) (Wang et Miller, 1988) ont été proposés. La résistance de type V a, depuis 2008, été redéfinie en V-1 et V-2 qui correspondent, respectivement, à la capacité de la plante à modifier chimiquement les trichothécènes (détoxification ou dégradation) ou à inhiber leur synthèse (Boutigny *et al.*, 2008).

2.5.4. Lutte biologique

Quelques efforts ont été faits contre l'infection des grains par les espèces du genre *Fusarium* par l'identification d'antagonistes biologiques. Parry *et al.* (1995) ont mentionné que la meilleure période d'application d'antagoniste biologique est durant la floraison. Diamond et Cooke (2003) ont rapporté que l'inoculation des épis par *Phoma betae* a pu réduire les symptômes de la fusariose de l'épi causés par *F. culmorum* de l'ordre de 60%. Les bactéries du genre *Bacillus*, *Pseudomonas*, et *Lysobacter* sont les plus utilisées pour la lutte biologique contre la fusariose de l'épi (Schisler *et al.*, 2002 ; Da Luz *et al.*, 2003 ; Khan *et al.*, 2004). D'ailleurs Jochum *et al.* (2006) ont montré la possibilité d'utiliser la bactérie *Lysobacter enzymogenes* pour réduire la sévérité de la fusariose de l'épi. Il s'agit d'une bactérie antagoniste

qui a induit la résistance de 5 cultivars de blé surtout en combinaison avec le fongicide tébucon. Deux souches de *Pseudomonas fluorescens* ont montré aussi un niveau satisfaisant d'inhibition de la croissance *in vitro* et *in vivo* de *F. culmorum* (Kurek *et al.*, 2003).

2.5.5. Lutte chimique

Le traitement chimique est l'une des méthodes utilisées pour lutter contre cette maladie. L'utilisation des fongicides ces dernières années est très répandue car elle s'est révélée efficace de 50 à 70 % dans la réduction de la sévérité de la maladie une fois appliquée aux périodes appropriées. Parmi les fongicides utilisés actuellement contre la fusariose de l'épi du blé, on peut citer le fludioxonil, le benomyl, le tebuconazole, l'azoxystrobin et le mancozeb (Khan *et al.*, 2011 ; Dammer *et al.*, 2011). Le tebuconazole est l'un des fongicides utilisés, mais son efficacité est insuffisante vis-à-vis de la contamination par le DON (Jones, 2000). Récemment, un nouveau fongicide Prosaro (une combinaison entre le prothicanazole et le tebuconazole) s'est montré être le plus efficace. Cependant, pour l'ensemble des fongicides, une application homogénéisée, dans le temps approprié est indispensable pour la réussite du traitement (Yuen et Schoneweis, 2007).

2.5.6. La lutte intégrée

La lutte intégrée contre la fusariose des céréales doit combiner des mesures préventives, notamment : d'éviter la culture du blé après maïs et blé, l'utilisation des variétés résistantes, la fertilisation adéquate, la rotation judicieuse, la destruction des résidus de récolte par le labour et le contrôle biologique. Ces techniques de culture peuvent jouer des rôles importants dans la gestion de la fusariose par la réduction du niveau initial de l'inoculum et le potentiel de survie du pathogène (Mascher *et al.* 2005).

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

La variété de blé dur (*Triticum durum*) Vitron a été utilisée pour évaluer l'agressivité des isolats des *Fusarium* spp. Vitron est la variété de blé dur la plus cultivée en Algérie et présente une sensibilité à la fusariose du blé

Le matériel végétal utilisé aux cours de nous expérimentation est la variété de blé dur (*Triticum durum*) Vitron récolté durant la campagne 2021 à Ghardaia (El-Menia)

1.2. Matériel fongique

Dans cette présente étude, nous avons utilisé 10 isolats de *Fusarium* spp. Les isolats ont été obtenus à partir de grains de blé récoltés au cours des années 2019 et 2020 dans un travail précédent réalisé par Halima (GEURBOUS, 2020)

2. Méthodes

2.1. Purification par culture monospore

Pour la réalisation de la monospore, une suspension de spores a été préparée à partir d'une culture âgée de 10 jours. Une goutte contenant 10^2 conidies/ml est étalée à l'aide d'une pipette pasteur uniformément sur une boîte de Petri contenant de l'eau gélosée. Les boîtes ont été ensuite incubées à 20 °C. Après 24 à 48 h des spores individualisées en germination apparaissent, ces dernières sont repiquées dans des boîtes de Petri contenant du PDA et mise à incuber à l'étuve.

2.2. Identification morphologique des isolats

L'identification microbiologique des isolats de *Fusarium* spp. est basé sur de nombreux critères. L'identification est réalisée en utilisant les clés d'identification (Leslie et Summerell, 2006, Mady, 2015 et Hoshino et al., 2009), et le microscope oculaire.

- La forme et la taille des macroconidies ;
- La présence ou l'absence des microconidies ;
- La présence ou l'absence de chlamydospores ;

- L'aspect et la coloration du mycélium sur milieu PDA.

Pour compléter les données de l'identification biologique nous avons mesuré les spores de nos isolats. En effet à partir de cultures âgées de 15 jour et à l'aide d'un microscope optique étalonné, des mensurations des conidies ont été réalisées sur plusieurs conidies pour les 8 isolats de *Fusarium* spp.

2.2.1. Conservation des isolats

Une fois l'isolat est repiqué dans une boîte de Pétri ou un tube à essai contient le milieu PDA, on l'incube à température de 25°C pendant 7 jour et après on la conserve au température 4°C.

2.4. Etude de l'effet de température sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp.

Ce test a été réalisé suivant le protocole établi par Akinsanmi et al. (2006), afin d'établir l'effet d'une gamme de températures sur la croissance mycélienne des 4 isolats de *Fusarium* spp. il s'agit de 2 espèces de *F. culmorum*, une espèce de *F. verticillioides*, *F. concentricum* et de déterminer la température optimale de leur croissance. Des explants mycéliens (6 mm de diamètre) provenant de cultures âgées de 10 jours de chaque isolat ont été déposés dans des boîtes contenant le milieu PDA et incubés aux températures 20, 25 et 30°C à l'obscurité. Deux répétitions ont été réalisées pour chaque isolat et chaque température. Des mesures de la croissance mycélienne ont été prises après 24 h, 48 h, 72 h et 96 h d'incubation.

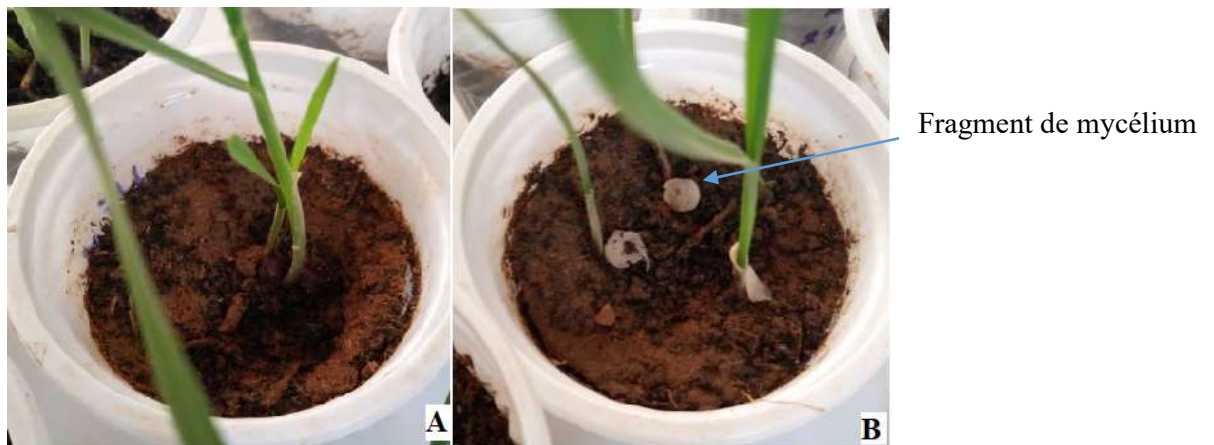
2.5. Pathogénie et agressivité des espèces de *Fusarium* spp

Un test d'inoculation sous serre a été effectué dans le but d'étudier la pathogénie des principaux espèces isolées, et d'étude l'agressivité de huit (8) espèces de *Fusarium* sur blé Vitron par inoculation aux stades trois feuille. Les espèces de *Fusarium* utilisées dans cet essai sont : *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. concentricum*, *F. guttiforme* et *F. culmorum*.

Les semences ont été placées à une profondeur de 2cm, dans des pots en plastique remplis avec un mélange de sable et terreau (1 :2), à raison de 3 semences par pot. L'irrigation a été faite régulièrement suivant les besoins des plantes. L'inoculation a été réalisée sur des plantules au stade de 3 à 4 feuilles correspondant respectivement à ZGS 12 et ZGS 13 selon l'échelle de Zadoks *et al.* (1974). Cet essai a été réalisé en randomisation totale.

2.5.1. Inoculation par fragments mycéliens

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



(A) : Témoin ; (B) : inoculation par fragment mycéliens

Figure 8: Technique d'inoculation par fragments mycéliens

2.5.2. Notation des symptômes

Trois semaines après l'inoculation, les plantules inoculées ainsi les témoins ont été soigneusement arrachées et les racines ont été lavée sous l'eau du robinet. Ensuite les symptômes caractérisés par un brunissement au niveau du collet sont 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 attaque ;
- 2 : De 26% à 50% du collet est attaque ;
- 3 : De 51% à 75% du collet est attaque ;
- 4 : Plus que 76% du collet est attaque ;
- 5 : Plante mort.

Pour comparer l'agressivité des différents isolats testes, ils ont été classes selon trois groupes :

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

2.6. Analyses statistiques

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

2.7. Extraction et identification des TCTB et ZEA.

2.7.1 Préparation d'inoculum

Toutes les souches sont conservées à 4°C en boîte de pétri de PDA. Lorsque nécessaire, la ou les souches choisies sont repiquées sur boîte de pétri de PDA puis placées à l'étuve à 25°C à l'obscurité. Après 8 jours d'incubation, les suspensions de spores sont fraîchement préparées par ajout de 8 ml d'eau distillée stérile dans les boîtes puis agitation modérée. La concentration en spores de la suspension ainsi préparée est déterminée par comptage sur cellule de de Malassez puis ajustée à 10^6 spores / ml dans le milieu.

2.7.2 Préparation de milieu liquide (MSM)

Le milieu de culture liquide MSM (Mycotoxin Synthetic Medium) de Vogel (1956) [KH_2PO_4 ; K_2HPO_4 ; $MgSO_4$; $(NH_4)_2SO_4$; biotine ; glucose ; et d'une solution de sels

minéraux] a été utilisé. La préparation de ce milieu de culture consistait dans un premier temps à faire dissoudre le glucose dans l'eau, puis à l'autoclaver 30 min à 105 °C ; puis, les différentes solutions des autres constituants ont été additionnées stérilement. Un volume de 100 ml du milieu MSM a été réparti stérilement dans des flacons inoculé par une suspension de spores à la concentration finale de 10^6 spores / ml et incubé à l'obscurité à 25°C pendant 15 jour.

2.7.3. Extraction des TCT B et ZEA

Un volume de 20 ml de milieu de culture est extrait par 40 ml d'acétate d'éthyle. Après décantation, 5 et 10 ml de la phase organique contenant les TCT B et ZEA sont évaporés à sec à 45°C dans rota-vap. Les extraits secs sont repris avec d'un mélange méthanol /eau (1/1 v/v) et stockés au frais en attendant l'analyse.

2.7.4 Méthode analytique

Les analyses ont été réalisées sur une chaîne HPLC (High Performance Liquid Chromatography) couplée à un détecteur à barrette de diodes DAD (Diode Array Detector) et sur CCM (chromatographe sur couche mince).

2.7.4.2. Analyse par chromatographe sur couche mince (CCM)

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

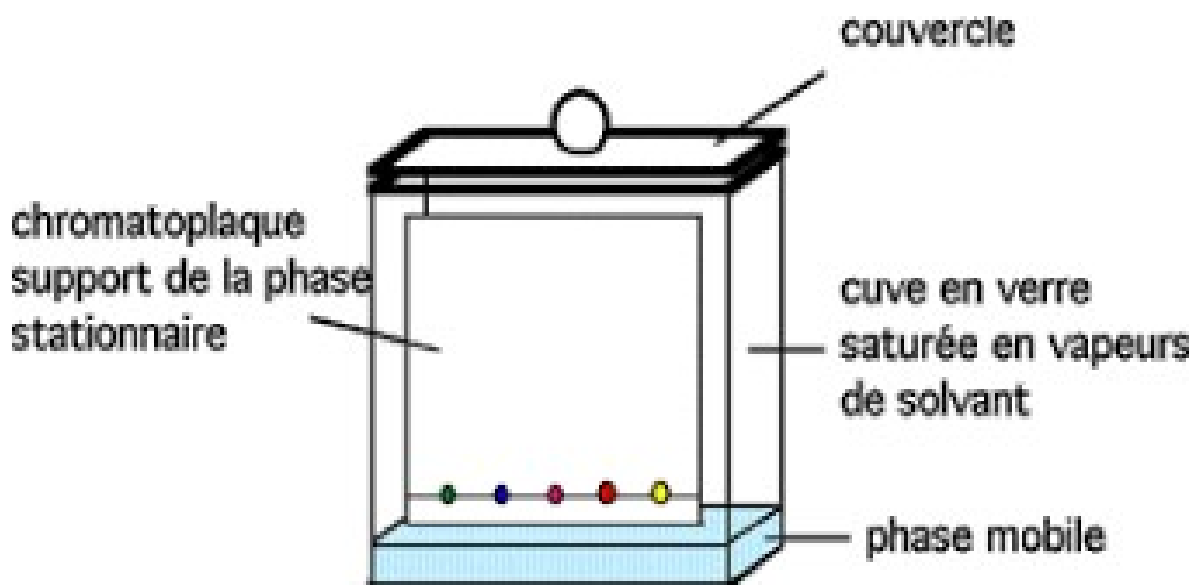


Figure 9: Chromatographe sur couche mince (CCM)

2.7.4.3. Analyse par chromatographe liquide haute performance (HPLC-DAD)

Les extraits secs sont repris dans 200 μL d'un mélange méthanol/eau (1 :1, v/v) avant l'analyse en HPLC. La procédure d'analyse utilisée est celle décrite par Bily *et al.* (2004). La séparation des cinq TCT B (NIV, DON, FX, 15-ADON et 3-ADON) est réalisée sur une colonne ZORBAX Eclipse[®] XDB-C8 (5 μm , 150 mm x 4,6 mm) maintenue à 45°C. La phase mobile est constituée d'eau acidifié à pH 2,6 avec de l'acide phosphorique (solvant A) et d'acétonitrile (solvant B). Le débit est fixé à 1 mL/min pour une durée totale d'analyse de 27 min pour chaque échantillon. Les conditions du gradient sont les suivantes : 5-30% B en 14 min, 30-90% B en 10 min, 90% B pendant 5 min, 90-5% B en 2 min puis 5% B pendant 14 min. Le volume d'injection est de 5 μL . Les surfaces des pics sont mesurées à 230 nm. L'identification des différents TCT B se fait grâce à leur temps de rétention. La quantification des 5 TCT B est réalisée par étalonnage externe.

RESULTATS ET DISCUSSION

I. Identification des isolats sur milieu PDA

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

L'identification morphologique a permis de montrer l'implication de sept espèces à savoir : *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. concentricum*, *F. pseudograminearum*, *F. avenaceum*, *F. guttiforme* et *F. culmorum*.

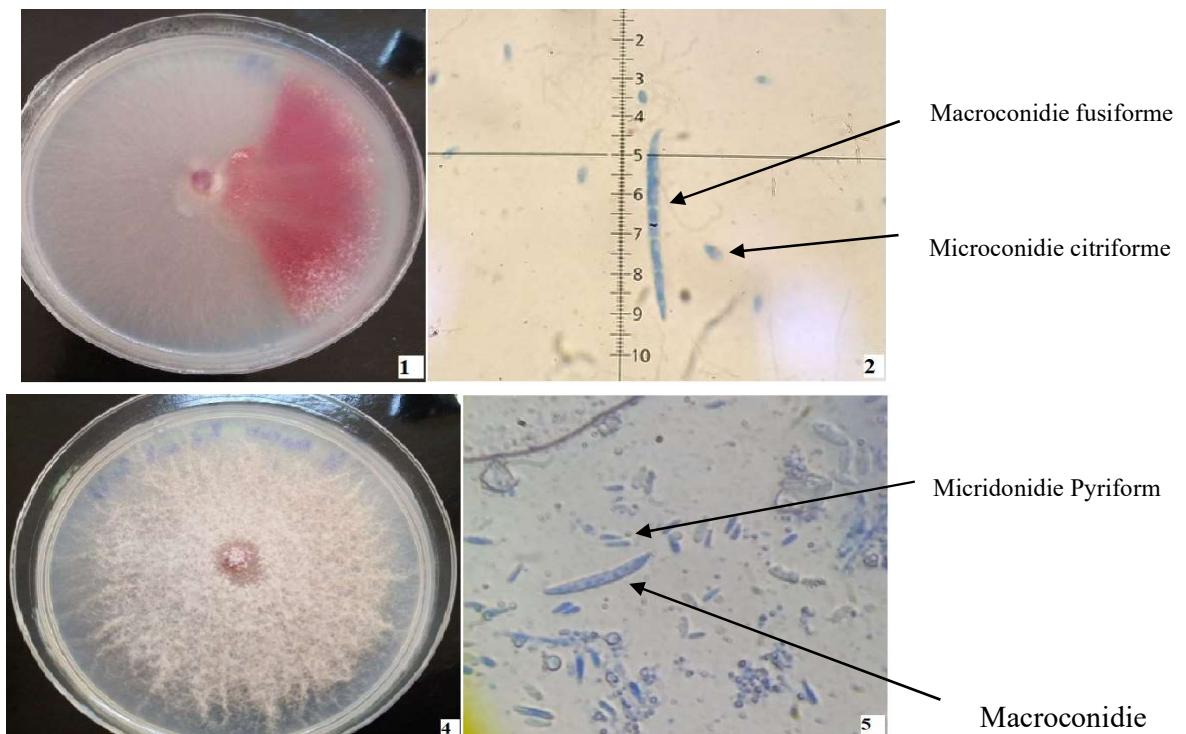


Figure 10: Aspects morphologiques et microscopiques des espèces de *F. concentricum* et *F. proliferatum* (G x 40) et (G x100)

(1) : Colonie de *F. concentricum* ; (2) et (3) : Microconidie et Macroconidie de *F. concentricum* ; (4) : Colonie de *F. proliferatum* ; (5) : Macroconidie et Microconidie de *F. proliferatum*

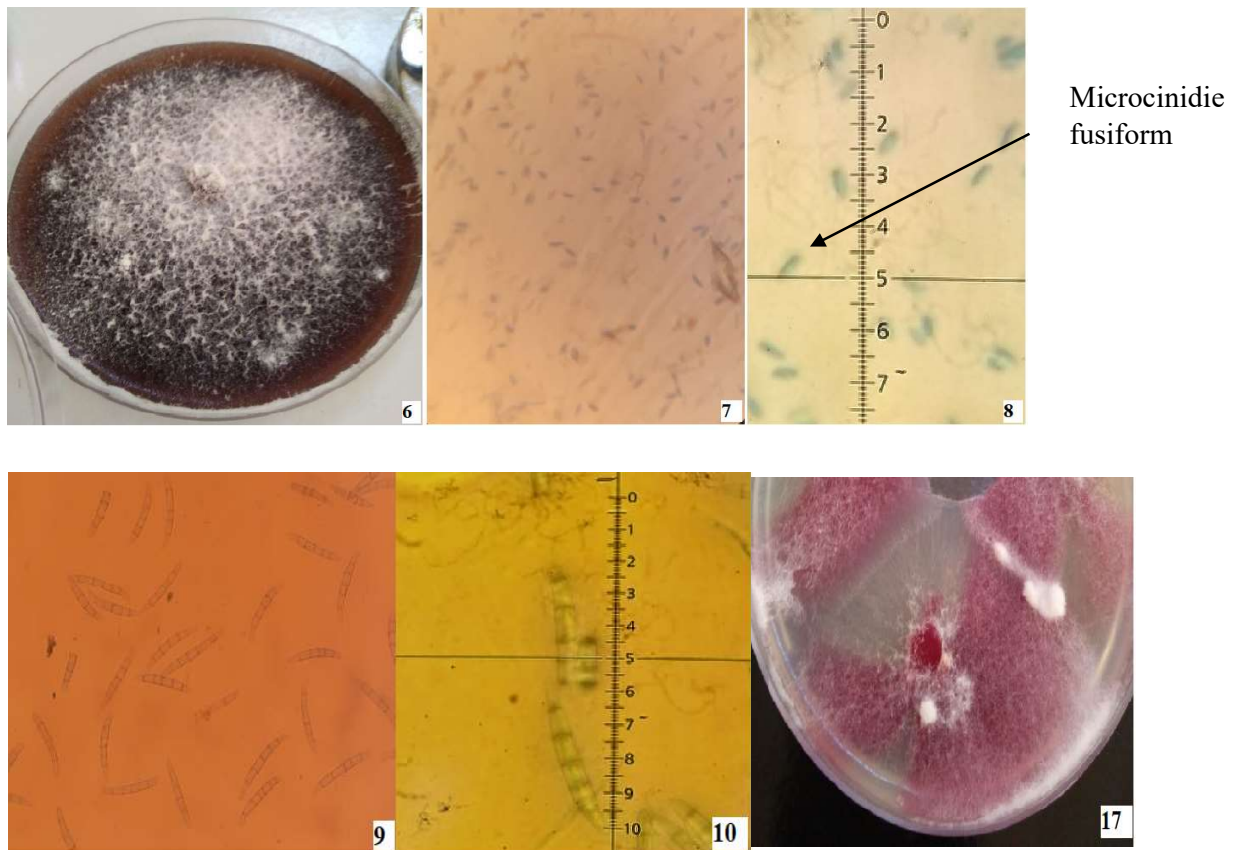


Figure 11: Aspects morphologiques et microscopiques des espèces de *Fusarium verticillioides* et *Fusarium pseudograminearum* (G x 40) et (G x100) mesure en um

(6) : colonie de *F. verticillioides* ; (7) et (8) : Microconidie de *F. verticillioides* ; (9) et (10) : Macroconidie de *F. pseudograminearum* ; (17) : colonie de *F. guttiforme*

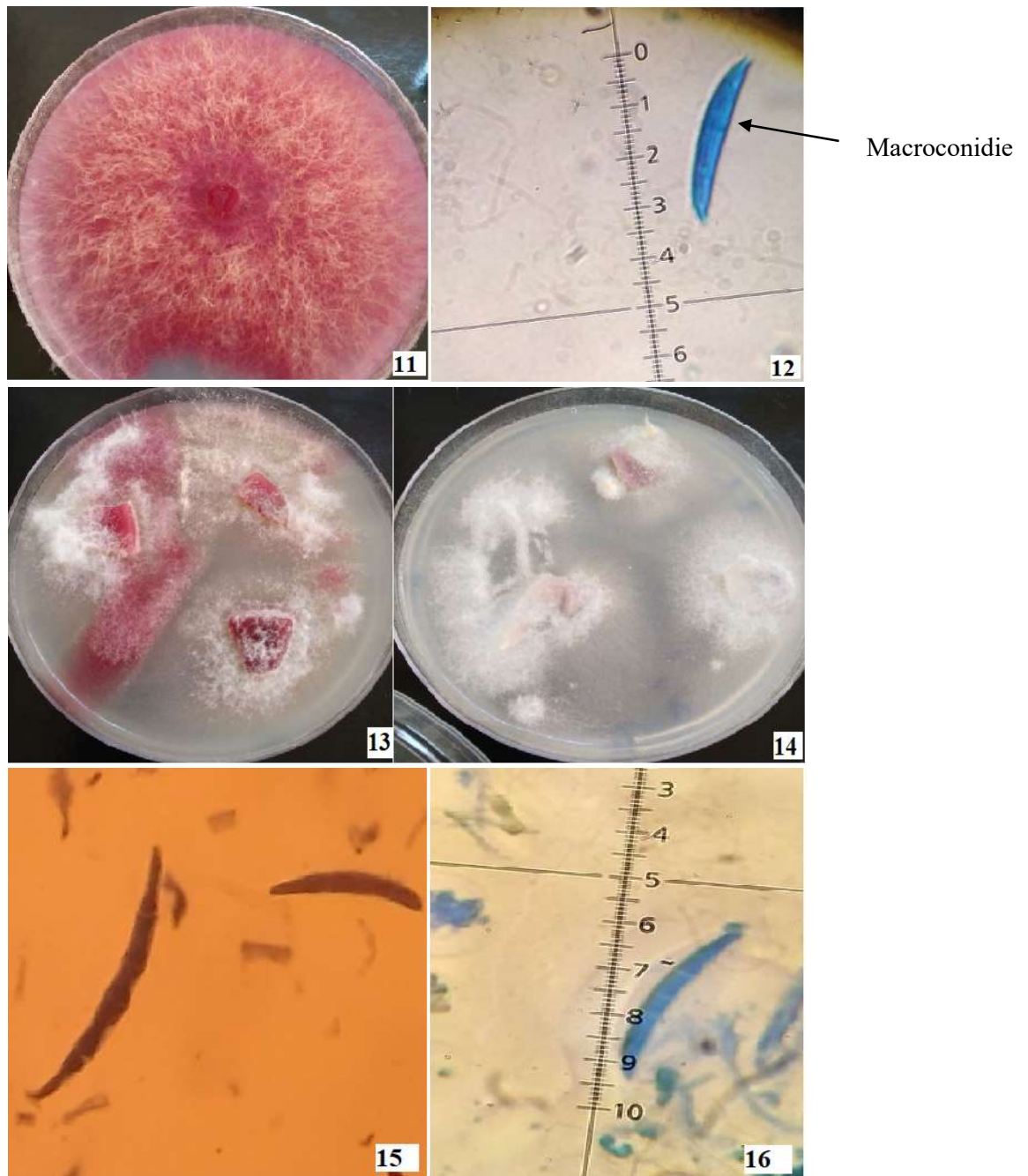


Figure 12: Aspects morphologiques des espèces de *Fusarium* spp. (G x100)

(11) : Colonie de *F. culmorum* ; (12) : macroconidie de *F. culmorum* ; (15) et (16) : Macroconidie de *F. avenaceum*

Résultats et Discussion

Tableau 2 : intervalle des mensurations pour les espèces de *Fusarium* spp.

<i>Fusarium</i> spp	Macroconidies (μm)	Micro conidies	chlamydospores	Nb de cloisons
<i>F. culmorum</i>	30-60 x 4-7	Absentes	Présence	3 à 5
<i>F. avenaceum</i>	48-70 x 2.5-4	Absentes	Absentes	3 à 7
<i>F. pseudograminearum</i>	ND	Absent.	Présence	5 à 6
<i>F. verticillioides</i>	25-60 x 2.5-4	5-12 x 1.5-2.5	Absentes	3 à 7
<i>F. proliferatum</i>	25-50 x 2.5-4	5-10 x 1.5-2.5	Absent	3 à 5
<i>F. guttiforme</i>	ND	ND	Absent	3
<i>F. concentricum</i>	ND	ND	Absent	3 à 5

ND : non disponible

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

Les 4 isolats appartenant aux différentes espèces de *Fusarium* spp ont été incubées à différentes températures (20°C, 25°C et 30°C) afin de déterminer la température optimale pour chaque espèce.

Les résultats de ce test ont révélé une variabilité entre les espèces de *Fusarium* spp. Les diamètres moyens de la croissance des isolats de *Fusarium* spp. obtenus après 4 jours d'incubation à différentes températures sont illustrés au niveau du tableau suivant

Isolat	Temperature		
	20°C	25°C	30°C
<i>F. culmorum</i> (1)	4.13	4.03	3.03
<i>F. culmorum</i> (2)	3.7	4.13	4
<i>F. verticilioides</i>	2.43	3.96	3.83
<i>F. concentricum</i>	2.5	3.96	4

Tableau 3: La température optimale de chaque espèce de *Fusarium* spp

L'optimum de la croissance mycélienne pour les isolats de *F. culmorum* (b) et *F. verticilioides* a été enregistré à 25°C, les diamètres mesurés pour chaque espèce sont respectivement de 4.13 cm, 3.96 cm. Pour *F. culmorum* (a) la température de croissance optimale a été notée à 20°C avec des diamètres respectivement de 4.13 cm. et pour le *F. concentricum* la température de croissance optimale était à 30°C avec un diamètre de 4cm.

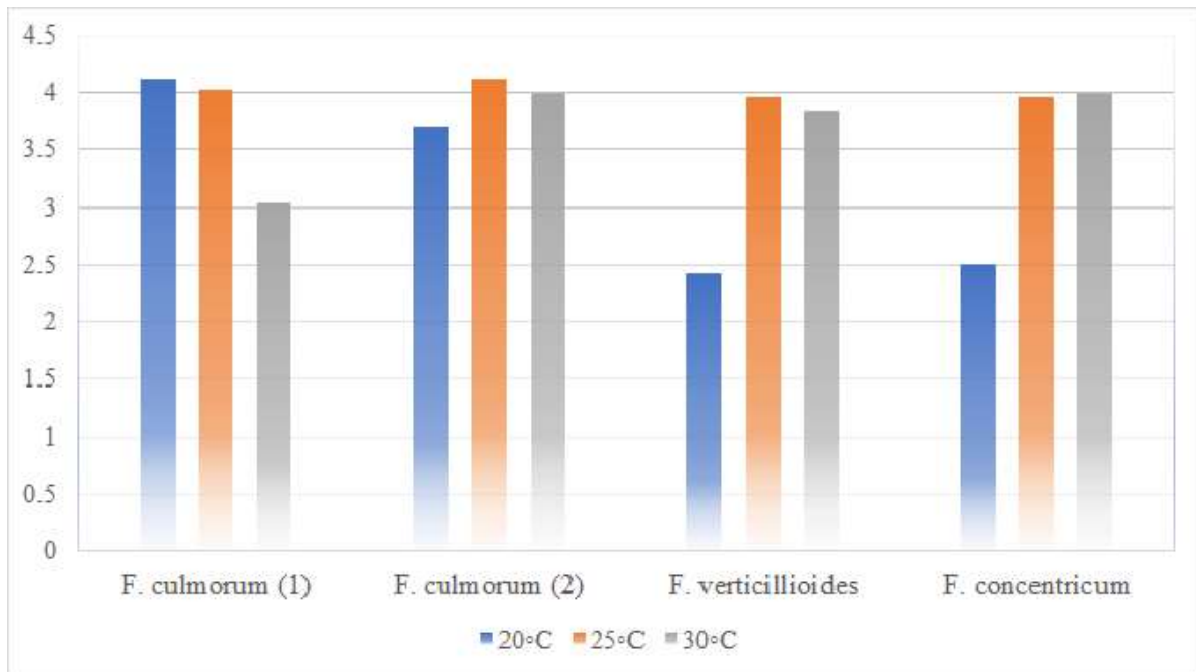


Figure 13: Diamètre moyen (cm) des espèces de *Fusarium* spp. après 4 jours d'incubation à 20,25 et 30°C

Nous avons aussi constaté qu'après quatre jours d'incubation les espèces *F. culmorum* et *F. verticillioides* se sont bien développées à 20°C et 25°C, tandis que l'espèce *F. concentricum* a montré un taux de croissance important à 30°C.

Tous les isolats se sont marqués par une augmentation de la croissance mycélienne entre 20 °C et 30 °C dès 24h d'incubation, avec une grande diversité dans la vitesse de la croissance radiale et la potentialité du développement mycélien entre espèces et même entre isolats de la même espèce.

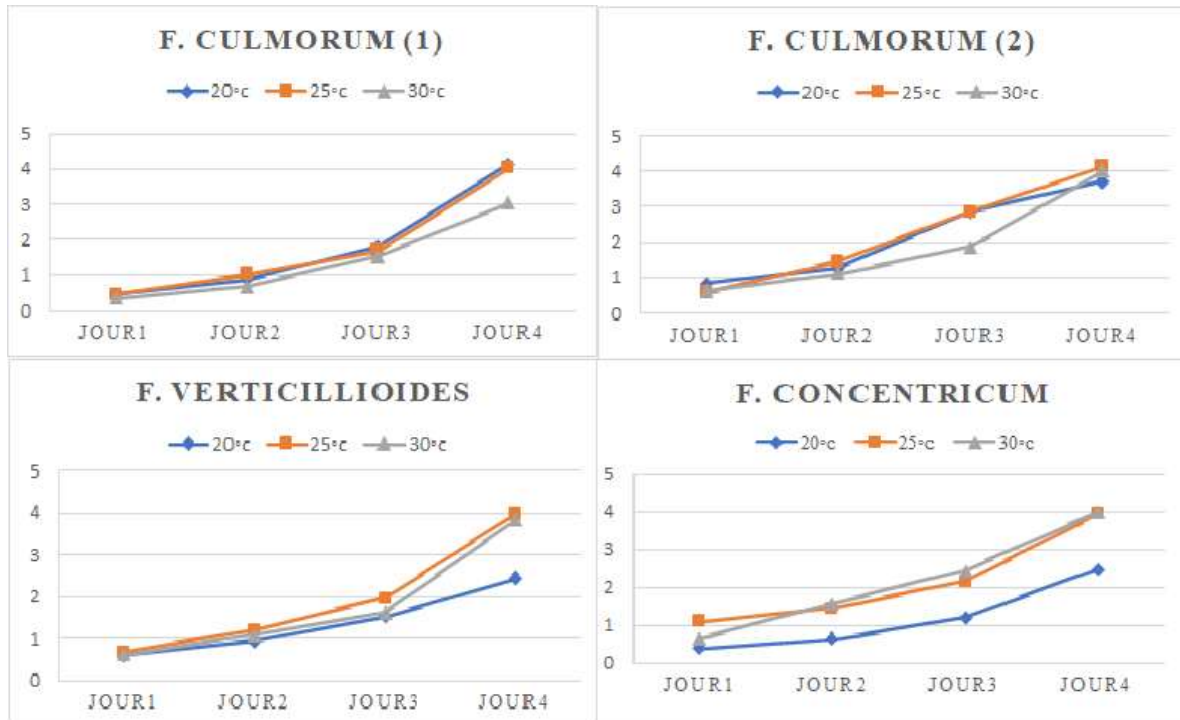


Figure 14: Cinétique de croissance du mycélium des isolats de *Fusarium* spp. Cultivés sur milieu PDA à 20°C, 25°C, 30°C.

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

Dans ce premier essai d'inoculation par fragments mycéliens sur le collet de blé dur (Vitron) 8 espèces de *Fusarium* spp. ont été testés.

Afin d'évaluer l'agressivité des espèces de *Fusarium* spp. un suivi est réalisé quotidiennement jusqu' au 30 jours après le semis, et des notations sont faites après arrachage des plants de blé. Pour le témoin, durant la période de l'essai, aucun symptôme n'a été observé.

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 indices de maladie chez les plants inoculés indiquent que les espèces les plus agressives sont : *F. culmorum* (IS2 /IS3) et *F. verticillioides*(IS4) avec un indice de maladie de 47.10% et 31.22% suivi de IS8 43.83% ; *F. proliferatum* (IS5) (43%) ; *F. concentricum* (IS6) (33.83%), IS7 (23.88%) et *F. guttiforme* (IS9) est le moins agressif avec un indice de sévérité de 19.44%.

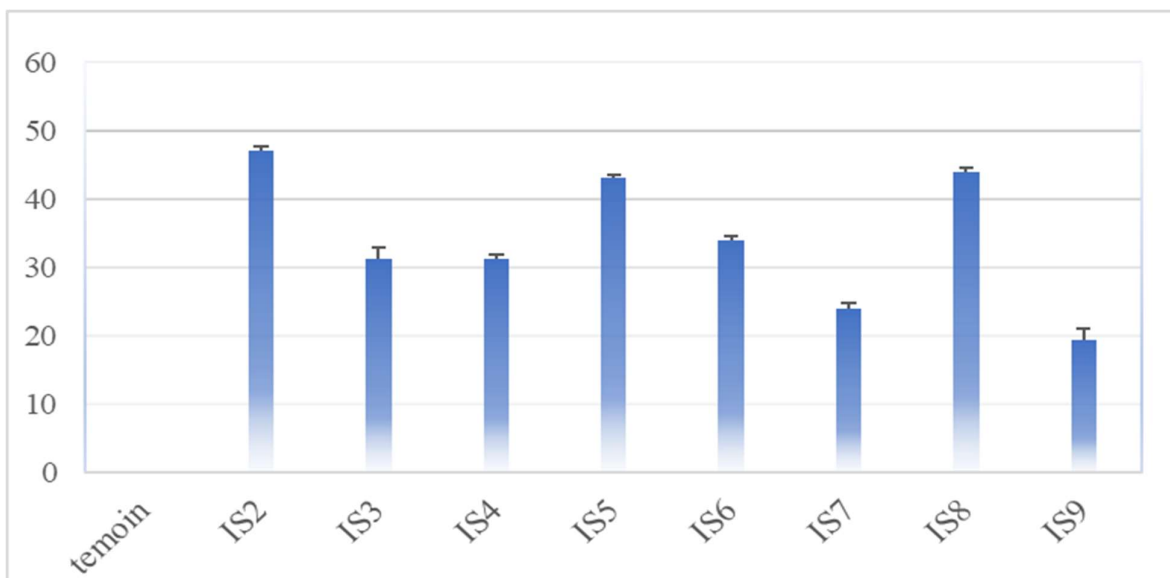


Figure 15: Variation dans l'agressivité des différentes espèces de *Fusarium* spp.

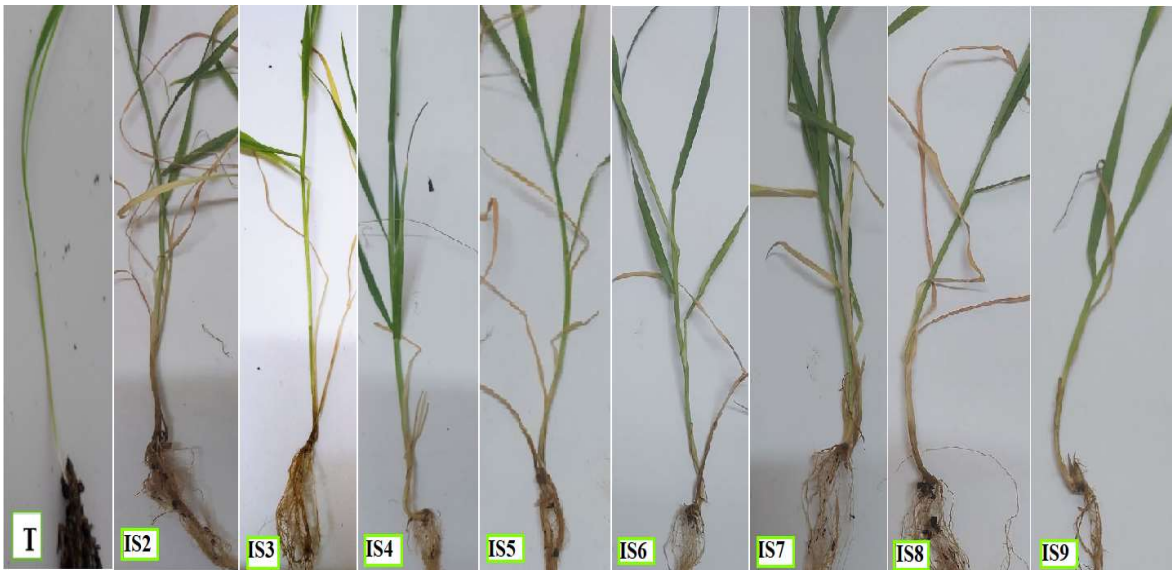


Figure 16: Indice de sévérité de *Fusarium* spp. sur des plantules de blé cultivar « Vitron »

Les interactions variétés x isolats ont été exploitées par une analyse de variance ANOVA. Les analyses de la variance ont montré que les isolats sont différents significativement ($p < 0.0001$) (HSD) dans leur capacité de causer la nécrose au niveau du collet.

La comparaison des moyennes "CM" de l'indice d'attaque en utilisant le test de Newman - Keuls à 5%, ont classé les isolats dans 6 groupes (tableau)

L'isolat 2, 8 et 5 sont le plus agressif sur la variété vitron, représenté dans le groupe A, par contre l'isolat 9 est le moins agressif, représenté dans le groupe D.

Isolats	Groupes homogènes
IS2	A
IS8	A
IS5	A
IS6	AB
IS3	BC
IS4	BC
IS7	CD
IS9	D

Tableau 4: Répartition des isolats en groupes homogènes selon l'analyse de comparaison des moyennes "CM" de Newman - Keuls à 5%

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

Compte tenu de ces données précédente, nous nous sommes proposés d'analyser le potentiel toxigène de trois isolats de *Fusarium* spp. Dans un premier temps, notre objectif est d'identifier la capacité de ces deux isolats de produire des toxines et déterminer le chémotype des deux isolats de *F. culmorum* et *F. F. pseudograminearum* par HPLC. La zearalenone n'a pas pu être détecté par HPLC /DAD par faute de détecteur UV et la détection Fluo pour Zéaralénone est entre 275 et 450 nm. Les extraits de filtrats de culture des 3 isolats de *Fusarium* ont été soumis à une séparation par chromatographie sur couche mince.

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

D'après Bougtiny (2008), il semble que les fluctuations intra expérimentations du potentiel toxigène de *Fusarium* en cultures standard pourraient, au moins en grande partie, être reliées à une interruption de la voie de biosynthèse des trichothécènes dans certaines fioles.

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

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

Nos souches ont été identifiées comme étant de chémotypes DON ; DON/15Adon et NIV/FX après identification par HPLC-DAD des TCTB produits après 15 jours d'incubation

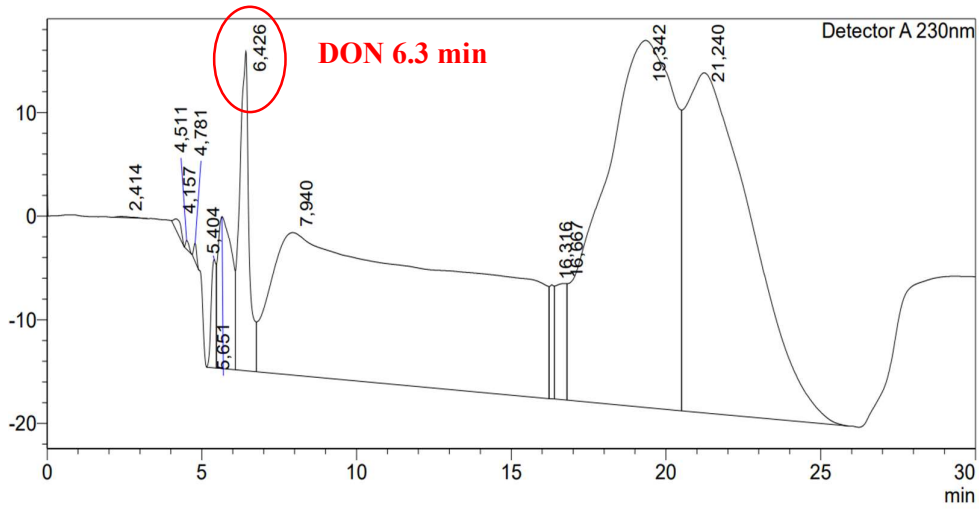


Figure 17: Analyse par chromatographie en phase liquide (HPLC/DAD) de *F. culmorum* producteur de DON

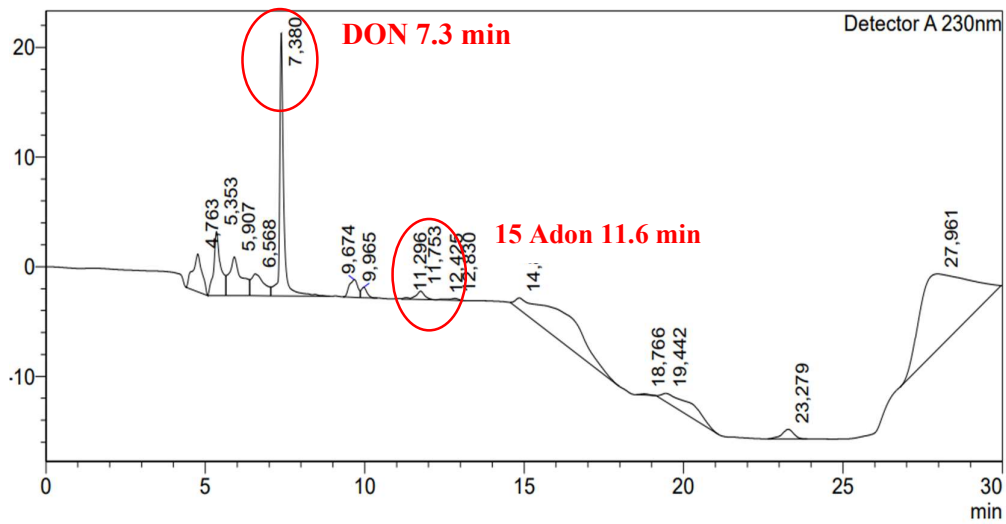


Figure 18: Analyse par chromatographie en phase liquide (HPLC/DAD) *F. pseudograminearum* producteur de DON/15Adon

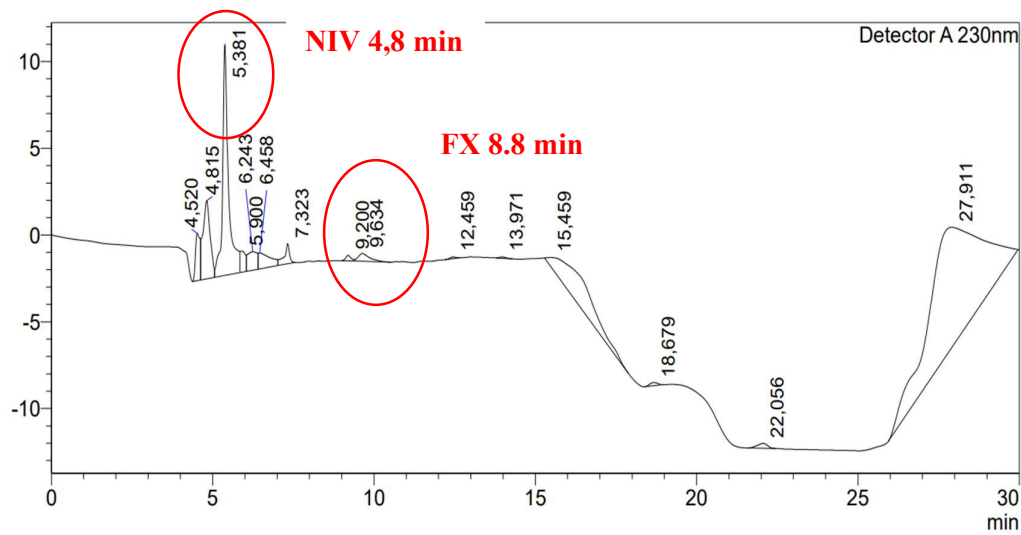


Figure 19: Dosage de la quantité de NIV par chromatographie en phase liquide (HPLC/DAD) de deu *F. culmorum* producteur de NIV/FX.

L'analyse des profils chromatographiques, a montré que les trois isolats ont produit quatre trichothécènes (NIV, DON ; 15Adon et FX). Les résultats obtenus ont montré une variation des niveaux des trichothécènes produits selon les isolats considérés. Des niveaux de toxines des deux isolats de chémotype DON sont bien supérieurs à ceux des deux isolats NIV/FX.

Discussion

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

Plusieurs travaux sont en accord avec ces résultats : Parry et al. (1995) ont conclu que *F. graminearum* et *F. culmorum* sont les espèces les plus dominantes sur blé. *F. culmorum* a été identifiée comme l'espèce la plus dominante dans l'ouest de l'Allemagne (Muthomi et al., 2000). Kosiak et al (2003) rapportent que *F. culmorum* est parmi les quatre espèces les plus fréquemment isolées du genre *Fusarium* à partir du blé, d'orge et de l'avoine en Norvège. *F. culmorum* domine dans les régions à basse température comme le nord, le centre et l'est de l'Europe (Parry et al, 1995).

Selon Chekali et al (2010), *F. culmorum* est considérée comme la principale espèce qui cause la pourriture racinaire en Afrique du Nord. et al. (2003) Tan et Niessen (2003) ont rapporté que *F. verticillioides*, et *F. solani* ont été isolées atteintes de la fusariose.

En Europe, trois espèces sont principalement associées avec la fusariose de l'épi : *F. graminearum*, *F. culmorum* et *F. avenaceum* (Bottalico and Perrone, 2002). En France, sur plus de 700 échantillons de blé tendre, de blé dur ou d'orge analysés en 2000, *F. graminearum* a été retrouvé de manière prédominante (83.3%), suivi par *F. avenaceum* et *F. poae* (64.1% et 62.5% respectivement) (Ioos et al., 2004).

Selon Burgess et al. (1975), deux populations morphologiquement identiques se distinguent chez *G. zeae* (*F. graminearum*). Les isolats du groupe 2 qui sont homothaliques et produisent en culture des périthèces. Par contre, les isolats du groupe 1 n'en produisent pas et sont présumés êtres hétérothaliques. Ces deux groupes sont classés en deux espèces dénommées *F. pseudograminearum* Aoki & O'Donnell pour le groupe 1 et *F. graminearum* pour le groupe 2 (Aoki et O'Donnell , 1999)

Résultats et Discussion

Dans de nombreux pays méditerranéens *F. culmorum* et *F. pseudograminearum* ont été signalées comme espèces dominantes comme la Tunisie, (Kammoun et al., 2010, Kammoun et al., 2009), l'Algérie (Laraba et al., 2017 ; yekkou et al., 2015), la Syrie et l'Égypte (Alkadri et al., 2013, Balmas et al., 2015).

L'étude de la croissance mycélienne de 4 isolats à différentes températures (20 C ,25 C, 30 C) a montré que l'intervalle de croissance des espèces de *Fusarium* spp. est situé entre 20 C et 30 C et qu'il existe une différence dans l'optimum de croissance entre les isolats. Il s'est avéré que l'optimum de la croissance mycélienne de l'espèce est situé à 20 C et 25 C pour tous les isolats à l'exception de *F. concentricum* qui est enregistré à 30°C.

Les résultats obtenus dans cette étude sont en accord avec ceux obtenus par Brennan et al. (2003), F. Sabgagui, (2019) et de Nora, de *F.culmorum* et *F. graminearum*est 25°C. Wagacha et Mulhomi (2007) ont signalé que la croissance mycélienne de *F.culmorum* augment entre 25 et 30°C. Pettitt et al. (1996) ont trouvé que la température optimale de *F.culmorum* est comprise entre 20 et 25°C entre 20 et 25°C.

Selon Burgess et al. (1994), la croissance mycélienne de *F. verticillioides* augmente entre 25 et 30°C, ils rapportent que le diamètre moyen de la colonie de *F. verticillioides* après 3 jours d'incubation à 25°C est compris entre 2,9 et 3,9 cm, et entre 3 et 4 cm à 30°C. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans cette étude.

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

Les résultats ont montré que tous les isolats ont induit une décoloration au niveau du collet engendrant des indices de sévérités différentes. L'étude de l'agressivité des espèces de *Fusarium* spp. a montré que l'espèces *F.culmorum* est le plus agressif . Alors que *F. guttiforme* est le moins agressif.

Plusieurs études sont en accord avec nos résultats, sauf dans quelques cas. Il à noter que nos résultats restent préliminaires vu le nombre limité des isolats pour chaque espèce testée. En

Résultats et Discussion

étudiant l'agressivité de plusieurs espèces de *Fusarium*, vis-à-vis de la pourriture des racines, Fernandez et Chen (2005) ont rapporté que les deux espèces *F. culmorum* et *F. graminearum* sont les plus agressives qu'est en accord avec les travaux de cette étude. Aussi Brennan et al. (2003) ont également rapporté que sur coléoptiles de blé, les espèces *F. culmorum* et *F. graminearum* sont plus agressives que les espèces *F. avenaceum* et *M. nivale*.

Tout d'abord nous avons identifié le potentiel toxigène d'une gamme d'isolats de *F. culmorum* et défini la capacité de ces isolats à produire des TCTB. Les résultats obtenus nous laissent supposer que tous les isolats testés possèdent le gène *Tri5* codant pour la trichodiène synthase, une enzyme clé dans la biosynthèse des trichothécènes.

Ce résultat concorde avec des études antérieures, qui ont rapporté la présence du chémotype DON associé à l'espèce *F. culmorum*. En Tunisie les résultats de Rebib et al., (2014) et Ben Amar et al., (2012) ont révélé que 100% des isolats sont de chémotypes 3-ADON et Kammoun et al., (2010) ont donné des pourcentages de 98% (3-ADON) et de 2% (NIV). En Syrie Miedaner et al., (2013) ont indiqué une dominance de 100% pour le chémotype 3-ADON, et Alkadri et al., (2013) ont révélé 40% pour le chémotype NIV et 60% 3-ADON.

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

En Europe, la majorité des souches isolées chez *F. graminearum* sont de chémotype DON et plus précisément DON/15ADON (Logrieco 2002). En Amérique du Nord et Canada, jusqu'à aujourd'hui, le sous chémotype DON/3ADON était majoritaire ; il semblerait cependant que progressivement, la fréquence d'isolement de souches de sous chémotype DON/15 ADON s'amplifie (Ward, Clear et al. 2008). Selon une étude réalisée au laboratoire, les producteurs de

Résultats et Discussion

NIV représenteraient 10 % des souches de l'espèce *F. graminearum*, ce pourcentage s'élève à 40 % pour l'espèce *F. culmorum* (L. PinsonGadais, communication personnelle).

Il est important de souligner que sans une bonne identification chimique des types différents de trichothécène B, les méthodes génétiques ne sauraient être suffisantes pour déterminer précisément la capacité toxigène d'un isolat (Matias Pasquali et Quirico Migheli, 2014). Ainsi, l'étude moléculaire par PCR permet d'indiquer le potentiel toxigène d'un isolat donné, mais seulement l'analyse biochimique des toxines permet la quantification des trichothécènes et ZEA produits.

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

En outre, plusieurs études signalent la coproduction de la forme acétylée de la part d'une même souche (Alvarez et al., 2009 ; Christ et al., 2011 ; Kawakami et al., 2014 ; Korn et al., 2011 ; Mugrabi de Kuppler et al., 2011 ; Sugiura et al., 1990 ; Spolti, 2014 ; Szecsi et al., 2005 ; Talas, 2012 ; Ward et al., 2002 ; Yli - Mattila et al., 2009 et Llorens and al., 2006). Des situations similaires à ceux décrits pour le chémotype génétique peuvent survenir, pour l'analyse biochimique, puisque la production de toxines *in vitro* est très variable et peut ne pas représenter le potentiel toxigène réel de la souche (Malbrán et al., 2014 ; Mirocha et al., 1989 ; Muller et Schwadorf, 1993). Seule au champ, l'inoculation *in planta* peut montrer la capacité réelle toxigène de chaque souche (Gang et al., 1998). La production de toxines est souvent variable entre les isolats (Spolti et al., 2014) et certaines souches ne produisent aucune toxine dans des conditions de laboratoire (Tan et al., 2012).

CONCLUSION

Conclusion générale

La culture de blé est soumise à plusieurs pathogène qu'il baisse leur rendement parmi eu la fusariose de blé, est une maladie causée par un complexe d'espèces du genre *Fusarium* et *Microdochium*. Lors de cette étude, nous avons réalisé une caractérisation morphologique culturale, pathologique et une identification des mycotoxines de *Fusarium* spp.

Premièrement on a identifié morphologiquement des espèces de *Fusarium* spp., sept espèces ont été identifiées à savoir : *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. concentricum*, *F. pseudograminearum*, *F. avenaceum*, *F. guttiforme* et *F. graminurium*.

Le test de l'effet d'une gamme de température sur la croissance mycélienne in vitro des isolats de *Fusarium* spp. a montré que l'optimum de la croissance mycélienne pour les isolats de *F. culmorum* et *F. verticillioides* a été enregistré à 25°C, les diamètres mesurés pour chaque espèce sont respectivement de 4.13 cm, 3.96 cm. Pour *F. culmorum* la température de croissance optimale a été notée à 20°C avec des diamètres respectivement de 4.13 cm. et pour le *F. concentricum* la température de croissance optimale était à 30°C avec un diamètre de 4cm.

L'étude de l'agressivité des isolats de *Fusarium* spp. sur collet de blé a montré que tous les isolats ont induit les symptômes typiques de la pourriture racinaire. Nous avons noté que l'agressivité des isolats testés varié entre les espèces.

Enfin, on a identifié les mycotoxines associe aux espèces de *Fusarium* spp., par la chromatographie sur couche mince CCM et chromatographe liquide haute performance HPLC. Nos souches ont été et identifiées comme étant de chémotypes DON ; DON/15Adon et NIV/FX.

La zearalenone n'a pas pu être détecté par HPLC /DAD par faut de détecteur UV. La recherche de la ZEA dans les extraits des trois échantillons étudiés sur CCM est négative. L'interprétation a été réalisée sous rayonnement ultraviolet.

En conclusion, la présente étude a permis de confirmer l'identité morphologique des isolats de *Fusarium* spp. Ainsi que la pathogénie et de l'agressivité des isolats impliqués dans la fusariose du blé. Ce qui va permettre à mieux comprendre l'épidémiologie du complexe fongique associé à cette maladie afin d'entreprendre des stratégies de lutte appropriées

En perspective, notre travail a porté sur une petite collection (7 isolats) de *Fusarium* spp. Ainsi, il serait intéressant d'élargir la collection par des prospections dans d'autres régions céréalières dans l'Est, le Centre et l'Ouest du pays.

Conclusion générale

Il est également recommandé de confirmer l'identification morphologique par une identification moléculaire des différentes espèces de *Fusarium* spp., ou la distinction est très difficile, parfois impossible sur le plan morphologique et microscopique dans le but d'établir une meilleure gestion de la maladie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Amokrane A.**, 2001. Evaluation et utilisation de trois sources de germplasm de blé dur (*Triticum durum* Desf.). Mém. Mag. Institut d'Agronomie, université Colonel El Hadj Lakhdar, Batna, 80 p.
2. **Bailey, K. L., Couture, L., Gossen, B. D., Gugel, R. K., & Morrall, R. A. A.**, 2004. Maladies des grandes cultures au Canada. *Société Canadienne de Phytopathologie*, 318.
3. **BENNETT, J. W. & KLICH, M.**, 2003. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev*, 16, 497-516
4. **Benoît Jeunot**, 2005. Thèse « LES FUSARIOTOXINES SUR CEREALES : DETECTION, RISQUE ET NOUVELLE REGLEMENTATION ».
5. **Betina V.** (1989) Mycotoxins Chemical, biological and environmental aspects. In: Elsevier, Amsterdam Netherlands., pp. 63-281
6. **Bily, A. C., L. M. Reid, M. E. Savard, R. Reddy, B. A. Blackwell, C. M. Campbell, A. Krantis, T. Durst, B. J. R. Philogene, J. T. Arnason, and C. Regnault-Roger.** 2004. Analysis of *Fusarium graminearum* mycotoxins in different biological matrices by LC/MS. *Mycopathologia* **157**:117-126.
7. **Boufenar-Zaghouane F. et Zaghouane O.**, 2006. Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). 1ère Edition. Institut Technique des Grandes Cultures ITGC-ICARDA, Alger, 154 p
8. **Bouregghda, H., Djeghmoum , C. & Bouroubi, N.**, 2010. Study of in vitro growth and pathogenicity of some isolates of *Fusarium* spp.: causal agent of *Fusarium* Head Scab and Root Rot of wheat (poster). Le proceeding du congrès MPU Rome.
9. **Boutigny, A.-L., Richard-Forget, F., and Barreau, C.**, 2008. Natural mechanisms for cereal resistance to the accumulation of *Fusarium* trichothecenes. *European Journal of Plant Pathology* **121**, 411-423.
10. **Brennan et al.**, 2003. Studies on in vitro growth and pathogenicity of European *Fusarium* fungi. *European Journal of Plant Pathology* 109: 577-587
11. **Burgess, L. W., B. A. Summerell, S. Bullock, K. P. Gott, and D. Backhouse**, 1994. *Laboratory Manual for Fusarium Research*, 3rd ed. University of Sydney/Royal Botanic Gardens, Sydney, Australia. (P, 4, 8, 9)
12. **Chapeland-Leclerc, F., Nicolas Papon, N., Thierry Noël, et Villard, J.**, 2005. Moisissures et risques alimentaires (mycotoxines). *Revue Française des Laboratoires* 373 : 61-6.

13. **Clear, R., Patrick, S., Turkington, T.K. & Walhis, R.,** 2003. *Effet du traitement à la chaleur sèche sur Fusarium graminearum présent dans les graines.* Ed. Commission Canadienne des grains, Canada, 1p.
14. **Clément Debiton,** 2010. Thèse « 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 isogéniques waxy ».
15. **Cole et Cox,** 1981. The trichothecenes. In: Cole RJ, Cox RH. Handbook of Toxic Fungal Metabolites. New York, NY: Academic Press 152-263
16. **Da Luz, W.C., Stockwell, C.A., et Bergstrom, C.A.,** 2003. Biological control of *Fusarium graminearum*. In: K.J. Leonard, et W.R. Bushnell, Editors, 2003. Fusarium Head Blight of Wheat and Barley, American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN, p 381-394.
17. **Dahlia F.,** 2010. Etude de l'interaction génotype x environnement de quelques lignées de blé dur (*Triticum durum* Desf.) et analyse de comportement de 30 populations F2 et leurs variétés parentales. Mém. Mag. ENSA d'El-Harrach, Alger, 193 p.
18. **Dammer K.H., Möller B., Rodemann B. et Heppner D.,** 2011. Detection of Head Blight (*Fusarium* spp.) in winter wheat by color and multispectral image analysis. *Crop Protection*, 30: 420-428
19. **Diamond, H., et Cooke, B.,** 2003. Preliminary studies on biological control of Fusarium ear blight complex of wheat. *Crop Protection* 22: 99-107
20. **Diamond, M., Reape, T.J., Rocha, O., Doyle, S.M., Kacprzyk, J., Doohan, F.M., and McCabe, P.F.,** 2013. The fusarium mycotoxin deoxynivalenol can inhibit plant apoptosis-like programmed cell death. *PLoS ONE* 8, e69542
21. **Dill-Macky, R., and Jones, R.K.,** 2000. The Effect of Previous Crop Residues and Tillage on Fusarium Head Blight of Wheat. *Plant Disease* 84, 71-76
22. **Feillet,** 2000. Le grain de blé composition et utilisation. In: INRA EDITIONS, Paris, France, p. 308
23. **Fernandez et chen,** 2005. Pathogenicity of Fusarium species on different plant parts of spring wheat under controlled conditions. *Plant Disease* 89: 164-169.
24. **Ferret. M.,** 1996. Blé dur, objectif qualité. Ed. ITCF. 43p
25. **Foroud, N.A., and Eudes, F.,** 2009. Trichothecenes in cereal grains. *Int J Mol Sci* 10, 147-173.

26. **GEURBOUS Halima**, 2020. Mémoire « Identification des espèces de *Fusarium* spp. responsables des contaminations des grains de blé et détection des mycotoxines associées ».
27. **Goswami, R. S., and H. C. Kistler.**, 2004. Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Mol. Plant Pathol.* **5**:515-525.
28. **Hadjout Salah**, 2013. Mémoire « Etude comparative (*in vitro* et *in situ*) de quelques lignées sélectionnées de blé dur et de variétés cultivées pour leur comportement à la fusariose de l'épi causée par *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. et *Fusarium graminearum* Schwabe ».
29. **Hamadache et al.**, 2002. Facteurs agrotechniques d'amélioration de la productivité du blé dur en Algérie. Cas de la zone sub-humide. *Revue Semestrielle* 10 :5-18
30. **Henri-Louis Védie**. Policy Brief - N° 23/22 - Mars 2022.
31. **Hsia, C.C., Wu, J.L., Lu, X.Q., et Li, Y.S.**, 1988. Natural occurrence and clastogenic effects of nivalenol, deoxynivalenol, 3-acetyl-nivalenol, 15-acetyl-deoxynivaleno, and zearalenone in corn from a high-risk area of oesophageal cancer. *Cancer Detection and Prevention* 13: 79-86.
32. <http://www.unctad.org/infocomm/francais/ble/descript.htm>.
33. **Ismail et al.**, 2015. Nemmat A. Hussein, Nivien A. Abdel-Hameed Contributions to the genus *Fusarium* in Egypt. With dichotomous keys for identification of species; Suchy Las, Poland 2015. PP175
34. **Jean-Claude Pasquet**, 2014. Thèse « Détoxification des mycotoxines par les plantes : analyse de l'interaction entre *Brachypodium distachyon* et *Fusarium graminearum* ».
35. **Jochum, C.C., Osborne, L.E., et Yuen, G.Y.**, 2006. *Fusarium* head blight biological control with *Lysobacter enzymogenes* strain C3. *Biological Control* 39: 336-344
36. **Joffe, A.Z.**, 1983. Environmental conditions conducive to *Fusarium* toxin formation causing serious outbreaks in animals and man. *Veterinary Research Communications* 7:187-193.
37. **Jones R.K.**, 2000. Assessments of *Fusarium* Head Blight of wheat and Barley in response to fungicide treatment. *Plant Dis.* 84: 1021-1030
38. **Kammoun et al.**, 2009. Occurrence and distribution of *Microdochium* and *Fusarium* species isolated from durum wheat in northern Tunisia and detection of mycotoxins in naturally infested grain. *Journal of Phytopathology* 157: 546-551.

- 39. Kamoun et al., 2010.** Trichothecenes chemotypes of *Fusarium culmorum* infecting wheat in Tunisia. *International Journal of Food Microbiology* 140: 84-89.
- 40. Keith A. et Seifert D.S.C., 2001.** Systematic of fungal plant disease. www. BS \geq Spp.Org.uk.
- 41. Kellou R., 2008.** Analyse du marché algérien du blé dur et les opportunités d'exportation pour les céréaliers français dans le cadre du pôle de compétitivité Quali-Méditerranée : le cas des coopératives Sud Céréales, groupe coopératif Occitan et Audecoop. Master of science. Montpellier: CIHEAM-IAMM, série Thèse et Master, n° 93, 168 p.
- 42. Khan M.R., Shahana M., Mohidin F.A. et Khan N., 2011.** A new bioprocess to produce lowcost powder formulations of biocontrol bacteria and fungi to control fusarial wilt and root knot nematode of pulses. *Biological Control*, 11: 1049-9644
- 43. Khan, S.H., Idress, M., Muhammad, F., Mahmood, A. et Zaidi, S.H., 2004.** Incidence of shisham (*Dalbergia sissoo* Roxb.) decline and *In vitro* response of isolated fungus spp., to various fungicides. *International Journal of Agriculture and Biology* 6: 611-614.
- 44. Kurek, E., Jaroszuk, C.S., et Shtssls, J.Z., 2003.** Rye (*Secale cereale*) growth promotion by *Pseudomonas fluorescens* strains and their interactions with *Fusarium culmorum* under various soil conditions. *Biological Control* 26: 48-56.
- 45. Laraba et al., 2017.** Population genetic structure and mycotoxin potential of the wheat crown rot and head blight pathogen *Fusarium culmorum* in Algeria. *Fungal Genet Biol* 103:34-41.
- 46. Laraba I, Boureghda H, Abdallah N, Bouaicha O, Obanor F, Moretti A, Geiser Dm, Kim Hs, McCormickSp, Proctor Rh, Kelly Ac, Ward Tj, O'donnell K., 2017.** Population genetic structure and mycotoxin potential of the wheat crown rot and head blight pathogen *Fusariumculmorum* in Algeria. *Fungal Genet Biol* 103:34-41.
- 47. Lauriane Nembrot, 2022.** Guerre en Ukraine : face à la hausse des prix du blé les pays africains tentent de s'adapter.
- 48. Leslie et Summerell, 2006.** The *Fusarium* Laboratory Manual. In: Blackwell publishing, 388p
- 49. Logrieco, A., Bottalico, A., Mulé, G., Moretti, A., et Perrone, G., 2003.** Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *European Journal of Plant Pathology* 109: 645–667.

- 50. Martin L., Yves D. et Sylvie R., 2007.** Fusariose de l'épi chez le blé et l'orge. CÉROM Saint-Bruno-de-Montarville, bulletin technique : phytopathologie : 2. (1). 5p
- 51. Mascher, F., Michel, V. & Browne, R.A., 2005.** Sélection de variétés de blé et de triticales résistantes à la fusariose sur épi. *Revue Suisse Agri.* 37 (5): 189- 194
- 52. Masuda D., Ishida M., Yamaguchi K., Yamaguchi I., Kimura M. & Nishiuchi T., 2007.** Phytotoxic effects of trichothecenes on the growth and morphology of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, 58, 1617-1626
- 53. McMullen, M., Jones, R., and Gallenberg, D., 1997.** Scab of Wheat and Barley: A Reemerging Disease of Devastating Impact. *Plant Disease* **81**, 1340-1348
- 54. Miller, J.D., et 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.
- 55. Mouellef A., 2010.** Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*Triticum durum* Desf.) au stress hydrique. *Mém. Mag. Constantine*, 93 p.
- 56. Moule C., 1980.** Les céréales. Ed. maison rustique, 235 p.
- 57. Olufemi A. Akinsanmi, Sukumar Chakraborty, David Backhouse, Steven Simpfendorfer 2006.** Passage through alternative hosts changes the fitness of *Fusarium graminearum* and *Fusarium pseudograminearum*, *Environmental Microbiology* (512-520).
- 58. Pandey, A.K., Arora, D.K., Pandey, R.R. & Srwastava, A.K., 1996.** Integrated control of *Fusarium* wilt of chickpea by solar heating of soil amended with oil seed meals and fungicides. *Indian Phytopath.* 49: 247-253.
- 59. Parry D.W., Jenkinson P. & McLeod L., 1995.** *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals-a review. *Plant Pathology*, 44, 207-238
- 60. Perkowski, J., Chelkowski, J., et Goliński, P., 2004.** Occurrence of mycotoxins in cereals, plants, foods and feeds in Poland. An overview on toxigenic fungi and mycotoxins in Europe. London: Kluwer Academic Publishers 161-172
- 61. Pettitt et al., 1996.** Effect of temperature on the incidence of nodal foot rot symptoms in winter wheat crops in England and Wales caused by *Fusarium culmorum* and *Microdochium nivale*. *Agricultural and Forest Meteorology* 79:233-242.
- 62. Prandini A., Sigolo S., Filippi L., Battilani P. et Piva G., 2008.** Review of predictive models for *Fusarium* Head Blight and related mycotoxin contamination in wheat. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 927-931

63. Rocha, O., Ansari, K., et Doohan, F.M., 2005. Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: a review, *Food Additives and Contaminants* 22: 369-378
64. Schisler, D.A. Khan, N.I., Boehm, M.J., et Slininger, P.J., 2002. Greenhouse and field evaluation of biological control of *Fusarium* head blight on durum wheat. *Plant Disease* 86: 1350-1356
65. Schroeder, H.W., et Christensen, J.J., 1963. Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. *Phytopathology* 53: 831-838.
66. Simpson, D. R., Weston, G. E., Turner, J. A., Jennings, P., and Nicholson, P. 2001. Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *European Journal of Plant Pathology* 107: 421-431.
67. Soltner D., 2005. Phytotechnie spéciale : Les grandes productions végétales. *Collection sciences et techniques agricoles*, Bressuire, France, 472 p.
68. Stakheev A.A., Ryazantsev D.Yu., Gagkaeva T.Yu. et Zavriev S.K., 2010. PCR detection of *Fusarium* fungi with similar profiles of the produced mycotoxins. *Food Control*, 22: 462-468
69. 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.
70. Touati-Hattab et al., 2016. Pathogenicity and trichothecenes production of *Fusarium culmorum* strains causing head blight on wheat and evaluation of resistance of the varieties cultivated in Algeria.
71. Tunali et al., 2006. Pathogenicity of Turkish crown and head scab isolates on stem bases on winter wheat under greenhouse conditions. *Journal of Plant Pathology* 5: 143-149
72. Vogel, H.J., 1956. A convenient growth medium for *Neurospora* (Medium N). *Microbial Genetics Bulletin* 13, 42-43.
73. Wagacha et Muthomi, 2007. *Fusarium culmorum*: infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection* 26: 877-885.
74. Wang, Y.Z. et Miller, J.D. 1988. Effects of metabolites on wheat tissue in relation to *Fusarium* head blight resistance. *Journal of Phytopathology* 122: 118-125.
75. Wegulo S., Jackson T A., Baenziger S., Carlson M. et Hernandez J., 2008. *Fusarium* Head Blight of Wheat. 8p

- 76. Xu, X. M. & Berrie, A. M., 2005.** Epidemiology of mycotoxigenic fungi associated with *Fusarium* ear blight and apple blue mould: a review. *Food AdditContam*, 22, 290-301.
- 77. yekkour et al., 2015.** Deoxynivalenol-producing ability of *Fusarium culmorum* strains and their impact on infecting barley in Algeria. *World J Microbiol Biotechnol*, 31:875–881
- 78. Yuen G.Y. et Schoneweis S.D., 2007.** Strategies for managing *Fusarium* Head Blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. *International journal of Food Microbiology*, 119: 126-130
- 79. Zadoks et al., 1974.** Decimal Code for the Growth Stages of Cereals. *Weed Research* 14, 415-42
- 80. Zillinsky FJ., 1983.** Maladies communes des céréales à paille : Guide d'identification. Mexico, CIMMYT. 141 p.