

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Amar TELIDJI - Laghouat -
Faculté des Sciences
Département des Sciences Agronomiques

جامعة عمار ثليجي - الاغواط -
كلية العلوم
قسم العلوم الفلاحية



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

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

Thème

**Etude de la pathogénicité de cinq
isolats de *Fusarium* sur blé dur**

Présenté par : **LAMARI Sara**

Le : 24/06/2014

Encadrée par : *Mme TOUATI. S Maître-assistant -A-*

Dédicace

A ma très chère mère : KALTOUM

Maman vous m'avez mise au monde, et depuis n'avez pas cessé de me chérir, de m'encourager, de vous occuper de moi, de mettre à ma portée ce qu'il y'a de meilleur ; vous n'avez épargné aucun effort pour me rendre heureuse.

Que Dieu le tout puissant vous préserver, vous accorde santé, bonheur et longue vie afin que je puisse vous combler à mon tour.

A mon très chère Père : ABDREZEK

Papa, vous m'avez toujours aimée, soutenue, conseillée .Vous avez toujours été présent dans ma vie et particulièrement dans les moments les plus pénibles tel un pilier fort et réconfortant.

Donc, à travers ce travail, couronnement de vos efforts conjugués, je voudrais vous dire mon estime et mon respect inégalés, ma gratitude infinie et surtout mon immense amour filial.

Puisse Dieu vous accorder longue vie, santé et bonheur.

A ma grand-mère maternelle : Zarfa

A mes frères : Mohamed, Toufik, Youcef et Toutou.

A mes sœurs : Nadia, Assia, Kenza, Wassila et Imene.

A les épouses de mes frères : Faiza, Nawel et Linda.

A les époux de mes sœurs : Abd Rahmen, Mohamed et Mourad.

A tous les enfants: Rania, Keltoum, Abdou, Zineb, Mehdi, Ikram, Ismail, Nina, Nacer, Amina, Mebarqa, Kenza, Adem et abdelmoumen " je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite".

A mon oncle : Bachir et mes tentes

A mes deux familles : Lamari et Chahdi

A mon ami silaa abdelkader : Pour son soutien moral et pour leur aide pendant la période de notre travail d'étude.

A mes chères amies : Khaira, souad, Fatima zohra ben ali, Aroua, Fatima rague, Karima, Ikram, Saliha, Chahra lbar.

A tous mes collègues de l'institut agronomique de la Wilaya de Laghouat surtout la promotion 2013/2014.

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis **merci**.*

SARA

REMERCIEMENT

Nous remercions *Allah* le tout puissant qui nous a donnés la force et la patience pour mener à bien ce modeste travail.

Au terme de ce travail, nous voudrions remercions en premier lieu Mme TOUATI Siham Maître assistant -A- au département d'agronomie de Laghouat, pour avoir accepté de diriger ce travail. Sa disponibilité constante associée à son esprit critique, ont largement contribué à l'orientation et à la réalisation du contenu de ce manuscrit. Nous lui en garde une profonde gratitude.

Nous adressons nos plus vifs remerciements pour les membres de jury pour accepter de juger ce travail.

Un grand merci à BOUKEROUIS Djoudi pour leur soutien technique en biologie moléculaire pour avoir toujours été disponible pour répondre à mes questions et résoudre mes problèmes.

Nous remercions profondément Monsieur LEBCHEUR Mourad l'adjoint de chef département de l'agronomie qu'est facilite les services administrative et pour leur gentillesse et son encouragement.

Nous exprimons aussi nos sincères reconnaissances à tous nos enseignants du primaire jusqu'à l'université.

Résumé

La fusariose 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 graines par diverses mycotoxines, qui sont dangereuses pour la santé humaine et animale.

L'objectif de ce travail est l'identification des espèces impliquées dans la fusariose, la connaissance de leur pathogénie, leur agressivité ; et d'autre part leur chémotype.

L'isolement fongique a révélé la présence de quatre espèces à savoir : *Fusarium verticilloides*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium pseudograminearum*, *Fusarium poae*. L'étude de la pathogénie et de l'agressivité des espèces isolées a montré que *Fusarium culmorum*, *Fusarium pseudograminearum* sont plus agressives que *Fusarium poae*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides*.

L'extraction, l'identification et la quantification des trichothécènes B des isolats de *Fusarium* par CCM ont indiqué la présence de deux chémotypes le DON qui est produit par le *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* avec une concentration élevée et la NIV qui est produite par *Fusarium culmorum* est faible.

Mots clés : Blé, *Fusarium* spp, Pathogénicité.

LAMARI Sara

Study of pathogenicity of five isolates of *Fusarium* on durum wheat

Abstract:

Fusarium wilt is a fungal disease occurs worldwide, and which is responsible for considerable losses of production.

The species involved can lead to contamination of seeds by various mycotoxins, which are dangerous to human and animal health.

The objective of this work is the identification of *Fusarium* species involved in the knowledge of their pathogenesis, their aggressiveness; and their chemotype.

Fungal isolation revealed four species which are: *Fusarium verticilloides*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium pseudograminearum*, *Fusarium poae*, the study of the pathogenesis and aggressiveness of isolated species showed that *Fusarium culmorum*, *Fusarium pseudograminearum* are more aggressive than *Fusarium poae*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides*.

The extraction, identification and quantification of B trichothecenes *Fusarium* isolates by CCM indicated the presence of two chemotypes DON which is produced by *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, and concentration with that produced by the NIV with *Fusarium culmorum* lower production.

Keywords: Durum wheat, *Fusarium* spp, pathogenicity.

ملخص

الفيوزاريوم هو مرض فطري ينتشر في جميع أنحاء العالم، وهو مسؤول عن خسائر كبيرة في الإنتاج. الأنواع المعنية يمكن أن تؤدي إلى تلوث الحبوب من قبل مختلف السموم الفطرية، التي تضر بصحة الإنسان والحيوان.

الهدف من هذا العمل هو تحديد أنواع الفيوزاريوم المشاركة في المعرفة المرضية، والعدوانية ؛ وثانيا على الكيموتيب.

كشفت العزلة الفطرية وجود أربعة أنواع وهي: *F. verticillioides, F. graminearum, F. pseudograminearum, F. poae*

أظهرت دراسة المرضية والعدوانية من الأنواع المعزولة ان *F. pseudograminearum, F.culmorum* أكثر عدوانية من *F. verticillioides, F.poeae*.

إستخراج وتحديد وتقدير حجم *B trichothécènes* للفيوزاريوم المعزول بواسطة *CCM* أشارت الى وجود اثنين من *chémotypes DON* المركز الذي ينتجه *F. culmorum, F. graminearum* و *NIV* منخفض الإنتاج بالنسبة *F.culmorum*.

الكلمات المفتاح: القمح، الفيوزاريوم، القدرة المرضية.

LISTE DES ABREVIATION

%: pourcentage

°C: degré Celsius

CCM : chromatographie sur couche mince

CMC : Carboxy méthyl cellulose

CNCC : Centre National de Culture Céréalière

DCPA: Dichloran chloramphenicol Peptone Agar

DON : le déoxynivalénol (ZEA)

FAO: Food and Agriculture Organization

g: Gramme

GC-MS: Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse.

h : heure

ha : hectare

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

ITGC : Institut Technique des Grands Culture

IPCS : International Programme on Chemical Safety

LNPV : Laboratoire National de la protection des végétaux

MADR

ml : Millilitre

mm : Millimétré

MS : Mycotoxin Synthetic medium

NIV/FX : nivalénol

PDA: Potato Dextrose Agar (PDA).

Qx : quintaux

rpm : rend par minute

SAU : surface agricole utile

sp : espèce non identifiée

TCTB : trichothécènes B

UV : ultra violet

ZEA : zéaralénone

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Superficies, production et rendement du blé dur et blé tendre en Algérie dans l'année 2009 et 2010	07
Tableau 02 : Liste des lots de grains de blé analysés.....	23
Tableau 03 : Liste des isolats de <i>Fusarium</i>	24
Tableau 04 : Echelle d'évaluation utilisée pour l'estimation de la sévérité de..... l'infection par <i>Fusarium</i> sur épi	31
Tableau 05 : Gamme d'isolats obtenus des isolements	38

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Schéma illustrant le cycle de développement du blé.....	05
Figure 02 : Pourriture racinaire.....	09
Figure03 : Symptômes sur les nœuds.....	10
Figure 04 : Symptômes sur tiges.....	10
Figure 05 : Fusariose sur épis.....	11
Figure 06 : Graines de blé endommagés par le <i>Fusarium</i> ; à gauche – grains sains ; au centre – grains momifiés; à droite – grains infectés teintés	11
Figure 07 : Caractères morphologiques des <i>Fusarium</i>	13
Figure 08 : <i>Fusarium culmorum</i> Caractères morphologiques: a: macrophialides et macroconidies; b: macroconidies; c: chlamydozspores.....	15
Figure 09 : <i>Fusarium graminearum</i> (culture de 7 jours sur milieu PDA à 25°C et caractères microscopiques: a: macrophialides et macroconidies; b: macroconidies; c: asque octosporé).....	16
Figure 10 : Cycle de vie des champignons phytopathogènes de type <i>Fusarium</i>	18
Figure 11 : Matériel de la désinfection	25
Figure 12 : Graines ensemencées sur DCPA	24
Figure 13 : Dispositif de la 1 ^{ière} inoculation par fragment mycélien au stade trois feuilles.....	27
Figure 14 : Dispositif de la 2 ^{ème} inoculation par suspension au stade floraison.....	29
Figure 15 : Inoculum préparé.....	29
Figure 16 : Technique de l'inoculation par suspension sporal.....	30
Figure17 : Echelle d'évaluation de l'INRA.....	31
Figure 18 : Milieu CMC.....	32
Figure 19 : Spores produire au milieu MS.....	33
Figure 20 : Prélèvement de la surnageant.....	34
Figure 21 : Phase de la migration.....	36
Figure 22 : Colonies de <i>Fusarium</i> sur DCPA.....	36
Figure 23 : Aspects morphologiques et microscopiques (G x 40) des espèces fongiques isolées à partir des grains de blé	39
Figure 24 : Indice de sévérité des cinq isolats sur des plantules de blé attaqué comparés au témoin au stade trois feuilles.....	40
Figure 25 : Moyenne de degré d'attaque obtenue sur des plantules de blé a stades trois feuilles inoculées par cinq isolats <i>F.graminearum</i> , <i>F.culmorum</i> , <i>F.poa</i> , <i>F.pseudograminearum</i> , <i>F.verticilloides</i>	41
Figure 26 : Moyenne de degré d'attaque obtenue sur des plantules de blé a stades floraison inoculées par cinq isolats <i>F.graminearum</i> , <i>F.culmorum</i> , <i>F.poa</i> , <i>F.pseudograminearum</i> , <i>F.verticilloides</i>	42
Figure 27 : Indice de sévérité des cinq isolats sur des plantes de blé attaqué comparés au témoin au stade floraison	43
Figure 28 : Révélation de la plaque CCM sous les rayons UV.....	44

Sommaire

RESUME	I
LISTE DES ABREVIATIONS	II
LISTE DES TABLEAUX	III
LISTE DES FIGURES	IV
INTRODUCTION GENERALE	01
PRTIE I : SYNTHESE BEBLIOGRAPHIQUE	
I- Le blé	03
1- Généralités	03
2- Cycle végétatif du blé	04
2-1- Période végétative	04
a- Phase germination – levée	04
b- Phase levée – tallage	04
c- Phase tallage-montaison	04
2-2-Période de reproduction	05
a- Phase de la montaison	05
b- Phase de l'épiaison	05
2-3-Période de maturation	05
3- La culture du blé en Algérie	07
4- Les principales contraintes de la culture du blé en Algérie	07
A- Contraintes abiotiques	07
B- Contraintes biotiques	08
II-La fusariose	09
1- Importance économique	09
2- Les symptômes	09
a- Sur racines	10
b- Sur tige et nœud	10
c- Sur épi	11
d- Sur feuilles	12
3- L'agent causal de la fusariose « <i>Fusarium spp</i> »	13
3-1- Etiologie	13
3-2- Classification classique	13
A- L'anamorphe	13
B- Les téléomorphes	13
3-3- Caractères cultureux généraux	14
3-4- Morphologie microscopique	14
3-5-Principales espèces de <i>Fusarium</i>	15
A- <i>Fusarium culmorum</i>	15
B- <i>Fusarium graminearum</i> (forme parfaite: <i>Gibberella zeae</i>)	16
3-6- Le cycle de vie du <i>Fusarium</i>	17
a- L'inoculum primaire	17

b- Initiation de la maladie et développement du <i>Fusarium</i>	18
III- Les mycotoxines	20
1- Trichothécènes	20
2- Le rôle des TCTB dans le développement de la fusariose.....	20
3- Méthodes de détection du potentiel toxigène des isolats phytopathogènes	21
IV- Les moyens de lutte contre le <i>Fusarium</i>	21
1- Pratiques culturales	21
2- Choix des cultivars	22
3- Utilisation des fongicides.....	22
4- Moyens de lutte biologique	22
PARTIE II : MATERIEL ET METHODES	
1- Matériel	23
1-1-Matériel végétal	23
1-2-Matériel fongique	23
2- La Méthode de travail	24
2-1-Méthodes d'isolement	24
2-1-1- Echantillonnage	24
2-1-2- Désinfection des semences	24
2-1-3- Isolement	25
2-1-4- méthode de purification	26
a- Repiquage successif.....	26
b- La culture Monospore par scarification	26
2-1-5- L'identification	26
2-1-6- La conservation du <i>Fusarium</i>	27
3- Pathogénie et agressivité des espèces de <i>Fusarium</i>	27
3-1-Inoculation au stade trois feuilles	27
a- Notation des symptômes	28
3-2-Inoculation au stade floraison	28
a- La notation	30
4- Détection du potentiel toxigène de quelques isolats de <i>Fusarium</i>	31
4-1- Mise en culture des isolats de <i>Fusarium</i> pour la production des spores en... milieu liquide CMC	32
4-2-Milieu synthétique pour mycotoxines MS.....	32
4-3-Extraction et purification des trichothécènes « TCTB » à partir du milieu de culture liquide MS	33
4-4-Analyse des trichothécènes B par CCM.....	34
4-4-1- Mode opératoire.....	35
PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS	
1- Résultats d'isolement	37
2- Etude de la pathogénie et de l'agressivité des espèces de <i>Fusarium</i>	40
2-1- résultat d'inoculation à stade trois feuilles	40
a- Discussion	41

2-2- résultat d'inoculation à stade floraison	42
a- Discussion	43
3- Extraction des mycotoxines et la migration sur la plaque CCM.....	44
a- Discussion	45
CONCLUSION GENERALE.....	46
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	47
ANNEXES.....	56

INTRODUCTION GENERALE

Le secteur des céréales est d'une importance cruciale pour les disponibilités alimentaires mondiales. Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins (Djermoun, 2009).

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale. La production des céréales, jachère comprise, occupe environ 80% de la superficie agricole utile du pays, La superficie emblavée annuellement en céréales se situe entre 3 et 3,5 million d'ha. Les superficies annuellement récoltées représentent 63% des emblavures. Elle apparait donc comme une spéculation dominante (Djermoun, 2009). La consommation des produits céréaliers se situe à un niveau d'environ 205 kg /hab/an (Chehat, 2007). Une production céréalière annuelle d'une valeur qui avoisine les 02 milliard de dollars en 2012 (Kehal, 2012).

Bien que différentes mesures aient été prises pour améliorer la production nationale des céréales et assurer notre sécurité alimentaire en cette denrée de base, la qualité des grains récoltés continue à être appréciée sur la base du poids spécifique, de l'humidité, des taux de métadinage et des impuretés. Or, la qualité sanitaire des grains récoltés dépend étroitement de la présence de moisissures et de leurs mycotoxines. Ces contaminants biologiques constituent actuellement un problème majeur de sécurité sanitaire des aliments.

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

L'importance économique de la fusariose est attribuée aux pertes de rendements considérables (avortement des fleurs, diminution du nombre et du poids des grains) et à l'altération de la qualité des grains par les mycotoxines (Lori et al., 2009). Au champ, de nombreux facteurs sont susceptibles d'influencer les niveaux de contamination des grains en

fusariotoxines, notamment les facteurs climatiques, les pratiques culturales, le potentiel toxigènes dessouches, l'abondance et la dispersion de l'inoculum et la sensibilité variétale.

Ce travail a pour objectif de réaliser une étude de l'agressivité des cinq isolats de *Fusarium*.

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

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

Objectif 1 :

- Isoler les agents pathogènes qui lui sont associés à partir des grains fusariés.
- identifier les espèces fongiques associées à la maladie à l'aide des Caractères culturaux généraux, et microscopiques.

Objectif 2 :

- étude sur la pathogénicité et l'agressivité des isolats sur la variété du blé par deux méthodes d'inoculations aux différents stades végétatifs de blé dur (vitron).

Objectif 3 :

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

Synthèse bibliographique :

I- Le blé :

1- Généralités :

Le blé 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 (Croston et Williams, 1981). La Chine, les Etats Unis, la France, l'Inde, la Turquie, le Canada et l'Ukraine (Clement-grandcourt et Prat, 1970; Pastre et Roa, 1993).

A leur actuelle, seules les variétés de blé tendre (*Triticumaestivum L.*) ou de blé dur (*T. turgidum(L.) Thell. spp. durum L.*) ont une importance commerciale internationale. Le blé dur est généralement cultivé pour la production de semoule et la fabrication de pâtes alimentaires, alors que le blé tendre est une matière première, de base, pour la fabrication du pain, en raison de sa composition riche en gluten.

Comme les autres céréales, le blé est une monocotylédone appartenant à l'ordre des Poales et à la famille des Poaceae ou Graminées, genre *Triticum* (Clement-Grandcourt et Prat, 1970, Bonjean et Picard, 1990). Il existe plusieurs espèces de blé, dont deux ont une grande importance économique, le blé dur (*TriticumdurumDesf*) et le blé tendre (*Triticumaestivum L*) (Gustafson et al., 2009).

Le blé se présente comme une plante herbacée à feuilles assez larges (Bonjean et Picard 1990). La tige ou chaume ne commence à prendre son caractère de tige qu'au début de la montaison Celle-ci, d'abord pleine, devient creuse sauf au niveau des nœuds qui restent pleins (Clement-Grandcourt et Prat, 1970).

Les feuilles sont alternées, ligulées et engainantes (Bonjean et Picard, 1990). Elles ont des nervures parallèles et sont terminées en pointe (Clement-Grandcourt et Prat, 1970) L'inflorescence est toujours en épillets associés en inflorescence complexe, épis ou grappes d'épillets, se recouvrant étroitement les uns aux autres. La fécondation est autogame Le fruit est un caryopse ou graine (Clement-Grandcourt et Prat, 1970., Bonjean et Picard, 1990).

Les racines sont de type fasciculé peu développées ; 55 % du poids total des racines se trouve entre 0 et 25 cm de profondeur (Clement-Grandcourt et Prat, 1970).

2- Cycle végétatif du blé :

On distingue trois périodes importantes dans le cycle végétatif du blé : une période végétative, une période de reproduction et une période de maturation(Figure 01).

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, Henry *et al.*, 2000).

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, Fisher *et al.*, 1998)

c- Phase tallage-montaison :

La différenciation des épillets se poursuit par étranglements successifs du cône formateur de l'épi. Les talles herbacées se forment activement (Clement-Grandcourt et Prat., 1970, Fisher *et al.*, 1998).

2-2- Période de reproduction :

Elle s'étend de la montaison à la fécondation :

a- Phase de la montaison :

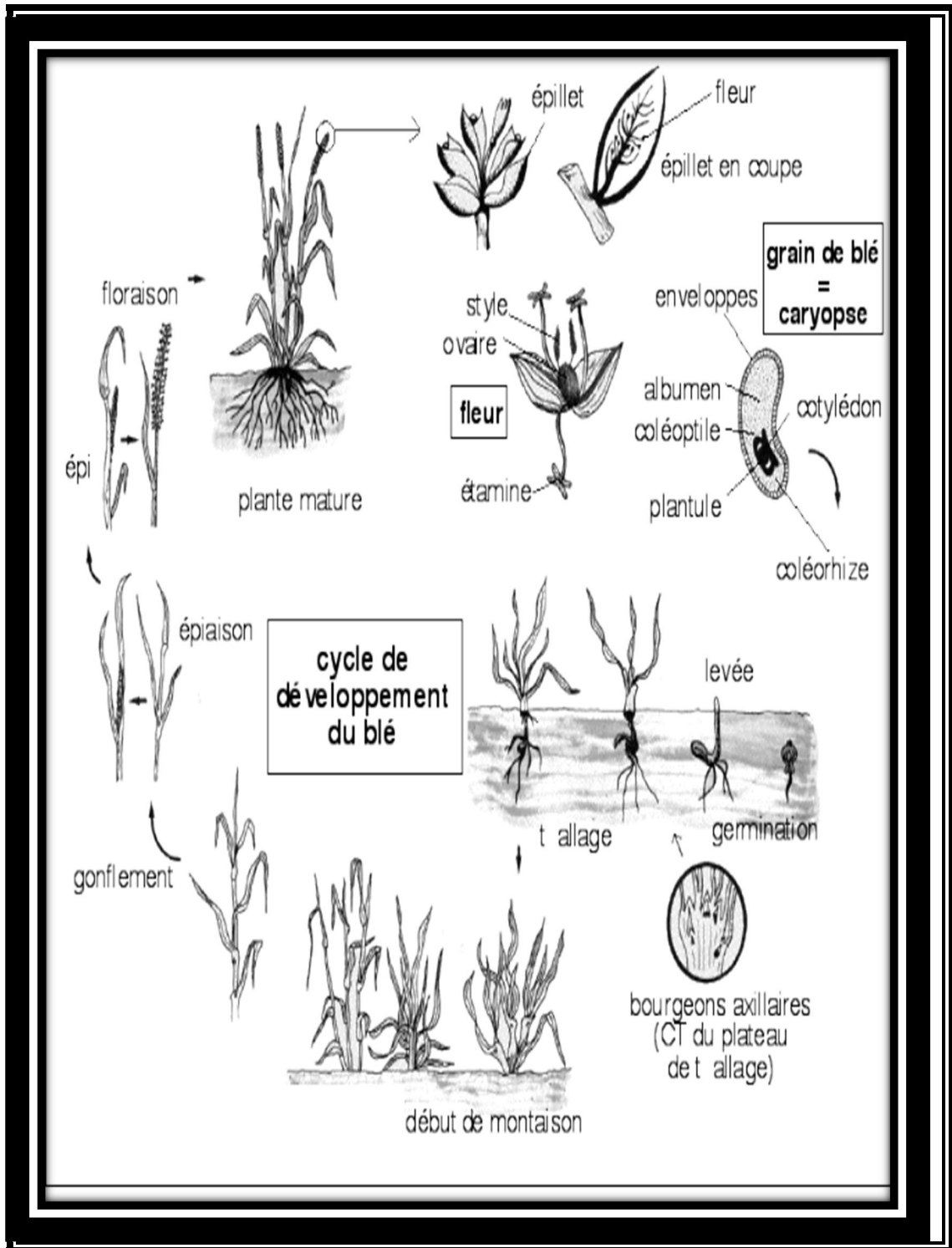
Au cours de cette phase, un certain nombre de talles herbacées vont évoluer vers des tiges couronnées d'épis, tandis que d'autres commencent à régresser. La croissance en taille et en matière sèche est alors active. Cette phase se termine au moment de la différenciation des stigmates. La durée de cette phase est de 29 - 30 jours. (Clément-Grandcourt et Prat; 1970, Fisher et *al.*, 1998).

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, Bahlouli et *al.*, 2005).

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 la graine. La durée de cette période est de 25 à 26 jours en moyenne (Clement-Grandcourt et Prat, 1970, Belkherchouch et *al.*, 2009).



(Dorothee siou ; 2013)

Figure 01 : Schéma illustrant le cycle de développement du blé

3- La culture du blé en Algérie :

Le blé cultivé à travers l'ensemble des zones agro-écologiques de l'Algérie, mais il est essentiellement localisé dans les régions semi-arides et même aride donc, soumis aux aléas climatiques qui pénalisent fortement les niveaux de productivité et par la même occasion la production (Boulal et *al.*, 2007). La superficie occupée par le blé dur en 2010 avoisine 1.1 millions d'hectare et le rendement moyen est de 15.3qx/ha, tandis que le blé tendre occupe une superficie réduite qui avoisine 0.5 million d'hectare et le rendement moyen est de 13.9 qx/ha (MADR, 2010)

Tableau 1 :Superficies, production et rendement du blé dur et blé tendre en Algérie dans l'année 2009 et 2010 (MADR, 2010)

Année	Culture	Superficies (ha)	Production (qx)	Rendement (qx/ha)
2009	Blé dur	1 262 842	20 010 378	15.8
	Blé tendre	585 733	9 520 791	16.3
2010	Blé dur	1 181 774	18 089 739	15.3
	Blé tendre	573 954	7 962 041	13.9
Taux d'accroissement 2009/2010	Blé dur	-6	-10	-3
	Blé tendre	-2	-16	-15

(MADR, 2010)

4- Les principales contraintes de la culture du blé en Algérie :

A- Contraintes abiotique :

La culture de blé en Algérie est confrontée à des aléas climatiques importants :

- Insuffisance et irrégularité des précipitations durant le cycle végétatif de la culture.
- Gelées tardives et siroccos précoces affectant la culture aux stades critiques de son développement (floraison et formation de graine). Notant aussi d'autres contraintes contribuant à la baisse des rendements :
 - Perturbation dans la réalisation des itinéraires techniques.
 - Le bas niveau de technicité des exploitants agricoles.
 - Semis mal effectués.
 - Façons culturales non appropriées ((Sayoud et Benbelkacem, 1996 ; Feliachi, 2000 ; Kheyaret *al.*, 2007).

B- Contraintes biotique :

Les pertes causées par les ennemis du blé que ce soit lors de la récolte ou lors du stockage est voisine de 30% (Feliachi, 2002). Cette dépréciation est le résultat de l'existence de plusieurs bio agresseurs tels :

- Les adventices : elles engendrent des chutes de rendement allant jusqu'à 30% de la production potentielle (Azizi, 1993).
- Les ravageurs : les plus connus en Algérie ; les pucerons (*Aphis* sp) (Haddadi, 1999) ; la punaise des céréales (taghlit, 1986).
- Les nématodes : comme l' *Heterodera avenae* (Harrouche, 1998).
- Les champignons, bactéries et virus:

Quelques exemples des principales maladies du blé en Algérie :

- La fonte de semis :

Plusieurs champignons sont des agents responsables des fontes de semis chez le blé. Parmi ces champignons: *Septorianodrum* (Berk) Berk., *Fusarium* spp., *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels et Hallett (Aouali et Douici-Khalfi, 2009., Zillinsky, 1983., Weise, 1987., Simon et al., 1989)

- Le charbon du blé :

Il est provoqué par *Ustilago tritici* ou *Ustilago hordei* (Oufroukh et Hamadi, 1993).

- La carie commune :

Les agents responsables se sont des basidiomycètes et pathogènes obligatoires transmis par les semences ou sol, il faut citer : *Tilletia caries* et *T. Foetida* (Hamadache, 2013).

- Les rouilles :

La rouille brune due à *Puccinia triticina*, se déclare entre l'épiaison et la fin de la floraison. Elle se présente sous forme de macules brunes arrondies sur les feuilles. La rouille noire due à *P. graminis*, est observée après la moisson sur les pailles, sous forme de pustules très allongées contenant des spores (Dupont, 1982)

- Mosaïque du blé :

Les deux agents de la mosaïque sont nommés l'un VMB (virus de la mosaïque du blé) et l'autre VMJB (virus de la mosaïque jaune du blé), tous deux sont transmis par le champignon du sol *Polymyxagraminus*. Parfois ces deux virus sont présents simultanément dans la même parcelle. La parade à ces deux maladies est l'utilisation de variétés résistantes (Hariri, 1999).

- Les bactéries :

Comme les : *Xanthomonasviridiflava*, *Pseudomonas syringuepv. Atrofaciens* (Boukhris, 1992 ; Djebari, 2005).

II- Lafusariose :

1- Importance économique :

La fusariose a été décrite pour la première fois en 1884 en Angleterre. Depuis, la fusariose a progressé à travers le monde et de récentes épidémies ont été rapportées en Asie, au Canada, en Europe et en Amérique (Goswami et Kistler, 2004).

La fusariose peut infester de nombreuses plantes ayant un fort intérêt économique, ce qui peut entraîner de lourdes conséquences financières. Le centre international pour l'amélioration du maïs et du blé ("International Maize and WheatImprovement Center, CIMMYT") a identifié la fusariose comme un facteur majeur limitant la production de blé dans de nombreuses parties du monde (Goswami et Kistler, 2004). Les pertes causées par la fusariose sont difficiles à chiffrer à l'échelle du globe. De 1998 à 2000, ces pertes ont cependant pu être estimées à près de 2,7 milliards de dollars considérant seulement les états du centre et du nord des Etats-Unis (Wood, 2002).

2- Les symptômes :

les fusarioses peuvent attaquer tous les organes du blé et à tous les stades de développement, depuis les racines jusqu'aux épis, engendrant trois types de maladies les fusariose de collet, la fusariose de l'épi et fusariose de semences (Parry et *al.*, 1995).

a- Sur racines :

Les symptômes racinaires se présentent sous forme de plages brunes en pourriture humide de quelques millimètres à quelques centimètres de longueur. On peut véritablement les observer qu'en lavant les racines. Les symptômes sur les racines sont peu souvent remarqués car ils ne manifestent rien de particulier sur feuillage ou alors, très précocement des manques à la levée ou des fontes de semis (Caron, 1993., Sayoud et *al.*, 1999).

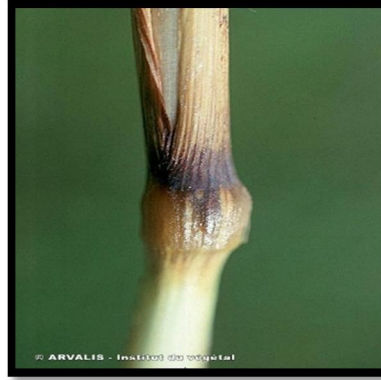


<http://www.omafra.gov>

Figure 02 : Pourriture racinaire.

b- Sur tige et nœud :

La fusariose de la tige présente un brunissement diffus qui peut progressivement se généraliser sur une grande partie de la tige. Absence de stroma ou de plaque mycélienne. Le plus souvent, un anneau brun violacé est observé sur les nœuds (Bouas et *al.*, 2012).



(<http://www.fiches.arvalis-infos.fr>)

Figure03 :Symptômes sur les nœuds.



(<http://www.fiches.arvalis-infos.fr>)

Figure 04 : symptômes sur tiges.

c- Sur épi :

Les symptômes sont très visibles dans le champ car ils se manifestent par un blanchiment prématuré d'une partie ou de la totalité de l'épi. Les premiers symptômes apparaissent souvent au centre de l'épi d'où ils progressent ensuite vers le haut et vers le bas. La maladie se développe et se propage parfois très rapidement et peut affecter la totalité de l'épi. Les graines fusariées sont blanches, roses ou en partie noirâtres, d'aspect duveteux, avec une amande souvent dégradée (Martin, 2004).



(Martin, 2004)

Figure 05 : Fusariose sur épis



(Martin, 2004)

Figure 06 : Graines de blé endommagés par le *Fusarium*; à gauche – grains sains; au centre – grains momifiés; à droite – grains infectés teintés

d- Sur feuilles :

Ces symptômes sont assez rares, on les trouve plus spécifiquement sur les blés durs plus sensibles à *M. nivale* (Caron, 1993 ; Mascher et *al.*, 2005).

3- L'agent causal de la fusariose « *Fusarium* spp. » :

3-1- Etiologie :

C'est en 1809 que Link décrit le genre *Fusarium* pour la première fois. Le genre *Fusarium* tient son nom du latin *Fusus*, car ses spores sont en forme de fuseau. La fusariose de l'épi peut être causée par une vingtaine d'espèces du genre *Fusarium* et une espèce du genre *Microdochium* (Arseniuk et al., 1999). Parmi ces espèces, cinq sont principalement responsables de la fusariose, il s'agit de *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae* et *Microdochium nivale* (Parry et al., 1995). La distribution et la prédominance de ces espèces pathogènes sont, pour une grande part, déterminées par l'espèce céréalière, la région et les conditions climatiques (Xu, 2003).

3-2- Classification classique :

A- L'anamorphe :

C'est la forme imparfaite des champignons dont la reproduction asexuée est connue.

La multiplication asexuée fait intervenir des conidies de formes et d'organisations très variées. Dans la classification conservant la division des Deuteromycota, le genre *Fusarium* doit être placé dans :

Classe :Hyphomycètes, thalle filamenteux septé.

Ordre :Tuberculariales, présence de sporodochies.

Famille :Tuberculariaceae :seule famille de l'ordre (Botton et al., 1985)

B- Les téléomorphes :

C'est la forme parfaite des champignons dont la reproduction sexuée est connue. Les téléomorphes de *Fusarium* sont des Hypocréales appartenant à la sous-division des Ascomycotina.

Classe :Hymenascomycètes, présence d'un ascocarpe avec couche fertile.

Ordre :Hypocréales.

Sous-classe :Pyrenomycetideae, l'ascocarpe est un périthèce.

Famille :Hypocreaceae, ascospores non filiformes multiseptées (Botton et al., 1985).

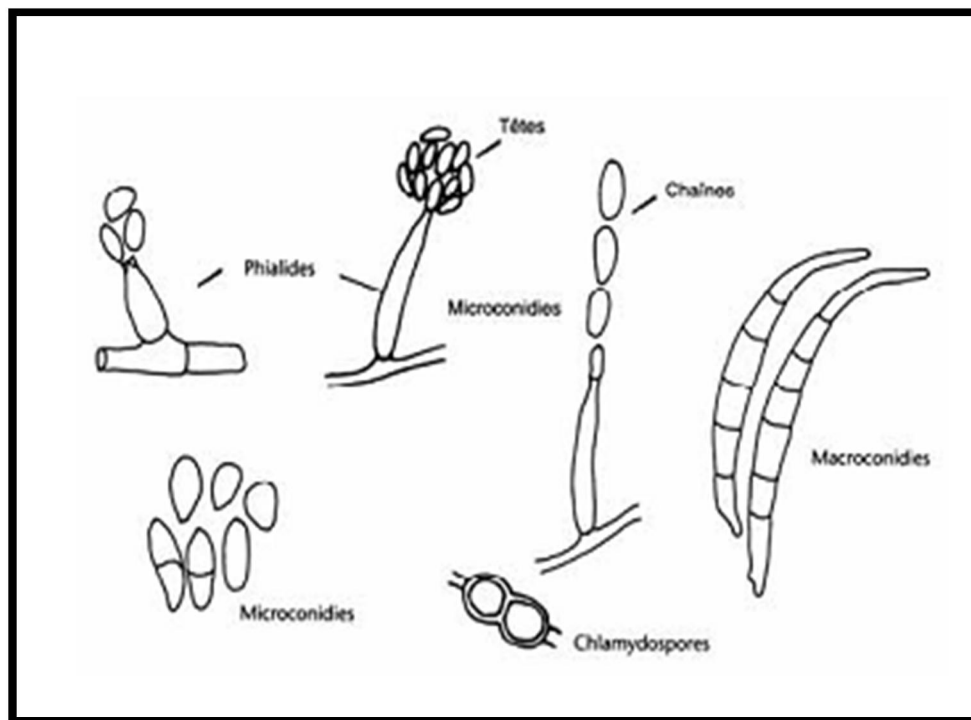
Les formes parfaites de *Fusarium* sont : - *Gibberella* Sacco - *Nectria* (Fr)

3-3- Caractères cultureux généraux :

Les *Fusarium* poussent sur milieu Sabouraud, mais se développent mieux sur gélose au malt ou sur milieu PDA (potato-dextrose-agar). Leur température optimale de croissance est comprise entre 22 et 37°C. Sur les milieux de culture, les *Fusarium* forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur variable (blanche, crème, jaune, rose, rouge, violette ou lilas) selon les espèces. Le revers peut être crème, rouge à pourpre, lilas ou violet. Les pigments diffusent souvent dans la gélose (Chermette et Bussieras, 1993).

3-4- Morphologie microscopique :

Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées (le nom de *Fusarium* vient du latin « fusus » car les spores de ces moisissures sont en forme de fuseau). Dans la (figure 07) sont présentés les principaux caractères morphologiques de genre *Fusarium*. Les conidiophores, parfois très ramifiés, forment sur le thalle des coussinets (sporodochies) et portent des masses de spores (Chermette et Bussieras, 1993).



(Roquebert, 1998)

Figure 07 : Caractères morphologiques des *Fusarium*.

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

- Microconidies : uni- ou bicellulaires, piriformes, fusiformes, cylindriques ou ovoïdes, isolées, solitaires ou groupées, disposées en verticille ou plus rarement en chaînettes (*F. verticilloides*).
- macroconidies : conidies pluricellulaires à cloisons seulement transversales, souvent groupées en paquets. Les macroconidies sont fusiformes, souvent courbées, avec une cellule basale pédicellée, formant un sort de talon plus ou moins visible. Les chlamydospores, sont parfois présentes, en position terminale ou intercalaire (Roquebert, 1998).

3-5- Principales espèces de *Fusarium* :

Compte tenu de leur fréquence dans les différents substrats, notamment les céréales, de leur potentiel toxigène et de leur pouvoir pathogène, les principales espèces de *Fusarium* sont : *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. oxysporum* et *F. verticilloides*.

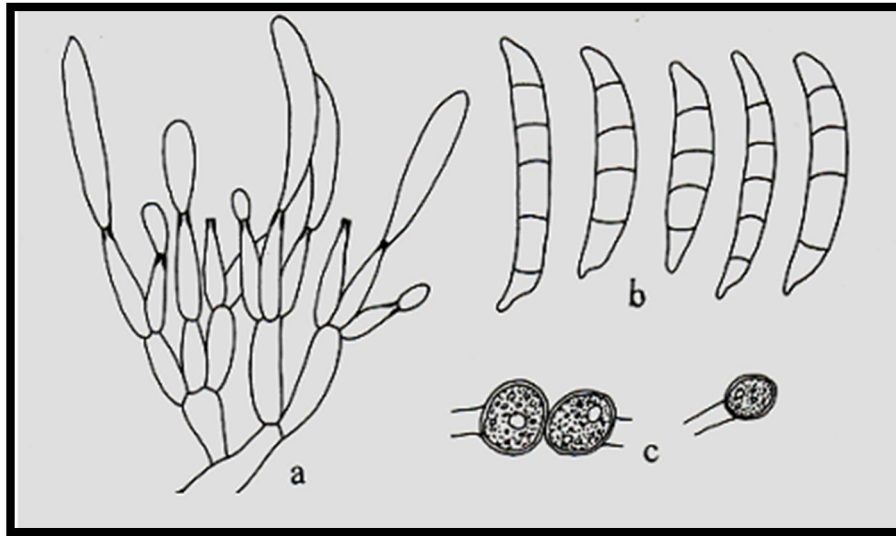
A- *Fusariumculmorum* :

- Caractères culturaux:

Cette moisissure pousse rapidement sur géloses PDA et au malt. Les colonies sont duveteuses, d'abord blanches à jaunâtres ou roses puis ocracées à rouges brunâtre. Le revers est rouge à pourpre.

- Morphologie microscopique:

Les phialides, courtes et larges, formées sur le mycélium aérien, sont groupées en sporodochies. Les microconidies sont absentes. Les macroconidies sont fusiformes, courbées et septées (5 cloisons en moyenne, 3-8). La cellule apicale est courte et pointue (26-50 x 4-7 μm). Les chlamydospores, intercalaires ou terminales, formées par le mycélium ou par les conidies, sont sub-globuleuses, brunâtres, lisses ou verruqueuses (9-14 μm de diamètre). Dans la (figure 08) sont présentés les principaux caractères morphologiques de *Fusariumculmorum*.



(Tabuc, 2007)

Figure 08 : *Fusariumculmorum* Caractères morphologiques: a: macrophialides et macroconidies; b: macroconidies; c: chlamydozoospores.

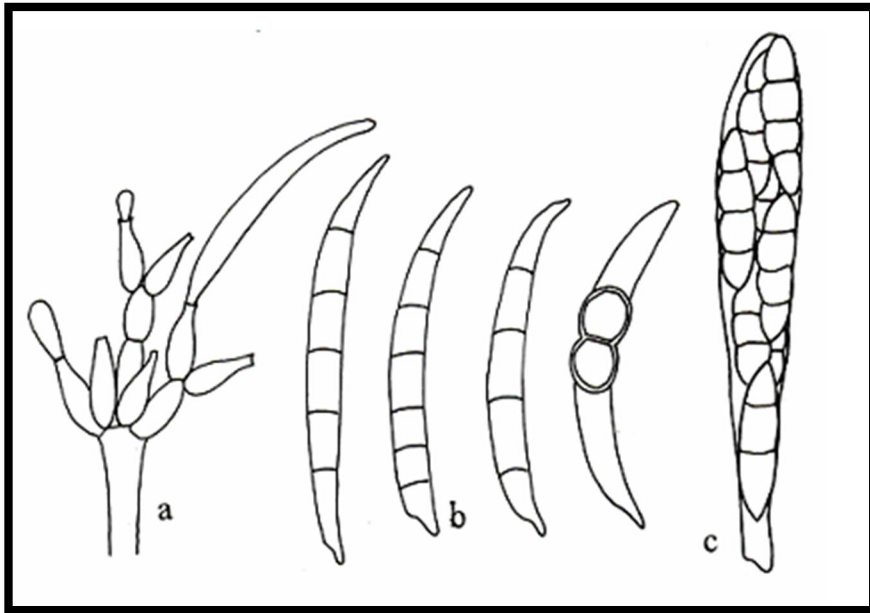
B- *Fusariumgraminearum* (forme parfaite: *Gibberellazeae*) :

- Caractères culturaux:

Ce champignon se développe vite sur les géloses PDA et au malt. Les colonies, floconneuses, sont au début roses grisâtres ou rouges à pourpres, puis deviennent brun vineux. Le revers est rouge à pourpre. Le pigment diffuse dans la gélose.

- Morphologie microscopique:

Les phialides (10-14 x 3,5-5 μm) peuvent s'agréger en sporodochies. Les microconidies sont absentes. Les macroconidies sont fusiformes, courbées, et présentent 3 à 7 septum. La cellule terminale est longue et pointue (25-62 x 2,5-5 μm). Les chlamydozoospores, intercalaires, formées par le mycélium rarement dans les conidies, sont globuleuses, hyalines à brun pâle (8-12 μm en diamètre) (figure 09).



(Tabuc, 2007)

Figure 09 : *Fusariumgraminearum* (culture de 7 jours sur milieu PDA à 25°C et caractères microscopiques: a: macrophialides et macroconidies; b: macroconidies; c: asque octosporé).

3-6- Le cycle de vie du *Fusarium* :

a- L'inoculum primaire :

Pendant l'hiver et tout au long du cycle cultural, les agents pathogènes responsables de la fusariose des épis survivent dans le sol sous forme de chlamydospores (Bai etShaner, 1994).L'inoculum est formé principalement de macroconidies ou microconidies (phases télomorphes *Fusarium* et *Microdochium*) et d'ascospores (phases anamorphes *Gibberella* et *Monographella*) qui sont produites en conditions humides et chaudes (Xu et *al.*, 2005 ; Bai etShaner, 1994).Les ascospores et les conidies sont dispersés par le vent (Fernando et *al.*,1997) ou par splashing (dispersion par la pluie de feuille en feuille).

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

- Les résidus de culture infectés l'année précédente (source principale) :

en particulier les tissus qui se dégradent plus difficilement comme les nœuds (Champeil et *al.*, 2004 ; Osborne et Stein, 2007).La survie des champignons sur résidus peut atteindre plus de 2 ans après récolte ce qui les classe en « source à long terme ».

Lorsque les résidus restent en surface, la survie de l'inoculum est plus longue (Pereyra et *al.*, 2004 ; Audenaert et *al.*, 2009).Les précédents culturaux les plus à risque

sont les cultures hôtes de la fusariose comme le maïs, le blé et l'orge. Dans la partie plus profonde du sol, seules les chlamydospores peuvent subsister jusqu'à quatre ans ; ces spores ont une vie ralentie et une paroi épaisse leur permettant de résister longtemps à la sécheresse et l'asphyxie (Caron, 1993).

- Les semences infectées :

Lors des infections sur épi, le mycélium attaque les graines à travers les glumes, pénètre dans le péricarpe, l'albumen, voire l'embryon. Cette source inoculum permet à la maladie de se développer dès l'automne. Pendant la germination, le mycélium reprend son activité et, selon le degré de pénétration initial, il ralentit ou inhibe la germination, entraînant des manques à la levée et la fonte des semis (Xu et Nicholson, 2009).

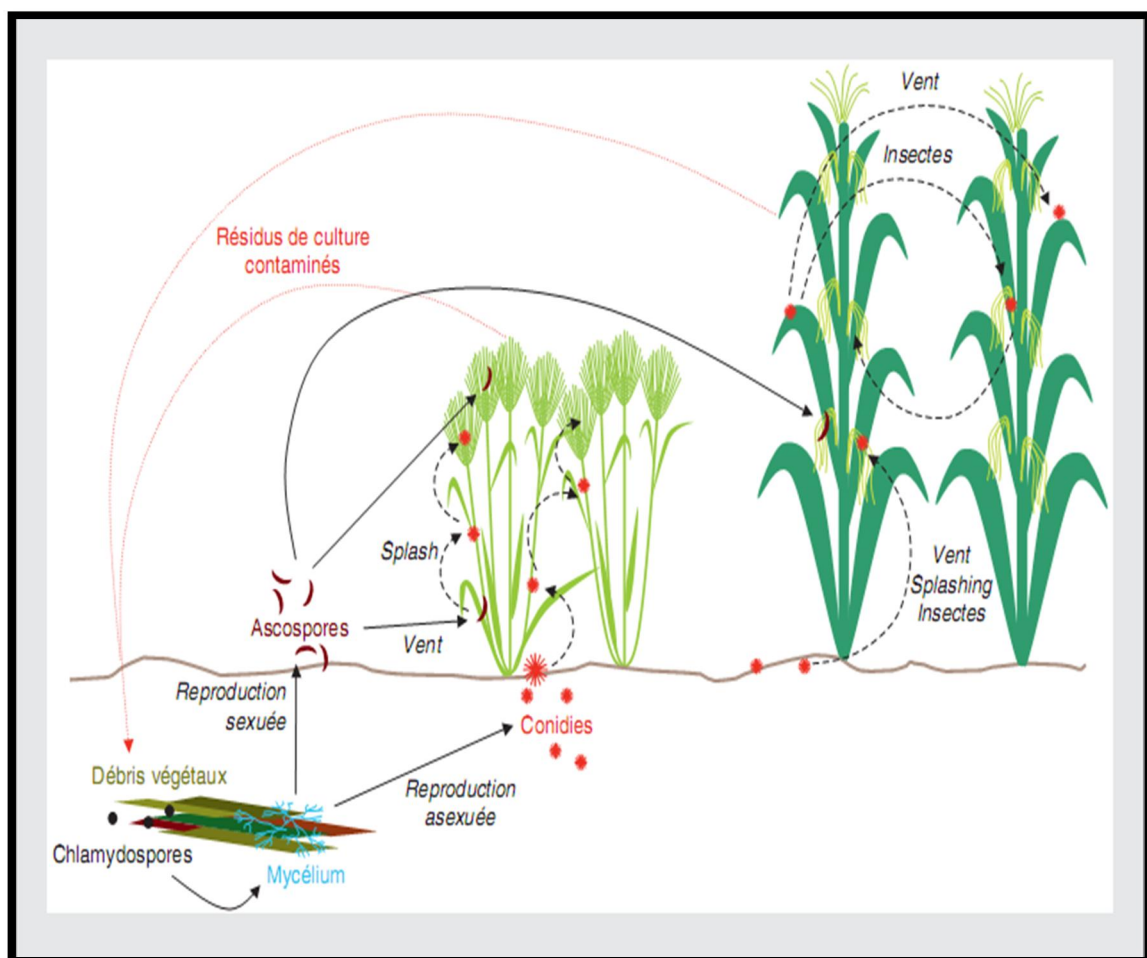
La maturation des spores dépend des interactions avec les facteurs de l'environnement ; elle est favorisée par l'humidité, la chaleur et la lumière (Guenther et Trail, 2005) et freinée par la sécheresse et le froid de l'hiver (Champeil et al., 2004). Les spores germent ensuite en surface des tissus de l'hôte lorsque les conditions y sont favorables. Ces conditions regroupent une forte humidité (>90%) pendant 48 à 72h en conditions contrôlées et 4 à 5 jours en conditions naturelles, et des températures comprises entre 15°C et 30°C (Bai et Shaner, 1994)

b- Initiation de la maladie et développement du *Fusarium* :

La fusariose de l'épi de blé est donc initiée par le dépôt de spores matures sur des épis de blé en fleur. Ces spores germent, colonisent les anthères extrudées, généralement dans la partie médiane de l'épi, où commence la floraison et où l'humidité est supérieure à celle des autres épillets (Leonard et Bushnell, 2003). Ils entrent dans la fleur et se développent afin de rejoindre la graine en formation, les bractées florales et le rachis. La pénétration dans l'épi peut également avoir lieu en surface des glumes ou via des ouvertures naturelles (stomates, blessures, base de l'épillet) (Brown et al., 2010 ; Champeil et al., 2004).

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

front de progression, les hyphes progressent dans les tissus vivants de l'hôte de façon radiale et induisent une colonisation intracellulaire et nécrotrophique des cellules de l'hôte. Ceci se traduit par l'apparition des premiers symptômes de décoloration 2 à 4 jours après l'infection. Les symptômes de nécrose peuvent également être associés à des tâches brunes des glumes et rachis (Christ et *al.*, 2011). Le pathogène circule via le rachis et colonise préférentiellement les épis adjacents et plutôt inférieurs à l'infection (Argyris et *al.*, 2005). Des spores sexuées et asexuées peuvent ensuite être produites à la surface des plantes infectées ou des résidus de culture lorsque l'humidité est élevée (Vogelgsang et *al.*, 2008 ; Bai et Shaner, 1994).



(Broydé et Doré., 2013)

Figure 10 : Cycle de vie des champignons phytopathogènes de type *Fusarium*.

III- Les mycotoxines :

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par certains champignons microscopiques (Prandini et *al.*, 2009). Elles peuvent être produites avant la récolte dans les épis et donc retrouvées dans les grains, pendant le transport et le stockage des céréales. Elles diffusent dans le substrat qu'elles contaminent même après la destruction du champignon responsable de leur production. Peu labiles, elles sont souvent actives à très faibles doses, thermostables, stables dans le temps et résistantes aux traitements biologiques et aux processus de transformation. Ainsi, lorsqu'elles sont présentes dans la graine, on les retrouve tout au long de la chaîne alimentaire.

1- Trichothécènes :

Les fusariotoxines produites par les *Fusarium* sont des Trichothécènes. Ce sont des inhibiteurs de synthèse protéique des cellules eucaryotes (Cumagun et *al.*, 2004) et de l'activation des gènes de défense de la plante (Wagacha et Muthomi, 2007). Par ce fait, les trichothécènes sont responsables d'effets indésirables sur la santé humaine ou animale en cas de consommation d'aliments contaminés et peuvent ainsi provoquer une grande variabilité de symptômes comme des altérations du foie, des reins, du système nerveux central, des dérèglements hormonaux ou encore une réduction des défenses immunitaires (Prandini et *al.*, 2009).

2- Le rôle des TCTB dans le développement de la fusariose:

Différents niveaux de pathogénicité ont été observés chez différentes espèces de *Fusarium* et entre différentes souches au sein d'une même espèce. Les mécanismes moléculaires impliqués dans la pathogénicité de *F. graminearum* sont complexes et encore mal identifiés. Chez le blé, il est clairement démontré que la production de trichothécènes n'est pas nécessaire pour l'infection initiale mais que la toxine est nécessaire pour permettre au champignon de coloniser les épillets voisins (Jansen, von Wettstein et al. 2005). En effet, lorsqu'un mutant *F. graminearum* délété pour le gène Tri5 ne produisant pas de TCTB a été inoculé sur blé, les auteurs ont pu constater la formation d'une cal entre l'épillet infecté et le rachis, bloquant ainsi la progression du champignon vers les épillets annexes. L'inoculation avec une souche sauvage produisant des TCTB n'a pas donné lieu à de quelconques callosités et a ainsi permis au mycélium d'infecter l'épi. (Ilgen, Hadelier et al. 2009) ont montré par la suite que la production de DON est tissu-spécifique et que c'est au niveau du nœud rachidien que la production de DON serait maximale. La production de

DON augmenterait l'agressivité du champignon en inhibant le mécanisme de défense de la plante et en réduisant les barrières telles que la formation de cal entre l'épillet et le rachis.

3- Méthodes 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 physico-chimiques qui sont généralement basées sur la chromatographie. Il existe un grand nombre de modes de chromatographie dont la classification a été faite en fonction des mécanismes de séparation. Les facteurs qui interviennent dans le partage des molécules à séparer entre les phases fixe et mobile sont : la solubilité dans un solvant liquide, la taille, la polarité, la charge électrique, la présence de groupements d'atomes formant des sites particuliers. Parmi les techniques de chromatographie, il existe : La chromatographie liquide haute performance (HPLC) (Desjardins et *al.*, 2000 ; Ponts et *al.*, 2006 ; Wang et *al.*, 2008), la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS) (Kim et *al.*, 2003; Lorens et *al.*, 2006 ; Milanez et *al.*, 2006 ; Perkowski et *al.*, 2008) et La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique d'analyse qualitative de séparation des différentes substances d'un mélange (Frayssinet et Frémy, 1991).

IV- Les moyens de lutte contre le *Fusarium* :

Différents moyens de lutte existent, cependant la prévention reste la meilleure arme contre les épidémies de fusariose en champ.

1- Pratiques culturales :

- Effectuer une rotation des cultures afin de couper le cycle de la fusariose avec une culture à feuilles larges tel le soya ou le canola.
- Si la rotation est impossible, enfouir les résidus avec un labour afin de réduire l'inoculum.
- Semer hâtivement afin que la floraison ne soit pas synchronisée avec le développement des spores, ce qui pourrait diminuer les risques d'infection.
- Récolter à la maturité et maintenir une récolte sèche. Il est recommandé de récolter sans tarder à la maturité ou un peu avant dans le cas du blé (entre 14 % et 19 % d'humidité) et d'abaisser par la suite la teneur en eau des graines à moins de 14 %.

Il est donc important de sécher ou de ventiler adéquatement la récolte afin de maintenir une humidité adéquate pendant toute la période de l'entreposage.

- Ajuster la ventilation de la batteuse de façon à ce que les graines fusariées, qui sont plus petits que les graines sains, ne soient pas conservés.
- Choisir plusieurs cultivars avec des dates de floraison et de maturité différentes si la superficie en céréales est grande (Côté et *al.*, 2012).

2- Choix des cultivars :

- Choisir un cultivar peu sensible à la fusariose. Les cultivars sont classés selon une cote de sensibilité allant de 1 (peu sensible) à 9 (extrêmement sensible). Il est préférable de choisir un cultivar ayant une cote de sensibilité le plus près possible de 1.
- Choisir un cultivar peu sensible à la verse car l'environnement autour des épis versés est plus humide et par conséquent plus propice au développement du champignon (Côté et *al.*, 2012).

3- Utilisation des fongicides :

De nombreux fongicides sont disponibles pour lutter contre les champignons. Pour empêcher la fonte des semis des céréales, les cémenciers enrobent, lors du conditionnement, les graines de fongicide (captane ou thirame), La graine bénéficie alors d'une protection lors de la germination ainsi que lors du début de la croissance de la plantule (Hatsch, 2004).

4- Moyens de lutte biologique :

De nombreux agents de bio-contrôle sont actuellement disponibles dans le commerce. Le principe repose sur l'hyper-parasitisme. Certains champignons sont des parasites d'autres champignons. C'est le cas pour de nombreuses espèces du genre *Trichoderma*. *T. harzianum* a été décrit comme capable de contrôler les pathologies induites par *F. oxysporum* sur le bananier (Thangavelu et *al.*, 2004).

Matériel et méthodes :

1- Matériel :

1-1- Matériel végétal :

La variété de blé dur (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*) Vitron a été choisie pour l'étude, dans le test de pathogénie du fait de sa sensibilité à la Fusariose. Des graines matures de blé de cette variété nous ont été fournies par le CNCC d'Alger.

Cinq échantillons de semences de différentes régions ont servi aux isollements, ils ont été récoltés de la région de Laghouat et une variété de blé nous a été fournie de l'ITGC de Sétif .

Le (tableau 02) Nous renseigne sur les différents échantillons, leurs provenances et l'année de récolte.

Tableau 02 : Liste des lots de grains de blé analysés

Code	Espèce	Nom de la variété	Région géographique	Année de récolte
BD2	Blé dur	Vitron	Khneg	2012
BD7	Blé dur	Vitron	Assafia	2012
BD6	Blé dur	Inconnu	Ksar elhiran	2012
BD12	Blé dur	Vitron	Sétif	2013
BD1	Blé dur	vitron	CNCC Alger	2012

1-2- Matériel fongique :

Quatre isolats de *Fusarium* ont été utilisés au cours de cette étude (tableau 03). Ils proviennent de la collection du laboratoire de Mycologie du département d'Agronomie. D'autres isolats de *Fusarium* ont été isolés au cours de ce travail de mémoire. Tous ces isolats Fusariens utilisés sont conservés à 4°C en tubes de PDA inclinés.

Tableau 03 : Liste des isolats de *Fusarium*

N° d'isolat	Espèce	Code expérimentale	Variété	Organe	Année d'isolement
01	<i>Fusarium culmorum</i>	BT11	Anza	Epis	2011
02	<i>Fusarium poae</i>	VD13	Vitron	Grains	2013
03	<i>Fusarium graminearum</i>	R ₂ 14	Ligné	Grains	2014
04	<i>Fusarium culmorum</i>	BD06	vitron	épi	2006

2- La Méthode de travail :

2-1- Méthodes d'isolement :

2-1-1- Echantillonnage :

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

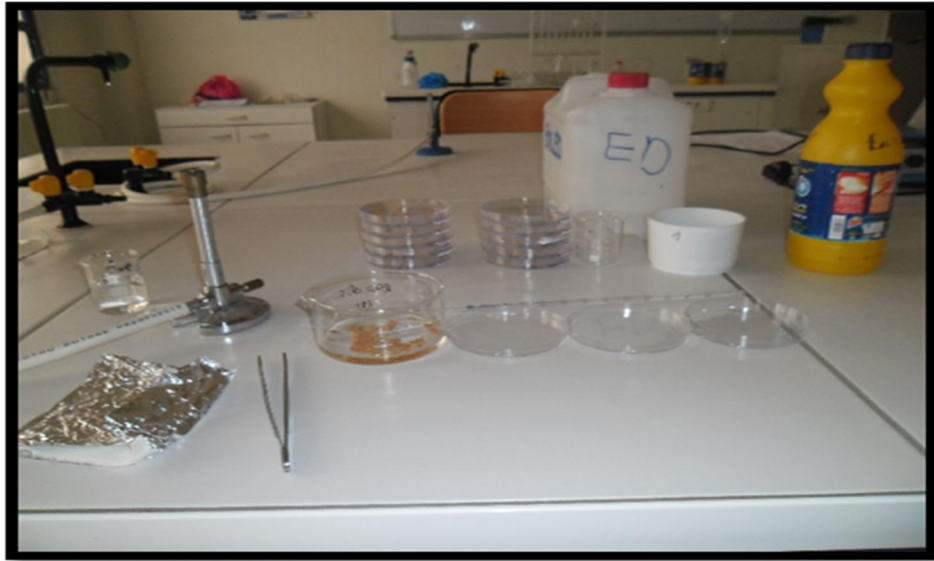
L'analyse d'un échantillon des graines reçu au laboratoire s'effectuera sur un sous échantillonnage représentatif. Ces graines sont prélevés aléatoirement (LNPV, 2008).

2-1-2- Désinfection des semences :

L'objectif de la stérilisation de surface des grains est d'éliminer toutes les pollutions externes d'origines fongiques ou bactériennes.

Les manipulations décrites sont à réaliser au laboratoire. Après leur désinfection de surface au minimum, 100 grains seront analysés pour la détection et l'identification des différentes espèces de *Fusarium*spp.

Les échantillons à désinfecté par l'hypochlorite de sodium dilué à 2% pendant 10 minutes, suivie d'un rinçage dans 3 bains successifs d'eau distillée stérile pendant 5 minutes chacun, puis sont séchés entre deux feuilles de papier filtre stérile (LNPV, 2008).



(Original 2014)

Figure 11 : Matériel de la désinfection.

2-1-3- Isolement :

Parmi les grains parfaitement séchés, au minimum 100 grains sont prélevés et placés directement sur le milieu de culture DCPA à raison de 10 graines par boîte de Pétri, les boîtes de Pétri sont incubées 10 à 12 jours dans une étuve à une température de 25-26°C en alternance éclairage obscurité 12h /12h.

Après 10 à 12 jours d'incubation, les *Fusarium* spp. Infectant les graines se sont bien développés sur le milieu semi-sélectif DCPA. Les cultures qui s'y développent apparaissent généralement blanches à roses très pâle, car ce milieu inhibe significativement la production de pigments par les champignons qui parviennent à s'y développer.



(Original 2014)

Figure 12 : Grainesensemencées sur DCPA.

2-1-4- méthode de purification :

Dans cette méthode nous avons utilisé deux techniques le repiquage successif et la monospore par scarification.

a- Repiquage successif :

Après 3-4 jours de incubation des boites de Pétri, nous observons l'apparition et le développement de plusieurs colonies de mycélium (*Fusarium spp*) de couleur différente (blanche à rose, jaune), ces dernières sont transférées sur le milieu PDA.

Le repiquage successif permet d'obtenir des cultures pures.

b- La culture Monospore par scarification :

Cette technique a pour objectif d'isoler une seul spore.

Le mode opératoire consiste à mettre un morceau d'implant de l'échantillon dans un flacon contenant 6 ml d'eau distillée; après agitation au vortex, à l'aide d'une anse nous avons prélevé un peu de milieu puis nous l'avons étalé sur un coté de la boite en faisant des allées et retour «scarification ». Après avoir flambé l'anse, nous avons prélevé à nouveau et scarifié un autre côté de la boite.

Les boites sont ensuite incubées dans l'incubateur à une température 25°C. Après 24 heures d'incubation, lorsque les spores commencent à émettre des tubes germinatifs, un prélèvement monosporal repiqués en boite pétri contenant du PDA. Après 7 à 10 jours d'incubation, les colonies sont pures.

2-1-5- L'identification :

La détermination microbiologique de l'espèce d'un isolat de *Fusariumspp* repose sur l'observation de nombreuses caractéristiques morphologiques sur des milieux de culture bien définis. Lorsque toutes les informations présentées ci-dessous sont recueillies, l'identification pourra être réalisée en utilisant les clés d'identification. (Champignon,1997 ; Leyral et *al.*,1997 ;Leslie et Summerell,2006).

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

2-1-6- La conservation du *Fusarium* :

Les champignons, une fois purifiés, sont conservés en tubes sur des milieux courants tels que le milieu PDA (Botton et *al.*, 1990). Il est prudent d'utiliser un système rationnel d'étiquetage de façon à ce que chaque isolat, tout en étant désigné par un minimum de signe, puisse être identifié sans ambiguïté (Davet et *al.*, 1997).

Une fois repiqués dans les tubes inclinés sont incubés à température ambiante pendant 7 jours et conservés à $4 \pm 1^\circ\text{C}$ (Bensmira, 2006). Les isolats doivent être repiqués tous les 6 mois (Botton et *al.*, 1990).

3- Pathogénie et agressivité des espèces de *Fusarium* :

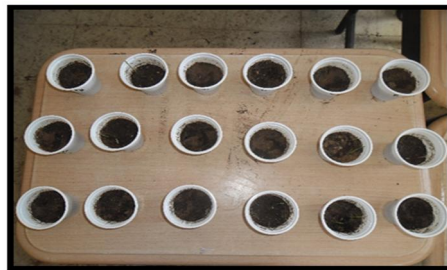
Un test d'inoculation sous serre a été effectué dans le but d'étudier la pathogénie des principales espèces isolées entre elles, et d'étudier l'agressivité de cinq espèces de *Fusarium* par deux inoculations artificielles réalisées dans deux stades végétatifs différents :

- La première inoculation au stade trois feuilles.
- La deuxième inoculation au stade floraison.

3-1- Inoculation au stade trois feuilles:

les semences ont été placées à une profondeur de 2 cm, dans des pots en plastiques (6 cm de diamètre), remplis avec un mélange stérile de sable, tourbe et de terreau (1 : 1 : 1 v/v/v), à raison de 3 semences par pot. Le dispositif expérimental est de type randomisation totale.

L'essai a été réalisé au laboratoire sous une photopériode de 14 h et une température de 21 à 25 °C. L'irrigation a été faite régulièrement suivant les besoins des plantes.



(Original 2014)

Figure 13 : Dispositif de la 1^{ère} inoculation par fragment mycélien au stade trois feuilles.

L'inoculum a été préparé à partir de cultures pures développées sur milieu PDA additionné de chloramphénicol(2%) à l'obscurité et à 25 °C. Après 5 jours d'incubation, un fragment de 1 cm² a été découpé à partir des colonies de champignons développés, et déposé adjacent à la plantule au niveau du collet. Des plantules inoculées par des fragments de PDA, ne contenant pas de champignon, ont été utilisées comme témoin négatif.

a- Notation des symptômes :

Trois semaines après l'inoculation, les plantes inoculées ainsi que les plantes témoins ont été soigneusement arrachées et les racines ont été lavées sous le robinet. Ensuite, les symptômes caractérisés par un brunissement au niveau du collet ont été évalués selon une échelle d'agressivité (indice de la sévérité : IS) qui se base sur la longueur de la lésion par rapport à la longueur de la plantule (Fernandez et Chen, 2005). Cette échelle comprend les niveaux suivants :

- 00 : Plante saine.
- 01 : Moins que 25% du collet est attaqué.
- 02 : De 26% à 50% du collet est attaqué.
- 03 : De 51% à 75% du collet est attaqué.
- 04 : Plus que 76% du collet est attaqué.
- 05 : Plante morte.

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

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

3-2- Inoculation au stade floraison :

Les semences ont été placées à une profondeur de 2 cm, dans des sacs noirs en plastique pour destinée la production des plants en pépinières (15 cm de diamètre) remplis avec un mélange stérile de sable, tourbe et de terreau (1 :1 :1 v/v/v), à raison de 5 semences par pot. Le dispositif expérimental est de type randomisation totale.

L'essai a été réalisé sous serre vitrée sous une photopériode de 16 h et une température de 21 à 25 °C. L'irrigation a été faite régulièrement suivant les besoins des plantes.



(Original 2014)

Figure 14 : Dispositif de la 2^{ème} inoculation par suspension au stade floraison.

L'inoculation des épis est réalisée au stade floraison, ce dernier est atteint quand 50% des étamines sont sorties. L'inoculum préparé à partir des cultures âgées de 9 jours la concentration de la suspension de spores est ajustée à 10^6 spores/ml.



(Original 2014)

Figure 15 : Inoculum préparé.

Après humidification des épis, l'inoculation est réalisée à l'aide d'un pulvérisateur (figure16). On recouvre la partie aérienne avec un sac en plastique pour maintenir une certaine humidité relative 100% pendant 48 h, temps nécessaire à la germination des spores. Des observations quotidiennes sont réalisées pour suivre l'expression des symptômes sur les épis. La sévérité de la maladie est évaluée selon une échelle de notation globale allant de 0 à 9, sachant que 9 correspond à une sensibilité maximale et 0 à l'absence totale des symptômes (Tableau 04).



A) Inoculation des plantes



B) recouvrement des plantes par sac en plastique.

(Original 2014)

Figure 16 : Technique de l'inoculation par suspension sporal

a- La notation :

La notation des symptômes visibles sur l'épi est sans doute le critère de sélection le plus simple. Le système de notation utilisé est basé sur une échelle de 1 à 9. L'échelle de Michel (2001) utilisée dans l'institut Agroscope (Mascher et *al.*, 2005), suit une progression logarithmique ce qui facilite la saisie des notes au champ et rend la notation plus fiable.



(INRA, 2009)

Figure17 : Echelle d'évaluation de l'INRA

Tableau 04 : Echelle d'évaluation utilisée pour l'estimation de la sévérité de l'infection par *Fusarium* sur épi, Michel, (2001) (In Mascher *et al.*,2005).

Note	Part de l'épi infectée	Description des symptômes
1	0.5%	Sans symptômes
2	2.5%	Traces de symptôme, un épillet sur 10 épis montre des symptômes.
3	10%	10% des épillets de chaque épi sont infectés.
4	25%	Un quart des épillets épi sont infectés.
5	50%	La moitié des épillets d'un épi sont infectés.
6	75%	Trois quarts des épillets d'un épi sont infectés.
7	90%	10% des épillets d'un épi ne sont pas infectés.
8	97.5%	Peu d'épillets d'un épi ne sont pas infectés.
9	100%	Tous les épis sont morts.

4- Détection du potentiel toxigène de quelques isolats de *Fusarium* :

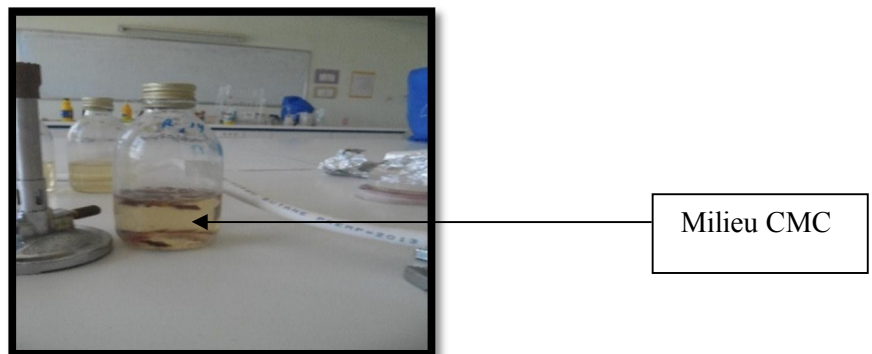
L'identification du potentiel toxigène des isolats de *Fusarium* a été basée sur une méthode physico-chimique, la chromatographie sur couches minces (CCM) qui permet de tester la pureté des composés et de séparer les constituants d'un échantillon entre deux phases selon leur différence d'affinité pour l'une ou l'autre phase.

Pour déterminer le type de trichothécènes produit et identifier les chémotypes DON et NIV des isolats de *Fusarium*, un total de trois isolats de *Fusarium* ont été pris au hasard et analysés par CCM, il s'agit de *Fusarium graminearum* et deux isolats de *Fusarium Culmorum*. Celle-ci a été réalisée en utilisant des plaques de CCM prêtes à l'emploi comportant déjà une couche de 0,25mm de gel de silice (Truckness, 1984. Ips, 1990).

Les extraits secs des isolats testés au cours de cet essai ont été extraits selon le protocole de (Boutigny,2010).

4-1- Mise en culture des isolats de *Fusarium* pour la production des spores en milieu liquide CMC :

Le milieu liquide CMC est utilisé pour donner une meilleure sporulation des *Fusarium*. Les cultures standard sont réalisées en fioles Erlenmeyer contenant 100 ml de milieu de culture liquide inoculé avec des explants de 6 mm de diamètre, prélevés d'une colonie pure de chaque souche âgée de sept jours. Les flacons hermétiquement fermés, sont incubés à 25 ± 2 °C pendant 8 jours avec une agitation permanente de 150 rpm. Après incubation, les cultures sont arrêtées par filtration sur des filtres en polyéthylène stériles.



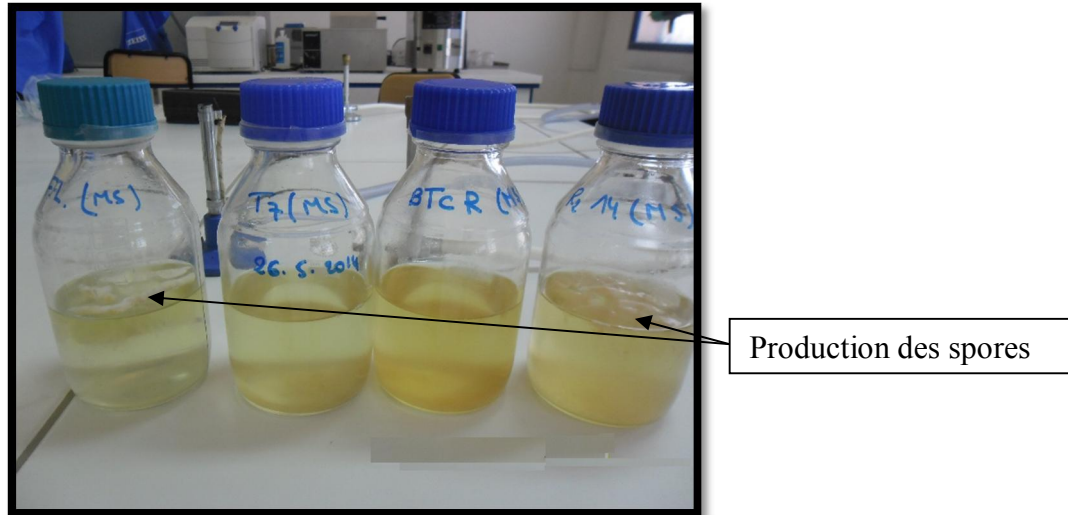
(Original 2014)

Figure 18 : Milieu CMC.

4-2- Milieu synthétique pour mycotoxines :

Un milieu de culture liquide synthétique a été mis au point pour l'étude (milieu MS : "Mycotoxin Synthetic medium). Ce milieu contient du 0,5 g/L de KH_2PO_4 , 0,6 g/L de K_2HPO_4 , 0,017 g/l de MgSO_4 , 1 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 mg/L de biotine, 20g/L de glucose, et 0,1 ml/l d'une solution de sels minéraux 50X (Vogel, 1956). Dans un premier temps, le glucose est dissout dans l'eau puis autoclavé 30 min à 105°C ; puis, les différentes solutions des autres constituants sont additionnées stérilement.

Les 100 ml de filtrat obtenus du milieu CMC sont additionnés à 200 ml de milieu MS dans des conditions stérile, sont ensuite incubés à 25 ± 2 °C pendant 5 jours pour la production des mycotoxines.

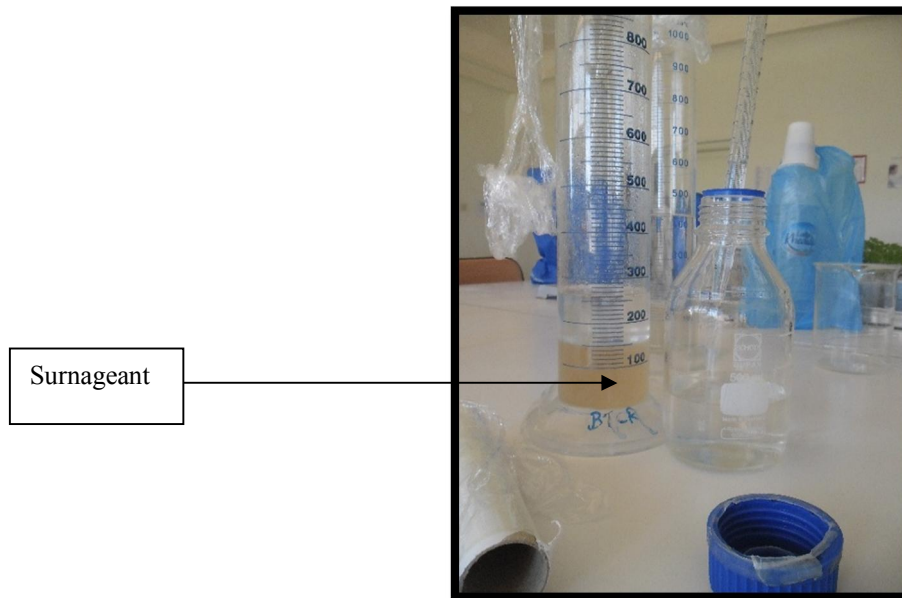


(Original 2014)

Figure 19 : Spores produite au milieu MS.

4-3- Extraction et purification des trichothécènes « TCTB » à partir du milieu de culture liquide MS :

Pour l'extraction, 300 ml d'acétate d'éthyle sont ajoutés à 150 ml de milieu MS, on vortexe pendant 1 min. Après décantation (30 min-1 h) jusqu'à l'apparition de deux phase, toute la quantité du surnageant est prélevée pour être évaporé sous vide à l'aide d'un rotavapeur. L'extrait sec est repris avec 2ml de méthanol/eau (1/1, V/V).



(Original 2014)

Figure 20 : Prélèvement de la surnageant

4-4- Analyse des trichothécènes B par CCM :

- Principe :

Le mélange est fixé sur un support appelé phase stationnaire (un gel de silice déposé en couche mince sur une plaque d'aluminium). Il est entraîné par un solvant approprié (phase mobile ou éluant) qui migre par capillarité sur la plaque. Les constituants du mélange se séparent par migration différentielle : chacun d'eux est d'autant plus entraîné par l'éluant qu'il est plus soluble dans celui-ci et moins adsorbé sur la phase stationnaire.

Après migration les taches doivent être révélées ; c'est la détection qui se fait :

Par observation à la lumière Ultra violet (UV) si la plaque de silice comporte un indicateur de fluorescence.

4-4-1- Mode opératoire :

a- Préparation de la cuve :

L'atmosphère de la cuve doit être saturée en vapeur d'éluant c.à.d. 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, et le niveau de l'éluant au fond de la cuve doit être de 5 à 8 mm.

b- Les Plaques 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 2 cm. Les dépôts seront effectués sur cette ligne, à 1cm du bord de la plaque et espacés de 1cm.

Les solutions avec lesquelles on va réaliser les dépôts doivent être des solutions diluées. Des tubes 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.

c- Révélation :

Nous avons fait une révélation aux UV qui ont permis de mettre en évidence sous forme de taches sombres des substances qui absorbent les UV, une autre méthode de révélation est utilisée, il s'agit d'une méthode chimique cependant, une coloration permet de détecter des quantités très faibles : le chlorure d'alumine, qui chauffé à 120°C pendant 7 minutes permet d'obtenir une coloration bleue fluorescente. Cette réaction est pertinente en particulier pour le DON, le NIV et la fusarénone X (Truckness M.W., 1984 ; IPCS, 1990). C'est d'ailleurs cette méthode qui a été reconnue par l'AOAC pour le DON dans le blé (IPCS, 1990). On peut atteindre avec cette méthode des limites de détection de l'ordre de 20 µg/kg dans les aliments (Kamimura, 1981).



(Original 2014)

Figure 21 : Phase de la migration.

Résultats et discussions :

1- Résultats d'isolement :

Les principales techniques d'identification de *Fusarium* sont basées sur la mise en culture du microorganisme sur des milieux sélectifs dans le but de visualiser les caractères phénotypiques qui permettent l'identification (figure 22).

Le DCPA est un milieu efficace d'isolement pour *Fusarium* au niveau des semences comme les céréales. (Tremblay et *al.*, 2012). Les colonies développées sur ce dernier ont été transférées sur milieu PDA pour l'identification.

Après l'isolement et la purification des isolats au niveau du laboratoire de phytopathologie de l'université de Laghouat, nous avons obtenu une gamme d'isolat qui est présentée dans le tableau ci-dessous (Tableau 05).



(Original 2014)

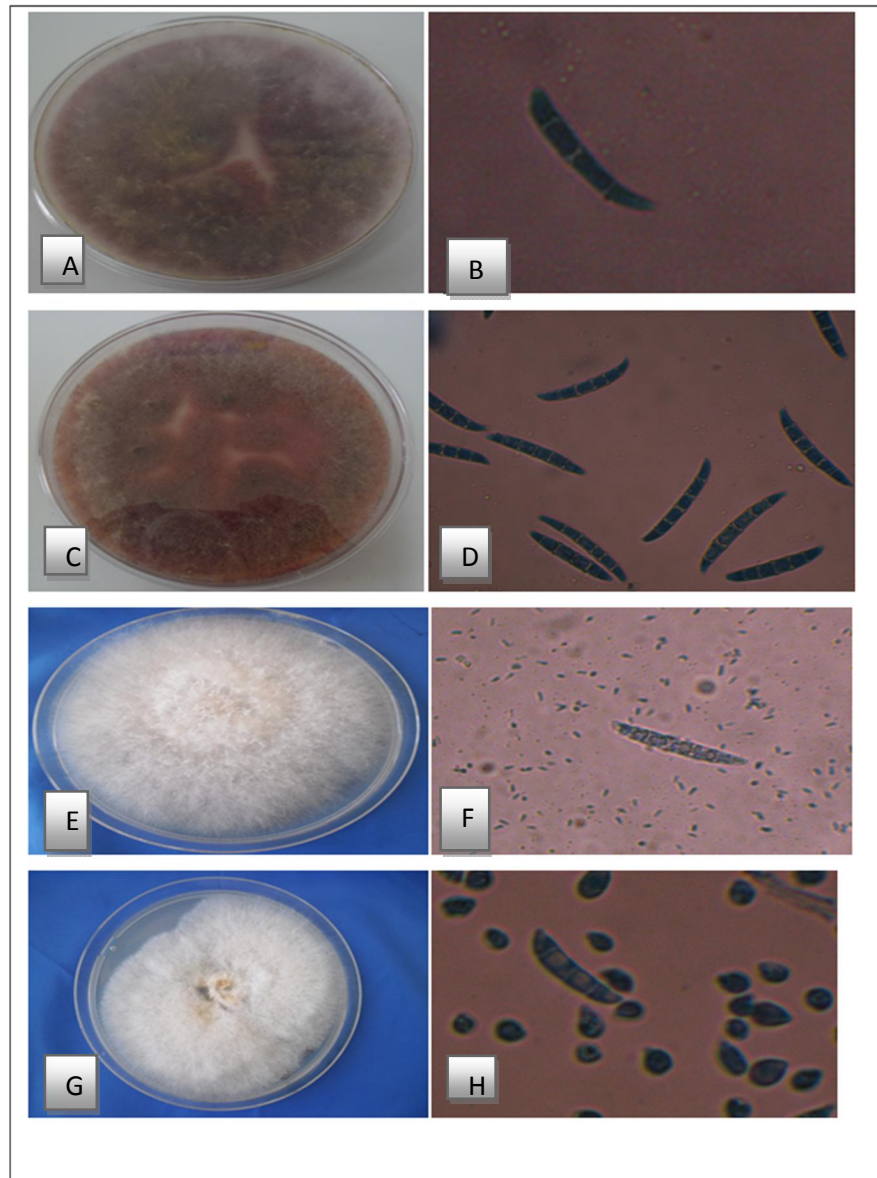
Figures 22 : Colonies de *Fusarium* sur DCPA.

Tableau 05 : La gamme d'isolats obtenus des isolements.

N° d'isolat	Espèce	Code	Variété	Origine	Année d'isolement
01	<i>Fusarium graminearum</i>	FG14	Vitron	grains	2014
02	<i>Fusarium pseudograminearum</i>	FPs14	Vitron	grains	2014
03	<i>Fusarium verticillioides</i>	FV14	Inconnu	grains	2014
04	<i>Fusarium poae</i>	FP14	Inconnu	grains	2014

Les symptômes de la fusariose de l'épi observés ont été confirmés par l'isolement des champignons et leur identification.

L'identification morphologique a montré la présence de 4 espèces fongiques à savoir: *Fusarium pseudograminearum*, *Fusarium poae*, *Fusarium verticillioides* et *Fusarium graminearum* (figure 23).



(Original 2014)

Figure 23 : Aspects morphologiques et microscopiques (G x 40) des espèces fongiques isolées à partir des grains de blé: (A) des colonies de *Fusarium Pseudograminearum* de couleur rouge et qui vire vers le marron .le mycélium est aérien, abondant., (B) macroconidies effilées, longues, étroites et arquées sur toute la longueur, les microconides absente (C) Les colonies *Fusarium graminearum*, floconneuses, sont au début roses grisâtres ou rouges à pourpres, puis deviennent brun vineux., (D) les phialides peuvent s'agréger en sporodochies les microconidies sont absentes, les macroconidies sont fusiformes, courbées (E) le thalle de *Fusarium Verticelloides*, d'abord blanc à pêche ou rose saumon, devient violet le mycélium aérien est dense, floconneux d'aspect poudreux .le revers peut être violet foncé, crème, (F) Les microconidies ellipsoïdales sont disposées en chaînes, (G) des colonies de *Fusarium poae* a mycélium aérien duveteux et abondant de couleur qui varie du rouge, blanc avec des reflets plus ou moins jaune dans sa partie aérienne et devient rouge ou jaune au contact de l'agar, (H) des macro conidies, hétérogènes et d'une taille moyenne à grande a une forme de faucille.

2- Etude de la pathogénie et de l'agressivité des espèces de *Fusarium* :

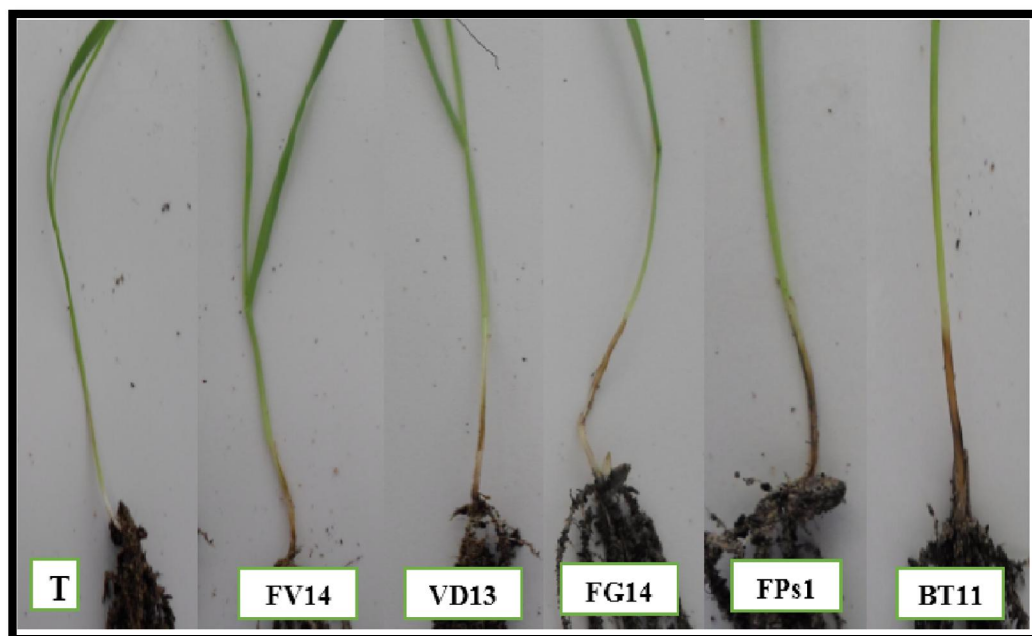
L'étude de la pathogénie et de l'agressivité de ces espèces aide à mieux comprendre l'épidémiologie du complexe fongique associé à la fusariose du blé. Plusieurs études ont été conduites sur la pathogénie et l'agressivité des espèces de *Fusarium* sur blé (Mishra et al., 2003 ; Smiley et al., 2005 ;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

Dans ce cadre, nous proposons d'étudier dans ce travail de mémoire la pathogénie et l'agressivité des espèces de genre *Fusarium* sur des plantules de blé (Vitron) en conditions contrôlées à deux stades végétatifs différents (stade trois feuilles et stade floraison) par deux méthodes d'inoculations (suspension sporale et fragment mycélien).

A ce sujet, plusieurs auteurs (Akinsanmi et al., 2004 ; Mesterházy, 1984 ; Mesterházy, 1997 ; Xue et al., 2004) ont insisté sur le fait d'utiliser une combinaison d'isolats pour évaluer la sensibilité.

2-1- résultat d'inoculation à stade trois feuilles :

Les résultats ont montré qu'indépendamment des techniques d'inoculation, tous les isolats ont induit une décoloration au niveau du collet (Figure 24), alors que les plantules témoins n'ont pas montré de symptômes d'attaque.



(Original 2014)

Figure 24 : Indice de sévérité des cinq isolats sur des plantules de blé attaqué comparés au témoin au stade trois feuilles.

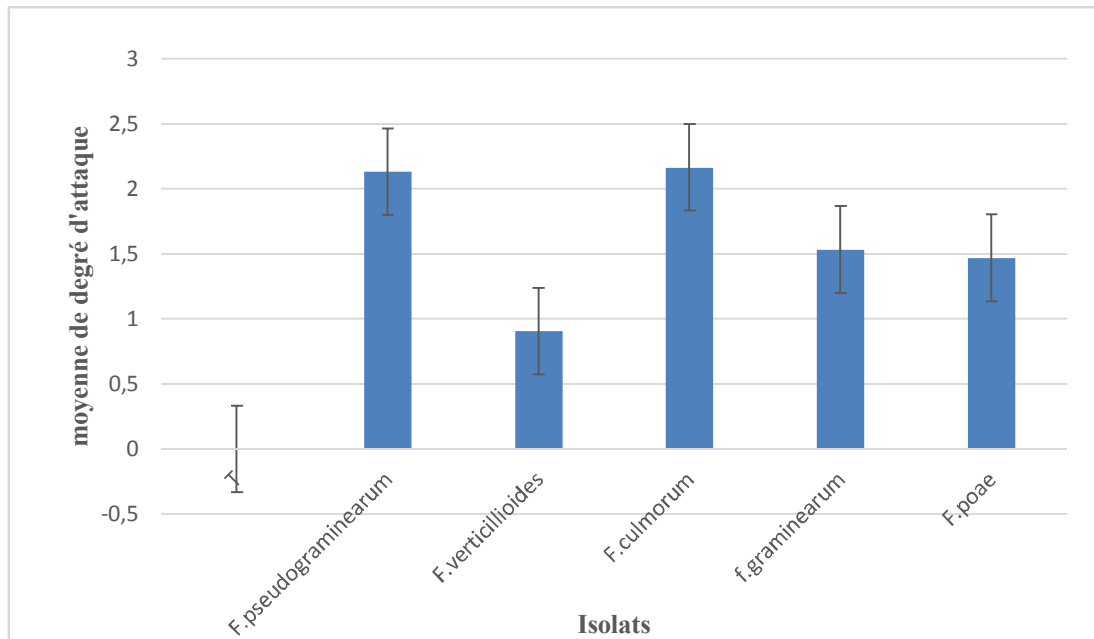


Figure 25 : Moyenne de degré d'attaque obtenue sur des plantules de blé a stades trois feuilles inoculées par cinq isolats *F.graminearum*, *F.culmorum*, *F.poaë*, *F.pseudograminearum*, *F.verticilloïdes*.

Les résultats de cette étude ont montré que toutes les espèces testées ont engendré l'apparition d'un brunissement au niveau du collet, tandis que les plantules témoins n'ont pas montré de symptômes d'attaque. Les résultats ont montré aussi que la moyenne de degré d'attaque est variable de chaque isolat avec écart type moins important, En effet, la moyenne d'attaque est 2.16 pour l'isolat *Fusarium culmorum*, 2.13 pour l'isolat *Fusarium pseudograminearum*, 1.53 pour *Fusarium graminearum*, 1.47 pour *Fusarium poae*, et 0.9 pour *Fusarium verticillioïdes*. Généralement ce test a montré que les espèces *Fusarium culmorum* induit la moyenne d'attaque plus élevé pour toutes les plantules de blé testées.

a- Discussion :

La méthode d'inoculation par fragment au stade trois feuilles a été décrite pour évaluer la pathogénie et l'agressivité des espèces de *Fusarium*. L'étude de l'agressivité des espèces de *Fusarium* a montré que les espèces *F. pseudograminearum* et *F. culmorum* sont plus agressives que les espèces *F. graminearum*, *F. poae* et *F. verticilloïdes*.

En étudiant l'agressivité de plusieurs espèces de *Fusarium*, vis-à-vis de la pourriture des racines, Smiley et al., (2005) ont rapporté que sous serre, les espèces *F. culmorum* et *F. pseudograminearum* peuvent engendrer des niveaux d'attaques élevés. Les résultats trouvés au cours de cette étude sont aussi en accord avec les travaux de Tunali

et al. (2006). Ces derniers ont noté une pathogénie élevée, causée par les espèces *F.culmorum* et *F. pseudograminearum*, sur des plantules de blé. Brennan et al. (2003).

2-2- résultat d'inoculation au stade floraison :

Malgré les conditions de travail où s'est déroulée notre expérimentation nous avons observé des épis partiellement ou complètement échaudés. Parfois, une couche très fine duveteuse sur épis est visible. Au premier stade, seuls quelques épillets sont atteints tandis que le reste de l'épi est vert. Ensuite, la partie supérieure de l'épi sèche prématurément.

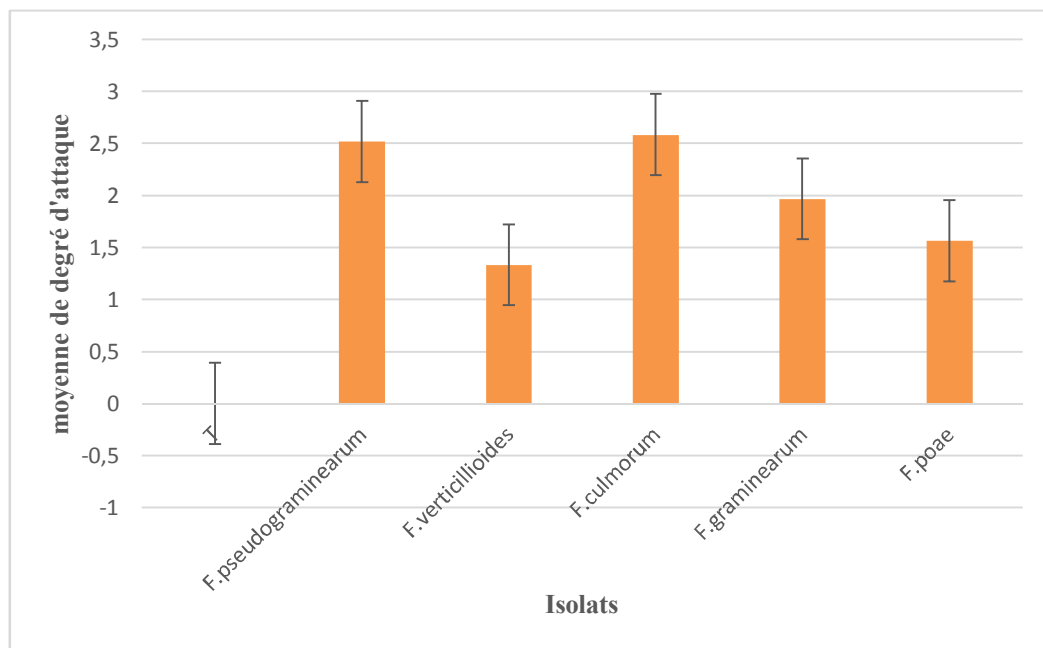
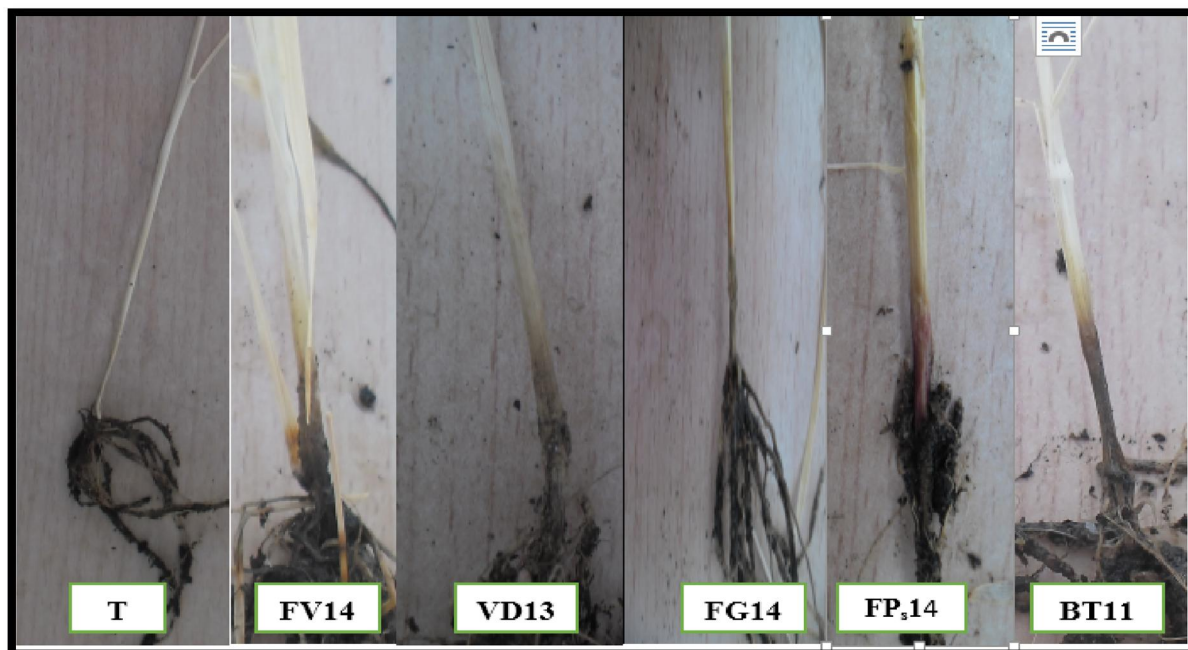


Figure 26 : Moyenne de degré d'attaque obtenue sur des plantules de blé à stades floraison inoculées par cinq isolats *F.graminearum*, *F.culmorum*, *F.poae*, *F.pseudograminearum*, *F.verticilloides*.

Une deuxième notation est réalisée tardivement au stade maturité au niveau du collet (Figure 27), et nous avons constaté que la moyenne de degré d'attaque est variable de chaque isolat avec écart type moins important, En effet, la moyenne d'attaque est 2.58 pour *F.graminearum*, 2.52 pour *F.pseudograminearum*, 1.96 pour *F.graminearum*, 1.56 pour *F.poae* et 1.33 pour *F.verticilloides*. Ce test a montré que l'espèce *Fusarium culmorum* induit le moyen d'attaque plus élevé pour toutes les plantules de blé testées.



(Original 2013)

Figure 27 : Indice de sévérité des cinq isolats sur des plantes de blé attaqué comparés au témoin au stade floraison.

a- Discussion :

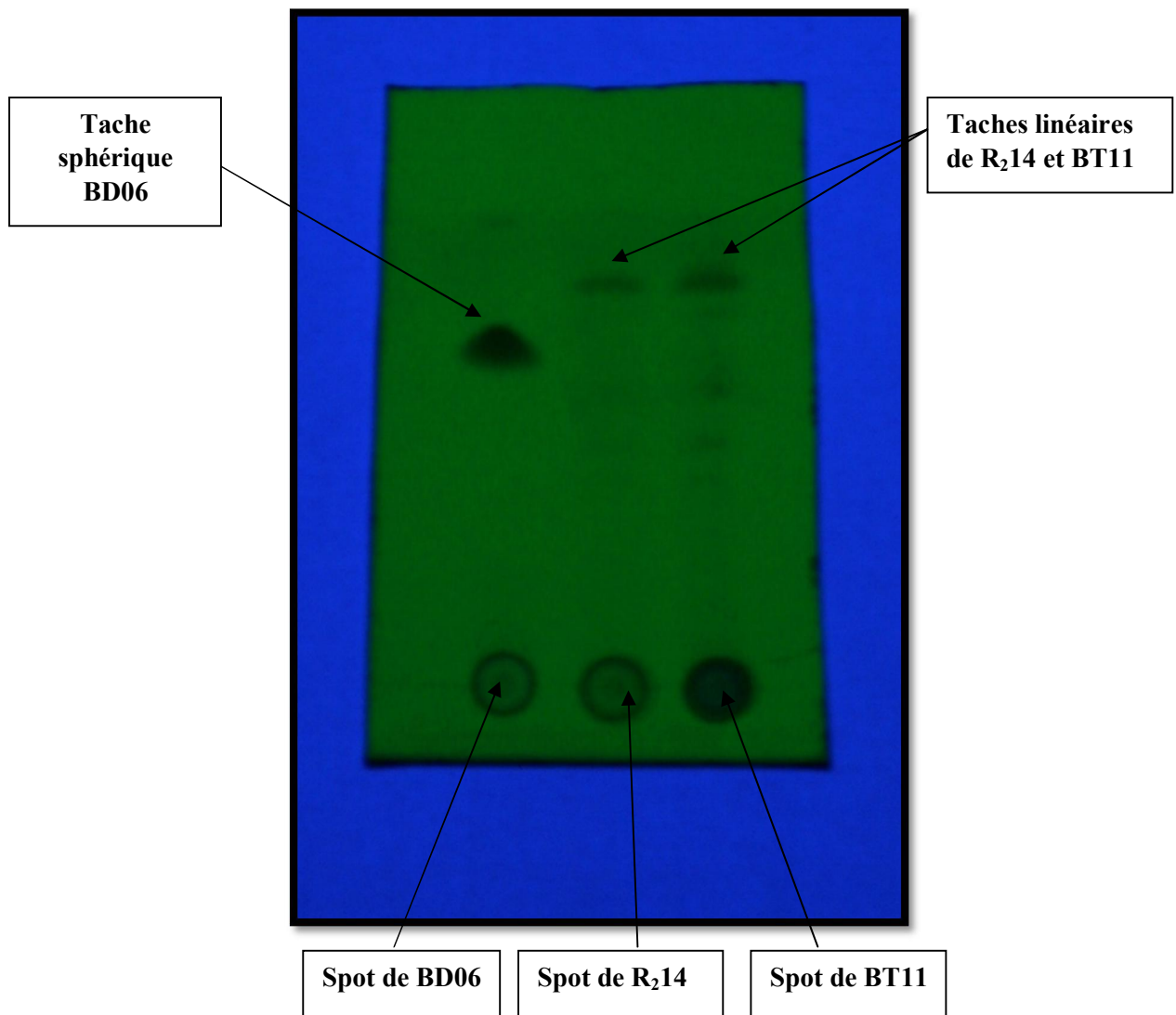
Le stade le plus sensible à la fusariose de l'épi est la floraison. En effet, l'infection des fleurs tend à se propager et à être retenue par les anthères avant de se propager dans les épillets (Parry et *al.*, 1995). De ce fait, ce test a été conduit au stade floraison, sous serre, et où la température et l'humidité ont été contrôlées. Les épis ont été inoculés par pulvérisation au moyen d'une suspension sporale. 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 la variété testée est sensible à la fusariose de l'épi et les isolats qui ont servi d'inoculum au stade floraison se sont montrés un peu plus agressifs que l'inoculation faite au stade 3 feuilles.

Toutefois, pour les isolats les plus agressifs et les moins agressifs les résultats sont presque similaires par les deux techniques d'inoculation par fragment au stade trois feuilles et l'inoculation par suspension sporal au stade floraison.

3- Extraction des mycotoxines et la migration sur la plaque CCM :

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

Après le dessèchement de la plaque à l'air et éventuellement au sèche-cheveux pour évaporer entièrement l'éluant, rien n'a été observé sur la plaque, mais l'utilisation d'une lampe UV permet de mettre en évidence sous forme de taches sombres des substances qui absorbent les UV (Figure 29).



(Original 2014)

Figure 28 : Révélation de la plaque CCM sous les rayons UV.

La révélation par l'utilisation des rayons UV montre des taches sombres sur la plaque. La densité optique diffère d'une tache à une autre, ces taches se présentent sous forme de bandes avec l'apparition d'une tache sphérique, c'est le cas des mycotoxines issues de l'extraction à partir de l'isolat BD06.

L'isolat BD06 et BT11 sont les deux de *F.culmorum*, mais la révélation sur plaque CCM montre que les deux isolats produisent des toxines de profil différent, soit de type de taches. Chez l'isolat BD06 nous ne remarquons qu'une seule tache sous forme sphérique, cependant chez l'isolat BT11 nous remarquons des bandes linéaires. Pour l'isolat R₂14 les taches apparues sont identiques à celles de l'isolat BT11 avec le même (rf), mais une densité optique qui est un peu moins.

L'utilisation de l'appareil photospectromètre nous a permis de quantifier la dose des TCTB synthétisées par chaque souche. Les résultats obtenus montre que la D.O à une longueur d'onde de 230 nm de chaque isolats est ; 3,12 pour le R₂14, 3,18 pour la BD06 et 4 pour la BT11.

La quantification de la dose des TCTB produite par ces isolats a été estimée par l'utilisation de photospectromètre. Selon Boutigny (2007) les TCTB sont visibles à une longueur d'onde de 230 nm, ainsi les résultats obtenus montrent que les deux R₂14 et BT11 ont une densité optique plus élevée que celle de l'isolat BD06.

a- Discussion :

L'effet chémotype a bien apparue dans ce teste, car les deux isolats, BD06 et BT11 qui sont de même espèce (*F.culmorum*) ne montrent pas les même taches sur la plaque CCM. Cependant l'isolat BT11 et l'isolat R₂14, et malgré ils sont des espèces différentes mais ils présentent des taches qui sont identiques avec une seule différence qui est la densité optique de ces dernières.

L'analyse des extraits des TCTB par le spectrophotomètre montre que la concentration des toxines produites par l'isolat BT11 est la plus élevée que celles produites par le R₂14 et BD06.

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.

La première partie de cette étude a visé les isolements qui effectués à partir des graines présentant les symptômes typiques de la fusariose permis l'obtenir des cinq isolats. En se basant sur les caractéristiques morphologiques des agents pathogènes isolés, quatre espèces ont été identifiées à savoir : *Fusarium verticilloides*, *Fusarium pseudograminearum*, *Fusarium poae*, *Fusarium graminearum*.

La deuxième partie de ce travail a porté sur l'étude de la pathogénie et de l'agressivité des cinq isolats sur des plantules de blé dans des conditions contrôlées. Deux techniques d'inoculation ont été testées aux deux stades végétatives différentes toutefois la technique d'inoculation par fragment mycélien semble être plus simple et demande moins de temps que la technique d'inoculation par suspension. Les résultats obtenus montrent l'uniformité de la technique d'inoculation par fragments mycéliens. Cette dernière a été adoptée pour réaliser les tests de pathogénie. Le *Fusarium culmorum*, *Fusarium pseudograminearum* a montré une agressivité plus élevée que le *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticilloides* et *Fusarium poae*

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

Les résultats montrent les 3 isolats de *Fusarium* sont toxigènes et produisent deux types de toxines, donc nous avons deux chémotypes :

- Chémotype1 : DON/3Adon il s'agit des isolats BT11 et R₂14.
- Chémotype 2 : NIV/fx il s'agit de l'isolat BD06

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Aouali, S. et Douici-Khalfi A. 2009. Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie. ITGC. 10-25 pp.
- Akinsanmi, O.A., Backhouse, D., Simpfendorfer, S., et Chakraborty, S. 2006. Pathogenic variation of *Fusarium* isolates associated with head blight of wheat in Australia. *Journal of Phytopathology* 154: 513-521.
- Argyris, J. TeKrony, D. Hershman, D. VanSanford, D. Hall, M. Kennedy, B. Rucker, M. Edge, C. 2005. *Fusarium* head blight infection following point inoculation in the greenhouse compared with movement of *Fusarium graminearum* in seed and floral components. *Crop Science* 45, 626–634.
- Arseniuk, E. Foremska, E. Goral, T. & Chelkowski, J. (1999) *Fusarium* head blight reactions and accumulation of deoxynivalenol (DON) and some of its derivatives in kernels of wheat, triticale and rye. *Journal of Phytopathology*, 147, 577-590.
- Audenaert, K. Van Broeck, R. Bekaert, B. De Witte, F. Heremans, B. Messens, K. Höfte, M. Haesaert, G. 2009. *Fusarium* head blight (FHB) in Flanders: population diversity, inter-species associations and DON contamination in commercial winter wheat varieties. *European Journal of Plant Pathology* 125, 445–458.
- Azizi, F. 1993 contributions à l'étude de la distribution géographique d'*hetedere avenae* dan Mitidja Essai de quelque variété vis-à-vis de cette espèce Mémoire ingénieur en science Agronomique INA El-Harrach Alger.67pp.
- Bahlouli, F. H. Bouzerzour, A. Benmahamed, KL. Hassous. 2005: Selection of high yielding and risk efficient durum wheat (*Triticum durum*Desf.) cultivars under semis arid conditions. *Pak. J. Agron.* 4: 360-365.
- Bai, G. Shaner, G. 1994. Scab of wheat: Prospects for control. *Plant Disease* 78, 760–766.
- Belkherchouche, H. S. Fellah, H. Bouzerzour, A. Benmahammed, N. Chellal. 2009. Vigueurde la croissance, translocation et rendement grain du blé dur (*Triticumdurum*Desf.) sous conditions semi-arides. *Courrier du savoir* 9:17-24.
- Bensmira, S. 2006. Isolement et caractérisation de souches de milieux extrêmes (sol sobkha de la région de Biskra) productrice de cellulase thermostable à intérêt industriel. Thèse de magistère. Constantine. Université de Mentouri. 166p.
- Brennan, J.M., Fagan, B., van Maanen, A.,Cooke,B.M., et Doohan, F.M.2003. Studies on in vitro growth pathogenicity of European *Fusarium* fungi. *European Journal of plant pathology* 109:577-587.

- Bonjean, et Picard, 1990 : Les céréales à paille : origine, histoire, économie, sélection. Softword – Groupe ITM, Paris. 208p.
- Bouas, A. Hellias R. Vallade, S. Verdierv J. 2012. *Céréales : symptômes de piétin échaudage et présence de fusariose du plateau de tallage*. ARVALIS-Institut du végétal.
- Boutigny, A.L., 2007. Etude de l'effet de composés du grain de blé dur sur la régulation de la voie de biosynthèse des trichothécènes B: purification de composés inhibiteurs, analyse des mécanismes impliqués. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux, France.
- Botton, B., Bretton A.,Feuvere M.,Guy Ph.,Larpent JP.,Veau P.1990.*Moisissures utile et nuisible*, Importance industrielle 2^{ème} éd. paris .Masson .512pp.
- Botton, B. Bretton A. Feuvere M., Guy Ph., Larpent JP., Veau P.1985.Moisissures utile et nuisible, Importance indutrielle. Biotechnologie. Masson. 139 à 145pp.
- Boukhris, S. 1992. Identification des bactéries phytopathogènes transmises par semences de blé en Algérie. Mém. Ing. Agr. I.N.A. El Harrach Alger. 67p.
- Boulal, H., Zaghouane, O., El mourid, M. et Rezghi, S. 2007. Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blé et orge) dans le maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie).ITGC/ICARDA. 176 p.
- Brown, NA. Urban, M. Van De Meene AML, Hammond-Kosack KE. 2010. The infection biology of *Fusarium graminearum*: Defining the pathways of spikelet to spikelet colonisation in wheat spikes. *Fungal biology* 114, 555-571.
- Buerstmayr, H., Lemmens, M., Fedak, G., et Ruckenbauer, P. 1999. Back-cross reciprocal monosomic analysis of *Fusarium* head blight resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 98: 76-85.
- Caron, D. 1993. Les Fusarioses. Dans *Maladies des blés et orges* : ITCF, ed., 30-39.
- Caron, D.1993. Les fusarioses. ITCF. Paris. 30-39pp.
- Champeil, A., Doré, T., Fourbet, J.F. 2004. *Fusarium* head blight: epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by *Fusarium* in wheat grains. *Plant Science* 166, 1389-1415.
- Chehat, F. 2007. Analyse macroéconomique des filières, la filière blés en Algérie. Projet PAMLIM « perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation » Alger :7-9 avril 2007.

- Chermette R., Bussieras J., (1993), Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.
- Christ DS, Gödecke R, von Tiedemann A, Varrelmann M, 2011. Pathogenicity, symptom development, and mycotoxin formation in wheat by *Fusarium* species frequently isolated from sugar beet. *Phytopathology* 101, 1338-1345.
- Clement-Grandcourt et Prat., 1970- Les céréales. Collection d'enseignement agricole. 2ème Ed. PP351-360.
- Côté M, Rioux S, Simard N, Tremblay L.2012. Pour en savoir plus sur la Fusariose. Fédération des producteurs de cultures commerciales du Québec. France.
- Croston RP.,Williams.1981.a world survey of wheat genetic resources.IBRGR.bulletin/80/59,37 pages.
- Cumagun CJR, Bowden RL, Jurgenson JE, Leslie JF, Miedaner T, 2004. Genetic mapping of pathogenicity and aggressiveness of *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) toward wheat. *Phytopathology* 94, 520-526
- Davet , P. Rouxel,F.1997.détection et isolement des champignons du sol INRA.Paris .201pp.
- 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 Central America. *Mycological Research* 104:865-872.
- Djebari, B. 2005. Contribution à la connaissance des bactériose du blé, de l'orge et du triticale. Thèse. Maj. Agr., INA. El-Harrach.92p.
- Djermoun, A. 2009. La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie* 01 :45-55.
- Doré, Th. Broydé H.2013. Effets des pratiques agricoles sur la contamination des denrées par les mycotoxines issues de *Fusarium* et *Aspergillus* spp.vol.22.n°3.cah agric.France.
- Dorthee, S. 2013 « Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèce du complexe fusarien.thèse doc. Université Paris sud 11. 197P.

- Dupont, 1982- Hemicellulosic polymers from cell walls of beeswing wheat bran: Part I, polymers solubilised by alkali at 2 °. Carbohyd. Research 163: 99p.
- Feliachi, K. 2000. Programme de développement de la céréaliculture en Algérie. ITGC. El-Harrach. Algr.
- Feliachi, K. 2002. Programme de développement de la céréaliculture en Algérie. ITGC. El-Harrach. Alger.
- Fernando, WGD. Paulitz TC, Seaman WL, Dutilleul P, Miller JD, 1997. Head blight gradients caused by *Gibberella zeae* from area sources of inoculum in wheat field plots. Phytopathology 87, 414-421.
- Fernandez, M.R., et Chen, Y. 2005. Pathogenicity of *Fusarium* species on different plant Parts of spring wheat under controlled conditions. Plant Disease 89: 164-169.
- Fisher, MJ. RC. Paton, K. Matsuno. 1998. Intracellular signaling proteins as smart agents in parallel distributed processes. Bio-Systems 50: 159-171.
- Frayssinet, C. et Fremy, J. M. 1991. Dosage des mycotoxines. Techniques d'analyse et contrôle dans les industries agro-alimentaires IV : Analyses des constituants alimentaires. Lavoisier pp. 349-371.
- Goswami, R.S. & Kistler H.C. (2004) Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. Molecular Plant Pathology, 5, 515-525.
- Guenther, J. Trail F. 2005. The development and differentiation of *Gibberella zeae* (anamorph: *Fusarium graminearum*) during colonization of wheat. Mycologia, 97(1), 229-237.
- Gustafson, P. Rskina, O. Ma X, Nevo E. 2009. Wheat evolution, domestication and improvement. In: Caver, B.F., Wheat science and trade. 5-29pp.
- Hadadi, F. 1999. *Aperçu sur l'état d'infestation des quelque régions céréales d'algerie par les nématodes à kyste des céréales, proceeding du symposium régional sur les maladies des céréales et légumineuse alimentaire*, Nabeul, tunissia 10-12 Novembre. 561pp.
- Hariri, 1999- Mosaïques sur blé: mise en évidence d'un nouveau virus. Phytoma - La Défense des Végétaux, no. 519 p, PP21-22.
- Harrouche, F. 1998. Aperçu sur l'infestation de quelques parcelles de céréales par *heterodera avenae* dans la région de staouali. Mém.ing.Agr.INA.El-harrach.83p.
- Hatsch, D. 2004. Interaction hôte/pathogène : étude du modèle *Humulus lupulus* / *Fusarium graminearum*. Identification, génomique et transcriptomique du

- pathogène. sciences du Vivant – Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie. Thèse doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg. p138.France.
- Henry, Y. J. Buyser. 2000. L'origine du blé. Pour la Science 26 :60-62.
 - Hmadache, A. 2013. Grandes cultures: principaux itinéraires techniques des principales espèces de grandes cultures pluviales cultivées en Algérie et en Afrique du Nord (agriculture conventionnelle).TOME 1. LE BLE. p256.
 - Hestbjerg, H., Felding, G., et Elmholt, S. 2002. Fusarium culmorum infection of barley seedlings: correlation between aggressiveness and deoxynivalenol content. Journal of Phytopathology 150: 308-312.
 - http://www.fiches.arvalisinfos.fr/fiche_accident/fiches_accidents.php?mode=fa&type_cul=1&type_acc=4&id_acc=78 2014
 - <http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/pub811/14cereal.htm> 2014
 - Ilgen, P., B. Hadeler, et al. (2009). "Developing Kernel and Rachis Node Induce the Trichothecene Pathway of *Fusarium graminearum* During Wheat Head Infection." Molecular Plant-Microbe Interactions 22(8): 899-908.
 - Ips. 1990. Selected mycotoxins : Ochratoxins, trichothecenes, ergot. Environmental health criteria 105. W.H.O.,Geneve.p263.
 - Jansen, C., D. von Wettstein, et al. (2005). "Infection patterns in barley and wheat spikes inoculated with wild-type and trichodiene synthase gene disrupted *Fusarium graminearum*."Proc Natl Acad Sci U S A 102(46): 16892-7.
 - Kheyar, M.O. Amara. M., Harrad, F., 2007. la mécanisation de la céréaliculture algérienne: constat et perspectives. Annales de l'institut national agronomique.Ed .INA. Alger. vol28. n°1. 95-102pp.
 - Kamimura. H., Nishijima. M., Yasuda. K., Saito. K., Ibe. A., Nagayama. T., Ushiyama. H., Naoi. Y. 1981 Simultaneous detection of several *Fusarium* mycotoxines in cereals, grain and foodstuffs.J. Assc. Off. Anal. Chem. 1067-1073
 - Kammoun G. L., Gargouri S., Barreau, C., Richard-Forget, F., et Hajlaoui M.R. 2010. Trichothecenes chemotypes of *Fusarium culmorum* infecting wheat in Tunisia. International Journal of Food Microbiology p140.
 - kehal N., 2012. Remontée de la Filière Céréales pour une meilleure sécurité alimentaire, Réunion du Comité Interprofessionnel des Céréales(OAIC).

- Kim, S.K., Park, P.J., Byun, H.G., Je, J.Y., Moon, S.H., et Kim, S.H. 2003. Recovery of fish bone from hoki (*Johnius belengeri*) frame using a proteolytic enzyme isolated from mackerel intestine. *Journal of Food Biochemistry* 27: 255-266.
- Leonard, K.J., Bushnell, W.R. 2003. *Fusarium* head blight of wheat and barley. St. Paul, U.S.A.: APS Press.
- Llorens, A., Hinojo, M.J.M., Mateo, R., Gonzalez-Jaen, M.T., Valle-Algarra, F.M., Logrieco, A., et Jimenez, M. 2006. Characterization of *Fusarium spp.* isolates by PCR-RFLP analysis of the intergenic spacer region of the rRNA gene (rDNA). *International Journal of Food Microbiology* 106: 287-306.
- Leslie, J.F. Summerell B.A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*, Blackwell Publishing. 369 pp.
- Link, H.F. 1809. *Observation in ordines plantarum naturalis. Dissertatio I, Mag. Ges. naturf. freunde*. Berlin. 33pp
- Leyral, G. Vierling, E. 1997. *Micobiologie et de toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires*. 2eme Ed : doin. France. 272p.
- 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.
- Martin, R. 2004. *La Fusariose chez les céréales dans le Canada atlantique*. Agriculture et Agroalimentaire Canada. Canada. p3.
- Mascher, F., Michel, V et Browne, R. A. 2005. Sélection de variétés de blé et de triticales résistantes à la fusariose sur épi. *Revue suisse Agricole*. 37(5) : 189-194.
- Miedaner, T. Gang, G., et Geiger, H.H. 1996. Quantitative-genetic basis of aggressiveness of 42 isolates of *Fusarium culmorum* for winter rye head blight. *Plant Disease* 80: 500-504.
- Mesterházy, Á. 1984. A laboratory method to predict pathogenicity of *Fusarium greaminearum* in field and resistance of wheat to scab. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 19: 205-218.
- Mesterházy, Á. 1997. Methodology of resistance testing and breeding against *Fusarium* head blight in wheat and results of selection. *Cereal Research. Communication*. 25:631-637.

- 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.
- Mishra, P.K., Fox, R.T.V., et Culham, A. 2003. Inter-simple sequence repeat and aggressiveness analyses revealed high genetic diversity, recombination and long-range dispersal in *Fusarium culmorum*. *Annals of Applied Biology* 143: 291-301.
- Mascher F., Michel V. et Browne R. A, (2005). « Sélection de variétés de blé et de triticale résistantes à la fusariose sur épi ». *Agroscope*. 375: 189-194 p
- Osborne, LE. Stein, JM. 2007. Epidemiology of *Fusarium* head blight on small-grain cereals. *International Journal of Food Microbiology* 119, 103– 108.
- Oufroukh, f. et Hamadi, M., 1993- Maladies et ravageur des céréales. In benchabane K.D. et Ould-Mekgloufi L. 1998. Evaluation phénologique de quelques variétés d'orge (*hordeum vulgare* L.) et leur sensibilité vis-à-vis de *drechslera graminea* Rab.Mém. Ing Agro.INA.El-harrach.PP59-62
- Parry, D.W., Jenkinson, P. & McLeod L. (1995) *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals-a review. *Plant Pathology*, 44, 207-238.
- Pastre et ROA., 1993- The control of insect pests in oil seed rape: deltamethrin file, PP192-201.
- Parry, D.W., Jenkinson, P., et McLeod, L. 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals-a review. *Plant Pathology* 44: 207-238.
- Pereyra,SA. Dill-Macky R, Sims AL, 2004. Survival and Inoculum Production of *Gibberella zeae* in Wheat Residue. *Plant Disease* 88, 724-730.
- Perkowski, J., Buśko, M., Stuper, K., Kostecki, M., Matysiak, A., et Sz wajkowska-Michalek, L. 2008. Concentration of ergosterol in small-grained naturally contaminated and inoculated cereals. *Biologia* 63: 542-547.
- Ponts, N., Pinson-Gadais, L., Verdal-Bonnin, M.N., Barreau, 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
- Prandini, A. Sigolo, S. Filippi L, Battilani, P. Piva, G. 2009. Review of predictive models for *Fusarium* head blight and related mycotoxin contamination in wheat. *Food and Chemical Toxicology* 47(5), 927–931.
- Qu, B., Li, H.P., Zhang, J.B., Huang, T., Carter, J., Liao, Y.C., et Nicholson, P. 2008. Comparison of genetic diversity and pathogenicity of *Fusarium* head blight

- pathogens from China and Europe by SSCP and seedling assays on wheat. *Plant Pathology* 57: 642-651. Akinsammi, O.A., Mitter, V., -Simpfendorfer, S., Backhouse, D., et Chakraborty, S. 2004. Identity and pathogenicity of *Fusarium* spp. Isolated from wheat fields in Queensland and northern New South Wales. *Australian Journal of Agricultural Research* 55: 97-107.
- Richard, M. 2004- La Fusariose chez les céréales dans le Canada atlantique. *Agriculture et Agroalimentaire Canada, Centre de recherches sur les cultures et les bestiaux*.2004.Canada.
 - Roquebert, M.F. (1998), *Taxonomie des moisissures ; Méthodes de culture et techniques d'observation ; Identification*”, in “*Moisissures des aliments peu hydratés*”, Ed. Tec et Doc,39-95.
 - Sayoud, R. Ezzahiri, B. et Bouznad, Z. 1999. *Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb*. ITGC. Alger. 64p.
 - Sayoud, R. et Benbelkacem, A., 1996, *situation des maladies des céréales en Algérie proceeding du symposium régional sur les maladies des céréales et légumineuse alimentaire* INRA Rbat, Maroc, 390 pp.
 - Smiley, R.W., Gourlie, J.A., Easley, S.A., et Patterson, L.M. 2005. Pathogenicity of fungi associated with the wheat crown rot complex in Oregon and Washington. *Plant Disease* 89: 949-957.
 - Simon, H. Codaccioni, P. et Lecoœur, X. 1989. *Produire des céréales à paille*. *Agriculture d'aujourd'hui, science, techniques, application*. 168-200 pp.
 - Tabuc, C.2007. *Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines*. Thèse de doctorat en pathologie, mycologie, génétique et nutrition. Institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest. France. 38pp.
 - Talghit, F. 1986. *Lutte intégrée contre les ennemies, ravageuses et déprédatrices des céréales*. INA. Alger.15p.
 - Thangavelu, R. Palaniswami A., Velazhahan R.2004. Mass production of *Trichoderma harzianum* for managing fusarium wilt of banana, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Volume 103, Issue 1, 2004, Pages 259-263.
 - Tunali, B., Nicol, J., Yelda Erol, F., et Altiparmak, G. 2006. Pathogenicity of Turkish crown and head scab isolates on stem bases on winter wheat under greenhouse conditions. *Journal of Plant Pathology* 5: 143-149.
 - Tremblay L. Simard N. Pageau D. Rioux S.2012. *Pour en savoir plus sur la fusariose*. Centre de recherche sur les graines : *brochure Fusariose* .Février .UPA.ED . Québec.N°12_ 0007.

- Trucksess, MW., Page SW., Wood GE., CHO TH. 1998. Thin layer chromatographic determination of deoxynivaenol in wheat and corn. J Assoc off Anal Chem. 67(1): 40-43.
- Vogelgsang, S. Sulyok, M. Hecker, A. Jenny, E. Krska, R. Schuhmacher, R. Forrer, HR. 2008. Toxigenicity and pathogenicity of *Fusarium poae* and *Fusarium avenaceum* on wheat. European Journal of Plant Pathology P122, pp265–276.
- Wagacha, JM. Muthomi, JW. 2007. *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. Crop Protection 26, 877-885.
- Wang, J. Zho, Y. et Wang, Q. 2008. Analysis of mycotoxin fumonisins in corn products by high-performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detection. Food Chemistry 107: 970-976.
- Weise, M.V. 1987. Compondium of wheat diseases. Third printing 1998, APS press: 42-43.
- Wood, M. 2002. Gene jockey fight *Fusarium* head blight. Agricultural Research, 50, 12-13.
- Wu, A.B., Li, H.P., Zhaco, C.S., et Liao, Y.C. 2005. Comparative pathogenicity of *Fusarium graminearum* isolates from China revealed by wheat coleoptile and floret inoculations. Mycopathologia 160: 75-83.
- Xu X.-M. 2003. Effects of environmental conditions on the development of *Fusarium* ear blight. European Journal of Plant Pathology, 109, 683-689.
- Xu XM, Nicholson P, 2009. Community ecology of fungal pathogens causing wheat head blight. Annual Review of Phytopathology 47, 83–103.
- Xu XM, Parry DW, Nicholson P, Thomsett MA, Simpson D, Edwards SG, Cooke BM, Doohan FM, Brennan JM, Moretti A, Tocco G, Mule G, Hornok L, Giczey G, Tatnell J, 2005. Predominance and association of pathogenic fungi causing *Fusarium* ear blight in wheat in four European countries. European Journal of Plant Pathology 112, 143-154.
- Xue, A.G., Armstrong, K.C., Voldeng, H.D., Fedak, G., et Babcock, C. 2004. Comparative aggressiveness of isolates of *Fusarium* spp. causing head blight on wheat in Canada. Canadian Journal of Plant Pathology 26: 81-88.
- Zillinsky, F.J. 1983. Maladies communes des céréales à paille. Guide d'identification CIMMYT. 141p.

INTRODUCTION

CONCLUSION

***MATERIEL ET
METHODES***

ANNEXE

SYNTHESE
BEBLIOGRAPHYQUE

REFERENCES
BEBLIOGRAPHYQUES

***RESULTATS ET
DISCUSSIONS***