



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



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE : SCIENCES

DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : Chelbak Khadidja

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

FILIERE : SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION : PROTECTION DES VEGETAUX

Thème

Identification de genre *Fusarium* responsable des contaminations de grains de maïs et détection des mycotoxines associées

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
Hattab Mourad	MCB	Président
Zamoum Miyada	MCA	Examineur
Touati-Hattab Sihem	MCB	Encadreur

Promotion : Octobre – 2020

Titre du mémoire : Identification de *Fusarium* responsable des contaminations de grains de maïs et détection des mycotoxines associées

Nom : Chelbak

Prénom : Khadidja

Encadreur : Mme Touati

Résumé : Les cultures de céréales dont le maïs sont la cible de nombreux pathogènes à l'origine de diverses maladies. Parmi celles-ci, *Fusarium* Ear Rot (FER). Les responsables sont des champignons filamenteux phytopathogènes appartenant au genre *Fusarium*. La fusariose s'est imposée comme l'une des préoccupations importantes des différents acteurs de la filière maïsicole compte tenu des pertes économiques considérables. La contamination des grains par les mycotoxines ajoute une dimension sanitaire au problème de la fusariose.

Cette étude a été conduite dans le but d'isoler et identifier les espèces de *Fusarium* spp. Qui contaminent le maïs en Algérie d'un pool de 17 échantillons récoltés sur trois années de récolte en 2017, 2018 et 2019. Parmi eux, des échantillons cultivés et produits en Algérie et d'autres échantillons importés.

L'identification morphologique a permis de montrer l'implication de 11 espèces de *Fusarium* spp. À savoirs *F. graminurum*, *F. culmorum*, *F. nygami*, *F. pseudonygami*, *F. equiste*, *F. verticilloide*, *F. thapsinum*, *F. acuminatum*, *F. subglutinas*, *F. lateritum*, *F. avenaccum*.

Les résultats de nos isolements ont révélé aussi qu'en Algérie *F. graminearum* est l'espèce prédominante représentant une densité de 28,36 des espèces isolées.

Mots clés : Maïs, Fusariose de l'épi, *Fusarium* spp.

Title of the thesis: Identification of *Fusarium* responsible for corn grain contaminations and detection of associated mycotoxins

Last name: Chelbak

First name: Khadidja

Framer: Mrs. Touati

Summary: Cereal crops including corn are the target of many pathogens that cause various diseases. Among these, Fusarium Ear Rot (FER). Those responsible are phytopathogenic filamentous fungi belonging to the genus *Fusarium*. *Fusarium* ear rot has emerged as one of the major concerns of the various players in the maize industry in view of the considerable economic losses. The contamination of grains by mycotoxins adds a sanitary dimension to the problem of *fusarium*.

This study was conducted with the aim of isolating and identifying the *Fusarium* spp. species that contaminate maize in Algeria from a pool of 17 samples collected over three harvest years in 2017, 2018 and 2019. These included samples grown and produced in Algeria and other imported samples.

Morphological identification showed the involvement of 11 species of *Fusarium* spp. namely *F. graminurum*, *F. culmorum*, *F. nygami*, *F. pseudonygami*, *F. equiste*, *F. verticilloide*, *F. thapsinum*, *F. acuminatum*, *F. subglutinas*, *F. laterritum*, *F. avenaccum*.

The results of our isolations also revealed that in Algeria *F. graminearum* is the predominant species representing a density of 28.36 of the isolated species.

Keywords: Corn, *Fusarium* head blight, *Fusarium* spp.

عنوان المدكرة: تحديد الفيوزاريوم المسئول عن تلوث نواة الذرة وكشف السموم الفطرية المصاحبة لها

الاسم الأخير: شلباك الاسم الأول: خديجة المشرفة: السيدة تواتي

الخلاصة: محاصيل الحبوب بما في ذلك الذرة هي هدف للعديد من مسببات الأمراض التي تسبب الأمراض المختلفة. من بين هؤلاء، Fusarium Ear Rot (FER)، المسؤولون هم الفطريات الخيطية الممرضة للنبات والتي تنتمي إلى جنس Fusarium. برز ذبول الفيوزاريوم كواحد من الاهتمامات الرئيسية لمختلف الجهات الفاعلة في صناعة الذرة بالنظر إلى الخسائر الاقتصادية الكبيرة. يضيف تلوث الحبوب بالسموم الفطرية بُعدًا صحيًا لمشكلة ذبول الفيوزاريوم.

أجريت هذه الدراسة بهدف عزل وتعريف أنواع *Fusarium spp.* يلوث ذلك الذرة في الجزائر بمجموعة من 17 عينة تم جمعها على مدى ثلاث سنوات من الحصاد في 2017 و 2018 و 2019. ومن بينها عينات نمت وأنتجت في الجزائر وعينات أخرى مستوردة.

أظهر التحديد المورفولوجي تورط 11 نوعًا من *Fusarium spp.* وهي *F. graminearum*، *F. culmorum*، *F. nygami*، *F. subglutinans*، *F. acuminatum*، *F. thapsinum*، *F. verticilloide*، *F. equiste*، *F. pseudonygami*، *F. avenaceum*، *F. lateritium*

أظهرت نتائج عزلنا أيضًا أن *F. graminearum* في الجزائر هو النوع السائد الذي يمثل كثافة 28.36 نوعًا معزولاً.

الكلمات المفتاحية: الذرة، لفحة رأس الفيوزاريوم، الفيوزاريوم

Remerciement

Avant tout je remercie ALLAH (ﷻ), le Miséricordieux, le Compatissant, l'Unique, le Tout-Puissant, le Seigneur des cieux et de la terre pour m'avoir protégée, m'aidée et me permis d'accomplir ce travail. C'est un plaisir de garder ces lignes en gage de gratitude envers ceux qui ont contribué directement ou indirectement au développement de cet ouvrage notamment ma directrice de recherche Mme Touati Siham, que je remercie infiniment pour son aide, ses conseils et ses corrections du manuscrit, sa patience, sa confiance et ses encouragements envers moi. Mes remerciements vont également aux membres du jury Mr Hattabe et Mme Zamoum Miyada d'avoir accepté de lire et d'examiner mon mémoire comme je remercie mon enseignante Mme Ameer Djamila pour ces conseils, son aide et ses orientations pendant la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie cet acte humble à ma chère mère, gentille, honorable et affectueuse : pour moi, vous êtes un symbole de bonté par excellence, une source de tendresse et un exemple de dévouement qui ne cesse jamais d'être le mien. Encouragez-moi et priez pour moi. A mon cher père Aucune dédicace ne peut exprimer l'amour, l'appréciation, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts que tu as faits jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être.

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

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

À ma chère amie, Rima Khadra merci pour tout le temps que vous avez passé avec moi et à mes côtes. Je remercie également ma chère amie halima et houria pour leur soutien toujours.

TABLE DES MATIERES

Résumé	
Liste des figures	III
Liste des tableaux.....	V
Liste de abbreviations.....	VI
Introduction générale	1
Partie 1 : Synthèse bibliographies	
I. LE MAÏS.....	6
I.1. Généralités.....	6
I.2.Importance économique.....	7
I .2. 1. Importance économique dans le monde.....	7
I.2 .2. Importance économique en Algérie.....	10
I.3.Biologie et physiologie du maïs.....	13
I.4 Phases de développement du maïs.....	15
I.4.1. La phase végétative.....	15
I.4.2. Phase reproduction.....	15
I.4.3. La phase de développement de grain et de maturation.....	15
I.5.Les agents pathogènes et maladies du maïs.....	17
II. LA FUSARIOSE.....	19
II.1. Les différentes espèces fusariennes inféodées au maïs.....	22
II.2. Epidémiologie de l'infection sur épi de maïs.....	25
II.3. Les toxines produites par les champignons du genre <i>Fusarium</i>	28
II.3.1. Les fumonisines.....	28
II.3.2. Les Trichothécènes.....	30
II.3.3. Zéaralénone.....	32
II.4. Toxicité et Législation.....	33
II.5. Méthodes analytiques de détermination des mycotoxines.....	34
II.5.1. Chromatographie	34
II.5.1.1. Chromatographie sur couche mince.....	34
II.5.1.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	35
II.5.1.3Chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	35
II.5.2. Méthodes immunochimiques.....	35

II.6. Quelles stratégies pour diminuer l'accumulation des mycotoxines ?.....	35
--	----

Partie II : Matériel et méthodes

I. Matériel végétale.....	40
II. Méthodes.....	41
II.1. Isolement et identification morphologique des <i>Fusarium</i> spp. Présents au niveau des grains de maïs	41
II.2. Méthode de purification.....	42
II. 2. 1. Repiquage successif	42
II.2.2. La culture monospore.....	42
II. 2. Identification morphologique des isolats.....	43
II.4. Quantification par HPLC de la production des fusariotoxines par les isolats De <i>Fusarium</i> spp.....	44
II.4.1. Culture sur maïs et riz pour extraction des fumonisines et trichothécènes.....	44

Partie III : Résultat et discussion

I. Recherche de la flore fusarienne responsable de la contamination des grains de maïs en Algérie.....	47
I.1. Isolements et identification de la mycoflore totale associée aux semences	
I.2. Identification et caractérisation de la flore fusarienne toxinoène présente au niveau des grains de maïs	50
I.3. Discussion.....	58
References bibliographiques.....	60

Annexes

Liste des Figure

Figure 1 : Inflorescences de téosinte et de maïs.....	5
Figure 2 : Histoire de la sélection du maïs.....	5
Figure 3 : Production et consommation mondiale de maïs.....	8
Figure 4 : Stocks mondiaux fin de campagne de maïs.....	8
Figure 5 : Principaux pays producteurs de blé, de riz et de maïs dans le monde.....	9
Figure 6 : Évolution de l'estimation de la production mondiale de maïs en millions de tonnes.....	9
Figure 7 : Structure d'un pied de maïs.....	12
Figure 8 : Composition d'un grain de maïs.....	12
Figure 9 : Phases de développement.....	16
Figure 10 : Quelque ravageur de maïs	18
Figure 11 : Fusarioses des épis et des tiges et des grains sur le maïs, provoquées par une infestation par des espèces de <i>Fusarium</i>	21
Figure 12 : Classification simplifiée de <i>F. graminearum</i> , <i>culmorum</i> , <i>verticillioides</i> et <i>prolifera</i>	21
Figure 13 : Cycle infectieux de <i>F. graminearum</i>	27
Figure 14 : Structure générale des fumonisines.....	29
Figure 15 : Structure chimique des trichothécènes de type B.....	31
Figure 16 : Structure chimique de la zéaralénone.....	31
Figure 17 : Les différents facteurs à maîtriser pour limiter l'apparition de la fusariose de l'épi et ses conséquences (source Arvalis – Institut du végétal).....	38
Figure 18 : Technique de plaquage directe (2020).....	18
Figure 19 . Germes de maïs infectés par la moisissure des neiges (<i>Fusarium</i> spp.), caractérisée par une couche des spores de teinte blanche et rose pâle.....	48
Figure 20 : Présentation des pourcentages des infestations des mycoflores.. externes et internes « <i>Fusarium</i> spp » chez le maïs par régions et par variétés.....	50
Figure 21 La diversité des espèces de <i>Fusarium</i> spp dans le maïs.....	52
Figure 22 : Caractérisation macroscopique et microscopique de l'espèce de <i>Fusarium</i> obtenue.....	54

Figure 23 : Caractérisation macroscopique et microscopique de l'espèce de *Fusarium* obtenue.....55

Figure 24 : : Caractérisation macroscopique et microscopique de l'espèce de *Fusarium* obtenue.....56

Figure 25 : : Caractérisation macroscopique de l'espèce de *Fusarium* obtenue.....57

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Métabolites secondaires identifiés dans le grain de maïs entier.....	14
Tableau 2 : Différents stades du grain de maïs.....	16
Tableau 3. Espèces du complexe fusarien sur maïs en Europe.....	24
Tableau 4. Les principales fumonisines.....	29
Tableau 5. Toxicologie des fusariotoxines.....	34
Tableau 6. Recommandations pour limiter les risques de DON et ZEN sur maïs au Champ.....	38
Tableau 7 : Listes des lots des variétés des maïs analysée.....	40
Tableau 8. Taux de contamination de la semence par les microflores externe et interne.....	48
Tableau 9 . La Fréquence et la densité des isollements des espèces de <i>Fusarium</i> spp. à partie des grains infestés chez le maïs.....	52
Tableau 10. Taux de contamination par le genre de <i>Fusarium</i> isolé à partir des échantillons de maïs selon la région de récolte.....	53

Liste des abréviations

µg : microgramme

15-DON : 15-acétyl-déoxynivalénol

3-acétyl-déoxynivalénol

aw : activité de l'eau

BEA : Beauvericine

C.P.G : Chromatographie en phase gazeuse

CCM : Chromatographie sur couche mince

DCPA : Dichloran chloramphenicol Peptone Agar

DON : Déoxynivalénol

ECD: électron capture Detector

ELLISA: l'enzyme linked immunosorbent assay

ENNS: Enniantines

F: Fusarium

FAO: Food and Agriculture Organization

FER: *Fusarium Ear Rot*

FID: flamme ionisation detector

FUM: Fumonisines

g: gramme

GER: *Gibberella Ear Rot*

HPLC : chromatographie sur couche mince

INRA : Institut national de la recherche agronomique

Mg : milligramme

MON : Moniliformine

MS : spectrométrie de masse

NIV : Nivalénol

nm : Nano gramme

ONAB : Office national d'aliment de bétail

PDA : Potatoes Dextrose Agar

Ppm : Parties par million

q/ha : Quintaux par hectares

Spp ; species pluralis

TCTA : Trichothécènes de type A

TCTB: Trichothécènes de type B

USA: United States of America

UV : Ultraviolet

ZEA : Zéralénone

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Le maïs est la céréale la plus cultivée au monde .C'est une culture d'été, particularité qui le distingue des autres céréales semées pour la plupart à l'automne ou au printemps. Le maïs est largement cultivé sur les cinq continents compte tenu des enjeux économiques très importants au niveau mondial, l'alimentation animale est de loin le premier débouché du maïs dans le monde, surtout dans les pays industrialisés (<http://www.agri-mag->).

Le maïs est la cible de nombreux pathogènes à l'origine de diverses maladies (Combyet et al., 2018). Parmi celles-ci, la fusariose est caractérisée par des symptômes survenant sur différentes parties de la plante comme les racines, les épis et la tige. Les responsables sont des champignons filamenteux phytopathogènes appartenant au genre *Fusarium*.

La fusariose s'est imposée comme l'une des préoccupations importantes des différents acteurs de la filière maïsicole compte tenu des pertes économiques considérables liées à la diminution des rendements de récolte qu'elle génère.

Les espèces fusariennes pathogènes spécifiques du maïs sont aussi capables de produire une très grande diversité de mycotoxines ou fusariotoxines dont les fumonisines. La contamination par les mycotoxines a lieu essentiellement au cours de la culture cependant, elle peut aussi se produire suite à une mauvaise gestion des conditions de stockage (Magan et Aldred, 2007).

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

Ces toxines sont produites principalement par *F. verticillioides* et *F. proliferatum* de la section Liseola et responsable de la fusariose de type FER (*Fusarium Ear Rot*). Un autre grand groupe de *Fusarium*, provoquant les symptômes typiques de « *Gibberella Ear Rot* » ou GER est majoritairement représenté par *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*. Ces deux espèces sont productrices de trichothécènes (TCT) ou de zéaralénone (ZEN), voire des deux toxines. La contamination des grains par ces mycotoxines ajoute une dimension sanitaire au problème de la fusariose.

Caractérisées par une toxicité aiguë avérée à doses élevées, ces mycotoxines seraient responsables d'une toxicité chronique à plus faible dose. Leur consommation régulière pourrait entraîner des pathologies diverses et en particulier des cancers de l'œsophage pour les fumonisines (Osweiler et al., 1992 ; Colvin et al., 1993).

Aussi, dans un contexte de principe de précaution, la commission européenne (CE) n°856/2005 du 6 Juin 2005 (révisée, N°1126/2007 le 28 Septembre 2007) a fixé des teneurs seuils concernant ces mycotoxines dans les lots de maïs destinés à l'alimentation humaine.

Les mycotoxines de *Fusarium* étant thermostables, elles ne sont que partiellement éliminées lors des processus de transformation et se retrouvent dans les produits finis, dérivés des céréales. Il est donc impératif d'agir en amont de la récolte, c'est-à-dire au champ.

Il a été montré qu'un des leviers principaux pour limiter les teneurs en mycotoxines dans les grains était le choix variétal (Ponts, 2010). L'utilisation de variétés de maïs résistantes à la fusariose et à l'accumulation de trichothécènes pourrait constituer une nouvelle approche pour maîtriser ce problème de fusariose et de contamination des grains par des mycotoxines (Schaafsma et Hooker, 2007).

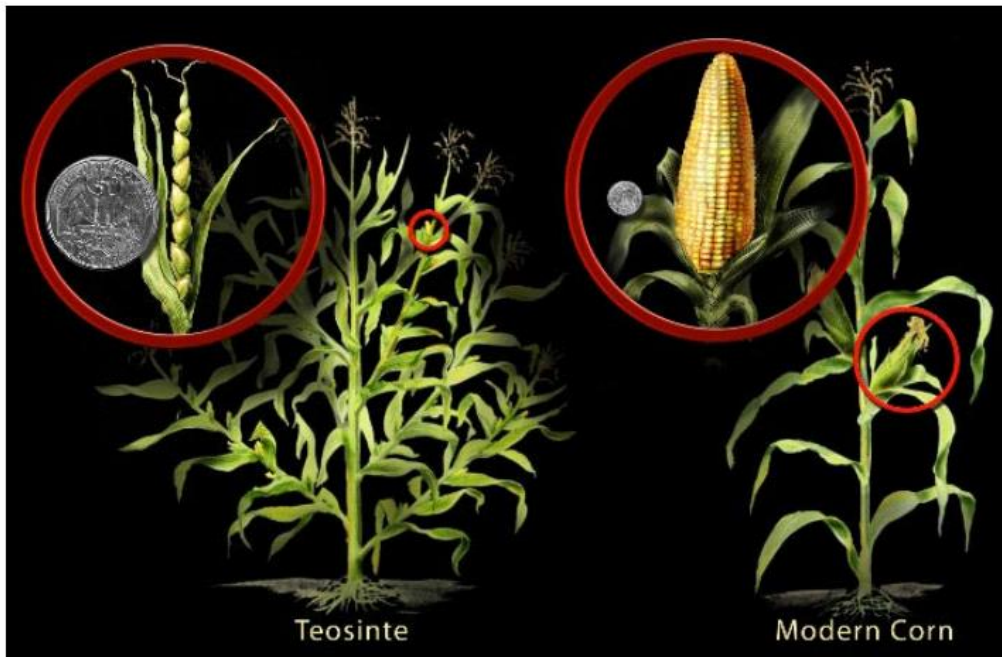
Plusieurs travaux suggéraient que la résistance à l'accumulation de toxines et au *Fusarium* pourrait être corrélée avec la teneur en composés phénoliques des grains de maïs à maturité (Assabgui et al., 1993 ; Bily et al., 2003 ; Reid et al., 1992) et de blé (McKeehen et al., 1999 ; Siranidou et al., 2002). Des travaux plus récents ont montré qu'une fraction phénolique extraite de blé présentait un fort effet inhibiteur sur la biosynthèse des mycotoxines du type DON/ADON in vitro par *F. culmorum* (Boutigny et al., 2010).

Dans ce contexte, notre démarche est orientée autour de deux axes de travail. Le premier axe s'est attaché à isoler la flore fusarienne et toxinogène présente sur les grains de maïs actif et cultivés en Algérie et l'identifier à l'aide d'analyses morphologiques. Le deuxième axe de ce travail de mémoire a pour objectif d'analyser le potentiel toxinogène des isolats et de caractériser le type de mycotoxines produites moyennant des tests chimiques.

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

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

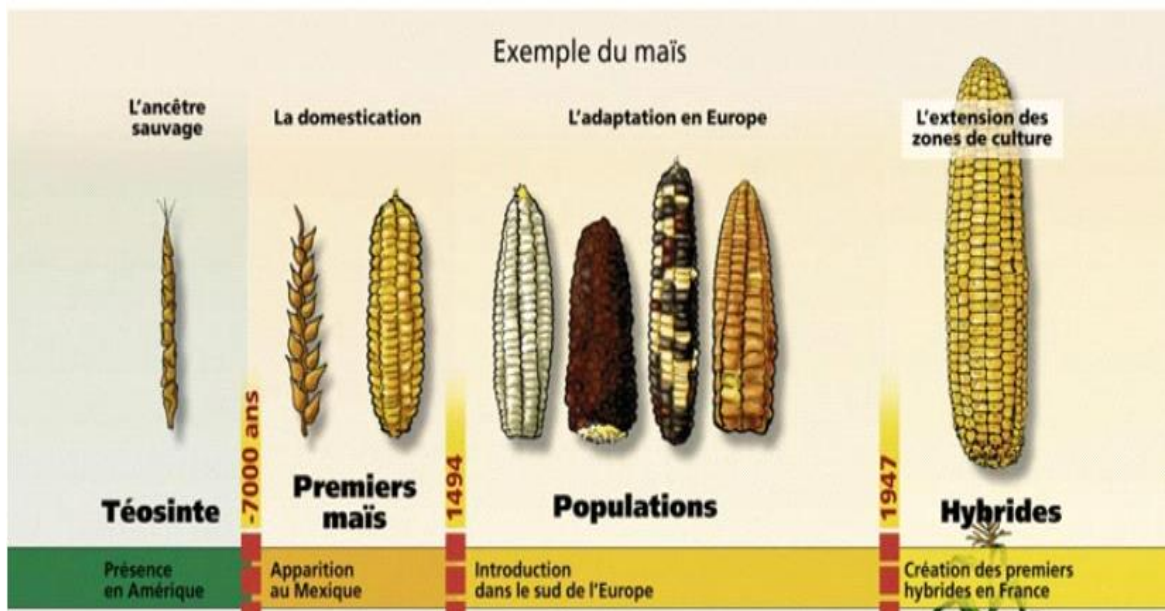
COMPARAISON MAÏS TEOSINTE



Source : <https://tp-svt.pagesperso-orange.fr/>.

Figure 1. Inflorescences de téosinte et de maïs.

Inflorescences de téosinte (*Zea maysssp*mexicana) à gauche, de maïs à droite.



Source : <https://tp-svt.pagesperso-orange.fr/>

Figure 2. Histoire de la sélection du maïs.

I. LE MAÏS

I.1. Généralités

Le maïs, *Zeamays*, fait partie de la famille des graminées (ou poacées) et plus précisément de la sous-famille des Panicoideae. Les espèces *Zea* connues sous le nom de téosintes sont essentiellement des graminées sauvages du Mexique et d'Amérique centrale (Doebley, 1990).

L'histoire du maïs est riche et très ancienne. Plusieurs théories divergent à propos de l'origine du maïs actuel qui n'existe pas à l'état sauvage. Certains pensent comme Mangelsdorf (Mangelsdorf, MacNeish et *al.*, 1964) qu'un maïs sauvage existait avant l'arrivée de l'homme, ce qui les oppose aux partisans de Beadle (Beadle, 1981) qui pensent que le maïs est issu de la pression de sélection induite par l'homme de la téosinte, théorie la plus probable, vu que le maïs actuel et la téosinte sont capables de produire des hybrides (Figure 1).

Les premières traces de cultures de la téosinte remontent à plus de 9 000 ans au Mexique (Tenailon et Charcosset, 2011) et c'est à partir d'environ 2000 ans avant J.C. que la culture du maïs se développe en Mésoamérique chez les civilisations Olmèques, puis chez les Mayas et les Aztèques (Gallaise, 2009).

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

Plus récemment, le maïs a bénéficié des découvertes de Mendel et Darwin du XIX^e siècle. Ils ont permis de modifier la structure génétique des variétés grâce à l'hybridation. L'hybride de première génération qui en résulte apporte des gains extraordinaires : les rendements ont décuplé, passant de 10-50 q/ha à des niveaux compris entre 80 et 130 q/ha.

En effet, le maïs ne semble être que le résultat de l'amélioration végétale par croisements opérée par l'homme (aucune variété sauvage connue n'a perduré jusqu'à nos jours). La conséquence de ces améliorations au fil des siècles est l'existence à l'heure actuelle de centaines de types de maïs aux cycles végétatifs divers adaptés à de nombreuses conditions climatiques et agronomiques. De ce fait, la zone de culture du maïs est vaste : du continent américain à l'Asie en passant par l'Europe et l'Afrique (Figure 2).

D'après Chevalier 1932 La culture du maïs serait assez ancienne en Afrique du Nord, au Sahara et au Soudan et remonterait au 16^{ème} siècle.

On ne connaît rien de précis sur l'origine de la culture du Maïs en Algérie. Il semble que cette culture y aurait été introduite d'Espagne (par les Arabes et les Maures) et non d'Asie (avant la période colombienne) comme pourrait le laisser supposer certaines hypothèses relatives à une culture antérieure de cette céréale en Turquie. Car la dispersion du maïs en Afrique du Nord aurait dû suivre bien longtemps avant sa connaissance historique européenne les invasions arabes. La culture du maïs peut être envisagée en Algérie à quatre points de vue : pour la production de grains verts consommés comme légume d'été. Aussi pour l'obtention de fourrage utilisable directement en vert ou après ensilage et enfin pour la production d'alcool (Laumont et Laby, 1950).

I.2.Importance économique

I.2.1. Dans le monde

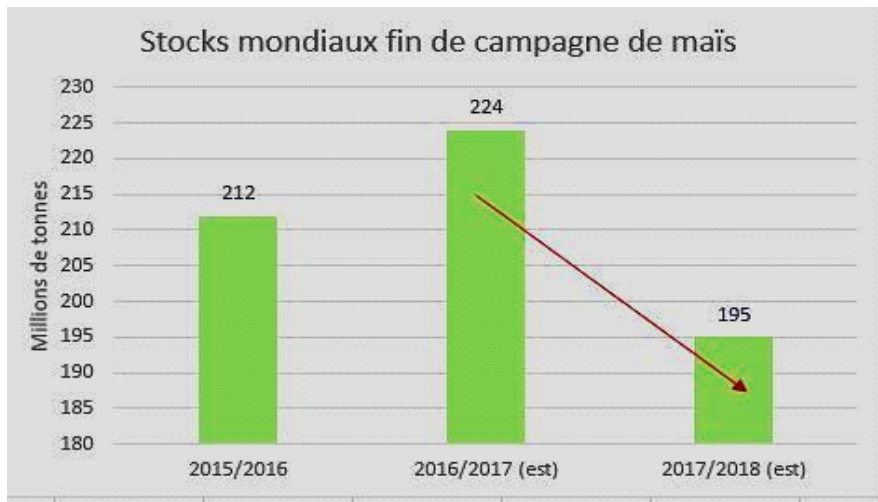
D'après la Food and Agriculture Organisation (FAO), plus de 872 millions de tonnes de Maïs ont été produites en 2012 dans le monde, en progression jusqu'à plus d'un milliard de tonnes en 2013 (<http://faostat.fao.org>).

En 2018 une baisse significative de la production mondiale a été notée par rapport aux records de 2016/2017 qui a fait chuter la production nord-américaine de 28 millions de tonnes. Dans ce contexte, le stock de maïs mondial a connu un fort recul pour la campagne 2017/2018, et ce malgré le stock fin de campagne de 2016/2017 très élevé (Figure 3 et 4).



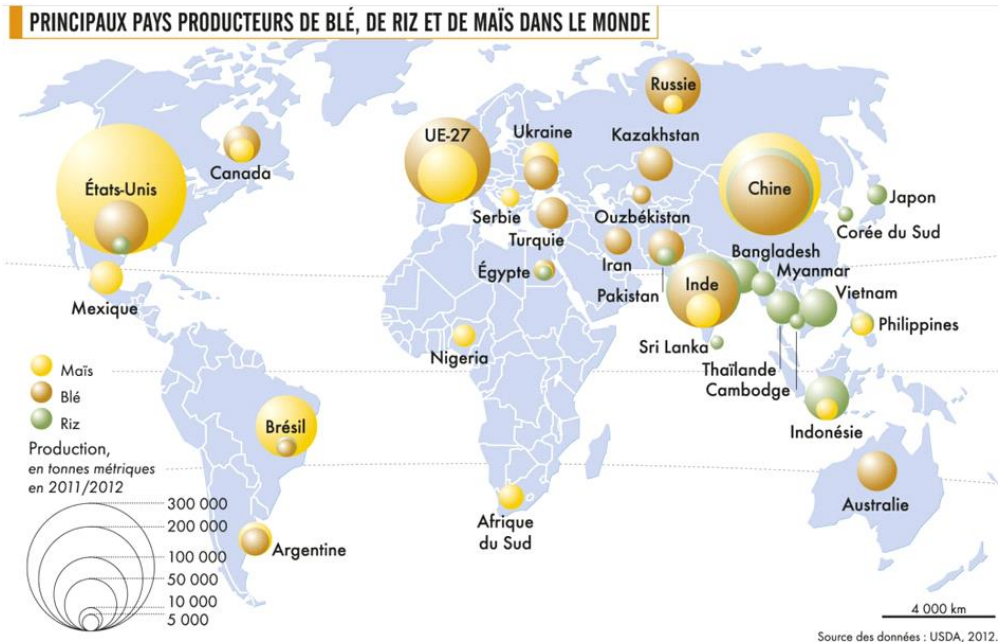
Source : <https://www.cultivar.fr>

Figure 3. Production et consommation mondiale de maïs.



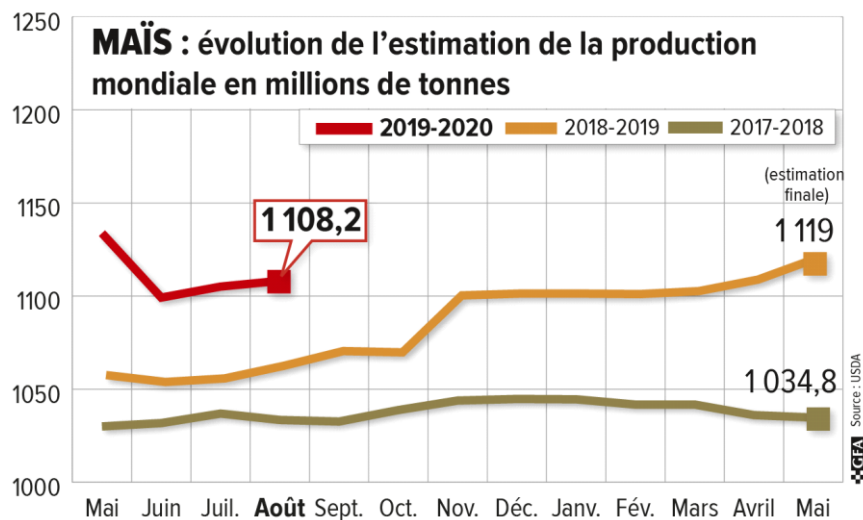
Source : <https://www.cultivar.fr/>

Figure 4. Stocks mondiaux fin de campagne de maïs.



Source : USDA, 2012

Figure 5. Principaux pays producteurs de blé, de riz et de maïs dans le monde.



Source : <https://www.bing.com/>.

Figure 6. Évolution de l'estimation de la production mondiale de maïs en millions de tonnes.

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

La Chine, deuxième producteur mondial 254 millions de tonnes (Mt), après les Etats-Unis (333 Mt), croule sous ses stocks et en plus elle importe 5 millions de tonnes de gains seulement.

Cinq pays se partagent majoritairement le marché mondial du maïs. Le Brésil et l’Afrique du Sud font partie du cartel alors qu’ils ne font pas partie des huit grands pays exportateurs de céréales, essentiellement producteurs de blé (Figure 5).

Les Etats-Unis sont le premier pays exportateur de grains (52 Mt vendues en 2018) mais ils déclinent. Leurs ventes ont diminué de 10 Mt en trois campagnes alors que l’Argentine rayonne. Le pays vendra entre 9 Mt et 11 Mt en plus. Quant à l’Union européenne, elle rejoint le Japon en tête des pays importateurs de maïs. En expédiant 24 Mt, l’Ukraine est le quatrième pays exportateur majeur de grains, loin devant l’Afrique du sud (2 Mt).

En 2008, le maïs génétiquement modifié se situe au second rang mondial des cultures biotechnologiques occupant 37.3 millions d’hectares, ce qui représente 30% de la surface mondiale destinée à l’agriculture biotechnologique (Ricroch, Bergé et *al.*, 2009). Depuis quelques années, le maïs sert avec la canne à sucre à produire du bioéthanol. Le bioéthanol est le biocarburant le plus utilisé dans le monde. En 2017, les Etats-Unis ont produit 59 % de la production mondiale, le Brésil 25 %, l’Union Européenne 5 %. <https://www.gnis-pedagogie.org/>.

Ce nouveau débouché a eu comme conséquence une montée des prix de la terre et a pénalisé les populations pour qui le maïs est la base alimentaire comme au Mexique ou encore en Afrique centrale. Le maïs occupe une place importante dans l’alimentation humaine et on le retrouve également dans de nombreux produits dérivés pour ne citer que les corn flakes, le popcorn, le maïs doux, l’huile de maïs riche en acide linoléique, la polenta, les tortillas, les pains au maïs.

L’amidon, principal constituant du grain de maïs est utilisé dans l’industrie agroalimentaire comme liant, épaississant, édulcorant, anti-cristallisant, humectant, colorant, acidifiant mais également dans la chimie verte, remplaçant progressivement certains plastiques (<https://www.gnis-pedagogie.org/>).

I.2 .2. En Algérie

Annuellement, les céréales destinées à l’alimentation animale, principalement le maïs, représentent plus de 30% de la facture alimentaire. Le maïs occupe une part importante dans la structure des importations céréalières de l’Algérie depuis des années. Les besoins exprimés sont estimés à 30 millions de quintaux par année (Belaid, 2016).

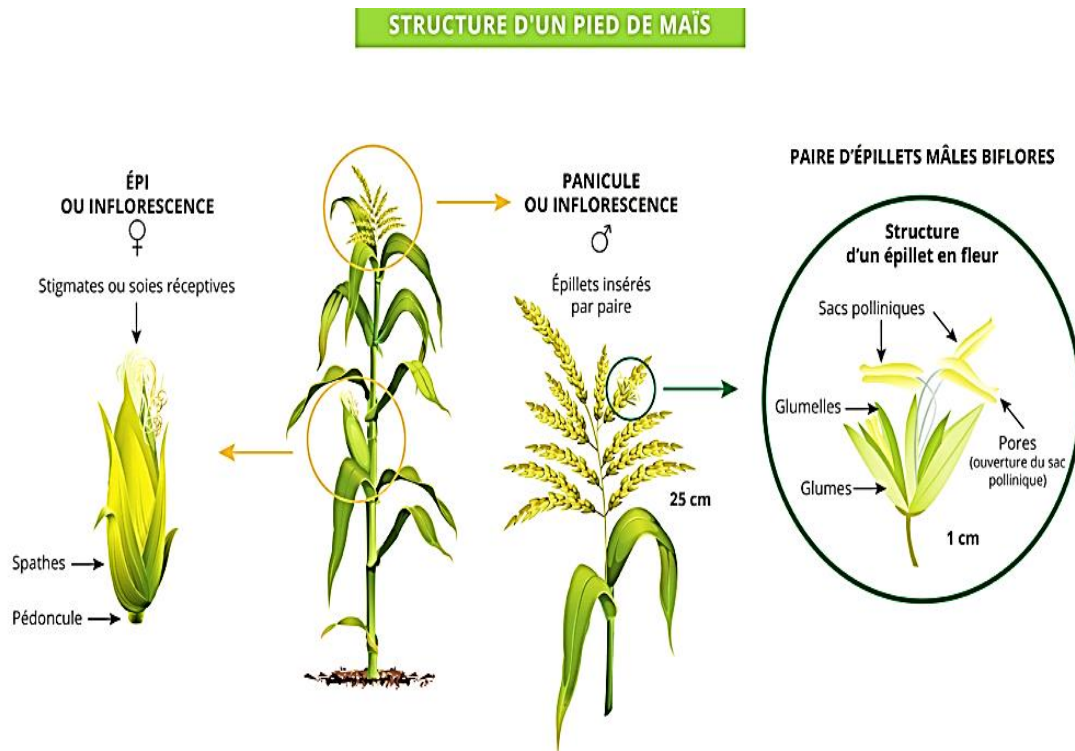
Il est utile de noter que, dans le passé, le maïs comptait parmi les cultures les plus adaptées aux territoires algériens. Des archives de la colonisation qui datent de 1950 en témoignent (Laumont et Laby 1950) : « Au cours de la période 1894-1916, la culture du maïs se maintient entre 11.000 hectares et 16.000 ha, correspondant à une production variant de 76.000 à 242.000 quintaux. Le maïs est, depuis longtemps, surtout cultivé dans les départements d'Oran et de Constantine, le département d'Alger venant loin derrière ses voisins et les territoires du Sud ne lui consacrant que des superficies réduites. » (Naili, 2013).

En revanche, les mêmes documents font état d'une régression de la production et une tendance à l'abandon de cette culture. C'est donc à Ghardaïa que le maïs reprend vie pour redonner espoir à la filière du lait et la viande. Lancée en 2011 à titre expérimental dans des régions du sud et des hauts-plateaux, la culture du maïs est en phase de domestication en Algérie.

Sur la base des études d'impact qui ont été menées ces dernières années, l'Institut technique des grandes cultures (ITGC) soutient énergiquement l'option d'aller vers l'intensification de la culture du maïs, qui semble jouir de potentialités pour être une filière économiquement viable en Algérie.

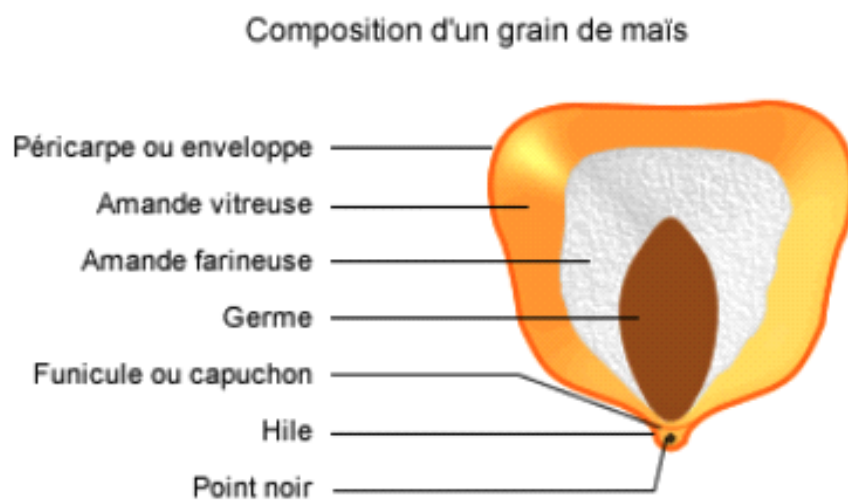
A présent, la superficie mobilisée pour cette culture céréalière est sur le point d'être élargie, font savoir des cadres de l'ONAB (office national des aliments de bétail). De 500 hectares en 2011, elle passera à 1200 ha en 2012, avant d'atteindre 10.000 ha en 2013. Parmi les régions ayant un fort potentiel pour la production de maïs, Naâma, Biskra, Ouargla et Ghardaïa avec des rendements qui sont estimés entre 80 et 100 quintaux/ha. A moyen terme, cette superficie sera élargie afin de contribuer activement à la réduction de la facture des importations (Naili, 2013).

La maïsiculture dans la wilaya d'Adrar a des perspectives prometteuses. La direction des Services agricoles (DSA) a fait état d'une superficie de 1.663 hectares consacrée en 2018 à la filière, dont 173 ha à la culture du maïs en grain ayant donné une production de 6.920 quintaux, et 1.490 ha au maïs d'ensilage ayant produit 596.000 quintaux. Pour la saison actuelle, la superficie dédiée à la maïsiculture a plus que doublé pour atteindre les 3.967 ha, prévoyant ainsi une hausse sensible de la production, notamment le maïs d'ensilage au fort rendement par rapport au maïs en grain, a-t-on précisé (<https://www.radioalgerie.dz/>).



Source : <https://www.bing.com/>

Figure 7. Structure d'un pied de maïs.



Source : <http://popcorn1.e-monsite.com/>

Figure 8. Composition d'un grain de maïs.

I.3. Biologie et physiologie du maïs

Le maïs est une plante herbacée annuelle, monoïque de hauteur variable et constituée d'une tige unique de gros diamètre, est lignifiée et formée d'entrenœuds généralement espacés d'une vingtaine de centimètres. À chaque nœud, deux feuilles s'insèrent de part et d'autre de la tige. Ces feuilles de grande taille (jusqu'à 10 cm de large et un mètre de long) possèdent une gaine enserrant la tige et un limbe allongé.

Le maïs a la particularité de posséder de nombreuses racines adventives au niveau du premier nœud à la base de la tige. Les inflorescences femelles sont regroupées en épis à l'aisselle des feuilles médianes. L'épi possède 12 à 20 rangées d'ovules surmontées de longs styles, les soies. L'inflorescence mâle ou panicule située à l'extrémité de la tige est constituée d'épilletés composés de deux fleurs. C'est une plante allogame. Les fleurs femelles sont fécondées par le pollen d'une autre plante, l'hybridation est naturelle chez le maïs <https://www.gnis-pedagogie.org> (Figure 7).

Le grain de maïs est un caryopse, fruit à péricarpe sec non déhiscent. Il est composé d'un embryon, de l'albumen et d'un péricarpe, il en existe plein de formes, de tailles et de couleurs : brun, jaune, rouge, blanc, mauve, multicolore, grains noirs minuscules ou orange... Le maïs fait preuve d'une capacité d'adaptation exceptionnelle qui est à l'origine de son succès mondial. L'embryon représente 11,5% du poids total du grain mature et contient des huiles végétales. L'albumen, avec 82,3% est le tissu majoritaire, composé essentiellement d'amidon. L'amidon est principalement constitué d'amylose, un polymère non-ramifié de glucose, et d'amylopectine, un polysaccharide constitué d' α -D-glucopyranose. Le péricarpe, enveloppe extérieure protectrice, quant à lui, représente 5,4% du poids du grain mature (Watson, 1962 ; Weber, 1987) (Figure 8).

Plusieurs études antérieures se sont intéressées à la composition métabolique du grain de maïs et ont conduit à l'identification de plusieurs centaines de métabolites dans les grains de maïs au stade mature, principalement des composés du métabolisme primaire (sucres solubles, acides aminés, acides organiques, lipides, nucléotides) (Manetti et al., 2006 ; Harrigan et al., 2007 ; Castro et al., 2008 ; Piccioni et al., 2009 ; Röhligh et al., 2009 ; Skogerson et al., 2010 ; Rao et al., 2014). Des métabolites secondaires appartenant à différentes familles telles que les phénylpropanoïdes, les terpènes ou encore les amines et polyamines ont également été identifiés chez le grain de maïs (Tableau 1).

Tableau 1 Métabolites secondaires identifiés dans le grain de maïs entier.

Classe	Sous-classe	Composé	Référence	
	acides			
Phénylpropanoïdes	phénoliques	acide <i>p</i> -coumarique	Röhlig <i>et al.</i> , 2009	
		acide 4-hydroxycinnamique	Skogerson <i>et al.</i> , 2010	
		acide caféique	Rao <i>et al.</i> , 2014	
		acide cinnamique	Röhlig <i>et al.</i> , 2009	
		acide férulique	Manetti <i>et al.</i> , 2006 ; Rao <i>et al.</i> , 2014	
		acide méthyl 3-methoxy-cinnamique	Röhlig <i>et al.</i> , 2009	
		acide méthyl ferulique	Röhlig <i>et al.</i> , 2009	
		acide méthyl <i>p</i> -hydroxy-cinnamique	Röhlig <i>et al.</i> , 2009	
		acide quinique	Skogerson <i>et al.</i> , 2010	
		acide sinapique	Rao <i>et al.</i> , 2014	
		acide vanillique	Rao <i>et al.</i> , 2014	
		<i>p</i> -coumaroyl sérotonine	Rao <i>et al.</i> , 2014	
		flavonoïdes	dihydrokaempferol	Rao <i>et al.</i> , 2014
			naringenine	Rao <i>et al.</i> , 2014
α -tocophérol	Röhlig <i>et al.</i> , 2009			
Terpénoïdes	γ -tocophérol	Röhlig <i>et al.</i> , 2009		
	Δ -tocophérol	Röhlig <i>et al.</i> , 2009		
	acide abscissique	Harrigan <i>et al.</i> , 2007		
	costunolide	Rao <i>et al.</i> , 2014		
Amines et polyamines		allantoïne	Skogerson <i>et al.</i> , 2010	
		2,5-dihydroxypyrazine	Skogerson <i>et al.</i> , 2010	
		choline	Manetti <i>et al.</i> , 2006 ; Piccioni <i>et al.</i> , 2009 ; Castro <i>et al.</i> , 2008	
		choline phosphate	Rao <i>et al.</i> , 2014	
		diméthylamine	Manetti <i>et al.</i> , 2006 ; Piccioni <i>et al.</i> , 2009 ; Castro <i>et al.</i> , 2008	
		éthanolamine	Rao <i>et al.</i> , 2014	
		glycine bétaïne	Harrigan <i>et al.</i> , 2007 ; Piccioni <i>et al.</i> , 2009	
		hydroxylamine	Skogerson <i>et al.</i> , 2010	
		putrescine	Skogerson <i>et al.</i> , 2010 ; Rao <i>et al.</i> , 2014	
		spermidine	Skogerson <i>et al.</i> , 2010 ; Rao <i>et al.</i> , 2014	
		trigonelline	Manetti <i>et al.</i> , 2006 ; Piccioni <i>et al.</i> , 2009 ; Castro <i>et al.</i> , 2008	
		triméthylamine	Piccioni <i>et al.</i> , 2009 ; Castro <i>et al.</i> , 2008	
		urée	Skogerson <i>et al.</i> , 2010	

Source : Gauthier, 2015

I.4 Phases de développement du maïs

Le cycle de développement du maïs est relativement court grâce à une photosynthèse spécifique qui lui permet de très bien valoriser la lumière et la chaleur. Le développement foliaire de la plante est spectaculaire, fabriquant une grande quantité de matière sèche en peu de temps. Le cycle du maïs se décompose en trois phases de développement bien distinct.

I.4.1. La phase végétative

Lors de cette phase, la tige et les feuilles se développent pour que le jeune plant de maïs devienne progressivement autotrophe. Les racines du maïs se développent dans les couches superficielles du sol pour prélever l'eau et les nutriments nécessaires pour la croissance de la plante. La durée de la phase végétative dépend évidemment de la précocité de la variété et des conditions climatiques (Figure 9) (<https://www.maisculturedurable.com/>).

I.4.2. Phase reproduction

La phase de reproduction correspond à la formation et au développement des organes reproducteurs. Entre le stade 50 % des feuilles visible soit 8 à 10 feuilles, et le stade « sortie de la panicule » se détermine le nombre potentiel d'ovules.

Les stades reproductifs commencent dès la fécondation et concernent uniquement le développement des grains qui achèvent leur maturation le plus généralement en octobre (Renoux, 2014).

I.4.3. La phase de développement de grain et de maturation

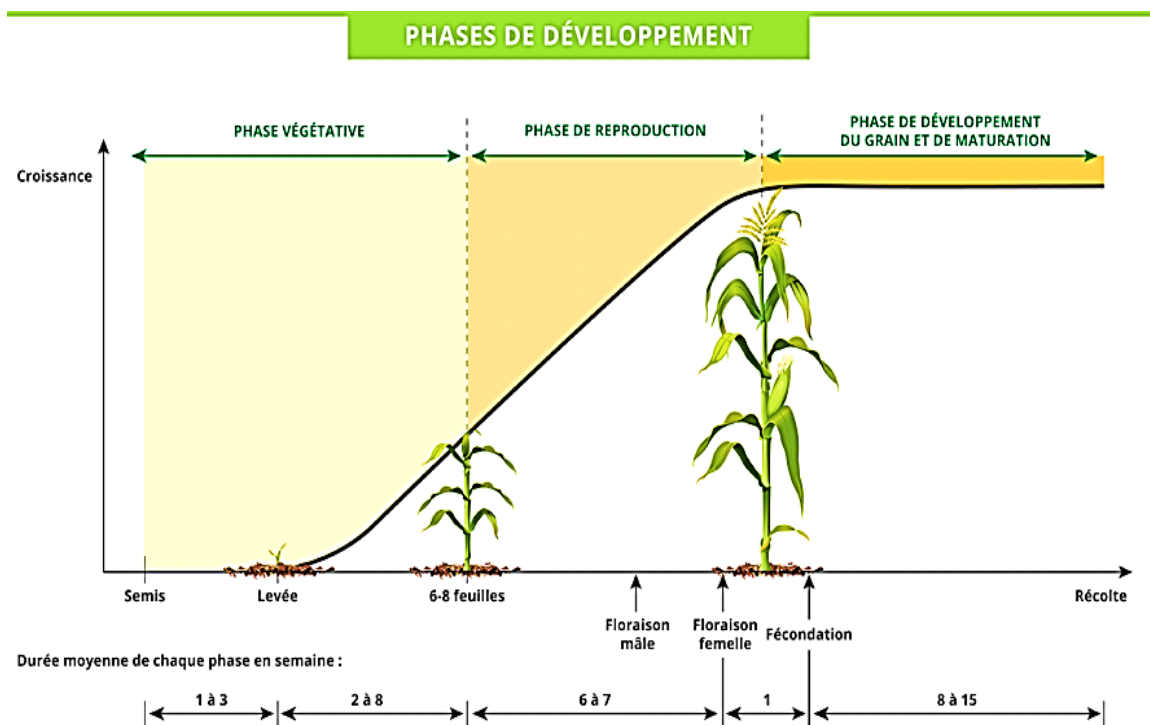
Cette partie de cycle débute par la fécondation et la définition du nombre de grains final. Pendant les trois semaines suivant la fécondation, la plante reste sensible aux stress en eau et azote et le rayonnement qui peuvent entraîner des avortements de grain. Les stades reproductifs traités ici au nombre de six, de R1 à R6, ne concernent que le développement du grain. Ces stades sont décrits dans le Tableau 2. R1 correspond à l'émergence des soies et à la pollinisation. Deux à trois jours sont nécessaires pour permettre la fécondation de tous les ovules sachant qu'un grain de pollen met environ 24 heures pour longer les soies. Au stade R2, l'embryon est complètement formé et l'endosperme est abondant. L'épi a atteint sa taille définitive et les soies commencent à dégénérer. Le stade R3 est synonyme d'accumulation d'amidon et les grains accusent une couleur jaune à l'extérieur. Au stade R4, l'endosperme du grain prend une consistance pâteuse due à une teneur quasiment optimale d'amidon. La déshydratation du grain

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

Tableau 2 : Différents stades du grain de maïs.

(Pons, 2010)

R	Stage	Stade	Quand ?
R1	Silking	Emergence des soies	65 jours après des soies de terre du
R2	blister	Gonflement	cotylédon
R3	Milk	Laiteux	10-14 jours après émergence des soies
R4	dough	Pâteux	18-22 jours après émergence des soies
R5	dent	Denté	24-28 jours après émergence des soies
R6	Physiological maturity	Maturité	35-42 après émergence des soies 55-65 après émergence des soies



Source : ARVALIS-Institut du végétal, 2018/2

Figure 9. Phases de développement.

I.5. Les agents pathogènes et maladies du maïs

Certains pathogènes peuvent nuire à la culture du maïs, en termes de rendement et / ou qualité. Plusieurs ravageurs tels que les insectes s'attaquent aux racines (taupins, chrysomèle) et aux parties aériennes (pyrale, sésamie, cicadelle, noctuelle, puceron, oscinie).

En effet Les chenilles de La Pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) sont connues pour attaquer les cultures de maïs, dont elles sont le principal ravageur, en s'alimentant de la moelle des tiges, les larves fragilisent les plantes qui deviennent plus sensibles à la verse, perturbent leur développement et favorisent l'infestation par des champignons tels les *Fusarium*. Les dégâts sont donc directs (baisse du rendement, récolte plus difficile en raison de la verse) et indirects (incidence plus forte des fusarioses, elles-mêmes responsables de la présence de mycotoxines (Picot,2010).

Le puceron vert du maïs également appelé *Rhopalosiphum maidis*, est un insecte hémiptère appartenant à la famille des Aphididae à une répartition cosmopolite et crée des dommages en laissant son miellat sur les plantes. Il est vecteur de nombreuses maladies (<https://fr.agroneo.com>).

Le charançon du maïs « *Sitophilus zeamais* Motschulsky » est un insecte granivore primaire de l'ordre des coléoptères. De couleur noir et marron, il appartient à la famille des Dryophthoridés. On le trouve ainsi dans les silos et tous les endroits de stockage de grains de maïs. Tandis que les oiseaux et certains mammifères comme les rongeurs peuvent attaquer les épis et les grains dès le semis, mais aussi à maturité (<https://www.arvalis-infos.fr/>) (Figure 10).

Quelques bactéries de type *Erwinia*, *Enterobacter* et *Pseudomonas* se développent sur le maïs. Ces bactéries vivent dans la tige, exploitant des voies d'entrées naturelles, type blessure. Certains virus comme Sobemovirus, un virus à ARN, peuvent parasiter le maïs. Ce virus est avec le virus de la mosaïque nanisante (MDMV), le plus répandu. Les nématodes, parasites des plantes, sont des vers microscopiques qui pénètrent les racines au stade larvaire et y forment des galles (ex : *Meloidogyne*) (de Leon, 1978).

On dénombre plusieurs champignons pathogènes du maïs parmi lesquels on peut compter ceux qui induisent la rouille du maïs (*Puccinia sorghi*), l'antracnose (*Colletotrichum graminicola*), l'helminthosporiose (*Helminthosporium turcinum*), le charbon du maïs (*Ustilago maydis*), ou encore la fusariose de l'épi. En plus d'affecter les rendements de récolte, la fusariose de l'épi génère également des problèmes phytosanitaires liés à la production de

toxines, appelées mycotoxines, produites par le champignon et qui s'accumulent dans les grains (Aouali et Douici, 2009).

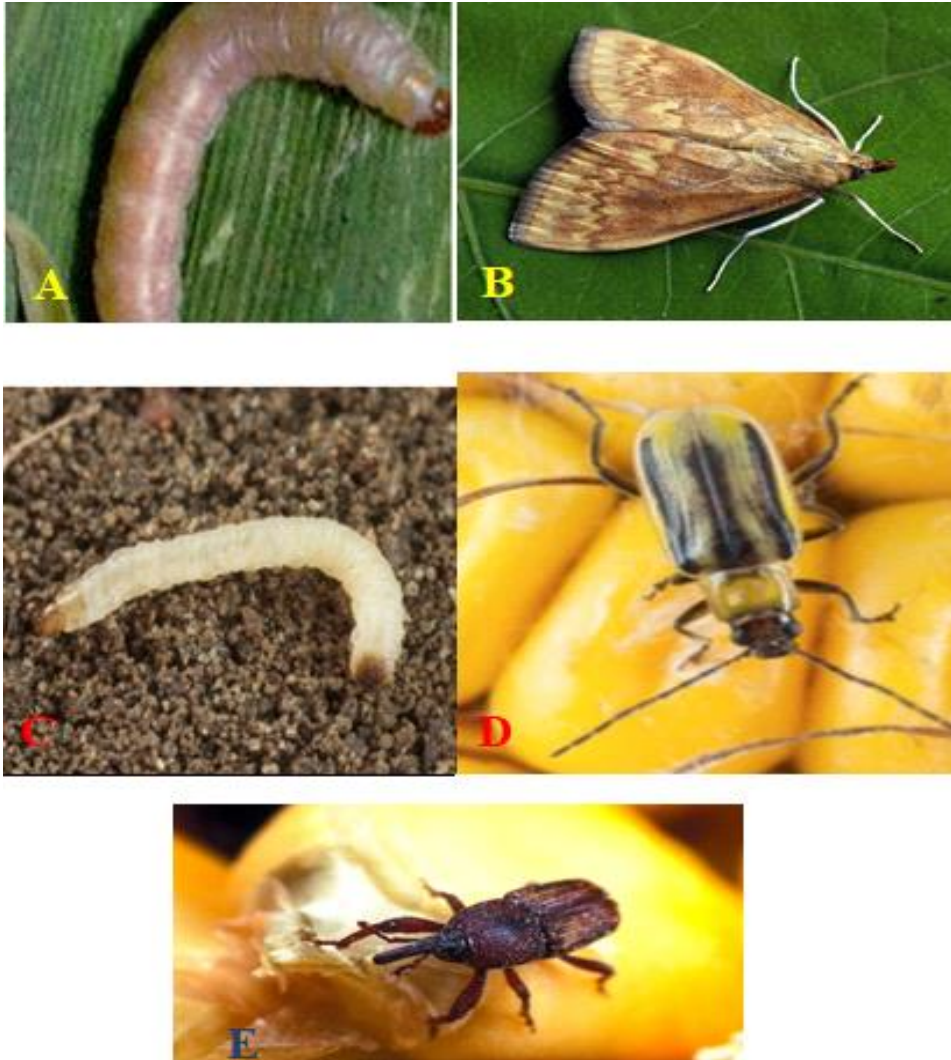


Figure 10. Quelques ravageurs de maïs. *Sesamionagrioides* au stade larvaire (A) et adulte (B) ; *Diabroticavirgifera* au stade larvaire (C) et adulte (D) ; *Sitophiluszeamai* Motschulsky adulte (E) ; Charançon.

(A et B) Source : <https://www.bayer-agri.fr/>.

(C et D et E) Photo. Laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection, MAPAQ

II. LA FUSARIOSE

La fusariose est une des maladies les plus fréquemment rencontrées dans la culture de céréales au champ. Elle est particulièrement préjudiciable aux céréales dites "à petits grains" comme le blé et le maïs. La fusariose a fait l'objet de plusieurs revues se focalisant sur ce type de culture (Sutton, 1982 ; Snijders et Perkowski, 1990 ; Parry et Jenkinson, 1995 ; Goswami et Kistler, 2004) ainsi que spécifiquement sur le maïs (Munkvold, 2003 ; Picot, Barreau et al., 2010).

Sous des conditions climatiques favorables, la fusariose peut attaquer à tous les stades de développement et tous les organes de la plante, depuis les racines jusqu'aux épis. Le terme "fusariose" des céréales regroupe trois types de symptômes :

- "Seedling Blight" (blé, maïs) : fusariose des semences, provoquent des manques à la levée et des fontes des semis

- "Foot Rot" (blé) / "Stalk Rot" (maïs) : fusariose du collet / tige, entraînant la nécrose de ces tissus

- "Head Blight" (blé) / "Ear Rot" (maïs): fusariose de l'épi (Figure 11).

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. C'est d'Amérique du Nord, et en particulier des Etats-Unis, que sont partis les premiers efforts concernant l'étude de la fusariose. La fusariose peut infester de nombreuses plantes ayant un fort intérêt économique, ce qui peut entraîner de lourdes conséquences financières.

Les champignons phytopathogènes responsables de la fusariose chez le maïs appartiennent exclusivement au genre *Fusarium* tandis que chez le blé on retrouve également *Microdochium nivale* et *M. majus* (Parry et al., 1995).

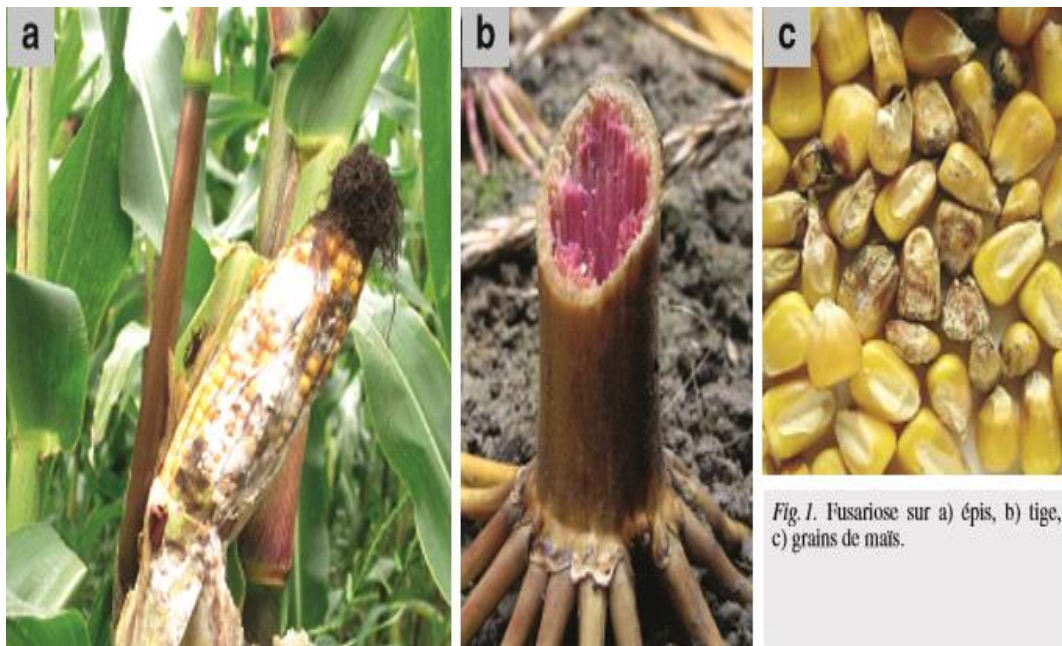
Chez le maïs, la fusariose de l'épi, sujet de cette étude, regroupe deux maladies distinctes liées à différents agents pathogènes. Le *Gibberella Ear Rot* ou *GER* est causée par les espèces fusariennes de la section *Discolor*, principalement *F. graminearum* Schwabe [teleomorph *Gibberella zae* (Schwein.) Petch], *F. culmorum*, *F. poae*, et *F. avenaceum* (Logrieco et al., 2002). Le *Fusarium Ear Rot* ou *FER* est causée par les espèces de la section *Liseola* formant le

complexe *Gibberella fujikuroi* qui comprend les espèces majoritaires *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, et *F. subglutinans* (Logrieco et al., 2002). Concernant la première maladie GER,

L'infection se propage en général à partir du sommet de l'épi, impliquant un passage par le canal des soies au préalable, donnant aux grains une couleur allant du rose au pourpre. La seconde, désignée sous le terme *FER* pour *Fusarium Ear Rot*, est caractérisée par des symptômes différents qui apparaissent de manière beaucoup plus aléatoire ou suite à une blessure de l'épi. Une coloration blanchâtre à rose pâle entre les grains est caractéristique bien qu'il ne soit pas rare de n'observer aucun symptôme (Munkvold, 2003).

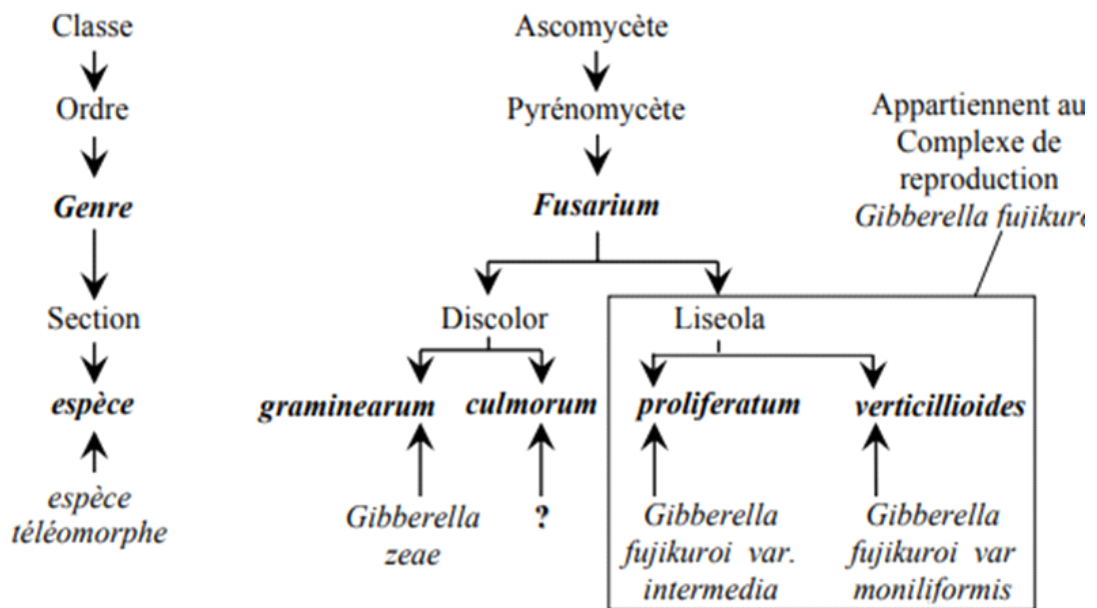
Cependant bien que les deux maladies provoquent des symptômes différents, il n'est pas rare que les techniciens agricoles éprouvent des difficultés à clairement les identifier. En effet, ces espèces peuvent cohabiter et d'autres agents pathogènes peuvent également être présents comme par exemple *Aspergillus* et *Penicillium*.

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. La fusariose affecte également les qualités nutritives et technologiques des grains, ce qui a des conséquences néfastes lors des processus de transformations industrielles des grains (Figure 11).



(Revue suisse, 2009)

Figure 11 : Fusarioses des épis et des tiges et des grains sur le maïs, provoquées par une infestation par des espèces de *Fusarium*.



Source (CIMMYT)

Figure 12. Classification simplifiée de *F. graminearum*, *culmorum*, *verticillioides* et *proliferatum*.

II.1. Les différentes espèces fusariennes inféodées au maïs

Fusarium : le pathogène principal inféodé au maïs. Le genre *Fusarium* tient son nom du latin *Fusus* (*fuseau*), en rapport à la forme de ses macroconidies fusiformes et cloisonnées.

La première et véritable description du genre *Fusarium* a été réalisée par Link en 1809. Il doit son nom du latin *fusus* (*fuseau*) en rapport à la forme de ses macroconidies fusiformes et cloisonnées. Ce genre inclut des espèces imparfaites appartenant à la classe des Deutéromycète, c'est le cas par exemple de *F. culmorum* appartenant à la section taxonomique *Discolor*, section à laquelle appartient également *F. graminearum* dont le téléomorphe bien identifié est *Gibberella zea*, ainsi que *Fusarium verticillioides* (anamorphe de *Gibberella moniliformis*) et *Fusarium proliferatum* (anamorphe de *Gibberella fujikuroi*) appartenant à la section *Liseola* (Samuels et al., 2001; Seifert, 2001; Kristensen et al., 2005).

Les formes parfaites ou téléomorphes de quelques espèces de *Fusarium* sont connues, et appartiennent à la classe des Ascomycètes sous les genres *Gibberella*, *Calonectria* et *Nectria*. A l'heure actuelle nous utilisons principalement un classement dérivé de celui de Nelson et al. (1983) lesquels regroupent les *Fusarium* dans 15 sections. Ce classement a été amendé par Burgess et al. (1994) puis par d'autres chercheurs grâce à l'utilisation des techniques de biologie moléculaire (Leslie et Summerell, 2006) (Figure 12).

Sur maïs l'espèce fusarienne toxigène prépondérante en Europe est *F. graminearum* (teleomorph : *Gibberellazeae*) de la section *Discolor* dont le génome de 36,1 Mb a été entièrement séquencé et dont les quatre chromosomes regrouperaient environ 11640 gènes (Cuomo, Guldener et al., 2007).

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

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

S'ensuivent ensuite des espèces plus minoritaires, comme *F. crookwellense* et *F. avenaceum* (teleomorph : *Gibberella avenacea*) appartenant également à la section *Discolor* ainsi que *F. poae* et *F. sporotrichioides* (section *Sporotrichiella*) (Logrieco, 2002). *F. graminearum* et *F. culmorum*, associés à ces espèces provoquent des symptômes allant du rouge au pourpre communément appelé *GER* ou « *maize ear rot* ». (Brennan, Fagan et al., 2003) ont montré que in vitro, *F. graminearum* et *F. culmorum* étaient les espèces les plus pathogènes comparées à *F. poae* et *F. avenaceum*, indiquant que les différentes espèces n'ont pas toutes le même pouvoir pathogène. Dans de nombreux pays méditerranéens *F. culmorum* et *F. pseudograminearum* ont été signalées comme espèces dominantes sur blé, comme la Tunisie, (Kammoun et al., 2010 ; Kammoun et al., 2009), l'Algérie (Touati et al., 2016 ; Abdallah-Nekache et al., 2019), la Syrie et l'Égypte (Alkadri et al., 2013, Balmas et al., 2015) (Tableau 3).

Tableau 3. Espèces du complexe fusarien sur maïs en Europe.

Espèces classées par fréquence de contamination sur maïs en Europe	Toxines produites
<i>F. graminearum</i>	TCTB, ZEA
<i>F. verticillioides</i> (complexe GF)	FUM, MON
<i>F. proliferatum</i> (complexe GF)	FUN, MON, BEA
<i>F. subglutinans</i> (complexe GF)	BEA, MON, (et FUM)
<i>F. culmorum</i>	TCTB, ZEA,
<i>F. avenaceum</i>	MON, ZEA, ENNS
<i>F. acuminatum</i>	TCTA, MON, BEA
<i>F. crookwellense</i> (= <i>cerealis</i>)	TCTB, ZEA
<i>F. poae</i>	TCTB(NIV)
<i>F. sporotrichioides</i>	TCTA
<i>F. equiseti</i>	TCTA, TCTB, ZEA
<i>F. oxysporum</i>	Fumonisines C
<i>F. pseudograminearum</i>	TCTB

Sources : Logrieco, 2002, Logrieco and Visconti, 2004 ; données compilées par Laëtitia Pinson-Gadais

Complexe GF : Complexe *Gibberella fujikuroi* ; FUM : Fumonisines ; MON : Moniliformine

BEA : Beauvericine ; TCTA : Trichothécènes de type A (T2, HT2) ; TCTB : Trichothécènes de type B ; ZEA : Zéaralénone ; ENNS : Enniantines.

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

La source principale d'inoculum se trouve dans le sol, principalement sur les résidus du précédent cultural (Sutton, 1982). Le maïs étant généralement cultivé en rotation courte avec une ou deux autres cultures, on retrouve très souvent des résidus de culture de maïs dans le sol. Le pathogène survit d'autant mieux que les résidus se dégradent lentement comme ceux de maïs. Les adventices des cultures sont aussi suspectées d'entretenir un certain inoculum mais leur impact n'est pas encore clairement défini (Jenkinson et Parry ,1994 ; Parry et Jenkinson,1995). Le grain de maïs semé peut être déjà contaminé et alors devenir une source d'inoculum importante (Parry et Jenkinson, 1995).

Comme présenté sur la (Figure 13), *F. graminearum* survit sous forme de mycélium ou de chlamydospores (forme saprophyte) puis se propage par la formation de périthèces sur les résidus. Les ascospores éjectées par les périthèces peuvent être dispersées par le vent, l'eau ou les insectes avant d'atteindre les épis de maïs. La voie d'inoculation primaire se fait via le canal des soies juste après leur émergence (Munkvold, 2003).

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

Les macroconidies (reproduction asexuée) et les ascospores (reproduction sexuée) peuvent se retrouver à des distances de l'ordre du kilomètre dispersées par le vent ou certains insectes (Francl, Shaner et *al.*, 1999 ; Maldonado-Ramirez, Schmale Iii et *al.*,2005)

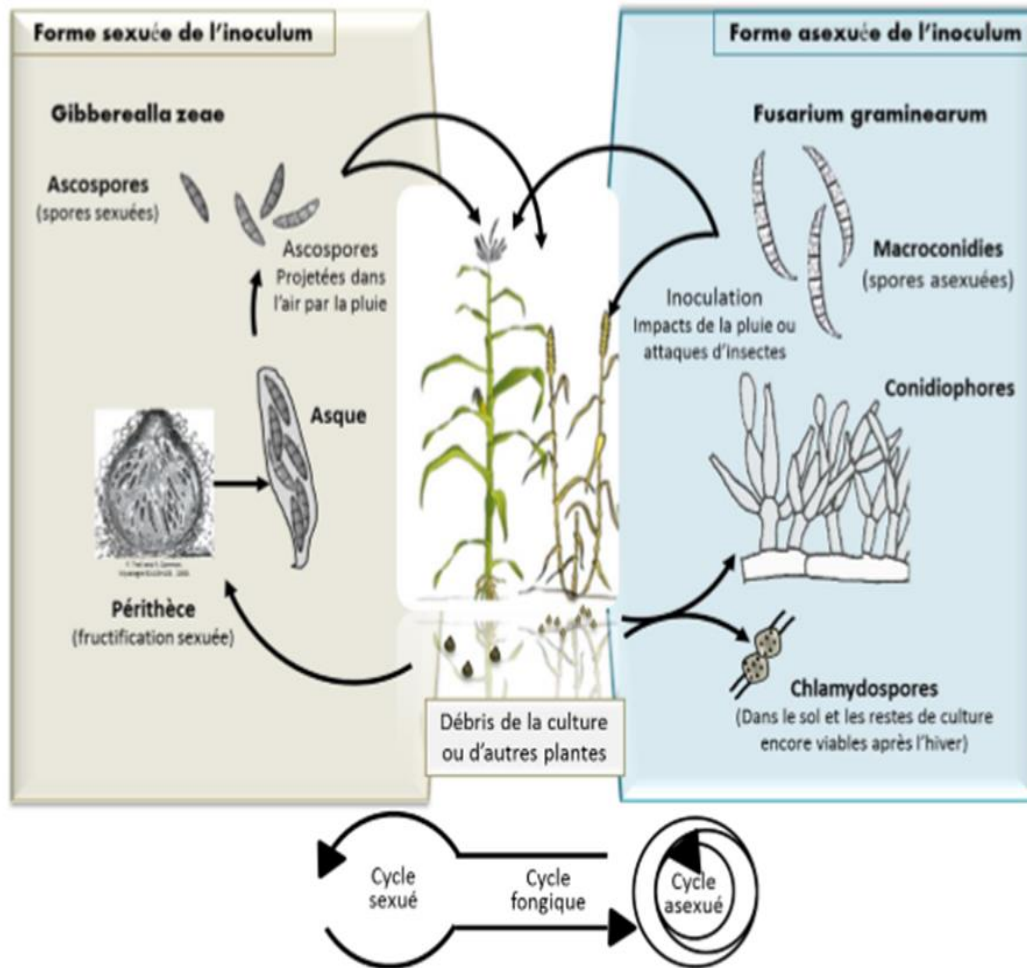
(Miller, Reid et *al.*, 2007) ont montré que quatre à six heures après inoculation des soies, les conidies de *F. graminearum* commençaient à germer et 48 h après, l'hyphe pénétrait dans les

cellules de l'épiderme des soies pour ensuite croître à la fois à la surface et dans les soies. Le mycélium blanc se propage à travers le canal des soies jusqu'à atteindre les grains où il prend une teinte rouge-rosé. L'infection se propage alors jusqu'aux grains les plus précoces à travers le pédicelle.

F. graminearum ne possède pas de structures spécialisées comme un appressorium et un haustorium. La colonisation est donc favorisée grâce à des enzymes de dégradation de la paroi cellulaire (CWDE pour Cell wall degrading enzymes) comme des cellulases, des pectinases, des xylanases ou encore des feruloylsterases (Wanjiru, Zhensheng et *al.*, 2002 ; Kikot, Hours et *al.*, 2009 ; Phalip, Goubet et *al.*, 2009).

L'épi peut également être infecté suite à une blessure du grain par un insecte, même si cette voie d'infection reste mineure (Matarese et *al.*, 2012). Dans ce cas, le développement fongique commence au site de la blessure puis se répand vers les extrémités de l'épi (Reid et Shina, 1998).

Le GER peut généralement être identifié par la présence de mycélium dans les tons rose à pourpre sur les grains à partir du canal des soies. Dans certains cas, du mycélium rosé peut apparaître sur les spathes externes et en cas d'infection sévère, il est alors impossible de séparer les spathes des grains.



Source : (Trail, 2009)

Figure 13 : Cycle infectieux de *F. graminearum*.

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

Certaines espèces de *Fusarium* ont la capacité de produire des mycotoxines. Ces molécules toxiques, issues du métabolisme secondaire fongique, sont nocives pour l'homme comme pour les animaux d'élevage. Il existe différentes mycotoxines, produites par les mêmes ou différentes espèces de *Fusarium* nommées également « fusariotoxines ».

Parmi les plus connues on trouve la famille des trichothécènes produites par certaines espèces appartenant à la section *Discolor* et la famille des fumonisines produites par de nombreuses espèces appartenant à la section *Liseola*. La zéaralénone, suite à ses effets oestrogéniques, est également bien étudiée (Bennett et Klich, 2003).

II.3.1. Les fumonisines

Les fumonisines constituent une famille de mycotoxines regroupant 28 analogues séparés en quatre types : A, B, C et P. Les fumonisines les plus abondantes sont de type B, elles représentent plus de 95% du total des fumonisines contaminant le maïs (Rheeder et al., 2002). Les fumonisines sont des aminopolyalcools dérivés de l'alanine. Elles sont constituées d'une chaîne de 20 carbones estérifiée en C14 et C15.

La structure chimique de la fumonisine B1 a été identifiée en 1988 (Bezuidenhout et al., 1988). D'autres types de fumonisines ont également été caractérisés et présentent une chaîne carbonée sur laquelle s'insèrent 2 acides tricarballoyliques. Le nombre et la position de groupements hydroxyles différencient les différents membres de cette famille.

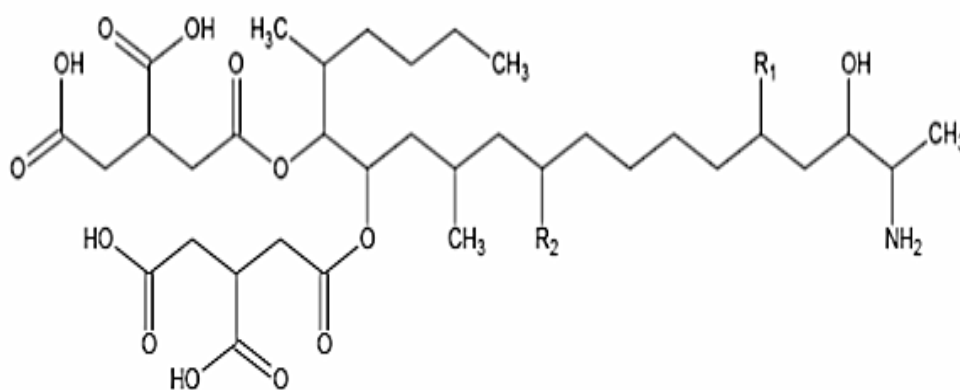
Plus d'une soixantaine de fumonisines ont été décrites jusqu'à présent (Bartók et al., 2006) mais les fumonisines B1, B2 et B3 restent les fumonisines les plus abondamment produites par les champignons *F. verticillioides* et *F. proliferatum*. Les fumonisines sont produites par les espèces de la section *Liseola*. Le principal producteur est de loin *F. moniliforme* qui est rencontré dans le monde entier. C'est aussi l'un des champignons les plus couramment rencontrés sur maïs. Ce dernier peut contenir de fortes teneurs en fumonisines bien que les épis montrent une apparence normale c'est-à-dire sans pourriture ni décoloration des grains (Figure 14 et tableau 4).

Les fumonisines sont des molécules polaires, ce sont des solides amorphes solubles dans l'eau, mais non solubles dans les solvants apolaires. Elles ont un poids moléculaire de 722g/mole, le point de fusion est d'environ 105°C (Vesonder et al., 1992). Les FBs n'absorbent

pas les ultraviolets et ne sont pas fluorescentes, c'est pourquoi, pour les détecter, il convient de les dériver. Les spectres infrarouges révèlent des pics d'absorption à 3450, 2934, 1729 et 1632 cm^{-1} . La Fumonisine BI a une rotation optique $[\alpha]_D = -28^\circ$.

Les fumonisines sont des contaminants très fréquents des aliments à base de maïs en Afrique, en Chine, en France, en Indonésie, en Italie, en Amérique du Sud, en Thaïlande et aux États-Unis. Les niveaux de contamination observés sont parfois très importants : 3600-11600 μg FB1/kg de maïs au Kenya (Kedera et al., 1999) et 2117 μg FB1/kg dans le sorgho en Éthiopie (Ayalew et al., 2006), 6100 μg FB1/kg dans le maïs au Brésil (Vargas et al., 2001), 18500 μg FB1/kg dans du maïs en Corée (Ah Seo et Lee, 1999), ce maïs contenant aussi de la Fumonisine B2 (5600 $\mu\text{g}/\text{kg}$) et de la fumonisine FB3 (2500 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

Par comparaison, le maïs produit en Europe présente des niveaux de contamination plus faibles (Arino et al., 2007).



Source : (Tabuc, 2007)

Figure 14. Structure générale des fumonisines.

Tableau 4. Les principales fumonisines.

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

Source : (Tabuc, 2007)

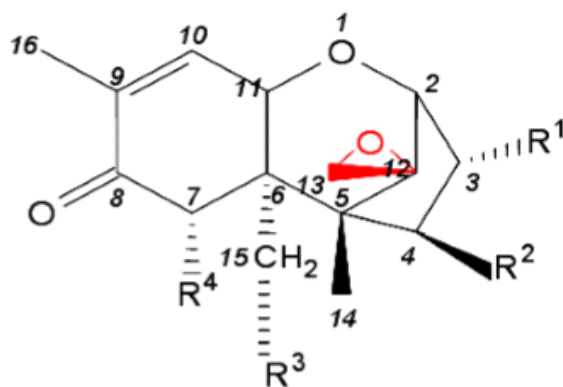
II.3.2. Les Trichothécènes

Les trichothécènes sont des mycotoxines produites par de nombreux *Fusarium* dont les principaux sont *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium poae* et *Fusarium sporotrichioides*. Plus de 190 molécules ont été identifiées comme appartenant à ce groupe de mycotoxines. Ils sont divisés en quatre catégories ou types (A, B, C, D) le trichothécène des groupes A et B sont largement présents sur céréales et denrées alimentaires tandis que les types C et D sont rarement rencontrés et ne se pas étudiés. Le groupe A : ce sont les trichothécènes qui ne possèdent pas de fonction cétone en C8, tandis que le groupe B : ce sont les trichothécènes caractérisés par une fonction cétone en C8.

Dans l'alimentation, les plus fréquemment retrouvés sont le nivalénol (NIV), le déoxynivalénol (DON), sont les toxines de groupe B et les toxines T2 et HT2 de groupe A, ces toxines sont les plus fortement associées avec des toxicoses chroniques et fatales chez l'homme, ainsi que chez l'animal (Desjardins, 2006 ; Li et al., 2011 ; Parent-Massin et al., 2013).

La toxine T2, et sa forme dé-acétylée HT2, sont celles qui ont attiré le plus l'attention ces dernières décennies en raison de leur toxicité, bien qu'elles soient peu détectées en comparaison à d'autres trichothécènes. La toxine T2 a été isolée pour la première fois en 1968 chez *Fusarium tricinctum*, renommé aujourd'hui *Fusarium sporotrichioides*, à partir de maïs moisi en France. Le DON, également appelé vomitoxine du fait des symptômes engendrés, est le trichothécène le plus important en termes d'exposition humaine, mais un des moins toxiques (Desjardins, 2006 ; Li et al., 2011 ; Richard, 2007).

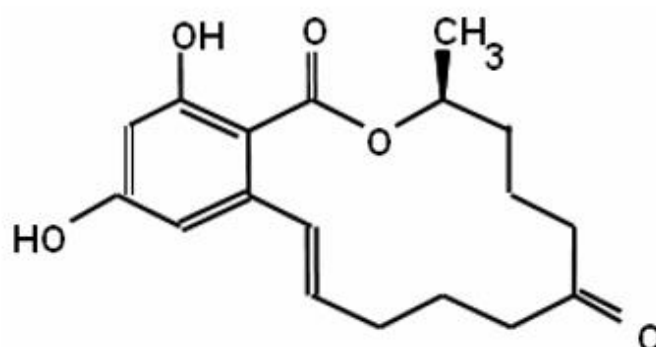
Les trichothécènes du groupe B sont produites, principalement, par *Fusarium graminearum*, *F. nivale* et *F. culmorum*. Les trichothécènes de groupes A et B peuvent être produites aussi par d'autres espèces de *Fusarium* : *F. acuminatum* et *F. sambuccinum* produisent des trichothécènes du groupe A et *F. crookwellense* des trichothécènes du groupe B. Les TCT B comprennent, entre autres, le déoxynivalénol (DON) et ses formes 15- et 3-acétylées (15-ADON et 3-ADON), le nivalénol (NIV) et sa forme acétylée la fusarenone X (FX) (Bottalico et Perrone, 2002) (Figure 15).



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

Source : (McCormick et al., 2011)

Figure 15. Structure chimique des trichothécènes de type B.



(Abbas et al, 1997).

Figure 16. Structure chimique de la zéaralénone.

Le groupe C réunit des trichothécènes produites par les espèces de genres *Trichoderma* et *Trichothecium*. Les trichothécènes du groupe D sont produites par les espèces de genres

Myrothecium et *Stachybotrys*. Les trichothécènes de ce groupe, les plus connues, sont la roridine, la verrucarine et les satratoxines (DiMello et al., 1997 ; Placinta et al., 1999).

Les trichothécènes sont des molécules non volatiles. Elles sont insolubles dans l'eau mais hautement solubles dans l'acétone, l'acétonitrile, l'éthanol, le méthanol... Ces molécules sont stables à la lumière, aux UV, à l'air, ainsi qu'à des pH neutres et acides, ce qui implique l'absence d'hydrolyse dans l'estomac après ingestion. Ces mycotoxines ne sont pas détruites par autoclavage, mais elles requièrent un chauffage à 480°C pendant 10 min ou 260°C pendant 30 min pour obtenir une inactivation complète. L'utilisation de solutions d'hypochlorite de sodium (3 à 5%) est également efficace pour les inactiver (Li et al., 2011 ; Rocha et al., 2005 ; Wannemacher et al., 1997).

Ainsi, l'élimination de cette famille de mycotoxines, sans dégrader l'aliment contaminé, est difficile une fois celle-ci présente. Le rinçage ou l'élimination des cuticules des grains peut toutefois diminuer le taux de contamination dans les produits alimentaires, le risque n'étant pas supprimé pour autant.

II.3.3. Zéaralénone

La première description des symptômes cliniques provoqués par cette toxine a été effectuée en 1927 par Buxton, bien que la toxine elle-même n'ait pas été identifiée. En effet, elle n'a été nommée et décrite structurellement qu'en 1966 par Urry et al. (Desjardins, 2006 ; Gaumy et al., 2001).

La ZEA a été détectée comme contaminant naturel du maïs, de l'orge, du blé et du sorgho (Siame et al., 1998 ; Vargas et al., 2001; Fazekas et Tar, 2001; Odhav et Naicker, 2002).

La zéaralénone est produite principalement par *Fusarium graminearum*, mais aussi *Fusarium culmorum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium verticillioides* et *Fusarium crookwellense*, dans les champs de maïs. La synthèse de la mycotoxine dépend des conditions environnementales, puisqu'elle est favorisée par une humidité élevée et une faible température. Elle est majoritairement produite dans les zones tropicales et/ou tempérées (Magan et Olsen, 2004 ; Ripert, 2013).

La zéaralénone est la lactone désaturée à fonction cétone de l'acide résorcyclique (Zea : maïs ; RAL : Resorcyclicacidlacton ; ène ; one).

Le cycle de la lactone comporte 11 atomes de carbone. La double liaison 1'-2' permet une isométrie cis-trans. Elle est insoluble dans l'eau, mais soluble dans les solutions aqueuses alcalines. Elle est également soluble dans le chloroforme, l'acétate d'éthyle, l'acétonitrile, le benzène et les cétones. Elle a une fluorescence dans le bleu vert lorsqu'elle est irradiée à 365nm et en vert à 260 nm. Son absorption UV à 274nm est utilisable pour les analyses (DiMello et *al.*, 1997 ; Placinta et *al.*, 1999).

La zéaralénone est une toxine fréquente dans le maïs et les produits de maïs, mais sa présence a été aussi détectée dans le soja et diverses céréales et graines, ainsi que dans leurs sous-produits. La présence de zéaralénone est régulièrement observée en association avec d'autres fusariotoxines, en particulier le déoxynivalénol, le nivalénol et les fumonisines (DiMello et *al.*, 1997).

II.4. Toxicité et Législation

De par leur structure chimique très différente, ces trois familles de mycotoxines ont des effets toxiques variés sur l'homme et les animaux (Tableau 5).

Dans un principe de précaution, compte tenu des données attestant de la toxicité aiguë et potentiellement chronique des mycotoxines pour l'homme et la filière animale, la commission européenne a fixé des teneurs maximales autorisées pour les produits à destination de l'alimentation humaine ainsi que des recommandations pour l'alimentation animale.

Les seuils réglementaires sont fixés selon les doses journalières tolérables (DJT) établies par le Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine (CSAH). À titre d'exemple, le consommateur doit être exposé à des doses inférieures à 1 µg/kg/j pour le DON et de 0,7 µg/kg/j pour le NIV. Le règlement n°856/2005 du 6 juin 2005 révisé le 28 septembre 2007 lors de la commission n°1126/2007 autorise des lots de maïs bruts non transformés contenant au maximum 1750 µg/kg de déoxynivalénol, 4000 µg/kg de fumonisines B1 + B2 et 350 µg/kg de zéaralénone.

Les limites sont plus drastiques ensuite pour les différentes fractions de mouture, les produits à base de maïs, les céréales petit-déjeuner à base de grains ainsi que pour l'alimentation pour bébé où l'on ne peut dépasser les 200 µg/kg concernant le DON et les fumonisines B1 + B2 et seulement 20 µg/kg de zéaralénone.

Tableau 5. Toxicologie des fusariotoxines.

Toxines	Effets	Sources
Fumonisines	Hépatotoxique, hépatocarcinogène chez le rat Génotoxiques, neurotoxiques Carcinogène possible chez l'Homme (substance toxique de type 2B (IARC))	Bennett et Klich, 2003
Trichothécènes	Inhibition de la synthèse protéique et de la prolifération cellulaire Toxiques : - pour les animaux (troubles de la fertilité, vomissements, troubles de l'immunité) - pour les plantes (problèmes de germination, flétrissement, nécrose tissulaire)	Bennett et Klich 2003 ; Leung et <i>al.</i> , 2006
Zéaralénone	Inhibition la synthèse des protéines et des acides nucléiques Apoptose Effets oestrogéniques	Bennett et Klich, 2003

II.5. Méthodes analytiques de détermination des mycotoxines

Pour l'analyse des mycotoxines habituellement présentes à l'état de traces, il existe une plusieurs méthodes catégorisées en deux groupes : les méthodes rapides de criblages comme les méthodes immunologiques et la chromatographie sur couche mince (CCM) et les méthodes quantitatives comme les chromatographies liquides ou gazeuses (HPLC et GC), basées essentiellement sur la séparation chromatographique des molécules puis leur détection par fluorimétrie ou spectrométrie. Avant leur quantification, les mycotoxines présentes dans les produits agricoles.

II.5.1. Chromatographie

La chromatographie est une méthode de séparation des constituants d'un mélange même très complexe. Il existe trois principaux types de chromatographie :

- la chromatographie en phase gazeuse (CPG)
- la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)
- la chromatographie en couche mince (CCM) (<https://www.lachimie.fr/>).

II.5.1.1. Chromatographie sur couche mince

Chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode encore largement utilisé pour des mesures quantitatives et semi-quantitatives de mycotoxines avec détection par

fluorodensitométrie ou procédures visuelles (limite de détection de 0,01 ppm). Chromatographie sur couche mince à base de gel de silice, gel de silice F254 fluorescente d'un gel de silice imprégné d'acide organique a été rapporté à appliquer pour la détection des mycotoxines communes telles que l'aflatoxines, la citrinine et les fumonisines (Lin, 1998).

II.5.1.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

Les méthodes de chromatographie Gazeuse couplée aux détecteurs a ionisation de flamme (flamme ionisation detector (FID), électroncapture Detector (ECD) et spectrométrie de masse (MS) étaient les méthodes les plus couramment employés pour la détermination quantitative simultanée des trithothécenes dans les céréales et les produits dérivés. La chromatographie gazeuse couplée à un détecteur MS (GC /SM) offre l'avantage de la confirmation de l'identité des pics chromatographiques et peut être aussi utilisée pour détecter plusieurs mycotoxines simultanément (Tanaka et *al.*, 2000).

II.5.1.3Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est largement acceptée comme une méthode officielle pour la détermination des toxines. Il est appliqué en conjonction avec les UV, la fluorescence, la détection ampérométrique ou spectrofluorimétrie (Jiménez et *al.*, 2000).

II.5.2. Méthodes immunochimiques

Les tests immunochimiques sont basés sur les interactions entre les anticorps et les antigènes que constituent les mycotoxines. Les anticorps doivent être fortement spécifiques pour identifier les composés structurellement très différents. Les analyses immunochimiques telles que *l'enzyme linked immunosorbent assay* (ELLISA) sont devenues très populaires dans le criblage de mycotoxines (Zheng et *al.*, 2006). Plusieurs études ont développé et utilisé les méthodes immunochimiques pour l'analyse des Trichothécènes, l'OchratoxinesA, la Zéaralénone et la Fumonisine B1 dans les céréales (Zheng et *al.*, 2006 ; Krska et Josephs, 2001).

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

Comme il n'existe aucun traitement chimique efficace, la gestion et la prévention passe par la mise en œuvre de pratiques culturales adaptées. Des outils d'aide à la décision existent pour aider à diminuer les risques liés aux mycotoxines, Ils sont basés sur les données climatiques, les dates de semis et de récolte, les précédents culturaux, la gestion des résidus et le facteur

variétal donnent des prévisions cohérentes entre elles (Decoin ,2006). Concernant le maïs, l'outil Qualimètre DON sur maïs est opérationnel depuis 2007.

Pratiques agricoles pour limiter l'apparition de la maladie

La maîtrise des niveaux de contamination en toxines ne peut être réalisée sans une connaissance précise des facteurs environnementaux et cultureux impactant la qualité sanitaire des maïs.

Plusieurs facteurs peuvent moduler l'apparition et le développement de la maladie notamment au champ. Ces facteurs ont été hiérarchisés par Arvalis – Institut du végétal et sont regroupés dans la Figure17.

Le climat a une incidence majeure sur le développement de la maladie. Aussi une période pluvieuse précédant de peu ou coïncidant avec l'émission des soies est un facteur clef de contamination. Cet épisode pluvieux permet la production des périthèces sur les résidus de culture (Picot, Barreau et *al.*, 2010) ainsi que l'éjection des ascospores matures. Humidité et température supérieure à 20 °C au moment de la floraison permettent la germination des ascospores et l'infection proprement dite. Ce facteur étant incontrôlable, Arvalis place le précédent cultural et le travail du sol comme leviers majeurs pour lutter contre le développement de la maladie.

Un autre facteur primordial est la date de récolte est un élément clef pour limiter le risque DON.

Appuyant ce rôle important de la date de récolte, (Blandino et *al.*, 2009) ont observé les plus bas niveaux de contaminations en trichothécènes lorsque la date de semis était précoce, que la densité du champ était la plus faible (65 000 plantes / ha) ainsi qu'aux plus faibles doses d'engrais azotés ajoutées.

La gestion des résidus est un paramètre important intégré dans les grilles agronomiques. La source d'inoculum de la fusariose est multifactorielle et il est essentiel de maîtriser ces facteurs afin de limiter la densité de l'inoculum au maximum (Sutton 1982 ; Parry et Jenkinson 1995 ; Schaafsma, Tamburic-Ilinic et *al.*, 2001 ; Edwards 2004 ; Miller, 2008).

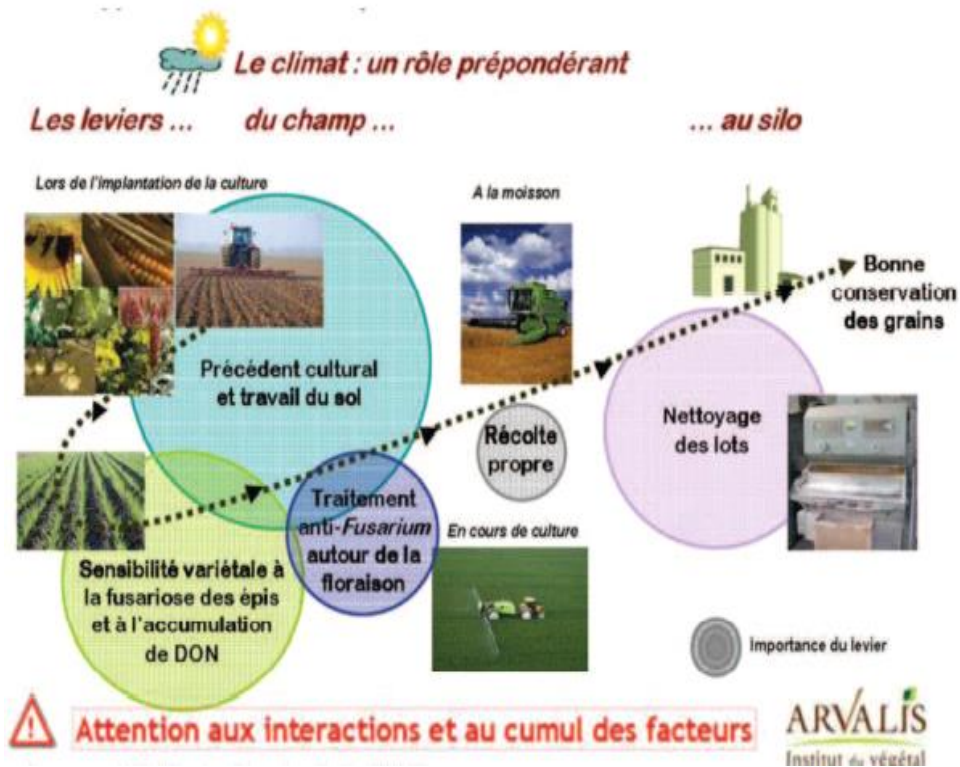
La rotation des cultures permet de limiter la présence de céréales sensibles à l'infection et la survie du champignon (McMullen et *al.*, 1997). Ainsi, la culture du soja avant une culture de maïs diminue la fréquence et la sévérité de la maladie.

Cependant, les résidus de céréales sont plus nombreux et plus difficiles à détruire permettant à *Fusarium* de survivre dans le sol sous forme de chlamydiospore ou de mycélium saprophyte selon les espèces (Parry, 1995).

La rotation des cultures est donc primordiale. La source d'inoculum sera diminuée si les résidus sont brûlés ou enlevés, pratique agricole plus efficace qu'un broyage et des résidus laissés en surface. Un travail du sol adapté permet de dégrader les résidus de cultures et de limiter la présence de sources d'inoculum responsable de la maladie (Parry et al., 1995, Sutton, 1982). Sur le même plan que le facteur gestion des résidus se trouve l'impact du choix variétal.

En effet (Schaafsma et Hooker, 2007) ont indiqué que le poids du facteur variétal était un des plus importants, influençant les teneurs en déoxynivalénol à hauteur de 25% et que combiné au facteur climatique, il expliquerait 42% des variations des teneurs en mycotoxines.

Enfin, l'utilisation de fongicides apparaît comme un remède aux effets limités. Ainsi, leur application présente des effets variables qui dépendent de la molécule active mais également de la date d'application et des espèces fongiques présentes sur l'épi. Il existe une sensibilité différente des espèces incriminées à la fusariose en fonction des molécules actives utilisées. Par exemple, *F. graminearum* est particulièrement sensible aux triazoles alors que *M. nivale* l'est beaucoup moins (Champeil et al., 2004, Parry et al., 1995).



Source : ARVALIS-Institut du végétal 2009

Figure 17. Les différents facteurs à maîtriser pour limiter l'apparition de la fusariose de l'épi et ses conséquences (source Arvalis – Institut du végétal).

Tableau 6. Recommandations pour limiter les risques de DON et ZEN sur maïs au champ.

DON - ZEA	Facteur de risque	Recommandations
+++	Date de récolte et décalage de cycle	<ul style="list-style-type: none"> C'est le facteur primordial. Les dates des récoltes tardives et/ou les variétés très tardives semées tard sont à éviter: la date limite à retenir est le 1^{er} novembre.
++	Sensibilité variétale Non labour, absence de broyage de résidus	<ul style="list-style-type: none"> C'est un facteur identifié, les variétés les plus sensibles surtout sont à éviter, ou à ne pas cumuler avec d'autres facteurs de risque. C'est un sujet complexe où les interactions des différents facteurs sont difficiles à démêler. Retenons que le labour, la qualité et la finesse de broyage des résidus sont importants pour préserver la qualité sanitaire.
+	Présence de foreurs Hygrométrie excessive	<ul style="list-style-type: none"> Les foreurs, pyrale surtout (sur les épis) favorisent la présence des champignons, les parcelles à hygrométrie excessive favorisent l'expression des DON certaines années.
Autres facteurs		<ul style="list-style-type: none"> Chassons une idée reçue: la monoculture n'est pas défavorable à la qualité sanitaire.

Source : <http://www.arvalisinstitutduvegetal.fr/>

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel végétale

➤ Echantillons utilisés

Les échantillons de maïs utilisés dans cette étude sont au total 17 variétés. Ils ont été collectés dans différentes régions céréalières de l'Algérie, et de diverses variétés (Tableau 7).

Les échantillons sont divisés en 3 lots. Un premier lot comporte 6 Échantillons de maïs produit en Algérie et collectés de quatre Wilayas différentes auprès des paysans ; un deuxième composé de quatre (4) échantillons importés de France et les échantillons du troisième lot ont été prélevés de plusieurs points de vente dans la région de Laghouat, afin d'obtenir une hétérogénéité des prélèvements. Le poids minimum de l'échantillon est de 500g. Tous les échantillons ont été conservés à 4°C dans des sacs en polyéthylène jusqu'à l'analyse.

Tableau 7 : Listes des lots des variétés des maïs analysée.

Espèce	Variétés	Région géographique	Année de récolte
Maïs	VL01	Bordj sounuci /Laghouat	2019
	VL02	Laghouat	2019
	VL03	Kaser heran	2019
	VL04	Ghardaïa	2018
	Abed wahide Ahmed	Méniéa	2019
	VL05	Laghouat	2018
	Scandics F 0252X4B0207	France	2017
	VL06	Laghouat	2019
	VL07	Sidi Makhloof	2018
	VL08	Ghardaïa	2018
	VL09	Ghardaïa d'origine Brazil	2019
	VL10	Adrar	2019
	VL11	Adrar	2019
	VL12	Kaser heran	2017
	V15 Importé	France	2019
	V16 Importé	France	2019
	V17 Importé	France	2019

II. Méthodes

II.1. Isolement et identification morphologique des *Fusarium* spp. Présents au niveau des grains de maïs

Au cours de cette étude, nous nous sommes intéressés à apprécier le taux de contamination des grains de maïs par le genre *Fusarium* et identifier le chémotype de l'ensemble des producteurs de TCTB, de ZEA et de FB1 d'un pool d'échantillons récoltés durant l'année 2019/2020.

Pour isoler les espèces de *Fusarium*, un sous-échantillon de 100 grains de chaque échantillon est désinfecté superficiellement dans une solution aqueuse d'hypochlorite de sodium à 2% pendant 3 min, puis rincé trois fois avec de l'eau distillée stérile pendant 1 min. Les grains sont placés aseptiquement sur un milieu de culture Dichloran-Chloramphenicol-Peptone-Agar (DCPA, Annexe 1) (Cromey et al., 2002). Pour chaque échantillon, 10 boîtes de DCPA milieu sont utilisées.

Le milieu DCPA est utilisé pour la détection spécifique des *Fusarium* spp et les boîtes de pétri sont incubées pendant 6 à 7 jours dans une enceinte climatisée, thermostatée à 22°C (+/- 3°C) avec une photopériode d'éclairage et d'obscurité alternant toutes les 12 heures ou encore à 25 °C dans une étuve réfrigérée à l'obscurité (Figure 18).

Le milieu DCPA étant semi sélectif, seules les espèces du genre *Fusarium* vont se développer de manière conséquente sur le milieu (vitesse de croissance radiale >2 mm / jour et mycélium aérien abondant). Ce milieu ne permet pratiquement aucune pigmentation du thalle des champignons qui s'y développent, les cultures apparaissent donc généralement blanches à rose très pâle. De plus, il a été montré que ce milieu était significativement plus efficace que le milieu PDA pour la détection des *Fusarium* spp. (Ioos, 2001).

Les colonies développées à partir des grains et qui semblent appartenir au complexe fusarien, ont été repiquées sur un nouveau milieu PDA. Après 5 à 7 jours d'incubation à 25 °C, les différentes colonies ont été séparées en groupes selon l'aspect des colonies. Ensuite, des cultures monospores ont été réalisées à partir de colonies représentatives de chaque groupe puis repiquées sur le milieu PDA, pour une éventuelle identification morphologique. Les isolats, une fois purifiés, sont conservés en tubes à essai sur le milieu PDA.

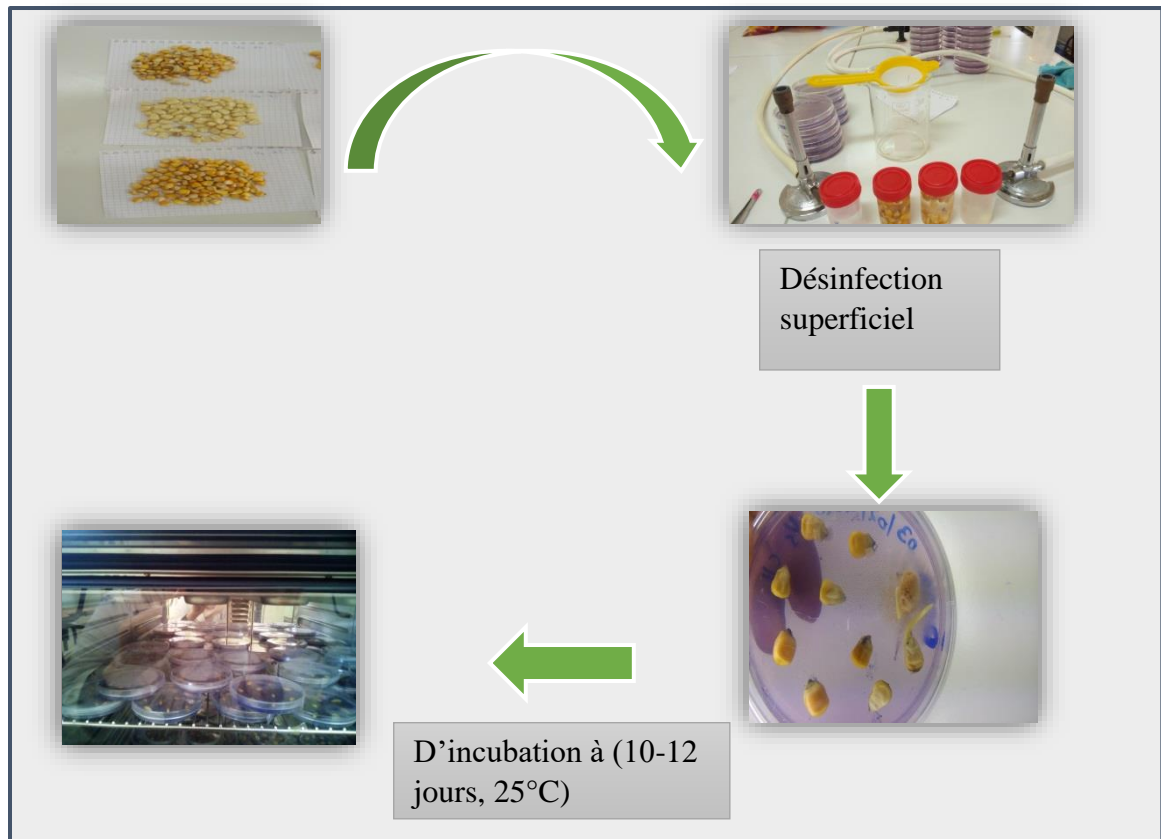


Figure 18 : Technique de plaquage directe (2020).

II.2. Méthode de purification

II.2.1. Repiquage successif

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

II.2.2. La culture monospore

Pour l'obtention de culture monospores axénique, nous avons utilisé deux techniques :

- La première technique a été décrite par Guettatni, 1954. Le mode opératoire consiste à stériliser des boîtes de Pétri en verre contenant chacune une lame porte objet, puis à couler dessus l'eau gélosée à 2%, de façon à obtenir une couche mince de 1 à 2 mm d'épaisseur. Après solidification, on prépare une suspension de spores à partir de cultures relativement jeunes, des dilutions successives sont réalisées de manière à obtenir une concentration finale de l'ordre de 10^{-2} à 10^{-3} spore/ml.

Une goutte de suspension est étalée uniformément sur la lame porte objet. Les boîtes sont ensuite incubées sous une lumière continue et à une température comprise entre 18 et 25° C.

Après 16h d'incubation, lorsque les spores commencent à émettre des tubes germinatifs, un prélèvement monospore est alors effectué sous une loupe binoculaire et repiqué en boîte pétri contenant le milieu PDA.

➤ La deuxième technique est la « single spore » par scarification :

Le protocole a été établi dans le laboratoire MycSA Bordeaux par Christian Barreau. Les suspensions de spores requises pour inoculer les boîtes de pétri contenant le milieu PDA, ont été obtenues en ajoutant un morceau d'implant de chaque échantillon dans 6 mL d'eau distillée stérile par tube suivi par une agitation modérée, de façon à obtenir une faible concentration finale de 10² spores/ml par comptage sur cellule de Thoma. Enfin, chaque boîte a été inoculée par 10µL d'une suspension sporale, à l'aide d'une anse de platine un étalement sous forme des striés (scarification) ou bien en forme de L sont réalisées ce qui permet la sédimentation des spores dans la gélose. Puis les boîtes ont été placées à l'obscurité à 25 °C. Après 24 heures d'incubation, les spores commencent à émettre des tubes germinatifs, un prélèvement monospore est effectué et repiqué en boîte pétri contenant le milieu PDA. Après 7 à 10 jours d'incubation, les colonies obtenues sont pures.

II.2. Identification morphologique des isolats

La détermination morphologique d'une espèce de *Fusarium* spp. repose sur l'observation de nombreuses caractéristiques anamorphiques sur le milieu PDA.

La morphologie des colonies à savoir la densité, la pigmentation du mycélium, ainsi que l'extension de la colonie ont été notées. Les caractéristiques microscopiques ont été déterminées aussi. Il s'agit de l'observation des types de spores développées, de la forme, de la taille et de la septation des macroconidies, ainsi que de la présence ou de l'absence des chlamydospores et peritheces.

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

Les macroconidies de *F. culmorum* et *F. graminearum* sont directement identifiées sur le milieu DCPA (Hocking and Andrews, 1987). Les autres isolats de *Fusarium* spp. sont transférés du milieu DCPA vers un milieu PDA favorisant la sporulation des *Fusarium*. Après

6 à 10 jours d'incubation à 22°C, des prélèvements pour observation sont effectués systématiquement.

Ces prélèvements consistent à récolter du mycélium aérien en plusieurs endroits de la culture, ainsi que des sporodochia repérées, sur lesquels sont produites des macroconidies de taille et de forme relativement homogène et typique de l'espèce, puis les transférer dans une goutte de colorant : bleu coton ou acide fuchsine pour observation au microscope.

Les résultats de l'identification des espèces fongiques contaminant le Maïs sont exprimés en pourcentage de grains infectés dans chaque échantillon de la façon suivante :

$$\text{Moyenne(\%)} = \frac{\text{nombre de grains infectés par un genre ou espèce}}{\text{nombre totale des grains}} \times 100$$

La fréquence et la densité relative des genres et des espèces sont calculées selon les formules de Marasas et *al.* (1988a)

$$\text{Fréquence} = \frac{\text{nombre d'échantillons contaminés par genre ou une espèce}}{\text{nombre totale des grains}}$$

$$\text{Densité relative (\%)} = \frac{\text{nombre d'isolats d'un genre ou d'une espèce}}{\text{nombre totale des genres ou espèces isolées}} \times 100$$

II.4. Quantification par HPLC de la production des fusariotoxines par les isolats

De *Fusarium* spp

II.4.1. Culture sur Maïs et riz pour extraction des fumonisines et trichothécènes

Le riz et le maïs ont été utilisés pour quantifier respectivement les teneurs en trichothécènes de type B (TCTB) et des fumonisines produites par 18 Isolats de *Fusarium* sur le riz et 10 isolats sur le maïs.

Au préalable le riz et le maïs utilisés comme substrat ont été vérifié qu'ils ne contenaient aucune trace de TCTB (NIV, DON, fusarenon X (FX), 15-ADON et 3-ADON) et de fumonisines détectables. Avant inoculation, le riz et maïs ont été humidifiés avec de l'eau distillée stérile durant 48 heures pour que l'activité thermodynamique de l'eau (*aw*) des grains soit ajustée entre 0,98 et 1,00. Puis, 110 g de grains ont été distribués dans des Erlenmeyer de

500 ml, puis stérilisés deux fois par autoclavage à 110 °C pendant 25 min comme décrit par Bakan et *al.* (2001).

Les isolats de *Fusarium* spp. Ont été repiqués dans des tubes PDA inclinés et incubés pendant 9 jours à 25 °C à l'obscurité. Les suspensions de spores requises pour inoculer le riz et le maïs ont été obtenues en ajoutant 6 ml d'eau distillée stérile par tube suivi par une agitation modérée. Le volume nécessaire d'inoculum a été ajouté stérilement de façon à obtenir une concentration finale de 10⁴ spores/ml par comptage sur cellule de Thoma.

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

Notre analyse n'a pas pu être achevée jusqu'au bout, malheureusement nous n'avons pas pu faire la dernière étape de l'extraction et identification des fusariotoxine.

Cette dernière étape concerne l'analyse, des fractions de 5 g de chaque échantillon broyé, devraient être extraites par 20 ml d'un mélange acetonitrile: eau (84/16 ; v/v), puis mises en agitation pendant 1 heure suivie d'une centrifugation; 3 ml de filtrat normalement récupérés de la phase organique, ensuite évaporés dans une étuve à (50 °C). Les échantillons seront conservés à -4°C pour l'analyse ultérieure à l'HPLC. Mais nos manipulations au laboratoire ont été rompue à cause du confinement imposé par l'état suite à la propagation du Covid-19. Malheureusement nous n'avons pas arrivé à atteindre nos objectifs visés.

RESULTATS ET DISCUSION

I. Recherche de la flore fusarienne responsable de la contamination des grains de maïs en Algérie

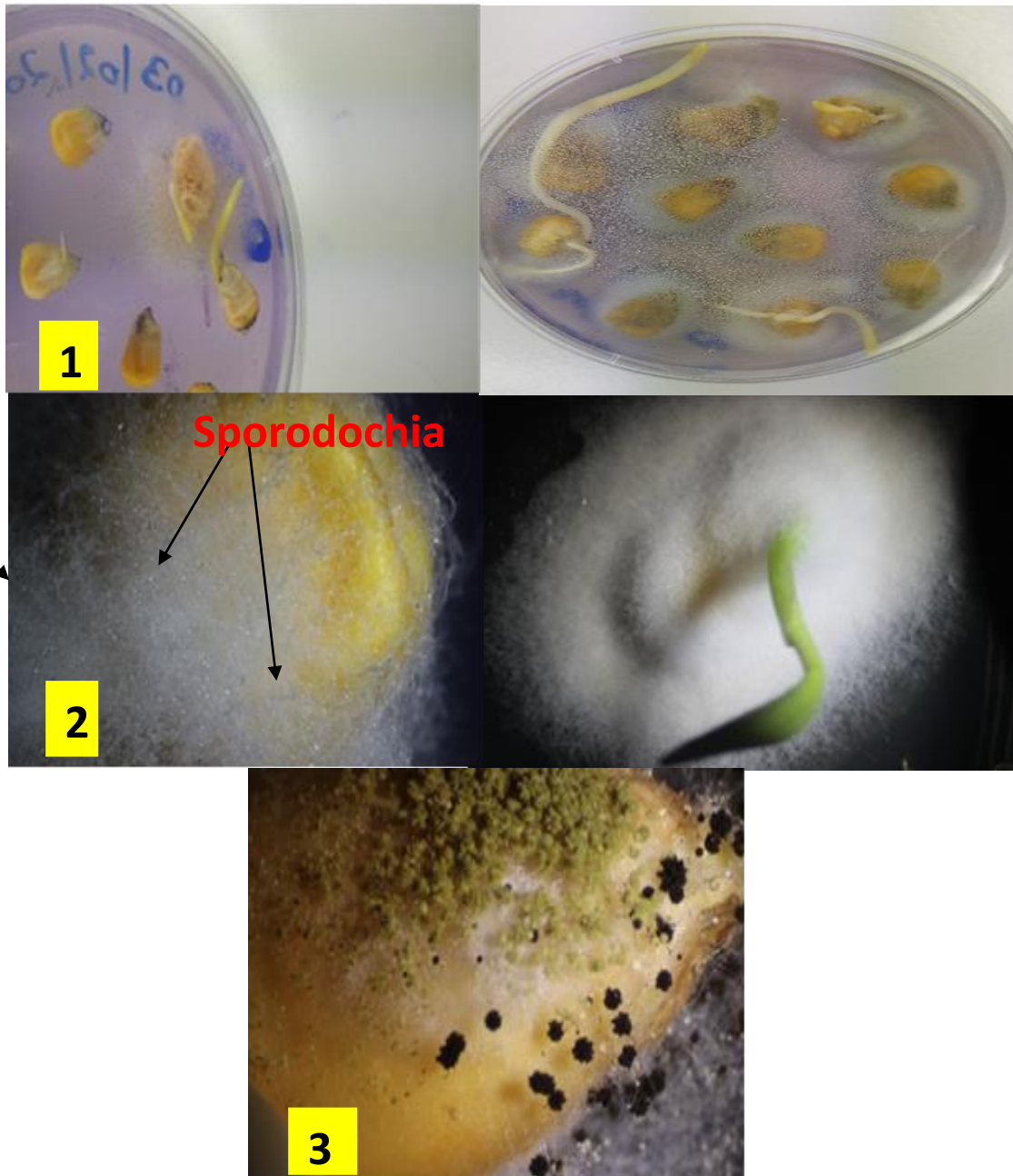
Cette étude a été conduite dans le but d'isoler et identifier les espèces de *Fusarium* spp. Qui contaminent le maïs en Algérie d'un pool de 17 échantillons récoltés sur trois années de récolte en 2017, 2018 et 2019. Parmi eux, des échantillons cultivés et produits en Algérie et d'autres échantillons importés.

A partir de 100 grains collectés, les champignons appartenant aux genres *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus* et *Penicillium* ont été isolés, dénombrés, identifiés et conservés. Le potentiel mycotoxinogène des Fusaria devrait être confirmé et déterminé, mais malheureusement ça n'a pas été fait, car nous avons été obligés d'arrêter les manipulations au laboratoire.

I.1. Isolements et identification de la mycoflore totale associée aux semences

Une population de 810 isolats a été récupérée à partir des maïs étudiés. Les résultats de la composition de la mycobiota (flore fongique) des grains de maïs sont détaillés dans le tableau (Tableau 8).

L'identification des moisissures a été effectuée en utilisant un schéma taxonomique basé sur les caractères morphologiques. Le genre *Alternaria*, *Penicillium* et *Aspergillus* et indépendamment des années étaient toujours minoritaire comparé au genre *Fusarium*. Le taux de contamination des grains de maïs par *Alternaria*, *Penicillium* et *Aspergillus* étaient respectivement de 1,35%, 3,82 %, 6,29% et par le genre *Fusarium* de 35,70%.



Source : Original

Figure 19. Germes de maïs infectés par la moisissure des neiges (*Fusarium* spp.), caractérisée par une couche des spores de teinte blanche et rose pâle.

- (1) : Grains de maïs contaminés par *Fusarium* et *Aspergillus* sur DCPA
- (2) Colonies de *Fusarium* spp. sur DCPA
- (3) Colonies d'*Aspergillus* spp. sur DCPA

Tableau 8. Taux de contamination de la semence par les microflores externe et interne (810 Isolats)

Espece	Variété	Région	Année de récolte	<i>Fusrium</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>	Total
Maïs	VL1	Laghouat	2019	55	0	40	0	95
	VL2	Laghouat	2019	70	14	7	0	91
	VL3	Kaser heran	2019	98	0	2	0	100
	VL4	Ghardaïa	2018	14	0	34	2	50
	Abed wahide Ahmed	Méniéa	2019	15	1	0	0	16
	VL5	Laghouat	2018	7	0	16	4	27
	ScanDics F0252X4 B0207	France	2017	17	1	2	0	20
	VL6	Laghouat	2019	11	1	0	0	12
	VL7	Sidi Makhloufe	2018	45	0	1	1	47
	VL8	Gardaïa	2018	56	0	0	19	75
	VL9	Gardaïa	2019	43	1	1	27	73
	VL10	Adrar	2019	19	0	0	1	20
	VL11	Adrar	2019	15	1	0	0	16
	VL12	Kaser heran	2017	19	0	0	1	20
	V15 Importe	France	2019	34	0	0	3	37
	V16 Importe	France	2019	48	2	2	3	55
	V17 Importe	France	2019	41	2	2	4	49
Nombre total d'isolat/genre				607	22,95	106,17	64,94	

Taux de Contamination % =47,64%.

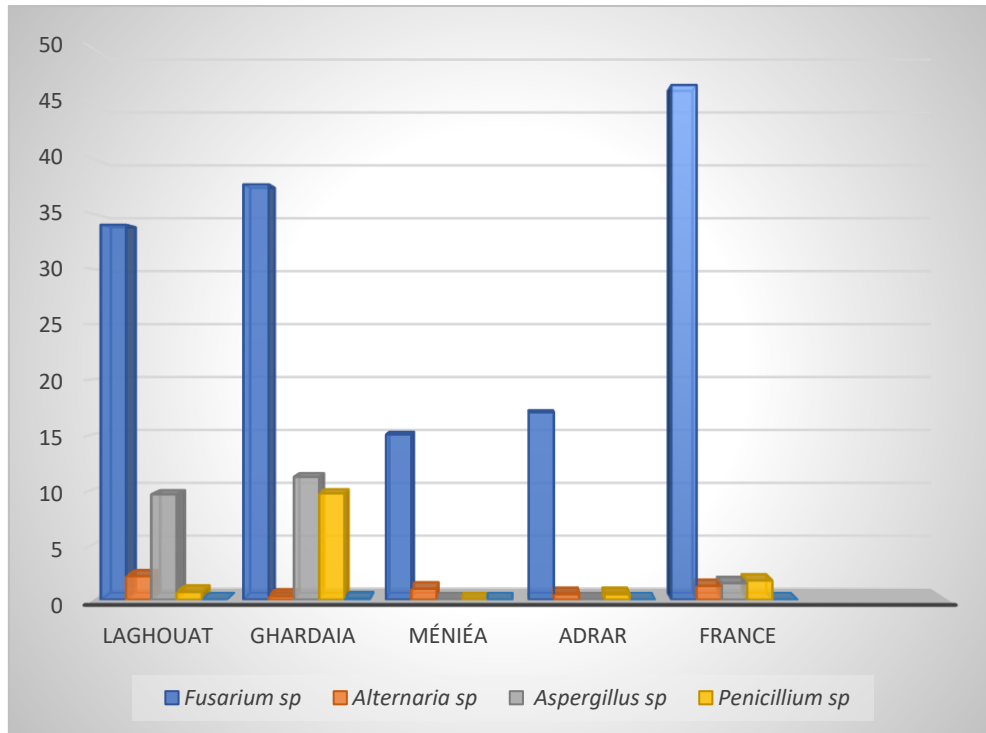


Figure 20. Présentation des pourcentages des infestations des mycoflores externes et internes « *Fusarium spp* » chez le maïs par régions et par variétés.

Les résultats obtenus montrent que les variétés (VL1, VL2 et VL3) sont les plus contaminées avec un taux de contamination de 95%, 91% et 100%. Alors que les variétés (VL10 et VL11) présentent un taux de contamination de (75% et 73%) et en fin les variétés (VL5, VL6, VL7 et VL8) ont montré un faible taux de contamination de l'ordre de (16%, 27%, 20% et 12%).

De plus, les résultats ont montré des contaminations par les deux genres d'*Aspergillus* et *Penicillium* dans les variétés de la région de Ghardaïa avec un pourcentage de (10% et 12%). Au niveau des variétés de la région de Laghouat un taux de contamination de 9% a été noté par *Aspergillus*.

I.2. Identification et caractérisation de la flore fusarienne toxigène présente au niveau des grains de maïs

Afin de pouvoir développer des variétés résistantes à la fusariose et plus particulièrement à l'accumulation de TCTB et fumonisine, il est important de connaître les relations qui existent entre les espèces présentes dans les grains de maïs et le potentiel toxigène de chaque espèce. De nombreux travaux ont été publiés sur céréales (pour revue voir Niessen et al., 2007). De très bonnes corrélations ont été décrites sur blé entre les teneurs en DON et les

quantités d'ADN de *F. graminearum* et *F. culmorum*, mais peu de données sont disponibles concernant le maïs. Au cours de ce premier axe de mémoire, nous nous sommes intéressés à apprécier le taux de contamination des grains de maïs par l'ensemble des producteurs de TCTB, de ZEA et de fumonisines.

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

Les colonies obtenues de *Fusarium* présentent le plus souvent un mycélium peu abondant blanc rosé ou rose jaune le verso est rouge carmin ou blanc jaune, la texture du thalle est du veteuse. L'identification morphologique a permis de montrer l'implication de 11 espèces à savoir : *F. graminurum*, *F.culmorum* *F.nygami* *F.pseudonygami*, *F.equisti*, *F.verticilloide*, *F.thapsinum*, *F.acumtinatum*, *F.subglutinas*, *F.laterritum*, *F.avenaccum* (Figure 22,23,24,25).

Le diagramme circulaire montre les pourcentages de chaque espèce de *Fusarium* où nous observons que le *Fusarium graminurum* est le plus dominant par rapport aux autres espèces et qui se focalise principalement dans les variétés importées de la France.

Les résultats de nos isolements ont révélé qu'en Algérie *F. graminearum* est l'espèce prédominante représentant une densité de 28,36 % des espèces isolées.

L'espèce *F. F.nygami* était la deuxième espèce par ordre d'importance avec une densité d'isolement de 18%.

La présence de *F.culmorum* . *F.thapsinum*. *F.verticilloide*. Avec des densités entre 9% et 10,64 % Ont été notée suivie par les espèces de *F.avenaccum*. *F.pseudonygami* . *F. equiseti* *F.subglutinas*. *F F.laterritum* . *F.acumtinatum* . Avec des fréquences relativement faibles Entre 7,09 et 1,41% (Tableau 9) et (Figure 20).

Tableau 9. La Fréquence et la densité des isoléments des espèces de *Fusarium* spp. à partie des grains infestés chez le maïs.

Culture	Espèce	Densité %	Fréquence
Maïs	<i>F.graminurum</i>	28,36	0,4
	<i>F.nygami</i>	18	0,26
	<i>F.verticilloide</i>	9	0,12
	<i>F.pseudonygami</i>	6	0,09
	<i>F.thapsinum</i>	9,21	0,13
	<i>F.acumtinatum</i>	1,41	0,02
	<i>F.subglutinas</i>	2,84	0,04
	<i>F.laterritum</i>	2,13	0,03
	<i>F.avenaccum</i>	7,09	0,1
	<i>F.culmorum</i>	10,64	0,15
	<i>F.equiseti</i>	5	0,07

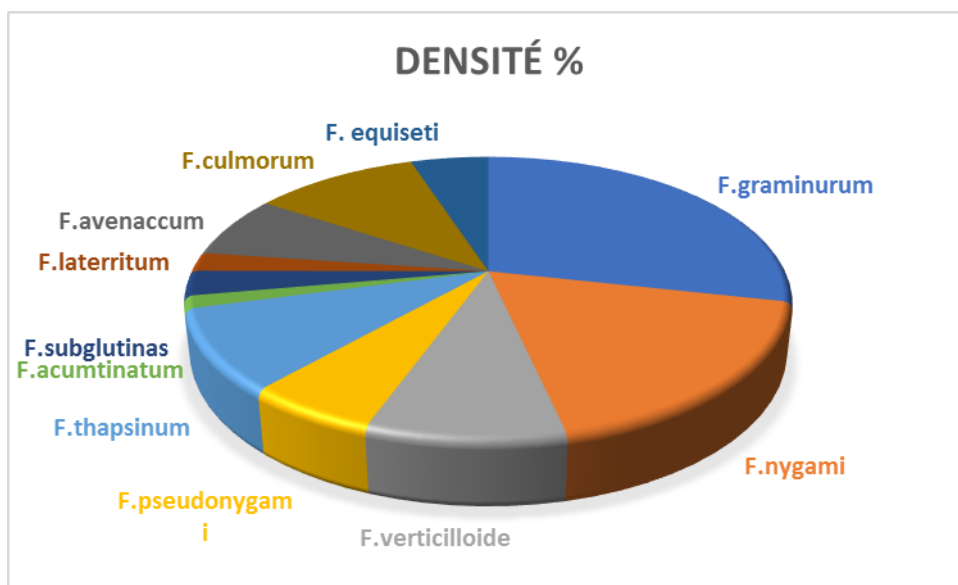


Figure 21. La diversité des espèces de *Fusarium* spp dans le maïs.

Nous avons remarqué aussi, que ces taux de contamination se diversifient selon la région géographique. En effet, nous avons noté un taux de contamination par *Fusarium* spp. >50% pour les 3/7 variétés du maïs de la région de Laghouat, suivis par les variétés Françaises et celles de Ghardaïa qui ont présenté respectivement des pourcentages de >30% à <50% sur les ¾ variétés et entre >30% à <50% et >50%. Les taux de contaminations les plus faibles ont été observés chez les variétés des régions d’Adrar et de Ménéia avec un pourcentage respectivement de 15% >à <30% (Tableau 9).

Tableau 10. Taux de contamination par le genre de *Fusarium* isolé à partir des échantillons de maïs selon la région de récolte

Région géographique	Année de récolte	Nbr de variétés	>0% à <15%	15% >à <30%	>30% à <50%	>50%
Laghouat	2017-2019	7	2	1	1	3
Ghardaïa	2018-2019	3	1		1	1
Ménéia	2019	1		1		
Adrar	2019	2		2		
France	2017-2019	4		1	3	

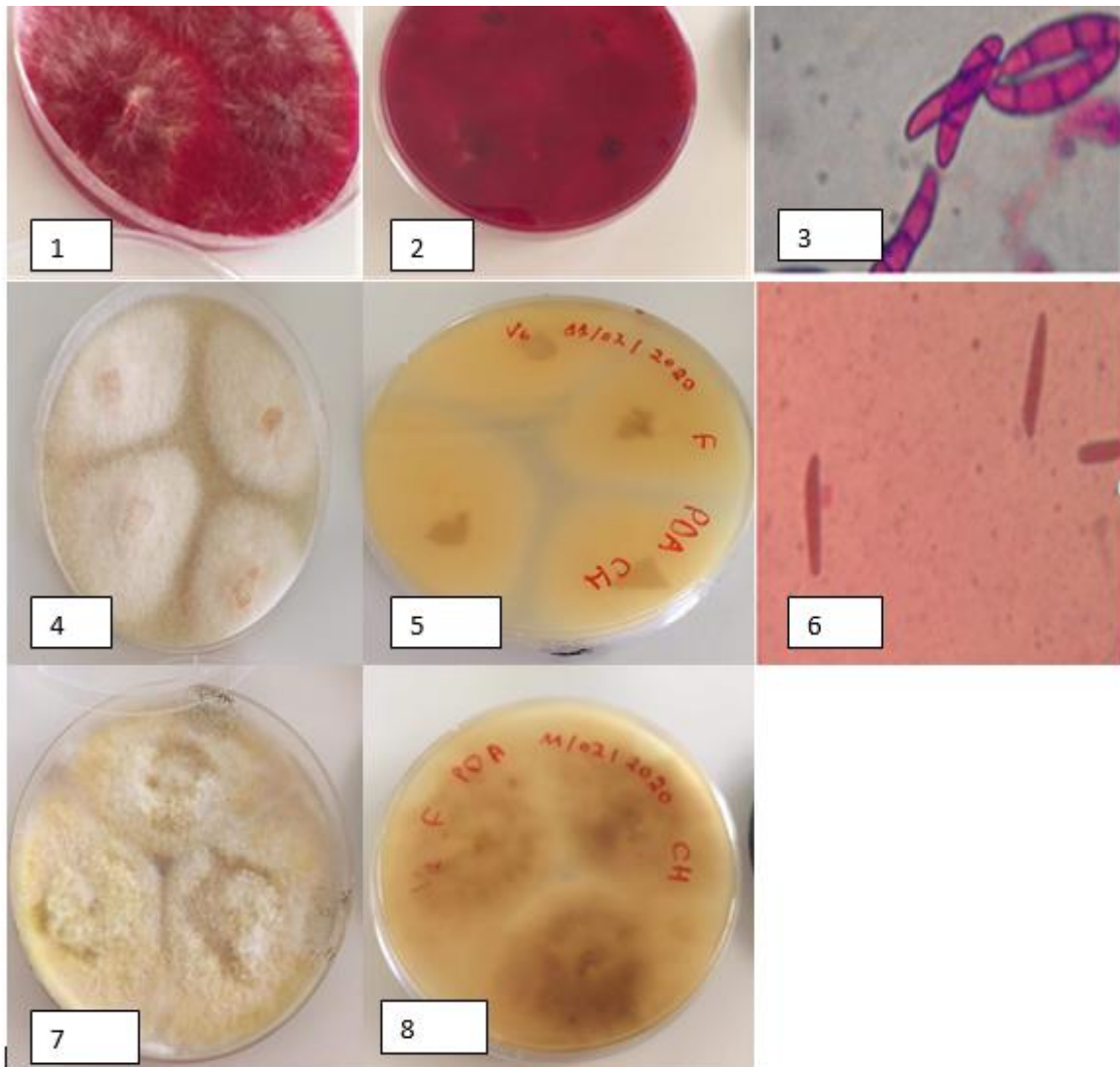


Figure 22. Aspect morphologique et microscopique des espèces de *Fusarium graminearum* ; *F. accutatum* et *Fusarium equiseti* isolés à partir des grains de Maïs (G x 40) :

(1,2) Recto et verso de la colonie de *F. graminearum* mycélium abondant, aérien, blanc à jaune, parfois rosé ; (3) Macroconidies de *F. graminearum* Schwabe en forme de faucille, la forme de la cellule basale distinctement pédiforme et la cellule apicale est en forme de bec, la taille relative moyenne grande.

(4,5) Recto et verso de la colonie de *F. accutatum*, le mycélium est blanc à blanc rosé avec des pigments orange clair dans la gélose, (6) Macroconidie x Sporodochie : Peu fréquent et lent à se former, nécessitant généralement 10 à 21 jours de traitement par CLA.

(7,8) Recto et verso de la colonie de *Fusarium equiseti*, mycélium abondant qui est initialement blanc, mais devient brun avec l'âge. Leslie et al. (2006) ; Ismail et al. (2015)

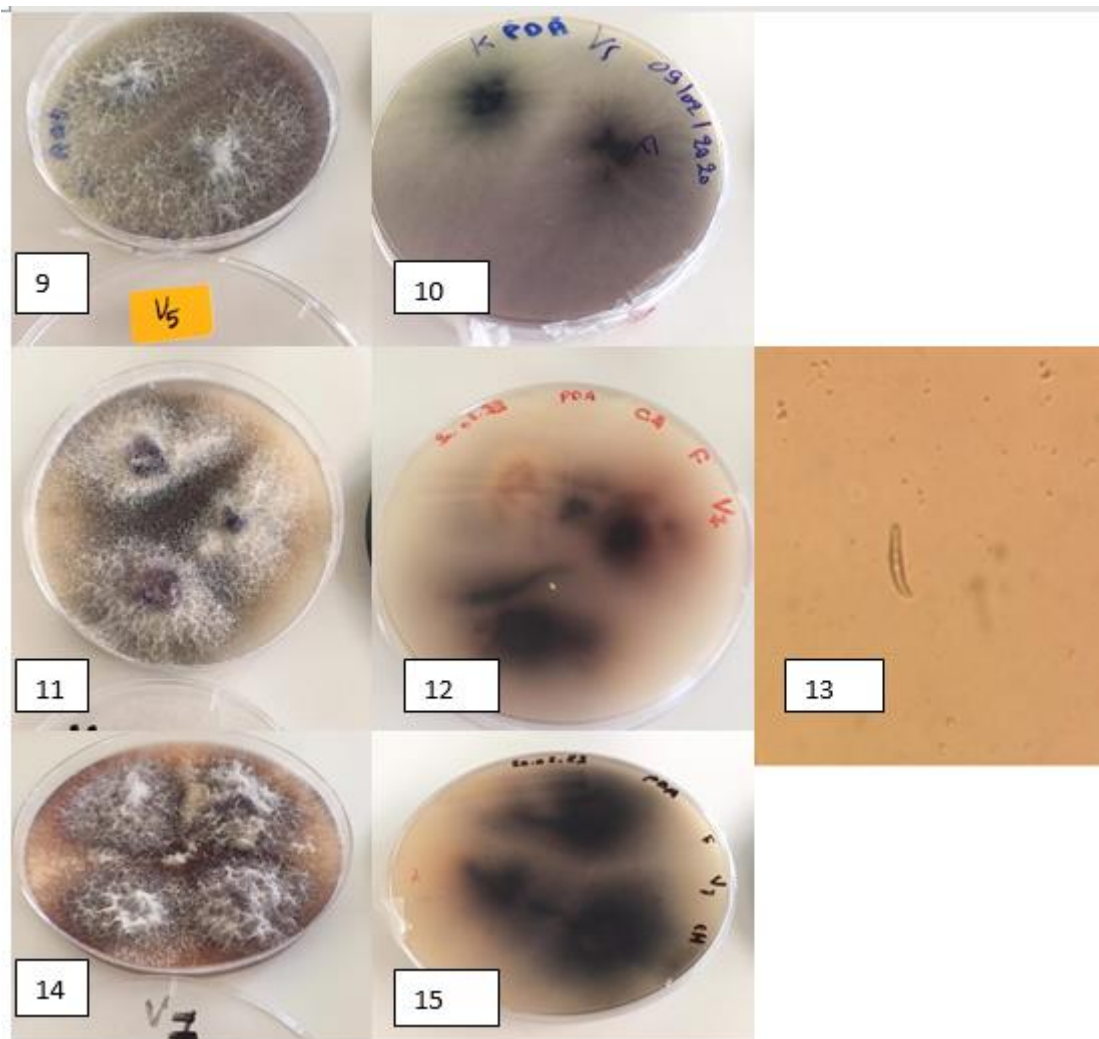


Figure 23. Aspect morphologique et microscopique (G x 40) des colonies de la mycoflore interne isolées à partir des grains de Maïs : (9,10,11,12 ,14,15) Recto et verso de la colonie de *F. verticillioides* Initialement cultures ont mycélium blanc mais peuvent développer des pigments violets avec l'âge. Pigmentation dans l'agar varie, allant de pas de pigmentation ou orange grisâtre à gris violet, violet foncé ou magenta foncé (presque noire) dans d'autres ;(13) les Microconidies porte une forme Ovale à forme avec une base aplatie. Leslie et *al.* (2006) ; Ismail et *al.* (2015)

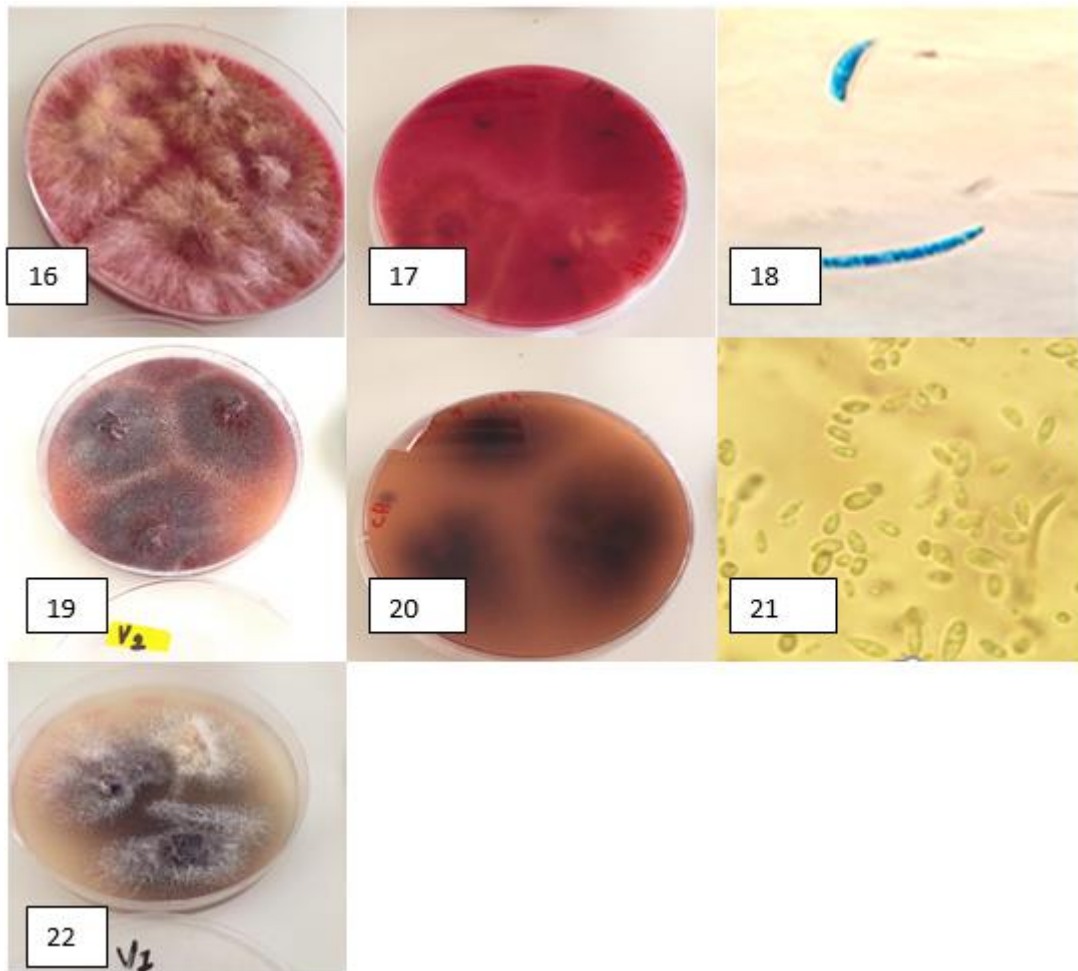


Figure 24. Aspect morphologique et microscopique (G x 40) des colonies de la mycoflore interne isolées à partir des grains de Maïs :

(16,17) Recto et verso de la colonie de *F. culmorum*, pousse rapidement, produisant des sporodochies abondantes dans une grande masse de spores centrale (1 à 2 cm de diamètre), initialement orange pâle mais qui devient brune à brun foncé avec l'âge, (18), les macroconidies sont fusiformes, courbées et septées. Les conidies sont globuleuses, brunâtres, lisses ou verruqueuses (9-14 μ m de diamètre).

(19,20) Recto et verso de colonie *F. pseudonygamai*, mycélium aérien de couleur blanc cassé abondant. Produit des pigments orange à violets dans la gélose et est souvent très pigmenté au centre de la colonie ;(21) Macroconidies x sporodochies: généralement peu observée .Microconidies x Forme / cloisonnement: Petite, ovale ou en forme de club. Habituellement 0-cloisonné, mais parfois 1-cloisonné.

(22) Recto de colonie *Fusarium proliferatum*, le mycélium aérien abondant est initialement blanc mais peut devenir violet-violet avec l'âge. Leslie et al. (2006) ; Ismail et al. (2015).

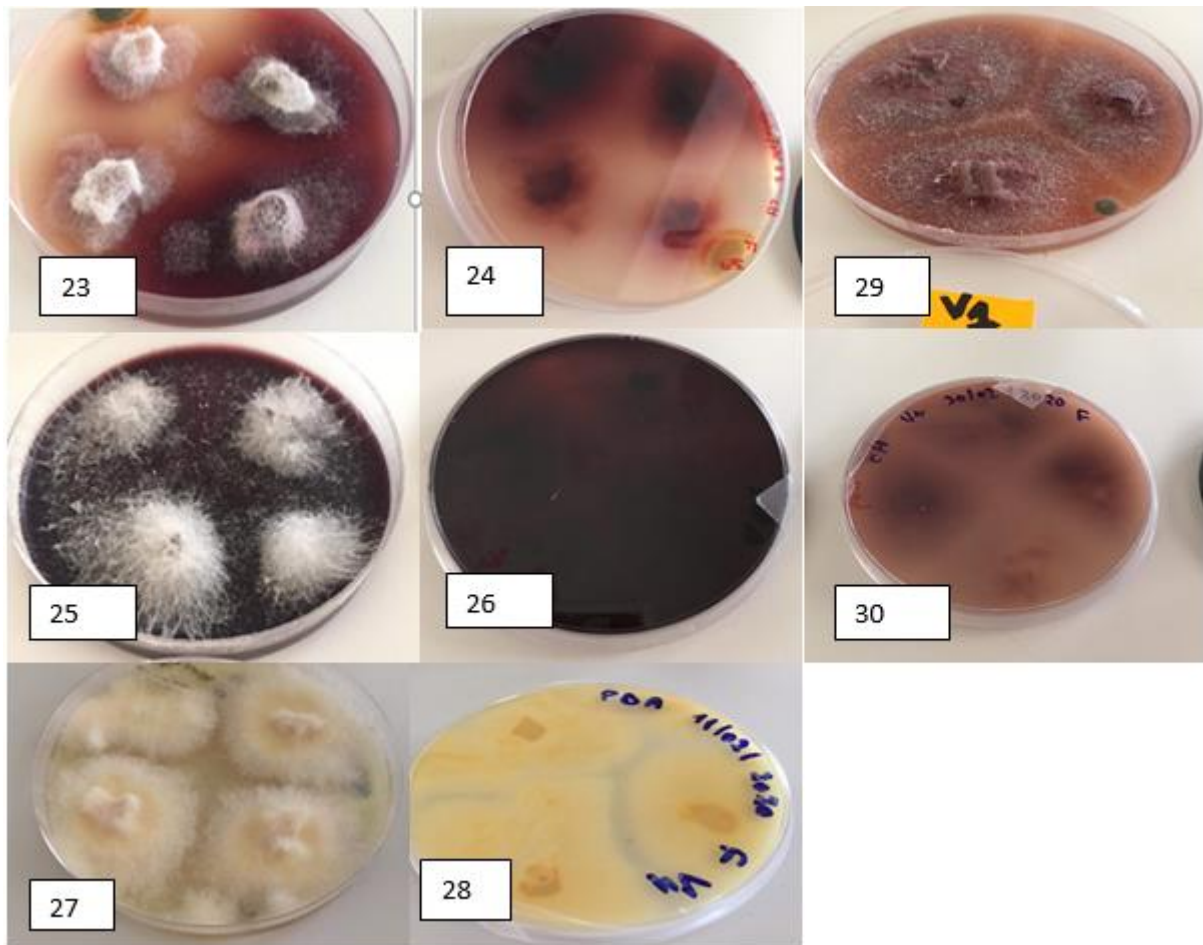


Figure 25. Aspect morphologique et microscopique (G x 40) des colonies de la mycoflore interne isolées à partir des grains de Maïs : (23,24,25,26) Recto et verso de la colonie de *F. subglutinans*, le mycélienne abondante est généralement blanche mais devient violette à mesure que la culture vieillit, la pigmentation va de l'incolor à un violet foncé presque noir, la plupart des cultures produisant une nuance de pigment violet des sclérotés bleu-noir peuvent se développer dans certains isolats.

(27,28) Recto et verso de la colonie de *F. semitectum*, mycélium aérien dense abondante qui est initialement hors blanc et devient beige ou brun avec l'âge. Marron, les des pigments peuvent également être produits dans l'agar.

(29,30) *Fusarium nygamai*. Recto et verso de la colonie le mycélium est initialement blanc devenant violet avec l'âge, avec des pigments violets produits dans la gélose. Leslie et *al.* (2006) ; Ismail et *al.* (2015).

I.3. Discussion:

L'identification morphologique des espèces fongiques isolées des grains de maïs

A été basée sur différents critères morphologiques proposés par Leslie *et al.* (2006) ; Ismail *et al.* (2015) et par Samuel et Hallet. (1983). Une collection de 141 isolats du genre *Fusarium* a été purifiée et exploitée pour l'identification.

L'identification morphologique a permis de montrer l'implication de 11 espèces de *Fusarium* spp. À savoirs *F. graminurum*, *F. culmorum*, *F. nygami*, *F. pseudonygami*, *F. equiste*, *F. verticilloide*, *F. thapsinum*, *F. acuminatum*, *F. subglutinas*, *F. lateritum*, *F. avenaccum*.

Les espèces de *Fusarium* spp. Ont été retrouvés sur tous les échantillons étudiés, ce qui confirme des résultats obtenus précédemment en Algérie (Khoweild, 2016). Ces résultats sont aussi en accord avec ceux classiquement obtenus dans les pays du nord de l'Europe comme le nord de la France, l'Allemagne, la Norvège, la Belgique, la Pologne ou les Pays-Bas (Isebaert *et al.*, 2005 ; Krysinska-Traczyk *et al.*, 2007 ; Shothorst *et al.*, 2004 ; Schollenberger *et al.*, 2006).

L'identification morphologique des espèces isolées à partir des grains de maïs ont montré que le *Fusarium graminurum* est l'espèce la plus fréquente.

Cette observation est en accord avec les études de Ponts. (2010) qui montrent *F. graminearum* est l'espèce pathogène principale responsable de la fusariose de l'épi de type GER du maïs. *F. graminearum* est aussi l'espèce fusarienne principalement incriminée dans la production de mycotoxines de type TCTB.

D'après les résultats de l'analyse des semences de maïs, la variété VL3 de Laghouat porte un taux de contamination de mycoflore interne et externe élevés avec de pourcentage de 100%. Les résultats de la recherche des *Fusarium* spp au niveau des grains de maïs récoltés de différents étages bioclimatiques en Algérie et ceux récoltés en France montrent que ces derniers sont les plus contaminés par rapport les variétés locales, en effet les facteurs climatiques sont connus comme déterminant pour la manifestation de la fusariose de l'épi (Langseth *et al.*, 1995). D'après Francl *et al.* (1999), l'humidité relative détermine la sévérité et l'inoculum. Les variétés cultivées dans la région de Ghardaïa sont originaires du Brésil et principalement utilisées comme nourriture d'élevages d'origine, les deux variétés de ces régions (France, Ghardaïa) sont les plus contaminées.

Pour une utilisation sur des échantillons de maïs, seules deux études sont disponibles, l'une s'intéressant à des échantillons Danois (Nicolaisen et *al.*, 2009) et l'autre Sud-Africain (Waalwijk et *al.*, 2008), deux territoires géographiques éloignés du territoire Algériens et dont les conditions climatiques induisent certainement des populations fusariennes très différentes.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION

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

Nos résultats ont effectivement mis en évidence la contamination des grains de maïs algériens par les espèces de *Fusarium* spp. ; les mêmes résultats ont été trouvés pour les variétés importées.

L'identification morphologique a permis de montrer l'implication de 11 espèces à savoirs *F.graminurum*, *F.culmorum*, *F.nygami*, *F.pseudonygami*, *F.equiuste*, *F.verticilloide*, *F.thapsinum*, *F.acuminatum*, *F.subglutinas*, *F.laterritum*, *F.avenaccum*.

De plus, les résultats des isolements réalisés ont montré que *F. graminearum* est l'espèce prédominante observée en Algérie sur le maïs.

Toutefois, il est nécessaire de confirmer l'identification morphologique par une identification moléculaire ou la distinction reste très difficile et limitée parfois impossible sur le plan morphologique et microscopique dans le but d'établir une meilleure gestion de la maladie.

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

En effet, il est clair que l'équilibre d'espèces peut être selon les années. Ainsi le développement de la fusariose de l'épi du maïs devrait être évalué régulièrement dans toutes les régions céréalières en Algérie où les conditions climatiques peuvent être favorables à son développement et surtout pour les champs irrigués sous pivot.

Il serait intéressant de faire une caractérisation du potentiel toxigènes des isolats de *Fusarium* spp. Pour montrer la capacité des isolats algériens de *Fusarium* spp. À produire des toxines et aussi identifier le chémotype des isolats.

Conclusion générale

En principe, la deuxième partie de ce travail devait porter sur la caractérisation du potentiel toxigène des *Fusarium* spp. Par HPLC (Chromatographie Liquide Haute Performance). Mais nos manipulations au laboratoire ont été rompues à cause du confinement

Imposé par l'état suite à la propagation du Covid-19. Malheureusement nous ne sommes pas arrivés à atteindre nos objectifs visés.

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

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

Il est également recommandé de mettre en place un système de contrôle et de surveillance de la contamination de maïs par ces mycotoxines et aussi créer des nouvelles stratégies de décontamination pour la lutte contre les mycotoxines.

Référence bibliographique

Abbas, H.K., Smeda R.J., Duke S.O., Shier, W.T. (1997). Fumonisin-Plant interactions, *Bulletins of the Institute for Comprehensive Agricultural Sciences, Kinki University*, 5, 63-73.

ABDALLAH-NEKACHE, N., LARABA, I., DUCOS, C., BARREAU, C., BOUZNAD, Z., BOUREGHDA, H. (2019). Occurrence of *Fusarium* head blight and *Fusarium* crown rot in Algerian wheat: identification of associated species and assessment of aggressiveness. *European Journal of Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01673-7>.

Ah Seo, J., Lee Y.W. (1999). Natural Occurrence of the C Series of Fumonisin in Moldy Corn, *Appl. Environ. Microbiol*, 65 (3), 1331-1334.

Alkadri, D., Nipoti P., Doll K., Karlovsky P., Prodi A., Pisi A. (2013). Study of fungal colonization of wheat kernels in Syria with a focus on *Fusarium* species. *International Journal of Molecular Science* 14: 5938–5951.

Aouali ,S. et Douici-Khalfi ,A. (2009). Recueil des principales maladies fongiques des céréales.

Arino, A.T., Estopanan,G., Gonzalez-Cabo JF. (2007). Natural occurrence of *Fusarium* species, fumonisin production by toxigenic strains, and concentrations of fumonisins B1, and B2 in conventional and organic maize grown in Spain. *J Food Prot* 70 :151–156.

Assabgui, R. A., Arnason, J. T and Hamilton R. I.(1993). Hydroxamic acid content in maize (*Zeamays*) roots of 18 Ontario recommended hybrids and prediction of antibiosis to the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte (Coleoptera: Chrysomelidae). *Can. J. Plant Sci.* 73: 359-363.

Ayalew, A., Fehrmann, H., Lepschy, J., Beck, R., Abate, D. 2006. Natural occurrence of mycotoxins in staple cereals from Ethiopia. *Mycopathologia*. 162:57–63.

Bakan, B., Pinson, L., Cahagnier, B., Melcion, D., Sémon, E., & Richard-Molard, D. (2001). Toxigenic potential of *Fusarium culmorum* strains isolated from French wheat. *Food Additives & Contaminants*, 18(11), 998-1003.

Balmas,V., Scherm, B., Marcello, A., Beyer, M., Hoffmann, L., Migheli ,Q. (2015). *Fusarium* species and chemotypes associated with *fusarium* head blight and *fusarium* root rot on wheat in Sardinia. *Plant. Pathol.* 64, 972–979. 10.1111/ppa.12337.

Barnett, R. (1999). *Realizing the university*. McGraw-Hill Education (UK).

- Bartók, T., Szécsi, Á., Szekeres, A., Mesterházy, Á., Bartók, M. (2006). Detection of new fumonisin.
- Beadle, G.W. (1981). Origin of corn- Pollen evidence. *Science* 213, 890-892.
- Belaid, D. (2016). La culture du maïs en Algérie.
- Bennett, J.W., and Klich, M. (2003). Agents reviewed by the IARC monographs vol .82 2002.
- Bennett, J.W., et Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* 16: 497-516.
- Bezuidenhout, C.S., W.C.A. Gelderblom, C.P. Gorstallman, R.M. Horak, W.F.O. Marasas, G. Spiteller, R. Vleggar Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme* *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1988), pp. 743-745.
- Bily, A. C., Reid, L.M., Taylor, J.H., Johnston, D., Malouin, C., Burt, A.J., Bakan, B., Regnault-Roger, C., Pauls, K.P., Arnason, J.T., Philogéne, J.R. 2003. Dehydrodimers of ferulic acid in maize grain pericarp and aleurone: resistance factors to *Fusarium graminearum*. *Phytopathology* 93, 712-719.
- Blandino M., Reyneri, A., and Vanara, F. 2009. Effect of sowing time on toxigenic fungal infection and mycotoxin contamination of maize kernels. *Phytopathology*.
- Boca Raton, FL, USA.
- Bottalico, A., Perrone, G. (2002). Toxigenic *Fusarium* species and myco-toxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *Eur J Plant Pathol* 108 :611.
- Botton, M., & Ron, A. (1990). Two-stream instability in free electron lasers. *IEEE transactions on plasma science*, 18(3), 416-423.
- Boutigny, AL., Atanasova-Pénichon, V., Benet, M., Barreau, C and Richard-Forget, F.2010. Natural phenolic acids from wheat bran inhibit *Fusarium culmorum* trichothecene biosynthesis in vitro by repressing Tri gene expression. *Eur J Plant Pathol.*, 127: 275–286.
- Brennan J.M., Fagan, B., van Maanen ,A., Cooke B.M., and Doohan F.M. (2003). Studies on in-vitro growth and pathogenicity of European *Fusarium* fungi. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 577-587.
- Castro, S. I. B., Phillip, L. E., Lapierre, H., Jardon, P. W., Berthiaume, R. 2008. The relative merit of ruminal undergradable protein from soybean meal or soluble fiber from beet pulp to improve nitrogen utilization in dairy cows *J. Dairy Sci.*, 91 (10): 3947.

Champeil, A., Doré, T., Fourbet, JF. (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 : 1389-415. doi : 10.1016/j.plantsci.2004.02.004.

Chevalier, A. Les placcs dépourvues de végétation dans le Sahara. C. R. Acad. Sc. CXCIV, p, 480, 1932. 1^{ère} série.

Colvin B.M., Cooley M., Beaver R.W., (1993), Fumonisin toxicosis in swine: clinical and pathologic findings, J. Vet. Diagn. Invest, 5, 232-241.

Comby, M., Ptas ,S., Profizi ,C., Randoux, B., Reignault, P., Halama ,P.,Siah, A., Adam ,F., Khatiri, Z, Hamada ,W., Barakat I, El Guilli ,M., Chtaina, N., Jacquard ,C., Courteaux, B., Sanchez, L., Ait Barka, E., Baillieul, F.,Clément, C.(2018). Le biocontrôle des stress biotiques et abiotiques chez le blé : c'est possible. P79.

Cromey, C. J., Nickell, T. D., and Black, K. D. (2002). DEPOMOD—modelling the deposition and biological effects of waste solids from marine cage farms. Aquaculture, 214(1-4), 211-239.

Cuomo, C.A., Güldener, U., Xu, J.R., Trail, F., Turgeon, B.G., Di Pietro, A. (2007). The *Fusarium graminearum* genome reveals a link between localized polymorphism and pathogen specialization. Science (Washington, D.C.), 317 : 1400–1402.

De León, C. (1978). Maladies du maïs : un guide pour les identifier sur le terrain.

DECOIN, M. (2006). Fusariotoxines comment contrôler réaliste ? Qualité des récoltes. Phytoma, la défense des végétaux, (596), 24-26.

Desjardins, A. E., Maragos, C. M. & Proctor, R. H. (2006). Maize ear rot and moniliformin contamination by cryptic species of *Fusarium subglutinans*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54, 7383-7390.

Desjardins, A.E. (2006). *Fusarium* mycotoxins Chemistry, Genetics and Biology.

DiMello ,J.P.F., Parker, J.K., MacDonald A.M.C., Placinta C.M. (1997). *Fusarium* mycotoxins in DiMello J.P.F., Ed. “Handbook of plant and fungal toxicants “, CRC Press, Boca Raton FL, 287-301.

Doebley,J. (1990). Molecular evidence and the evolution of maize.Econ. Bot.44;6-27.

Dufault, N., E. De Wolf, P. Lipps, and L. Madden. (2002a). Identifi cation of environmental variables that aff ect perithecial development of *Gibberella zeae*. p. 141. In S.M. Canty, J.

Lewis, L. Diler, and R.W. Ward (ed.) Proc. of the National *Fusarium* Head Blight Forum, Erlanger, KY. 7–9 Dec. (2002). Michigan State Univ., East Lansing.

Dufault, N., E. De Wolf, P. Lipps, and L. Madden. (2002b). Relationship of temperature and moisture to *Gibberella zeae* perithecial development in a controlled environment. p. 142–144. In S.M. Canty, J. Lewis, L. Diler, and R.W. Ward (ed.) Proc. of the National *Fusarium* Head Blight Forum, Erlanger, KY. 7–9 Dec. (2002). Michigan State Univ., East Lansing.

Edwards, SG. (2004). Influence of agricultural practices on *Fusarium* infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. *Toxicology Letters* 153: 29–35. doi: 10.1016/j.toxlet.2004.04.022.

Fazekas B., Tar A. (2001). Determination of zearalenone content in cereals and feedstuffs by immunoaffinity column coupled with liquid chromatography, *J. AOAC Int*, 84 (5), 14531459.

Franc L, Shaner G, Bergstrom GC, Gilbert J, Pedersen W, Dill-Macky R, et al. (1999). Daily inoculum levels of *Gibberella zeae* on wheat spikes. *Plant Dis*. 83: 662–666.

Gallaise, André. (2009). Méthodes de création de variétés en amélioration des plantes, Paris, Ed. Quae.278p.

Gaumy, J.L., Bailly, J.D., Burgat, V., and Guerre, P. (2001). Zearalenone: propriétés et toxicité expérimentale. *Revue de Médecine Vétérinaire* 152, 217–234.

Gauthier L. (2015). Approche métabolomique pour la compréhension des mécanismes de résistance à *Fusarium graminearum* et accumulation de trichothécènes chez le maïs. Rapport de thèse. Université Bordeaux I.

Goswami R.S., et Kistler H.C. 2004. Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal cereal. *Mol. Plant Pathol*. 5:515-525.

Hocking, A. D., and Andrews, S. (1987). Dichloran chloramphenicol peptone agar as an identification medium for *Fusarium* species and some dematiaceous hyphomycetes. *Transactions of the British Mycological Society*, 89(2), 239-244.

Ioos, C., Estournet-Mathiaud, B., Pinard, J. M., and Cheliout-Hérait, F. (2001). Sleep disorders caused by brainstem tumor: case report. *Journal of Child Neurology*, 16(10), 767-770.

Isebaert, S., Haesaert, G., Devreese, R., Maene, P., Fremaut, F., and Vlaemyck, G. (2005). *Fusarium* spp. and *Fusarium* mycotoxins in maize: a problem for Flanders? *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 70(3), 129.

Ismail, M. A., Abdel-Hafez, S. I., Hussein, N. A., and Abdel-Hameed, N.A. (2015). Contribution to the genus *Fusarium* in Egypt.

Jenkinson, P., and Parry, DW. (1994). Splash dispersal of conidia of *Fusarium culmorum* and *Fusarium avenaceum*. *Mycological Research* 98: 506–510.

Jimenez M, Mateo JJ, Mateo R. (2000). Determination of type A trichothecenes by high-performance liquid chromatography with coumarin-3-carbonyl chloride derivatisation and fluorescence detection. *Journal of Chromatography A* 870: 473-481. doi: 10.1016/S0021-9673(99)00890-0.

Kammoun, L. G., Gargouri, S., BARREAU, C., Richard-forget, F., and Hajlaoui, M. R. (2010). Trichothecene chemotypes of *Fusarium culmorum* infecting wheat in Tunisia. *International Journal of Food Microbiology*, 140, 84–89.

-Kammoun, L. G., Gargouri, S., Hajlaoui, M. R., and Marrakchi, M. (2009). Occurrence and distribution of *Microdochium* and *Fusarium* species isolated from durum wheat in northern Tunisia and detection of mycotoxins in naturally infested grain. *Journal of Phytopathology*, 157, 546–551.

Kedera C.J., Plattner R.D., Desjardins A.E. (1999). Incidence of *Fusarium spp.* and Levels of Fumonisin B1 in Maize in Western Kenya, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, (1), 41– 44.

Kikot, G. E., Hours, R. A., & Alconada, T. M. (2009). Contribution of cell wall degrading enzymes to pathogenesis of *Fusarium graminearum*: a review. *Journal of Basic Microbiology*, 49(3), 231–241.

Kristensen, R., Torp, M., Kosiak, B. & Holst-Jensen, A. (2005). Phylogeny and toxigenic potential of *Fusarium* species as revealed by partial translation elongation factor 1 alpha gene sequences. *Mycological Research* 109, 173-186.

Krska R, Josephs R. 2001. The state of the art in the analysis of oestrogenic mycotoxins in cereals. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 369: 469-76. doi: 10.1007/s002160100715.

Krska, R., Baumgartner, S., Josephs, R. (2001). The state-of-the-art in the analysis of type -A and -B trichothecene mycotoxins in cereals.

Krysinska-Traczyk, E., Perkowski, J., & Dutkiewicz, J. (2007). Levels of fungi and mycotoxins in the samples of grain and grain dust collected from five various cereal crops in eastern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 14(1).

Laumont, P., & Laby, H. (1950). Le maïs et sa culture en Algérie. Doc et Rens agricoles. Bulletin, (155).

Leslie, J.F., and Summerell, B.A. (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual (Ames, Iowa: Wiley-Blackwell).

Leung, A. K. L., & Sharp, P. A. (2006). Function and localization of microRNAs in mammalian cells. In Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology (Vol. 71, pp. 29-38). Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Li, Y., Wang, Z., Beier, R.C., Shen, J., Smet, D.D., De Saeger, S., and Zhang, S. (2011). T-2 Toxin, a Trichothecene Mycotoxin: Review of Toxicity, Metabolism, and Analytical Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 3441–3453.

Lin, SC., Chen, YC., Lin, YM. (1998). General approach for the development of high-performance liquid chromatography methods for biosurfactant analysis and purification. *J Chromatogr A* 825:149–15915.

Logrieco, A., and Visconti, A. (2004). An overview on toxigenic fungi and mycotoxins in Europe. London: Kluwer Academic Publication.

Logrieco, A., Mulé, G., Moretti, A., Bottalico, A. 2002, Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. *Eur J Plant Pathol.* 108:597–609.

Logrieco, A. (2002). Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 108, 597-609.

Mady, M. F., & Kelland, M. A. (2015). N, N-dimethylhydrazidoacrylamides. Part 2: High-cloud-point kinetic hydrate inhibitor copolymers with n-vinylcaprolactam and effect of pH on performance. *Energy & Fuels*, 29(2), 678-685.

Magan, N., Aldred, D. (2007). Why do fungi produce mycotoxins? In “Food Mycology: a

Magan, N., and Olsen, M. (2004). *Mycotoxins in Food: Detection and Control* (Woodhead Publishing).

Maldonado-Ramiez SL, Scmale DG, Shields EJ, Bergstrom GC. 2005. The relative abundance of variable spore of *Gibberella zeae* in the plantary boundary laryer suggests the role of long-distance transport in regional epidemics of *Fusarium* head blight. *Agricultural and Forest Meteorology* 132, 20-7.

Manetti M.C., Amorini E., Becagli C. 2006. New silvicultural models to improve functionality of chestnut stands. *Advances in Horticultural Science*, 1: 65-69.

Mangelsdorf, P. C., MacNeish, R.S. and Galinat, w. C. (1964). Domestication of corn. *Science* 134:538-545.

Mass Spec. 20:2447–2462.

Matarese, F., Sarrocco, S., Gruber, S., Seidl-Seiboth, V., Vannacci, G. (2012). Biocontrol of Fusarium head blight: interactions between *Trichoderma* and mycotoxigenic *Fusarium*. *Microbiology-Sgm* 158, 98-106.

Mccormick, S. P., Stanley, A. M., STOVER, N. A. and Alexander, N. J. (2011). Trichothecenes: From Simple to Complex Mycotoxins. *Toxins*, 3, 802-814.

McKeehen JD, Busch RH, Fulcher RG. (1999). Evaluation of wheat (*Triticum aestivum* L.) phenolic acids during grain development and their contribution to *Fusarium* resistance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 1476– 1482.

McMullen, M. P., Jones, R., and Gallenberg, D. (1997). Scab of wheat and barley: A re-emerging disease of devastating impact. *Plant Disease*, 81, 1340–1348.

Miller, J.D. 2008. Mycotoxins in small grains and maize: old problems, new challenges. *Food Additives and Contaminants Part A* 25: 219-230.

Miller, S. S., Reid, L. M., and Harris, L. J. (2007). Colonization of maize silks by *Fusarium graminearum*, the causative organism of Gibberella ear rot. *Can. J. Bot.* 85:369-376.

multifaceted approach to fungi and food”. Eds. J.Dijksterhuis and R. Samson. CRC Press,

Munkvold GP, McGee DC and Carlton WM. (1997). Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology* 87: 209-217.

Munkvold,(2003). Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize ears *European Journal of Plant Pathology* 109, 705–713.

mycotoxins and fumonisin-like compounds by reversed-phase high-performance liquid

Naili, N., Hazami, M., Attar, I., & Farhat, A. (2013). In-field performance analysis of ground source cooling system with horizontal ground heat exchanger in Tunisia. *Energy*, 61, 319-331.

Niessen, L. (2007). PCR-based diagnosis and quantification of mycotoxin producing fungi. *International journal of food microbiology*, 119(1-2), 38-46.

Odhav B, Naicker V. (2002). Mycotoxins in South African traditionally brewed beers. *Food Additives and Contaminants* 19 :55–61.

Osweiler G.D., Ross P.F., Wilson T.M., Nelson P.E., Witte S.T., Carson T.L., Rice L.G., Nelson H.A., (1992), Characterization of an epizootic of pulmonary edema in swine associated with fumonisin in corn screenings, *J. Vet. Diagn. Invest.*, 4, 53-59.

Parent-Massin, Ficheux, and Galtier (2013). Mycotoxines et sécurité alimentaire. *EMC - Pathologie Professionnelle et de L'environnement* 8, 1–14.

Parry, D.W., Jenkinson, P., et McLeod, L. (1995). Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals- a review. *Plant Pathology* 44: 207-238.

Phalip V, Goubet F, Carapito R and Jeltsch J-M. (2009). Plant cell wall degradation with a powerful *Fusarium graminearum* enzymatic arsenal. *J Microbiol Biotechnol* 19: 573–581.

Picot A, Barreau C, Pinson-Gadais L, Caron D, Lannou C and Richard-Forget F. (2010). Factors of the *Fusarium verticillioides*-maize environment modulating fumonisin production. *Critical Reviews in Microbiology*, 36, 221-231.

Placinta C.M., D'Mello J.P.F., MacDonald A.M.C. (1999). A review of worldwide contamination of cereal grain and animal feed with *Fusarium* mycotoxins, *Anim. Feed Sci. Technol.*, 78, 21-37.

PONS S. (2010). Importance du choix variétal dans la maîtrise des niveaux de contamination en trichothécènes B des récoltes de maïs. Rapport de thèse. Université Bordeaux I.

Rao SS, Huntley MH, Durand NC, Stamenova EK, Bonchkov ID, Robinson JT, Sanborn AL, Machol I, Omer AD, Lander ES et al. A 3D map of the human genome at kilobase resolution

Reid BJ, Blount PL, Rubin CE, et al. (1992). Flow cytometric and histologic progression to malignancy in Barrett's esophagus: prospective endoscopic surveillance of a cohort. *Gastroenterology* 102:1212-1219.

Reid, L.M., Sinha, R.C.(1998). Maize maturity and the development of *Gibberella* ear rot symptoms and deoxynivalenol after inoculation. *European Journal of Plant Pathology* 104, 147-154.

Renoux, J. P. (2014). Le maïs : une plante pour l'intensification écologique. Editions France Agricole.

reveals principles of chromatin looping. *Cell*. 2014 Dec 18;159(7):1665-80. PMID:25497547; PMC: PMC: PMC5635824.

Rheeder, J.P., Marasas, W.F.O. and Vismer, H.F. (2002). Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 2101-2105.

Richard, J. L. (2007). Some major mycotoxins and their mycotoxicoses—An overview. *International Journal of Food Microbiology*, 119, 3–10. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.019

Ricroch A., J. B. Bergé, M. Kuntz. (2009). Is the German Suspension of MON810 Maize Cultivation Scientifically Justified? *Transgenic research*, on line 23 June 2009, (2010), 19, 1:12.

Ripert, C. (2013). *Mycologie médicale* (Lavoisier).

Rocha, O., Ansari, K., and Doohan, F.M. (2005). Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: A review. *Food Additives and Contaminants* 22, 369–378.

Rohlig, R. M., J. Eder and K. H. Engel. (2009). Metabolite profiling of maize grain: Differentiation due to genetics and environment. *Metabolomics* 5:459-477.

Samuels GJ, Nirenberg HI, Seifert KA. (2001). Perithecial species of *Fusarium*. In: Summerell BA, Leslie JF, Backhouse D, Bryden WL (eds) *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*. APS Press, pp 1–14.

Schaafsma, A. W., Tamburic-Ilinic, L., Miller, J. D. and Hooker, D. C. (2001). Agronomic considerations for reducing deoxynivalenol in wheat grain. *Canadian Journal of Plant Pathology-Revue Canadienne De Phytopathologie* 23, 279-285.

Schaafsma, A.W. and Hooker, D.C. 2007. Climatic models to predict occurrence of *Fusarium* toxins in wheat and maize. *International Journal of Food Microbiology* 119: 116-125.

Schollenberger, M., Müller, H. M., Rühle, M., Suchy, S., Plank, S., & Drochner, W. (2006). Natural occurrence of 16 *Fusarium* toxins in grains and feedstuffs of plant origin from Germany. *Mycopathologia*, 161(1), 43-52.

Schothorst, R. C., and van Egmond, H. P. (2004). Report from SCOOP task 3.2. 10 “collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU member states”: Subtask: trichothecenes. *Toxicology letters*, 153(1), 133-143.

Seifert KA. (2001). *Fusarium* and anamorph generic concepts BA Summerell, JF Leslie, D Backhouse, WL Bryden, LW Burgess (Eds.), *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*, American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota (2001), pp. 15-28

Siame B.A., Mpuchane S.F., Gashe B.A., Allotey J., Teffera G. (1998). Occurrence of aflatoxins, fumonisin B1 and zearalenone in foods and feeds in Botswana, *J. Food Prot.*, 61 (12), 1670-1673.

Siranidou E, Kang Z, Buchenauer H. (2000). Studies on symptom development, phenolic and morphological defence responses in wheat cultivars differing in resistance to *Fusarium* *J Phytopathological* 150:200-208.

Skogerson, K., Harrigan, G. G., Reynolds, T. L., Hallas, S. C., Rueblet, M., Iandolo, A., et al. (2010). Impact of genetics and environment on the metabolite composition of maize grain. *J. Agric. Food Chem.* 58, 3600-3610. Doi:10.1021/jf903705y.

Snjders CHA, Perkowski (1990) Effects of head blight caused by *Fusarium culmorum* on toxin content and weight of wheat kernels *phytopathology* 80 566-570.

Sutton, J.C. 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium*.

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

Tabuc C. (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Rapport de thèse. Université de Toulouse.

Tanaka T, Yoneda, Inoue S, Sugiura Y, Ueno Y. (2000). Simultaneous determination of trichothecene mycotoxins and zearalenone in cereals by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 882 : 23-8.

Tanaka, Y., Slyadnev, M. N., Hibara, A., Tokeshi, M., & Kitamori, T. (2000). Non-contact photothermal control of enzyme reactions on a microchip by using a compact diode laser. *Journal of Chromatography A*, 894(1-2), 45-51.

Tenaillon M., Charcosset, A. (2011). A European perspective on maize history. *Comptes Rendus Biologiques*, Elsevier Masson, 334(3), pp.221-228.

Touati-Hattab, S., Barreau, C., Verdal-Bonnin, M. N., Chereau, S., Richard-Forget, F., Hadjout, S., ... and Bouznad, Z. (2016). Pathogenicity and trichothecenes production of *Fusarium*

culmorum strains causing head blight on wheat and evaluation of resistance of the varieties cultivated in Algeria. *European Journal of Plant Pathology*, 145(4), 797-814.

Touati-Hattab, S., Barreau, C., Verdal-Bonnin, M. N., Chereau, S., Richard-Forget, F., Hadjout, S., ... and Bouznad, Z. (2016). Pathogenicity and trichothecenes production of *Fusarium culmorum* strains causing head blight on wheat and evaluation of resistance of the varieties cultivated in Algeria. *European Journal of Plant Pathology*, 145(4), 797-814.

Trail F., I. Gaffoor, S. Vogel. (2005). Ejection mechanics and trajectory of the ascospores of *Gibberella zeae* (anamorph *Fusarium graminearum*). *Fungal Genetics and Biology* 42: 528–533.

Trail, F. (2009). For blighted waves of grain: *Fusarium graminearum* in the postgenomic sera. *Plant Physiol.* 149, 103–110.

Vargas EA, Castro PL, Silva CMG. (2001). Co-occurrence of aflatoxins B1, B2, G1, G2, zearalenone and fumonisin B1 in Brazilian corn. *Food Addit Contam.* 18:981–986.

Vargas EA, Castro PL, Silva CMG. (2001). Co-occurrence of aflatoxins B1, B2, G1, G2, zearalenone and fumonisin B1 in Brazilian corn. *Food Addit Contam.*; 18:981–986.

Vesonder R.F., Labeda D.P. et Peterson RE. (1992). Phytotoxic Activity of selected watersoluble metabolites of *Fusarium* against *Lemna minor* (L. Duckweed). *Mycopathologia*, 118 185-189.

Vigier B, Reid LM, Seifert KA, Stewart DW and Hamilton RI. (1997). Distribution and prediction of *Fusarium* species associated with maize ear rot in Ontario. *Canadian Journal of Plant Pathology* 19: 60-65.

Wanjiru, W.M., Zhensheng, K. and Buchenauer, H. (2002) Importance of cell wall degrading enzymes produced by *Fusarium graminearum* during infection of wheat heads. *Eur. J. Plant Pathol.* 108, 803–810.

Wannemacher, R.W., Wiener, S.L., Sidell, F.R., Takafuji, E.T., and Franz, D.R. (1997). Trichothecene mycotoxins. *Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare* 6, 655–676.

WATSON S. A., H IRATA Y. 1962. Some wet-milling properties of artificially dried corn. *Cereal Chem.*, 39, 35-44.

Weber, E. J. (1987). Après la récolte. *CRDI explore*, v. 16, no. 4.

Zheng M, Richard JL, Binder J. (2006). A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Micropathological* 161 : 261-73. doi : 10.1007/ s11046-006-0215-6.

Site de web :

(<https://fr.agroneo.com>).

(<https://www.arvalis-infos.fr/reconnaitre-les-differents-ravageur-du-mais>).

(<https://www.arvalis-infos.fr/reconnaitre-les-differents-ravageur-du-mais>).

. (<https://www.maisculturedurable.com/patrimoine/la-physiologie-du-mais/>

https://www.agrireseau.net/documents/Document_97790.pdf

https://www.bayer-agri.fr/cultures/mais_1133/

<https://www.gnis-pedagogie.org>

<https://www.lachimie.fr/analytique>

<https://www.maisculturedurable.com/>

[https://www.vitamedz.com/production-du-mais-pour-reduire-](https://www.vitamedz.com/production-du-mais-pour-reduire-les/Photos_679_119335_0_1.html)

[les/Photos_679_119335_0_1.htmlhttps://www.radioalgerie.dz/news/fr/article/20181012/152261.ht](https://www.radioalgerie.dz/news/fr/article/20181012/152261.ht)

<http://popcorn1.e-monsite.com/pages/i-le-grain-mais.html>

<https://www.bing.com/images/search>

<https://www.gnis-pedagogie.org/>).

<https://www.gnis-pedagogie.org/>.

<https://www.bing.com/images/>

<https://www.cultivar.fr/sinformer/la-consommation-mondiale-de-cereales->

(<http://faostat.fao.org>).

<https://googleweblight.com/i?u=https://www.passioncereales.fr/dossier-thematique/le->

Composition des différents milieux d'isolement et de culture

DCPA (Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar)

Pour un litre de milieu :

- peptone bactériologique : 15,0 g
 - K₂HPO₄ : 1,0 g
 - MgSO₄.7H₂O : 0,5 g
 - Chloramphénicol : 0,2 g
 - dichloran (2-6-dichloro-4-nitroaniline) en solution alcoolique* : 1ml. [Nocif en cas d'ingestion]
 - crystal violet en solution aqueuse**
 - agar : 15,0 g • H₂O distillée ou osmosée : 1000 ml
- * : 0.2 g de dichloran dans 100 ml d'éthanol ** : 50 mg de crystal violet dans 100 ml d'eau distillée

PDA (Potato Dextrose Agar)

Pour un litre de milieu :

- PDA en poudre prêt à l'emploi : 39 g
- H₂O distillée : 1000 ml