

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ AMAR TELIDJI DE LAGHOUAT
FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



MEMOIRE DE MASTER

DOMAINE : SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE AGRONOMIQUE

OPTION : AMELIORATION DES PLANTES

Présenté par : GUENANE Rania

Thème :

Isolement et identification d'isolats du genre *Fusarium* à partir du blé dur (*Triticum durum* L.) provenant de la région de Laghouat

Jury du soutenance :

<u>Nom et prénom</u>	<u>Grade</u>	<u>Qualité</u>
Mme Lounici Safia	Maitre-assistant A	Présidente
Mme Ouassa Nadjet	Maitre-assistant A	Examinatrice
Mme Hamini Faiza	Maitre-assistant A	Encadrante

Année universitaire : 2023-2024

Remerciement

Tout d'abord, merci à Allah de m'avoir donné la force de mener à bien ce travail.

Je tiens à exprimer mon sincère gratitude à mon encadrante

Mme **Hamini Faiza**, qui ma a guidé et qui a veillé à me fournir

toutes les informations nécessaires, les connaissances et les conseils précieux, son expertise et ses encouragements ont été essentiels à la réussite de ce travail.

Je voudrai exprimer mes sincères remerciements au personnel des laboratoires de recherche "Biologique, Chimique et Physique des Matériaux" et du « Laboratoire de recherche fondamentale » de l'université de Laghouat. Leur soutien et leur aide ont été essentiels dans la réalisation de mon mémoire.

Je remercie également les membres du jury pour le temps qu'ils ont consacré à lire et à examiner ce travail.

Enfin, je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma famille et à tous mes professeurs qui ont contribué à tout ce que j'ai appris tout au long de mon carrière académique.

Je remercie tous ceux qui nous aident dans ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

l'homme le plus chère pour moi, à mon père qui est toujours présent dans mon cœur que dieu ait pitié de lui.

à la femme la plus merveilleuse qui m'a montré le chemin de ma vie par ses duaas et ses prières

à Mes deux chères sœurs que j'aime et mes deux chers frères.

à ceux qui m'ont soutenus L□

à mes proches et à tous qui m'ont encouragés merci !

Résumé

Identification et caractérisation de *Fusarium* isolés à partir de grains de blé dur (*Triticum durum*) provenant de la région de Laghouat

L'objectif principal de cette étude était d'identifier et de caractériser les espèces de *Fusarium* présentes dans des semences de blé dur (*Triticum durum*) provenant de la région de Laghouat. À l'aide de la méthode du Geves, plusieurs lots de blé ont été analysés pour évaluer leur contamination fongique et isoler, purifier des souches fongiques. Les résultats montrent que la flore fongique des semences étudiées est similaire à celle décrite dans la littérature, comprenant des genres tels que *Rhizopus*, *Alternaria*, *Penicillium*, et *Aspergillus*. La contamination fongique totale dépasse les 81%, mais *Fusarium* ne représente que 0,5% de cette contamination, avec une fréquence de 0,375. La contamination est fortement influencée par l'état sanitaire des grains et leur taux d'humidité, avec un coefficient de corrélation d'environ 0,8 indiquant que l'humidité est un facteur clé. Malgré leur faible fréquence, certaines espèces de *Fusarium*, comme *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*, sont des pathogènes importants pour les cultures céréalières. Cela suggère que les semences étaient déjà contaminées sur le champ, et la colonisation post-récolte pourrait causer des pertes économiques significatives. La méthode de culture monospore a permis de purifier quatre souches de *Fusarium* : *Fusarium sambucinum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium solani*, et *Fusarium graminearum*. Ces isolats seront conservés pour des recherches futures. Les perspectives incluent l'étude de l'impact des conditions environnementales sur la virulence des *Fusarium*, des interactions avec d'autres pathogènes, et le développement de méthodes de contrôle pour réduire la contamination fongique.

Mots clé : *Triticum durum* ; Taux de Contamination fongique ; Humidité ; *Fusarium* ; Culture monospore.

Abstract

Identification and Characterization of *Fusarium* Isolated from Wheat Grains (*Triticum durum*) from the Laghouat Region

The primary objective of this study was to identify and characterize the *Fusarium* species present in durum wheat (*Triticum durum*) seeds from the Laghouat region. Using the Geves method, several wheat lots were analyzed to assess their fungal contamination and isolate the fungal strains. The results show that the fungal flora of the analyzed seeds is similar to that described in the literature, including genera such as *Rhizopus*, *Alternaria*, *Penicillium*, and *Aspergillus*. Total fungal contamination exceeds 81%, but *Fusarium* represents only 0.5% of this contamination, with a frequency of 0.375. Contamination is strongly influenced by the health status of the grains and their moisture content, with a correlation coefficient of about 0.8 indicating that moisture is a key factor. Despite their low frequency, some *Fusarium* species, such as *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*, are significant pathogens for cereal crops. This suggests that the seeds were already contaminated in the field, and post-harvest colonization could lead to significant economic losses. The monospore culture method allowed the isolation of four *Fusarium* strains: *Fusarium sambucinum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium solani*, and *Fusarium graminearum*. These isolates will be preserved for future research. Perspectives include studying the impact of environmental conditions on *Fusarium* virulence, interactions with other pathogens, and developing control methods to reduce fungal contamination.

Keywords : *Triticum durum*; Fungal Contamination Rate; Moisture; *Fusarium*; Monospore Culture

ملخص

تحديد وتصنيف *Fusarium* المعزول من حبوب القمح من منطقة الأغواط

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة كان تحديد وتصنيف أنواع الفيوزاريوم الموجودة في بذور القمح الصلب (*Triticum durum*) من منطقة الأغواط. باستخدام طريقة جيغيس، تم تحليل عدة دفعات من القمح لتقييم التلوث الفطري وعزل السلالات الفطرية. تظهر النتائج أن الفلورا الفطرية للبذور المدروسة مشابهة لتلك الموصوفة في الأدبيات، بما في ذلك الأجناس مثل *Fusarium*، *Aspergillus*، و *Penicillium*، *Alternaria*، *Rhizopus*. و *Aspergillus* يتجاوز التلوث الفطري الإجمالي 81%، ولكن *Fusarium* يمثل فقط 0.5% من هذا التلوث، بتردد قدره 0.375. يتأثر التلوث بشكل كبير بالحالة الصحية للحبوب ومحتواها من الرطوبة، مع معامل ارتباط يقارب 0.8 مما يشير إلى أن الرطوبة عامل رئيسي. على الرغم من تردها المنخفض، فإن بعض أنواع *Fusarium*، مثل *Fusarium culmorum* و *Fusarium graminearum*، هي مسببات أمراض هامة لمحاصيل الحبوب. وهذا يشير إلى أن البذور كانت ملوثة بالفعل في الحقل، وأن التلوث بعد الحصاد يمكن أن يؤدي إلى خسائر اقتصادية كبيرة. سمحت طريقة الزراعة أحادية الجراثيم بعزل أربع سلالات من *Fusarium: Fusarium sambucinum*، *Fusarium culmorum*، *Fusarium solani*، و *Fusarium graminearum*. سيتم الحفاظ على هذه السلالات لأبحاث مستقبلية. تشمل الآفاق دراسة تأثير الظروف البيئية على ضراوة *Fusarium*، التفاعلات مع مسببات الأمراض الأخرى، وتطوير طرق للتحكم لتقليل التلوث الفطري.

الكلمات المفتاحية: *Triticum durum* ; معدل التلوث الفطري؛ الرطوبة؛ *Fusarium*؛ الزراعة أحادية الجراثيم

Liste des abréviations

Bd	Blé dur
PDA	Potato Dextrose Agar
UV	Ultra-violet
µm	Micrometer
SNA	Synthetischer Nährstoffärmer Agar
DCPA	Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar
Aw	Activité d'eau
pH	Potentiel hydrogene
F.	Fusarium
Abs	Absorbance

Liste des figures

Figure1.	Coupe d'un grain de blé	8
Figure2.	Types de Fusarioses	16
Figure3.	Symptômes de fusariose sur champs de blé.	18
Figure4.	Cycle de vie de fusariose	18
Figure5.	Symptômes à la levée.	19
Figure6.	Les symptômes (A) : Fusariose sur du blé printemps, (B) organes fructifères noirs sur orge,(C) Grains de blé endommagés par le Fusarium; à gauche – grains sains; au centre grains momifiés; à droite grains infectés teintés.	20
Figure7.	Les symptômes sur pied, tige nœud.	20
Figure8.	Symptômes des pourritures racinaire.	21
Figure9.	Grains de blé sains et fusariés.	21
Figure10.	Mycellium, sporodochie et spores du genre Fusarium (Gx2500).	23
Figure11.	Spores de <i>F.avenaceum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. graminearum</i> et <i>F. poae</i> .	24
Figure12.	Lots semences collectés.	27
Figure13.	Illustration de la méthode de désinfection des semences utilisées.	29
Figure14.	Illustration de la méthode Geve.	30
Figure15.	Méthode de préparation des boite de Pétri pour la monospore	33
Figure16.	<i>Fusarium</i> sur SNA ; Exposition au UV proches	34
Figure17.	Taux de contaminations de l'ensemble des lots de semences en pourcentage	37
Figure18.	Taux de contamination de la semence en fonction du taux d'humidité du grain de blé	38
Figure19.	Résultat de la méthode PDA : Isolement des moisissures à partir de grains de blé après 7 jours de culture a 25° C	41
Figure20.	Résultat de la purification par repiquage successif sur milieu DCPA après 7 jours de culture a 25° C	42
Figure21.	Résultat de la méthode SNA : repiquage successif sur milieu SNA après 7 jours de culture a 25° C	42

Figure22.	Résultat de la culture d'isolat 1 <i>Penicillium</i> sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C	44
Figure23.	Caractères microscopiques de <i>Penicillium digitatum</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400).	44
Figure24.	Résultat de la culture d'isolat 2 d' <i>Aspergillus</i> sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C	45
Figure25.	Caractères microscopiques d' <i>Aspergillus</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400).	46
Figure26.	Résultat de la culture d'isolat 3 <i>Alternaria</i> (recto et verso) sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C	47
Figure27.	Caractères microscopiques d' <i>Alternaria</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Conidies septés. B : Mycélium septé.	47
Figure28.	Résultat de la culture d'isolat de <i>Rhizopus</i> (recto et verso) sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C	48
Figure29.	Caractères microscopiques de <i>Rhizopus</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400.) montrant un sporangiphore.	49
Figure30.	Culture de <i>Fusarium sambucinum</i> sur PDA après 7 jours de culture à 25° C	51
Figure31.	Caractère microscopique de <i>Fusarium sambucinum</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Mycelium cloisoné. B : Macroconidie et microconidies	52
Figure32.	Culture de <i>Fusarium culmorum</i> sur PDA après 7 jours de culture a 25° C	54
Figure33.	Caractère microscopique de <i>Fusarium culmorum</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Mycelium cloisoné. B : Macroconidies	54
Figure34.	Culture de <i>Fusarium solani</i> sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C	57
Figure35.	Caractère microscopique de <i>Fusarium solani</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Macroconidie. B : Mycélium cloisonné et phialide portant une macroconidie. C : Clamydiospores.	57
Figure36.	Culture de <i>Fusarium graminearum</i> sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C	59

- Figure37.** Caractère microscopique de *Fusarium graminearum* sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Macroconidie. B : Mycélium cloisonné. **60**
- Figure38.** Prélèvement des spores de la culture monospore. (A) prélèvement de la spore germée sous loupe binoculaire. (B) Aspect de la culture. (C) spores germées (Gx8) **61**
- Figure 39.** Aspect des spores germées (Gx8) **61**
- Figure40.** Méthode de conservation en tube sur milieu PDA incline **62**

Liste des tableaux

Tableau I : Taxonomie et répartition géographique des blés.....	5
Tableau II : Composition moyenne des grains de blé (en %).....	8
Tableau III : Listes des lots de céréales analysés.....	27
Tableau IV : Taux de contamination de la semence par le <i>Fusarium</i> (Nombre de contaminants).....	36
Tableau V : Taux d'humidité des différents lots de semences en pourcentage de la masse...	38
Tableau VI : Liste des isolats obtenus.....	40
Tableau VII : Caractères macroscopiques de <i>Fusarium sambucinum</i>	50
Tableau VIII : Caractères microscopiques de <i>Fusarium sambucinum</i>	51
Tableau IX : Caractères macroscopiques de <i>Fusarium culmorum</i>	53
Tableau X : Caractères microscopiques de <i>Fusarium culmorum</i>	53
Tableau XI : Caractères macroscopiques de <i>Fusarium solani</i>	56
Tableau XII : Caractères microscopiques de <i>Fusarium solani</i>	56
Tableau XIII : Caractères macroscopiques de <i>Fusarium graminearum</i>	58
Tableau XIV : Caractères microscopiques de <i>Fusarium graminearum</i>	59

Table des matières

Résumés	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	

Partie 1. Synthèse bibliographique

Chapitre I. Généralité sur le blé

1. Historique et Généralités sur le blé.....	3
1.1.Généralités sur le blé.....	3
1.2. Historique de blé.....	3
1.3.Le blé dans le monde.....	3
1.4.Le blé en Algérie.....	4
1.5.Classification.....	4
1.6.Caractéristiques morphologiques du blé.....	5
1.6.1. L'appareil végétatif.....	5
1.7.Description du grain du blé.....	6
1.8.Amélioration génétique du blé.....	9

Chapitre II. Les maladies du blé

1. Les maladies de stockages.....	11
1.1. <i>Rhizopus stolonifer</i>	11
1.2. <i>Alternaria alternata</i>	11
1.3. <i>Penicillium</i>	12
1.4. <i>Fusarium</i>	12
1.5. <i>Aspergillus</i>	12
2. Les maladies des champs.....	13
2.1. L'oïdium.....	13
2.2. Les rouilles.....	13
2.3. Mildiou.....	14
2.4. Fusariose.....	14

Chapitre III : La fusariose du blé

1. L'importance de la fusariose du blé.....	16
2. Le complexe fusarien.....	17
2.1. Le genre Fusarium.....	17
2.2. Le genre Microdochium.....	17
2.3. Le complexe F.graminearum.....	17
2.4. Symptomatologie	17
2.5. À la levée.....	19
2.6. Fusariose des épis, des graines " Gal de l'épi".....	19
2.7. Fusarioses du pied, de la tige et des nœuds.....	20
2.8. Pourriture racinaire	21
2.9. Sur grain.....	21
3. Agent causal Fusarium spp	22
3.1. Etiologie.....	22
3.2. Classification Classique.....	22
3.3. Caractères macroscopiques.....	23
3.4. Caractères microscopiques.....	23
4. Définition des mycotoxines.....	25
4.1. Les mycotoxines associées aux fusarioses.....	25
4.2. Origines et principaux mécanismes d'élaboration des mycotoxines.....	25
4.2.1. Mode d'action des mycotoxines.....	26

Partie 2. Partie Pratique

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Matériel.....	27
1.1. Matériel végétale.....	27
2. Méthodes.....	28
2.1. Méthodes d'isolement.....	28
2.1.1. Méthodes d'isolement à partir de la semence.....	28
2.1.2. Désinfection des semences	28
3. Isolement.....	30
3.1. Méthode du Geves.....	30
3.2. Méthode potato dextrose agar (PDA)	30

3.3. Méthode Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar (DCPA)	31
4. Calculs.....	31
5. Méthode de purification.....	32
5.1. Repiquage successif.....	32
5.2. Culture monospore.....	32
6. Méthode d'identification et de caractérisation.....	33
7. Méthode de conservation.....	35

Chapitre II : Résultats et Discussions

1. Taux de contamination de la semence	36
2. Taux d'humidité.....	37
3. Résultat de l'isolement.....	39
4. Résultat de l'identification des différentes souches.....	43
5. Identification des moisissures les plus fréquentes.....	43
6. Identification des souches de <i>Fusarium</i>	49
7. Résultat de la culture monospore.....	60
8. Résultat de la conservation.....	62

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

La culture des céréales a toujours été une activité prédominante en Algérie, jouant un rôle crucial dans l'alimentation de base de la population. Malgré une demande croissante en céréales, la production nationale, notamment celle du blé, reste stagnante depuis longtemps (Sayoud et Benbelkacem, 1996). Parmi les facteurs majeurs de cette stagnation, on peut citer les pratiques culturales, les aléas climatiques, et l'utilisation de variétés anciennes à faible rendement.

Les maladies cryptogamiques, causées par des champignons, constituent également une contrainte biotique majeure, menaçant la production de blé. Ces maladies, telles que la septoriose, la fusariose, et les rouilles, peuvent entraîner des pertes considérables en rendement et en qualité des grains, surtout dans des conditions environnementales favorables et en présence de variétés sensibles (Zahri et al., 2014).

Les maladies fongiques dans les silos de stockage du blé représentent une préoccupation majeure car elles entraînant des pertes économiques significatives pour les agriculteurs et les industries alimentaires et menace la sécurité alimentaire. Selon des études et des rapports, les maladies fongiques peuvent non seulement diminuer la valeur nutritionnelle du blé, mais aussi poser des risques pour la santé humaine et animale en cas de consommation de produits contaminés (FAO, 2020).

Pour lutter efficacement contre ces maladies, une connaissance approfondie des agents pathogènes responsables est nécessaire. Cela permet de développer des méthodes de lutte raisonnées (Benbelkacem, 1990). Les enquêtes annuelles réalisées en Algérie visent à évaluer la prévalence, l'incidence et la gravité des maladies céréalières, ce qui permet de mieux adapter les objectifs de sélection variétale et de collecter des échantillons pour l'étude de la diversité génétique et de la virulence des pathogènes (Benbelkacem et Bendif, 2010).

Notre étude a pour objectif d'analyser le niveau de contamination de différents lots de blé provenant de la région de Laghouat. Nous avons isolé plusieurs souches fongiques, en mettant particulièrement l'accent sur celles appartenant au genre *Fusarium*. Pour ce faire, nous avons purifié les souches à l'aide de la technique de la monospore, ce qui a permis de les identifier et de les conserver pour des études ultérieures.

Introduction générale

Notre travail est structuré en deux parties distinctes :

1. Première partie : Synthèse bibliographique

- Le premier chapitre présente des généralités sur le blé.
- Le deuxième chapitre explore les maladies cryptogamiques qui affectent cette culture.
- Le troisième et dernier chapitre se concentre spécifiquement sur le genre *Fusarium*.

2. Deuxième partie : Partie Pratique

Cette section décrit les démarches méthodologiques et les techniques que nous avons employées. Elle présente également les résultats obtenus, suivis d'une discussion approfondie qui analyse ces résultats en détail.

Partie I

Synthèse bibliographique

Chapitre I :

Généralités sur le blé

Chapitre I : Généralités sur le blé

1. Historique et Généralités sur le blé :

1.1. Généralités sur le blé :

Le blé fait partie des trois grandes céréales avec le maïs et le riz. C'est la troisième espèce par importance de la récolte mondiale, et la plus consommée par l'homme. Le blé est un terme générique qui désigne plusieurs céréales appartenant au genre *Triticum*. Ce sont des plantes annuelles de la famille des graminées ou Poacees, cultivées dans de très nombreux pays. Le terme blé désigne également le grain produit par ces plantes. Le blé fait partie des trois grandes céréales avec le maïs et le riz. C'est avec environ 600 millions de tonnes annuelles, la troisième par l'importance de la récolte mondiale et, avec le riz.

1.2. Historique de blé :

La culture des céréales a permis l'essor des grandes civilisations, car elle a constitué l'une des premières activités agricoles. En effet, Il y a plus de trois millions d'années, l'homme préhistorique était nomade, pratiquait la chasse et la cueillette des fruits pour assurer sa nourriture. Le nomadisme a progressivement laissé la place à la sédentarité qui permit la culture des céréales. Le blé est l'une de ces céréales connues depuis l'antiquité. Sa culture remontée au mésolithique vers 7000 avant Jésus-Christ. Le blé dur provient des territoires de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran.

1.3. Le blé dans le monde :

Le blé est cultivé principalement dans les pays du bassin méditerranéen à climat arides et semi-arides là où l'agriculture est dans la plus mauvaise passe. Ces régions se caractérisent par l'augmentation de la température couplée à la baisse des précipitations, en plus la désertification et la sécheresse (Abele do et al., 2008).

En 2023, le blé reste la céréale la plus cultivée au monde, avec environ 220 millions d'hectares ensemencés. La production mondiale de blé a atteint un niveau record d'environ 800 millions de tonnes, marquant une augmentation significative par rapport aux années précédentes. Le blé continue de jouer un rôle crucial dans l'alimentation directe et indirecte d'une grande partie de la population mondiale. En effet, il représente une composante essentielle de l'apport calorique

Chapitre I. Généralité sur le blé

global, notamment dans des pays comme la Chine, l'Inde, et l'Union européenne.

Cette croissance de la production mondiale s'explique en partie par des conditions climatiques favorables dans certaines régions clés de production, notamment en Russie et au Canada. Cependant, malgré ces résultats, le commerce mondial de blé a légèrement décliné en raison de la volatilité des prix et des perturbations géopolitiques (OECD-FAO Agricultural Outlook 2023-2032, 2023).

1.4. Le blé en Algérie :

En 2023, la production totale de céréales en Algérie a été estimée à environ 3,5 millions de tonnes, marquant une baisse par rapport à la moyenne quinquennale de 22 %. Le blé, qui représente environ 70 % de cette production totale, a été particulièrement affecté par des conditions météorologiques défavorables, notamment des périodes de sécheresse. Cette baisse de production a entraîné une augmentation des importations de céréales, avec un besoin total de 14 millions de tonnes pour l'année 2023/2024, dont 8 millions de tonnes de blé (FAOHome) (USDA Foreign Agricultural Service, 2023).

Cette situation reflète les défis constants auxquels l'agriculture algérienne est confrontée, en particulier dans le contexte des changements climatiques et de la dépendance accrue aux importations pour satisfaire la demande intérieure.

1.5. Classification :

Le blé est une monocotylédone de la famille des Poaceae appartenant au genre *Triticum*. Cette plante annuelle produit un fruit sec indéhiscent, le caryopse. D'après la classification de Maire (1955) et Crete (1965), la taxonomie et la répartition des trois espèces (Blé dur, Blé tendre) sont présentées dans le Tableau I.

Chapitre I. Généralité sur le blé

Tableau I : Taxonomie des blés

Famille	Genre	Espese	Nom commun
Gramineae (poaceae)	<i>Triticum</i>	<i>Triticum durum Desf</i>	Blé dur
		<i>Triticum aestivum L</i>	Blé tendre

(Maire ,1955 et Crete ,1965)

1.6. Caractéristiques morphologiques du blé:

Les blés sont des plantes herbacées annuelles, monocotylédones, à feuilles alternes, formées d'un chaume portant un épi constitué de deux rangées d'épillets sessiles et aplatis. Les fleurs sont nombreuses, petites et peu visibles car a chlamydes. Elles sont groupées en épis situés à l'extrémité des chaumes.

1.6.1. L'appareil végétatif :

A- Les racines

On a deux sortes de racines Les racines primaires ou séminales issues de la semence qui se développent au moment de la germination : la radicule qui débouche la 1e ; puis la 1e paire de racines qui va sortir en même temps ; et la 2e paires racinaires. Ces racines qui sont constitués que de tissus primaires vont nourrir la plantule jusqu'au stade tallage. Un système racinaire fasciculé assez développé, (racines adventifs ou coronaires) ; qui sont produites par le développement de nouvelles talles (Soltner, 1990). Elles peuvent atteindre jusqu'à 1m50.

B- La tige :

Sont des chaumes, cylindriques, souvent creux par résorption de la moelle centrale mais chez le blé dur est pleine. Ils se présentent comme des tubes cannelés, avec de longs et nombreux faisceaux conducteurs de sève. Ces faisceaux sont régulièrement entrecroisés et renferment des

Chapitre I. Généralité sur le blé

fibres à parois épaisses, assurant la solidité de la structure. Les chaumes sont interrompus par des nœuds qui sont une succession de zones d'où émerge une longue feuille.

C- Les feuilles :

Engaine la tige puis s'allonge en un limbe étroit à nervures parallèles lancéolé, issues chaque une d'un nœud ; compte à la gaine est un cylindre qui permet d'attacher le limbe au nœud le plus bas son rôle est chlorophyllien et conservation d'eau et d'air et avant l'allongement des talles les gaines protégeant l'apex qui se trouve en cercle concentrique au plateau de tallage ; L'oreillette ou stipules sont des organes membranaire dépourvus de chlorophylle dot le rôle n'est pas encore bien déterminer (elles forment des joins empêchant particulièrement l'eau de pluie ou de rosé de s'infiltrer à l'intérieur de la gaine) ; la ligule est un organe membranaire qui se forme à l'adjonction entre le limbe et la gaine (Pratset al, .1971). Chez toutes les graminées la présence et la forme des oreillettes ou stipules et de la ligule, permet de déterminer l'espèce avant l'apparition de l'épi. (Soltner, 1990).

1.7. Description du grain du blé :

Le grain du blé est un fruit dont le nom botanique est caryopse, sa composition est représentée dans le Tableau II . Le fruit proprement dit se réduit à la partie externe constituée par des enveloppes (téguments) très sèches et dures. Celles-ci assurent la protection du grain qu'elles renferment et sont formées de tissus provenant de la plante mère.

Structure externe

- Le grain du blé a une longueur de (5,5 à 7,5 mm), et son diamètre (3 à 4 mm).

Structure interne

- L'Ecorce : Elle représente environ 17% du poids du grain. Elle est constituée de plusieurs couches :
 - Le péricarpe est une enveloppe avec des cellules dont la membrane est épaisse et dont l'utilisation digestive est médiocre.
 - Le tégument séminal contient les colorants du grain qui lui donnent sa couleur jaune marron.
 - La bande hyaline est un ensemble de cellules transparente

Chapitre I. Généralité sur le blé

- L'assise protéique ou couche « aleurone » (Aleurone étant une substance protidique de réserve) qui est riche en protéines, vitamines (elle contient près du 1/3 des vitamines BR 1R et BR 2R et environ les 2/3 des vitamines BR 6R et BR 3R du grain), minéraux, lipides, cellulose et lignine. L'Albumen ou Amande Elle représente 80 % du poids du grain et sa partie inférieure est délimitée par le germe.
- L'albumen : C'est une substance blanche, friable, constituée d'un ensemble de grains d'amidon (70 % de l'amidon total) entourés par un réseau de gluten (nature protéique) mais elle est pauvre en minéraux. Le gluten est responsable de l'élasticité de la pâte malaxée ainsi que de la masticabilité des produits à base de céréales cuits au four.
- Le germe : représente 3 % du poids du grain et il est riche en vitamines et lipides. Il est constitué de 2 parties :
 - L'embryon (figure 1): est la partie essentielle de la graine permettant la reproduction de la plante ; en se développant il devient à son tour une jeune plante. Du fait qu'il contient beaucoup de matières grasses (environ 15%), ou d'huiles, et qu'il pourrait donc rancir, le germe est souvent éliminé lors du nettoyage des grains. Les embryons de céréales sont vendus dans les boutiques de diététiques car ils sont considérés comme très sains en raison de leur haute teneur en sels minéraux, vitamines, protéines et huiles.
 - Le scutellum (figure 1) qui entoure l'embryon, le protège et joue un rôle nourricier. (Fredot, 2005)

Chapitre I. Généralité sur le blé

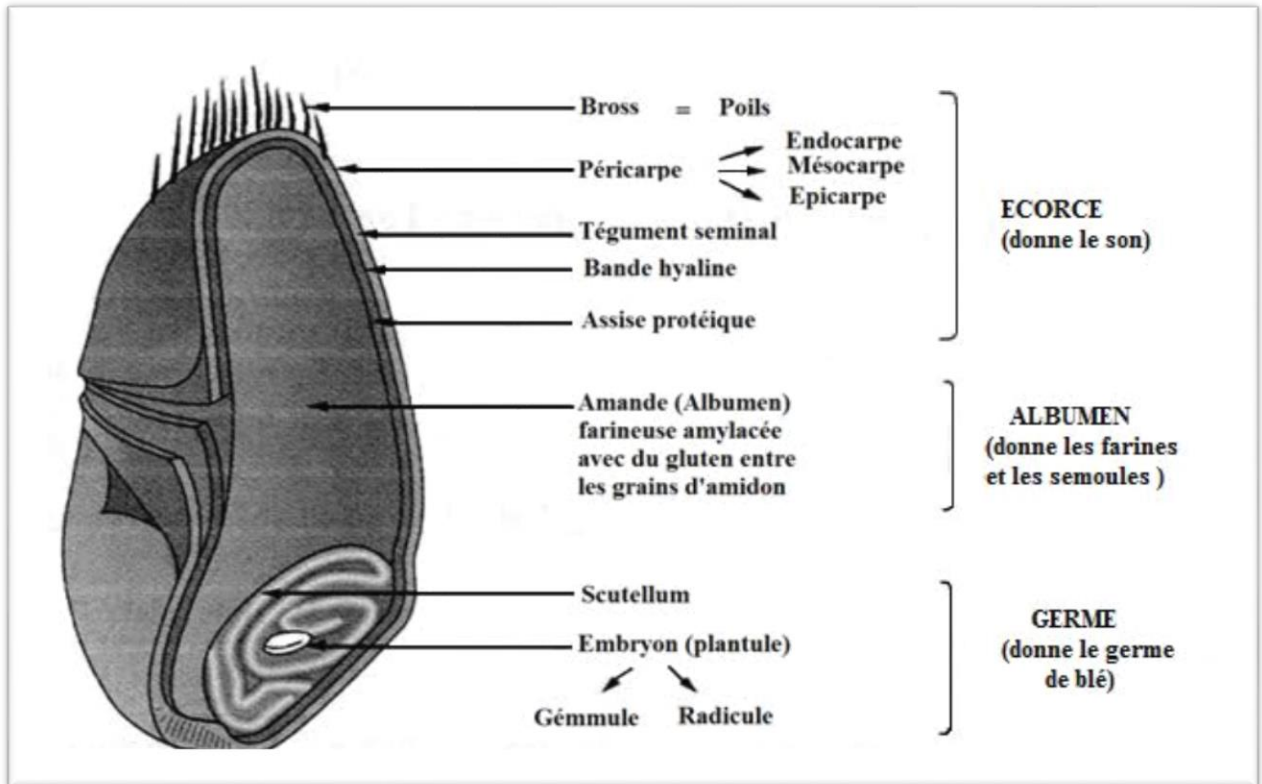


Figure 1 : Coupe d'un grain de blé (Fredot, 2005).

Tableau II : Composition moyenne des grains de blé (en %)

Espese	Eau	Amidon et petits glucides	lipides	Cellulose Hémicellulose Pentosanes	minéraux	Vitamines en mg pour 100g de grain
Blé	13	35	1.7	4.9	3.0	6.64

(B.Godon et C.William, 1991)

1.8. Amélioration génétique du blé

L'amélioration génétique des plantes représente les activités qui tendent à ajustergénétiquement les plantes pour les rendre aptes aux besoins de l'homme. Cette activité cherche à rendre les plantes mieux adaptées aux milieux physique, biologique et économique (Gallais,1999). L'amélioration des plantes est au cœur des métiers des semenciers. Les connaissances et les outils nécessaires à l'obtention de nouvelles variétés ont conduit à l'émergence du métier de sélectionneur. C'est avant tout un métier de terrain, d'observation et de patience : le développement d'une nouvelle variété nécessite jusqu'à 15 ans de travail, avant sa mise sur le marché (Agence Ressources de la Nature, 2017).

L'évolution permanente des conditions climatiques, écologiques, sociales et économiques conduit à un ajustement continu des objectifs (Feldmann et Feyt, 1998). Le rendement et sa stabilité, la tolérance des stress biotiques et abiotiques et la qualité sont des objectifs souvent recherchés en amélioration du blé (Gallais et Bannerot, 1992 ;Benmahammed et al., 2010). La productivité qui est la capacité potentielle d'une variété à produire des rendements élevés quand les conditions optimales sont réalisées (Roseille et Hamblin, 1981 ; Simmonds, 1991 ; Lafon, 1987 ; Ceccarelli et al., 1991).

La sélection pour la résistance ou la tolérance à des conditions hostiles de l'environnement permet d'augmenter et de stabiliser la production (Zahour, 1992). La difficulté d'identifier et de caractériser les paramètres de la tolérance au stress hydrique chez les plantes, à travers l'observation d'un caractère phénotypique complexe et de faible héritabilité, comme le rendement en conditions de déficit hydrique, a conduit à s'intéresser à des critères morpho-physiologiques de la tolérance à la sécheresse (Oulmi et al., 2014 ; Mansouri et al.,2018).

Des approches analytiques, consistant à isoler et à étudier individuellement un mécanisme de résistance donné, via l'observation d'un paramètre particulier (critère de sélection) ont été proposées. Plusieurs critères physiologiques et biochimiques ont été ainsi identifiés dans le but de distinguer les variétés sensibles des variétés résistantes au stress hydrique : accumulation de proline, des sucres, induction de protéines spécifiques, résistance stomatique, fluorescence chlorophyllienne (Oulmi et al., 2014 ; Cossani et Reynolds, 2012). L'héritabilité est une des propriétés les plus importantes d'un caractère mesurable. Elle exprime la part de la variance totale attribuable à l'effet moyen des gènes. C'est ce qui détermine le degré de ressemblance entre parents (Acquaah, 2007). Elle permet de

Chapitre I. Généralité sur le blé

discerner si les différences observées entre individus proviennent de variations dans les constitutions génétiques des plantes ou sont liées aux facteurs du milieu (Demarly, 1977). Plus un caractère est héritable, plus la possibilité de l'utiliser comme critère de sélection indirecte est faisable. Les caractères ciblés par la sélection doivent avoir en plus d'une hérabilité élevée, un degré de liaison inter générations ou environnements assez élevé. Ils doivent être facilement mesurables et significativement liés au caractère d'intérêt qui est le rendement en grains (Laala,2018).

Chapitre II :
Les maladies du blé

1. Les maladies de stockages

1.1. *Rhizopus stolonifer* :

R. stolonifer est un champignon très cosmopolite rapporté pratiquement sur tous les continents dans le monde. Il provoque des pourritures molles et liquides sur différentes plantes et divers organes (majoritairement les fruits) surtout au moment de la récolte et en cours de conservation (LACROIX,2008). Ces pourritures montrent quelques similarités avec celles occasionnées par des bactéries. (INRA, 2008).

- **Symptômes :**

- ✓ Tissus mous et aqueux : Les parties affectées deviennent molles, aqueuses et commencent à pourrir.
- ✓ Moisissures noires : Une moisissure noire ou grisâtre apparaît sur les surfaces des fruits et légumes infectés.
- ✓ Odeur désagréable : Les produits pourris dégagent une odeur forte et désagréable en raison de la décomposition.
- ✓ Détérioration rapide : La maladie peut progresser très rapidement, surtout dans des conditions chaudes et humide

1.2. *Alternaria alternata* :

Alternaria alternata est un champignon pathogène qui cause la maladie connue sous le nom de tache alternarienne ou brûlure des feuilles sur un large éventail de plantes, notamment les cultures fruitières, légumières et ornementales. (Dendy et al., 2000 ; Belmehdi et Beddar, 2019).

- **Symptômes :**

Chapitre II. Les maladies du blé

- ✓ Taches brunes à noires : Apparition de taches circulaires ou irrégulières, souvent avec des anneaux concentriques, sur les feuilles, les tiges et les fruits.
- ✓ Chute prématurée des feuilles : Les feuilles sévèrement touchées peuvent jaunir, se dessécher et tomber prématurément.
- ✓ Dommages aux fruits : Les fruits peuvent développer des lésions sombres et déformantes, entraînant une baisse de qualité.
- ✓ Nécrose des tissus : Les zones affectées peuvent se nécroser, entraînant la mort des cellules. (Andersen et al., 2002).

1.3. **Penicillium :**

De tous les champignons, c'est probablement le genre *Penicillium* qui est le plus ubiquitaire. Il comporte plus de 200 espèces qui se rencontrent partout de l'équateur aux pôles (Reboux et al., 2010). Ce genre se caractérise par l'aspect du conidiophore qui est divisé en articles rappelant ainsi la forme d'un pinceau. A la récolte, les graines peuvent ne présenter aucun symptôme et se dégrader pendant la conservation (Champion, 1997).

1.4. **Fusarium :**

Le nom *Fusarium* vient de « fusus » qui signifie fuseau d'après la forme de ces macroconidies fusiformes et cloisonnées. Ce sont des champignons cosmopolites, on distingue près de 40 espèces largement répandues dans la nature et vivants en saprophytes. Certains sont des phytopathogènes et beaucoup produisent des mycotoxines contaminant les denrées alimentaires et provoquant alors des maladies graves chez les herbivores (mycotoxicoses) (Chabasse et al., 2002). Ils réduisent le rendement et la qualité des céréales et compromettent la valeur boulangère du blé, elles ont besoin d'une humidité élevée pour croître (Abramson et al., 2001).

1.5. **Aspergillus :**

Le genre *Aspergillus* a des conditions de développement pour chaque espèce de moisissures de stockage (Christensen et al., 1969) quand la température (jusqu'à 40°C)

Chapitre II. Les maladies du blé

et l'activité de l'eau sont élevées la multiplication des moisissures du genre *Aspergillus* passe plus rapide (Mahideb et Merrouche, 2015 ; Belmehdi et Beddar, 2019). À une teneur d'humidité inférieure à 15% et une température d'environ 70°C l'espèce *Aspergillus restrictus* c'est l'espèce qui prédomine dans le blé stocké (Belmehdi et Beddar, 2019). Au-dessus de 15% d'humidité, d'autres espèces peuvent apparaître telles que : *Aspergillus repens*, *Aspergillus amstelodami*, *Aspergillus ruber* prédominant et conservent leurs prédominances même à des teneurs d'humidité supérieures à 18% (Christensen et al., 1969 ; Belmehdi et Beddar, 2019).

2. Les maladies des champs :

2.1. L'oïdium :

Est une maladie cryptogamique causée par des champignons parasites qui affectent de nombreuses plantes, notamment les cultures fruitières, légumières et ornementales. Cette maladie est caractérisée par l'apparition d'un feutrage blanc poudreux sur les feuilles, les tiges et parfois les fruits. Le champignon responsable appartient principalement au genre *Erysiphe*, mais d'autres genres comme *Uncinula* et *Sphaerotheca* peuvent également être impliqués. (PRESCOTT et al, 1987).

• Symptômes :

- ✓ Feutrage blanc : Aspect poudreux qui apparaît d'abord sur les parties jeunes des plantes.
- ✓ Feuilles déformées : Les feuilles infectées peuvent se recroqueviller, jaunir et tomber prématurément.
- ✓ Ralentissement de la croissance : Les jeunes pousses peuvent être particulièrement affectées, avec un développement retardé.
- ✓ Dommages aux fruits : Les fruits peuvent se déformer ou avoir une croissance limitée

2.2. Les rouilles :

La maladie des rouilles est une infection fongique qui affecte principalement les plantes, en particulier les cultures céréalières telles que le blé, l'orge et le maïs. Elle est causée par des

Chapitre II. Les maladies du blé

champignons appartenant à la famille des Pucciniales. (LAFFONT,1985). Ces champignons se développent en formant des pustules ou des taches de couleur jaune, orange ou brune sur les feuilles, les tiges et parfois les épis des plantes. Ces taches ressemblent souvent à de la rouille, d'où le nom de la maladie .(PRESCOTT et al, 1987).

- **Symptômes et effets :**

Les principales manifestations de la maladie incluent :

- ✓ Apparition de taches de rouille sur les feuilles.
- ✓ Décoloration et dessèchement des parties affectées de la plante.
- ✓ Réduction de la photosynthèse, entraînant une perte de rendement significative

2.3. Mildiou :

Le mildiou est une maladie fongique qui affecte principalement les cultures, notamment la vigne, la pomme de terre, la tomate et d'autres plantes Elle est causée par des organismes appelés oomycètes, souvent du genre Phytophthora et Plasmopara.. (PRESCOTT et al, 1987)

- **Symptômes :**

- ✓ Feuilles : Apparition de taches jaunes ou brunâtres sur les feuilles. Ces taches peuvent s'étendre et provoquer le dessèchement des feuilles.
- ✓ Tiges : Les tiges peuvent noircir et se nécroser.
- ✓ Fruits et tubercules : Les fruits et tubercules infectés peuvent pourrir, devenant

2.4. Fusariose :

La fusariose est un ensemble de maladies causées par des champignons du genre Fusarium, qui affectent Diverses cultures dans les champs . (LACROIX, 2008).ces maladies peuvent entraîner des pertes de rendement importantes et une qualité réduite des produits agricoles.voici un résumé des principales fusarioses rencontrées dans les champs:

- ✓ Fusariose de la céréale
- ✓ Fusariose des légumes

Chapitre II. Les maladies du blé

- ✓ Fusariose de la canne à sucre
- ✓ Fusariose du coton
- ✓ Fusariose des cultures fruitières

Chapitre III :
La fusariose du blé

1. Importance de la fusariose du blé :

La fusariose du blé est une maladie des céréales à grains fins qui est largement répandue dans le monde. Lorsque les conditions climatiques sont propices, cette maladie peut infecter la plante à tous les stades de croissance, affectant ainsi toutes ses parties, des racines jusqu'aux épis. (Parry., 1995).

La fusariose a été identifiée pour la première fois en 1884 en Angleterre. Depuis lors, elle s'est propagée à l'échelle mondiale, avec de récentes épidémies signalées en Asie, au Canada, en Europe et en Amérique. Les premières recherches sur la fusariose ont été entreprises en Amérique du Nord, notamment aux États-Unis.

Les conséquences économiques de la fusariose sont importantes en raison des pertes de rendement significatives telles que la fonte de semences, l'avortement des fleurs, la réduction du nombre et du poids des grains, etc. De plus, la qualité des grains est affectée, ceux-ci devenant petits, légers, ridés et parfois recouverts d'un duvet blanc ou rose. Lors des essais d'inoculation des épis de blé sur le terrain, des pertes de rendement allant jusqu'à 60% ont été observées. Il a été constaté que plus l'épi est infecté, plus le rendement diminue.

Selon Parry et al. (1995), le terme "fusariose" des céréales englobe trois types de symptômes différents, comme illustré dans la Figure 02.

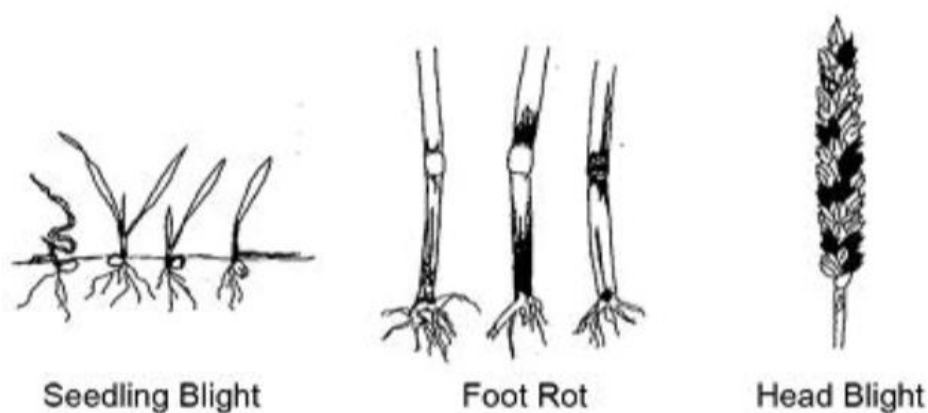


Figure 2 : Types de Fusarioses (Parry et al. (1995))

2. Le complexe fusarien:

La fusariose est causée par un groupe de champignons phytopathogènes comprenant deux genres, *Fusarium* et *Microdochium* (Arseniuk et al., 1999). Ces genres regroupent environ 19 espèces capables de provoquer la fusariose des épis de blé et d'orge (Liddell, 2003).

2.1. Le genre *Fusarium* :

Le genre *Fusarium* a été officiellement décrit par Link en 1809. Son nom est dérivé du latin "fusus" signifiant fuseau, en référence à la forme fusiforme et cloisonnée de ses macroconidies. Appartenant à la division des Ascomycètes et à la famille des Nectriacées, le genre *Fusarium* est actuellement classé dans 15 sections selon un système dérivé de celui de Nelson et al. (1983). Ce classement a été révisé par Burgess et al. (1994).

2.2. Le genre *Microdochium*:

Fait partie de la famille des Tuberculariacées et comprend deux espèces, *M. nivale* et *M. majus* (Glynn et al., 2005). Ces deux espèces induisent des symptômes similaires à ceux des *Fusarium* sur les épis et les feuilles, mais elles ne produisent pas de mycotoxines.

2.3. Le complexe *F. graminearum*:

Identifié comme l'espèce principale responsable de la fusariose des épis et appartenant au genre *Fusarium* mentionné précédemment, englobe différentes espèces. Selon diverses études (Brown et al., 2010 ; Pereyra et al., 2004 ; Xu & Nicholson, 2009 ; McMullen et al., 1997), ce complexe est composé de 14 espèces distinctes récemment identifiées grâce à la méthode de la "Reconnaissance des Espèces Phylogénétiques par Concordance Généalogique" (GCPSR).

2.4. Symptomatologie :

Les épis blancs, symptôme caractéristique de la fusariose, sont facilement identifiables à distance dans un champ, comme illustré dans la Figure 3



Figure 3 : Symptômes de fusariose sur champs de blé, (Sagenta, 2009)

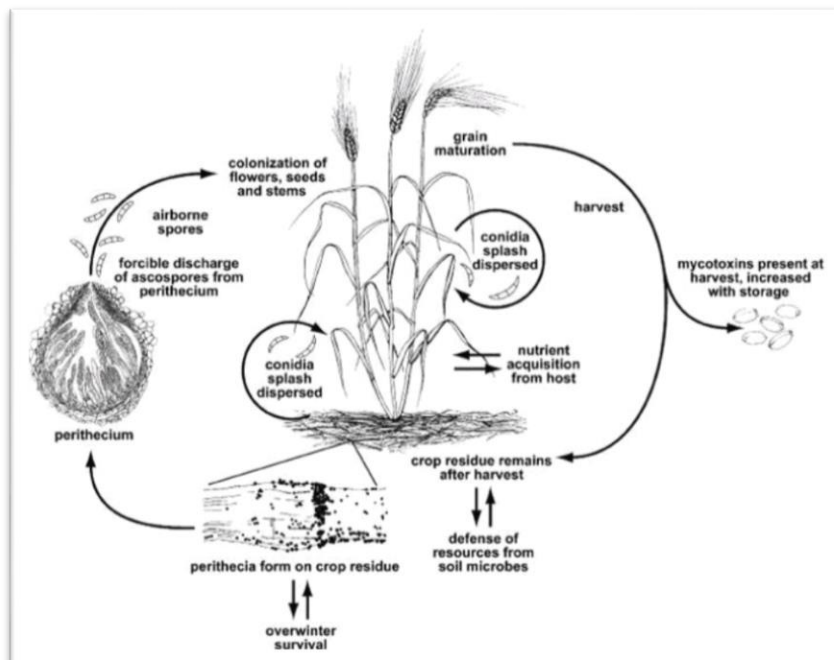


Figure 4 : cycle de vie de fusariose (Trail .2009)

2.5. À la levée:

Lors de la germination, les semences infectées par les *Fusarium* présentent des manques importants et des pertes de semis significatives (Figure 5). En effet, ces champignons pathogènes tels que *F.roseum* et *Microdochium nivale* sont présents dans toutes les parties de la graine (coques, réserves et embryon). Ainsi, il est crucial d'appliquer des traitements spécifiques aux semences pour prévenir ces infections et garantir un bon développement des cultures.



Figure 5 : Symptômes à la levée (INPV, 2008)

2.6. Fusariose des épis, des graines " Gal de l'épi » :

La fusariose des épis et des graines, également connue sous le nom de maladie « Gal de l'épi », présente des symptômes facilement identifiables dans les champs. Ces symptômes se caractérisent par un blanchissement prématuré d'une partie ou de la totalité de l'épi. Initialement, les premiers signes apparaissent souvent au centre de l'épi avant de se propager vers le haut et le bas. La progression rapide de la maladie peut parfois entraîner une affectation totale de l'épi. (F. R. E. D. E.C., 2002). Des épillets infectés peuvent présenter une gamme de couleurs allant du rose à l'orange saumoné, en particulier pendant les périodes d'humidité prolongées. Pour ce qui est de l'orge, l'infection peut entraîner une coloration foncée des épillets qui est généralement limitée à quelques groupes sur des épis spécifiques. Les grains matures infectés peuvent se retrouver ratatinés, légers, de couleur blanc crayeux, voire parfois roses, ce qui indique qu'ils sont momifiés ou endommagés par le *Fusarium*.

Contrairement au blé, la taille des grains d'orge n'est pas aussi fortement impactée par l'infection. Cependant, les grains momifiés sont généralement plus fortement contaminés par les mycotoxines. (Richard, 2004) (Figure 6)



Figure 6 : Les symptômes (A) : Fusariose sur du blé printemps, (B) organes fructifères noirs sur orge, (C)

Grains de blé endommagés par le Fusarium; à gauche – grains sains; au centre grains momifiés; à droite grains infectés teintés

2.7.Fusarioses du pied, de la tige et des nœuds:

La fusariose peut endommager les premiers centimètres de racine et la base de la tige des plantes, ce qui entraîne un flétrissement de la plante. Cette maladie se manifeste surtout sur les blés qui subissent du stress suite à des fluctuations climatiques et des périodes de sécheresse au printemps. Le blé dur est particulièrement vulnérable à cette maladie. (Bouas et al., 2012)

La fusariose affecte la tige et les nœuds, se traduisant par une coloration brune diffuse qui peut se propager progressivement sur une grande partie de la tige. On ne observe généralement pas de stroma ou de plaque mycélienne. Typiquement, un anneau brun violacé peut être visible sur les nœuds (Figure 7) Les symptômes se limitent aux parties superficielles de la tige, ce qui indique qu'ils ont peu d'impact nuisible.



Figure 7 : Les symptômes sur pied, tige nœud (Bouas et al., 2012)

2.8. Pourriture racinaire :

Les signes visibles sur le terrain incluent des pertes de semis, un flétrissement des jeunes plantules et l'apparition prématurée d'épis blancs non productifs. On peut également observer des taches nécrotiques ou noircies sur le collet, le rhizome ou les racines, qui peuvent s'étendre. En cas de forte infestation, la pourriture peut se propager à toute la partie basale de la plante (Sayoud et al., 1999).

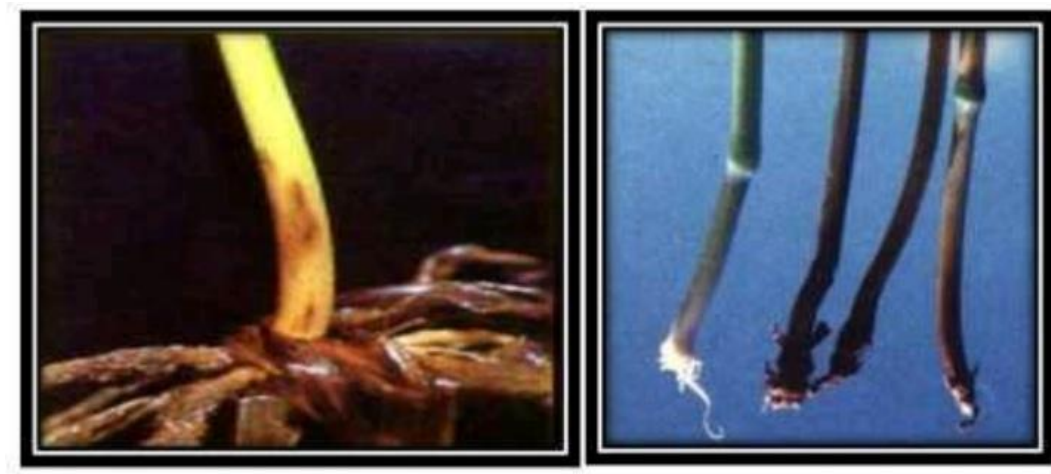


Figure 8 : Symptômes des pourritures racinaires (Sayoud et al., 1999).

2.9. Sur grain :

Les grains infectés présentent généralement un aspect ratatiné, plissé et léger, avec une texture rugueuse et galeuse. Ils peuvent être de couleur brun clair, rose ou blanc grisâtre. Les grains affectés par la fusariose sont quant à eux blancs, roses ou partiellement noirs, avec un aspect duveteux et une amande souvent altérée. En cas de contamination par *M. nivale*, ces grains ne présentent pas de coloration rose.

D'autre part, on peut observer une augmentation de la moucheture. Les pertes de rendement sont étroitement liées à la quantité de grains affectés par la fusariose.



Figure 9 : Grains de blé saints et fusariés (Boutigny, 2007)

3. Agent causal *Fusarium* spp :

3.1.Étiologie :

Link a introduit le genre *Fusarium* pour la première fois en 1809. Ce genre tire son nom du latin *Fusus* en raison de la forme en fuseau de ses spores. La fusariose de l'épi peut être provoquée par environ vingt espèces du genre *Fusarium* et une espèce du genre *Microdochium*. Parmi celles-ci, cinq sont les principales responsables de la fusariose : *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae* et *Microdochium nivale* (Parry et al., 1995).

La répartition et la dominance de ces espèces pathogènes sont largement influencées par le type de céréale, la région et le climat. Cependant, il est fréquent de trouver un mélange d'espèces et de souches différentes sur un même épi. (Doohan et al., 2003 in Boutigny 2007).

3.2.Classification Classique :

a. L'anamorphe :

Les champignons dont la reproduction asexuée est inconnue se manifestent sous forme imparfaite. Leur multiplication asexuée implique une grande diversité de conidies en termes de formes et d'organisations. Selon la classification conservant la division des Deuteromycota, le genre *Fusarium* doit être classé dans (Botton et autres, 1985).

- Classe : Hyphomycètes, thalle filamenteux septé
- Ordre : Tuberculariales, présence de sporodochies
- Famille : Tuberculariaceae : seule famille de l'ordre

b. Les téléomorphes :

Les champignons parfaits de *Fusarium* ont une forme idéale pour la reproduction sexuée, appartenant à la sous-division Ascomycotina des Hypocréales. (Botton et al., 1985)

- Classe : Hymenoascomycètes, présence d'un ascocarpe avec couche fertile.
- Ordre : Hypocréales
- Sous-classe : Pyrenomycetideae, l'ascocarpe est un périthèce
- Famille : Hypocreaceae, ascospores non filiformes multiseptées

Les formes parfaites de *Fusarium* sont: *Gibberella*, *Sacco Nectria* (Fr.), *Microdochium nivale*, anciennement connu sous le nom de *Fusarium nivale*, est un type de champignon qui a été classé hors du genre *Fusarium* dans les années 80. Cette espèce est responsable de maladies fongiques importantes et entraîne des symptômes similaires sur les cultures céréalières par rapport aux autres *Fusarium*. C'est la raison pour laquelle *Microdochium nivale* est souvent mentionné dans les publications aux côtés des *Fusarium*, malgré l'absence de production de mycotoxines.

Il existe deux sous-variétés de *M. nivale*: *M. nivale* var. *nivale* et *M. nivale* var. *majus* (Nelson et al., 1994). Les diverses espèces de *Fusarium* ont une préférence pour certaines cultures céréalières. Par exemple, *Fusarium moniliforme* se développe principalement sur du maïs, tandis que *Fusarium graminearum* s'attaque à l'orge, au blé ou au maïs.

3.3. Caractères macroscopiques :

La variabilité morphologique fréquente dans le genre *Fusarium* a conduit à l'identification de plusieurs morphotypes distincts, ce qui complique la reconnaissance des espèces basée uniquement sur des caractères morphologiques. Cette instabilité pose des défis pour la classification des espèces dans ce genre (Nelson, 1981).

Divers types morphologiques peuvent être distingués en fonction de l'apparence du mycélium aérien, comme décrit par Nelson (1981).

1. Type sporodochial : mycélium duveteux peu épais, parsemé d'amas muqueux de couleur orangée représentant des pionnotes (organe donnant naissance à des macroconidies)
2. Type duveteux : mycélium aérien peu épais et relativement peu dense
3. Type cotonneux : mycélium aérien épais et très serré
4. Type ras : pas de mycélium aérien, aspect muqueux

3.4. Caractères microscopiques :

Les *Fusarium* se caractérisent par un thalle qui pousse rapidement, de couleur blanche à crème, jaune brunâtre, rose, rouge, violet ou lilas. Les conidiophores, parfois très ramifiés, se développent sur le thalle sous forme de coussinets (sporodochies) et contiennent des masses de spores qui semblent grasses (Figure10).



Figure 10 : Mycellium, sporodochie et spores du genre *Fusarium* (Gx2500), (Champion1997)

Les phialides présentent une forme plus ou moins allongée et sont capables de produire deux types de conidies : des macroconidies fusiformes, souvent courbées et pluriséptées, avec une cellule basale pédicellée arborant une sorte de talon, ainsi que des microconidies petites, généralement septées et de forme piriforme, fusiforme ou ovoïde. Certaines espèces produisent les deux types de spores, tandis que d'autres ne forment que des macroconidies.

Les chlamydospores peuvent être présentes ou absentes, situées à l'extrémité ou à l'intérieur du mycélium, et peuvent être différenciées par le mycélium ou par les conidies (Botton et al., 1985).

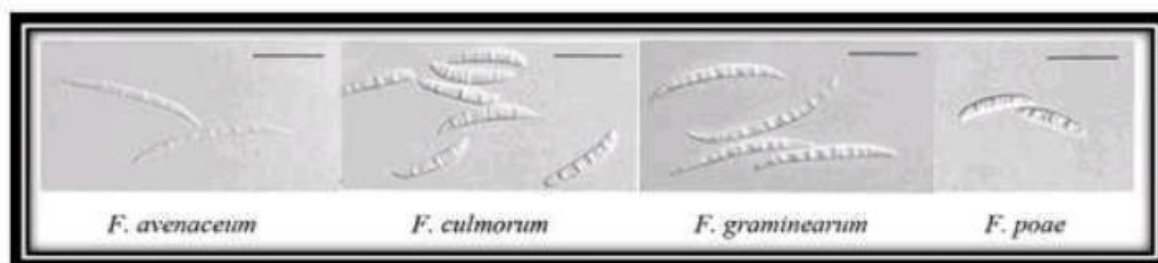


Figure 11 : Spores de *F.avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* et *F. poae* (Leslie et Summerell, 2006) in Boutigny (2007)

- **Epidémiologie:**

Le processus infectieux de *Fusarium* sp est illustré dans la Figure. La contamination se produit par les propagules présentes dans le sol et les débris végétaux où le champignon peut se maintenir. Il est à noter que toutes les variétés de *Fusarium* ont la capacité de survivre en tant que saprophytes dans les débris végétaux (Parry et al., 1994). Ainsi, les débris de céréales constituent la principale source d'inoculum, offrant aux moisissures un environnement propice à une sporulation abondante pendant la saison de croissance végétale qui suit. La contamination peut survenir par le biais des conidies qui germent et tombent sur le sol, des fragments de mycélium ou des spores de résistance du champignon, appelées chlamydospores. Pour les formes sexué...

- **La dissémination :**

Les spores sont principalement dispersées lors des jours de pluie, par le biais des éclaboussures qui propulsent les conidies ou les ascospores sur les cultures de céréales et leurs épis. Pour les espèces *F. culmorum* et *F. poae*, les distances maximales de dispersion sont de 60 cm et 70 cm respectivement (Horberg, 2002).

Chapitre III. La fusariose du blé

Lorsque les ascospores se propagent par le vent, elles peuvent voyager sur de grandes distances, entraînant ainsi la contamination de zones éloignées de leur source. Il est donc possible de détecter la présence d'un contaminant à plusieurs kilomètres de son origine. Dans le cas de la fusariose des épis, les ascospores semblent jouer un rôle prépondérant en tant qu'éléments contaminants. (Bergstrom et shields,2002; Fracllet et al.,1999)

- **Mycotoxines :**

Les mycotoxines n'ont reçu que peu d'attention jusqu'au début des années 1960, lorsqu'une épidémie dévastatrice a frappé l'Angleterre. En l'espace de quelques mois, plus de cent mille dindons sont morts. Tous les cas signalés ont été liés les uns aux autres, la maladie ayant été attribuée à un facteur toxique présent dans la farine d'arachide brésilienne utilisée comme source de protéines pour l'alimentation animale. Cet événement, anciennement appelé simplement "Maladie de la Dinde", a initié une série d'études et de recherches physico-chimiques et toxicologiques sur les substances actives produites par les champignons (Zindine, 2004).

4. Définition des mycotoxines :

Selon Nguyen (2007) les mycotoxines sont des métabolites secondaires, de faible poids moléculaire, élaborées par certaines espèces fongiques au niveau de plusieurs produits agricoles bruts ou transformés et des conditions environnementales bien spécifique.

Ces substances toxiques sont des exotoxines excrétées dans les substrats, et peuvent provoquer par ingestion des maladies dites mycotoxines (Bhatnagar et al., 2002)

4.1 Les mycotoxines associées aux fusarioses :

Les moisissures du genre *Fusarium* produisent plusieurs types de mycotoxines regroupées sous le terme de fusariotoxines.

Les principaux fusariotoxines qui apparaissent assez souvent dans les grains et qui présentent une importance agro économique et sanitaire on distingue plusieurs familles.

4.2 Origines et principaux mécanismes d'élaboration des mycotoxines:

Les mycotoxines sont des toxines produites par une variété de champignons, appartenant à des groupes chimiques divers tels que les polycétoacides (comme les aflatoxines et la patuline), les dérivés terpéniques (comme le déoxynivalénol et la toxine T2) et les acides aminés (comme l'acide aspergillique). Ces toxines sont produites lors de la croissance des champignons sur des substrats appropriés, et peuvent contaminer les cultures alimentaires et provoquer des problèmes de santé chez les humains et les animaux. (Bounar,2009).

La présence de ces toxines dans un substrat peut résulter de trois mécanismes différents, dont le premier est que la toxine est un métabolite secondaire spécifique au champignon.

Chapitre III. La fusariose du blé

Un autre mécanisme par lequel des toxines peuvent être présentes dans un substrat est lorsque le champignon transforme un composé peu ou non toxique en un produit toxique par le biais de bioconversions. De plus, le champignon peut également provoquer une réaction métabolique excessive chez la plante qu'il parasite, entraînant ainsi des concentrations anormalement élevées de certains composants habituels de la plante ou la formation de nouveaux produits toxiques qui n'existent pas dans une plante saine.(Kammoun., 2010).

4.2.1 Mode d'action des mycotoxines :

Les mycotoxines agissent à divers niveaux, notamment en provoquant des dommages à l'ADN au niveau moléculaire (Stettler et Sengstag, 2001).

Certains types de mycotoxines, comme les trichothécènes, ont été observés pour interagir directement avec les enzymes et les coenzymes (Raymond et al., 2003; Shen et al.,1994). De plus, il a été noté que dans certains cas, les mycotoxines peuvent perturber la phosphorylation oxydative et bloquer certaines voies respiratoires (Aléo et al., 1991).

Néanmoins, certaines toxines ont un impact sur la paroi cellulaire et les membranes, tandis que d'autres peuvent entraîner une diminution des défenses immunitaires (Minervin, 2005). Pour qu'une substance puisse être reconnue comme une mycotoxine chez l'homme, elle doit répondre à cinq conditions spécifiques (Pfohl-Leszkowicz, 1999).

- ✓ Existence de la mycotoxine dans l'alimentation,
- ✓ Exposition de l'homme à cette mycotoxine,
- ✓ Corrélation entre l'exposition et l'incidence de maladies,
- ✓ Reproductibilité des symptômes caractéristique chez les animaux,
- ✓ Mode d'action similaire chez l'homme et les animaux

Partie II

Partie pratique

Chapitre I :

Matériel et méthodes

Chapitre I. Matériel et méthodes

1. Matériel :

1.1. Matériel végétale :

Diverses variétés et lignées de blé ont été fournies sous forme d'échantillons de semences, provenant de l'OAIC de Laghouat.

Le tableau III nous renseigne sur les différents échantillons utilisés leur nom et leur espèce :

Tableau III : Listes des lots de céréales analysés

Code	Espèce	Nom de la variété		Région géographique	Récolte
Bd 1	Blé dur	Siméto	Blé de consommation	Laghouat	2023
Bd 2		Oued el bared	Blé de consommation	Laghouat	2023
Bd 3		Vitron	Blé de consommation	C.C.L.S (Laghouat)	2023
Bd 4		Mansoura	Blé de consommation	Laghouat	2023
Bd 5		Siméto	Semence	Laghouat	2023
Bd 6		Oued el bared	Semence	Laghouat	2023
Bd 7		Vitron	Semence	C.C.L.S (Laghouat)	2023
Bd 8		Mansoura	Semence	Laghouat	2023

Quatre échantillons de semences diverses (blé dur, blé tendre) produites localement ont été collectés et analysés.



Figure 12 : Lots semences collectés

2. Méthodes

2.1. Méthodes d'isolement :

Méthode utilisée par l'institut de l'LNVP :

2.1.1. Echantillonnage et prise d'essai:

Lors du prélèvement pour analyse, il est essentiel que l'échantillon de grains de céréales soit représentatif du lot global d'où il provient, qu'il s'agisse d'une parcelle, d'une parcelle élémentaire ou d'un silo. Au laboratoire, l'analyse sera réalisée sur un sous-échantillon représentatif des grains reçus, prélevés de manière aléatoire.

2.1.2. Désinfection des semences :

Il est recommandé de réaliser les manipulations décrites dans des conditions stériles, telles qu'une hotte à flux laminaire ou un Poste de Sécurité Microbiologique. Après avoir désinfecté leur surface, au moins 100 grains (ou 60) devront être analysés pour détecter et identifier les différentes espèces de *Fusarium* spp. L'objectif de la stérilisation de surface des grains est d'éliminer toutes les contaminations externes d'origine fongique ou bactérienne. Pour l'analyse de céréales à grains fins, 50 ml de grains sont soumis à une stérilisation de surface. Les grains sont placés dans un panier tamis à mailles de 0,5-1 mm (de type "moustiquaire") et subissent le cycle de désinfection suivant :

- Les grains sont immergés dans une solution d'hypochlorite de sodium à 1.5%Cl, avec l'ajout d'un agent mouillant Tween 20 (0.01% V/V) ou de savon, pendant 10 minutes (Champion, 1996).
- Ensuite, ils sont rincés trois fois en les laissant tremper dans un bocal contenant 300 ml d'eau stérile pendant 1 minute à chaque fois
- Les grains sont ensuite égouttés et mis à sécher sur du papier filtre stérile sous la hotte à flux laminaire pendant au moins 15 minutes.

Chapitre I. Matériel et méthodes

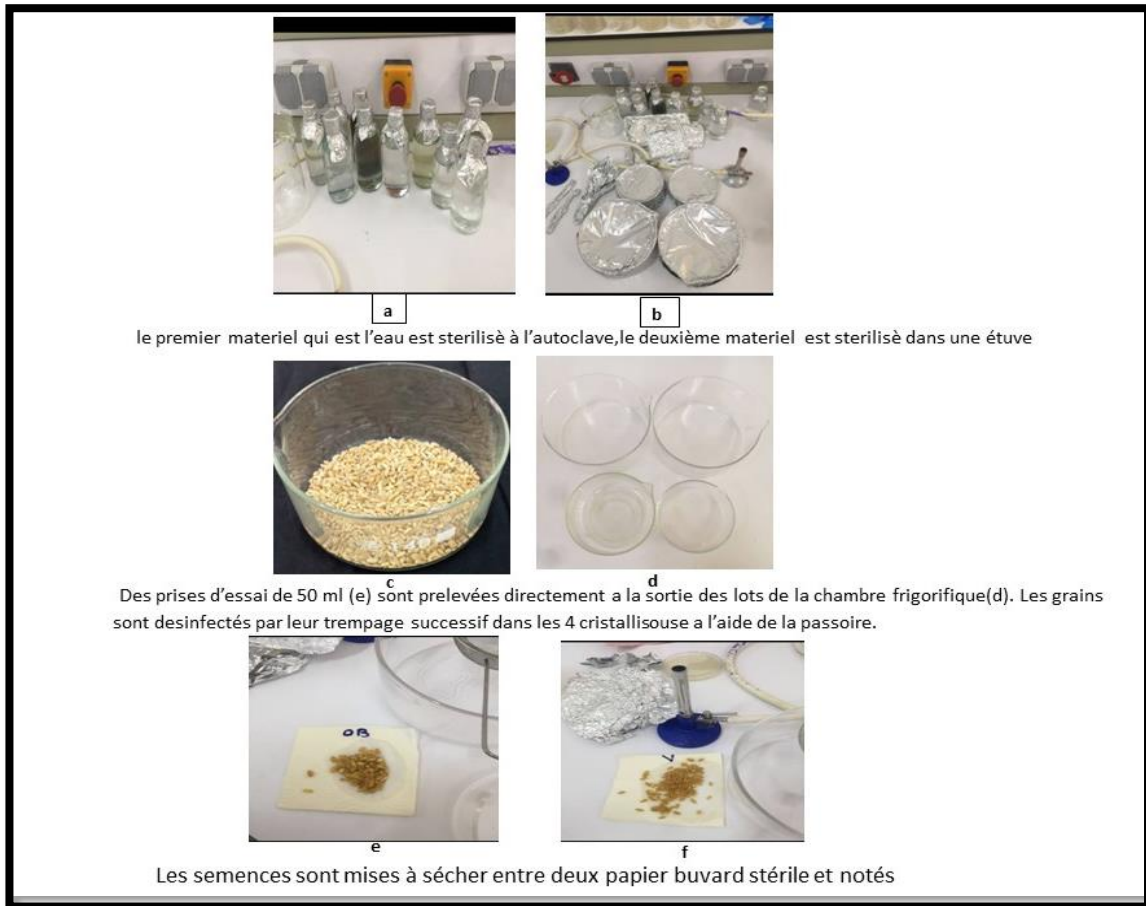


Figure 13 : Illustration de la méthode de désinfection des semences utilisé

3. Isolement:

3.1. Méthode de Geves:

La méthode de Geves implique de déposer des grains, qui ont été préalablement désinfectés et séchés en surface, sur un milieu gélosé. Cela permet de caractériser la mycoflore interne des grains.

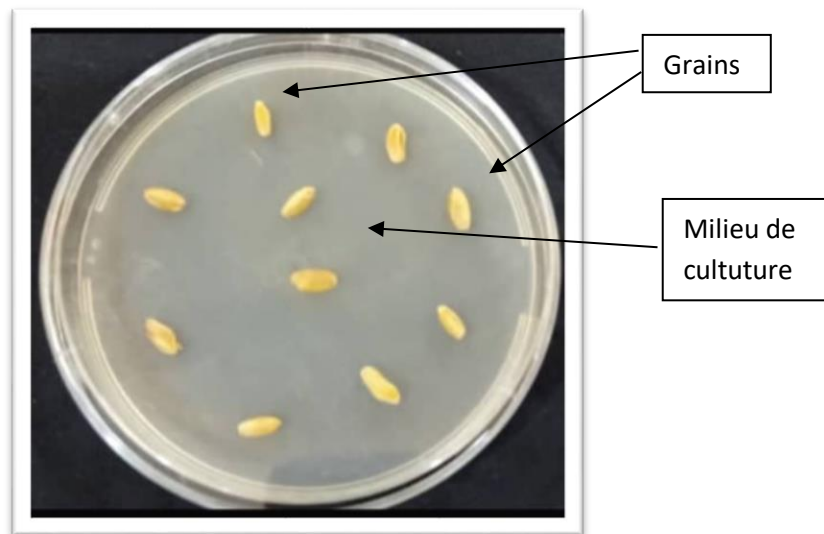


Figure 14 : Illustration de la méthode Geve

3.2. Méthode potato dextrose agar (PDA):

Après avoir été désinfectés, les grains sont déposés à l'aide d'une pince stérile dans des boîtes de Pétri de 90 mm contenant du milieu PDA, à raison de dix grains par boîte (Champion, 1997). Les boîtes sont ensuite placées dans une étuve à température ambiante. La composition en glucides et en extrait de pomme de terre de ce milieu favorise le développement des levures et des moisissures, tandis que le pH bas inhibe la croissance de la flore secondaire. Les caractéristiques morphologiques typiques des champignons, notamment les organes de reproduction, sont bien visible sur ce milieu.

Chapitre I. Matériel et méthodes

3.3. Méthode Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar (DCPA):

Après avoir été désinfectés, les grains sont soigneusement placés dans des boîtes de Pétri de 90 mm à l'aide d'une pince stérile. Chaque boîte est remplie du milieu DCPA et contient dix grains. Les boîtes de Pétri DCPA sont ensuite incubées pendant 10 à 12 jours dans une chambre climatique illuminée et réfrigérée à une température de 22°C \pm 3°C, suivant un cycle d'éclairage-obscurité de 12 heures chacun.

Remarque: Il est également possible d'incuber les boîtes de DCPA sans utiliser une enceinte climatique en les mettant dans des boîtes en plexiglas transparent avec le couvercle légèrement ouvert. Ces boîtes d'incubation peuvent être placées sur les bancs de laboratoire.

Après 10 à 12 jours d'incubation, les souches de *Fusarium* infectant les grains ont bien prospéré sur le milieu semi-sélectif DCPA. Ce milieu limite pratiquement toute pigmentation du thalle des champignons qui y poussent, donnant généralement des cultures blanches à rose très pâle. Étant semi-sélectif, seuls les champignons du genre *Fusarium* se développeront de manière significative sur ce milieu (avec une croissance rapide).

La croissance radiale des souches de *Fusarium* est supérieure à 2 mm par jour, avec un mycélium aérien abondant. Les autres genres de champignons peuvent également se développer, mais ils présenteront une croissance radiale relativement faible, inférieure à 2 mm par jour, et un mycélium aérien rare, voire inexistant. De plus, il a été démontré que ce milieu était nettement plus efficace que le PDA pour détecter les souches de *Fusarium*.

Il convient cependant de noter que pour certaines espèces telles que *F. culmorum*, *F. proliferatum*, *F. moniliforme* et *F. subglutinans*, la sporulation extrêmement abondante (sous forme de sporodochia se transformant en pionnotes) peut étouffer le mycélium aérien, donnant à la culture un aspect ras et gras. Malgré cela, la croissance radiale de ces espèces sur le milieu DCPA dépasse largement les 2 mm par jour.

4. Calculs

Taux de contamination fongique : Nombre de grains contaminés dans un même lot/Nombre totale de grains x 100

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

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

L'**abondance** : est déterminée par le nombre total des individus de chaque espèce dans l'échantillon total, (Bounar, 2009).

5. Méthode de purification

5.1. Repiquage successif :

Consiste à faire plusieurs repiquages successifs de notre souche isolée sur milieu DCPA (annexe) jusqu'à l'obtention de l'isolat pure. Les cultures apparaissent donc généralement blanches à rose très pâle. Le milieu étant semi sélectif, seuls les champignons du genre *Fusarium* vont se développer de manière conséquente sur le milieu (vitesse de croissance radiale >2 mm /jour et mycélium aérien abondant). Les autres genres de champignons peuvent croître mais vont présenter une vitesse de croissance radiale relativement faible (<2 mm / jour) et un mycélium aérien très peu abondant voire inexistant.

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

5.2. Culture monospore:

La méthode de culture monospore a été décrite par Guettatni (1954) selon Bounar (2009). Le processus implique la stérilisation de boîtes de Pétri en verre, chacune contenant une lame porte-objet, suivie par le versement d'une solution gélosée à 2% pour former une fine couche de 1 à 2 mm d'épaisseur.

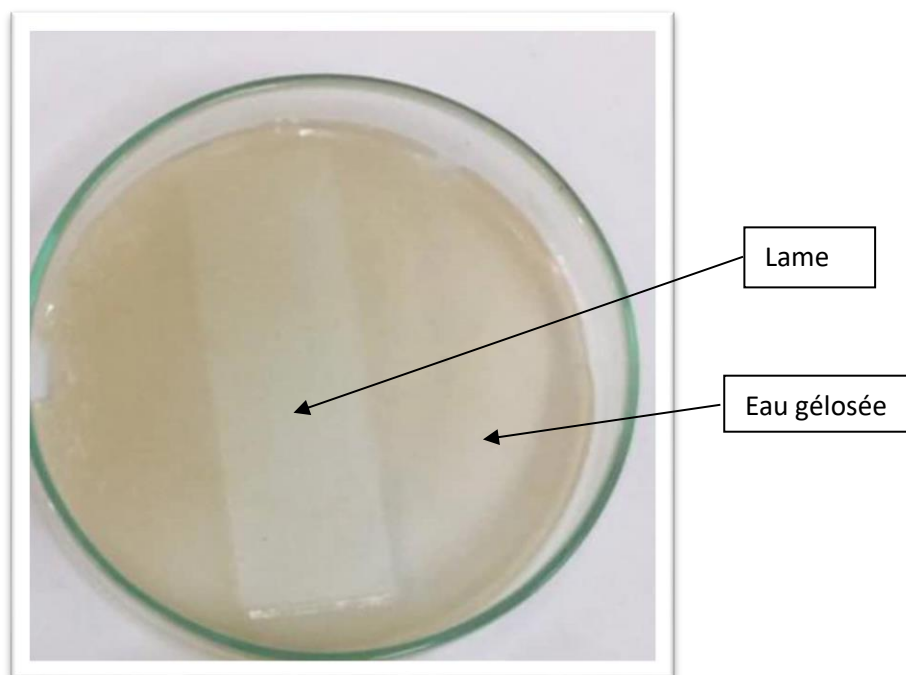


Figure 15 : Méthode de préparation des boîte de Pétri pour la monospore

Une goutte de suspension est étalée de manière homogène sur la lame porte-objet. Les boîtes sont ensuite placées en incubation sous une lumière constante à une température variant entre 18 et 25 °C.

Après 16 heures d'incubation, lorsque les spores commencent à former des tubes germinatifs, un prélèvement monospore est réalisé sous une loupe binoculaire à l'aide d'une pipette pasteur effilée. Les colonies obtenues après 7 à 10 jours d'incubation sont ensuite transférées dans des tubes à essai pour être conservées.

6. Méthode d'identification et de caractérisation

La détermination morphologique de l'espèce d'un isolat de *Fusarium* sp. repose sur l'observation de nombreuses caractéristiques anamorphiques sur des milieux de culture bien définis. Lorsque toutes les informations présentées ci-dessous sont recueillies, l'identification pourra être réalisée en utilisant les clés de références de **Nelson et al. (1983)** et **Nirenberg et al. (1982)** ou **Leslie et al. (2006)**.

Chapitre I. Matériel et méthodes

- **Appréciation de critères macroscopiques de l'isolat sur milieu PDA**

On repique des explants de 5 mm de l'isolat dans des boîtes de Pétri de 90 mm coulées avec du milieu PDA. On incube à température ambiante dans une étuve. Après une semaine on mesure le diamètre et on note les différents caractères :

Vitesse de croissance,

- Aspect du mycélium aérien,
- Couleur de l'envers de la colonie,
- Odeur,
- Couleur des sporodochia.

- **Appréciation de critères microscopiques de l'isolat sur milieu SNA:**

Pour évaluer les critères microscopiques de l'isolat sur milieu SNA, il est recommandé de cultiver les échantillons sur des milieux peu riches en éléments nutritifs tels que le SNA (Synthetischer Nährstoffärmer Agar). Une exposition à la lumière fluorescente est nécessaire pour un développement optimal des sporodochies et des macroconidies, mais une exposition aux UV proches est également préférable (Junot, 2007).



Figure16. *Fusarium* sur SNA ; Exposition au UV proches

7. Méthode de conservation

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

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

Chapitre II :

Résultats et Discussions

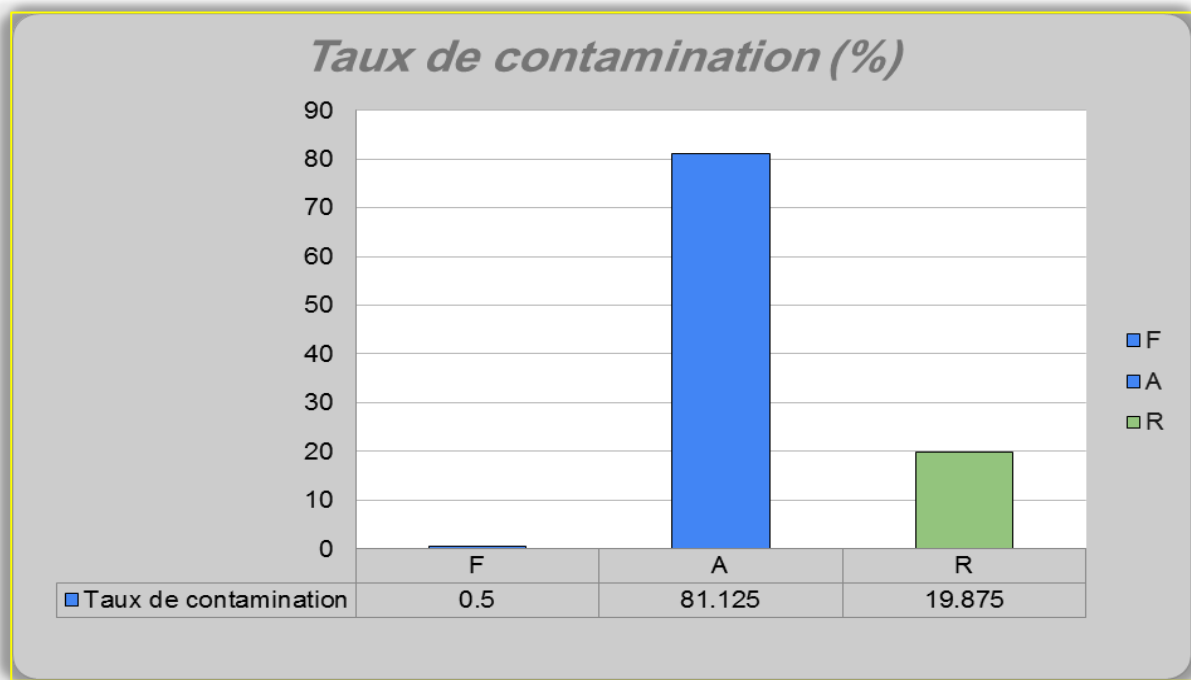
1. Taux de contamination de la semence

La flore fongique trouvée dans les différents lots de semence et graines analysés est comparable à celle identifiée dans la semence depuis des années par plusieurs chercheurs notamment **Sauer (1993)** avec des espèces des genres *Alternariat*, *Penicillium*, *Aspergillus*, ..., etc. On remarque une contamination de plus de 81% de la semence par les différentes espèces fongiques (Figure.17). Les contaminations par le *Fusarium* ne représentent que 0.5% de la contamination totale.

Bien que numériquement limités et avec une fréquence assez faible dans les différents lots examinés (Tableau IV.), certaines espèces de *Fusarium* tels que *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* sont des pathogènes majeurs de première importance pour les cultures céréalières, agents responsables de la fusariose et qui ont provoqué des pertes sérieuses en Amérique du Nord à la fin des années 1990 (**Mc Mullen et al. 1997**). Le fait que les *Fusariums* font partie des champignons de champs, suppose que les semences analysées étaient contaminées au champ, avant le stockage. Toutefois la colonisation peut s'effectuer à la récolte et cause des pertes économiques importantes.

Tableau IV. Taux de contamination de la semence par le *Fusarium* (Nombre de contaminants)

	<i>Fusarium</i>	Autre Contaminant	Total des contaminants	Flore dominante
Bd 1	1	88	89	<i>Penicillium</i>
Bd2	1	85	86	<i>Aspergillus</i>
Bd3	0	90	91	<i>Alternaria</i>
Bd4	0	67	68	<i>Rhizopus</i>
Bd 5	2	80	81	<i>Alternaria</i>
Bd 6	0	91	92	<i>Penicillium</i>
Bd 7	0	65	66	<i>Aspergillus</i>
Bd 8	0	75	76	<i>Rhizopus</i>
Fréquence du genre <i>Fusarium</i>	0,375			
Abondance du genre <i>Fusarium</i>	0,5			



F : Grain contaminé par le *Fusarium*,

A : Grain contaminé par des contaminants autre que le *Fusarium*.

R : Grain non contaminé.

Figure 17. Taux de contaminations de l'ensemble des lots de semences en pourcentage

2. Taux d'humidité

Le résultat du calcul des taux d'humidité est présenté dans le tableau V. On remarque que les taux d'humidité de Bd8, Bd6 et Bd1 sont les plus importants avec respectivement 13.7, 8.6 et 8.75 %. Les taux d'humidité de Bd7, Bd5 et Bd3 n'atteignent pas les 9%. Bd4 et Bd2 a présenté le taux le moins élevé avec seulement 7%.

Chapitre II. Résultats et Discussion

Tableau V. Taux d'humidité des différents lots de semences en pourcentage de la masse

Code	Taux d'humidité (%)
Bd1	8,75
Bd2	7,6
Bd3	8,27
Bd4	7,66
Bd5	8
Bd6	8,6
Bd7	8,2
Bd8	13,7

La contamination fongique d'un lot donné est fortement influencée par l'état sanitaire initial du grain récolté et surtout par son taux d'humidité (Figure. 18). Avec un coefficient de corrélation d'environ 0,8 on peut dire que la contamination fongique est en fonction de l'humidité du grain.

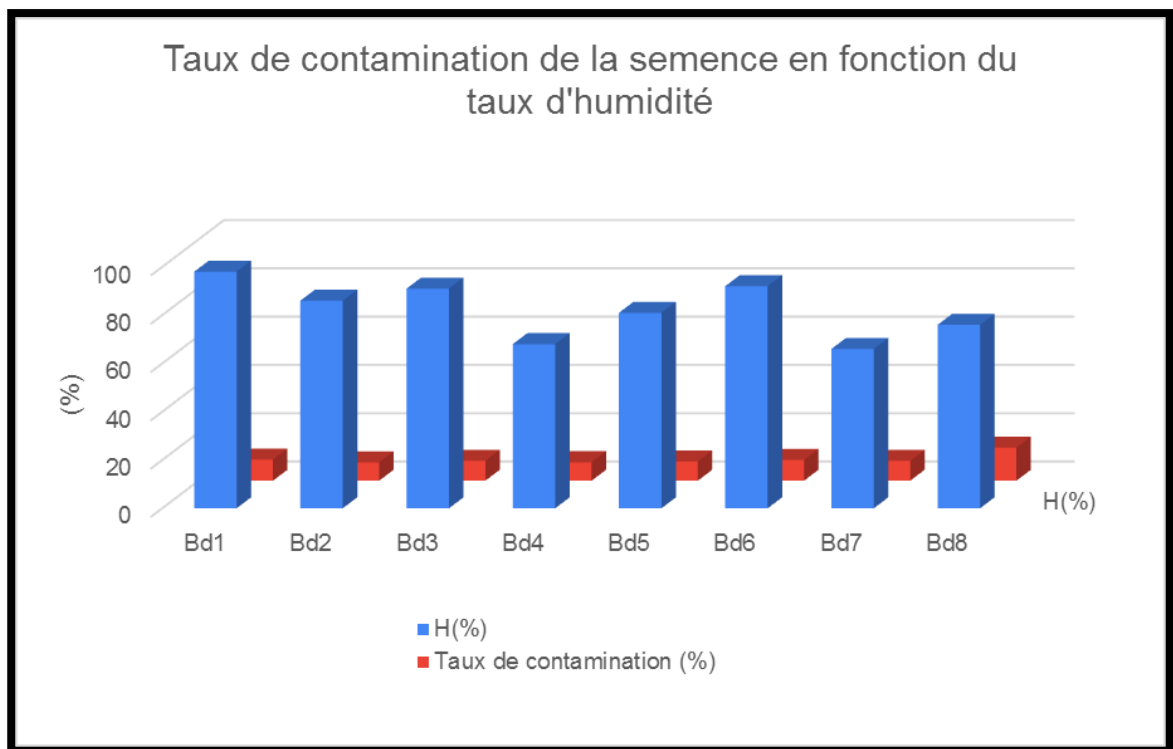


Figure 18. Taux de contamination de la semence en fonction du taux d'humidité du grain de blé

Chapitre II. Résultats et Discussion

Généralement comprise entre 11.0% et 14.0%, elle est également importante dans le commerce puisqu'elle peut conditionner le prix de la marchandise par un système de bonification/réfaction. En pratique, on ne s'inquiétera que si elle dépasse 16% car le blé devient susceptible d'évoluer spontanément (échauffement et germination). La teneur en eau du blé ne doit pas cependant dépasser 14,5% selon le **Codex Alimentaire (1994)**.

Le taux de la contamination par le *Fusarium* est lui aussi fonction de l'augmentation de l'humidité du grain avec un coefficient de corrélation plus de 0,6. Rappelant que les espèces de *Fusarium* sont très hygrophiles et exigent pour leur développement un minimum d'eau libre (A_w), soit entre 0,86 et 0,91.

Cette étude a montré que les conditions climatiques jouent un rôle important dans la prolifération des agents pathogènes au champ d'une part. Cela est dû à des conditions climatiques chaudes et humides favorables à l'extension des maladies additionnées à la non maîtrise de la gestion des problèmes phytosanitaire comme l'affirme **Seyoud**, phytopathologiste dans **Le Maghreb, (2010)**. D'autre part cela peut aussi souligner les problèmes liés aux techniques de stockage archaïques pratiqués. Selon **Zitoune**, expert-consultant international **(2010)**, les agriculteurs doivent connaître le processus d'altération des grains et maîtriser les techniques de conservation pour se prémunir contre les risques liés au stockage des grains.

3. Résultat de l'isolement

Grâce aux différentes méthodes d'isolement nous avons obtenu une gamme d'isolats provenant de la région de Laghouat qui sont représentés dans le tableau **VI** :

Chapitre II. Résultats et Discussion

Tableau VI. Liste des isolats obtenus

Isolats	Code attribué	Origine	Source d'isolement
Iso 1	PS1-0524	Siméto	Consommation
Iso 2	ASS1-0524	Oued el Bared	Consommation
Iso 3	ALS1-0524	Vitron	Consommation
Iso 4	RS1-0524	Mansoura	Consommation
Iso 5	FS1-0524	Siméto	Semence
Iso 6	FS2-0524	Oued el Bared	Semence
Iso 7	FS3-0524	Vitron	Semence
Iso 8	FS4-0524	Mansoura	Semence

L'expérimentation de différentes techniques d'isolement nous a donné une idée sur les avantages et inconvénients de chacune :

- La technique PDA favorise la sporulation du mycélium de certains *Fusarium* mais pas le développement de *sporodochies* contenant les macroconidies caractéristiques de l'espèce car plusieurs repiquages sont souvent nécessaires, étant un milieu riche et non sélectif, il favorise le développement d'un large spectre de moisissures envahissantes. Toutefois l'aspect cultural peut bien mieux être apprécié sur ce milieu (Figure. 19) ;
- La technique DCPA semble être la meilleure. La sélectivité du milieu permet une mise en incubation de 12 jours et l'obtention de sporodochie sans la gêne que représentent les autres contaminants. Cette méthode présentée est employée pour les analyses officielles, notamment dans le cadre des expérimentations nationales et les mises au point de méthodes de lutte, (LNPV, 2001). Tous les isolats développent un mycélium blanchâtre sur le milieu DCPA car ce milieu ne permet aucune pigmentation (Figure.20). La vitesse de croissance est identique à celle qu'on peut observer sur milieu PDA. Cela dit un repiquage sur milieu PDA est nécessaire pour l'appréciation de l'aspect cultural car ce milieu ne permet presque aucune pigmentation du thalle (Figure. 20);
- La technique SNA : La détermination morphologique de l'espèce d'un isolat de *Fusarium* repose sur l'observation de nombreuses caractéristiques anamorphiques sur

Chapitre II. Résultats et Discussion

- des milieux de culture bien définis. Lorsque toutes les informations présentées ci-dessous sont recueillies, l'identification pourra être réalisée en utilisant les clés de références de Nelson et al. (1983) et Nirenberg et al. (1982). Pour l'observation des critères microscopiques de la culture de *Fusarium sp.* sur le milieu SNA, deux prélèvements sont effectués systématiquement Dans des boîtes Parfois, à l'issue des 10 jours d'incubation, aucun sporodochium n'est visible, il convient alors de parafilmer la boîte et de la placer pendant 48 h 3h 10 jours sous exposition aux UV proches. Les sporodochia récoltés seront transférés dans une goutte de colorant (bleu coton ou acide fuchsine) puis monté entre lame et lamelle pour observation au microscope. Ce prélèvement permet d'observer les macroconidies produites en sporodochium de cultures de *Fusarium spp* sur SNA (Figure 21).

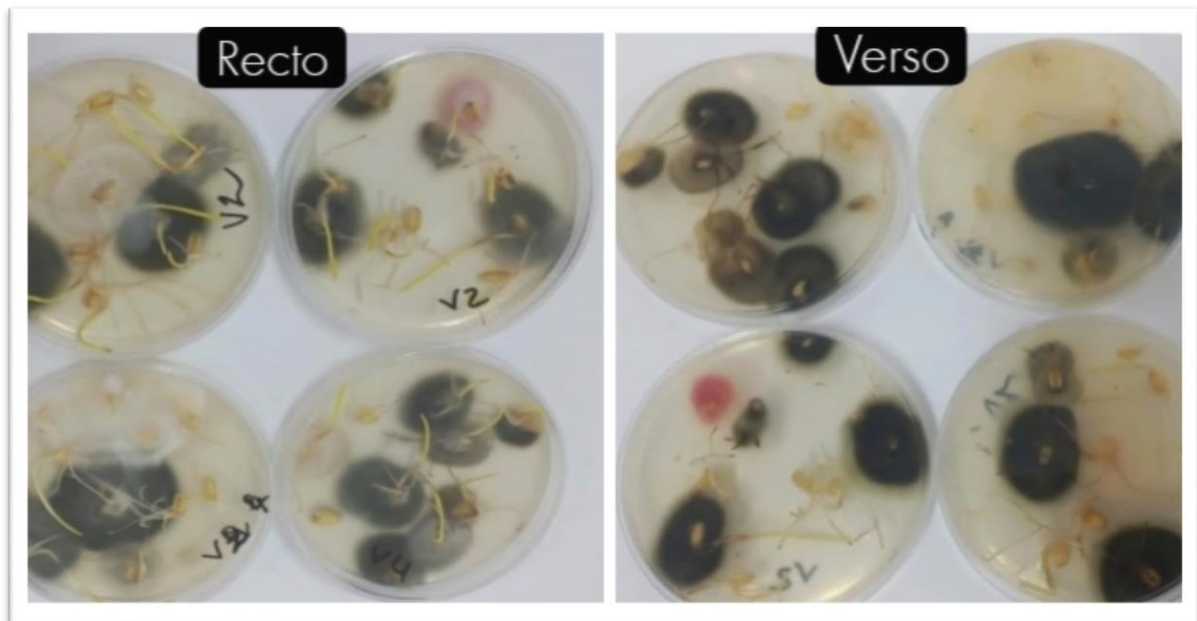


Figure 19. Résultat de la méthode PDA : Isolement des moisissures à partir de grains de blé après 7 jours de culture à 25° C

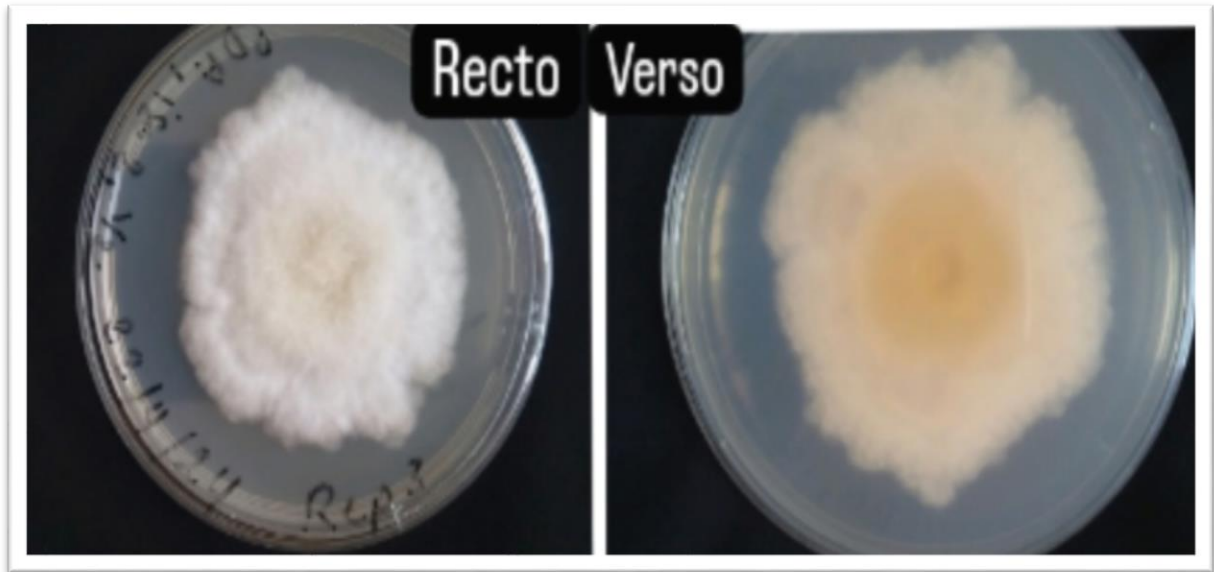


Figure 20. Résultat de la purification par repiquage successif sur milieu DCPA après 7 jours de culture a 25° C

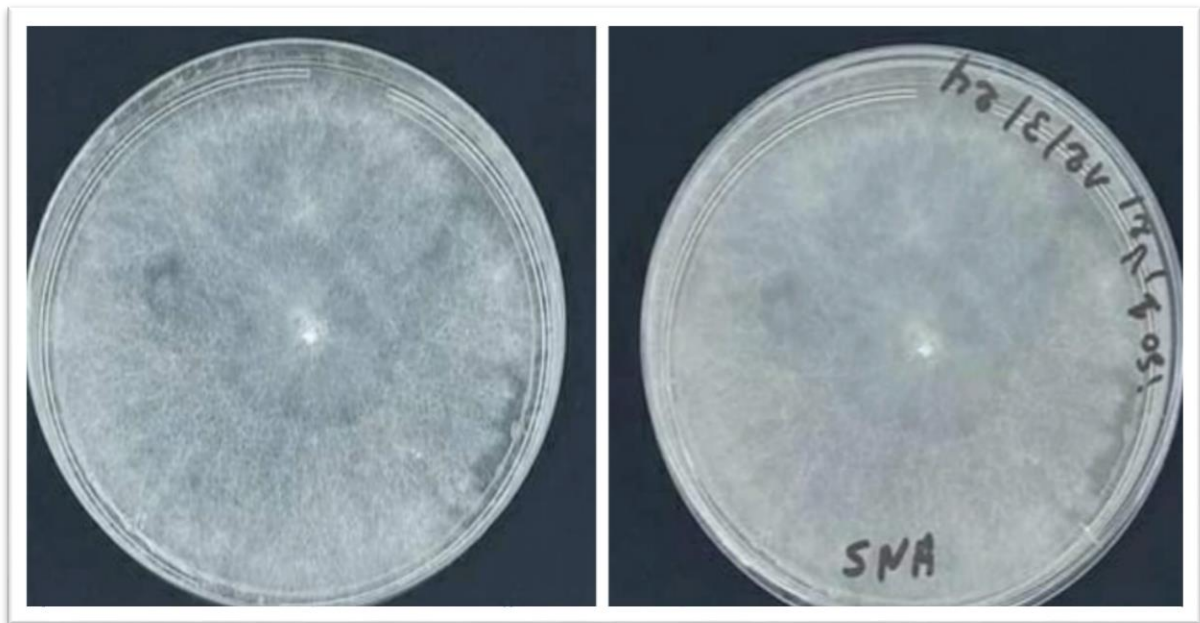


Figure 21. Résultat de la méthode SNA : repiquage successif sur milieu SNA après 7 jours de culture a 25° C

4. Résultat de l'identification des différentes souches

Parmi les isolats obtenus, il existe une grande diversité mais les espèces dominantes du point de vue fréquence sont *Rhizopus*, *Altrnaria*, *Penicillium* et *Aspergillus*.

5. Identification des moisissures les plus fréquentes

La gélose glucosée à la pomme de terre (PDA : Potato Dextrose Agar ou milieu gélosé à base de pomme de terre), largement utilisée dans le passé dans des études de micromorphologie, est utile seulement pour étudier les caractères cultureux et ne devrait pas servir pour des études de micromorphologie ou pour de la conservation de souches, (Junot, 2005).

Identification de l'isolat 1 :

D'après l'aspect cultural (Figure.22) les caractéristiques microscopique (Figure.23), nous avons identifié l'isolat 1 comme étant du genre *Penicillium* et de l'espèce *Penicillium digitatum*.

Macroscopiquement, on observe des colonies circulaires ou étalées, vertes à vert jaunâtre, avec une texture veloutée ou duveteuse.

Sur un plan microscopique, *Penicillium digitatum* présente des caractéristiques distinctives. Ses hyphes, les filaments multicellulaires qui composent le corps du champignon, sont septés et ramifiés, formant une structure caractéristique ressemblant à une brosse ou à un pinceau. Les conidiophores, des structures spécialisées responsables de la production de spores, émergent des hyphes et portent des phialides à leur extrémité. Les phialides sont les cellules où se forment les spores asexuées, appelées conidies. Les conidies de *Penicillium digitatum* sont généralement elliptiques à oblongues.

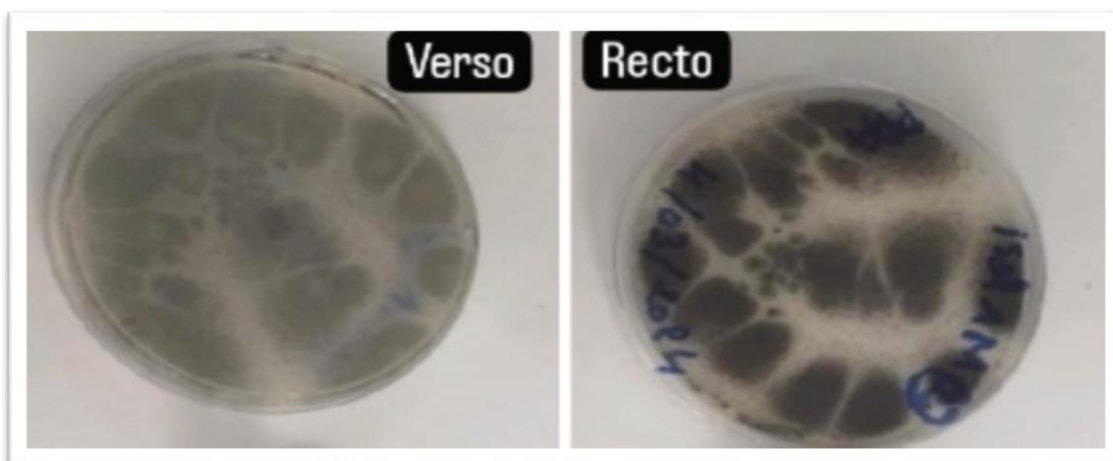


Figure 22. Résultat de la culture d'isolat 1 *Penicillium* sur milieu PDA après 7 jours de culture à 25° C

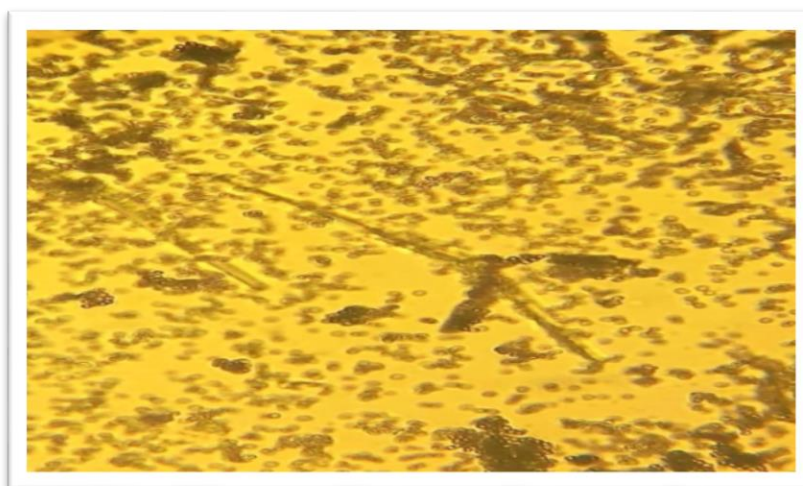


Figure 23. Caractères microscopiques de *Penicillium digitatum* sous microscope optique agrandissement (G x 400).

Chapitre II. Résultats et Discussion

Identification de l'isolat 2 :

D'après l'aspect cultural (Figure.24) les caractéristiques microscopique (Figure.25) nous avons identifié l'isolat 2 comme étant du genre *Aspergillus* et de l'espèce *Aspergillus terreus*.

Macroscopiquement, les colonies d'*Aspergillus terreus* a une couleur allant du blanc à orange. Elles sont veloutées à poudreuses, et forment des colonies denses et étendues.

Microscopiquement, *Aspergillus terreus* présente des caractéristiques typiques du genre *Aspergillus*. Ses hyphes sont septés et ramifiés, formant une structure similaire à une brosse ou à un pinceau. Les conidiophores émergent des hyphes et portent des sporanges en forme de tête de brosse à leur extrémité. Ces sporanges contiennent les conidies, qui sont les spores asexuées de l'organisme. Les conidies d'*Aspergillus terreus* sont sphériques à ovales et peuvent être produites en abondance.

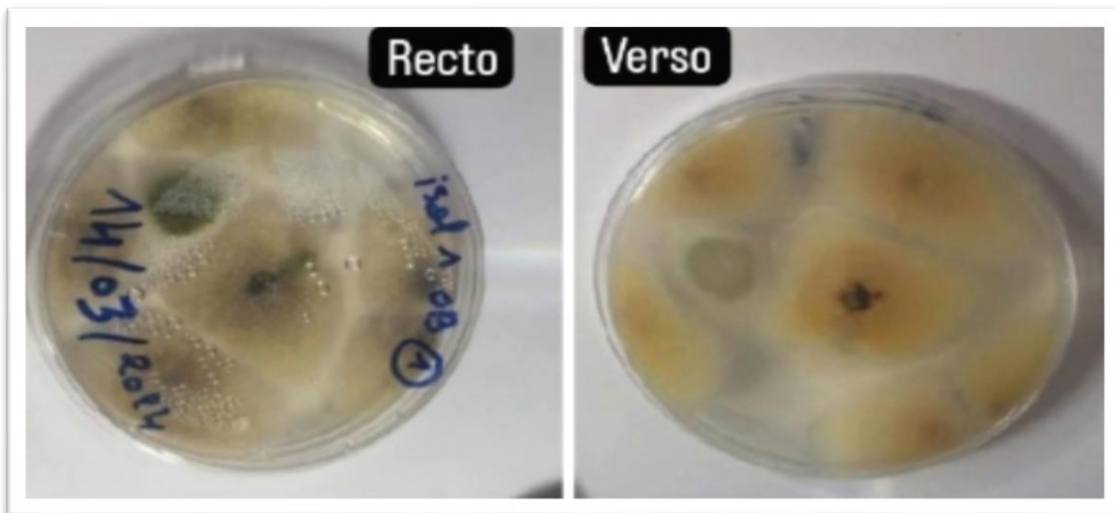


Figure 24. Résultat de la culture d'isolat 2 d'*Aspergillus* sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C



Figure 25. Caractères microscopiques d'*Aspergillus* sous microscope optique agrandissement (G x 400).

Identification de l'isolat 3 :

D'après l'aspect cultural (Figure.26) les caractéristiques microscopique (Figure.27), nous avons identifié l'isolat 3 comme étant du genre *Alternaria* et de l'espèce *Alternaria alternata*.

Macroscopiquement, les colonies d'*Alternaria alternata* de couleur olive à brun foncé, puis deviennent progressivement plus foncées avec l'âge. Elles ont une texture veloutée à feutrée et forment des colonies étalées.

Microscopiquement, *Alternaria alternata* présente des caractéristiques typiques du genre *Alternaria*. Ses hyphes sont septés et ramifiés. Les conidiophores émergent des hyphes et portent des conidies à leur extrémité. Les conidies d'*Alternaria alternata* sont généralement en forme de tonneau avec de nombreuses cellules internes, et elles peuvent être multicellulaires.

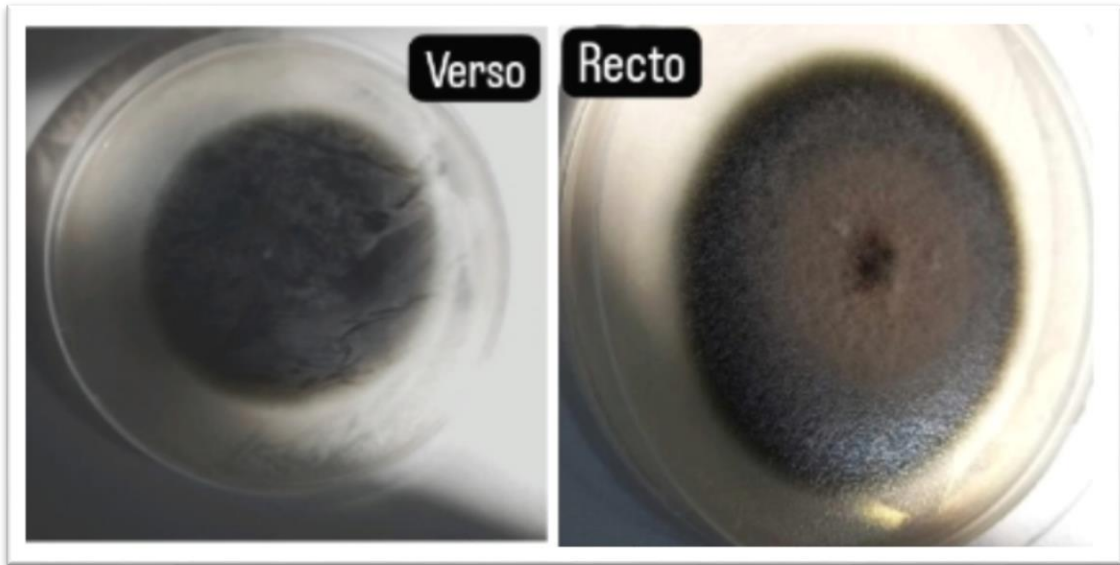


Figure 26. Résultat de la culture d'isolat 3 *Alternaria* (recto et verso) sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C

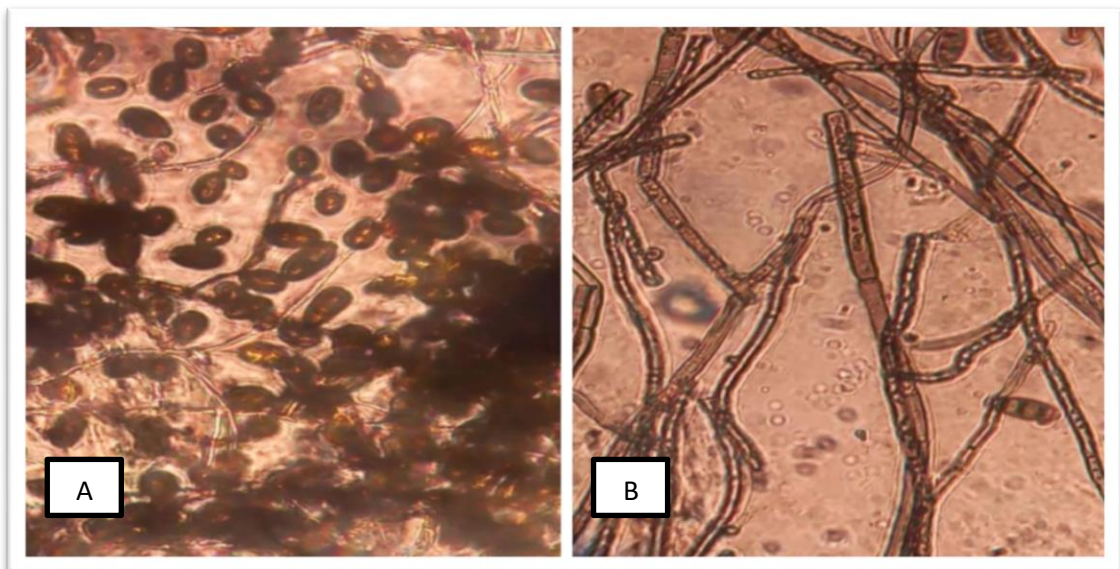


Figure 27. Caractères microscopiques d'*Alternariat* sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Conidies septés. B : Mycélium septé.

Chapitre II. Résultats et Discussion

Identification de l'isolat 4 :

D'après l'aspect cultural (Figure.28) les caractéristiques microscopique (Figure.29), nous avons identifié l'isolat 4 comme étant du genre *Rhizopus* et de l'espèce *Rhizopus stolonifer*.

Macroscopiquement, les colonies de couleur *Rhizopus stolonifer* marrons à noirs puis deviennent progressivement plus foncées en vieillissant. (Pleine de mycélium et points noirs) Ont un aspect cotonneux marrons à gris puis noirs lorsque la sporulation se produit.

Microscopiquement, *Rhizopus stolonifer* présente des caractéristiques typiques du genre *Rhizopus* le sporocyste est globulaire, coiffé d'une columelle persistante et distincte. La paroi du sporocyste n'est pas persistante, il libère des conidies pouvant donner naissance à un autre mycélium, Thalle coenocytique. Présence de rhizoïdes. Présence de stolon. Sporocyste globuleux

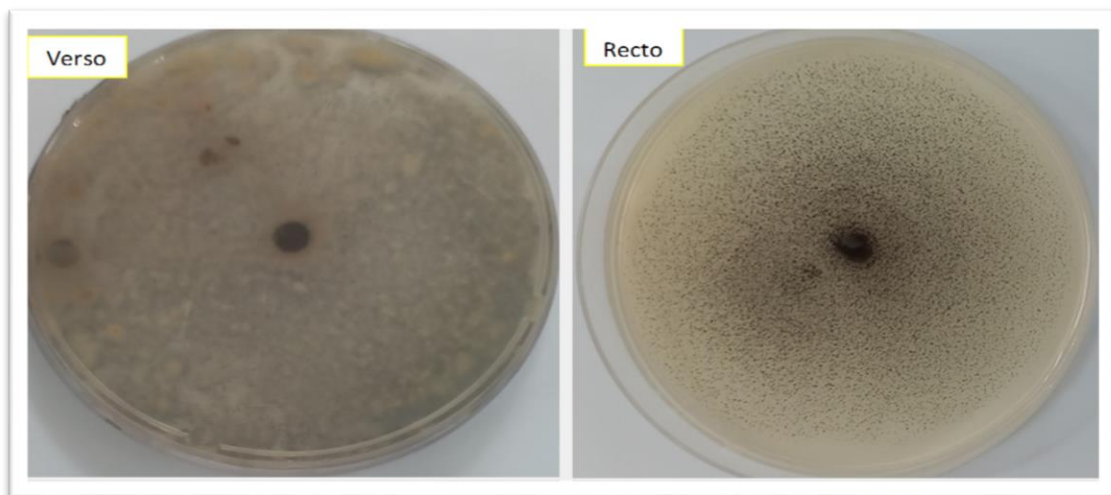


Figure 28. Résultat de la culture d'isolat de *Rhizopus* (recto et verso) sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C

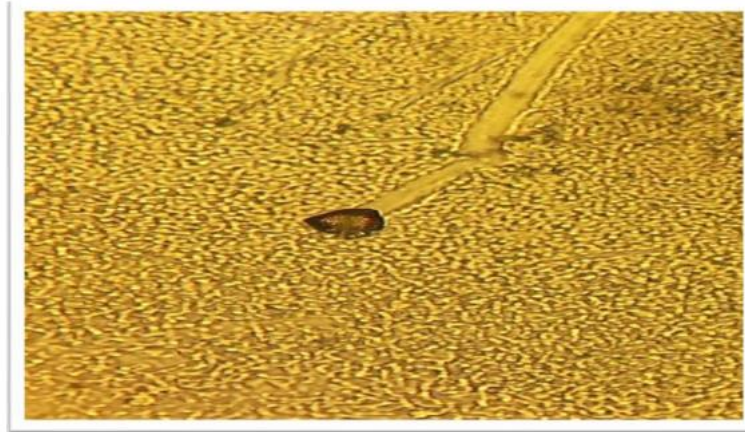


Figure 29. Caractères microscopiques de *Rhizopus* sous microscope optique agrandissement (G x 400.) montrant un sporangiphore.

6. Identification des souches de *Fusarium*

Pour l'identification des isolats de *Fusarium*, la culture pour l'examen des caractères microscopiques doit se faire sur des milieux pauvres en éléments nutritifs comme le SNA (Synthetischer Nährstoffärmer Agar). Le développement optimal des sporodochies et des macroconidies exige une exposition au moins à la lumière fluorescente, mais de préférence aussi aux UV proches. Par la suite nous avons utilisé le guide de **Leslie et al., (2006)**.

Le genre *Fusarium* est très diversifié, et il existe actuellement plus de 300 espèces décrites dans ce genre. Cependant, ce nombre continue de croître à mesure que de nouvelles espèces sont découvertes et décrites par les chercheurs.

Identification de l'isolat 5 : FS1-0524

L'isolat 5 a été identifié comme appartenant au genre *Fusarium*. Les caractères macroscopiques (Figure.30) sont décrits dans le (Tableau VII) et les caractères microscopiques (Figure.31) sont décrits dans le (Tableau VIII).

Classification:

Chapitre II. Résultats et Discussion

Règne: Fungi
Phylum: Ascomycota
Classe: Sordariomycetes
Ordre: Hypocreales
Famille: Nectriaceae
Genre: *Fusarium*
Espec: *Fusarium sambucinum*

Croissance relativement rapide, souvent avec une série d'anneaux concentriques apparents. Les bords de la colonie sont souvent lobés, et l'absence de lobes peut indiquer que la souche a commencé à dégénérer. Le mycélium aérien est abondant, floconneux à feutré et de couleur blanche à jaune à orange-gris. Une masse de macroconidies formées au centre de la culture. Les pigments dans l'agar sont jaunes, rose ou rouge rubis, parfois avec des points bruns.

Tableau VII. Caractères macroscopiques de *Fusarium sambucinum*

Recto									
Forme générale	Bordure	Relief	Aspect de la surface	Vitesse de croissance (mm/j)	Mycélium	Couleur des spores	Texture du thalle	Présence de gouttelettes d'exsudat	Odeur
Ronde	Ondulés	Régulier	Régulière	5,8	Assé abondant blanc	Blanc	Duveteux	-	-
Verso									
Couleur			Diffusion de pigments			Insertion de la colonie			
Rose			Rose			Centrale			

Chapitre II. Résultats et Discussion

Tableau VIII. Caractères microscopiques de *Fusarium sambucinum*

Macro-conidies					Chlamydiospores
Taille relative	Forme générale	Section la plus large	Forme de la cellule basale	Forme et taille de la cellule apicale	-
Relativement courte de 3 à 5 septé	Falciforme, uniforme et mince	Apicale	En forme de pied	Pointue	
Micro-conidies					
Abondance	Forme(s)	Disposition		Aspect du conidiophore	Conidiogénèse
Abondante	Ovales	solitaires conidiophores en grappe		Non ramifié	Monophialide

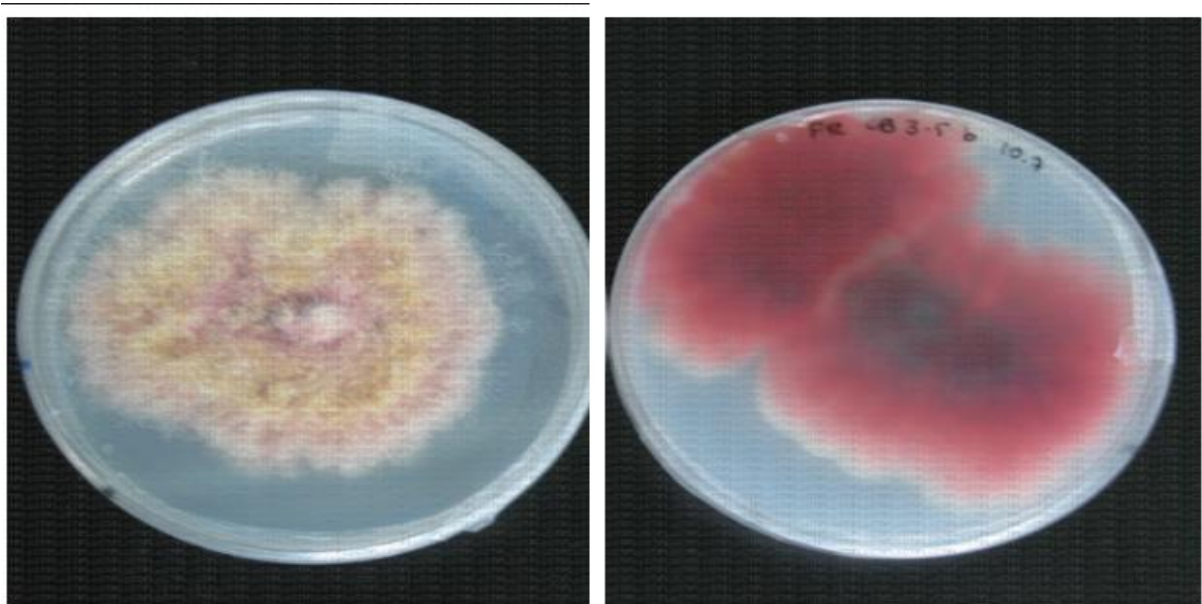


Figure 30. Culture de *Fusarium sambucinum* sur PDA après 7 jours de culture à 25° C

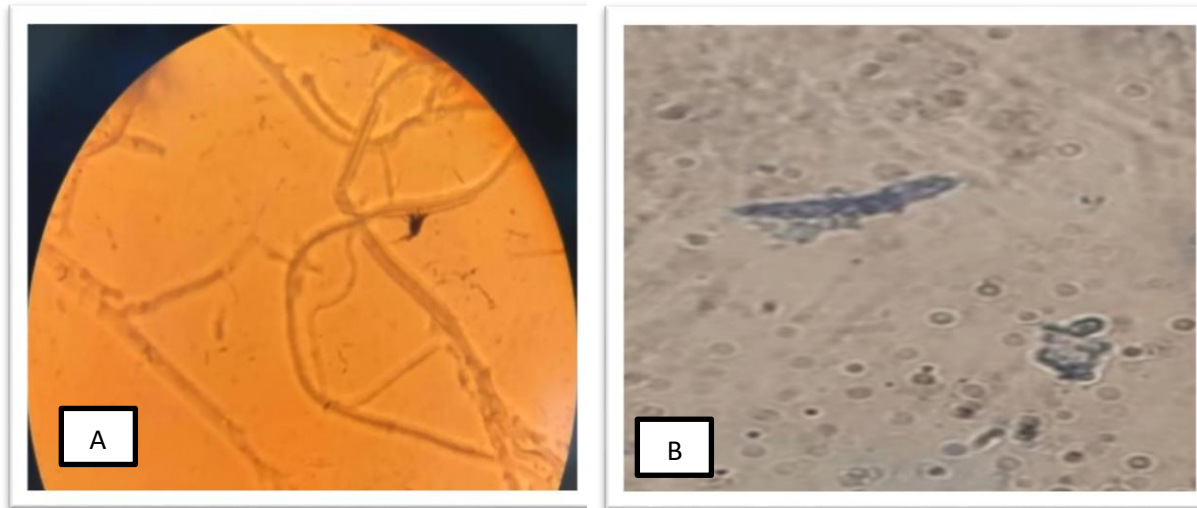


Figure 31. Caractère microscopique de *Fusarium sambucinum* sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Mycelium cloisoné. B : Macroconidie et microconidies

Identification de l'isolat 6 : FS2-0524

L'isolat 6 a été identifié comme appartenant au genre *Fusarium*. Les caractères macroscopiques (Figure.32) sont décrits dans le (Tableau .IX) et les caractères microscopiques (Figure.33) sont décrits dans le (Tableau . X).

Classification :

Règne : Fungi

Phylum : Ascomycota

Classe : Sordariomycetes

Ordre: Hypocreales

Famille: Nectriaceae

Genre: *Fusarium*

Espece: *Fusarium culmorum*

Fusarium culmorum se développe rapidement en produisant abondamment des sporodochies dans une grande masse centrale de spores (de 1 à 2 cm de diamètre), qui sont initialement d'un orange pâle mais deviennent foncé avec l'âge. Des anneaux de masses de spores se forment. Il forme des pigments rouges dans l'agar.

Chapitre II. Résultats et Discussion

Tableau IX. Caractères macroscopiques de *Fusarium culmorum*

Recto									
Forme générale	Bordure	Relief	Aspect de la surface	Vitesse de croissance (mm/j)	Mycélium	Couleur des spores	Texture du thalle	Présence de gouttelette d'exsudat	Odeur
Irrégulière	Ondulés	Centre Apiculé	Régulière	9,3	Rose	Rose	Duveteux	-	-
Verso									
Couleur			Diffusion de pigments			Insertion de la colonie			
Rose			Rose			Centrale			

Tableau X .Caractères microscopiques de *Fusarium culmorum*

Macro conidies					Chlamydiospores
Taille relative	Forme générale	Section la plus large	Forme de la cellule basale	Forme et taille de la cellule apicale	
relativement courtes 3 ou 4 septa.	Robustes, paroi épaisse Le côté dorsal est quelque peu courbé, mais le côté ventral est presque droit.	Milieu	Échancrée et sans forme de pied distincte.	Arrondie	-
Micro conidies					
Abondance dans le mycélium aérien	Forme(s)	Disposition (observation directe de la culture)	Aspect du conidiophore	Conidiogénèse	
Absente	-	-	-	-	

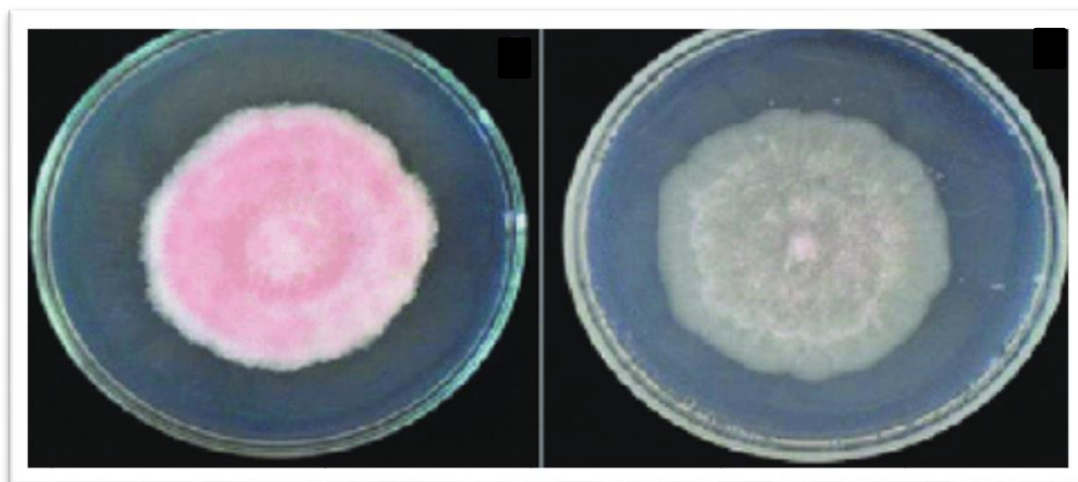


Figure 32. Culture de *Fusarium culmorum* sur PDA après 7 jours de culture à 25° C

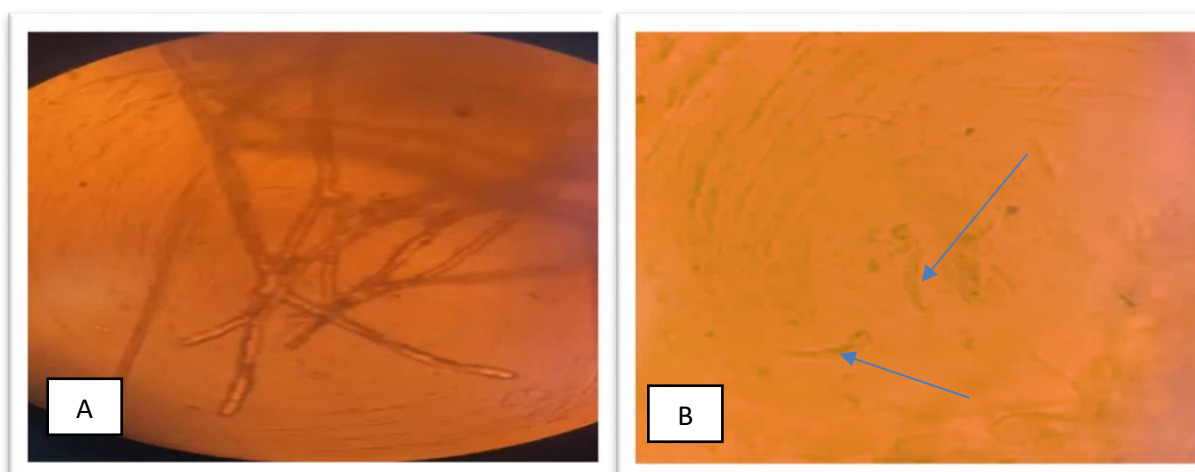


Figure 33. Caractère microscopique de *Fusarium culmorum* sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Mycelium cloisoné. B : Macroconidies

Chapitre II. Résultats et Discussion

Identification de l'isolat 7 : FS3-0524

L'isolat 7 a été identifié comme appartenant au genre *Fusarium*. Les caractères macroscopiques (Figure.34) sont décrits dans le (Tableau .XI) et les caractères microscopiques (Figure.35) sont décrits dans le (Tableau . XII)

Classification :

Règne : Fungi

Phylum : Ascomycota

Classe : Sordariomycetes

Ordre: Hypocreales

Famille: Nectriaceae

Genre: *Fusarium*

Especie: *Fusarium solani*

La colonie de *Fusarium solani* blanches à crème avec un mycélium peu abondant orangé. Les sporodochies sont souvent produites en abondance.

Chapitre II. Résultats et Discussion

Tableau XI. Caractères macroscopiques de *Fusarium solani*

Recto									
Forme générale	Bordure	Relief	Aspect de la surface	Vitesse de croissance (mm/j)	Mycélium	Couleur des spores	Texture du thalle	Présence de gouttelette d'exsudat	Odeur
Irrégulière	Ondulés	Centre Apiculé	Régulière		Jaune	Jaune	Duveteux	-	-
Verso									
Couleur			Diffusion de pigments			Insertion de la colonie			
Jaune			Jaune			Jaune			

Tableau XII. Caractères microscopiques de *Fusarium solani*

Macro conidies					Chlamydiospores	
Taille relative	Forme générale	Section la plus large	Forme de la cellule basale	Forme et taille de la cellule apicale		
Relativement large, De 5 à 7 septas	Droite, robuste	Centrale	Généralement avec une extrémité échancrée ou arrondie	arrondie	Globuleuses a parois lisses, formées de manière abondants et rapidement, généralement dans les 2 à 4 semaines, peut-être intercalaire dans les hyphes ou formée terminalement sur de courtes branches latérales généralement individuellement ou en paires, mais parfois en courtes chaînes	
Micro conidies						
Abondance dans le Mycélium aérien		Forme(s)		Disposition	Aspect du conidiophore	Conidiogénèse
Abondante		Ovales, ellipsoïdes, réniformes et fusiformes avec 0 ou 1 à occasionnellement 2 septas.		Fausse têtes	Souvent assez longues	Monophialides

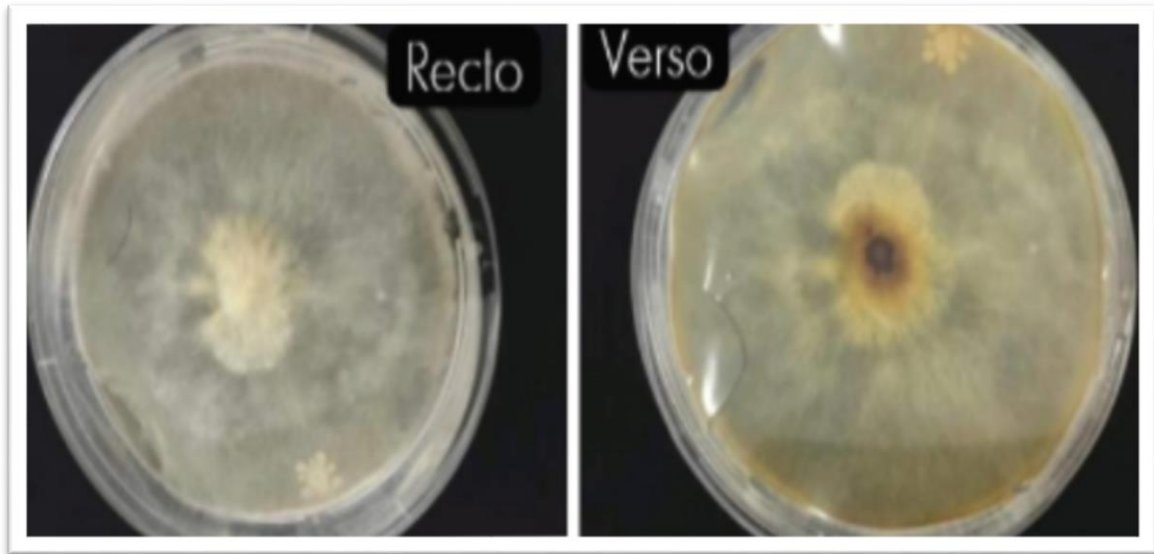


Figure 34. Culture de *Fusarium solani* sur milieu PDA après 7 jours de culture à 25° C

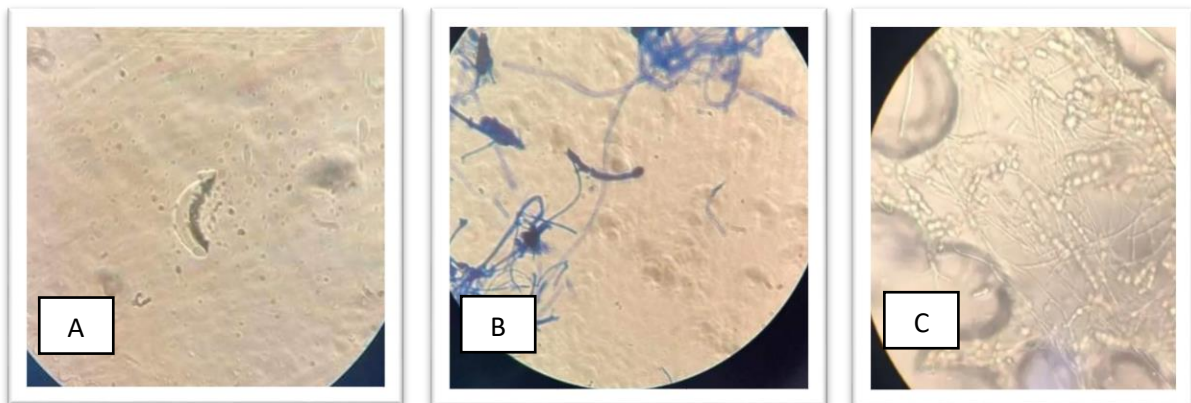


Figure 35. Caractère microscopique de *Fusarium solani* sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Macroconidie. B : Mycélium cloisonné et phialide portant une macroconidie. C : Clamydiospores.

Chapitre II. Résultats et Discussion

Identification de l'isolat 8 : FS4-0524

L'isolat 8 a été identifié comme appartenant au genre *Fusarium*. Les caractères macroscopiques (Figure.36) sont décrits dans le (Tableau .XIII) et les caractères microscopiques (Figure.37) sont décrits dans le (Tableau . XIV).

Classification :

Règne : Fungi

Phylum : Ascomycota

Classe : Sordariomycetes

Ordre: Hypocreales

Famille: Nectriaceae

Genre: *Fusarium*

Espece: *Fusarium graminearum*

Les colonies se développent rapidement et produisent des quantités relativement importantes de mycélium dense qui varient en couleur du blanc à rose pâle en passant par le violet. Les sporodochies rouge-brun sont produites lentement (> 30 jours).

Tableau XIII. Caractères macroscopiques de *Fusarium graminearum*

Recto									
Forme générale	Bordure	Relief	Aspect de la surface	Vitesse de croissance (mm/j)	Mycélium	Couleur des spores	Texture du thalle	Présence de gouttelette d'exsudat	Odeur
Régulière	Ondulés	Centre Apiculé	Régulière	60	Rose	Rose	Duveteux	-	-
Verso									
Couleur			Diffusion de pigments			Insertion de la colonie			
Rose			Rouge carmin			Rose			

Chapitre II. Résultats et Discussion

Tableau XIV. Caractères microscopiques de *Fusarium graminearum*

Macro conidies					Chlamydiospores
Taille relative	Forme générale	Section la plus large	Forme de la cellule basale	Forme et taille de la cellule apicale	Rares, très lente à se former. Individuelles globuleuses, lisses et non veruqueuses
Mince, à paroi épaisse et de longueur moyenne. De 5 à 6 septas	Modérément courbé à droit avec la surface ventrale droite et le côté dorsal légèrement arqué.	Centrale	Effilée et parfois resserrée pour former une forme semblable à un museau.	Forme de pied bien développée.	Formation dans le mycellium et non dans les macroconidies
Micro conidies					
Abondance dans le mycélium	Forme(s)	Disposition (observation directe de la culture)		Aspect du conidiophore	Conidiogénèse
Aérien					
Absentes	-	-	-	-	-

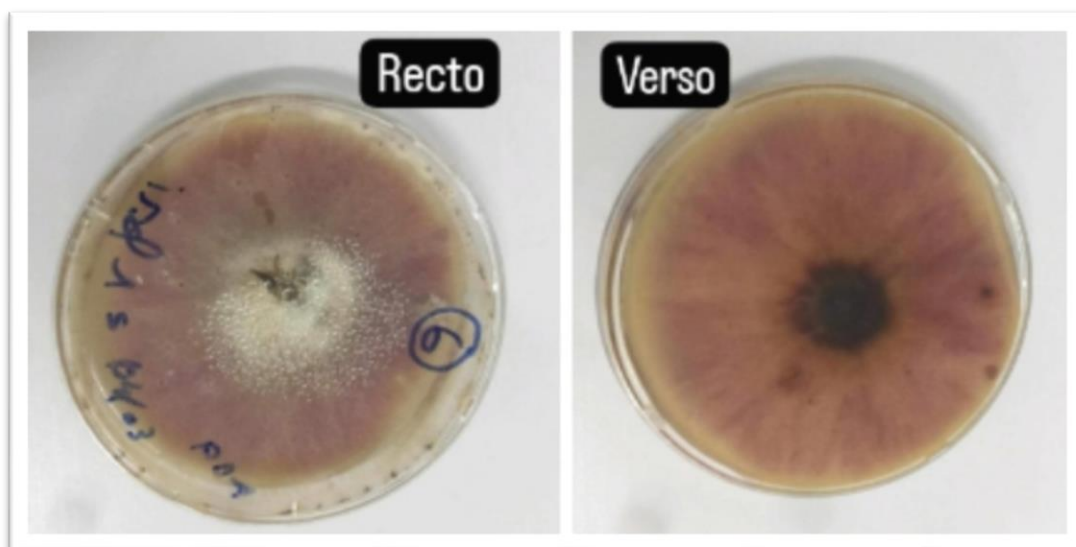


Figure 36. Culture de *Fusarium graminearum* sur milieu PDA après 7 jours de culture à 25°

C

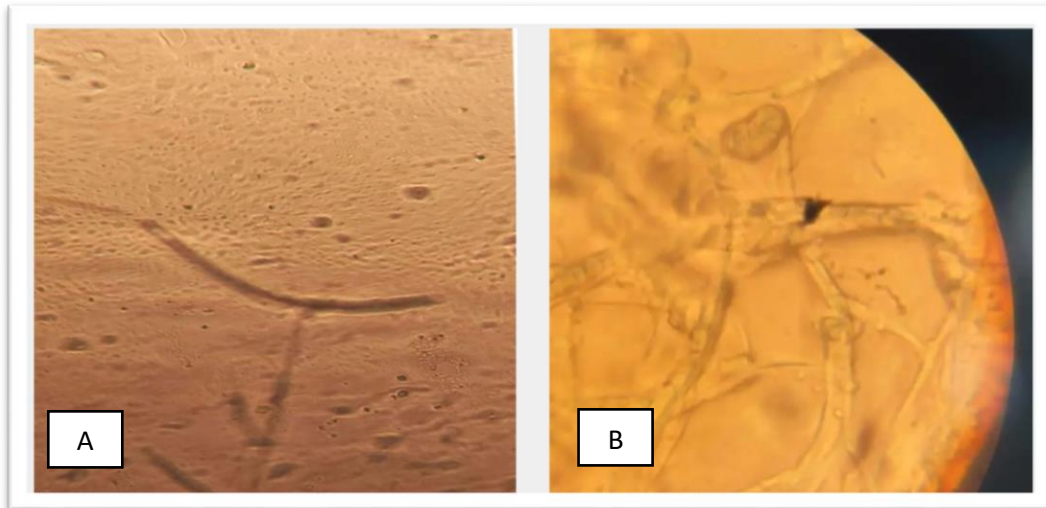


Figure 37. Caractère microscopique de *Fusarium graminearum* sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Macroconidie. B : Mycélium cloisonné.

7. Résultat de la culture monospore

La culture monospore a été utilisée pour obtenir des isolats purs des souches fongiques, en particulier du genre *Fusarium*. Cette méthode permet d'isoler une seule spore pour garantir l'homogénéité génétique des cultures obtenues, facilitant ainsi l'identification précise des souches et leur étude. La culture monospore a permis d'isoler 4 souches de *Fusarium*, qui ont ensuite été identifiées et conservées pour des études futures.

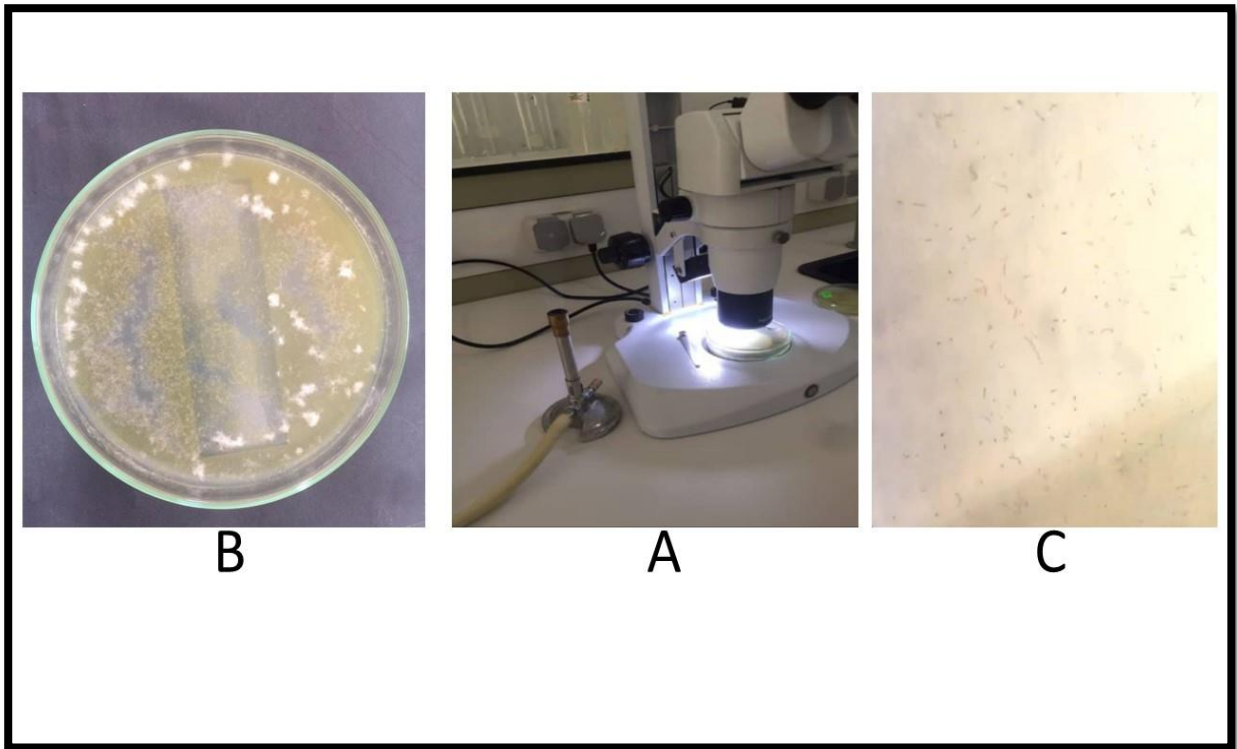


Figure38: Prélèvement des spores de la culture monospore. (A) prélèvement de la spore germée sous loupe binoculaire. (B) Aspect de la culture. (C) spores germées (Gx8)



Figure 39: Aspect des spores germées (Gx8)

8. Résultat de la conservation :

Les isolats de *Fusarium* sont conservés dans des tubes sur milieu PDA incliné. La technique de conservation est facile, économique et rapide (Figure. 40) mais semble n'être que provisoire à cause de l'accumulation d'eau qui favorise la contamination. En outre la haute teneur en sucres dans ces milieux encourage la mutation chez plusieurs espèces de *Fusarium* (Ioos, 2001). D'autres techniques de surgélation ou utilisant le sol comme substrat permettent de conserver les souches jusqu'à 10 ans tout en limitant la variabilité génétique, (Siti Nordahllawate Bt, 2007).



Figure 40. Méthode de conservation en tube sur milieu PDA incliné

Conclusion

CONCLUSION

L'objectif principal de cette étude était d'identifier et de caractériser les différentes espèces de *Fusarium* isolées à partir de semences de blé dur (*Triticum durum*) provenant de la région de Laghouat. En utilisant la méthode Geves, nous avons analysé plusieurs lots de blé pour évaluer leur niveau de contamination et isolé diverses souches fongiques pour leur identification.

La flore fongique trouvée dans les semences et graines analysées est comparable à celle identifiée depuis des années par plusieurs chercheurs, dont Sauer (1993), et comprend des espèces des genres *Rhizopus*, *Alternaria*, *Penicillium*, et *Aspergillus*. La contamination totale par les différentes espèces fongiques dépasse 81% des semences. Cependant, les espèces de *Fusarium* représentent seulement 0,5% de la contamination totale, avec une fréquence de 0,375.

L'analyse révèle que la contamination fongique d'un lot est fortement influencée par l'état sanitaire initial des grains et par leur taux d'humidité, avec un coefficient de corrélation d'environ 0,8. Cela indique que l'humidité du grain joue un rôle crucial dans le niveau de contamination fongique. Bien que les espèces de *Fusarium* soient numériquement limitées et présentent une fréquence relativement faible dans les lots examinés, certaines, telles que *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*, sont des pathogènes majeurs pour les cultures céréalières. Leur présence suggère que les semences étaient contaminées sur le champ avant le stockage, et la colonisation post-récolte pourrait entraîner des pertes économiques significatives.

La méthode de culture monospore a été utilisée pour obtenir des isolats purs des souches fongiques, en particulier du genre *Fusarium*. Cette technique a permis d'isoler quatre souches distinctes de *Fusarium*, à savoir *Fusarium sambucinum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium solani*, et *Fusarium graminearum*. Ces isolats ont été identifiés et conservés pour des études futures.

Pour approfondir ces résultats, il serait pertinent de mener des études supplémentaires sur l'impact des conditions environnementales spécifiques (température, humidité) sur la virulence des différentes espèces de *Fusarium*. L'application de techniques moléculaires avancées, telles que le séquençage génomique, pourrait offrir des perspectives nouvelles sur la diversité

CONCLUSION

génétique des souches isolées et leur potentiel pathogène. Enfin, des études sur des méthodes de contrôle et de prévention spécifiques pour réduire la contamination fongique en pré et post-récolte seraient bénéfiques pour limiter les pertes économiques dans les cultures de blé dur.

Références bibliographiques

A

- Abeledo L. G., Savin R., Gustavo A. et Slafer. 2008. Wheat productivity in the Mediterranean Ebro Valley: Analyzing the gap between attainable and potential yield with a simulation model. *European journal of Agronomy*. 28. 541-550p.
- Arseniuk, E., Foremska, E., Goral, T., Chelkowski, J. 1999. Fusarium head blight reactions and accumulation of deoxynivalenol (DON) and some of its derivatives in kernels of wheat, triticale and rye. *Journal of Phytopathology* 147, 577-590
- Aléo, M .D., Wyatt, R. D and scnelmann ,R.G., 1991.The role of altered mitochondrial function in citrinin induced toxicity to rat renal proximal tubule suspensions. *Toxicol.Appel.Pharmacol.*109:455-463p
- A Demdoun, K Zighmi, F Zahri... - ... and Water Treatment, 2014
- A Benbelkacem, N Bendif - Bilan PNAB Rev Céréaliculture, 2010
- A Benbelkacem The Role of Legumes in the Farming Systems of the Mediterranean Areas ..., 1990
- Agence Ressources de la Nature (2017). Union Français des semenciers. L'amélioration des plantes, un savoir-faire millénaire. https://www.worldseed.org/wp-content/uploads/2018/02/L_Amelioration-vegetale-savoir-faire-millenaire_UFS.pdf
- *Advances in Environmental Biology* 8(21): 436-443.
- Acquaah, G. (2007). *Principals of plant genetics and breeding*. Blackwell Publishing, Oxford, UK.

B

- **Belmehdi, S.,et Beddar, G.,** (2019). Etude des moisissures productrices des mycotoxines isolée à partir des grains de blé dur. Mémoire de Master : Toxicologie. Université Mohamed el Bachir El Ibrahimi Bordj Bou Arreridj.
- BOUTIGNY, A., (2007). « Etude de l'effet de composés du grain de blé dur sur la régulation de la voie de biosynthèse des trichothécènes B : purification de composés inhibiteurs, analyse des mécanismes impliqués ». Thèse de doctorat. Université de Bordeaux 1. 202 p.
- BOTTON B, BRETTON A, FEVRE M., GUY Ph., LARPENT JP, VEAU P., (1990). « Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle ». 2eme édition, Paris, Masson. 512p.
- Bouas A., Heliass R., Vallade S., Verdierv J., 2012. Céréales : symptômes de piétin échaudage et présence de fusariose du plateau de tallage .ARVALIS-Institut du végétal.
- Brown NA, Urban M, Van De Meene AML, Hammond-Kosack KE, 2010. The infection biology of *Fusarium graminearum*: Defining the pathways of spikelet to spikelet colonisation in wheat spikes. *Fungal biology* 114, 555-571.
- Bounar, R.2009 Recherche sur l'état sanitaire des semences de céréales et légumineuses alimentaire : mise en évidence des mycotoxines et leur effet sue la germination .thèse de magister .El Harrache .Institut Nationale Agronomique (INA).120p
- Burgess L. W., Summerell B.A., Bullock S., Gott K.P., Backhouse D. 1994.Laboratory manual for *Fusarium* research, 3rd Ed. University of Sydney, Sydney, Australia.
- Botton B., Bretton A.,Feuvere M.,Guy Ph.,Larpent JP.,Veau P.1985.Moisissures utile et nuisible, Importance industrielle. *Biotechnologie* .Masson .139à 145pp.

- Bhatnagar, D., Yu, J., Ehrlich, K.C., 2002, Toxins of filamentous fungi. *Chemical Immunology* 81, 167-206.
- Bounar, R. (2009). Recherche sur l'état sanitaire des semences de céréales et légumineuses alimentaires: Mise en évidence des mycotoxines et leur effet sur la germination. Thèse de Magister. El-Harrach. Institut National Agronomique (INA). 120 p.
- Botton, B., Bretton, A., Fevre, M., Guy, P., Larpent, J. P., & Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2eme édition, Paris, Masson. 512 p.

C

- Champion R.(1997). Identifier les champignons transmis par les semences. Ed. Editions quae, france,
- Chabasse D., bouchara J.P., de gentile L., bruns S., cimon B. et penn P. (2002).les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation n°25, bioforma.
- **Christensen Clyde, M., et Kaufmann Henry, H., (1969).**Grain Storage : The Role of Fungi in Quality Loss (Vol. 153). Minnesota Archive Editions.
- **Christensen Clyde, M., et Kaufmann Henry, H., (1969).**Grain Storage : The Role of Fungi in Quality Loss (Vol. 153). Minnesota Archive Editions.
- CHAMPION, R., (1997). Identifier les champignons transmis par les semences. Techniques et Pratiques. INRA Editions p166 à 197.
- Crete P., 1965. Précis de botanique. Systématique des angiospermes. Tome II. Masson et Cie, 429 p.
- Créte, P. (1965). Précis de botanique. Tome 2: Systématique des Angiospermes. Paris: Masson et Cie.

D

- Dendy, D. A. V., et Dobraszczyk, B. J., (2000).Cereals and Cereal Products
- DOOHAN F. M., BRENNAN J. et COOKE B. M., (2003). "Influence of climatic factors on Fusarium species pathogenic to cereals". *Eur. J. Plant Pathol.* 109, 755-768.
- Davet, P., & Rouxel, F. (1997). Détection et isolement des champignons du sol. INRA édition. Paris. 201 p.

F

- F.R.E.D.E.C.2002.les principale maladies d blé transmises par les semences. Station d'étude sur la lutte biologique, intégrée et raisonnée. éd. décembre 2002.Loos-en-Gohelle.4p.
- FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture). (2020). Wheat and the world. Récupéré le 25 juin 2024, de <http://www.fao.org/wheat/en>
- Frédot E. 2005. Connaissance des aliments ; base alimentaires et nutritionnelles de la diététique : les produits céréaliers. Édition, tec & doc, Lavoisier, paris.

G

- Gallais, A. & Bannerot, H. (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées. Ed. INRA, Paris, 68 p.
- Gallais, A. (1999). Les plantes transgéniques en agriculture. Intérêts et risques pour l'environnement. L'Eurobiologiste 240: 23-28.

H

- Horberg H.M., 2002 .patterns of splash dispersed of *Fusarium Poae* et *Fusarium culmorum*. European journal of plant Pathology, 108.73-80.p.

I

- IOOS R, (2001). « Le *Fusarium* et *Microdochium* sur grains de céréales en France ». Phytoma, la défense des végétaux- N°539 p52-56.
- INRA , (2009), “*Monographella nivalis* (Schaffnit) E. Müller et v. Arx. x Céréales », INRA. [en ligne]. <http://www.inra.fr/hyp3/pathogene/3fusniv.htm>, [Page consultée Mai, 2011].

J

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

K

- Kammoun G. L., Gargouri S., Barreau, C., Richard-Forget, F., et Hajlaoui M.R. 2010. Trichothecenes chemotypes of *Fusarium culmorum* infecting wheat in Tunisia. International Journal of Food Microbiology 140: 84-89.

L

- Lacroix, 2008 : Guide d'identification des maladies des céréales. Le bulletin des agriculteurs.
- LESLIE, JF. et SUMMEREL A., (2006). “The *Fusarium* laboratory manuel”. 1ere ed. Blackwell Publishing. Ioa. 369 p.
- LNPV, 2008. Laboratoire national de la protection des végétaux. Toutes céréales, détection et identification des espèces de *Fusarium* spp. et *Microdochium nivale* sur grains de céréales par isolement mycologique semi-sélectif et étude microbiologique. France. 28pp.
- Liddell CM, 2003. Systematics of *Fusarium* species and allies associated with *Fusarium* head

blight. Pages 35-43 in: Fusarium head blight of wheat and barley. K. J. Leonard and W. R. Bushnell, eds. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

- LNPV 4. (2001). Détection et identification des espèces de Fusarium spp. et Microdochium nivale sur grains de céréales par isolement mycologique semi sélectif et étude microbiologique. LNPV. Malzeville. MH/03/16 version a. 26p
- Laffont, J.M., Senellart, J., Sylvestre, M., et Thomas, M., 1985 : Les maladies des céréales eu du mais. Agis-Nathan international (Edition de la nouvelle librairie):

M

- **Mahideb, N., et Merrouche, H.**, (2015.) Etude des moisissures potentiellement productrices de mycotoxines isolées à partir des grains de blé dur (traités et non traités). Mémoire de Master, Biotechnologie des Mycètes. Université des frères Mentouri Constantine. Constantine.
- McMullen et al., (1997). "Environmental conditions associated with Fusarium head blight epidemics of wheat and barley in the Northern Great Plains", USA. In: Proceedings 1997 National Fusarium Head Blight Forum, 10-12. November 1997, St Paul, USA, 46-47.
- Maire R., 1955. Flore de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara). Vol 3. éd. Paul Lechevalier, Paris, 399 p.
- Maire R., 1955. Flore de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara). Volume III. Ed. Paul Lechevalier, Paris, 399 p.

N

- Nelson PE, Toussoun TA, Cook RJ (1981) Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy. Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania, USA.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Marasas, W. F. O. (1983). Fusarium species. An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, University Park, Pa, 193pp
- Ngugeny, N. 2007. Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines thèse de doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse. 145p.
- NELSON P.E., Toussoun T.A. et Marasas W.F.O., (1983). « Fusarium species. An illustrated manual for identification ». The Pennsylvania State University Press, University Park, Pa, 193pp.

O

- Oulmi, A., Benmahammed, A., Laala, Z., Adjabi, A. & Bouzerzour, H. (2014).

P

- Prescott.J.M ,Burnett,P.A , Saari.E.E, Ransom.J.Bowman.J,De Milliano.w,Singh .R.R,Bekele.G ., 1987 :Maladies et ravageurs du blé., CIMMYT.P 2-5-6-21-25.
- Pfohe-Leszkowicz,.1999. Les mycotoxines dans l'alimentation .Evaluation et gestion du risque Tec et Doc London- Paris-Newyork 478 p.
- Parry D. W., Jenkinson P. & Mcleod L., 1995. Fusarium ear blight (scab) in small-grain cereals - a review. Plant Pathology 44 (2), 207–238.
- PARRY D.W., PETTITT T.R., JENKINSON P. et LEES AK., (1994). « The cereal Fusarium complex”. Ecology of Plants Pathogens Wallingford, DK : CAB International, 301-20.
- PARRY D.W. et NICHOLSON P., (1995). Development of a PCR assay to detect Fusarium poae in wheat, Plant Pathology, 45,383-391.
- Phenotypic Variability and Relations between the Morpho-Physiological Traits of three F5 Populations of Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Evaluated Under Semi-Arid Conditions.

R

- Reboux G., bellanger A., roussel S., grenouillet F.And million L. (2010). pollution atmosphérique, moisissures et habitat : risques pour la santé et espèces impliquées, revue française d'allergologie 50 : 611–620
- Reboux, G., (2006). Mycotoxines : effets sur la santé et interactions avec d'autres composants organiques. Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique. 46: 208–212.
- Raymond, S.L.,Smithe,T.k.and Swamy,H.V.,2003.Effects of a blend of grains naturally contaminated with Fuasrium mycotoxines on feed intak serum chemistry and hermatology of hores and the efficacy of polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent J.Anim.Sci 81:2123-2130p.
- Richard, M.2004.santé de l'environnement. La fusariose chez les céréales dans le Canada atlantique Agriculture et Agroalimentaire Canada .Centre de recherches sur les cultures et les bestiaux.440 University Ave., Charlottetown. Mars 2004.
- Roseille, A. A. & Hamblin, J. (1981). Theoretical aspects of selection for yield in stress and non stress environment", Crop Science 21: 943-946.

S

- (Soltner, 1990).m_Contribution--l-etude-du-comportement-agronomique-de-27-nouvelles-varietes-de-ble-dur-en-vue-d16
- Sayoud, R., Ezzahiri, B., Bouznad, Z. 1999. Les maladies des céréales et des légumineuses Alimentaire au Maghreb. ITGC.Alger ,63pp.
- Stettler,P.M.and Sengestag C., 2001. Liver carcinogen aflatoxin B1 as an inducer of mitotic recombination in a human cell line M olecular carcinogenesis 31(3):125-138p
- Stettler,P.M.and Sengestag C., 2001. Liver carcinogen aflatoxin B1 as an inducer of mitotic recombination in a human cell line M olecular carcinogenesis 31(3):125-138p.

- Shen, H.M., Shi, C.Y., Lee, B. L. and Ong, C.N., 1994. Aflatoxin B1 induced lipid peroxidation in rat liver, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 127 :145-150p.
- SITI NORDAHLIAWATE BT MOHAME, S., (2007). "Pathogenicity and aetiology of FUSARIUM species associated with pokkah boeng on sugarcane". Master of Science. Malaysia. Université de SAINS MALAYSIA. 84 p.
- Sauer L., (1993). « Relation entre les symptômes de fusariose de l'épi et la perte de rendement chez le blé tendre ». *Agronomie* 13, 829-833.
- Syngenta, 2007 : Notice technique n°05 sur La gestion des principales maladies foliaires des blés .Syngenta Andersen, B., Kroger, E., et Roberts, R. G., (2002). Chemical and morphological **Abramson D., demianyk C. J., fields P. G., jayas d. S., mills j. T., muir W.E., timlick b. And white N. D.G.** (2001). Protection des céréales, des oléagineux et des légumineuses à grains entreposés à la ferme contre les insectes, les acariens et les moisissures. Ed. Centre de recherche sur les céréales .

T

- Technol.Chemistry. Springer; Springer. Andersen, B., Kroger, E., et Roberts, R. G., (2002). Chemical and morphological segregation of *Alternaria arborescens*, *A. infectoria* and *A. tenuissima* species-groups. Europe PMC,
- Trail F, 2009. For Blighted Waves of Grain: *Fusarium graminearum* in the Postgenomics Era *Plant Physiology*, American Society of Plant Biologists January 2009, Vol.103–110.149.pp
- The Role of Legumes in the Farming Systems of the Mediterranean Areas ..., 1990

Z

- Zinedine ,A.2004.Détermination des mycotoxines dans les aliments et étude de la réduction des aflatoxines par des bactéries lactiques isolées des ferments panaires traditionnels.thèse de doctorat. Université sidi Mohamed ben Abdallah fes.162p.
- Zahour, A. (1992). *Eléments d'amélioration génétique des plantes*. Ed. Actes. 223p.

Annexe

Annex1. Composition des différents milieux d'isolement et de culture

PDA (Potato Dextrose Agar)

Pour un litre de milieu :

- Pomme de terre 200g
- Agar-agar 20g
- Dextrose 20g
- Eau distillée 1000 ml

D CPA (Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar)

Pour un litre de milieu :

- peptone bactériologique : 15,0 g
- K_2HPO_4 : 1,0 g
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,5 g
- Chloramphénicol : 0,2 g [Peut causer le cancer. Peut causer des altérations génétiques héréditaires. Risques possibles pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant. Peut entraîner une sensibilisation par inhalation et contact avec la peau. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette). Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/ du visage.]
- dichloran (2-6-dichloro-4-nitroaniline) en solution alcoolique* : 1ml. [nocif en cas d'ingestion]
- crystal violet en solution aqueuse** : 1 ml [Peut causer le cancer. Peut causer des altérations génétiques héréditaires. Toxique par ingestion et par inhalation. Irritant pour les yeux, le système respiratoire et la peau. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette). Après contact avec les yeux se laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un médecin. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/ du visage.]
- agar : 15,0 g
- H_2O 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

SNA (Synthetischer Nährstoffärmer Agar)

Pour un litre de milieu :

- K_2HPO_4 : 1,0 g
- KNO_3 : 1,0 g
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,5 g
- KCl : 0,5 g
- Glucose : 0,2 g
- Saccharose : 0,2 g
- Agar : 20,0 g
- H_2O distillée ou osmosée : 1000 ml