

ةيروهمجلا ةيرنازجلا ةيطارقميدلا ةيبعثلا

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

ةرازو ميلعتلا يلاعلا و ثحبلا يملعلا

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

دملاسة طولانية العليا للفلاحة - شارحلا - رنازجلا

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE – EL HARRACH - ALGER

# Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Agronomiques  
(Zoophytatrie)

## Thème

Les nématodes à kyste *Heterodera* spp. des céréales en  
Algérie : Études sur la distribution, les espèces, les  
pathotypes et les antagonistes.

Présenté par : M<sup>me</sup> **Fatima HADDADI**

Devant le jury :

Président :	M. DOUMANDJI Salaheddine	Professeur (E.N.S.A. EL Harrach)
Directeur de thèse :	M. MOKABLI Aissa	Professeur (Univ. Khemis Miliana)
Examineurs :	M <sup>me</sup> DOUMANDJI-MITICHE Bahia	Professeur (E.N.S.A. EL Harrach)
	M. MOULAI Riad	Professeur (Univ. Béjaia)
	M. HAMMACHE Miloud	Maître de Conférence (E.N.S.A. EL Harrach)
	M. DJEBAR Réda	Maitre de Conférence (USTHB)

Soutenu le 07 / 05 / 2015

## **Remerciements**

*A l'issue de ce travail, je tiens à adresser toute ma reconnaissance et mes remerciements au Professeur Doumandji S.E. qui a bien voulu me faire l'honneur de présider le jury de cette thèse. Veuillez trouver dans ces quelques lignes, le témoignage de ma profonde reconnaissance pour vos précieux conseils et encouragements.*

*Ma profonde reconnaissance à Mme le Professeur B. Doumandji-Mitiche qui n'a pas hésité à examiner cette thèse malgré ses nombreuses occupations.*

*Mes vifs remerciements au Professeur A. Mokabli, Directeur de thèse, pour m'avoir confiée ce thème, m'avoir sagement orientée au cours de ces dernières années et m'avoir soutenue et aidée.*

*Toute ma gratitude au Professeur R. Moulai qui a volontiers accepté d'examiner cette thèse. Merci pour votre gentillesse et disponibilité.*

*Je suis particulièrement reconnaissante envers Monsieur R. Djebar, Maître de Conférences à l'USTHB, de bien vouloir faire partie du jury de cette thèse et de sa volonté à aider à tout moment.*

*Je voudrais remercier chaleureusement Monsieur M. Hammache, Maître de conférences à l'ENASA pour ses conseils et son implication dans le jury d'examen de ce travail.*

*Ma gratitude à :*

*Monsieur M. Kheddam, Directeur Général du CNCC de m'avoir bien accueillie au laboratoire de Nématologie et Mycologie et permis de réaliser une grande partie de l'expérimentation dans les meilleures conditions ;*

*A toute l'équipe de ce laboratoire, Mesdames Touiba C., Saida, Lyes et Lynda pour leur contribution.*

*J'adresse mes remerciements à l'équipe de l'IPP (Istituto per la Protezione delle Piante) /CNR de Bari (Italie), particulièrement au Dr. Francesca De Luca et au Dr. Alberto Toccoli pour les identifications et toute l'aide technique et personnelle qu'ils m'ont apporté durant mon séjour.*

*Je remercie aussi N. Greco, A. Ciancio, N. Greco et H. Fanelli pour leur collaboration.*

*Un grand merci à Mme T. Ait Ketout Maître de Conférences à l'USTHB, M. A. Guezlane et M. A.Kedad pour leur aide et assistance dans la détermination des isolats de champignons nématophages.*

*J'exprime ma reconnaissance à Messieurs A.Hafrassas et A.Ould Rouis pour la réalisation des tests statistiques relatifs à ce travail.*

*Je ne remerciais jamais assez Nawel Eddaikra pour sa précieuse contribution à l'analyse statistique et à la mise en forme de ce document, et Nora Boukrout pour toute son aide.*

*Merci infiniment à ma Famille de m'avoir soutenue, aidée et supportée.*

*Cette thèse est le fruit d'un travail d'équipe, Merci à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin dans sa réalisation.*

## **Liste des abréviations**

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**ADNr** : Acide DésoxyriboNucléique ribosomique

**ANOVA**: Analysis of Variance

**CMA**: Corn Meal Agar

**CNCC** : Centre National de Control et de Certification de la semence

**CNR** : Consiglio Nazionale d'elle Ricerche de Bari

**Cz-dox**: Czapek-dox

**FAO**: Food and Agricultural Organisation

**FSB** : Faculté des Sciences Biologiques

**GN** : Gélose Nutritive

**IPP** : Istituto per la Protezione delle Piante

**ITS**: Internal Transcribed Spacer

**MEA**: Malt Extract Agar

**PCA**: Potatos Carote Agar

**PDA**: Potato Dextrose Agar

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> – Principales caractéristiques morpho-histologiques comparées de trois espèces du genre <i>Heterodera</i> .....	<b>17</b>
<b>Tableau 2</b> –Pathotypes d' <i>H. avenae</i> découlant de l'Essai d'Assortiment International de Détermination des Pathotypes des nématodes à kyste des céréales dans sa dernière version .....	<b>20</b>
<b>Tableau 3</b> – Pertes de rendements liées aux complexe <i>H. avenae</i> .....	<b>25</b>
<b>Tableau 4</b> – Gènes de résistance à <i>H. avenae</i> décelés chez les céréales.....	<b>29</b>
<b>Tableau 5</b> – Parcelles céréalières prospectées et échantillonnées.....	<b>36</b>
<b>Tableau 6</b> –Etat d'infestation des parcelles prospectées par les nématodes à kyste des céréales.....	<b>39</b>
<b>Tableau 7</b> – Amorces utilisées pour l'amplification des régions de l'ADN.....	<b>51</b>
<b>Tableau 8</b> –Longueurs et largeurs maximum et moyennes des kystes des 10 populations étudiées.....	<b>54</b>
<b>Tableau 9</b> – Calculs des coefficients de Kurtosis et Skewnes.....	<b>55</b>
<b>Tableau 10</b> – Test ANOVA à 1 facteur de la variable longueur.....	<b>57</b>
<b>Tableau 11</b> –Test post hoc : Test de Tukey de la variable longueur .....	<b>58</b>
<b>Tableau 12</b> –Test ANOVA à 1 facteur de la variable largeur.....	<b>58</b>
<b>Tableau 13</b> – Test post-Hoc : Test de Tukey de la variable largeur.....	<b>59</b>

<b>Tableau 14</b> –Morphométrie du cône vulvaire de trois populations du groupe <i>H. avenae</i> .....	<b>63</b>
<b>Tableau 15</b> – Fréquence des espèces du groupe <i>H.avenae</i> identifiées dans les dix régions....	<b>65</b>
<b>Tableau 16</b> – Morphométrie des larves L2 de trois populations du groupe <i>H. avenae</i> .....	<b>67</b>
<b>Tableau 17</b> – Caractéristiques des variétés internationales testées.....	<b>74</b>
<b>Tableau 18</b> – Moyenne des kystes récoltés en fin de culture en conditions naturelles.....	<b>77</b>
<b>Tableau 19</b> – Résultats relatifs à la réaction des variétés internationales inoculées <i>in vitro</i> par les larves d' <i>H. avenae</i> de Tiaret et d'Oued Smar.....	<b>79</b>
<b>Tableau 20</b> – Pathotypes d' <i>Heterodera avenae</i> découlant de l'essai d'assortiment international dans sa version mise à jour par Smiley <i>et al.</i> , 2011 et réaction des cultivars différentiels envers deux populations algériennes d' <i>H. avenae</i> en conditions naturelles et <i>in vitro</i> .....	<b>81</b>
<b>Tableau 21</b> –Aspect macroscopique et microscopique des souches non identifiées, isolées sur milieu de base. ....	<b>92</b>
<b>Tableau 22</b> – Taux de croissance des microorganismes.....	<b>94</b>
<b>Tableau 23</b> – Microflore totale issue des kystesensemencés sur les milieux complexes.....	<b>95</b>
<b>Tableau 24</b> – Taux de répartition de la microflore selon les populations de kystes.....	<b>95</b>
<b>Tableau 25</b> – Diversité des champignons isolés des populations de kystes d' <i>Heterodera</i> sp.....	<b>104</b>
<b>Tableau 26</b> – Aspect macroscopique et microscopique des isolats non identifiés.....	<b>105</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> – Les zones céréalières en Algérie.....	<b>8</b>
<b>Figure 2</b> – Morphologie du stylet et des boutons basaux des larves du second stade chez trois espèces d' <i>Heterodera</i> .....	<b>14</b>
<b>Figure 3</b> – Diagramme du cône vulvaire vu de profil .....	<b>15</b>
<b>Figure 4</b> – Kystes et cônes vulvaires de quelques espèces du complexe <i>Heterodera avenae</i> .....	<b>16</b>
<b>Figure 5</b> – Cycle de vie des nématodes à kyste des céréales illustrant l'invasion des racines par les larves infectieuses.....	<b>22</b>
<b>Figure 6</b> – Schéma montrant la synchronisation du cycle biologique annuel des populations d' <i>H. avenae</i> avec les stades phénologiques des céréales.....	<b>23</b>
<b>Figure 7</b> – Symptômes causés par les nématodes à kystes des céréales.....	<b>24</b>
<b>Figure 8</b> – Types de pièges des hyphomycètes.....	<b>31</b>
<b>Figure 9</b> – Kyste d' <i>Heterodera</i> sp. parasité par un champignon.....	<b>31</b>
<b>Figure 10</b> – Sites possibles d'infection d'un nématode à kyste par les champignons du sol.....	<b>33</b>
<b>Figure 11</b> – Echantillonnage du sol .....	<b>37</b>
<b>Figure 12</b> – Récipient de Fenwick .....	<b>37</b>
<b>Figure 13</b> – Extraction des kystes à partir du sol.....	<b>38</b>
<b>Figure 14</b> – Degrés d'infestation enregistrés dans les parcelles prospectées. ....	<b>41</b>

<b>Figure 15</b> – Répartition géographique des nématodes à kyste des céréales dans les localités prospectées. ....	<b>42</b>
<b>Figure 16</b> – Mensurations des kystes d' <i>Heterodera</i> .....	<b>46</b>
<b>Figure 17</b> – Coupede la partie périnéale du kyste et anatomie du cône vulvaire.....	<b>48</b>
<b>Figure 18</b> – Principaux critères du cône vulvaire utilisés pour l'identification des espèces d' <i>Heterodera</i> .....	<b>48</b>
<b>Figure 19</b> – Paramètres mesurés chez les larves du second stade.....	<b>50</b>
<b>Figure 20</b> – Kystes des populations d' <i>Heterodera</i> spp. d'origine géographique diverse observés sous loupe binoculaire.....	<b>53</b>
<b>Figure 21</b> – Variation de la taille des kystes des 10 populations.....	<b>54</b>
<b>Figure 22</b> – Gammes des longueurs par région.....	<b>56</b>
<b>Figure 23</b> – Gammes des largeurs par région.....	<b>57</b>
<b>Figure 24</b> – Aspect microscopique du cône vulvaire d' <i>H. avenae</i> .....	<b>60</b>
<b>Figure 25</b> – Aspect microscopique du cône vulvaire d' <i>H. bifenestra</i> .....	<b>60</b>
<b>Figure 26</b> – Aspect microscopique du cône vulvaire d' <i>H. latipons</i> .....	<b>61</b>
<b>Figure 27</b> – Aspect microscopique du cône vulvaire d' <i>H. filijevi</i> .....	<b>61</b>
<b>Figure 28</b> – Micrographies des larves du second stade d' <i>Heterodera</i> sp.....	<b>66</b>
<b>Figure 29</b> – Profils de restriction de trois différentes populations. d' <i>Heterodera</i> spp. d'Algérie.....	<b>68</b>



<b>Figure 30</b> – Distribution des espèces de nématodes à kyste des céréales à travers les régions du nord d’Algérie.....	<b>69</b>
<b>Figure 31</b> – Ensemencement des kystes sur gélose nutritive à 2%.....	<b>86</b>
<b>Figure 32</b> – Etapes de la culture monospore.....	<b>87</b>
<b>Figure 33</b> – Croissance des colonies mycéliennes à partir des kystes d’ <i>Heterodera</i> sp. ....	<b>90</b>
<b>Figure 34</b> – Taux de colonisation des kystes des quatre parcelles. ....	<b>90</b>
<b>Figure 35</b> – Aspect cultural macroscopique et microscopique de <i>Verticillium</i> sp. après 10 jours d’incubation. ....	<b>91</b>
<b>Figure 36</b> – Aspect cultural macroscopique et microscopique de <i>Paecilomyces</i> sp. 10 jours d’incubation.....	<b>91</b>
<b>Figure 37</b> – Répartition des champignons et des bactéries sur les boîtes ensemencées.....	<b>93</b>
<b>Figure 38</b> – Aspect macroscopique et microscopique au de <i>Harposporium</i> sp. 5 jours après incubation .....	<b>96</b>
<b>Figure 39</b> – Aspect cultural et microscopique au du genre <i>Mucor</i> sp. 5 jours après incubation. ....	<b>97</b>
<b>Figure 40</b> – Aspect cultural et microscopique au du genre <i>Rhizopus</i> sp. 5 jours après incubation.....	<b>97</b>
<b>Figure 41</b> – Aspect cultural et microscopique au du genre <i>Cladosporium</i> sp.5 jours après incubation.....	<b>98</b>

<b>Figure 42</b> – Aspect cultural et microscopique du genre <i>Chrysonilia</i> sp. 5 jours après incubation.....	<b>98</b>
<b>Figure 43</b> – Aspect cultural et microscopique au du genre <i>Perciconia</i> sp. 10 jours après incubation.....	<b>99</b>
<b>Figure 44</b> – Aspect cultural et microscopique du genre <i>Geotrichum</i> sp. après 10 jours d'incubation. ....	<b>99</b>
<b>Figure 45</b> – Aspect cultural et microscopique du genre <i>Fusarium</i> sp. 10 après jours d'incubation. ....	<b>100</b>
<b>Figure 46</b> – Aspect cultural et microscopique du genre <i>Torula</i> sp. après 10 jours d'incubation.....	<b>101</b>
<b>Figure 47</b> – Aspect cultural et microscopique du genre <i>Acremonium</i> sp. après 10 jours d'incubation.....	<b>101</b>
<b>Figure 48</b> – Aspect cultural et microscopique du genre <i>Cylindrocarpon</i> sp. après 10 jours d'incubation. ....	<b>102</b>
<b>Figure 49</b> – Aspect macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus</i> sp. après 5 jours d'incubation. ....	<b>102</b>
<b>Figure 50</b> – Aspect cultural et microscopique du genre <i>Pochonia</i> sp. après 10 jours d'incubation. ....	<b>103</b>
<b>Figure 51</b> – Aspect cultural et microscopique du genre <i>Fusarium</i> sp. après 10 jours d'incubation. ....	<b>104</b>
<b>Figure 52</b> – Absence de croissance mycélienne dans les boîtes ensemencées avec le sol.....	<b>107</b>

## Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
<b>Introduction</b> .....	<b>2</b>
<b>Chapitre I – Données bibliographiques</b> .....	<b>6</b>
1.1. – Les céréales.....	<b>6</b>
1.1.1. – Historique .....	<b>6</b>
1.1.2. – Importance des céréales.....	<b>7</b>
1.1.3. – Aires et production céréalières.....	<b>7</b>
1.1.4. – Cycle de développement .....	<b>8</b>
1.1.4.1. – Période végétative .....	<b>8</b>
1.1.4.1.1. – Phase de germination.....	<b>8</b>
1.1.4.1.2. – Phase semi-levée.....	<b>9</b>
1.1.4.1.3. – Phase levée - début du tallage.....	<b>9</b>
1.1.4.2. – Période reproductrice.....	<b>9</b>
1.1.4.2.1. – Phase Tallage herbacé – Gonflement.....	<b>9</b>
1.1.4.2.2. – Phase Epiaison -Floraison.....	<b>9</b>
1.1.4.3. – Période de maturation.....	<b>9</b>
1.1.4.3.1. – Phase pâteuse.....	<b>9</b>
1.1.4.3.2. – Phase de dessiccation.....	<b>9</b>
1.1.5. Contraintes de la céréaliculture.....	<b>10</b>
1.2. – Les nématodes à kystes des céréales <i>Heterodera</i> spp. ....	<b>10</b>
1.2.1. – Position systématique .....	<b>12</b>
1.2.2. – Caractérisation des espèces d' <i>Heterodera</i> sp. ....	<b>14</b>
1.2.2.1. – Caractérisation morpho-biométrique.....	<b>14</b>
1.2.2.1.1. – Biométrie des kystes et des larves du second stade.....	<b>14</b>
1.2.2.1.2. –Morphologie du cône vulvaire.....	<b>15</b>
1.2.2.1.2.1 – Le bullae.....	<b>15</b>
1.2.2.1.2.2. – Le pont vulvaire.....	<b>15</b>

1.2.2.1.2.3. – Le sous-pont .....	<b>15</b>
1.2.2.1.2.4.– Les fenestreae. ....	<b>16</b>
1.2.2.1.2.5. – La vulve .....	<b>16</b>
1.2.2.2. – Caractérisation biochimique.....	<b>17</b>
1.2.2.3. – Caractérisation moléculaire .....	<b>18</b>
1.2.3. – Polymorphisme chez les nématodes à kyste des céréales.....	<b>18</b>
1.2.3.1. – Pathotypes ou gamme d’hôtes différentielles.....	<b>18</b>
1.2.3.2. – Ecotypes.....	<b>21</b>
1.2.4. – Cycle biologique.....	<b>22</b>
1.2.5. – Modes de dissémination.....	<b>23</b>
1.2.6. – Symptômes.....	<b>23</b>
1.2.6.1. – En plein champs.....	<b>24</b>
1.2.6.2. – Sur les feuilles.....	<b>24</b>
1.2.6.3. – Sur les racines.....	<b>24</b>
1.2.7. – Dégâts et pertes.....	<b>25</b>
1.2.8. – Méthodes de lutte.....	<b>26</b>
1.2.8.1. –Méthodes chimiques.....	<b>26</b>
1.2.8.2. – Méthodes culturales.....	<b>26</b>
1.2.8.2.1. – Le désherbage.....	<b>26</b>
1.2.8.2.2. – La date de semis .....	<b>27</b>
1.2.8.2.3. – La jachère .....	<b>27</b>
1.2.8.2.4 – La fertilisation .....	<b>27</b>
1.2.8.2.5. – Les rotations .....	<b>28</b>
1.2.8.2.6. – Les variétés résistantes .....	<b>28</b>
1.2.8.3. – Méthodes biologiques.....	<b>30</b>
1.2.8.3.1. – Champignons antagonistes des nématodes à kyste.....	<b>30</b>
1.2.8.3.1.1. – Champignons prédateurs.....	<b>30</b>
1.2.8.3.1.2. – Champignons parasites.....	<b>31</b>
1.2.8.3.1.2.1. – Endoparasites obligatoires.....	<b>32</b>
1.2.8.3.1.2.2. – Endoparasites facultatifs.....	<b>32</b>
1.2.8.3.1.2.3. – Mode de pénétration des champignons.....	<b>33</b>
1.2.8.4. – Lutte intégrée.....	<b>33</b>

<b>Chapitre II – Etude de l'état d'infestation de quelques parcelles céréalières par les nématodes à kyste des céréales.....</b>	<b>35</b>
2.1. – Zones d'échantillonnage.....	35
2.2. – Analyse nématologique.....	35
2.2.1. – Echantillonnage du sol.....	35
2.2.1.1. – Matériel.....	35
2.2.1.2. – Méthode .....	35
2.2.2. – Extraction des kystes.....	37
2.2.1. – Matériel .....	37
2.2.2. – principe et méthode .....	38
2.2.3. – Récolte et comptage des kystes.....	38
2.3 – Résultats de l'état d'infestation.....	38
2.3.1. –Degrés d'infestation.....	38
2.3.2. – Répartition géographique .....	42
2.4. – Discussion.....	42
<b>Chapitre III – Caractérisation de quelques populations de nématodes à kyste des céréales.....</b>	<b>46</b>
3.1. – Caractérisation morphobiométrique.....	46
3.1.1. – Morphobiométrie des kystes.....	46
3.1.1.1. – Matériel .....	46
3.1.1.1.1. – Matériel biologique.....	46
3.1.1.1.2. – Matériel de laboratoire.....	46
3.1.1.2. – Méthode.....	46
3.1.1.2.1. – Analyse statistique des données. ....	47
3.1.2. – Etude morphométrique du cône vulvaire.....	47
3.1.2.1. – Matériel .....	47
3.1.2.1.1. – Matériel biologique.....	47
3.1.2.1.2. – Matériel de laboratoire.....	47
3.1.2.2. – Méthode .....	47

3.1.3. – Morphométrie des larves du second stade.....	49
3.1.3.1. – Matériel.....	49
3.1.3.1.1. – Matériel biologique.....	49
3.1.3.1.2. – Matériel non biologique.....	49
3.1.3.2. – Méthode.....	49
3.2. – Caractérisation moléculaire.....	50
3.2.1. – Populations d' <i>Heterodera</i> .....	50
3.2.2. – Extraction de l'ADN génomique .....	50
3.2.3. – Amplification de la PCR et séquençage.....	51
3.2.4. – Visualisation des fragments d'ADN par électrophorèse.....	52
3.3. – Résultats.....	52
3.3.1. – Résultats de la caractérisation morphométrique.....	52
3.3.1.1. – Description morphologique des kystes.....	52
3.3.1.2. – Résultats de la biométrie des kystes .....	53
3.3.1.2.1. – Résultats de l'analyse statistique .....	55
3.3.1.2.1.1. – Calculs préliminaires.....	55
3.3.1.2.1.2. – Graphes de Tukey .....	56
3.3.1.2.1.3. – Analyse de la variance.....	56
3.3.1.2.1.3.1. – Longueur.....	57
3.3.1.2.1.3.2. – Largeur.....	58
3.3.1.3. – Résultats de la morphobiométrie du cône vulvaire.....	59
3.3.1.3.1. – Structure morphologique du cône vulvaire.....	59
3.3.1.3.2. – Résultats de la biométrie du cône vulvaire.....	62
3.3.1.4. – Résultats de la biométrie des larves du second stade.....	66
3.3.2. – Résultats de la caractérisation moléculaire.....	67
3.4. – Discussion.....	69
<b>Chapitre IV – Etude de la virulence de deux populations d'<i>H. avenae</i></b>	
<b>vis-à-vis d'une gamme d'hôtes différentielles.....</b>	<b>74</b>
4.1. – Matériel.....	74
4.1.1 – Matériel biologique.....	74
4.1.1.1. – Kyste et larves L2 d' <i>H. avenae</i> .....	74
4.1.1.2. – Céréales internationales.....	74

4.1.2 – Matériel de laboratoire.....	75
4.2. – Méthodes.....	75
4.2.1. – Test en conditions naturelles.....	75
4.2.2. – Test <i>in vitro</i> .....	75
4.3. – Résultats.....	76
4.3.1. – Résultats du test en conditions naturelles.....	76
4.3.2. – Résultats du test <i>in vitro</i> .....	78
4.4. – Discussion.....	82
<b>Chapitre V – Recherche de champignons antagonistes</b>	
<b>des kystes d’<i>Heterodera</i> spp...</b> .....	<b>85</b>
5.1. –Matériel .....	85
5.1.1. – Matériel biologique.....	85
5.1.2. – Matériel de laboratoire.....	85
5.1.2.1. – Appareillage .....	85
5.1.2.2. – Petit matériel.....	85
5.1.2.3. – Solutions et milieux de culture.....	85
5.2. – Méthodes.....	86
5.2.1. – Isolement de la mycoflore à partir des kystes .....	86
5.2.1.1. – Isolement sur un milieu de base GN à 2%.....	86
5.2.1.1.1. – Purification des isolats.....	86
5.2.1.2. – Isolement sur des milieux complexes.....	88
5.2.1.2.1. – Purification des isolats .....	88
5.2.2. – Isolement de la mycoflore à partir du sol .....	88
5.2.3. – Lecture et identification .....	88
5.2.3.1. – Critères macroscopiques .....	88
5.2.3.2. – Critères microscopiques .....	89
5.3. – Résultats .....	89
5.3.1. – Mycoflore isolée à partir des kystes.....	89
5.3.1.1. – Mycoflore isolée sur GN à 2%.....	89
5.3.1.1.1. – Taux de colonisation des kystes.....	90
5.3.1.1.2. – Identification de la mycoflore.....	90
5.3.1.1.2. – Mycoflore non identifiée.....	92

5.3.1.2. – Microflore isolée sur les milieux complexes.....	93
5.3.1.2.1. – Lecture macroscopique.....	93
5.3.1.2.1.1. – Fréquence de la microflore dans les boîtes.....	93
5.3.1.2.1.2. – Fréquence de la microflore selon les milieux de culture.....	94
5.3.1.2.1.3. – Fréquence de la microflore selon les populations.....	95
5.3.1.2.2. – Identification microscopique de la mycoflore isolée.....	96
5.3.1.2.2.1. – Mycoflore isolée sur les kystes d'Oued Smar.....	96
5.3.1.2.2.2. – Mycoflore isolée sur les kystes de Bouira.....	99
5.3.1.2.2.3. – Mycoflore isolée sur les kystes de Tpaza.....	103
5.3.1.2.2.4. – Mycoflore non identifiée.....	104
5.3.2. – Mycoflore isolée à partir du sol.....	107
5.4. – Discussion.....	108
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>113</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>117</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>133</b>



# *Introduction*

## Introduction

Les céréales comptent parmi les cultures vivrières à importance économique mondiale vu qu'elles constituent la première source d'alimentation de la population dans le monde. Elles tiennent la première place quant à l'occupation des surfaces agricoles (Kellil, 2010). 70 % de ces terres agricoles mondiales sont emblavées en céréales (Riley *et al.*, 2009).

En Algérie, le développement de la céréaliculture revêt un caractère stratégique. Dans le programme de développement des productions agricoles, la priorité est orientée essentiellement vers l'intensification des céréales vu leur importance socioéconomique.

La céréaliculture est pratiquée essentiellement dans les zones semi-arides où elle occupe une superficie moyenne de trois millions d'hectares. En 2012, la production céréalière totale a atteint 56 millions de quintaux. Cette récolte reste insuffisante et ne couvre pas les besoins qui ne cessent d'augmenter (Kellil, 2010), faisant de l'Algérie un des plus importants pays importateurs de céréales (Ministère de l'agriculture, 2013).

La culture des céréales en Algérie est le plus souvent confrontée à différentes difficultés qui limitent la production. Outre les aléas climatiques et la nature calcaire du sol, la mauvaise conduite des cultures liées au manque de mécanisation dans la préparation du sol, le manque de fertilisants et l'absence de désherbage (Mokabli., 2002), les maladies et les déprédateurs comme les insectes et les nématodes phytoparasites.

Ces derniers représentent l'une des contraintes phytosanitaires majeures des cultures (Nicol *et al.*, 2007). Ils sont à l'origine de 10 pour cent de pertes de la production agricole mondiale (Withead, 1998). Mais, les problèmes nématologiques restent encore mal perçus par les agriculteurs, vu que ces parasites vivent dans le sol, sont de taille microscopique et induisent des symptômes non spécifiques, ce qui leur a valu l'appellation "ennemies invisibles" des cultures (Stirling *et al.*, 1998).

Les nématodes associés aux céréales sont nombreux mais les nématodes à kystes (NKC) *Heterodera* spp. constituent l'un des plus importants groupes de nématodes dans le monde (Rivoal et Cook, 1993).

Douze espèces du genre *Heterodera* constituant le "groupe *Heterodera avenae*" affectent les racines des céréales et des graminées (Yan et Smiley, 2009). *H. avenae*, *H. filipjevi* et *H. latipons* sont les trois principales espèces économiquement importantes (Rivoal et Cook, 1993; McDonald et Nicol 2005; Yan et Smiley, 2009). D'autres espèces de ce groupe ont été trouvées sur les céréales, mais leurs dégâts semblent être négligeables.

La plupart de ces espèces du genre *Heterodera* vivent en populations mixtes morphologiquement analogues et sont de ce fait difficiles à différencier. Leur identification basée les caractéristiques morphologiques et morphométriques requiert une bonne compréhension taxonomique des traits morphologiques des kystes ou des juvéniles et une grande habileté par l'observateur et consomme beaucoup de temps (Bekal *et al.*, 1997 et Nicol, 2002). Les outils biotechnologiques utilisant les techniques moléculaires récentes, telles que la réaction en chaîne par Polymérase PCR (Polymerase Chain Reaction) et la technique basée sur la longueur des fragments aléatoires RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) de l'ADN ribosomal, ont permis la différenciation taxonomique entre plusieurs entités du complexe de nématodes à kyste de céréales (Subbotin *et al.*, 2000). Ces techniques constituent aujourd'hui un outil fiable pour l'identification rapide et précise des espèces et des sous-espèces de nématodes à kyste (Bekal *et al.*, 1997; Subbotin *et al.*, 1999, 2000 et 2003; Madani *et al.*, 2004; Abidou *et al.*, 2005a et Smiley *et al.*, 2008).

La gestion des nématodes à kyste de céréales implique une approche intégrée qui inclut plusieurs moyens de lutte (Smiley et Yan, 2010).

Parmi les méthodes efficaces de contrôle d' *H. avenae* les techniques culturales telles que les rotations utilisant des cultures non hôtes ou des céréales résistantes peuvent maintenir les populations sous les seuils dommageables (Fisher et Hancock, 1991).

L'utilisation de ces sources de résistance, est spécifique à chaque pays et dépend du nombre d'espèces et de pathotypes d'*Heterodera* existants car les méthodes de contrôle actuelles sont basées sur la compréhension de la réponse des cultivars locaux à l'agent pathogène (Nicol, 2002 et Smiley et Nicol, 2009).

La lutte chimique par le traitement du sol et des plants par de faibles taux de nématicides a bien prouvé son efficacité contre les nématodes à kyste céréales (Rivoal et Nicol, 2009). Cependant, le choix de cette option est limité en raison de leurs dangereuses répercussions sur la santé des agriculteurs (Dababat *et al.*, 20014) et aussi pour des considérations économiques et environnementales (Maqbool, 1988 et Smiley et Nicol, 2009).

Les recherches s'orientent de plus en plus vers le déploiement des agents biologique qui offrent des perspectives de lutte prometteuses. Parmi les nombreux champignons antagonistes des NKC, *Nematophora gynophila*, *Paecilomyces lilacinus* et *Pochonia chlamydosporia* contribuent à la réduction significative des populations d' *H. avenae* et à leur maintien en-dessous du seuil économique (Kerry et Crump, 1998). Mais l'application de la

cette alternative de lutte est contrainte à la non disponibilité dans le commerce des produits de lutte biologique (Kerry et Crump 1998; Ismail *et al.*, 2001) et à la restriction de leur efficacité à des circonstances pédoclimatiques particulières (Nicol, 2002)

En Algérie, les études concernant les NKC sont entamées depuis plus de 20 ans. La présence de l'espèce *H. avenae* est signalée dans de nombreuses régions de culture de céréales, avec parfois de fortes infestations. Cependant, les travaux de recherche relatifs à ce parasite se sont limités à sa mise en évidence dans les grandes zones céréalières et aucune étude n'est entreprise sur les pertes de production et par conséquent sur son impact économique sur les rendements en céréales (Rivoal et Nicol, 2009 ; Mokabli *et al.*, 2001).

Ce présent travail constitue une contribution à la connaissance globale des nématodes à kyste des céréales, dans lequel nous avons tenté d'aborder quelques aspects relatifs à ces ravageurs. Il a pour objectifs d'élucider les points suivants:

Dans un premier lieu, nous avons réalisé une enquête sur la présence de ces parasites dans plusieurs parcelles céréalières situées à l'est, au centre et à l'ouest de l'Algérie afin de compléter la cartographie de leur répartition géographique et d'estimer ultérieurement leur risque potentiel pour la production céréalière.

Une deuxième partie est réservée à la caractérisation morphologique des espèces appartenant au "groupe *Heterodera avenae*". Cette étude est basée essentiellement sur des mensurations morphométriques effectuées sur les kystes et sur les coupes illustrant l'anatomie du cône vulvaire puis sur les larves du second stade (L2) mais également sur la biologie moléculaire.

La troisième partie vise à caractériser les pathotypes d'*Heterodera avenae* en testant la pathogénicité de deux populations d'origine géographique diverse, l'ITGC d'Oued Smar et Tiaret, vis-à-vis de neuf cultivars de céréales internationales. Ces expérimentées aussi bien en plein champs qu'*in vitro* afin de caractériser les pathotypes éventuellement présents chez cette espèce.

Dans une perspective de lutte biologique naturelle et non polluante, nous nous sommes intéressés dans la quatrième partie, à la recherche de champignons antagonistes des kystes d'*Heterodera*, à leur isolement et à leur identification.

# *Chapitre I*

## Chapitre I – Données bibliographiques sur les céréales et les nématodes à kyste des céréales

### 1.1.– Les céréales

#### 1.1.1. – Historique

Les premières évidences archéologiques de récolte de céréales datent d'un peu moins de 8000 ans avant J.-C. et se trouvent au Moyen-Orient dans le « croissant fertile » comprenant la Mésopotamie, la Turquie, la Palestine (Feldman, 1976). A cette époque, l'engrain (*Triticum boeoticum*) et l'amidonner (*Triticum dicoccoïdes*) faisaient l'objet de cueillette (Doussinault *et al.*, 1992). Le passage d'une civilisation de nomades à celle des agriculteurs sédentarisés est le résultat de la domestication progressive de graminées cultivées. Le blé est devenu indissociable de la culture Européenne, tout comme le maïs, le riz et le sorgho qui sont des cultures de l'Amérique latine, de l'Asie et de l'Afrique (Feillet, 2000).

La culture de céréales en Algérie semble remonter à la plus haute antiquité, approximativement au 12<sup>ème</sup> siècle avant J.-C. et constituait la spéculation essentielle du pays (Doc.alg., 2005).

Les zones de production céréalière s'étendaient sur Guelma, Constantine et Chelif, avec de hautes zones se situant à plus de 1000 m d'altitude comme Sétif et Tiaret. Le blé dur et l'orge étaient cultivés au Hodna jusqu'aux hautes vallées des Aurès. La production céréalière de ces zones suffisait pour approvisionner les Romains, les Génois et les Marseillais (Doc.alg.).L'Algérie était le grenier de la "Rome antique" pour le blé (Zabat, 1980).

Les principales céréales cultivées étaient celles d'hiver dont le blé, l'orge et l'avoine. Le paysan ne cultivait que le blé dur « guemah » destiné à la fabrication de la semoule avec une multitude de variétés rustiques et peu exigeantes mais susceptibles aux maladies et aléas climatiques Le blé tendre était inconnu en Afrique du Nord avant l'arrivée des colons en 1830 sauf dans les oasis où existait une variété spéciale : *T. vulgare* var. *oasicolum* L. (Doc. Alg, 2005).

Les blés métropolitains introduits n'ont jamais donné satisfaction en raison de leur maturation tardive ou sensibilité à la rouille jaune ; exception faite à la Tuzelle d'Aix dont le mélange avec les blés Mahons, forme les blés dits « Colons ». Ces derniers étaient estimés pour leurs rendements et la qualité de leur grain (blés blancs) recherchée localement et par le marché métropolitain (Doc. Alg., 2005).

Doc.Alg.2005:[http://alger-roi.fr/Alger/documents\\_algeriens/economique/pages/66\\_cereales\\_algerie.htm](http://alger-roi.fr/Alger/documents_algeriens/economique/pages/66_cereales_algerie.htm)

Quant aux orges, elles étaient dominées par l'orge carrée (escourgeon d'Afrique), quelques orges à six rangs et à deux rangs et les orges Saïda et Tichedret ayant fait l'objet de sélection durant la période coloniale et maintenues jusqu'à nos jours en raison de leur adaptation et leur utilité dans l'alimentation humaine et animale (Doc.alg.,2005 et FAO, 2006).

### **1.1.2.– Importance des céréales**

Les céréales constituent la plus importante source d'alimentation au monde. Environ 70% des terres destinées pour les cultures vivrières sont consacrées aux cultures céréalières (Riley *et al.*, 2009). Le blé, le maïs et le riz occupent la position la plus éminente avec 58 pour cent des cultures annuelles en termes de superficie et de production. En 2030, la population mondiale atteindra environ 8 milliard et la demande en céréales augmentera considérablement (Fischer *et al.*, 2009 ).

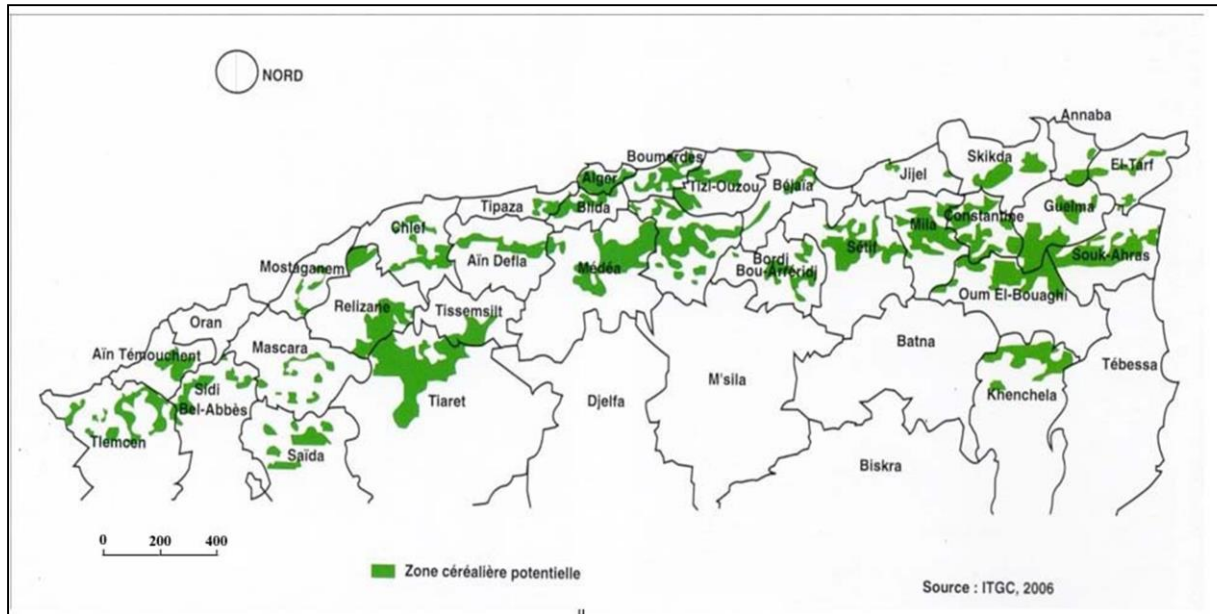
Les céréales telles que le blé et l'orge sont des cultures annuelles qui appartiennent à la famille des Graminées (Poacées), sous famille des Festucoïdées. Le blé dur et le blé tendre appartiennent au genre *Triticum* et l'orge appartient au genre *Hordeurn* (Boulal *et al.*, 2007).

En Algérie, la céréaliculture revêt un intérêt agro-alimentaire et socio-économique important. Les céréales d'automne (blé dur, blé tendre et orge), ont une importance stratégique dans la nutrition humaine et l'alimentation animale. Les céréales et leurs dérivées fournissent plus de 60% de l'apport calorifique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire. La consommation des produits céréaliers avoisine les 205 kg /habitant /an (Chehat, 2007).

### **1.1.3 .–Aires et production céréalières**

Les terres céréalières (jachère comprise) occupent environ 80% de la superficie agricole utile (SAU). La superficie emblavée annuellement en céréales se situe entre 3 et 3,5 millions d'hectars et les superficies récoltées annuellement représentent 63% des emblavures. Cette spéculation est présente dans toutes les étapes bioclimatiques, y compris dans les zones sahariennes mais un tiers seulement de ces emblavures est localisé dans l'étage bioclimatique à pluviométrie moyenne annuelle supérieure à 450 mm (Djermoun, 2009).

Le nombre de variétés céréalières autorisées à la production et à la commercialisation a augmenté avec les nouvelles variétés sélectionnées et homologuées depuis 2006. Il atteint 103 variétés, dont : 32 variétés de blé dur, 26 variétés de blé tendre, 23 variétés d'orge, 11 variétés d'avoine et 11 variétés de triticales.



**Fig.1** –Les zones céréalières en Algérie. (ITGC, 2006)

La production nationale a évolué ces dernières années avec un maximum de 62 millions de quintaux en 2009 et 49,12 millions quintaux en 2013, soit un rendement de 18,11 qx/ha (OAIC, 2013). Cette production demeure toutefois insuffisante et ne couvre pas les besoins de la population, d'où le recours à l'importation. A titre d'exemple, la quantité des céréales importées durant les dix premiers mois de 2013 a atteint 8,381 millions de tonnes, soit l'équivalent de 1,84 milliard de dollars (APS, 2013).

#### **1.1.4.– Cycle de développement**

Au cours de son développement, les céréales subissent des modifications morphologiques correspondant aux différents stades de leur croissance (Boulal et *al*, 2007). Le cycle de développement des céréales comprend trois grandes périodes :

##### **1.1.4.1. –Période végétative**

C'est la sortie du grain de son état de vie ralentie, elle comprend les phases suivantes :

##### **1.1.4.1.1.–Phase de germination**

C'est la naissance d'une jeune plantule au dépend de la graine. Elle commence par l'imbibition de la graine qui permet la libération des enzymes et la dégradation des réserves assimilables par la graine suivie par la croissance caractérisée par l'allongement de la racicule (Vertucci, 1989).



#### **1.1.4.1.2. – Phase semi-levée**

C'est la phase de germination et le début de la croissance.

#### **1.1.4.1.3.–Phase levée - début du tallage**

Elle est caractérisée par les apparitions successives à l'extrémité de la coléoptile et les premières feuilles fonctionnelles imbriquées les unes dans les autres, partant toutes d'une même zone dite plateau du tallage. C'est la phase critique en cas d'attaque par les parasites et les ravageurs (Vertucci, 1989).

#### **1.1.4.2. – Période reproductrice**

Cette période comprend deux phases

##### **1.1.4.2.1.– Phase Tallage herbacé – Gonflement**

Elle comprend l'initiation florale, la différenciation de l'ébauche de l'épi, la différenciation des ébauches des glumes, la montaison, la méiose et le gonflement.

##### **1.1.4.2.2.– Phase Epiaison – Floraison**

Cette phase correspond à l'apparition des épis à l'extérieur, à la fécondation. La floraison consiste en l'éclatement des anthères qui libèrent le pollen ; les filets qui les portent s'allongent, ce qui entraîne à travers les glumelles entrouvertes, les sacs polliniques desséchés à l'extérieur et flottent alors tout autour de l'épi comme de petites fleurs blanches dont l'ensemble fait dire que « l'épi est fleuri » (Vertucci, 1989).

#### **1.1.4.3. – Période de maturation**

Elle s'étend de la fécondation jusqu'à la maturité du grain et comprend deux phases:

##### **1.1.4.3.1.– Phase pâteuse**

La graine accumule fortement l'amidon dans son albumen. Tout déficit en eau entraînera un excès d'évaporation et un ralentissement de la synthèse des réserves nécessaires à la formation du grain, ce qui se traduit par la formation de grains ridés de poids inférieur à la normale (phénomène d'échaudage).

##### **1.1.4.3.2.– Phase de dessiccation**

Elle correspond à la perte progressive de l'humidité du grain qui ne doit pas dépasser 15% au champ (Vertucci, 1989).

#### **1.1.5.– Contraintes de la céréaliculture**

La fluctuation des rendements en céréales et la faible production sont attribués principalement à la contrainte hydrique puisque, comme nous l'avons signalé précédemment,

la plus part des terres emblavées en céréales se situent dans les étages bioclimatiques semi-aride et aride.

Le type de sol, l'itinéraire technique, les variétés cultivées sont autant de facteurs abiotiques qui concourent à cette faible récolte.

En outre, les maladies et les ravageurs constituent la contrainte biotique majeure pour la céréaliculture. Les principales maladies rencontrées en Algérie sont d'origine cryptogamique comme les rouilles, les septorioses, les pourritures racinaires, l'oïdium et la carie qui touchent notamment le blé et la jaunisse nanisante virale sur l'orge (Bendif, 1994).

Parmi les ravageurs, de nombreux insectes tels que les cécidomyies, les pucerons, les punaises, etc. s'attaquent aux cultures céréalières (Boulal *et al.*, 2007).

Les nématodes parasites des plantes sont d'une importance économique mondiale. Ces ravageurs représentent l'un des problèmes phytosanitaires les plus difficiles à démontrer, à identifier et à contrôler ils vivent dans le sol (Stirling *et al.*, 1998).

Leurs dégâts sont généralement sous-estimés par les agriculteurs, mais il a été estimé que près de 10 % de la production agricole mondiale est perdue à cause des dégâts des nématodes (Whitehead, 1998).

De nombreux nématodes sont associés aux céréales, mais seuls quelques groupes sont économiquement importants tels que les nématodes à kyste de céréales *Heterodera* spp. ; les nématodes des lésions racinaires, *Pratylenchus* spp. ; les nématodes à galles des racines, *Meloidogyne* spp. ; le nématode des inflorescences *Anguina tritici* et le nématode des tiges, *Ditylenchus dipsaci*.

Le premier groupe sera détaillé dans le deuxième chapitre de cette thèse.

## **1.2 – Les nématodes à kystes des céréales *Heterodera* spp.**

Les nématodes à kystes des céréales constituent le groupe de parasites le plus étudié chez les céréales, notamment blé et d'orge (Sikora, 1987 et Cook et Noel, 2002). Ce sont des parasites sédentaires ayant une gamme d'hôtes limitée aux graminées (Stone et Hill, 1982 ; Nicol *et al.*, 2003 ; Rivoal *et al.*, 2003 et Dababat *et al.*, 2011). Ils sont largement répandus dans le monde et prédominent dans les zones céréalières où ils causent d'importantes pertes de rendements (Meagher, 1977; Nicol *et al.*, 2003 et Madani *et al.*, 2004) ; ils sont ainsi considérés comme les principaux ravageurs affectant les céréales dans le monde (Bridge *et al.*, 2002).

Les nématodes à kyste des céréales forment un complexe de plusieurs espèces étroitement apparentées (Rivoal et Nicol, 2009). Le genre *Heterodera* comprend pas moins

de 70 espèces (Smiley et Yan, 2010), 80 selon Subbotin *et al.* (2010) réparties sur six groupes d'espèces: "Schachtii", "Goettingiana", "Sacchari", "Humuli", "Cyperi" et "Avenae" (Subbotin *et al.*, 2001).

Le groupe *Heterodera avenae* contient actuellement 12 espèces valides (Nicol et Rivoal, 2008 et Smiley et Yan, 2010) qui diffèrent les unes des autres par de petits caractères morphologiques et morphométriques mais montrent un large chevauchement entre elles (Wouts *et al.*, 1995; Wouts et Baldwin, 1998 et Handoo, 2002) .

*H. avenae* Wollenweber, 1924

*H. latipons* Franklin, 1969

*H. filipjevi* (Madzhidov, 1981) Stone, 1985

*H. Mani* Mathews, 1971

*H. bifenestra* Cooper, 1955

*H. hordecalis* Andersson, 1975

*H. arenaria* Cooper, 1955

*H. iri* Mathews, 1971

*H. aucklandica* Wouts, 1995

*H. turcomanica* Kirjanova and Shagalina, 1965

*H. spinicauda* Wouts, Schoemaker, Sturhan and Burrows, 1995

*H. pratensis* Gäbler, Sturhan, Subbotin and Rumpfenhorst, 2000

(Handoo, 2002 et Subbotin *et al.*, 2003).

Les espèces du complexe *Heterodera avenae* vivent parfois en mélanges mais leur statut taxinomique demeure ambigu car les différences morphologiques qui les caractérisent sont très faibles. Ces espèces constituent une menace parasitaire redoutable à la céréaliculture dans la région méditerranéenne mais la nuisibilité des espèces autres qu'*Heterodera avenae* est relativement mal connue (Bekal, 1997).

### 1.2.1. – Position systématique

Règne : Animal	Sous-ordre : Tylenchina
Sous-règne : Métazoaires	Super famille : Heteroderoidae
Phylum : Némathelminthes	Famille : Heteroderidae
Classe : Nématodes	Sous-famille : Heteroderinae
Sous-classe : Secernentae	Genre : <i>Heterodera</i>
Ordre : Tylenchida	

(Reddy, 1983).

*Heterodera avenae* Wollenweber, *H. latipons* Franklin, et *H. filipjevi* (Madzhidov) Stone, sont les trois principales espèces répandues dans les régions productrices de céréales (Rivoal et Cook, 1993; Mc Donald et Nicol, 2005 et Nicol et Rivoal, 2008). Ces espèces peuvent être rencontrées seules ou en mixture, comme c'est le cas en Syrie et en Turquie où 69,9 et 80 % des champs de céréales ont été respectivement infestés par *H. avenae*, *H. filipjevi* et *H. latipons* (Abidou *et al.*, 2005b).

Cependant, Smiley et Nicol (2009) rapportent que dans le groupe *H. avenae*, deux autres espèces, *H. bifenestra* et *H. hordecalis* sont également associées au blé mais sont moins répandues dans le monde.

Nous détaillerons ici les trois espèces les plus redoutables.

***Heterodera avenae*** Wollenweber, 1924 est l'espèce la plus répandue et la plus nuisible dans le monde (Griffin, 1988 ; Greco *et al.*, 2002 ; Subbotin *et al.*, 2003). Elle constitue un facteur limitant de la production céréalière en Europe et en Australie et son incidence économique est plus marquée en Afrique du Nord (Bekal, 1997).

En outre, cette espèce est polymorphe avec de nombreux pathotypes (Andersen et Andersen, 1982a ; Cook et Rivoal, 1998) et au moins deux écotypes, indiquant une adaptation de son cycle de vie aux conditions thermiques d'éclosion (Rivoal et Bourdon, 2005).

En Algérie, Mokabli (non publ.) rapporte que les espèces *H. avenae* et *H. latipons* sont rencontrées en mélange dans une même parcelle.

*H. latipons* Franklin, 1968 est un ravageur important des cultures céréalières, comme l'orge blé, et à moindre degré, l'avoine et le seigle (Sikora 1987 et Inserra *et al.* 2003).

Ce nématode est principalement rencontré dans les régions méditerranéennes (Rivoal and Cook, 1993 et Subbotin *et al.*, 1996), mais il a été signalé également en Europe de l'Est et du Nord, au Moyen et au Proche-Orient, en Afrique du Nord et du Sud et au Japon (Davis et Venette., 2004). Il est connu comme étant le nématode à kyste du blé et est à l'origine d'importants dégâts dans plusieurs pays méditerranéens (Greco *et al.*, 2002).

Sur le plan morphologique, les kystes d'*H. latipons* sont ovoïdes ou citrifformes très semblables à ceux d'*H. avenae*, avec une fente vulvaire courte (<16 µm), ce qui permet de les classer dans le groupe *H. avenae* (Baldwin and Mundo-Ocampo, 1991).

*H. filipjevi* (Madzhidov, 1981) Steler, 1984 se trouve en Europe de l'Est et du Nord (Subbotin *et al.*, 1996 ; Bekal *et al.*, 1997; Rivoal *et al.*, 2003; Subbotin *et al.*, 2003 et Holgado *et al.*, 2004), mais aussi en Asie centrale et en Asie de l'Ouest, au Moyen-Orient, en Iran (Hesar *et al.*, 2012 et Ahmadi et Tanha Maafi, 2014) et également en Turquie où elle est décelée dans 37% des champs infestés (Abidou *et al.*, 2005a), au continent indien et en Amérique du Nord (Smiley et Nicol, 2009). *H. filipjevi* est morphologiquement très proche d'*H. avenae* (Handoo, 2002) ; elle était connue auparavant comme étant la souche Gotland, le pathotype 3 et la race 3 d'*H. avenae* (Bekal, 1997).

Cette espèce infeste le blé, le seigle, le maïs et d'autres graminées sur lesquels elle peut induire d'importants dégâts (Subbotin *et al.*, 2003). Selon Nicol *et al.* (2004), les pertes de rendement varient entre 7 et 89 % dans le plateau d'Anatolie en Turquie et peuvent s'aggraver par les faibles précipitations.

L'identification traditionnelle des nématodes à kystes des céréales, basée sur les caractères morphologiques et morphométriques des kystes et des larves de deuxième stade (L2), nécessite beaucoup de temps et une grande habileté par l'observateur afin de distinguer les espèces sœurs (Rivoal *et al.*, 2003; Subbotin *et al.*, 2003). Mais, l'augmentation du nombre des espèces dans ce groupe rend cette identification plus difficile (Subbotin *et al.*, 2003).

Ainsi, il est important d'identifier avec précision les différentes espèces, de déterminer leur répartition et leur association possible aux cultures de céréales et les conditions

environnementales afin de développer des stratégies appropriées de lutte intégrée efficace (Abidou *et al.*, 2005a).

## 1.2.2. –Caractérisation des espèces d'*Heterodera*

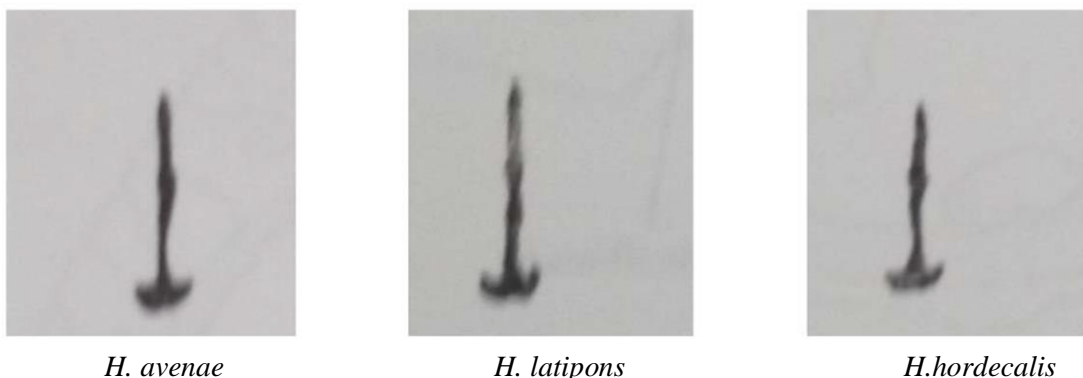
### 1.2.2.1. –Caractérisation morphobiométrique

L'identification des espèces du groupe *H.avenae* est complexe (Handoo,2002). Elle se fait en conformité avec les descriptions originales et les révisions taxonomiques les plus récentes, fondées sur des données morphologiques et morphométriques des kystes et des larves du second stade (Sturhan, 1982 ; Handoo,2002 ; Madani *et al.*, 2004 et Renčo et Cereukoua, 2008).

#### 1.2.2.1.1. – Biométrie des kystes et des larves du second stade

La biométrie est une étape d'un grand intérêt car elle contribue à l'identification morphologique préliminaire des espèces appartenant au genre *Heterodera* (Baldwin et Mundo-Ocampo, 1991).

Elle se base essentiellement sur les mensurations des kystes et des larves du second stade. Les caractéristiques de ces dernières sont également importantes dans la caractérisation morphologique des espèces (Abidou *et al.*, 2005b). Elles concernent la longueur totale du corps, la longueur de la queue et de son extrémité hyaline, la longueur du stylet et l'aspect et des boutons basaux (Fig.2), le nombre des champs latéraux, etc. (Rivoal et Cook, 1993 ; Handoo, 2002).



**Fig. 2** –Morphologie du stylet et des boutons basaux des larves du second stade chez trois espèces d'*Heterodera*

(Bekal, 1997).

### 1.2.2.1.2 – Morphologie du cône vulvaire

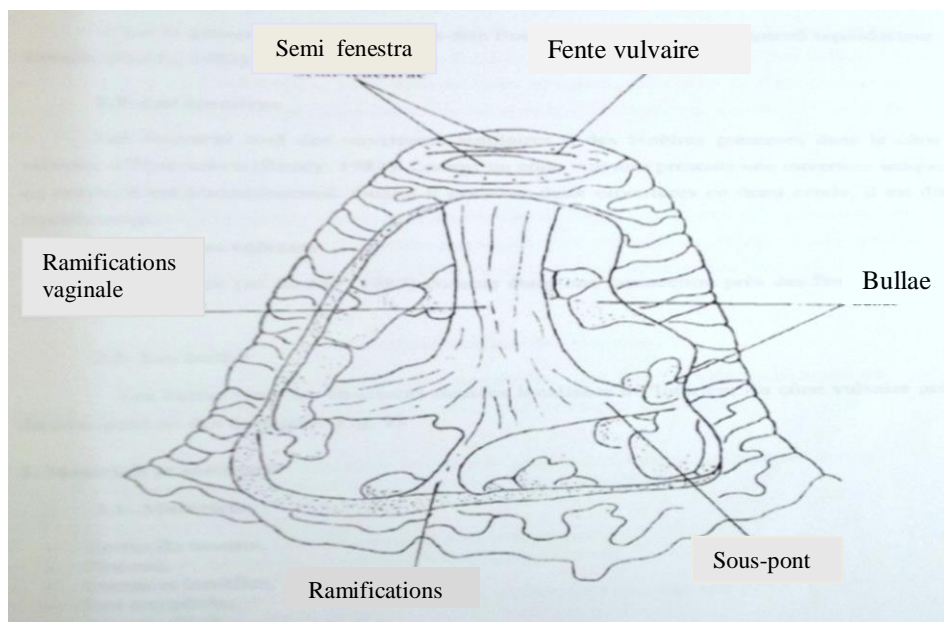
La connaissance de la morphologie du cône vulvaire (région périnéale) est une étape nécessaire pour la confirmation de l'identité de l'espèce (Handoo, 2002). Selon cet auteur, les principales structures considérées sont : la présence ou l'absence du bullae, du pont vulvaire et du sous-pont, la forme des fenestrae et la longueur de la fente vulvaire (Fig.3).

#### 1.2.2.1.2.1. Le bullae

C'est un corps brun foncé (Vovlas *et al.*, 1985), en forme de boutons distribués de façon irrégulière dans la périphérie du cône vulvaire, près du sous-pont ou des fenestrae (Mulvey, 1972).

#### 1.2.2.1.2.2. Le pont vulvaire

Il représente la connexion entre les fenestrae (Reddy, 1983).



**Fig. 3**—Diagramme du cône vulvaire vu de profil

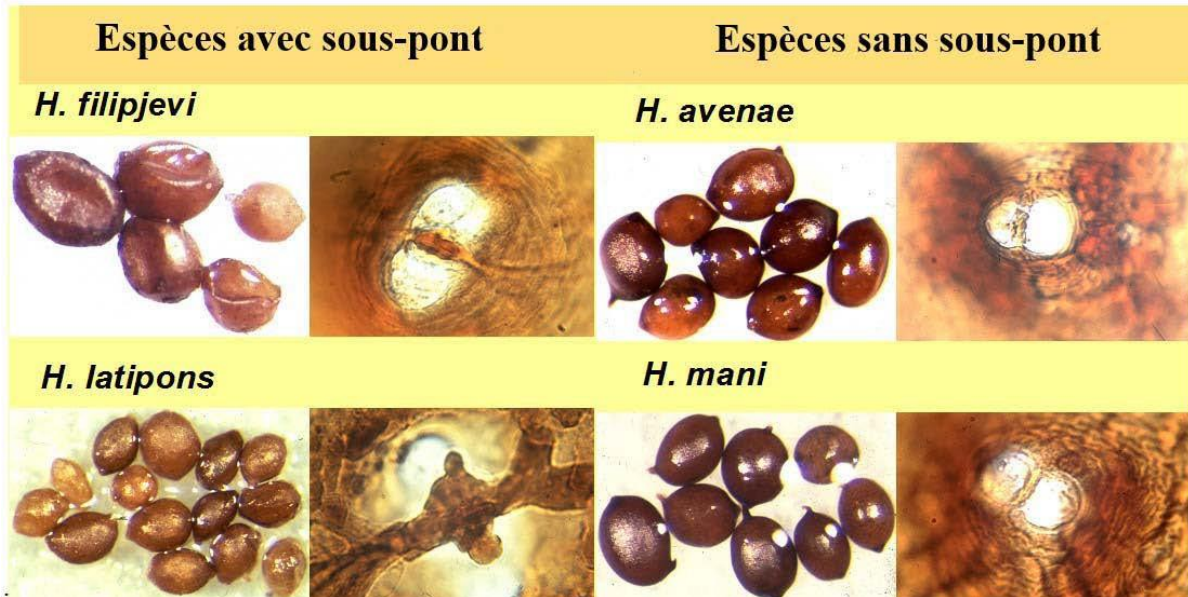
(Nobbs,1989)

#### 1.2.2.1.2.3 – Le sous-pont

Il se trouve généralement en dessous des fenestrae et parallèle au pont vulvaire. Il est composé de bandes musculaires qui soutiennent le vagin (Mulvey, 1972). Il est absent chez *H. avenae*, *H. mani*, *H. bifenestra*, *H. arenaria*, *H. pratensis* et *H. auklandica* (Handoo, 2002). (Fig.4).

**1.2.2.1.2.4.– Les fenestrae**

Ce sont des ouvertures claires similaires à des fenêtres (Reddy, 1983) à paroi mince. Le cône vulvaire est circumfenestré lorsqu'il présente une ouverture unique en cercle et il est ambifenestré quand il présente deux ouvertures en demi-cercle et bifenestré lorsque les fenestrae sont bien séparées et plus ou moins circulaires (Siddiqui, 2000).



**Fig.4** – Kystes et cônes vulvaires de quelques espèces du complexe *Heterodera avenae*.

(Riley *et al.*, 2009)

**1.2.2.1.2.5. –La vulve**

Elle représente le gonopore femelle (Reddy, 1983). Elle est courte chez *H. latipons* et *H. mani*, ce qui les place dans groupe *H.avenae* (Baldwin et Mundo-Ocampo, 1991).

Les caractéristiques morphologiques et histologiques des trois principales espèces d'*Heterodera* nuisibles sont synthétisées dans le tableau1.



**Tableau 1** –Principales caractéristiques morpho-histologiques comparées de trois espèces du genre *Heterodera*.

Espèces		<i>H. avenae</i>	<i>H. latipons</i>	<i>H. filipjevi</i>
Caractéristiques				
Kystes	Forme et couleur	Citriforme, brun foncé. (Vovlas <i>et al.</i> , 1985 ; Handoo, 2002 ; Yan et Smiley, 2009 et Lambardo <i>et al.</i> , 2009)	Sphérique, marron foncé. (Greco <i>et al.</i> , 2002).	Citriforme, brun clair. (Holgado, 2004 et Hesar <i>et al.</i> , 2012)
	Bullae	Présent, très développé. (Namouchi-Kachouri , 2005 et Yan et Smiley, 2009)	Très peu développé ou absent. (Namouchi-Kachouri, 2005)	Présent, très léger. (Abidou <i>et al.</i> , 2005b)
Structure du cône vulvaire	Sous pont	Absent (Handoo, 2002)	Présent, assez profond. (Mulvey, 1972)	Présent, clair parfois bifurqué à la périphérie. (Hesar <i>et al.</i> , 2012 et Yan et Smiley, 2009).
	Fente vulvaire	Présente, courte 9 µm. (Subbotin <i>et al.</i> , 2003 et Yan et Smiley, 2009)	Présente, 17-25,5 µm. (Mulvey, 1972 et Greco <i>et al.</i> , 2002)	Courte, 7 µm. (Handoo, 2002)
	Forme des boutons basaux	Légèrement concaves en avant. (Lambardo <i>et al.</i> , 2009)	Concaves en avant. (Greco <i>et al.</i> , 2002)	Légèrement concaves en avant. (Hesar <i>et al.</i> , 2012)
Larves du second stade	Queue	Bien effilée, 59 -75 µm (Vovlas <i>et al.</i> , 1985 et Namouchi-Kachouri, 2005)	Très pointue, 44-64µm (Greco <i>et al.</i> , 2002)	Effilée, 57 µm (Handoo, 2002)
	Extrémité hyaline	35- 45µm (Greco <i>et al.</i> , 2002)	29 - 46µm (Greco <i>et al.</i> , 2002)	30 -38 µm (Smiley <i>et al.</i> , 2008)
	Nombre de champs latéraux	4 (Vovlas <i>et al.</i> , 1985 et Handoo, 2002)	4 (Handoo, 2002)	4 (Smiley <i>et al.</i> , 2008)

### 1.2.2.2.– Caractérisation biochimique

Parce que l'identification fiable basée sur la morphologie devient de plus en plus difficile, plusieurs tests biochimiques se sont révélés utiles pour l'identification des nématodes. L'électrophorèse des protéines a été la première technique utilisée pour identifier et établir la variabilité génétique des nématodes (Bossis et Rivoal, 1996). Par la suite, les isoenzymes et leurs variantes de mobilité (allozymes) séparées sur la base du poids

Moléculaire ou du point isoélectrique ont également été utilisées pour l'identification des nématodes (Molinari *et al.*, 1996). L'analyse des isoenzymes et précisément l'analyse de l'ADN ribosomal (ADNr) a permis de différencier les espèces d'*Heterodera* (Mokabli *et al.*, 2001; Bekal *et al.*, 1997 ; Rivoal *et al.*, 2003 ; Ma *et al.*, 2008 ; Yan et Smiley, 2009) et à clarifier les relations au sein du complexe *H. avenae* (Subbotin *et al.*, 1996).

### **1.2.2.3.– Caractérisation moléculaire**

Les techniques de biologie moléculaire basées sur les protéines ou l'analyse de l'ADN ribosomal en utilisant RFLP sont adoptées pour l'identification des espèces (Rivoal *et al.*, 2003; Ma *et al.*, 2008 et Yan et Smiley, 2009). Elles sont maintenant disponibles et permettent une identification facile et fiable mais aussi une étude des relations phylogénétiques entre les espèces (Subbotin *et al.*, 1999, 2000, 2001 et 2003 et Bekal *et al.*, 1997).

La région ITS (Internal Transcribed Spacers) de l'ADN ribosomal est un bon candidat pour la taxonomie moléculaire et les études phylogénétiques (Subbotin *et al.*, 2001 et 2003 et Madani *et al.*, 2004). L'ADNr contient deux régions internes d'espacement transcrits (ITS1 et ITS2) situées entre les gènes ribosomiques 18S et 26S (Ibrahim *et al.*, 1995) qui sont hautement conservés entre les espèces, permettant la construction des amorces de la PCR.

La PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction restriction Fragment Length Polymorphism) basée sur les unités répétées des régions ITS de l'ADNr d'*Heterodera* spp. a souvent été utilisée pour l'identification des nématodes à kystes (Bekal *et al.*, 1997; Subbotin *et al.*, 1999 et 2000; Rivoal *et al.*, 2003; Madani *et al.*, 2004; Abidou *et al.*, 2005a; Smiley *et al.*, 2008 et Yan et Smiley, 2009). Cette technique nécessite la combinaison des fragments d'ADN obtenus après digestion avec une série d'enzymes de restriction. Par exemple, les cinq enzymes de restriction : AluI, RsaI, BsuRI, Bsh1236I et Hin6I sont capables de distinguer entre *H. latipons* et les autres *Heterodera* spp. Cependant, la PCR-RFLP présente des limites liées au coût de certaines enzymes et aussi à l'absence de différences entre les profils de restriction obtenus (Subbotin *et al.*, 2000) due à la digestion partielle des produits de PCR, ce qui rend la distinction entre les espèces difficile (Toumi *et al.*, 2013).

### **1.2.3.– Polymorphisme chez les nématodes à kyste des céréales**

#### **1.2.3.1. – Pathotypes ou gamme d'hôtes différentielles**

Les termes « Race » et « Pathotype » ont été utilisés indifféremment pour décrire une situation où différentes populations ou espèces de nématodes ont été virulentes sur différentes

plantes hôtes Andersen et Andersen (1982a). Ces mêmes auteurs avaient proposé les conditions suivantes pour définir les pathotypes :

- a) La génétique de la virulence chez le nématode et celle de la résistance chez les plantes doivent être bien connues, par exemple, par le test de croisements des populations de la génération F2 entre les cultivars résistants et sensibles;
- b) les essais et les rapports détaillés doivent montrer une différence significative de la virulence entre les populations de nématodes;
- c) tous les membres d'un même pathotype doivent avoir en commun un gène ou une combinaison de quelques gènes de virulence et doit différer du gène ou d'une combinaison de gènes trouvés dans tout autre pathotype. Si deux populations toutes aussi virulentes se croisent, elles peuvent être considérées comme un seul pathotype, même si elles diffèrent dans la physiologie ou la morphologie.

Les groupes de pathotypes (ou de virulence) sont différenciés en testant la virulence de populations inconnues sur une gamme de céréales désignées sous le nom " *Test International d'Assortiment de Céréales pour la Définition des Pathotypes des Nématodes à Kyste des Céréales* ".

Ce test a d'abord été donné par Andersen (1959) et les classifications telles que des chiffres arabes (1, 2, 3, etc.), des lettres (A, B, C, etc.) et les chiffres romains (I, II, III, etc.), ont été développés pour indiquer la diversité (Andersen et Andersen, 1982b).

Le test international utilise douze orges, six avoines (*Avena sativa* L.) et six cultivars différentiels de blé pour définir les pathotypes d' *H. avenae* et permet de distinguer initialement trois principaux groupes de pathotypes 1, 2 et 3, en se basant sur les réactions de résistance des cultivars d'orge (*Hordeum vulgare* L.) Ortolan, Siri et Marocco (Nicol et Rivoal, 2008), portant les gènes de résistance respectifs Rha1, Rha 2 et Rha3 (Smiley *et al.*, 2011) (Tableau 2).

**Tableau 2**–Pathotypes d’*Heterodera avenae* découlant de l’Essai d’Assortiment International de Détermination des Pathotypes des nématodes à kyste des céréales dans sa nouvelle version.

(Smiley *et al.*, 2011).

Cultivars différentiels	Pathotypes d’ <i>H. avenae</i>										
	Groupe 1								Groupe 2		Groupe 3
	Ha 11	Ha 21	Ha 31	Ha 41	Ha 51	Ha 61	Ha 71	Ha 81	Ha 12	Ha 22	Ha 13
<b>Orges</b>											
Ortolan ( <i>Rha</i> 1)	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
Siri ( <i>Rha</i> 2+)	R	R	R	S	S	S	(S)	R	R	R	S
Morocco ( <i>Rha</i> 3+)	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
Emir ( <i>Rha</i> E) <sup>4</sup>	S	S	-	S	-	R		S	S	S	S
<b>Avoines</b>											
Nidar II	S	-	-	(S)	-	S	R	R	S	R	S
<i>A. sterilis</i> I.376	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R
<b>Blé</b>											
AUS 10894 ( <i>Cre</i> 1)	R	-	-	R	-	R	R	R	R	S	(R)
Loros ( <i>Cre</i> 1)	R	R	-	R	-	(R)	R	R	R	R	(R)
Capa	S	S	-	S	-	S	S	S	S	S	S

R : Résistant (R) : Modérément résistant S : Sensible (S) : Modérément sensible

Des cultivars différentiels supplémentaires, d’orge, d’avoine et de blé sont utilisés pour définir les pathotypes au sein de chaque groupe (Andersen and Andersen, 1982b ; Rivoal and Cook, 1993; Sanchez and Zancada, 1987 et Smiley *et al.*, 2011).

En Algérie, la caractérisation des réactions de virulence de deux populations d’*H. avenae* de Tiaret et Oued Smar en utilisant le test international a montré qu’il s’agit de pathotypes du Groupe 1 mais sans les distinguer en pathotypes Ha21, Ha31 ou Ha 81. Le gène *Cre1* a été identifié comme une source de résistance potentiellement précieuse dans les cultivars de blé destinés à être introduits dans ces localités (Haddadi *et al.*, 2013).

La recherche des pathotypes et leur caractérisation constitue un des aspects du polymorphisme connu chez les nématodes à kyste des céréales et constitue donc un véritable procédé d’identification (Mitchinson, 2009 et Smiley *et al.*, 2011).

L’espèce *H. avenae* présente au moins 12 pathotypes (Dabbabat *et al.*, 2011) qui diffèrent par leur capacité (virulence) à contourner (ou non) des gènes de résistance identifiés chez

l'orge et chez le blé et à se développer (ou non) sur des avoines de type hiver ou printemps (Rivoal, 1977 et Cook et Rivoal, 1998).

Jusqu'à 30 phénotypes de virulence ont été proposés pour 69 populations d'*H. avenae* de par le monde (Cook et Rivoal, 1998) et des phénotypes supplémentaires de virulence continuent d'être identifiés dans d'autres pays sans désignation officielle de pathotype (Al-Hazmi *et al.*, 2001 et Peng *et al.*, 2009). Toutefois, Nicol et Rivoal (2008) indiquent que le grand nombre de pathotypes recensés mène à s'interroger sur la véritable identité de l'espèce.

Les techniques biochimiques et moléculaires ont démontré que plusieurs populations de la «Race Gotland" (Suède) considérés initialement comme des pathotypes d'*H. avenae* sont en fait des isolats d'*H. filipjevi* sévissant en Europe occidentale (Mitchinson, 2009).

Ainsi, Les populations désignées comme pathotypes Ha23 et Ha33 de l'espèce *H. avenae* (Andersen et Andersen, 1982a) sont désormais considérées comme étant des pathotypes étroitement liés de l'espèce *H. filipjevi*, (Subbotin *et al.*, 2003).

La caractérisation des pathotypes est rendue difficile par l'existence de mélanges d'espèces au sein du groupe *H. avenae* (Handoo, 2002) observés aussi bien au niveau des parcelles que des régions géographiques (Abidou *et al.*, 2005a). En outre, ces espèces montrent une grande hétérogénéité dans leurs génotypes spécifiques de virulence à l'hôte (mélanges de pathotypes) (Cook et Rivoal, 1998; Cook et Noel 2002 et McDonald et Nicol, 2005).

Jusqu'à présent, la technologie moléculaire n'a pas réussi à distinguer les pathotypes et les marqueurs de la virulence (Rivoal et Nicol, 2009). L'accent mis récemment sur le développement de la résistance aux populations locales d'*H. avenae* a incité à élargir la gamme des cultivars de céréales utilisés dans le Test International aux cultivars de céréales locales présentant un potentiel de résistance à ces populations et donc à leur régulation (Smiley et Nicol, 2009).

### **1.2.3.2.– Ecotypes**

L'étude des cycles d'éclosion d'*H. avenae* montre que cette espèce présente deux écotypes : l'écotype méridional qui vit dans les régions méditerranéennes et présentant une activité larvaire hivernale et l'écotype septentrional rencontré dans les régions à climat océanique plus ou moins tempéré dont l'activité est plutôt printanière (Rivoal et Cook, 1993).

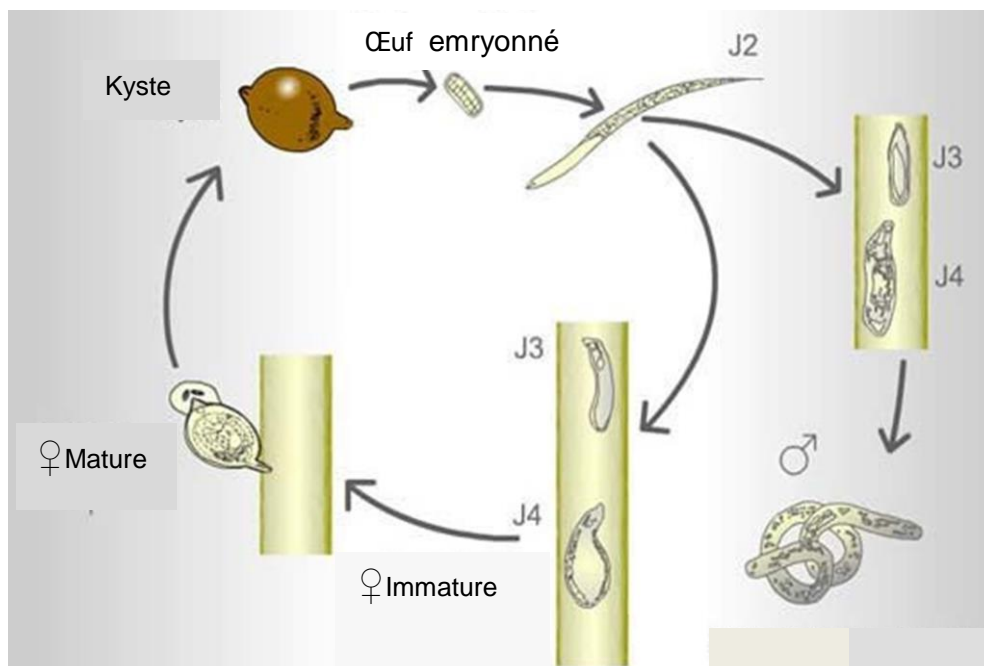
Les populations algériennes d'*H. avenae* appartiennent à l'écotype méridional avec des variations biologiques représentant des adaptations régionales (Mokabli *et al.*, 2001).

#### 1.2.4.– Cycle biologique

Le cycle biologique d'*H. avenae* présente une seule génération par saison de culture et ce quelque soit la région géographique (Griffin, 1988; Rivoal et Cook, 1993 et Rivoal et Bourdon, 2005). Il existe cinq stades larvaires séparés par quatre mues, la première a lieu à l'intérieur de l'œuf d'où émergent les larves migratrices du second stade (L2). Cette éclosion est déterminée par la température (Rivoal et Cook, 1993).

Les larves (L2) envahissent les céréales au niveau de l'apex des racines puis migrent et se fixent près du cylindre central (Rivoal et Bourdon, 2005). Elles se nourrissent de substances nutritives des tissus conducteurs où ils provoquent la formation de cellules géantes d'alimentation appelées «syncytium» (Griffin, 1988).

Ensuite, ces larves subissent trois mues pour aboutir soit à un mâle filiforme libre soit à une femelle blanche citriforme qui reste fixée à la racine. Ce dimorphisme sexuel accentué est d'ailleurs à l'origine du nom donné au genre *Heterodera* (Rivoal et Bourdon, 2005). Une fois la fécondation obligatoire est effectuée, la paroi de la femelle durcit et brunit puis elle meurt et se transforme en kyste (Griffin, 1988 ; Rivoal et Bourdon, 2005 et Rivoal et Nicol, 2009) (Fig.5).



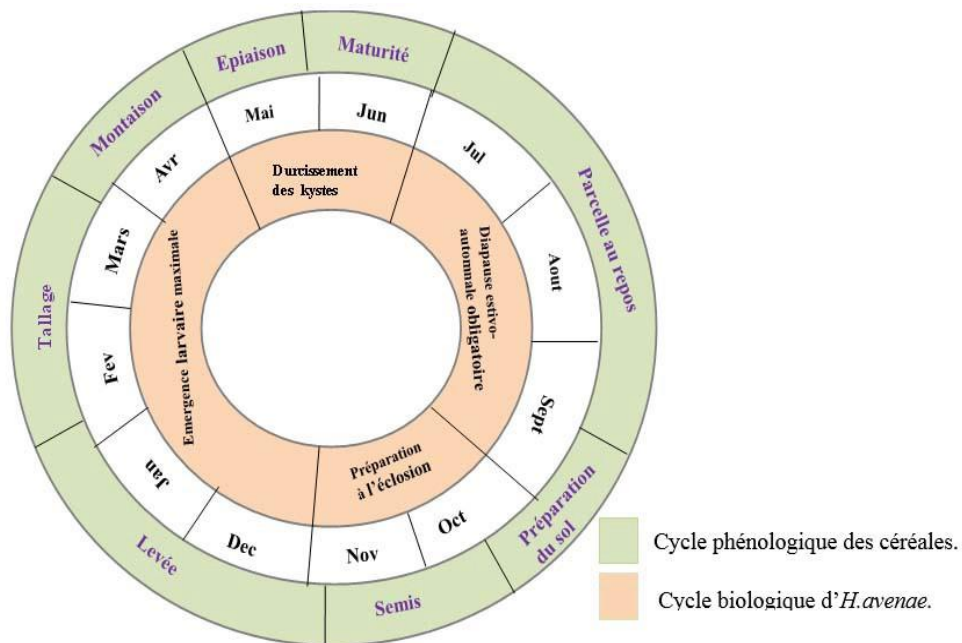
**Fig. 5**– Cycle de vie des nématodes à kyste des céréales illustrant l'invasion des racines par les larves infectieuses (J2) (Mitchinson, 2009)

Ce dernier constitue la principale caractéristique biologique d'*H. avenae*. Il est issu de la chitinisation du tégument de la femelle et constitue ainsi sa forme de survie.

Les kystes renferment plusieurs centaines d'œufs embryonnés, les plus larges peuvent contenir jusqu'à 600 larves complètement développées à l'intérieur des œufs. Ils se détachent de la racine et tombent dans le sol où ils demeurent viables pendant plusieurs années (Smiley et Yan, 2010).

L'émergence des larves est conditionnée par deux principaux facteurs climatiques stricts, à savoir le taux d'humidité et les conditions thermiques (Rivoal et Bourdon, 2005).

Chez les populations algériennes d'*H.avenae*, l'émergence larvaire est hivernale et coïncide avec les stades sensibles (levée) des céréales (fig.6).



**Fig. 6** – Schéma montrant la synchronisation du cycle biologique annuel des populations d'*H. avenae* avec les stades phénologiques des céréales. (Haddadi, 1997).

### 1.2.5. –Modes de déssemination

Les vents constituent le principal facteur de dissémination des kystes, mais les opérations culturales, les outils de travail du sol et l'eau d'irrigation peuvent aussi contribuer à la dissémination de ce parasite (Meagher, 1977).

### 1.2.6. –Symptômes

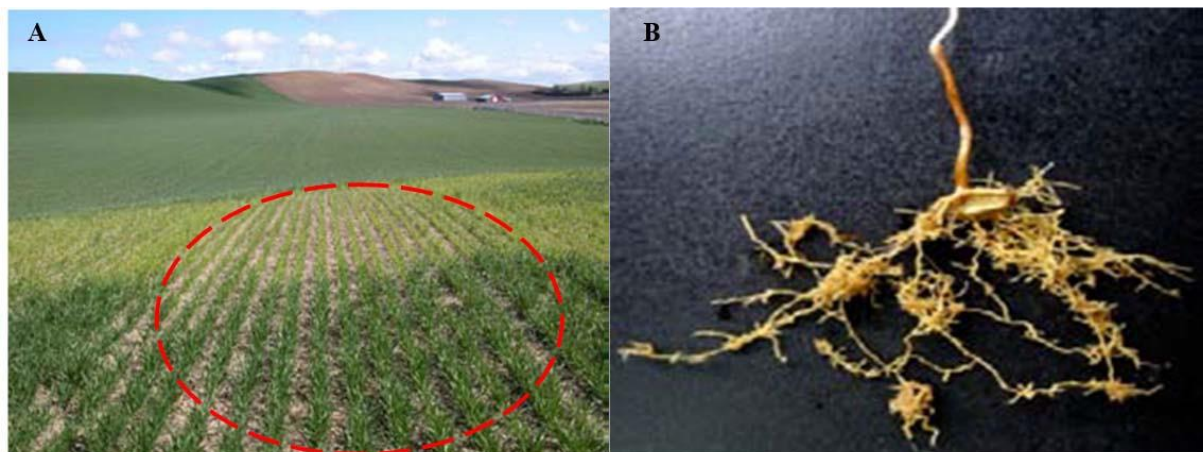
Les symptômes ne sont pas spécifiques et varient selon les espèces de céréales hôtes (Smiley et Yan, 2010).

### 1.2.6.1.–En plein champ

Les symptômes induits par *H. avenae* se traduisent généralement par de larges plages circulaires à végétation très faible (Fig.6 A), constituée de plants chétifs (Rivoal et Cook, 1993 et Nicol et Rivoal, 2009). Les plants attaqués présentent un tallage réduit et deviennent rabougris et nains (Rivoal et Cook, 1993) et les épis formés sont ainsi maigres (Mor *et al.*, 1992).

### 1.2.6.2.–Sur les feuilles

Les symptômes des plants attaqués rappellent ceux d'une grave déficience en azote et en d'autres minéraux (Renčo, 2005). Les feuilles se décolorent puis deviennent jaunes sur l'orge, rouges sur l'avoine et jaunes-rougeâtres sur le blé (Griffin, 1988 ; Rivoal et Cook, 1993).



A : au champ

B : sur le système racinaire

**Fig. 7**–Symptômes causés par les nématodes à kystes des céréales.

(Smiley et Yan, 2010).

### 1.2.6.3.–Sur les racines

Le système racinaire montre un aspect anormal. Chez le blé et l'orge les racines branchent excessivement aux endroits où les femelles ont établi un site d'alimentation dit syncytium, donnant un aspect buissonnant ou noué des racines (fig.7 B).

Les racines envahies ne prolifèrent pas en profondeur et les plants attaqués se fanent facilement (Renčo, 2005).



### 1.2.7. – Dégâts et pertes

Les cultures céréalières sont parasitées par de nombreux agents pathogènes et ravageurs, dont les nématodes parasites. Les pertes liées à ces derniers sont estimées à 85 milliards de dollars à travers le monde (Ravichandra, 2008).

Nicol (2002) rapporte que les pertes de rendements causées par les nématodes à kyste sont de 15 à 20% sur blé au Pakistan, de 40 à 92% sur blé et 17 à 77 % sur orge en Arabie Saoudite et de 23 à 50 % sur blé et 20% sur orge en Australie. Elles peuvent dépasser 90% dans les champs fortement infestés (Rivoal et Cook, 1993 et Riley *et al.*, 2009).

*H. avenae* s'attaque aux céréales et provoque d'importantes pertes économiques dans de nombreuses régions du monde au cours de ces 40 dernières années (Holgado *et al.*, 2006). D'autres espèces de nématodes du genre *Heterodera* peuvent également endommager les cultures de céréales (Tableau 3).

**Tableau 3** – Pertes de rendements liées aux complexe *H. avenae*.

Espèce	Pertes
<i>H. avenae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 20-50% sur blé en Australie (Meagher, 1982)</li> <li>• Plus de 50% sur orge à Chypre (Singh <i>et al.</i>, 2010)</li> <li>• 40-90% sur le blé en Arabie saoudite (Ibrahim <i>et al.</i>, 1999)</li> <li>• 50% de perte sur blé d'hiver aux USA (Smiley <i>et al.</i>, 2005).</li> <li>• 24% au champ à 28 L2/g sol en Syrie (Singh <i>et al.</i>, 2010).</li> <li>• 26-96% en Tunisie (Namouchi-Kachouri <i>et al.</i>, 2009).</li> </ul>
<i>H. filipjevi</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Plus de 40% de pertes au champ sur blé (Hadjihassani <i>et al.</i>, 2010)</li> <li>• 50 % en Anatolie, Turquie (Nicol <i>et al.</i>, 2004).</li> </ul>
<i>H. hordecalis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Orge, ray-gras et blé (Singh <i>et al.</i>, 2013)</li> </ul>
<i>H. latipons</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• baisse de rendement de 55% (Hadjihassasni <i>et al.</i>, 2010)</li> </ul>
<i>H. avenae</i> <i>H. filipjevi</i> <i>H. latipons</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Jusqu'à 89% de pertes sur blé d'hiver (Rivoal et Cook, 1993 et Nicolet <i>et al.</i>, 2004).</li> </ul>

L'intensité des dégâts est déterminée par l'infestation initiale, mais elle peut être modifiée d'une part, par les conditions édaphiques et climatiques (Rivoal et Coock, 1993) lorsque le manque d'eau ou de nutriments devient un facteur limitant pour la croissance optimale des plants (Smiley et Yan, 2010) et par les variétés cultivées d'une autre part (Rivoal et Coock, 1993).

### **1.2.8.–Méthodes de lutte**

La stratégie de gestion des nématodes a pour but de réduire ou de maintenir ses populations en-dessous des seuils économiques nuisibles (Holgado *et al.*, 2006). Différentes méthodes de lutte sont disponibles et visent à baisser les densités des populations de ces parasites dans le sol (Rivoal et Nicol, 2008).

#### **1.2.8.1. – Méthodes chimiques**

Une fois les NKC sont introduits dans un champ, leur éradication est quasiment impossible. Par conséquent, les précautions prises pour réduire leur transmission des champs infestés aux régions non infestées sont d'une importance cruciale (Smiley et Yan, 2010).

L'application de fumigants nématicides avant la mise en rotation d'une culture non hôte peut réduire la densité des nématodes à kyste des céréales pour une culture de blé subséquente et de fournir ainsi une gestion efficace et économique de ces parasites (Nicol, 2002 et Smiley et Yan, 2010). Maqbool (1988) indique que l'utilisation des nématicides pour le contrôle d'*H. avenae* sur le blé entraîne une augmentation de 50 à 75% de rendement au Pakistan.

Bien qu'efficace, la lutte chimique contre *H. avenae* est rarement appliquée dans la pratique en raison du coût élevé des substances nématicides et de leurs conséquences sur l'environnement (Andersson, 1982 et Yan *et al.*, 2010).

#### **1.2.8.2. – Méthodes culturales**

Les pratiques culturales sont les méthodes les plus efficaces pour réduire les nématodes à kyste des céréales.

##### **1.2.8.2.1. –Le désherbage**

La destruction des mauvaises herbes et des résidus de cultures céréalières précédentes est indispensable car celles-ci constituent des hôtes potentiels pouvant maintenir les densités dommageables (Rivoal et Nicol, 2008).

##### **1.2.8.2.2. –La date de semis**

La manipulation de la date de semis peut minimiser l'impact de la période d'éclosion majeure. Il est généralement admis que les céréales semées en automne tolèrent mieux les attaques d'*H. avenae* que celles du printemps (Meagher, 1982). Le semis de blé d'hiver plutôt que le blé de printemps favorise le développement racinaire des plants avant l'émergence massive des larves infectieuses au printemps (Smiley et Yan, 2010).

Ce constat est cependant différent dans les conditions climatiques d'Algérie. En effet, les sorties larvaires se produisant en hiver, synchronisent avec la période de la levée des céréales ce qui constitue indéniablement un préjudice sur ces cultures (Mokabli, 2002).

#### **1.2.8.2.3. – La jachère**

Elle consiste à priver les nématodes de leurs plantes hôtes (graminées) pendant une ou plusieurs années ce qui aboutit à la diminution de la densité de leurs populations (Reddy, 1983).

#### **1.2.8.2.4. – La fertilisation**

Les engrais minéraux sont connus depuis longtemps pour baisser les populations de nématodes phytoparasites. Ils représentent un outil potentiel dans les programmes de gestion des populations de nématodes (Coyne *et al.*, 2004).

Certains amendements azotés organiques et inorganiques ajoutés aux sols pour améliorer sa fertilité et augmenter les rendements des cultures, sont aussi connus pour leur effet nématicide, notamment les engrais minéraux qui libèrent l'azote d'ammoniacal ayant un effet régulateur des populations de nématodes dans le sol (Rodriguez-Kabana, 1986).

L'apport de fertilisants minéraux sous forme de microéléments baisse significativement les populations d'*H. filipjevi* dans le sol et améliore le rendement des céréales (Seifi et Bide, 2013).

La fertilisation du sol à l'engrais composé NPK (Nitrogène Phosphore Potassium) réduit le nombre des kystes d'*H. avenae* sur le système racinaire et augmente le poids sec des plants de blé infestés. Cet effet bénéfique devient plus important lors de l'application combinée de l'urée et du nématicide dit Fénamiphos qui augmente nettement la croissance des plants infestés (Al-Hazmi et Dawabah, 2014).

Les engrais verts de certaines cultures telles que la moutarde ou le colza, sont utilisés comme biofumigants afin de diminuer le nombre de certains nuisibles telluriques des plantes dont les nématodes phytoparasites. Les produits toxiques générés lors de la dégradation des

tissus verts de ces cultures, sont parfois capables de réduire la densité des nématodes dans le sol (Smiley et Yan, 2010).

#### **1.2.8.2.5. –Les rotations**

Les dommages occasionnés aux céréales par les nématodes à kystes sont plus importants lorsque les cultures sensibles sont reconduites annuellement sur la même parcelle (Smiley et Yan, 2010). Les rotations saisonnières avec des cultures non hôtes restent la méthode la plus efficace pour lutter contre ces parasites et réduire leurs populations en dessous d'un seuil dommageable (Hidalgo-Diaz et Kerry, 2008 et Dabbabat *et al.*, 2011).

La pratique pendant deux années successives d'une culture non hôte réduit la multiplication des nématodes et permet d'assainir le sol, d'où l'intérêt d'introduire les ray-grass résistants, qui seraient utilisés en cultures intermédiaires ou principales (Rivoal et Bourdon, 2005).

Une rotation de cultures incluant le maïs, la jachère le blé et l'orge résistante peut réduire considérablement la densité de nématodes.

Cependant, les pertes de rendement peuvent aussi devenir très importantes dans les rotations de 2 années incluant une céréale et une jachère mais aussi dans les rotations de 3 années composées de blé d'hiver, céréales de printemps, et une culture non hôte ou une jachère. (Smiley et Yan, 2010).

#### **2.8.2.6. –Les variétés résistantes**

Les variétés résistantes constituent un élément clé dans la stratégie d'une gestion intégrée et efficace contre les bioagresseurs ainsi que les autres agents pathogènes qui coexistent généralement dans les mêmes sols (Smiley *et al.*, 2009).

Pour des raisons économiques et environnementales, la résistance variétale est actuellement la voie la plus intéressante pour lutter contre les nématodes à kystes des céréales. Cet intérêt a été démontré lors de la protection du blé dur en France avec l'utilisation des orges résistantes qui ont assuré l'assainissement des sols après seulement deux années de culture (Rivoal et Bourdon, 2005).

La différenciation inter et intra spécifique dans ce complexe de nématodes à kystes des céréales pour leur virulence vis-à-vis des Triticeae et leur capacité reproductive intrinsèque est discutée au même titre que l'utilisation des résistances complète et partielle dans les programmes de sélection (Bekal *et al.*, 1998).

Onze gènes de résistance à *H. avenae* sont détectés chez le blé, cinq chez l'orge et trois gènes anonymes chez l'avoine qui confèrent de manière collective, une résistance aux pathotypes connus d'*H.avenae*. Ces gènes sont résumés dans le tableau 4.

Il a été confirmé que le gène *Cre1* du blé cv. Loros est inefficace contre les populations d' *H. avenae* d'Australie, d'Inde et d'Israël, ainsi que contre les populations d' *H. filipjevi*.

**Tableau 4** –Gènes de résistance à *H.avenae* décelés chez les céréales  
(Smiley *et al.*, 2011)

Céréale	Gènes de résistance	Source
Blé	<i>Cre1</i> et <i>Cre8</i>	<i>T.aestivum</i>
	<i>Cre2</i> , <i>Cre5</i> et <i>Cre6</i>	<i>Aegilops ventricosa</i> Tausch.
	<i>Cre3</i> et <i>Cre4</i>	<i>Aegilops tauschii</i> Coss.
	<i>Cre7</i>	<i>Aegilops triuancialis</i> L.
	<i>Cre X</i> et <i>CreY</i>	<i>Aegilops variabilis</i> Eig.
	<i>CreR</i>	Tritcale (xTriticosecale Wittmack)
Orge	<i>Rha 1</i> et <i>Rha2</i>	---
	<i>Rha3</i>	Morocco
	<i>Rha E</i>	Emir
	<i>Rha4</i>	Galleon
Avoine	3 gènes anonymes	<i>Avena sterilis</i> I376

Les travaux de Rivoal et Bourdon (2005) ont conduit à la création de variétés de ray-grass d'Italie présentant un bon niveau de résistance au développement d'*H. avenae*. La stabilité de cette résistance est confirmée après deux cycles successifs de multiplication du matériel végétal sélectionné.

Récemment, la résistance à *H. avenae* portée par *Aegilops ventricosa* est transférée au blé ce qui a permis une nette réduction du nombre de nématodes par plant et a augmenté ainsi la production sans aucun préjudice au blé en absence de l'infestation (Delibes *et al.*, 1993). Cependant, le manque d'informations génomiques a limité les études sur les gènes de résistance portés par *Ae. variabilis* et par conséquent, ses applications génétiques dans l'amélioration de la résistance du blé (De-Lin *et al.*, 2012).

L'utilisation des cultivars résistants nécessite une identification préalable des différentes espèces nuisibles impliquées dans les dégâts (Mokabli *et al.*, 2001 et Akart *et al.*, 2009).

### **1.2.8.3. – Méthodes biologiques**

Bien que la rotation culturale et l'utilisation des variétés résistantes constituent actuellement les moyens de lutte les plus adoptés contre les nématodes à kyste des céréales, la lutte biologique est une alternative à explorer avec pour candidats les antagonistes naturels de ces nématodes (Mensi *et al.*, 2011).

La lutte biologique consiste à réduire les populations de nématodes grâce à l'action des microorganismes vivants, qui se produit naturellement ou par la manipulation de l'environnement ou l'introduction d'antagonistes (Stirling, 1991).

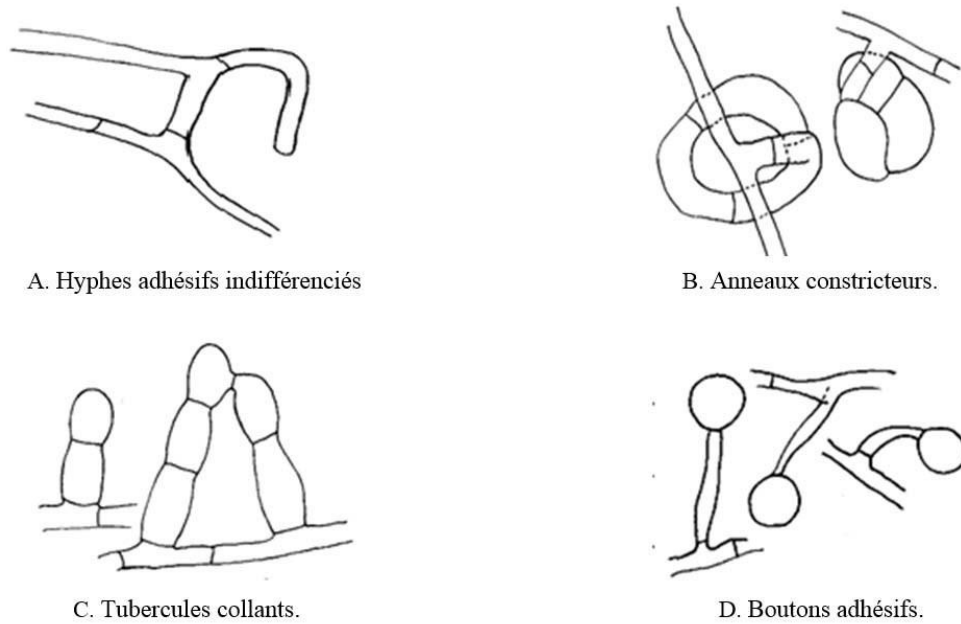
#### **1.2.8.3.1. – Champignons antagonistes des nématodes à kystes des céréales**

Les champignons occupent une place importante dans la régulation des populations de nématodes dans le sol. Certains, ont montré un grand potentiel comme agents de lutte biologique (Dackman et Nordbrin-Hertz, 1985; Kerry, 1988 et Siddiqui et Irshad, 1996). Ces organismes microscopiques peuvent capturer, tuer et digérer les nématodes (Jonsson et Lopez-Llorca, 2001).

Il existe trois groupes de champignons antagonistes (Jonsson et Lopez-Llorca, 2001).

##### **1.2.8.3.1.1. – Champignons prédateurs**

Les champignons nématophages de piégeage capturent les nématodes mobiles grâce à leurs différents organes spécialisés dits pièges (Fig.8). Leur structure morphologique est variable selon les espèces fongiques. Certains forment des filets ou des boutons adhésifs d'autres possèdent des branches adhésives les anneaux constricteurs (Ahren et Tunlid, 2003).



**Fig. 8**– Types de pièges des hyphomycètes

(Kerry et Crump, 1980)

#### 1.2.8.3.1.2.– Champignons parasites

Ils infectent les nématodes en utilisant des spores adhésives (Jonsson et Lopez-Llorca, 2001) et des zoospores qui s'attachent à la surface de la femelle blanche (Casas-Flores et Herrera, 2007). Ils se nourrissent de son contenu et le remplacent éventuellement par leurs spores de repos l'empêchant ainsi de se transformer en kyste (Kerry et Crump, 1980). Certains champignons parasitent également les œufs et les kystes grâce à leurs hyphes (Jonsson et Lopez-Llorca, 2001) (fig.9).



**Fig. 9**–Kyste d'*Heterodera* sp. parasité par un champignon.

(Dababat *et al.*, 2014)

#### 1.2.8.3.1.2.1. –Endoparasites obligatoires

C'est un groupe de champignons qui ne peuvent pas proliférer dans le sol en absence des nématodes. *Nematophthora gynophila* parasite les femelles d'*H. avenae*, baisse leur reproduction (Kerry *et al.*, 1982b) et empêche la formation des kystes (Kerry et Crump, 1998 et Ciancio *et al.*, 2002).

#### 1.2.8.3.1.2.2. –Endoparasites facultatifs

Ce sont des champignons capables de proliférer dans la rhizosphère même en absence des nématodes hôtes. Leurs filaments pénètrent dans les œufs en perforant la coque puis détruisent les embryons. Ils s'attaquent aussi bien aux œufs du genre *Meloidogyne* qu'à ceux du genre *Heterodera* (Cayrol, 1992).

Près de 150 espèces de champignons colonisent les femelles, les kystes et les œufs de 8 espèces de nématodes à kystes (Kerry, 1988). Ces derniers peuvent être infectés à différents stades de leurs cycles de vie (Dackman et Nordbring-Hertz, 1985).

*Verticillium chlamydosporium* est un hyphomycète qui parasite aussi bien les œufs que les femelles de la rhizosphère et provoque la réduction de leur fécondité (Kerry *et al.*, 1982a ; Cayrol *et al.*, 1982 ; Dackman et Nordbrin-Hertz, 1985 et Kerry et Crump, 1998). Il est considéré comme étant le principal ennemi naturel d'*Heterodera* (Sayre, 1986 et Lopez-Llorca *et al.*, 2002).

*Paecilomyces lilacinus* se caractérise par des filaments qui percent la coque de l'œuf grâce à des enzymes appropriées, pénètrent à l'intérieur et parasitent l'embryon (Lopez-Llorca *et al.*, 2002).

*Fusarium oxysporum* et *Acremonium strictum* sont les principaux parasites des œufs d'*Heterodera schachtii* nématode à kyste de la betterave en Californie (Dackman et Nordbring-Hertz, 1985).

Chez les nématodes à kyste du soja, *Heterodera glycines*, 61 espèces de champignons sont isolées et identifiées à partir de différents stades du nématode, avec une dominance de l'espèce *Fusarium solani* chez les kystes, *Fusarium oxysporum* chez les femelles blanches et *Paecilomyces lilacinus* chez les œufs (Chen et Chen, 2002).

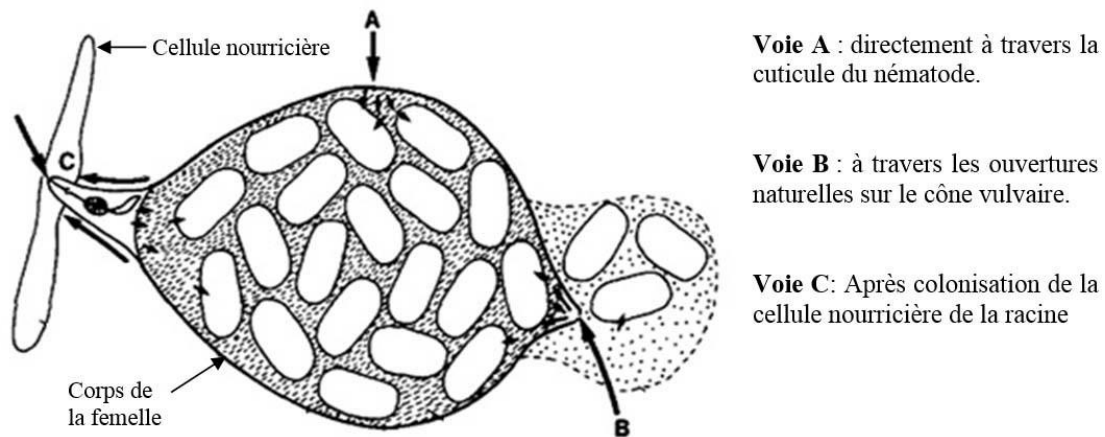
Mensi *et al.* (2011) ont isolé l'espèce *Pochonia chlamydosporia* et 11 autres genres fongiques tels que, *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Periconia* sp., *Rhizopus* sp. et *Alternaria* sp., qui sont associés à *H. avenae* dans différentes régions de la Tunisie.



### 1.2.8.3.1.2.3. –Modes de pénétration des champignons

Avant l'infection, les champignons adhèrent à la paroi du corps de la femelle puis pénètrent à travers cette barrière protectrice pour atteindre les œufs (Jansson et Lopez-Llorca, 2001).

Leur pénétration se fait selon trois voies possibles (Fig.10).



**Fig. 10** – Sites possibles d'infection d'un nématode à kyste par les champignons du sol.

(Kerry, 1988).

Les champignons parasites présentent un grand potentiel de lutte biologique (Stirling, 1991), mais elle reste insuffisante pour maintenir à elle seule, les populations de nématodes en dessous de leur seuil économique et doit être associée à d'autres méthodes de gestion (Hidalgo-diaz et Kerry, 2008).

### 2.8.4. –Lutte intégrée

Comme aucun moyen de lutte ne permet un contrôle adéquat et durable des populations dans le sol lorsqu'il est appliqué seul, la combinaison de plusieurs méthodes à la fois devient impérative. Les nombreux exemples dans le monde ont montré que les populations de nématodes à kystes des céréales peuvent être réduites efficacement par une approche intégrée incluant l'ensemble des moyens de lutte précités (Dababat *et al.*, 2011).

De telles méthodes permettraient de réduire ou de maintenir les densités de nématodes dans le sol en dessous des seuils de nuisibilité (Holgado *et al.*, 2006 et Hidalgo-diaz et Kerry, 2008).

# *Chapitre II*

## Chapitre II – Etude de l'état d'infestation de quelques parcelles par les nématodes à kystes des céréales

### 2.1. – Zones d'échantillonnage

L'enquête menée sur les nématodes à kystes des céréales est effectuée sur une durée de 5 années (2007-2012). Elle a concerné 40 parcelles céréalières incluant des champs de blé, d'orge et d'avoine et réparties sur 22 wilayas (Tableau 5).

Le seul critère du choix de la parcelle est la présence des céréales soit comme culture en cours ou comme précédent cultural.

Les prospections ont concerné plusieurs régions à vocation céréalière mais nous n'avons pas exclu les petites parcelles car il s'agit principalement de mettre en évidence ou non les nématodes à kystes des céréales du genre *Heterodera*.

### 2.2. – Analyse nématologique

L'analyse nématologique constitue un moyen de diagnostic fiable car elle permet une estimation quantitative des populations de nématodes phytoparasites dans le sol.

Vu la distributions hétérogène des nématodes dans un champs donné, les prélèvements de sol doivent s'effectuer dans plusieurs endroits de la parcelle (Coyne *et al.*, 2010). Cette analyse passe par trois étapes :

#### 2.2.1. – Echantillonnage du sol

##### 2.2.1.1. – Matériel

- Tarière ou binette
- Sacs en papier ou en plastique
- Etiquettes

##### 2.2.1.2. – Méthode

L'échantillonnage est effectué pendant la période estivale correspondant à la diapause du parasite. Elle débute dès la formation des kystes et leur chute dans le sol et s'étend jusqu'à l'émergence des larves en automne ou en hiver selon l'écotype.

Les prélèvements de sol sont effectués à une profondeur comprise entre 10 et 30 cm (Hermann, 2006) en utilisant la tarière ou la binette.

**Tableau 5** – Parcelles céréalières prospectées et échantillonnées.

Wilaya et géographie *	Localité / Parcelle	Etage climatique*	Poids du sol (kg)
Blida 36° 28' 00" N ; 2° 49' 00" E	Boufarik	Subhumide	0.5
Boumerdes 36° 46' 00" N ; 3° 29' 38" E	Isser	Subhumide	2.9
Constantine 36° 22' 02" N 6° ; 37' 08" E	Ouled Rahmoun	Semi-aride	1.42
	ITGC Khroub	Semi-aride	0.4
Tizi Ouzou 36°43' N ; 4° 03' 00" E	Draa Benkheda	Subhumide	0.8
	Draa Elmizene	Subhumide	1
	Tadmaït	Subhumide	0.6
Sétif 36° 9' 29"N ; 5° 26' 34" E	Ain roua	Semi-aride	0.3
	Bouandas	Semi-aride	3.2
Tipaza 36° 35' 31" N ; 2° 26' 00" E	Ferme Brahimi	Subhumide	2.6
	P1	Subhumide	2.5
	P2	Subhumide	1.3
	P3	Subhumide	1.1
Bouira 36° 22' 48" N ; 3° 53' 5" E	Ain Bessem	Subhumide	1.7
	Bachloul	Subhumide	2.2
	El Asnem	Subhumide	1
	Mechedallah	Subhumide	1.8
	Route Tikejda	Subhumide	2.1
Alger 36°42' 30" N ; 3° 3 34" E	ITGCOued Smar P1	Subhumide	1.8
	ITGCOued Smar P2	Subhumide	2.6
Tlemcen 34° 52' 42" N ; 1° 18' 54 O	Ain Khedra	Subhumide	1.9
Mila 36° 27' 0" N ; 6° 16' 0" E	Tleghma	Subhumide	0.9
Batna 35° 33' N ; 6° 10"E	Timgad	Semi-aride	1.6
Guelma 36° 28' 58"N ; 7° 26' 2" E	Ain Makhlouf	Semi-aride	3.4
	Tafra	Semi-aride	3.5
	Tamlouka	Semi-aride	1.9
Ain Defla 36°15' 55"N ; 1°58 '13" E	Djendel	Semi-aride	2.1
Sidi Bel Abes 35° 11' 38" N ; 0° 38' 29" O	Lamtar	Sub-humide	1.9
Mostaganem 35° 5' 59" N ; 0° 5' 25" O	Mostaghanem	Sub-humide	2.2
AinTemouchent 35° 4' 0" N ; 1° 08' 28" O	El Maleh	Sub-humide	3.7
Oran 35°42' 27" N ; 0° 38' 57" O	Oued T'lilet	Sub-humide	1.5
Borj Bouariridj 36°04' 00" N ; 4°46' 00" E	Mansoura	Semi-aride	2.5
Khenchela 35° 25' 55" N ; 7°8' 40" E	Kaïs	Semi-aride	1.6
Souk Ahras 36° 17' 15" E ; 7° 57' 15" E	Ain Dalia	Sub-humide	1.1
OumBouaghi 35°52' 39" N 7°06' 49" E	OumBouaghi	Semi-aride	1.9
Mascara 35° 23' 00" N ; 0° 09' 00"E	El Ghoumri P1	Semi-aride	2.1
	El Ghoumri P2	Semi-aride	1.6

\* : <http://www.unccd.int/Lists/SiteDocumentLibrary/Media>

L'échantillon global représentatif de la parcelle est composé de plusieurs prises élémentaires d'environ 40 g chacune prélevées selon les deux diagonales de la parcelle. Leur nombre dépend de la surface de la parcelle considérée. Il est d'environ 20 prises / ha.

Les échantillons prélevés sont mis dans des sacs en papier ou en plastique (Fig.11) portant la date et le lieu de prélèvement, le précédent cultural et le numéro de la parcelle.

Au laboratoire, les échantillons de sol sont étalés sur le papier pour les sécher à température ambiante. Ils sont ensuite pesés afin de procéder à l'extraction des kystes selon la méthode de Fenwick (1940).



Fig. 11 – Echantillonnage du sol.

### 2.2.2. – Extraction des kystes

Les extractions des kystes sont réalisées au laboratoire de Nématologie et de Mycologie du Centre National de Contrôle et de Certification des semences et des plants (CNCC) d'El Harrach.

#### 2.2.2.1. – Matériel

- Récipient de Fenwick (Fig.12)
- Entonnoirs
- Passoire de 1mm de maille
- Erlenmeyer
- Tamis de 250 um
- Boîtes de pétri
- Papier filtre



Fig. 12 – Récipient de Fenwick

#### 2.2.2.2. – Principe et méthode

Les kystes secs (pleins ou vides) possèdent une densité inférieure à 1.

Ils flottent en surface de l'eau, ce qui facilite leur récupération. C'est la raison pour laquelle il est nécessaire de faire sécher le sol avant l'extraction.

L'extraction des kystes est effectuée selon la méthode de Fenwick dont le principe est basé sur la densité des kystes par rapport à celle de l'eau (Nakachian et Jacquemont, 1971).

Le sol sec est placé dans une passoire de 1mm de maille surmontant le récipient de Fenwick. Un fort jet d'eau est activé sur le sol qui l'entraîne dans le corps du récipient alors que les éléments de grande taille sont retenus par la passoire. Les particules légères et les kystes flottent à la surface de l'eau et débordent à travers la collerette puis ils sont retenus par un tamis de 250  $\mu\text{m}$  (Fig.13).

L'apport de l'eau est maintenu jusqu'à l'éclaircissement de l'eau qui déborde du récipient.



**Fig. 13** – Extraction des kystes à partir du sol.

Le refus du tamis est récupéré à l'aide du jet d'eau d'une pissette sur un papier filtre tapissant l'entonnoir porté par un Erlenmeyer. Ce refus est examiné sous une loupe binoculaire pour la collecte des kystes.

### **2.2.2.3. – Récolte et comptage des kystes**

Les kystes sont récoltés séparément à l'aide d'un pinceau sous une loupe binoculaire ( $G\times 20$ ) et placés dans des boîtes pétri. Le nombre total de kystes pleins et vides est calculé afin d'estimer l'infestation moyenne de la parcelle (Abidou et *al.*, 2005a). Dans notre cas, elle est exprimée en nombre de kystes pleins et vides / kg de sol.

La densité moyenne pour une parcelle est calculée en rapportant le nombre de kystes pleins et vides extraits à partir des échantillons prélevés dans cette parcelle au poids total des échantillons (Mugniery et Zaouchi, 1976).

## **2.3 – Résultats de l'état d'infestation**

### **2.3.1. – Degrés d'infestation**

Les résultats sont détaillés dans le tableau 6. Ils sont exprimés en nombre de kystes / kg de sol.

**Tableau 6** – Etat d'infestation des parcelles prospectées par les nématodes à kyste des céréales.

Wilaya	Localité/ Parcelle	Précédent	Culture en cours	Kystes/kg sol	
Blida	Boufarik	-	céréale	28.72	
Boumerdes	Isser	-	céréale	<b>00</b>	
Constantine	Ouled Rahmoun	-	blé	134	
	ITGC Khroub	P1 P2	orge	blé	<b>111</b>
			Pois-chiche	blé tendre	33.4
Tizi Ouzou	Dra Benkheda	-	Céréale	23.3	
	Draa Elmizene	céréale	céréale	20.3	
	Tadmaït	ail	céréale	03.6	
Sétif	Bouandas	céréale	blé	<b>281</b>	
	Ain Roua	céréale	céréale	26	
	Ain El kebira	Pois-chiche	céréale	28.3	
Tipaza	Ferme Brahimi Belkacem	-	céréale	71.9	
	P1	blé	blé	<b>100.4</b>	
	P2	-	blé	98	
	P3	blé	jachère	41	
Bouira	Ain Bessem	-	céréale	65.7	
	Bachloul	-	orge	68.4	
	El Esnem	céréale	blé	145	
	Mechedallah	légumineuse	orge	17.7	
	Route Tikejda	-	orge	31.4	
Alger	ITGC Oued Smar P1	blé	jachère	24.5	
	ITGC Oued Smar P2	trèfle	Pois-chiche	14.6	
Tlemcen	Ain Khedra	orge	blé	<b>105.5</b>	
Mila	Tleghma	-	orge	99	
Batna	Timgad	-	céréale	14.2	
Guelma	Ain Makhlouf	jachère	blé	29.3	
	Tafra	céréale	orge	43.7	
	Tamlouka	-	blé	267	
Ain Defla	Djendel	céréale	blé	69.4	
Sidi Bel Abes	Lamtar P1	-	orge	04.6	
	Lamtar P2	-	avoine	<b>00</b>	
Mostaganem	Mostaghanem	-	blé	25.4	
AinTemouchent	Elmaleh	-	céréale	<b>00</b>	
Oran	Oued T'lilet	Pois-chiche	blé	15.5	
Borj Bouariridj	Mansoura	-	blé	71.2	
Khenchela	Kaïs	avoine	orge	59	
Souk Ahras	Ain Dalia	céréale	céréale	88.8	
OumBouaghi	OumBouaghi	-	céréale	06.3	
Mascara	El Ghomri P1	-	orge	21.7	
	El Ghomri P2	-	avoine	18.8	

L'analyse nématologique des échantillons de sol montre que 37 parcelles céréalières sur 40 prospectées sont infestées par les nématodes à kyste *Heterodera* spp. des céréales, ce qui représente un taux de 92,5 % parcelles infestées.

Seules trois parcelles sont exemptes de kystes. Il s'agit des parcelles situées dans les localités des Isser (Boumerdes), P2 de Lamtar (Sidi Bel Abbès) et El Maleh (Ain

Les degrés d'infestation sont très variables selon les localités et selon les parcelles de la même localité. Ils passent de 3,6 kystes /kg de sol dans la parcelle de Tadmaït, à 281 kystes / kg de sol qui est le degré le plus élevé noté dans la localité de Bououandas à la wilaya de Sétif.

Les degrés d'infestation sont notés dans les champs cultivés en blé ou en orge avec une céréale comme précédent cultural. C'est le cas des parcelles d'Ouled Rahmoun, ITGC Khroub, Bououandas, Tipaza P1 et Tamlouka où les nombres totaux dépassent 100 kystes /kg sol.

Les parcelles respectives de Drâa El Mizene, Tadmaït, P1 de Lamtar, Oum Bouaghi, Oued Tlilet et P1 d'El Ghomri ont exprimé des degrés d'infestation inférieurs à 10 kystes / kg sol. Dans la plupart des parcelles restantes, les degrés d'infestation varient entre 10 et 99 kystes / kg de sol (Fig.14).

Les degrés d'infestation les plus élevés sont notés dans les zones à vocation céréalière par excellence, situées dans les hauts plateaux (Sétif et Guelma) où ils avoisinent 300 kystes / kg de sol et dépassent 100 kystes / kg de sol à Constantine et à Tlemcen.

D'autres parcelles ont exprimé des degrés d'infestation assez élevés (plus de 50 kystes) comme Tleghma (Mila), (P2 et Brahimi Belkacem (Tipaza), Mansoura (Borj Bouariridj), Djendel (Ain Defla), Bechloul, Ain Bessam (Bouira) et Kaïs (Khenchela).



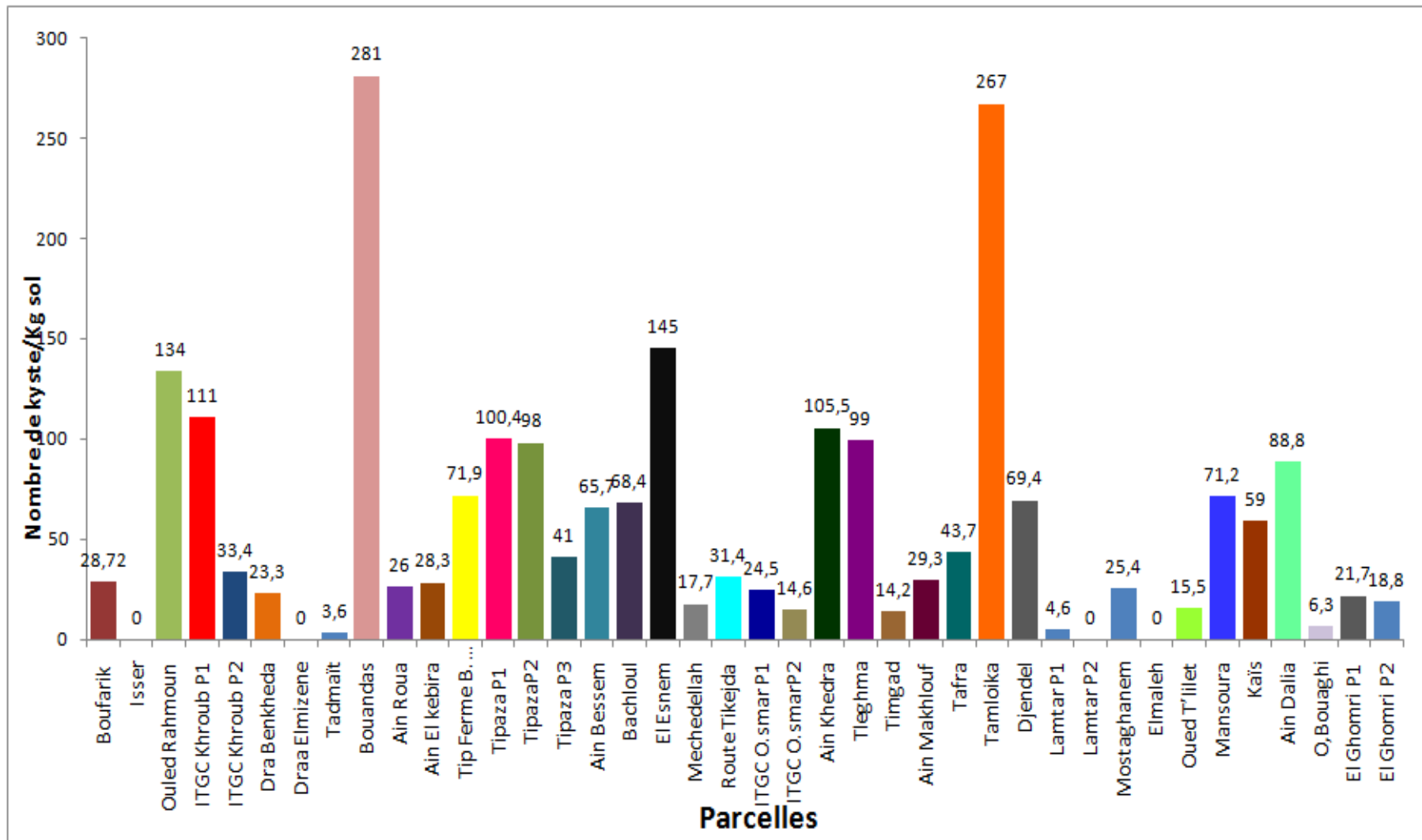
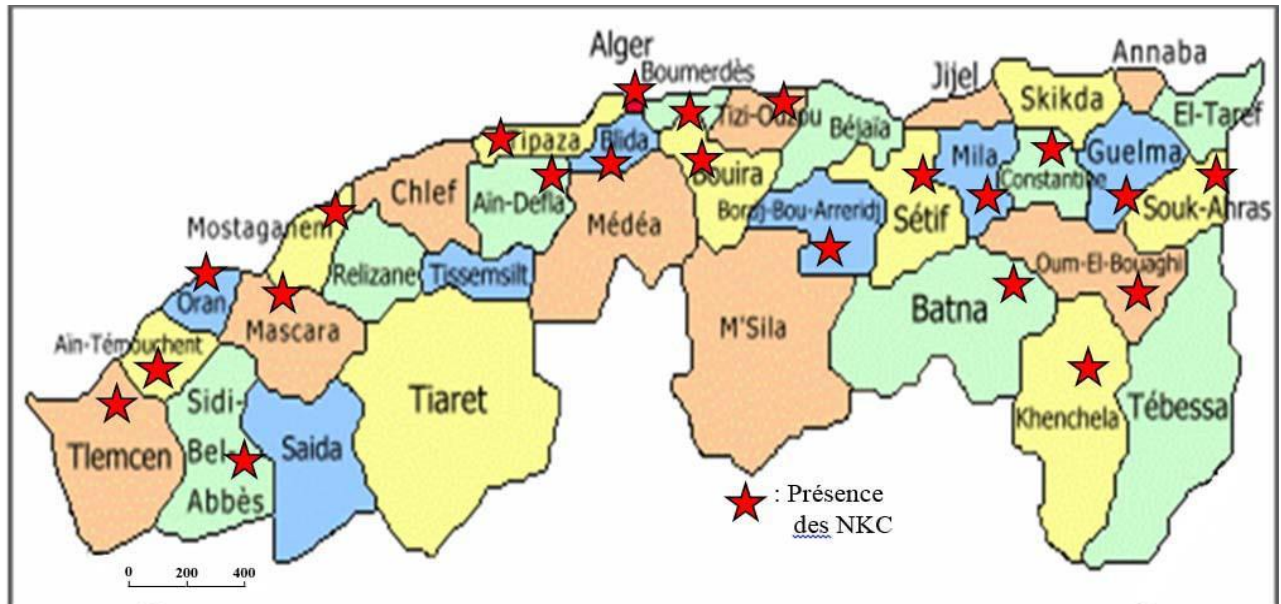


Fig.14- Degrés d'infestation enregistrés dans les parcelles prospectées.

### 2.3.2. – Répartition géographique

Les résultats de cette enquête nous ont permis de dresser une carte de distribution géographique des nématodes à kyste dans les localités investiguées (Fig.15).



NKC : Nématodes à kystes des céréales

**Fig.15** – Répartition géographique des nématodes à kyste des céréales dans les localités prospectées. (Original)

### 2.4. – Discussion

Nos enquêtes ont montré que les nématodes à kystes appartenant au groupe *H. avenae*, sont présents dans la quasi-totalité des parcelles céréalières prospectées notamment celles des régions à haut potentiel de production de céréales de l’Algérie.

Cette étude, bien que suggestive en raison de la procédure d’échantillonnage non systématique lié aux circonstances des prélèvements (méthode et nombre d’échantillons) et des pertes lors des extractions, sous-estime les niveaux d’infestation des parcelles prospectées.

Si l’on considère le nombre d’œufs (plus que 600) contenus dans un kyste (Siddiqui, 2000), les degrés d’infestation notés dans la plupart des parcelles peuvent être qualifiés d’élevés et peuvent avoir une incidence sur les rendements.

En effet, Smiley et Yan (2010) rapportent que la baisse des rendements de blé peut se produire lorsque le nombre d'œufs et de larves d'*H. avenae* contenus dans les kystes, plus les larves déjà présentes dans le sol dépasse cinq nématodes par gramme de sol.

Ces fortes infestations seraient liées à un ensemble de facteurs tels que la monoculture (céréale / céréale) pratiquée pendant plusieurs années consécutives, l'absence totale de la jachère et les rotations basées essentiellement sur les céréales (blé/orge/avoine). En effet, la culture répétée des céréales sur la même parcelle contribue à la pullulation des populations des nématodes à kystes (Sharma *et al.*, 2007 et Renčo et Cereukoua, 2008).

La fluctuation des degrés d'infestation entre les parcelles de la même localité ou dans la même parcelle, affirme que la distribution de ces parasites dans le sol est hétérogène tant sur le plan horizontal qu'en profondeur.

Les faibles degrés enregistrés à Tadmait, Mechedellah, Oued Smar P1, Oued Tlilet (Oran), Timgad (Batna) et El Ghoumri P2 (Mascara), seraient probablement dus au précédent cultural qui est soit une jachère soit des plantes non hôtes pour ces nématodes qui baissent sensiblement les effectifs des populations dans le sol (Brown, 1984 ; Griffin, 1988 ; Bourdon et Rivoal, 2005 et Singh *et al.*, 2009).

Cependant, ce constat ne s'applique pas à la parcelle d'Ain Roua où la densité d'*Heterodera* est faible malgré que la monoculture soit couramment adoptée.

L'absence des kystes dans certains échantillons ne signifie pas nécessairement que les parcelles sont exemptes de ces parasites. Divers facteurs peuvent être à l'origine de cette absence, notamment :

- L'introduction récente de la céréaliculture dans la parcelle;
- L'échantillonnage non conforme dû à un prélèvement superficiel du sol ou à la périphérie de la parcelle quand celle-ci est inaccessible, au nombre insuffisant de prises élémentaires, etc.;
- La nature du sol : Les faibles densités enregistrées à Batna et à Tadmait pourraient s'expliquer par la qualité argileuse de leurs sols. En effet, la nature du sol exerce une influence considérable sur les effectifs de nématodes dans le sol (Trigiano *et al.*, 2004). A cet effet, Sikora (1987) rapporte que les attaques sont plus sévères dans les sols légers sableux que dans les sols lourds.

Avendaño *et al.* (2004) indiquent qu'il existe une relation significative entre la variabilité spatiale de la texture du sol et la variabilité de la densité des populations de nématodes à kyste de soja, ce qui pourrait donc délimiter les zones de gestion de ces nématodes.

- Qualité de l'hôte : Certaines cultures limitent le développement des nématodes à kyste des céréales. C'est le cas des avoines considérées comme un mauvais hôte pour *H. avenae* dans les pays méditerranéens, contrairement à certains pays du Nord de l'Europe où elles sont considérées comme un hôte préférentiel (Nicol, 2002 et Ireholm, 1994). Ces cultures sont probablement à l'origine des faibles densités d'*Heterodera* spp. enregistrés dans les localités d'Ain Roua (Sétif), Ain Makhoulf (Guelma), El Maleh (Ain Temouchent) et P1 à Lamtar.
- Système de culture (type de rotation) : Les parcelles où la pratique de la rotation céréale/légumineuse (notamment le pois-chiche), présentent de faibles densités, comme dans les parcelles P2 ITGC Khroub, Ain Kebira (Sétif), Mechedelah (Bouira) et Oued T'lilet (Oran). En effet, le pois chiche, plante non hôte pour les nématodes à kyste des céréales est introduit dans le système de culture céréalières comme culture de coupure pour réduire les densités des nématodes à kyste en dessous des niveaux dommageables et ce pendant un an ou plus dans le cas de graves infestations (Parker *et al.*, 2011).

Selon Haddadi (1997), l'introduction de la culture de pois-chiche pendant une année exerce un effet dépressif sur les nématodes à kystes et permet une réduction moyenne annuelle de 34.6% des populations d'*Heterodera avenae*.

Le manque de données concernant l'historique des parcelles et le précédent cultural dans certaines autres, complique d'avantage l'interprétation objective des résultats.

En tenant compte du nombre moyen de larves contenues dans un seul kyste, nous pouvons estimer le potentiel infectieux susceptible d'exister dans le sol qui pourrait s'avérer une vraie menace aux cultures céréalières subséquentes, notamment si aucune mesure de lutte n'est entreprise pour une bonne gestion de ces nématodes dans le temps et dans l'espace.

# *Chapitre III*

## Chapitre III– Caractérisation de quelques populations de nématodes à kyste des céréales.

L'étude morpho biométrique des nématodes est d'un grand intérêt dans l'identification préliminaire des espèces de nématodes à kyste (Baldwin et Mundo-Ocampo, 1991). Elle concerne à la fois les kystes et les larves infestantes du second stade.

### 3.1. – Caractérisation morphobiométrique

#### 3.1.1. – Morphobiométrie des kystes

##### 3.1.1.1. – Matériel

##### 3.1.1.1.1. – Matériel biologique

Kystes de 10 populations d'*Heterodera* spp. d'origine géographique diverse

##### 3.1.1.1.2. – Matériel de laboratoire

- Microscope optique (Zeiss) doté d'un oculaire micromètre gradué.
- Pinceau et épingles

##### 3.1.1.2. – Méthode

Vingt kystes de chaque population sont soigneusement lavés à l'eau distillée afin de les débarrasser des débris de sol. Chaque kyste est placé dans une goutte d'eau sur une lame puis observé au microscope optique (GrX40).

Les mensurations effectuées concernent les paramètres :

- Longueur du kyste
- Largeur du kyste (Fig.16).

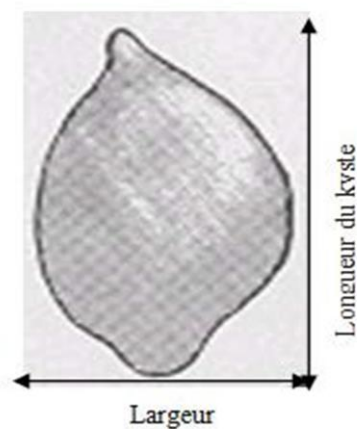


Fig.16 – Mensurations des kystes d'*Heterodera* sp.

### 3.1.1.2.1. –Analyse statistique des données

Les valeurs des mensurations exprimées en micromètre sont soumises à un traitement statistique utilisant le test ANOVA.

### 3.1.2. –Etude morphométrique du cône vulvaire

La connaissance de la morphologie du cône vulvaire est une étape nécessaire pour la confirmation de l'identité de l'espèce (Handoo, 2002).

#### 3.1.2.1.– Matériel

##### 3.1.2.1.1. –Matériel biologique

- Kystes de 10 populations d'*Heterodera*
- Larves des populations de Bouira, Tipaza et Ouled Rahmoun

##### 3.1.2.1.2. –Matériel de laboratoire

- Lames et lamelles
- Verres de montre
- Bistouri et aiguilles
- Eau oxygénée 90 volumes
- Microscope optique (Zeiss)
- Essence de girofle
- Alcool à 70°, 95° et 100°
- Loupe binoculaire
- Liquide de Faure

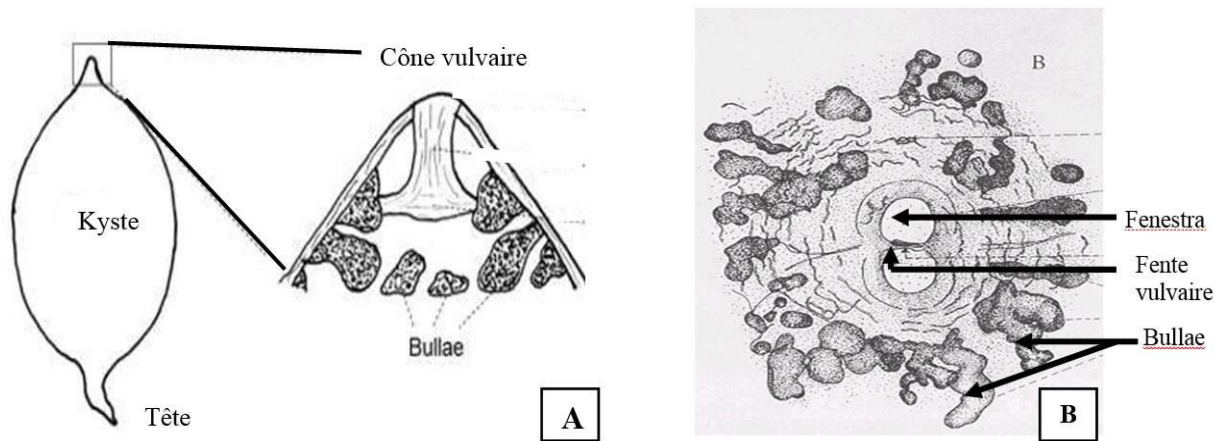
#### 3.1.2.2. – Méthode

Nous avons suivi la méthode décrite par Hooper (1970).

Les kystes sont trempés dans l'eau 24 heures avant la dissection puis sont nettoyés de l'extérieur à l'aide d'un pinceau. Chaque kyste est mis sur une lame placée sous loupe binoculaire puis une coupe transversale est effectuée à l'aide d'un bistouri fin. Seule la partie postérieure du kyste correspondant au cône vulvaire est retenue (Fig.17 A).

Le cône obtenu est soigneusement vidé des œufs puis nettoyé à l'eau distillée sans endommager les structures associées à la vulve. Il est ensuite placé dans de l'eau oxygénée pendant 5 à 10 minutes, selon l'épaisseur de la paroi du kyste et sa pigmentation ce qui permettra d'éclaircir les structures périnéales. Laver le cône à l'eau distillée puis le plonger dans des bains successifs d'alcool de 70°, 90° et 100° respectivement pendant 5 mn chacun. Le passer dans l'essence de girofle. Le cône est monté dans une goutte de baume de Canada ou de gelée de glycérine, le sommet vers le haut (fig.17A).

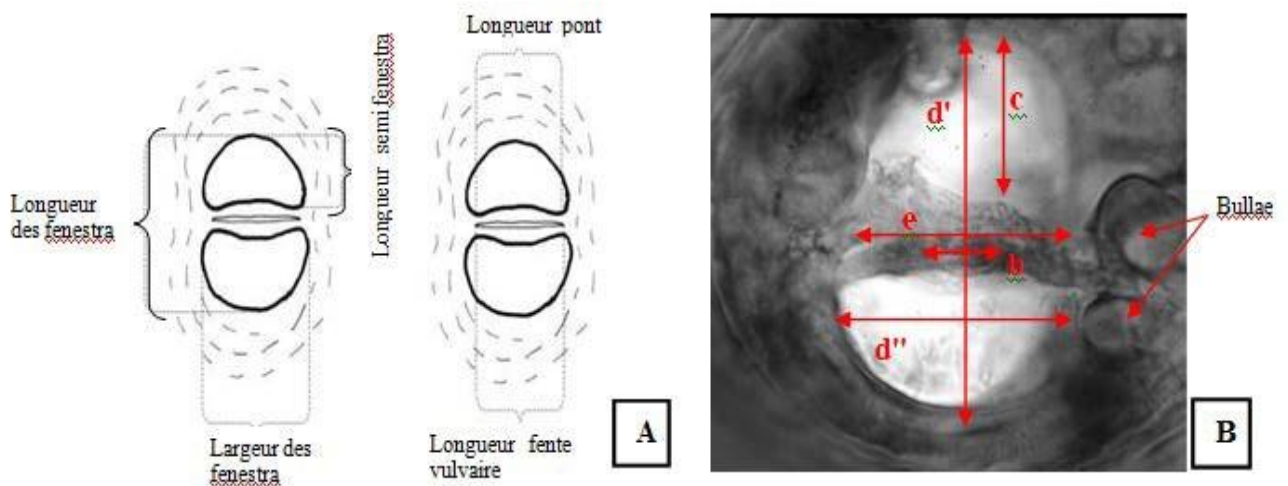
Des cals en verre brisé de lamelle, sont déposés tout autour de la goutte afin d'éviter l'écrasement du cône. La préparation est ensuite recouverte d'une lamelle puis observée au microscopique photonique aux grossissements X40 puis X100 afin d'illustrer l'anatomie du cône vulvaire (Fig. 17 B).



**Fig.17** – Coupede la partie périnéale du kyste (A) et anatomie du cône vulvaire (B) (EPPO, 2011)

Les critères morpho métriques du cône vulvaire (fig.18AetB), incluent :

- a) Bullae (densité si présent)
- b) Fente vulvaire : longueur
- c) Semi-fenestra : longueur
- d) Fenestra : d') longueur ; d'') largeur
- e) Pont vulvaire : largeur si présent
- f) Sou-pont: longueur et largeur si présent



(A : EPPO, 2011 ; B : Mitchinson , 2009)

**Fig. 18** – Principaux paramètres du cône vulvaire utilisés pour l'identification des espèces d'*Heterodera*.



Trois populations de kystes d'*Heterodera* (Ouled Rahmoun, Tipaza et Bouira) sur les 10 étudiées sont concernées par l'étude morphométrique du cône vulvaire. Elle est effectuée à IPP, CNR de Bari (Italie) en collaboration avec A.Troccoli.

Les sept populations restantes à savoir: Mostaghanem, AinKhedra, Tleghma, Djendel, Elghomri, Bouandas et Tamlouka n'ont pas subi de mensurations biométriques et sont identifiées uniquement sur la base de la morphologie du cône vulvaire effectuées au laboratoire de nématologie et de mycologie du CNCC d'Alger.

### **3.1.3. –Morphométrie des larves du second stade**

Cette étude est un complément à la morphométrie des kystes et du cône vulvaire. Elle est également réalisée au CNR de Bari et a concerné les trois populations précitées précédemment. Les mensurations sont effectuées sur 5 larves L2 uniquement de chaque population en raison de leur faible nombre obtenu lors du test d'éclosion.

#### **3.1.3.1. – Matériel**

##### **3.1.3.1.1. – Matériel biologique**

L2 de Bouira, Tipaza et Ouled Rahmoun

##### **3.1.3.1.2. – Matériel de laboratoire**

- Lames porte-objet
- Verre de montre
- Gélose nutritive
- Scalpel
- Microscope photonique (*Motic*) doté d'un logiciel de mensuration

#### **3.1.3.2. – Méthode**

Les kystes pleins de chacune des trois populations sont mis individuellement dans des tubes à hémolyse contenant de l'eau de robinet. Ils sont placés au réfrigérateur (à + 6°C) afin de déclencher l'éclosion des kystes et l'émergence des larves (L2).

Néanmoins, le nombre de ces dernières était insuffisant pour une identification concluante et nous nous sommes contentés d'effectuer les mensurations sur 4 larves par population.

Sous une loupe binoculaire, les larves de chaque population sont déversées dans un verre de montre. Elles sont pêchées grâce à un cil puis déposées sur un fragment de gélose nutritive placé sur une lame porte-objet. La préparation est observée au microscope photonique (*Motic*) aux Grx40 puis x100.

Quatre principaux paramètres sont concernés par les mensurations (Fig.19)

- Longueur du corps
- Longueur de la queue de la queue
- Longueur du stylet
- Longueur de la partie hyaline

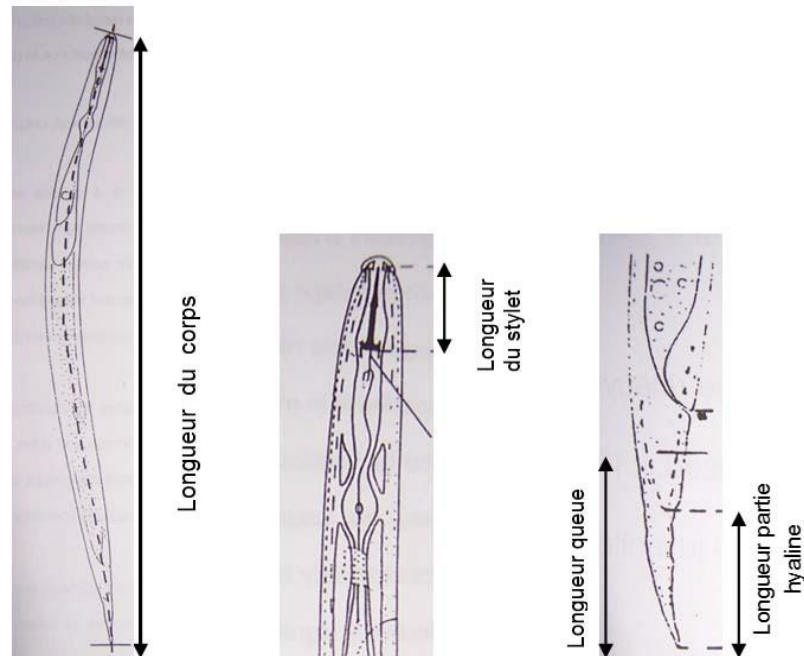


Fig.19–Paramètres mesurés chez les larves du second stade

### 3.2. –Caractérisation moléculaire

La caractérisation moléculaire des populations d' *Heterodera* spp. permet de détecter la variabilité génétique pouvant exister entre les différentes populations ou au sein d'une même population. C'est aussi un outil de caractérisation fiable et rapide utilisé pour confirmer l'identification basée sur les caractéristiques morphométriques. Les techniques couramment utilisées sont la PCR-RFLP.

#### 3.2.1. – Populations d'*Heterodera*

Trois populations sont concernées par cette caractérisation : Bouira, Tipaza et Ouled Rahmoun.

#### 3.2.2. –Extraction de l'ADN génomique

L'ADN génomique est extrait à partir de quinze individus (L2) d'*Heterodera* sp. provenant du même kyste, comme décrit par De Lucaet al.(2004). Pour réaliser l'analyse moléculaire, les échantillons sont maintenus dans une solution de NaCl à 1M.

Chaque individu (L2) est prélevé à l'aide d'une pipette dans une goutte de solution de lyse placée sur une lame, puis fragmenté mécaniquement grâce à une aiguille stérilisée. Cette fragmentation induit la lyse du nématode et la libération de l'ADN.

Cet ADN est dénaturé en le plaçant dans un tube Eppendorf contenant 0.5 ml d'une solution de lyse puis il est incubé à 60 °C pendant 60 mn puis à 95 °C pendant 5 mn.

La composition de la solution de lyse est présentée dans l'annexe 1.

### 3.2.3. –Amplification de la PCR et séquençage

L'ADN brut isolé de chaque nématode (L2) est directement amplifié par la PCR en lui ajoutant 100µl d'une solution PCR (annexe 1) à basse température (dans un bain de glace) afin de ralentir les réactions d'hybridation et d'élongation non spécifiques. Le mélange est ensuite exposé à une série de températures variables dans un thermocycleur selon conditions cycliques suivantes:

- Une dénaturation initiale à 94°C pendant 5min, suivie de 35 cycles de dénaturation à 94°C pendant 50s ;
- Une hybridation à 55°C pendant 50s
- Une extension à 72 °C pendant 1min
- Une étape finale à 72 °C pendant 7min (De Luca *et al.*, 2004).

Les régions ITS1-5.8S-ITS2 sont amplifiées en utilisant l'amorce sens 18S-Ext et l'amorce inverse 26S-Ext. L'expansion des segments D2-D3 de l'ADNr 28S est amplifiée en utilisant les amorces de la D2A et de la D3B et celles du 18 SnF et du 18 SnR (Tableau 7).

**Tableau 7**–Amorces utilisées pour l'amplification des régions de l'ADN

Région amplifiée	Amorce utilisée	Séquence (5' → 3')	Auteurs
ITS1-5.8S-ITS2	18S-Ext	(5'-TGATTACGTCCCTGCCTTT-3')	(Vrain <i>et al.</i> , 1992)
	26S-Ext	(5'-TTTCACTCGCCGTTACTAAGG-3')	(Vrain <i>et al.</i> , 1992)
D2-D3 de l'ARN 28S	D2A	(5'-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG-3')	(Castillo <i>et al.</i> , 2003)
	D3B	(5'-TCGGAAGG AACCAGCTACTA-3')	(Castillo <i>et al.</i> , 2003)
	18SnF	(5'-TGGATAACTGTGGTAATTCTAGAGC-3')	(Vovlas <i>et al.</i> , 2011)
	18 SnR	(5'-TTACGACTTTTGCCCGGTTTC-3')	(Vovlas <i>et al.</i> , 2011)

### **3.2.4. – Visualisation des fragments d'ADN par électrophorèse**

Les produits d'amplification sont visualisés par électrophorèse en prélevant 10 µl du produit PCR qui sont déposés et laissés migrer sur le gel d'agarose- bromure d'éthidium à 1% préalablement préparé (cf. annexe 2). L'ADN est repéré par son fluorescence aux rayons ultraviolets une fois en contact avec le bromure d'éthidium et sa taille est déterminée par comparaison avec l'échelle de marqueur de poids moléculaire de 100 M (Fermentas, St. Leon-Rot, Allemagne) après électrophorèse sur un gel d'agarose à 1%.

Les produits de PCR des régions D2-D3 et ITS de chaque population sont purifiés pour le séquençage en utilisant le protocole prescrit par le fabricant sur le kit (High Pure elution kit PCR, Roche, Allemagne). Les fragments d'ADN purifiés sont clonés et séquencés dans les deux directions.

## **3.3. – Résultats**

### **3.3.1. – Résultats de la caractérisation morphométrique**

#### **3.3.1.1. – Description morphologique des kystes**

La morphologie des kystes récoltés n'est pas nécessairement variable entre les populations mais elle peut être différente au sein de la même population.

Les kystes sont généralement citrifformes et ce quel que soit l'origine géographique de la population étudiée. (Figure 20A, B, C, D, E, F, G, H, I, J).

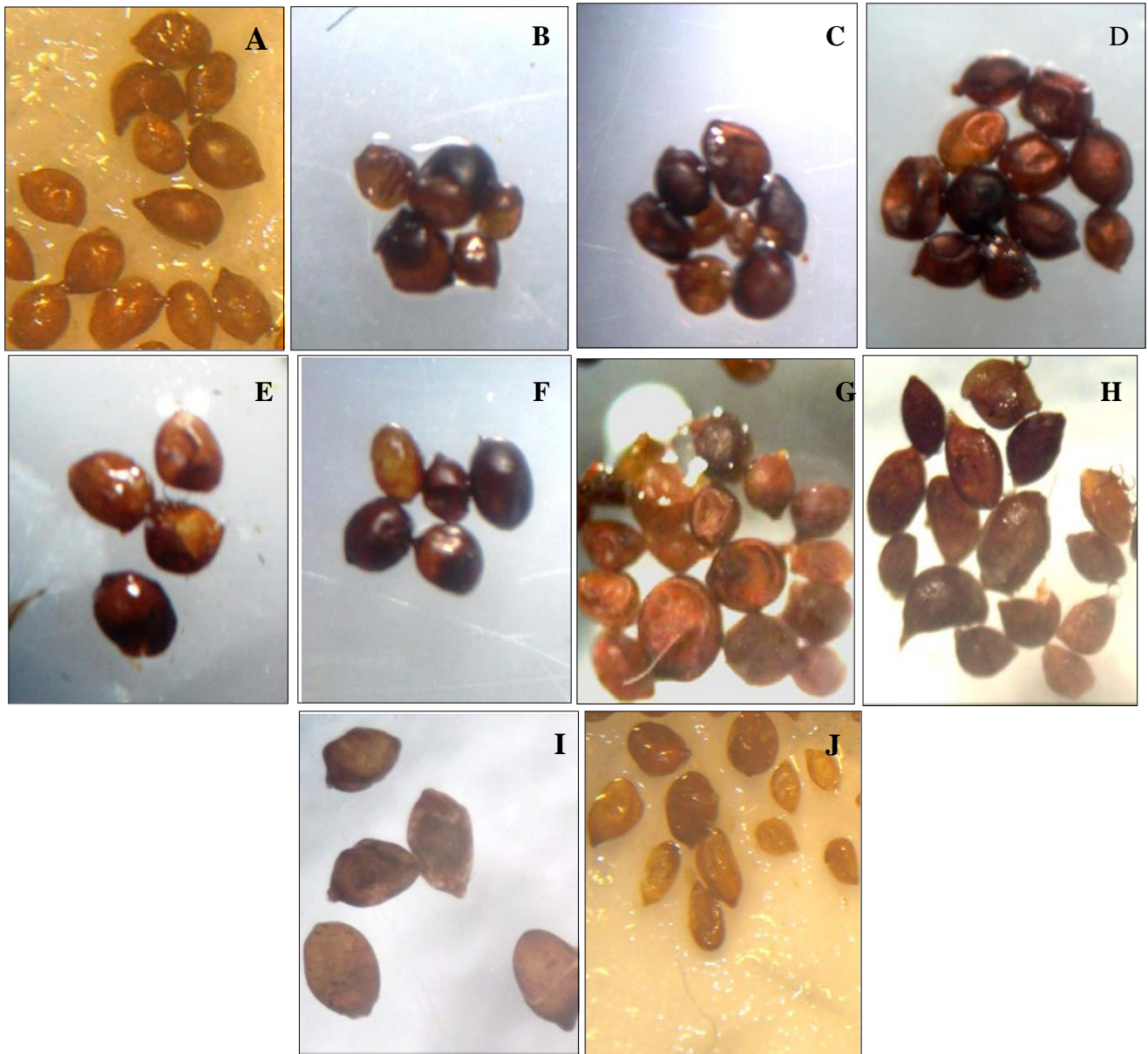
L'observation de la morphologie des kystes a porté sur trois principaux paramètres :

- \* La forme : Les kystes provenant des dix régions sont citrifformes ovoïdes, allongés et parfois globuleux

- \* La couleur : le brun-foncé prédomine chez la plupart des kystes des 10 populations mais, parfois ils sont en mélange avec quelques kystes brun-clair partiellement transparents.

- \* La taille : ce paramètre est variable selon les kystes quelque soit la population considérée. En effet, nous avons constaté qu'au sein de la même population certains kystes sont de grande taille alors que d'autres sont beaucoup plus petits. Ce constat est valable aussi entre les populations

Ce paramètre est détaillé dans la partie relative à la biométrie des kystes.



A :Bouira; B : Mostaganem; C:Ain Khedra;D :Tleghma; E : Djendel; F: El ghomri; G:OuledRahmoun; H :Bouandas; I :Tipaza ; J :Tamlouka.

**Figure 20 :** Kystes des populations d'*Heterodera* spp. d'origine géographique diverse observés sous loupe binoculaire (GX25). **(Original)**

### 3.3.1.2 –Résultats de la biométrie des kystes

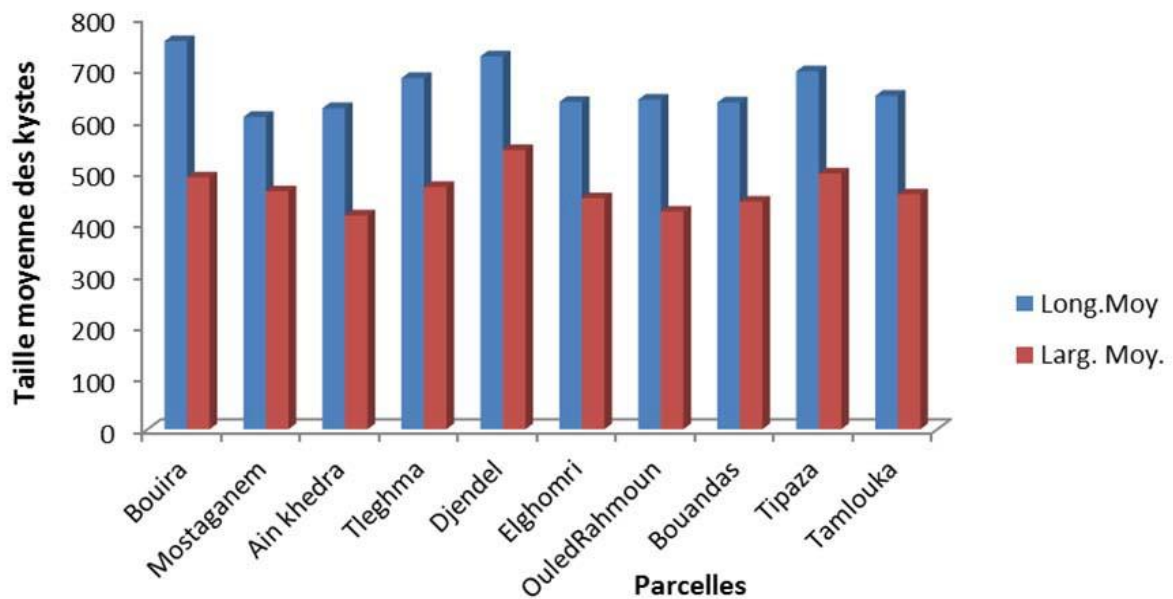
Les valeurs moyennes des mensurations sont consignées dans le tableau 8.

Quant aux mensurations effectuées sur les kystes des populations, elles sont détaillées dans l'annexe 1.

**Tableau 8** – Longueurs et largeurs maximum et moyennes des kystes des 10 populations.

Localité Paramètre	Bouira	Mostaganem	Ain khedra	Tleghma	Djendel	Elghomri	OuledRahmoun	Bouandas	Tipaza	Tamlouka
<b>Longueur</b> (Max-Min) <b>L</b> (µm)	900-580	820-300	800-420	880-440	960-330	810-410	850-420	800-420	900-450	880-330
<b>Longueur moyenne</b>	<b>753,5</b>	<b>606,5</b>	<b>623,5</b>	<b>682</b>	<b>724</b>	<b>635,5</b>	<b>640</b>	<b>634,5</b>	<b>695</b>	<b>647,5</b>
<b>Largeur</b> (Max-Min) <b>l</b> (µm)	700-320	670-230	620-300	620-280	660-200	630-280	550-300	610-300	720-300	670-200
<b>Largeur moyenne</b>	<b>489</b>	<b>461,5</b>	<b>415</b>	<b>470,5</b>	<b>542</b>	<b>448,5</b>	<b>422,5</b>	<b>442</b>	<b>496,5</b>	<b>456</b>

Quant aux valeurs moyennes des longueurs et des largeurs des kystes, elles sont présentées dans la figure 21.



**Fig. 21** – Variation de la taille des kystes des 10 populations.

Les kystes de la parcelle de Bouira sont les plus longs, ( $L = 753,5 \mu\text{m}$ ), suivis par ceux de Djendel et de Tipaza avec des longueurs moyennes respectives de 724 et 695  $\mu\text{m}$ . Les kystes de Ain Khedra sont les moins longs avec une longueur moyenne de 415  $\mu\text{m}$ .

En revanche, les kystes de la population de Djendel sont les plus larges avec une moyenne de 542  $\mu\text{m}$  suivis par ceux de Tipaza (496,5  $\mu\text{m}$ ) puis ceux de Bouira (489  $\mu\text{m}$ ).

### 3.3.1.2.1. – Résultats de l'analyse statistique

Le but principal de cette analyse est de comparer la longueur et la largeur des kystes des populations étudiées afin de discerner d'éventuelles différences de taille entre elles.

#### 3.3.1.2.1.1. – Calculs préliminaires

Puisqu'il s'agit de données quantitatives, il est indispensable de savoir si les variables « longueur » et « largeur » répondent à la loi normale ce qui permettra d'appliquer les tests paramétriques.

Pour cela, les coefficients d'aplatissement et d'asymétrie, respectivement appelés Kurtosis et Skewness sont calculés en estimant les erreurs standards respectives (Tableau 8).

**Tableau 9** – Calculs des coefficients de Kurtosis et Skewness

	Bouira		Mostsganem		Ain khedra		Djendel		El Ghomri		OuledRahmoun		Bouandas		Tipaza		Tamlouk		Tleghm	
	Longueur ( $\mu\text{m}$ )	Largeur ( $\mu\text{m}$ )	Longueur ( $\mu\text{m}$ )	Largeur ( $\mu\text{m}$ )	Longueur ( $\mu\text{m}$ )	Largeur ( $\mu\text{m}$ )	Longueur ( $\mu\text{m}$ )	Largeur ( $\mu\text{m}$ )	Longueur ( $\mu\text{m}$ )	Largeur ( $\mu\text{m}$ )	Longueur ( $\mu\text{m}$ )	Largeur ( $\mu\text{m}$ )	Longueur ( $\mu\text{m}$ )	Largeur ( $\mu\text{m}$ )	Longueur ( $\mu\text{m}$ )	Largeur ( $\mu\text{m}$ )	Longueur ( $\mu\text{m}$ )	Largeur ( $\mu\text{m}$ )	Longueur ( $\mu\text{m}$ )	Largeur ( $\mu\text{m}$ )
Ratio Skewn / SES	-0,470	0,737	-0,969	-1,037	0,153	1,566	-1,874	-1,793	-0,771	-0,064	-0,267	-0,384	-0,439	0,552	-0,985	0,273	-1,124	-0,391	-0,717	-0,475
Ratio kurtosi / SEK	-1,150	0,142	-0,546	-0,459	-0,061	-0,098	1,212	0,836	-1,374	-1,405	-0,878	-1,324	-0,939	-1,291	0,426	-0,123	0,221	-0,350	-0,910	-0,843
Std. Err. Skewness	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512	0,512
Skewness	-0,240	0,377	-0,496	-0,531	0,078	0,802	-0,960	-0,918	-0,395	-0,033	-0,137	-0,197	-0,225	0,282	-0,504	0,140	-0,576	-0,200	-0,367	-0,243
Std. Err. kurtosis	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992
Kurtosis	-1,141	0,141	-0,542	-0,456	-0,061	-0,097	1,203	0,830	-1,364	-1,395	-0,871	-1,314	-0,932	-1,281	0,423	-0,122	0,219	-0,348	-0,903	-0,836

Les ratios (Kurtosis / S.E.K. et Skewness / S.E.S) sont compris entre -2 et +2, les distributions sont alors normales.

### 3.3.1.2.1.2. – Graphes de Tukey (box and plot)

Ces graphes permettent de comparer la distribution des variables "longueur" et "largeur" dans plusieurs échantillons et ils montrent que :

- Mean±SD signifie que 68% des individus sont compris dans cette gamme.
- Mean±1.96\*SD signifie que 95 % des individus sont compris dans cette gamme (figures et 22 et 23).

### 3.3.1.2.1.3. – Analyse de la variance

Vu le grand nombre d'échantillons, il est indispensable de procéder par les comparer en utilisant la technique de calcul ANOVA qui exige en plus de la normalité déjà vérifiée, l'homogénéité de variance. Cette dernière est vérifiée par le test de Bartlett (homoscédasticité : les variances de la variable pour les différents échantillons doivent être homogènes.).

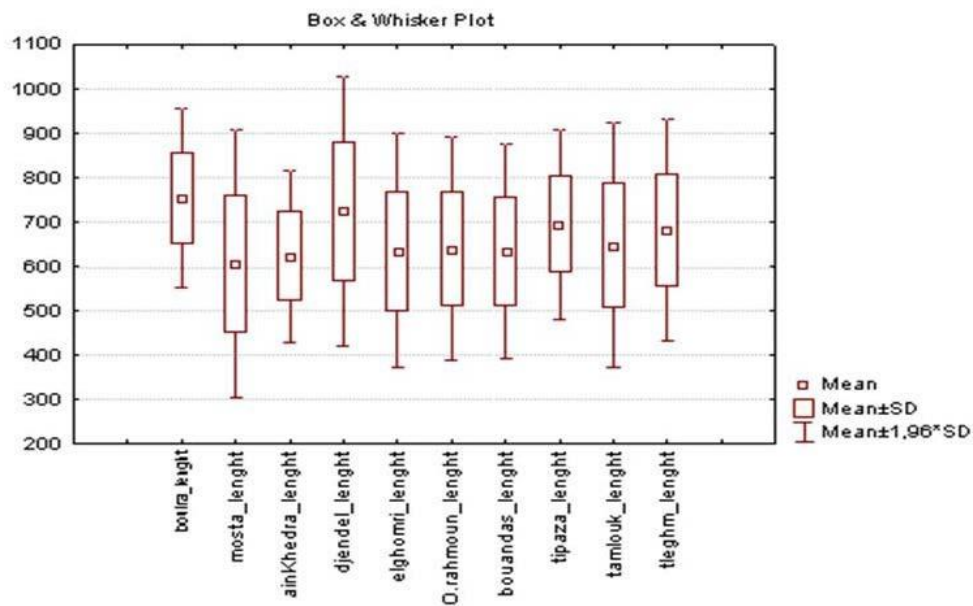
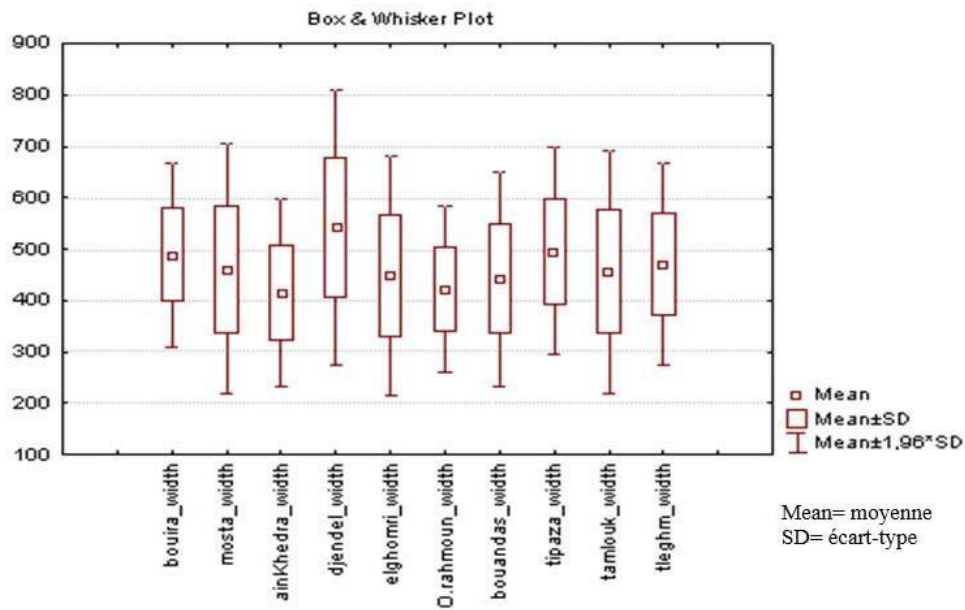


Fig.22– Gammes des longueurs par région géographique





**Fig.23**– Gammes des largeurs par région géographique

- Qobs. : 8.109013340505
- $p = 0.52319878776632$

### 3.3.1.2.1.3.1. – Longueur

Pour la variable "longueur", les résultats de l'analyse de variance montrent une différence significative entre les régions puisque  $P = 0.005 < 0.05$ .

**Tableau 10**– Résultats de l'ANOVA à 1 facteur pour le paramètre longueur

Longueur	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	407442,000	9	45271,333	2,739	<b>0,005</b>
Intra-groupes	3140230,000	190	16527,526		
Total	3547672,000	199			

Le test post hoc ou Test de Tukey permet de classer les régions en sous-ensembles homogènes (Tableau 11).

**Tableau 11**– Résultats de l’analyse des longueurs par région par le Test de Tukey

	Régions	N	Sous-ensembles pour <b>Alpha = 0.05</b>		
			1	2	3
Test de Tukey <sup>a</sup>	Mostaganem	20	606,5000		
	Ain Khedra	20	623,5000	623,5000	
	Bouandas	20	634,5000	634,5000	
	El Ghomri	20	635,5000	635,5000	
	OuledRahmoun	20	640,0000	640,0000	
	Tamlouka	20	647,5000	647,5000	
	Tleghma	20	682,0000	682,0000	
	Tipaza	20	695,0000	695,0000	
	Djendel	20	724,0000	724,0000	
	Bouira	20		753,5000	
	<b>Signification</b>			<b>0,116</b>	<b>0,051</b>

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 20,000.

Ce tableau indique que les régions de Bouira et de Mostaganem se distinguent des autres régions. La première présente les kystes les plus longs et la seconde les kystes les moins longs.

### 3.3.1.2.1.3.2. – Largeur

Les résultats de l’analyse de la variance montrent  $P = 0.013 < 0.05$ . Il existe une différence significative entre les régions.

**Tableau 12**– Résultats de l’ANOVA à 1 facteur pour le paramètre largeur

Largeur	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter- groupes	254480,500	9	28275,611	2,402	<b>0,013</b>
Intra-groupes	2236435,000	190	11770,711		
Total	2490915,500	199			

**Tableau 13**– Résultats de l’analyse des largeurs par régions par le Test de Tukey

	Régions	N	Sous-ensemble pour <b>alpha = 0.05</b>		
			1	2	3
Test de Tukey	Ain Khedra	20	415,0000		
	OuledRahmoune	20	422,5000		
	Bouandas	20	442,0000	442,0000	
	El Ghomri	20	448,5000	448,5000	
	Tamlouka	20	456,0000	456,0000	
	Mostaganem	20	461,5000	461,5000	
	Tleghma	20	470,5000	470,5000	
	Bouira	20	489,0000	489,0000	
	Tipaza	20	496,5000	496,5000	
	Djendel	20		542,0000	
	<b>Signification</b>		<b>0,347</b>	<b>0,109</b>	

Pour le paramètre largeur, ce sont plutôt les kystes de la région de Djendel qui se distinguent du groupe par leur largeur la plus remarquable alors que les kystes de la région d’Ain Khedra et d’Ouled Rahmoun se distinguent du groupe par leurs kystes qui sont les moins larges.

Ces résultats confirment les constatations faites lors de la comparaison des longueurs et des largeurs moyennes des kystes établies antérieurement.

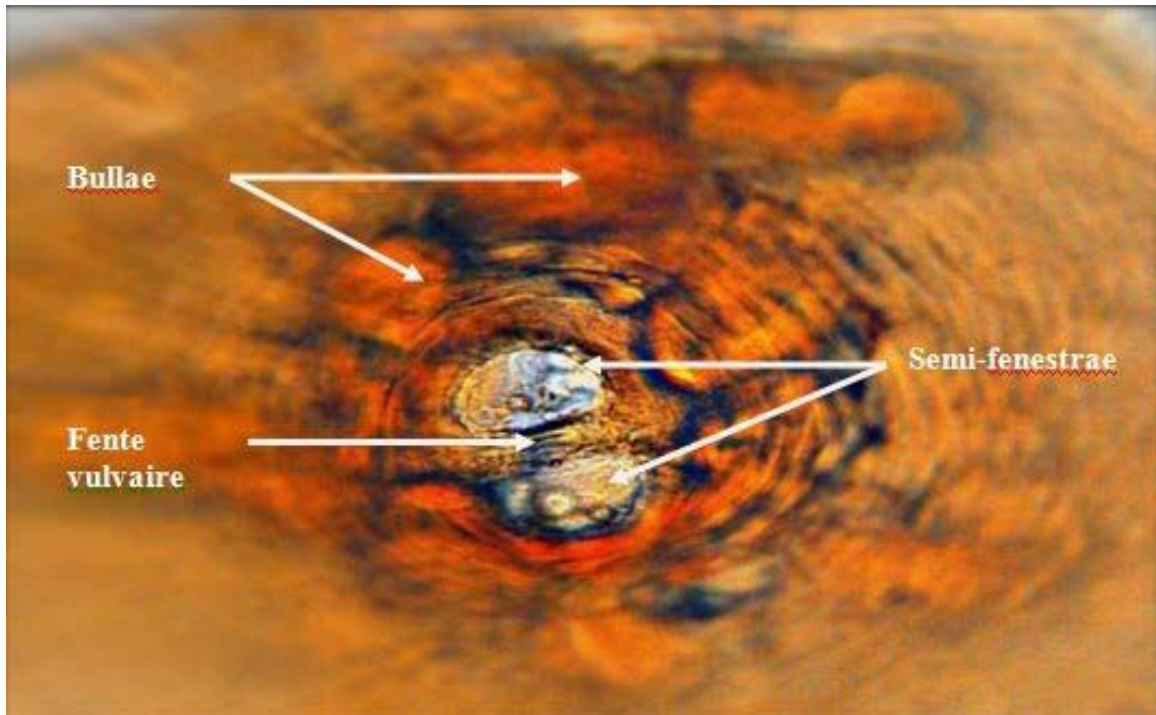
### 3.3.1.3. –Résultats de la morphobiométrie du cône vulvaire

#### 3.3.1.3.1. – Structure morphologique du cône vulvaire

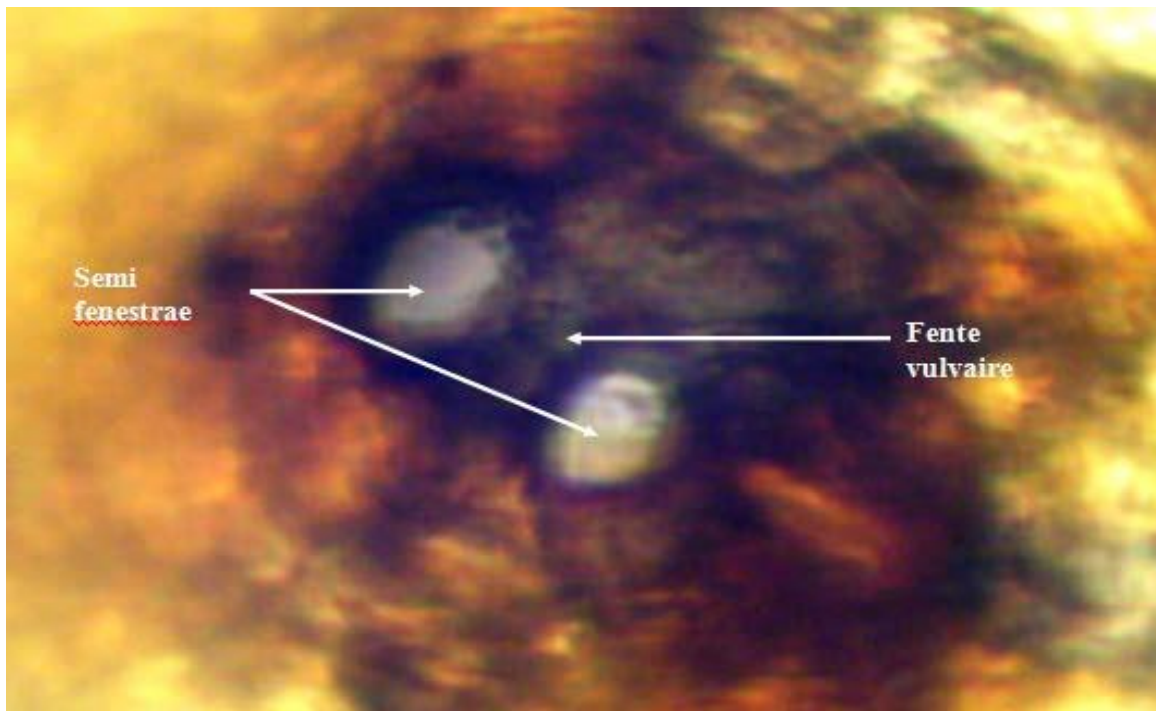
L’examen morphologique de la partie périnéale du cône vulvaire révèle la présence de quatre principales espèces appartenant au groupe *H. avenae*.

*Heterodera avenae* demeure l’espèce la plus fréquemment identifiée aussi bien au niveau des régions (parcelles) qu’au sein de la même parcelle.

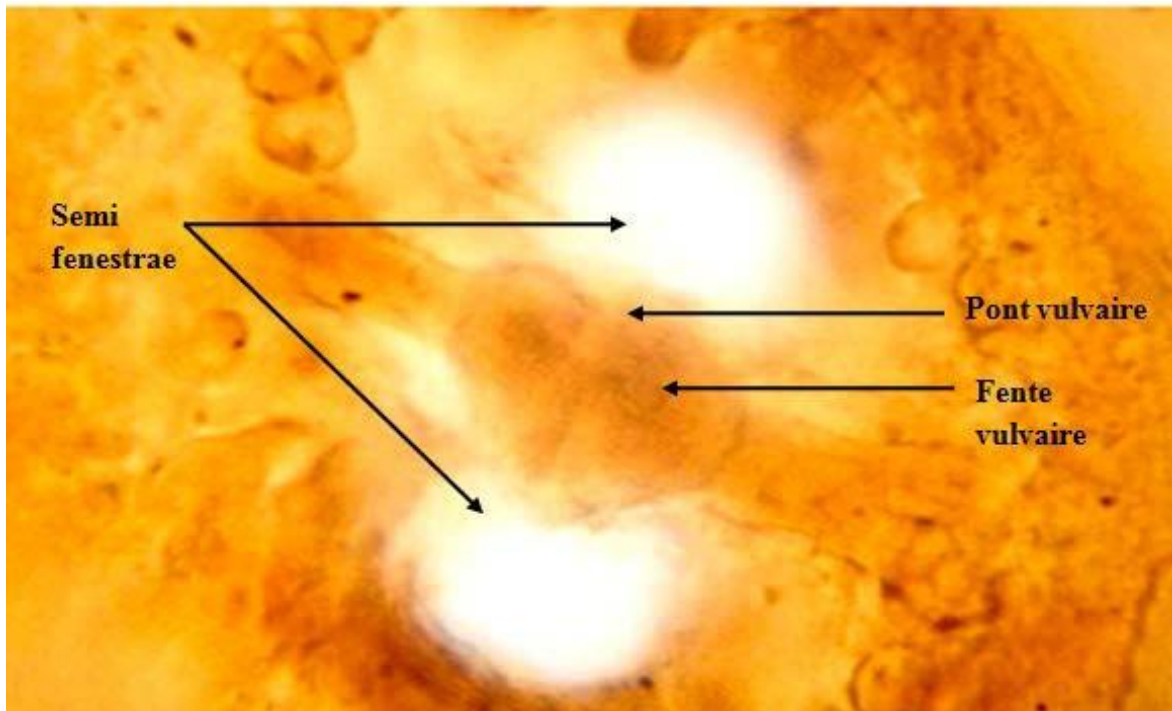
Les micrographies représentatives des principales espèces identifiées sont illustrées dans les figures 24, 25, 26 et 27. Celles des coupes restantes sont présentées dans l’annexe 3.



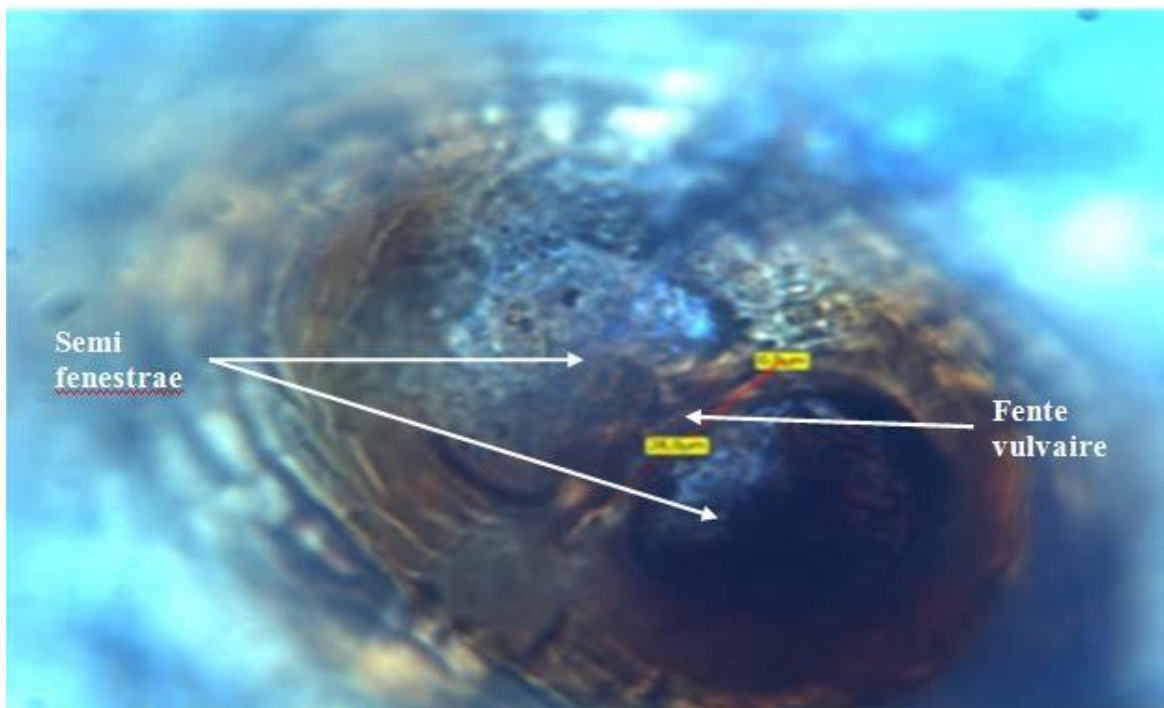
**Fig.24** – Aspect microscopique du cône vulvaire d' *H. avenae* (GrX40).  
(Population de Tipaza) (**Original**)



**Fig.25**– Aspect microscopique du cône vulvaire d' *H. bifenestra*  
(GrX40). (Population de T'leghma) (**Original**)



**Fig.26**– Aspect microscopique du cône vulvaire d'*H. latipons* (GrX100). (Population de Bouira) (**Original**)



**Fig.27**– Aspect microscopique du cône vulvaire d'*H. filijevi* (GrX100). (Population d'Ouled Rahmoun) (**Original**)

*H. avenae* présente un bullae dense, marron foncé, réparti en plusieurs segments distincts de forme variable. Il entoure les deux semi-fenestreae et le sous-pont est entièrement absent (fig. 24).

*H. bifenestra* montre un cône vulvaire marqué par deux semi-fenestreae circulaires et translucides, éloignées l'une de l'autre et séparées par la fente vulvaire qui se situe au milieu. Le bullae et le sous-pont sont absents (fig. 25).

*H. latipons* présente un bullae dense comme celui d'*H. avenae*, mais elle se distingue surtout par la présence d'un pont vulvaire caractéristique (fig. 26) et des semi-fenestreae circulaires très claires.

Le cône vulvaire d'*H. filipjevi* montre un bullae très léger, de couleur brun-clair, la présence d'un sous-pont et des semi-fenestreae légèrement réniformes (fig. 27).

L'observation microscopique permet de constater que le cône vulvaire de l'espèce *H. filipjevi* (fig.27) est morphologiquement similaire à celui d'*H.avenae* puisque les deux espèces présentent un cône vulvaire ambifenestré. En effet, Handoo (2002) rapporte que les différences morphologiques pouvant les distinguer sont minimes. Elles se limitent à la couleur du kyste, à la densité du bullae et à la forme des semifenestra (Holgado *et al.*,2004) en plus de la présence d'un sous pont chez *H. filipjevi* (Abidou *et al.*, 2005b et Subbotin *et al.*,2003).

#### **3.3.1.3.2. –Résultats de la biométrie du cône vulvaire**

Les mensurations sont effectuées sur trois paramètres du cône vulvaire tout en notant la présence ou de l'absence du bullae et du sous pont.

Les valeurs des mensurations sont présentées dans le tableau 14.

**Tableau 14**– Morphométrie du cône vulvaire de trois populations du groupe *H.avenae*.  
(Lesvaleurs sont exprimées en  $\mu\text{m}$ ).

Population	No coup e	Cône vulvaire				Bullae	Espèce plausible
		Longueur de la fente vulvaire	Longueur de la fenêtre	Largeur demi- fenêtre	Pont vulvaire/ s/pont		
Bouira	n=6						
(El Esnem)	1	7.8	52.5	21.4	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
	2	8.2	55.6	21.1	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
	3	7.6	46.3	24.3	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
	4	8.4	46.1	23.8	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
	5	<b>6.6</b>	<b>65.3</b>	21.5	Présent	Présent	<i>H. latipons</i>
	6	<b>30.2</b>	47.9	32.6	Présent	--	<i>Heterodera</i> sp.
Tipaza(P3)	n=6						
	7	7.7	43.6	19.9	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
	8	8.2	49.2	21.4	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
	9	8.9	44.3	23.3	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
	10	9.0	41.9	20.7	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
	11	7.9	45.4	22.7	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
	12	9.1	47.3	23 .6	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
OuledRahmoun	n=6						
	13	8.5	49.1	23.5	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
	14	8.1	48	20.2	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
	15	8.3	51.1	23.8	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
	16	<b>12.3</b>	54.3	28.7	présent	Léger	<i>H. filipjevi</i>
	17	7.1	50.7	24.1	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>
	18	9.0	51.9	21.3	Absent	Présent	<i>H. avenae</i>

Les valeurs des mensurations montrent les coupes no. 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 et 17 (toute population confondue) se rapprochent de celles rapportées par Handoo (2002) relatives à l'espèce *H.avenae*. Elle est l'espèce dominante dans 14 coupes sur 18 effectuées chez les trois populations avec. Ces valeurs sont également similaires à celles des populations tunisiennes d'*H. avenae* de Kef et de Séliana identifiées par Namouchi-Kachouri et B'chir (2005).

La coupe no.5 de la population de Bouira montre une fente vulvaire et desfenestrae bien plus longues (11.6 et 70,3  $\mu\text{m}$  respectivement) se rapprochant de celles de la population syrienne Syr6 d'*H. latipons* (Abidou *et al.*, 2005b). Cette comparaison est principalement soutenue par la présence d'un pont vulvaire typique lors des observations microscopiques de la région périnéale.

Quant à la coupe no.6, elle se distingue essentiellement par une très longue fente vulvaire (30.2  $\mu\text{m}$ ), comparable à la population italienne désignée HS<sub>2</sub> qui appartient au groupe *Heterodera schachtii* (Ambrogioni et Irdani, 2001) et dont la présence est confirmée lors de l'identification moléculaire PCR-RFLP appliquée aux L2 de la population de Bouira.

Concernant la population d'Ouled Rahmoun, les valeurs des mensurations effectuées sur la coupe no. 16 sont pratiquement identiques à celles d'*H. avenae* mais la fente vulvaire est légèrement plus longue (12.3  $\mu\text{m}$ ) se rapprochant de celle d'*H. filipjevi* rapportée par Abdoullahi (2008) et Hezar *et al.* (2012).

Ce critère étant insuffisant à lui seul, nous avons revu les données morphologiques relatives au kyste (couleur claire) et à la structure du cône vulvaire notamment la forme des semi-fenestreae en fer de cheval (Yan et et Smiley, 2010) et le bullae léger et claire indiquant qu'il s'agit bien de l'espèce *H. filipjevi*.

Le cône vulvaire d'*H. filipjevi* (fig.27) est morphologiquement similaire à celui d'*H.avenae*(fig.24) puisque les deux espèces présentent un cône vulvaire ambifenestré. En effet, Handoo (2002) rapporte que les différences morphologiques pouvant les distinguer sont minimales. Elles se limitent à la couleur du kyste, à la densité du bullae et à la forme des semifenestra (Holgado *et al.*,2004) en plus de la présence d'un sous pont chez *H. filipjevi* (Abidou *et al.*, 2005b et Subbotin *et al.*, 2003).

Les espèces identifiées par les caractéristiques du cône vulvaire, sont regroupées dans le tableau 15.



**Tableau 15**– Fréquence des espèces du groupe *H.avenae* identifiées dans les dix régions.

Population (kystes)	coupes effectuées	coupes réussies	Fréquence des espèces recensées
♦Bouira (El Esnem)	12	10	60 % <i>H.avenae</i> * 20 % <i>H.latipons</i> ; 20 % <i>Heterodera</i> sp.appartenant au groupe <i>H. schachtii</i> ✧
Mostaganem	8	6	66.6 % <i>H. avenae</i> ; 16.6% <i>H .latipons</i> ; 16.6% indéterminée
Ain khedra	8	5	100 % <i>H. avenae</i>
Tleghma	8	5	75% <i>H. avenae</i> ; 25% <i>H. bifenestra</i>
Djendel	12	10	80 % <i>H. avenae</i> ; 20 % <i>H. latipons</i>
Elghomri	8	6	100% <i>H. avenae</i>
♦OuledRahmoun	10	9	77.7% <i>H. avenae</i> * ; 22.2 % <i>H. filipjevi</i>
Bouandas	10	7	71.4 % <i>H. avenae</i> ;14.2 % <i>H. latipons</i> ; 14.2 % indéterminée
♦Tipaza (P1)	8	5	100 % <i>H. avenae</i> *
Tamlouka	10	6	66.6 % <i>H. avenae</i> ; 33.3% indéterminée.

\*Identification confirmée par PCR-RFLP ; ✧ Identifiée uniquement par PCR-RFLP ; ♦populations étudiées au CNR.

Les résultats montrent nettement que l'espèce *H. avenae* est la plus fréquente, puisqu'elle est présente dans la totalité des parcelles échantillonnées. Elle est exclusivement dominante dans les parcelles d'Ain Khedra, El ghomri et Tipaza avec une fréquence de 100%. Elle est décelée principalement dans les champs cultivés en blé dans les parcelles respectives de Bouira, Mostaghanem, Ain khedra, Djendel, Ouled Rahmoun, Bouandas, Tipaza et Tamlouka et les champs cultivés en orge à T'leghma et à El Ghoumri. Cette espèce est également rencontrée en mélange avec l'espèce *H. latipons* dans la parcelle de Bouira, Bouandas, Djendel et Mostaganem.

Dans la parcelle d'Ouled Rahmoun, l'espèce *H. filipjevi* est décelée pour la première fois avec une fréquence de 22.2%.

Par ailleurs, un certain nombre d'espèces demeure indéterminé vu que l'observation microscopique des cônes vulvaires ne met pas au clair la totalité des paramètres à examiner et par conséquent l'impossibilité de se prononcer sur l'identité de l'espèce.

#### 3.3.1.4. – Résultats de la biométrie des larves du second stade

Vu le nombre insuffisant de larves obtenues lors du test d'éclosion, les mensurations effectuées concernent un effectif variable selon la disponibilité des larves L2 des trois populations de Bouira, Tipaza et Ouled Rahmoun.

Rappelons que les mensurations ont concernés la longueur du corps, du stylet et de la queue ainsi que celle de sa partie hyaline (Fig.28). Les mensurations des larves des autres populations sont présentées dans l'annexe 4.



A: Corps entier (X40) ; B:Tête et stylet (X100) ; C:Queue et partie hyaline (X100)

**Fig.28**–Micrographies des larves du second stade d'*Heterodera avenae*.  
(Population d'Ouled Rahmoun) (**Original**)

Les valeurs des mensurations morphométriques relatives aux larves du second stade ont concerné la longueur de quatre variables à savoir :le corps, le stylet, la queue et sa partie hyaline. Elles sont consignées dans le tableau 16.

**Tableau 16**–Morphométrie des larves L2 de trois populations du groupe *H.avenae*.

(Lesvaleurs sont exprimées en  $\mu\text{m}$ ).

Population	No Larve	Larves du second stade L <sub>2</sub>				Espèce plausible
		Longueur du corps	Longueur du stylet	Longueur de la queue	Longueur de la partie hyaline de la queue	
Bouira(Elesnem)	<b>n= 5</b>					
	1	470	23.6	52.7	39.3	<i>H. avenae</i>
	2	469.2	25.7	53.1	41.1	<i>H. avenae</i>
	3	472	24.1	54.3	33.4	<b><i>H. latipons</i></b>
	4	476	26.2	56.2	35.8	<i>H. avenae</i>
Tipaza (P3)	<b>n= 5</b>					
	5	471.2	24.3	54.9	32.5	<i>H. avenae.</i>
	6	600.5	25.8	69.9	40	<i>H. avenae</i>
	7	602.5	26.6	72.1	46.6	<i>H. avenae</i>
	8	628.3	29.9	76	47.7	<i>H. avenae</i>
OuledRahmoun						
	9	623.6	28.8	75.8	45.6	<i>H. avenae</i>
	10	620.3	27.6	74.2	43.7	<i>H. avenae</i>
	<b>n= 5</b>					
	11	551.4	26.2	66.4	39.2	<i>H. avenae</i>
	12	553.8	26.6	71.1	40.4	<i>H. avenae</i>
	13	554.4	26.7	78.5	42.3	<i>H. avenae</i>
14	612.4	28.9	79.6	44.4	<b><i>H. filipjevi</i></b>	
15	553.3	25.9	68	41	<i>H. avenae</i>	

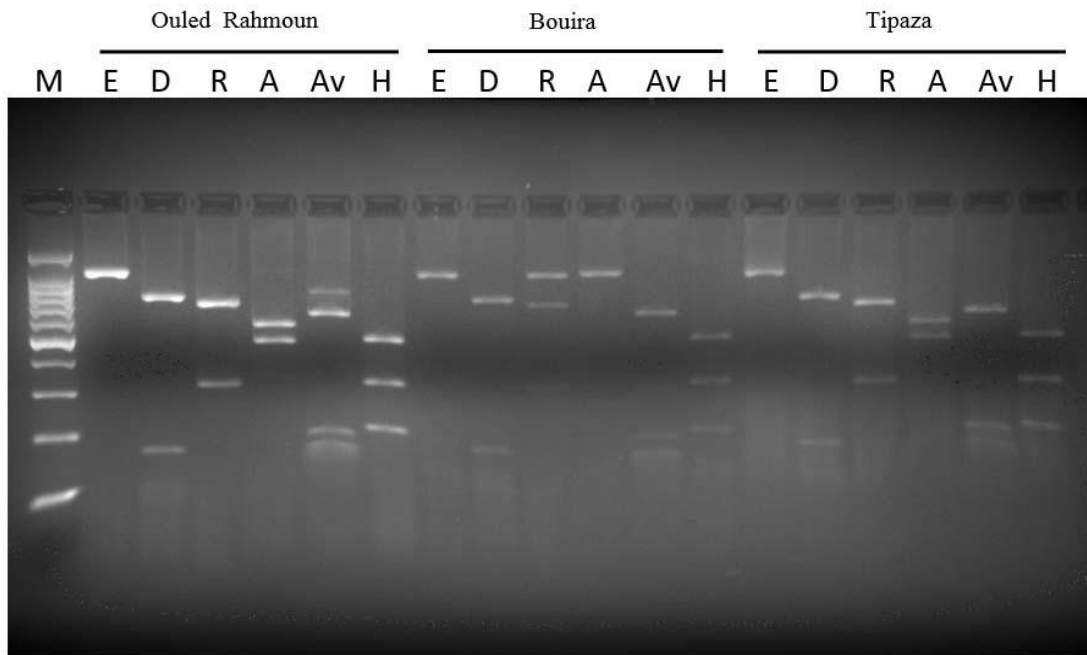
Les valeurs morphométriques des larves désignées 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10,11,12, 13 et 15sont très variables d'unepopulation à une autre et ce malgré qu'elles appartiennent à l'espèce *H. avenae*.

La morphométrie des larvesd'*H. latipons* décelée à Bouira ne diffère pas de celles d'*H.avenae*. De même, les larves d'*H. filipjevi* de la population d'Ouled Rahmoun ne se distinguent de celles des autres espèces que par la longueur du corps qui est légèrement supérieure (612.4  $\mu\text{m}$ ).

### 3.3.2. – Résultats de la caractérisation moléculaire

Trois marqueurs moléculaires (18S du gène d'ARNr, les domaines d'extension D2-D3 du gène de l'ARNr28S) sont amplifiés dans des échantillons de kystes d'*Heterodera* spp. Provenant de trois zones d'Algérie : Ouled Rahmoun, Tipaza et Bouira.

L'analyse des profils PCR-ITS-RFLPest effectuéeà l'aide desixenzymes de restriction.Lesprofils de restriction obtenus sont présentés dans la figure29.



M: échelle 100 pb; E:EcoRI; D:Ddel; R: RsaI; A:AluI; Av: Avail; H:Hinfl

**Fig. 29**– Profils de restriction de trois différentes populations d'*Heterodera* spp. d'Algérie. (Original)

La digestion des produits de PCR de trois populations par les enzymes de restriction de trois marqueurs moléculaires (ARNr 18S et ARNr 28S des domaines D2 et D3), a permis la caractérisation de la population de Bouira par un profil différent de ceux des deux populations de Tipaza et d'Ouled Rahmoun (fig. 29). Ces dernières présentent les mêmes profils de restriction de la digestion des produits ITS-ADNr amplifiés par les six enzymes. Ces profils sont identiques à ceux rapportés par Subbotin *et al.* (1999) ce qui signifie que les deux populations appartiennent au groupe *H.avenae*. Les séquences de la région ITS, D2-D3 et les gènes d'ARNr 18S a révélé que l'échantillon de Tipaza et d'Ouled Rahmoun sont identiques à *H. avenae*.

Les mêmes enzymes présentent un profil de restriction différent pour la population de Bouira dont les séquences des trois marqueurs moléculaires montrent une similarité élevée aux espèces appartenant au "groupe *schachtii*". Ceci suggère qu'il s'agirait d'une nouvelle espèce *Heterodera* sp. ou d'une espèce non encore caractérisée (De Luca, comm. Person.). Des investigations morphologiques plus profondes s'imposent sur les kystes et les larves de cette population.

Les résultats de l'identification morphométrique et moléculaire, nous ont permis d'établir une cartographie de distribution géographique provisoire des espèces de nématodes à kyste des céréales en fonction des régions prospectées (fig.30).

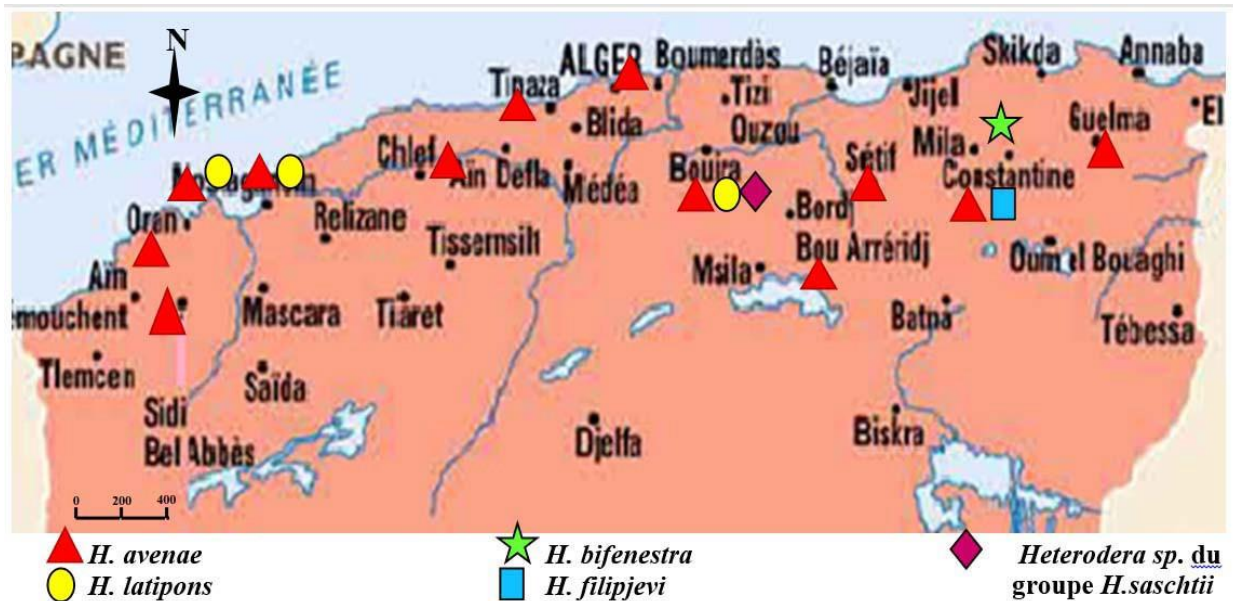


Fig. 30– Distribution des espèces de nématodes à kyste des céréales à travers quelques régions du nord d'Algérie. (Original)

### 3.4.–Discussion

L'examen des résultats des différentes caractérisations montre l'existence simultanée d'au moins cinq espèces de nématodes à kystes du genre *Heterodera*. Quatre espèces sont inféodées aux céréales et une cinquième reconnue comme étant une espèce appartenant au groupe *H. schachtii*, parasite de la betterave sucrière. Les premières espèces *H. avenae*, *H. latipons*, *H. bifenestra* et *H. filipjevi* appartiennent au 'groupe *H. avenae*' et sont identifiées principalement par la structure du cône vulvaire de leurs kystes. Quant à l'espèce *Heterodera* sp. non identifiée du groupe *H. schachtii* recensée à Bouira, elle a été caractérisée pour la première fois en Algérie, par la PCR-RFLP lors de la confirmation de l'identité des espèces d'*H. avenae* dans les régions respectives de Tipaza et Ouled Rahmoun.

L'examen de la morphologie externe des kystes montre une variabilité remarquable dans leur taille, leur forme et leur couleur. Selon Nicol et Rivoal (2008), l'importance de cette variation morphologique pourrait cautionner d'avantage la notion de mélange d'espèces constatée chez le groupe *H. avenae* sans pour autant permettre la distinction préalable des espèces.

En effet, nous avons constaté que les kystes citrifformes de couleur brun-foncé à noire s'avèrent appartenir à l'espèce *H. avenae* ou à *H. latipons*; alors que les kystes de petite taille et de couleur brun-clair ou jaunes, sont identifiés comme étant *H. filipjevi* ou *H. bifenestra*. Ceci est souvent confirmé par les observations effectuées ultérieurement sur les régions périnéales des cônes vulvaires de ces kystes.

Les enquêtes effectuées durant les deux dernières décennies, ont signalé la présence des nématodes à kyste des genres *Heterodera* et *Globodera* dans quasiment toutes les zones céréalières au nord de l'Algérie (Boulanouar, 2008). La fréquence de ces deux genres pourrait constituer un facteur limitant au développement des céréales et de la pomme de terre qui sont deux cultures stratégiques dans l'agriculture algérienne.

Dans les régions à vocation céréalière, l'espèce *H. avenae* est largement répandue notamment dans les hauts plateaux et les plaines intérieures qualifiées de zones à haut potentiel de production comme Tiaret, Sétif, Ain-Defla et Bouira. Quant à *H. latipons*, elle a déjà été décelée à Ain Defla, à Relizene (Hmadna) et à Béjaïa (Mokabli, 2002).

Sachant que *H. avenae*, *H. latipons* et *H. filipjevi* sont les espèces les plus redoutables sur les céréales (Rivoal et Cook, 1993 ; Mc Donald et Nicol, 2005 et Nicol et Rivoal, 2008), leur existence seules ou en populations mixtes constituerait un facteur limitant de la production céréalière et une réelle menace aux cultures subséquentes.

L'étude Morphobiométrique des kystes montre une variabilité remarquable dans la taille des kystes selon leur origine géographique. Les observations visuelles ainsi que les valeurs des mensurations révèlent des différences parfois considérables dans la taille des kystes au sein de la même population. A titre d'exemple, les kystes de la population de Djendel montrent un écart de 630  $\mu\text{m}$  de longueur (330 - 960  $\mu\text{m}$ ) et de 460  $\mu\text{m}$  de largeur (200 - 660  $\mu\text{m}$ ).

Ces constatations sont confirmées par l'analyse statistique des résultats qui a montré des différences significatives entre les populations même si certaines autres constituent un groupe homogène. Elles concordent avec les travaux réalisés par Haddadi (1997) ; Smaha (1998) ; Mokabli (2002) et Hamroun (2006) sur les kystes de plusieurs populations d'*H. avenae* d'origine géographique diverse.

Elles révèlent également une grande variabilité dans la taille des kystes récoltés qui serait vraisemblablement liée à la variation de la texture du sol et aux pratiques culturales particulières à chaque région.

La biométrie des kystes est la première étape complémentaire de l'étude morphologique pouvant contribuer à l'identification de l'espèce. Néanmoins, Handoo (2002) indique que la comparaison des mesures biométriques des espèces du groupe *H.avenae* présente des limites dans la mesure où elles sont toutes faites par un même manipulateur.

Les résultats de la morphométrie des larves rapportés dans ce travail seraient inévitablement incomplets pour deux principales raisons :

La première est liée à leur nombre réduit et non représentatif et la seconde est relative au nombre de paramètres mesurés limités aux longueurs respectives du corps, du stylet, de la queue, et de sa partie hyaline et n'ont pu s'étaler aux autres paramètres complémentaires rapportés dans les études de Subbotin *et al.* (1999, 2000, 2003) ; Abidou (2005) ; Yan et Smiley (2010) et Dawabah *et al.* (2012). Néanmoins, les travaux récents, Ahmadi et Tanha Maafi (2014) et Imran *et al.* (2015) se sont limités aux mensurations des quatre paramètres cités précédemment.

L'identification basée sur les caractéristiques morphologiques et morphométriques est fiable puisqu'elle permet de différencier les espèces d'*Heterodera* les unes des autres (Subbotin *et al.*, 1999; Handoo, 2002 et Abidou *et al.*, 2005). Cependant, cette identification est rendue plus difficile et plus lente par l'augmentation du nombre des espèces de ce groupe (Rivoal *et al.*, 2003 et Subbotin *et al.*, 2003) qui exige beaucoup de temps et plus d'attention (Smiley et Yan, 2010 et Tanha Maafi *et al.*, 2003).

D'une manière générale, il existe une concordance entre les résultats de la morphologie des kystes, la structure du cône vulvaire et sa morphométrie ainsi que celle des larves du second stade, démontrant la présence d'au moins quatre espèces de nématodes à kyste des céréales en Algérie témoignant ainsi de l'existence d'un polymorphisme au sein du groupe *H. avenae*.

Les profils enzymatiques des populations d'Ouled Rahmoun et Tipaza sont identiques pour les six enzymes utilisées, alors que celui de la population de Bouira est nettement différent pour les deux enzymes RsaI et AluI. Ceci indique que les larves des deux premières populations appartiennent au même groupe d'*Heterodera* et que celles de Bouira font partie d'un autre groupe.

Les profils de restriction obtenus sont conformes à ceux rapportés par Subbotin *et al.*, (1999) et indiquent que les kystes provenant d'Ouled Rahmoun et Tipaza appartiennent bien

au "*groupe avenae*". En outre, les séquences de la région ITS, D2-D3 et les gènes d'ARNr18S ont montré que les échantillons de ces deux localités sont identiques à l'espèce *H. avenae*.

Quant à la population de Bouira, les séquences des trois marqueurs moléculaires ont montré une similarité élevée au "*groupe schachtii*"; ceci suggère qu'il s'agirait probablement d'une nouvelle espèce appartenant à ce groupe mais non encore caractérisée.

La confirmation de ce résultat par des investigations morphométriques approfondies de la région périnéale est absolument indispensable.

Si les techniques moléculaires basées sur la PCR-RFLP permettent la distinction des espèces au sein du groupe *H. avenae*, elles présentent cependant quelques limites puisqu'elles nécessitent un certain nombre de conditions comme :

- l'utilisation d'amorces spécifiques de l'espèce ;
- l'utilisation de grandes quantités de produits de PCR pour différentes enzymes de restriction ;
- une longue optimisation pour la détection de plusieurs espèces, en plus d'un manque d'homologie des caractères, (Abebe *et al.*, 2011).

De ce fait, l'identification morphologique soigneusement développée est nécessaire pour soutenir la fiabilité des systèmes de caractérisation biochimique et/ou moléculaire (Handoo, 2002).

Dans ce contexte, Abebe *et al.* (2011) indiquent que malgré la difficulté associée à la caractérisation morphologique des espèces, son intégration dans les études taxonomiques reste encore indispensable et essentielle grâce à la pertinence des informations qu'elle fournit sur divers aspects de la biologie des nématodes.

En conséquence, la combinaison simultanée des méthodes d'identification classique basée sur la morphométrie et les techniques récentes de biologie moléculaire est plus que nécessaire pour se prononcer sur l'identité d'une espèce de façon correcte et fiable.



# *Chapitre IV*

**Chapitre IV – Etude de la virulence de deux populations d' *H. avenae* vis-à-vis d'une gamme d'hôtes différentielles**

**4.1. – Matériel**

**4.1.1. – Matériel biologique**

**4.1.1.1. – Kystes et larves (L2) d'*H. avenae***

Deux populations d'*H. avenae* sont collectées à partir de parcelles céréalières. La première provient de la région de Tiaret et la deuxième population provient de la station expérimentale de l'ITGC d' Oued Smar située à Alger.

Les kystes pleins de chaque population sont sélectionnés et conservés dans des tubes en PVC pour leur utilisation ultérieure.

**4.1.1.2. – Céréales internationales**

Neuf cultivars de céréales internationales en provenance de la Suède (Nordic Gene Bank, Alnarp) sont testés. Leurs caractéristiques sont présentées dans le tableau 17.

**Tableau 17** – Caractéristiques des variétés internationales testées

Céréale	Variété	Origine	Caractéristiques
Orge <i>Hordium vulgare</i>	Emir	Danemark	Culture sensible
	Ortolan	Allemagne	Porteur du gène <i>Ha1</i> .
	Siri	Danemark	Sélectionné du croisement KVL19 x Herta, porteur du gène <i>Ha2</i>
	Marocco	Danemark	Sélectionné du CC 3902, porteur du gène <i>Ha3</i> .
Blé <i>Triticum aestivum</i>	Capa	Danemark	Culture sensible.
	Loros	Danemark	Selectionné du croisement entre Loros et Koga.
	Aus 10894	Danemark	Résistance dans Loros : cultivar probablement identique
Avoine <i>Avena sterilis</i>	Nidar	Danemark	Cultivar très sensible
	<i>A. sterilis</i> I736CC 4658	Danemark	

#### 4.1.2 – Matériel de laboratoire

- Bec bunsen
- Boîtes de Petri
- Gélose nutritive à 2%
- NaOCl
- Alcool 90°
- Scalpel

#### 4.2. – Méthodes

##### 4.2.1. – Test en conditions naturelles

Le sol utilisé est constitué d'un mélange de 2 volumes de limons et d'un volume de sable. Il est tamisé puis stérilisé par autoclavage à 120°C pendant 30 minutes. Il est ensuite réparti dans des pots en matière plastique de 15 cm de hauteur et de 10 cm de diamètre, à raison de 700g / pot avec huit répétitions par cultivar.

Chaque pot est inoculé de 25 kystes pleins, placés dans un sac en tulle, à une profondeur de 5cm. Deux jours après, les grains pré-germés des cultivars sont semés à 2 cm de la surface du sol, à raison d'un grain par pot.

L'essai est mis en place dans les conditions naturelles au mois de novembre et l'irrigation est effectuée selon les besoins des plants. Des observations régulières sont effectuées en cours de végétation afin de noter les différences de croissance et les symptômes pouvant éventuellement apparaître.

En mois de mai, les plants sont soigneusement arrachés et les racines sont rincées puis examinées sous la loupe binoculaire afin de compter les kystes qui s'y attachent.

D'autre part, une extraction des kystes à partir du sol de chaque pot est réalisée par la méthode de Fenwick pour dénombrer les kystes néoformés après avoir récupéré le sac contenant l'inoculum initial.

L'évaluation de la capacité de multiplication de chaque population est exprimée par le nombre moyen de kystes récoltés à la fin du cycle végétatif de la céréale.

##### 3.2.2. – Test *in vitro*

Une gélose nutritive (GN) à 2% est préparée, stérilisée puis coulée en boîtes de Petri et laissée refroidir jusqu'à solidification (annexe 6).

Parallèlement, les grains de céréales sont désinfectés dans une solution de NaOCl à 1% pendant 5 mn puis rincés en les plongeant dans 3 bains successifs d'eau distillée stérile

pendant 5 mn chacun. Ils sont ensuite mis dans une boîte de Petri tapissée de coton imbibé d'eau stérile puis placés à 22 °C pour germination.

Les grains pré-germés sont ensuite repiqués dans les boîtes contenant la gélose nutritive à raison d'un grain par boîte.

Les racelles de chaque plantule sont inoculées par des juvéniles issues des tests d'éclosion des populations d'Oued Smar et Tiaret. Ces juvéniles sont pêchées et déposées une à une juste derrière la coiffe des jeunes racines, à raison de 35 larves par plant avec 3 répétitions par cultivar.

Les boîtes sont incubées sur les étagères de l'incubateur stérilisées à l'alcool 75° à la température du laboratoire avoisinant 15°C dans la journée (essai mis en place début janvier). Les boîtes sont examinées le lendemain à la loupe binoculaire, afin de remettre les larves se trouvant dans la gélose sur les racelles pour leur faciliter la pénétration.

Le bord du couvercle de chaque boîte est coupé en demi-cercle sur le côté avec un scalpel chauffé au bec bunsen afin de laisser sortir la partie aérienne des plantules et d'empêcher le dessèchement de la gélose.

Deux mois après l'inoculation, les femelles blanches font déjà sailli sur les racines. Deux semaines après, les plants sont soigneusement retirés de la gélose et le nombre moyen de femelles blanches est compté.

La réaction de l'hôte est déterminée selon la définition donnée par Ireholm (1994) qui qualifie la céréale de "résistante" si le nombre de femelles blanches néoformées est inférieur à trois et de "sensible" si leur nombre dépasse trois femelles par plant.

### **4.3. – Résultats**

#### **4.3.1. – Résultats du test en conditions naturelles**

La réaction des céréales internationales à l'égard des populations d'*H. avenae* de Tiaret et d'Oued Smar est exprimée par le nombre moyen de kystes récoltés sur chaque cultivar après récupération du sac contenant l'inoculum initial (Tableau 18).

**Tableau 18** – Moyenne des kystes récoltés en fin de culture en conditions naturelles.

	Population	Tiaret		Moyenne	Oued Smar		Moyenne
	Variété	Rép.	Kyste/plant		Rép.	Kyste/ plant	
<b>Orges</b>	Emir ( <i>Rha E</i> )	1	43	<b>45 .87</b>	1	140	<b>137.12</b>
		2	41		2	134	
		3	49		3	136	
		4	50		4	129	
		5	39		5	141	
		6	51		6	136	
		7	46		7	139	
		8	48		8	142	
	Ortolan ( <i>Rha 1</i> )	1	00	<b>00 .00</b>	1	00	<b>00 .00</b>
		2	00		2	00	
		3	00		3	00	
		4	00		4	00	
		5	00		5	00	
		6	00		6	00	
		7	00		7	00	
		8	00		8	00	
Siri ( <i>Rha 2+</i> )	1	00	<b>00 .00</b>	1	00	<b>00 .00</b>	
	2	00		2	00		
	3	00		3	00		
	4	00		4	00		
	5	00		5	00		
	6	00		6	00		
	7	00		7	00		
	8	00		8	00		
Morocco ( <i>Rha 3+</i> )	1	00	<b>00 .00</b>	1	00	<b>00 .00</b>	
	2	00		2	00		
	3	00		3	00		
	4	00		4	00		
	5	00		5	00		
	6	00		6	00		
	7	00		7	00		
	8	00		8	00		
<b>Blés</b>	Capa	1	158	<b>161.12</b>	1	28	<b>22.87</b>
		2	170		2	24	
		3	157		3	30	
		4	163		4	18	
		5	166		5	25	
		6	159		6	19	
		7	156		7	21	
		8	160		8	18	
	Loros ( <i>Cre 1</i> )	1	00	<b>00 .00</b>	1	00	<b>00 .00</b>
		2	00		2	00	
		3	00	3	00		
		4	00	4	00		
		5	00	5	00		
		6	00	6	00		
		7	00	7	00		
		8	00	8	00		

	Aus 10894	1 00		1 00	
		2 00		2 00	
		3 00		3 00	
		4 00		4 00	
		5 00	00 .00	5 00	00 .00
		6 00		6 00	
		7 00		7 00	
		8 00		8 00	
Avoines	Nidar II	1 00		1 00	
		2 00		2 00	
		3 00		3 00	
		4 00		4 00	
		5 00	00 .00	5 00	00 .00
		6 00		6 00	
		7 00		7 00	
		8 00		8 00	
	<i>A. sterilis</i> I.376	1 00		1 00	
		2 00		2 00	
		3 00		3 00	
		4 00		4 00	
		5 00	00 .00	5 00	00 .00
		6 00		6 00	
		7 00		7 00	
		8 00		8 00	

Tous les cultivars différentiels ont réagit de façon similaire aux deux populations de Tiaret et d'Oued-Smar.

Pour les orges, seul le cultivar Emir a multiplié le parasite avec des moyennes respectives de 46,87 et 137,12 kystes pour Tiaret et O. Smar. Aucun kyste n'est récolté sur Ortolan, Siri et Morocco qui s'opposent absolument au développement du parasite.

Capa est le seul cultivar de blé sensible ayant fortement multiplié le parasite avec des moyennes respectives de 161.4 et 22.8 kystes néoformés pour Tiaret et O.Smar.

Les cultivars Loros et Aus.10894 n'ont pas multiplié les populations du nématode.

De même, les avoines différentielles Nidar et *Avena sterilis* I.376, sont nettement résistantes aux deux populations sans aucun kyste néoformé.

#### 4.3.2. – Résultats du test *in vitro*

Les résultats du test *in vitro* sont illustrés dans le tableau 19. Ils sont exprimés par la moyenne des femelles blanches observées à la fin de l'essai sur les racines des plants de chaque cultivar (Tableau19).

**Tableau 19** – Résultats relatifs à la réaction des variétés internationales inoculées *in vitro* par les larves d'*H. avenae* de Tiaret et d'Oued Smar.

Céréales	Population	Tiaret		Moyenne ± Ecart à la Moyenne	Oued Smar		Moyenne ± Ecart à la Moyenne
	Cultivar	Femelle blanche/plant			Femelle blanche/plant		
Orges	Emir ( <i>Rha E</i> )	1 4 2 4 3 3		3.7 ± 0.57	1 6 2 3 3 5		4.8 ± 1.52
	Ortolan ( <i>Rha 1</i> )	1 0 2 0 3 0		0	1 0 2 0 3 0		0
	Siri ( <i>Rha 2+</i> )	1 0 2 1 3 0		0.3 ± 0.57	1 0 2 0 3 0		0
	Morocco( <i>Rha 3+</i> )	1 0 2 0 3 0		0	1 0 2 0 3 0		0
Avoines	Nidar II	1 0 2 0 3 0		0	1 0 2 0 3 0		0
	<i>A. sterilis</i> I.376	1 0 2 0 3 0		0	1 0 2 0 3 0		0
Blés	AUS 10894 ( <i>Cre 1</i> )	1 0 2 0 3 0		0	1 0 2 0 3 0		0
	Loros ( <i>Cre 1</i> )	1 0 2 0 3 0		0	1 0 2 0 3 0		0
	Capa	1 6 2 5 3 5		5.2 ± 0.57	1 4 2 2 3 3		3.1 ± 1

Le comportement des cultivars testés en boîtes de Petri est similaire à celui exprimé en conditions naturelles :

Chez les orges, Emir est le seul cultivar ayant permis le développement du nématode avec 4 kystes formés chez la population de Tiaret et 5 kystes pour la population d'Oued Smar.

Un seul kyste est toutefois formé sur un plant du cultivar Siri mais considéré comme résistant car la moyenne de kystes formés ( $3.7 \pm 0.57$ ) est inférieure à 1,0 selon la définition de la résistance considérée dans notre expérimentation à savoir celle de Bekal *et al.*, 1998.

Capa est le seul cultivar de blé sensible au développement du nématode avec des moyennes respectives de  $5.2 \pm 0.57$  et de  $3.1 \pm 1$  kystes néoformés pour les populations de Tiaret et d'Oued Smar. Les deux autres cultivars AUS 10894 et Loros sont résistants.

Les deux cultivars d'avoine Nidar II et *A. sterilis* I.376 sont également nettement résistants puisqu'aucun kyste n'a pu s'y développer.

Les résultats de ces deux tests sont comparés à ceux de la matrice établie par Rivoal et Cook (1993) et actualisée par Smiley *et al.* (2011) afin de pouvoir déduire le groupe de pathotype d'*H. avenae* auquel appartiennent les deux populations étudiées (Tableau 20).



**Tableau 20** – Pathotypes d'*Heterodera avenae* découlant de l'essai d'assortiment international dans sa version mise à jour par Smiley *et al.*, 2011 et réaction des cultivars différentiels envers deux populations algériennes d' *H. avenae* (Tiaret et Oued Smar) en conditions naturelles et *in vitro*.

Cultivar différentiels	Pathotypes of <i>H. avenae</i>									Test en pot		Test <i>In vitro</i>		Réaction cultivar <sup>3</sup>		
	Groupe			Groupe			Groupe			Tiaret	Oued Smar	Tiaret	Oued Smar			
	1			2			3									
	Ha	Ha	Ha	Ha	Ha	Ha	Ha	Ha	Ha							
	11	21	31	41	51	61	71	81	12	22	13	kystes/plant <sup>1</sup>	Femelles blanches/plant <sup>2</sup>			
<b>Orge</b>																
Ortolan ( <i>Rha</i> 1)	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	0	0	0	0	R
Siri ( <i>Rha</i> 2+)	R	R	R	S	S	S	(S)	R	R	R	S	0	0	0.3 ± 0.6	0	R
Morocco ( <i>Rha</i> 3+)	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	0	0	0	0	R
Emir ( <i>Rha</i> E) <sup>4</sup>	S	S	-	S	-	R		S	S	S	S	45.9 ± 1.6	137.1 ± 1.5	3.7 ± 0.6	4.8 ± 1.5	S
<b>Avoine</b>																
Nidar II <sup>4</sup>	S	-	-	(S)	-	S	R	R	S	R	S	0	0	0	0	R
<i>A. sterilis</i> I.376	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	0	0	0	0	R
<b>Blé</b>																
AUS 10894 ( <i>Cre</i> 1)	R	-	-	R	-	R	R	R	R	S	(R)	0	0	0	0	R
Loros ( <i>Cre</i> 1)	R	R	-	R	-	(R)	R	R	R	R	(R)	0	0	0	0	R
Capa <sup>4</sup>	S	S	-	S	-	S	S	S	S	S	S	161.1 ± 1.7	22.9 ± 1.6	5.2 ± 0.6	3.1 ± 1.0	S

<sup>1</sup> Nombre moyen de kystes/plant avec erreur standard de la moyenne; n = 8.

<sup>2</sup> Nombre moyen de femelles/racine avec erreur standard de la moyenne; n = 3.

<sup>3</sup> Réaction des cultivars: **R** = résistant, **S** = susceptible; R est défini comme la moyenne du nombre de kystes / plant, inférieure à 5% pour le test en pot (Lucke, 1976), et moins d'une femelle blanche par racine pour le test *in vitro* (Bekal *et al.*, 1998).

#### 4.4. – Discussion

Les populations de Tiaret et d'Oued Smar ont montré un comportement similaire sur l'ensemble des céréales différentielles.

Selon les définitions d'Ireholm (1994) et Bekal *et al.* (1998), relatives à la réaction de l'hôte, les populations testées sont considérées virulentes sur le blé Capa et l'orge Emir et avirulentes sur le reste des cultivars. Néanmoins, leurs degrés de virulence sont différents.

En effet, la population de Tiaret s'avère plus virulente sur le blé Capa que sur l'orge Emir. Inversement, la population d'Oued Smar se montre moins agressive sur Capa qu'elle l'est sur Emir. Cette variation serait probablement liée à leur capacité intrinsèque à la reproduction (Rivoal *et al.*, 2001 et Rivoal et Nicol, 2009), à leur préférence d'hôtes (Magnusson et Holgado, 2011), ou encore à leur origine géographique différente.

Concernant les orges, la reproduction des deux populations est largement tolérée par Emir portant le gène de résistance *RhaE*. Elle est par contre empêchée par les cultivars Ortolan, Siri, et Marocco porteurs respectifs des gènes de résistance *Rha1*, *Rha2+* et *Rha3*. La résistance de ces trois cultivars indique clairement que les deux populations d'*H. avenae* sont des pathotypes appartenant au Groupe 1.

En se basant sur la réaction des quatre orges différentielles notamment la résistance du cultivar Ortolan, et selon le schéma établi par Andersen et Andersen (1982a) révisé par Rivoal et Cook (1993), les populations testées sont classées dans le groupe *Ha1*.

En outre, la réaction des blés montre que les cultivars AUS 10894 et Loros, porteurs du gène de résistance *Cre1*, se sont opposés à la multiplication des deux populations alors que Capa s'avère un excellent hôte notamment pour le pathotype de Tiaret.

Quant aux cultivars d'avoine *A. sterilis* I.376 et NidarII, ils sont résistants et ne multiplient guère ces populations. Ce constat a été aussi enregistré chez les populations chinoises (Peng *et al.*, 1996). En effet, les avoines semblent constituer un mauvais hôte pour *H. avenae* dans les pays méditerranéens, contrairement à certains pays du Nord de l'Europe où elles sont considérées comme hôte préférentiel (Nicol, 2002 et Ireholm, 1994).

Si l'on considère le comportement des populations de Tiaret et Oued Smar sur la totalité des cultivars différentiels testés, elles peuvent être considérées comme deux entités physiologiques identiques malgré leur origine géographique diverse. Selon la matrice actualisée par Smiley *et al.* (2011), il en ressort clairement que ces populations appartiennent

au pathotype *Ha81*, décrit par Sanchez et Zancada (1987) dans les régions de Toledo et Sevilla mais qui n'a pas été inclus dans les révisions de Rivoal et Cook (1993).

Ces résultats ne concordent pas avec ceux de Bossis et Rivoal (1996) qui confirment que la population algérienne en provenance de Tiaret (Sidi Hosni) présente les caractéristiques du pathotype méridional *Ha 41* de l'espèce *H. avenae sensu strictos*, qui s'attaque préférentiellement aux blés plutôt qu'aux avoines sur lesquelles elle est avirulente (Rivoal et Cook, 1993).

Par ailleurs, les tests d'éclosion montrent que ces populations présentent des caractéristiques biologiques identiques à celles des écotypes méridionaux (Mokabli *et al.*, 2001) ayant une diapause estivale et une activité larvaire hivernale (Person-Dedryver, 1989) coïncidant avec les stades sensibles des céréales.

La description d'un même pathotype dans deux régions bioclimatiques différentes, n'exclue pas l'existence d'un mélange de pathotypes au sein de chacune d'elles, vu la variabilité de la virulence phénotypique enregistrée chez des populations locales dans plusieurs pays (Yuan *et al.*, 2010 ; Holgado *et al.*, 2009).

Ces résultats préliminaires doivent être confirmés par l'emploi d'une gamme plus large de cultivars-test, notamment les avoines dont la réaction spécifique pourrait améliorer la classification des pathotypes (Irehom, 1994).

Il serait souhaitable d'élargir les tests de virulence sur les variétés céréalières cultivées localement et d'explorer les graminées sauvages afin de déceler d'éventuelles sources de résistance pour les intégrer dans les systèmes de culture.

# Chapitre V

## Chapitre V – Recherche des champignons antagonistes des kystes d'*Heterodera* spp.

Le principal objectif de cette partie est d'investiguer sur la présence des champignons antagonistes des nématodes à kystes des céréales, qui sont connus pour leur effet régulateur des populations d'*Heterodera* spp.

La recherche de ces antagonistes est effectuée uniquement sur les kystes extraits à partir du sol.

Ce travail est réalisé en partie au le laboratoire de Nématologie et de Mycologie du Centre National de Contrôle et de Certification des semences et des plants (CNCC) d'El - Harrach puis complété au Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides (URZA) de la Faculté des Sciences Biologiques de l'USTHB.

### 5.1. – Matériel

#### 5.1.1. – Matériel biologique

Kystes pleins d'*Heterodera* spp. récoltés de différentes parcelles céréalières.

#### 5.1.2. – Matériel de laboratoire

##### 5.1.2.1. – Appareillage

- Hotte à flux laminaire
- Incubateur (Memmert)
- Microscope optique (Leica)
- Loupe binoculaire

##### 5.1.2.2. – Petit matériel

- Boîtes de Petri
- Bec Bünsen
- Pinceaux
- Verres de montre
- Cellule de Malassez

##### 5.1.2.3. – Solutions et milieux de culture :

- NaOCl à 1 %
- Antibiotique (Amoxycilline)
- Gélose nutritive
- Corn Meal Agar (CMA)
- Potato Dextrose Agar (PDA)
- Potato carrot agar (PCA).
- Czapek dox agar (CZ-dox)
- Malt Extract Agar (MEA)
- Bleu coton
- Eau distillée stérile

La composition et la préparation des milieux sont mentionnées en

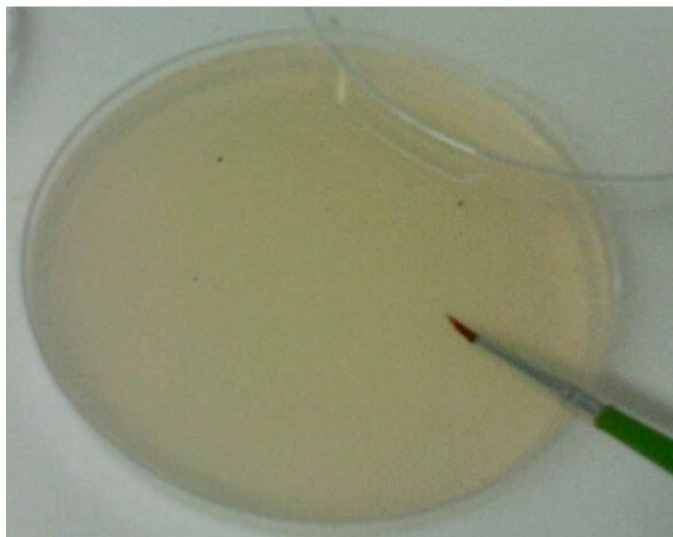
## 5.2. – Méthodes

### 5.2.1. – Isolement de la mycoflore à partir des kystes

#### 5.2.1.1. – Isolement sur un milieu de base GN à 2%

Cet isolement est réalisé selon le protocole décrit par Mensi *et al.* (2011). Il a concerné trois populations d'*Heterodera* provenant respectivement de Bouandas (Sétif) et des parcelles P1 et P2 de Tipaza.

Les kystes sont soigneusement nettoyés à l'eau distillée avec un pinceau puis désinfectés dans une solution de NaOCl à 1% pendant une minute et rincés dans cinq bains successifs d'eau distillée stérile. Ils sont ensuite ensemencés sur gélose nutritive 2% à raison de quatre kystes par boîte avec trois répétitions par population (Fig.31).



**Fig. 31** – Ensemencement des kystes sur gélose nutritive à 2%.

Les boîtes sont incubées à 22°C pendant 72 heures puis examinées sous loupe binoculaire toutes les 48 heures pendant les dix premiers jours puis une fois par semaine ultérieurement. Toutes les colonies mycéliennes qui se sont développées à partir des kystes, sont repiquées séparément sur milieu Malt afin de les purifier. A partir de ces isolats, des cultures monosporales sont effectuées sur le milieu Corn Meal Agar (CMA) pour leur identification.

#### 5.2.1.1.1. – Purification des isolats

A partir d'une culture relativement jeune, une d'inoculum est prélevée puis placée dans un tube contenant 10 ml d'eau distillée stérile.

A partir de cette suspension mère, une série de dilutions est réalisée de manière à obtenir une suspension finale d'une concentration comprise entre  $10^3$  à  $10^2$  spores/ml (fig. 32, Etape1).

La concentration des dilutions est déterminée par l'usage de la cellule de Malassez détaillée dans l'annexe 5.

Une goutte de cette dilution est prélevée à l'aide d'une pipette pasteur puis étalée sur des boîtes contenant le milieu Corn Meal Agar (fig.32, Etape 2). Ces dernières sont incubées à  $22^{\circ}\text{C}$ . Après 24 heures d'incubation, un prélèvement monospore est effectué sous loupe binoculaire, à l'aide d'une pipette pasteur effilée et stérile.

Les spores prélevées séparément sont repiquées dans les boîtes de Petri contenant le milieu Corn Meal Agar et incubées à une température de  $22^{\circ}\text{C}$  pendant 72 heures afin de procéder à leur identification.

Les étapes de la culture monospore sont représentées dans la figure 32.



Etape 1 : Préparation des dilutions



Etape 2 : Comptage et ensemencement des spores

**Fig. 32** – Etapes de la culture monospore.

### **5.2.1.2. – Isolement sur des milieux complexes**

Afin de favoriser l'isolement et la croissance d'un maximum de champignons parasites des kystes, nous avons élargi la gamme de milieux de culture en utilisant cinq milieux variés. Il s'agit des milieux : PDA, PCA, CMA, MEA, CZ-dox.

Trois populations de kystes d'*Heterodera* sont concernées par cet isolement : Oued Smar, Bouira et Tipaza. Les kystes de chaque population sont désinfectés à l'Amoxicilline, pendant 1mn afin d'éviter les contaminations bactériennes, puis rincés à l'eau distillée et ensemencés à l'aide d'un pinceau stérile sur les 5 milieux de culture à raison d'un kyste par boîte avec 3 répétitions par population, soit un total de 15 boîtes par population. Les boîtes ensemencées sont incubées à 27°C pendant 5 jours.

#### **5.2.1.2.1. – Purification des isolats**

La purification des isolats se fait par des repiquages successifs sur les mêmes milieux afin d'obtenir de les purifier de toutes contamination possible.

A partir de chaque culture âgée de 5 jours, un fragment de gélose contenant le mycélium est prélevé à l'aide d'une aiguille stérile puis déposé dans des boîtes de Petri contenant chacune un les milieux de culture suivants : PDA, PCA, CMA, CZ-dox et MEA. Les boîtes sont ensuite incubées à 27°C.

### **5.2.2. – Isolement de la mycoflore à partir du sol**

Une pincée de 1 mg de sol provenant de la station de l'I.T.G.C. (Oued Smar) est saupoudrée de façon homogène sur toute la surface de la gélose nutritive en boîte de Petri. Trois boîtes sont ensemencées puis incubées à 27°C.

Toutes ces manipulations sont réalisées sous une hôte à flux laminaire horizontal afin d'éviter les contaminations externes.

### **5.2.3. – Lecture et identification**

La lecture est basée dans un premier lieu sur l'examen macroscopique (visuel) des cultures en boîtes et sous loupe binoculaire ce qui permet une description morphologique visuelle des colonies apparues. Dans un second lieu, un examen microscopique des montages en lame permet l'observation des fragments mycéliens et éventuellement de leurs fructifications spécifiques (annexe 7).

#### **5.2.3.1. – Critères macroscopiques**

Il s'agit de décrire la morphologie générale de la colonie en tenant compte des critères suivants :



- Aspect : colonie duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses. Certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre.
- Pigmentation : blanche, crème, jaune, orange, verte, brune allant jusqu'au noir.
- Relief : colonie plate ou plissé.
- Consistance : molle, friable, élastique ou dure.

#### 5.2.3.2. – Critères microscopiques

- Le thalle : C'est l'appareil végétatif du champignon. Il est constitué de filaments ou hyphes et peut être :
  - Siphonné : non cloisonné, constitué d'éléments tubulaires peu ou pas ramifiés, de diamètre large et irrégulier (5-15  $\mu\text{m}$ ).
  - Ce type de thalle caractérise les Zygomycètes.
  - Cloisonné ou septé : constitué de filaments de diamètre étroit (2-5  $\mu\text{m}$ ) et régulier, divisé par des cloisons en articles unis ou pluricellulaires. Ce type de thalle est caractéristique des Ascomycètes, des Basidiomycètes et de s Deutéromycètes (Badillet *et al.*, 1987) .
- Les spores : Les spores sont soit endogènes chez les Mucorales soit exogènes chez les Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes (Campbell *et al.*, 1996).

D'une manière générale, l'observation au grossissement X 400 est suffisante pour mettre en évidence la plupart des structures des champignons (Cahagnier et Richard-Mollard, 1998).

Les isolats sont identifiés sur la base de leurs caractéristiques morphoculturelles et microscopiques en les comparant aux genres fongiques décrits par différents auteurs.

Cette identification est effectuée en collaboration avec les spécialistes en mycologie de l'ENSA d'El-Harrach et de la FSB de l'USTHB par l'usage de la clé de Barnnet et Hunter (1998) et celle de Saint-Germain (2012) présentée en annexe 8.

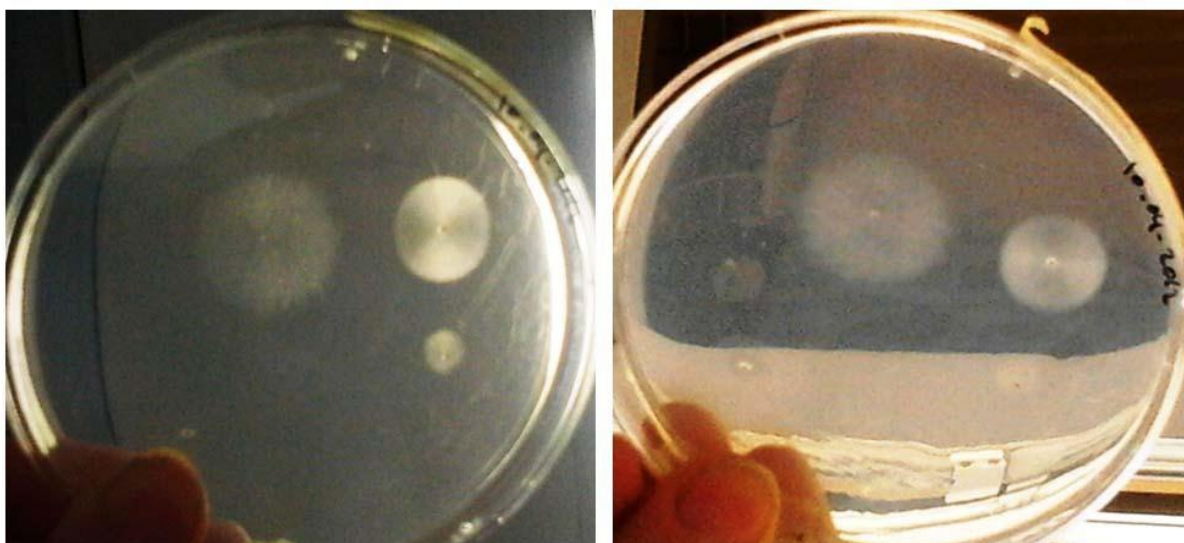
### 5.3. – Résultats

#### 5.3.1. – Mycoflore isolée à partir des kystes

##### 5.3.1.1. – Mycoflore isolée sur GN à 2%

L'examen macroscopique des ensemencements révèle une croissance de colonies mycéliennes sur toutes les boîtes ensemencées (Fig.33). Leur nombre varie selon les boîtes.

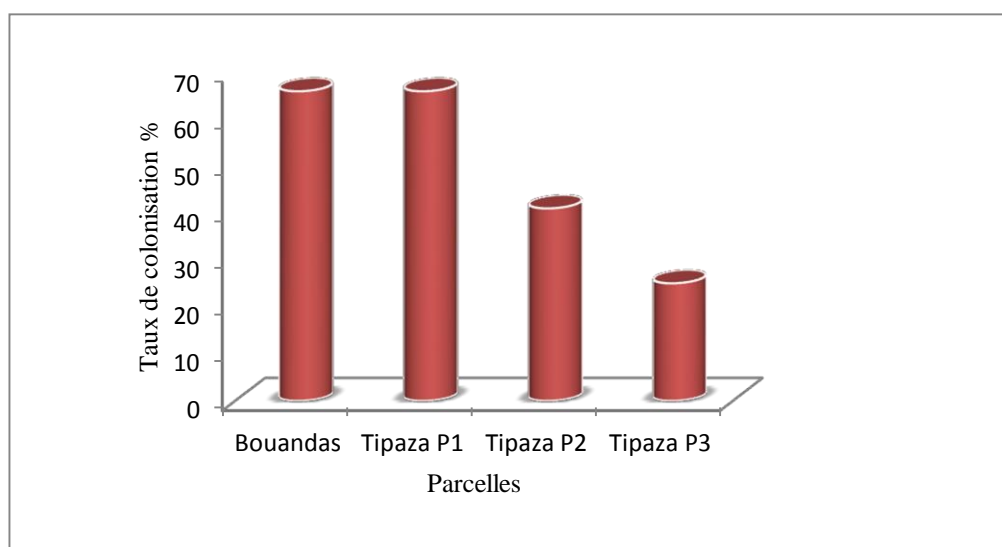
Certains kystes n'ont exprimé aucune croissance fongique.



**Fig. 33** – Croissance des colonies mycéliennes à partir des kystes d' *Heterodera* sp.

#### 5.3.1.1.1. – Taux de colonisation des kystes

Le taux de colonisation des kystes varie d'une population à une autre voire d'une boîte à une autre pour la même population (Fig. 34).



**Fig. 34** – Taux de colonisation des kystes des quatre parcelles.

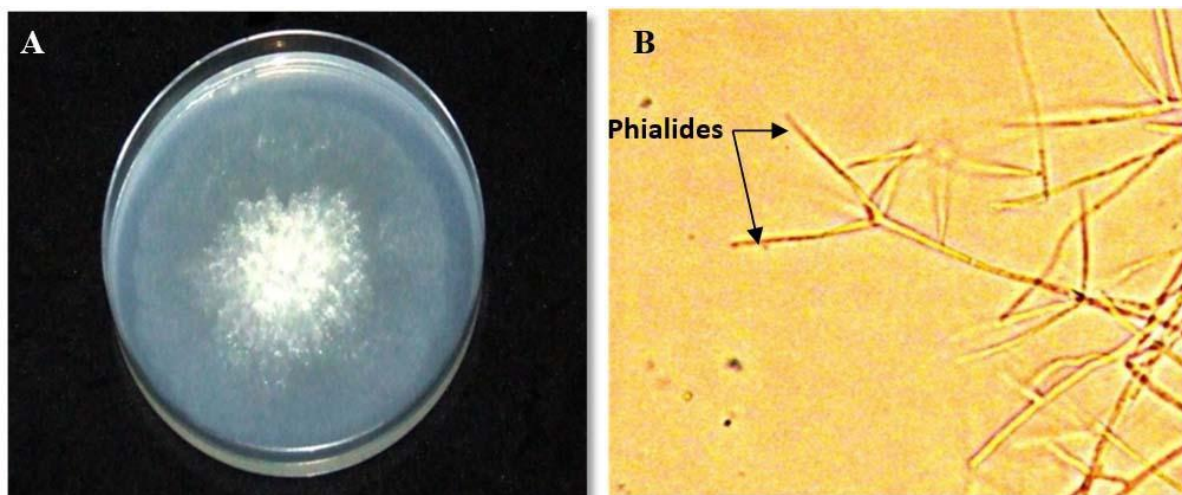
Les kystes des populations de Bouandas (Sétif) et P1 de Tipaza présentent le taux de colonisation le plus élevé avec 66% pour chacune.

#### 5.3.1.1.2. – Identification de la mycoflore

L'examen macroscopique a permis de distinguer sept types de colonies mycéliennes, mais seules deux sont identifiées au stade genre.

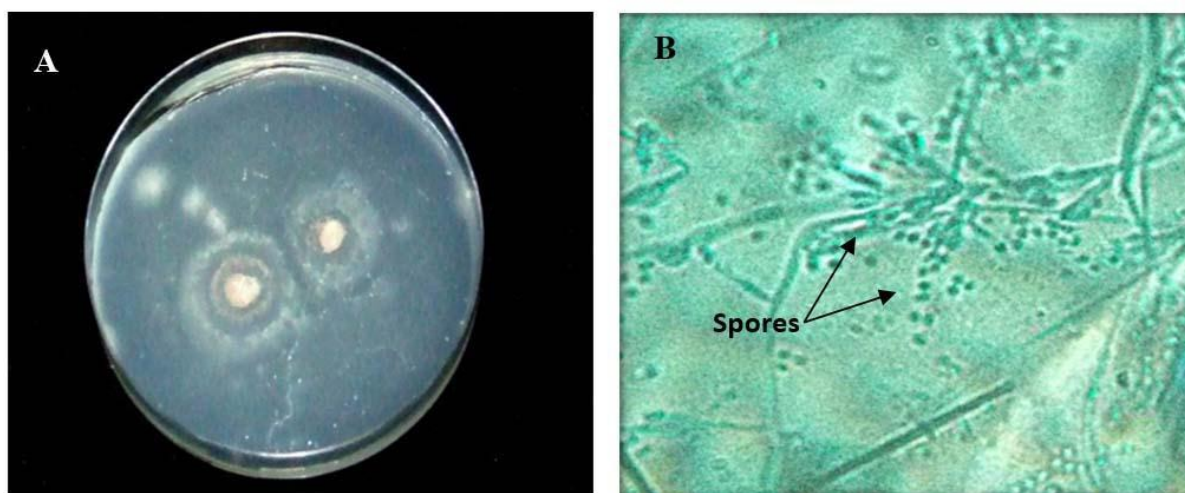
Le premier type présente des colonies veloutées, laineuses, de couleur blanche à crème (Fig.35A), avec une croissance modérée.

L'examen microscopique montre des hyphes ramifiés, simples ou verticillés (Fig.35B) et des conidies unicellulaires, portées individuellement par l'extrémité des phialides.



**Fig. 35** – Aspect cultural macroscopique (A) et microscopique (B) (GrX40) du genre *Verticillium* sp. après 10 jours d'incubation.

Le deuxième type de colonies présente un aspect poudreux, une couleur rose et une croissance rapide (Fig.36 A).



**Fig.36** – Aspect cultural macroscopique (A) et microscopique (B) (GrX40) du genre *Paecilomyces* sp. après 10 jours d'incubation.

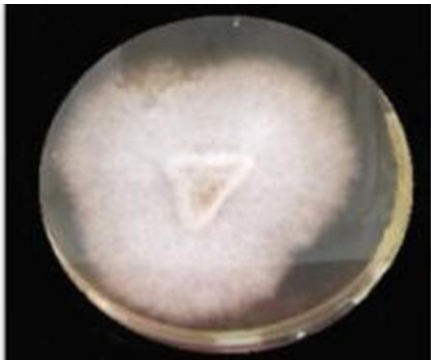
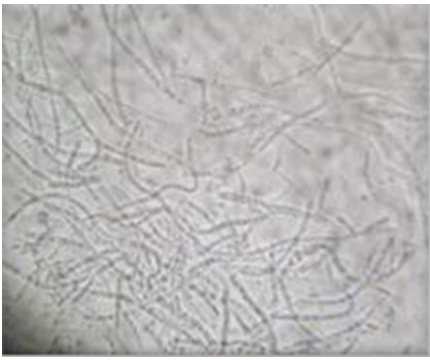
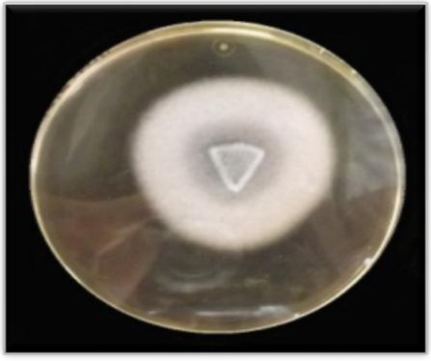

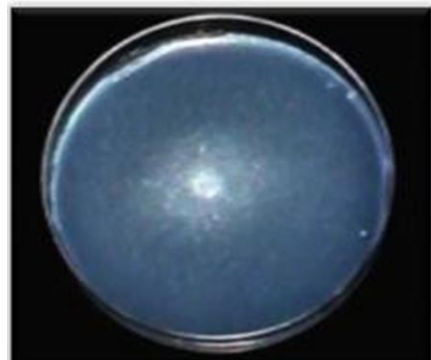

Les conidiophores ramifiés en verticilles portent des phialides cylindriques ou renflés dans la partie inférieure se terminant par un long col effilé et étroit.

Les conidies sont lisses et ovoïdes, et sont disposées en très longues chaînes basipétales, divergentes ou enchevêtrées (Fig.36 B). Ces caractéristiques sont identiques à celles du genre *Paecilomyces* sp.

### 5.3.1.1.2. – Mycoflore non identifiée

Trois autres isolats n'ont pu être identifiés. Ils sont regroupés dans le tableau 21.

**Tableau 21** – Aspect macroscopique et microscopique des souches non identifiées, isolées sur milieu de base.

Population (kyste)	Aspect macroscopique	Aspect microscopique
Bouandas		
Tipaza P1		
Tipaza P3		

### 5.3.1.2. – Microflore isolée sur les milieux complexes

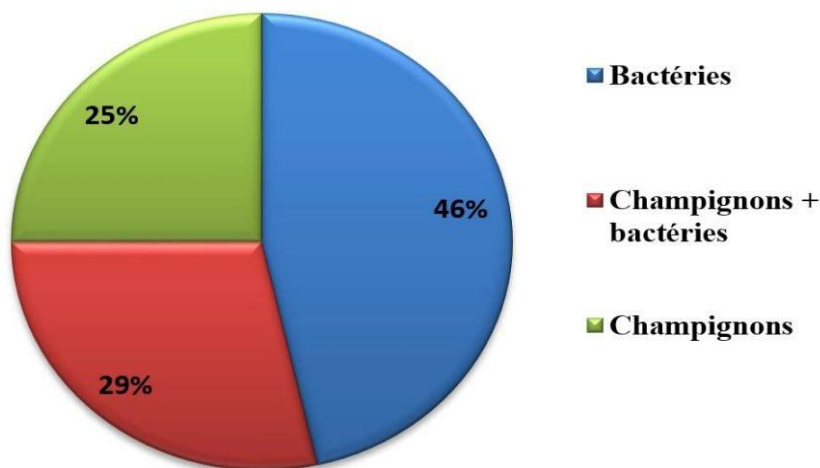
#### 5.3.1.2.1. – Lecture macroscopique

L'examen macroscopique des boîtesensemencées révèle la croissance d'une microflore mixte composée de bactéries et/ou de champignons.

Sur un total de 45 boîtesensemencées, 28 ont montré la croissance d'une microflore, soit un taux de 62.2%. Les 17 boîtes restantes (37.8%) n'ont exprimé aucune croissance microbienne.

##### 5.3.1.2.1.1. – Fréquence de la microflore dans les boîtes

La microflore totale isolée est dont la répartition sur les boîtes est hétérogène (Fig. 37).



**Fig.37** –Fréquence de la microflore dans les boîtesensemencées.

Cette figure montre que les bactéries dominent nettement dans les boîtes avec un taux de 46%. Les champignons ne sont présents que dans 25% des boîtes ; alors que la croissance simultanée les deux micro organismes constitue 29% de la microflore totale.

Les résultats des ensemencements des kystes sur les 5 milieux de culture sont détaillés dans le tableau 22.

**Tableau 22** – Microflore totale issue des kystes ensemencés sur les milieux complexes.

Milieux		CMA			PCA			PDA			MEA			CZ-dox		
Répétition		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Population (kystes)	ITGC Oued smar	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
	Bouira	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
	Tipaza	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-

(+) Croissance de champignons ; (+) Croissance de bactéries ; (-) Aucune croissance.

Nous constatons à travers ces résultats que la croissance de la microflore diffère d'une boîte (ou répétition) à une autre et ce indépendamment de l'origine géographique des kystes ensemencés et des milieux de culture employés.

A titre d'exemple, nous notons chez les kystes de la population de Bouira ensemencés sur le milieu PCA, la présence des champignons et des bactéries dans la répétition 1, des bactéries uniquement dans la répétition 2 et l'absence des deux dans la répétition 3.

Cette différence témoigne d'une grande diversité de la microflore parasite des kystes d'*Heterodera* spp., même lorsqu'ils appartiennent à la même population.

#### 5.3.1.2.1.2. – Fréquence de la microflore selon les milieux de culture

La composition du milieu de culture semble exercer un effet sur la croissance de la microflore (Tab.23).

**Tableau 23** – Fréquence de la microflore selon les milieux de culture

Milieux / Microorganismes %	CMA	PCA	PDA	MEA	CZ-dox
Champignons	44.4	33.3	33.3	44.4	11.1
Bactéries	44.4	66.6	77.7	11.1	33.3
Aucun	22.2	22.2	22.2	55.5	66.6

Les milieux CMA et MEA semblent favoriser le développement des champignons avec un taux de croissance de 44.4%, alors que la croissance des bactéries est favorisée par le milieu PDA et PCA dont la croissance est de 77.7 et 66.6 % respectivement.

CZ-dox est le milieu qui convient peu au développement bactérien et très peu à la croissance fongique.

#### 5.3.1.2.1.3. – Fréquence de la microflore selon les populations

La présence et l'abondance des champignons et/ou des bactéries varient d'une population à une autre (Tab. 24).

**Tableau 24** –Fréquence de la microflore selon les populations de kystes.

Fréquence (%) / Kystes	Champignons	Bactéries	Champignons et Bactéries	Aucune croissance
O.smar	20	46.6	13,3	20
Bouira	20	20	26.6	33,3
Tipaza	6.6	20	13.3	60

Un taux de croissance bactérienne important (46%) est noté chez les kystes de la population d'Oued Smar comparativement à celui des kystes de Bouira et de Tipaza (20%).

La flore fongique est par contre moins abondante. Elle ne représente que 20% chez les kystes d'Oued Smar et de Bouira et 6.6% chez ceux de Tipaza ayant montré globalement une faible croissance des micro-organismes

\* Dans cette partie, nous nous intéressons uniquement à la flore fongique associée aux kystes d'*Heterodera* sp. Mais, l'abondance de la flore bactérienne malgré l'addition préalable de l'antibiotique aux milieux de culture, mérite une attention particulière.

### 5.3.1.2.2. – Identification microscopique de la mycoflore isolée

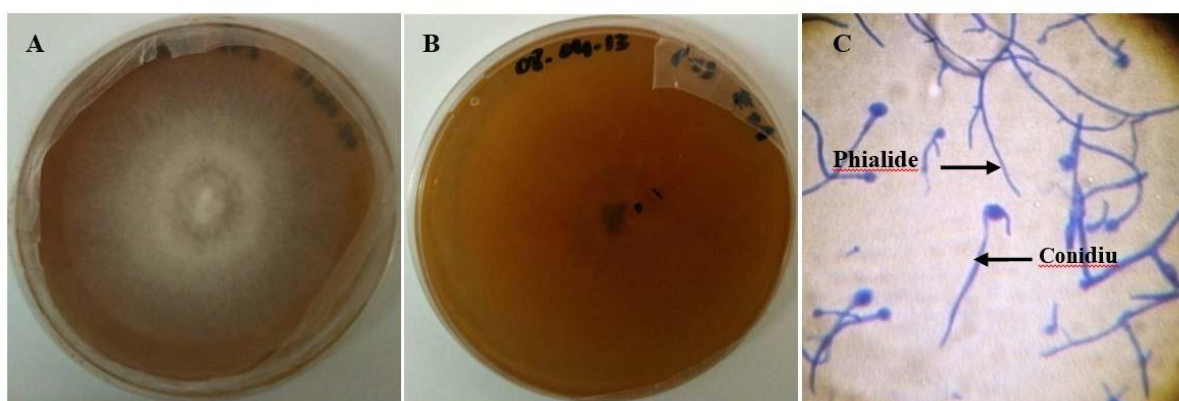
#### 5.3.1.2.1. – Microflore isolée sur les kystes d'Oued Smar

Neuf souches sont isolées dont six sont décrites et identifiées.

##### Isolat 1 :

Isolé uniquement sur le milieu MEA, cette souche se présente sous forme d'une colonie cotonneuse, aérienne de couleur blanche de face rose foncée au revers (Fig.38 A et B).

L'observation microscopique montre un mycélium fin non septé, un conidium arrondi porté par un conidiophore (Fig.38 C). Ces caractéristiques sont conformes à celles décrites par Esser (1992) correspondant au genre *Harposporium* sp. appartenant à la classe Hyphomycètes et au phylum Deuteromycota.



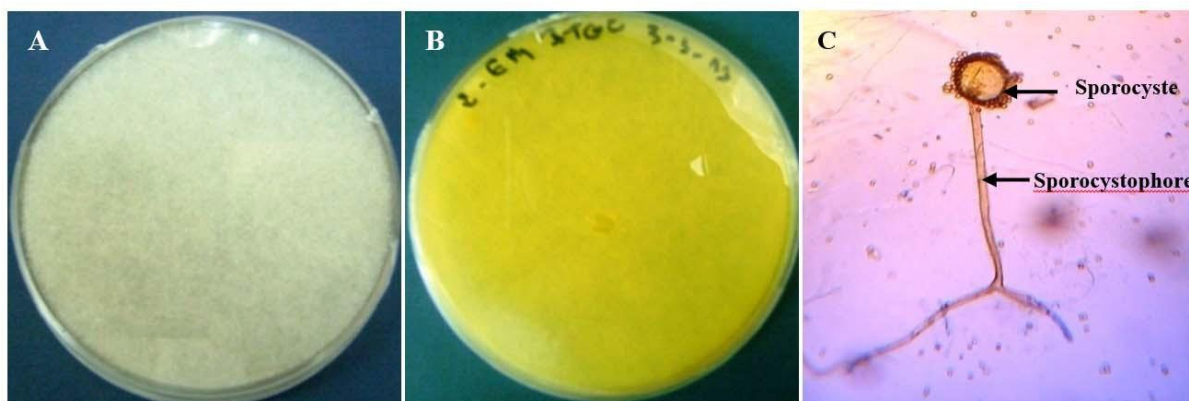
**Fig. 38** – Aspect macroscopique (A, B) et microscopique au Gr x400 (C) de *Harposporium* sp. 5 jours après d'incubation.

##### Isolat 2 :

Cette souche est isolée sur les milieux PCA, CMA, CZ-dox et MEA. Sur ce dernier, la colonie a un aspect cotonneux aérien avec des sporocystes noirs visibles à l'œil nu. Elle est blanche de face et jaune au revers (Fig.39 A et B) et sa croissance est très rapide.

Cette souche se caractérise par l'absence des rhizoïdes et la présence d'un sporocyste globuleux porté par un sporocystophore (Fig.39 C). Les caractères de ce champignon sont semblables à ceux du genre *Mucor* sp., décrit par De Hoog *et al.* (2000). Il appartient à la classe des Zygomycètes et l'ordre des Mucorales.



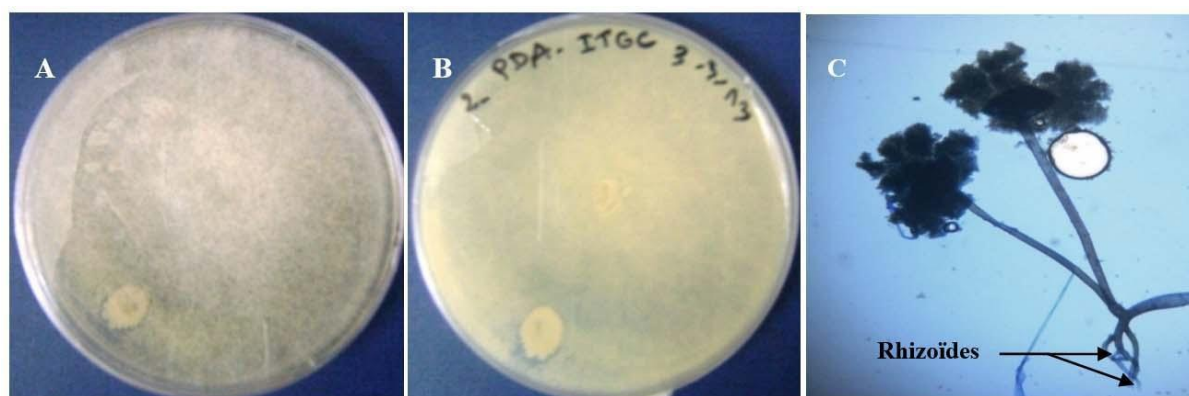


**Fig.39** – Aspect cultural (A, B) et microscopique au Gr X 400 (C) du genre *Mucor* sp.  
5 jours après incubation.

**Isolat 3 :**

Ce champignon est isolé sur milieu PDA. Il présente le même aspect macroscopique que le genre *Mucor* (Fig.40 A et B).

Il se caractérise par des rhizoïdes bien visibles à la base des sporocystophores et des sporocystes globuleux contenant des spores ovoïdes (Fig.40C). Ces caractéristiques rappellent celles du genre *Rhizopus* sp., décrit par De Hoog *et al.* (2000) qui appartient au phylum des Zygomycètes et à l'ordre des mucorales.

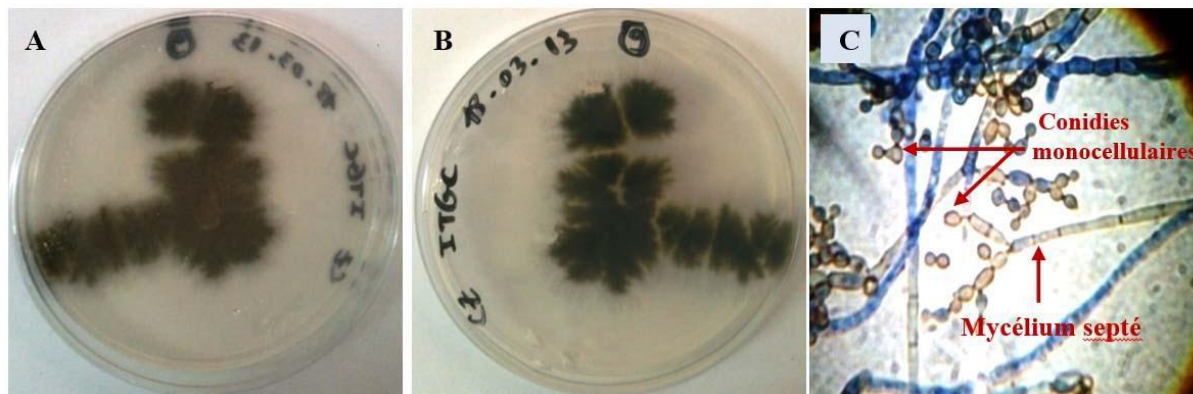


**Fig.40** – Aspect cultural (A, B) et microscopique au Gr x 400 (C) du genre *Rhizopus* sp.  
5 jours après incubation.

**Isolat 4 :**

Sur le milieu CZ-dox, cette souche présente une colonie duveteuse, de couleur vert olive de face et noire au revers (Fig.41 A et B). Au microscope, les Hyphes sont de couleur brune et les conidies sont monocellulaires (Fig.41 C).

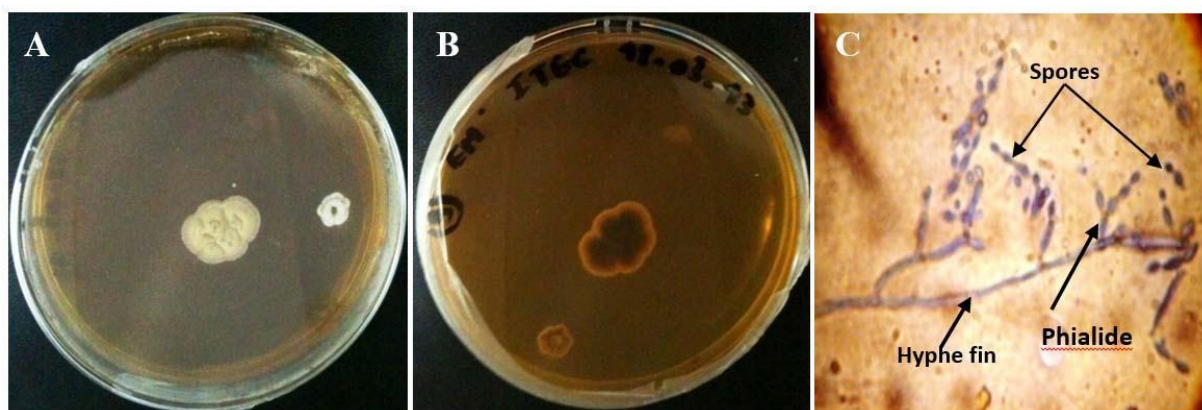
Cette description est conforme à celle du genre *Cladosporium* sp., donnée par Dixon (1991) et Sutton *et al.* (1998). Ce genre appartient au phylum des Ascomycètes.



**Fig.41** – Aspect cultural (A, B) et microscopique au Gr X 400 (C) du genre *Cladosporium* sp. 5 jours après incubation.

#### Isolat 5 :

Cette souche a été isolée sur le milieu MEA. La colonie est d'une couleur vert claire et un revers de couleur noire (Fig.42 A et B). Le mycelium est formé d'hyphes fins avec des phialides portant de petites spores ovoïdes (Fig.42 C). Les caractéristiques de cet isolat sont identiques à celles du genre *Chrysonilia* sp., décrit par Sutton *et al.* (1998). Le genre *Chrysonilia* sp. appartient au phylum des Ascomycètes.

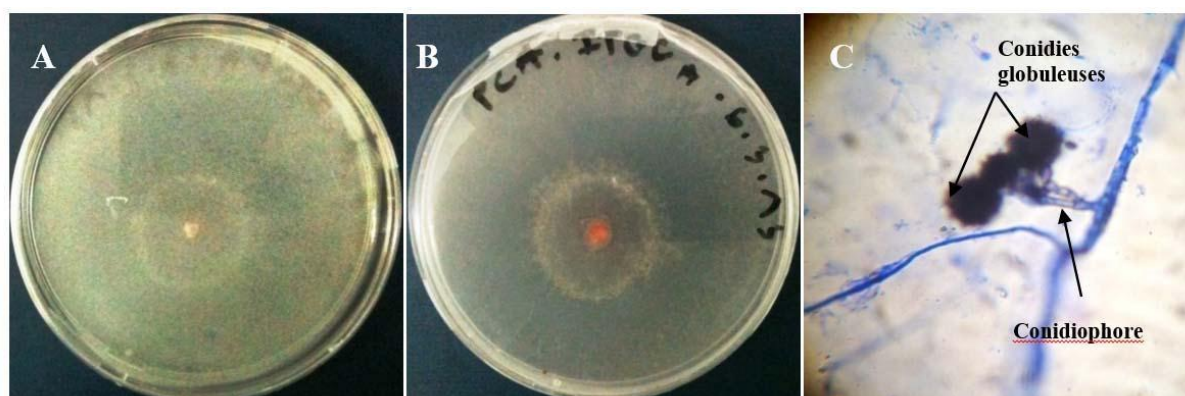


**Fig. 42** – Aspect cultural (A, B) et microscopique au Gr x 1000 (C) du genre *Chrysonilia* sp. 5 jours après incubation

### Isolat 6

Cet isolat s'est développé sur les milieux Cz-dox et PDA. Sur ce dernier, il présente une colonie submergée transparente de face à revers rose (Fig.43 A et B). Les conidiophores sont droits donnant naissance à des conidies globuleuses (Fig.343 C).

En comparant ces structures à celles décrites par Casillas-Martínez *et al.* (2005) et Cantrell *et al.* (2007) nous avons conclu qu'il s'agit du genre *Periconia* sp.



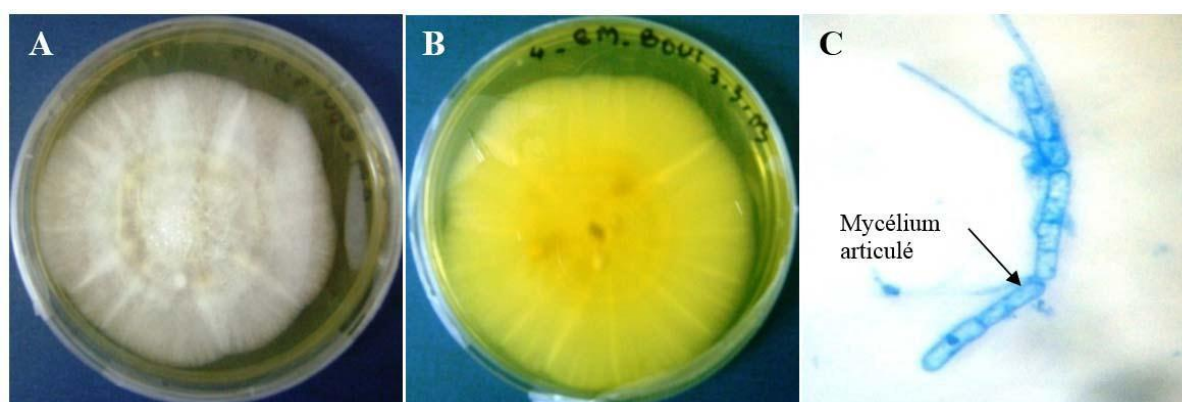
**Fig.43** – Aspect cultural (A, B) et microscopique au Gr x 400 (C) du genre *Periconiasp.* après 10 jours d'incubation

#### 5.3.1.2.2.2. – Mycoflore isolée sur les kystes de Bouira

Onze souches sont isolées à partir de ces kystes, dont six sont identifiées.

### Isolat 7 :

Cet isolat présente sur milieu MEA une colonie aérienne, cotonneuse de couleur blanche et au revers jaune (Fig.44 A et B). L'examen microscopique montre un mycélium articulé et des arthrospores (Fig.44 C).



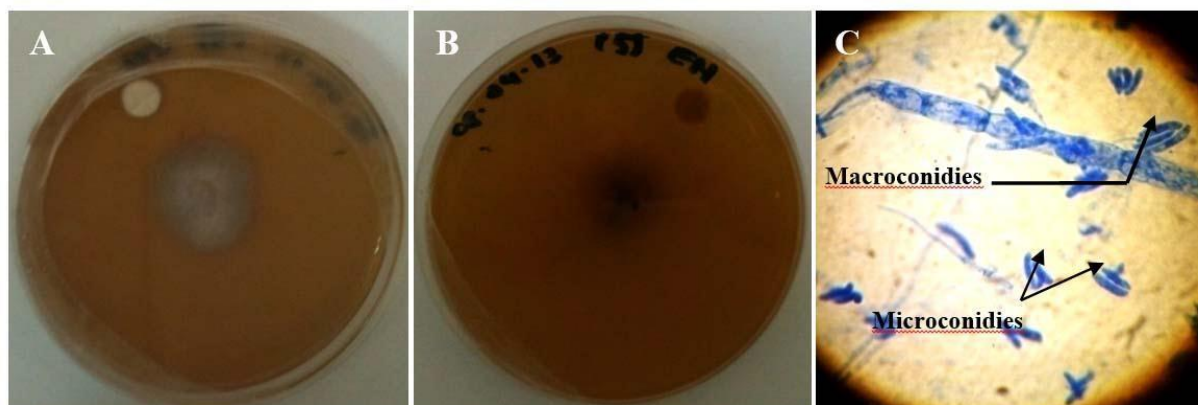
**Fig. 44** – Aspect cultural (A, B) et microscopique au Gr x 400 (C) du genre *Geotrichum* sp. après 10 jours d'incubation.

Cette description correspond parfaitement à celle donnée par Larone (1995) et Sutton *et al.* (1998) relative au genre *Geotrichum* sp. qui appartient au phylum des Ascomycètes et à l'ordre des Saccharomycetales.

#### Isolat 8 :

Ce champignon pousse sur les milieux CMA et MEA, cet isolat se caractérise par une croissance modérée et exprime une colonie à aspect cotonneux, de couleur blanche en face et rose à violet au revers (Fig.45 A et B). Les microconidies sont ovoïdes et abondantes alors que les macroconidies sont fusiformes plus ou moins courbées et septées (Fig.45 C).

Les caractéristiques de cette souche sont similaires à celles décrites par Larone (1995), ce qui nous permet d'identifier cet isolat comme étant *Fusarium* sp. Il appartient au phylum des Deutéromycètes et à la classe des Hyphomycètes.

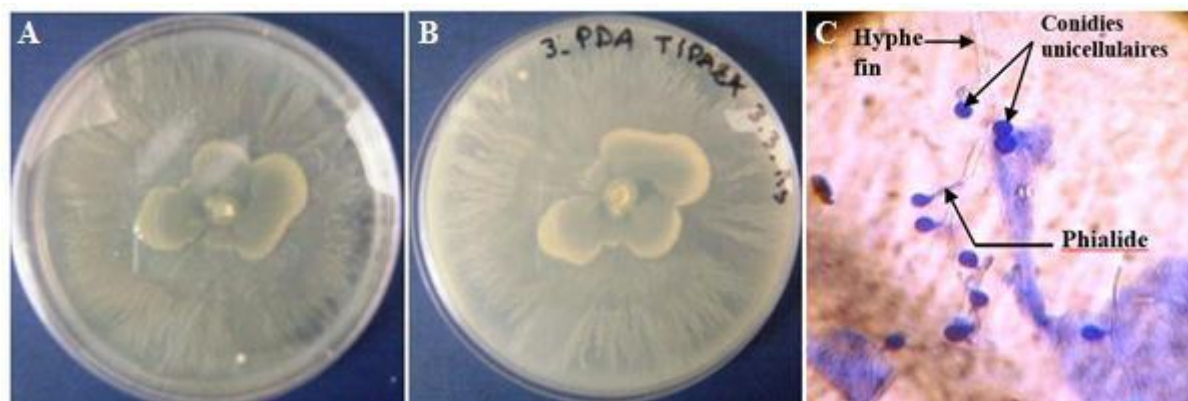


**Fig. 45** – Aspect cultural (A, B) et microscopique au Gr x 400 (C) du genre *Fusarium* sp. 10 après jours d'incubation.

#### Isolat 9:

Sur le milieu MEA, cette souche se caractérise par une colonie cotonneuse de couleur marron à revers noir (Fig.46 A et B) et une vitesse de croissance assez lente.

L'examen microscopique de cette souche montre des conidies arrondies de couleur marron (Fig.46 C). Ces conidies caractéristiques nous ont permis d'identifier ce champignon comme étant le genre *Torula* sp. qui appartient au phylum des Deutéromycètes et à la classe des Hyphomycètes.

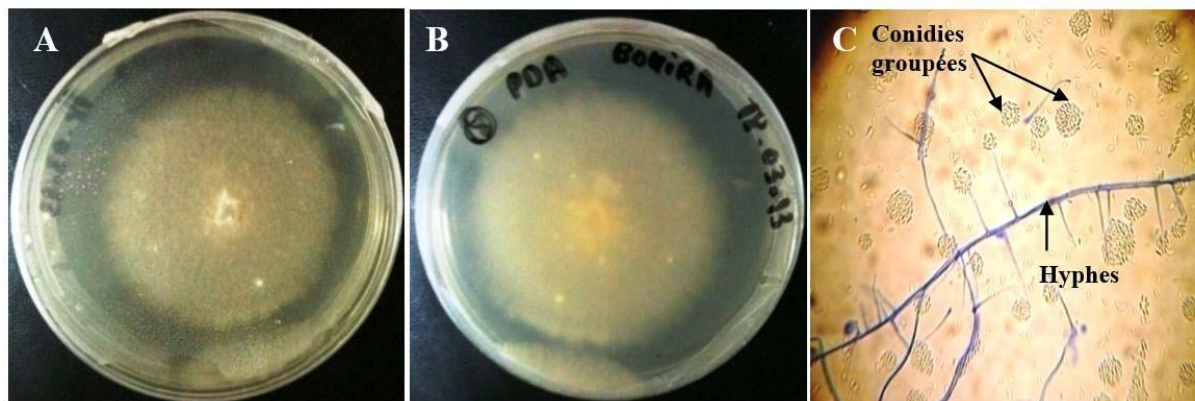


**Fig. 46** – Aspect cultural (A, B) et microscopique au Gr x 400 (C) du genre *Torula* sp. après 10 jours d’incubation.

**Isolat 10 :**

Cette souche est isolée sur le milieu PDA et présente une colonie submergée, de couleur beige (Fig.47A et B) et à revers blanc jaunâtre. Les hyphes sont assez fins avec des microconidies formant des groupements circulaires (Fig.47 C).

Cette description est identique à celle de Larone (1995) et de St-Germain (1996) et Collier (1998) ce qui nous a permis d’identifier ce genre comme étant *Acremonium* sp. qui appartient au phylum des Ascomycètes.



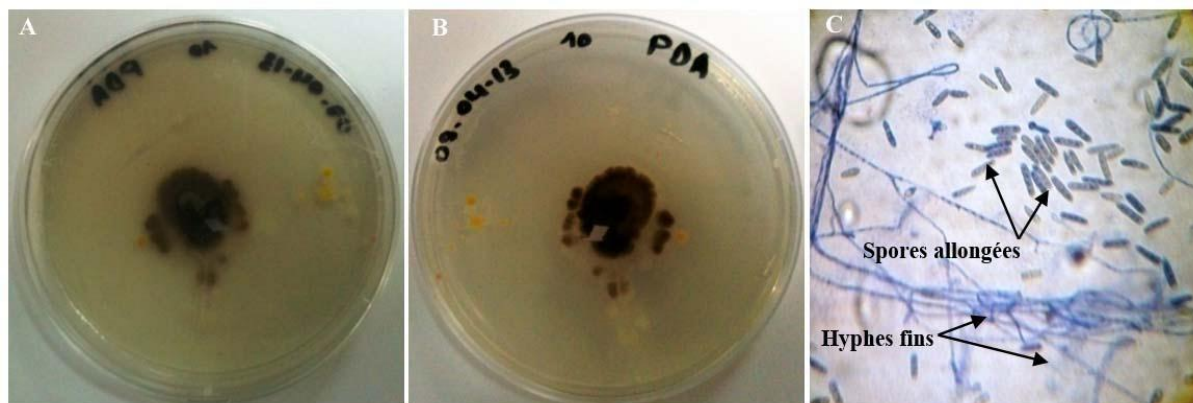
**Fig.47** – Aspect cultural (A,B) et microscopique au Gr x 400 (C) du genre *Acremonium* sp. après 10 jours d’incubation

**Isolat 11 :**

Cet isolat pousse sur les milieu PCA, CMA , CZ-dox et PDA, ses colonies sont veloutées, de couleur vert foncé de face et noire au revers (Fig.48 A et B).

Les hyphes sont fins avec des spores allongées (Fig.48 C).

Cette description correspond à celle du genre *Cylindrocarpon* sp., donnée par Dixon et Polack-wiss (1991).

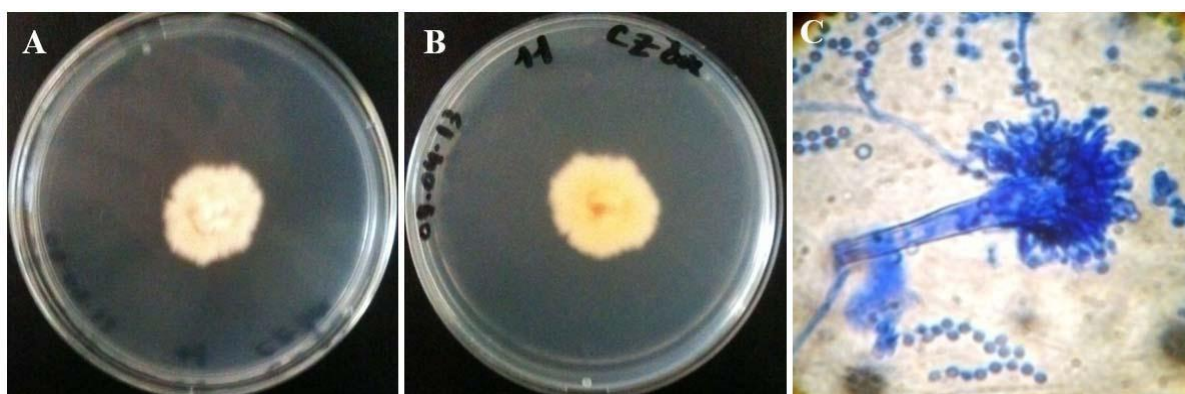


**Fig.48** – Aspect cultural (A, B) et microscopique au Gr x 400 (C) du genre *Cylindrocarpon* sp. après 10 jours d’incubation.

#### Isolat 12 :

Cet isolat s’est développé sur le milieu CZ-dox donnant une colonie de couleur blanche sur la face et jaune au revers (Fig.49 A et B). Cette souche présente des têtes aspergillaires portés par des filaments dressés appelés conidiophores et la présence des phialides (Fig.49 C).

Cette description est similaire à celle de Larone (1995) correspondant au genre *Aspergillus* sp. appartenant à la classe des Hyphomycètes et l’ordre des Moniliales.



**Fig.49** – Aspect macroscopique (A, B) et microscopique au Grx400 (C) d’*Aspergillus* sp. après 5 jours d’incubation.

### 5.3.1.2.2.3. – Mycoflore isolée sur les kystes de Tipaza

Nous avons isolé quatre souches dont deux sont identifiées.

#### Isolat 13 :

Sur le milieu PDA, cette souche donne une colonie submergée, de couleur blanche (Fig.50 A et B). Les hyphes sont assez fins avec des ramifications simples (Fig.50 C) ; les conidies unicellulaires sont portées individuellement par des phialides.

Comparé à celui décrit par Mensi *et al.* (2011), cet isolat serait probablement le genre *Pochonia* sp. qui appartient au phylum des Deuteromycota et à la classe des Hyphomycètes.

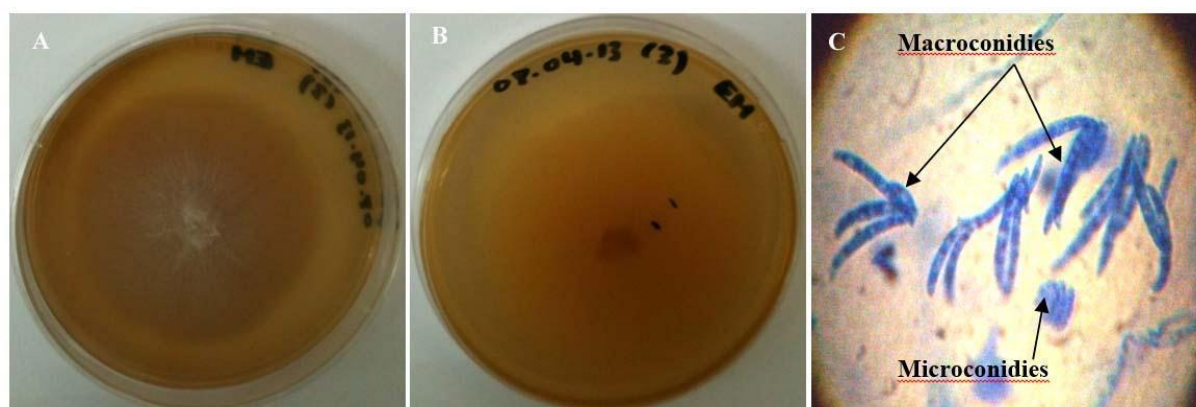


**Fig.50** – Aspect cultural (A,B) et microscopique au Gr x 400 (C) du genre *Pochonia* sp. après 10 jours d’incubation.

#### Isolat 14 :

Cette souche est isolée sur les milieux CMA, PCA, PDA et MEA. Sur milieu MEA, elle présente les mêmes caractéristiques culturales que celles de l’isolat 8 rencontré chez les kystes de Bouira. Les macroconidies sont fusiformes plus ou moins courbées et septées et les microconidies sont ovoïdes et abondantes (Fig.51 C). Les caractéristiques de cette souche sont similaires à celles de la souche décrite par Larone (1995).

Sur la base de ces critères, l’isolat est identifié comme étant *Fusarium* sp. qui appartient au phylum des Deutéromycètes et à la classe des Hyphomycètes.



**Fig.51** – Aspect cultural (A,B ) et microscopique au Gr x 400 (C ) du genre *Fusarium* sp. après 10 jours d’incubation.

Les genres fongiques isolés des kystes de chaque population sont récapitulés le tableau 25.

**Tableau 25** – Diversité des champignons isolés des populations de kystes d’*Heterodera* sp..

Population	Nombre total d’isolats	Nombre d’isolats identifiés	Genres identifiés
ITGC OuedSmar	09	06	<i>Harposporium</i> sp., <i>Mucor</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Chrysonilia</i> sp., <i>Periconia</i> sp.
Bouira	11	06	<i>Geotrichum</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Torula</i> sp., <i>Acremonium</i> sp., <i>Cylindrocarpum</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp.
Tipaza	04	02	<i>Pochonia</i> sp. , <i>Fusarium</i> sp.

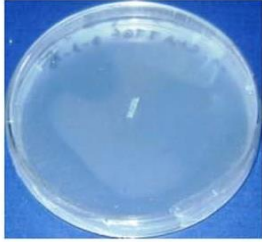
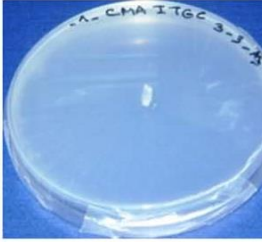

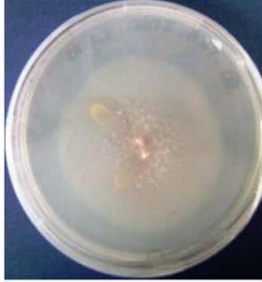
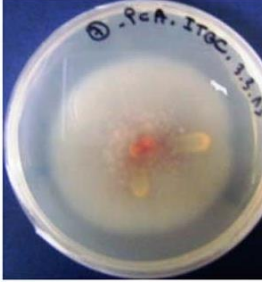
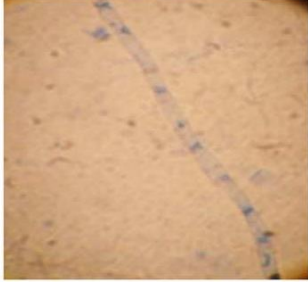



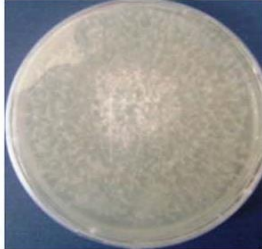


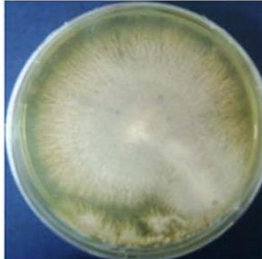
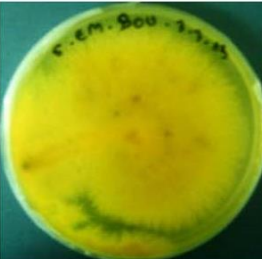
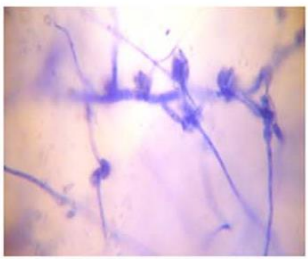
La plupart des champignons isolés appartiennent à la classe des Deutéromycètes et à l’ordre des Hyphales.


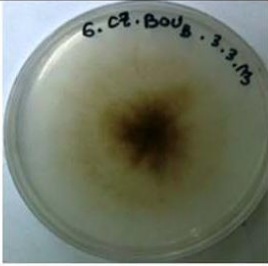






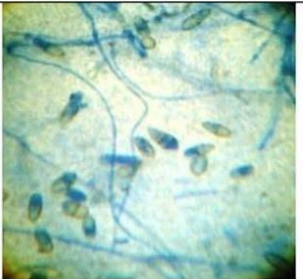
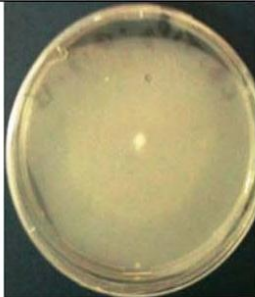




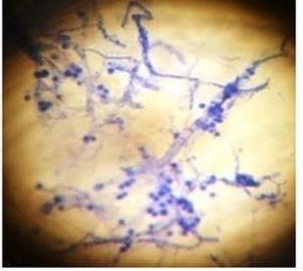
#### 5.3.1.3.2.4. – Mycoflore non identifiée

Dix autres souches fongiques isolées à partir des kystes des trois populations précitées n’ont pu être identifiées et sont rapportées dans le tableau 26.



Tableau 26- Aspect macroscopique et microscopique des isolats non identifiés.

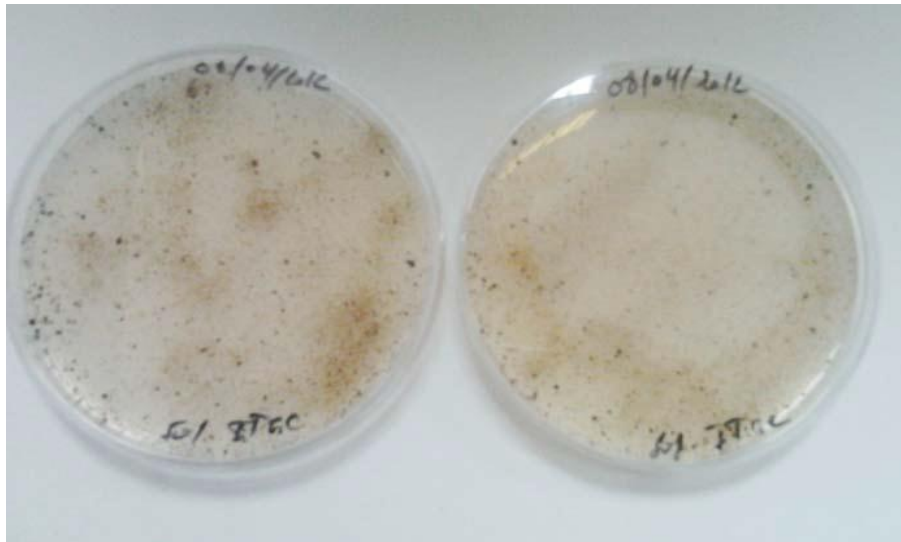
Pop. kyste	Isolat	Milieux	Aspect macroscopique (face)	Aspect macroscopique (revers)	Aspect microscopique
<b>ITGC Oued Smar</b>	N Id 1	CMA			
	N Id 2	PCA			
	N Id 3	PCA			
<b>Bouira</b>	N Id 4	PDA			
	N Id 5	MEA			

<b>Bouira</b>	N Id 6	CZ-dox			
	N Id 7	CZ-dox			
	N Id 8	PCA			
<b>Tipaza</b>	N Id 9	CZ-dox			
	N Id 10	PCA			

NId : Non Identifié

### 5.3.2.1. – Mycoflore isolée à partir du sol

L'examen microscopique montre qu'aucune souche ne s'est développée sur les boîtes ensemencées par saupoudrage du sol (Fig.52).



**Fig.52** – Absence de croissance mycélienne dans les boîtes ensemencées avec le sol.

L'absence de la croissance fongique serait vraisemblablement due à un saupoudrage d'une quantité trop importante de sol ce qui aurait empêché la croissance mycélienne mais cette absence n'exclue pas pour autant la présence de la mycoflore parasite des nématodes à kystes dans le sol. Aussi, le milieu de culture utilisé (gélose nutritive) serait trop pauvre (milieu minimum) pour favoriser la croissance des champignons.

Il serait intéressant de reprendre cet isolement à partir de la rhizosphère, en utilisant la technique des suspensions-dilutions afin de permettre une meilleure croissance des champignons telluriques antagonistes des kystes d'*Heterodera*.

### 4.3. – Discussion

Les deux genres *Verticilium* sp. et *Paecilomyces* sp. isolés sur un milieu de base sont des champignons qui s'attaquent aux nématodes à kyste des céréales (Dakcman et Nordbring-Hertz, 1985 et Khan *et al.*, 2006).

Le genre *Verticilium* sp. est isolé uniquement au niveau des parcelles P2 (Tipaza) et Bouandas (Sétif) où la céréaliculture est pratiquée de façon permanente ce qui concorde avec les travaux de Kerry *et al.* (1982b), qui rapportent que ce champignon est fréquent dans les systèmes de monoculture céréalière où il exerce une régulation naturelle des populations d'*H. avenae*, en provoquant la destruction de 95 – 97 % des femelles et des œufs.

En effet, *Verticilium chlamydosporium* impliqué dans le contrôle naturel des populations d'*H. avenae* est rapporté dans plusieurs pays. Il parasite principalement les œufs (Cayrol *et al.*, 1982 ; Kerry *et al.*, 1982a ; Dakcman et Nordbring-Hertz, 1985; Griffin, 1988; Kerry, 1988 ; Olivares- Bernabeu et Lopez- Llorca, 2002 ), mais peut aussi parasiter les femelles (Kerry et Hirsch, 2011).

L'espèce *Paecilomyces lilacinus* parasite également les œufs d'*H. avenae* (Khan *et al.*, 2006), mais à un degré moins important. Il semblerait que ce champignon produise des substances antagonistes au développement des autres champignons (Lopez-Llorca et Boag, 1993).

L'utilisation du potentiel de lutte biologique différents organismes peut efficacement réduire la densité des nématodes lorsqu'ils sont appliqués en combinaison. Les recherches menées par Khan *et al.* (2006) ont démontré que l'application associée de *Paecilomyces lilacinus* nématophage avec le champignon de piégeage *Monacrosporium lysipagum* est plus efficace pour contrôler les populations de nématodes et a entraîné une réduction de 65% des kystes d'*H. avenae* sur l'orge.

L'usage d'une large gamme de milieux de culture complexes a permis l'isolement de 25 souches fongiques à partir des kystes d'*Heterodera* sp. dont 14 sont identifiées au stade genre.

L'identité des genres *Mucor* sp., *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., et *Acremonium* sp., a été confirmée au CNR de Bari, où nous travaillons en collaboration en vue d'identifier tous les isolats jusqu'au niveau de l'espèce par la biologie moléculaire.

Bien que le nombre de kystes ensemencés soit constant, l'abondance des champignons isolés varie d'une population de kystes à une autre. Selon Chen et Chen (2002), cette variation serait liée aux différences des conditions pédoclimatiques particulières à chaque région.

Ainsi, une importante diversité de la mycoflore est observée chez les kystes des populations d'Oued smar et de Bouira, avec 09 et 11 souches fongiques isolées respectivement. Chez les kystes de la population de Tipaza, seules quatre souches sont isolées.

*Periconia* sp., *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Cladosporium* sp., *Chrysonilia* sp. et *Harposporium* sp. sont les genres isolés à partir des kystes d'Oued Smar. Les trois premiers sont également signalés en Tunisie où ils sont associés aux kystes d'*Heterodera avenae* (Mensi et al, 2011).

Les genres *Geotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Torula* sp., *Cylindrocarpon* sp. et *Aspergillus* sp. sont identifiés chez les kystes de Bouira. Selon Eapen et al. (2005) et Ashrafi al. (2014), les genres *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., et *Acremonium* sp. sont des parasites secondaires des kystes, mais ils jouent un rôle non négligeable dans la suppression naturelle des nématodes. En effet, Dackman et Nordbring-Hertz (1985) indiquent que *Fusarium oxysporum* et *Acremonium strictum* sont les principaux parasites des œufs d'*Heterodera schachtii* nématode à kyste de la betterave décelé dans cette région.

Siddiqui et Mahmood (1996), considèrent les genres *Harposporium* sp., *Cladosporium* sp., *Geotrichum* sp., *Torula* sp., *Acremonium* sp. et *Cylindrocarpon* sp. comme étant des champignons capables de réduire la multiplication des nématodes par parasitisme, ou par prédation.

Seuls deux genres *Fusarium* sp. et *Pochonia* sp. sont identifiés chez les kystes de la population d'Oued Smar. Ce dernier est le champignon le plus impliqué dans la gestion naturelle des nématodes (De Leij et al., 1993).

En effet, *Pochonia* sp. est un hyperparasite facultatif ubiquiste des œufs de nématodes phytoparasites. L'espèce *Pochonia chlamydosporia* (syn. *Vericillium chlamydosporium*) est particulièrement connue pour son parasitisme de plusieurs espèces de nématodes à importance économique, notamment les genres *Meloidogyne*, *Heterodera* et *Globodera* (Kerry, 1990).

Ce champignon agit par émission des appressoriums qui pénètrent dans les corps des femelles âgées, atteignent les œufs qu'elles contiennent et détruisent progressivement leur contenu jusqu'à ce que les coquilles soient remplies d'hyphes et de spores. (Lopez-Llorca, et

Duncan, 1991) mais l'infection fongique des œufs est plutôt moins fréquente chez les kystes (Lopez-Llorca et Duncan, 1991 et Mensi *et al.*, 2011).

Selon Lopez-Llorca et Boag (1993) *P. chlamydosporia* produit des substances antagonistes au développement des autres champignons et devient par conséquent le seul parasite d'*H. avenae* ce qui pourrait expliquer l'absence d'autres genres fongiques chez les kystes de la population d'Oued Smar.

L'efficacité de ce champignon réside dans sa capacité à empêcher la formation des kystes en réduisant la fécondité des œufs ce qui se traduit par une diminution de l'infestation allant de 26 à 80 % (Kerry *et al.*, 1982a). Cependant, les souches de ce champignon varient dans leur efficacité à contrôler les populations de nématodes (Morton *et al.*, 2003), dans leur virulence et dans leur capacité de production de chlamydo-spores (Mauchline *et al.*, 2004).

L'activité du genre *Fusarium* sur terrain est plus intense lorsqu'il est associé à cinq isolats (*Chaetomium sp.*, *Fusarium solani*, *Penicillium oxalicum*, *Stemphylium solani* et *F. proliferatum*) qui induisent une efficacité de lutte de plus de 35%.

Parmi les genres identifiés, *Periconia sp.*, *Mucor sp.*, *Rhizopus sp.*, *Harposporium sp.*, *Cladosporium sp.* et *Torula sp.*, sont considérés comme champignons opportunistes ou parasites secondaires qui n'infectent qu'un faible nombre d'œufs et ne colonisent que les femelles mortes d'*Heterodera* (Kerry *et al.*, 1982a).

En outre, certains genres sont également associés aux céréales (Mensi *et al.*, 2011). A ce titre, Ashrafi *et al.* (2014) rapportent que les genres *Pochonia sp.*, *Fusarium sp.* et *Acremonium sp.* isolés pour la première fois sur les kystes d'*Heterodera filipjevi* sont aussi des endophytes et que cette association devrait être exploitée dans la lutte biologique contre les nématodes à kystes des céréales.

Des études ultérieures sur la pathogénicité des souches isolées et identifiées vis-à-vis des œufs et des larves d'*Heterodera* sont envisagées afin de connaître leur pouvoir pathogène et de les intégrer dans le système de lutte contre ces ravageurs.

Le succès initial des études de lutte biologique a conduit à une expansion de l'utilisation de différents ennemis naturels contre les nématodes, mais doivent encore être exploités comme agents de lutte biologique à l'échelle commerciale pour le blé. (Dababat *et al.*, 2014).

Selon Kerry et Crump (1998), la stratégie “conservatrice ” de lutte biologique consistant à favoriser la régulation naturelle des populations du nématode est progressive et ne s’établit dans le sol qu’à long terme; ce qui rend difficile son application. On pourrait lui substituer la stratégie “ inondative ” par des inoculations artificielles de ces agents biologiques déjà présents dans le sol et préalablement multipliés sur des milieux artificiels, en vue de combattre, au moment opportun les nématodes phytoparasites et limiter leurs dégâts sur les cultures.

De nombreuses études ont démontré la réussite de l’utilisation d’un certain nombre de micro-organismes dans la lutte biologique et la complexité de leurs relations biologiques. Leurs mécanismes d’action doivent être étudiés dans différentes approches afin de développer des stratégies permettant de maximiser l’exploitation de leur potentiel dans la gestion des nématodes à kystes des céréales (Dababat *et al.*, 2014).

Les résultats obtenus sont originaux et encourageants dans le domaine de la lutte biologique contre nématodes à kyste des céréales, aspect jamais investigué jusqu’à présent en Algérie. Ils énoncent un outil essentiel de lutte pouvant assurer une répression naturelle et suffisante des populations de nématodes dans le sol. Les nombreux privilèges de cette lutte, notamment lorsqu’elle est associée aux techniques culturales, font d’elle une réelle alternative à la lutte chimique dans le cadre d’un programme global de lutte intégrée.

L’éradication des NKC est difficile, mais les populations de nématodes peuvent être maintenues en dessous de seuils économiques par l’exploitation de diverses stratégies de bio-gestion, en particulier les méthodes de lutte biologique en combinaison avec d’autres méthodes de lutte respectueuses de l’environnement.

*Conclusion  
générale*



## Conclusion générale

Divers aspects relatifs aux nématodes à kystes des céréales notamment à l'espèce *H.avenae*, sont abordés dans ce travail.

La première partie est une suite complémentaire à de nombreux travaux antérieurs menés sur la distribution des espèces de nématodes à kystes des céréales en Algérie.

En effet, l'étude de l'état d'infestation de quelques parcelles céréalières situées à l'ouest, au centre et à l'est de l'Algérie, montre que mises à part les parcelles prospectées aux Isser (Boumerdès), El Maleh (Ain Témouchent) et Lamtar (Sidi Bel Abes) où nous n'avons pas récolté de kystes, toutes les parcelles prospectées s'avèrent infestées par les nématodes à kyste *Heterodera spp.* des céréales ; ce qui représente un taux d'infestation total de 92,5 %.

Les niveaux d'infestation sont cependant variables d'une région à une autre, voire au sein de la même région. Les plus élevés sont observés au niveau des parcelles cultivées en blé comme celles de Bouandas (Sétif), Tamlouka (Guelma), El Esnem (Bouira) et Ouled Rahmoun (Constantine), avec des degrés respectifs de 281 ; 267 ; 145 et 134 kystes / kg de sol.

Ce constat suggère la mise en œuvre des méthodes de lutte basées essentiellement sur l'introduction des cultures non- hôtes dans les systèmes de culture afin de baisser les niveaux d'infestation à un seuil tolérable.

En outre, il est recommandé de faire une analyse nématologique à la fin de culture des céréales en vue d'estimer les degrés d'infestation notamment dans les grandes étendues céréalières.

Il est important de signaler que les densités des populations des nématodes à kystes et leurs effets sur la croissance et le rendement des céréales sont généralement sous-estimées par les agriculteurs et les agronomes en raison des difficultés liées à leur détection et à l'estimation correcte des degrés d'infestation des champs céréaliers.

La connaissance des densités des nématodes à kystes permettrait une bonne orientation pour le choix de la culture à mettre en place, afin de mieux la protéger contre ces parasites.

S'il est clair que l'espèce *H. avenae* est présente dans divers environnements et systèmes de culture céréalière d'Algérie, l'amplitude de l'infestation reste inconnue surtout

dans les systèmes de culture traditionnels non irrigués, car les nématodes sont rarement échantillonnés vu l'absence de symptômes spécifiques.

L'étude biométrique des kystes de quelques populations d'*Heterodera* spp. d'origine géographique diverse révèle une diversité morphologique remarquable chez ces nématodes.

En effet, les kystes de Bouira ont la plus grande taille, suivis par ceux de Tleghema, Oran, Souk Ahars, El Ghomri, Djendel et Mostaganem.

Les observations des régions périmées de 10 populations indiquent la présence de l'espèce *H. avenae* dans la quasi-totalité des parcelles prospectées. D'autres espèces comme *H. latipons*, *H. filipjevi* et *H. bifenestra* sont également décelées avec une fréquence remarquable d'*H. latipons* notamment dans les régions de Bouira, Mostaganem, Djendel et Boandas.

La mise en évidence pour la première fois d' *H. filipjevi* mérite une attention particulière notamment lorsqu'elle coexiste en mélange avec *H. avenae* et *H. latipons* vu qu'elles sont considérées comme étant les espèces les plus redoutables sur les cultures céréalières.

Aussi, la présence des nématodes à kyste de la betterave du groupe *Heterodera schachtii* confirmée par PCR-RFLP dans la région de Bouira, constitue une donnée importante qui doit être prise en considération dans les systèmes de rotation des cultures.

Ces résultats soutiennent l'idée que les nématodes à kystes des céréales et des graminées constituent un complexe d'espèces très proches, avec de légères variations dans la biologie et dans la gamme d'hôtes.

En outre, la connaissance de leur virulence et le comportement des variétés céréalières locales est d'un intérêt capital pour prévenir leur incidence et d'élaborer les moyens de lutte adéquats.

Dans ce contexte, la caractérisation de la virulence de deux populations d'*H. avenae* de Tiaret et d'Oued Smar étudiée en conditions naturelles puis *in vitro* montre que les céréales testées ont exprimé les mêmes réactions aux deux populations.

En effet, les deux populations se reproduisent convenablement sur le cultivar d'orge Emir et celui de blé Capa, mais n'expriment aucun développement chez les cultivars d'orge Siri, Ortolan et Morocco. Les cultivars d'avoine Nidar II et *A. sterilis* I. 376 et ceux de blé Loros et AUS 10894 sont complètement résistants.

Ces réactions indiquent que les populations sont considérées comme une même entité physiologique et par conséquent elles sont caractérisées comme étant un seul pathotype d'*H. avenae* appartenant au Groupe1 malgré leur origine géographique et bioclimatique différente. Cependant, cette caractérisation n'est pas suffisamment concluante pour distinguer ce pathotype en Ha21, Ha31 ou Ha81. Le gène *Cre1* a été identifié comme une source précieuse de résistance qui doit être pris en considération lors de la sélection des variétés de blé destinées à la mise en culture dans ces localités.

La recherche des champignons antagonistes des nématodes à kystes des céréales a permis l'isolement de vingt-cinq champignons. Quinze genres sont identifiés sur la base de leurs caractéristiques morphoculturelles, il s'agit de : *Verticillium* sp., *Paecilomyces* sp., *Harposporium* sp., *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Chrysonilia* sp., *Cladosporium* sp., *Periconia* sp., isolés à partir des kystes de la parcelle de l' ITGC (Oued smar). Les genres *Geotrichum* sp., *Torula* sp., *Acremonium* sp., *Cylindrocarpon* sp., *Aspergillus* sp., sont isolés à partir des kystes de la parcelle de Ain Bessam (Bouira). Alors que le genre *Pochonia* sp. est isolé des kystes de la région de Tipaza. Ce champignon est un excellent antagoniste naturel des nématodes à kystes.

Le genre *Fusarium* sp. est isolé respectivement des deux parcelles de Tipaza et de Bouira. Treize autres genres sont isolés et restent à identifier afin d'établir un répertoire global des champignons associés à ces ravageurs.

La confirmation de l'identité des isolats fongiques par les techniques moléculaires est impérative ce qui ouvre une perspective prometteuse pour une lutte biologique rentable, efficace et non polluante dans un système de lutte intégrée raisonnée.

Bien que préliminaires, ces résultats constituent une première donnée de base pouvant contribuer à la connaissance de la mycoflore associée aux kystes d'*Heterodera* inféodés aux céréales.

Afin de valoriser les résultats de recherche existants, une plus grande collaboration entre les institutions de recherche et les structures de vulgarisation agricole s'impose afin faire le meilleur usage de ces résultats dans le cadre d'un programme global de lutte permettant de modérer les problèmes liés à ces bio agresseurs.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

1. **ABDOULLAHI M., 2008** -Morphology and morphometrics of *Heterodera filipjevi* (Madzhidov, 1981) steller, 1984 from Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad province, Iran. *Pak. J. Biol. Sci.*, 11 (14): 1864-1867.
2. **ABEBE E., MEKETE T. and THOMAS W. K., 2011** - A critique of current methods in nematode taxonomy. *African Journal of Biotechnology*, 10 (3): 312-323.
3. **ABIDOU H., VALETTE S., GAUTHIER J. P., RIVOAL R., EL-AHMED A. and YAHYAOUI A., 2005a** - Molecular Polymorphism and Morphometrics of Species of the *Heterodera avenae* Group in Syria and Turkey. *Journal of Nematology*, 37 (2):146 –154.
4. **ABIDOU H., EL-AHMED A., NICOL J.M., BOLAT N., RIVOAL R. and YAHYAOUI A., 2005b** - Occurrence and distribution of species of the *Heterodera avenae* group in Syria and Turkey. *Nematologia Mediterranea*, 33: 197- 203.
5. **AHMADI A.R. and TANHA MAAFI Z., 2014** - Incidence of Cereal Cyst Nematodes (*Heterodera avenae* type B and *H. filipjevi*) in southwestern Iran. *Journal of Crop Protection*, 3 (1): 75-88.
6. **AHREN D. and TUNLID A., 2003** - Evolution of Parasitism in Nematode-Trapping Fungi. *The Journal of Nematology*, 35 (2): 194-197.
7. **AKAR T., CALISKAN M., NICOL J.M., URANBEY S., SAHIN E Y.,AZAR S., WILLIAM M. and BRAUN H.J., 2009** - Molecular characterization of Cereal Cyst Nematode diagnostic markers *Cre1* and *Cre3* in some winter wheat germplasm and their potential use against *Heterodera filipjevi*. *Field Crops Research*, 114: 320–323.
8. **Al-HAZMI A. S., COOK R. and IBRAHIM A.A.M., 2001**- Pathotype characterisation of the cereal cyst nematode *Heterodera avenae* in Saudi Arabia. *Nematology*, 3(4): 379 –382.
9. **AL HAZMI A.S. and DAWABAH A.A.M., 2014** - Effect of urea and certain NPK fertilizers on the cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*) on wheat. *Saudi journal of biological science*, 21 (2) 191-196.
10. **AMBROGIONI L. and IRDANI T., 2001** - Identification of *Heterodera schachtii* group species in Italy by morphometrics and RAPD-PCR. *Nematol. Medit.*, 29 : 159 - 168.
11. **ANONYME, 2005** - *Les céréales en Algérie*.Roi.fr/Alger/Documents algériens/économique, 66p.

12. **ANDERSEN S. and ANDERSEN K., 1982a** - Suggestions for determination and terminology of pathotype and genes for resistance in cyst-forming nematodes especially *Heterodera avenae*. *EPPO Bulletin*, 12:379-386.
13. **ANDERSEN K. and ANDERSEN S., 1982b** - Classification of plants resistant to *Heterodera avenae*. *EPPO Bulletin*, 12, 435-437.
14. **ANDERSSON S., 1982** - Populations dynamics and control of *Heterodera avenae*. A review of some originals results. *EPPO Bull.*, 463-475.
15. **A.P.S, 2013** - Céréales : hausse de 5% de la facture des importations les dix premiers mois de 2013. *Algerie Press Service*, lundi 2 décembre 2013,3 p.
16. **ASHRAFI S., DABABAT A., MARIA FINCKH M. and MAIER W., 2014** - *Identification and efficacy of naturally occurring fungi associated with cereal cyst nematode Heterodera filipjevi and wheat*. *Nachwuchswissenschaftlerforum / Young Scientists Meeting, Berichteausdem Julius Kühn-Institut*: 24.
17. **AVENDAÑO F., PIERCE F. J., SCHABENBERGER O. and MELAKEBERHAN H., 2004** - The spatial distribution of soybean cyst nematode in relation to soil texture and soil map unit. *Agronomy Journal*,96 :181-194.
18. **BADILLET G., DE BRIEVE C. et GUEHO E., 1987** - Champignons contaminants des cultures champignons opportunistes. *Atlas clinique et biologique, vol II*, Ed. Varia, Paris.
19. **BALDWIN J. G. and MUNDO-OCAMPO M., 1991** - Heteroderinae cyst- and non-cyst-forming nematodes In: *Manual of Agricultural Nematology*. Ed. NICKLE W.R. Marcel Dekker Inc., New York: 275-362.
20. **BARNETT H.L., HUNTER B.B., 1987**- *Illustrated genera of imperfect fungi*. Fourth Ed. *Mac Millan Publishing company*, New York, 219 p.
21. **BENDIF N., 1994** - La situation actuelle des maladies des céréales en Algérie. *I.T.G.C., Céréaliculture*, 27: 9-12.
22. **BEKAL S., GAUTHIER J. P. and RIVOAL R., 1997** - Genetic diversity among a complex of cereal cyst nematodes inferred from RFLP analysis of the ribosomal internal transcribed spacer region. *Genome* 40:479–486.
23. **BOULAL H., EL MOURID M., REZGUI S. et ZAGHOUAN O., 2007** - *Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (Blé et Orge) dans le Maghreb (AlgérieMaroc et Tunisie)*. ITGC. INRAA. ICARDA, 176p.
24. **BOULANOUAR A., 2008** – *Etude de l'incidence des rotations culturales sur l'évolution des densités de nematodes Globodera et Heterodera à Mekhatria (Ain Defla)*.Mém.Ing. agro., Inst. nati. agro., El Harrach, 67p.

25. **BOSSIS M. and RIVOAL R., 1996** - Protein variability in cereal cyst nematodes from different geographic regions assessed by two-dimensional gel electrophoresis. *Fundamental and Applied Nematology*, 19: 25–34.
26. **BRIDGE J., COOKE R. and STARR J., 2002** - *Plant Resistance to parasitic nematodes*. Ed. CAB International, Wallington, UK., 247p.
27. **BROWN R.H., 1984** - Ecology and Control of Cereal Cyst Nematode (*Heterodera avenae*) in Southern Australia. *Journal of Nematology*. 16 (3): 216-222.
28. **CAHAGNIER B. and RICHARD-MOLARD D., 1998** - Analyse mycologique. In : *Moisissures des aliments peu hydratés*. Ed. Tec. et Doc.: p 140-158.
29. **CAMPBELL C.K., JOHNSON B., PHILPOT C. M. and WARNOCK D.A., 1996** - *Identification of pathogenic fungi*. Public Health Laboratory Service, London: 26-68.
30. **CASAS-FLORES S. and HERRERA-ESTRELLA A., 2007**- Antagonism of plant parasitic nematodes by fungi. In: *The Mycota*. Eds. Kubicek C.P. Druzhinina I.S. Springer Berlin, Netherlands: 147–157.
31. **CASTILLO A. G., COLLINET D., DERET S., KASHOGGI A. and BEJARANO E. R., 2003** - Dual interaction of plant PCNA with Gemini virus replication accessory protein (REn) and viral replication protein (Rep). *Virology*, 312: 381–394.
32. **CAYROL J.C., DJIAN-CAPORALINO C. et PANCHAUD-MATTEI E., 1992** - *la lutte biologique contre les Nématodes phytoparasites*. Courrier de la Cellule Environnement de l'INRA, Paris, 17: 31- 44.
33. **CHEN F and CHEN S., 2002** - Mycofloras in cysts females and eggs of the soybean cyst nematode in Minnesota. *Applied Soil Ecology*. 19: 35-50.
34. **CHEHAT F., 2007**- *Analyse macroéconomique des filières: la filière blés en Algérie*. Projet PAMLIM « *Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation* » Alger 7-9 avril.
35. **CIANCIO A., LEONETTI P. et ALBA G., 2002** - Indagini sull'applicazione in pieno campo dell'ifomicete *Verticillium chlamydosporium* per il controllo biologico di nematodigalligeni. *Nematol. medit*, 30:79-88.
36. **COLLIER L., BALOWS A., SUSSMAN M., AJELLO L. and HAY R. J., 1998** – *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 9th ed., Vol. 4, Medical Mycology, Oxford University Press, Inc., New York: 281-307.
37. **COOK R. and RIVOAL R., 1998** - Genetics of resistance and parasitism. In: *The cyst nematodes*. Ed. Sharma S.B.: 322–352.

- 38. COOK R. and NOEL G.R. 2002** - Cyst nematodes: *Globodera* and *Heterodera* species. In: *Plant resistance to parasitic nematodes*. Ed. Starr J.L. Cook R. and Bridge J., CAB Int. Wallingford UK: 71-105.
- 39. COYNE D.L., NICOL J. M. et COLE B.C., 2010** - *Les nématodes des plantes: Un guide pratique des techniques de terrain et de laboratoire*. Benin: 131-348.
- 40. DABABAT A., PARITAR S., NICOLA J. and DUVEILLER E., 2011** - Cereal Cyst Nematodes : an unnoticed threat to global cereal production . *Technical Innovation Brief*. 4: 1-2.
- 41. DABABAT A., ORAKÇI G.E., TOKTAY H., İMREN M., AKIN B., BRAUN HJ., DREISIGACKER S., ELEKCIOGLU İ.H., and MORGUNOV A.I., 2014** – Resistance of winter wheat to *Heterodera filipjevi* in Turkey. *Turk. Jour. For Agric.* 38: 180 –186.
- 42. DACKMAN C. and NORDBRING-HERTZ B., 1985** - Fungal Parasites of the Cereal Cyst Nematode *Heterodera avenae* in Southern Sweden. *Journal of Nematology*, 17(1):50-55.
- 43. DE HOOG G. S., GUARRO J., GENE J and FIGUERAS M. J., 2000** - *Atlas of Clinical Fungi* 2nd ed., vol. 1. Centraal bureauvoor Schimmelcultures Utrecht, The Netherlands and Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain, 1124 p.
- 44. DE LEIJ F. A. A. M., KERRY B. R. and DENNEHY J. A., 1993** – *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent for *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* in pot and microplot tests. *Nematologica*. 39: 115-126.
- 45. DELIBES A., ROMERO D., AGUADED S., DUCE A., MENA M., LÓPEZ-BRAÑA I., ANDRÉS M.F., MARTÍN-SÁNCHEZ J.A. and GARCÍA-OLMEDO F., 1993** - Resistance to the cereal cyst nematode ( *Heterodera avenae* Woll.) transferred from the wild grass *Aegilops ventricosa* to hexaploid wheat by a «stepping stone» procedure. *Theor. Appl. Genet.* 87: 402-408.
- 46. DE LUCA F., REYES A., GRUNDER J., KUNZ P., AGOSTINELLI A., DE GIORGI C. and LAMBERTI F., 2004** – Characterization and sequence variation in the rDNA region of six nematode species of the genus *Longidorus* (Nematoda: Dorylaimida). *J. Nematol.* 36: 147-152.
- 47. DJERMOUN A., 2009** – La production céréalière en Algérie: les principales caractéristiques. *Nature et Technologie*. 01: 45-53.



- 48. DIXON D. M. and POLAK-WYSS A. 1991** - The medically important dermatiaceus fungi and their identification. *Mycoses*.34:1-18.
- 49. DOUSSINAULT G., KAAAN F. LECOMTE C. et MONNEVEUX P., 1992** - Les céréales à paille : présentation générale. In: *Amélioration des espèces végétales cultivées*. Ed. Gallais A. et Bannerot H., INRA, Paris,: 13-21.
- 50. DAVIS E.E. and VENETTE R.C., 2004** - *Mini Risk Assessment Mediterranean cereal cyst nematode Heterodera latipons* Franklin (Nematoda: Heteroderidae), CAPS, PRA, 26p.
- 51. EAPEN S.J., BEENA B. and RAMANA K.V., 2005** - Tropical soil microflora of spice-based cropping systems as potential antagonists of root-knot nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology*. 88: 218-225.
- 52. E.P.P.O, 2011-** *Diagnostic Protocols for Regulated Pests. Technical document No. 1056 (rev.2) Pictorial Glossary of Morphological Terms in Nematology*. Eurpean Plant Protection Organization, Paris, 28p.
- 53. ESSER R.P. and EL-GHOLI N.E., 1992** – *Harposporium a fungus that parasitizes and kills nematode utilizing conidia swallowed by or stiching to its prey*. Florida Dept of Agriculture, Division of Plant Industry, *Nematology circular* No.200.
- 54. F.A.O, 2006** - *Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture*.68 p.
- 55. FEILLET P., 2000** - *Le grain de blé composition et utilisation : Mieux comprendre*. Ed. INRA, Paris, 308 p.
- 56. FELDMAN M., 1976** - *Taxonomic classification and names of wild, primitive, cultivated, and modern cultivated wheat*. In : *Evolution crop plants*. Ed. Simonds N.W., London : 120-128.
- 57. FENWICK D.W., 1940** - Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* from soil. *Journal of Helminthology*.18:155-172.
- 58. FISHER, J.M. and HANCOCK, T.W., 1991-** Population dynamics of *Heterodera avenae* Woll. in South Australia. *Austr. J. Agric. Res.*, 42: 53-68.
- 59. FISCHER R.A., BEYELEE D. and EDMEADS G.O., 2009** - *Can technology deliver on the yield challenge to 2015, paper prepared for expert meeting on " How to Feed the World in 2050"*. FAO, Roma, June 2009: 24 -26.

- 60. GRECO N., VOVLAS N., TROCCOLI A. and INSERRA R.N., 2002** - *The Mediterranean cereal cyst nematode Heterodera latipons: a menace to cool season cereals of the United States. Nematology Circular 221. Florida Department of Agriculture and Conservation Services, Division of Plant Industry.*
- 61. GRIFFIN G.D., 1988** - Factors affecting the biology and pathogenicity of *Heterodera schachtii* on sugar beet. *Journal of Nematology*, 20: 396 - 404.
- 62. HADDADI F., 1997-** *Contribution à l'étude bio-écologique du nématode à kyste des céréales Heterodera avenae Wollenweber 1924 (Nematoda- Heteroderidae) et de la virulence de deux populations de ce parasite.* Thèse Magister. Inst. nati. agro., El Harrach, 194 p.
- 63. HADDADI F., MOKABLI A. and SMILEY R.W., 2013** - Characterization of virulence reactions for *Heterodera avenae* populations from two localities in Algeria. *Phytoparasitica*, 41: 449 - 456.
- 64. HAMROUN W., 2006** – *Etat d'infestation de quelques régions céréalières d'Algérie par le nématode à kyste des céréales Heterodera avenae. Capacité d'hôtes de six variétés locales de blé dur vis-à-vis d'une population de ce parasite.* Thèse Magister. Inst. nati. agro., El Harrach, 104 p.
- 65. HANDOO Z., 2002** - A Key and Compendium to Species of the *Heterodera avenae* Group (Nematoda: Heteroderidae). *Journal of Nematology*, 34 (3):250-262.
- 66. HERMANN O., 2006** - Nema-check : une nouvelle méthode d'analyse des nématodes. *Le betteravier*, 424.P 21.
- 67. HESAR A. M., MOGHADAM E. M., MAAFI Z. T. and KARIMI J., 2012** - Comparative morphological and molecular study of Iranian populations of *Heterodera filipjevi* (Madzhidov 1981) Stelter 1984 and other members of 'H. avenae group'.
- 68. HIDALGO-DIAZ L. and KERRY B. R., 2008** - Integration of biological control with other methods of nematode management. *In: Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops.* Eds. Ciancio A. & Mukerji K. G., Springer Dordrecht The Netherlands: 29-49.
- 69. HOLGADO R., ANDERSSON S., ROWE J. A. and MAGNUSSON C., 2004** - First record of *Heterodera filipjevi* in Norway. *Nematol. Mediterr.* 32:205-211.
- 70. HOLGADO R., ANDERSSON S. and MAGNUSSON C., 2006** - Management of cereal cyst nematodes *Heterodera* spp. in Norway. *Comm. Appl. Biol. Sci.* 71 (3a):7.

- 71. HOLGADO R., ANDERSSON S., ROWE J., CLARK I. and MAGNUSSON C., 2009** - Management strategies for cereal cyst nematodes *Heterodera* spp. in Norway. In: *Cereal cyst nematodes: status research and outlook*. Eds. Riley I.T., Nicol J.M and Dababat A. A., CIMMYT, Turkey: 154-159.
- 72. HOOPER D. J., 1970** - Handling fixing staining and mounting nematodes. In: *Laboratory methods for work with plant and soil nematodes*. Ed. Southey J.F., Her Majesty's Stationery Office, London: 39–541.
- 73. IBRAHIM S. K., PERRY R.N., BURROWS P.R. and HOOPER D. J., 1995** - Differentiation of species and populations of *Aphelenchoides* and of *Ditylenchus angustus* using a fragment of ribosomal DNA. *Journal of Nematology* 26:412–421.
- 74. IBRAHIM A.A.M., AL-HAZMI A.S., AL-YAHYA F.A. and ALDERFASI A.A., 1999** -Damage potential and reproduction of *Heterodera avenae* on wheat and barley under Saudi field conditions. *Nematology*, 1: 625-630.
- 75. IMRANE M., WAEYENBERGE L., VIAENE N., ELEKÇIOĞLU I.H. and DABABAT A., 2015** -Morphological and molecular identification of cereal cyst nematodes from the eastern Mediterranean region of Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*.39: 91-98.
- 76. IREHOLM A. 1994** - Characterization of pathotypes of cereal cyst nematodes *Heterodera* spp. in Sweden. *Nematologica*, 4:399–411.
- 77. INSERRA R. N., BRITO J. A., DONG K., HANDOO Z. A., LEHMAN P. S., POWERS T. and MILLAR L., 2003** - Exotic nematode plant pests of agricultural and environmental significance to the United States: *Heterodera latipons*. Society of Nematologists.
- 78. JONSSON H.B. and LOPEZ-LLORCA L. V., 2001**- Biology of nemato-phagous fungi. In: *Mycology: Trichomycetes other fungal groups and mushrooms*. Ed. Misra J. K. and Horn B. W., Science Publishers: 145-173.
- 79. KHAN A., WILLIAMS K.L. and NEVALAINEN H.K. M., 2006** – Control of plant parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum* in pot trials. *Biocontrol*. 51: 643-658.
- 80. KERRY B. R., 1988** - Fungal Parasites of Cyst Nematodes. *Agriculture Ecosystems and Environment* 24: 293-305.
- 81. KERRY B.R. and CRUMP D.H., 1980** -Two Fungi parasitic on females of cyst-nematodes (*Heterodera* spp.).*Trans. Br.mycol. Soc.* 74 (1): 119-125.

- 82. KERRY B.R. and CRUPM D.H., 1998** - The dynamics of the decline of the cereal cyst nematode *Heterodera avenae* in four soils under intensive cereal production. *Fundamental and Applied Nematology*. 21:617-625.
- 83. KERRY B.R. and HIRSCH P.R., 2011** - Ecology of *Pochonia chlamydosporia* in the Rhizosphere at the Population Whole Organism and Molecular Scales. In: *Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes: Building Coherence between Microbial Ecology and Molecular Mechanisms Progress in Biological Control*. Eds. Davies K. and Spiegel Y.:171-182.
- 84. KERRY B.R., CRUMP D.H. and MULLEN L.A., 1982a** - Natural control of the cereal cyst nematode *Heterodera avenae* Woll. by soil fungi at three sites. *Crop Protection* 1: 99-109.
- 85. KERRY B.R., CRUMP D.H. and MULLEN L.A., 1982b** - Studies of the cereal cyst nematode *Heterodera avenae* under continuous cereals 1975-1978. II. Fungal parasitism of nematode females and eggs. *Annals of Applied Biology*. 100: 489-499.
- 86. KHAN A., WILLIAMS K.L. and NEVALAINEN H.K.M., 2006** - Control of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagumin* pot trials. *Biocontrol*, 51:643–658.
- 87. LAMBARDO S., HANDOO Z., RAPISARDA C. and COLOMBO A., 2009** - Occurrence and distribution of cyst nematodes infecting cereals in Sicily Italy. In: *Cereal cyst nematodes: Status Research and Outlook*. Eds. Riley I.T., Nicol J.M. and Dababat A. A., CIMMYT, Ankara, Turkey: 61-65.
- 88. LARONE D. H., 1995** - *Medically Important Fungi: A Guide to Identification*. 3rd Ed. ASM Press Washington, D.C.
- 89. LOPEZ-LLORCA L.V. and DUNCANJ.M., 1991**- Effects of fungal parasites on cereal cyst nematode (*Heterodera avenae* Woll.) from naturally infested soil: a scanning electron microscopy study. *Canadian Journal of Microbiology*, 37: 218–225.
- 90. LOPEZ-LLORCA L.V. and BOAG B., 1993** - A contribution to the ecology of fungi associated with females and cysts of *Heterodera avenae* in eastern Scotland. *Nematol. Medit.* 21: 187-197.
- 91. LOPEZ-LLORCA L.V., BORDALLO J.J., SALINAS J., MONFORT E. and LOPEZ-SERNA M.L., 2002** - Use of light and scanning electron microscopy to examine colonization of barley rhizosphere by the nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium*. *Micron* 33: 61-67.

- 92. JONES J. T. and GWYNN I. A., 1991-** A method for rapid fixation and dehydration of nematode tissue for transmission electron microscopy. *J. Microsc.* 164: 43-51.
- 93. LÜCKE E., 1976** - Pathotypen-Untersuchungen mit *Heterodera avenae* populationen (1966 -1975). *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz.* 83: 647–656.
- 94. MA H., OVERSTREET R.M. and SUBBOTIN S.A., 2008** - ITS2 secondary structure and phylogeny of cyst-forming nematodes of the genus *Heterodera* (Tylenchida: Heteroderidae). *Org. Divers. Evol.* 8 (3):182-193.
- 95. Mc DONALD A.H. and NICOL J.M., 2005** - Nematode parasites of cereals. In: *Plant parasitic nematode in subtropical and tropical agriculture.* 2<sup>nd</sup> Ed. LucM. Sikora R.A. and Bridge, CAB Int., UK: 131-191.
- 96. MADANI M., VOVLAS N., CASTILLO P., SUBBOTIN S.A. and MOENS M., 2004** - Molecular characterization of cyst nematode species (*Heterodera* spp.) from the Mediterranean Basin using RFLPs and sequences of ITSa DNA. *Journal Phytopathology.* 152: 229-234.
- 97. MAGNUSSON C. and HOLGADO R., 2011** - Managing plant nematodes for a sustainable production. *Proceedings of the 24th Congress of the Nordic Association of Agricultural Scientists and 2<sup>nd</sup> Nordic Feed Science Conference*, Uppsala Sweden, 191 p.
- 98. MAQBOOL, M.A., 1988** - Present status of research on plant parasitic nematodes in cereals and food and forage legumes in Pakistan. In: *Nematodes parasitic to cereals and legumes in temperate semi-arid regions.* Eds. Saxena M.C., Sikora R.A. and Srivastava J.P., ICARDA, Aleppo, Syria: 173-180.
- 99. MAUHLIN T. H., KERRY B. R. and HIRSCH P. R., 2004** - The biocontrol fungus *Pochonia chlamydosporia* shows nematode host preference at the infraspecific level. *Mycological Research.* 108:161-169.
- 100. MEAGHER J.W., 1977** - Word dissemination of the cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*) and its potential as pathogen of wheat. *Journal of Nematology.* 9 (1) : 9 -13.
- 101. MENSI I., KALLEL S. et NAMOUCHI-KACHOURI N., 2011-** Recherches sur des antagonistes naturels d' *Heterodera avenae* dans diverses conditions de cultures de blé dur *Triticum durum* en Tunisie. *Nematol. Medit.* 39: 141-149.
- 102. MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DU DEVELOPPEMENT RURAL**  
(<http://www.minagri.dz/>) statistiques 2013.

- 103. MITCHINSON S., 2009** - *New cyst nematode threats to cereals in the UK*. Project No. RD-2005-319039P., PhD Summary Report No.13, *Nematode Interactions Unit*, Rothamsted Research Harpenden. 29 p.
- 104. MOLINARI S., EVANS K., ROWE J. and RUSSELL M., 1996** - Identification of *Heterodera* cysts by BSOD isozyme electrophoresis profiles. *Annals of Applied Biology*. 129 : 361-368.
- 105. MOKABLI A., 2002** – *Biologie des nématodes à kystes (Heterodera) des céréales en Algérie. Virulence de quelques populations à l'égard de diverses variétés et lignées de céréales*. Thèse Doctorat Inst. Nati. Agro., El-Harrach, 66 p.
- 106. MOKABLI A., VALETTE S. et RIVOAL R., 2001** - Différentiation de quelques espèces de nématodes à kystes des céréales et des graminées par électrophorèse sur gel d'acétate de cellulose. *Nematol. Medit.* 29:103-108.
- 107. MOKABLI A., VALETTE S., GAUTHIER J.P. and RIVOAL R., 2002** - Variation in virulence of cereal cyst nematode populations from North Africa and Asia. *Nematology*. 4: 521–525.
- 108. MOR M., COHN E. and SPIEGEL Y., 1992-** Phenology pathogenicity and pathotypes of cereal cyst nematodes *Heterodera avenae* and *H. latipons* (Nematoda: Heteroderidae) in Israel. *Nematologica*. 38: 494–501.
- 109. MORTON C.O., MAUCLINE T. H., KERRY B. R. and HIRSCH P. R., 2003** - PCR-based DNA fingerprinting indicates host-related genetic variation in the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. *Mycological Research*. 107:198-205.
- 110. MUGNIERY D. et ZAOUCHI H., 1976** - Etude de la méthode d'échantillonnage des nématodes dans le sol et de la validité des différents critères d'estimation des populations. *Ann. Zool. Ecol. Anim.* 8 (1): 59 p.
- 111. MULVEY R.H., 1972-** Identification of *Heterodera* cyst by terminal and cone top structures. *Can. J. Zool.* 50: 1277-1292.
- 112. NAMOUCHI-KACHOURI N. et B'CHIR M.M., 2005** - Identification morphométrique et moléculaire de quelques populations tunisiennes d'*Heterodera avenae* associées aux céréales. *Nematol. medit.* 33: 3-9
- 113. NAMOUCHI-KACHOURI N., KALLEL S. et B'CHIR M.M., 2009** - Incidence économique d'*Heterodera avenae* sur blé, *Triticum durum*, sous les conditions naturelles tunisiennes. *Nematologia Mediterranea*. 37: 3-10.

- 114. NAKACHIAN J.M. et JACQMONT R., 1971** - L'analyse nématologique. In : *Les nématodes des cultures*. Ed. A.C.T.A, Paris:759-792.
- 115. NICOL J.M., 2002** - Important nematode pests of cereals. In: *Bread wheat: Improvement and production*. Ed. Curtis B.C., Rajaram S., and Macpherson G., Plant Production and Protection Series, No.30. FAO, Roma: 345-366.
- 116. NICOL J.M. and RIVOAL R., 2008** - Global knowledge and its application for the integrated control and management of nematodes on wheat. In: *Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crop nematodes*. Eds. Ciancio A., Mukerji K.G., Springer Academic Publishing: Dordrecht, Netherlands: 251- 294.
- 117. NICOL J. M., TURNER S. J., COYNE D. L., DEN NIJS L., HOCKLAND S. and TAHNA MAAFI Z., 2011** - Current Nematode Threats to World Agriculture. In: *Genomics and molecular genetics of plant nematode interactions*. Eds. Jones J., Gheysen G. & Fenoll C. Springer, New York, 557p.
- 118. NICOL J., RIVOAL R., TAYLOR S. and ZAHARIEVA M., 2004** - Global Importance of Cyst (*Heterodera* spp.) and Lesion Nematodes (*Pratylenchus* spp.) on Cereals: yield loss population dynamics use of host resistance and integration of molecular tools. *Nematology Monographs and Perspectives* 2: 233-251.
- 119. NOBBS J.M., 1989-** *Identification of Heterodera and Globodera. Fourth inter training course on the identification of plant parasitic nematodes of economic importance*, CAB International Institute of Parasitology.13p.
- 120. OAIC, 2013** - Note de Conjoncture 3ème Trimestre 2013. Documents internes OAIC, 11p.
- 121. OLIVARES- BERNABEU M. and LOPEZ- LLORCA L.V., 2002** - Fungal egg-parasites of plant-parasitic nematodes from Spanish soils. *Iberoam Micol.* 19: 104-110.
- 122. PARKER W., PRITCHARD I., Mac LEOD B., VANSTONE V. and THOMAS G., 2011** - Using break crops to manage wheat diseases. *Farm note No 464*, Department of Agriculture and Food .*Western Australian Agriculture Authority* 4p.
- 123. PENG D. L. and COOK R. 1996** - Observation on pathotypes of cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*) in China. *Afro-Asian Journal of Nematology.* 4 : 176–178.
- 124. PERSON-DEDRYVER F., 1989** - Les nématodes. In : *Les ennemis et maladies des prairies*. Ed. INRA: 173-177.
- 125. RAVICHANDRA N.G., 2008** - *Plant Nematology*. I. K. International Publishing House. New Delhi: 693p.
- 126. REDDY P.P., 1983** - *Plant nematology*. Agric. Publish. Acad., India, 287p.

- 127. RENCO M., 2005** - Current occurrence and distribution of *Heterodera avenae* in the Slovak Republic. *Plant Protect. Sci.* 41:80-85.
- 128. RILEY I.T., NICOL J.M. and DABABAT A.A., 2009** - *Cereal cyst nematodes: status research and outlook*. Ed. CIMMYT, Ankara, Turkey, 242 p.
- 129. RIVOAL R., 1977** - Identification des races biologiques du nématode à kystes des céréales, *Heterodera avenae* Woll., en France. *Annls Zool. Ecol. anim.* 9 : 261- 272.
- 130. RIVOAL R., 1978** - Biologie d' *Heterodera avenae* Wollenweber en France. 1. Différences dans les cycles d'éclosion et de développement des deux races Fr 1 et Fr 4. *Rev.Nématol.*,1 : 171-179.
- 131. RIVOAL R. and COOK R., 1993** - *Nematode pests of cereals. In: Plant parasitic nematodes in temperate agriculture*.Ed.Evans. K.,Trudgill D.L. and Webster J.M., CAB Int., Wallingford,UK: 259-303.
- 132. RIVOAL R. and NICOL J. M., 2009** - *Past research on the cereal cyst nematode complex and future needs in cereal cyst nematodes:Status research and outlook*.Eds. Riley I.T., Nicol J.M. and Dababat A. A.: 3-9.
- 133. RIVOAL R. et BOURDON P., 2005** - Sélection du ray-grass d'Italie pour la résistance au nématode à kyste des céréales (*Heterodera avenae*). *Fourrages* 184 : 557-566.
- 134. RODRIGUEZ-KABANA R., 1986** - Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. *Journal of Nematology*. 18: 129-135.
- 135. SAYRE R.M., 1986** - Pathogens for biological control of nematodes.*Crop protection*. 5 (4): 268-276.
- 136. SANCHEZ A. and ZANCADA C., 1987** - Characterization of *Heterodera avenae* pathotypes from Spain. *Nematologica*, 33: 55–60.
- 137. SHARMA S.M., SAIN R.S., MATHUR B.N., SHARMA G.L., BHATNAGAR V.K., SINGH H. and MIDHA R.L., 2007**- Development and validation of the first cereal cyst nematode ( *Heterodera avenae*) resistant wheat CCNRV1 for Northern India. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*. 39(1): 1-16.
- 138. SEIFI S. and BIDE A.K., 2013** - Effect of Mineral Fertilizers on Cereal Cyst Nematode *Heterodera filipjevi* Population and Evaluation of Wheat. *World Applied Programming*, 3 (4):137-141.
- 139. SIDDIQUI M.R., 2000** - *Tylenchida parasites of plants and insects*. 2<sup>nd</sup>.Ed CABI Publishing. New York: 387- 413.



- 140. SIDDIQUI Z.A. and MAHMOOD I., 1996** - Biological control of plant parasitic nematodes by fungi. *Bioresource Technology*, 58: 229-239.
- 141. SIKORA R. A., 1987** - Plant parasitic nematodes of wheat and barley in temperate semi-arid region – a comparative analysis. In: *Nematodes parasitic to cereal and legumes in temperate semi arid regions*. Eds. Saxena M.C., Sikora R.A., Srivastava J.P., ICARDA, Syria: 46-48.
- 142. SINGH A. K., SHARMA A.K and SHORAN J., 2009** - *Heterodera avenae* and its management on wheat in India. In: *Cereal Cyst Nematodes: status research and outlook*. Eds. Riley I.T., Nicol J.M. and Dababat A.A., CIMMYT, Ankara, Turkey: 17-22.
- 143. SMAHA D., 1998** – *Etude de la biologie du nématode à kyste des céréales Heterodera avenae Wollenweber, 1924. Essai de comportement de six variétés de blé dur vis-à-vis de deux populations de ce parasite*. Thèse Magister. Inst. nati. agro., El Harrach, 170 p.
- 144. SMILEY R.W., 2009** - Occurrence, distribution and control of *Heterodera avenae* and *H. filipjevi* in the western US. In: *Cereal Cyst Nematodes: Status, Research and Outlook*. Eds. Riley I.T., Nicol J.M. and Dababat A.A., CIMMYT, Ankara, Turkey: 35-40.
- 145. SMILEY R.W. and NICOL J. M., 2009** - Nematodes which challenge global wheat production. In: *Wheat Science and Trade*. Ed. Carver B. F., Wiley-Blackwell Publishers Ames IA: 171-187.
- 146. SMILEY R.W., YAN G. and PINKERTON J.N., 2011** - Resistance of wheat barley and oat to *Heterodera avenae* in the Pacific Northwest USA. *Nematology*. 13: 539-552.
- 147. SMILEY R.W., YAN G.P. and HANDOO Z.A., 2008** - First record of the cyst nematode *H. filipevi* on wheat in Oregon. *Plant Disease* 92 (7): 1136.
- 148. SMILEY R.W. and NICOL J.M., 2009** - Nematodes which challenge global wheat production. In: *Wheat Science and Trade*. Ed. Carver B.F., Wiley-Blackwell, Oxford, UK: 171–187.
- 149. SMILEY R.W. and YAN G.P., 2010** - Oregon State University. *Cereal cyst nematodes: Biology and management in Pacific Northwest wheat barley and oat crops*. A Pacific Northwest Extension Publications, project PNW 520. Oregon State University, 9 p.
- 150. SMILEY R. W., WHITTAKER G. R., GOURLIE J.A., EASLEY S.A. and INGHAM R.E., 2005** - Plant-parasitic nematodes associated with reduced wheat yield in Oregon: *Heterodera avenae*. *J. Nematol.* 37:297-307.

- 151. SMILEY R. W., YAN G. and PINKERTON J. N., 2011-** Resistance of wheat barley and oat to *Heterodera avenae* in the Pacific Northwest USA. *Nematology*, 13 : 539 –552.
- 152. ST-GERMAIN G., 2012-** Identification des champignons d'importance médicale, Laboratoire de santé publique du Québec.103 p.
- 153. STIRLING G.R., 1991-** *Biological Control of Nematodes: ProgressProblems and Prospects*. Ed.CAB International, Wallingford Oxon, 282 p.
- 154. STONE A. R. and HILL A. J., 1982-** Some problems posed by the *Heterodera avenae* complex. *Bulletin OEPP*, 12:317–320.
- 155. STURHAN D., 1982** - Species identification of European cereal and grass cyst nematodes by larval characters. *EPPO Bulletin* 12: 335-339.
- 156. SUBBOTIN S.A., MUNDO-OCAMPO M. and BALDWIN J.G., 2010** - Description and diagnosis of *Heterodera* species. In: *Systematics of cyst nematodes (Nematoda: Heteroderinae)*.Ed. Hunt D.J. and Perry R.N, Leiden, Brill, Netherlands: 35-449.
- 157. SUBBOTIN S.A., RUMPENHORST H.J. and STURHAN D., 1996** - Morphological and electrophoretic studies on populations of the *Heterodera avenae* complex from the formerUSSR. *Russian Journal of Nematology*, 4: 29-39.
- 158. SUBBOTIN S. A., WAEYENBERGE L. and MOENS M., 2000** - Identification of cyst forming nematodes of the genus *Heterodera* (Nematoda: Heteroderidae) based on the ribosomal DNA-RFLPs. *Nematology*, 2: 153-164.
- 159. SUBBOTIN S. A., STURHAN D., RUMPENHORST H. and MOENS M., 2003** - Molecular and morphological characterisation of the *Heterodera avenae* species complex (Tylenchida: Heteroderidae). *Nematology*, 5:515-538.
- 160. SUBBOTIN S. A., WAEYENBERGE L. MOLOKANOVA I. A. and MOENS M., 1999** - Identification of *Heterodera avenae* group species by morphometrics and rDNA-RFLPs. *Nematology*, 1:195-207.
- 161. SUBBOTIN S. A., VIERSTRAETE A., DE LEY P., ROWE J., WAEYENBERGE L., MOENS M. and VANFLETEREN J. R., 2001** - Phylogenetic relationships within the cyst-forming nematodes (Nematoda: Heteroderidae) based on analysis of sequences from the ITS regions of ribosomal DNA. *Mol. Phylogenet.Evol.*, 21:1-16.
- 162. SUTTON D.A., FOTHERGILL A. W.and RINALDI M G.,1998** - *Guide to Clinically Significant Fungi*.1st Ed. *Williams and Wilkins*,Baltimore M.D., 136 p.

- 163. TANHA MAAFI Z., SUBBOTIN S.A. and MOENS M., 2003** - Molecular identification of cyst forming nematodes (Heteroderidae) from Iran and a phylogeny based on ITS-rDNA sequences. *Nematology*, 5: 99-111.
- 164. TOUMI F., WAEVENBERGE L., VIAENE N., DABABAT A., NICIOL J.M., OGBONNAYA F. and MOENS M., 2013** – Development of a species-specific PCR to detect the cereal cyst nematode *Heterodera latipons*. *Nematology*, 15: 709-717.
- 165. TRIGIANO R.N., WINDHAM M.T. and WINDHAM A.S., 2004** - Plant pathology: Concepts and laboratory exercises. CRC press Washington, 74 p.
- 166. VERTUCCI C.W., 1989** - The kinetic of seeds imbibition controlling factors and relevance to seedling vigor. In: *Seed Moisture CSSA, special publication*. 14: 93 -115.
- 167. VOVLAS N., GRECO N. and DIVITO M., 1985** - *Heterodera ciceri* sp. (Nematoda: Heteroderidae) on *Cicer arietinum* L. from northern Syria. *Nematol. Medit.* 13: 239 - 252.
- 168. VOVLAS N., TROCCOLI A., PALOMARES-RIUS J.E., DE LUCA F., LIE'BANAS G., LANDA B., SUBBOTIN S.A. and CASTILLO P., 2011** – *Ditylenchus gigas* n.sp. parasiting broad bean: a newstem nematodes singled out from the *Ditylenchus dipsaci* species complex using a polyphasic approach with molecular phylogeny. *Plant pathology*, 60: 762-775.
- 169. VRAIN T.C., WAKARCHUK D.A., LEVESQUE A.C. and HAMILTON R.I., 1992** - Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group. *Fundamental and Applied Nematology*, 15: 563–573.
- 170. WHITEHEAD A.G., 1998** - *Plant Nematode Control*. New York NY USA: CAB International Publishing, Wallingford, p 384
- 171. WOUTS W. M. and BALDWIN J. C., 1998** - Taxonomy and identification. In: *The cyst nematodes*, Ed. Sharma S.B., UK, *Kluwer Academic Publishers*, London: 83-122.
- 172. WOUTS W. M., SCHOEMAKER A., STURHAN D. and BURROWSP. R., 1995** - *Heterodera spinicauda* sp.n.(Nematoda: Heteroderidae) from mud flats in The Netherlands with a key to the species of the *H. avenae* group. *Nematologica*. 41: 575–583.
- 173. YAN G. P. and SMILEY R. W. 2010** - Distinguishing *H. filipjevi* and *H. avenae* using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism and cyst morphology. *Phytopathology*. 100 (3): 216-224.
- 174. YUAN H.X., CHEN L., ZHANG F.Y., LI H.L., 2011**- Isolation and identification of fungal parasites of cyst nematodes in *Heterodera avenae* group. *Acta Phytophylacica*. 38:52–58.

**175. YUAN H.Y., SUN J., YANG W., XING X., WANG Z., RILEY I.T. and LI H.L.,**  
**2010** - New pathotypes of *Heterodera avenae*(cereal cyst nematode)from winter wheat  
in Zhengzhou Henan China. *Australasian Plant Pathology*.39: 107–111.

**176. ZABAT R., 1980** - *Evolution de la production céréalière en Algérie*. Th. Ing. Sci.  
Eco., Univ. Constantine, 70 p.

**Autre bibliographie**

[http://alger-roi.fr/Alger/documents\\_algeriens/economique/pages/66\\_cereales\\_algerie.htm](http://alger-roi.fr/Alger/documents_algeriens/economique/pages/66_cereales_algerie.htm)

*Annexes*

**Annexe 1**– Composition des solutions utilisées lors de l'identification moléculaire

a) Solution de lyse pour l'extraction de l'ADN

KCl	2M	125µl
MgCl <sub>2</sub>	1M	12.5 µl
Tris-HCl	1M	50 µl
Gelatine 2%		25 µl
Triton X-100		50 µl
Proteinase K		45 µl

b) Solution pour l'amplification de l'ADN

ADN		5 µl
Tompon 5x		20 µl
Amorce1	10µM	2 µl
Amorce 2	10µM	2 µl
Taq	5U/l	0.3 µl
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	6 µl
Dntp	10mM	2 µl
H <sub>2</sub> O		62.7 µl

c) Solution de digestion du produit PCR (20µl)

ADN		10 µl
Tompon 10x		2 µl
Bsa		0.2 µl
Enzyme (10U/µ l)		0.5 µl
H <sub>2</sub> O		7.3 µl

d) Préparation d'un gel d'agarose 1%

Agarose	1g
TBE	100ml
Bromure d'Ethidium	5 µl

Dans un récipient mettre l'agarose, ajouter 100 ml de TBE (Tri Basic Acide), agiter jusqu'à obtention d'une solution limpide en la plaçant dans un four micro ondes à trois reprises).Après refroidissement, ajouter la solution de Bromure d'Ethidium puis couler le gel sur une cuve à électrophorèse.

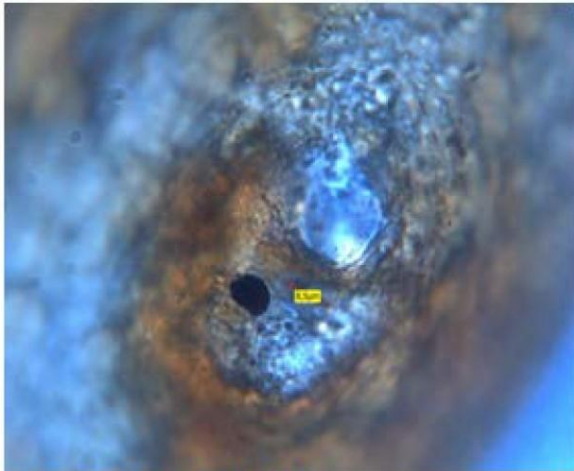
## Annexe 2 –Biométrie des kystes des différentes populations.

Parcelle	N° kyste	Longueur (µm)	Largeur (µm)	Parcelle	N° kyste	Longueur (µm)	Largeur (µm)
<b>Bouira</b>	1	880	520	<b>Mostaghanem</b>	1	800	580
	2	800	430		2	520	420
	3	700	580		3	640	550
	4	900	700		4	620	450
	5	630	400		5	590	510
	6	800	430		6	800	590
	7	820	500		7	650	550
	8	750	500		8	600	480
	9	600	420		9	600	500
	10	680	480		10	800	670
	11	700	400		11	680	520
	12	600	320		12	650	450
	13	880	550		13	820	600
	14	850	600		14	700	490
	15	720	530		15	710	450
	16	580	400		16	350	280
	17	800	400		17	300	250
	18	800	600		18	400	230
	19	880	500		19	500	380
	20	700	520		20	400	280
<b>Ain Khadra</b>	1	800	620	<b>Djendel</b>	1	770	660
	2	760	500		2	850	650
	3	650	420		3	670	550
	4	550	300		4	900	720
	5	600	350		5	960	750
	6	510	330		6	870	600
	7	650	420		7	670	540
	8	600	350		8	800	620
	9	420	300		9	750	600
	10	680	500		10	700	550
	11	800	590		11	680	430
	12	600	400		12	840	600
	13	700	400		13	880	590
	14	600	400		14	610	420
	15	600	400		15	430	300
	16	520	350		16	330	200
	17	630	500		17	720	500
	18	500	350		18	600	400
	19	600	320		19	670	510
	20	700	500		20	780	650
<b>Elghomri</b>	1	810	620	<b>Ouled Rahmoun</b>	1	800	500
	2	720	600		2	620	410
	3	710	530		3	800	520
	4	600	480		4	750	420
	5	700	630		5	550	350
	6	540	310		6	800	500
	7	720	500		7	610	320
	8	800	500		8	420	300
	9	750	430		9	430	300
	10	500	320		10	650	480
	11	430	300		11	850	500

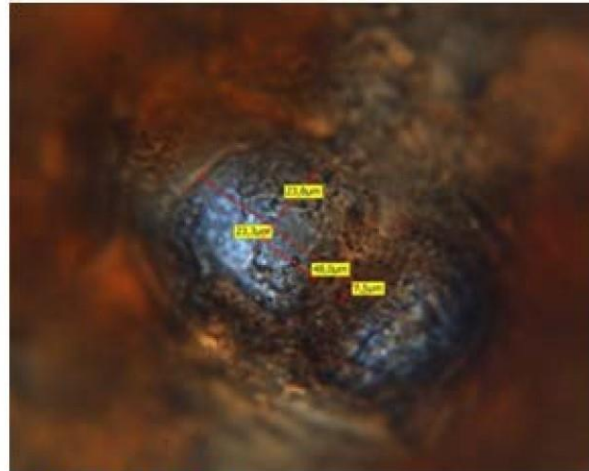
	12	700	550		12	580	400
	13	630	450		13	460	300
	14	750	500		14	600	400
	15	500	350		15	700	500
	16	450	300		16	600	400
	17	800	430		17	700	550
	18	480	310		18	630	450
	19	710	580		19	750	500
	20	410	280		20	500	350
<b>Bouandas</b>	1	710	450	<b>Tipaza</b>	1	800	450
	2	800	610		2	790	400
	3	420	300		3	710	420
	4	550	320		4	750	550
	5	700	500		5	620	400
	6	710	550		6	450	350
	7	500	410		7	620	300
	8	800	600		8	600	500
	9	420	300		9	700	600
	10	680	500		10	600	480
	11	800	590		11	700	610
	12	600	400		12	670	550
	13	700	400		13	900	720
	14	600	400		14	780	500
	15	600	400		15	700	550
	16	520	350		16	800	600
	17	500	320		17	700	490
	18	600	350		18	710	450
	19	680	500		19	500	410
	20	800	590		20	800	600
<b>Tamlouka</b>	1	800	590	<b>Tleghma</b>	1	800	550
	2	600	400		2	520	400
	3	700	400		3	720	620
	4	600	400		4	880	620
	5	800	600		5	750	490
	6	700	490		6	620	420
	7	600	500		7	700	550
	8	600	350		8	850	500
	9	420	300		9	780	500
	10	680	500		10	700	550
	11	800	590		11	800	600
	12	600	400		12	780	500
	13	880	590		13	440	280
	14	610	420		14	500	350
	15	430	300		15	600	400
	16	330	200		16	700	500
	17	720	500		17	500	360
	18	600	400		18	600	400
	19	800	670		19	610	320
	20	680	520		20	790	500



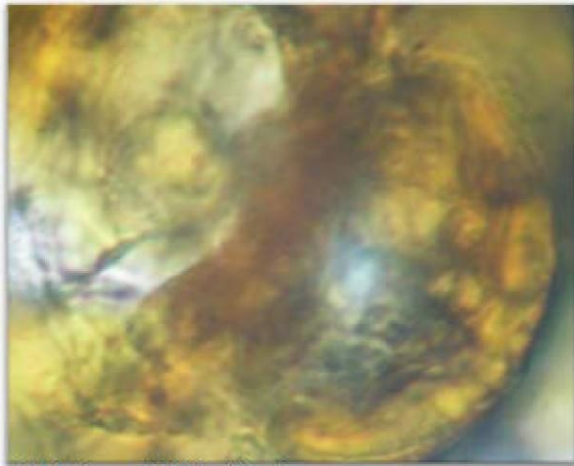
Annexe 3 - Micrographies illustrant les mensurations portées sur les cônes vulvaires des trois populations étudiées au CNR de Bari. **(Original)**



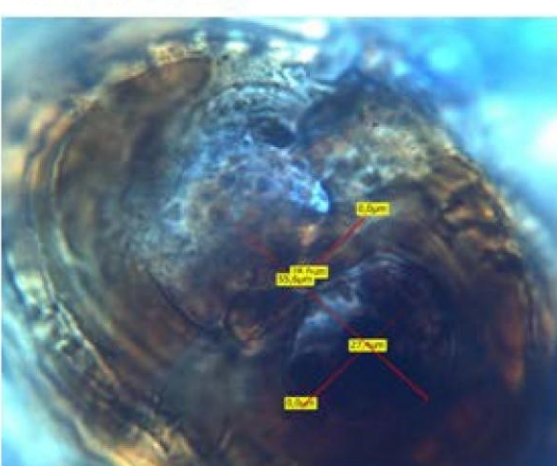
*H. avenae* X40 Ouled Rahmoun



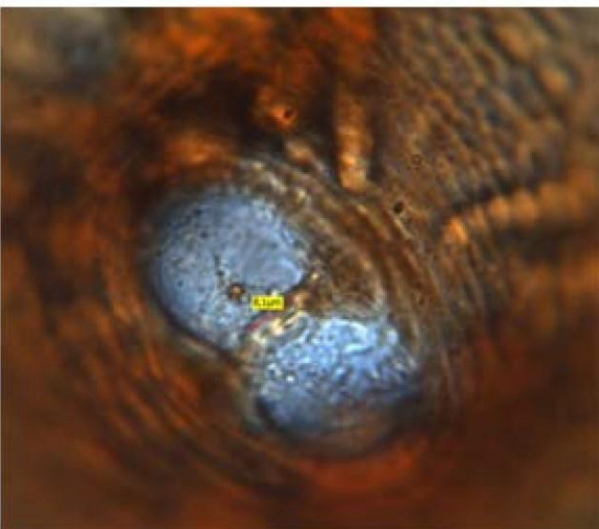
*H. avenae* X40 Bouira



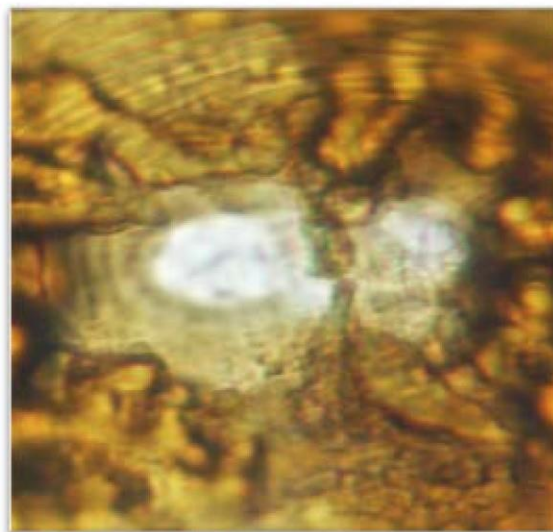
*H. latitons* X100 Bouira



*H. filipjevi* X100 Ouled Rahmoun

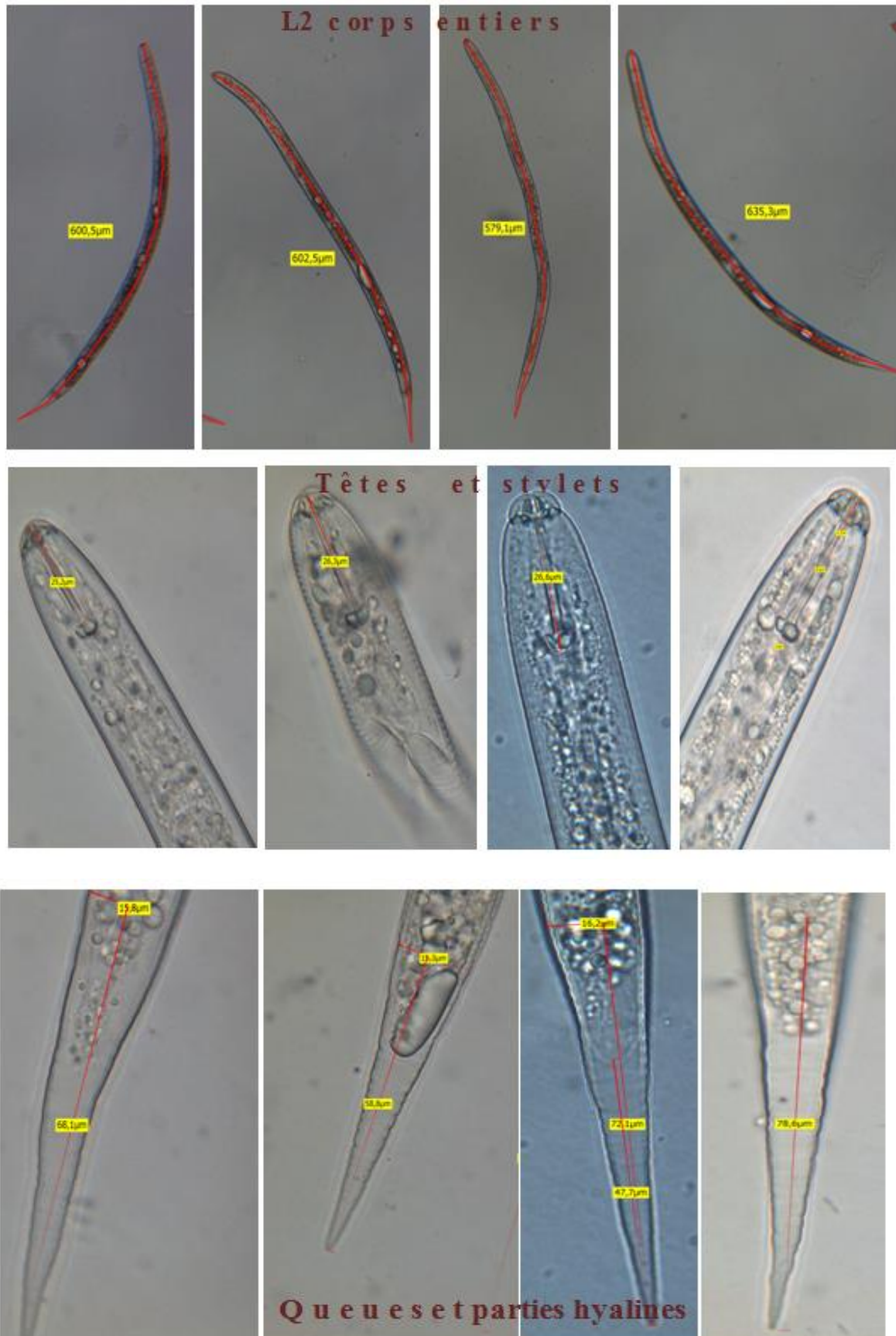


X40 Tipaza



*H. u. MQ.e* X40 El :Cilwmri

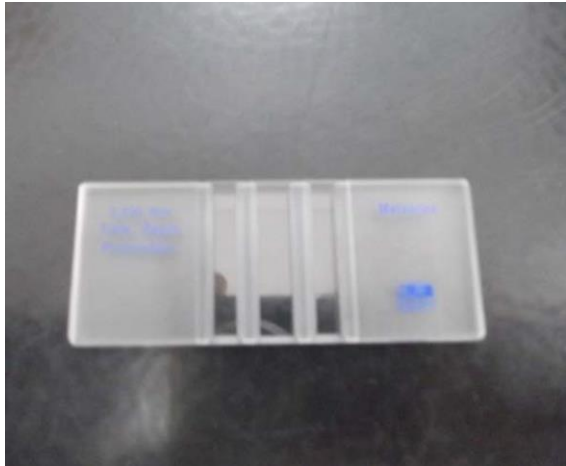
**Annexe 4** - Micrographies illustrant les mensurations effectuées sur les corps, stylets et queues des L2 des trois populations étudiées au CNR de Bari. **(Original)**



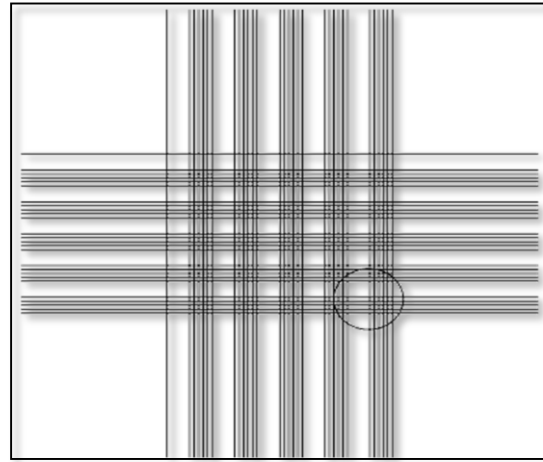
**Annexe 5 – Techniques de numération utilisée dans la culture monospore**

**1- Description de la cellule de Malassez**

La cellule de Malassez est une lame spéciale quadrillée qui permet le comptage des cellules (Fig.1).



**Fig.1** –la cellule de Mallassez



**Fig. 2**–Gravure de la cellule deMalassez

La gravure horizontale est constituée de 5 groupes de 5 lignes, plus une ligne seule. Les groupes de lignes sont espacés de 0,2 mm. Les lignes des groupes sont espacées de 0,05 mm et la profondeur de la cellule est de 0,200 mm (Fig.2).

25 rectangles de 0,2x0,25 mm divisés en 20 carrés de 0,05 mm de côté (ces rectangles sont appelés "périmètres de comptage" (Fig.4). Chaque périmètre a donc un volume de  $0,2 \times 0,25 \times 0,25 = 0,01 \text{ mm}^3$  soit  $10^{-5}$  ml. La totalité de la cellule, soit 100 rectangles de 0,2x0,25 mm, Le volume de la cellule est de  $0,2 \times 2 \times 2,5 = 1 \text{ mm}^3$  soit  $10^{-3}$  ml.

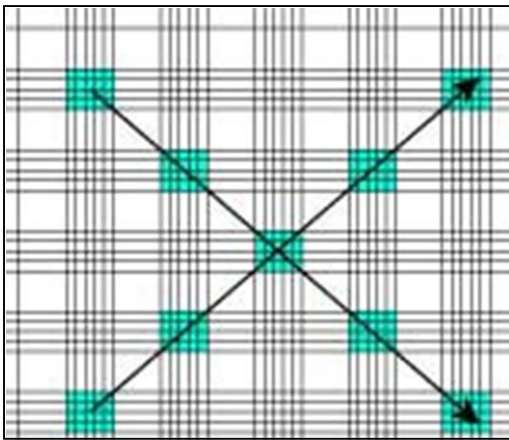
**2- Méthode de comptage**

La moyenne des spores localisées sur les rectangles des 2 diagonales est calculée (fig.3). Elle correspond au nombre de spores contenues dans un rectangle soit dans un volume de  $0,01 \text{ mm}^3$  ( $0,01 \text{ mm}^3 = 10^{-5}$ ).

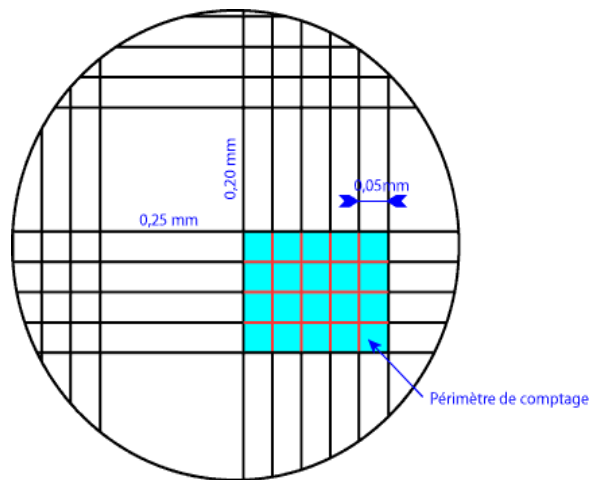
**Exemple :**

<u>Diagonale 1</u>	<u>Diagonale 2</u>
Carré 1 : 8 spores	Carré 1' : 3 spores
Carré 2 : 6 spores	Carré 2' : 4 spores
Carré 3 : 3 spores	Carré 3' : 3 spores
Carré 4 : 1 spore	Carré 4' : 0 spores
Carré 5 : 2 spores	Carré 5' : 1 spore

**La moyenne = 3 spores dans un carré**



**Fig.3-** Comptage en diagonale des spores



**Fig.4 -** Détail de la cellule de Mallassez

**Annexe 6** – Composition et préparation des milieux de culture pour l'isolement des champignons antagonistes des nématodes à kyste *Heterodera* sp.

**1- Milieu gélose nutritive :**

- 20g d'Agar
- 1000 ml d'eau distillée

Autoclavage à 120°C pendant 20mn.

**2- Milieu Malt :**

- 30g d'extrait de Malt
- 15g d'Agar
- 1000 ml d'eau distillée

Autoclavage à 120° C pendant 20mn.

**4- Préparation du milieu P.C.A (Potato, Carote, Agar).**

- 20g de pomme de terre.
- 20g de carottes.
- 15g d'agar.
- 1litre d'eau distillée.

Des cubes de pomme de terre et de carotte épluchés sont portés à ébullition dans 1 litre d'eau distillée pendant 10 mn. Le bouillon est filtré à l'aide d'une gaze et ajusté à 1 litre avec l'eau distillée. Ce bouillon est versé dans un ballon d'une capacité de 2 L contenant 15g d'agar agar. Le milieu est ensuite homogénéisé par agitation, son pH est ajusté puis il est autoclavé à 120°C pendant 20 mn.

**5- Préparation du milieu C.M.A (Corn-Meal-Agar).**

- 60 g de maïs.
- 15 g d' Agar.
- 1000 ml d'eau distillée.

Les grains de maïs sont mis à bouillir dans l'eau distillée pendant 1heure. Le filtrat obtenu est ajusté à 1 litre avec l'eau distillée puis versé dans un ballon contenant l'Agar agar. Le milieu est ensuite autoclavé pendant 20 mn à 120°C.

**6- Préparation du milieu P.D.A (Potato Dextrose Agar).**

- 250 g de pomme de terre.
- 20 g d'agar.
- 20 g de dextrose : glucose.
- 1000 ml d'eau distillée.

Les pommes de terre sont épluchées, lavées, coupées en petits dés puis mises à bouillir dans 1000 ml d'eau distillée pendant 20 mn. Le filtrat est récupéré dans une fiole et ajusté à 1000 ml avec de l'eau distillée.

Dans un ballon, 20g de dextrose et 20 g d'agar agar sont déposés auxquels est ajouté le filtrat de pomme de terre. Le milieu est bien agité pour l'homogénéiser puis il est réparti dans des flacons et stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 20 mn.

**7- Préparation du milieu Czapek-dox.**

- 30g de saccharose.
- 3g de  $\text{NaNO}_3$ .
- 1g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
- 0,5g de KCl.
- 0,5g de  $\text{Mg So}_4, 7\text{H}_2\text{O}$ .
- 0,01g de  $\text{Fe So}_4 7\text{H}_2\text{O}$ .
- 15g Agar
- 1 litre d'eau distillée.

Ce milieu est autoclavé à 120°C pendant 20.

**Annexe 7**– Caractéristiques morpho-culturelles des souches après leur purification.

Région	boîte	milieu	Souche	critères macroscopiques	critères microscopiques
ITGC (Oued smar)	Boite1-a	CMA	N Id 1	Aspect : submergé Couleur : translucide	-----
	Boite1 b	MEA	Souche 1	Aspect : cotonneux à centre relevé	Forme : mycélium non septé, fin
				Couleur : blanche	Organe de reproduction : conidium porté par un conidiophore.
	Boite2-a	PDA	Souche 2	Aspect : aérien	Forme : mycélium non septé, rhizoïdes
				Couleur : blanche	organe de reproduction : Sporocyste qui contient des spores
	Boite2-b	CMA	Souche 3	Aspect : aérien	Forme : mycélium non septé, pas de rhizoïdes
				Couleur : blanche	organe de reproduction : Sporocyste qui contient des spores
	Boite7	PCA	N Id 2	Aspect : cotonneux	-----
				Couleur : rose	
	Boite 9-a	Cz-dox	Souche 4	Aspect : aérien	Forme :mycélium fragmenté.
				Couleur : vert. Revers : noir	Organe de reproduction : conidie
	Boite 9-b	PCA	N Id 3	Aspect : aérien	-----
				Couleur : vert. Revers : noir	
Boite 9-c	MEA	Souche 5	Aspect :	Forme :	
			Couleur : blanche Revers : noir	Organe de reproduction	
Boite 13	PCA	Souche 6	Aspect : submergé	Forme : présence du conidiophore et des phialides	
			Couleur : rose	Organe de reproduction : conidie	
Bouira	Boite4 - a	MEA	Souche 7	Aspect : aérien, cotonneux	Forme : mycélium articulé
				Couleur : blanche à centre jaune.	Organe de reproduction : arthospore
	Boite4-b	PDA	N Id 4	Aspect : aérien avec touffe Couleur : blanche.	-----

<b>Bouira (suite)</b>	Boite5-a	MEA	Souche 8	Aspect : submergé	Forme : mycélium septé.
				Couleur : rose à violet	Organe de reproduction: macroconidie fusiforme
	Boite5-b	Cz-dox	N Id 5	Aspect : aérien	-----
				Couleur : banche	
	Boite6-a	MEA	Souche 9	Aspect : aérien a contour bien défini	-----
				Couleur : Noire	
	Boite6-b	Cz-dox	N Id 6	Aspect : submergé	-----
Couleur: translucide					
Boite8-a	PDA	Souche 10	Aspect : submergé	Forme : mycélium fin	
			Couleur : blanche à jaune	Organe de reproduction : grappe de spores	
Boite 8 - b	Cz-dox	N Id 7	Aspect : submergé	-----	
			Couleur : blanche à centre jaune		
	PCA	N Id 8	Aspect :	-----	
			Couleur :		
<b>Tipaza</b>	Boite3-a	PDA	Souche 11	Aspect : submergé	Forme : mycélium septé
				Couleur : blanche	organe de reproduction: spore sphérique
	Boite3-b	CMA	Souche 12	Aspect : submergé	Forme : mycélium septé.
				Couleur : blanche à rosâtre	Organe de reproduction: macroconidie fusiforme et microconidie ovale.
	Boite 14	Cz-dox	N Id 9	Aspect : submergé	-----
				Couleur : blanche	
Boite 15	PCA	N Id 10	Aspect : submergé et présence de spores	-----	
			Couleur : blanche		



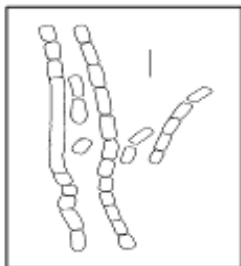
Annexe 8 – Identification selon la clé de St-Germain (2012).

**Conidies en chaîne**

Arthroconidies

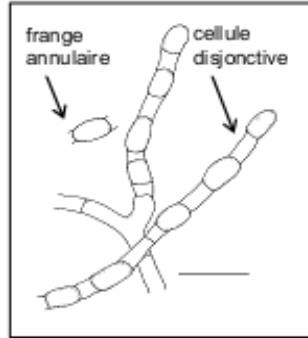
Conidies autres que des arthroconidies

♦ Conidiophores absents



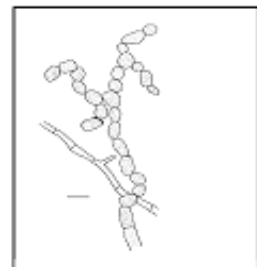
*Geotrichum*

Arthroconidies alternées



*Coccidioides Malbranchea*

Arthroconidies simples, colonie glabre, blanche

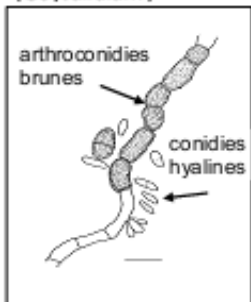


*Neoscytalidium (Scytalidium)*

Arthroconidies simples, colonie laineuse, blanche ou brunâtre

Colonie blanche à jaunâtre, croissance lente, arthroconidies ovales

*Onychocola canadensis*



*Aureobasidium*

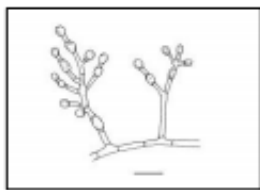
Colonie glabre blanche à rose ou jaune pâle, devenant brun noir avec l'âge

♦ Conidiophores présents



*Chrysonilia*

colonie blanche à rose pâle, très laineuse



colonie blanche à brunâtre poudreuse

*Geomyces Chrysosporium*

♦ Champignons hyalins, conidiophores non ramifiés se terminant en vésicule



*Aspergillus*

♦ Champignons hyalins, conidiophores ramifiés en pinceau



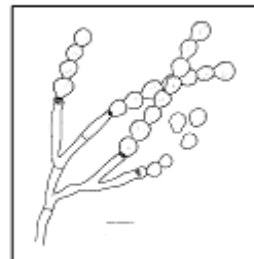
*Penicillium*

Colonie souvent verte



*Paecilomyces*

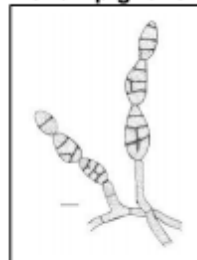
Colonie souvent rouille, jamais verte



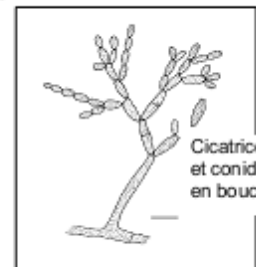
*Scopulariopsis*

Conidies à base tronquée

♦ Champignons dématiés



*Alternaria*



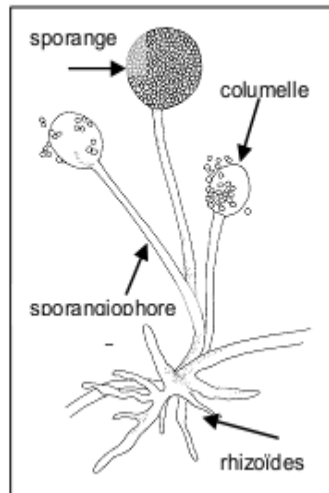
*Cladosporium*

Cicatrices et conidies en bouclier

**Hyphes larges,  
peu ou non septés**

Sporangiophores non ramifiés

sporangiophores en bouquets, partant de **rhizoïdes bien développés**, les souches pathogènes se cultivent bien à 37 °C



*Rhizopus*

**Hyphes étroits et septés  
Organes de fructification présents**

Sporangiophores ramifiés

rhizoïdes absents, souvent pas ou peu de croissance à 37 °C



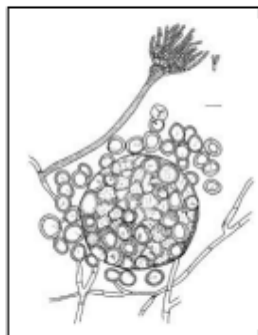
*Mucor*

rhizoïdes très primitifs (souvent difficiles à repérer), croissance à 54 °C



*Rhizomucor*

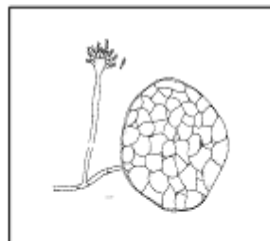
Têtes aspergillaires présentes



*Aspergillus nidulans*

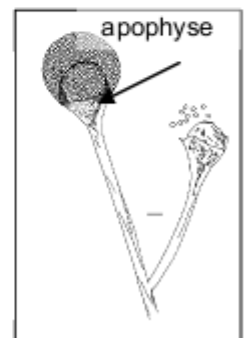
colonie vert foncé, présence de cellules en noisette

colonie jaune et verte



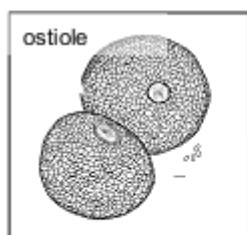
*Aspergillus section Glaucus*

apophyse bien développée (rhizoïdes présents, mais souvent difficiles à repérer), les souches pathogènes se cultivent bien à 37 °C



*Lichtheimia (Absidia)*

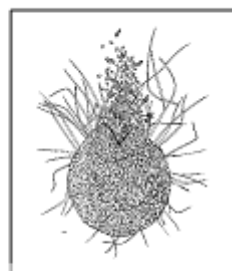
ne produit pas de conidies sur les hyphes



*Phoma*

Périthèce entouré de soies brunes

pycnides avec une ouverture (ostiole)

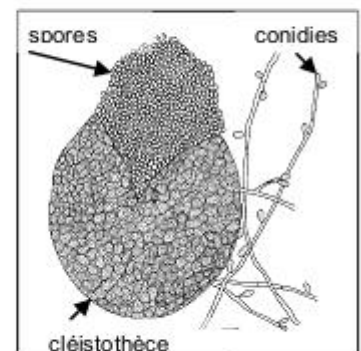


*Chaetomium*

Têtes aspergillaires absentes

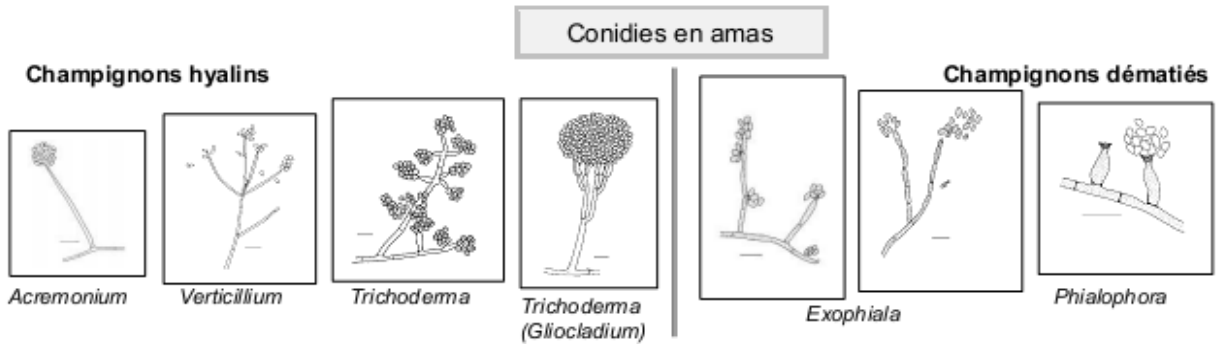
produit des conidies sur les hyphes

produit des conidies ovales à base tronquée sur les hyphes, en plus des cléistothèces



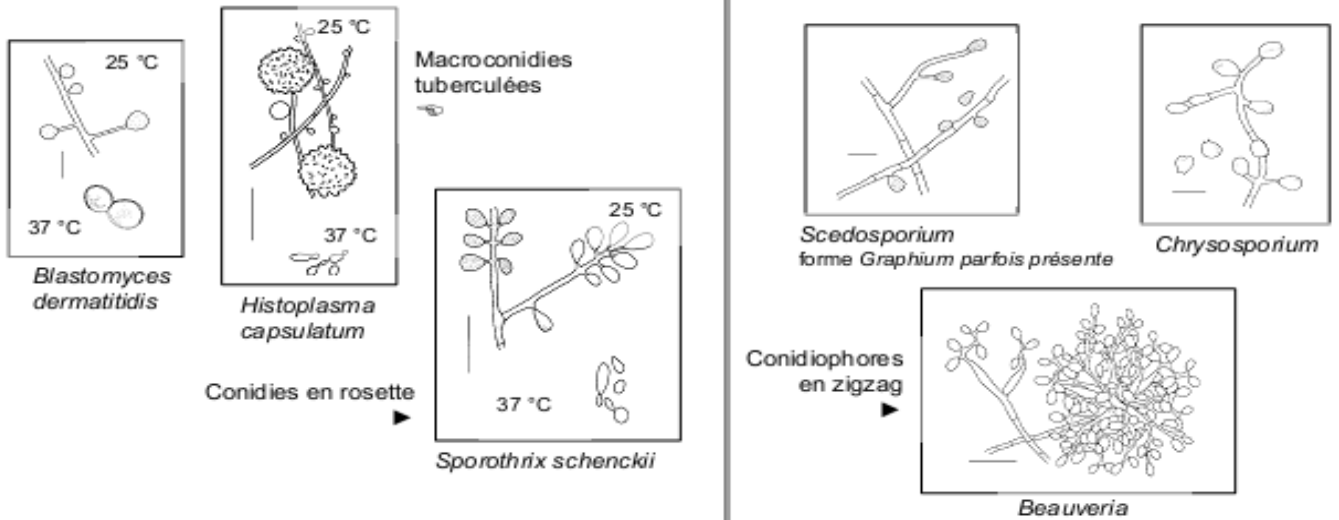
*Pseudallescheria boydii (Scedosporium sp.)*

**Conidies en amas ou solitaires (fixées individuellement sur le conidiophore)  
Conidies unicellulaires**

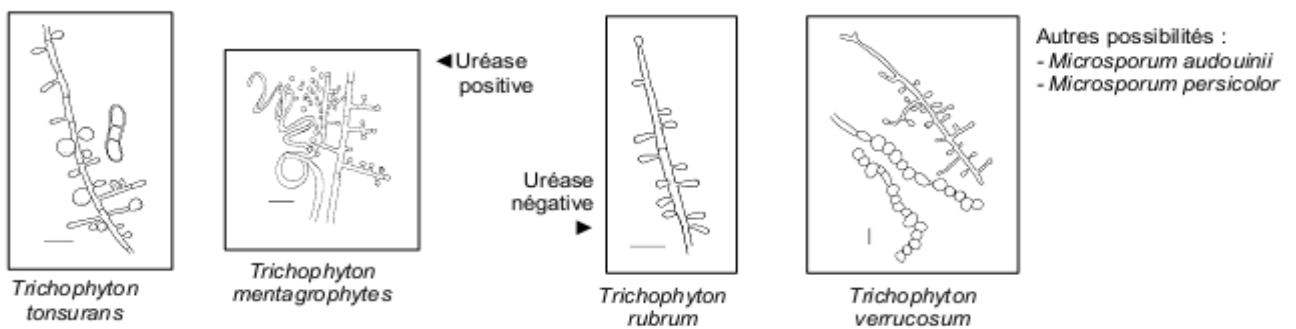


**Conidies solitaires (fixées individuellement sur le conidiophore)**

**Champignons dimorphes**



**Dermatophytes**



*Résumés*

## Les nématodes à kyste *Heterodera* spp. des céréales en Algérie : Études sur la distribution, les espèces, les pathotypes et les antagonistes.

### Résumé

Une enquête est menée sur kystes appartenant au complexe *Heterodera avenae* en Algérie pendant cinq années (2007-2012). Quarante parcelles céréalières réparties sur 22 localités sont échantillonnées. Les résultats montrent que 92,5 % des parcelles céréalières sont infestées par les nématodes à kyste des céréales *Heterodera* spp. Toutefois, les degrés d'infestation sont très variables selon les localités voire selon les parcelles. Ils passent de 0 kyste/kg de sol dans les localités des Isser (Boumerdes), Lamtar (Sidi Bel Abbès) et El Maleh (Ain Temouchent) à 281 kystes/kg de sol dans la localité de Bouandas (Sétif).

L'étude morphométrique de diverses populations de nématodes à kystes des céréales, montre que les kystes présentent des caractéristiques morphologiques et morphométriques variables selon les parcelles parfois au sein de la même parcelle. Ce constat est affirmé par l'étude microscopique du cône vulvaire des kystes et des larves qui révèle la présence de quatre espèces du groupe *H.avenae* à savoir : *H.avenae*, *H.latipons*, *H.mani* et *H.filipjevi* qui sont seules ou en mélange en plus d'une espèce non identifiée, appartenant au groupe *H. schachtii*.

Le test de virulence de deux populations d'*H.avenae* provenant respectivement de Tiaret et de Oued Smar en conditions naturelles et *in vitro* à l'égard de neuf cultivars de blé, orge et avoine utilisés dans l'Assortiment Différentiel International pour identifier pathotypes de *H.avenae* montre les mêmes réactions de ces céréales aux deux populations. Ce test indique qu'il s'agit de deux pathotypes appartenant au Groupe 1. Mais cette étude n'est pas concluante quant à la distinction entre pathotypes Ha21, Ha31 ou Ha81.

La recherche des champignons antagonistes des nématodes à kystes de Bouira, a permis l'isolement de vingt trois champignons. Quinze genres sont identifiés sur la base de leurs caractéristiques morphoculturelles.

Les genres *Paecilomyces* et *Verticillium* sont isolés respectivement des kystes de Tipaza et de Bouandas (Sétif). *Harposporium* sp., *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Chrysonilia* sp., *Cladosporium* sp., *Periconia* sp., isolés des kystes de la parcelle de l'ITGC (Oued smar).

Les genres : *Geotrichum* sp., *Torula* sp., *Acremonium* sp., *Cylindrocarpon* sp., *Aspergillus* sp., sont isolés des kystes de la parcelle de Ain Bessam (Bouira). Alors que le genre *Pochonia* sp. est isolé des kystes de la région de Tipaza. Le genre *Fusarium* sp., est isolé des deux parcelles de Tipaza et de Bouira.

Dix autres genres restent à identifier afin de donner une liste globale des champignons associés aux kystes du genre *Heterodera*.

**Mots clés :** Céréales, répartition géographique, degrés d'infestation, caractérisation, *Heterodera* spp., pathotypes, champignons antagonistes, lutte.

## Cereal cyst nematodes *Heterodera* spp.: Studies on distribution, species, pathotypes and antagonists.

### Summary

A survey is conducted on cysts belonging to the *Heterodera avenae* complex in several regions of Algeria during five years (2007-2012). Forty cereal plots spread over 22 localities are sampled. The results show that 92.5% of cereal plots were infested with cereal cyst nematodes *Heterodera* spp. However, the infestation degrees vary widely according localities and between plots of the same locality. They vary between 0 cyst / kg soil in the localities of Isser (Boumerdes), Lamtar (Sidi Bel Abbes) and El Maleh (Ain Temouchent) and 281 cysts / kg soil in the locality of Bouandas (Setif).

The morphometric study of several populations of CCN shows that the cysts exhibit morphological and morphometric differences which vary according the plot, but sometimes within the same plot. This finding is confirmed by the microscopic study of vulvar cone cysts and larvae which revealed the presence of four species of the group *H. avenae* namely: *H. latipons*, *H. hordecalis*, *H. mani*, *H. filipjevi* and *H. avenae* and often unidentified species, belonging to *H. schachtii* group.

The virulence test of two *H.avenae* populations from Tiaret and Oued Smar in natural conditions and *in vitro* on nine cultivars of wheat, barley and oats used in the International Assortment differential to identify pathotypes *H. avenae* shows the same reactions of these cultivars to both populations. This test indicates that these two pathotypes belong to Group 1. But this study is not conclusive about the distinction between pathotypes Ha21, Ha31 or Ha81.

Search for cysts antagonistic fungi on several populations, allowed the isolation of twenty three fungi. Fourteen genera are identified on the basis of their morphological characteristics. The genera *Paecilomyces* sp. and *Verticillium* sp. are isolated respectively on cysts of Tipaza and Bouandas (Setif). *Harposporium* sp., *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Chrysonilia* sp., *Cladosporium* sp., *Periconia* sp., Isolated from the cysts of the plot of the ITGC (Oued smar).

*Geotrichum* sp., *Torula* sp., *Acremonium* sp., *Cylindrocarpon* sp. and *Aspergillus* sp are isolated cysts plot Ain Bessam (Bouira). While the genus *Pochonia* sp. is only isolated cyst Tipaza region and the genus *Fusarium* sp., was isolated from two plots of Tipaza and Bouira.

Ten other genera remain to be identified in order to provide a comprehensive list of fungi associated of the genus *Heterodera*.

**Keywords:** Cereal, geographical distribution, degree of infestation, characterization, *Heterodera* spp. pathotypes antagonistic fungi, control.

خيطيات الحبوب ذوات الأكياس *Heterodera spp.* في الجزائر : دراسات حول التوزيع الجغرافي، الأصناف ، الأنواع المرضية و المعاكسات الطبيعية

### ملخص

- أجري تحقيق حول الخيطيات ذوات الأكياس من المركب *Heterodera avenae* في عدة مناطق من الجزائر خلال 5 سنوات ( 2007-2012 ) تم أخذ عينات من 40 حقلا للحبوب موزعون على 22 ولاية. بينت النتائج أن 92,5% من هذه الحقول المصابة بهذه الخيطيات و تختلف درجات الإصابة من حقل إلى آخر ، حيث تمر من 0 كيس/كغ من التربة في موقع "يسر" ( بومرداس ) و "لمطار" ( سيدي بلعباس ) و "المالح" ( عين تموشنت ) إلى 281 كيس/كغ من التربة في موقع "بونداس" ( سطيف).

- الدراسة المظهرية لمختلف المجتمعات الخيطيات ذوات الأكياس تبين أن لديها خصائص مظهرية مختلفة حسب الحقول و أحيانا حسب عينات نفس الحقل. هذه الملاحظات أكدت دراسة مجهرية للمخروط الفرجي للأكياس و اليرقات و التي تكشف عن وجود 4 أصناف تنتمي إلى مركب "*Heterodera avenae*" و هي *Heterodera avenae*, *H. filipjevi*, *H. latipons*, *H. mani* و صنف آخر غير معرفة و تنتمي إلى مجموعة *H. schachtii*.

- أظهر الاختبار مجتمعين من الصنف *H. avenae* من تيارت و واد السمار في الظروف الطبيعية وفي المختبر ضد تسعة أصناف من القمح، الشعير والشوفان المستعملة في مجموعة الحبوب التفاضلية الدولية لتحديد السلالات أن لهذه الحبوب نفس ردود الفعل ضد هاتين المجتمعين، وعليه فهما تنتمي إلى نفس المجموعة رقم 1 ولكن هذه الدراسة ليست حاسمة فيما يتعلق بالتمييز بين السلالات.

- بحثا عن الفطريات المضادة للخيطيات ذوات الأكياس ، تم عزل 25 فطري . تم تحديد 15 نوعا منها اعتمادا على خصائصها المظهرية والمجهرية .

عزل نوعين *Verticillium sp.* و *Paecilomyces sp.* من أكياس تيبازة ، بومرداس ، (سطيف) للأنواع *Periconia sp.*, *Chrysonilia sp.*, *Cladosporium sp.*, *Harposporium sp.*, *Mucor sp.*, *Rhizopus sp.* واد السمار. أما أكياس حقول عين بسام ( البويرة) فقد عزلت منها الأنواع: *Aspergillus sp.*, *Cylindrocarpon sp.* , *Pochonia sp.* ومن أكياس منطقة تيبازة عزل النوع *Acremonium sp.*, *Torula sp.*, *Geotricum sp.*, *Fusarium*، موجود في حقول تيبازة والبويرة.

عشرة فطريات أخرى لم يتم بعد تحديد أنواعها، يستحسن تعريفها من أجل تشكيل قائمة للفطريات المرتبطة بهذه الخيطيات.

**الكلمات المفتاح:** حبوب، توزع جغرافي، سلالات، فطريات مضادة، مقاومة.