

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة – الحراش – الجزائر

Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) El-Harrach, Alger



Thèse présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat en  
Sciences Agronomiques

**Sujet**

**RECHERCHE DE FACTEURS TOXINOGENES CHEZ LA FUSARIOSE DE L'EPI  
DU BLE CAUSEE PAR *FUSARIUM CULMORUM* ET DES METABOLITES DE  
RESISTANCE**

**Par: M. HADJOUT Salah**

Soutenue publiquement à l'ENSA devant le jury composé de:

**Présidente:** Mme. Louanchi, M. Professeur à l'ENSA d'El- Harrach, Alger  
**Directeur:** M. Bouznad, Z. Professeur à l'ENSA d'El- Harrach, Alger  
**Examineurs:** M. Benchabane, M. Professeur à l'Université 01, Blida  
M. Nabti, E. Professeur à l'Université de A/Mira, Bejaia

**Année universitaire 2018-2019**

### Résumé

Au cours de cette dernière décennie, plusieurs travaux de recherches menés en Algérie signalent l'importance de la fusariose de l'épi causée par différentes espèces de *Fusarium* affectant sévèrement les rendements des récoltes et la qualité technologique et sanitaire des grains par la production de mycotoxines. L'intérêt de ce présent travail est de comparer 2 lignées de blé dur nouvellement sélectionnées ( $G_1$  et  $G_4$ ) à leurs parents sensibles pour leur comportement à l'égard de cette maladie. Ces lignées sont homozygotes, fixées, obtenues par sélection généalogique classique et composées de semences  $F_{15}$  issues de croisements diallèles entre 4 variétés parentales: Saadi, Siméto, Ardente et Waha. A cet effet, l'évaluation de la maladie est réalisée au champ pendant deux ans. Au cours de la première année (2013-2014), deux lignées ont été testées avec 10 isolats de *Fusarium* originaires d'Algérie. La deuxième année (2014-2015), trois variétés parentales ont été ajoutées et testés avec 4 isolats de *Fusarium culmorum* sélectionnées de la collection de l'année précédente. Nos travaux de recherche ont porté dans un premier temps au suivi de l'évolution des symptômes durant le remplissage du grain, après inoculation artificielle sur épis par les isolats de *Fusarium* en vue d'évaluer les différences de comportement des génotypes à la fusariose. Dans un second temps, une caractérisation biochimique des trichothécènes B (TCTB), de l'ergostérol et des acides phénoliques a été réalisée en laboratoire. Les résultats obtenus ont révélé que les lignées issues de croisements ont présenté une résistance plus élevée que leurs parents avec accumulation de TCTB et de l'ergostérol significativement plus faible. Dans nos conditions de cultures, aucun génotype n'a montré une résistance complète (immunité) à la maladie. Néanmoins, la lignée  $G_1$  présente un bon niveau de résistance dans nos conditions. En outre, une analyse détaillée de la composition en acides phénoliques des grains indique des teneurs significativement plus élevées en acide *p*-coumarique chez les lignées résistantes que chez les parents sensibles. Nos résultats confirment également la prédominance des formes monomériques et dimères de l'acide férulique dans les grains de blé dur mature, ainsi que des concentrations supérieures d'acides phénoliques libres et liés aux parois cellulaires dans les grains de la lignée  $G_1$ . Ces métabolites peuvent donc contribuer comme facteur possible de résistance du blé dur à la fusariose et à l'accumulation des TCTB.

**Mots clés :** Blé dur, fusariose de l'épi, résistance, trichothécènes B, acides phénoliques, ergostérol.

## ملخص

خلال هذه السنوات الأخيرة، تطرقت عدة مشاريع بحثية في الجزائر إلى أهمية مرض فيوزاريوز سنابل القمح الذي تسببه أنواع مختلفة من فطر الفيوزاريوم الذي يؤثر بشدة على غلة المحاصيل والجودة التكنولوجية والصحية للحبوب من خلال إنتاج السموم الفطرية. يهدف هذا البحث إلى مقارنة سلالتين من القمح الصلب منتقا حديثا ( $G_4$  و  $G_1$ ) مع أبائهم الحساسة بغية دراسة سلوكهما تجاه هذا المرض. هاتان السلالتان متماثلة اللواقح، ثابتة، تم الحصول عليهما عن طريق الانتقاء الكلاسيكي للأنساب وتتكون من بذور  $F_{15}$  ناتجة من تصالبات ثنائية الألائل بين أربعة أصناف أبوية: السعدي، السيمتو، الأردينت والواحة. لهذا الغرض، تم تقييم المرض على مستوى الحقل لمدة سنتين. خلال السنة الأولى (2013-2014)، تم اختبار سلالتين مع 10 عزلات من فيوزاريوم الجزائر. وفي السنة الثانية (2014-2015)، تم إضافة ثلاثة أصناف أبوية واختبارها مع أربع عزلات من *Fusarium culmorum* منتقا من مجموعة العام السابق. ركز هذا البحث أولاً على مراقبة تطور الأعراض أثناء مرحلة ملء الحبوب، بعد الرش الاصطناعي على السنابل بواسطة عزلات فطر الفيوزاريوم من أجل تقييم الاختلافات في سلوك الأنماط الجينية مع الفيوزاريوزم. ثانياً، تم إجراء تحديد الخصائص البيوكيميائية للتريكوتيسان بي، الأروغوستيروول والأحماض الفينولية في المخبر. بينت النتائج أن السلالات الناتجة عن التصالبات لديها مقاومة أعلى من أبائهما مع تراكم التريكويسان بي، الأروغوستيروول أقل بكثير. في ظروفنا الزراعية، لم يظهر أي نمط وراثي مقاومة كاملة (مناعة) للمرض. على الأقل، تتمتع سلالة  $G_1$  بمستوى جيد من المقاومة في ظروفنا الطبيعية. بالإضافة إلى ذلك، يشير التحليل الكيميائي الحيوي المفصل لتركيبات الأحماض الفينولية للحبوب إلى اختلافات معنوية في الحمض البي كوماريك بين السلالتان و الأصناف الأبوية الحساسة. وتؤكد نتائجنا أيضاً غلبة الأشكال الأحادية للأحماض والثنائية من حمض الفيروليك في حبوب القمح الصلب الناضجة، وكذلك تراكيز أعلى من الأحماض الفينولية الحرة والمرتبطة بجدران الخلايا في حبوب السلالة المقاومة  $G_1$ . وبالتالي فإن هذه الأيضات يمكن أن تسهم كعامل محتمل لمقاومة القمح الصلب ضد مرض فيوزاريوز سنابل القمح و تراكم التريكويسان بي.

**الكلمات الدالة:** القمح الصلب، فيوزاريوز السنابل، المقاومة، التريكويسان بي، الأحماض الفينولية، الأروغوستيروول.

### Abstract

In recent years, several research projects in Algeria reveal the importance of Fusarium head blight (FHB) caused by different species of *Fusarium* severely affecting crop yields, the technological and sanitary quality of the grains through the production of mycotoxins. The objectives of this work is to compare two newly selected durum wheat lines (G<sub>1</sub> and G<sub>4</sub>) to their sensitive parents for their behavior towards this disease. These lines are homozygous, fixed, obtained by classical genealogical selection and composed of F<sub>15</sub> seeds resulting from diallel crosses between 4 parental varieties: Saadi, Siméto, Ardente and Waha. For this purpose, the evaluation of the disease is carried out in the field for two years. During the first year (2013-2014), two lines were tested with 10 *Fusarium* isolates originating from Algeria. In the second year (2014-2015), three parental varieties were added and tested with four selected *Fusarium culmorum* isolates from the previous year's collection. This research first focused on monitoring the evolution of symptoms during grain filling, after artificial inoculation on spike by *Fusarium* isolates in order to evaluate the differences in behavior of genotypes with FHB. In a second step, a biochemical characterization of trichothecenes B (TCTB), ergosterol and phenolic acids was carried out in the laboratory. The results revealed that lines resulting from hybridization had higher resistance than their parents with significantly lower TCTB accumulation and ergosterol. In our growing conditions, no genotype has shown complete resistance (immunity) to the disease. At least, the G<sub>1</sub> line has a good level of resistance in our conditions. In addition, a detailed analysis of phenolic acid composition of grains indicates significant differences in *p*-coumaric acid between the FHB-resistant breeding lines and the sensitive genotypes. These metabolites may therefore contribute as a possible factor of resistance of durum wheat to Fusarium head blight and TCTB accumulation.

**Key words:** Durum wheat, Fusarium head blight, resistance, trichothecenes B, phenolic acids, ergosterol.

## Dédicaces

---

### Dédicaces

Je dédie ce modeste travail avec honneur à:

- Mes très chers parents qui ont consenti tant de sacrifices pour mon éducation et mes études, auxquels je dois tout mon respect et j'espère qu'un jour je serais capable de leurs donner au moins le minimum car quoiqu'on fasse on n'arrivera jamais à leurs rendre tout.
- Ma chère femme.
- Mes chers petits enfants : Abderrahmane et Meriem.
- Mes très chères sœurs.
- Mes très chers frères.
- Toute ma famille.
- Tous mes frères amis.
- Tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation, depuis le primaire jusqu'à ce jour.
- Tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce modeste travail.

*Votre frère Salah ☺*

## Remerciements

---

### Remerciements

Au terme de ce travail, je remercie avant tout, Dieu qui m'a donné le courage, la volonté, la patience, la force (physique et morale) et l'énergie afin de parvenir à terminer ce modeste travail.

J'exprime mes sincères remerciements à mon Directeur de thèse M. Bouznad Z., Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El-Harrach, Alger, qui a suivi ce travail avec beaucoup d'intérêt. Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance et mon profond respect pour ses précieux conseils, surtout pour son entière disponibilité et ainsi que pour la marque de confiance qu'il m'a donnée pour accomplir cette étude.

J'exprime mes vifs remerciements, mon grand respect et ma très grande reconnaissance à tous mes collaborateurs de l'INRA de Bordeaux en particulier: Barreau C., Chéreau S., Richard-Forget F., pour leur accueil chaleureux dans leur laboratoire de recherche, leur gentillesse, leur efficacité, leur patience et surtout pour leur aide efficace dans la rédaction et la soumission de mon article.

Un grand remerciement à Mme. Boureghda H., Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El-Harrach, Alger, de m'avoir fourni les différents isolats de *Fusarium*, qu'elle trouve ici l'expression de ma reconnaissance la plus sincère.

Mes remerciements les plus vifs s'adressent aussi à Mme. Mekliche L., Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El-Harrach, Alger, pour m'avoir fourni les génotypes de blé dur (lignées et variétés parentales), pour m'avoir donné une opportunité d'aller plus loin dans mes recherches post-graduées car grâce à ce matériel génétique récemment sélectionné que j'ai pu continuer mes recherches de haut niveau. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

J'exprime ma profonde gratitude à Mme. Louanchi M., Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El-Harrach, Alger, pour avoir accepté d'honorer la présidence de mon jury de soutenance.

Je remercie également M. Benchabane M., Professeur à l'Université 01, Blida, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements s'adressent aussi à M. Nabti E., Professeur à l'Université de Abderrahmane Mira, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Microbiologie, Laboratoire de Maitrise des Energies Renouvelables, Bejaia, pour avoir

## Remerciements

---

accepté d'être membre de mon jury et consacrer un temps précieux à examiner et juger le contenu de mon document de thèse.

Je remercie également mes chers frères amis: Titouh K. et Zibani A., qui m'ont toujours prêté main forte surtout dans tout ce qui a trait aux analyses statistiques, qu'ils trouvent ici mes remerciements les plus amicaux.

Je souhaite exprimer aussi toute ma profonde reconnaissance à toute personne ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail, en particulier mes chers frères amis: Kadir M., Zibani A., Titouh K., Ouchene M., et tous ceux qui n'ont pas été cités et que je porte dans mon cœur pour les bonnes choses qu'ils m'ont apportées dans les moments de joie comme dans les moments difficiles. Je les remercie énormément surtout pour leur soutien moral permanent et les aides de certains durant la période de l'essai en particulier au moment de la notation des symptômes et les jours de récolte. Qu'ils trouvent ici ma profonde gratitude et ma reconnaissance la plus grande.

De plus, je ne peux pas oublier tous mes collègues du travail au CFPA de Beni Maouche, en particulier le staff technique ainsi que le Directeur précédent du centre M. Boucetta A., qui m'a facilité les choses pour accomplir ce travail de recherche dans les meilleures conditions. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

A la fin, je remercie beaucoup tous les membres de ma famille, en particulier mes chers parents, ma chère femme, mes chers frères, mes chères sœurs et pour tous leurs encouragements et leurs soutiens permanents et sans limite pour que je puisse continuer mes études secondaires et universitaires. Qu'ils trouvent en ces quelques lignes l'expression de ma très grande reconnaissance et surtout mon respect le plus profond.

*Votre frère Salah ☺*

**Liste des abréviations**

- ACB:** Agents de Lutte Biologique
- ADN:** Acide DésoxyriboNucléique
- ADON:** Acétyl-Désoxynivalénol
- AF:** Aflatoxines
- AFSSA:** Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
- ARN:** Acide RiboNucléique
- AUDPC:** Area Under Disease Progression Curve
- BEA:** Beauvéricine
- CE:** Commission Européenne
- CI50:** Concentration qui Inhibe 50 % de la croissance fongique
- CIC:** Conseil International des Céréales
- CIMMYT:** International Maize and Wheat Improvement Center
- CV:** Coefficient de Variation
- DAS:** DiAcétoxyScirpénol
- DiFA:** Dimères d'Acide Férulique
- dNTP:** désoxyriboNucléoside Tri-Phosphate
- DON:** Désoxynivalénol
- EDTA:** Ethylène Diamine-Tétra Acétique
- ELISA:** Enzyme-Linked Immuno Sorbant Analyses
- ENS:** Enniatines
- ENSA:** Ecole Nationale Supérieure Agronomique
- ET:** Ecart Type
- F.:** *Fusarium*
- FAO:** Food and Agriculture Organisation
- FB:** Fumonisines

## Liste des abréviations

---

**FHB:** Fusarium head blight

**Fig.:** Figure

**FX:** Fusarénone X

**G.** : *Gibberella*

**G<sub>1</sub>:** Génotype 1

**G<sub>4</sub>:** Génotype 4

**G<sub>9</sub>:** Génotype 9

**G<sub>10</sub>:** Génotype 10

**G<sub>11</sub>:** Génotype 11

**GC:** Gas Chromatography

**H<sup>2</sup><sub>F</sub>:** Héritabilité au sens large

**HPLC:** High Performance Liquid Chromatography

**HPLC-DAD:** High Performance Liquid Chromatography-Diode array detector

**ICARDA:** International Center for Agricultural Research in the Dry Areas

**INRA:** Institut National de la Recherche Agronomique

**ITGC:** Institut Technique des Grandes Cultures

**M.:** *Microdochium*

**MON:** Moniliformine

**MS :** Matière Sèche

**MTM :** Millions de Tonnes Métriques

**MycSa:** Mycologie et Sécurité des Aliments

**NEM :** Nombre d'Epillets Malades

**NEO:** Néosolaniol

**NIV:** Nivalénol

**LSD :** Least Significant Difference

**OAc:** Fonction Acétyle

## Liste des abréviations

---

**OIsoval:** Fonction Isovalérate

**OTA:** Ochratoxine A

**pb:** paire de base

***p*-coumarique :** *para*-coumarique

**PCR:** Polymerase Chain Reaction

**PDA:** Potato Dextrose Agar

***p*-hydroxybenzoïque:** *para*-hydroxybenzoïque

**PMG:** Poids de Mille Grains

**ppds:** plus petite différence significative

**QTL:** Quantitative Trait Locus

**rpm:** rotation par minute

**SPE:** Extraction en Phase Solide

**spp.:** espèces

**syn.:** synonyme

**Tab.:** Tableau

**TCTA:** Tri-Chothécènes de type A

**TCTB:** Tri-Chothécènes Type B

**TLC:** Thin Layer Chromatography

**U/ $\mu$ L:** Unité par microlitre

**UE:** Union Européenne

**UPLC-DAD:** Ultra Performance Liquid Chromatography-Diode array detector

**USA:** Etats-Unis d'Amérique

**UV:** Ultra-Violet

**ZEA:** Zéaralénone

**Liste des tableaux**

<b>Tableau 1:</b> Production mondiale de céréales au cours des 5 dernières années. Les grains totaux comprennent l'orge, l'avoine, le triticale et le seigle .....	7
<b>Tableau 2:</b> Production estimative et prévue de blé dur dans le monde pour les campagnes agricoles 2014/2015 et 2015/2016 .....	9
<b>Tableau 3:</b> Quelques espèces mycotoxigènes isolées de la fusariose de l'épi de blé (Bottalico et Perrone, 2002) .....	16
<b>Tableau 4:</b> Lignées généalogiques F <sub>15</sub> et variétés parentales utilisées lors de l'expérimentation.....	31
<b>Tableau 5:</b> Isolats de <i>Fusarium</i> spp. utilisés au cours de l'étude.....	32
<b>Tableau 6:</b> Dispositif expérimental en plein champ de chacun des deux essais installés en 2013/2014 .....	34
<b>Tableau 7:</b> Dispositif expérimental en plein champ des cinq essais installés en 2014/2015 ..	34
<b>Tableau 8:</b> Dispositif expérimental sous serre en 2014/2015.....	34
<b>Tableau 9:</b> Echelle d'évaluation utilisée pour l'estimation de la sévérité de l'infection par <i>Fusarium</i> sur épi (Michel, 2001, modifiée).....	36
<b>Tableau 10:</b> Amorces utilisées pour les réactions de PCR.....	56
<b>Tableau 11:</b> Mix PCR pour un échantillon.....	57
<b>Tableau 12:</b> Mix PCRq standard utilisé avec le kit TaqMan.....	58
<b>Tableau 13:</b> Caractéristiques des composés phénoliques séparés par la méthode d'analyse HPLC mise au point au cours de l'étude. ....	83
<b>Tableau 14:</b> Concentrations moyennes des principaux composés phénoliques (libres et liés) contenus dans les épis récoltés au stade floraison des différents génotypes de blé dur ( $\mu$ /g de MS).....	86
<b>Tableau 15:</b> Concentrations moyennes des principaux composés phénoliques (libres et liés) contenus dans les grains matures des différents génotypes de blé dur ( $\mu$ g/g de MS).....	87

Liste des figures

**Figure 1:** Le blé et ses parents ancestraux. Les événements d'hybridation conduisant à des blés tétraploïdes et hexaploïdes. Les espèces en gris sont où ont été cultivées (Giménez *et al.*, 2015).....6

**Figure 2:** Carte du monde avec les territoires où le blé dur est cultivé (Ranieri, 2015).....7

**Figure 3:** Symptômes caractéristiques de la fusariose de l'épi du blé (Wise *et al.*, 2015 ; Wegulo *et al.*, 2008) .....12

**Figure 4:** Le cycle de vie de *F. graminearum* (téléomorphe, *G. zeae*), agent causal de la fusariose de l'épi du blé (Trail, 2009) .....13

**Figure 5:** Structure chimique des trichothécènes groupes A et B (Foroud et Eudes, 2009)....17

**Figure 6:** Résumé de la voie de biosynthèse des trichothécènes du *F. graminearum*. Chaque flèche représente une étape unique dans la biosynthèse et le gène de la voie responsable (s'il est déjà identifié) est indiqué. Les flèches en ellipse ombrée indiquent que les gènes responsables n'ont pas encore été isolés (Kimura *et al.*, 2003).....18

**Figure 7:** Structures d'acides phénoliques courants: (a) dérivés de l'acide benzoïque et (b) dérivés de l'acide cinnamique (Liu, 2007) .....22

**Figure 8:** Photos illustrant le dispositif expérimental à différents stades de l'essai.....35

**Figure 9:** Symptômes caractéristiques de la fusariose de l'épi chez le blé dur (photos personnelles) .....38

**Figure 10:** Temps d'incubation des deux lignées (en jours) nécessaire à l'apparition des premiers symptômes sur les épis.....40

**Figure 11:** Comportement des génotypes à l'égard des isolats (temps d'incubation en jours) .....42

**Figure 12:** Evaluation du comportement des deux lignées en fonction des isolats utilisés, et estimée par la valeur des AUDPC pour le nombre d'épillets fusariés dans 25 épis .....44

**Figure 13:** Valeur de l'AUDPC moyenne du nombre d'épillets fusariés dans 25 épis traduisant l'intensité de la maladie après inoculation au champ.....47

**Figure 14:** Effet des isolats sur la diminution du PMG des deux lignées.....49

**Figure 15:** PMG pour chaque génotype selon des traitements .....51

**Figure 16:** Produits d'amplification spécifique de *F. culmorum*. M: marqueur de poids moléculaire 200 pb; +: témoin positif sans ADN; F.C.8.12, F.C.9.12 et F.C.1.12: Isolats de *F. culmorum*. .....60

## Liste des figures

---

<b>Figure 17:</b> Produits d'amplification spécifique de <i>F. pseudograminearum</i> . M: marqueur de poids moléculaire 520 pb; +: témoin positif sans ADN; F.P.G.1.11 et F.P.G.2.11: Isolats de <i>F. pseudograminearum</i> .....	60
<b>Figure 18:</b> Produits d'amplification spécifique de <i>F. graminearum</i> . M: marqueur de poids moléculaire 280 pb; +: témoin positif sans ADN; F.G.3.11 : Isolat de <i>F. graminearum</i> .....	60
<b>Figure 19:</b> Produits d'amplification spécifique de <i>F. crookwellense</i> ( <i>F. cerealis</i> ). M: marqueur de poids moléculaire 207 pb; +: témoin positif sans ADN; F.C.2.12: Isolat de <i>F. crookwellense</i> ( <i>F. cerealis</i> ).....	60
<b>Figure 20:</b> Représentation du gradient eau/acétonitrile utilisé pour le dosage des TCTB .....	66
<b>Figure 21:</b> Quantités de DON en µg/g de MS produites par trois isolats de <i>F. culmorum</i> .....	69
<b>Figure 22:</b> Quantités moyennes en DON contenues dans les échantillons analysés (en µg/g de MS).....	69
<b>Figure 23:</b> Quantités moyennes en NIV contenues dans les échantillons analysés (en µg/g de MS).....	73
<b>Figure 24:</b> Quantités moyennes en DON contenues dans les échantillons analysés (en µg/g de MS).....	74
<b>Figure 25:</b> Teneurs en ergostérol des grains de blé matures, contaminés à la floraison avec les isolats de <i>Fusarium</i> spp. ....	76
<b>Figure 26:</b> Teneurs en ergostérol accumulées dans les grains de blé matures, contaminés à la floraison avec les isolats de <i>F. culmorum</i> , des génotypes de blé dur.....	78

**Liste des annexes**

**Annexe 1:** Principales caractéristiques des variétés parentales ..... 121

**Annexe 2:** Teneurs maximales en mycotoxines dans les céréales et les produits céréaliers destinés à la consommation humaine (Règlement de la Commission (UE) N° 1881/2006; Recommandation de la Commission (UE) N° 2013/165/UE)..... 122

**Annexe 3:** Tableaux d’analyses statistiques des résultats de l’année 2014..... 123

**Annexe 4:** Tableaux d’analyses statistiques des résultats de l’année 2015..... 131

Table des matières

Résumé .....	II
ملخص .....	III
Abstract .....	IV
Dédicaces .....	V
Remerciements.....	VI
Liste des abréviations .....	VIII
Liste des tableaux .....	XI
Liste des figures .....	XII
Liste des annexes.....	XIV
<b>Introduction générale .....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre 1: Synthèse bibliographique .....</b>	<b>4</b>
1.1. Le blé dur .....	4
1.1.1. Origine du blé dur.....	4
1.1.2. Importance de la culture du blé dur .....	6
1.1.2.1. Importance du blé dur dans le monde.....	6
1.1.2.2. Importance du blé dur dans le bassin méditerranéen .....	8
1.2. La fusariose de l'épi du blé .....	9
1.2.1. Distribution géographique .....	9
1.2.2. Incidence économique .....	10
1.2.3. Agents responsables de la fusariose de l'épi.....	10
1.2.4. Symptômes caractéristiques de la fusariose de l'épi .....	11
1.2.5. Epidémiologie de la fusariose de l'épi.....	12
1.2.6. Méthodes d'identification des espèces de <i>Fusarium</i> responsables de la fusariose de l'épi.....	14
1.3. Les mycotoxines .....	14
1.3.1. Définition, étymologie et principes généraux .....	14
1.3.2. Les mycotoxines produites par les espèces de <i>Fusarium</i> .....	15
1.3.3. Structure chimique et voies de biosynthèse des trichothécènes.....	16
1.3.3.1. Structure chimique des trichothécènes .....	16
1.3.3.2. Voies de biosynthèse des trichothécènes.....	17
1.3.3.3. Méthodes d'analyse des trichothécènes au laboratoire.....	18

## Table des matières

---

1.3.3.4. Toxicité et réglementation des mycotoxines.....	19
1.3.4. Aspects réglementaires .....	20
1.4. Résistance des céréales à l'accumulation des mycotoxines.....	20
1.4.1. Les acides phénoliques des céréales.....	22
1.4.2. Rôle des acides phénoliques dans les mécanismes de résistance.....	23
1.4.2.1. L'activité antifongique des acides phénoliques dans les céréales.....	23
1.4.2.2. Rôle des parois cellulaires des céréales dans la résistance.....	25
1.5. Moyens de lutte contre la fusariose de l'épi dans les céréales.....	27
1.5.1. Lutte culturale .....	27
1.5.2. Lutte génétique.....	27
1.5.3. Lutte biologique.....	28
1.5.4. Lutte chimique.....	29
1.5.5. Lutte intégrée.....	29
<b>Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé ....</b>	<b>31</b>
2.1. Matériel végétal.....	31
2.2. Matériel fongique.....	31
2.3. Préparation de l'inoculum.....	32
2.4. Méthode d'inoculation artificielle au champ.....	32
2.5. Dispositif expérimental au champ.....	33
2.6. Evaluation de la maladie au champ.....	36
2.6.1. Période d'incubation.....	36
2.6.2. Echelle et méthodes de notation de la maladie.....	36
2.6.3. Calcul de l'AUDPC.....	36
2.6.4. Evaluation du PMG à la récolte.....	37
2.7. Analyse statistique des résultats.....	37
2.8. RESULTATS.....	38
2.8.1. Manifestation de la maladie.....	38
2.8.2. Evaluation du comportement des génotypes selon la période d'incubation.....	39
2.8.2.1. Résultats de la première année (2013/2014).....	39
2.8.2.2. Résultats de la deuxième année (2014/2015).....	40
2.8.2.2.1. Analyse statistique individuelle des essais.....	40
2.8.2.2.2. Analyse statistique globale pour l'ensemble des essais.....	41

## Table des matières

2.8.3. Evaluation du comportement des génotypes selon la valeur des AUDPC (AUDPC du NEM) .....	43
2.8.3.1. Résultats de la première année (2013/2014).....	43
2.8.3.2. Résultats de la deuxième année (2014/2015).....	45
2.8.3.2.1. Analyse statistique individuelle des essais .....	45
2.8.3.2.2. Analyse statistique globale pour l'ensemble des essais .....	46
2.8.4. Effet des différents isolats et espèces de <i>Fusarium</i> sur le PMG .....	48
2.8.4.1. Résultats de la première année (2013/2014).....	48
2.8.4.2. Résultats de la deuxième année (2014/2015).....	50
2.8.4.2.1. Analyse statistique individuelle des essais .....	50
2.8.4.2.2. Analyse statistique globale pour l'ensemble des essais .....	50
2.9. DISCUSSION .....	50
<b>Chapitre 3: Identification moléculaire de quelques isolats de <i>Fusarium</i> et de leurs chémotypes.....</b>	<b>55</b>
3.1. Identification des isolats de <i>Fusarium</i> spp. par amorces spécifiques.....	55
3.1.1. Extraction de l'ADN.....	55
3.1.2. Amorces spécifiques d'espèces de <i>Fusarium</i> .....	56
3.1.3. Conditions d'amplification.....	56
3.1.4. Détection des fragments amplifiés (électrophorèse en gel d'agarose) .....	57
3.2. Identification des chémotypes des isolats de <i>Fusarium</i> spp. par PCR quantitative en temps réel.....	57
3.2.1. Amorces et sondes utilisées .....	57
3.2.2. Conditions d'amplification .....	58
3.3. RESULTATS .....	59
3.3.1. Identification moléculaire des différentes espèces de <i>Fusarium</i> .....	59
3.3.2. Chémotypage de quelques isolats de <i>Fusarium</i> spp.....	61
3.4. DISCUSSION .....	61
<b>Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques génotypes de blé dur contaminés à la floraison par <i>Fusarium</i> .....</b>	<b>65</b>
4.1. Extraction et dosage des TCTB à partir des grains .....	65
4.1.1. Extraction des TCTB .....	65
4.1.2. Dosage des TCTB par HPLC-DAD .....	65
4.2. Extraction et dosage de l'ergostérol .....	66

## Table des matières

4.2.1. Extraction de l'ergostérol.....	66
4.2.2. Dosage de l'ergostérol par HPLC-DAD.....	67
4.3. Analyse statistique des résultats.....	67
4.4. RESULTATS.....	67
4.4.1. Teneur en TCTB des grains matures des génotypes de blé dur contaminés à la floraison par les isolats de <i>Fusarium</i> spp.....	67
4.4.1.1. Résultats de la première année (2013/2014).....	67
4.4.1.1.1. Nivalénol (NIV).....	68
4.4.1.1.2. Désoxynivalénol (DON).....	68
4.4.1.2. Résultats de la deuxième année (2014/2015).....	70
4.4.2. Evaluation des teneurs en ergostérol des grains matures des génotypes de blé dur contaminés à la floraison par les isolats de <i>Fusarium</i> spp.....	75
4.4.2.1. Résultats de la première année (2013/2014).....	75
4.4.2.2. Résultats de la deuxième année (2014/2015).....	76
4.5. DISCUSSION.....	79
<b>Chapitre 5: Analyse des teneurs en acides phénoliques libres et liés précoces et des grains matures de quelques génotypes de blé dur.....</b>	<b>81</b>
5.1. Méthode d'extraction des acides phénoliques solubles libres.....	81
5.2. Méthode d'extraction des acides phénoliques insolubles liés aux parois.....	82
5.3. Méthode de dosage des acides phénoliques par HPLC-DAD.....	82
5.4. Analyse statistique des résultats.....	83
5.5. RESULTATS.....	84
5.5.1. Evaluation des teneurs en acides phénoliques dans les grains précoces et matures ..	84
5.6. DISCUSSION.....	88
<b>Conclusion générale et perspectives.....</b>	<b>93</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>97</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>121</b>

### Introduction générale

Le blé dur, *Triticum turgidum* L. var. *durum*, est l'une des cultures les plus largement cultivées dans le bassin méditerranéen. Cette région contribue à plus de la moitié de la production mondiale totale; l'Italie, l'Espagne, la France, le Maroc et l'Algérie étant classés parmi les principaux producteurs (Ranieri, 2015). Selon le Conseil International des Céréales (CIC), la production de blé dur de l'Algérie a atteint 2,5 millions de tonnes en 2015, contre 1,3 millions l'année précédente. Les produits dérivés de blé dur constituent un composant alimentaire important pour la population algérienne et en dépit des plans ambitieux pour augmenter la production de céréales, l'Algérie est un grand importateur de céréales pour couvrir un grand déficit structurel de son approvisionnement alimentaire. Ainsi, selon les estimations du Conseil International des Céréales, les importations de blé dur ont approché les 1,6 millions de tonnes en 2015.

Comme d'autres cultures méditerranéennes, la production de blé dur en Algérie est soumise à des contraintes environnementales sévères tels que la sécheresse, le gel et la chaleur qui peuvent affecter de manière significative le rendement et la qualité des grains. En outre, les maladies des plantes causées par des champignons phytopathogènes sont assez fréquentes et peuvent être responsables de pertes de rendement ainsi que de la dépréciation de la qualité des grains.

L'une des maladies fongiques les plus dévastatrices qui affecte le blé dur, est la fusariose de l'épi (*Fusarium head blight*). Cette dernière maladie qui est également préjudiciable pour le blé tendre, l'orge et l'avoine a été largement étudiée dans le monde entier (Covarelli *et al.*, 2015; Parry *et al.*, 1995; Xu et Berrie, 2005). Il est largement admis que *Fusarium graminearum* Schwabe, *F. culmorum* (W.G.Sm.) Sacc., *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. poae* (Peck) Wollenw et *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels et I.C. Hallett, sont les principales espèces fongiques responsables de la fusariose. Selon des travaux récents (Laraba *et al.*, 2017; Touati-Hattab *et al.*, 2016 et Yekkour *et al.*, 2015), *F. culmorum* semble être le principal pathogène fongique associé à la fusariose de l'épi en Algérie.

En plus des pertes de rendement, les deux espèces de *Fusarium*, *F. graminearum* et *F. culmorum* causent une perte significative de la qualité en produisant des mycotoxines du groupe trichothécènes de type B (TCTB), qui peuvent rendre les récoltes impropres à la consommation humaine et animale. Les mycotoxines de type TCTB comprennent le

## Introduction générale

---

désoxynivalénol (DON) et ses deux formes acétylées, 3-acétyl-désoxynivalénol (3-ADON) et 15-acétyl-désoxynivalénol (15-ADON), ainsi que le nivalénol (NIV) et sa forme 4-acétylnivalénol acétylé ou fusarénone X (FX). Sur la base de la production des TCTB, *F. graminearum* et *F. culmorum* sont divisés en trois chémotypes: le chémotype NIV/FX, pour les isolats produisant NIV et FX, le chémotype DON/15-ADON pour les isolats produisant DON et 15-ADON et le chémotype DON/3-ADON pour les isolats produisant le DON et 3-ADON (Ichinoe *et al.*, 1983). Tous les isolats de *F. culmorum* isolés à partir de récoltes de blé dur algériens qui ont été caractérisés à ce jour appartiennent aux chémotypes DON/3-ADON ou NIV/FX (Laraba *et al.*, 2017; Touati-Hattab *et al.*, 2016; Yekkour *et al.*, 2015).

En conséquence, la résistance de l'hôte est l'un des piliers principaux utilisés dans les stratégies de contrôle et de sélection végétale, reconnue comme l'outil le plus prometteur de manière efficace, économique et durable de réduire les dommages causés par la fusariose, y compris la contamination des grains avec les TCTB. La résistance des plantes à la fusariose est un caractère quantitatif très complexe contrôlé par des gènes multiples, en fonction de l'environnement et de l'interaction génotype \* environnement (Bai et Shaner, 2004). La plupart des cultivars de blé dur commercialisés sont sensibles à la fusariose et il y a encore un besoin de caractériser les sources de résistance appropriées qui permettront le développement de cultivars résistants adaptés aux différentes situations de production de cultures de blé dur, y compris ceux de la région Méditerranéenne (Prat *et al.*, 2014).

Combinées avec des approches génétiques, il y a eu de nombreuses tentatives récentes pour identifier les traits biochimiques clés impliqués dans la résistance du blé à la fusariose. Il a été souligné qu'un grand nombre de métabolites agissant potentiellement dans les céréales, peuvent contrer les *Fusaria* toxigènes et réduire l'accumulation de mycotoxines (Atanasova-Penichon *et al.*, 2016; Gauthier *et al.*, 2016). Les phénylpropanoïdes sont parmi les plus fréquemment rapportés pour leur implication potentielle dans la défense des plantes contre les pathogènes fongiques (Atanasova-Penichon *et al.*, 2016; Balmer *et al.*, 2013).

Le rôle potentiel des composés phénoliques a été conforté par Boutigny *et al.* (2009) qui ont montré l'efficacité des extraits de son de blé dur pour inhiber la biosynthèse des TCTB *in vitro* et cette efficacité est attribuée aux acides phénoliques, notamment

l'acide férulique. Récemment, cette hypothèse est appuyée par Laddomada *et al.* (2015), qui indiquent que les couches extérieures du grain de blé dur sont très riches en acides phénoliques, acide férulique, dehydrodimers d'acide férulique, acides sinapique et *p*-coumarique étant prédominant. En raison de leur rôle dans la réticulation des polysaccharides de la paroi cellulaire et dans la composition de la lignine, les acides phénoliques contribuent de manière significative à la résistance mécanique de la paroi cellulaire, qui a été signalée comme un élément clé de la résistance à la fusariose (Lahlali *et al.*, 2016; Lionetti *et al.*, 2015).

Dans ce contexte, notre présente étude comprend deux parties, une première effectuée en plein champ ayant un objectif principal de comparer la résistance phénotypique à la fusariose de deux nouvelles lignées de blé dur d'origine algérienne nouvellement sélectionnées par rapport à celles de trois variétés commerciales parentales, avec trois objectifs spécifiques:

- La réalisation de l'inoculation artificielle avec des isolats de *Fusarium* appartenant à différentes espèces impliquées dans la fusariose de l'épi du blé dur.
- La comparaison des symptômes et le développement fongique entre les génotypes étudiés durant le stade épiaison-floraison.
- L'évaluation de la maladie sur le rendement en grain.

Une seconde partie du travail est réalisée au niveau du laboratoire de recherche de MycSA de Bordeaux en France ayant un objectif global de réaliser des analyses biochimiques des éléments clés de la résistance, avec trois objectifs spécifiques:

- La comparaison des taux d'accumulation des mycotoxines types TCTB entre les différents génotypes contaminés par les différents isolats de *Fusarium* au stade floraison.
- L'analyse des taux d'accumulation de l'ergostérol dans les grains fusariés, paramètre permettant d'évaluer la masse fongique existante dans les grains du blé contaminés par le *Fusarium*.
- La réalisation d'une analyse comparative de la composition des acides phénoliques des grains de l'ensemble des lignées et des variétés parentales commercialisées.

### Chapitre 1: Synthèse bibliographique

#### 1.1. Le blé dur

##### 1.1.1. Origine du blé dur

Le blé est l'une des cultures les plus importantes au monde et l'extension de sa culture est due en partie à sa grande adaptabilité aux différents environnements et à ses rendements élevés. Historiquement, la domestication du blé a commencé il y a environ 10.000 ans au Proche-Orient, dans la zone connue sous le nom de Croissant fertile (Zohary et Hopf, 1988). Ainsi, le blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *Durum*) serait originaire de Turquie, de Syrie, d'Irak et d'Iran (Ranieri, 2015), est une culture traditionnellement méditerranéenne (Quintas-Soriano *et al.*, 2016). Il s'est étendu au nord de la Méditerranée, atteignant la péninsule ibérique depuis environ 7 000 ans (MacKey, 2005) en provenance d'Italie et d'Afrique du Nord (MacKey 2005; Moragues *et al.*, 2006). Cette culture s'est propagée de ces régions vers l'ouest du bassin méditerranéen (Feldman 2001; MacKey, 2005).

Sur le plan génétique, le blé est un complexe de polyploïdie formé par plusieurs espèces de niveau de ploïdie différent, une conséquence de la fusion de génomes provenant de différentes espèces de la tribu des *Triticeae*. Ainsi, on peut trouver des espèces de blé diploïde ( $2n = 2 \times = 14$ , AA), tétraploïde ( $2n = 4 \times = 28$ , AABB) et hexaploïde ( $2n = 6 \times = 42$ , AABBDD) (Fig. 1) (Giménez *et al.*, 2015). Les cultivars de blé modernes appartiennent principalement à deux espèces: (1) blé panaché hexaploïde, *Triticum aestivum* ( $2n = 42$  chromosomes) et (2) tétraploïde, blé dur, *T. turgidum* ( $2n = 28$ ) (Nevo *et al.*, 2002). Le blé dur est donc un allotétraploïde (deux génomes: AABB) avec un total de 28 chromosomes ( $2n = 4x = 28$ ), contenant le complément diploïde complet des chromosomes de chacune de ses espèces progénitrices (Ranieri, 2015).

Malgré l'origine relativement récente, le blé présente une énorme variabilité génétique qui a permis le développement d'environ 25.000 cultivars différents (Giménez *et al.*, 2015; Nevo *et al.*, 2002). Le blé tendre hexaploïde (AABBDD) représente environ 95 % du blé cultivé d'aujourd'hui, alors que le blé dur représente presque les 5 % restants. La culture des blés diploïdes a été réduite à des terres marginales (Giménez *et al.*, 2015).

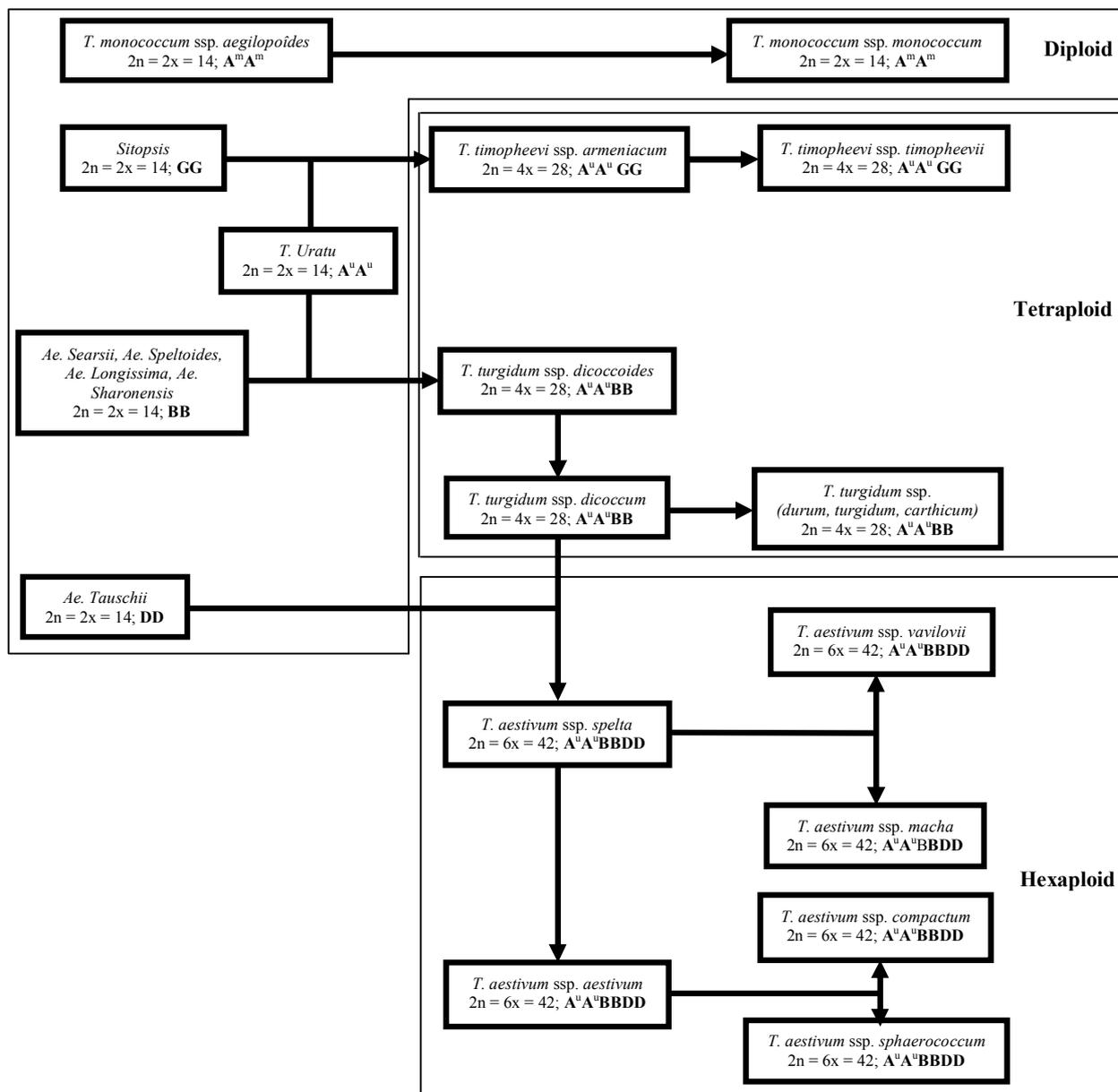
L'histoire la plus récente du blé dur a été marquée par l'amélioration génétique moderne, impliquant le remplacement des variétés locales par des variétés consanguines et

## Chapitre 1: Synthèse bibliographique

---

l'introduction de gènes de nanisme (seconde partie du 20<sup>ème</sup> siècle). Ces événements historiques ont dû altérer la diversité génétique du blé par deux mécanismes. Premièrement, une perte de diversité à l'échelle du génome est attendue en raison de l'échantillonnage de quelques individus à chaque transition historique. Deuxièmement, dans les régions génomiques abritant des gènes codant pour des caractères favorables, on s'attendrait à des pertes de diversité encore plus graves en raison de la sélection directe de ces gènes (Thuillet *et al.*, 2005). Ainsi, les collections locales de blé contiennent une plus grande diversité génétique que la plupart des programmes de sélection et constituent une source de variation génétique facilement transférable et valable pour les caractères agronomiques, morphologiques, adaptatifs de qualité (Giraldo *et al.*, 2016).

Les habitants du bassin méditerranéen sont les principaux utilisateurs du blé dur: les pâtes, le couscous, le boulgour et le pain sont les principaux produits alimentaires issus de quatre technologies complètement différentes. Les procédés industriels exploitent également ces technologies, issues de la tradition, et aujourd'hui il est possible de trouver de bons produits industriels à côté des produits artisanaux, bien que les pâtes, le couscous, le boulgour et le pain soient encore fabriqués à la maison (Ranieri, 2015).



**Figure 1:** Le blé et ses parents ancestraux. Les événements d'hybridation conduisant à des blés tétraploïdes et hexaploïdes. Les espèces en gris sont où ont été cultivées (Giménez *et al.*, 2015)

### 1.1.2. Importance de la culture du blé dur

#### 1.1.2.1. Importance du blé dur dans le monde

Le blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *Durum* Desf.) est une céréale secondaire (Ranieri, 2015), une culture vivrière importante cultivée sur environ 13 millions d'hectares dans le monde (Giraldo *et al.*, 2016). Il ne représente que 5 % de la récolte totale de blé qui, au cours des trois dernières années, a dépassé les 700 millions de tonnes métriques (MTM, voir Tab. 1) (Ranieri, 2015). La production mondiale de blé dur a atteint en moyenne 35,8

## Chapitre 1: Synthèse bibliographique

millions de tonnes par an au cours des cinq dernières années, avec un pic de production en 2013 (Conseil International des Céréales). Il représente en effet la 10<sup>ème</sup> culture la plus importante au monde (Kabbaj *et al.*, 2017). À l'échelle mondiale, le blé dur peut être considéré comme une culture mineure mais représente la principale culture cultivée et l'aliment de base principal de la région méditerranéenne où il est traditionnellement cultivé (Prat, 2016).

**Tableau 1:** Production mondiale de céréales au cours des 5 dernières années. Les grains totaux comprennent l'orge, l'avoine, le triticale et le seigle

Millions de Tonnes	2011/2012	2012/2013	2013/2014	2014/2015	2015/2016
<b>Blé tendre</b>	658	620	676	687	684
<b>Blé dur</b>	37	35	38	33	36
<b>Maïs</b>	875	866	997	1003	968
<b>Total des céréales</b>	<b>1850</b>	<b>1795</b>	<b>2006</b>	<b>2015</b>	<b>1988</b>

*Source: Conseil international des céréales*

Contrairement au blé tendre, qui est essentiellement cultivé partout dans le monde à l'exception des zones tropicales, le blé dur est principalement cultivé dans trois bassins principaux: Méditerranée, Plaines du Nord entre les États-Unis et le Canada et dans les zones désertiques du Sud-ouest des États-Unis et du nord du Mexique. Il existe d'autres zones beaucoup plus petites où le blé dur est cultivé entre la Russie et le Kazakhstan, l'Australie, l'Inde et l'Argentine (Ranieri, 2015) (Fig. 2).



**Figure 2:** Carte du monde avec les territoires où le blé dur est cultivé (Ranieri, 2015)

### 1.1.2.2. Importance du blé dur dans le bassin méditerranéen

La principale zone de culture du blé dur est située autour du bassin méditerranéen, qui comprend l'Europe du Sud, l'Asie occidentale et l'Afrique du Nord, connue sous le nom de la région SEWANA (Prat, 2016). Dans cette région, c'est une culture d'importance stratégique avec environ 60 % de la superficie mondiale de production de blé dur (Ranieri, 2015). L'Union Européenne contribue à environ 22 % de la production mondiale de blé dur (Italie, France, Grèce et Espagne) soit que plus de la moitié de la production mondiale est concentrée dans la région SEWANA (Prat, 2016).

La production totale, sous cycle hivernal, dans le bassin méditerranéen varie de manière significative, car toute la culture dépend de la pluie. En Afrique du Nord et en Europe du Sud, les rendements agronomiques sont fortement limités par la sécheresse; par conséquent, la production totale en une saison peut être d'environ 14 Millions de Tonnes Métriques (MTM) par rapport à la récolte 2014/2015, soit environ 18 millions de tonnes pour la récolte 2015/2016, que nous pouvons arrondir à près de 20 MTM, comme cela s'est parfois produit dans le passé (Conseil International des Céréales) (Tab. 2). Néanmoins, les besoins en blé dur des pays du bassin méditerranéen sont plus élevés que ce qui est garanti par les productions locales. Ainsi, chaque année, plus de 5 MTM sont importés, principalement en provenance d'Amérique du Nord (Ranieri, 2015).

Parmi tous les pays de la Méditerranée, l'Italie est le principal producteur de blé dur avec près de 4,0 millions de tonnes en moyenne. La Turquie et la France viennent en deuxième position avec une moyenne de 2,7 et 1,7 MTM, respectivement (Conseil International des Céréales). Il reste que, des productions plus limitées caractérisent le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, principalement en raison, de l'effet du climat sec qui sévit souvent pendant le cycle de la culture. La qualité de ces productions varie également et considérablement en fonction des conditions climatiques et de la destination finale du blé dur (Ranieri, 2015). Cependant, l'introduction massive de cultivars modernes homogènes et plus productifs a contribué à réduire considérablement sa diversité génétique par rapport aux variétés locales cultivées jusqu'à la fin des années 1960 (Giraldo *et al.*, 2016).

**Tableau 2:** Production estimative et prévue de blé dur dans le monde pour les campagnes agricoles 2014/2015 et 2015/2016

Millions de Tonnes	2014/2015 Estimée	2015/2016 Prévüe	Millions de Tonnes	2014/2015 Estimée	2015/2016 Prévüe
<b>Total mondial</b>	<b>32.6</b>	<b>36.1</b>	Argentine	0.3	0.3
UE	7.1	7.5	Syrie	0.8	1.4
France	1.5	1.8	Turquie	2.1	2.4
Grèce	0.8	0.7	Inde	1.3	1.2
Italie	3.7	3.9	<b>Algérie</b>	<b>1.3</b>	<b>2.5</b>
Espagne	0.8	0.9	Libye	0.1	0.1
Kazakhstan	2.0	2.1	Maroc	1.4	2.3
Canada	5.2	4.8	Tunisie	1.3	1.3
Méxique	2.3	2.3	Australie	0.5	0.5
USA	1.4	2.1	Autres	5.7	5.5

*Source : Conseil international des céréales*

Il reste que, les productions végétales sont menacées par la fusariose de l'épi (FHB), l'une des maladies les plus dévastatrices au monde, en affectant le développement du grain, la santé humaine et animale en contaminant les épis et les graines par des mycotoxines (Legrand *et al.*, 2017). La fusariose est un problème mondial, avec des épidémies aux États-Unis, au Canada, en Europe, en Asie et en Amérique du Sud (Rawat *et al.*, 2016). La contamination des épis se produit presque pendant l'ouverture des fleurs et est favorisée par une forte humidité ou un temps humide accompagné de températures chaudes (Shah *et al.*, 2018).

### 1.2. La fusariose de l'épi du blé

#### 1.2.1. Distribution géographique

La fusariose de l'épi également appelée gale de l'épi (*Fusarium head blight*), peut être une maladie dévastatrice affectant toutes les catégories ou espèces de blé (*Triticum spp.*) et d'autres céréales à petits grains comme l'orge (*Hordeum vulgare*), l'avoine (*Avena sativa*), le seigle (*Secale cereale*) et le triticale (*x Triticosecale*) (McMullen *et al.*, 1997; Parry *et al.*, 1995). Elle a été décrite pour la première fois en Angleterre par W.G. Smith en 1884 et plusieurs années plus tard, elle a été rapportée aux États-Unis par Chester en 1890 et Arthur en 1891. Dans un premier examen de la maladie par Atanasoff (1924), la maladie était considérée comme commune dans toutes les régions céréalières des États-Unis. Il a également été fait mention de la présence de la maladie en Angleterre, en Russie, en Suède, en France, en Italie, en Allemagne, en Australie, en Sicile, au Brésil, au Japon, et au Canada (Parry *et al.*, 1995). Depuis lors, la fusariose a connu une extension dans le monde entier et

des épidémies récentes ont été signalées en Asie, au Canada, en Europe et en Amérique du Sud (Goswami et Kistler, 2004). Parry *et al.*, 1995 rapportent que les articles publiés par plusieurs auteurs (Bai et Shaner 1994; Parry *et al.*, 1995; Snijders, 1990; Sutton, 1982) ont examiné l'épidémiologie, la gestion et l'histoire des épidémies de la gale de l'épi aux États-Unis, au Canada, en Europe, en Asie et en Amérique du Sud. Comme l'indiquent ces articles, de nombreux rapports de recherche et d'enquête ont décrit la présence mondiale et les niveaux épidémiques de la fusariose de l'épi au cours du siècle dernier. En particulier, le CIMMYT considère cette maladie comme un facteur majeur limitant la production de blé dans de nombreuses parties du monde (Dubin *et al.*, 1997).

### 1.2.2. Incidence économique

D'autres régions dans le monde ont connu des dégâts par la gale de l'épi (McMullen *et al.*, 1997) où les épidémies en Chine ont été fréquentes et sévères dans la vallée du Yangtze River et affectant plus de 7 millions d'hectares de blé. On estime qu'en Chine, jusqu'à 2,5 millions de tonnes de céréales seraient perdues à cause de la gale de l'épi en période d'épidémie. Dans la zone sud-est d'Argentine, principale région de culture de blé dur, de graves épidémies se sont produites en 1963, 1976, 1978 et 1985, avec des pertes de récolte pouvant atteindre 70 %. En 1976, le blé dur représentait 20 % de la production de blé de la région. L'épidémie était si grave que 60 % des échantillons provenant des fermes sont tombés en dessous des normes établies (Dubin *et al.*, 1997).

### 1.2.3. Agents responsables de la fusariose de l'épi

La fusariose de l'épi ou gale de l'épi est une maladie destructrice notamment dans les régions humides et subhumides du monde (Saharan *et al.*, 2004). Les agents causaux de cette maladie englobent plus de 19 espèces (Prat, 2016), constituant un complexe de pathogènes toxigènes appartenant au genre *Fusarium* (téléomorphe = *Gibberella*) et au genre non toxigène *Microdochium* (Nielsen *et al.*, 2011).

Les espèces du genre *Fusarium* principalement associées à la fusariose de l'épi du blé et d'autres petites céréales sont : *F. graminearum* Schwabe et son téléomorphe *G. zeae* (Schw.) Petch, *F. culmorum* (Wm.G. Sm.) Sacc., et *F. avenaceum*. (Fr.) Sacc. (*G. avenacea* R.J. Cooke). Parmi les autres espèces moins fréquemment isolées, on trouve: *F. poae* (Peck) Wollenw., *F. crookwellense* L.W. Burgess, P.E. Nelson & T.A. Toussoun (synonyme *F. cerealis* Cooke), *F. equiseti* (Corda) Sacc. (*F. F. scirpi*) (*G. intricans* Wollenw.), *F. sporotrichioides* Sherb., et *F. tricinctum* (Corda) Sacc. Plusieurs autres espèces peuvent être

rencontrées sporadiquement, y compris *F. acuminatum* Ellis & Everh. (*G. acuminata* Wollenw.), *F. subglutinans* (Wollenw. & Reink.) P.E. Nelson, T.A. Toussoun et Marasas (syn. *F. sacchari*), *F. solani* (Mart.) Sacc. (*Nectria haematococca* Berk & Broome), *F. oxysporum* Schlecht., et *F. semitectum* Berk. & Rav. (synonyme *F. pallidroseum*, *F. incarnatum*) (Bottalico, 1998 ; Bottalico et Perrone, 2002).

Les espèces du genre *Fusarium* (téléomorphe : *Gibberella*) peuvent causer aussi plusieurs maladies reconnues, selon l'hôte, comme la fonte des semis, la pourriture des pieds (foot rot) et la brûlure de l'épi des céréales à petits grains (blé, avoine, orge, seigle, triticale). Du point de vue mycotoxicologique, les phases de la maladie la plus préoccupante sont certainement la gale des petites céréales, pour l'accumulation potentielle de mycotoxines dans les grains (Bottalico, 1998).

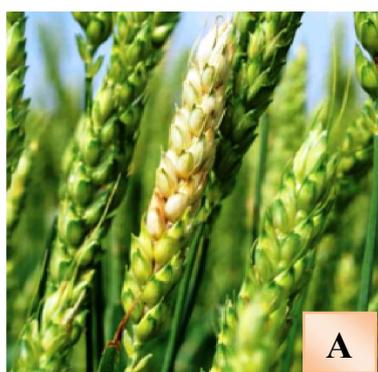
En plus des espèces de *Fusarium* associées au FHB, les espèces d'un deuxième genre jouent également des rôles importants et souvent méconnus dans de nombreuses régions, en particulier dans les régions maritimes tempérées. *Microdochium nivale* était à l'origine appelé *Fusarium nivale*; cependant, le téléomorphe de *M. nivale* n'est pas une *Gibberella* spp. mais un *Monographella nivalis*. Deux variétés ont été reconnues sur la base de la morphologie des conidies: *M. nivale* var. *nivale* et *M. nivale* var. *majus* (Xu et Nicholson, 2009). Des études phylogénétiques récentes ont porté ces deux variétés au statut d'espèce: *M. majus* et *M. nivale* (Glynn *et al.*, 2005).

### 1.2.4. Symptômes caractéristiques de la fusariose de l'épi

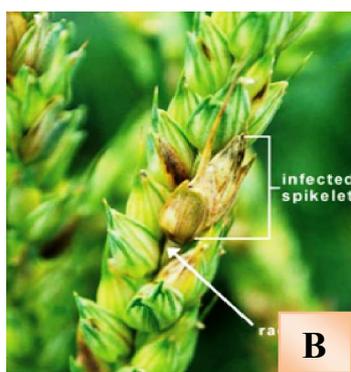
Le blé est particulièrement sensible à la fusariose au moment de la floraison et l'infection peut se produire tout au long du stade de développement des grains jusqu'au stade pâteux. Les épidémies sont favorisées par des températures chaudes couplées à une forte humidité au printemps (Prat, 2016).

Les symptômes de la fusariose se limitent à l'épi du blé, au grain et parfois au pédoncule (tige près de l'épi du blé) (Fig. 3). Typiquement, le premier symptôme apparent est la décoloration de certains ou de tous les épillets, alors que les épillets sains sont encore verts (A). Lorsque le champignon se déplace dans le rachis, les épillets situés au-dessus ou au-dessous du point d'infection initial peuvent également être blanchis (B) (Wise *et al.*, 2015). Le blanchiment partiel d'un épi de blé est un symptôme typique de la fusariose (Wegulo *et al.*, 2008) (B). Le blanchissement prématuré progresse avec le temps pour la

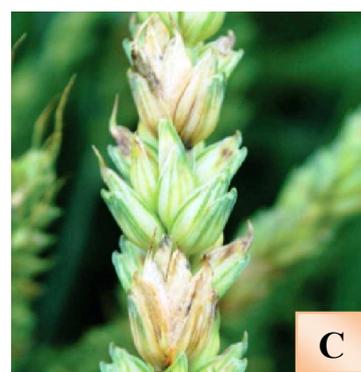
plupart ou la totalité des épillets, provoquant la décoloration de tout l'épi (E). L'infection de la tige (pédoncule) immédiatement au-dessous de l'épi peut également se produire, entraînant une décoloration brune ou violette (E). Si le pédoncule est infecté tôt, toute la tête devient stérile. Si on examine les épillets de près, des masses de spores roses à orange peuvent être visibles sur les épillets infectés. Ces masses de spores sont produites par temps humide et humide (C) (Wegulo *et al.*, 2008; Wise *et al.*, 2015). Il en résulte des masses de spores rose à saumon-orange (Wegulo *et al.*, 2008). Les grains infectés, communément appelés pierres tombales, semblent flétris, décolorés et légers (D) (Wise *et al.*, 2015).



Epillet individuel infecté par *F. graminearum*



Epillet de blé blanchi



Des masses de spores fongiques de couleur rose à orange sur épillets infectés.



Grains fusariés blanchis (à gauche) par rapport aux grains de blé sains (à droite)



Infection du pédoncule ainsi la totalité de l'épi par la fusariose de l'épi (à droite). À gauche: Epi de blé sain.

**Figure 3:** Symptômes caractéristiques de la fusariose de l'épi du blé (Wegulo *et al.*, 2008; Wise *et al.*, 2015)

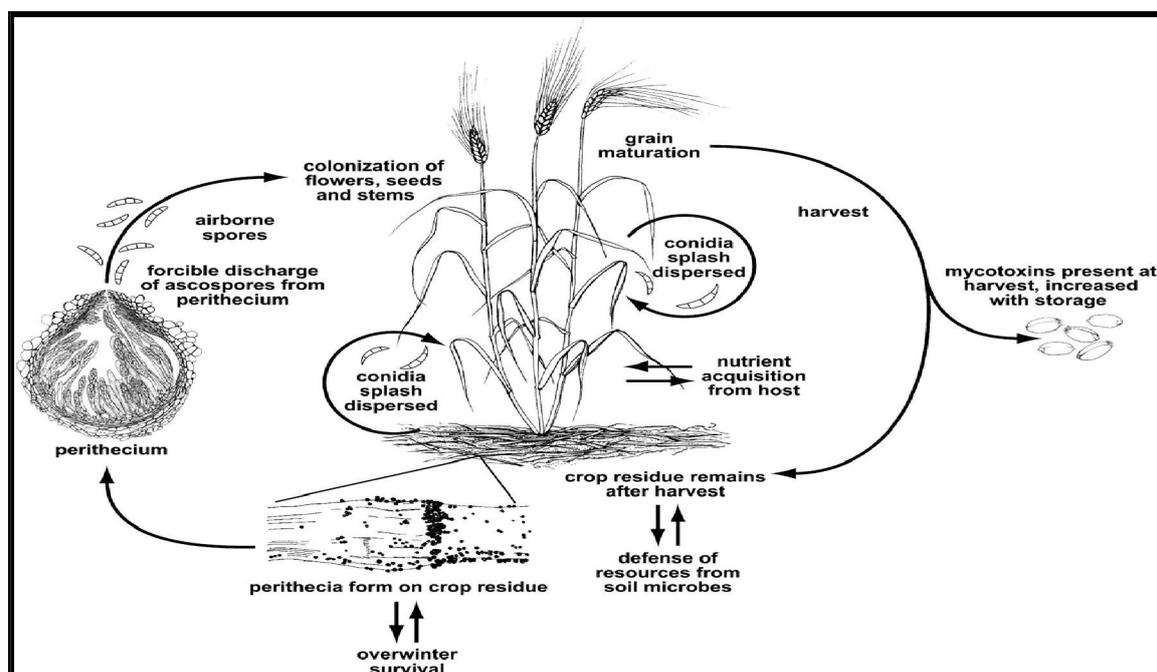
### 1.2.5. Epidémiologie de la fusariose de l'épi

Le complexe des *Fusaria* comprend des espèces produisant à la fois des conidies, issues de la multiplication asexuée, et des ascospores issues de la reproduction sexuée (*F. graminearum* (*Gibberella zeae*), *F. verticillioides* (syn. *F. moniliforme*) (*G. moniliformis*), *F.*

## Chapitre 1: Synthèse bibliographique

*proliferatum* (*G. intermedia*)) et des espèces pour lesquelles on ne connaît que la multiplication asexuée (*F. culmorum*, *F. poae*, *F. langsethiae*) (Trottet et Pradel, 2008).

Le cycle de vie des agents pathogènes responsables de fusariose de l'épi est illustré dans la figure 4 par le cycle de *F. graminearum* (Trail, 2009). L'inoculum initial des débris infestés dans le sol, qui survit soit sous forme de mycélium saprophyte, soit sous forme de chlamydospores à paroi épaisse. Selon l'espèce, la propagule fongique peut entraîner l'infection des semis, entraînant la fonte des semis et la pourriture des pieds. Plus tard au cours de l'anthèse et au début de la période de développement des graines, les conidies ou les ascospores peuvent infecter les épis, conduisant à la fusariose (Xu et Nicholson, 2009). L'agent pathogène de la fusariose du blé se multiplie sur les résidus de nombreuses plantes. Les principales sources d'infection sont les périthèces et les ascospores produites sur les chaumes. Des insectes pourraient aussi contribuer au transport des conidies du sol vers les épis ou d'un épi à l'autre (Trottet et Pradel, 2008). Les facteurs déterminant le développement de la maladie sont le climat, les niveaux d'inoculum et le stade de croissance du blé, la température et l'humidité durant le stade de floraison (Wang, 1997). Cependant, il semble que les macroconidies soient dispersées par les éclaboussures lors des précipitations. En revanche, la libération d'ascospores est seulement déclenchée par la pluie (ou une humidité élevée), entraînant la réhydratation des périthèces après une période sèche.



**Figure 4:** Le cycle de vie de *F. graminearum* (téléomorphe, *G. zeae*), agent causal de la fusariose de l'épi du blé (Trail, 2009)

### 1.2.6. Méthodes d'identification des espèces de *Fusarium* responsables de la fusariose de l'épi

La fusariose de l'épi est une maladie répandue avec des conséquences majeures pour la santé par les qualités de mycotoxines qui peuvent être produites. En effet, les études de terrain du cycle épidémiologique de la maladie sont entravées par un problème majeur: l'identification des espèces et des isolats constituant le complexe parasitaire de l'inoculum. Une moyenne de cinq à sept espèces, et jusqu'à neuf au total, peuvent être présentes dans le même champ la même année (Bottalico, 1998). Ces espèces ne peuvent être identifiées qu'après culture en boîte de Petri et observation d'un ensemble de critères morphologiques (couleur, macroconidies, microconidies, ascospores, chlamydospores d'une isolat) nécessitant une conservation de spores vivantes ou le génotypage moléculaire (qui reste difficile pour ces espèces) (Champeil *et al.*, 2004).

Pour les champignons phytopathogènes, la première est la plus laborieuse étape de l'identification consiste à déterminer les caractéristiques morphologiques et de culture, ce qui est particulièrement vrai dans le cas des *Fusarium* spp. Par conséquent, pour une identification complète des *Fusarium* spp., des analyses moléculaires supplémentaires telles que des réactions de PCR spécifiques à l'espèce doivent être effectuées (Abédi-Tizaki et Sabbagh, 2012). En effet, la PCR peut être utilisée pour l'identification des *Fusarium* spp., soit comme une alternative, soit comme un complément aux méthodes d'identification morphologiques. Des amorces spécifiques aux espèces ont été développées et utilisées pour la détection par PCR ainsi que le criblage des espèces de *Fusarium* (Spanic *et al.*, 2010). Plusieurs amorces spécifiques sont disponibles pour l'identification exacte des espèces de *Fusarium* et de *Microdochium* impliquées dans la fusariose de l'épi.

### 1.3. Les mycotoxines

#### 1.3.1. Définition, étymologie et principes généraux

Les intoxications dues à la consommation d'aliments contaminés sont un problème récurrent dans le monde entier. Le principal facteur contribuant à la contamination sont les micro-organismes, en particulier les champignons, qui produisent des composés de faible poids moléculaire en tant que métabolites secondaires, avec des propriétés toxiques confirmées appelées mycotoxines. Le mot mycotoxine est dérivé de 2 mots: "mukes" se référant à "champignons" (grec) et "toxicum" se référant à "poison" (latin). Plusieurs mycotoxines signalées à ce jour sont cosmopolites et comportent de graves risques pour la

santé, y compris le cancer et les troubles neurologiques (Bhat *et al.*, 2010). Les mycotoxines sont produites par certains isolats spécifiques de champignons filamenteux appartenant aux espèces des genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (Bhat *et al.*, 2010; Murphy *et al.*, 2006; Reverberi *et al.*, 2010) qui envahissent les cultures au champ et peuvent se développer sur les aliments pendant le stockage dans de conditions favorables (température, humidité, activité de l'eau, humidité) (Bhat *et al.*, 2010).

Les mycotoxines les plus courantes sont les aflatoxines, l'ochratoxine A, les fumonisines, le désoxynivalénol, la toxine T-2 et la zéaralénone. De nombreux aliments comme le maïs, le blé, l'orge, le riz, l'avoine, les noix, le lait, le fromage, les arachides et les graines de coton peuvent se contaminer avec des mycotoxines puisqu'ils peuvent se former entre la récolte et le séchage (Didwania et Joshi, 2013).

### 1.3.2. Les mycotoxines produites par les espèces de *Fusarium*

Les espèces de *Fusarium* présentes sur les épis de céréales au champ peuvent produire de nombreuses mycotoxines, dont certaines sont d'une importance notable (Bottalico et Perrone, 2002). Les mycotoxines produites par les *Fusarium* spp. et présentes dans les céréales comprennent les trichothécènes, la zéaralénone (ZEA), les fumonisines, la moniliformine et les enniatines (Nielsen *et al.*, 2011; Richard Forget et Oswald, 2012). En particulier, les trichothécènes constituent un groupe de métabolites secondaires produits par de nombreuses espèces du genre *Fusarium*, en particulier *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae* et *F. sporotrichioides*. Plus de 160 trichothécènes ont été identifiés, notamment le désoxynivalénol (DON), le nivalénol (NIV), la toxine T-2, la toxine HT-2, le diacétoxyscirpénol (DAS) et la fusarénone X (FX). Le trichothécène le plus fréquemment retrouvé est le DON (AFSSA, 2006). Le tableau 3 résume la production des mycotoxines les plus significatifs associés à la contamination des céréales par les espèces de *Fusarium* (Bottalico et Perrone, 2002).

**Tableau 3:** Quelques espèces mycotoxigènes isolées de la fusariose de l'épi de blé (Bottalico et Perrone, 2002)

Principales espèces de <i>Fusarium</i>	Mycotoxines
<i>F. graminearum</i>	<b>DON NIV, ZEA, AcDON, FUS</b>
<i>F. avenaceum</i>	<b>MON, BEA, ENS</b>
<i>F. culmorum</i>	<b>DON, ZEA, ZOH, NIV</b>
<i>F. poae</i>	<b>NIV, BEA, DAS, FUS, ENS</b>
<i>F. equiseti</i>	<b>DAS, ZEA, ZOH</b>
<i>F. tricinctum</i>	<b>MON</b>
<i>F. cerealis</i>	<b>NIV, FUS, ZEA, ZOH</b>
<i>F. sporotrichioides</i>	<b>T2, HT2, T2ol, NEO</b>
<i>F. acuminatum</i>	<b>T2, NEO</b>
<i>F. subglutinans</i>	<b>MON</b>

AcDON = Monoacétyl-désoxynivalénols (3-AcDON, 15-AcDON); BEA = Beauvéricine; DAS = Diacétoxyscirpénol; DON = Désoxynivalénol (Vomitoxine); ENS = Enniatines; FUS = Fusarénone-X (4-Acétyl-NIV); HT2 = toxine HT-2; MON = Moniliformine; NEO = Néosolaniol; NIV = Nivalénol; T2 = toxine T-2; T2ol = T-2 tétraol; ZEA = Zéaralénone; ZOH = Zéaralénoles (isomères a et f).

### 1.3.3. Structure chimique et voies de biosynthèse des trichothécènes

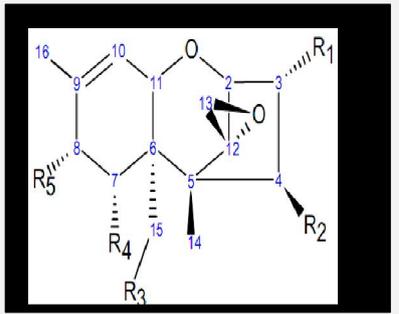
#### 1.3.3.1. Structure chimique des trichothécènes

Les trichothécènes appartiennent au groupe des sesquiterpénoïdes qui possèdent un squelette tricyclique formé par un cyclopentane, un cyclohexane, un cycle à six chaînons oxygénés et quatre groupements méthyles. Ce squelette est appelé trichothécane (Fig. 5). Les trichothécènes peuvent être divisés en quatre types (A-D) en fonction des groupes fonctionnels caractéristiques. Les trichothécènes de type A ont une fonction oxygène différente de celle du carbonyle en C-8. Les trichothécènes de type B ont une fonctionnalité carbonyle à cette position. Les trichothécènes de type C sont caractérisés par une seconde fonction époxyde en C-7,8 ou C-9,10, alors que le type D comprend des trichothécènes contenant un cycle macrocyclique entre C-4 et C-15, avec deux liaisons ester (Krska *et al.*, 2001).

Les trichothécènes constituent le groupe le plus important de mycotoxines produites par *Fusarium* spp., dans les céréales; ceux-ci peuvent être divisés en deux groupes: le groupe A (TCTA) et le groupe B (TCTB) (Moss et Thrane, 2004). Les TCTB comprennent le désoxynivalénol (DON) et ses dérivés, le nivalénol (NIV) et ses dérivés (Moss et Thrane, 2004; Trottet et Pradel, 2008). Les dérivées du DON et du NIV sont représentées par leurs formes acétylées, le 15-acétyl-4-désoxynivalénol et le 3-acétyl-4-désoxynivalénol (15-ADON et 3-ADON) ainsi que la fusarénone X (FX) (Gauthier *et al.*, 2015). Le DON est

produit par *F. graminearum* et *F. culmorum*; le NIV est produit par certains isolats de ces deux espèces ainsi que par *F. poae* et *F. equiseti* (Moss et Thrane, 2004). Les TCTA comprennent la mycotoxine T-2, la mycotoxine HT-2 et le diacétoxyscirpénol (DAS) (Krska *et al.*, 2001) mais comprennent également le néosolaniol (NEO) (Juan *et al.*, 2012) et sont considérés comme plus toxiques pour les humains et les animaux que les TCTB (Krska *et al.*, 2001). Les mycotoxines T-2 et HT-2 sont produites principalement par *F. langsethiae* et *F. sporotrichioides*. De plus, quelques isolats de *F. poae* ont été signalés en tant que producteurs de HT-2 et de T-2. Le DAS est produit par *F. poae* et *F. equiseti*, tandis que *F. avenaceum* et *F. tricinatum* produisent d'autres métabolites, parmi les mycotoxines produites: la monilformine, la beauvericin et les enniatines (Thrane *et al.*, 2004).

Toxine	R1	R2	R3	R4	R5
<b>DON</b>	-OH	-H	-OH	-OH	=O
<b>3-ADON</b>	-OAc	-H	-OH	-OH	=O
<b>15-ADON</b>	-OH	-H	-OAc	-OH	=O
<b>NIV</b>	-OH	-OH	-OH	-OH	=O
<b>T-2</b>	-OH	-OAc	-OAc	-H	-OIsoval
<b>HT-2</b>	-OH	-OH	-OAc	-H	-OIsoval
<b>4,15-DAS</b>	-OH	-OAc	-OAc	-H	-H

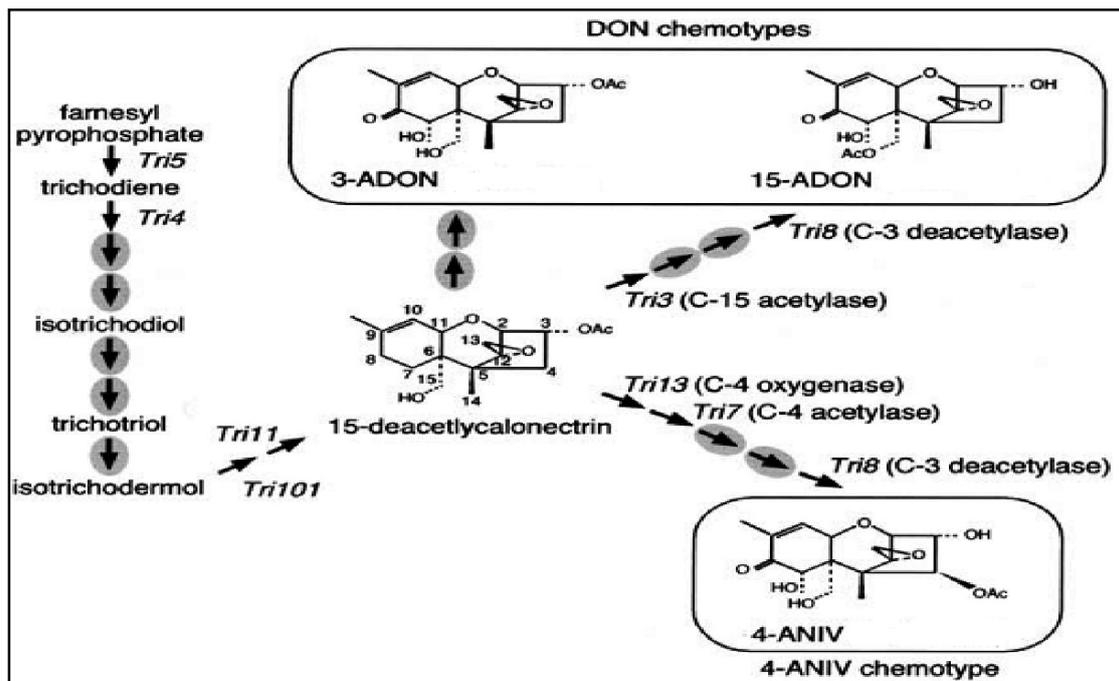


**Figure 5:** Structure chimique des trichothécènes groupes A et B (Foroud et Eudes, 2009).

OAc = fonction acétyle; OIsoval = fonction isovalérate

### 1.3.3.2. Voies de biosynthèse des trichothécènes

Les trichothécènes sont des oxydes sesquiterpènes, dérivés de la voie de biosynthèse des isoprénoïdes (Alexander *et al.*, 1997). La biosynthèse des trichothécènes provient du trichodiène (Fig. 6), un produit naturel isolé à l'origine de *Trichothecium roseum* (Machida et Nozoe, 1972), initiée par une cyclisation de sesquiterpène catalysée par l'enzyme trichodiène synthase, suivie d'une étape d'oxygénation (jusqu'à huit oxygénations) et enfin par quatre estérifications. Elle nécessite également l'expression d'une protéine de transport et d'un réseau de gènes régulateurs (Desjardins et Proctor, 2007). Quinze gènes désignés sous le terme gène Tri ont été caractérisés (Fig. 6) dont douze d'entre eux sont regroupés en un cluster -le cluster Tri-, les trois autres étant présents sur deux autres loci (zones du génome) (Richard Forget et Oswald, 2012).



**Figure 6:** Résumé de la voie de biosynthèse des trichothécènes du *F. graminearum*. Chaque flèche représente une étape unique dans la biosynthèse et le gène de la voie responsable (s'il est déjà identifié) est indiqué. Les flèches en ellipse ombrée indiquent que les gènes responsables n'ont pas encore été isolés (Kimura *et al.*, 2003).

### 1.3.3.3. Méthodes d'analyse des trichothécènes

Pour répondre aux exigences de la législation récente, le développement de méthodes fiables et sensibles pour l'analyse des trichothécènes est devenu un sujet de recherche prioritaire. Des méthodes analytiques pour une détermination précise de ces mycotoxines dans les céréales et les produits à base de céréales sont nécessaires afin de protéger les consommateurs du risque d'exposition, de permettre des programmes de surveillance (criblage rapide des matériaux dans la chaîne de production alimentaire) et de veiller à ce que les niveaux réglementaires fixés par l'UE ou d'autres organisations internationales soient respectés (Lattanzio *et al.*, 2009). Habituellement, l'analyse a employé quatre étapes de base: l'extraction; le nettoyage par extraction en phase solide (SPE) et une étape de séparation et de détection combinée (Scott, 1993; Langseth et Rundberget, 1998). Le choix du solvant ou du mélange solvant / eau utilisé dépend des caractéristiques chimiques de la mycotoxine analysée, du type d'échantillon, des problèmes de santé et de sécurité ainsi que de la technique d'analyse utilisée (Juan *et al.*, 2012).

Les méthodes d'analyse des trichothécènes doivent être rapides, fiables et économiques. Les méthodes connues peuvent être divisées en deux catégories: les

«méthodes instrumentales» telles que la chromatographie en phase gazeuse (GC, Gas Chromatography) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC, High Performance Liquid Chromatography) et les «méthodes rapides» telles que la chromatographie sur couche mince (TLC, Thin Layer Chromatography), les analyses immuno-enzymatiques (ELISA, Enzyme-Linked ImmunoSorbant Analyses) qui utilisent le principe de l'immunoanalyse (Koch, 2004). Néanmoins, les méthodes varient selon le type chimique de trichothécène : TCTA ou TCTB.

### 1.3.3.4. Toxicité et réglementation des mycotoxines

Les trichothécènes sont toxiques pour tous les organismes (Champeil *et al.*, 2004), mais la sensibilité varie considérablement entre les espèces et entre les différents trichothécènes (Eriksen, 2003). Les trichothécènes du groupe A sont très préoccupants car ils sont plus toxiques que les trichothécènes de type B (Bhat *et al.*, 2010). La toxine T-2 est le trichothécène le plus toxique produit par les *Fusarium* spp. (Eriksen, 2003; Rocha *et al.*, 2005).

Chez les mammifères, l'absorption des trichothécènes entraîne des troubles sanguins et digestifs (Champeil *et al.*, 2004). Chez l'homme, des sensations de brûlure dans la bouche et l'estomac, des maux de tête, une diminution du nombre de globules rouges, des hémorragies, une nécrose de la gorge et de l'estomac et, dans certains cas, la mort des personnes, ont été observées (Eudes *et al.*, 2000). Les effets toxiques bruts de certains trichothécènes sur les animaux comprennent un retard de croissance, une réduction de la fonction ovarienne et des troubles de la reproduction, une immuno-compromission, un refus d'alimentation et des vomissements (Lattanzio *et al.*, 2009; Rocha *et al.*, 2005).

Il convient également de noter que les études sur les mycotoxines produites par *Fusarium* spp., se sont généralement concentrées sur le désoxynivalénol, même si le genre *Fusarium* produit également d'autres types de mycotoxines (Champeil *et al.*, 2004).

Chez les plantes, le désoxynivalénol retarde la germination et la croissance du blé et inhibe la croissance du grain et des tissus des coléoptiles (Rocha *et al.*, 2005; Snijders et Perkowski, 1990). La phytotoxicité des mycotoxines est généralement estimée au moyen de tests d'élongation des coléoptiles (Eudes, 1998; Eudes *et al.*, 2000). Les trichothécènes sont maintenant reconnus comme ayant de multiples effets inhibiteurs sur les cellules eucaryotes, y compris l'inhibition de la synthèse des protéines, de l'ADN et de l'ARN, l'inhibition de la

fonction mitochondriale, les effets sur la division cellulaire et les effets membranaires (Rocha *et al.*, 2005).

### 1.3.4. Aspects réglementaires

En Algérie, il n'existe pas encore des normes ou des réglementations à l'heure actuelle fixant des limites maximales des teneurs en mycotoxines dans les denrées alimentaires et les aliments destinés pour l'alimentation animale. En revanche, des réglementations sur les mycotoxines ont été établies dans plus de 100 pays (FAO, 2003; Van Egmond *et al.*, 2007), et les limites maximales acceptables varient considérablement d'un pays à l'autre (Pinotti *et al.*, 2016). En particulier, certains pays de l'Union Européenne ont fixé des doses maximales d'aflatoxines dès 1974, les limites maximales de mycotoxines dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (règlement CE 98). Cette réglementation a été modifiée et améliorée à plusieurs reprises (Zinedine et Idrissi, 2007). Le dernier règlement de la Commission Européenne CE N° 1881/2006 (révisé, CE N° 1126/2007 le 28/09/2007), en application depuis le premier octobre 2007, fixe les teneurs maximales en certaines mycotoxines dans les céréales et produits céréaliers destinés à l'alimentation humaine (Atanasova-Pénichon et Richard-Forget, 2014 ; Savoie *et al.*, 2015).

D'un point de vue économique, seules quelques mycotoxines sont considérées comme importantes, à savoir les aflatoxines (AF), l'ochratoxine A (OTA), le zéaralénone (ZEA), le DON et les fumonisines (FB). Les normes concernant les concentrations maximales de mycotoxines dans les aliments destinés à la consommation humaine entre ses pays membres sont données dans le tableau d'Annexe 2 (Cheli *et al.*, 2013; Cheli *et al.*, 2014).

### 1.4. Résistance des céréales à l'accumulation des mycotoxines

La contamination des céréales par les trichothécènes représente une menace pour les économies et les approvisionnements alimentaires des régions céréalières du monde entier. Plus important encore, dans les pays où le dépistage de la contamination par les trichothécènes est limité ou inexistant, elle représente une menace sanitaire importante (Foroud et Eudes, 2009). Une approche évidente contre la menace des mycotoxines consiste à sélectionner des variétés pour la résistance à la fusariose. Cette stratégie pourrait limiter la contamination des céréales par les mycotoxines (Boutigny *et al.*, 2008). La résistance à la fusariose du blé est quantitative et régie par les polygènes (Bai et Shaner, 2004) et confère une résistance partielle mais durable. En raison de sa complexité génétique, les progrès dans la caractérisation des mécanismes de défense quantitatifs ont été plus lents (Gunnaiah *et al.*,

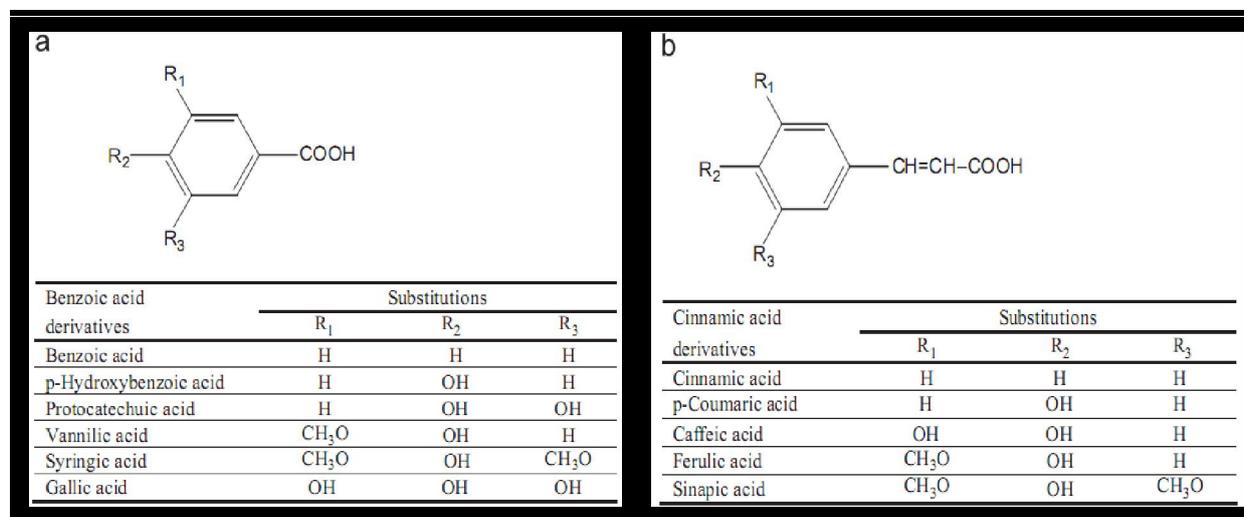
2012). La résistance à la fusariose incluant la variable toxine est une résistance à plusieurs composantes, décrite chez le blé (Atanasova-Penichon et Richard-Forget, 2014). La résistance à la fusariose a d'abord été décomposée en deux composantes: la résistance de type I contre l'infection initiale et la résistance de type II contre la propagation du pathogène dans l'hôte (Schroeder et Christensen, 1963). Plus tard, trois composants supplémentaires ont été distingués: résistance à l'infection du grain (type III), tolérance à l'infection (type IV) et résistance à l'accumulation de DON (type V) (Mesterhazy, 2002; Miller *et al.*, 1985). La résistance de type V peut être subdivisée en deux classes (types V-1 et V-2) telles que définies récemment par Boutigny *et al.*, 2008. La résistance de type V-1 comprend des mécanismes par lesquels les plantes transforment chimiquement les trichothécènes, entraînant leur dégradation ou leur détoxification par voie enzymatique. Parmi les stratégies de détoxification, la glycosylation des trichothécènes est un processus naturel déjà signalé chez le blé (Boutigny *et al.*, 2008). Un autre mécanisme, plus récemment décrit est basé sur la formation de sulfates (Atanasova-Penichon et Richard-Forget, 2014). Des exemples de métabolisation de la zéaralénone en zéaralénone -14-sulfate chez le maïs ont été rapportés (De Boevre *et al.*, 2014). Plusieurs autres mécanismes ont été associés à la capacité des cultures à détoxifier le DON. Ces processus de détoxification impliquent des modifications chimiques enzymatiques catalysées par un ensemble d'UDP-glycosyltransférases, de glutathione-S-transférases ou de mono-oxygénases du cytochrome P450 (De Boevre *et al.*, 2014; Karlovsky, 2011).

Selon la structure et la toxicité des trichothécènes, deux autres voies de métabolisation sont susceptibles de conduire à une détoxification des trichothécènes, mais leur occurrence dans les grains n'a cependant jamais été démontré (Boutigny *et al.*, 2008). La première voie est l'acétylation, un mécanisme exploité par le genre *Fusarium* spp., pour se protéger de ses propres mycotoxines. La deuxième voie est la dé-époxydation, le groupement époxyde étant un des principaux acteurs de la toxicité des trichothécènes (Atanasova-Penichon et Richard-Forget, 2014). La résistance de type V-2 comprend des mécanismes qui conduisent à une réduction de l'accumulation de mycotoxines en inhibant leur biosynthèse dans le champignon envahisseur par l'action de composés végétaux endogènes. Ceux-ci comprennent à la fois des composés constitutifs des grains et des composés induits en réponse à une infection pathogène. Il existe déjà de nombreux composés ayant des propriétés antioxydantes, comme des composés phénoliques, des peptides ou des caroténoïdes, et des propriétés pro-oxydantes, comme le peroxyde d'hydrogène ou les hydroperoxydes dérivés de

l'acide linoléique, décrits comme «modulateurs» de la biosynthèse des mycotoxines (Boutigny *et al.*, 2008).

### 1.4.1. Les acides phénoliques des céréales

Les acides phénoliques représentent un grand groupe de composés bioactifs dans les céréales (Leváková et Lacko-Bartošová, 2017). Ces acides sont des phénylpropanoïdes majeurs, dérivés directement soit de l'acide cinnamique soit de l'acide benzoïque (Atanasova-Penichon et Richard-Forget, 2014), tels que les stilbènes, les coumarines, les flavones, la lignine et les anthocyanes notamment (Boutigny, 2007). Il existe deux classes d'acides phénoliques: les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (Fig. 7) (Dykes et Rooney, 2007; Leváková et Lacko-Bartošová, 2017; Liu, 2007). Dans les céréales, les dérivés de l'acide benzoïque comprennent les acides gallique, *p*-hydroxybenzoïque, vanillique, syringique et protocatéchique tandis que les dérivés de l'acide cinnamique comprennent les acides caféique, chlorogénique, *p*-coumarique, sinapique et férulique (Fig. 7) (Atanasova-Penichon *et al.*, 2016; Liu, 2007; Ndolo et Beta, 2014). En particulier, les acides féruliques se trouvent principalement dans les graines et les feuilles de plantes, conjuguées de manière covalente à des mono- et disaccharides, des polysaccharides de la paroi cellulaire végétale, des glycoprotéines, des polyamines, de la lignine et des biopolymères d'hydrates de carbone insolubles. Le son de blé est une bonne source d'acides féruliques, qui sont estérifiés en hémicellulose des parois cellulaires. La transformation des aliments, comme le traitement thermique, la pasteurisation, la fermentation et la congélation, contribue à la libération de ces acides phénoliques liés (Dewanto *et al.*, 2002).



**Figure 7:** Structures d'acides phénoliques courants: (a) dérivés de l'acide benzoïque et (b) dérivés de l'acide cinnamique (Liu, 2007)

L'acide férulique (acide trans-4-hydroxy-3-méthoxycinnamique) est l'acide phénolique primaire le plus abondant dans les grains de blé. Les acides phénoliques présents dans les céréales existent à la fois sous forme soluble (libre) et insoluble (liée à la paroi cellulaire). Les acides phénoliques solubles sont soit des acides libres, soit des acides conjugués estérifiés à des sucres (conjugués par liaison ester ou par liaison glycosidique). Les acides phénoliques insolubles (liés) sont liés à divers polysaccharides et à la lignine par des liaisons ester et éther.

Ces composés phénoliques sont concentrés essentiellement dans les couches externes du grain, c'est-à-dire dans le péricarpe et la couche à aleurone mais également dans le germe, et sont moins abondants dans l'endosperme (Bily *et al.*, 2003; Das et Singh, 2015).

Parmi les acides phénoliques solubles, l'acide férulique est de loin la forme majoritaire, suivi par les acides *p*-coumarique et vanillique (Adom et Liu, 2002; Bakan *et al.*, 2003; Santiago *et al.*, 2007). L'acide férulique est le plus abondant dans les céréales communes et représente jusqu'à 90 % du total des composés phénoliques (Adom et Liu, 2002; Boz, 2015). Les acides caféique et *p*-hydroxybenzoïque et sinapique sont aussi présents en très faibles quantités (0,5-1,5 µg / g) (Irakli *et al.*, 2012).

### 1.4.2. Rôle des acides phénoliques dans les mécanismes de résistance

La résistance aux maladies est un mécanisme à multiples facettes dans les céréales, et de nombreux composants contribuent à la résistance globale des cultivars (McKeehen *et al.*, 1999). Les acides phénoliques ont souvent été décrits pour leur contribution à la défense contre les pathogènes fongiques, soit par interférence directe avec le champignon, soit par le renforcement des composants structuraux de la plante agissant comme une barrière mécanique (Lattanzio *et al.*, 2006; Siranidou *et al.*, 2002). Les acides phénoliques sont également soupçonnés de réduire spécifiquement l'accumulation de mycotoxines dans les plantes en raison de leur capacité démontrée *in vitro* d'inhiber la production de mycotoxines diverses, incluant les TCTB (Boutigny *et al.*, 2009) et les fumonisines (Atanasova-Penichon *et al.*, 2014; Dambolena *et al.*, 2008; Samapundo *et al.*, 2007).

#### 1.4.2.1. L'activité antifongique des acides phénoliques dans les céréales

Compte tenu des propriétés antioxydantes des composés phénoliques, plusieurs études ont été consacrées à leur effet antifongique et antimycotoxine (Atanasova-Penichon et Richard-Forget, 2014). Les acides phénoliques sont toxiques pour de nombreux

champignons, y compris les espèces de *Fusarium* (Gauthier *et al.*, 2016; Guiraud *et al.*, 1995; Ponts *et al.*, 2011). Leur efficacité fongicide a été montrée contre différentes espèces de *Fusarium* et des valeurs de CI50 (concentration qui inhibe 50 % de la croissance fongique) allant de 0,7 à > 10 mM ont été rapportées (Atanasova-Penichon *et al.*, 2016). Les acides phénoliques pourraient être classés par ordre croissant de toxicité envers *F. graminearum* comme suit: acide chlorogénique < acide *p*-hydroxybenzoïque < acide caféique < acide syringique < acide *p*-coumarique < acide férulique (Atanasova-Penichon *et al.*, 2016). Des valeurs similaires ont été obtenues concernant les CI50 de divers acides phénoliques vis-à-vis de *F. graminearum* et *F. culmorum* et ont permis de classer les acides phénoliques en fonction de leur CI50, du moins inhibiteur au plus inhibiteur : acide *p*-hydroxybenzoïque < acide gallique < acide protocatéchuique < acide sinapique < acide caféique < acide syringique < acide *p*-coumarique < acide férulique (Ponts *et al.*, 2011). Il est intéressant également de noter que les isolats de *F. culmorum* sont beaucoup plus sensibles à l'acide férulique que les isolats de *F. graminearum* (Atanasova-Penichon et Richard-Forget, 2014). Il a été montré également que les isolats de *F. culmorum* (CI50 entre 8,8 et 10,0 mM) pourraient être moins sensibles à l'acide caféique que les isolats de *F. graminearum* (Gauthier *et al.*, 2016; Ponts *et al.*, 2011).

Plusieurs études ont rapporté la capacité de l'acide férulique à inhiber la croissance de *Fusarium* (Assabgui *et al.*, 1993; Samapundo *et al.*, 2007; Siranidou *et al.*, 2002; Ponts *et al.*, 2011) et la production de mycotoxines (Bakan *et al.*, 2003; Beekrum *et al.*, 2003; Boutigny *et al.*, 2009 ;).

La contribution potentielle de l'acide *p*-coumarique à la résistance à la fusariose de l'épi a été confirmée par des études métabolomiques sur l'orge (Kumaraswamy, 2012) et le blé (Gunnaiah *et al.*, 2012). L'acide *p*-coumarique a également montré une réduction significative de la biomasse *in vitro* de *F. graminearum* (Bollina *et al.*, 2010; Ponts *et al.*, 2011). Fait intéressant, Siranidou *et al.* (2002) ont montré un effet antifongique synergique du *p*-coumarique avec l'acide férulique.

Comme pour les acides férulique et *p*-coumarique, l'acide caféique, pour lequel un rôle potentiel dans la résistance a été mis en évidence par Kostyn *et al.* (2012), est un puissant inhibiteur de la croissance de *Fusarium* spp. (Bily *et al.*, 2003 ; Ponts *et al.*, 2011) et de la production de DON (Boutigny, 2007). Bien que signalé comme une forme prédominante d'acides phénoliques solubles dans le blé et impliqué dans la défense chimique

contre le *F. graminearum* dans le blé et l'orge, l'acide sinapique a été peu étudié pour ses propriétés antifongiques et anti-mycotoxines (Gauthier *et al.*, 2015). Egalement, l'acide chlorogénique est le principal acide phénolique libre que *F. graminearum* est susceptible de rencontrer au début de la colonisation de l'épi de maïs, c'est-à-dire lorsque la production de DON est initiée dans la plante (Atanasova-Penichon *et al.*, 2012). Des variétés de maïs plus résistantes ont des niveaux plus élevés en acide chlorogénique, et cet acide a été signalé comme un facteur de résistance potentiel dans plusieurs autres pathosystèmes (Atanasova-Penichon *et al.*, 2014).

Des résultats de Ponts *et al.* (2011) ont indiqué que si les propriétés lipophiles des acides phénoliques étaient des facteurs primaires de leur action antifongique, leurs propriétés antioxydantes étaient étroitement liées à leur efficacité à moduler la production de DON. Étant donné que l'accumulation de DON s'est révélée être favorisée par un stress peroxydique (Ponts *et al.*, 2007), l'inhibition de la production de DON par les acides phénoliques est compatible avec leur capacité à éliminer les radicaux réactifs de l'oxygène. Enfin, les résultats de Boutigny *et al.* (2009) ont indiqué une régulation négative de l'expression des gènes impliqués dans la biosynthèse de DON par *F. graminearum* lorsque l'acide férulique a été ajouté aux milieux de culture *in vitro*.

### 1.4.2.2. Rôle des parois cellulaires des céréales dans la résistance

La résistance des plantes aux pathogènes, repose sur un réseau complexe de barrières défensives constitutives et inductibles. La paroi cellulaire végétale est l'une des barrières que les pathogènes doivent surmonter pour coloniser avec succès les tissus végétaux (Miedes *et al.*, 2014). Premièrement, les parois cellulaires agissent comme une barrière passive; une décomposition locale ou extensive de la matrice pariétale est généralement requise pour la progression de l'infection par un agent pathogène (Cantu *et al.*, 2008; Hematy *et al.*, 2009). Deuxièmement, la paroi cellulaire est un réservoir de composés antimicrobiens qui sont libérés lors de la dégradation de la paroi cellulaire (García-Olmedo *et al.*, 2001; Schulze-Lefert, 2004; Vorwerk *et al.*, 2004).

Un grand ensemble de métabolites de défense constitutifs et inductibles potentiellement liés à la résistance à *Fusarium* a été mis en évidence dans plusieurs études. Parmi ces métabolites, les composés d'acides phénoliques et leurs dérivés, notamment les benzoïques et les cinnamiques qui représentent 44 % des phénylpropanoïdes (environ 180 composés) (Atanasova-Penichon *et al.*, 2016).

## Chapitre 1: Synthèse bibliographique

---

En effet, le rôle des phénylpropanoïdes dans la résistance aux maladies a fait l'objet de recherches intensives (Treutter, 2006). En réponse à une infection pathogène, ils sont libérés de la paroi cellulaire ou massivement synthétisés par la plante s'accumulant rapidement sur le site de l'infection (Nicholson et Hammerschidt, 1992). Ces composés phénoliques interviennent dans la défense en interférant directement avec le champignon ou en renforçant les composants structuraux de la plante pour agir comme une barrière mécanique contre le pathogène (Siranidou *et al.*, 2002, Treutter, 2006).

McKeehen *et al.* (1999) rapportent que les profils d'acides phénoliques de six cultivars de blé ayant une tolérance connue à la fusariose de l'épi ont été évalués au cours du développement de la plante, de l'anthèse à la maturité. Un jour après l'anthèse, les principaux acides phénoliques présents sont l'acide férulique et l'acide *p*-coumarique. À mesure que le grain se développe, leur rapport augmente rapidement. A trois jours après l'anthèse, le rapport de l'acide férulique à l'acide *p*-coumarique peut être de 18:1. A maturité, le rapport de l'acide férulique à l'acide *p*-coumarique peut atteindre 62:1 et l'acide sinapique a remplacé l'acide *p*-coumarique prédominant dans le grain. Comme l'anthèse est le moment où les cultivars sont les plus sensibles à l'infection, ces résultats suggèrent que l'acide férulique et l'acide *p*-coumarique peuvent potentiellement contribuer à la résistance aux maladies.

La plupart des études relatives à la contribution de l'acide férulique à la résistance des céréales contre *F. graminearum* ont porté sur les formes liées, réticulées aux polysaccharides par des liaisons ester et aux composants de la lignine par des liaisons éther, et leur rôle structural dans la paroi cellulaire (Assabgui *et al.*, 1993; Bily *et al.*, 2003; McKeehen *et al.*, 1999). Dans le maïs, Bily *et al.* (2003) ont conclu que l'acide férulique et ses formes déshydrates agissent comme des facteurs de résistance à *F. graminearum* par résistance de type I (résistance à la pénétration initiale) et résistance de type II (résistance à la propagation due à une dégradabilité plus faible de la paroi cellulaire).

### 1.5. Moyens de lutte contre la fusariose de l'épi dans les céréales

Le contrôle de la fusariose peut être réalisé par un certain nombre de stratégies culturales, biologiques et chimiques ainsi que par l'exploitation de la résistance des plantes hôtes.

#### 1.5.1. Lutte culturale

Les options de gestion culturale comprennent la rotation des cultures, l'utilisation appropriée des engrais, l'irrigation, la lutte contre les mauvaises herbes, la préparation appropriée des terres et la récolte en temps opportun (Wagacha et Muthomi, 2007).

Une gestion et une préparation appropriées sur le terrain sont particulièrement pertinentes pour la lutte contre la fusariose. Les stratégies appropriées comprennent le labour en profondeur comme méthode d'élimination de la matière fongique résiduelle de la surface (présente dans les débris de la culture précédente). La rotation des cultures est également importante et vise à briser la chaîne de production de matériel infectieux, par exemple en utilisant des rotations blé / légumineuses; l'utilisation du maïs dans une rotation doit être évitée. Dans les climats méditerranéens, il est recommandé de laisser les terres labourées exposées au soleil d'automne afin de détruire les matières fongiques (Aldred et Magan, 2004).

Il a été démontré que la gestion de la date de semis, en mettant l'accent sur le semis précoce, était importante pour le contrôle de la maladie de *Fusarium* chez les cultivars de blé et de maïs (Choo *et al.*, 2014; Parsons et Munkvold, 2012). L'impact des mauvaises herbes sur le développement des épidémies de *Fusarium* a également été corrélé avec leur rôle en tant que source d'inoculum (Mourellos *et al.*, 2014; Postic *et al.*, 2012); en effet, une forte densité de mauvaises herbes augmente la fusariose (Teich et Nelson, 1984).

#### 1.5.2. Lutte génétique

Au cours des dernières années, une grande partie de la recherche entreprise pour le contrôle de la fusariose a été concentrée sur la compréhension et l'exploitation de la résistance génétique des plantes céréalières aux agents pathogènes responsables de la fusariose de l'épi (Pirgozliev *et al.*, 2003). La sélection des variétés dans les petites céréales devrait tenir compte de la résistance constitutive à la fusariose qui peut inclure: la hauteur de la plante (Buerstmayr *et al.*, 2000), le type de floraison (Buerstmayr et Buerstmayr, 2015) et

le temps (Yoshida *et al.*, 2008), la résistance à la verse (Nakajima *et al.*, 2008) et le locus quantitatif pour la résistance à la fusariose (Ferrigo *et al.*, 2016). Ainsi, la résistance à la fusariose est une caractéristique quantitative contrôlée par de multiples gènes caractérisés par une variation considérable (Bai et Shaner, 1994). Différentes caractéristiques de résistance à la fusariose de l'épi peuvent être distinguées: la première concerne la prévention à l'infection initiale (type I) (Burt *et al.*, 2015), la seconde opérant contre la propagation fongique (type II) (Buerstmayr *et al.*, 2009), une tierce liée à la capacité du grain à résister aux infections (type III) (Lu *et al.*, 2013), et deux autres types comprenant la tolérance à l'infection (type IV) (He *et al.*, 2014) ou la résistance à l'accumulation de DON (type V) (Kluger *et al.*, 2015).

### 1.5.3. Lutte biologique

La lutte biologique est définie comme une stratégie écologique utilisant des micro-organismes vivants ou leurs dérivés pour réduire un agent pathogène ciblé (Legrand *et al.*, 2017). L'une des stratégies pour contrôler la colonisation par les espèces de *Fusarium* et la contamination par les mycotoxines dans les cultures céréalières repose sur l'application d'agents de lutte biologique (ACB) et de métabolites végétaux bioactifs, qui peuvent aider à réduire l'utilisation de fongicides (Ferrigo *et al.*, 2016). Les agents de lutte biologique (ACB) peuvent être utilisés seuls ou dans le cadre d'un programme de gestion intégrée. Les bactéries et les champignons font partie des ACB qui ont été identifiés et testés *in vitro*, en serre et sur le terrain (Wegulo *et al.*, 2015). Bien que les ACB puissent également s'avérer utiles pour limiter la survie des champignons pathogènes sur les résidus céréaliers (Luongo *et al.*, 2005), la cible principale est le contrôle de l'infection pour réduire les mycotoxines. Dans les céréales, les modes d'action les plus courants des ACB sur les épis de céréales sont la compétition pour les nutriments, la production de métabolites antifongiques et l'induction de réponses de défense (Chulze *et al.*, 2015). Les bactéries principales ayant des capacités antagonistes contre *Fusarium* comprennent *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas* et *Streptomyces* spp. (Pan *et al.*, 2015; Samsudin et Magan, 2016). A propos des champignons, *Clonostachys* spp. et *Trichoderma* spp. sont considérés comme des antagonistes bénéfiques importants capables de contrer le *Fusarium* mycotoxigène (Ferrigo *et al.*, 2014; Matarese *et al.*, 2012). *Trichoderma* spp. sont probablement les ACB fongiques les plus efficaces et plusieurs études ont montré leur effet protecteur et la capacité à induire une résistance systémique, rapportée chez le blé contre *F. culmorum* et le maïs contre *F. verticillioides*

(Ferrigo *et al.*, 2014; Moya-Elizondo *et al.*, 2016) associée à la réduction des taux de mycotoxines. Malgré des recherches intensives sur 70 ans et des résultats prometteurs, peu d'agents de lutte biologique sont actuellement disponibles sur le marché et un seul est destiné à la gestion de la fusariose, notamment Polyversum® (formulation commercialisée de l'isolat ATCC 38472 de *Pythium oligandrum* autorisée en France depuis août 2015). Ceci est en partie dû à la complexité de la législation, une contrainte longue et coûteuse (Alabouvette *et al.*, 2006). Le développement d'une formulation et d'une application appropriée constitue l'obstacle principal de leur utilisation (Legrand *et al.*, 2017).

Une autre approche est l'utilisation potentielle de métabolites bioactifs tels que des antioxydants naturels (huiles essentielles) et des composés phénoliques. Certains antioxydants sont caractérisés par des effets sur la croissance et la production de toxines dans les principaux champignons mycotoxigènes, y compris les espèces de *Fusarium* (Pani *et al.*, 2014).

### 1.5.4. Lutte chimique

Parmi les stratégies de contrôle direct, une large gamme de produits chimiques sont préconisés contre les fusarioses. Le traitement fongicide appliqué aux petites céréales contre cette maladie, au moins jusqu'à l'anthèse ou quelques jours après l'anthèse (D'Angelo *et al.*, 2014), est la pratique agricole qui présente le plus grand avantage pour le rendement grainier en raison de la diminution de la sévérité de la maladie et du maintien de bonnes performances photosynthétiques des cultures céréalières lors du remplissage des grains (Ruske *et al.*, 2003). Les fongicides du groupe azole comprennent le metconazole, le propiconazole, le prothioconazole et le tébuconazole qui appartiennent à la classe des inhibiteurs de déméthylation (Ferrigo *et al.*, 2016). Cependant, aucun de ces produits chimiques n'a abouti à un contrôle complet de la fusariose de l'épi (Dweba *et al.*, 2017).

### 1.5.5. Lutte intégrée

L'intégration de stratégies multiples de gestion est l'approche la plus efficace pour contrôler la fusariose de l'épi (Wegulo *et al.*, 2015). La meilleure gestion de la fusariose comprend des pratiques intégrées comprenant des cultivars résistants et des applications de fongicides lorsque les conditions environnementales étaient favorables à la maladie (Paul *et al.*, 2008; Wegulo *et al.*, 2011). Même si les efforts de recherche ont efficacement amélioré le niveau de résistance à la fusariose de l'épi chez les cultivars commerciaux, les cultivars résistants ne peuvent pas encore être utilisés individuellement pour gouverner la fusariose

## Chapitre 1: Synthèse bibliographique

---

(Mesterházy *et al.*, 2011). De même, un rapport suggère que les conditions environnementales au niveau local (échelle microscopique), les pratiques de gestion des sols et les cultivars résistants sont des facteurs qui contribuent au contrôle de l'épidémie de fusariose (Scala *et al.*, 2016). L'utilisation de pratiques du travail minimum du sol et la rotation des cultures améliorent l'incidence de la brûlure de l'épi (Pereyra *et al.*, 2004). Un rapport publié par Oerke *et al.* (2002) indique que la gestion intégrée telle que la préparation du sol, la culture précédente, l'intensité de la culture, la fertilisation azotée, la lutte contre les mauvaises herbes et la rotation des cultures jouent un rôle essentiel dans la contamination par la fusariose de l'épi. Les rapports précédents indiquent que les méthodes de gestion individuelles peuvent réduire considérablement l'incidence de la maladie, mais les méthodes intégrées devraient être plus efficaces, surtout si les conditions environnementales sont favorables à la contamination par la fusariose (Edwards, 2004). Par conséquent, une bonne pratique agronomique doit être combinée avec d'autres méthodes de lutte pour faire face à tous les facteurs de menace possibles afin de contrôler l'incidence de la brûlure de l'épi (Pirgozliev *et al.*, 2003; Ye *et al.*, 2017). En conséquence, des pratiques agricoles optimales pourraient être bénéfiques en ce qui concerne la diminution de la croissance fongique et la toxinogénèse (Shah *et al.*, 2018).

## **Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé**

### **2.1. Matériel végétal**

Au cours de l'expérience 1 (2013-2014), deux lignées généalogiques ( $G_1$  et  $G_4$ ) de blé dur (*Triticum turgidum* L. subsp. *Durum*) récemment sélectionnées en Algérie et présentant des niveaux de résistance remarquables à la fusariose de l'épi (Hadjout, 2013), ont été testées au champ (Tab. 4). Ces lignées sont composées de semences  $F_{15}$  issues de croisements diallèles entre 4 variétés parentales : Saadi, Siméto, Ardente et Waha, obtenues en juin 2011 par Kehli et Madame la Pr. Mekliche du département du Production Végétale à l'ENSA d'El-Harrach, Alger (Mekliche *et al.*, 2013) (Tab. 4). Les principales caractéristiques de ces variétés sont indiquées dans le tableau d'annexe 1. Dans l'expérience 2 (2014-2015), trois variétés parentales ( $G_9$ ,  $G_{10}$  et  $G_{11}$ ) ont été ajoutés aux précédentes lignées afin de comparer les niveaux de résistance entre les génotypes; les variétés  $G_9$  et  $G_{11}$  constituent les témoins sensibles. Par contre, la variété  $G_{10}$  est moyennement résistante à la fusariose de l'épi de blé.

**Tableau 4:** Lignées généalogiques  $F_{15}$  et variétés parentales utilisées lors de l'expérimentation

<b>Lignées et variétés</b>		<b>Codes</b>
<b>Lignées</b>	Saadi × Waha 431	$G_1$
	Ardente × Siméto 133	$G_4$
<b>Variétés</b>	Siméto	$G_9$
	Ardente barbe blanche	$G_{10}$
	Waha « S »	$G_{11}$

### **2.2. Matériel fongique**

Les dix isolats de *Fusarium* spp. ont été utilisés au cours de cette étude (Tab. 5). Au cours de l'expérimentation 1 (2013-2014), au total dix isolats ont été utilisés, six isolats de *Fusarium culmorum* (F.C.T<sub>5</sub>, F.C.T<sub>7</sub>, F.C.10.11, F.C.8.12, F.C.9.12, F.C.1.12), deux isolats de *Fusarium Pseudograminearum* (F.P.G.1.11, F.P.G.2.11), un isolat de *Fusarium graminearum* (F.G.3.11) et un isolat de *Fusarium cerealis* (F.C.2.12). Ces isolats nous ont été fournis par la Pr. Boureggha du département de Phytopathologie et de la Biologie

## Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé

Moléculaire de l'ENSA d'El-Harrach, Alger. Ils ont été isolés à partir de grains de blé dur fusariés récoltés dans la zone d'Oued Smar (Alger) au Nord de l'Algérie. L'identification préliminaire a été faite sur la base de la morphologie des conidies selon Leslie et Summerell (2006) confirmée ensuite par une PCR classique au laboratoire de MycSa de l'INRA de Bordeaux. Les isolats (F.C.T<sub>5</sub> et F.C.T<sub>7</sub>) produisent essentiellement du NIV et un peu de FX. Par contre les autres isolats produisent tous du DON et un peu de 3-ADON.

Pour l'expérimentation 2 (2014-2015), quatre isolats de *F. culmorum* (F.C.T<sub>5</sub>, F.C.T<sub>7</sub>, F.C.10.11, F.C.1.12), présentant les plus forts pouvoirs pathogènes et toxinogènes ont été choisis parmi la collection de l'année passée.

**Tableau 5:** Isolats de *Fusarium* spp. utilisés au cours de l'étude

Code ENSA	Espèce	Origine	Organe d'isolement	Variété	Chémotype
F.C.T <sub>5</sub>	<i>F.culmorum</i>	Oued Smar	Epi	Blé dur (vitron)	NIV/FX
F.C.T <sub>7</sub>	<i>F.culmorum</i>	Oued Smar	Epi	Blé dur (vitron)	NIV/FX
F.C.10.11	<i>F.culmorum</i>	Oued Smar	Epi	Blé dur (vitron)	DON/3-ADON
F.C.1.12	<i>F.culmorum</i>	Oued Smar	Collet	Blé dur (vitron)	DON/3-ADON
F.C.8.12	<i>F.culmorum</i>	Oued Smar	Epi	Blé tendre (anza)	DON/3-ADON
F.C.9.12	<i>F.culmorum</i>	Oued Smar	Epi	Blé tendre (anza)	DON/3-ADON
F.P.G.1.11	<i>F. pseudograminearum</i>	ENSA d'Alger	Collet	Blé dur (vitron)	DON/3-ADON
F.P.G.2.11	<i>F. pseudograminearum</i>	ENSA d'Alger	Collet	Blé dur (vitron)	DON/3-ADON
F.G.3.11	<i>F. graminearum</i>	Boumerdes	Epi	Blé dur (vitron)	DON/3-ADON
F.C.2.12	<i>F. cerealis</i>	Oued Smar	Epi	Blé dur	DON/3-ADON

### 2.3. Préparation de l'inoculum

Les isolats de *Fusarium* sont cultivés dans des boîtes de Petri contenant un milieu PDA. Ils sont ensuite incubés à l'obscurité et à une température de 25 °C jusqu'à la sporulation. Après 20 jours d'incubation, une couche d'eau distillée stérile de 1 à 2 mm est déposée sur la colonie contenue dans chaque boîte de Petri puis coulée dans un récipient. Après comptage à la cellule de Malassez, l'inoculum est préparé d'une suspension de conidies dans de l'eau, ajustée à 5.10<sup>4</sup> spores/mL, préparée extemporanément (Hadjout, 2013; Hadjout *et al.*, 2017).

### 2.4. Méthode d'inoculation artificielle au champ

La contamination au champ est faite par pulvérisation des épis de chaque génotype jusqu'au début de ruissellement de l'inoculum, soit 200 mL par mètre carré. Les contaminations ont été réalisées l'aide d'un pulvérisateur manuel au stade floraison correspondant à un minimum de 10 % des épis dont les étamines sont sorties. Les témoins sont constitués de parcelles où aucune inoculation artificielle n'a été effectuée.

## Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé

---

Au champ, les inoculations ont été réalisées le soir, après une irrigation par aspersion d'environ 20 minutes avant l'inoculation puis 10 minutes après, afin de maintenir une humidité suffisante sur les plantes pendant la nuit, mais aussi pour favoriser l'adhérence et la germination des conidies. Selon les conditions météorologiques, les parcelles sont par la suite irriguées régulièrement le soir (Hadjout, 2013; Hadjout *et al.*, 2017).

### 2.5. Dispositif expérimental au champ

Pour l'expérience 1 (2013-2014), deux essais ont été mis en place au champ au niveau de la station expérimentale de l'ENSA d'El-Harrach, Alger: un essai avec 5 isolats de *F. culmorum* et un autre avec les isolats de *F. graminearum*, *F. pseudograminearum* et *F. cerealis*. Le dispositif est en split-plot avec 3 répétitions pour chaque essai (Tab. 6, Fig. 8). Des microparcelles témoins non contaminées ont été ajoutées dans le but de mesurer l'effet de la maladie sur le rendement. L'espacement entre les blocs est de 1 m, chaque bloc comprend les deux lignées étudiées. La surface de chaque microparcelle est de 1 m<sup>2</sup>, constituée de 5 lignes de 1 mètre (mètre linéaire) à 20 cm d'intervalle. La distance entre chaque microparcelle est de 50 cm.

Pour l'expérience 2 (2014-2015), deux expérimentations ont été effectuées: l'une à la wilaya de Bejaia, avec installation de cinq essais en plein champ: un essai témoin et 4 essais inoculés avec les 4 isolats de *F. culmorum* cités précédemment (Tab. 6), l'autre à l'INRA de Bordeaux, France avec mise en place d'un essai sous serre (Tab. 8) en vue de récolter les épis 5 à 8 jours après floraison pour doser les acides phénoliques. Le dispositif expérimental était de type bloc aléatoire complet, avec trois répétitions pour celle de l'Algérie (Tab. 7) et avec 4 répétitions pour celle installée en France (Tab. 8, Fig. 8). Pour chacune des expérimentations, l'espacement entre les blocs est de 1 m. La surface de chaque microparcelle est de 1 m<sup>2</sup>, constituée de 5 lignes de 1 mètre (mètre linéaire) à 20 cm d'intervalle. La distance entre chaque microparcelle est de 50 cm. Des lignes de Triticale ont été semées entre les essais afin d'éviter les cross-contaminations.

## Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé

Essai avec cinq isolats de <i>Fusarium culmorum</i>			Essai avec cinq autres isolats de <i>Fusarium</i>		
B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>
G <sub>1</sub> FC <sub>912</sub>	G <sub>4</sub> FCT <sub>5</sub>	G <sub>1</sub> FC <sub>912</sub>	G <sub>1</sub> FPG <sub>211</sub>	G <sub>4</sub> T	G <sub>1</sub> FPG <sub>111</sub>
G <sub>1</sub> FCT <sub>7</sub>	G <sub>4</sub> T	G <sub>1</sub> FCT <sub>5</sub>	G <sub>1</sub> FC <sub>212</sub>	G <sub>4</sub> FG <sub>311</sub>	G <sub>1</sub> T
G <sub>1</sub> FC <sub>1011</sub>	G <sub>4</sub> FC <sub>912</sub>	G <sub>1</sub> FCT <sub>7</sub>	G <sub>1</sub> FC <sub>112</sub>	G <sub>4</sub> FC <sub>212</sub>	G <sub>1</sub> FPG <sub>211</sub>
G <sub>1</sub> FC <sub>812</sub>	G <sub>4</sub> FC <sub>1011</sub>	G <sub>1</sub> FC <sub>812</sub>	G <sub>1</sub> FPG <sub>111</sub>	G <sub>4</sub> FPG <sub>211</sub>	G <sub>1</sub> FC <sub>212</sub>
G <sub>1</sub> T	G <sub>4</sub> FC <sub>812</sub>	G <sub>1</sub> FC <sub>1011</sub>	G <sub>1</sub> T	G <sub>4</sub> FPG <sub>111</sub>	G <sub>1</sub> FG <sub>311</sub>
G <sub>1</sub> FCT <sub>5</sub>	G <sub>4</sub> FCT <sub>7</sub>	G <sub>1</sub> T	G <sub>1</sub> FG <sub>311</sub>	G <sub>4</sub> FC <sub>112</sub>	G <sub>1</sub> FC <sub>112</sub>
G <sub>4</sub> FC <sub>1011</sub>	G <sub>1</sub> FC <sub>812</sub>	G <sub>4</sub> FC <sub>812</sub>	G <sub>4</sub> T	G <sub>1</sub> FPG <sub>211</sub>	G <sub>4</sub> FC <sub>212</sub>
G <sub>4</sub> FCT <sub>7</sub>	G <sub>1</sub> FCT <sub>5</sub>	G <sub>4</sub> FC <sub>1011</sub>	G <sub>4</sub> FPG <sub>211</sub>	G <sub>1</sub> T	G <sub>4</sub> FG <sub>311</sub>
G <sub>4</sub> T	G <sub>1</sub> FC <sub>912</sub>	G <sub>4</sub> FCT <sub>5</sub>	G <sub>4</sub> FC <sub>212</sub>	G <sub>1</sub> FC <sub>112</sub>	G <sub>4</sub> FPG <sub>111</sub>
G <sub>4</sub> FC <sub>812</sub>	G <sub>1</sub> T	G <sub>4</sub> FC <sub>912</sub>	G <sub>4</sub> FC <sub>112</sub>	G <sub>1</sub> FC <sub>212</sub>	G <sub>4</sub> FC <sub>112</sub>
G <sub>4</sub> FCT <sub>5</sub>	G <sub>1</sub> FC <sub>1011</sub>	G <sub>4</sub> T	G <sub>4</sub> FPG <sub>111</sub>	G <sub>1</sub> FPG <sub>111</sub>	G <sub>4</sub> FPG <sub>211</sub>
G <sub>4</sub> FC <sub>912</sub>	G <sub>1</sub> FCT <sub>7</sub>	G <sub>4</sub> FCT <sub>7</sub>	G <sub>4</sub> FG <sub>311</sub>	G <sub>1</sub> FG <sub>311</sub>	G <sub>4</sub> T

**Tableau 6:** Dispositif expérimental en plein champ des deux essais installés en 2013/2014.

**B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>:** Blocs; **FCT<sub>5</sub>, FCT<sub>7</sub>, FC<sub>912</sub>, FC<sub>812</sub>, FC<sub>1011</sub>** : Isolats de *F. culmorum*; **T:** Témoin; **G<sub>1</sub>:** Lignée Saadi × Waha 431; **G<sub>4</sub>:** Lignée Ardente × Siméto 133; **FPG<sub>111</sub>, FPG<sub>211</sub>:** Isolats de *F. pseudograminearum*; **FC<sub>212</sub>:** Isolat de *F. cerealis*; **FC<sub>112</sub>:** Isolat de *F. culmorum*; **FG<sub>311</sub>:** Isolat de *F. graminearum*.

Essai témoin (sans inoculation)			Essai avec l'isolat FCT <sub>5</sub>			Essai avec l'isolat FCT <sub>7</sub>			Essai avec l'isolat FC <sub>1011</sub>			Essai avec l'isolat FC <sub>112</sub>		
B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>
G <sub>1</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>10</sub>
G <sub>11</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>4</sub>
G <sub>10</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>11</sub>
G <sub>4</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>9</sub>
G <sub>9</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>1</sub>

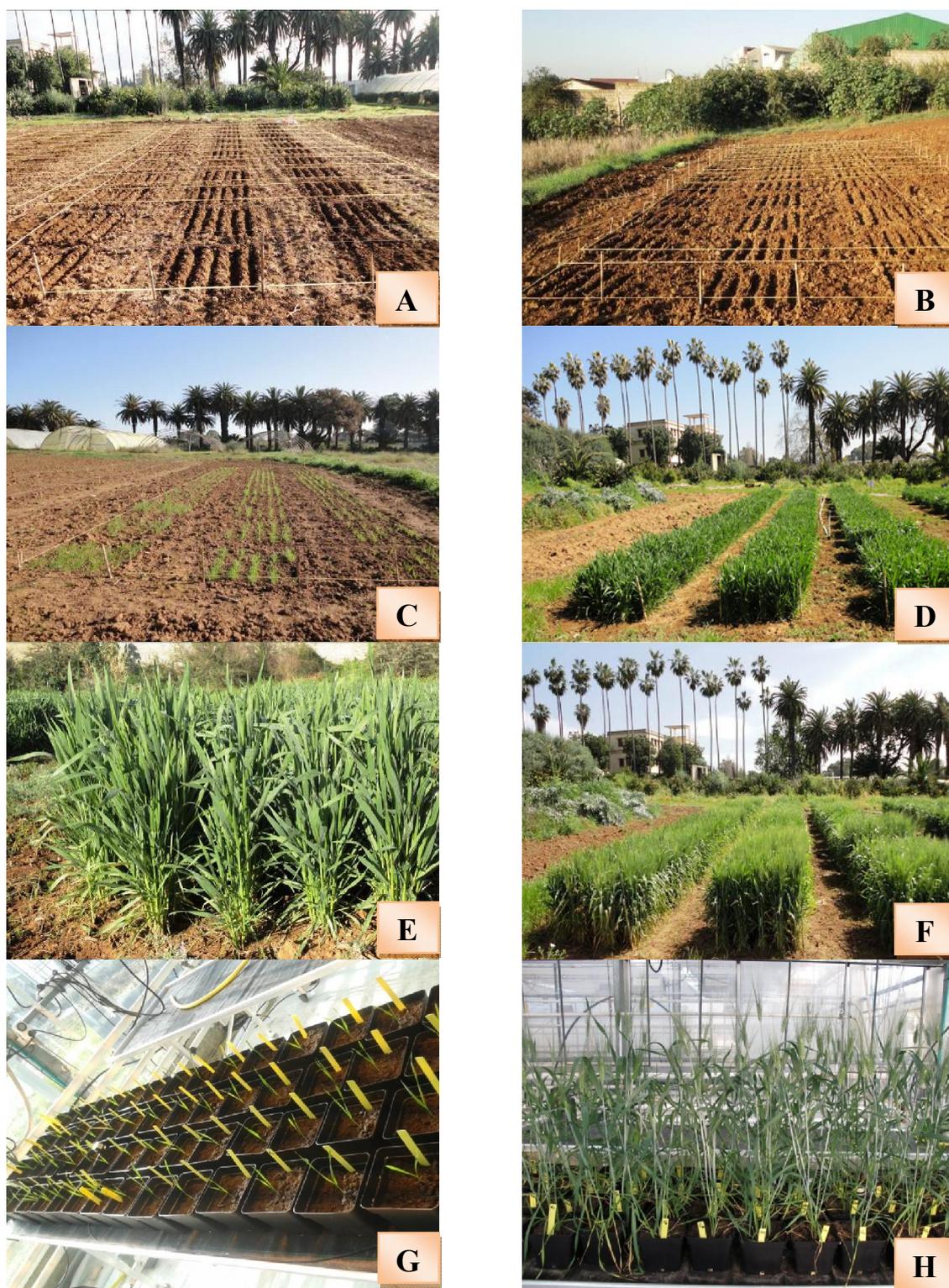
**Tableau 7:** Dispositif expérimental en plein champ des cinq essais installés en 2014/2015.

**B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>:** Blocs; **G<sub>1</sub>:** Lignée Saadi × Waha 431; **G<sub>4</sub>:** Lignée Ardente × Siméto 133; **G<sub>9</sub>:** Variété Siméto; **G<sub>10</sub>:** Variété Ardente Barbe Blanche, **G<sub>11</sub>:** Variété Waha « S ».

B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>4</sub>
G <sub>4</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>9</sub>
G <sub>9</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>11</sub>	G <sub>4</sub>
G <sub>11</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>9</sub>	G <sub>11</sub>
G <sub>10</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>10</sub>
G <sub>1</sub>	G <sub>10</sub>	G <sub>4</sub>	G <sub>1</sub>

**Tableau 8:** Dispositif expérimental installé sous serre en 2014/2015.

**B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>:** Blocs; **G<sub>1</sub>:** Lignée Saadi × Waha 431; **G<sub>4</sub>:** Lignée Ardente × Siméto 133; **G<sub>9</sub>:** Variété Siméto; **G<sub>10</sub>:** Variété Ardente Barbe Blanche, **G<sub>11</sub>:** Variété Waha « S ».



**Figure 8:** Photos illustrant le dispositif expérimental à différents stades de l'essai.

**A et B:** Préparation et traçage des parcelles pour le semis; **C:** Stade trois feuilles; **D:** Stade plein tallage; **E:** Stade montaison; **F:** Stade épisaison; **G et H:** Dispositif sous serre à MycSa, Bordeaux.

## Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé

### 2.6. Evaluation de la maladie au champ

#### 2.6.1. Période d'incubation

La période d'incubation est mesurée pour l'ensemble des génotypes étudiés au cours des deux essais et correspond à la période séparant l'inoculation artificielle à l'apparition d'un épillet fusarié dans la parcelle.

#### 2.6.2. Echelle et méthodes de notation de la maladie

Les notations des symptômes sont faites 21, 26 et 31 jours après l'inoculation. L'unité d'observation était composée de 25 épis choisis au hasard dans chaque microparcelle. Sur ces épis, le nombre total d'épillets par épi et le nombre d'épillets fusariés sont comptés. La proportion d'épillets présentant des symptômes est appréciée selon une échelle logarithmique de notations décrite par Michel (2001) avec quelques modifications, allant de 0 (pas de symptômes) à 9 (épi complètement mort, dessèchement généralisé) (Tab. 9).

**Tableau 9:** Echelle d'évaluation utilisée pour l'estimation de la sévérité de l'infection par *Fusarium* sur épi (Michel, 2001, modifiée)

Note	Part de l'épi infectée (%)	Description des symptômes (échaudage des épillets)
0	0	Pas de symptômes (épis sain)
1	0<---≤2,5	Traces de symptômes, un épillet sur 10 épis montre des symptômes
2	2,5<---≤10	Début d'infection avec certitude
3	10<---≤25	Moins d'un quart des épillets d'un épi sont infectés
4	25<---<50	Infection de moins de la moitié des épillets d'un épi sont infectés
5	50	La moitié des épillets d'un épi sont infectés
6	50<---<75	Plus de la moitié et moins de trois quarts des épillets d'un épi sont infectés
7	75≤---<90	Plus de trois quarts des épillets d'un épi sont infectés
8	90≤---<100	10 % des épillets d'un épi ne sont pas infectés
9	100	Tous les épillets d'un épi sont morts

#### 2.6.3. Calcul de l'AUDPC

Afin d'expliquer au mieux la variation du paramètre étudié, le calcul de l'AUDPC « aire sous la courbe de progression de la maladie » décrite par Shaner et Finney (1977) a été calculée sur le nombre d'épillets fusariés et les notes (0 à 9) pour l'ensemble des dates de notation.

Elle correspond à l'aire sous la courbe de progression de la maladie, calculée à partir de la première date de notation en cumulant la surface des différents trapèzes délimités par

## Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé

l'axe des abscisses (axe du temps), délimitée par la courbe et les droites parallèles à l'axe des ordonnées passant par les différentes dates de notation.

L'AUDPC standardisée est calculée selon la formule suivante:

$$AUDPC\ standardisée = \sum_i^n \left[ \left( \frac{x_i + x_{i-1}}{2} \right) (t_i - t_{i-1}) \right]$$

Où: **n**: nombre total d'observations; **x<sub>i</sub>**: nombre d'épillets fusariés dans 25 épis à chaque observation; (**t<sub>i</sub> - t<sub>i-1</sub>**): temps séparant deux observations consécutives.

### 2.6.4. Evaluation du PMG à la récolte

Afin d'évaluer l'impact de la maladie sur le rendement, les 25 épis ont été battus à l'aide d'une batteuse avec une ventilation faible, le PMG a été mesuré.

### 2.7. Analyse statistique des résultats

Pour l'analyse de la variance, l'analyse statistique des résultats au champ est réalisée à l'aide du logiciel statgraphics version 15.1.0. Ensuite une comparaison multiple des moyennes a été effectuée en utilisant le test de la ppds (plus petite différence significative) pour déterminer les groupes homogènes au seuil de signification de 5 %. Des coefficients de variation résiduels ont été calculés. La formule de calcul est la suivante:

$$CV_{résiduel} = \frac{\text{Ecart type résiduel}}{\text{Moyenne}} * 100$$

Lorsque les caractères étudiés présentent une différence significative au niveau des génotypes, l'héritabilité au sens large a été seulement calculée dans le cas des essais conduits en bloc aléatoire complet. La formule de calcul de l'héritabilité au sens large ( $H_F^2$ ) est la suivante:

$$H_F^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \frac{\sigma_e}{b}}$$

$H_F^2$  = Héritabilité au sens large (moyennes génotypiques)

$\sigma_g^2$  = Variance génétique

$\sigma_e^2$  = Variance résiduelle

**b** = Nombre de blocs

### 2.8. RESULTATS

Le comportement de quelques variétés parentales et de lignées nouvellement sélectionnées à l'égard de la fusariose de l'épi est évalué dans les conditions de plein champ, et cela durant les deux campagnes agricoles 2013/2014 et 2014/2015, qui étaient très favorables au développement de la maladie.

#### 2.8.1. Manifestation de la maladie

La fusariose de l'épi de blé a été observée dans les deux stations expérimentales (ENSA et Bejaia). Dans ces deux stations, les parcelles inoculées ont montré les symptômes de la maladie, dont les attaques des épis de blé par cette maladie se traduisent le plus souvent par l'échaudage de certains groupes d'épillets, d'une partie ou de la totalité de l'épi. Les symptômes se manifestent par la présence d'un ou de plusieurs épillets décolorés sur les épis verts (Fig. 9). Les grains mûrs récoltés étaient échaudés, légers, blancs crayeux ou parfois roses (on parle alors de grains momifiés ou endommagés, grains fusariés) (Fig. 9).



**Figure 9:** Symptômes caractéristiques de la fusariose de l'épi chez le blé dur (**photos personnelles**)

**a, b et c:** Epi fusariés, la teinte orangée dénote la présence du champignon pathogène

**d:** Champ de blé dur presque complètement fusarié; **e:** Grains fusariés

### 2.8.2. Evaluation du comportement des génotypes selon la période d'incubation

#### 2.8.2.1. Résultats de la première année (2013/2014)

Au niveau des deux essais, l'inoculation artificielle réalisée par les dix isolats de *Fusarium* sur les deux lignées issues des croisements des variétés parentales, a présenté des symptômes variant du blanchiment partiel au blanchiment total des épillets, perdant ainsi leur chlorophylle et prenant la couleur de la paille mûr.

En examinant les deux essais séparément (essai avec les cinq isolats de *F. culmorum* (essai 1) et essai avec les cinq autres isolats de *Fusarium* (essai 2)), l'analyse de la variance a révélé pour chaque essai une différence significative entre les isolats, ce qui montre clairement une différence d'agressivité entre les isolats. De plus, l'analyse de la variance pour chaque essai a révélé aussi une différence significative entre lignées; l'interaction (lignées\*isolats) présente par contre un effet non significatif (Fig. 10).

L'analyse pour le caractère période d'incubation montre que, quelque soit le traitement utilisé, la lignée G<sub>4</sub> exprime des symptômes plus tôt que la lignée G<sub>1</sub>, soit environ 14 jours après la contamination dans l'essai 1 et 21 jours dans l'essai 2. En revanche, la lignée G<sub>1</sub> a exprimé un temps d'incubation un peu long par rapport à la lignée G<sub>4</sub>, soit environ 16 et 24 jours respectivement. Ce comportement indique que ces deux lignées sont très proches en termes d'apparition des premiers symptômes présentant ainsi des temps d'incubation plus long et donc elles sont intéressantes du point de vue résistance à l'apparition des premiers symptômes.

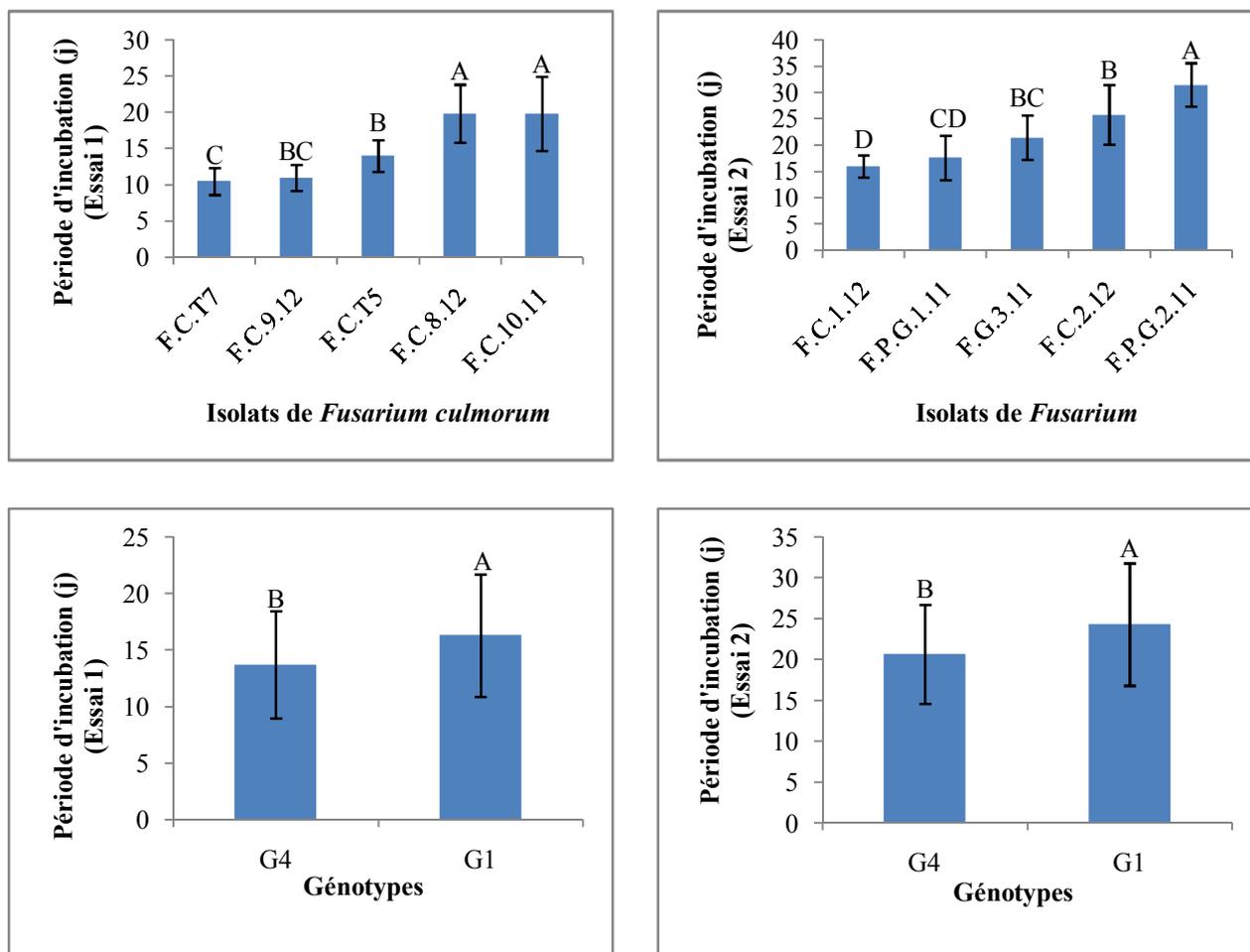


Figure 10: Temps d'incubation des deux lignées (en jours) nécessaire à l'apparition des premiers symptômes sur les épis

## 2.8.2.2. Résultats de la deuxième année (2014/2015)

### 2.8.2.2.1. Analyse statistique individuelle des essais

Les résultats obtenus montrent que l'apparition des premiers symptômes sur épis estimée par le temps d'incubation varie selon l'interaction génotype/isolats (Fig. 11). En examinant les quatre essais séparément, l'analyse de la variance a révélé pour chaque essai que la lignée G<sub>1</sub> présente une différence statistiquement significative avec les deux variétés G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub>. En particulier, dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12, les résultats d'analyse statistique montrent que cette lignée G<sub>1</sub> présente une différence significative avec tous les autres génotypes. Les coefficients de variation résiduels sont de 20,46 %; 28,75 %; 24,32 % et 11,80 % respectivement dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub>, dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>, dans l'essai avec l'isolat F.C.10.11 et dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12. De plus,

## **Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé**

l'héritabilité au sens large est de 79 % dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub> et 81 % dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12 (Annexe 4).

L'analyse pour le caractère période d'incubation montre donc que la lignée G<sub>1</sub> exprime des symptômes plus tard que le reste des génotypes, soit une moyenne d'environ 12 jours dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub>, 23 jours dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>, 22 jours dans l'essai avec l'isolat F.C.10.11 et 14 jours dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12 après contamination. Ce comportement indique que cette lignée est extrêmement résistante aux premières infections et donc très intéressante. En revanche, les deux variétés G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> ont exprimé un temps d'incubation plus court, soit seulement une moyenne de 6 et 8 jours respectivement après inoculation dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub> ; 12 jours dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>; 12 et jours respectivement dans l'essai avec l'isolat F.C.10.11 et enfin 10 jours dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12. Ces deux variétés sont donc peu intéressantes du point de vue résistance à l'apparition des premiers symptômes. Pour les génotypes G<sub>4</sub> et G<sub>10</sub>, leur temps d'incubation est situé entre celui de la lignée résistante G<sub>1</sub> et celui des deux autres génotypes sensibles (G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub>). Dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub>, le temps d'incubation est de l'ordre de 12 jours après contamination pour G<sub>1</sub> et G<sub>4</sub>. Par contre, ils ont enregistré un temps d'incubation de 15 jours ; 13 et 17 jours ; 11 jours après contamination respectivement dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>, F.C.10.11 et F.C.1.12. Ces deux génotypes se montrent donc assez résistants aux premières attaques du champignon.

### **2.8.2.2.2. Analyse statistique globale pour l'ensemble des essais**

L'analyse de la variance pour l'ensemble des quatre essais a révélé une différence significative entre génotypes et traitements (isolats); par contre l'interaction (génotypes \* traitements) ne présente aucun effet significatif (Fig. 11). Le coefficient de variation résiduel est de l'ordre de 24,21 %, alors que l'héritabilité au sens large est de 76 % (Annexe 4).

En effet, les deux variétés G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> ont exprimé des symptômes plutôt que le reste des génotypes, soit environ 10 jours et 11 jours respectivement après la contamination (Fig. 11). La lignée G<sub>1</sub> les exprime plus tard, soit après 18 jours. Cependant, les génotypes G<sub>4</sub> et G<sub>10</sub> ont eu des incubations légèrement supérieures à ceux de G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub>, soit en moyenne 13 jours après la contamination. Il est à noter donc que la lignée G<sub>1</sub> est vraiment intéressante du point de vue résistance à l'apparition des premiers symptômes, car elle a présenté un temps d'incubation très grand par rapport à d'autres génotypes. Par contre, les deux variétés G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> sont des génotypes peu intéressants car leur période d'incubation est trop faible. Les

## Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé

génotypes G<sub>4</sub> et G<sub>10</sub> ont eu des temps d'incubations intermédiaires pouvant probablement constituer une source de résistance aux premières attaques du champignon.

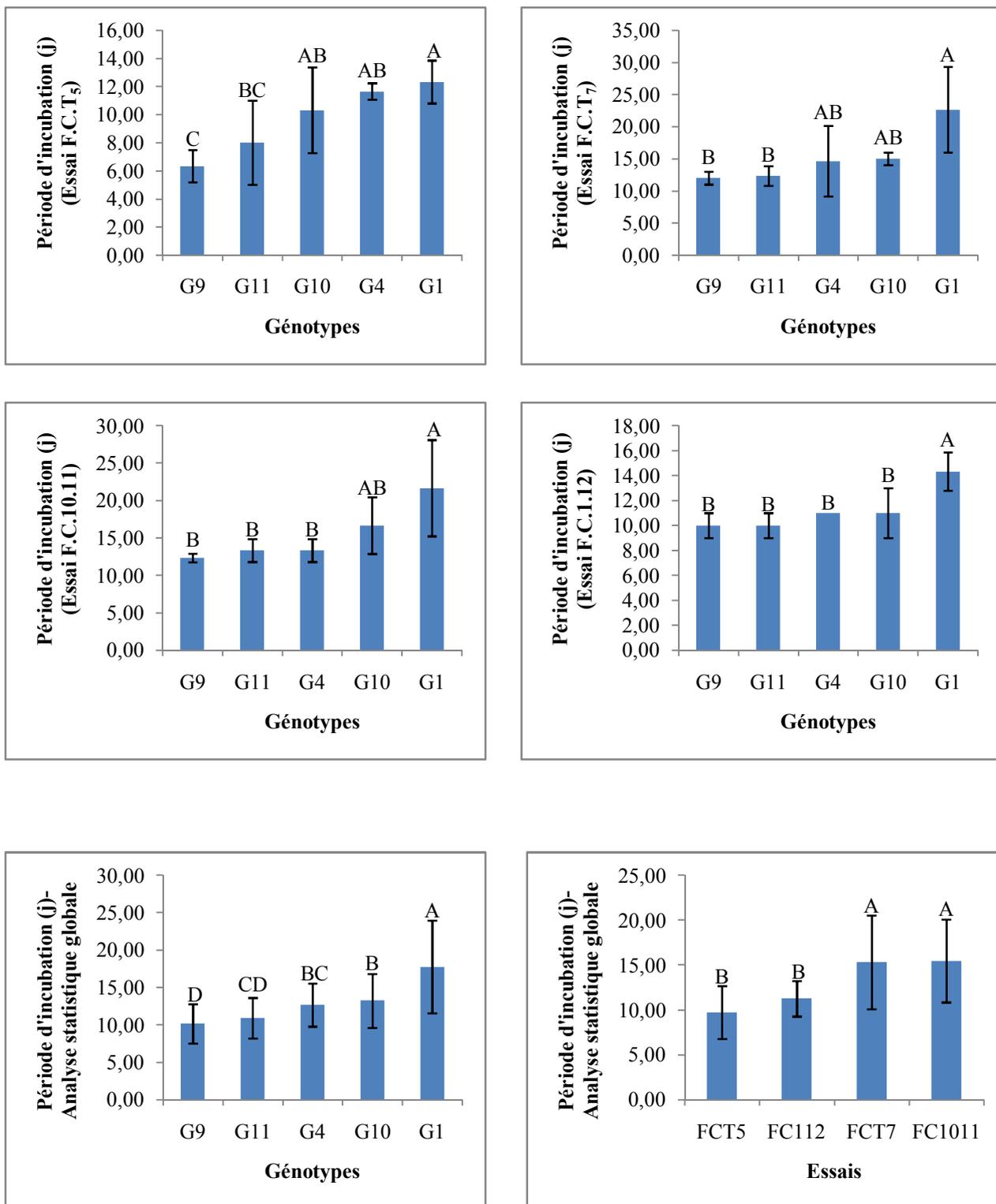


Figure 11: Comportement des génotypes à l'égard des isolats (temps d'incubation en jours)

### 2.8.3. Evaluation du comportement des génotypes selon la valeur des AUDPC (AUDPC du NEM)

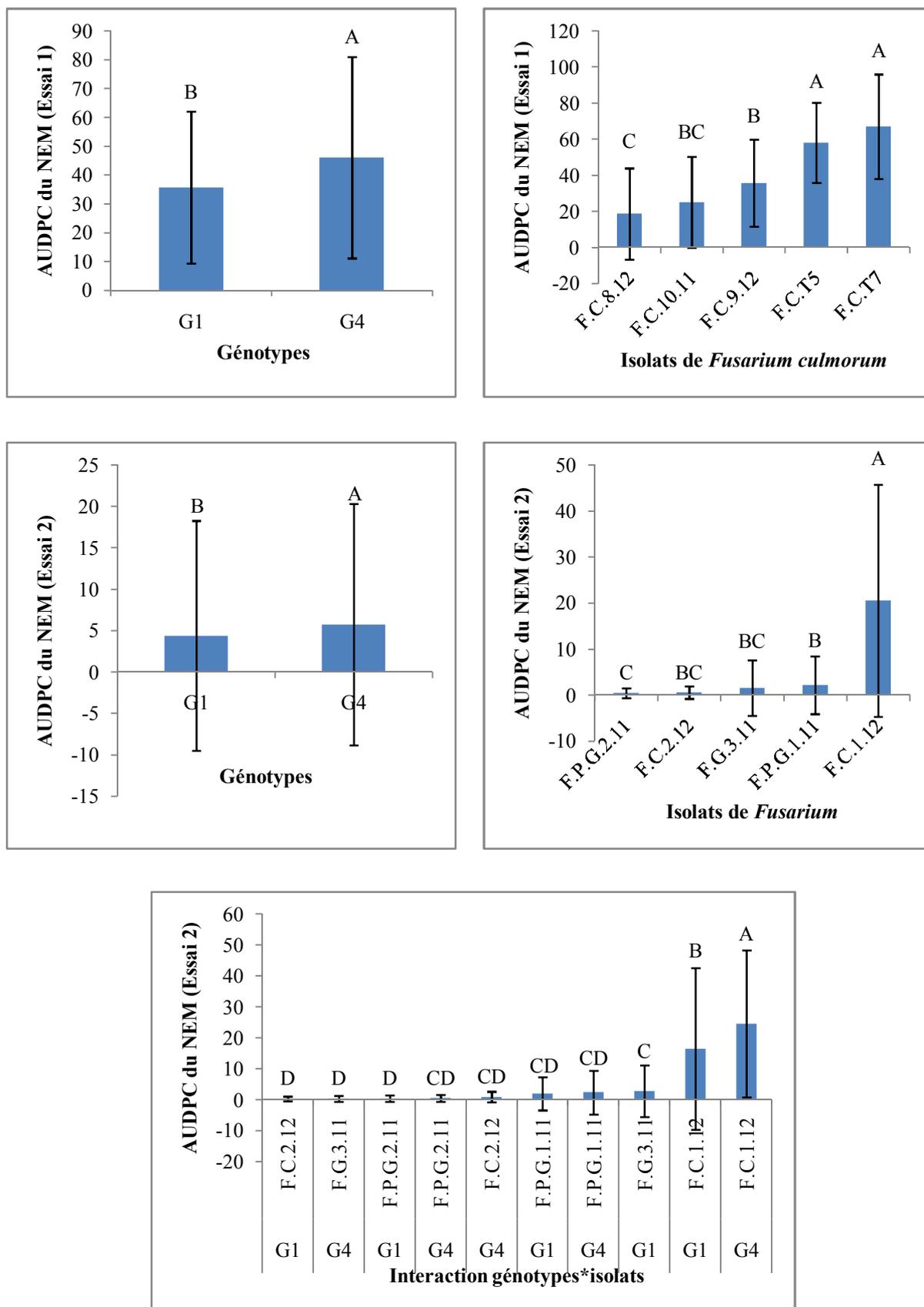
#### 2.8.3.1. Résultats de la première année (2013/2014)

L'analyse de variance des valeurs de l'AUDPC obtenues pour le nombre d'épillets fusariés dans chacun des deux essais, a révélé une différence significative entre les deux lignées étudiées et entre les isolats de *Fusarium* (Fig. 12). En effet, considérant les résultats des deux essais séparément, l'analyse de variance du nombre d'épillets fusariés, exprimée par l'AUDPC, a montré que l'interaction lignées\*isolats est significative au niveau de l'essai 2 (essai avec les cinq isolats de *Fusarium* spp.) et non significative au niveau de l'essai 1 (essai avec les cinq isolats de *F. culmorum*: F.C.8.12, F.C.10.11, F.C.9.12, F.C.T<sub>5</sub> et F.C.T<sub>7</sub>).

Ainsi le classement des moyennes des deux lignées par le test de la ppds de l'AUDPC concernant le nombre d'épillets fusariés, permet de distinguer 2 groupes homogènes pour chacun des deux essais (Fig. 12). La lignée qui a présenté le nombre d'épillets fusariés le plus important dans les deux essais est G<sub>4</sub>, avec une valeur moyenne de l'AUDPC des épillets fusariés par 25 épis de 46,05 dans l'essai 1 et de 5,73 dans l'essai 2. Par contre, le nombre d'épillets fusariés le plus faible a été enregistré par la lignée G<sub>1</sub> avec une moyenne d'AUDPC de 35,72 (essai 1) et de 4,38 (essai 2) (Fig. 12).

Les histogrammes de la Figure 12 représentant les symptômes observés et notés par la valeur de l'AUDPC pour le nombre d'épillets fusariés dans 25 épis, montrent que les deux lignées ont un comportement comparable à l'égard des isolats de *Fusarium* spp. inoculés au niveau des deux essais. Les cinq isolats de *F. culmorum* (essai 1) présentent des valeurs d'AUDPC élevées, ce qui veut dire qu'ils sont plus agressifs que les autres isolats de *Fusarium* (essai 2) avec des valeurs d'AUDPC très faibles.

## Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé



**Figure 12:** Evaluation du comportement des deux lignées en fonction des isolats utilisés, et estimée par la valeur des AUDPC pour le nombre d'épillet fusariés dans 25 épis

### **2.8.3.2. Résultats de la deuxième année (2014/2015)**

#### **2.8.3.2.1. Analyse statistique individuelle des essais**

L'inoculation par pulvérisation au champ et les notations obtenues ont permis de calculer des AUDPC moyennes qui montrent que plus l'AUDPC a une valeur importante, plus la sévérité de la maladie est grande (Fig. 13).

L'analyse de variance des valeurs d'AUDPC pour le nombre d'épillets fusariés obtenus dans chacun des quatre essais inoculés, a révélé une différence significative pour les différents génotypes étudiés, sauf chez l'essai avec l'isolat F.C.1.12 dont la différence génotypique n'est pas significative (Fig. 13). Les coefficients de variation résiduels sont de 26,87 %; 68,31 %; 60,85 % et 25,32 % respectivement dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub>, dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>, dans l'essai avec l'isolat F.C.10.11 et dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12. L'héritabilité au sens large est de 94 %; 81 % et 88 % respectivement dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub>, dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub> et dans l'essai avec l'isolat F.C.10.11 (Annexe 4).

Ainsi le classement des moyennes pour chaque essai montre que la lignée G<sub>1</sub> a une AUDPC très faible et inférieure à celle des autres génotypes. Aussi, cette lignée a présenté des quantités de symptômes moins importantes dans les quatre essais, soit une moyenne d'AUDPC d'épillets de 19,23; 1,67; 0,4 et 17,7 avec respectivement l'isolat F.C.T<sub>5</sub>, l'isolat F.C.T<sub>7</sub>, l'isolat F.C.10.11 et l'isolat F.C.1.12. En revanche, les génotypes G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> ont présenté des valeurs d'AUDPC importantes, indiquant une attaque plus sévère du nombre d'épillets malades dans 25 épis avec respectivement une moyenne d'AUDPC de 97,03 et 113,23 avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub>; 34,87 et 23,10 avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>; 65,23 et 53,4 avec l'isolat F.C.10.11; 73,13 et 64,23 avec l'isolat F.C.1.12. La valeur d'AUDPC des génotypes G<sub>4</sub> et G<sub>10</sub> n'est pas assez importante; elle est située entre celle de la lignée G<sub>1</sub> et celle des deux autres variétés (G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub>). Ces deux derniers génotypes enregistrent respectivement une moyenne d'AUDPC de 30,23 ; 65,43 dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub>; de 11,07 et 4,83 dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>, de 20,5 et 4,8 dans l'essai avec l'isolat F.C.10.11 et de 51,13 et 38,77 dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12.

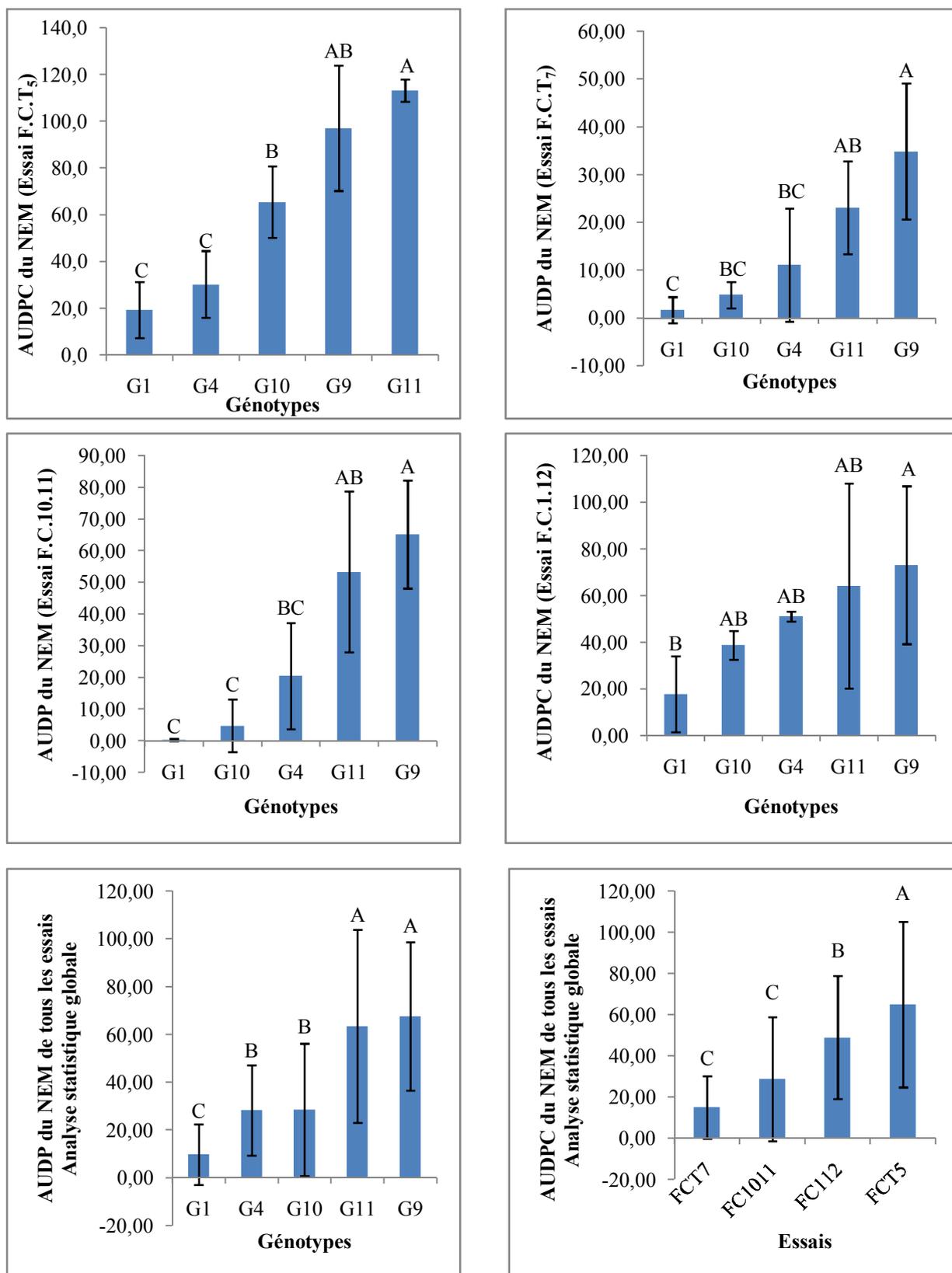
### **2.8.3.2.2. Analyse statistique globale pour l'ensemble des essais**

L'analyse de la variance de l'AUDCP pour le nombre d'épillets fusariés dans les deux essais a montré une différence significative entre les géotypes et les essais. Par contre, l'interaction géotypes\*essais est non significative (Fig. 13). Le coefficient de variation résiduel et l'héritabilité au sens large sont 65,91 % et 71 % respectivement (Annexe 4).

En considérant les quatre essais de la Figure 13, nous remarquons que c'est toujours la lignée G<sub>1</sub> qui a la plus faible valeur d'AUDPC, soit une moyenne de 9,75. En revanche, les deux variétés G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> ont enregistré des AUDPC plus élevées, avec une moyenne de 67,57 et 63,49 respectivement. Quant aux géotypes G<sub>4</sub> et G<sub>10</sub>, leurs valeurs d'AUDPC sont intermédiaires, c'est-à-dire entre celles de la lignée G<sub>1</sub> et les deux variétés sensibles G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub>.

Par conséquent, la lignée G<sub>1</sub> se confirme comme résistante, les géotypes G<sub>4</sub> et G<sub>10</sub> comme moyennement résistants et les variétés G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> comme très sensibles à l'apparition des premiers symptômes.

## Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé



**Figure 13:** Valeur de l'AUDPC moyenne du nombre d'épillet fusariés dans 25 épis traduisant l'intensité de la maladie après inoculation au champ

### **2.8.4. Effet des différents isolats et espèces de *Fusarium* sur le PMG**

#### **2.8.4.1. Résultats de la première année (2013/2014)**

L'analyse de la variance individuelle des deux essais pour ce paramètre a montré une différence significative entre les deux lignées ( $G_1$  et  $G_4$ ) au niveau de l'essai 1 et non significative au niveau de l'essai 2) (Fig. 14); l'analyse de la variance pour chacun des deux essais, a révélé que les effets des traitements et de l'interaction lignées\*traitements sont significatifs (Fig. 14).

Le classement des génotypes pour chaque essai, en comparant leurs moyennes par le test de la ppds, a permis de distinguer un seul groupe homogène dans l'essai 1 et 2 groupes homogènes dans l'essai 2 (Fig. 14). Ainsi, le PMG le plus faible est obtenu avec la lignée  $G_4$ . Le maximum de pertes pour cette lignée est évalué à 52,67 g dans l'essai 2. En revanche, la plus faible valeur (perte de PMG) est obtenue par la lignée  $G_1$  avec une perte de 49,70 g dans l'essai 2 (Fig. 14). Ces résultats montrent qu'au niveau de chaque essai, qu'il y a eu une tendance à des pertes en poids de mille grains comparables pour chaque lignée, cela veut dire que quelque soit l'isolat les réactions des deux lignées à l'égard de chaque isolat est statistiquement identique comme le cas de l'essai 1.

## Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé

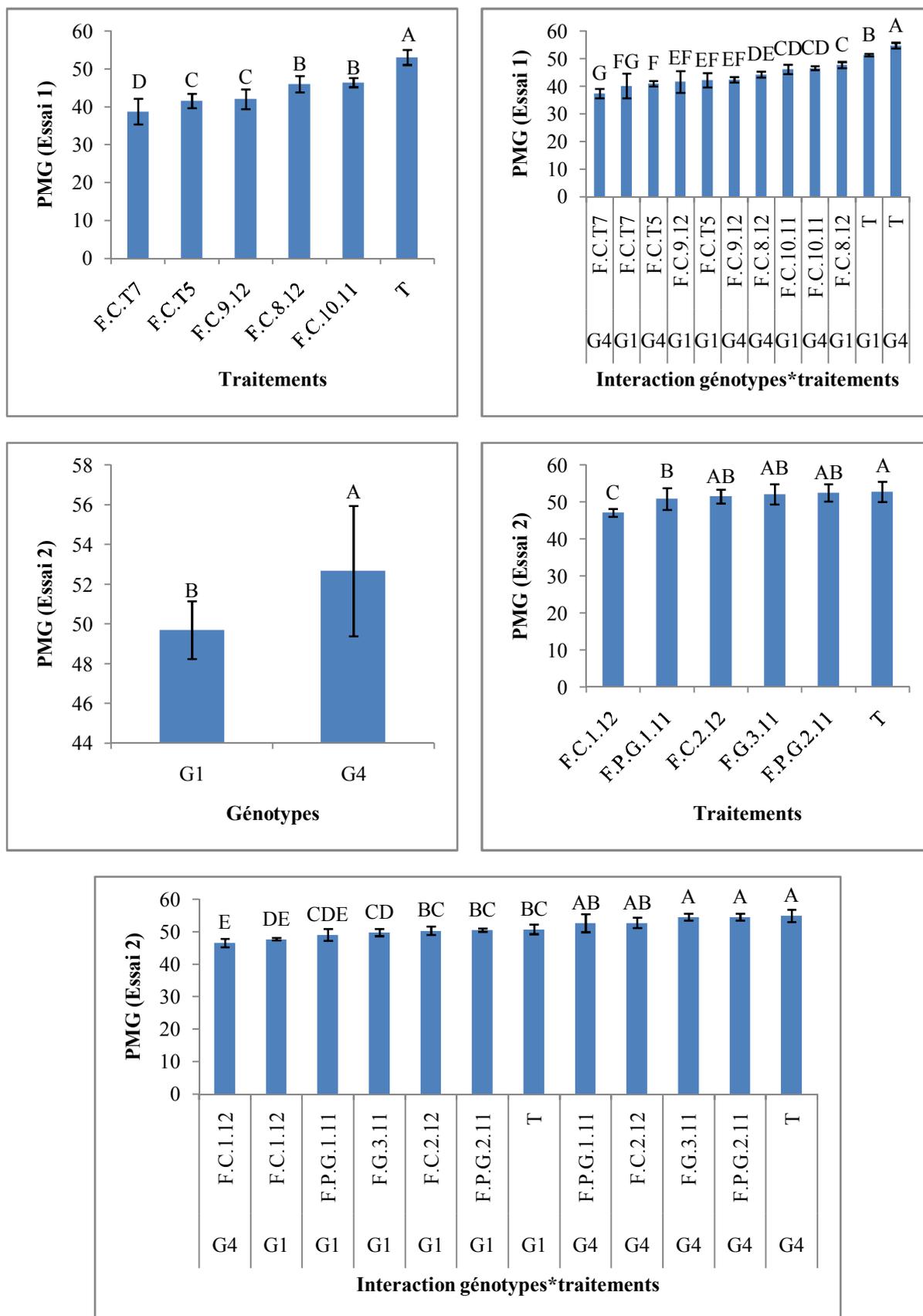


Figure 14: Effet des isolats sur la diminution du PMG des deux lignées

### **2.8.4.2. Résultats de la deuxième année (2014/2015)**

#### **2.8.4.2.1. Analyse statistique individuelle des essais**

Il est possible de prédire les pertes de rendements dues à la maladie par l'estimation des pertes enregistrées en PMG. Ainsi, la Figure 15 présente la moyenne des valeurs du PMG obtenues pour chaque génotype pour les différents traitements. En effet, l'analyse de la variance pour ce paramètre a révélé des différences variables entre les échantillons témoins sains et ceux infectés, dépendant du génotype et de l'isolat.

En considérant les quatre essais séparément, l'analyse de la variance pour ce caractère a révélé un effet génotypique non significatif dans l'essai témoin et l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub>, mais significatif dans les essais avec les isolats F.C.T<sub>7</sub>, F.C.10.11 et F.C.1.12 (Fig. 15). Les coefficients de variation résiduels sont de 9,84 %; 19,07 %; 6,49 %; 6,47 % et 10,73 respectivement dans l'essai témoin, dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub>, dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>, dans l'essai avec l'isolat F.C.10.11 et dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12. L'héritabilité au sens large est de 86 % dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub> et dans l'essai avec l'isolat F.C.10.11 et 78 % dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12 (Annexe 4).

L'examen de la Figure 15, montre qu'au niveau de chaque essai, la lignée G<sub>4</sub> présente un PMG plus élevé par rapport aux autres génotypes. En effet, cette lignée a enregistré un PMG de 59,11 g dans l'essai témoin et un PMG de 54,86 g; 51,60 g; 55,16 g; 53,39 g avec les isolats F.C.T<sub>5</sub>, F.C.T<sub>7</sub>, F.C.10.11 et F.C.1.12 respectivement. Ce PMG est de 51,29 g chez la variété G<sub>11</sub> dans l'essai témoin; dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12, il est de 38,44 g. Enfin, le PMG enregistré par la variété G<sub>9</sub> dans les essais avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub>, F.C.T<sub>7</sub> et F.C.10.11 est de 41,94 g; 39,66 g et 42,39 g respectivement. Par conséquent, l'effet de la maladie sur ce paramètre est bien marqué chez la variété G<sub>9</sub>, alors que les génotypes G<sub>1</sub> et G<sub>10</sub> ont enregistré des PMG intermédiaires.

#### **2.8.4.2.2. Analyse statistique globale pour l'ensemble des essais**

L'analyse de la variance intégrant les quatre essais a révélé une différence significative entre génotypes et essais, alors que l'effet de l'interaction génotypes\*essais est non significatif (Fig. 15). Le coefficient de variation résiduel et l'héritabilité au sens large sont de l'ordre de 11,37 % et 70 % respectivement (Annexe 4).

En considérant l'ensemble des essais, les pertes sont faibles chez les lignées G<sub>1</sub> et G<sub>4</sub>, avec un PMG de 48,68 g et 52,82 g respectivement. Par contre, les deux variétés G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> ont subi une baisse notable du PMG, soit 44,36 g et 45,3 g respectivement, alors que le

## Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé

PMG chez la variété  $G_{10}$  est moyen, soit de 47,40 g. A la lumière de ces résultats, il ressort que les lignées  $G_1$  et  $G_4$  se distinguent encore des trois autres génotypes pour leur résistance aux pertes du PMG. En revanche, la variété  $G_9$  est sensible car elle a subi une perte très nette. Ce paramètre peut être considéré comme un critère approprié pour mettre en valeur l'influence d'une résistance sur la perte de la qualité de la récolte.

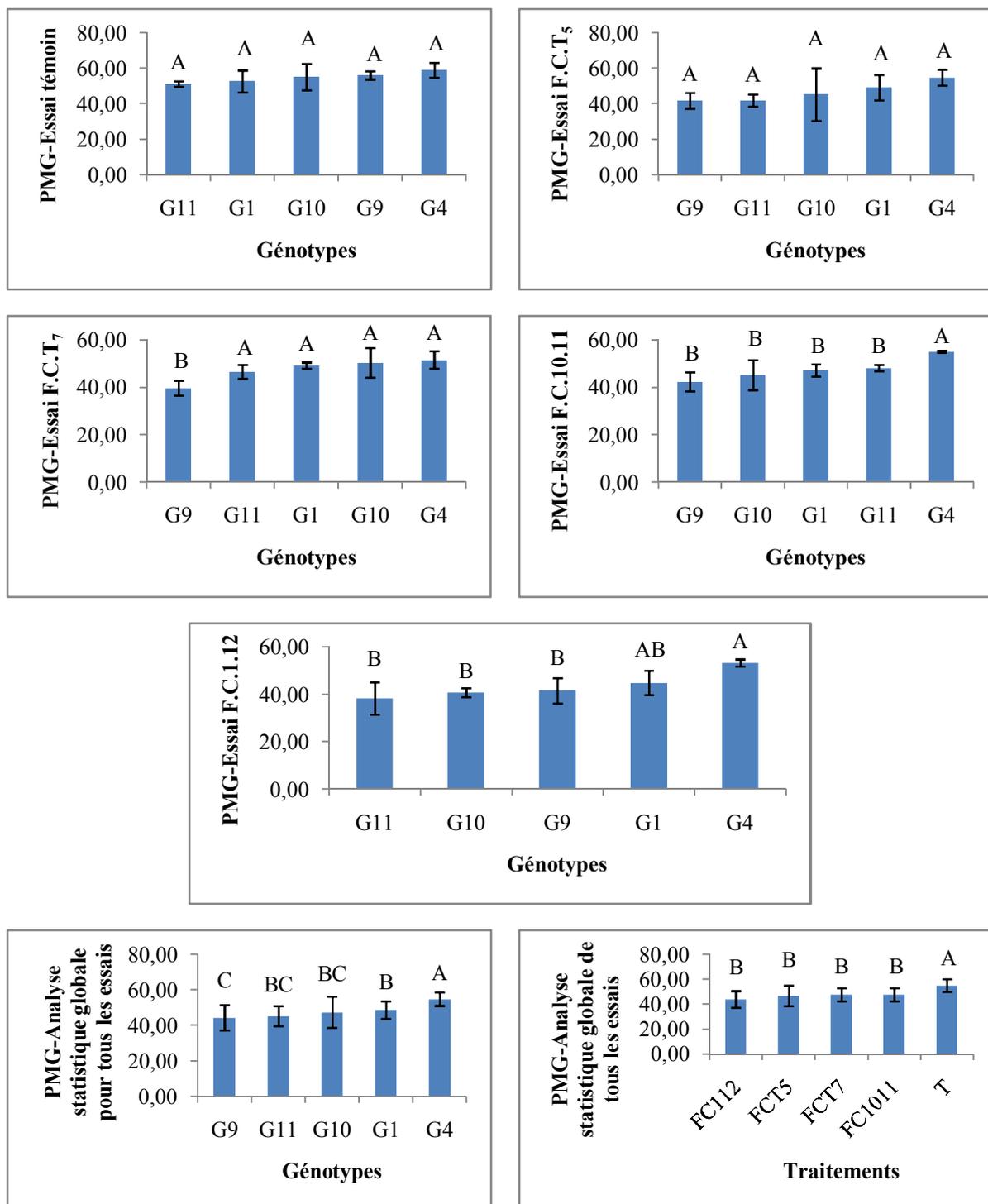


Figure 15: PMG pour chaque génotype selon des traitements

### 2.9. DISCUSSION

L'intérêt croissant de la filière céréalière pour la qualité sanitaire des grains et particulièrement pour la contamination par les mycotoxines, accroît fortement la demande de génotypes productifs et accumulant peu de mycotoxines dans leurs grains. En l'absence d'informations fiables sur l'aptitude des génotypes à limiter l'accumulation de ces molécules, l'attention se porte sur la recherche de variétés ayant un bon niveau de résistance à la fusariose de l'épi. En effet, l'utilisation de génotypes résistants liés à de bonnes pratiques agronomiques reste, la solution la plus satisfaisante pour les agriculteurs. De ce fait, notre étude entre dans le cadre globale de la lutte génétique contre la fusariose de l'épi et ceci par la sélection de génotypes résistants à la maladie.

L'inoculation artificielle au stade floraison des 5 génotypes de blé dur par les quatre isolats de *F. culmorum* nous a permis de reproduire les symptômes de la fusariose de l'épi. Pour les quatre isolats, les symptômes exprimés par des degrés plus élevés sur les génotypes sensibles (G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub>), plus faibles sur la lignée résistante G<sub>1</sub> et moyennement élevés sur les génotypes G<sub>4</sub> et G<sub>10</sub>. Etiologiquement, les symptômes commencent par un dessèchement précoce d'un épillet et se terminent par un dessèchement partiel puis total des épis, entraînant un fort échaudage des grains. Burrows *et al.* (2008) rapportent que l'infection initiale est caractérisée comme une lésion décolorée à la base de la glume et du rachis qui se propage ensuite dans les deux directions de l'épi chez l'orge. Saur et Trottet (1981) signalent que la quantité de symptômes dépend du stade de la plante au moment de la contamination; le pic de sensibilité correspond à la floraison des variétés. Selon Laraba *et al.* (2017) et Touati-Hattab *et al.* (2016), *F. culmorum* est le principal pathogène fongique associé à la fusariose de l'épi en Algérie. De plus, le *F. culmorum*, agent causal de diverses maladies de l'épi et du collet des céréales, est considéré comme un champignon chronique de préoccupation économique dans le monde entier, y compris les pays d'Afrique du Nord comme l'Algérie (Yekkour *et al.*, 2015). Les données antérieures ont été obtenues à l'aide d'une méthode d'inoculation par pulvérisation, fréquemment utilisée pour dépister la résistance à la fusariose de l'épi chez le blé (Prat *et al.*, 2014). D'après Miedaner *et al.* (2003), l'inoculation par pulvérisation, comparée à l'inoculation d'une seule fleur, est plus adéquate à reproduire les conditions naturelles d'infection. L'inoculation par pulvérisation telle qu'elle a été réalisée dans nos expériences présente un avantage supplémentaire par rapport à l'inoculation ponctuelle, puisqu'elle permet de considérer les deux premières composantes de la résistance contre la fusariose de l'épi, résistance de type I (résistance à

## **Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des géotypes à la fusariose de l'épi de blé**

---

l'infection initiale et / ou pénétration) et de type II (résistance à la propagation de la maladie dans l'épi) (Schroeder et Christensen, 1963), tandis que l'inoculation ponctuelle ne détecte que la résistance de type II. Selon les données relatives à la maladie que nous avons quantifiées, la lignée G1 semble présenter une résistance à la fusariose de l'épi de type I et II.

L'analyse des pertes de la principale composante du rendement a montré que les différents isolats affectent tous les géotypes par la diminution du PMG.

D'après nos résultats, c'est la variété sensible G<sub>9</sub> qui a enregistré les plus grandes pertes en PMG suivie juste après par la variété moyennement résistante G<sub>10</sub>. Les traitements ont affecté les lignées G<sub>1</sub> (résistante) et G<sub>4</sub> (moyennement résistante) par des pertes relativement très faibles, ceci reflète leur bon niveau de résistance, vraisemblablement celles du type II lié à la progression du pathogène dans l'épi. Il reste que, la variété G<sub>10</sub> a montré plus de pertes que les deux lignées, chose qui a été observée lors de travaux antérieurs (Hadjout, 2013).

Par ailleurs, les symptômes observés ont expliqué une partie des pertes en PMG, ceci est en accord avec les connaissances actuelles sur l'épidémiologie de la fusariose de l'épi. Le fait que le pathogène se développe après le stade floraison, à l'installation de la maladie, le nombre de grains par épi est déjà fixé, alors que le remplissage des grains ne fait que commencer. La maladie affecte donc ce paramètre et se traduit par une grande chute du PMG, notamment chez les variétés sensibles (G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub>).

Les travaux de Gate *et al.* (1991) ont montré qu'un PMG faible peut être le résultat de maladies de fin de cycle (fusariose), ou de pluies tardives associées à de fortes chaleurs, et à un degré moindre à la verse. La fusariose de l'épi réduit le rendement et la qualité du grain à la fin du cycle de croissance de la culture, au moment où les grains de blé non malades se développent normalement en grains charnus et sains (McMullen *et al.*, 2012). De plus, le PMG diminue considérablement sous l'effet des fortes températures et d'un déficit hydrique au moment du remplissage du grain (Gate *et al.*, 1992; Grignac, 1981). Selon Couvreur (1981), le PMG n'est pas indépendant du nombre de grains formés, et quelque soit le type de variété, plus les grains sont nombreux, plus ils sont petits.

Dans beaucoup de travaux, l'évaluation de la sévérité de la maladie au champ est basée essentiellement sur le calcul des valeurs de l'AUDPC (Hadjout, 2013, Hadjout *et al.*, 2017). Dans notre cas, les résultats montrent que l'AUDPC du nombre d'épillets fusariés

## **Chapitre 2: Phénotypage de la résistance des génotypes à la fusariose de l'épi de blé**

---

pour la lignée G<sub>1</sub> est très faible, alors que les deux variétés sensibles (G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub>) ont enregistré des valeurs d'AUDPC très élevées; les génotypes G<sub>4</sub> et G<sub>10</sub> ont marqué des AUDPC intermédiaires entre les résistants et les sensibles. Il est établi donc clairement que la lignée G<sub>1</sub> a un comportement résistant à la progression des symptômes après l'inoculation.

Cette variabilité du comportement des génotypes de blé dur est fort probablement le résultat de la présence ou de l'absence de gènes de résistance à ce pathogène, mais également à la présence ou à l'absence de gènes de virulence ou de non-virulence chez le pathogène. Du côté pathogène, les quatre isolats, présentent une agressivité différente indiquant qu'ils diffèrent par leur pouvoir pathogène. D'après Van Der Plank (1984), la variabilité pathologique serait le résultat de la présence de plusieurs gènes de virulence chez l'agent pathogène.

Lors de nos essais, nous avons pu caractériser le comportement des génotypes par rapport à la période d'incubation. Ce critère nous a permis de constater que la lignée G<sub>1</sub> s'est bien classée par rapport aux autres génotypes, de par la longue période d'incubation enregistrée. Ceci reflète un bon niveau de résistance de type I pour cette lignée, lié à un mécanisme cellulaire qui ralentit l'expression du premier symptôme et l'installation donc de la maladie. Par contre, les variétés G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> ont enregistré une période d'incubation plus courte. Elles sont considérées comme les témoins sensibles choisies lors de nos expérimentations, et les génotypes G<sub>4</sub> et G<sub>10</sub> ont eu une période d'incubation moyenne très comparable.

Il est à noter que le comportement résistant de la lignée G<sub>1</sub> exprimé par une plus longue période d'incubation est en accord avec les travaux de Trottet et Saur (1994) qui ont également utilisé ce paramètre.

D'après ces résultats, nous pouvons dire que la période de début d'apparition des symptômes est en relation directe avec le niveau de résistance des génotypes, mais également avec l'agressivité des isolats. Les mécanismes de résistance des plantes à la fusariose sont très complexes (Mesterhazy *et al.*, 1999); il est généralement admis que la résistance à la fusariose est contrôlée par un système polygénique. Dans ce contexte, plusieurs chercheurs ont rapporté que la période d'incubation du pathogène est fortement corrélée avec la résistance du type polygénique (quantitative), car cette dernière est connue pour ralentir le développement des infections individuelles, la dissémination de la maladie dans les champs et la vitesse de propagation du champignon dans les tissus adjacents du végétal, c'est-à-dire l'arrêt de l'épidémie (Agrios, 2005; Lindhout, 2002; Qi *et al.*, 1999).

### Chapitre 3: Identification moléculaire de quelques isolats de *Fusarium* et de leurs chémotypes

Dans cette étude, 10 isolats de *Fusarium* ont été utilisés (Tab. 7). L'identification moléculaire des 3 isolats (F.C.T<sub>5</sub>, F.C.T<sub>7</sub> et F.C.10.11) lors de travaux antérieurs (Touati-Hattab *et al.*, 2016) et les 7 autres isolats (F.C.8.12, F.C.9.12, F.G.1.11, F.G.2.11, F.G. 3.11, F.G.1.12 et F.G.2.12) été réalisée au cours de nos présents travaux au laboratoire de MycSA à l'INRA de Bordeaux, France. La caractérisation des 7 isolats a été initialement réalisée sur des critères morphologiques qui reste donc insuffisante. Donc, l'objectif de ce chapitre était de confirmer par des études moléculaires l'espèce de chaque isolat et leur chémotype (TCTB, 3-ADON, 15-ADON et NIV/FX).

#### 3.1. Identification des isolats de *Fusarium* spp. par amorces spécifiques

##### 3.1.1. Extraction de l'ADN

L'extraction d'ADN a été réalisée sur le mycélium de *Fusarium*. A cet effet, les isolats ont été cultivés sur un milieu (PDA) pendant 7 jours. L'ADN total a été extrait à partir de 100 mg de mycélium de chaque échantillon en utilisant le mini kit DNeasy Plante Mini Kit, version avril 2012, selon les instructions du fabricant (Qiagen, Courtaboeuf, France).

Le mycélium a été d'abord récupéré par grattage en surface puis lyophilisé pendant 48 h et broyé mécaniquement en une poudre fine avec un broyeur Tissue Lyser (Qiagen-Retsch), en utilisant une bille d'acier inoxydable dans un tube Eppendorf pendant 30 s à 30 Hz. Les composés cellulaires sont lysés (tampon AP1=tampon de lyse) après une incubation à 65 °C; les ARN sont éliminés par la RNase.

Après la lyse, les protéines et les polysaccharides sont précipités (tampon P3). Les débris cellulaires et précipités sont éliminés par centrifugation et filtration au travers de la colonne QIAshredder.

Le lysat est transféré dans un nouveau tube puis le tampon AW1 (tampon de liaison) est ajouté. Le tout est centrifugé au travers de la colonne DNeasy Spin. L'ADN se lie alors à la membrane de la colonne alors que les contaminants tels que les polysaccharides et les protéines sont éliminés lors des étapes de lavage (tampon AW2).

Enfin, l'ADN purifié est élué dans un tampon TE (tampon AE) et quantifié ensuite par spectrométrie UV (Nano Drop technologies, Cambridge, Royaume-Uni).

**3.1.2. Amorces spécifiques d'espèces de *Fusarium***

Les échantillons d'ADN ont été amplifiés par PCR en utilisant les amorces spécifiques aux espèces suivantes: *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. pseudograminearum* et *F. cerealis*. Il est à signaler que l'amorce utilisée pour l'identification de cette dernière espèce n'est pas encore publiée, elle a été désignée à partir d'un fragment séquencé, qui a été obtenu par PCR sur un *F. cerealis* avec les amorces CROAF/CROAR et qui engendre un fragment de 207 pb. Les différents couples d'amorces utilisés pour les réactions PCR sont présentés dans le tableau 10.

**3.1.3. Conditions d'amplification**

Les réactions PCR sont réalisées dans un volume final de 25 µL. L'amplification est réalisée avec la Taq polymérase GoTaq® Flexi DNA Polymerase (Promega), et chaque tube de PCR contient un mélange de 24 µl de mix et 1 µl d'ADN à tester (Tab. 11).

Les conditions d'amplification étaient comme suit: 20 ng de l'ADN fongique, 0,4 mM de chaque dNTP, 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,02 unité/µL d'ADN polymérase Go Taq®(Promega, USA), 1 X tampon de réaction PCR de la polymérase, et 1 µM de chaque amorce (sens et antisens). L'amplification d'ADN a été réalisée dans un Thermocycleur T100™ (Bio-Rad) pour subir les étapes de dénaturation, hybridation et élongation. Le programme de PCR consistait en une dénaturation initiale à 98 °C pendant 5 minutes, suivie de 40 cycles de dénaturation à 98 °C pendant 5 secondes, d'un recuit à 62 °C pendant 5 secondes et d'une extension à 72 °C pendant 20 secondes, puis d'une étape d'extension finale à 72 °C pendant 1 minute.

**Tableau 10:** Amorces utilisées pour les réactions de PCR

Amorces	Espèce spécifique	Séquence (5' vers 3')	Tm (°C)	Taille de l'amplicon	Références bibliographiques
Fg 16 NF	<i>F. graminearum</i>	ACAGATGACAAGATTCAGGCACA	60 °C	280	Nicholson <i>et al.</i> , 1998
Fg 16 NR		TTCTTTGACATCTGTTCAACCCA			
Fcu-F	<i>F. culmorum</i>	GACTATCATTATGCTTGCGAGAG	60 °C	200	Jurado <i>et al.</i> , 2005
Fgc-R		CTCTCATATACCCTCCG			
Fp 1-1	<i>F. pseudograminearum</i>	CGGGGTAGTTTCACATTT(C/T)G	55 °C	523	Aoki et O'Donnell, 1999
Fp 1-2		GAGAATGTGATGA(C/G)GACAATA			

Amorce F : "forward" (5'->3'), amorce R : "Reverse" (3'->5') ; Tm : température d'hybridation de l'amorce

**Tableau 11: Mix PCR pour un échantillon**

	Ci	Vi (µL)	Cf
H <sub>2</sub> O		15,5	
Buffer Go Taq	5 X	5	1 X
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	2,5	2,5 mM
dNTPs	25 mM	0,4	0,4 mM
Amorce F	100 µM	0,25	1 µM
Amorce R	100 µM	0,25	1 µM
Go Taq	5 U/µL	0,1	0,02 U/µL
V <sub>mix</sub>		24	
V <sub>ADN</sub>		1	
V <sub>final</sub>		25	

### 3.1.4. Détection des fragments amplifiés (électrophorèse sur gel d'agarose)

Les produits de PCR amplifiés sont analysés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5 % contenant 4 µL de clear sight dna stain. Le tampon utilisé est du TAE 1 X (Tris Acetate EDTA), auquel sont ajoutés 8 µL de produit PCR puis sont déposés dans les puits et la migration s'effectue à 80 V pendant environ 40 min dans la cuve d'électrophorèse. Un marqueur de taille (Bench Top 100 pb DNA Ladder, Promega) est déposé en regard des échantillons et permet d'estimer la taille des fragments d'ADN. Enfin, le gel est visualisé sous lumière UV et une photographie est réalisée.

## 3.2. Identification des chémotypes des isolats de *Fusarium* spp. par PCR quantitative en temps réel

### 3.2.1. Amorces et sondes utilisées

Des réactions PCR avec les amorces Tri5-TCTB (R et F) développées pour le gène Tri5 ont été utilisées pour confirmer la capacité potentielle des différents isolats à produire des trichothécènes de type B. Les amorces spécifiques de la séquence du gène Tri12 ont été utilisées pour caractériser les chémotypes : DON/15-ADON, DON/3-ADON et NIV/FX. Ces chémotypes ont été alignées à l'aide du logiciel Clustalw. Des amorces et des sondes TaqMan ont été dessinées en utilisant le logiciel AlleleID® 7 (PREMIER Biosoft International).

Les sondes TaqMan ont été marquées à l'extrémité 5' avec le colorant fluorescent reporter 6 carboxyl fluoresceine (FAM) et à l'extrémité 3' par BlackBerry® Quenchers (BBQ). Toutes les amorces et sondes ont été synthétisées par TIB MOLBIOL GmbH (Berlin, Allemagne).

#### 3.2.2. Conditions d'amplification

Les réactions PCR en temps réel ont été réalisées à l'aide du système Light Cycler® 2.0 et du logiciel Light Cycler 4.05. L'amplification du fragment du gène Tri12 a été évaluée dans 1 µL de chaque échantillon d'ADN (20 µg/µl) dans un volume réactionnel final de 10 µL en utilisant le kit Light Cycler® Taq Man® Master (Roche Applied Science, France) (Tab. 12). Du MgCl<sub>2</sub> a été supplémenté au mélange réactionnel PCR à une concentration finale de 5 mM. Les amorces ont été utilisées à une concentration finale de 0,5 µM et la sonde à une concentration de 0,1 µM. Il est à noter que les amorces de chémotypage, elles ont été définies et mises au point dans le cadre d'un projet ANR piloté par MycSA, et pour l'instant ne sont pas publiées.

Les analyses pour identifier le chémotype NIV/FX, ont été réalisées dans les conditions suivantes: amorce Tri12-NivFx F et R (20 µM) avec pré-incubation (1 cycle de 10 min à 95 °C) suivie d'une amplification (45 cycles de 10 s à 95 °C, 40 s à 58 °C et 30s à 72 °C) suivie d'une phase d'extension finale de 5 mn à 72 °C. Pour l'identification des chémotypes 3-ADON et 15 ADON, les amorces :Tri12-3-ADON-R/F et Tri12-15-ADON-R et F ont été utilisées à 20 µM avec 1 cycle à 94 °C pendant 10 min, puis 45 cycles à 95 °C pendant 10 s, 65 °C pendant 40 s et 72 °C pendant 30 s, suivie d'une étape d'extension finale de 72 °C pendant 5 min.

**Tableau 12:** Mix PCRq standard utilisé avec le kit TaqMan

Light Cycler® Taq Man		
Amorces X 20 µM	F	0,25 µL
	R	0,25 µL
Sonde Tri 12 - X		0,5 µL
Master Mix 5x		2 µL
H <sub>2</sub> O		4,5 µL
ADN		2,5 µL

X = spécificité de la sonde et des amorces en fonction du chémotype que l'on veut identifier: 3 ADON, 15 ADON ou NIV.

### 3.3. RESULTATS

#### 3.3.1. Identification moléculaire des différentes espèces de *Fusarium*

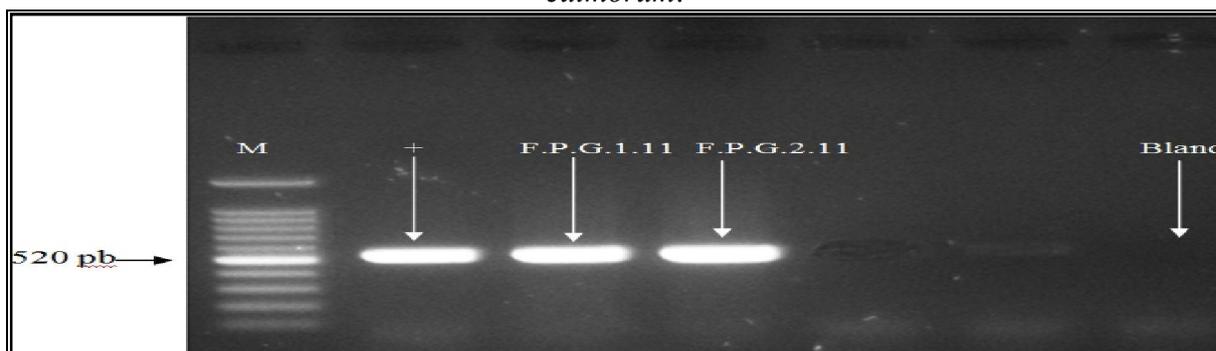
Les isolats sélectionnés ont été soumis à une PCR spécifique en utilisant des amorces spécifiques pour *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. pseudograminearum*, et *F. crookwellense* (*F. cerealis*) (Tab. 10). Les couples d'amorces regroupées pour *F. culmorum* (Fcu-F/Fgc-R), *F. pseudograminearum* (Fp1-1/Fp1-2), *F. graminearum* (Fg 16 NF/Fg 16 NR) et *F. crookwellense* (*F. cerealis*) (Cereal/F/Cereal/R) ont respectivement donné des fragments spécifiques de 200 pb (Fig. 16), 523 pb (Fig. 17), 280 pb (Fig. 18) et 207 pb (Fig. 19).

Parmi les isolats sélectionnés de la mycothèque de l'ENSA, certains ont été identifiés initialement sur des critères morphologiques (culturels et microscopiques). Il a donc fallu confirmer l'appartenance de ces isolats à leur espèce. L'utilisation d'outils moléculaires par PCR classique a été appliquée pour les isolats des espèces de *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. pseudograminearum* et *F. crookwellense* (*F. cerealis*). Une PCR classique en utilisant les amorces spécifiques des *F. culmorum* a permis de montrer que les isolats *F. culmorum* (F.C.8.12 et F.C.9.12) étaient bien des *F. culmorum* (Fig. 16). A partir de ces résultats, les analyses par PCR quantitative nous ont permis de voir que ces mêmes isolats réagissaient comme une 3-ADON. La conclusion est donc que les isolats (F.C.8.12 et F.C.9.12) sont du *F. culmorum* de chémotype 3-ADON.

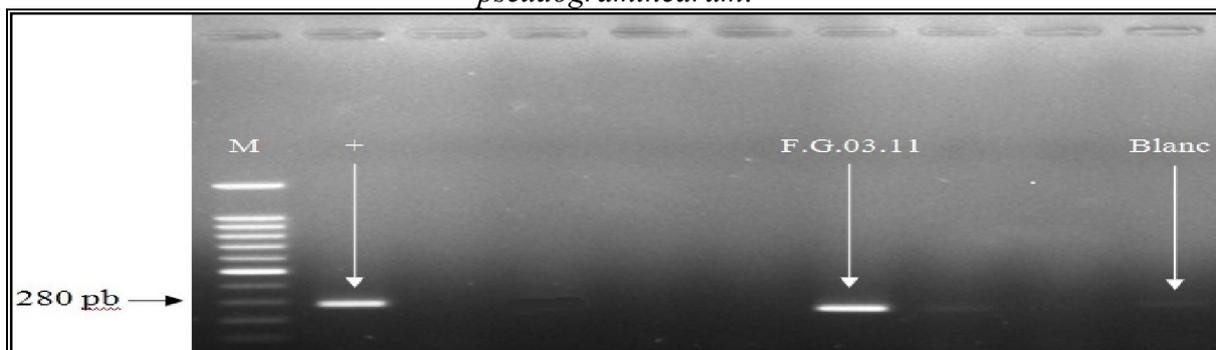
La même méthode a été appliquée à d'autres isolats: l'isolat F.G.3.11 était marqué comme une *F. graminearum* et cette identité a été vérifiée. Une PCR classique en utilisant les amorces spécifiques de *F. graminearum* a permis de montrer que l'isolat *F. graminearum* (F.G.3.11) était bien du *F. graminearum* (Fig. 18). Les réactions de PCR en temps réel nous ont permis de vérifier que ce même isolat réagissait comme un 3-ADON. Donc l'isolat (F.G.3.11) est un *F. graminearum* de chémotype 3-ADON. A l'inverse, les isolats (F.G.1.11, F.G.2.11, F.G.1.12 et F.G.2.12) étaient initialement identifiés par les caractères morphologiques comme des *F. graminearum*, mais l'analyse moléculaire a permis de corriger cette identité en *F. pseudograminearum* pour les isolats (F.G.1.11 et F.G.2.11) (Fig. 17), en *F. culmorum* pour l'isolat (F.G.1.12) (Fig. 16) et enfin en *F. cerealis* pour l'isolat (F.G.02.12) (Fig. 19). Les réactions de PCR en temps réel, nous ont permis de constater que tous ces isolats réagissaient comme des 3-ADON.



**Figure 16:** Produits d'amplification spécifique de *F. culmorum*. M: marqueur de poids moléculaire 200 pb; +: témoin positif sans ADN; F.C.8.12, F.C.9.12 et F.C.1.12: Isolats de *F. culmorum*.



**Figure 17:** Produits d'amplification spécifique de *F. pseudograminearum*. M: marqueur de poids moléculaire 520 pb; +: témoin positif sans ADN; F.P.G.1.11 et F.P.G.2.11: Isolats de *F. pseudograminearum*.



**Figure 18:** Produits d'amplification spécifique de *F. graminearum*. M: marqueur de poids moléculaire 280 pb; +: témoin positif sans ADN; F.G.3.11 : Isolat de *F. graminearum*.



**Figure 19:** Produits d'amplification spécifique de *F. crookwellense* (*F. cerealis*). M: marqueur de poids moléculaire 207 pb; +: témoin positif sans ADN; F.C.2.12: Isolat de *F. crookwellense* (*F. cerealis*).

### 3.3.2. Chémotypage de quelques isolats de *Fusarium* spp.

L'identification des potentialités de production des différentes toxines (chémotypage) produites par les différentes espèces de *Fusarium* peut servir à vérifier leur classification ou à relier la variation du potentiel toxigène au sein d'une espèce. A cet effet, une collection de 7 isolats de *Fusarium* ont été caractérisés pour leur production en mycotoxines. Les toxines produites par les différents isolats ont été évalués en analysant les métabolites par des tests PCR pour identifier les chémotypes des isolats testés. La PCR permet d'amplifier les gènes Tri5 et Tri12 des différents isolats de *Fusarium*. L'analyse des produits PCR a montré un fragment d'environ 140 pb avec le couple d'amorces Tri5-TCTB-F/Tri5-TCTB-R spécifique du gène Tri5 et cela pour l'ensemble des isolats étudiés. Les résultats de la PCR dans ce cas ont montré que tous les isolats ont la capacité potentielle à produire des trichothécènes B. Des dosages PCR spécifiques ont été utilisés pour déterminer le chémotype potentiel de chaque isolat par une approche génétique basée sur l'utilisation d'amorces spécifiques de la séquence des gènes Tri12. Les résultats ont montré que les isolats testés ont donné aussi un fragment de 111 pb avec le couple d'amorces Tri12-3-ADON-F/Tri12-3-ADON-R, indiquant le chémotype DON/3-ADON qui est dominant dans cette population de *Fusarium*. De plus, les 7 isolats de *Fusarium* ont été caractérisés pour leur production des 15-ADON et NIV/FX avec les tests Tri12-15-ADON-F/Tri12-15-ADON-R et Tri12-NIV-F/Tri12-NIV-R respectivement. Les résultats du test PCR nous ont montré que tous les isolats n'ont pas la capacité d'amplifier les deux fragments spécifiques pour produire le 15-ADON et le NIV/FX qui sont normalement de l'ordre de 161 pb et 115 pb respectivement. Ces résultats confirment donc définitivement le chémotype des 7 isolats qui est caractérisé par 3-ADON, c'est -à- dire que les isolats de *Fusarium* analysés ont montré uniquement la présence du chémotype 3-ADON.

### 3.4. DISCUSSION

Les isolats de *Fusarium* étudiés ont été identifiés sur la base des caractères morphologiques du mycélium et celle des conidies sous le microscope, en utilisant les critères d'identification de Leslie et Summerell 2006 et Nelson *et al.*, 1983. L'identification morphologique des isolats à l'échelle de l'espèce a été confirmée ensuite par PCR, en utilisant les amorces spécifiques décrites pour chaque espèce fusarienne (Aoki et O'Donnell, 1999; Lees, 1995; Nicholson *et al.*, 1996; Schilling *et al.*, 1996;).

Dix isolats appartenant à différentes des espèces du genre *Fusarium* cultivés sur le milieu PDA et purifiés, ont été utilisés pour l'identification de l'espèce en question. Leur caractérisation morphologique a permis d'identifier ces isolats comme *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. pseudograminearum*, et *F. cerealis*. Ensuite cette identification est confirmée par une identification moléculaire en utilisant le test PCR. Les résultats des deux tests d'identification ont montré que 60 % (6/10) des espèces identifiées sont représentées par *F. culmorum*. Les résultats de Touati-Hattab *et al.*, 2016 montraient que *F. culmorum* était le principal pathogène associé à la fusariose de l'épi sur blé dur en Algérie. Considéré comme un agent pathogène important du blé causant la fusariose de l'épi, *F. culmorum* attaque les différentes parties des plantes céréalières dans les régions plus froides et humides d'Europe et du Canada, causant la fusariose de l'épi (Kant *et al.*, 2011). Cet agent pathogène est également rapporté comme prépondérant dans des régions plus froides comme le Nord, le Centre et l'Ouest de l'Europe (Parry *et al.*, 1995; Wagacha et Muthomi, 2007) ainsi que le Canada (Demeke *et al.*, 2005). La prédominance d'une espèce spécifique dans une région donnée est principalement influencée par les conditions climatiques, notamment les exigences de température (Parry *et al.*, 1995). *F. culmorum* a été aussi identifié comme l'espèce prédominante en Allemagne de l'Ouest (Muthomi *et al.*, 2000) et dans la région de Rhénanie (Allemagne), avec *F. avenaceum* (Lieneman, 2002). Kosiak *et al.* (2003) ont signalé que *F. culmorum* faisait partie des quatre principales espèces de *Fusarium* du blé, de l'orge et de l'avoine en Norvège, et à moindre importance d'autres espèces comme *F. avenaceum*, *F. poae* et *F. tricinctum*. Une étude récente menée par Clear et Patrick (2006), a classé *F. culmorum* parmi les trois FHB les plus dominants des céréales au Canada. Tok et Arslan (2016) ont rapporté que parmi les 57 isolats prélevés dans quatre provinces de la région méditerranéenne orientale de la Turquie, 32 isolats ont été identifiés comme *F. graminearum* et 25 isolats ont été identifiés comme *F. culmorum* par des techniques d'identification traditionnelles et des tests PCR. Ces deux derniers chercheurs affirment que *F. graminearum* et *F. culmorum*, sont parmi les agents causaux les plus courants de la fusariose de l'épi dans le monde entier.

Par rapport à nos résultats d'identification moléculaire obtenus dans notre étude nous avons montré la présence d'un seul isolat de *F. graminearum* dans les différentes régions prospectées. Ce résultat est tout à fait attendu car les conditions climatiques de l'Algérie ne favorisent pas le développement de ce champignon qui exige des conditions particulières de chaleurs et une humidité relative élevée au cours de la floraison. De plus, il s'agit d'une espèce pathogène qui se développe surtout sur la récolte du maïs qui est une culture non répandue

dans notre pays. Raison pour laquelle, *F. graminearum* est le principal agent pathogène causant la fusariose de l'épi des petites céréales cultivées au Canada, aux États-Unis, en Chine et dans de nombreux pays européens cultivant le maïs. Favorisés par un temps chaud et humide, les infections peuvent atteindre des niveaux épidémiques avec des pertes importantes de rendement et des réductions de qualité (Kant *et al.*, 2011). *F. graminearum* est également considéré comme la plus importante des espèces causant la fusariose de l'épi dans les régions céréalières les plus chaudes du monde (USA, Australie, Amérique du Sud et Europe centrale) (Parry *et al.*, 1995).

Souvent confondu avec le *F. graminearum*; l'utilisation dans notre cas, des amorces spécifiques de *F. pseudograminearum* ont permis de détecter ce dernier agent pathogène dans les tissus de l'épi du blé. Les résultats ont démontré que les paires d'amorces spécifiques utilisées ont permis de détecter et identifier deux isolats de *F. pseudograminearum* parmi la collection utilisée dans notre étude; la pourriture du collet du blé est donc causée également par *F. pseudograminearum*. Cette maladie intervient par la formation d'un appressoria cloisonné en forme de pied et par la formation d'un organe de pénétration pour percer les cellules internes de la gaine foliaire. Le mécanisme moléculaire par lequel *F. pseudograminearum* régule la pathogénèse de l'hôte du blé n'est pas clair (Wang *et al.*, 2017). Cette espèce a d'abord été signalée comme agent responsable de la fusariose de l'épi en Nouvelle-Galles du Sud, et en Australie (Burgess *et al.*, 1988), également cet agent pathogène a déjà été signalé dans la province du Henan en Chine, il y a quelques années (Li *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2015). La fusariose de l'épi du blé causée par ce nouveau pathogène en Asie de l'Est est devenue une maladie grave émergente du blé, qui s'est récemment étendue à plusieurs provinces chinoises ayant fait donc l'objet d'une enquête rapide (Wang *et al.*, 2017).

Enfin, les tests PCR ont permis d'identifier la présence de *F. cerealis* (synonyme *F. crookwellense*) pour la première fois en Algérie. Ce champignon est l'un des agents causaux de la fusariose de l'épi, une maladie fongique significative des petits grains et du maïs dans de nombreux pays (Parry *et al.*, 1995). La maladie est considérée comme une menace importante pour la production de blé et d'orge en Chine (Zhang *et al.*, 2011) ainsi qu'au Mexique (Osmane *et al.*, 2016).

Par ailleurs, au cours de cette étude des tests de PCR ont été utilisés pour identifier rapidement les chémotypes de sept isolats de *Fusarium*.

Les résultats obtenus ont montré que tous les isolats testés possèdent le gène Tri5-TCTB codant pour la trichodiène synthase, une enzyme clé dans la biosynthèse des trichothécènes. Concernant les sept isolats de *Fusarium*, l'utilisation des ensembles d'amorces Tri5-TCTB, Tri12-DON et Tri12-NIV ont identifié que la majorité des isolats sont du type DON, et seulement deux isolats (F.C.T<sub>5</sub> et F.C.T<sub>7</sub>) se sont avérés de chémotype NIV (Touati-Hattab *et al.*, 2016). Ces deux chémotypes sont décrits pour *F. culmorum* dans le monde entier avec une proportion variable entre les isolats de chémotype DON / 3-ADON et celles de NIV/FX et ceci en fonction des années et des pays (Pasquali et Migheli, 2014). La contamination des grains de blé tendre et dur par les trichothécènes est un problème important rapporté dans de nombreuses régions du monde (Foroud et Eudes, 2009). Des études de terrain indiquent que le DON est la mycotoxine la plus fréquente en Italie, ainsi que dans d'autres pays européens et dans de nombreuses autres régions du monde (Bottalico et Perrone, 2002; Desjardins, 2006; Pascale *et al.*, 2002), mais peu de données sont disponibles pour le NIV et les trichothécènes de type A malgré leur toxicité (Covarelli *et al.*, 2015). Un large éventail d'analyses effectuées ces dernières années, a montré que le DON est principalement produit par des isolats de *F. graminearum* et *F. culmorum* (Bottalico et Perrone, 2002) et le NIV par des isolats de *F. graminearum*, *F. culmorum* et *F. poae* (Bottalico et Perrone, 2002; Thrane *et al.*, 2004; Torp et Langset, 1999). Forget-Richard et Oswald (2012) rapportaient qu'en Europe, les isolats de *F. culmorum* appartiennent majoritairement aux chémotypes DON/3-ADON et NIV/FX.

La présence de ces chémotypes en Algérie a été confirmée par analyse des toxines produites *in vitro* lorsque le *Fusarium* est cultivé sur des grains de riz (Touati-Hattab *et al.*, 2016). Généralement, nos résultats montrent que l'accumulation du DON dans les grains est plus élevée que celle du NIV. Cet effet chémotypique avec une propagation légèrement moins rapide des isolats productrices du NIV/FX dans les épis a été abondamment décrit auparavant pour *F. culmorum* (Miedaner *et al.*, 2001, Wegulo, 2012); il a également été observé pour l'espèce *F. graminearum* (Mirocha *et al.*, 1994). Mais, en terme de symptômes, la différence d'agressivité entre les deux chémotypes reste modérée dans notre expérience par rapport aux données de la littérature, suggérant que nos deux isolats algériens NIV sont très agressifs. Ce résultat est en accord avec ceux rapportés par Touati-Hattab *et al.* (2016) signalant le potentiel toxino-gène et l'agressivité des isolats algériens de *F. culmorum*, de chémotypes NIV/FX, utilisés pour l'inoculation artificielle au champ.

**Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques génotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium***

Afin d'approfondir nos connaissances sur la résistance variétale, les grains de tous les génotypes ont été analysés au laboratoire pour leur teneur en TCTB et en ergostérol à deux principaux stades : stade floraison et stade maturité complète des grains de blé dur. En effet, la production de biomasse fongique est estimée par la teneur en ergostérol, stérol spécifique des membranes fongiques. Par contre, la teneur en toxines est évaluée par les niveaux de TCTB produits par les différents isolats étudiés.

**4.1. Extraction et dosage des TCTB à partir des grains**

**4.1.1. Extraction des TCTB**

La quantification des mycotoxines dans les grains a été réalisée au laboratoire MycSA, INRA de Bordeaux (France), selon la méthode décrite par Montibus *et al.* (2013) avec quelques modifications.

Pour cela, 10 g de grains sont broyés avec un broyeur centrifuge (Tissuelyser, Retsh, Germany) (grille de 0,5 mm).

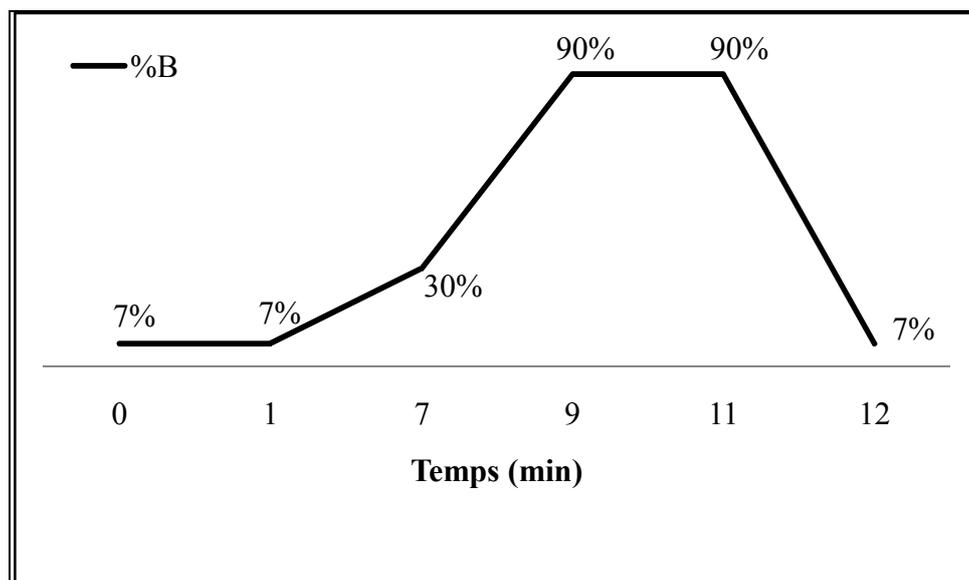
Ensuite dans un tube de 50 mL, 5 g de grains broyés sont ajoutés à 25 mL d'une solution d'acétonitrile/eau (84/16, v/v) sous agitation à 50 rpm pendant 1h. Après centrifugation, 5 mL de surnageant sont filtrés sur une colonne Trichothecene P® (R-Biopharm, Darmstadt, Allemagne), à partir desquels 3 mL de cette solution purifiée sont transférés dans un vial et évaporés à 50 °C sous flux d'azote. Les échantillons sont ensuite repris dans 300 µL d'une solution de méthanol/eau (1/1, v/v) et filtrés sur filtres de porosité 0,22 µm (Phenomenex, Torrance, USA) avant l'analyse par UPLC-DAD.

**4.1.2. Dosage des TCTB par HPLC-DAD**

La quantification des TCTB est réalisée avec un appareil Shimadzu Prominence UFLC équipé de deux pompes LC-20 AD, un dégazeur DGU-20A3R, un passeur automatique SIL-30 AC et un détecteur à barrettes de diodes SPD-M20A (Shimadzu Scientific Instruments, France). A partir de l'extrait filtré, 0,5 µL sont injectés sur une colonne Kinetex 2,6 µxB C18 - 100A (150 mm x 4,6 ; 3,5 µm) (Phenomenex; France) maintenue à 45 °C et un flux constant de 700 µL/min. La phase mobile est constituée d'une solution d'eau ultrapure (>18 MΩ) au

## Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques génotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium*

pH ajusté à 2,6 à l'aide d'une solution d'acide ortho-phosphorique (solvant A) et d'acétonitrile (solvant B). Le gradient d'élution est représenté dans la Figure 20.



**Figure 20:** Représentation du gradient eau/acétonitrile utilisé pour le dosage des TCTB

Les spectres UV visibles ont été enregistrés de 190 à 400 nm et l'aire des pics est mesurée à 230 nm. La quantification a été réalisée par étalonnage externe, préparé à l'aide de solutions standards de DON, 15-ADON, 3-ADON, NIV et FX (Romer Labs, Autriche).

Dans ces conditions, la limite de détection était de 1 µg/g de MS pour chacune des toxines.

### 4.2. Extraction et dosage de l'ergostérol

#### 4.2.1. Extraction de l'ergostérol

La méthode d'extraction et de dosage de l'ergostérol est adaptée de celle décrite par Saraf *et al.* (1997) et Marin *et al.* (2005) avec quelques modifications. Elle a été réalisée comme suit: Dans un tube de 15 mL, 30 mg de grains broyés ont été ajoutés à une solution de 2 mL d'un mélange d'hydroxyde de potassium et de méthanol (01/10, w/ v) et agité pendant 1 mn. L'hydrolyse alcaline est alors maintenue au bain marie pendant une heure à 80 °C; un dégazage des tubes est réalisé régulièrement. Pour stopper l'hydrolyse et après refroidissement rapide des échantillons, 480 µL de HCL 6 M puis 500 µL d'eau MilliQ® sont ajoutés. Enfin, deux extractions liquide-liquide sont réalisées successivement à l'aide de 2 mL d'hexane. Après homogénéisation et centrifugation à 3.000 rpm pendant 3 minutes, les deux

## **Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques génotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium***

---

phases organiques sont recueillies, regroupées et évaporées à sec sous flux d'azote à température ambiante. Les échantillons secs sont repris dans 1 mL de méthanol puis filtrés sur un filtre de 0,22 µm avant dosage par HPLC-DAD.

### **4.2.2. Dosage de l'ergostérol par HPLC-DAD**

L'élution de l'ergostérol est effectuée sur une colonne Kinetex 2,6 µxB C18 - 100A (150 mm x 4,6) (Phenomenex; France) maintenue à 40 °C; le volume d'injection a été fixé à 5 µL. Une élution isocratique avec du méthanol à 100 % a été utilisée avec un débit fixé à 0,8 mL / min pendant 15 minutes. Le Spectre UV est mesuré de 190 à 400 nm et la quantification de l'ergostérol est effectuée à la longueur d'onde de 282 nm. La quantification a été effectuée à l'aide d'un étalonnage externe obtenue à l'aide d'ergostérol commercial (Fulka, France). La limite de détection pour l'ergostérol était de 6 µg/g de MS.

### **4.3. Analyse statistique des résultats**

Pour l'analyse de la variance, l'analyse statistique des résultats des TCTB et de l'ergostérol est réalisée à l'aide du logiciel statgraphics version 15.1.0. Ensuite une comparaison multiple des moyennes a été effectuée en utilisant le test de la ppds (plus petite différence significative) pour déterminer les groupes homogènes au seuil de signification de 5 %. Des coefficients de variation résiduels ont été calculés. Lorsque les caractères étudiés présentent une différence significative au niveau des génotypes, l'héritabilité au sens large a été uniquement calculée dans le cas des essais conduits en bloc aléatoire complet.

## **4.4. RESULTATS**

### **4.4.1. Teneur en TCTB des grains matures des génotypes de blé dur contaminés au stade floraison par les isolats de *Fusarium* spp.**

#### **4.4.1.1. Résultats de la première année (2013/2014)**

Pour cette année, les analyses en mycotoxines ont été réalisées en deux temps, d'abord les teneurs en nivalénols (NIV) sont dosées, ensuite les désoxynivalénols (DON). Comme pour les symptômes développés, la variabilité de la quantité de mycotoxines accumulées dans les grains est très variable selon les deux essais (essai 1 et 2). Pour les témoins, constitués de grains sains, il y a absence de mycotoxines.

## Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques génotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium*

---

### 4.4.1.1.1. Nivalénol (NIV)

Au niveau de l'essai 1, il y a uniquement deux isolats de *F. culmorum* (F.C.T<sub>5</sub> et F.C.T<sub>7</sub>) qui ont produit du NIV.

Les analyses statistiques ont montré qu'il y a pas de différences significatives pour tous les paramètres (lignées, isolats et interaction lignées\*isolats).

De l'analyse des moyennes des teneurs en NIV des deux lignées, nous constatons qu'au niveau de l'essai 1, la lignée G<sub>1</sub> est classée en premier avec le minimum d'accumulation de cette toxine dans les grains soit respectivement 19,33 µg/g de MS avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub> et 23,05 µg/g de MS avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>, ensuite vient en deuxième position la lignée G<sub>4</sub> en accumulant une quantité de NIV un peu élevée, soit 24,80 µg/g de MS avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub> et 34,51 µg/g de MS avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>.

### 4.4.1.1.2. Désoxynivalénol (DON)

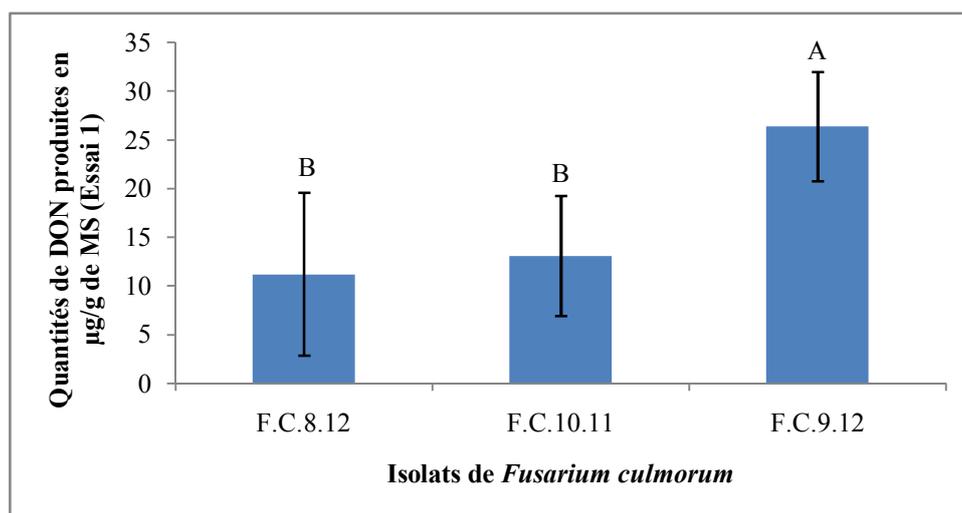
Au niveau de l'essai 1, les trois autres isolats de *F. culmorum* produisent le DON (isolats: F.C.8.12, F.C.10.11 et F.C.9.12).

L'analyse de la variance pour ce paramètre a révélé une différence significative entre isolats (Fig. 21), alors que l'effet des lignées et celui de l'interaction lignées\*isolats est non significatif.

L'examen de la Figure 21 montre que l'isolat F.C.9.12 a montré une production plus élevée en DON sur les deux lignées avec 26,36 µg/g de MS. Tandis que, les deux autres isolats ont produit des teneurs voisines et moyennement faibles en cette toxine dans les grains, soit respectivement une teneur de 11,19 µg/g de MS pour l'isolat F.C.8.12 et 13,05 µg/g de MS pour l'isolat F.C.10.11.

La comparaison des deux lignées entre elles, montre que la lignée G<sub>1</sub> est toujours en première position en accumulant le moins de DON dans les grains, avec une teneur de 14,91 µg/g de MS ensuite vient la lignée G<sub>4</sub> avec une teneur un peu élevée, soit 18,83 µg/g de MS.

**Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques génotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium***

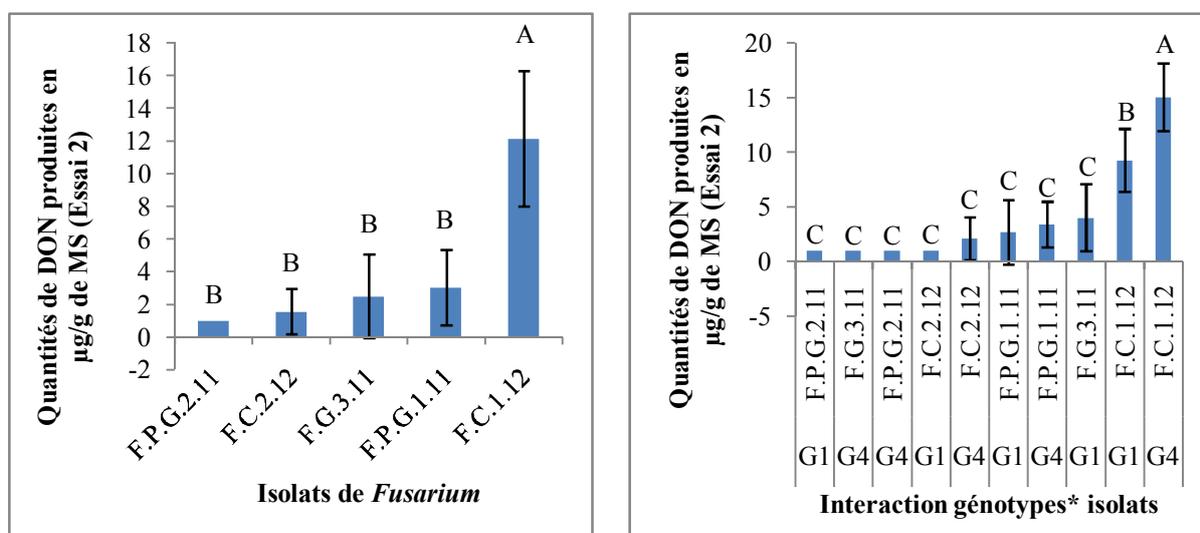


**Figure 21:** Quantités de DON en µg/g de MS produites par trois isolats de *F. culmorum*

Dans l'essai 2, les cinq isolats de *Fusarium* appartenant aux différentes espèces étudiées produisent tous le DON.

L'analyse de la variance des teneurs en DON dans les grains des deux lignées a montré que l'effet des isolats et de l'interaction lignées\*isolats est significatif (Fig. 22). Par contre les lignées présentent un effet non significatif.

En effet, les deux lignées présentent des teneurs faibles très proches en DON dans les grains, soit respectivement 3,60 µg/g de MS pour la lignée G<sub>1</sub> et 4,52 µg/g de MS pour la lignée G<sub>4</sub>.



**Figure 22:** Quantités moyennes en DON contenues dans les échantillons analysés (en µg/g de MS)

## Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques génotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium*

---

### 4.4.1.2. Résultats de la deuxième année (2014/2015)

Afin d'apprécier les résultats obtenus au champ, les analyses en mycotoxines ont été réalisées sur les témoins sains et les essais inoculés par les quatre isolats de *Fusarium* spp.

Selon l'isolat, les TCTB sont représentés dans nos conditions soit par le DON soit par le NIV. Ainsi, deux isolats (F.C.T<sub>5</sub> et F.C.T<sub>7</sub>) produisent du NIV et deux autres isolats (F.C.10.11 et F.C.1.12) produisent du DON. Lors des dosages, le FX n'a pas été détecté avec le chémotype NIV. La forme acétylée 3-ADON, n'a pas été observée également dans les échantillons inoculés avec les isolats à chémotype DON/3-ADON.

Comme pour les symptômes développés, la quantité de mycotoxines dans les grains est très variable selon les isolats et les génotypes. Pour les témoins, les teneurs sont nulles dans tous les échantillons.

Les teneurs moyennes du DON et du NIV produites par les isolats dans les grains ont été calculées pour chaque génotype et présentées dans les figures 23 et 24.

Ainsi en terme d'accumulation du NIV, l'analyse de la variance pour ce paramètre de chacun des deux essais (essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub> et essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>) a révélé une différence significative entre les différents génotypes étudiés (Fig. 23). Les coefficients de variation résiduels sont de 36,75 % et 39,05 % respectivement dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub> et dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>. L'héritabilité au sens large est de 92 % dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub> et dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub> (Annexe 4). Par ailleurs, les résultats d'analyse statistique individuelle ont montré qu'au niveau de l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub>, les deux lignées G<sub>1</sub> et G<sub>4</sub> ont présenté une teneur en NIV très faible, soit seulement 4,63 µg/g de MS pour G<sub>1</sub> et 6,37 µg/g de MS pour G<sub>4</sub>. La teneur en NIV dans la lignée G<sub>1</sub> est en dessous de la limite de détection (<6 µg/g de MS), et donc pratiquement cette lignée n'a pas accumulé du NIV dans ses grains. En revanche, les deux variétés G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> ont présenté une teneur plus importante en cette toxine, soit respectivement 31,15 µg/g de MS pour G<sub>9</sub> et 39,34 µg/g de MS pour G<sub>11</sub>; la variété G<sub>10</sub> a accumulé une teneur moyenne en NIV dans ses grains, soit 19,57 µg/g de MS. Pour l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>, les teneurs en NIV dans les grains de tous les génotypes sont moins importantes que celles produites par l'isolat F.C.T<sub>5</sub>. Par conséquent, l'isolat F.C.T<sub>5</sub> est plus agressif que F.C.T<sub>7</sub> en termes de production de NIV. Quant aux génotypes G<sub>1</sub>, G<sub>4</sub> et G<sub>10</sub>, ils ont présenté des teneurs très faibles en NIV, soit respectivement 1 µg/g de MS, 2,95 µg/g de MS et 2,89 µg/g de MS. Toutes ces valeurs sont en dessous de la

#### **Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques génotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium***

---

limite de détection ( $<6 \mu\text{g/g}$  de MS), ce qui confirme l'absence du NIV dans les grains de ces trois génotypes, alors que les deux variétés  $G_9$  et  $G_{11}$  ont présenté des teneurs en NIV plus importantes, soit respectivement  $10,09 \mu\text{g/g}$  de MS et  $7,78 \mu\text{g/g}$  de MS.

L'analyse de la variance pour les deux essais inoculés avec F.C.T<sub>5</sub> et F.C.T<sub>7</sub> a révélé une différence significative entre les deux essais et l'interaction génotypes\*essais (Fig. 23). Par contre, l'effet génotypes est non significatif. Le coefficient de variation résiduel et l'héritabilité au sens large sont de l'ordre de 43,15 % et 41 % respectivement (Annexe 4).

En comparant les deux essais, il apparaît que les deux lignées  $G_1$  et  $G_4$  ont des teneurs moyennes en NIV très faibles, soit  $2,82 \mu\text{g/g}$  de MS pour  $G_1$  et  $4,66 \mu\text{g/g}$  de MS pour  $G_4$ . Par contre, les variétés  $G_9$  et  $G_{11}$  accumulent des quantités très élevées, soit en moyenne  $20,62 \mu\text{g/g}$  pour  $G_9$  et  $23,56 \mu\text{g/g}$  pour  $G_{11}$ ; la variété  $G_{10}$  a présenté une teneur moyenne intermédiaire, soit seulement  $11,23 \mu\text{g/g}$  de MS.

Concernant l'accumulation du DON dans chacun des deux essais, l'analyse de la variance pour ce paramètre a révélé une différence significative entre les génotypes (Fig. 24). Les coefficients de variation résiduels sont de 31,96 % et 37,64 % respectivement dans l'essai avec l'isolat F.C.10.11 et dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12. L'héritabilité au sens large est de 96 % dans l'essai avec l'isolat F.C.10.11 et 76 % dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12 (Annexe 4). Ainsi, dans l'essai avec l'isolat F.C.10.11, les deux génotypes  $G_1$  et  $G_{10}$  ont présenté des teneurs en DON très faibles de l'ordre de  $2,47 \mu\text{g/g}$  de MS pour  $G_1$  et de  $3,49 \mu\text{g/g}$  de MS pour  $G_{10}$ . Ces quantités sont en dessous de la limite de détection ( $<6 \mu\text{g/g}$  de MS), ce qui explique l'absence du DON dans les grains de ces deux génotypes. En revanche, la quantité la plus élevée en DON est observée chez la variété  $G_9$  avec une teneur de  $56,52 \mu\text{g/g}$  de MS. Enfin, les génotypes  $G_4$  et  $G_{11}$  ont accumulé des quantités moyennes en DON avec un écart plus important entre eux, dont les quantités accumulées sont de l'ordre  $23,54 \mu\text{g/g}$  de MS pour  $G_4$  et  $32,64 \mu\text{g/g}$  de MS pour  $G_{11}$  ( $G_4$  a accumulé moins de DON par rapport à  $G_{11}$ ).

Dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12, la lignée  $G_1$  a accumulé moins de DON, soit seulement  $10,85 \mu\text{g/g}$  de MS ensuite vient la variété  $G_{10}$  avec  $19,25 \mu\text{g/g}$  de MS, alors que la variété  $G_{11}$  a enregistré une teneur en DON très élevée avec  $40,00 \mu\text{g/g}$  de MS. Les deux génotypes  $G_4$  et  $G_9$  ont montré des teneurs moyennes en DON avec respectivement  $36,32 \mu\text{g/g}$  de MS et  $28,07 \mu\text{g/g}$  de MS. L'analyse de la variance pour les deux essais (essai avec l'isolat F.C.10.11 et essai avec l'isolat F.C.1.12) a révélé pour le paramètre DON une

#### **Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques génotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium***

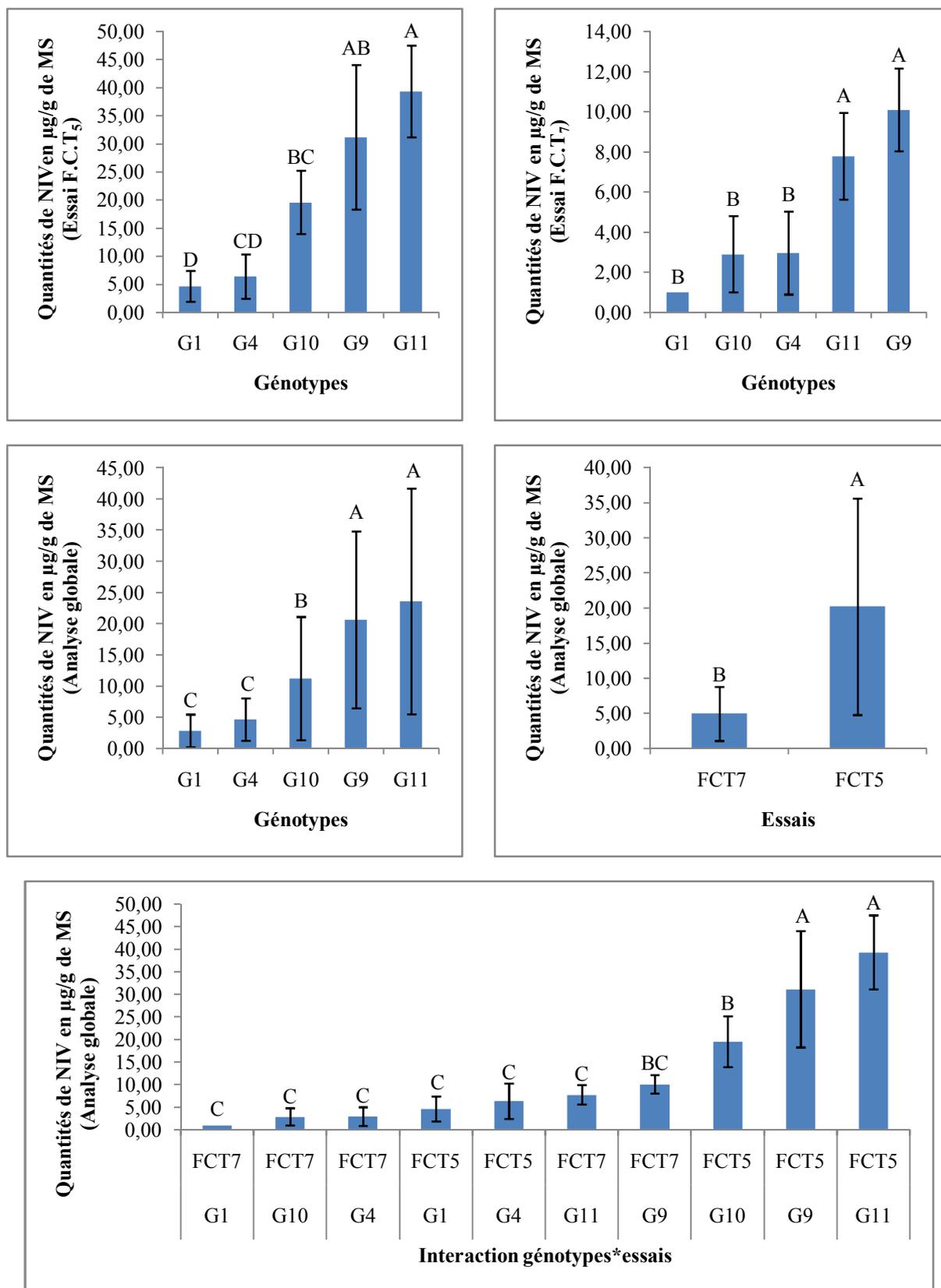
---

différence significative uniquement pour l'interaction (Fig. 24), mais l'effet des génotypes et des essais est non significatif. Le coefficient de variation résiduel et l'héritabilité au sens large sont de l'ordre de 35,34 % et 50 % respectivement (Annexe 4).

Quant aux quantités de DON produites par les deux autres isolats (F.C.10.11 et F.C.1.12), elles sont un peu plus élevées par rapport au NIV. En effet, la lignée G<sub>1</sub> a accumulé moins de DON, soit 6,66 µg/g de MS et G<sub>10</sub> a accumulé 11,37 µg/g de MS. En revanche, les génotypes G<sub>4</sub>, G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> ont présenté une forte accumulation de DON, avec respectivement une moyenne de 29,93 µg/g de MS, 42,30 µg/g de MS et 36,32 µg/g de MS.

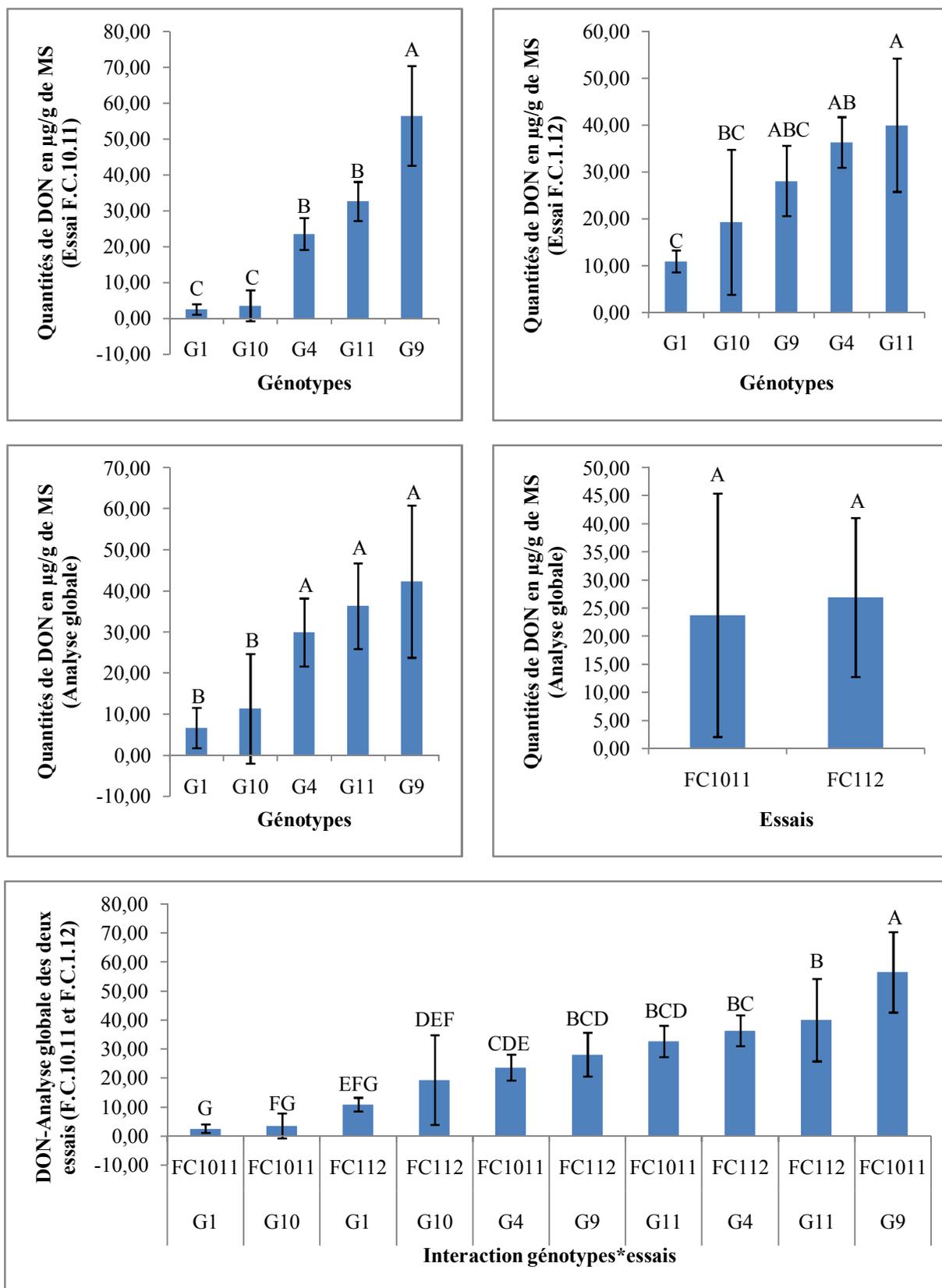
Partant des résultats de quantification des TCTB (NIV et DON) dans les grains de tous les génotypes, la lignée G<sub>1</sub> est la plus résistante à l'accumulation des TCTB, en accumulant ainsi le moins de toxines dans leurs grains. Par contre, les variétés G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> n'ont pas la capacité de dégrader ces molécules ou à éviter leurs accumulations en accumulant ainsi des concentrations plus élevées en mycotoxines. De plus, les quantités du DON contenues dans les grains de la lignée G<sub>4</sub> est plus importante que celles de la variété G<sub>10</sub>.

**Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques géotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium***



**Figure 23:** Quantités moyennes en NIV contenues dans les échantillons analysés (en µg/g de MS)

**Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques génotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium***



**Figure 24:** Quantités moyennes en DON contenues dans les échantillons analysés (en µg/g de MS)

**4.4.2. Evaluation des teneurs en ergostérol des grains matures des génotypes de blé dur contaminés à la floraison par les isolats de *Fusarium* spp.**

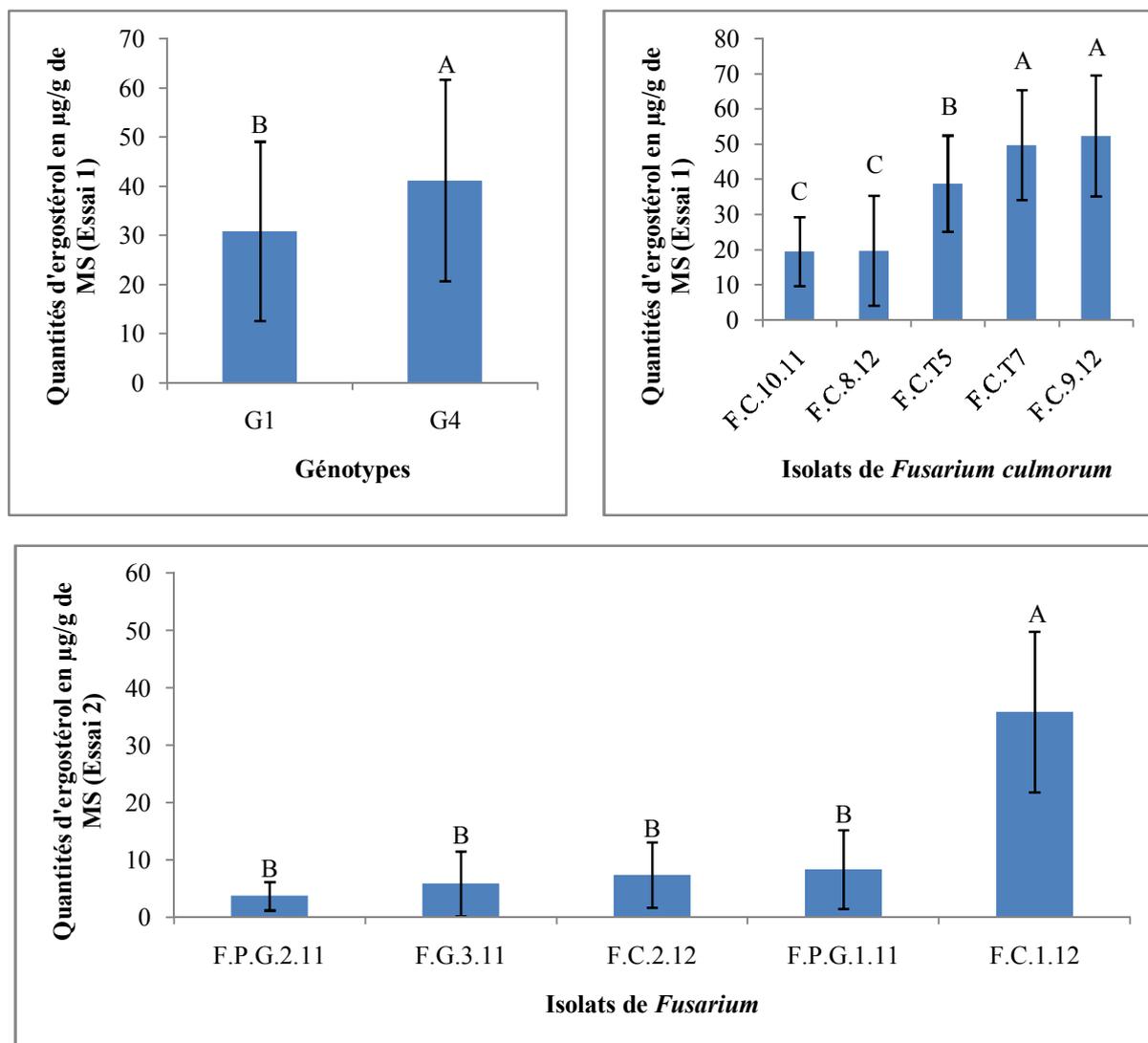
**4.4.2.1. Résultats de la première année (2013/2014)**

La Figure 25 présente la teneur en ergostérol des grains de blé matures, contaminés à la floraison avec cinq isolats de *F. culmorum* pour l'essai 1 et cinq autres isolats de différentes espèces de *Fusarium* pour l'essai 2. L'analyse de la variance des niveaux d'ergostérol des grains matures a révélé au niveau de l'essai 1 une différence significative entre les lignées, les isolats de *F. culmorum*, les blocs et l'erreur 1, alors que l'interaction lignées\*isolats est non significative. Par contre au niveau de l'essai 2, l'analyse de la variance du même paramètre a révélé une différence significative entre les isolats et l'erreur 1; l'effet des deux lignées et l'interaction lignées\*isolats est non significatif.

Dans l'essai 1, la lignée G<sub>1</sub> a montré une teneur en ergostérol moins importante que la lignée G<sub>4</sub>, soit respectivement 30,78 µg/g de MS et 41,18 µg/g de MS. La comparaison des cinq isolats de *F. culmorum* montre que les deux isolats F.C.9.12 et F.C.T<sub>7</sub> ont une production de biomasse fongique (estimée par la teneur en ergostérol) importante, soit respectivement 52,32 µg/g de MS et 49,78 µg/g de MS. Par contre, les deux isolats F.C.10.11 et F.C.8.12 ont présenté des teneurs faibles, soit respectivement 19,41 µg/g de MS et 19,64 µg/g de MS; l'isolat F.C.T<sub>5</sub> a enregistré une teneur moyenne de 38,75 µg/g de MS.

Dans l'essai 2, les deux lignées ont montré des teneurs en ergostérol très proches mais faibles, soit 11,11 µg/g de MS pour la lignée G<sub>1</sub> et 13,29 µg/g de MS pour la lignée G<sub>4</sub>. Par rapport au pathogène, l'isolat F.C.1.12 a montré une teneur en ergostérol très élevée avec 35,80 µg/g de MS, alors que les quatre autres isolats (F.P.G.2.11, F.G.3.11, F.C.2.12 et F.P.G.1.11) ont présenté des teneurs très proches mais très faibles, soit respectivement 3,68 µg/g de MS, 5,82 µg/g de MS, 7,38 µg/g de MS et 8,33 µg/g de MS (Fig. 25).

## Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques géotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium*



**Figure 25:** Teneurs en ergostérol des grains de blé matures, contaminés à la floraison avec les isolats de *Fusarium* spp.

### 4.4.2.2. Résultats de la deuxième année (2014/2015)

La Figure 26 présente les teneurs en ergostérol accumulées au niveau des grains de blé matures, contaminés à la floraison avec les isolats de *F. culmorum*, des géotypes de blé dur.

L'analyse statistique individuelle pour l'ergostérol a montré une différence significative entre les géotypes, avec les isolats F.C.T<sub>5</sub>, F.C.T<sub>7</sub>, F.C.10.11 et une différence génotypique non significative au niveau de l'essai avec l'isolat F.C.1.12. Les coefficients de variation résiduels sont de 50,73 %; 41,09 %; 53,08 % et 35,54 % respectivement dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub>, dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>, dans l'essai avec l'isolat F.C.10.11 et dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12. L'héritabilité au sens large est de 85 % dans l'essai avec

#### **Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques géotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium***

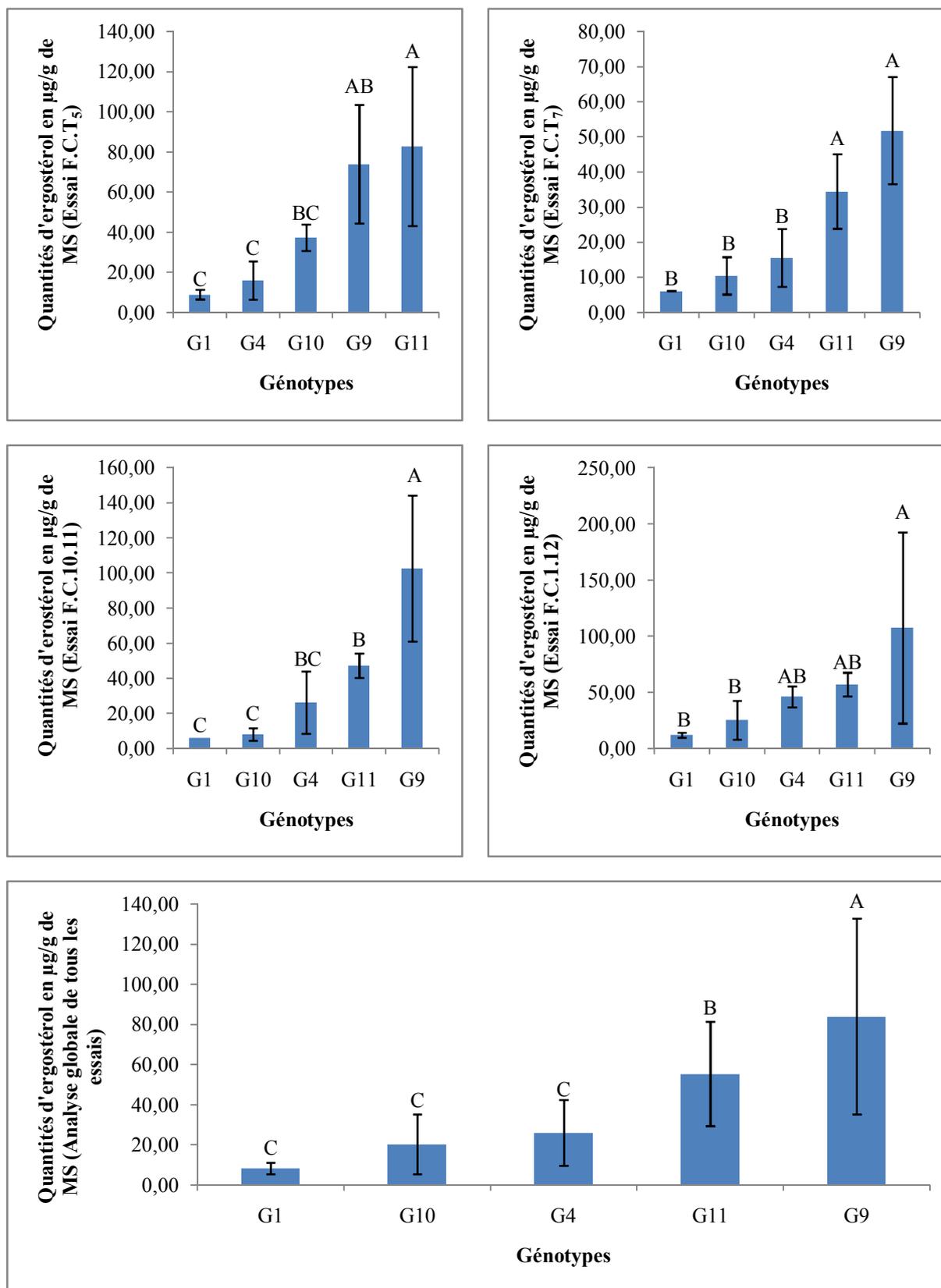
---

l'isolat F.C.T<sub>5</sub>, 91 % dans l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub> et dans l'essai avec l'isolat F.C.10.11 (Annexe 4). De même, l'analyse de la variance pour l'ensemble des quatre essais a révélé une différence entre géotypes, alors que l'effet des quatre essais et l'interaction géotypes\*essais est non significatif. Le coefficient de variation résiduel et l'héritabilité au sens large sont de l'ordre de 61,36 % et 80 % respectivement (Annexe 4).

La comparaison des géotypes (variétés parentales et lignées), pour la teneur en ergostérol, montre qu'au niveau de l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>5</sub>, la lignée G<sub>1</sub> présente la teneur la plus faible, la lignée G<sub>4</sub> vient en deuxième position, soit respectivement 8,74 µg/g de MS et 15,80 µg/g de MS. Par contre, les deux variétés G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> ont enregistré des teneurs plus élevées, soit respectivement 73,82 µg/g de MS et 82,73 µg/g de MS; la variété G<sub>10</sub> a enregistré une teneur moyenne en ergostérol, soit 37,20 µg/g de MS. Au niveau de l'essai avec l'isolat F.C.T<sub>7</sub>, la teneur la plus faible est enregistrée par la lignée G<sub>1</sub> avec seulement 6,03 µg/g de MS, par contre la teneur la plus élevée est enregistrée chez la variété G<sub>9</sub> avec 51,79 µg/g de MS. Ces géotypes G<sub>4</sub>, G<sub>10</sub> et G<sub>11</sub> enregistrent des niveaux d'ergostérol de 15,49 µg/g de MS, 10,37 µg/g de MS et 34,42 µg/g de MS respectivement. Dans l'essai avec l'essai F.C.10.11, les géotypes G<sub>1</sub> et G<sub>10</sub> ont enregistré des teneurs en ergostérol proches mais faibles avec respectivement 6,00 µg/g de MS et 8,07 µg/g de MS. La teneur la plus élevée est enregistrée chez la variété G<sub>9</sub> avec 102,62 µg/g de MS. Au niveau du même essai, les géotypes G<sub>4</sub> et G<sub>11</sub> ont montré des teneurs de 26,27 µg/g de MS et 47,19 µg/g de MS respectivement. Enfin, dans l'essai avec l'isolat F.C.1.12, la lignée G<sub>1</sub> enregistre le moins d'ergostérol dans ses grains soit seulement 11,80 µg/g de MS puis la variété G<sub>10</sub> en deuxième rang avec 25,16 µg/g de MS et en dernier, la variété G<sub>9</sub> est celle qui accumule toujours le plus d'ergostérol dans ses grains avec 107,37 µg/g de MS; les géotypes G<sub>4</sub> et G<sub>11</sub> ont enregistré des teneurs moyennes en ergostérol avec respectivement 46,08 µg/g de MS et 56,96 µg/g de MS.

En comparant les quatre essais, la lignée G<sub>1</sub> a présenté des niveaux d'ergostérol plus faibles que les autres géotypes, soit seulement 8,14 µg/g de MS. En revanche, les géotypes G<sub>11</sub> et G<sub>9</sub> ont présenté des niveaux plus importants, soit respectivement 55,33 µg/g de MS pour G<sub>11</sub> et 83,90 µg/g de MS pour G<sub>9</sub>. Les géotypes G<sub>10</sub> et G<sub>4</sub>, ont enregistré des teneurs moyennes, soit 20,20 µg/g de MS pour G<sub>10</sub> et 25,91 µg/g de MS pour G<sub>4</sub>.

**Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques génotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium***



**Figure 26:** Teneurs en ergostérol accumulées dans les grains de blé matures, contaminés à la floraison avec les isolats de *F. culmorum*, des génotypes de blé dur

#### **4.5. DISCUSSION**

En Algérie, comme aussi dans d'autres pays céréaliers, un défi majeur pour les producteurs de blé dur est d'avoir des génotypes ayant une grande résistance au champ à l'égard de la fusariose, permettant de réduire significativement la perte de rendement et la contamination des grains par les mycotoxines. Le développement de tels génotypes est largement entravé par l'absence de gènes de résistance efficaces (Prat *et al.*, 2014). D'ailleurs, la plupart des cultivars de blé dur cultivés actuellement disponibles ne présentent pas des niveaux élevés de résistance. Comme soutenu par les publications d'Elias *et al.* (2005) et Talas *et al.* (2011), certaines variétés locales de blé dur d'Afrique du Nord (Tunisie) et d'Asie occidentale (Syrie), peuvent être des sources prometteuses de résistance à la fusariose. Un programme de sélection a été mis en place à l'ENSA d'Alger, sur la base de croisements impliquant des cultivars de blé dur cultivés en Europe et en Syrie. Ce programme a permis l'obtention de deux lignées potentiellement intéressantes ici appelées G<sub>1</sub> et G<sub>4</sub> (Hadjout, 2013; Mekliche *et al.*, 2013; Touati-Hattab *et al.*, 2016).

Les présents travaux ont été consacrés à l'analyse des TCTB et d'ergostérol dans les grains, et à la caractérisation du potentiel toxigène des isolats de *Fusarium* spp. par HPLC pour une meilleure caractérisation de ces génotypes. Les résultats ainsi obtenus ont montré que les niveaux de résistance à la fusariose et à l'accumulation de mycotoxines de la lignée G<sub>1</sub> sont très élevés par rapport aux deux variétés parents sensibles (G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub>). Ces deux dernières présentent des niveaux d'ergostérol dans les grains plus importants que G<sub>1</sub>, ce qui traduit leur envahissement par le champignon plus important. En particulier, les niveaux de TCTB accumulés dans les grains, sont corrélés à la contamination fongique. Ainsi, la lignée G<sub>1</sub> accumule peu de TCTB alors que G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> accumulent une quantité plus importante. Les résultats démontrent que les deux lignées, et surtout G<sub>1</sub>, étaient moins sensibles à la fusariose qu'aux variétés commerciales. Les valeurs des TCTB et de l'ergostérol associées à la lignée G<sub>1</sub> étaient de 5 à 10 fois inférieures à celles évaluées pour les variétés commerciales sensibles. De ce fait, ces données appuient fortement une corrélation étroite entre les niveaux de production de trichothécènes et les symptômes observés. Cette corrélation est encore forte entre la quantité de toxine et le développement du champignon dans le grain, mesuré par l'ergostérol (Touati-Hattab *et al.*, 2016).

Ces résultats rejoignent aussi ceux d'Atlin *et al.* (1983) qui avaient trouvé une corrélation élevée et significative entre la concentration du DON et l'intensité de la fusariose

#### **Chapitre 4: Evaluation de la teneur en TCTB et en ergostérol des grains matures de quelques géotypes de blé dur contaminés à la floraison par *Fusarium***

---

chez le maïs. Toutefois, Miller *et al.* (1985) ont observé des cas d'importantes concentrations d'ergostérol, indice quantitatif de la présence du *Fusarium* dans les tissus de blé. De plus, la corrélation est encore forte entre la quantité de toxine et le développement du champignon dans le grain, mesuré par l'indice d'ergostérol. Cette corrélation a été ensuite signalée par de nombreux auteurs (Miedaner *et al.*, 2000; Mirocha *et al.*, 1994; Perkowski *et al.*, 1996). En particulier, Miller et Arnison (1986) ont mis en évidence une forme de résistance à l'accumulation du DON chez certains cultivars de blé. Par ailleurs, les résultats de nos essais montrent que la différence de résistance à l'accumulation du DON entre les géotypes se manifesterait plus facilement en présence d'une infection plus forte. Cependant, les concentrations des mycotoxines sont réduites chez des lignées de faible sensibilité par rapport à leurs homologues plus sensibles, issues du même croisement (Atanassov *et al.*, 1993). Aussi, Snijders et Krechting (1992) ont montré que le DON pouvait être d'abord transloqué vers le jeune épi et que ce dernier pouvait être colonisé ultérieurement par l'agent pathogène. Cela signifierait qu'une lignée résistante à l'invasion des hyphes de *Fusarium* serait capable d'inhiber la translocation du DON. Les derniers auteurs considèrent que la résistance au DON pourrait accroître le niveau de résistance et prévenir l'accumulation des trichothécènes. Sur le plan cytotologique, le cytoplasme de certains blés s'est révélé tolérant aux trichothécènes. Ceci s'expliquerait par une plus grande stabilité de la membrane et par la présence d'une peptidyl transférase modifiée (Miller, 1989; Wang et Miller, 1988).

## **Chapitre 5: Analyse des teneurs en acides phénoliques libres et liés des grains précoces et matures de quelques génotypes de blé dur**

Toutes les plantes contiennent des teneurs variables en acides phénoliques, métabolites jouant ainsi un rôle important dans les mécanismes de résistance en tant que constituants des parois cellulaires, en tant que composés antimicrobiens constitutifs des plantes ou induits en réponse à l'infection vis-à-vis de nombreuses maladies, en particulier la fusariose de l'épi du blé causée par les espèces de *Fusarium*. Ce pathogène pourrait être confronté à des acides phénoliques, soit au cours de sa germination, soit à l'état de mycélium, c'est-à-dire au moment de s'installer dans les grains. La présence de ces acides phénoliques dans les grains de blé, la variation de leur composition au cours de la cinétique de remplissage des grains de blé et en réponse à l'infection par *Fusarium* ont été étudiées. Dans notre cas, les teneurs en acides phénoliques solubles libres et insolubles liés aux parois ont été examinées dans deux stades essentiels : stade précoce (floraison) et stade mature (maturité complète du grain).

### **5.1. Méthode d'extraction des acides phénoliques solubles libres**

Les acides phénoliques des céréales se trouvent sous plusieurs formes : libres (solubles) et liés à la paroi végétale par des liaisons éthers ou esters.

Après une extraction des composés phénoliques au méthanol/eau (80/20, v/v), le pH est ajusté à 2 et les acides phénoliques libres sont extraits par une extraction liquide-liquide avec de l'acétate d'éthyle. A pH 2, les acides phénoliques sont plus solubles dans la phase organique que dans la phase aqueuse.

L'extraction phénolique est effectuée sur des épis récoltés au stade floraison (5 à 8 jours après floraison) et sur des grains à maturité complète (grains secs). Ces derniers ont été congelés à  $-80^{\circ}\text{C}$  et lyophilisés pendant 48 heures. Tous les échantillons ont été broyés avec un broyeur centrifuge (Tissuelyser, Retsh, Germany) (grille de 0,50 mm).

Pour l'extraction des acides phénoliques libres, 1 g d'échantillon broyé a été mis directement dans un tube de 50 mL. Les composés lipidiques sont éliminés avec une extraction à l'hexane : La poudre du blé est extraite deux fois avec 5 mL d'hexane, mise en agitation pendant 10 mn à une température ambiante. Après centrifugation à 5.000 rpm pendant 5 mn, la phase organique est éliminée et l'échantillon dans le corning est séché sous la hotte environ 60 mn. Ensuite, les composés d'intérêt sont extraits avec un mélange de 10

## **Chapitre 5: Analyse des teneurs en acides phénoliques libres et liés des grains précoces et matures de quelques géotypes de blé dur**

---

mL de méthanol/eau (80/20, v/v), purgé à l'azote pendant 10 s et agité sur la roue d'agitation pendant 30 minutes. Les échantillons sont ensuite centrifugés pendant 10 min à 5.000 rpm.

Les surnageants obtenus contiennent les composés phénoliques libres, et les culots (partie solide) contiennent les composés phénoliques liés à la paroi cellulaire. Un volume de 8 mL du surnageant a été prélevé de la partie solide puis mise à sécher sur boîte de Petri pendant une nuit pour permettre l'extraction des acides phénoliques liés. Les acides phénoliques libres ont été concentrés 2 fois par évaporation sous flux d'azote à 40 °C, et 6 mL d'eau ont été ajoutés. Les solutions aqueuses ont été acidifiées à l'aide d'HCl 1N à un pH de 2,0 ensuite 10 mL d'acétate d'éthyle ont été ajoutés. L'échantillon est agité pendant 5 mn et centrifugé 5 mn à 5.000 rpm. Ensuite, 8 mL de la phase organique (supérieure) sont prélevés dans un tube en verre de 10 mL, évaporés à sec sous flux d'azote. Avant le dosage par HPLC-DAD, l'extrait est repris avec 200 µl de MeOH/eau (50/50, v/v) et filtré sur un filtre de porosité 0,22 µm.

### **5.2. Méthode d'extraction des acides phénoliques insolubles liés aux parois**

Les acides phénoliques liés sont extraits à partir d'environ 100 mg de la partie solide (grains finement broyés). A cet effet, 4 mL d'hydroxyde de sodium (2 M) ont été ajoutés dans le tube. Après la purge à l'azote pendant 10 s, le tube a été agité pendant 2 h, puis les filtrats ont été acidifiés à pH 2 à l'aide d'acide chlorhydrique (12 M). Ensuite, les échantillons ont été extraits avec 5 mL d'acétate d'éthyle. Après centrifugation à 5.000 rpm pendant 5 mn, 4 mL de la phase d'acétate d'éthyle ont été prélevés dans un tube en verre de 10 mL. L'extraction a été répétée une seconde fois et 8 mL de la phase organique sont évaporés à sec à 40 °C sous flux d'azote. Enfin, les échantillons secs ont été repris dans 500 µL d'un mélange méthanol /eau (50:50, v/v) et filtrés sur un filtre de porosité de 0,22 µm.

### **5.3. Méthode de dosage des acides phénoliques par HPLC-DAD**

Les acides phénoliques (libres et liés) sont analysés par HPLC (High Performance Liquid Chromatography) couplée à un détecteur à barrette de diode (DAD) selon un protocole modifié et décrit par Atanasova-Penichon *et al.* (2014). Cette méthode a été mise au point pour séparer de nombreux composés d'acides phénoliques: acide chlorogénique, acide *p*-coumarique, acide cinapique, acide syringique, acide protocatéchique, acide trans-férulique, acide cis-férulique, acide vanillique, acide 8-5' DiFA, acide 5-5' DiFA, acide 8-O-4' DiFA et acide 8-5' Benzofuran DiFA. Ces composés ainsi que certaines de leurs caractéristiques sont

## Chapitre 5: Analyse des teneurs en acides phénoliques libres et liés des grains précoces et matures de quelques génotypes de blé dur

reportés dans le tableau 13. La séparation des acides phénoliques a été réalisée sur une colonne Kinetex 2,6U XB-C18 100A (150 x 4,6 mm) de Phenomenex (France) maintenue à 45 °C. La phase mobile était constituée par de l'eau acidifiée à 0,20 % d'acide formique (v/v) (solvant A) et d'acétonitrile acidifiée à 0,20 % d'acide formique (v/v) (solvant B). Les acides phénoliques sont séparés par un gradient d'élution de la façon suivante: de 5 à 15 % de B en 30 min, de 15 à 50 % de B en 10 min, de 50 à 90 % de B en 5 min, 90 % de B pendant 3 min, 90 à 5 % de B en 1 min, et 5 % de B pendant 10 min. Le volume d'injection était de 5 µL et le débit était maintenu à 1 mL/ min pour une durée totale de 68 min. Les spectres UV-VIS ont été enregistrés de 200 à 550 nm et les pics chromatographiques ont été mesurés à 260 nm, 280 nm et 320 nm selon des acides phénoliques étudiés. La quantification des acides phénoliques monomères et dimères d'acide férulique a été effectuée à l'aide d'une calibration externe réalisée avec des solutions étalons d'acides phénoliques préparées à partir de poudres pures commerciales achetées auprès de la firme Sigma-Aldrich (France).

**Tableau 13:** Caractéristiques des composés phénoliques séparés par la méthode d'analyse HPLC mise au point au cours de l'étude.

Composés phénoliques	Temps de rétention (T <sub>R</sub> en min)	λ max (nm)
Acides phénoliques (dérivés d'acides benzoïques)		
Acide protocatéchuïque	260	8,86
Acide vanillique	260	18,90
Acide syringique	280	21,70
Acides phénoliques (dérivés d'acides cinnamiques)		
Acide férulique	320	33,60
Acide <i>p</i> -coumarique	320	28,10
Acide sinapique	320	33,80
Acide chlorogénique	320	16,60
Dimères d'Acide Férulique (DiFA)		
8-5' DiFA (forme ouverte)	320	38,80
5-5' DiFA	320	42,80
8-O-4' DiFA	320	43,90
8-5' DiFA (forme benzofuran)	320	44,10

### 5.4. Analyse statistique des résultats

L'analyse statistique des résultats des acides phénoliques est réalisée à l'aide du logiciel statgraphics version 15.1.0. Ensuite une comparaison multiple des moyennes a été effectuée en utilisant le test de la ppds (plus petite différence significative) pour déterminer les groupes homogènes au seuil de signification de 5 %. Des coefficients de variation résiduels ont été calculés. Lorsque les caractères étudiés présentent une différence significative au niveau des génotypes, l'héritabilité au sens large a été calculée.

## **5.5. RESULTATS**

### **5.5.1. Evaluation des teneurs en acides phénoliques dans les grains précoces et matures**

Aux stades 5 à 8 jours après floraison (grains précoces) et maturité complète des grains (grains secs), la teneur en acides phénoliques libres et liés à la paroi végétale des génotypes étudiés, a été analysé par HPLC-DAD et présenté dans les tableaux 14 et 15. Les coefficients de variation résiduels et l'héritabilité au sens large ont été calculés et reportés dans les tableaux d'ANOVA de l'Annexe 4.

La comparaison des teneurs d'acides phénoliques libres et liés des grains précoces et matures, montre que ces dernières sont très importantes.

Dans les grains précoces, les résultats d'analyse pour les acides phénoliques libres ont révélé l'absence d'acide *cis*-fêrulique. Toutefois, les acides chlorogénique, *p*-coumarique, transfêrulique, sinapique, syringique, protocatéchique et vanillique ont été détectés dans les épis des génotypes. Ainsi, les teneurs d'acides chlorogénique et protocatéchique sont très faibles, alors que des teneurs en acides *p*-coumarique, syringique, vanillique et l'acide sinapique ont été détectées avec des quantités un peu plus élevées pour les trois derniers acides. Enfin, l'acide *trans*-fêrulique a été détecté avec des quantités importantes par rapport à tous les acides phénoliques libres des grains précoces. Cependant, dans tous les cas, leurs teneurs sont relativement très proches pour tous les génotypes.

Statistiquement, G<sub>1</sub> n'a pas présenté une différence significative avec les autres génotypes pour la teneur en acides chlorogénique, *p*-coumarique, *trans*-fêrulique, syringique et vanillique. Cependant, elle a présenté une différence significative avec la variété G<sub>11</sub> pour l'acide sinapique et protocatéchique.

Concernant les acides phénoliques liés au niveau des grains précoces, il est noté l'absence de l'acide sinapique et la présence des acides *p*-coumarique, fêrulique, syringique, vanillique et Dimères d'Acide Fêrulique (8-5'-DiFA, 5-5'-DiFA, 8-O-4'-DiFA et 8-5'-benzofuran-DiFA). En particulier, l'acide fêrulique est l'acide phénolique lié majoritaire qui présente des teneurs beaucoup plus élevées.

L'analyse statistique a révélé que G<sub>1</sub> a présenté une différence significative par rapport à G<sub>4</sub>, G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> pour l'acide *p*-coumarique, avec G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> pour l'acide fêrulique, avec G<sub>4</sub>, G<sub>9</sub> et G<sub>10</sub> pour l'acide syringique et avec G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub> pour DiFA (8-5'-DiFA, 5-5'-DiFA, 8-O-4'-

## Chapitre 5: Analyse des teneurs en acides phénoliques libres et liés des grains précoces et matures de quelques géotypes de blé dur

---

DiFA et 8-5'- benzofuran-DiFA), la somme des monomères et des DiFA. Aucune différence significative n'est constatée entre G<sub>1</sub> et les autres géotypes pour l'acide vanillique.

De ce fait, la lignée G<sub>1</sub> est toujours en première position en ayant la plus forte teneur en acides phénoliques liés par rapport aux autres géotypes. Elle a montré des teneurs de: 3098,99 µg/g de MS en acide *p*-coumarique, 4913,92 µg/g de MS en acide férulique, 27,06 µg/g de MS en acide syringique, 32,24 µg/g de MS en acide vanillique, 90,35 µg/g de MS en 8-5'-DiFA, 237,38 µg/g de MS en 5-5'-DiFA, 522,71 µg/g de MS en 8-O-4'-DiFA, 413,06 µg/g de MS en 8-5'- benzofuran-DiFA, 8064,39 µg/g de MS en monomères et 1299,48 en DiFA. D'après ces résultats, les teneurs en acides syringique et vanillique sont les plus faibles par rapport aux autres acides phénoliques liés (Tab. 14).

Dans les grains matures, les acides phénoliques libres: acide chlorogénique, acide *p*-coumarique, acide sinapique, acide syringique, acide protocatéchique et acide scis-férulique n'ont pas été détectés. Par contre, l'acide trans-férulique et l'acide vanillique ont été détectés mais avec des teneurs très faibles.

L'analyse statistique a révélé que G<sub>1</sub> a présenté une différence significative d'acide vanillique avec tous les géotypes. Pour l'acide trans-férulique, seule la variété G<sub>10</sub> n'a pas montré une différence significative avec G<sub>1</sub>, alors qu'elle a accumulé 0,65 µg/g d'acide vanillique et 0,50 µg/g d'acide trans-férulique. Ces quantités sont un peu supérieures à celles produites par les autres géotypes.

Concernant les acides phénoliques liés au niveau des grains matures, seul l'acide syringique n'a pas été détecté. En revanche, l'analyse des échantillons par HPLC-DAD a révélé la présence d'acide *p*-coumarique, férulique, sinapique, vanillique et quatre DiFA (8-5'-DiFA, 5-5'-DiFA, 8-O-4'-DiFA et 8-5'- benzofuran-DiFA). Dans ce cas, l'acide férulique est l'acide lié majoritaire et représente des teneurs beaucoup plus élevées par rapport aux autres acides.

Les analyses statistiques ont montré que G<sub>1</sub> a présenté une différence significative avec G<sub>10</sub> et G<sub>11</sub> en acide férulique et vanillique, 8-5'-DiFA, 8-O-4'-DiFA, somme des monomères et somme des DiFA. Pour les autres acides liés, il n'y a pas de différences significatives entre G<sub>1</sub> et les autres géotypes, sauf pour l'acide *p*-coumarique où G<sub>1</sub> a eu un effet statistiquement significatif uniquement avec la variété G<sub>9</sub>. De ce fait, quelque soit l'acide analysé, G<sub>1</sub> est classé toujours au premier rang et accumule des teneurs en acides phénoliques

## Chapitre 5: Analyse des teneurs en acides phénoliques libres et liés des grains précoces et matures de quelques génotypes de blé dur

liés dans leur grain plus importantes par rapport aux autres génotypes. En effet, elle a montré des teneurs de 21,62 µg/g de MS d'acide *p*-coumarique, 817,22 µg/g de MS d'acide férulique, 19,62 µg/g de MS d'acide sinapique, 6,25 µg/g de MS d'acide vanillique, 34,82 µg/g de MS en 8-5'-DiFA, 72,47 µg/g de MS en 5-5'-DiFA, 110,13 µg/g de MS en 8-O-4'-DiFA, 106,82 µg/g de MS en 8-5'-benzofuran-DiFA, 862,70 µg/g de MS monomères et 324,24 µg/g de MS en DiFA (Tab. 15).

**Tableau 14:** Concentrations moyennes des principaux composés phénoliques (libres et liés) contenus dans les épis récoltés au stade floraison des différents génotypes de blé dur (µg de MS)

Acides phénoliques		G1	G4	G9	G10	G11
L. Libres	Chlorogénique	0,57 ± 0,20 A	0,79 ± 0,40 A	0,69 ± 0,34 A	0,37 ± 0,16 A	0,85 ± 0,58 A
	P-coumanique	6,55 ± 1,82 A	5,71 ± 2,06 A	6,48 ± 1,07 A	5,42 ± 2,15 A	5,07 ± 2,03 A
	Tran-férulique	43,29 ± 9,61 A	49,97 ± 17,09 A	53,90 ± 8,91 A	56,72 ± 22,27 A	50,62 ± 21,14 A
	Sinapique	15,95 ± 2,25 AB	6,44 ± 4,51 A	21,48 ± 5,31 BC	20,69 ± 3,87 BC	28,04 ± 13,53 C
	Syringique	4,19 ± 1,08 A	4,45 ± 1,28 A	3,74 ± 1,02 A	3,19 ± 1,13 A	4,48 ± 0,89 A
	Protocatéchique	1,07 ± 0,16 A	1,30 ± 0,19 AB	1,34 ± 0,23 AB	1,20 ± 0,43 AB	1,53 ± 0,22 B
	Vanilique	4,59 ± 1,08 A	3,99 ± 0,93 A	3,64 ± 1,01 A	3,48 ± 0,96 A	4,14 ± 0,68 A
L. Liés	P-coumanique	3098,99 ± 1046,51 B	2047,35 ± 566,07 A	1443,49 ± 205,97 A	2120,61 ± 754,85 AB	1601,71 ± 912,32 A
	Férulique	4913,92 ± 1209,31 B	3839,93 ± 881,70 AB	2916,39 ± 492,68 A	3848,99 ± 1031,73 AB	3228,05 ± 1060,84 A
	Syringique	27,06 ± 9,29 B	16,53 ± 4,44 A	13,98 ± 3,33 A	18,14 ± 6,20 A	18,89 ± 7,89 AB
	Vanilique	24,42 ± 8,70 A	27,27 ± 19,46 A	16,20 ± 9,24 A	28,23 ± 13,41 A	32,24 ± 17,42 A
	8-5 DiFA	90,35 ± 26,42 C	74,20 ± 18,59 BC	52,36 ± 9,09 AB	66,92 ± 23,73 ABC	44,54 ± 17,78 A
	5-5 DiFA	273,38 ± 74,52 B	246,56 ± 75,10 AB	174,60 ± 44,11 A	206,11 ± 76,46 AB	156,11 ± 56,35 A
	8-O-4 DiFA	522,71 ± 162,99 B	440,31 ± 133,71 AB	302,48 ± 71,56 A	380,74 ± 153,37 AB	265,32 ± 111,32 A
	8-5 Bene DiFA	413,06 ± 127,66 B	347,69 ± 107,29 AB	231,95 ± 47,12 A	302,85 ± 114,67 AB	223,45 ± 95,58 A
<b>Somme des monomères (acides liés)</b>	<b>8064,39 ± 2264,77 B</b>	<b>5931,06 ± 1457,26 AB</b>	<b>4390,06 ± 697,01 A</b>	<b>6015,97 ± 1767,28 AB</b>	<b>4880,89 ± 1975,33 A</b>	
<b>Somme des dimères d'acide férulique</b>	<b>1299,48 ± 390,98 B</b>	<b>1108,77 ± 334,13 AB</b>	<b>761,38 ± 170,83 A</b>	<b>956,61 ± 367,97 AB</b>	<b>689,41 ± 281,43 A</b>	

**Note:** Moyennes de quatre répétitions. Les valeurs portant les mêmes lettres à l'intérieur d'une colonne ne sont pas statistiquement différentes au seuil de signification de 5 % selon le test de comparaisons multiples de Fisher LSD. Mean values ± standard deviation of means,

## Chapitre 5: Analyse des teneurs en acides phénoliques libres et liés des grains précoces et matures de quelques génotypes de blé dur

**Tableau 15:** Concentrations moyennes des principaux composés phénoliques (libres et liés) contenus dans les grains matures des différents génotypes de blé dur ( $\mu\text{g/g}$  de MS)

Acides phénoliques		G1	G4	G9	G10	G11
Libres	Trans-férulique	0,50 $\pm$ 0,05 B	0,29 $\pm$ 0,08 A	0,30 $\pm$ 0,04 A	0,46 $\pm$ 0,04 B	0,30 $\pm$ 0,05 A
	Vanilique	0,65 $\pm$ 0,03 B	0,46 $\pm$ 0,07 A	0,53 $\pm$ 0,02 A	0,51 $\pm$ 0,04 A	0,52 $\pm$ 0,05 A
Liés	P-coumanique	21,62 $\pm$ 8,93 B	21,48 $\pm$ 5,43 B	13,03 $\pm$ 2,52 A	15,02 $\pm$ 0,72 AB	14,14 $\pm$ 1,22 AB
	Férulique	817,22 $\pm$ 345,52 B	631,26 $\pm$ 134,77 AB	556,28 $\pm$ 112,97 AB	496,23 $\pm$ 51,34 A	496,04 $\pm$ 84,77 A
	Sinapique	17,61 $\pm$ 4,29 A	17,52 $\pm$ 9,86 A	19,62 $\pm$ 12,86 A	10,34 $\pm$ 3,75 A	13,43 $\pm$ 10,66 A
	Vanilique	6,25 $\pm$ 2,12 B	5,07 $\pm$ 1,07 AB	4,63 $\pm$ 1,02 AB	3,72 $\pm$ 0,09 A	3,96 $\pm$ 0,63 A
	8-5 DiFA	34,82 $\pm$ 14,78 B	25,46 $\pm$ 4,47 AB	23,43 $\pm$ 4,87 AB	20,06 $\pm$ 3,06 A	20,03 $\pm$ 1,54 A
	5-5 DiFA	72,47 $\pm$ 42,59 A	49,91 $\pm$ 13,36 A	53,38 $\pm$ 19,33 A	38,77 $\pm$ 6,76 A	39,83 $\pm$ 8,95 A
	8-O-4 DiFA	110,13 $\pm$ 53,73 B	79,39 $\pm$ 19,60 AB	78,22 $\pm$ 18,26 AB	64,73 $\pm$ 9,83 A	65,45 $\pm$ 7,56 A
	8-5 Bene DiFA	106,82 $\pm$ 49,73 A	83,16 $\pm$ 19,78 A	80,59 $\pm$ 22,84 A	65,92 $\pm$ 8,64 A	66,80 $\pm$ 8,30 A
Somme des monomères (acides liés)		862,70 $\pm$ 359,87 B	675,33 $\pm$ 141,97 AB	593,55 $\pm$ 128,60 AB	525,32 $\pm$ 50,34 A	527,57 $\pm$ 88,01 A
Somme des dimères d'acide férulique		324,24 $\pm$ 160,79 B	237,93 $\pm$ 56,75 AB	235,61 $\pm$ 65,05 AB	189,48 $\pm$ 28,16 A	192,12 $\pm$ 25,24 A

**Note :** Moyennes de trois répétitions. Les valeurs portant les mêmes lettres à l'intérieur d'une colonne ne sont pas statistiquement différentes au seuil de signification de 5 % selon le test de comparaisons multiples de Fisher LSD.

## **5.6. DISCUSSION**

Les résultats obtenus sur la variation des teneurs des acides phénoliques aux deux principaux stades de leur dosage, a montré que ces composés peuvent avoir une piste très intéressante pour identifier des géotypes accumulant peu de toxines. En effet, la résistance des plantes à la fusariose de l'épi serait liée à leur capacité de réduire l'accumulation des mycotoxines dans les grains. Cette aptitude peut résulter des composés phénoliques présents dans le grain jouant un rôle clef dans les mécanismes de résistance des plantes à la fusariose de l'épi et l'accumulation des mycotoxines. Parmi les composés phénoliques, les acides phénoliques sont des phénylpropanoïdes majeurs et dérivés directement soit de l'acide cinnamique soit de l'acide benzoïque. De plus, ces acides phénoliques existent sous une forme soluble (libres) ou sous une forme insoluble (liés aux parois cellulaires) (Anatasava *et al.*, 2014).

Pour mieux identifier les caractères biochimiques potentiels qui pourraient être liés à la plus faible sensibilité à la fusariose de la lignée sélectionnée G<sub>1</sub>, nous avons comparé les teneurs des composés en acides phénoliques dans les grains des cinq géotypes considérés dans la présente étude. Les analyses en composés phénoliques libres et liés ont été effectuées sur les cinq géotypes de blé dur à deux stades: le premier 5 à 8 jours après le stade floraison (grains précoces) et le second au stade maturité complète des grains (grains matures).

Nous avons montré qu'au niveau des échantillons analysés, plusieurs acides phénoliques sont présents et à des concentrations différentes mais d'autres sont absents. De plus, ces acides phénoliques existent sous forme soluble libre ou majoritairement présents sous forme insoluble liée aux parois cellulaires. Ce résultat est en accord avec les travaux réalisés par McCallum et Walker (1991) qui ont également rapporté que les acides phénoliques insolubles liés sont majoritaires.

Au stade 5 à 8 jours après floraison, la composition en acides phénoliques solubles (libres) et en acides phénoliques liés est largement supérieure à celle constatée au stade mature. Les travaux d'Atanasova-Penichon *et al.* (2012) rapportent que l'accumulation des composés phénoliques varie considérablement au cours du remplissage du grain dont le niveau est généralement le plus élevé au début du remplissage du grain, comme indiqué dans le maïs. Dans notre cas, les quantités en acides phénoliques libres et liés sont très différentes entre la lignée résistante G1 et les autres géotypes, en particulier par rapport aux deux

## Chapitre 5: Analyse des teneurs en acides phénoliques libres et liés des grains précoces et matures de quelques géotypes de blé dur

---

variétés sensibles G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub>. Ainsi, la lignée G<sub>1</sub> qui a accumulé peu de mycotoxines, contient plus d'acides phénoliques que les autres géotypes. Dans le même sens, plusieurs études antérieures ont montré que la nature des acides phénoliques des grains varient selon les variétés de blé (Lempereur *et al.*, 1997; Lempereur *et al.*, 1998; Moore *et al.*, 2006; Mpofo *et al.*, 2006; Peyron *et al.*, 2002; Regnier et Macheix, 1996). Ces composés pourraient être de bons candidats pour les caractéristiques de réduction de biosynthèse des mycotoxines dans les grains (Boutigny *et al.*, 2008).

Les acides phénoliques libres chlorogénique, *p*-coumarique, trans-férulique, sinapique, syringique, protocatéchique et vanillique ont été détectés dans les épis du blé au niveau de tous les géotypes. Plusieurs études ont signalé la présence de ces différents acides phénoliques dans le blé (Kim *et al.*, 2006; Onyeneho et Hettiarachchy, 1992; Zhou *et al.*, 2004). Dans notre cas, les acides *p*-coumarique, syringique et vanillique ont été détectés à des concentrations faibles et les acides chlorogénique et protocatéchique à des concentrations très faibles. L'écart entre les géotypes pour ces acides n'est pas vraiment important. L'acide trans-férulique est l'acide phénolique soluble libre qui représente la teneur la plus importante parmi les acides phénoliques solubles détectés. Pour cet acide, il n'y a pas de différences significatives entre les géotypes. McCallum et Walker (1991) ont étudié les changements en acides hydroxycinnamiques liés et solubles au cours du développement du grain de blé. L'analyse par HPLC a révélé que le taux d'acide trans-férulique diminuait dans la fraction soluble, mais que la fraction liée augmentait régulièrement au cours du développement des grains. De plus, la comparaison des cultivars étudiés a révélé des différences significatives dans la teneur en acide férulique par grain, 20 jours après l'émergence de l'épi mais peu de différence à maturité. L'acide sinapique est le deuxième acide majoritaire. Il est à noter que pour les acides trans-férulique et sinapique, la lignée G<sub>1</sub> a accumulé des quantités moindres par rapport aux deux variétés sensibles G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub>, cela s'explique probablement que cette lignée n'a pas encore formé ses parois cellulaires.

Au stade 5 à 8 jours après floraison, la teneur en acides phénoliques liés est beaucoup plus importante que celle des acides phénoliques libres au niveau de tous les géotypes. Pour la forme monomérique, l'acide férulique est l'acide majoritaire ensuite vient l'acide *p*-coumarique au deuxième rang. Pour ces deux acides, les quantités sont très importantes au niveau de tous les géotypes. En particulier, la lignée G<sub>1</sub> montre des quantités plus importantes que les autres géotypes, notamment par rapport aux deux variétés sensibles G<sub>9</sub> et

## Chapitre 5: Analyse des teneurs en acides phénoliques libres et liés des grains précoces et matures de quelques génotypes de blé dur

---

G<sub>11</sub>. Les génotypes moyennement résistants (G<sub>4</sub> et G<sub>10</sub>) ont présenté des teneurs moyennes qui se situent entre les résistants et les sensibles. Ces résultats corroborent ceux obtenus par McKeehen *et al.* (1999) qui ont remarqué que la variété résistante (cv. Sumai) avait synthétisé des concentrations plus élevées d'acide férulique lié que la variété sensible (cv. Roblin) au cours des 25 premiers jours après l'anthèse. En effet, la teneur en acide férulique au niveau de la variété Sumai était le double que celle de la variété Roblin à 7 jours après l'anthèse (1400 contre 700 µg/100 grains). Conjointement avec l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique peut contribuer de manière significative aux mécanismes de résistance des plantes par l'enrichissement de la paroi cellulaire et la lignification (Atanasova-Penichon *et al.*, 2016). Comme l'anthèse est le moment où les variétés sont les plus sensibles à l'infection, les résultats de McKeehen *et al.* (1999) suggèrent que l'acide férulique et l'acide *p*-coumarique peuvent potentiellement contribuer à la résistance aux maladies. Donc, nos résultats montrant des niveaux plus élevés d'acide *p*-coumarique dans les génotypes de blé dur, corroborent l'importance de la composition des parois cellulaires dans la prévention de la progression de *F. culmorum* (résistance de type II).

Les acides syringique et vanillique sont présents dans les épis des génotypes mais avec des quantités faibles et un écart entre les génotypes qui n'est pas important. Pour les DiFA, les résultats montrent que leur composition est moins importante que celle des acides férulique et *p*-coumarique mais elle est plus importante que celle des acides syringique et vanillique. En effet, les 8-5 bene DiFA et 8-O-4 DiFA sont les deux acides majoritaires des DiFA représentant ainsi des quantités sensiblement proches entre eux. Le 5-5- DiFA est le troisième DiFA enfin vient le 8-5- DiFA avec des teneurs plus faibles que les autres DiFA. Par ailleurs, la somme des monomères est largement supérieure à celle des DiFA.

En comparant les génotypes, la teneur en acide phénolique lié quelconque (forme monomérique et DiFA) chez la lignée G<sub>1</sub> est largement supérieure à celle des autres génotypes, en particulier les variétés sensibles (G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub>), à l'exception de l'acide vanillique où la lignée G<sub>1</sub> a présenté une teneur moins importante que celle de G<sub>4</sub>, G<sub>10</sub> et G<sub>11</sub>. On peut supposer que cette lignée n'a pas encore constitué ses parois cellulaires.

Au stade maturité complète, la teneur en acides phénoliques libres représenté uniquement par l'acide trans-férulique et l'acide vanillique était très faible dans les grains au niveau de tous les génotypes. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Kim *et al.*

## Chapitre 5: Analyse des teneurs en acides phénoliques libres et liés des grains précoces et matures de quelques génotypes de blé dur

---

(2006) qui ont rapporté que les acides férulique, vanillique et syringique étaient les principaux acides phénoliques individuels dans le son de blé. Cependant, au niveau de nos résultats la quantité en ces deux acides est légèrement élevée chez la lignée G<sub>1</sub> comparativement aux autres génotypes; la teneur en acides phénoliques liés (forme monomérique) représentés par les acides férulique, *p*-coumarique, sinapique et vanillique ont été détectés dans les grains de tous les génotypes avec des concentrations différentes et à des niveaux assez élevés. Des variations qualitatives des teneurs en acides phénoliques ont déjà été observées au cours de la maturation des grains de blé (McKeehen *et al.*, 1999).

Pour les cinq génotypes, l'acide férulique est l'acide phénolique insoluble lié aux parois largement majoritaire avec le pourcentage le plus élevé. Ce résultat est comparable avec plusieurs travaux de recherche qui l'ont signalé comme le plus abondant dans le son de blé (Kim *et al.*, 2006; Moore *et al.*, 2006; Mpofo *et al.*, 2006; Parker *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2004), sachant aussi que la teneur en acide férulique varie d'une variété de blé à l'autre (Moore *et al.*, 2006; Mpofo *et al.*, 2006). *In planta*, l'acide férulique est largement majoritaire dans les grains et a clairement un effet inhibiteur de la biosynthèse des toxines par toutes les isolats de *Fusarium* testés, y compris les différents chémotypes et différentes espèces en culture *in vitro* (Boutigny *et al.*, 2009). En outre, l'acide férulique est l'acide phénolique primaire le plus abondant dans le grain de blé, et est principalement responsable de l'activité antioxydante du blé, en particulier dans la fraction de son (Leváková et Lacko-Bartošová, 2017). L'acide *p*-coumarique est le deuxième acide majoritaire suivi de l'acide cinapique et enfin l'acide vanillique. Egalement, Boutigny (2007) rapporte que quelques jours après le stade floraison (10-12 et 20 jours après floraison), l'acide *p*-coumarique est le deuxième acide phénolique majoritaire. Ce même chercheur a trouvé aussi qu'au stade maturité, les acides *p*-coumarique et sinapique représentent les acides phénoliques majoritaires après l'acide férulique. Des variations qualitatives des teneurs en acides phénoliques ont déjà été observées au cours de la maturation des grains de blé (McKeehen *et al.*, 1999).

Par ailleurs, la teneur en DiFA des génotypes est moins importante que celle de l'acide férulique. En effet, les 8-O-4 DiFA et 8-5 bene DiFA sont les deux DiFA majoritaires avec des quantités très proches, vient ensuite le 5-5 DiFA avec des quantités moyennes et enfin le 8-5 DiFA avec des quantités moindres. De plus, la somme des monomères est largement supérieure à celle des DiFA au niveau de tous les génotypes.

## Chapitre 5: Analyse des teneurs en acides phénoliques libres et liés des grains précoces et matures de quelques génotypes de blé dur

---

Comparant les génotypes, la teneur en acide phénolique lié quelconque (forme monomérique et DiFA) chez la lignée G<sub>1</sub> est largement supérieure à celle des autres génotypes, en particulier aux variétés sensibles (G<sub>9</sub> et G<sub>11</sub>), à l'exception de l'acide sinapique dont on n'a pas constaté de différences importantes.

L'ensemble des résultats obtenus sur les acides phénoliques montre que ces derniers semblent fonctionner dans la réponse de défense par interférence directe avec le champignon ou par le renforcement des composants structuraux de la plante pour agir comme une barrière mécanique contre le pathogène. En outre, leur capacité reconnue à inhiber *in vitro* la production de mycotoxines (Boutigny *et al.*, 2008, Ferruz *et al.*, 2016, Pani *et al.*, 2016), suggère qu'ils peuvent également réduire spécifiquement l'accumulation de trichothécène dans les plantules. Nos données mettent en évidence une très faible fraction d'acides phénoliques libres dans les grains mûrs de blé dur (moins de 0,1 % de l'acide phénolique total dans les grains), principalement composée d'acide vanillique et férulique, corroborant les résultats précédemment publiés d'Irakli *et al.* (2012), Li *et al.* (2008) et Shewry *et al.* (2013). Lorsque l'on considère les acides phénoliques liés, leur somme se situe entre 0,5 et 0,8 g kg<sup>-1</sup> pour les formes monomères et 0,2 à 0,3 g kg<sup>-1</sup> pour les formes dimères. Ces valeurs sont significativement plus élevées que celles rapportées dans la littérature et obtenues avec d'autres génotypes cultivés dans d'autres zones de culture (Hernandez *et al.*, 2011; Shewry *et al.*, 2013). Ce sont deux facteurs qui ont significativement affecté l'accumulation d'acide phénolique dans les amandes (Li *et al.*, 2008). L'acide férulique et l'acide *p*-coumarique étaient les deux formes dominantes monomériques conjuguées des acides phénoliques, alors que les formes dimères étaient essentiellement composées de déshydrodimères d'acide férulique, étayant des données précédemment publiées sur les profils d'acides phénoliques liés à la paroi cellulaire (Atanasova-Penichon *et al.*, 2016, Laddomada *et al.*, 2015).

En classant les cinq génotypes considérés dans notre étude en fonction de leur teneur en acides phénoliques, la lignée sélectionnée G<sub>1</sub> se classe toujours en tête, même si les différences ne sont pas systématiquement significatives, principalement en raison de grandes variations entre les blocs.

### Conclusion générale et perspectives

En Algérie, la production céréalière moyenne reste limitée pour couvrir les besoins de la consommation sans cesse croissants. Ce déficit place le pays comme premier importateur de blé dans le monde. Cette faible production est due à plusieurs facteurs d'ordre agronomique (date et dose de semis, choix variétal, préparation du sol, fertilisation...) et phytosanitaire (insectes, champignons, bactéries, virus...) dont les attaques par la fusariose de l'épi sont confirmées par les analyses réalisées en laboratoire et qui ont montré notamment une proportion élevée de grains contaminés par plusieurs espèces de *Fusarium*.

Aujourd'hui, et devant la difficulté de maîtriser la maladie, ainsi que les effets néfastes des mycotoxines, les travaux de sélection se sont orientés vers l'amélioration génétique par l'obtention de génotypes de blé productifs et plus résistants à l'accumulation de mycotoxines. Cette lutte génétique s'avère donc être le meilleur moyen pour les agriculteurs.

L'état actuel dans la recherche est pratiquement examiné en référence à la sélection génétique pour la résistance à la fusariose de l'épi de blé, qui n'est pas spécifique. Les composantes de la résistance comprennent la résistance à la pénétration, la résistance à la colonisation et les mécanismes qui influencent la teneur en mycotoxines dans les grains. La résistance à *Fusarium* chez le blé est un caractère quantitatif avec une héritabilité relativement élevée et contrôlée par quelques gènes ayant un effet majeur.

Une réduction de la contamination des céréales par les mycotoxines pourrait également limiter l'infection fongique, car les trichothécènes ont été signalés comme des facteurs de virulence. Les mécanismes expliquant le faible caractère d'accumulation des toxines, généralement appelé résistance au *Fusarium* de type V, peuvent être subdivisés en deux classes. La classe 1 comprend des mécanismes par lesquels les plantes transforment chimiquement les trichothécènes, entraînant leur dégradation ou leur détoxification. La classe 2 comprend des mécanismes qui conduisent à une réduction de l'accumulation de mycotoxines en inhibant leur bio-synthèse par l'action de composés végétaux endogènes (Boutigny *et al.*, 2008). Une des pistes visant à comprendre les mécanismes régissant cette tolérance se focalise sur les composés phénoliques. En effet, beaucoup de ces composés ont été corrélés à des phénotypes tolérants au développement du champignon et/ou à l'accumulation de toxines (Merlet, 2015).

## Conclusion générale et perspectives

---

Notre travail de recherche s'est inscrit dans le but de comparer et comprendre la résistance d'une nouvelle lignée de blé dur (G<sub>1</sub>: Saadi × Waha 431) nouvellement sélectionnée par rapport à 2 variétés commerciales sensibles (G<sub>9</sub>: Siméto et G<sub>11</sub>: Ardente barbe blanche) et 2 autres géotypes moyennement résistants (G<sub>4</sub>: Ardente × Siméto 133 et G<sub>10</sub>: Ardente barbe blanche) vis-à-vis de quatre espèces de *Fusarium* inoculées artificiellement sur épi au stade floraison. Cette lignée a été choisie, après études préalables montrant un niveau de résistance appréciable à l'égard de la fusariose de l'épi.

En effet, les résultats d'identification préalable des pathogènes en jumelant les deux techniques (caractérisation morphologique et moléculaire) ont montré que 60 % des espèces identifiées étaient représentées par *F. culmorum* (6/10), une espèce très dominante en Algérie, confirmée par plusieurs études antérieures. Il est mis également en évidence la présence de deux isolats de *F. pseudograminearum*, un isolat de *F. graminearum* et un isolat de *F. cerealis*.

Les dix isolats des quatre espèces de *Fusarium* isolées en Algérie ont été caractérisés pour leur chémotype par des analyses moléculaires. Parmi ces isolats, 8 ayant le chémotype DON/3-ADON et les deux autres isolats ayant le chémotype NIV/FX. Ces chémotypes prédits ont été confirmés par analyse des toxines produites *in vitro* lorsque le *Fusarium* est cultivé sur des grains de riz (Touati-Hattab *et al.*, 2016). Globalement, nos résultats montrent que l'accumulation du DON dans les grains est plus élevée que celle du NIV. Cet effet chémotypique avec une propagation légèrement moins rapide des isolats producteurs du NIV/FX dans les épis a été abondamment décrit auparavant pour *F. culmorum* et a également été observé pour l'espèce *F. graminearum*. Cependant, en termes de symptômes, la différence d'agressivité entre les deux chémotypes reste modérée dans notre expérience, par rapport aux données de la littérature, suggérant que nos deux isolats obtenus en Algérie producteurs du NIV (F.C.T<sub>5</sub> et F.C.T<sub>7</sub>), sont très agressifs.

Par ailleurs, l'inoculation artificielle avec des isolats de *Fusarium* appartenant à différentes espèces a été réalisée. Ainsi, les symptômes et le développement fongique ont été comparés. Sur la base d'expériences de terrain en Algérie avec différents isolats des quatre espèces de *Fusarium*, les résultats rapportés dans la présente étude ont montré que les deux lignées, et surtout la lignée G<sub>1</sub>, étaient moins sensibles à la fusariose par rapport à quelques variétés commerciales. Non seulement, ils expriment la résistance à cette maladie causée par

## Conclusion générale et perspectives

---

le genre *Fusarium*, mais aussi à l'accumulation de trichothécènes et au développement du pathogène dans le grain.

La deuxième partie de ce travail a porté sur la caractérisation biochimique des trichothécènes de type B (TCTB), de l'ergostérol et des acides phénoliques. Les résultats obtenus ont révélé que les lignées issues de croisements ont présenté une résistance plus élevée que leurs parents ayant montré une accumulation de TCTB et de l'ergostérol significativement plus faible. Dans nos conditions de cultures, aucun génotype n'a marqué une résistance complète (immunité) à la maladie, en particulier la lignée G1 a présenté un bon niveau de résistance dans nos conditions. En effet, les valeurs de la toxine et de l'ergostérol associées à la G<sub>1</sub> étaient de 5 à 10 fois inférieures à celles évaluées pour les variétés commerciales sensibles. Concernant les résultats globaux sur la composition en acides phénoliques, il y a la prédominance des formes monomériques et dimères de l'acide férulique dans les grains de blé dur mature, ainsi que des concentrations supérieures d'acides phénoliques libres et liés aux parois cellulaires dans les grains de la lignée G<sub>1</sub>.

D'une manière générale, les résultats présentés ici ont montré la possibilité de sélectionner de nouveaux génotypes de blé dur adaptés aux contraintes climatiques algériennes et présentant une meilleure tolérance à la FHB. La stabilité environnementale de cette tolérance améliorée doit cependant être confirmée par des expériences d'inoculation répétées sur des environnements variables (années et emplacements). En outre, nos données représentent un nouvel argument pour le rôle de la composition de la paroi cellulaire dans la résistance de type II à *F. culmorum*. Nous confirmons les hypothèses de Lionetti *et al.* (2015) et Lahlali *et al.* (2016), qui suggèrent que les caractères de la paroi cellulaire pourraient potentiellement être utilisés comme marqueurs moléculaires pour la sélection de cultivars de blé dur ayant une résistance accrue à la fusariose.

Les réalisations et les perspectives de la sélection du blé pour la résistance à la fusariose de l'épi de blé en Algérie sont à prendre en considération dans les prochains travaux de recherche. Tout d'abord, il y a un besoin urgent pour la résistance à la brûlure de l'épi dans les futures variétés de blé, que ce soit celles obtenues par sélection conventionnelle, par l'utilisation de marqueurs moléculaires ou par une approche transgénique, ou encore par une combinaison de ces différentes d'approches. Un niveau plus élevé de résistance à la brûlure de l'épi causée par les espèces de *Fusarium* sera garanti pour l'agriculteur des risques plus faibles de la perte de récolte touchée par la réduction du rendement en grains, de la qualité médiocre

## Conclusion générale et perspectives

---

et de la contamination par les mycotoxines. Ensuite, les marqueurs moléculaires offrent de nombreuses nouvelles possibilités pour l'amélioration de la résistance génétique du blé à l'égard des espèces toxigènes du *Fusarium*. Cependant, les coûts de ces approches limitent leur large application. Les progrès dans leur développement et application dépendront du financement disponible et de la coopération des universités et des instituts de recherche avec les sélectionneurs de blé. La prise en charge de l'amélioration des plantes par les grandes entreprises peut soutenir un développement rapide et une large application de la biologie moléculaire dans la sélection du blé. Cela peut être démontré par le nombre croissant de marqueurs moléculaires disponibles des gènes de résistance. Non seulement l'application des techniques moléculaires, mais aussi la sélection conventionnelle du blé deviendra plus onéreuse, car la résistance à un plus grand nombre de maladies doit être considérée. Les coûts de reproduction peuvent également augmenter car un échange libre de sources de résistance sera probablement restreint à l'avenir. Enfin, pour aller plus loin dans la recherche des caractères biochimiques qui pourraient être impliqués, il faut mettre en évidence la plus faible sensibilité de la lignée sélectionnée G<sub>1</sub> ou d'autres variétés du blé à sélectionner dans les futurs programmes de sélection. Il serait certainement très pertinent de considérer, en plus des phénylpropanoïdes, d'autres composés candidats impliqués dans la composition de la paroi cellulaire.

### Références bibliographiques

1. **Abedi-Tizaki, M., Sabbagh, S.K. 2012.** Morphological and molecular identification of *Fusarium* head blight isolates from wheat in north of Iran. *Australian Journal of Crop Science* 6 (9), 1356-1361.
2. **Adom, K.K., Liu, R.H. 2002.** Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (21), 6182-6187.
3. **AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), 2006.** Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale, rapport synthétique, 82 p.
4. **Agrios, G.N. 2005.** Plant Pathology. Fifth edition, Elsevier Academic Press, San Diego, CA, 962 p.
5. **Alabouvette, C., Olivain, C., Steinberg, C. 2006.** Biological control of plant diseases: The European Situation. *Eur. J. Plant Pathol.* 114 (3), 329–341.
6. **Aldred, A., Magan, N., 2004.** Prevention strategies for trichothecenes. *Toxicol. Lett.* 153, 165-171.
7. **Alexander, N.J., Proctor, R.H., McCormick, S.P., Plattner, R.D. 1997.** Generic and molecular aspects of the biosynthesis of trichothecenes by *Fusarium*. *Cereal Research Communications*, 25, 315–320.
8. **Aoki, T., O'Donnell, K. 1999.** Morphological and Molecular Characterization of *Fusarium pseudograminearum* sp. nov., Formerly Recognized as the Group 1 Population of *F. graminearum*. *Mycologia*, Vol. 91, No. 4 (Jul. - Aug., 1999), pp. 597-609.
9. **Assabgui, R.A., Reid, L.M., Hamilton, R.I., Arnason, J.T. 1993.** Correlation of kernel (E)-ferulic acid content maize with resistance to *Fusarium graminearum*. *Phytopathology* 83, 949–953.
10. **Atanasova-Penichon, V., Pons, S., Pinson-Gadais, L., Picot, A., Marchegay, G., Bonnin-Verdal, M.N., Ducos, C., Barreau, C., Roucolle, J., Sehabiague, P., Carolo, P., Richard-Forget, F. 2012.** Chlorogenic acid and maize ear rot resistance: a dynamic study investigating *Fusarium graminearum* development, deoxynivalenol production, and phenolic acid accumulation. *Mol. Plant Microbe Interact.* 25, 1605-1616.

## Références bibliographiques

---

11. **Atanasova-Penichon, V., Richard-Forget, F. 2014.** Les phytomicronutriments des céréales: un élément de résistance à la fusariose et à l'accumulation de mycotoxines. *Innovations Agronomiques* 42, 63-76.
12. **Atanasova-Penichon, V., Bernillon, S., Marchegay, G., Lornac, A., Pinson-Gadais, L., Ponts, N., Zehraoui, E., Barreau, C., Richard-Forget, F. 2014.** Bioguided isolation, characterization, and biotransformation by *Fusarium verticillioides* of maize kernel compounds that inhibit fumonisin production. *Mol. Plant Microbe Interact.* 27, 1148-1158.
13. **Atanasova-Penichon, V., Barreau, C., Richard-Forget, F. 2016.** Antioxidant secondary metabolites in cereals: potential involvement in resistance to *Fusarium* and mycotoxin accumulation. *Frontiers in Microbiology*, 7, 556.
14. **Atanassov, Z., Nakamura, C., Yoshizawa, T., Kato, H., Murai, K., Kaneda, C. 1993.** Effect of *Fusarium* mycotoxins on wheat response to *Fusarium* head blight. *Wheat Information Service*, 76: 50-52.
15. **Atlin, G.N., Enerson, P.M., McGirr, L.G., Hunter, R.B. 1983.** Gibberella Ear Rot development and zearalenone and vomitoxin production as affected by maize genotype and *Gibberella zeae* strain. *Can. J. Plant Sci.* 63: 847-853.
16. **Bai, G., Shaner, G. 1994.** Scab of wheat: prospects for control. *Plant Disease* 78, 760–766. **In: Ferrigo, D., Raiola, A., Causin, R. 2016.** *Fusarium* toxins in cereals: occurrence, legislation, factors promoting the appearance and their management. *Molecules*, 21 (627), 1-35.
17. **Bai, G., Shaner, G. 2004.** Management and resistance in wheat and barley to *Fusarium* head blight. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 135–161.
18. **Bakan, B., Bily, A.C., Melcion, D., Cahagnier, B., Regnault-Roger, C., Philogène, B.J., Richard-Molard, D. 2003.** Possible role of plant phenolics in the production of trichothecenes by *Fusarium graminearum* strains on different fractions of maize kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (9), 2826-2831.
19. **Balmer, D., de Papajewski Dv Fau-Planchamp, C., Planchamp C Fau - Glauser, G., Glauser G Fau-Mauch-Mani, B., Mauch-Mani, B. 2013.** Induced resistance in maize is based on organ-specific defence responses.
20. **Beekrum, S., Govinden, R., Padayachee, T., Odhav, B. 2003.** Naturally occurring phenols: a detoxification strategy for fumonisin B1. *Food. Addit. Contam.* 20, 490–493.

## Références bibliographiques

---

21. **Bernicot, M.H. 1995.** Les variétés de blé dur: les performances en 2004. *Cultivar*, 387:50-57.
22. **Bhat, R., Rai, R.V., Karim, A.A. 2010.** Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. *Com. Rev. Food Sci. Food Saf.* 9, 57–81.
23. **Bily, A.C., Reid, L.M., Taylor, J.H., Johnston, D., Malouin, C., Burt, A.J., Bakan, B., Regnault-Roger, C., Pauls, K.P., Arnason, J.T., Philogene, B.J.R. 2003.** Dehydrodimers of ferulic acid in maize grain pericarp and aleurone: resistance factors to *Fusarium graminearum*. *Phytopathology*, 93 (6), 712-719.
24. **Bollina, V., Kumaraswamy, G.K., Kushalappa, A.C., Choo, T.M., Dion, Y., Rioux, S., Faubert, D., Hamzehzarghani, H. 2010.** Mass spectrometry-based metabolomics application to identify quantitative resistance-related metabolites in barley against *Fusarium* head blight. *Mol. Plant Pathol.* 11, 769–781.
25. **Bottalico, A. 1998.** *Fusarium* Diseases of Cereals: Species complex and related mycotoxin profiles in Europe. *J. Plant Pathol.* 80: 85–103.
26. **Bottalico, A., Perrone, G. 2002.** Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *Eur. J. Plant Pathol.* 108: 611–624.
27. **Boufenar-Zaghouane, F., Zaghouane, O. 2006.** Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). 1<sup>ère</sup> Edition. Institut Technique des Grandes Cultures ITGC-ICARDA, Alger, 154 p.
28. **Boutigny, A. L. 2007.** Etude de l'effet de composés du grain de blé dur sur la régulation de la voie de biosynthèse des trichothécènes B purification de composés inhibiteurs, analyse des mécanismes impliqués. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux, France, 438 p.
29. **Boutigny, A.L., Richard-Forget, F., Barreau, C. 2008.** Natural mechanisms for cereal resistance to the accumulation of *Fusarium* trichothecenes. *European Journal of Plant Pathology*, 121, 411-423.
30. **Boutigny, A.L., Barreau, C., Atanasova-Penichon, V., Verdal-Bonnin, M.N., Pinson-Gadais, L., Richard-Forget, F. 2009.** Ferulic acid, an efficient inhibitor of type B trichothecene biosynthesis and Tri gene expression in *Fusarium* liquid cultures. *Mycological research*, 113 (6-7), 746-753.
31. **Boz, H. 2015.** Ferulic Acid in Cereals--a Review. *Czech Journal of Food Science*, 33 (1), 1-7.

## Références bibliographiques

---

32. **Buerstmayr, H., Steiner, B., Lemmens, M., Ruckenbauer, P. 2000.** Resistance to Fusarium head blight in winter wheat: heritability and trait associations. *Crop Science*, 40 (4), 1012-1018. **In: Ferrigo, D., Raiola, A., Causin, R. 2016.** Fusarium toxins in cereals: occurrence, legislation, factors promoting the appearance and their management. *Molecules*, 21 (627), 1-35.
33. **Buerstmayr, H., Ban, T., Anderson, J.A. 2009.** QTL mapping and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat: a review. *Plant breeding*, 128 (1), 1-26.
34. **Buerstmayr, M., Buerstmayr, H. 2015.** Comparative mapping of quantitative trait loci for Fusarium head blight resistance and anther retention in the winter wheat population Capo× Arina. *Theoretical and Applied Genetics*, 128 (8), 1519-1530.
35. **Burgess, L.W., Liddell, C.M., Summerel, B.A. 1988.** Laboratory Manual for *Fusarium* Research. 2<sup>nd</sup> ed. University of Sydney, Sydney, Australia, pp. 156. **In: Nelson, P.E., Dignani, M.C., Anaissie, E.J. 1994.** Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clin. Microbiol. Rev.*, 7: 479-504.
36. **Burrows, M., Grey, W., & Dyer, A. 2008.** Fusarium head blight (scab) of wheat and barley. Montana State University Extension, MT200806AG. Bozeman, Montana.
37. **Burt, C., Steed, A., Gosman, N., Lemmens, M., Bird, N., Ramirez-Gonzalez, R., Holdgate, S., Nicholson, P. 2015.** Mapping a Type 1 FHB resistance on chromosome 4AS of *Triticum macha* and deployment in combination with two Type 2 resistances. *Theoretical and Applied Genetics*, 128 (9), 1725-1738.
38. **Cantu, D., Vicente, A.R., Labavitch, J.M., Bennett, A.B., Powell, A.L. 2008.** Strangers in the matrix: plant cell walls and pathogen susceptibility. *Trends in plant science*, 13 (11), 610-617.
39. **Champeil, A., Fourbet, J.F., Dore, T., Rossignol, L. 2004.** Influence of cropping system on Fusarium head blight and mycotoxin levels in winter wheat. *Crop Prot.*, 23: 531–537.
40. **Cheli, F., Gallo, R., Battaglia, D., Dell’Orto, V. 2013.** EU legislation on feed related issues: An update. *Ital. J. Anim. Sci.* 12 (2), 295–312.
41. **Cheli, F., Battaglia, D., Gallo, R., Dell’Orto, V. 2014.** EU legislation on cereal safety: An update with a focus on mycotoxins. *Food Control*, 37, 315–325.

## Références bibliographiques

---

42. **Choo, T.M., Martin, R.A., Savard, M.E., Blackwell, B. 2014.** Effects of planting date and earliness on deoxynivalenol contamination in barley under natural epidemic conditions. *Canadian journal of plant science*, 94 (8), 1363-1371.
43. **Chulze, S.N., Palazzini, J.M., Torres, A.M., Barros, G., Ponsone, M.L., Geisen, R., Schmidt-Heydt, M., Köhl, J. 2015.** Biological control as a strategy to reduce the impact of mycotoxins in peanuts, grapes and cereals in Argentina. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 32 (4), 471-479.
44. **Clear, R., Patrick, S. 2006.** *Fusarium* head blight in western Canada. Canadian Grain Commission. / <http://grainscanada.gc.ca> > .
45. **Commission Regulation (EU) 1881/2006 of 19 December 2006** setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Off. J. L 2006, 364, 5–24.
46. **Commission Recommendation N° 2013/165/EU of 27 March 2013** on the presence of T-2 and HT-2 toxin in cereals and cereal products. Off. J. L. 2013, 91, 12–15.
47. **Couvreur, F. 1981.** La culture de blé se raisonne. *Cultivar*, 140: 39-41.
48. **Covarelli, L., Beccari, G., Prodi, A., Generotti, S., Etruschi, F., Juan, C., Ferrer, E., Manes, J. 2015.** *Fusarium* species, chemo-type characterisation and trichothecene contamination of durum and soft wheat in an area of central Italy. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95 (3), 540-551.
49. **Dambolena, J.S., López, A.G., Cánepa, M.C., Theumer, M.G., Zygadlo, J.A., Rubinstein, H.R. 2008.** Inhibitory effect of cyclic terpenes (limonene, menthol, menthone and thymol) on *Fusarium verticillioides* MRC 826 growth and fumonisin B1 biosynthesis. *Toxicon*, 51 (1), 37-44.
50. **D'Angelo, D.L., Bradley, C.A., Ames, K.A., Willyerd, K.T., Madden, L.V., Paul, P.A. 2014.** Efficacy of fungicide applications during and after anthesis against *Fusarium* head blight and deoxynivalenol in soft red winter wheat. *Plant Disease*, 98 (10), 1387-1397.
51. **Das, A.K., Singh, V. 2015.** Antioxidative free and bound phenolic constituents in pericarp, germ and endosperm of Indian dent (*Zea mays* var. *indentata*) and flint (*Zea mays* var. *indurata*) maize. *Journal of Functional Foods*, 13, 363-374.
52. **De Boevre, M., Landschoot, S., Audenaert, K., Maene, P., Di Mavungu, J.D., Eeckhout, M., Haesaert, G., De Saeger, S. 2014.** Occurrence and within field variability of *Fusarium* mycotoxins and their masked forms in maize crops in Belgium. *World Mycotoxin J.* 7, 91-102.

## Références bibliographiques

---

53. **Demeke, T., Clear, R.M., Patrick, S.K., Gaba, D. 2005.** Species-specific PCR-based assays for the detection of *Fusarium* species and a comparison with the whole seed agar plate method and trichothecene analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 103: 271–284.
54. **Desjardins, A.E. 2006.** *Fusarium* mycotoxins Chemistry, Genetics and Biology, pages 13-19. *The American Phytopathol. Soc.* APS Press.
55. **Desjardins, A.E., Proctor, R.H. 2007.** *Molecular biology of Fusarium mycotoxins.* *Int. J. Food Microbiol.*, 119: 47–50.
56. **Dewanto, V., Wu, X., Liu, R.H. 2002.** Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 50 (17), 4959-4964.
57. **Didwania, N., Joshi, M. 2013.** Mycotoxins: a critical review on occurrence and significance. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 5(3): 1014-1019.
58. **Dubin, H.J., Gilchrist, L., Reeves, A.F., McNab, A. 1997.** *Fusarium* head scab: global status and prospects. CIMMYT, Mexico, D.F. pp: 130.
59. **Dweba, C.C., Figlan, S., Shimelis, H.A., Motaung, T.E., Sydenham, S., Mwadzingeni, L., Tsilo, T.J., 2017.** *Fusarium* head blight of wheat: Pathogenesis and control strategies. *Crop Protection*, 91, 114-122.
60. **Dykes, L., Rooney, L.W., 2007.** Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Foods World*, 52: 105-111.
61. **Edwards, S.G. 2004.** Influence of agricultural practices on *Fusarium* infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. *Toxicol. Lett.* 153 (1), 29–35.
62. **Elias, E., Manthey, F., Stack, R., Kianian, S. 2005.** Breeding efforts to develop *Fusarium* head blight resistant durum wheat in North Dakota. In: Canty, S., Lewis, J., Siler, L., Ward, R. 2005. (eds) Proceedings of the National *Fusarium* head blight forum. 2005 Dec 11-13. East Lansing: Michigan State University, Milwaukee, WI, pp 25-26.
63. **Eriksen, G.S. 2003.** Metabolism and toxicity of trichothecenes. PhD Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, 400:1–38.
64. **Eudes, F. 1998.** Etude de l'impact des trichothécènes de *Fusarium* chez le blé et sélection *in vitro* pour la résistance à la fusariose de l'épi. Thèse Ph.D., Université de Laval, Québec, pp. 83 p+ annexes.

65. **Eudes, F., Comeau, A., Rioux, S., Collin, J. 2000.** Phytotoxicité de huit mycotoxines associées à la fusariose de l'épi chez le blé, *Canadian Journal of Plant Pathology*, (22), 3: 286-292.
66. **FAO-Food and Agriculture Organization.** Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003. In FAO Food and Nutrition Paper 81; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 2004; Available online: <http://www.fao.org/docrep/007/y5499e/y5499e00.htm> (accessed on 13 November 2015).
67. **Feldman, M. 2001.** Origin of cultivated wheat. In: Bonjean AP, Angus WJ (eds) The world wheat book. A history of wheat breeding. Lavoisier Publishing, Paris, pp3–56. **In: Nazco, R., Peña, R.J., Ammar, K., Villegas, D., Crossa, J., Royo, C. 2014.** Durum wheat Mediterranean landraces as sources of variability for allelic combinations at Glu-1/Glu-3 loci affecting gluten strength and pasta cooking quality. *Genet. Resour. Crop. Evol.* doi: 10.1007/s10722-014-0104-7.
68. **Ferrigo, D., Raiola, A., Rasera, R., Causin, R. 2014.** *Trichoderma harzianum* seed treatment controls *Fusarium verticillioides* colonization and fumonisin contamination in maize under field conditions. *Crop Protection*, 65, 51-56.
69. **Ferrigo, D., Raiola, A., Causin, R. 2016.** *Fusarium* toxins in cereals: occurrence, legislation, factors promoting the appearance and their management. *Molecules*, 21 (627), 1-35.
70. **Ferruz, E., Atanasova-Pénichon, V., Bonnin-Verdal, M.N., Marchegay, G., Pinson-Gadais, L., Ducos, C., Lorán, S., Ariño, A., Barreau, C., Richard-Forget, F. 2016.** Effects of phenolic acids on the growth and production of T-2 and HT-2 toxins by *Fusarium langsethiae* and *F. sporotrichioides*. *Molecules*, 21:449.
71. **Forget–Richard, F., Oswald, I. 2012.** Mycotoxines: quelles avancées scientifiques pour une meilleure maîtrise des risques? *Innovations Agronomiques*, 24: 17-33.
72. **Foroud, N.A., Eudes, F. 2009.** Trichothecenes in cereal grains. *Int. J. Mol. Sci.*, 10: 147-173.
73. **García-Olmedo, F., Rodríguez Palenzuela, P., Molina Fernández, A., Alamillo, J.M., Lopez Solanilla, E., Berrocal Lobo, M., Poza Carrion, C. 2001.** Antibiotic activities of peptides, hydrogen peroxide and peroxy-nitrite in plant defence. *FEBS letters*, 498 (2-3), 219-222.
74. **Gate, P., Dagneaud J., Vignier, L. 1991.** Bilan climatique des céréales: Principaux faits marquants et comportement variétal. *Rev. Perspectives agricoles*, 163: 77- 86.

## Références bibliographiques

---

75. **Gate, P., Bouthier, A., Wozrica, K., Manzo, M.E. 1992.** La tolérance de variétés de blé tendre d'hiver à la sécheresse: Premier résultat ITCF. *Perspectives agricoles*, 145: 17-27.
76. **Gauthier, L., Atanasova-Penichon, V., Chereau, S., Richard-Forget, F. 2015.** Metabolomics to decipher the chemical defense of cereals against *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol accumulation. *Int. J. Mol. Sci.*, 16: 24839–24872.
77. **Gauthier, L., Bonnin-Verdal, M.N., Marchegay, G., Pinson-Gadais, L., Ducos, C., Richard-Forget, F., Atanasova-Penichon, V. 2016.** Fungal biotransformation of chlorogenic and caffeic acids by *Fusarium graminearum*: New insights in the contribution of phenolic acids to resistance to deoxynivalenol accumulation in cereals. *International journal of food microbiology*, 221, 61-68.
78. **Giraldo, P., Royo, C., González, M., Carrillo, J.M., Ruiz, M. 2016.** Genetic diversity and association mapping for agromorphological and grain quality traits of a structured collection of durum wheat landraces including subsp. *durum*, *turgidum* and *diccocon*. *PLOS ONE* 11(11): e0166577. doi:10.1371/journal.pone.0166577.
79. **Giménez, M.J., Gil-Humanes, J., Alvarez, J.B., Barro, F., 2015.** Cereals Taxonomy: The Role of Domestication and Breeding on Gluten Intolerance. Doi: <http://dx.doi.org/10.3926/oms.263>. In: **Arranz, E., Fernández-Bañares, F., Rosell, C.M., Rodrigo, L., Peña, A.S.** editors. *Advances in the Understanding of Gluten Related Pathology and the Evolution of Gluten-Free Foods*. Barcelona, Spain: Omnia Science; 2015. p. 493-526.
80. **Glynn, N.C., Hare, M.C., Parry, D.W., Edwards, S.G. 2005.** Phylogenetic analysis of EF-1 alpha gene sequences from isolates of *Microdochium nivale* leads to elevation of varieties *majus* and *nivale* to species status. *Mycol. Res.* 109 (8), 872–80.
81. **Goswami, R.S., Kistler, H.C. 2004.** Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Molec. Plant Pathol.* 5: 515–525.
82. **Grignac, P. 1981.** Limites de potentialités de production dans différents systèmes de cultures et dans différentes zones méditerranéennes. Agrimed. Séminaire Bari, Italie. Ed.11. Les colloques, 1178: 185-195.
83. **Guiraud, P., Steiman, R., Seiglemurandi, F., Benoitguyod, J.L. 1995.** Comparison of the toxicity of various lignin-related phenolic compounds toward selected fungi perfecti and fungi imperfecti. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 32 (1), 29-33.

## Références bibliographiques

---

84. **Gunnaiah, R., Kushalappa, A.C., Duggavathi, R., Fox, S., Somers, D.J. 2012.** Integrated metabolo-proteomic approach to decipher the mechanisms by which wheat QTL (FHB1) contributes to resistance against *Fusarium graminearum*. *PLoS ONE* 2012, doi:10.1371/journal.pone.0040695.
85. **Hadjout, S. 2013.** Etude comparative (*in vitro* et *in situ*) de quelques lignées sélectionnées de blé dur et de variétés cultivées pour leur comportement à la fusariose de l'épi causée par *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. et *Fusarium graminearum* Schwabe. Mém. Magis. El-Harrach, Alger, 101 p.
86. **Hadjout, S., Chéreau, S., Atanasova-Pénichon, V., Marchegay, G., Mekliche, L., Boureghda, H., Barreau C., Touati-Hattab S., Bouznad, Z. & Richard-Forget, F. 2017.** Phenotypic and biochemical characterization of new advanced durum wheat breeding lines from algeria that show resistance to *Fusarium* head blight and to mycotoxin accumulation. *Journal of Plant Pathology*, 99 (3), 671-680.
87. **He, X., Singh, P.K., Schlang, N., Duveiller, E., Dreisigacker, S., Payne, T., He, Z. 2014.** Characterization of Chinese wheat germplasm for resistance to *Fusarium* head blight at CIMMYT, Mexico. *Euphytica*, 195 (3), 383-395.
88. **Hematy, K., Cherk, C., Somerville, S. 2009.** Host–pathogen warfare at the plant cell wall. *Current opinion in plant biology*, 12 (4), 406-413.
89. **Hernandez, L., Afonso, D., Rodriguez, E.M., Diaz, C. 2011.** Phenolic compounds in wheat grain cultivars. *Plant Foods Hum. Nutr.* 66: 408-415.
90. **Ichinoe, M., Kurata, H., Sugiura, Y., Ueno, Y. 1983.** Chemotaxonomy of *Gibberella zeae* with special reference to production of trichothecenes and zearalenone. *Applied and Environmental Microbiology*, 46: 1364-1369.
91. **Irakli, M.N., Samanidou, V.F., Biliaderis, C.G., Papadoyannis, I.N. 2012.** Development and validation of an HPLC-method for determination of free and bound phenolic acids in cereals after solid-phase extraction. *Food chemistry*, 134 (3), 1624-1632.
92. **Juan, C., Ritieni, A., Manes, J. 2012.** Determination of trichothecenes and zearalenones in grain cereal, flour and bread by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 134: 2389-2397.
93. **Jurado, M., Vázquez, C., Patino, B., González-Jaén, M.T. 2005.** PCR detection assays for the trichothecene producing species *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae*, *Fusarium equiseti* and *Fusarium sporotrichioides*. *Syst. Appl. Microbiol.*, 28: 562–568.

94. **Kabbaj, H., Sall, A.T., Al-Abdallat, A., Geleta, M., Amri, A., Filali-Maltouf, A., Belkadi, B., Ortiz, R., Bassi, F.M. 2017.** Genetic Diversity within a Global Panel of Durum Wheat (*Triticum durum*) Landraces and Modern Germplasm Reveals the History of Alleles Exchange. *Front. Plant Sci.* 8: 1277. doi: 10.3389/fpls.2017.01277.
95. **Kant, P., Reinprecht, Y., Martin, C.J., Islam, R., & Pauls, K.P. 2011.** Disease resistance/pathology/*Fusarium*.
96. **Karlovsky, P. 2011.** Biological detoxification of the mycotoxin deoxynivalenol and its use in genetically engineered crops and feed additives. *Applied microbiology and biotechnology*, 91 (3), 491-504.
97. **Kim, K.H., Tsao, R., Yang, R., Cui, S.W. 2006.** Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry*, 95, 466-473.
98. **Kimura, M., Tokai, T., O'Donnell, K., Ward, T.J., Fujimura, M., Hamamoto, H., Shibata, T., Yamaguchi, I. 2003.** The trichothecene biosynthesis gene cluster of *Fusarium graminearum* F15 contains a limited number of essential pathway genes and expressed non-essential genes. *FEBS Lett.*, 539: 105–110.
99. **Kluger, B., Bueschl, C., Lemmens, M., Michlmayr, H., Malachova, A., Koutnik, A., Maloku, I., Berthiller, F., Adam, G., Krska, R., Schuhmacher R. 2015.** Biotransformation of the mycotoxin deoxynivalenol in *Fusarium* resistant and susceptible near isogenic wheat lines. *PLoS ONE* 2015, doi:10.1371/journal.pone.0119656.
100. **Koch, P. 2004.** State of the art of trichothecenes analysis. *Toxicol. Lett.*, 153: 109-112.
101. **Kosiak, B., Skjerve, E., Thrane, U., Torp, M. 2003.** The prevalence and distribution of *Fusarium* species in Norwegian cereals: a survey. *Acta Agric. Scand.* 53, 168-176.
102. **Kostyn, K., Czemplik, M., Kulma, A., Bortniczuk, M., Skala, J., Szopa, J. 2012.** Genes of phenylpropanoid pathway are activated in early response to *Fusarium* attack in flax plants. *Plant Sci.* 190, 103–115.
103. **Krska, R., Baumgartner, S., Josephs, R. 2001.** The state-of-the-art in the analysis of type-A and -B trichothecene mycotoxins in cereals. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 371: 285–299.

## Références bibliographiques

---

104. **Kumaraswamy, G.K. 2012.** Differential metabolic response of barley genotypes, varying in resistance, to trichothecene-producing and -nonproducing (*tri5*-) isolates of *Fusarium graminearum*. *Plant Pathol.* 61, 509–521.
105. **Laddomada, B., Caretto, S., Mita, G. 2015.** Wheat bran phenolic acids: bioavailability and stability in whole wheat-based foods. *Molecules*, 20: 15666-15685.
106. **Lahlali, R., Kumar, S., Wang, L.P., Forseille, L., Sylvain, N., Korbas, M., Muir, D., Swerhone, G., Lawrence, J.R., Fobert, P.R., Peng, G., Karunakaran, C. 2016.** Cell wall biomolecular composition plays a potential role in the host type ii resistance to *Fusarium* head blight in wheat. *Frontiers in Microbiology*, 7.
107. **Langseth, W., Rundberget, T. 1998.** Instrumental methods for determination of nonmacrocytic trichothecenes in cereals, foodstuffs and cultures [Review]. *Journal of Chromatography A*, 815: 103–121.
108. **Laraba, I., Boureghda, H., Abdallah, N., Bouaicha, O., Obanor, F., Moretti, A., Geiser, M.D., Kim, H., McCormick, S.P., Proctor, R.H., Kelly, A.C., Ward, T.J., O'Donnell, K. 2017.** Population genetic structure and mycotoxin potential of the wheat crown rot and head blight pathogen *Fusarium culmorum* in Algeria. *Fungal Genetics and Biology*, 103: 34-41.
109. **Lattanzio, V., Lattanzio, V.M., Cardinali, A. 2006.** Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry: Advances in research*, 661, 23-67.
110. **Lattanzio, V.M.T., Pascale, M., Visconti, A. 2009.** Current analytical methods for trichothecene mycotoxins in cereals. *Trends in Analytical Chemistry*, (28), 6: 758–768.
111. **Lees, A. 1995.** Diagnosis and Control of Foot Rot Pathogens of Wheat. Buckinghamshire, UK: Open University, PhD thesis.
112. **Legrand, F., Picot, A., Cobo-Díaz, J.F., Chen, W., Le Floch, G. 2017.** Challenges facing the biological control strategies for the management of *Fusarium* head blight of cereals caused by *F. graminearum*. *Biological Control*, 113, 26-38.
113. **Lempereur, I., Rouau, X., Abecassis, J. 1997.** Genetic and agronomic variation in arabinoxylan and ferulic acid contents of durum wheat (*Triticum durum* L.) grain and its milling fractions. *Journal of Cereal Science*, 25, 103-110.
114. **Lempereur, I., Surget, A., Rouau, X. 1998.** Variability in dehydrodiferulic acid composition of durum wheat (*Triticum durum* desf.) and distribution in milling fractions. *Journal of Cereal Science*, 28, 251-258.

## Références bibliographiques

---

115. **Leslie, J.F., Summerell, B.A. 2006.** The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishers, Ames, Iowa, USA. 388 pp. **In: Abedi-Tizaki, M., Sabbagh, S.K. 2012.** Morphological and molecular identification of *Fusarium* head blight isolates from wheat in north of Iran. *Australian Journal of Crop Science*, 6 (9): 1356-1361.
116. **Leváková, Ľ., Lacko-Bartošová, M. 2017.** Phenolic acids and antioxidant activity of wheat species: a review. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*, 63 (3), 92-101.
117. **Li, L., Shewry, P.R., Ward, J.L. 2008.** Phenolic acids in wheat varieties in the health grain diversity screen. *J. Agric. Food Chem.* 56: 9732-9739.
118. **Li, H.L., Yuan, H.X., Fu, B., Xing, X.P., Sun, B.J., & Tang, W.H. 2012.** First report of *Fusarium pseudograminearum* causing crown rot of wheat in Henan, China. *Plant Disease*, 96 (7), 1065-1065.
119. **Lieneman, K. 2002.** Incidence of *Fusarium* species in winter wheat in the Rhineland and possibilities of control with special reference to wheat cultivars. Ph.D. Thesis, Universität Bonn, Germany, 2002.
120. **Lindhout, P. 2002.** The perspectives of polygenic resistance in breeding for durable disease resistance. *Euphytica*, 124: 217- 226.
121. **Lionetti, V., Giancaspro, A., Fabri, E., Giove, S. L., Reem, N., Zabolina, O.A., Blanco, A., Gadaleta, A., Bellincampi, D. 2015.** Cell wall traits as potential resources to improve resistance of durum wheat against *Fusarium graminearum*. *Bmc Plant Biology*, 15.
122. **Liu, R.H. 2007.** Whole grain phytochemicals and health. *J. Cereal Sci.* 46: 207-219.
123. **Liyana-Pathirana, C., Dexter, J., Shahidi, F. 2006.** Antioxidant properties of wheat as affected by pearling. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54 (17), 6177-6184.
124. **Luongo, L., Galli, M., Corazza, L., Meekes, E., Haas, L.D., Plas, C.L.V.D., Köhl, J., 2005.** Potential of fungal antagonists for biocontrol of *Fusarium* spp. in wheat and maize through competition in crop debris. *Biocontrol Sci. Technol.* 15 (3), 229–242.
125. **Lu, Q., Lillemo, M., Skinnnes, H., He, X., Shi, J., Ji, F., Dong, Y., Bjørnstad, Å. 2013.** Anther extrusion and plant height are associated with Type I resistance to *Fusarium* head blight in bread wheat line ‘Shanghai-3/Catbird’. *Theoretical and Applied Genetics*, 126 (2), 317-334.
126. **Machida, Y., Nozoe, S. 1972.** Biosynthesis of trichothecin and related compounds. *Tetrahedron*, 28: 5113-5117.

127. **MacKey, J. 2005.** Wheat, its concept, evolution and taxonomy. **In: Royo, C., Nachit, M., Di Fonzo, N., Araus, J.L., Pfeiffer, W.H., Slafer GA (eds)** Durum wheat breeding: current approaches and future strategies, vol 1. Haworth Press, New York, pp 3–61. **In: Nazco, R., Peña, R.J., Ammar, K., Villegas, D., Crossa, J., Royo, C. 2014.** Durum wheat Mediterranean landraces as sources of variability for allelic combinations at Glu-1/Glu-3 loci affecting gluten strength and pasta cooking quality. *Genet. Resour. Crop Evol.* doi: [10.1007/s10722-014-0104-7](https://doi.org/10.1007/s10722-014-0104-7)
128. **Marin, S., Ramos, A.J., Sanchis, V. 2005.** Comparison of methods for the assessment of growth of food spoilage moulds in solid substrates. *International Journal of Food Microbiology*, 99, 329-341.
129. **Matarese, F., Sarrocco, S., Gruber, S., Seidl-Seiboth, V., Vannacci, G. 2012.** Biocontrol of *Fusarium* head blight: interactions between *Trichoderma* and mycotoxigenic *Fusarium*. *Microbiology*, 158 (1), 98-106.
130. **McCallum, J.A., Walker, J.R., 1991.** Phenolic biosynthesis during grain development in wheat (*Triticum aestivum* L.) III. Changes in hydroxycinnamic acids during grain development. *Journal of Cereal Science*, 13 (2), 161-172.
131. **McKeehen, J.D., Busch, R.H., Fulcher, R.G. 1999.** Evaluation of wheat (*Triticum aestivum* L.) phenolic acids during grain development and their contribution to *Fusarium* resistance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (4), 1476-1482.
132. **McCallum, J.A., Walker, J.R.L. 1991.** Phenolic biosynthesis during grain development in wheat (*Triticum aestivum* L.) III. Changes in hydroxycinnamic acids during grain development. *Journal of Cereal Science*, 13, 161-172.
133. **McMullen, M., Jones, R., Gallenberg, D. 1997.** Scab of wheat and barley: a re-emerging disease of devastating impact. *Plant Dis.* 81 (12), 1340–1348.
134. **McMullen, M., Bergstrom, G., De Wolf, E., Dill-Macky, R., Hershman, D., Shaner, G., Van Sanford, D. 2012.** A unified effort to fight an enemy of wheat and barley: *Fusarium* head blight. *Plant Dis.* 96: 1712–1728.
135. **Mekliche, A., Dahlia, F., Hanifi-Mekliche, L., 2013.** Agro-morphological diversity and stability of durum wheat lines (*Triticum durum* Desf.) in Algeria. *Acta Agronomica Hungarica*, 61 (2), pp. 149-159.
136. **Merlet, L. 2015.** Effet des acides phénoliques et des flavonoïdes sur la toxicogénèse par *Fusarium*. Rapport de stage. En ligne, URL : <http://dune.univ-angers.fr/fichiers/14004004/20153MABTV4370/fichier/4370F.pdf>.

137. **Mesterhazy, A., Bartok, T., Mirocha, C.G., Komoroczy R. 1999.** Nature of wheat resistance to *Fusarium* head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. *Plant Breed.* 118: 97-110.
138. **Mesterhazy, A. 2002.** Role of deoxynivalenol in aggressiveness of *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* and in resistance to *Fusarium* head blight. *Eur. J. Plant Pathol.* 108, 675–684.
139. **Mesterházy, Á., Tóth, B., Varga, M., Bartók, T., Szabó-Hevér, Á., Farády, L., Lehoczki-Krsjak, S. 2011.** Role of Fungicides, of Nozzle Types, and the Resistance Level of Wheat Varieties in the Control of *Fusarium* head blight and Deoxynivalenol. *Toxins*, 3 (11), 1453-1483.
140. **Michel, V. 2001.** La sélection de variétés de blé et de triticales résistantes aux maladies. *Revue Suisse Agric.* 33 (4): 133-140.
141. **Miedaner, T., Reinbrecht, C., Schilling, A. 2000.** Association among aggressiveness, fungal colonization, and mycotoxin production of 26 isolates of *Fusarium graminearum* in winter rye head blight. *Zeitschrift für Pflanzkrankheiten und Pflanzenschutz*, 107, 124-134.
142. **Miedaner, T., Reinbrecht, C., Lauber, U., Schollenberger, M., & Geiger, H.H. 2001.** Effects of genotype and genotype-environment interaction on deoxynivalenol accumulation and resistance to *Fusarium* head blight in rye, triticales, and wheat. *Plant Breeding*, 120, 97-105.
143. **Miedaner, T., Moldovan A., Ittu, M. 2003.** Comparison of spray and point inoculation to assess resistance to *Fusarium* head blight in a multi-environment wheat trial. *Phytopathology*, 93: 1068-1072.
144. **Miedes, E., Vanholme, R., Boerjan, W., Molina, A. 2014.** The role of the secondary cell wall in plant resistance to pathogens. *Frontiers in plant science*, 5, 358.
145. **Miller, J.D., Young, J.C., Sampson, D.R. 1985.** Deoxynivalenol and *Fusarium* head blight resistance in spring cereals. *J. Phytopathol.* 113, 359–367.
146. **Miller, J.D., Arnison, P.G. 1986.** Degradation of deoxynivalenol by suspension cultures of the *Fusarium* head blight resistant wheat cultivar Frontana. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 8, 147-150. <http://dx.doi.org/10.1080/07060668609501818>.

## Références bibliographiques

---

147. **Miller, J.D. 1989.** Effect of *Fusarium graminearum* metabolites on wheat cells. Pages 449-4. In: **Graniti, A., Durbin, R.D., Ballio A.** (réds.), Phytotoxins and plant pathogenesis. Vt H27. NATO ASI Series, Capri.
148. **Mirocha, C.J., Xie, W., Xu, Y., Wilcoxson, R.D., Woodward, R.P., Etebarian, R.H., & Behele, G. 1994.** Production of trichothecene mycotoxins by *Eusarium graminearum* and *Eusarium culmorum* on barley and wheat. *Mycopathologia*, 128, 19-23.
149. **Montibus, M., Ducos, C., Bonnin-Verdal, M.N., Bormann, J., Ponts, N., Richard-Forget, F., & Barreau, C. 2013.** The bZIP transcription factor Fgap1 mediates oxidative stress response and trichothecene biosynthesis but not virulence in *Fusarium graminearum*. *PLoS ONE*, 8 (12), e83377.
150. **Moss, M.O., Thrane, U. 2004.** *Fusarium* taxonomy with relation to trichothecene formation. *Toxicol. Lett.*, 153: 23–28.
151. **Moore, J., Liu, J.G., Zhou, K.Q., Yu, L.L. 2006.** Effects of genotype and environment on the antioxidant properties of hard winter wheat bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5313-5322.
152. **Moragues, M., García del Moral, L.F., Moralejo, M., Royo, C. 2006.** Yield formation strategies of durum wheat landraces with distinct pattern of dispersal within the Mediterranean basin. I. Yield components, *Field Crops Research*, 95:194–205.
153. **Mourellos, C.A., Malbrán, I., Balatti, P.A., Ghiringhelli, P.D., Lori, G.A. 2014.** Gramineous and non-gramineous weed species as alternative hosts of *Fusarium graminearum*, causal agent of Fusarium head blight of wheat, in Argentina. *Crop Protection*, 65, 100-104.
154. **Moya-Elizondo, E.A., Jacobsen, B.J., 2016.** Integrated management of Fusarium crown rot of wheat using fungicide seed treatment, cultivar resistance, and induction of systemic acquired resistance (SAR). *Biological control*, 92, 153-163.
155. **Mpofu, A., Sapirstein, H.D., Beta, T. 2006.** Genotype and environmental variation in phenolic content, phenolic acid composition, and antioxidant activity of hard spring wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1265-1270.
156. **Murphy, P.A., Hendrich, S. Landgren, C., Bryant, C.M. 2006.** Food mycotoxins: An update. *Journal of Food Science*, 71 (5), R51-R65.
157. **Muthomi, J.W., Schütze, A., Dehne, H.W., Mutitu, E.W., Oerke, E.C. 2000.** Characterization of *Fusarium culmorum* isolates by mycotoxin production and aggressiveness to winter wheat. *J. Plant Dis. Prot.* 107, 113-123.

## Références bibliographiques

---

158. Nakajima, T., Yoshida, M., Tomimura, K. 2008. Effect of lodging on the level of mycotoxins in wheat, barley, and rice infected with the *Fusarium graminearum* species complex. *Journal of General Plant Pathology*, 74 (4), 289.
159. Ndolo, V.U., Beta, T. 2014. Comparative studies on composition and distribution of phenolic acids in cereal grain botanical fractions. *Cereal Chemistry*, 91 (5), 522-530.
160. Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, University Park. E Londra, PA, 193 pp.
161. Nevo, E., Korol, A.B., Beiles, A., Tzion, F. 2002. Evolution of wild emmer and wheat improvement: population genetics, genetic resources, and genome organization of wheat's progenitor, *Triticum dicoccoides*. xxii, 364 p. <http://www.springer.com/978-3-540-41750-7>
162. Nicholson, R.L., Hammerschmidt, R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 30, 369–389.
163. Nicholson, P., Lees, A.K., Maurin, N., Parry, D.W., Rezanoor, H.N. 1996. Development of a PCR assay to identify and quantify *Microdochium nivale* var. *nivale* and *Microdochium nivale* var. *majus* in wheat. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 48: 257-271.
164. Nicholson, P., Simpson, D., Weston, G., Rezanoor, H.N., Lees, A.K., Parry, D.W., Joyce, D. 1998. Detection and quantification of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* in cereals using PCR assays. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 53: 17–37.
165. Nielsen, L.K., Jensen, J.D., Nielsen, G.C., Jensen, J.E., Spliid, N.H., Thomsen, I.K., Justesen, A.F., Collinge, D.B., Jørgensen, L.N. 2011. Fusarium head blight of cereals in Denmark: species complex and related mycotoxins. *Phytopathology*, 101: 960-969.
166. Oerke, E.C., Meier, A., Lienemann, G., Muthomi, J. 2002. Incidence and control of *Fusarium* species causing head blight in the Rhineland, Germany. In: Wissenschaftlichen Fachtagung: *Fusarium*-befall and Mykotoxinbelastung von Getreide Schadverdichtungen in Ackerbo-den, 2001. Landwirtschaftliche Fakultät der Rheinischen FriedrichWilhelms-Universität Bonn, Germany, pp. 32–44. In: Shah, L., Ali, A., Yahya, M., Zhu, Y., Wang, S., Si, H., ... & Ma, C. 2018. Integrated control of Fusarium head blight and deoxynivalenol mycotoxin in wheat. *Review Article*. doi: 10.1111/ppa.12785.

## Références bibliographiques

---

167. **Onyeneho, S.N., Hettiarachchy, N.S. 1992.** Antioxidant activity of durum wheat bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1496-1500.
168. **Osmane, M., He, X., Benedettelli, S., & Singh, P.K. 2016.** Trichothecene genotypes of *Fusarium graminearum* species complex and *F. cerealis* isolates from Mexican cereals. *Journal of Plant Pathology*, 331-336.
169. **Pan, D., Mionetto, A., Tiscornia, S., Bettucci, L. 2015.** Endophytic bacteria from wheat grain as biocontrol agents of *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol production in wheat. *Mycotoxin research*, 31 (3), 137-143.
170. **Pani, G., Scherm, B., Azara, E., Balmas, V., Jahanshiri, Z., Carta, P., Fabbri, D., Dettori, M.A., Fadda, A., Dessi, A., Dallochio, R., Migheli, Q., Delogu, G. 2014.** Natural and natural-like phenolic inhibitors of type B trichothecene in vitro production by the wheat (*Triticum* sp.) pathogen *Fusarium culmorum*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62 (22), 4969-4978.
171. **Pani, G., Dessi, A., Dallochio, R., Scherm, B., Azara, E., Delogu, G., Migheli, Q. 2016.** Natural phenolic inhibitors of trichothecene biosynthesis by the wheat fungal pathogen. *Fusarium culmorum*: A computational insight into the structure-activity relationship. *Plos one* 11.
172. **Parker, M.L., Ng, A., Waldron, K.W. 2005.** The phenolic acid and polysaccharide composition of cell walls of bran layers of mature wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Avalon) grains. *J. Sci. Food Agric.* 85: 2539-2547.
173. **Parry, D.W., Jenkinson, P., McLeod, L. 1995.** Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals – a review. *Plant Pathol.* 4: 207-238.
174. **Parsons, M.W., Munkvold, G.P. 2012.** Effects of planting date and environmental factors on Fusarium ear rot symptoms and fumonisin B1 accumulation in maize grown in six North American locations. *Plant pathology*, 61 (6), 1130-1142.
175. **Pascale, M., Bottalico, A., Pancaldi, D., Perrone, G., Visconti, A. 2002.** Occurrence of deoxynivalenol in cereals from experimental field in various Italian regions. *Petria* 12: 123-129.
176. **Pasquali, M., Migheli, Q. 2014.** Genetic approaches to chemotype determination in type B-trichothecene producing *Fusaria*. *International Journal of Food Microbiology*, 189, 164–182.
177. **Paul, P.A., Lipps, P.E., Hershman, D.E., McMullen, M.P., Draper, M.A., Madden, L.V. 2008.** Efficacy of triazole-based fungicides for Fusarium head blight and

## Références bibliographiques

---

- deoxynivalenol control in wheat: A multivariate meta-analysis. *Phytopathology*, 98 (9), 999-1011.
178. **Pereyra, S.A., Dill-Macky, R., Sims, A.L. 2004.** Survival and inoculum production of *Gibberella zeae* in wheat residue. *Plant Disease*, 88, 724-730.
179. **Perkowski, J., Kiecana, I., Schumacher, U., Müller, H.-M., Chelkowski, J., Golinski, P. 1996.** Head blight and biosynthesis of *Fusarium* toxins in barley kernels field inoculated with *Fusarium culmorum*. *European Journal of Plant Pathology*, 102, 491-496.
180. **Peyron, S., Surget, A., Mabile, F., Autran, J. C., Rouau, X., Abecassis, J. 2002.** Evaluation of tissue dissociation of durum wheat grain (*Triticum durum* Desf.) generated by the milling process. *Journal of Cereal Science*, 36, 199-208.
181. **Pinotti, L., Ottoboni, M., Giromini, C., Dell'Orto, V., Cheli, F. 2016.** Mycotoxin contamination in the EU feed supply chain: A focus on cereal byproducts. *Toxins*, 8 (45), 1-24.
182. **Pirgozliev, S.R., Edwards, S.G., Hare, M.C., Jenkinson, P. 2003.** Strategies for the control of *Fusarium* head blight in cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 109 (7), 731-742.
183. **Ponts, N., Pinson-Gadais, L., Barreau, C., Richard-Forget, F., Ouellet, T. 2007.** Exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and catalase treatments interfere with tri genes expression in liquid cultures of *Fusarium graminearum*. *FEBS Lett.* 581, 443-447.
184. **Ponts, N., Pinson-Gadais, L., Boutigny, A.L., Barreau, C., Richard-Forget, F. 2011.** Cinnamic-derived acids significantly affect *Fusarium graminearum* growth and *in vitro* synthesis of type B trichothecenes. *Phytopathology*, 101 (8), 929-934.
185. **Postic, J., Cosic, J., Vrandecic, K., Jurkovic, D., Saleh, A.A., Leslie, J.F. 2012.** Diversity of *Fusarium* species isolated from weeds and plant debris in Croatia. *Journal of phytopathology*, 160 (2), 76-81.
186. **Prat, N., Buerstmayr, M., Steiner, B., Robert, O., and Buerstmayr, H. 2014.** Current knowledge on resistance to *Fusarium* head blight in tetraploid wheat. *Molecular Breeding*, 34:1689-1699.
187. **Prat, N. 2016.** Genetic characterization of *Fusarium* head blight resistance in durum wheat. Agricultural sciences. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II. English., NNT: 2016CLF22744.

## Références bibliographiques

---

188. **Qi, X., Jiang, G., Chen, W., Niks, R.E., Stam, P., Lindhout, P. 1999.** Isolate-specific QTLs for partial resistance to *Puccinia hordei* in barley. *Theor. Appl. Genet.* 99: 977-884.
189. **Quintas-Soriano, C., Castro, A.J., Castro, H., Garcíallorete, M. 2016.** Impacts of land use change on ecosystem services and implications for human well-being in Spanish drylands. *Land Use Policy*, 54, 534–548.
190. **Ranieri, R. 2015.** Geography of the durum wheat crop. *Pastaria Int.* 6, 24–36.
191. **Rawat, N., Pumphrey, M.O., Liu, S., Zhang, X., Tiwari, V. K., Ando, K., ... & Gill, B.S. 2016.** Wheat Fhb1 encodes a chimeric lectin with agglutinin domains and a pore-forming toxin-like domain conferring resistance to Fusarium head blight. *Nature genetics*, 48 (12), 1576.
192. **Regnier, T., Macheix, J.J. 1996.** Changes in wall-bound phenolic acids, phenylalanine and tyrosine ammonia-lyases, and peroxidases in developing durum wheat grains (*Triticum turgidum* L var *Durum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1727-1730.
193. **Reverberi, M., Ricelli, A., Zjalic, S., Fabbri, A., Fanelli, C. 2010.** Natural functions of mycotoxins and control of their biosynthesis in fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 87: 899–911.
194. **Rocha, O., Ansari, K., Doohan, F.M. 2005.** Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: a review. *Food Addit. Contam.*, (22), 4: 369-378.
195. **Ruske, R.E., Gooding, M.J., Jones, S.A. 2003.** The effects of adding picoxystrobin, azoxystrobin and nitrogen to a triazole programme on disease control, flag leaf senescence, yield and grain quality of winter wheat. *Crop Protection*, 22 (7), 975-987.
196. **Saharan, M.S., Kumar, J., Sharma, A.K., Nagarajan, S. 2004.** Fusarium head blight (FHB) or head scab of wheat-A review. *Proc. Indian Natl Sci. Acad.* B70 No.3 pp 255-268.
197. **Samapundo, S., De Meulenaer, B., Osei-Nimoh, D., Lamboni, Y., Debevere, J., Devlieghere, F. 2007.** Can phenolic compounds be used for the protection of corn from fungal invasion and mycotoxin contamination during storage? *Food Microbiology*, 24 (5), 465-473.
198. **Samsudin, N.I.P., Magan, N. 2016.** Efficacy of potential biocontrol agents for control of *Fusarium verticillioides* and fumonisin B1 under different environmental conditions. *World Mycotoxin Journal*, 9 (2), 205-213.

## Références bibliographiques

---

199. **Santiago, R., Reid, L.M., Arnason, J.T., Zhu, X., Martinez, N., Malvar, R.A. 2007.** Phenolics in maize genotypes differing in susceptibility to *Gibberella* stalk rot (*Fusarium graminearum* Schwabe). *Journal of agricultural and food chemistry*, 55 (13), 5186-5193.
200. **Saraf, A., Larsson, L., Burge, H., Milton, D. 1997.** Quantification of ergosterol and 3-hydroxy fatty acids in settled house dust by gas chromatography-mass spectrometry: comparison with fungal culture and determination of endotoxin by a *Limulus* amoebocyte lysate assay. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 2554-2559.
201. **Saur, L. & Trottet, M. 1981.** Problèmes posés par le jugement du comportement de lignées de blé tendre et espèces voisines vis-à-vis de deux parasites de l'épi *Septoria nodorum* Berk. et *Fusarium roseum* (Link) Sn. et H. Mise en évidence de quelques sources de résistance. *C. R. Acad. Agric. France* 67, 139-145.
202. **Savoie J-M., Martinez-Tupia, C., Richard-Forget, F. 2015.** Des microorganismes capables de dégrader les mycotoxines: de nouveaux levains pour garantir la qualité sanitaire d'aliments à base de céréales ? *Innovations Agronomiques*, 44, 35-44.
203. **Scala, V., Aureli, G., Cesarano, G., Incerti, G., Fanelli, C., Scala, F., Reverberi, M., Bonanomi, G. 2016.** Climate, Soil management, and cultivar affect *Fusarium* head blight incidence and deoxynivalenol accumulation in durum wheat of Southern Italy. *Frontiers in microbiology*, 7, 1014.
204. **Schilling, A.G., Moller, E.M., Geiger, H.H. 1996.** Polymerase chain reaction based assays for species-specific detection of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* and *F. avenaceum*. *Phytopathology*, 86: 515-522.
205. **Schroeder, H., Christensen, J. 1963.** Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. *Phytopathology*, 53, 831-838. In: Snijders, C. H. A., 1990. Genetic variation for resistance to *Fusarium* head blight in bread wheat. *Euphytica*, 50 (2), 171-179.
206. **Schulze-Lefert, P. 2004.** Knocking on the heaven's wall: pathogenesis of and resistance to biotrophic fungi at the cell wall. *Current opinion in plant biology*, 7 (4), 377-383.
207. **Scott, P.M. 1993.** Gas chromatography of mycotoxins. In: Betina, V. (Ed.), *Chromatography of mycotoxins: techniques and applications. Journal of Chromatography Library*, Vol. 54, pp. 373-425, Amsterdam, Elsevier.

## Références bibliographiques

---

208. Shah, L., Ali, A., Yahya, M., Zhu, Y., Wang, S., Si, H., ... & Ma, C. 2018. Integrated control of Fusarium head blight and deoxynivalenol mycotoxin in wheat. *Review Article*. doi: 10.1111/ppa.12785.
209. Shaner, G., Finney R.F. 1977. The effect of nitrogen fertilization in the expression of the slow mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*, 70: 1183-1186.
210. Shewry, P.R., Hawkesford, M.J., Piironen, V., Lampi, A.M., Gebruers, K., Boros, D., Andersson, A.A.M., Aman, P., Rakszegi, M., Bedo, Z., Ward, J.L. 2013. Natural variation in grain composition of wheat and related cereals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 8295-8303.
211. Siranidou, E., Kang, Z., Buchenauer, H. 2002. Studies on symptom development, phenolic compounds and morphological defence responses in wheat cultivars differing in resistance to Fusarium head blight. *Journal of Phytopathology*, 150 (4-5), 200-208.
212. Snijders, C.H.A. 1990. Genetic variation for resistance to Fusarium head blight in bread wheat. *Euphytica*, 50 (2), 171-179.
213. Snijders, C.H.A., Perkowski, J. 1990. Effects of head blight caused by *Fusarium culmorum* on toxin content and weight of wheat kernels. *Phytopathology*, (80), 6: 566-570.
214. Snijders, C.H.A., Krechting, C.F. 1992. Inhibition of deoxynivalenol translocation and fungal colonization in Fusarium head blight resistant wheat. *Can. J. Bot.* 70: 1570-1576.
215. Spanic, V., Lemmens, M., Drezner, G. 2010. Morphological and molecular identification of *Fusarium* species associated with head blight on wheat in East Croatia. *Eur. J. Plant Pathol.*, 128: 511-516.
216. Sutton, J.C. 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Can. J. Plant Pathol.* 4 (2), 195-209.
217. Talas, F., Longin, F., Miedaner, T. 2011. Sources of resistance to Fusarium head blight within Syrian durum wheat landraces. *Plant Breed.*, 130: 398400.
218. Teich, A.H., Nelson, K. 1984. Survey of Fusarium head blight and possible effects of cultural practices in wheat fields in Lambton County in 1983. *Canadian Plant Disease Survey*, 64 (1), 11-13.
219. Thrane, U., Adler, A., Clasen, P.E., Galvano, F., Langseth, W., Lew, H., Logrieco, A., Nielsen, K.F., Ritieni, A. 2004. Diversity in metabolite production by *Fusarium*

## Références bibliographiques

---

- langsethiae*, *Fusarium poae* and *Fusarium sporotrichioides*. *Int. J. Food Microbiol.*, 95: 257–266.
220. **Thuillet, A.C., Bataillon, T., Poirier, S., Santoni, S., David, J.L., 2005.** Estimation of long-term effective population sizes through the history of durum wheat using microsatellite data. *Genetics Society of America*, 169:1589–1599.
221. **Tok, F.M., Arslan, M. 2016.** Distribution and genetic chemotyping of *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum* populations in wheat fields in the eastern Mediterranean region of Turkey. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30 (2), 254-260.
222. **Torp, M., Langseth, W. 1999.** Production of T-2 toxin by a *Fusarium* resembling *Fusarium poae*. *Mycopathologia*, 147: 89-96.
223. **Touati-Hattab, S., Barreau, C., Verdal-Bonnin, M.N., Chereau, S., Richard-Forget, F., Hadjout, S., Mekliche, L., Bouznad, Z. 2016.** Pathogenicity and trichothecenes production of *Fusarium culmorum* strains causing head blight on wheat and evaluation of resistance of the varieties cultivated in Algeria. *European Journal of Plant Pathology*, 145: 797-814.
224. **Trail, F. 2009.** For blighted waves of grain: *Fusarium graminearum* in the postgenomics era. *Plant Physiol.*, 149:103–110.
225. **Treutter, D. 2006.** Significance of flavonoids in plant resistance: A review. *Environ. Chem. Lett.* 4, 147–157.
226. **Trottet, M. Saur, L. 1994.** Effet des septorioses et de la fusariose de l'épi sur l'élaboration du rendement et sur la qualité de quelques variétés de blé tendre. Compte rendu de la réunion scientifique du groupe céréales de l'INRA, Dijon, 23-25 mars 1994, 11 pp.
227. **Trottet, M., Pradel, B. 2008.** Sélection des céréales pour la résistance aux fusarioses et contre l'accumulation de mycotoxines dans les grains. "Le Sélectionneur Français" 2007 - 2008 (n° double 58 - 59), 55 – 68.
228. **Van Der Plank, J.E. 1984.** Pathogenic races, host resistance and analysis of pathogenicity. *Journal of plant pathology*, 75: 45-52.
229. **Van Egmond, H.P., Schothorst, R.C., Jonker, M.A. 2007.** Regulations relating to mycotoxins in food. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 389 (1), 147-157.

## Références bibliographiques

---

230. Vorwerk, S., Somerville, S., Somerville, C. 2004. The role of plant cell wall polysaccharide composition in disease resistance. *Trends in plant science*, 9 (4), 203-209.
231. Wagacha, J.M., Muthomi, J.W. 2007. *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop protection*, 26 (7), 877-885.
232. Wang, Y.Z., Miller, J.D. 1988. Effects of *Fusarium graminearum* metabolites on wheat tissue relation to Fusarium head blight resistance. *J. Phytopathol.* 122: 118-125.
233. Wang, Y.Z. 1997. Epidemiology and management of wheat scab in China. In: Dubin, H. J., Gilchrist, L., Reeves, J., McNab, A., (eds) *Fusarium head scab: Global Status and Future Prospects.* (pp. 97–105), CYMMIT, Mexico.
234. Wang, L.M., Zhang, Y.F., Du, Z. L., Kang, R.J., Chen, L.L., Xing, X.P., ... & Li, H.L. 2017. FpPDE1 function of *Fusarium pseudograminearum* on pathogenesis in wheat. *Journal of integrative agriculture*, 16 (11), 2504-2512.
235. Wegulo, S., Jackson, T.A., Baenziger, P.S., Carlson, M.P. Nopsa, J.H. 2008. Fusarium head blight of wheat. University of Nebraska Lincoln, *Extension.* <http://ianrpubs.unl.edu/live/ec1896/build/ec1896.pdf>.
236. Wegulo, S.N., Bockus W.W., Nopsa, J.H. *et al.*, 2011. Effects of integrating cultivar resistance and fungicide application on Fusarium head blight and deoxynivalenol in winter wheat. *Plant Disease*, 95 (5), 554-560.
237. Wegulo, S.N. 2012. Factors influencing deoxynivalenol accumulation in small grain cereals. *Toxins*, 4, 1157-1180.
238. Wegulo, S.N., Baenziger, P.S., Hernandez Nopsa, J., Bockus, W.W., Hallen-Adams, H. 2015. Management of Fusarium head blight of wheat and barley. *Crop Prot.*, 73: 100–107.
239. Wise, K., Woloshuk, C., Freije, A. 2015. Diseases of wheat: Fusarium head blight (head scab). *Purdue Extension*, BP-33-W, 1-4.
240. Xu, X.M., Berrie, A. 2005. Epidemiology of mycotoxigenic fungi associated with Fusarium ear blight and apple blue mold: a review. *Food Addit. Contam.*, 22: 290–301.
241. Xu, X., Nicholson, P. 2009. Community ecology of fungal pathogens causing wheat head blight. *Annual Review of Phytopathology*, 47: 83-103.

## Références bibliographiques

---

242. **Xu, F., Song, Y.L., Yang, G.Q., Wang, J.M., Liu, L.L., & Li, Y.H. 2015.** First report of *Fusarium pseudograminearum* from wheat heads with Fusarium head blight in North China Plain. *Plant Disease*, 99 (1).
243. **Ye, Z., Brûlé-Babel, A.L., Graf, R.J., Mohr, R., Beres, B.L. 2017.** The role of genetics, growth habit, and cultural practices in the mitigation of Fusarium head blight. *Canadian Journal of Plant Science*, 97 (2), 316-328.
244. **Yekkour, A., Toumatia, O., Meklat, A., Verheecke, C., Sabaou, N., Zitouni, A., Mathieu, F. 2015.** Deoxynivalenol-producing ability of *Fusarium culmorum* strains and their impact on infecting barley in Algeria. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 31: 875-881.
245. **Yoshida, M., Nakajima, T., Arai, M., Suzuki, F., Tomimura, K. 2008.** Effect of the timing of fungicide application on Fusarium head blight and mycotoxin accumulation in closed-flowering barley. *Plant disease*, 92 (8), 1164-1170.
246. **Zhang, H., Chen, W.Q., Xu, J., Xu, J.S., & Feng, J. 2011.** First report of *Fusarium cerealis* causing Fusarium head blight on barley in China. *Plant Disease*, 95 (6), 774-774.
247. **Zhou, K., Su, L., Yu, L.L. 2004.** Phytochemicals and antioxidant properties in wheat bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6108-6114.
248. **Zinedine, A., Idrissi, L. 2007.** Présence et réglementation des mycotoxines dans les aliments au Maroc: Situation actuelle et perspectives. *Les technologies de laboratoire*, 7, 10-18.
249. **Zohary, D., Hopf, M. 1988.** Domestication of Plants in the Old World. Clarendon Press, *Oxford Science Publications*. **In: Giménez, M.J., Gil-Humanes, J., Alvarez, J.B., Barro Losada, F. 2015.** Cereals Taxonomy: The Role of Domestication and Breeding on Gluten Intolerance. *OmniaScience Monographs*. Doi: <http://dx.doi.org/10.3926/oms.263>.

**Annexes**

**Annexe 1: Principales caractéristiques des variétés parentales**

<b>Variétés</b>		<b>Waha « S »</b>	<b>Siméto</b>	<b>Ardente</b>
<b>Dénomination locale</b>		//	Serrou	//
<b>Origine</b>		ICARDA et sélectionnée à l'ITGC de Sétif	Italie, Sélectionnée à l'ITGC de Tiaret	Introduite de France
<b>Caractères morphologiques</b>	<b>Epi</b>	Demi-lâche à compact, roussâtre	Demi lâche, faiblement coloré (blanchâtre)	Gros, blanc et compact
	<b>Paille</b>	Courte (80 à 90 cm), demi pleine	moyenne (90 à 100 cm)	Moyenne
	<b>Grain</b>	Moyen, clair ombré à roux	Demi allongé	Allongé
<b>Caractéristiques culturales</b>	<b>Cycle végétatif</b>	Précoce	Semi-précoce	Précoce à très précoce
	<b>Tallage</b>	Moyen à fort	Fort	Moyen
<b>Tolérance aux maladies et différents stress</b>	<b>Rouille brune</b>	Tolérante	Moyennement tolérante	Très tolérante
	<b>Rouille jaune</b>	Tolérante	Tolérante	-
	<b>Oïdium</b>	Tolérante	Moyennement tolérante	Peu sensible
	<b>Septoriose</b>	Moyennement résistante	Moyennement tolérante	Assez sensible
	<b>Fusariose</b>	Moyennement résistante	Résistante	-
	<b>Résistance à la verse</b>	Résistante	Tolérante	Sensible
	<b>Résistance à la sécheresse</b>	Sensible	Sensible	Tolérante
<b>Caractères technologiques</b>	<b>Résistance au mitadinage</b>	Résistante	Résistante	Tolérante
	<b>Résistance à la moucheture</b>	Résistante	Résistante	Résistante
	<b>Indice de Jaune</b>	Faible	Moyen	-
	<b>PMG</b>	Elevé	Moyen	-

Source: Bernicot (1995); Boufenar-Zaghouane et Zaghouane (2006)

- : Aucune information disponible

**Annexe 2: Teneurs maximales en mycotoxines dans les céréales et les produits céréaliers destinés à la consommation humaine (Règlement de la Commission (UE) N° 1881/2006 ; Recommandation de la Commission (UE) N° 2013/165/UE)**

Mycotoxine	Céréales et produits céréaliers	Niveaux maximaux (µg/kg)
Aflatoxine B <sub>1</sub>	Toutes céréales et tous produits dérivés de céréales	2,0
	Maïs à être soumis à un traitement de tri ou à d'autres méthodes physiques avant consommation humaine ou utilisation comme ingrédients de denrées alimentaires	5,0
Aflatoxines (B1+B2+G1+G2)	Toutes céréales et tous produits dérivés de céréales	4,0
	Maïs à être soumis à un traitement de tri ou à d'autres méthodes physiques avant consommation humaine ou utilisation comme ingrédients de denrées alimentaires	10,0
Déoxynivalenol	Céréales non transformées autres que le blé dur, l'avoine et le maïs	1250
	Blé dur et avoine non transformés	1750
	Maïs non transformé, à l'exception du maïs non transformé destiné à être transformé par broyage humide	1750
	Céréales destinées à la consommation humaine directe, farine de céréales, son et germe en tant que produits finis destinés à la consommation humaine directe	750
Zéaralénone	Céréales non transformées autres que le maïs	100
	Maïs non transformé, à l'exception du maïs non transformé destiné à être traité par broyage humide	350
	Céréales destinées à la consommation humaine directe, farine de céréales, son et germe en tant que produits finis destinés à la consommation humaine directe	75
	Maïs destiné à la consommation humaine directe, collations à base de maïs et céréales de petit-déjeuner à base de maïs	100
Ochratoxine A	Céréales non transformées (brutes)	5,0
	Tous les produits dérivés de céréales non transformées, y compris les produits transformés à base de céréales et les céréales destinées à la consommation humaine directe	3,0
Fumonisines (B1+B2)	Maïs non transformé, à l'exception du maïs non transformé destiné à être transformé par broyage humide	4000
	Maïs destiné à la consommation humaine directe, aliments à base de maïs destinés à la consommation humaine directe	1000
Toxines (*) (T-2+HT-2)	Céréales non transformées	-
	Orge et maïs	200
	L'avoine	1000
	Blé, seigle et autres céréales	100
	Grains de céréales destinés à la consommation humaine directe	-
	L'avoine	200
	Maïs	100
D'autres céréales	50	

\* Indique des recommandations.

### Annexe 3: Tableaux d'analyses statistiques des résultats de l'année 2014

**Premier essai:** Deux lignées (G<sub>1</sub> et G<sub>4</sub>) inoculées avec cinq isolats de *F. culmorum*.

**Deuxième essai:** Deux lignées (G<sub>1</sub> et G<sub>4</sub>) inoculées avec cinq isolats de *Fusarium* spp. (deux isolats de *F. pseudograminearum*, un isolat de *F. graminearum*, un isolat de *F. culmorum* et un isolat de *F. cerealis*).

#### 3.1. Paramètres au champ

##### 3.1.1. Période d'incubation

**ANOVA de période d'incubation (PI) pour isolats de l'essai 1**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F	P	ET	CV (%)
<b>Lignées</b>	<b>1</b>	<b>50,700</b>	<b>50,700</b>	<b>7,2515</b>	<b>0,016004</b>		
Blocs	2	40,867	20,433	2,9225	0,082820		
Erreur 1	2	26,600	13,300			3,65	24,26
<b>Isolats</b>	<b>4</b>	<b>503,800</b>	<b>125,950</b>	<b>18,0143</b>	<b>0,000009</b>		
Lignées*Isolats	4	41,133	10,283	1,4708	0,257330		
Erreur 2	16	111,867	6,992			2,64	17,59
Total	29	774,967					

**Groupes homogènes de PI pour isolats de l'essai 1**

Isolats	Moyennes	3	2	1
F.C.T <sub>7</sub>	10,50	C		
F.C.9.12	11,00	C	B	
F.C.T <sub>5</sub>	14,00		B	
F.C.8.12	19,83			A
F.C.10.11	19,83			A

**Groupes homogènes de PI pour lignées (essai 1)**

Lignées	Moyennes	2	1
G <sub>4</sub>	13,73	B	
G <sub>1</sub>	16,33		A

**ANOVA de PI pour isolats de l'essai 2**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F	P	ET	CV (%)
<b>Lignées</b>	<b>1</b>	<b>100,83</b>	<b>100,83</b>	<b>5,5581</b>	<b>0,031461</b>		
Blocs	2	23,40	11,70	0,6449	0,537812		
Erreur 1	2	11,67	5,83			2,41	10,73
<b>Isolats</b>	<b>4</b>	<b>952,33</b>	<b>238,08</b>	<b>13,1236</b>	<b>0,000063</b>		
Lignées*Isolats	4	23,00	5,75	0,3169	0,862460		
Erreur 2	16	290,27	18,14			4,26	18,93
Total	29	1401,50					

**Groupes homogènes de PI pour isolats de l'essai 2**

Isolats	Moyennes	4	3	2	1
F.C.1.12	16,00	D			
F.P.G.1.11	17,67	D	C		
F.G.3.11	21,50		C	B	
F.C.2.12	25,83			B	
F.P.G.2.11	31,50				A

**Groupes homogènes de PI pour lignées (essai 2)**

Lignées	Moyennes	2	1
G <sub>4</sub>	20,67	B	
G <sub>1</sub>	24,33		A

**3.1.2. Poids de mille grains (PMG)**

**ANOVA de PMG pour isolats de l'essai 1**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F	P	ET	CV (%)
Lignées	1	2,05	2,05	0,59	0,449842		
Blocs	2	23,45	11,72	3,40	0,053637		
Erreur 1	2	18,31	9,16			3,03	6,77
<b>Traitements</b>	<b>5</b>	<b>761,13</b>	<b>152,23</b>	<b>44,12</b>	<b>0,000000</b>		
<b>Lignées*Isolats</b>	<b>5</b>	<b>48,00</b>	<b>9,60</b>	<b>2,78</b>	<b>0,045780</b>		
Erreur 2	20	69,00	3,45			1,86	4,16
Total	35	921,95					

**Groupes homogènes de PMG pour isolats de l'essai 1**

Traitements	Moyennes	4	3	2	1
F.C.T <sub>7</sub>	38,80	D			
F.C.T <sub>5</sub>	41,64		C		
F.C.9.12	42,07		C		
F.C.8.12	46,02			B	
F.C.10.11	46,450			B	
T	53,12				A

## Annexes

### Groupes homogènes du PMG pour isolats de l'essai 1 (interaction lignées\*traitements)

Lignées	Traitements	Moyennes	7	6	5	4	3	2	1
G4	F.C.T <sub>7</sub>	37,39	G						
G1	F.C.T <sub>7</sub>	40,21	F	F					
G4	F.C.T <sub>5</sub>	41,03		F					
G1	F.C.9.12	41,68		F	E				
G1	F.C.T <sub>5</sub>	42,24		F	E				
G4	F.C.9.12	42,47		F	E				
G4	F.C.8.12	44,32			E	D			
G1	F.C.10.11	46,25				D	C		
G4	F.C.10.11	46,65				D	C		
G1	F.C.8.12	47,73					C		
G1	T	51,43						B	
G4	T	54,82							A

### ANOVA de PMG pour isolats de l'essai 2

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F	P	ET	CV (%)
<b>Lignées</b>	<b>1</b>	<b>79,48</b>	<b>79,48</b>	<b>36,29</b>	<b>0,000007</b>		
Blocs	2	6,00	3,00	1,37	0,276950		
Erreur 1	2	2,61	1,30			1,14	2,23
<b>Traitements</b>	<b>5</b>	<b>131,03</b>	<b>26,21</b>	<b>11,97</b>	<b>0,000019</b>		
<b>Lignées*Traitements</b>	<b>5</b>	<b>35,27</b>	<b>7,05</b>	<b>3,22</b>	<b>0,027076</b>		
Erreur 2	20	43,80	2,19			1,48	2,89
Total	35	298,18					

### Groupes homogènes de PMG pour lignées (essai 2)

Lignées	Moyennes	2	1
G <sub>1</sub>	49,70	B	
G <sub>4</sub>	52,67		A

### Groupes homogènes de PMG pour traitements (essai 2)

Traitements	Moyennes	3	2	1
F.C.1.12	47,17	C		
F.P.G.1.11	50,88		B	
F.C.2.12	51,54		B	A
F.G.3.11	52,15		B	A
F.P.G.2.11	52,54		B	A
T	52,84			A

**Groupes homogènes de PMG pour (lignées\*traitements) (essai 2)**

Lignées	Traitements	Moyennes	5	4	3	2	1
G <sub>4</sub>	F.C.1.12	46,60	E				
G <sub>1</sub>	F.C.1.12	47,75	E	D			
G <sub>1</sub>	F.P.G.1.11	49,07	E	D	C		
G <sub>1</sub>	F.G.3.11	49,77		D	C		
G <sub>1</sub>	F.C.2.12	50,35			C	B	
G <sub>1</sub>	F.P.G.2.11	50,54			C	B	
G <sub>1</sub>	T	50,75			C	B	
G <sub>4</sub>	F.P.G.1.11	52,71				B	A
G <sub>4</sub>	F.C.2.12	52,74				B	A
G <sub>4</sub>	F.G.3.11	54,54					A
G <sub>4</sub>	F.P.G.2.11	54,55					A
G <sub>4</sub>	T	54,92					A

**3.1.3. AUDPC du Nombre d'Epillets Malades (NEM)**

**ANOVA de l'AUDPC du NEM pour isolats de l'essai 1**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F	P	ET	CV (%)
<b>Lignées</b>	<b>1</b>	<b>799,80</b>	<b>799,80</b>	<b>6,5741</b>	<b>0,020806</b>		
Blocs	2	712,11	356,05	2,9266	0,082570		
Erreur 1	2	86,27	43,14			6,57	16,07
<b>Isolats</b>	<b>4</b>	<b>10484,08</b>	<b>2621,02</b>	<b>21,5439</b>	<b>0,000003</b>		
Lignées*Isolats	4	837,91	209,48	1,7218	0,194365		
Erreur 2	16	1946,55	121,66			11,03	26,98
Total	29	14866,72					

**Groupes homogènes de l'AUDPC du NEM pour lignées (essai 1)**

Lignées	Moyennes	2	1
G <sub>1</sub>	35,72	B	
G <sub>4</sub>	46,05		A

**Groupes homogènes de l'AUDPC du NEM pour isolats de l'essai 1**

Isolats	Moyennes	1	2	3
F.C.8.12	18,62	C		
F.C.10.11	25,08	C	B	
F.C.9.12	35,70		B	
F.C.T <sub>5</sub>	58,05			A
F.C.T <sub>7</sub>	66,97			A

**Annexes**

**ANOVA de l'AUDPC du NEM pour isolats de l'essai 2**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F	P	ET	CV (%)
Lignées	1	13,736	13,7363	7,4234	0,014997		
Blocs	2	5,973	2,9863	1,6139	0,229897		
Erreur 1	2	12,541	6,2703			2,50	49,52
Isolats	4	1812,125	453,0313	244,8267	0,000000		
Lignées*Isolats	4	94,952	23,7380	12,8285	0,000072		
Erreur 2	16	29,607	1,8504			1,36	26,90
Total	29	1968,934					

**Groupes homogènes de l'AUDPC du NEM pour lignées (essai 2)**

Lignées	Moyennes	2	1
G <sub>1</sub>	4,38	B	
G <sub>4</sub>	5,73		A

**Groupes homogènes de l'AUDPC du NEM pour isolats de l'essai 2**

Isolats	Moyennes	3	2	1
F.P.G.2.11	0,45	C		
F.C.2.12	0,58	C	B	
F.G.3.11	1,55	C	B	
F.P.G.1.11	2,15		B	
F.C.1.12	20,55			A

**Groupes homogènes de l'AUDPC du NEM pour (lignées\*isolats F.G.) (essai 2)**

Lignées	Isolats	Moyennes	4	3	2	1
G <sub>1</sub>	F.C.2.12	0,27	D			
G <sub>4</sub>	F.G.3.11	0,30	D			
G <sub>1</sub>	F.P.G.2.11	0,40	D			
G <sub>4</sub>	F.P.G.2.11	0,50	D	C		
G <sub>4</sub>	F.C.2.12	0,90	D	C		
G <sub>1</sub>	F.P.G.1.11	1,93	D	C		
G <sub>4</sub>	F.P.G.1.11	2,37	D	C		
G <sub>1</sub>	F.G.3.11	2,80		C		
G <sub>1</sub>	F.C.1.12	16,50			B	
G <sub>4</sub>	F.C.1.12	24,60				A

**3.2. Paramètres *in vitro***

**3.2.1. TCTB (Toxines)**

**3.2.1.1. Nivalénol (NIV)**

**ANOVA du NIV pour isolats de l'essai 1**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F	P	ET	CV (%)
Lignées	1	215,053	215,053	2,63274	0,165608		
Blocs	2	466,902	233,451	2,85797	0,148713		
Erreur 1	2	10,649	5,325			2,31	9,07
Isolats	1	135,475	135,475	1,65852	0,254183		
Lignées*Isolats	5	408,421	81,684				
Erreur 2	11	1236,500	112,41			35,16	41,70
Total	22	2473					

**Groupes homogènes du NIV pour isolats de l'essai 1**

Isolats	Moyennes	1
F.C.T <sub>5</sub>	22,06	A
F.C.T <sub>7</sub>	28,78	A

**3.2.1.2. Désoxynivalénol (DON)**

**ANOVA du DON pour isolats de l'essai 1**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F	P	ET	CV (%)
Lignées	1	69,384	69,384	1,5980	0,241780		
Blocs	2	92,173	46,087	1,0614	0,390084		
Erreur 1	2	80,526	40,263			6,35	37,61
<b>Isolats</b>	<b>2</b>	<b>821,793</b>	<b>410,896</b>	<b>9,4631</b>	<b>0,007792</b>		
Lignées*Isolats	2	109,375	54,688	1,2595	0,334556		
Erreur 2	8	347,366	43,421			6,59	39,06
Total	17	1520,617					

**Groupes homogènes du DON pour isolats de l'essai 1**

Isolats	Moyennes	2	1
F.C.8.12	11,19	B	
F.C.10.11	13,05	B	
F.C.9.12	26,36		A

**ANOVA du DON pour isolats de l'essai 2**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F	P	ET	CV (%)
Lignées	1	6,3572	6,3572	1,7259	0,207464		
Blocs	2	10,4877	5,2439	1,4236	0,269760		
Erreur 1	2	18,3480	9,1740			3,03	74,67
<b>Isolats</b>	<b>4</b>	<b>507,3922</b>	<b>126,8481</b>	<b>34,4372</b>	<b>0,000000</b>		
<b>Lignées*Isolats</b>	<b>4</b>	<b>60,1520</b>	<b>15,0380</b>	<b>4,0826</b>	<b>0,018138</b>		
Erreur 2	16	58,9353	3,6835			1,92	47,31
Total	29	661,6725					

**Groupes homogènes du DON pour isolats de l'essai 2**

Isolats	Moyennes	2	1
F.P.G.2.11	1,00	B	
F.C.2.12	1,56	B	
F.G.3.11	2,51	B	
F.P.G.1.11	3,05	B	
F.C.1.12	12,16		A

**Groupes homogènes du DON pour (lignées\*isolats) de l'essai 2**

Lignées	Isolats	Moyennes	3	2	1
G <sub>1</sub>	F.P.G.2.11	1,00	C		
G <sub>4</sub>	F.G.3.11	1,00	C		
G <sub>4</sub>	F.P.G.2.11	1,00	C		
G <sub>1</sub>	F.C.2.12	1,00	C		
G <sub>4</sub>	F.C.2.12	2,13	C		
G <sub>1</sub>	F.P.G.1.11	2,69	C		
G <sub>4</sub>	F.P.G.1.11	3,41	C		
G <sub>1</sub>	F.G.3.11	4,02	C		
G <sub>1</sub>	F.C.1.12	9,27		B	
G <sub>4</sub>	F.C.1.12	15,05			A

**3.2.2. Ergostérol**

**ANOVA de l'ergostérol pour isolats de l'essai 1**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F	P	ET	CV (%)
Lignées	1	810,06	810,06	13,0664	0,002326		
Blocs	2	1689,24	844,62	13,6239	0,000351		
Erreur 1	2	1336,44	668,22	10,7786	0,001085	25,85	71,85
Isolats	4	6039,19	1509,80	24,3534	0,000001		
Lignées*Isolats	4	511,75	127,94	2,0637	0,133490		
Erreur 2	16	991,93	62,00			7,87	21,88
Total	29	11378,60					

**Groupes homogènes de l'ergostérol pour lignées de l'essai 1**

Lignées	Moyennes	2	1
G <sub>1</sub>	30,78	B	
G <sub>4</sub>	41,17		A

**Groupes homogènes de l'ergostérol pour blocs de l'essai 1**

Blocs	Moyennes	3	2	1
B <sub>1</sub>	26,48	C		
B <sub>2</sub>	36,64		B	
B <sub>3</sub>	44,82			A

## Annexes

### Groupes homogènes de l'ergostérol pour (blocs\*lignées) de l'essai 1

Blocs	Lignées	Moyennes	3	2	1
B <sub>1</sub>	G <sub>1</sub>	16,66	C		
B <sub>2</sub>	G <sub>4</sub>	32,39		B	
B <sub>3</sub>	G <sub>1</sub>	34,80		B	
B <sub>1</sub>	G <sub>4</sub>	36,29		B	
B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	40,88		B	
B <sub>3</sub>	G <sub>4</sub>	54,84			A

### Groupes homogènes de l'ergostérol pour isolats de l'essai 1

Isolats	Moyennes	3	2	1
F.C.10.11	19,41	C		
F.C.8.12	19,64	C		
F.C.T <sub>5</sub>	38,75		B	
F.C.T <sub>7</sub>	49,79			A
F.C.9.12	52,32			A

### ANOVA de l'ergostérol pour isolats de l'essai 2

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F	P	ET	CV (%)
Lignées	1	35,599	35,599	0,8941	0,358440		
Blocs	2	73,628	36,814	0,9246	0,416890		
Erreur 1	2	608,308	304,154	7,6387	0,004689	17,44	90,33
Isolats	4	4249,872	1062,468	26,6835	0,000001		
Lignées*Isolats	4	215,166	53,792	1,3510	0,294444		
Erreur 2	16	637,080	39,817			6,31	32,68
Total	29	5819,654					

### Groupes homogènes de l'ergostérol pour (blocs\*lignées) de l'essai 2

Blocs	Lignées	Moyennes	3	2	1
B <sub>1</sub>	G <sub>1</sub>	5,10	C		
B <sub>3</sub>	G <sub>1</sub>	8,98	C	B	
B <sub>2</sub>	G <sub>4</sub>	9,58	C	B	
B <sub>3</sub>	G <sub>4</sub>	13,05	C	B	A
B <sub>1</sub>	G <sub>4</sub>	17,24		B	A
B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	19,25			A

### Groupes homogènes de l'ergostérol pour isolats de l'essai 2

Isolats	Moyennes	2	1
F.P.G.2.11	3,68	B	
F.G.3.11	5,82	B	
F.C.2.12	7,38	B	
F.P.G.1.11	8,33	B	
F.C.1.12	35,79		A

### Annexe 4: Analyses statistiques des résultats de 2015

**Essais d'Algérie:** Installation de cinq essais en plein champ: un essai témoin et 4 essais inoculés avec les 4 isolats de *F. culmorum*.

**Essai de la France:** Mise en place d'un essai sous serre de cinq géotypes de blé dur (G<sub>1</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>9</sub>, G<sub>10</sub> et G<sub>11</sub>).

#### 4.1. Résultats au champ

##### 4.1.1. Période d'incubation en jours (PI)

##### 4.1.1.1. Analyse statistique individuelle des résultats

#### ANOVA à plusieurs facteurs – période d'incubation (essai F.C.T<sub>5</sub>)

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
A:Géotypes	76,2667	4	19,0667	4,81	0,0285			0,79
B:Blocs	12,9333	2	6,46667	1,63	0,2548			
Résiduelle (Erreur)	31,7333	8	3,96667			1,99	20,46	
Total	120,933	14						

#### Groupes homogènes pour PI (essai F.C.T<sub>5</sub>) par géotypes

Géotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>9</sub>	6,33	C		
G <sub>11</sub>	8,00	C	B	
G <sub>10</sub>	10,33		B	A
G <sub>4</sub>	11,67		B	A
G <sub>1</sub>	12,33			A

#### ANOVA à plusieurs facteurs - période d'incubation (essai F.C.T<sub>7</sub>)

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
A:Géotypes	223,333	4	55,8333	2,87	0,0953			0,65
B:Blocs	2,53333	2	1,26667	0,07	0,9374			
Résiduelle (Erreur)	155,467	8	19,4333			4,41	28,75	
Total	381,333	14						

#### Groupes homogènes pour PI (essai F.C.T<sub>7</sub>) par géotypes

Géotypes	Moyennes	2	1
G <sub>9</sub>	12,0	B	
G <sub>11</sub>	12,33	B	
G <sub>4</sub>	14,67	B	A
G <sub>10</sub>	15,00	B	A
G <sub>1</sub>	22,67		A

## Annexes

### ANOVA à plusieurs facteurs - période d'incubation (essai F.C.10.11)

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
A:Génotypes	176,4	4	44,1	3,12	0,0802			0,68
B:Blocs	8,13333	2	4,06667	0,29	0,7576			
Résiduelle (Erreur)	113,2	8	14,15			3,76	24,32	
Total	297,733	14						

#### Groupes homogènes pour PI (essai F.C.1011) par génotypes

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>9</sub>	12,33	B	
G <sub>11</sub>	13,33	B	
G <sub>4</sub>	13,33	B	
G <sub>10</sub>	16,67	B	A
G <sub>1</sub>	21,67		A

### ANOVA à plusieurs facteurs - période d'incubation (essai F.C.1.12)

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>38,2667</b>	<b>4</b>	<b>9,56667</b>	<b>5,42</b>	<b>0,0208</b>			0,81
B:Blocs	2,53333	2	1,26667	0,72	0,5171			
Résiduelle (Erreur)	14,1333	8	1,76667			1,33	11,80	
Total	54,9333	14						

#### Groupes homogènes pour PI (essai F.C.1.12) par génotypes

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>9</sub>	10,00	B	
G <sub>11</sub>	10,00	B	
G <sub>4</sub>	11,00	B	
G <sub>10</sub>	11,00	B	
G <sub>1</sub>	14,33		A

#### 4.1.1.2. Analyse statistique globale des résultats

### ANOVA à plusieurs facteurs - période d'incubation (ensemble des quatre essais)

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
A:Blocs (dans essais)	26,13333333	8	3,267					0,76
<b>B:Génotypes</b>	<b>421,1</b>	<b>4</b>	<b>105,275</b>	<b>13,560</b>	<b>0,000</b>			
<b>C:Essais</b>	<b>377,9166667</b>	<b>3</b>	<b>125,972</b>	<b>38,563</b>	<b>0,000</b>			
B*C	93,16666667	12	7,764	0,790	0,66			
Erreur	314,5333333	32	9,829			3,14	24,21	
Total	1232,85							

#### Groupes homogènes pour période incubation en jours par génotypes

Génotypes	Moyennes	4	3	2	1
G <sub>9</sub>	10,17	D			
G <sub>11</sub>	10,92	D	C		
G <sub>4</sub>	12,67		C	B	
G <sub>10</sub>	13,25			B	
G <sub>1</sub>	17,75				A

**Groupes homogènes pour période incubation en jours par essais**

Essais	Moyennes	2	1
F.C.T <sub>5</sub>	9,73	B	
F.C.1.12	11,27	B	
F.C.T <sub>7</sub>	15,33		A
F.C.10.11	15,47		A

**4.1.2. AUDPC du Nombre d'Epillets Malades (NEM)**

**4.1.2.1. Analyse statistique individuelle des résultats**

**Analyse de variance pour AUDPC du NEM (essai F.C.T<sub>5</sub>)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>B:Génotypes</b>	<b>19968,2</b>	<b>4</b>	<b>4992,06</b>	<b>16,34</b>	<b>0,0006</b>			0,94
A:Blocs	202,885	2	101,443	0,33	0,7268			
Erreur (Résiduelle)	2443,35	8	305,419			17,48	26,87	
Total	22614,5	14						

**Groupes homogènes pour AUDPC du NEM par génotypes**

Génotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>1</sub>	19,23	C		
G <sub>4</sub>	30,23	C		
G <sub>10</sub>	65,43		B	
G <sub>9</sub>	97,03		B	A
G <sub>11</sub>	113,23			A

**Analyse de variance pour AUDPC du NEM (essai F.C.T<sub>7</sub>)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>B:Génotypes</b>	<b>2270,54</b>	<b>4</b>	<b>567,636</b>	<b>5,33</b>	<b>0,0217</b>			0,81
A:Blocs	53,5853	2	26,7927	0,25	0,7835			
Erreur (Résiduelle)	852,001	8	106,5			10,32	68,31	
Total	3176,13	14						

**Groupes homogènes pour AUDPC du NEM par génotypes**

Génotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>1</sub>	1,67	C		
G <sub>10</sub>	4,83	C	B	
G <sub>4</sub>	11,07	C	B	
G <sub>11</sub>	23,10		B	A
G <sub>9</sub>	34,87			A

**Analyse de variance pour AUDPC du NEM (essai F.C.10.11)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>B:Génotypes</b>	<b>10151,9</b>	<b>4</b>	<b>2537,98</b>	<b>8,23</b>	<b>0,0062</b>			0,88
A:Blocs	99,4653	2	49,7327	0,16	0,8538			
Erreur (Résiduelle)	2468,18	8	308,523			17,56	60,85	
Total	12719,6	14						

**Groupes homogènes pour AUDPC du NEM par génotypes**

Génotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>1</sub>	0,40	C		
G <sub>10</sub>	4,80	C		
G <sub>4</sub>	20,50	C	B	
G <sub>11</sub>	53,40		B	A
G <sub>9</sub>	65,23			A

**Analyse de variance pour AUDPC du NEM (essai F.C.1.12)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
B:Génotypes	5710,3	4	1427,58	2,23	0,1558		
A:Blocs	1655,39	2	827,693	1,29	0,3266		
Erreur (Résiduelle)	5128,88	8	641,11			25,32	51,68
Total	12494,6	14					

**Groupes homogènes pour AUDPC du NEM par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>1</sub>	17,70	B	
G <sub>10</sub>	38,77	B	A
G <sub>4</sub>	51,13	B	A
G <sub>11</sub>	64,23	B	A
G <sub>9</sub>	73,13		A

**4.1.2.2. Analyse statistique globale des résultats**

**Analyse de variance pour AUDPC du NEM (ensemble des quatre essais)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
Blocs (dans lieux)	2011,321333	8	251,415					0,71
<b>Génotypes</b>	<b>29967,07833</b>	<b>4</b>	<b>7491,770</b>	<b>11,053</b>	<b>0,000</b>			
<b>Essais</b>	<b>21752,65467</b>	<b>3</b>	<b>7250,885</b>	<b>28,840</b>	<b>0,000</b>			
Génotypes * Essais	8133,933667	12	677,828	1,991	0,06			
Erreur	10892,412	32	340,388			26,04	65,91	
total	72757,4							

**Groupes homogènes pour AUDPC du NEM par génotypes**

Génotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>1</sub>	9,75	C		
G <sub>4</sub>	28,23		B	
G <sub>10</sub>	28,46		B	
G <sub>11</sub>	63,49			A
G <sub>9</sub>	67,57			A

**Groupes homogènes pour AUDPC du NEM par essais**

Essais	Moyennes	3	2	1
F.C.T <sub>7</sub>	15,11	C		
F.C.10.11	28,87	C		
F.C.1.12	48,99		B	
F.C.T <sub>5</sub>	65,03			A

**4.1.3. Poids de 1000 grains (PMG)**

**4.1.3.1. Analyse statistique individuelle des résultats**

**Analyse de variance pour PMG (essai témoin)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	110,847	4	27,7116	0,95	0,4838		
B:Blocs	4,38657	2	2,19329	0,08	0,9283		
Résiduelle (Erreur)	233,551	8	29,1939			5,40	9,84
Total	348,784	14					

**Groupes homogènes pour PMG (essai témoin) par génotypes**

Génotypes	Moyenne s	l
G <sub>11</sub>	51,29	A
G <sub>1</sub>	52,79	A
G <sub>10</sub>	55,20	A
G <sub>9</sub>	56,19	A
G <sub>4</sub>	59,11	A

**Analyse de variance pour PMG (Essai F.C.T<sub>5</sub>)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	358,389	4	89,5972	1,13	0,4074		
B:Blocs	4,15929	2	2,07965	0,03	0,9742		
Résiduelle (Erreur)	634,286	8	79,2858			8,90	19,07
Total	996,835	14					

**Groupes homogènes pour PMG (essai F.C.T<sub>5</sub>) par génotypes**

Génotypes	Moyennes	l
G <sub>9</sub>	41,94	A
G <sub>11</sub>	42,02	A
G <sub>10</sub>	45,36	A
G <sub>1</sub>	49,26	A
G <sub>4</sub>	54,86	A

**Analyse de variance pour PMG (essai F.C.T<sub>7</sub>)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>271,401</b>	<b>4</b>	<b>67,8503</b>	<b>7,14</b>	<b>0,0094</b>			0,86
B:Blocs	69,5297	2	34,7648	3,66	0,0743			
Résiduelle (Erreur)	75,9812	8	9,49765			3,08	6,49	
Total	416,912	14						

**Groupes homogènes pour PMG (essai F.C.T<sub>7</sub>) par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>9</sub>	39,66	B	
G <sub>11</sub>	46,58		A
G <sub>1</sub>	49,25		A
G <sub>10</sub>	50,38		A
G <sub>4</sub>	51,60		A

**Analyse de variance pour PMG (essai F.C.10.11)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>270,981</b>	<b>4</b>	<b>67,7454</b>	<b>7,13</b>	<b>0,0095</b>			0,86
B:Blocs	52,9108	2	26,4554	2,78	0,1210			
Résiduelle (Erreur)	76,0597	8	9,50746			3,08	6,47	
Total	399,952	14						

**Groupes homogènes pour PMG (essai F.C.10.11) par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>9</sub>	42,39	B	
G <sub>10</sub>	45,23	B	
G <sub>1</sub>	47,24	B	
G <sub>11</sub>	48,17	B	
G <sub>4</sub>	55,16		A

**Analyse de variance pour PMG (essai F.C.1.12)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>405,628</b>	<b>4</b>	<b>101,407</b>	<b>4,58</b>	<b>0,0323</b>			0,78
B:Blocs	36,9299	2	18,465	0,83	0,4687			
Résiduelle (Erreur)	177,027	8	22,1284			4,70	10,73	
Total	619,585	14						

**Groupes homogènes pour PMG (essai F.C.1.12) par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>11</sub>	38,44	B	
G <sub>10</sub>	40,85	B	
G <sub>9</sub>	41,65	B	
G <sub>1</sub>	44,88	B	A
G <sub>4</sub>	53,39		A

**4.1.3.2. Analyse statistique globale des résultats**

**Analyse de variance pour PMG (ensemble des quatre essais)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
A:Blocs (dans essais)	167,9162933	10	16,792					0,70
<b>B:Génotypes</b>	<b>1017,24516</b>	<b>4</b>	<b>254,311</b>	<b>10,172</b>	<b>0,000</b>			
<b>C:Essais</b>	<b>1007,523907</b>	<b>4</b>	<b>251,881</b>	<b>15,000</b>	<b>0,000</b>			
B*C	400,001	16	25,000	0,835	0,64			
Erreur	1196,90584	40	29,923			5,47	11,37	
Total	3789,5922							

**Groupes homogènes pour PMG par génotypes**

Génotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>9</sub>	44,36	C		
G <sub>11</sub>	45,30	C	B	
G <sub>10</sub>	47,41	C	B	
G <sub>1</sub>	48,68		B	
G <sub>4</sub>	54,82			A

**Groupes homogènes pour PMG par traitements**

Traitements	Moyennes	2	1
F.C.1.12	43,84	B	
F.C.T <sub>5</sub>	46,68	B	
F.C.T <sub>7</sub>	47,50	B	
F.C.10.11	47,64	B	
T	54,92		A

**4.2. Résultats *in vitro***

**4.2.1. Les TCTB**

**4.2.1. 1. Analyse statistique individuelle des résultats**

**Analyse de variance pour nivalérol (essai F.C.T<sub>5</sub>)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>2761,3</b>	<b>4</b>	<b>690,325</b>	<b>12,51</b>	<b>0,0016</b>			0,92
B:Blocs	133,876	2	66,9379	1,21	0,3466			
Résiduelle (Erreur)	441,438	8	55,1798			7,43	36,75	
Total	3336,61	14						

**Groupes homogènes pour nivalérol (essai F.C.T<sub>5</sub>) par génotypes**

Génotypes	Moyennes	4	3	2	1
G <sub>1</sub>	4,63	D			
G <sub>4</sub>	6,37	D	C		
G <sub>10</sub>	19,57		C	B	
G <sub>9</sub>	31,15			B	A
G <sub>11</sub>	39,34				A

**Analyse de variance pour nivalérol (essai F.C.T<sub>7</sub>)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>174,782</b>	<b>4</b>	<b>43,6955</b>	<b>11,73</b>	<b>0,0020</b>			0,92
B:Blocs	3,90305	2	1,95153	0,52	0,6113			
Résiduelle (Erreur)	29,8102	8	3,72628			1,93	39,05	
Total	208,495	14						

**Groupes homogènes pour nivalérol (essai F.C.T<sub>7</sub>) par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>1</sub>	1,00	B	
G <sub>10</sub>	2,89	B	
G <sub>4</sub>	2,95	B	
G <sub>11</sub>	7,78		A
G <sub>9</sub>	10,09		A

**Analyse de variance pour désoxynivalérol (essai F.C.10.11)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>6048,41</b>	<b>4</b>	<b>1512,1</b>	<b>26,29</b>	<b>0,0001</b>			0,96
B:Blocs	67,1463	2	33,5732	0,58	0,5800			
Résiduelle (Erreur)	460,191	8	57,5239			7,58	31,96	
Total	6575,75	14						

**Groupes homogènes pour désoxynivalénol (essai F.C.10.11) par génotypes**

Génotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>1</sub>	2,47	C		
G <sub>10</sub>	3,49	C		
G <sub>4</sub>	23,54		B	
G <sub>11</sub>	32,64		B	
G <sub>9</sub>	56,52			A

**Analyse de variance pour désoxynivalénol (essai F.C.1.12)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>1734,1</b>	<b>4</b>	<b>433,526</b>	<b>4,23</b>	<b>0,0395</b>			0,76
B:Blocs	247,071	2	123,535	1,21	0,3488			
Résiduelle (Erreur)	820,146	8	102,518			10,13	37,64	
Total	2801,32	14						

**Groupes homogènes pour désoxynivalénol (essai F.C.1.12) par génotypes**

Génotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>1</sub>	10,85	C		
G <sub>10</sub>	19,25	C	B	
G <sub>9</sub>	28,07	C	B	A
G <sub>4</sub>	36,32		B	A
G <sub>11</sub>	40,00			A

**4.2.1.2. Analyse statistique globale des résultats**

**Analyse de variance pour nivalénol (ensemble des deux essais: F.C.T<sub>5</sub> et F.C.T<sub>7</sub>)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
A:Blocs (dans essais)	137,7788267	4	34,445					0,41
B:Génotypes	2070,82178	4	517,705	2,393	0,21			
<b>C:Essais</b>	<b>1748,949453</b>	<b>1</b>	<b>1748,949</b>	<b>50,776</b>	<b>0,002</b>			
<b>B*C</b>	<b>865,2589133</b>	<b>4</b>	<b>216,315</b>	<b>7,344</b>	<b>0,0015</b>			
Erreur	471,2485067	16	29,453			5,43	43,15	
Total	5294,05748							

**Groupes homogènes pour nivalénol (F.C.T<sub>5</sub> et F.C.T<sub>7</sub>) par génotypes**

Génotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>1</sub>	2,82	C		
G <sub>4</sub>	4,66	C		
G <sub>10</sub>	11,23		B	
G <sub>9</sub>	20,62			A
G <sub>11</sub>	23,56			A

**Groupes homogènes pour nivalénol (F.C.T<sub>5</sub> et F.C.T<sub>7</sub>) par isolats**

Isolats	Moyennes	2	1
F.C.T <sub>7</sub>	4,94	B	
F.C.T <sub>5</sub>	20,21		A

## Annexes

### Groupes homogènes pour nivalénol (F.C.T<sub>5</sub> et F.C.T<sub>7</sub>) par interaction (génotypes\*essais)

Génotypes	Essais	Moyennes	3	2	1
G <sub>1</sub>	F.C.T <sub>7</sub>	1,00	C		
G <sub>10</sub>	F.C.T <sub>7</sub>	2,89	C		
G <sub>4</sub>	F.C.T <sub>7</sub>	2,95	C		
G <sub>1</sub>	F.C.T <sub>5</sub>	4,63	C		
G <sub>4</sub>	F.C.T <sub>5</sub>	6,37	C		
G <sub>11</sub>	F.C.T <sub>7</sub>	7,78	C		
G <sub>9</sub>	F.C.T <sub>7</sub>	10,09	C	B	
G <sub>10</sub>	F.C.T <sub>5</sub>	19,57		B	
G <sub>9</sub>	F.C.T <sub>5</sub>	31,15			A
G <sub>11</sub>	F.C.T <sub>5</sub>	39,34			A

### Analyse de variance pour désoxynivalénol (ensemble des deux essais: F.C.10.11 et F.C.1.12)

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
A: Blocs (dans essais)	314,2170133	4	78,554					0,50
B: Génotypes	5839,26492	4	1459,816	3,005	0,16			
C: Essais	75,11336333	1	75,113	0,956	0,38			
<b>B*C</b>	<b>1943,247053</b>	<b>4</b>	<b>485,812</b>	<b>6,071</b>	<b>0,0036</b>			
Erreur	1280,337587	16	80,021			8,95	35,34	
Total	9452,179937							

### Groupes homogènes pour désoxynivalénol (F.C.10.11 et F.C.1.12) par génotypes

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>1</sub>	6,66	B	
G <sub>10</sub>	11,37	B	
G <sub>4</sub>	29,93		A
G <sub>11</sub>	36,32		A
G <sub>9</sub>	42,30		A

### Groupes homogènes pour désoxynivalénol (F.C.10.11 et F.C.1.12) par isolats

Isolats	Moyennes	1
F.C.10.11	23,73	A
F.C.1.12	26,90	A

## 4.2.2. Ergostérol

### 4.2.2.1. Analyse statistique individuelle des résultats

#### Analyse de variance pour ergostérol (essai F.C.T<sub>5</sub>)

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A: Génotypes</b>	<b>13418,9</b>	<b>4</b>	<b>3354,72</b>	<b>6,84</b>	<b>0,0107</b>			0,85
B: Blocs	1253,15	2	626,575	1,28	0,3300			
Résiduelle (Erreur)	3923,63	8	490,454			22,15	50,73	
Total	18595,7	14						

**Annexes**

**Groupes homogènes pour ergostérol (essai F.C.T<sub>5</sub>) par génotypes**

Génotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>1</sub>	8,74	C		
G <sub>4</sub>	15,80	C		
G <sub>10</sub>	37,20	C	B	
G <sub>9</sub>	73,82		B	A
G <sub>11</sub>	82,73			A

**Analyse de variance pour ergostérol (essai F.C.T<sub>7</sub>)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>4383,5</b>	<b>4</b>	<b>1095,88</b>	<b>11,63</b>	<b>0,0020</b>			0,91
B:Blocs	130,699	2	65,3497	0,69	0,5276			
Résiduelle (Erreur)	753,997	8	94,2496			9,71	41,09	
Total	5268,2	14						

**Groupes homogènes pour ergostérol (essai F.C.T<sub>7</sub>) par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>1</sub>	6,03	B	
G <sub>10</sub>	10,38	B	
G <sub>4</sub>	15,49	B	
G <sub>11</sub>	34,42		A
G <sub>9</sub>	51,79		A

**Analyse de variance pour ergostérol (essai F.C.10.11)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>18951,2</b>	<b>4</b>	<b>4737,79</b>	<b>11,63</b>	<b>0,0020</b>			0,91
B:Blocs	962,921	2	481,46	1,18	0,3552			
Résiduelle (Erreur)	3260,15	8	407,518			20,19	53,08	
Total	23174,2	14						

**Groupes homogènes pour ergostérol (essai F.C.10.11) par génotypes**

Génotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>1</sub>	6,00	C		
G <sub>10</sub>	8,077	C		
G <sub>4</sub>	26,27	C	B	
G <sub>11</sub>	47,19		B	
G <sub>9</sub>	102,62			A

**Analyse de variance pour ergostérol (essai F.C.1.12)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	16289,9	4	4072,48	3,22	0,0745		
B:Blocs	5395,27	2	2697,63	2,14	0,1807		
Résiduelle (Erreur)	10106,1	8	1263,27			35,54	71,84
Total	31791,3	14					

**Groupes homogènes pour ergostérol (essai F.C.1.12) par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>1</sub>	11,80	B	
G <sub>10</sub>	25,16	B	
G <sub>4</sub>	46,08	B	A
G <sub>11</sub>	56,96	B	A
G <sub>9</sub>	107,37		A

**4.2.2.2. Analyse statistique globale des résultats**

**Analyse de variance pour ergostérol (ensemble des quatre essais)**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
A:Blocs (dans essais)	7742,036467	8	967,755					0,80
<b>B:Génotypes</b>	<b>45106,11033</b>	<b>4</b>	<b>11276,528</b>	<b>17,048</b>	<b>0,000</b>			
C:Essais	5526,120913	3	1842,040	1,903	0,21			
B*C	7937,348353	12	661,446	1,173	0,34			
Erreur	18043,9218	32	563,873			23,75	61,36	
Total	84355,53786							

**Groupes homogènes pour ergostérol par génotypes**

Génotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>1</sub>	8,14	C		
G <sub>10</sub>	20,20	C		
G <sub>4</sub>	25,91	C		
G <sub>11</sub>	55,33		B	
G <sub>9</sub>	83,90			A

**Groupes homogènes pour ergostérol par Isolats**

Isolats	Moyennes	2	1
F.C.T <sub>7</sub>	23,62	B	
F.C.10.11	38,03	B	A
F.C.T <sub>5</sub>	43,66		A
F.C.1.12	49,47		A

**4.2.3. Acides phénoliques libres et liés des grains précoces et matures**

**4.2.3.1. Analyse statistique des résultats d'acides phénoliques libres dans les grains précoces**

**Analyse de variance pour l'acide chlorogénique libre**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	0,59778	4	0,149445	0,95	0,4691		
B:Blocs	0,138095	3	0,0460317	0,29	0,8301		
Résiduelle (Erreur)	1,88858	12	0,157382			0,40	60,89
Total	2,62446	19					

## Annexes

### Groupes homogènes pour l'acide chlorogénique libre par génotypes

Génotypes	Moyennes	l
G <sub>10</sub>	0,36	A
G <sub>1</sub>	0,56	A
G <sub>9</sub>	0,69	A
G <sub>4</sub>	0,79	A
G <sub>11</sub>	0,85	A

### Analyse de variance pour l'acide *p*-coumarique libre

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	6,80607	4	1,70152	0,47	0,7569		
B:Blocs	8,87702	3	2,95901	0,82	0,5087		
Résiduelle (Erreur)	43,4382	12	3,61985			1,90	32,55
Total	59,1213	19					

### Groupes homogènes pour l'acide *p*-coumarique libre par génotypes

Génotypes	Moyennes	l
G <sub>11</sub>	5,07	A
G <sub>10</sub>	5,42	A
G <sub>4</sub>	5,71	A
G <sub>9</sub>	6,48	A
G <sub>1</sub>	6,55	A

### Analyse de variance pour l'acide trans-férulique libre

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	406,906	4	101,726	0,32	0,8572		
B:Blocs	441,121	3	147,04	0,47	0,7107		
Résiduelle (Erreur)	3778,78	12	314,898			17,75	34,87
Total	4626,8	19					

### Groupes homogènes pour l'acide trans-férulique libre par génotypes

Génotypes	Moyennes	l
G <sub>1</sub>	43,28	A
G <sub>4</sub>	49,96	A
G <sub>11</sub>	50,62	A
G <sub>9</sub>	53,89	A
G <sub>10</sub>	56,71	A

### Analyse de variance pour l'acide sinapique libre

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>1026,0</b>	<b>4</b>	<b>256,501</b>	<b>5,99</b>	<b>0,0069</b>			0,83
B:Blocs	240,854	3	80,2846	1,88	0,1875			
Résiduelle (Erreur)	513,67	12	42,8059			6,54	35,33	
Total	1780,53	19						

**Groupes homogènes pour l'acide sinapique libre par Génotypes**

Génotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>4</sub>	6,44	C		
G <sub>1</sub>	15,95	C	B	
G <sub>10</sub>	20,68		B	A
G <sub>9</sub>	21,48		B	A
G <sub>11</sub>	28,03			A

**Analyse de variance pour l'acide syringique libre**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	4,77947	4	1,19487	0,99	0,4475		
B:Blocs	3,3365	3	1,11217	0,93	0,4581		
Résiduelle (Erreur)	14,4182	12	1,20152			1,10	27,36
Total	22,5342	19					

**Groupes homogènes pour l'acide syringique libre par génotypes**

Génotypes	Moyennes	1
G <sub>10</sub>	3,18	A
G <sub>9</sub>	3,74	A
G <sub>1</sub>	4,19	A
G <sub>4</sub>	4,45	A
G <sub>11</sub>	4,45	A

**Analyse de variance pour l'acide protocatéchique libre**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	0,47913	4	0,119783	1,65	0,2257		
B:Blocs	0,153015	3	0,051005	0,70	0,5685		
Résiduelle (Erreur)	0,87131	12	0,0726092			0,27	20,95
Total	1,50346	19					

**Groupes homogènes pour l'acide protocatéchique libre par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>1</sub>	1,06	B	
G <sub>10</sub>	1,20	B	A
G <sub>4</sub>	1,30	B	A
G <sub>9</sub>	1,34	B	A
G <sub>11</sub>	1,53		A

**Analyse de variance pour l'acide vanilique libre**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	3,05112	4	0,76278	0,91	0,4910		
B:Blocs	3,16034	3	1,05345	1,25	0,3348		
Résiduelle (Erreur)	10,1044	12	0,84203			0,92	23,13
Total	16,3158	19					

**Groupes homogènes pour l'acide vanilique libre par génotypes**

Génotypes	Moyennes	1
G <sub>10</sub>	3,48	A
G <sub>9</sub>	3,64	A
G <sub>4</sub>	3,99	A
G <sub>11</sub>	4,14	A
G <sub>1</sub>	4,59	A

**4.2.3.2. Analyse statistique des résultats d'acides phénoliques liés dans les grains précoces**

**Analyse de variance pour l'acide *p*-coumarique lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>6,69368E6</b>	<b>4</b>	<b>1,67342E6</b>	<b>3,65</b>	<b>0,0361</b>			0,73
B:Blocs	3,08243E6	3	1,02748E6	2,24	0,1358			
Résiduelle (Erreur)	5,49807E6	12	458173,			676,88	82,32	
Total	1,52742E7	19						

**Groupes homogènes pour l'acide *p*-coumarique lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>9</sub>	1443,49	B	
G <sub>11</sub>	1601,71	B	
G <sub>4</sub>	2047,35	B	
G <sub>10</sub>	2120,61	B	A
G <sub>1</sub>	3098,99		A

**Analyse de variance pour l'acide trans-féruilique lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>8,80069E6</b>	<b>4</b>	<b>2,20017E6</b>	<b>3,40</b>	<b>0,0444</b>			0,70
B:Blocs	4,70482E6	3	1,56827E6	2,42	0,1164			
Résiduelle (Erreur)	7,76658E6	12	647215,			804,50	22,58	
Total	2,12721E7	19						

**Groupes homogènes pour l'acide trans-féruilique lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>9</sub>	2783,90	B	
G <sub>11</sub>	2992,94	B	
G <sub>4</sub>	3673,23	B	A
G <sub>10</sub>	3690,81	B	A
G <sub>1</sub>	4676,43		A

**Analyse de variance pour l'acide cis-féruilique lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	36291,8	4	9072,96	3,04	0,0601		
B:Blocs	16431,0	3	5477,01	1,84	0,1940		
Résiduelle (Erreur)	35756,2	12	2979,68			54,59	29,35
Total	88479,0	19					

## Annexes

### Groupes homogènes pour l'acide cis-férulique lié par génotypes

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>9</sub>	132,49	B	
G <sub>10</sub>	158,18	B	A
G <sub>4</sub>	166,69	B	A
G <sub>11</sub>	235,11		A
G <sub>1</sub>	237,49		A

### Analyse de variance pour l'acide syringique lié

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	387,859	4	96,9647	2,90	0,0685		
B:Blocs	251,045	3	83,6818	2,50	0,1092		
Résiduelle (Erreur)	401,775	12	33,4813			5,79	30,59
Total	1040,68	19					

### Groupes homogènes pour l'acide syringique lié par génotypes

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>9</sub>	13,97	B	
G <sub>4</sub>	16,53	B	
G <sub>10</sub>	18,14	B	
G <sub>11</sub>	18,89	B	A
G <sub>1</sub>	27,05		A

### Analyse de variance pour l'acide vanilique lié

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	574,32	4	143,58	0,62	0,6570		
B:Blocs	289,069	3	96,3565	0,42	0,7448		
Résiduelle (Erreur)	2780,26	12	231,688			15,22	59,29
Total	3643,65	19					

### Groupes homogènes pour l'acide vanilique lié par génotypes

Génotypes	Moyennes	1
G <sub>9</sub>	16,20	A
G <sub>1</sub>	24,42	A
G <sub>4</sub>	27,26	A
G <sub>10</sub>	28,23	A
G <sub>11</sub>	32,24	A

### Analyse de variance pour le 8-5-DiFA lié

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
A:Génotypes	5229,12	4	1307,28	4,09	0,0257			0,75
B:Blocs	2177,54	3	725,847	2,27	0,1328			
Résiduelle (Erreur)	3839,0	12	319,917			17,89	27,23	
Total	11245,7	19						

**Groupes homogènes pour le 8-5-DiFA lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	3	2	1
G <sub>11</sub>	44,54	C		
G <sub>9</sub>	52,36	C	B	
G <sub>10</sub>	66,92	C	B	A
G <sub>4</sub>	74,20		B	A
G <sub>1</sub>	90,35			A

**Analyse de variance pour le 5-5-DiFA lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	38068,8	4	9517,19	2,54	0,0948		
B:Blocs	21467,1	3	7155,7	1,91	0,1822		
Résiduelle (Erreur)	45014,4	12	3751,2			61,25	28,98
Total	104550,	19					

**Groupes homogènes pour le 5-5-DiFA lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>11</sub>	156,11	B	
G <sub>9</sub>	174,59	B	
G <sub>10</sub>	206,10	B	A
G <sub>4</sub>	246,56	B	A
G <sub>1</sub>	273,37		A

**Analyse de variance pour le 8-O-4 DiFA lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	172548,	4	43137,0	3,01	0,0621		
B:Blocs	84648,1	3	28216,0	1,97	0,1728		
Résiduelle (Erreur)	172119,	12	14343,3			119,76	31,33
Total	429315,	19					

**Groupes homogènes pour le 8-O-4 DiFA lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>11</sub>	265,32	B	
G <sub>9</sub>	302,48	B	
G <sub>10</sub>	380,74	B	A
G <sub>4</sub>	440,31	B	A
G <sub>1</sub>	522,70		A

**Analyse de variance pour le 8-5 bene DiFA lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	101935,	4	25483,8	2,98	0,0636		
B:Blocs	54347,3	3	18115,8	2,12	0,1512		
Résiduelle (Erreur)	102594,	12	8549,54			92,46	30,44
Total	258877,	19					

**Groupes homogènes pour le 8-5 bene DiFA lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>11</sub>	223,45	B	
G <sub>9</sub>	231,94	B	
G <sub>10</sub>	302,85	B	A
G <sub>4</sub>	347,69	B	A
G <sub>1</sub>	413,05		A

**Analyse de variance pour monomères liés**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>3,2032E7</b>	<b>4</b>	<b>8,00801E6</b>	<b>3,46</b>	<b>0,0421</b>			0,71
B:Blocs	1,65575E7	3	5,51915E6	2,39	0,1199			
Résiduelle (Erreur)	2,7734E7	12	2,31116E6			1520,25	25,96	
Total	7,63234E7	19						

**Groupes homogènes pour monomères liés par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>9</sub>	4390,06	B	
G <sub>11</sub>	4880,89	B	
G <sub>4</sub>	5931,06	B	A
G <sub>10</sub>	6015,97	B	A
G <sub>1</sub>	8064,39		A

**Analyse de variance pour les DiFA liés**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	1,12907E6	4	282268,	3,00	0,0624		
B:Blocs	558704,	3	186235,	1,98	0,1708		
Résiduelle (Erreur)	1,12861E6	12	94050,7			306,68	29,76
Total	2,81638E6	19					

**Groupes homogènes pour les DiFA liés par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>11</sub>	735,06	B	
G <sub>9</sub>	820,34	B	
G <sub>10</sub>	1024,49	B	A
G <sub>4</sub>	1187,39	B	A
G <sub>1</sub>	1385,69		A

**4.2.3.3. Analyse statistique des résultats d'acides phénoliques libres des grains matures**

**Analyse de variance pour l'acide trans-férulique libre**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>0,125427</b>	<b>4</b>	<b>0,0313567</b>	<b>10,50</b>	<b>0,0029</b>			0,90
B:Blocs	0,00357333	2	0,00178667	0,60	0,5726			
Résiduelle (Erreur)	0,0238933	8	0,00298667			0,05	14,74	
Total	0,152893	14						

**Groupes homogènes pour l'acide trans-férulique libre par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>4</sub>	0,29	B	
G <sub>9</sub>	0,30	B	
G <sub>11</sub>	0,30	B	
G <sub>10</sub>	0,46		A
G <sub>1</sub>	0,50		A

**Analyse de variance pour l'acide vanilique libre**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)	H <sup>2</sup> <sub>F</sub>
<b>A:Génotypes</b>	<b>0,0551067</b>	<b>4</b>	<b>0,0137767</b>	<b>5,15</b>	<b>0,0238</b>			0,80
B:Blocs	0,00225333	2	0,00112667	0,42	0,6702			
Résiduelle (Erreur)	0,0214133	8	0,00267667			0,05	9,66	
Total	0,0787733	14						

**Groupes homogènes pour l'acide vanilique libre par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>4</sub>	0,46	B	
G <sub>10</sub>	0,51	B	
G <sub>11</sub>	0,52	B	
G <sub>9</sub>	0,53	B	
G <sub>1</sub>	0,65		A

**2.2.3.4. Analyse statistique des résultats d'acides phénoliques liés des grains matures**

**Analyse de variance pour l'acide *p*-coumarique lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	207,695	4	51,9238	3,16	0,0776		
B:Blocs	103,84	2	51,9199	3,16	0,0972		
Résiduelle (Erreur)	131,286	8	16,4108			4,05	23,75
Total	442,821	14					

**Groupes homogènes pour l'acide *p*-coumarique lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>9</sub>	13,03	B	
G <sub>11</sub>	14,14	B	A
G <sub>10</sub>	15,02	B	A
G <sub>4</sub>	21,48		A
G <sub>1</sub>	21,62		A

**Analyse de variance pour l'acide trans-férulique lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	204692,	4	51172,9	2,22	0,1562		
B:Blocs	120837,	2	60418,7	2,62	0,1329		
Résiduelle (Erreur)	184148,	8	23018,4			151,72	26,23
Total	509677,	14					

**Groupes homogènes pour l'acide trans-férulique lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>10</sub>	477,26	B	
G <sub>11</sub>	479,18	B	
G <sub>9</sub>	533,05	B	A
G <sub>4</sub>	611,98	B	A
G <sub>1</sub>	790,47		A

**Analyse de variance pour l'acide cis-férulique lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	186,822	4	46,7056	1,80	0,2228		
B:Blocs	92,4945	2	46,2472	1,78	0,2295		
Résiduelle (Erreur)	207,988	8	25,9985			5,10	24,26
Total	487,304	14					

**Groupes homogènes pour l'acide cis-férulique lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>11</sub>	16,86	B	
G <sub>10</sub>	18,97	B	A
G <sub>4</sub>	19,28	B	A
G <sub>9</sub>	23,22	B	A
G <sub>1</sub>	26,76		A

**Analyse de variance pour l'acide sinapique lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	168,486	4	42,1216	0,71	0,6076		
B:Blocs	342,304	2	171,152	2,88	0,1140		
Résiduelle (Erreur)	474,706	8	59,3383			7,70	49,05
Total	985,496	14					

**Groupes homogènes pour l'acide sinapique lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	1
G <sub>10</sub>	10,34	A
G <sub>11</sub>	13,43	A
G <sub>4</sub>	17,52	A
G <sub>1</sub>	17,61	A
G <sub>9</sub>	19,62	A

**Analyse de variance pour l'acide vanilique lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	12,1438	4	3,03596	2,91	0,0926		
B:Blocs	5,81065	2	2,90533	2,79	0,1206		
Résiduelle (Erreur)	8,33721	8	1,04215			1,02	21,59
Total	26,2917	14					

**Groupes homogènes pour l'acide vanilique lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>10</sub>	3,72	B	
G <sub>11</sub>	3,96	B	
G <sub>9</sub>	4,63	B	A
G <sub>4</sub>	5,07	B	A
G <sub>1</sub>	6,25		A

**Analyse de variance pour le 8-5 DiFA lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	443,574	4	110,894	2,79	0,1013		
B:Blocs	229,463	2	114,732	2,89	0,1139		
Résiduelle (Erreur)	318,054	8	39,7567			6,31	25,47
Total	991,091	14					

**Groupes homogènes pour le 8-5 DiFA lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>11</sub>	20,03	B	
G <sub>10</sub>	20,06	B	
G <sub>9</sub>	23,43	B	A
G <sub>4</sub>	25,46	B	A
G <sub>1</sub>	34,82		A

**Analyse de variance pour le 5-5 DiFA lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	2226,7	4	556,676	1,55	0,2769		
B:Blocs	2110,04	2	1055,02	2,94	0,1106		
Résiduelle (Erreur)	2874,5	8	359,312			18,96	37,26
Total	7211,24	14					

**Groupes homogènes pour le 5-5 DiFA lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	1
G <sub>10</sub>	38,77	A
G <sub>11</sub>	39,83	A
G <sub>4</sub>	49,91	A
G <sub>9</sub>	53,38	A
G <sub>1</sub>	72,47	A

**Analyse de variance pour le 8-O-4 DiFA lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	4065,52	4	1016,38	1,92	0,2002		
B:Blocs	3286,18	2	1643,09	3,11	0,1003		
Résiduelle (Erreur)	4230,45	8	528,806			23,00	28,89
Total	11582,1	14					

**Groupes homogènes pour le 8-O-4 DiFA lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>10</sub>	64,73	B	
G <sub>11</sub>	65,45	B	
G <sub>9</sub>	78,22	B	A
G <sub>4</sub>	79,39	B	A
G <sub>1</sub>	110,13		A

**Analyse de variance pour le 8-5 bene DiFA lié**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	3300,5	4	825,124	1,71	0,2392		
B:Blocs	3209,39	2	1604,7	3,33	0,0885		
Résiduelle (Erreur)	3850,13	8	481,267			21,94	27,20
Total	10360,0	14					

**Groupes homogènes pour le 8-5 bene DiFA lié par génotypes**

Génotypes	Moyennes	1
G <sub>10</sub>	65,92	A
G <sub>11</sub>	66,80	A
G <sub>9</sub>	80,59	A
G <sub>4</sub>	83,16	A
G <sub>1</sub>	106,82	A

**Analyse de variance pour monomères liés**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	236237,	4	59059,2	2,28	0,1493		
B:Blocs	145689,	2	72844,5	2,81	0,1189		
Résiduelle (Erreur)	207272,	8	25909,1			160,96	25,27
Total	589198,	14					

**Groupes homogènes pour monomères liés par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>10</sub>	525,32	B	
G <sub>11</sub>	527,57	B	
G <sub>9</sub>	593,55	B	A
G <sub>4</sub>	675,33	B	A
G <sub>1</sub>	862,70		A

**Analyse de variance pour les DiFA liés**

Sources de variation	SCE	DDL	CM	F	P	ET	CV (%)
A:Génotypes	41458,0	4	10364,5	1,84	0,2153		
B:Blocs	35670,3	2	17835,2	3,16	0,0974		
Résiduelle (Erreur)	45156,7	8	5644,59			75,13	28,89
Total	122285,	14					

**Groupes homogènes pour les DiFA liés par génotypes**

Génotypes	Moyennes	2	1
G <sub>10</sub>	207,92	B	
G <sub>11</sub>	212,43	B	
G <sub>9</sub>	261,25	B	A
G <sub>4</sub>	264,85	B	A
G <sub>1</sub>	353,91		A