

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie-El-Harrach-Alger

Thèse

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences Agronomiques

Spécialité : Phytopathologie

Etude du pathosystème Blé-*Zymoseptoria tritici* : Reproduction
sexuée et acquisition de connaissances pour l'héritabilité de la
résistance

Présentée par : MEAMICHE NEDDAF Hayet

Devant le jury Composé de :

Pr. LOUANCHI M.	E.N.S.A, El Harrach	Présidente
Pr. BOUZNAD Z.	E.N.S.A, El Harrach	Directeur de thèse
Dr. BENBELKACEM A.	I.N.R.A.A, Constantine	Examineur
Pr. BOUREGHDA H.	E.N.S.A, El Harrach	Examinatrice
Pr. KRIMI Z.	Université de Blida	Examinatrice
Pr. SETTI B.	Université de Chlef	Examineur

Année Universitaire 2018-2019

DEDICACES

*A ceux qui m'ont donné la vie et autant
d'amour pour pouvoir l'apprécier,
A celui qui partage ma vie et tous ce qu'elle a à nous offrir,
A celles qui sont venues au monde en illuminant le
commencement et l'achèvement de cette thèse, Marwa et Majda
A mon frère et toutes celles et ceux qui font partie de ma tribu*

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	I
LISTE DES FIGURES	IV
LISTE DES TABLEAUX	VII
ABBREVIATIONS	VIII
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
I.1. La plante hôte : Le blé dur.....	4
I.1.1. Classification et origine génétique et géographique.....	4
I.1.2. Le blé dur dans le monde.....	5
I.1.3. Le blé dur en Algérie.....	6
I.2. L'agent pathogène : <i>Zymoseptoria tritici</i>, agent de la tache septorienne du blé..	7
I.2.1. Importance et symptômes	7
I.2.2. Taxonomie et critères d'identification de <i>Z. tritici</i>	10
I.2.3. Reproduction sexuée chez <i>Z. tritici</i>	12
I.2.4. Biologie et développement de la maladie.....	14
I.2.4.1. <i>Cycle biologique</i>	14
I.2.4.2. <i>Conditions de développement de la maladie</i>	16
I.2.4.3. <i>Cycle infectieux</i>	16
I.2.5. Les moyens de lutte.....	18
I.2.5.1. <i>Les pratiques culturales</i>	19
I.2.5.2. <i>La résistance variétale</i>	19
I.2.5.3. <i>Les fongicides</i>	23
CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES.....	26
II.1. Prospections et échantillonnage.....	26
II.2. Isolement, purification et conservation des isolats.....	26
II.3. Analyse de la distribution des fréquences des idiomorphes <i>Mat1-1</i> et <i>Mat1-2</i> et recherche de la mutation G143A conférant la résistance au strobilurines....	28
II.3.1. Extraction de l'ADN génomique.....	28
II.3.2. Détermination des mating types par PCR en multiplex.....	29
II.3.3. Recherche de la mutation G143A par la méthode MAMA.....	29
II.3.4. Révélation des produits d'amplification.....	31
II.3.5. Essai biologique <i>in vitro</i> de la sensibilité aux strobilurines.....	31
II.3.6. Analyses statistiques des données.....	31
II.4. Recherche du téléomorphe <i>Z. tritici</i> dans les conditions naturelles de champ...	32
II.4.1. Site d'étude et collecte des échantillons.....	32
III.4.1.1 <i>Collecte des débris de cultures</i>	32

III.4.1.2	<i>Collecte des feuilles infectées à partir des plants de blé en végétation.....</i>	32
II.4.2.	Identification des structures de la reproduction sexuée de <i>Z. tritici</i>	34
II.4.3.	Mensuration des structures de reproduction de <i>Z. tritici</i>	34
II.4.4.	Test de pathogénicité d'isolats issus d'ascospores de <i>Z. tritici</i>	34
II.4.4.1.	<i>Isolement du pathogène par la capture des ascospores.....</i>	35
II.4.4.2.	<i>Matériel végétal.....</i>	36
II.4.4.3.	<i>Préparation de l'inoculum, inoculation artificielle et observation des symptômes...</i>	37
II.4.5.	Occurrence du téléomorphe <i>Z. tritici</i> dans les conditions naturelles du champ.....	37
II.4.5.1.	<i>Estimation de la fréquence des pseudothèces sur les débris de cultures et les plants en végétation.....</i>	37
II.4.5.2.	<i>Estimation de l'intensité de la décharge des ascospores sur les débris de cultures et les plants en végétation.....</i>	38
II.5.	Etude <i>in planta</i> de la reproduction sexuée chez <i>Z. tritici</i> en conditions semi-contrôlées.....	39
II.5.1.	Matériel fongique.....	40
II.5.2.	Matériel végétal.....	40
II.5.3.	Méthode d'inoculation artificielle.....	41
II.5.4.	Conditionnement du matériel végétal pour l'induction de la reproduction sexuée et formation des pseudothèces <i>in planta</i>	42
II.5.5.	Paramètres étudiés pour l'évaluation du pouvoir pathogène des isolats inoculés seuls et en combinaison.....	44
II.5.5.1.	<i>La période de latence (PL).....</i>	44
II.5.5.2.	<i>La sévérité de la maladie.....</i>	44
II.5.6.	Paramètres étudiés pour l'évaluation de l'intensité de la reproduction sexuée.....	45
II.5.6.1.	<i>La sévérité de la maladie.....</i>	45
II.5.6.2.	<i>L'intensité de la reproduction sexuée.....</i>	45
CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSIONS.....		47
III.1	La tache septorienne en Algérie.....	47
III.1.1.	Prévalence de la tache septorienne du blé dans le Centre et l'Est de l'Algérie.....	47
III.1.2.	Isolement et identification au laboratoire de <i>Z. tritici</i> , agent de la tache septorienne du blé.....	50
III.1.3.	Discussion.....	53
III.2	Mise en évidence du potentiel de reproduction sexuée et de l'émergence de la résistance aux strobilurines chez <i>Z. tritici</i> en Algérie.....	55
III.2.1.	Distribution des fréquences des idéomorphes <i>Mat1-1</i> et <i>Mat 1-2</i>	55
III.2.1.1.	<i>Détermination des mating types.....</i>	55
III.2.1.2.	<i>Distribution macro et micro-géographique des idiomorphes <i>Mat1-1</i> et <i>Mat1-2</i>.....</i>	56
III.2.2.	Occurrence en Algérie de la mutation A143G conférant la résistance aux strobilurines chez <i>Z. tritici</i>	57
III.2.3.	Discussion.....	59
III.2.3.1.	<i>Distribution des fréquences des idiomorphes <i>Mat1-1</i> et <i>Mat1-2</i>.....</i>	59
III.2.3.2.	<i>Présence en Algérie de la mutation G143A au sein de la population de <i>Z. tritici</i>....</i>	61

III.3	Mise en évidence de la présence au champ du téléomorphe <i>Z. tritici</i> en Algérie	63
III.3.1.	Description morphologique des structures de la reproduction sexuée.....	65
III.3.2.	Pathogénicité des isolats issus de la germination des ascospores et confirmation du postulat de Koch.....	65
III.3.3.	Occurrence du téléomorphe <i>Z. tritici</i> sous les conditions naturelles du champ.....	68
III.3.4.	Discussion.....	70
III.4.	Etude <i>in planta</i> de la reproduction sexuée de <i>Z. tritici</i> et l'obtention du téléomorphe en conditions semi-contrôlées.....	76
III.4.1.	Variabilité pathologique des isolats inoculés seuls et en combinaison sur les variétés Simeto et Hoggar.....	77
III.4.2.	Obtention <i>in planta</i> du téléomorphe <i>Z. tritici</i> en condition semi-contrôlées.....	85
III.4.2.1.	<i>Fertilité des combinaisons biparentales sur les variétés Simeto et Hoggar.....</i>	86
III.4.2.2.	<i>Effets de l'isolat et de la variété sur la reproduction sexuée.....</i>	87
III.4.3.	Discussion.....	90
III.4.3.1.	<i>Variabilité pathologique des isolats inoculés seuls et en combinaison sur les variétés Simeto et Hoggar.....</i>	90
III.4.3.2	<i>Obtention in planta du téléomorphe <i>Z. tritici</i>, en condition semi-contrôlées.....</i>	94
	CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	98
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	103
	ANNEXES	
	ARTICLES SCIENTIFIQUES	
	RESUME	
	ABSTRACT	
	ملخص	

« Le bonheur, c'est avoir une mère qui nous aime, un père pour nous conduire, avoir encore ses parents à l'âge d'homme pour les voir sourire à nos efforts, et voir nos parents applaudir à nos succès »

Henri-Frédéric Amiel, 1852.

REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait pas été possible sans le soutien financier de l'Institut National de Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA) et le Laboratoire Plant Research International (PRI) de l'Université de Wageningen au Pays-Bas, qui m'ont permis grâce à un financement partiel, de me consacrer sereinement à l'élaboration de ma thèse.

Au terme de plusieurs années de thèse, nous sommes tentés de nous approprier le mérite du travail accompli, cela ne saurait être vrai. Notre parcours a certes été semé d'embûches, mais il a également été ponctué de rencontres exceptionnelles. Aujourd'hui, la section des remerciements me semble la plus agréable à rédiger, car à travers le témoignage de ma reconnaissance et de ma gratitude, je rends hommage à tous ceux qui ont contribué à l'élaboration et à l'aboutissement de ce travail.

Mes remerciements vont en premier à mon directeur de thèse, Pr BOUZNAD Zouaoui, qui a été avant tout mon enseignant aux prémices de mon parcours universitaire. En acceptant de diriger mes travaux de thèse, il a toujours fait preuve de pragmatisme et d'écoute. En dépit des difficultés rencontrées, il m'a guidée sans jamais me freiner. Je le remercie pour m'avoir octroyé la liberté d'exposer mes opinions et mes hypothèses, qu'il a toujours discutées avec enthousiasme et ouverture d'esprit. Aujourd'hui, ma plus grande satisfaction est de ne pouvoir garder que le meilleur.

A Mme LOUANCHI Meriem, Professeur à L'ENSA, j'exprime mes remerciements les plus sincères, pour avoir accepté de présider le Jury de ma soutenance. Aussi, je n'oublie pas que sous sa direction, durant mes précédentes thèses, j'ai appris à faire mes premiers pas dans le monde de la recherche. Ces enseignements m'ont donc indéniablement servis durant mon parcours doctoral. Qu'elle trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de ma profonde gratitude.

Je remercie chaleureusement Mme BOUREGHDA, Professeur à l'ENSA, Mme KRIMI, Professeur à l'Université de Blida et Mr SETTI, Professeur à l'Université de Chlef, pour l'honneur qu'ils me font en acceptant de donner de leur temps pour évaluer ce travail.

Mes remerciements vont également à Mr BENBELKACEM Kaddour, Directeur de recherches à l'INRAA, pour avoir accepté d'évaluer ce travail et de m'avoir accompagnée tout au long de mon parcours professionnel. Tel un père bienveillant, son sens aigu du détail, sa capacité à allier l'amélioration à la phytopathologie, ses qualités humaines et son humour insaisissable, font de lui un modèle. J'espère un jour pouvoir m'approcher de la carrière qu'il a pu avoir.

Mes remerciements vont également à ma famille de cœur, celle de l'ENSA (ex INA), particulièrement au Département de Botanique. A mes enseignants Mr TRAIKIA et Mr KEDDAD pour leur soutien indéfectible. A Mme BENHOUHOU auprès de qui j'ai toujours trouvé soutien et réconfort dans les moments de doutes. A Mme DJEBARI, qui n'a jamais cessé de m'encourager, par les paroles, mais plus encore par les actes. A Mme BENSLIMANE qui m'a toujours soutenue sans ménagement, mais aussi pour avoir contribué à la correction et à la structuration de mon article. Ma reconnaissance envers vous mesdames et messieurs, est infinie. Je remercie également l'équipe d'ingénieurs et de techniciens du département, qui bien plus qu'un support technique, m'ont aidée et soutenue, toujours dans la joie et la bonne humeur. A Fatima, Nesrine, Fouzi, Mohamed, Meriem et Soumia. Aussi je n'oublie pas l'entraide et la solidarité partagées en toutes circonstances, avec mes camarades de paillasses au Laboratoire de Phytopathologie. A Hind, Sihem, Naouel et Ali. A Lila Naouel Salhi, une amie et plus encore, mêmes si des milliers de kilomètres nous séparent à présent, elle a continué à me soutenir et à s'impliquer sans ménagement dans l'analyse et l'interprétation de mes données. Une partie de cette thèse lui revient, Lilette tu es et restera ma partenaire.

Ce travail n'aurait pu être mené à bien sans la disponibilité et l'accueil chaleureux que m'ont témoignés Mme ABDELGUERFI, Professeur à l'ENSA et Farid, Ingénieur au laboratoire de biologie moléculaire du département de Phytotechnie de l'ENSA. Ils m'ont facilité l'accès au laboratoire et m'ont fournis tout ce dont j'avais besoin, à un moment où je n'avais nulle part où réaliser mes manipulations en biologie moléculaire.

A ma troisième famille, celle de l'Institut National de Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA), où j'exerce mon métier de chercheur depuis dix ans. Je remercie toutes celles et ceux qui m'ont témoigné leur soutien. A Khalissa Ouakli, envers qui ma reconnaissance ne peut être quantifiée. A Mme Bouhafis, qui a su défendre ma cause et a facilité mes démarches pour obtenir un financement pour mes travaux de recherche. A Mme Moumni Nezreg pour toute l'aide qu'elle m'a apporté tout au long de mon parcours.

Je remercie également Mme Khaldoune pour avoir couvert une partie de mes besoins en réactifs et en équipement, nécessaires à la réalisation de mes travaux. A Karim Ouamer-Ali, pour avoir contribué grandement à la conduite de mes essais en serre, à la station de recherche de Mehdi Boualem à Baraki. A tous mes collègues que je n'ai pas cités, je témoigne ma reconnaissance pour leur soutien, ne fut-ce que par un sourire d'encouragement.

A celle et ceux qui m'ont apporté leur aide, durant mes prospections, mais aussi durant ma quête continue de produits en tout genre (semence, réactifs, fongicides, consommable...etc.). A Nadera Mehdaoui et à Ryad (Bayer Crop Science), à Assia Khalfi, Mouna Meziani et Abdenmour Zibani (ITGC), à Mr Kerkoud, ainsi qu'à Farida Bouguerra (INPV, Blida).

Une thèse de Doctorat offre parfois des opportunités inouïes de voyager et de faire des rencontres extraordinaires. C'est pour cela qu'il est indispensable pour moi de remercier Gert KEMA, Professeur à l'Université de Wageningen au Pays Bas, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et pour avoir contribué grandement dans l'élaboration de ce travail. « Gert, I am deeply grateful to you for giving me the incredible opportunity to learn from your experience on *Zymoseptoria tritici*. I published my first paper under your supervision and I really appreciate how you always encouraged me with respect and full attention to my opinion and even to my clumsiness. Later I realized that more than a paper, you offered me an invaluable gift: a way of thinking and how doing things in the right way. I am also thankful for the freedom I was given to plan my experiments and came back again to pursue my work in an absolutely unique environment. You definitely contributed to shaping my vision of science and my future perspectives as a researcher. Bedankt voor je vertrouwen ». A Lamia AOUINI (Tunisie), pour m'avoir accompagnée et guidée patiemment lors de mes séjours à Wageningen, quelle trouve ici l'expression de ma gratitude infinie. A Nadia (Equateur) et à Mike (Allemagne). A Flavia (Brésil), Isra (Equateur), Fernando (Colombie), Amir (Iran), Nani (Indonésie), Delphine (France), Else, Audette, Marja et Harold (Pays Bas). Je les remercie pour toute l'aide qu'ils m'ont apporté, chacun à sa manière, chacun dans sa langue.

Pour les autres, ceux que je n'ai pas cités, non pas par omission mais parce que l'espace ne saurait tous les contenir. Je leur exprime ma profonde reconnaissance, pour leur soutien et leur encouragements durant les moments difficiles, mais aussi pour avoir partagé avec moi des moments de joie, qui au même titre que cette thèse, resteront gravés dans ma mémoire.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Symptômes caractéristiques de la phase asexuée de <i>Z. tritici</i> , à différents stades de développement, sur des feuilles de blé	9
Figure 2. Fructifications sexuées et asexuées de <i>Z. tritici</i>	12
Figure 3. Processus de la reproduction sexuée chez <i>Z. tritici</i> , adapté par Alexopoulos <i>et al</i> (1996), à partir du cycle sexué des espèces de la famille des <i>Mycosphaerellaceae</i> (Ware, 2006).....	13
Figure 4. Représentation schématique décrivant la progression de la maladie de la tache septorienne du blé causée par <i>Z. tritici</i> (cercle extérieur) parallèlement aux différents stades de végétation d'une culture de blé (cercle intérieur), selon O'Driscoll <i>et al</i> (2014).....	15
Figure 5. Schéma du cycle infectieux de <i>Z. tritici</i> , selon Steinberg (2015).....	17
Figure 6. Reproduction sexuée chez <i>Z. tritici</i> , sous l'effet d'une pression de sélection de type fongicide (strobilutines), selon Kema <i>et al</i> (2018).....	25
Figure 7. Etapes d'isolement de <i>Z. tritici</i> au laboratoire.....	27
Figure 8. Site de prélèvement des échantillons pour la recherche du téléomorphe <i>Z. tritici</i> à la station expérimentale de l'ITGC (Oued Smar).....	33
Figure 9. Isolement du pathogène à partir des tissus infectés, par la capture des ascospores, selon la méthode décrite par Kema <i>et al</i> (1996 c), modifiée.....	36
Figure 10. Estimation de l'intensité de la décharge des ascospores, par la capture des ascospores, selon la méthode décrite par Kema <i>et al</i> (1996 c), modifiée par Suffert et Sache (2011).....	39
Figure 11. Présentation de la mise en place de l'essai 1 et de l'essai 2, pour l'étude <i>in planta</i> de la reproduction sexuée de <i>Z. tritici</i> , en conditions semi-contrôlées, sur le blé dur	42
Figure 12. Présentation du dispositif d'essai d'induction <i>in planta</i> de la reproduction sexuée chez <i>Z. tritici</i> , en conditions semi-contrôlées dans l'essai 2.....	43
Figure 13. Symptômes de la tache septorienne, causée par <i>Z. tritici</i> , observés lors des prospections menées en 2013 et en 2014	48
Figure 14. Prévalence de la tache septorienne du blé, dans six régions du Centre et de l'Est du pays, exprimée en pourcentage de champs attaqués par la maladie, en 2013 et en 2014.....	50
Figure 15. Répartition des cumuls mensuels moyens des précipitations (en mm), enregistrés durant les deux campagnes 2012-2013 et 2013-2014, en fonction de l'étage bioclimatique : subhumide (SH), comprenant Alger, Blida et Tipaza et semi-aride (SA), comprenant Médéa, Bouira et Constantine, selon les données climatiques fournies par l'INSID.....	50
Figure 16. Isolement au laboratoire de <i>Z. tritici</i>	52
Figure 17. Aspect morfo-cultural de <i>Z. tritici</i> cultivé sur un milieu PDA.....	52

Figure 18. PCR en multiplex pour la détermination des mating types <i>Mat1-1</i> et <i>Mat1-2</i> au sein de la collection de <i>Z. tritici</i>	55
Figure 19. Distribution des fréquences des deux idiomorphes <i>Mat1-1</i> et <i>Mat1-2</i> , à l'échelle macro-géographique, pour chaque wilaya prospectée.....	56
Figure 20. Mismatch Amplification Mutation Assay (MAMA) pour la recherche de la mutation G143A dans le gene <i>Cytb</i> au sein de la collection de <i>Z. tritici</i>	58
Figure 21. Test biologique de sensibilité aux fongicides QoI (strobilurines) au sein de la collection de <i>Z. tritici</i>	59
Figure 22. Aspects macroscopiques et microscopiques des structures de reproduction sexuée de <i>Z. tritici</i>	64
Figure 23. Résultats de l'induction de décharge des ascospores à partir d'un fragment portant des pseudothèces de <i>Z. tritici</i>	66
Figure 24. Expression des symptômes de <i>Z. tritici</i> sur des feuilles de blé dur cv. Hoggar, inoculées avec un isolat issu de la germination d'une ascospore.....	67
Figure 25. Fréquence d'occurrence mensuelle des pseudothèces de <i>Z. tritici</i> , exprimée en pourcentage, sur les débris de cultures prélevés à partir de la parcelle 1, d'août 2015 à août 2016.....	69
Figure 26. Intensité de décharge mensuelle des ascospores de <i>Z. tritici</i> , exprimée par l'IDA (nombre d'ascospores libérées par gramme de tissu infecté), sur les débris de cultures prélevés à partir de la parcelle 1, ayant présenté des occurrences positives.....	69
Figure 27. Fréquence d'occurrence des pseudothèces de <i>Z. tritici</i> , exprimée en pourcentage, sur les plants de blé dur (BD) et de blé tendre (BT), en végétation, à partir de la parcelle 2, d'avril à juillet 2016.....	71
Figure 29. Intensité de décharge des ascospores des pseudothèces de <i>Z. tritici</i> , exprimée par l'IDA (nombre d'ascospores/gramme de tissu infecté), sur les plants de blé dur (BD) et de blé tendre (BT), en végétation, à partir de la parcelle 2, d'avril à juillet 2016.....	71
Figure 29. Moyenne des périodes de latence (PL) enregistrées sur au niveau des variétés Simeto et Hoggar, inoculées avec les isolats seuls et en combinaison. Seules les interactions compatibles sont représentées.....	78
Figure 30. Moyenne des PSFCP obtenus au niveau des variétés Simeto et Hoggar, inoculées avec 5 isolats et 6 combinaisons biparentales. Les barres d'erreurs représentent les écarts types des moyennes (modèle 2).....	79
Figure 31. Types de réactions obtenus au niveau de la variété Simeto, au 21 ^{ème} jpi, selon l'échelle de Rosielle (1972), modifiée par McCartney <i>et al</i> (2002).....	81
Figure 32. Variation de la sévérité de la maladie, exprimée par le PSFCP (%), au niveau de la variété Simeto, au 21 ^{ème} jpi, représentée par l'effet des isolats (inoculés seuls et en combinaison). Les groupes présentant des lettres différentes sont significativement différents, selon le Test de Dunn au seuil de confiance de 5% (P<0,05).....	81
Figure 33 : Sévérité de la maladie, au 21 ^{ème} jpi, exprimée par le PSFCP au niveau de la variété Simeto, selon le mode d'inoculation des isolats (seuls ou en combinaison).....	82
Figure 34 : Types de réactions obtenus au niveau de la variété Hoggar, au 21 ^{ème} jpi, selon l'échelle de Rosielle (1972), modifiée par McCartney <i>et al</i> (2002).....	84

Figure 35. Variation de la sévérité de la maladie exprimée par le PSFCP (%), au niveau de la variété Hoggar, au 21 ^{ème} jpi, représentée par l'effet des isolats (inoculés seuls et en combinaison). Les groupes présentant des lettres différentes sont significativement différents, selon le test de Dunn ($P < 0,05$).	84
Figure 36. Sévérité de la maladie exprimée par le PSFCP, au niveau de la variété Hoggar, selon le mode d'inoculation des isolats (seuls ou en combinaison), au 21 ^{ème} jpi.....	85
Figure 37. Variations de l'intensité de la reproduction sexuée, exprimée par la moyenne des IDA obtenus chez les plants inoculés avec quatre combinaisons biparentales (I1/I2, I1/I4, I5/I2, I5/I4), les barres d'erreur représentent les écarts types.....	87
Figure 38. Régressions linéaires représentant l'intensité de la reproduction sexuée (IDA) en fonction de la sévérité de la maladie, exprimée par le PSFCP, avec l'effet de chaque isolat parent (PAR) sur la pente et l'intercept de l'ANCOVA (Modèle 5).....	88
Figure 49. Quantification de l'apport de l'isolat parent (PAR) dans l'intensité de la reproduction sexuée, représentée par $\log (IDA+1)$	89

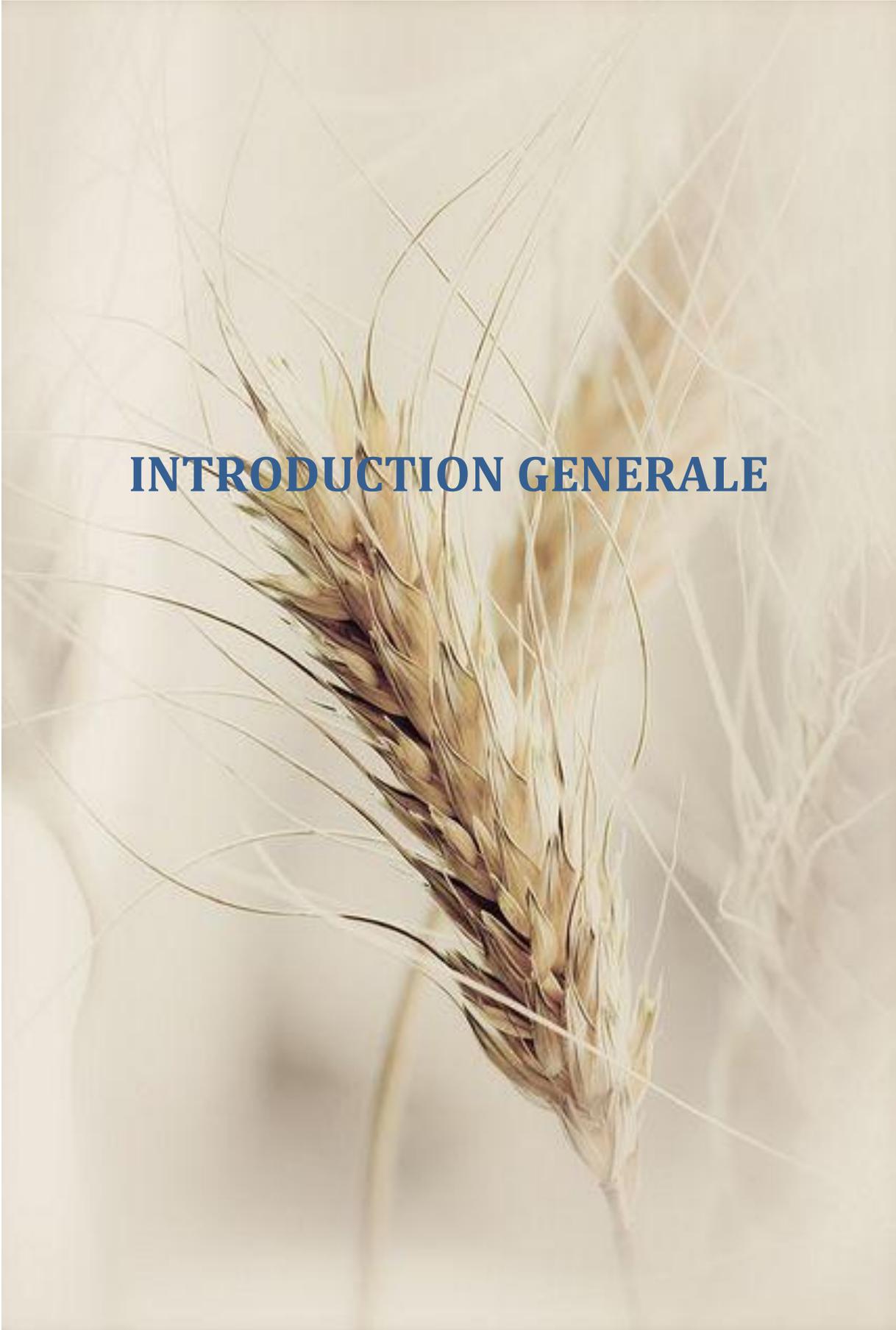
LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Gènes de résistance (<i>stb</i>) vis-à-vis de la tache septorienne du blé chez le blé tendre, identifiés et cartographiés : cultivars sources, positions chromosomiques et marqueurs flanquants (Kosellek Kelm, 2013).....	21
Tableau 2. Origines des isolats de la collection de <i>Z. tritici</i>	28
Tableau 3. Paires d’amorces utilisées pour la détermination des mating types et la détection de la mutation G143A au sein de la collection de <i>Z. tritici</i>	30
Tableau 4. Isolats de <i>Z. tritici</i> et combinaisons biparentales utilisés pour les croisements <i>in planta</i> , en conditions semi-contrôlées.....	40
Tableau 5. Estimation de la sévérité de la maladie par le pourcentage de surface foliaire couverte par les pycnides (PSFCP), selon Eyal et Brown (1976) et expression des réponses de l’hôte selon l’échelle établie par Rosielle (1972), modifiée par McCartney <i>et al</i> (2002).....	44
Tableau 6. Distributions des fréquences des idiomorphes <i>Mat1-1</i> et <i>Mat1-2</i> à l’échelle macro-géographique (Champs/Wilayas).....	57
Tableau 7. Dimensions des pseudothèces, des asques et des ascospores (en μm) de <i>Z. tritici</i> , obtenues dans cette étude et comparées aux dimensions rapportées dans la littérature.....	65
Tableau 8. Occurrence des pseudothèces de <i>Z. tritici</i> sur les résidus de cultures (pailles et feuilles décomposées) d’août 2015 à août 2016 et sur les plants de blé en végétation de mars à juillet 2016...68	68
Tableau 9. Analyse de variance de la période de latence (PL) en fonction des isolats parents, inoculés seuls ou en combinaisons biparentales, sur les deux variétés Simeto et Hoggar.....	79
Tableau 10. Intensité de la reproduction sexuée (IDA moyens), nombre de jours post inoculation (NJPI) nécessaires à la formation des pseudothèces et PSFCP moyens chez les combinaisons biparentales.....	86
Tableau 11. Analyse de la covariance, avec l’effet de l’isolat parent (IP) sur l’intensité de la reproduction sexuée (IDA), en contrôlant l’effet de la sévérité de la maladie (SFCP), sur la variété Hoggar.....	88

ABREVIATIONS

ADN :	Deoxyribonucleic Acid
ADNr :	ADN ribosomique
AFLP :	Amplified Fragment-Length Polymorphism
Cytb :	Cytochrome b
CYMMIT :	Centro internacional de mejoramiento de maiz y trigo
DMI :	Demethylation inhibitors
dNTP :	Deoxynucleotide triphosphate
FAO :	Food and Agriculture Organization
HR :	Humidité relative
ICARDA :	International Center for Agricultural Research in the Dry Areas
ICN :	International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants
IDA	Indice de Décharge des Ascospores
ITS :	Internal transcribed spacer
jpi :	Jours post-inoculation
Kb :	Kilobase
LSU :	Large Subunit
MAMA :	Mismatch Amplification Mutation Assay
PCR :	Polymerase chain Reaction
PDA :	Potato Dextrose Agar
PNAB :	Programme National d'Amélioration des Blés

QoI :	Quinone outside inhibitor
QTL :	Quantitative Trait Locus
RNase :	ribonucléase
rpm :	Revolutions per minute
SAU :	Surface Agricole Utile
SSR :	Simple Sequence Repeat
STB :	Septoria Tritici Blotch
<i>stb</i>	Gène de résistance vis-à-vis de la tache septorienne du blé
TBE :	Tris Borate EDTA
U :	Unité
URSS :	Union des Républiques Socialistes Soviétiques
USD :	United States Dollar
UV :	Ultra Violets
YMA :	Yeast Malt Agar
χ^2 :	Chi 2



INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Depuis les prémices de l'agriculture, il y a quelques 10 000 ans, les céréales, et particulièrement les blés, ont occupé une place centrale dans l'alimentation humaine et animale. Cela a fortement contribué à la structuration et à la sédentarisation des premières communautés agricoles dans le Croissant fertile au Moyen-Orient, considéré comme le « berceau de la civilisation » (Zohary et Hopf, 2000). Le blé tendre et le blé dur représentent les espèces les plus importantes du groupe des blés et sont cultivés sur environ 219 millions d'hectares (Royo *et al.*, 2014). En qualité d'aliments de base, les blés fournissent à la population mondiale environ 18% de la ration calorique et 20% de la ration protéique (Henchion *et al.*, 2017). Comparativement au blé tendre, qui est largement dominant, avec 94% de la surface mondiale consacrée aux blés, le blé dur occupe environ 11 millions d'hectares, dont 70% se situent dans les pays méditerranéens, où le blé dur est largement consommé (Royo *et al.*, 2007).

En Algérie, la céréaliculture domine le paysage agricole depuis les temps anciens. Elle est pratiquée dans tous les étages bioclimatiques y compris les zones sahariennes, avec une prédominance du blé dur (BSA, 2007). Cependant, le secteur céréalier du pays est caractérisé par des productions et des rendements irréguliers, ne suffisant à répondre qu'au quart des besoins annuels de consommation de la population, estimés à plus de 80 millions de quintaux (CNIS, 2005). Par conséquent, l'Algérie reste tributaire des importations qui s'élèvent à 70 jusqu'à 74 millions de quintaux par an depuis 2013, dont 44% de blé dur (ONFAA, 2016).

Les pertes occasionnées par les maladies des céréales à l'échelle mondiale ont été estimées à environ 300 millions de tonnes par an (Krattinger et Keller, 2016). Parmi les nombreuses maladies inféodées aux céréales, la tache septorienne du blé, causée par le champignon pathogène *Zymoseptoria tritici*, est considérée comme une maladie redoutable sur le blé dur et le blé tendre. Elle cause la dépréciation, à la fois de la quantité et de la qualité du rendement (O'Driscoll *et al.*, 2014 ; Fones et Gurr, 2015).

Zymoseptoria tritici est doté d'un système de reproduction hétérothallique et bipolaire (Kema *et al.*, 1996 c), où le chevauchement de plusieurs cycles de reproduction sexuée et de multiplication asexuée se produit, tout au long de la période de végétation. Ses caractéristiques biologiques offrent au champignon un potentiel évolutif exceptionnel, reflété

par une reproduction sexuée fréquente, une structure génétique complexe et un flux de gènes constant, lui conférant une capacité à contourner les stratégies de lutte déployées, comme la résistance variétale et/ou l'application de fongicides (Goodwin, 2007). Ainsi, une baisse fréquente de l'efficacité des résistances variétales et l'émergence continue de nouvelles souches résistantes aux différentes familles de fongicides employées induisent des pertes économiques considérables à l'échelle mondiale (Fones et Gurr, 2015).

En Algérie, la tache septorienne est répandue dans les principales zones céréalières, particulièrement sur les plaines littorales et sub-littorales, où les conditions climatiques sont favorables à son développement. Des prospections, effectuées de 1989 à 1993 (Sayoud et Benbelkacem, 1996), ont révélé l'occurrence de la maladie sur l'ensemble des zones prospectées, avec une agressivité plus élevée chez le blé dur, comparativement au blé tendre, laissant suggérer une spécialisation physiologiques et une adaptation évolutive des populations de *Z. tritici* vis-à-vis des variétés de blé dur cultivés en Algérie. Par ailleurs, une étude récente menée à l'INRAA (Institut National de Recherche Agronomique d'Algérie), de 2011 à 2014 a également permis d'observer la présence de la maladie sur l'ensemble des régions inventoriées, avec des incidences variables selon l'année, la région, l'espèce et la variété (Benbelkacem *et al.*, 2016). Le risque que représente cette maladie en Algérie a été mesuré durant la campagne 2010-2011, suite à des pluies abondantes et soutenues de février à mars, où une épidémie fulgurante a menacé près de 35000 ha à l'ouest du pays (Tiaret), avec pas de moins de 10 000 ha sévèrement attaqués (Anonyme, 2010).

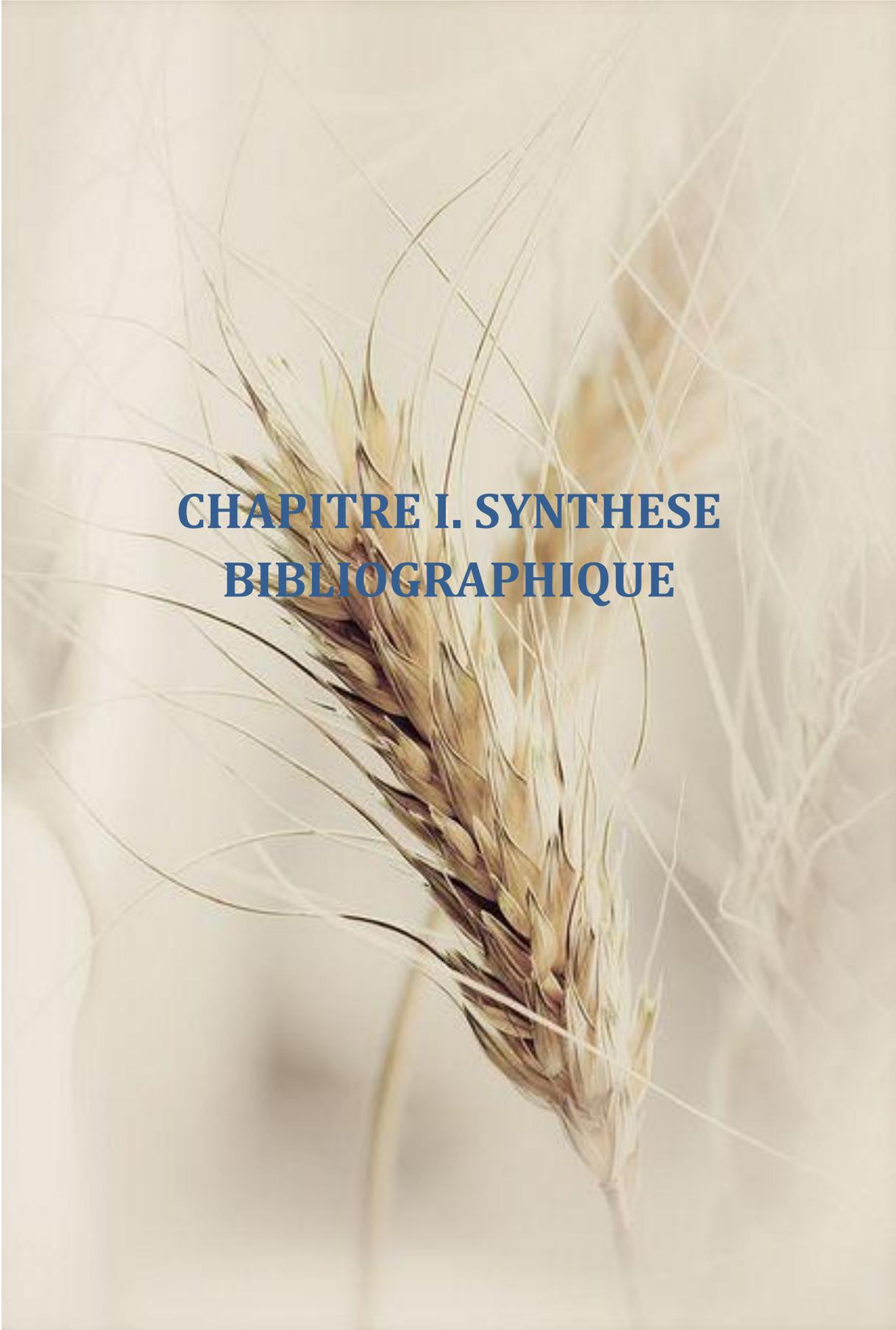
En considérant les données suscitées, des travaux de recherche ont été entrepris pour permettre une meilleure compréhension des mécanismes qui régissent l'interaction établie entre l'agent pathogène et son hôte à travers : la caractérisation morpho-culturelle, l'étude du pouvoir pathogène et la spécialisation physiologique, l'identification de sources de résistance et leurs héritabilités chez l'hôte, ainsi que l'étude de la diversité génétique (Touati-Hattab, 2005 ; Benkorteby, 2006 ; Ayad, 2011 ; Zibani, 2015 ; Harrat, 2016).

Bien que les résultats issus des travaux de recherche antérieurs soient non négligeables, nous disposons de peu de données sur la récurrence pluriannuelle des épidémies, la nature et l'origine de l'inoculum primaire responsable des infections précoces sous les conditions agro-climatiques algériennes, ou encore la présence de résistance vis-à-vis des fongicides utilisés pour le contrôle de la maladie. Les sources de résistance chez les variétés cultivées en Algérie vis-à-vis de la maladie, ainsi que leur mode de transmission restent également peu explorés.

Or, ces paramètres sont indissociables du mode de reproduction du pathogène. Bien que la forme parfaite n'ait jamais été décrite dans les conditions naturelles du pays, une étude a permis l'obtention du téléomorphe à partir de croisements réalisés *in vitro* (Ayad *et al.*, 2014). Aussi, Alloui *et al* (2014) ont rapporté une distribution égale des idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2* à une échelle régionale, suggérant une reproduction sexuée régulière et fréquente chez les populations de *Z. tritici*.

Il est établi qu'une meilleure connaissance des forces qui gouvernent l'évolution des populations pathogènes, soit la clé pour envisager des stratégies efficaces et durables vis-à-vis des maladies fongiques (McDonald et Linde, 2002 ; Zhan *et al.*, 2014). Ainsi, la reproduction sexuée chez *Z. tritici* génère une diversité génétique importante et lui confère la capacité à s'adapter aux résistances variétales et à l'application des fongicides. L'étude de ces aspects constitue la pierre angulaire de notre travail. Afin d'y parvenir, nous avons adopté une stratégie que l'on a décliné en trois volets :

- D'abord, nous avons tenté de déterminer de façon indirecte, par une approche moléculaire, le potentiel reproductif par la voie sexuée d'une population issue des principales zones céréalières, du centre et de l'est du pays. Nous avons également recherché au sein de la même population, la présence de la mutation G143A, qui confère la résistance à une famille de fongicides dite de nouvelle génération (Strobilurines), en considérant que la reproduction sexuée favorise la transmission et la propagation de la mutation (gène de résistance) chez le pathogène.
- Le deuxième volet nous a amené à déterminer de façon directe l'occurrence de la reproduction sexuée dans les conditions naturelles du champ, à travers la recherche et l'identification des structures de reproduction sexuée du téléomorphe *Z. tritici*. Nous nous sommes également intéressés aux variations des fréquences du téléomorphe au cours des saisons, ainsi que l'intensité de décharge des ascospores, sur les débris de cultures et pendant la végétation.
- Enfin, le troisième volet est venu compléter notre démarche, à travers une approche pathologique, avec l'induction de la reproduction sexuée *in planta*, en conditions semi-contrôlées, sur deux variétés de blé dur, cvs. Simeto et Hoggar, aux réponses différenciées vis-à-vis du pathogène, avec comme objectif de déterminer si des corrélations peuvent être établies entre l'interaction au sein du pathosystème étudié et l'intensité de la reproduction sexuée chez le pathogène.



**CHAPITRE I. SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE**

CHAPITRE I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. La plante hôte : Le blé dur

I.1.1. Classification et origine génétique et géographique

Le blé dur (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* Desf.) est une céréale de la famille des *Poaceae* et du genre *Triticum*. Sur la base du nombre de chromosomes que renferme son génome, le blé dur est classé dans la catégorie des blés allo-tétraploïdes (AABB ; $2n=4x=28$). La domestication des blés remonte à environ 8 000 à 12 000 ans, elle est le résultat d'une succession d'événements de poly-diploïdisation entre les genres *Triticum* et *Aegilops* (Huang *et al.*, 2002). L'amidonner sauvage, *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* (Korn.) (Thell), est l'ancêtre de l'amidonner cultivé *Triticum turgidum* ssp. *dicoccum* (Schrank) (Thell), et du blé dur. Ces trois espèces sont le résultat d'hybridations spontanées entre *Triticum urartu* Tum. Ex Gand., donneur du génome A et *Triticum speltoïdes*, donneur maternel diploïde présumé du génome B (Dvorak et Zhang, 1990 ; Wang *et al.*, 1997 ; Khlestkina et Salina, 2001 ; Huang *et al.*, 2002).

Les blés tétraploïdes sauvages étaient largement distribués dans le Croissant fertile au Proche-Orient (Turquie, Syrie, Irak et Iran), considéré comme centre d'origine du genre *Triticum* (Bar-Yosef et Kislev, 1989 ; Hillman, 1996 ; Harris, 1998). Leur domestication remonte à environ 10 000 ans (Feldman, 2001 ; Tanno et Willcox, 2006). L'activité agricole a contribué à l'extension de l'aire de distribution des blés vers des centres de diversité secondaires, via des courants de diffusion successifs, durant l'ère néolithique (Bonjean, 2001). D'abord vers l'Europe du sud-est et la péninsule des Balkans, à travers la Transcaucasie et les côtes du bassin méditerranéen, il y a environ 8 000 ans (Zohary et Hopf, 2000 ; Feldman, 2001 ; MacKey, 2005). Par la suite, vers l'Europe centrale, en suivant les rives du Danube et du Rhin, jusqu'en Angleterre et en Scandinavie, il y a environ 3 000 ans (Milisauskas, 2011). Enfin, vers l'Afrique, il y a environ 6000 ans, à travers l'Égypte, le Soudan et l'Éthiopie au sud et la Libye à l'est (Bozzini, 1988). MacKey (2005) rapporte que le blé dur a été introduit en Afrique du Nord et dans la péninsule Ibérique par les voies maritimes à partir de la Grèce et de l'Italie. Cependant, les données génétiques récentes des variétés locales maghrébines, espagnoles et portugaises, suggèrent que l'Afrique du Nord a constitué une des voies d'introduction du blé dur dans la péninsule Ibérique (Moragues *et al.*, 2007).

Par ailleurs, la diversité et le polymorphisme du blé dur en Afrique du Nord a conduit Vavilov (1926) à considérer cette région du monde comme centre secondaire d'origine de *Triticum durum* (Laumont et Erroux, 1961).

I.1.2. Le blé dur dans le monde

Le blé dur de qualité supérieure est cultivé dans des régions où le climat est relativement sec, avec des journées chaudes et des nuits fraîches durant la période de végétation (Royo *et al.*, 2014). Son aire de distribution s'étend sous des latitudes allant de 55° N (Canada) à 40° S (Argentine). Les principales zones de culture du blé dur dans le monde sont : le Moyen-Orient, l'Afrique du Nord, les pays de l'ex-URSS, les grandes plaines du nord des Etats-Unis et le sud de l'Europe (Golabadi *et al.*, 2006).

A l'échelle mondiale, le blé dur est classé à la 10^{ème} place des cultures importantes, avec une production annuelle de 37 millions de tonnes (Ranieri, 2015 ; Taylor et Koo, 2015), récoltée sur une surface moyenne de 17 millions d'ha (De Vita *et al.*, 2007 ; Nazco *et al.*, 2012), soit 5% de la production totale en blés et 8% des surfaces mondiales consacrées aux blés (Troccoli *et al.*, 2000 ; Royo *et al.*, 2014). Environ 70% de la production mondiale de blé dur est issue des pays du bassin méditerranéen (Nazco *et al.*, 2012 ; Soriano *et al.*, 2017), où il est principalement cultivé pour la production de pâtes alimentaires dans le sud de l'Europe. Le blé dur fournit également la matière première pour les produits dérivés qui constituent les plats traditionnels spécifiques aux régions du Maghreb, tels que le couscous, le borghoul, les pâtisseries ainsi que les pains et les galettes (Troccoli *et al.*, 2000 ; Winget et Chalbi, 2004 ; Rastoin et Benabderrazik 2014).

Les grands producteurs de blé dur dans le monde sont l'Union européenne, principalement l'Italie, la Grèce, la France et l'Espagne ; avec une production moyenne de 8,2 millions de tonnes (2011-2014), suivis de la Turquie avec 5 millions de tonnes. Les pays de l'Afrique du Nord produisent environ 4,8 millions de tonnes, alors que le Canada et les Etats-Unis fournissent respectivement 4,4 et 1,9 millions de tonnes (L'Herbier, 2014). Le Canada est considéré comme le leader mondial pour l'exportation du blé dur en traitant plus de 60% des blés durs négociés sur le marché mondial (CWB, 2014), suivi des Etats Unis et de l'Union européenne. La zone méditerranéenne dans son ensemble consomme environ 62% du blé dur mondial. L'Algérie, l'Italie et le Maroc arrivent en tête des pays importateurs, en absorbant 2/3 des échanges mondiaux de cette denrée (L'Herbier, 2014).

I.1.3. Le blé dur en Algérie

En Algérie, les spéculations céréalières occupent une position stratégique dans le système alimentaire, et impactent l'économie nationale de manière significative (Djermoune, 2009). Avec une SAU de près de 8,4 millions d'ha, la sole céréalière est estimée à environ 3 millions d'ha (Zaghouane, 2015). La culture des céréales, et particulièrement celle du blé dur, est pratiquée sur une aire géographique étendue, compte tenu de la rusticité et de l'adaptabilité de cette plante à des environnements extrêmement variables. Sur la base de l'étage bioclimatique et du régime pluviométrique, on distingue trois grandes zones à vocation céréalière du nord au sud du pays. Les régions semi-arides où la pluviométrie est comprise entre 400 et 600 mm, situées sur les Hauts Plateaux et les hautes plaines sont celles qui conviennent le mieux à la culture du blé dur (Boulal *et al.*, 2007).

Sur la base des superficies emblavées, le blé dur domine les autres espèces, et occupe 42% de la sole céréalière totale, soit environ 1,24 millions d'ha de surface moyenne emblavée, selon l'estimation de l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) pour la période 2009-2013 (Zaghouane, 2015). La production moyenne est estimée à 1,6 millions de tonnes, avec un rendement moyen de 14,4 qx/ha, sur une surface moyenne emblavée de 1,5 millions d'ha, pour la période 2015-2017 (ONFAA, 2017). Le déploiement de stratégies nationales durant les vingt dernières années avait pour objectif d'accroître la production céréalière à l'échelle nationale. Effectivement, une augmentation remarquable des rendements a été enregistrée, avec un rendement moyen passé de 13 qx/ha (2000-2008) à 16,4 qx/ha (2009-2013), en soulignant une récolte record de 20 qx/ha en 2013, cette dernière a été justifiée par des conditions climatiques extrêmement favorables (Zaghouane, 2015).

En dépit des efforts déployés, la production nationale demeure insuffisante pour couvrir les besoins en céréales de la population. Afin de répondre à une demande croissante, estimée à 80 millions de tonnes par an, toutes céréales confondues. Le total des importations de blé dur pour l'année 2015 a atteint 1,7 millions de tonnes, soit 782,9 millions USD (ONFAA, 2015). Les principaux pays fournisseurs de l'Algérie en blé dur en 2015/2016 sont le Canada, suivi du Mexique et des Etats-Unis (ONFAA, 2016).

Pour des raisons diverses, la production de blé dur en Algérie subit des fluctuations dues principalement à des pratiques culturelles parfois inadaptées, mais aussi à des facteurs abiotiques liés aux variations interannuelles des conditions climatiques spécifiques aux

régions semi-arides. En effet, l'insuffisance des pluies et leur irrégularité durant les phases critiques de la croissance végétale, ainsi que les accidents climatiques, tels que les basses températures ou encore le gel et la grêle, causent annuellement une réduction des surfaces emblavées (Zaghouane, 2015). A cela, s'ajoute l'impact de facteurs biotiques, tels que les maladies fongiques, qui contribuent à la réduction des rendements, en l'absence de mesures de contrôle adéquats. Les principales maladies fongiques du blé dur en Algérie sont : les rouilles, les fusarioses, le tan spot et enfin, la tache septorienne du blé causée par l'agent pathogène *Z. tritici*, qui fait l'objet de la présente thèse.

I.2. Le pathogène : *Zymoseptoria tritici*, agent de la tache septorienne du blé

I.2.1. Importance et symptômes

Zymoseptoria tritici infecte le blé tendre (*Triticum aestivum* L) et le blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *durum* L) et cause une maladie foliaire appelée la tache septorienne du blé ou Septoria tritici blotch (STB), comme la désignent les Anglo-Saxons (Eyal *et al.*, 1987 ; Scharen, 1999). Cette maladie survient là où le blé est cultivé et figure parmi les principales causes de pertes économiques de production de blé dans le monde (Dean *et al.*, 2012 ; Fones et Gurr, 2015). Les taches foliaires causées par le développement du pathogène affectent le potentiel photosynthétique des feuilles de blé, par la réduction de la surface foliaire verte (Parker *et al.*, 2004 ; Serrago *et al.*, 2009). Par conséquent, son impact se traduit par la diminution de l'assimilation du carbone, nécessaire au remplissage des grains. Lorsque les conditions climatiques sont favorables au développement de la maladie, le rendement en grain sur les variétés sensibles peut être affecté à hauteur de 50% (King *et al.*, 1983 ; O'Driscoll *et al.*, 2014). Dans des cas extrêmes, des pertes de rendement allant de 60 à 80% ont également été rapportées (Jlibène *et al.*, 1996 ; Zahri *et al.*, 2008).

La maladie de la tache septorienne a été décrite la première fois en Europe par Desmasie (1842), puis par Sprague (1938). Mise à part l'épidémie survenue à la fin du 19^{ème} siècle, dans le nord de l'Italie (Cavara, 1893), les attaques de la tache septorienne ont été qualifiées de sporadiques, avec une importance économique négligeable (Viennot-Bourgin, 1949). Un siècle plus tard, la récurrence des attaques s'est amplifiée consécutivement à l'introduction dès le début des années 60, de variétés naines et semi naines à haut rendement, sélectionnées pour leur résistance aux rouilles (Krupinsky, 1999 ; Boulal *et al.*, 2007). Par la suite, les conditions de culture intensives (fertilisation azotée, fongicides, pratiques culturales), ont contribué à la propagation de la maladie à travers le monde, particulièrement dans les régions

à climat tempéré, où la tache septorienne constitue une véritable menace pour les cultures de blé (O'Driscoll *et al.*, 2014 ; Fones and Gurr, 2015).

En raison de son adaptation aux régions tempérées et humides (Shaner et Finney, 1976), la tache septorienne est considérée comme une maladie hautement préjudiciable dans de nombreux pays européens (Polley et Thomas, 1991 ; Hardwik *et al.*, 2001 ; Orton *et al.*, 2011), en Australie (Eyal *et al.*, 1973), au sud de l'Amérique Latine (Diaz de Ackermann *et al.*, 1995) et dans les régions de l'est des USA (Shipton *et al.*, 1971 ; Shaner et Finney, 1982). En Afrique, des épidémies sévères de la tache septorienne ayant causé des dégâts considérables ont également été rapportées (Riley, 1960 ; Debela et Pinto, 1974 ; Arama, 1996).

Les pays du Maghreb sont particulièrement touchés par les attaques de la tache septorienne. Leurs positions géographiques et les conditions climatiques méditerranéennes qui y règnent, offrent à la maladie un environnement favorable pour survenir, principalement dans les régions littorales et sub-littorales de l'Algérie (Sayoud *et al.*, 1999 ; Benbelkacem *et al.*, 2016), de la Tunisie (Mbarek et da Silva, 2011) et du Maroc (Zahri *et al.*, 2014). Le Maroc a connu une épidémie spectaculaire durant la campagne 1968-1969, où toutes les variétés commerciales ont été détruites, avec des pertes de rendement à hauteur de 80%, pour certaines variétés sensibles de blé tendre (Saadaoui, 1975 ; Schluter et Janati, 1976 ; Farih et Ezzahiri, 1996).

Les symptômes de la tache septorienne du blé apparaissent généralement sur les feuilles et les chaumes, occasionnellement sur les glumes et le rachis (Scharen, 1999). Les lésions se développent d'abord sur les feuilles inférieures, et apparaissent comme de petites taches chlorotiques, vert clair, jaune ou brun. Au début, elles sont situées entre les nervures (**Fig. 1**), elles s'allongent rapidement de manière irrégulière (Pedersen, 1989 ; Sayoud *et al.*, 1999). Les lésions confluent et deviennent coalescentes, les tissus foliaires prennent alors une couleur gris cendré (Pederson, 1989). Des pycnides se forment sur les surfaces nécrosés au niveau des cavités sub-stomatales et deviennent visibles à l'œil nu, sur les deux faces du limbe infecté.

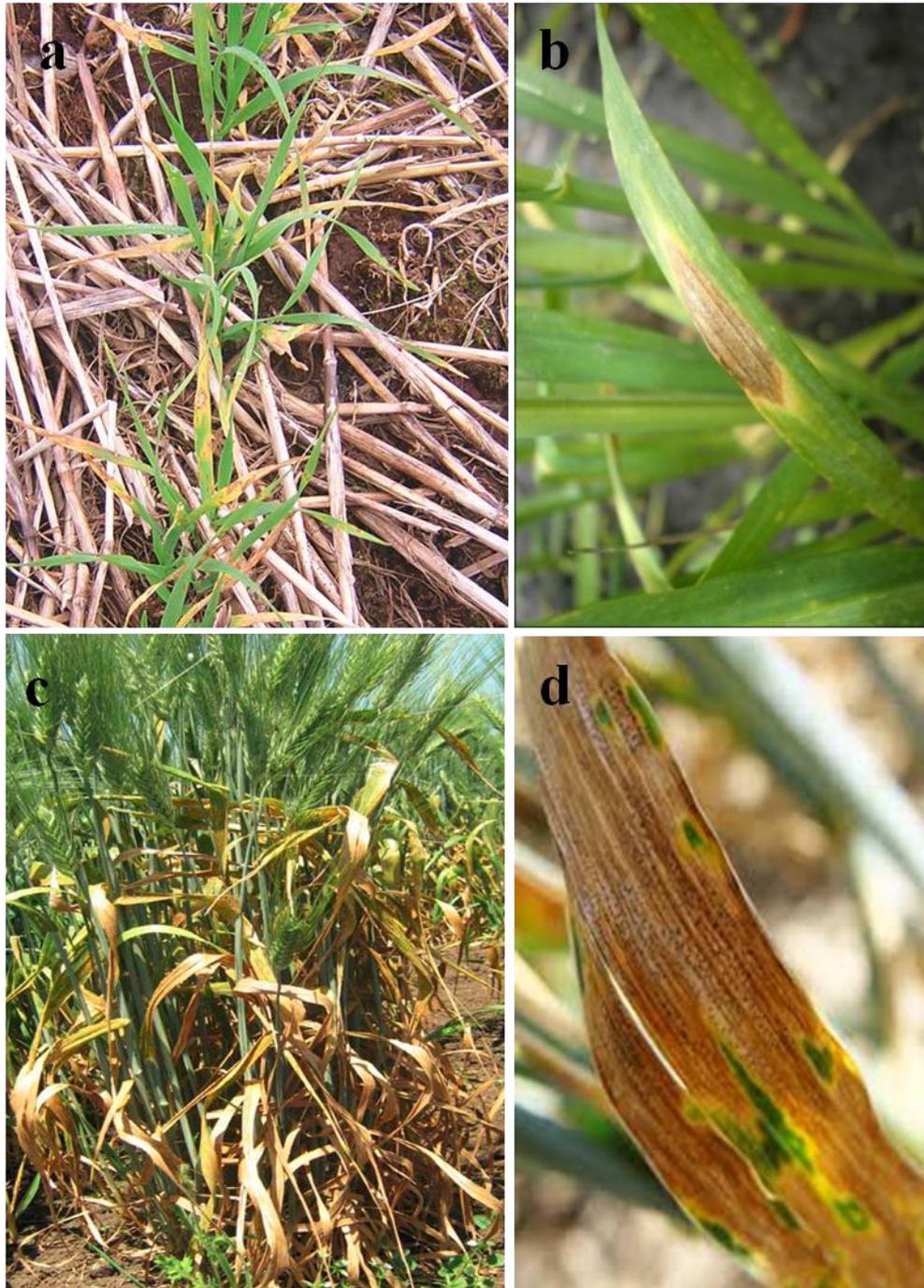


Figure 1. Symptômes caractéristiques de la phase asexuée de *Z. tritici*, à différents stades de développement, sur des feuilles de blé : **(a)** Apparition des lésions chlorotiques, suite aux infections primaires, à la levée (Madariaga, 2011) ; **(b)** Développement des lésions nécrotiques et formation des pycnides (Castro, 2016) ; **(c)** Attaque sévère de la tache septorienne, sur blé dur (Ben Mbarek, 2015) ; **(d)** Lésions coalescentes portant des pycnides visibles à l'œil nu (Ponomarenko *et al.*, 2011).

I.2.2. Taxonomie et critères d'identification de *Z. tritici*

Connu sous les deux noms binomiaux *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt. In Cohn (téléomorphe - forme sexuée) et *Septoria tritici* Roberge in Desmaz. (anamorphe – forme asexuée), *Z. tritici* (Desm.) Quaedvlieg & Crous (2011), est un champignon parasite ascomycète de l'ordre des Dothideales. Selon la dernière version de l'ICN (Code International de Nomenclature pour les algues, les champignons et les plantes), adoptée en juillet 2011 à Melbourne, lors du Congrès International de Botanique, le principe « One fungus, one name » a été validé (Hawksworth *et al.*, 2011), le champignon devrait dans le futur être dénommé *Z. tritici*. Cette nouvelle appellation a été adoptée dans la littérature récente et incluse comme synonyme dans l'Index Fungorum (Quaedvlieg *et al.*, 2013)

La taxonomie du genre *Septoria* a été largement étudiée et remaniée depuis une trentaine d'années (Shoemaker et Babcock, 1989). Sutton (1980) avait émis l'hypothèse que le genre *Septoria* serait polyphylétique. Sur cette base, Cunfer et Ueng (1999) ont utilisé les séquences d'ADN ribosomique des régions ITS pour mettre en évidence que *Septoria tritici* et d'autres espèces du genre *Stagonospora* (anciennement associés au genre *Septoria*), appartenaient en réalité à deux genres distincts. Ainsi, le nom binomial *Parastagonospora nodorum* (Berk.) E. Castell. & Germano a remplacé *Septoria nodorum* (Berk.) Berk. in Berk. & Broome, chez l'agent causal de la septoriose des glumes et des épis de blé (*Stagonospora nodorum* Blotch of Wheat). Des analyses plus poussées ont été entreprises par Verkley *et al* (2004) en combinant les données des séquences d'ADNr 28S (LSU) à celles des ITS, afin de prouver que le genre *Septoria* était à la fois poly et para-phylétique, au sein de la famille des *Mycosphaerellaceae*. Plus tard, Quaedvlieg *et al* (2011) sont parvenus à valider l'hypothèse de Cunfer et Ueng (1999) et de Verkley *et al* (2004), en exploitant des séquences ITS et LSU de l'espèce *Septoria cytisi*. Il en est clairement ressorti que les deux espèces *Z. tritici* et *Z. passerinii* n'appartenaient pas au genre *Septoria sensu stricto*, mais plutôt à un genre à part, phylogénétiquement proche du genre *Ramularia*. Partant de ces conclusions, les deux espèces ont été replacées au sein du nouveau genre *Zymoseptoria*. Par ailleurs, cinq autres espèces ont été récemment rattachées à ce dernier (Crous *et al.*, 2012 ; Stukenbrock *et al.*, 2012).

La première description de l'anamorphe *Z. tritici* (Synonyme = *Septoria tritici*) a été réalisée par Roberge et publiée par Desmazières en 1842. Fuckel (1865) publie la description de *Sphaerella graminicola*, qui a été renommée *Mycosphaerella graminicola* par Schröter (1894). Ce n'est que 130 ans plus tard que Sanderson (1972), décrit *Mycosphaerella*

graminicola comme le téléomorphe de *Septoria tritici*, à partir d'observations réalisées sur des isolats originaires de Nouvelle Zélande. Depuis, la forme parfaite a été signalée dans de nombreux pays dont l'Australie (Brown, 1975), le Chili (Madariaga, 1986), le Royaume-Uni (Scott *et al.*, 1988), le Brésil (Metha, 1989), les Pays-Bas (Shaw et Royle, 1989), l'Allemagne (Verreet *et al.*, 1990), les USA (Garcia et Marshall, 1992), la France (Halama, 1996), le Canada (Hoorne *et al.*, 2002) et la Tunisie (Ben Hassine et Hamada, 2014). En Algérie, la forme parfaite est supposée être présente sur la base d'effectifs équilibrés de *Mat1-1* et *Mat1-2* (Allioui *et al.*, 2014), cependant la description du téléomorphe n'a jamais été rapportée.

Le téléomorphe produit des organes de fructifications appelés pseudothèces. Leur diamètre varie entre 70 et 100 μm (Sanderson, 1972 ; Eriksen et Munk, 2003). Ils sont globuleux, bruns foncés et sous-épidermiques (**Fig.2 a**). Ils se forment sur des tissus morts ou en décomposition (Sanderson, 1972 ; Shaw et Royle, 1989 ; Suffert *et al.*, 2011). Les pseudothèces renferment des asques bituniqués (**Fig.2 b**) d'une taille de 30 - 40 x 11 - 14 μm , contenant huit ascospores hyalines, elliptiques et bicellulaires, avec une cellule plus large et plus longue que l'autre (**Fig.2 c**) et une taille de 10 - 15 x 2 - 3 μm (Wiese, 1987 ; Scharen, 1999 ;). La germination *in vitro* d'une ascospore sur un milieu de culture donne naissance à des colonies crémeuses et rosâtres de type levure (bourgeoisement végétatif conidien), identiques à celles formées par les pycnidiospores (Suffert et Sache, 2011 ; Morais *et al.*, 2015).

L'anamorphe produit des organes de fructification appelés pycnides, qui se forment sur les tissus nécrosés et sont visibles à l'œil nu (**Fig.2 d**), leur diamètre varie de 60 à 200 μm (Sanderson *et al.*, 1985). Lorsque l'humidité est élevée, les pycnides gonflent et exsudent une gelée en tortillon appelée cirrhe. Ces derniers contiennent des spores asexuées appelées pycnidiospores (**Fig.2 e**) et se présentent sous deux formes lorsque elles sont cultivées sur un milieu de culture. Les macropycnidiospores sont des structures pluricellulaires formées de 4 à 8 cellules hyalines, courbes, filiformes et septées (**Fig.2 f**), leur taille est de 40 – 100 x 1,5 - 3,5 μm (Sanderson *et al.*, 1985). Les micropycnidiospores sont des structures unicellulaires, non cloisonnées, qui se forment par bourgeoisement latéral à partir d'hyphes mycéliens ou de macropycnidiospores (**Fig.2 f**). Leur taille est comprise dans l'intervalle de 1 x 5 - 10 μm (Eyal *et al.*, 1987 ; Wiese, 1987).

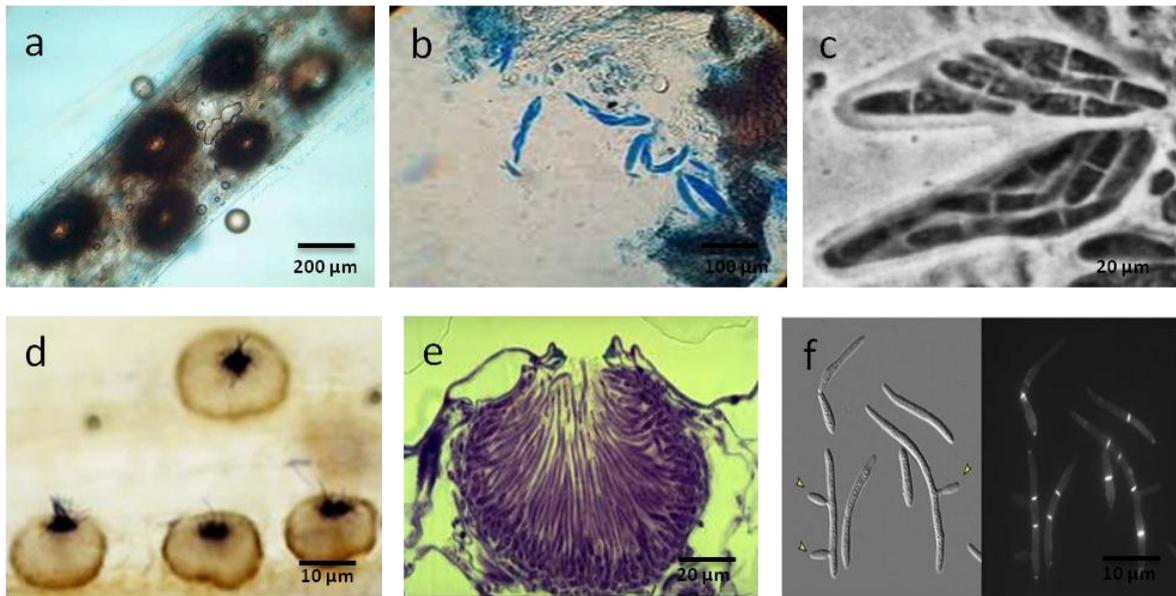


Figure 2. Fructifications sexuées et asexuées de *Z. tritici* : **(a)** Alignement de pseudothèces observés au microscope optique (Morais, 2015) ; **(b)** Pseudohèce avec asques (Suffert *et al.*, 2016) ; **(c)** Asques pyriformes (Sanderson, 1972) ; **(d)** Pycnides avec pycnidiospores aux bords des l'ostioles (Somai-Jemmali, 2015) ; **(e)** Pycnide mature avec pycnidiospores (Kema *et al.*, 1996 a) ; **(f)** Macropycnidiospores multicellulaires, avec coloration au calcoflur des septa à droite, les micropycnidiospores unicellulaires sans septa désignées avec les flèches à gauche (Steinberg, 2015)

I.2.3. Reproduction sexuée chez *Zymoseptoria tritici*

La reproduction sexuée chez les organismes vivants est à l'origine de leur adaptation aux conditions environnementales, à travers la sélection naturelle des individus les plus robustes (Tagg *et al.*, 2005). La diversité génétique générée par les recombinaisons alléliques entre le matériel génétique de deux lignées parentales, permet aux génomes eucaryotes de transmettre à leurs descendances les mutations bénéfiques, et d'écarter les mutations délétères (Hadany et Feldman, 2005).

Zymoseptoria tritici est un champignon hétérothallique et bipolaire (Kema *et al.*, 1996 c), sa reproduction sexuée est conditionnée par la rencontre de deux thalles de types sexuels opposés. Pour ce mode de reproduction sexuée, les types sexuels sont déterminés par un seul locus appelé « *Mat* » en référence au « mating type », existant sous deux formes alléliques alternatives (*Mat1-1* et *Mat1-2*), non homologues et désignées par le terme « idiomorphe » (Turgeon, 1998 ; Billiard *et al.*, 2005).

La détermination et la caractérisation moléculaire des idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2* chez *Z. tritici* ont été rendues possibles par amplification PCR en multiplex, après clonage et séquençage des locus *Mat* (Waalwijk *et al.*, 2002). Les auteurs ont utilisé les isolats de référence IPO323 et IPO94269, dont les mating types ont été précédemment déterminés par le biais des techniques de croisement classiques (Kema *et al.*, 1996 c). Chaque idiomorphe porte des gènes qui codent pour des facteurs de transcription impliqués dans la régulation de fonctions importantes, telles que : le développement sexué, la reconnaissance et l'attraction de deux individus compatibles par le biais des phéromones et de leurs récepteurs, ainsi que la régulation de fonctions nécessaires à la formation des spores (Debuchy *et al.*, 2010 ; Ni *et al.*, 2011). Alexopoulos *et al* (1996) ont schématisé les étapes qui caractérisent le cycle de reproduction sexuée pour les espèces appartenant à la famille des *Mycosphaerellaceae*, y compris *Z. tritici* (**Fig. 3**).

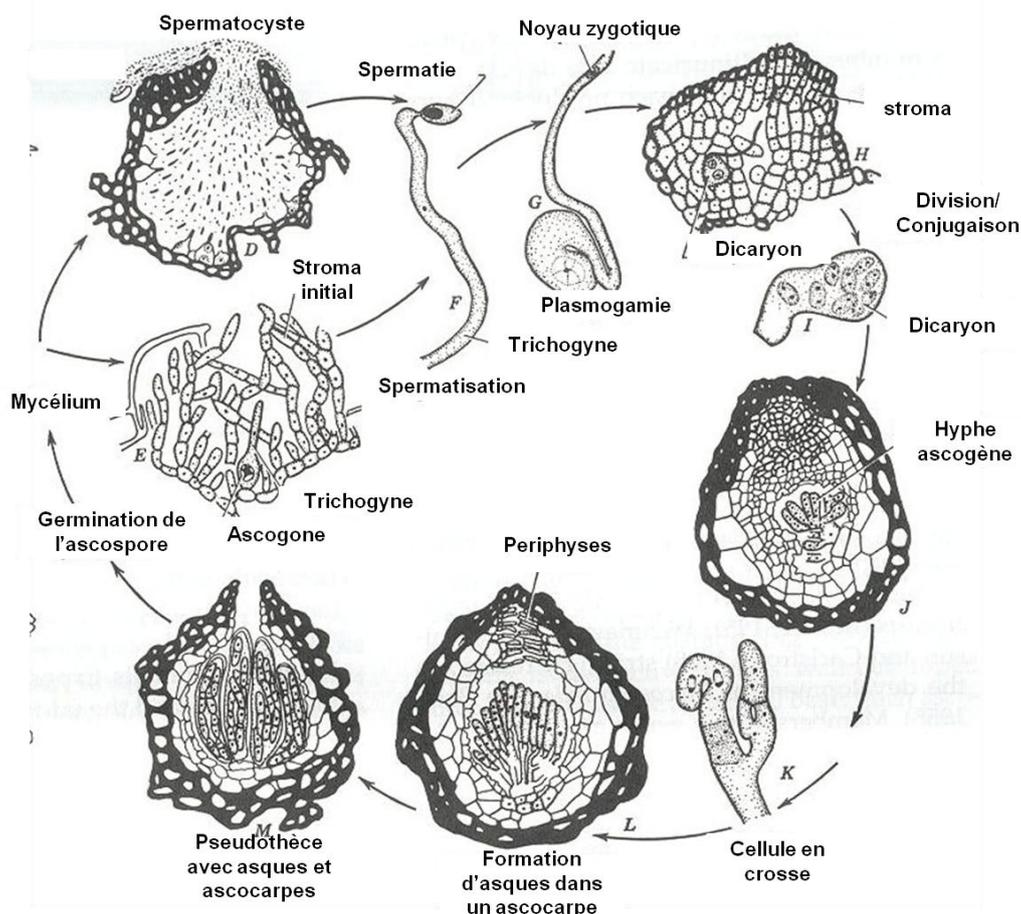


Figure 3. Processus de la reproduction sexuée de *Z. tritici*, adapté par Alexopoulos *et al* (1996), à partir du cycle sexué des espèces de la famille des *Mycosphaerellaceae* (Ware, 2006).

Les spermatocystes sont les organes mâles qui produisent les spermaties, alors que les ascogones sont les organes femelles qui produisent les trychogynes (Crous, 1998). Lorsque deux mycéliums compatibles se rencontrent, ils fusionnent par plasmogamie. Les spermacies fertilisent les trychogynes et les noyaux entament des mitoses simultanées pour former une cellule dicaryotique avec deux noyaux haploïdes. Chaque cellule se divise par mitose et forme des hyphes ascogènes portant un noyau de chaque parent. Puis les asques se forment et la fusion de noyaux différents donne naissance au zygote durant la caryogamie. Le noyau du zygote se divise par méiose pour former quatre noyaux haploïdes. Ces derniers se divisent par mitose pour engendrer quatre paires jumelles d'ascospores regroupées dans des asques que renferment des fructifications appelées pseudothèces ou périthèces (Alexopoulos *et al.*, 1996).

I.2.4. Biologie et développement de la maladie

I.2.4.1. Cycle biologique

L'accomplissement du cycle biologique de la tache septorienne nécessite l'implication des formes sexuée (Téléomorphe) et asexuée du pathogène (Anamorphe) (**Fig. 4**). L'inoculum primaire est constitué aussi bien d'ascospores que de pycnidiospores (Shaw et Royle, 1993 ; Eriksen et Munk, 2003 ; Suffert *et al.*, 2011). Les deux types de spores survivent pendant de longs mois sur les pailles et les chaumes en décomposition (Brokenshire, 1975 ; Hilu et Bever, 1957). Néanmoins, les ascospores disséminées par le vent prennent une part importante dans l'infection primaire en automne, alors que, les pycnidiospores, transportées par les gouttelettes de pluie assurent la progression de la maladie durant la végétation (Eriksen et Munk, 2003 ; Suffert et Sache, 2011).

Les pseudothèces se conservent durant l'été sur les débris des cultures précédentes (Holmes et Colhoun, 1975 ; Brown *et al.*, 1978 ; Scott *et al.*, 1988 ; Suffert *et al.*, 2011 ; Morais *et al.*, 2016). A l'automne, les ascospores matures sont libérées par les asques, puis disséminées par le vent sur des distances de plusieurs kilomètres (Sanderson, 1972 ; Chen et McDonald, 1996). Les ascospores participent également aux infections secondaires, puisque plusieurs cycles de reproduction sexuée se produisent durant la saison de végétation (Clinkemaillie *et al.*, 2010 ; Duvivier, 2015).



Figure 4. Représentation schématique décrivant la progression de la maladie de la tache septorienne du blé causée par *Z. tritici* (cercle extérieur) parallèlement aux différents stades de végétation d'une culture de blé (cercle intérieur), selon O'Driscoll *et al* (2014).

Au printemps, les pycnides formées sur les tissus infectés sont exposées à une humidité relative élevée et exsudent des cirrhes contenant les pycnidiospores, ces dernières sont transportées sur de courtes distances - moins d'un mètre - grâce aux éclaboussures provoquées par les pluies printanières (Fitt *et al.*, 1989 ; Bannon et Cooke, 1998 ; Saint-Jean *et al.*, 2004 ; De Wolf, 2008). Les pycnidiospores sont projetées soit verticalement, depuis les feuilles basales vers les feuilles des étages supérieurs, jusqu'à la feuille drapeau (Shaner et Finney, 1976 ; Bahat *et al.*, 1980 ; Verreet *et al.*, 2000), soit horizontalement par contact entre plants

voisins ou par l'effet combiné de la pluie et du vent (McDonald *et al.*, 1999 ; Duncan et Howard, 2000). Ainsi, l'intensité d'une épidémie est déterminée par le nombre de cycles sexués et asexués accomplis par le pathogène, elle est aussi tributaire des caractéristiques du couvert végétal, y compris la sensibilité de l'hôte, l'agressivité du pathogène et les conditions environnementales de température, d'humidité et de précipitations (Suffert *et al.*, 2016).

I.2.4.2. Conditions de développement de la maladie

La maladie de la tache septorienne du blé est favorisée par des températures douces et des périodes prolongées d'humidité élevée (Fones *et al.*, 2017), où des températures comprises entre 20 et 25°C favorisent l'infection. Des conditions sub-optimales, comme les basses températures observées durant l'hiver, ralentissent la progression de la maladie, sans pour autant l'arrêter (Lovell *et al.*, 2004 ; Viljanen-Rollinson *et al.*, 2005 ; Henze *et al.* 2007). Une humidité relative (HR) élevée est nécessaire tout au long du processus infectieux (germination, pénétration, colonisation, production et émission des pycnidiospores). L'expression des symptômes nécessite une période d'humectation de la surface foliaire de 72 heures au minimum. Par la suite, une HR comprise entre 35 et 100%, est nécessaire pour la production de pycnides, avec un optimum de 85%. A 100% de HR, les pycnides déchargent deux fois plus de pycnidiospores qu'à 98% et 13 à 23 fois plus qu'à 86% de HR (Gough et Lee, 1985).

I.2.4.3. Cycle infectieux

L'infection par *Z. tritici* peut être initiée soit par les ascospores soit par les pycnidiospores (Shipton *et al.*, 1971 ; Hilu et Bever, 1957 ; Suffert *et al.*, 2011). Du point de vue cellulaire, le cycle de l'infection se déroule en trois phases (Steinberg *et al.*, 2015). La pénétration du pathogène est suivie par la colonisation mycélienne des tissus de l'hôte, puis la formation des fructifications asexuées (**Fig. 5**).

L'infection débute au moment de l'émission du tube germinatif, au cours des 12 heures qui suivent le contact entre la conidie et la surface de la feuille (Ponomarenko *et al.*, 2011). La germination est suivie de la pénétration du pathogène par les cavités sub-stomatales, environ 24 heures après le contact (Kema *et al.*, 1996 a ; Duncan et Howard, 2000 ; Shetty *et al.*, 2003). Deux à quatre jours après l'inoculation (jpi), le pathogène colonise le mésophile intercellulaire sans pour autant l'endommager (Cohen *et al.*, 1993 ; Eyal, 1993 ; Cunfer, 1999 ; Kema *et al.*, 1996 a).

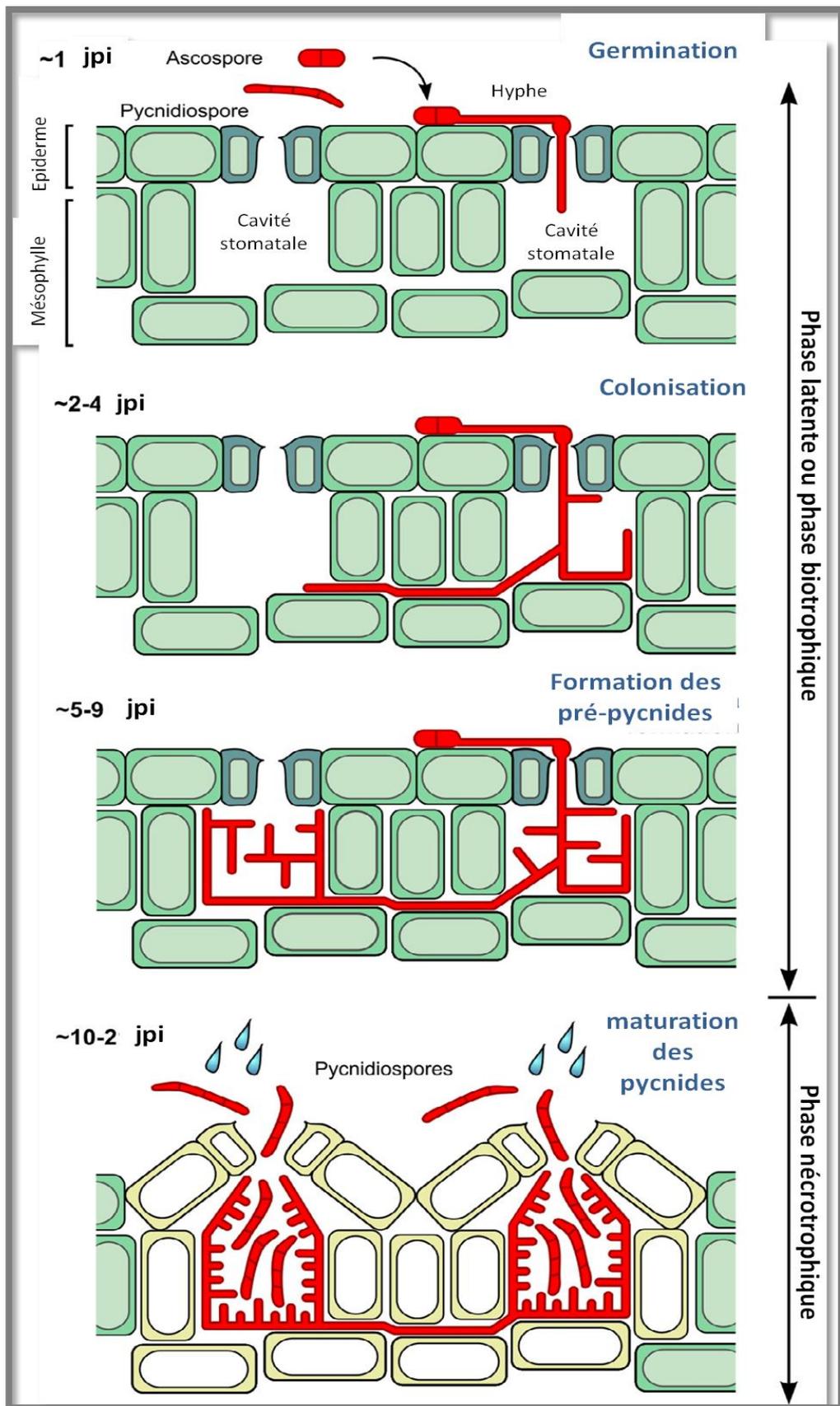


Figure 5. Schéma du cycle infectieux de *Z. tritici*, selon Steinberg (2015)

Au cours des 9 à 15 jours qui suivent l'inoculation, la croissance du pathogène se poursuit lentement au sein des espaces intercellulaires. Elle est marquée par la ramification d'un réseau mycélien dense et la formation de pré-pycnides dans les cavités sub-stomatales (Shetty *et al.*, 2003).

Durant la phase de colonisation, l'infection est asymptomatique et est appelée phase latente ou phase biotrophique (Hilu et Bever, 1957). La durée de la phase latente varie entre 6 et 36 jours, en fonction de l'hôte, de l'isolat et des conditions environnementales. Cependant, 9 à 14 jours sont suffisants pour observer les premiers symptômes en conditions contrôlées, avec la formation de pycnides visibles (Keon *et al.*, 2007 ; Shetty *et al.*, 2007 ; Kema *et al.*, 1996 b).

Des lésions chlorotiques et des zones nécrotiques apparaissent environs 12 jours après l'infection, marquant le début de la phase nécrotrophique, la croissance du pathogène y provoque une désintégration massive des tissus de l'hôte, et ce, suite à l'induction d'une mort cellulaire programmée chez l'hôte (Keon *et al.*, 2007 ; Rudd *et al.*, 2008).

Durant la phase nécrotrophique, le pathogène puise son énergie dans les nutriments de l'hôte, il prolifère et augmente sa biomasse pour former des pycnides matures en grand nombre. La formation des fructifications est le signe du début de plusieurs cycles d'infection sur le même plant, mais aussi sur les plants voisins. En effet, les pluies printanières, si elles sont intenses et fréquentes, favoriseront la propagation des pycnidiospores (Eyal, 1999 ; Hunter *et al.* 1999 ; McDonald et Linde 2002 ; Zhan *et al.* 2007 ; Ponamorenko *et al.*, 2011).

I.2.5. Les moyens de lutte

La lutte contre la tache septorienne repose principalement sur l'adoption de pratiques culturales appropriées, l'utilisation de cultivars résistants et/ou tolérants et l'utilisation raisonnée de fongicides. La combinaison judicieuse des trois approches suscitées – dans un schéma de lutte global – est nécessaire pour optimiser et pérenniser l'effet bénéfique des mesures de contrôle mises en place pour protéger les cultures (Zhan *et al.*, 2014).

I.2.5.1. Les pratiques culturales

Les pratiques culturales font partie des mesures préventives qui visent à interférer avec le cycle du parasite, d'un point de vue quantitatif (quantité de lésions ou de propagules) et qualitatif (fréquences des pathotypes). Dans le cas de la tache septorienne du blé, les mesures

préventives incluent l'assainissement et le travail du sol, la fertilisation raisonnée, les rotations des cultures et le choix des dates de semis, ceci pour les raisons suivantes :

L'assainissement a pour but d'éliminer ou de réduire les sources de l'inoculum primaire, par l'enlèvement des résidus de cultures contaminés de l'année précédente (Van der Plank, 1963). L'enfouissement des résidus contaminés par le labour est également utilisé comme une technique d'assainissement ; il favorise la suppression biologique du pathogène à travers la stimulation de l'activité microbienne du sol (House et Brust, 1989 ; Murray *et al.*, 1998).

Les rotations des cultures réduisent considérablement l'incidence de la tache septorienne en éliminant l'inoculum présent sur les résidus de la culture précédente. Par ailleurs, la fertilisation potassique et azotée agit sur la sensibilité des cultures de blé face à la maladie (Harrat, 2009).

Le choix de la date de semis est crucial dans les zones à risque où les conditions sont favorables au développement de la maladie. Ainsi, retarder la date de semis aura pour effet de raccourcir la période de végétation, de minimiser l'exposition des cultures aux infections primaires et par conséquent, de limiter la quantité de la maladie pendant la période printanière concomitante aux événements pluvieux (Hardwick, 1998).

I.2.5.2. La résistance variétale

L'amélioration et la sélection pour la résistance aux maladies est le moyen le plus sûr et le plus économique pour limiter les pertes liées aux attaques des agents phytopathogènes (Loughman et Thomas, 1992). Cette approche permet, de minimiser considérablement le recours à l'application de fongicides et de diminuer l'impact négatif de ces derniers sur l'environnement et la santé humaine et animale (Carlile, 1998 ; Ali *et al.*, 2008).

La résistance variétale du blé vis-à-vis de *Z. tritici* s'exprime sous deux formes (1) la résistance spécifique ou qualitative, à déterminisme mono-génique, basée sur une reconnaissance gène pour gène (Kema *et al.*, 1996 a ; Kema et Van Silfhout, 1997 ; Brading *et al.*, 2002). Bien que totale contre un certain nombre d'isolats, cette résistance est peu durable et présente des risques élevés de contournement par le pathogène, lors de la perte ou l'altération du gène d'avirulence – correspondant au gène de résistance *stb* (septoria tritici blotch) chez la plante – (Brading *et al.*, 2002 ; McDonald et Linde, 2002). Ainsi, la perte totale de l'efficacité de certains gènes *stb* chez des cultivars de blé a été signalée dans plusieurs régions du monde (Eyal *et al.*, 1973 ; Ballantyne et Thomson, 1995 ; Cowger *et al.*,

2000 ; Brading *et al.*, 2001 ; Poland *et al.*, 2008 ; Mundt, 2014). (2) La résistance non spécifique ou quantitative, à déterminisme polygénique, a également été rapportée (Jlibene *et al.*, 1994 ; Simón et Cordo, 1998). Elle est gouvernée par plusieurs gènes dont les effets sont cumulatifs (Schiff *et al.*, 2001) que l'on décrit en général sous la dénomination QTL (Quantitative Trait Loci). Chaque QTL est supposé contenir un gène déterminant, ayant un effet particulier sur le développement de l'agent pathogène (Lindhout, 2002). Bien que partielle, la résistance quantitative agit sur la maladie en diminuant les dommages qu'elle engendre, sans les supprimer totalement ; elle est néanmoins considérée plus durable que la résistance qualitative (Brown *et al.*, 2001 ; Chartrain *et al.*, 2004).

Le centre international d'amélioration du maïs et du blé, ou CIMMYT (Centro internacional de mejoramiento de maiz y trigo) a classé la tache septorienne comme cible prioritaire pour le développement de résistances variétales, dans environ un tiers des régions productrices de blé dans le monde (Braun *et al.*, 1996 ; Duveiller *et al.*, 2007). Narvaez et Caldwell (1957) ont été les premiers à publier une étude sur la résistance génétique du blé à la tache septorienne. Plus tard, les gènes de résistance *stb1* et *stb4* ont été identifiés, puis cartographiés (Caldwell, 1966 ; Wilson, 1985 ; Rillo et Caldwell, 1996 ; Somasco *et al.*, 1996 ; Adhikari *et al.*, 2004 a, b, c).

La mise en évidence du mode de reproduction sexuée chez *Z. tritici* a permis de valider de manière formelle les bases génétiques d'une relation gène pour gène dans le pathosystème blé - *Z. tritici* (Kema *et al.*, 1996 b ; Waalwijk *et al.*, 2002), ce qui a eu pour effet d'accélérer l'identification d'une gamme plus large de gènes *stb*, y compris le gène *stb6* (Brading *et al.*, 2002), qui s'est révélé prédominant dans la majorité des cultivars Européens de blé tendre (Kema et van Silfhout, 1997 ; Kema *et al.*, 2000 ; Brown *et al.*, 2001 ; Chartrain *et al.*, 2005 a, b ; Arraiano et Brown, 2006 ; Arraiano *et al.*, 2009). Actuellement, le catalogue des gènes *stb* cartographiés compte 18 gènes, tous provenant de cultivars de blé tendre (Goodwin et Thompson, 2011 ; Tabib Ghaffary *et al.*, 2011 ; Simón *et al.*, 2012). Leur localisation chromosomique et la source de résistance sont rapportées dans le **Tableau 1**. Récemment, un nouveau gène de résistance, désigné *stb 19* a été identifié sur le chromosome 1D du blé tendre (Yang *et al.*, 2018). Ce dernier confère une résistance complète à trois isolats de *Z. tritici* et est supposé se situer entre les gènes Sr33 et Lr. Cette dernière découverte, associée à d'autres marqueurs, ouvre des perspectives nouvelles d'augmenter les ressources génétiques disponibles pour l'amélioration de la résistance du blé vis-à-vis de la tache septorienne.

Tableau 1. Gènes de résistance (*stb*) vis-à-vis de la tache septorienne du blé chez le blé tendre, identifiés et cartographiés : Cultivars sources ; positions chromosomiques et marqueurs flanquants (Kosellek Kelm, 2013)

<i>Gènes</i>	<i>Cultivars</i>	<i>Positions</i>	<i>Marqueurs</i>	<i>Références</i>
<i>Stb1</i>	Bulgaria 88a	5BL	<i>Xgwm335</i>	(Adhikari <i>et al.</i> , 2004c)
<i>Stb2</i>	Veranopolis a	1BS	<i>Xwmc406</i> ; <i>Xbarc008</i>	(Liu <i>et al.</i> , 2013)
<i>Stb3</i>	Israel 493 a	7AS	<i>Xwmc83</i>	(Goodwin <i>et al.</i> 2008)
<i>Stb4</i>	Tadinia a	7DS	<i>Xgwm111</i>	(Adhikari <i>et al.</i> 2004b)
<i>Stb5</i>	CS Synthetic 7D a	7DS	<i>Xgwm44</i>	(Arraiano <i>et al.</i> 2001b)
<i>Stb6</i>	Flame	3AS	<i>Xgwm369</i>	(Brading <i>et al.</i> 2002)
<i>Stb7</i>	Estanzuela Federal	4AL	<i>Xwmc313</i> ; <i>Xwmc219</i>	(McCartney <i>et al.</i> 2003)
<i>Stb8</i>	W7984 (Synthetic)	7BL	<i>Xgwm146</i> ; <i>Xgwm577</i>	(Adhikari <i>et al.</i> 2003)
<i>Stb9</i>	Courtot	2B	<i>XksuF1</i> ; <i>Xfbb226</i>	(Chartrain <i>et al.</i> 2009)
<i>Stb10</i>	KK4500 b	1D	<i>Xgwm603</i> ; <i>Xgwm458</i>	(Chartrain <i>et al.</i> 2005a)
<i>Stb11</i>	TE9111 b	1BS	<i>Xbarc008</i>	(Chartrain <i>et al.</i> 2005b)
<i>Stb12</i>	KK4500 b	4AL	<i>Xwmc313</i> ; <i>Xwmc219</i>	(Chartrain <i>et al.</i> 2005a)
<i>Stb13</i>	Salamouni	7BL	<i>Xwmc369</i>	(McIntosh <i>et al.</i> 2007)
<i>Stb14</i>	Salamouni	3BS	<i>Xwmc500</i>	(McIntosh <i>et al.</i> 2007)
<i>Stb15</i>	Arina a	6AS	<i>Xpsr904</i>	(Arraiano <i>et al.</i> 2007a)
<i>Stb16</i>	M3 (Synthetic)	3DL	<i>Xbarc125</i> ; <i>Xbarc128</i>	(Ghaffary <i>et al.</i> 2012)
<i>Stb17</i>	M3 (Synthetic)	5AL	<i>Xgwm617</i> ; <i>Xhbg247</i>	(Ghaffary <i>et al.</i> 2012)
<i>Stb18</i>	Balancea	6DS	<i>Xgpw3087</i> ; <i>Xgpw5176</i>	(Ghaffary <i>et al.</i> 2011)

Les mécanismes génétiques qui gouvernent la résistance du blé dur à la tache septorienne restent encore non élucidés. De plus, la majorité des variétés élités de blé dur montrent peu ou pas de résistance à *Z. tritici* (Midini *et al.*, 2014), en dépit de l'importance de cette spéculation, particulièrement en Afrique du Nord (Brown *et al.*, 2015). Récemment l'identification de nouvelles sources de résistance chez des races locales de blé dur en Tunisie, en Iran et en Algérie ont été rapportées, sans pour autant être cartographiées (Ferjaoui *et al.*, 2011 ; Ghaneie *et al.*, 2012 ; Midini *et al.*, 2014 ; Benbelkacem *et al.*, 2016). La race locale tunisienne "Agili", hautement résistante à l'isolat virulent Tun 06, a été utilisée dans des essais bi-parentaux pour identifier des marqueurs AFLP de résistance, où la ségrégation des marqueurs a indiqué la possibilité d'une présence d'un gène majeur et d'une résistance qualitative chez le blé dur vis-à-vis de *Z. tritici* (Ferjaoui *et al.*, 2011). Une étude ultérieure a permis d'identifier chez Agili 39 un QTL majeur sur le chromosome 2BL et deux QTL mineurs sur les chromosomes 1A et 7AS (Aouini, 2018). En Algérie, le Programme National pour l'Amélioration des blés (PNAB), en collaboration avec le Centre International de Recherche Agronomique pour le Développement Agricole (ICARDA) procède depuis une dizaine d'années à des essais de criblage pour la résistance aux principales maladies des blés, y compris vis-à-vis de la tache septorienne. Les essais sont menés en conditions naturelles, sur une collection de génotypes de blé (80 blés durs, 80 blés tendres). Plusieurs lignées ont été identifiées pour leur résistance à la tache septorienne, et sont actuellement utilisées comme parents donneurs dans le schéma de sélection, afin d'améliorer la résistance de variétés locales, adaptées aux conditions algériennes de culture (Benbelkacem *et al.*, 2016).

Malgré les progrès réalisés ces dernières années, l'efficacité des gènes *stb* identifiés est généralement limitée comparativement à d'autres maladies du blé, où un nombre plus important de gènes de résistance est rapporté (Komugi, 2011). Aussi, une fréquence élevée de la reproduction sexuée (Kema *et al.*, 1996 c), une structure génétique complexe et un flux de gènes constant (McDonald *et al.*, 1999 ; Zhan et McDonald, 2004 ; Chartrain *et al.*, 2004), confèrent au pathogène une capacité d'adaptation exceptionnelle vis-à-vis des gènes de résistance déployés (Mundt *et al.*, 1999 ; Mundt, 2002 ; Chartrain *et al.*, 2004).

Le pyramydage par superposition de gènes de résistance spécifique au sein d'une même variété offre une alternative prometteuse pour stabiliser la résistance dans le temps (Risser *et al.*, 2011). C'est ainsi que des cultivars porteurs de plusieurs gènes *stb*, tels que Kavkaz-K4500 (KK), Veranopolis et Bulgaria 88, ont pu maintenir leurs résistances durant plusieurs années (Dubin et Rajaram, 1996 ; Eyal, 1999 ; Brown *et al.*, 2001 ; Chartrain *et al.*, 2005 a).

I.2.5.3. Les fongicides

La résistance variétale et les bonnes pratiques culturales ne suffisent pas toujours à stopper les attaques de la tache septorienne lorsqu'elles se déclenchent, et le recours aux fongicides devient indispensable (Fraaije *et al.*, 2005). Les fongicides de contact comme les Dithiocarbamates (Maneb, Manzate, Mancozeb, Zineb), à usage préventif, présentent une efficacité élevée, sous réserve que les applications soient répétées toutes les semaines et après chaque pluie (Eyal *et al.*, 1987 ; Diaz de Ackermann *et al.*, 1996).

Les fongicides systémiques à propriété curative offrent une durée de protection plus importante que les dithiocarbamate. Les inhibiteurs de l' α -14-déméthylation des stérols (DMI) et les inhibiteurs du site Quinone du Cytochrome b mitochondrial (QoI) constituent les principales familles utilisées contre les maladies foliaires du blé.

Les DMI auxquels appartiennent les triazoles (cyproconazole, époxiconazole, propiconazole, tubéconazole), l'imidazole (prochloraze) et la triazolinethione (prothiconazole), interfèrent avec la formation des membranes cellulaires fongiques, en perturbant la biosynthèse de l'ergostérole (Dahl *et al.*, 1987). En raison de la nature quantitative et polygénique qui gouverne les mécanismes d'apparition de mutations chez ce champignon, une large variation de sensibilité aux DMI a été rapportée chez les populations de *Z. tritici* à travers le monde (Gisi *et al.*, 1997 ; Stergiopoulos *et al.*, 2003 ; Leroux *et al.*, 2006 ; Leroux *et al.*, 2007), Par conséquent, aucune résistance majeure chez les populations étudiées n'a été mise en évidence (Suty et Kouck, 1996 ; Gisi *et al.*, 2000), d'autant que la baisse de sensibilité aux DMI reste lente et ne semble pas compromettre l'efficacité de cette famille de fongicides, couramment utilisée depuis plus de 20 ans pour contrôler la maladie (Palmer et Skinner, 2002 ; Gisi *et al.*, 2005 ; Leroux *et al.*, 2005 ; Mavroeidi et Shaw, 2005 ; Leroux *et al.*, 2006).

Les QoI désignés par le terme strobilurines, avec les matières actives que sont la trifloxystrobin, l'azoxystrobine, et la pyraclostrobine inhibent efficacement la germination des spores et la pénétration du mycélium dans le tissu foliaires (Bartlett *et al.*, 2001 ; Chin *et al.*, 2001 ; Palmer et Skinner, 2002 ; Estep *et al.*, 2014). Leur liaison au site Qo (Quinol-oxydising) du cytochrome *bc1* au niveau du complexe protéique mitochondrial *Cytb*, interfère avec la survie du champignon en inhibant la fonction respiratoire de ce dernier, par le blocage du transfert d'électrons (Bartlett *et al.*, 2002).

La pression de sélection exercée par les strobilurines, depuis leur introduction en 1996, a conduit à une augmentation rapide de souches résistantes dès 2002 (Fraaije *et al.*, 2003). Actuellement, les strobilurines sont totalement inefficaces dans plusieurs régions du monde (Heaney *et al.*, 2000 ; Gisi *et al.*, 2005 ; McCarthy *et al.*, 2006 ; Torriani *et al.*, 2009 a, b ; Siah *et al.*, 2010 a ; Drabešová *et al.*, 2013). Les strobilurines restent toutefois actifs contre les rouilles et quelques autres parasites, ce qui justifie encore leur emploi, en association avec d'autres molécules, notamment les DMI (McCarthy *et al.*, 2006).

La résistance aux strobilurines, est qualitative et monogénique. Elle devient effective lors d'une mutation ponctuelle dite monosite du gène *Cytb*, par la substitution de la glycine par l'alanine au niveau du codon 143 (G143A). Par conséquent, la liaison de la molécule fongicide au site Qo est empêchée et la respiration chez le champignon mutant est restaurée (Gisi *et al.*, 2002 ; Fraaije *et al.*, 2005 ; Torriani *et al.*, 2009 b). L'étude menée par Kema *et al* (2018) a démontré que lorsque la mutation survient au sein d'une population de *Z. tritici*, les isolats sensibles aux strobilurines soumis au stress induit par la présence du fongicide agissent comme des donneur mâles (spermaties), leur développement au sein des cellules de l'hôte est par conséquent altéré, alors que les isolats résistants sont capables de coloniser l'hôte, même après l'application du fongicide et agissement comme des receveurs femelles (ascogones). Par conséquent, lors du croisement entre un parent résistant avec un parent sensible, la descendance engendrée porte la mutation G143A, dont la transmission est dite d'origine maternelle (**Fig. 6**)

Dans les pays d'Afrique du Nord, le contrôle de la septoriose repose principalement sur l'utilisation des DMI. Le recours aux strobilurines reste limité en raison de son coût élevé (Boukef *et al.*, 2012). Quelques études ont été menées pour évaluer la fréquence de la mutation G143A au sein des populations nord africaines de *Z. tritici* qui semblaient jusque là totalement sensibles (Boukef *et al.*, 2012 ; Stammler *et al.*, 2012 ; Alloui *et al.*, 2013 ; Nouari *et al.*, 2013 ; Somai-Jemmali *et al.*, 2014). Cependant, des isolats résistants – à de faibles fréquences – ont été détectés récemment au Maroc (Siah *et al.*, 2014), en Tunisie (Taher *et al.*, 2014) et en Algérie (Alloui *et al.*, 2016).

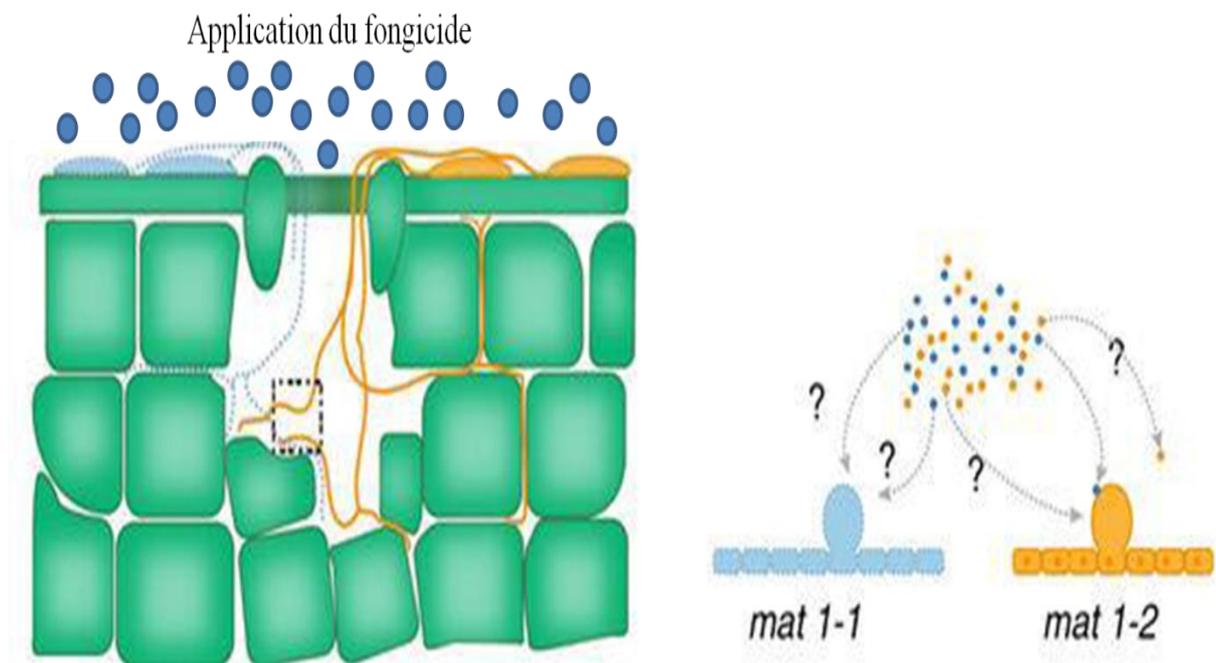
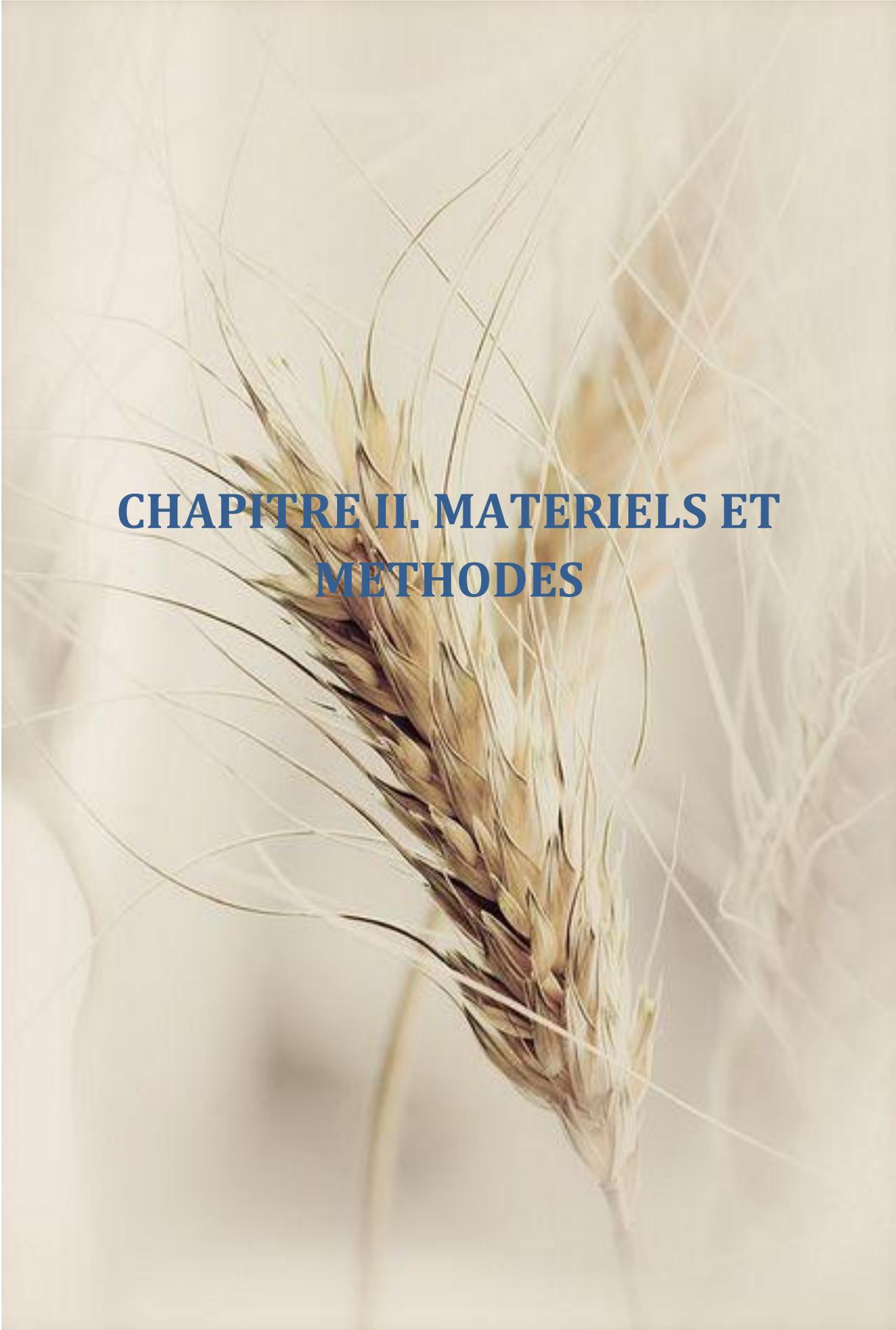


Figure 6. Reproduction sexuée chez *Z. tritici*, sous l'effet d'une pression de sélection de type fongicide (strobilutines), selon Kema *et al* (2018) : La biomasse de l'isolat sensible (*Mat1-1*) diminue sous l'effet du fongicide, alors que la production de spermaties est maintenue. L'isolat résistant (*Mat1-2*) colonise les tissus de l'hôte et produit des ascogones en présence du fongicide.



**CHAPITRE II. MATERIELS ET
METHODES**

CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES

II.1. Prospections et échantillonnage

Les prospections pour la collecte des échantillons destinés à l'isolement de *Z. tritici* ont été réalisées durant la période printanière (mars-avril-mai), au cours de deux campagnes agricoles successives (2012-2013 et 2013-2014). La zone d'échantillonnage comprend six régions céréalières du Centre et de l'Est du pays (Alger, Blida, Constantine, Bouira, Médéa et Tipaza). La collecte des échantillons a été réalisée aléatoirement, en effectuant des arrêts tous les 10 kilomètres, sur des champs de blé dur et de blé tendre durant la campagne 2012-2013. Les emplacements ont été mémorisés et ont été visités la campagne suivante. Avant d'effectuer les prélèvements, un à huit champs par commune ont été évalués visuellement, pour la présence de la maladie. Au total, 126 champs ont été visités (**Annexe 1**).

Les plants présentant des feuilles avec des lésions nécrotiques et des pycnides caractéristiques de la tache septorienne ont été prélevés, à raison de cinq plants pour chaque parcelle. Les échantillons ont été conditionnés séparément, dans des sacs en papier, préalablement étiquetés, pour indiquer l'origine et la date de prélèvement de chaque échantillon.

II.2. Isolement, purification et conservation des isolats

Pour chaque plant, une à cinq feuilles présentant des taches nécrotiques avec des pycnides ont été prélevées (**Fig.7 a**). Les feuilles ont été découpées, pour obtenir des fragments mesurant environ 5 cm, ces derniers ont été désinfectés superficiellement avec une solution d'hypochlorite de sodium à 2%, pendant 10 minutes, puis rincés trois fois à l'eau distillée stérile et placés à l'aide d'un ruban adhésif sur des lames en verre. Les lames ont ensuite été déposées dans des boîtes de Petri en verre, contenant du papier buvard imbibé d'eau distillée stérile (**Fig.7 b**). Les boîtes ont été incubées pendant quatre à cinq heures à 18°C. Sous une humidité relative élevée, les pycnides exsudent une gelée sporifère appelée cirrhe. Un à huit cirrhes ont été prélevés, à partir d'une à cinq lésions pour chaque feuille.

Des cultures monoconidiennes ont été obtenues en utilisant une loupe binoculaire et une aiguille stérilisée à la chaleur pour suspendre le cirrhe d'une seule pycnide dans de l'eau distillée stérile. La suspension de spores est ensuite étalée sur un milieu PDA, additionné de 50 mg/L de streptomycine (**Annexe 2**).

Après une incubation de trois à quatre jours à 18°C, des microcolonies de *Z. tritici* (**Fig.7 c**) ont été prélevées aléatoirement et transférées sur un milieu YMA (**Annexe 2**) pour favoriser la sporulation (**Fig.7 d**).

Après une incubation de deux semaines à 18°C sous lumière continue, 213 isolats ont été obtenus (**Tab. 2**), puis conservés à -20°C dans des tubes Eppendorf, contenant de l'eau gelosée à 2% (**Annexe 2**).

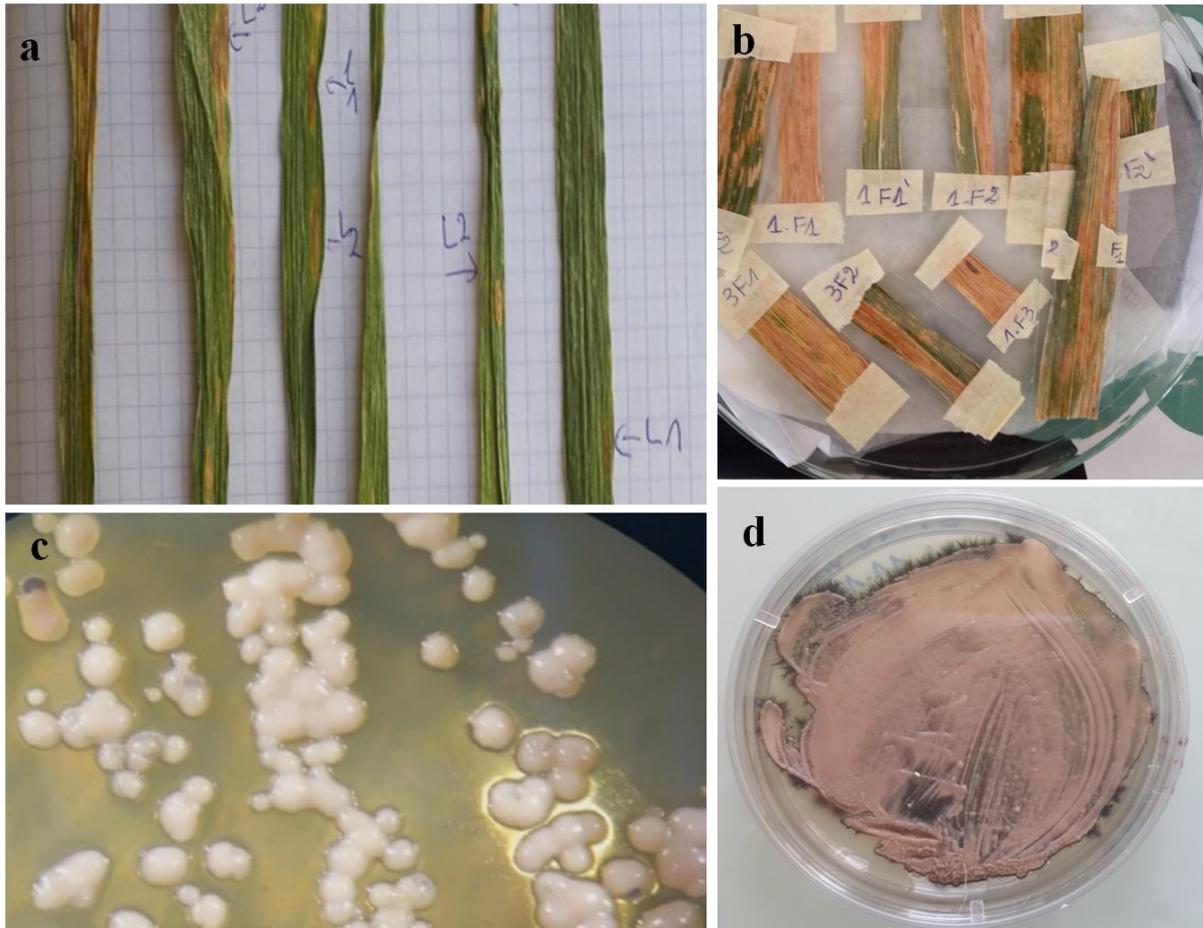


Figure 7. Etapes d'isolement de *Z. tritici* au laboratoire : **(a)** Feuilles présentant les symptômes de la tache septorienne ; **(b)** Incubation des fragments de feuilles infectées dans une boîte de Petri en verre ; **(c)** Microcolonies issues de la germination des pycnidiospores contenues dans un cirrhe ; **(d)** Aspect bactérien d'un isolat, obtenu après étalement sur un milieu de culture YMA.

Tableau 2. Origines des isolats de la collection de *Z. tritici*

<i>Wilaya</i>	<i>Nombre d'isolats</i>	<i>Variétés</i>	<i>Année d'isolement</i>
Alger	37	Chen'S, Hoggar et Omar6	2013
	18	Omar6 et Hoggar	2014
Blida	9	Hoggar, Chen'S et GTA Dur	2013
	43	Chen's, Hoggar et Waha	2014
Bouira	13	Waha	2013/2014
Constantine	50	GTA Dur, Hoggar et HD1120	2013/2014
Médéa	11	Chen'S, Hoggar et Waha	2013/2014
Tipaza	32	Chen'S, Hoggar et Waha	2013/2014
Total	213		

II.3. Analyse de la distribution des fréquences des idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2* et recherche de la mutation G143A conférant la résistance aux strobilurines

II.3.1. Extraction de l'ADN génomique

L'extraction de l'ADN génomique des isolats de la collection de *Z. tritici* a été réalisée en utilisant l'automate Kingfisher (Thermo Electron Corporation, Breda, The Netherlands) en combinaison avec le kit sbeadex Maxi Plant Kit (LGC group, Berlin, Germany) dont le protocole est décrit en **Annexe 3**. Avant de procéder à l'extraction de l'ADN génomique, les isolats ont été cultivés sur un milieu PDA pendant cinq jours à 18°C. Les masses sporifères ont été raclées et conditionnés dans des microtubes qui ont été placés dans un lyophilisateur durant 24 heures (Epsilon 1-4/2-4 LCS plus, Martin Christ, Germany).

Les spores lyophilisées ont été transférées dans des microtubes contenant des billes de broyage en chrome pour une double homogénéisation pendant 20 secondes à 30 rpm/s à l'aide d'un mélangeur-broyeur (TissueLyser II, Qiagen, Hilden, Germany). Un mélange de 300 µl de tampon de lyse et 0,5 µl de RNase à 2 mg/ml ont été ajoutés aux microtubes pour une homogénéisation pendant 20 secondes. Après l'homogénéisation, les microtubes ont été incubés pendant 30 minutes à 65°C puis centrifugés pendant 10 minutes à 600 rpm. Un volume de 200 µl du surnageant de chaque microtube a été récupéré et placé dans les puits

d'une microplaque (KingFisher Flex Microtiter DeepWell Plates 96), contenant un mélange de 520 µl de tampon de capture et 60 µl de billes magnétiques.

Les microplaques ont été disposées sur le plateau de l'automate, préalablement programmé pour procéder à l'extraction et à la purification de l'ADN pendant 30 minutes. Les particules d'ADN obtenues ont été rincées deux fois avec 400 µl de tampon de lavage et une fois avec 400 µl d'eau exempte de nucléases. Les ADN obtenus ont été transférés dans des microtubes contenant 120 µl de tampon d'élution et conservés à 4°C. La concentration en acides nucléiques de chaque microtube a été estimée en utilisant un spectrophotomètre (NanoDrop™ 1000, Thermo Scientific, France).

II.3.2. Détermination des mating types par PCR en multiplex

La détermination du mating type de chaque isolat a été réalisée par une amplification en chaîne (PCR) des séquences partielles des deux idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2*, selon la description de Waalwijk *et al* (2002). Deux paires d'amorces spécifiques (**Tab. 3**) ont été utilisées en multiplex pour générer des amplicons de 340 pb et de 660 pb, respectivement pour les idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2*. L'ADN des deux isolats de référence, IPO323 et IPO94269 (Université de Wageningen, Pays-Bas) portant respectivement les idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2*, a été considéré comme contrôle positif.

Le mélange réactionnel pour la détermination des mating types a été préparé dans des tubes contenant 1 µl d'ADN génomique (10 ng/µl), 5 µl de tampon de réaction (10 X), 5 µl (600 µM) de dNTP, 0,25 µl (5U/µl) de Taq Polymerase (Ampli Taq Gold, Roche, Somerville, USA), 2,5 µl (6 µM) de chaque paire d'amorces, et complété avec 50 µl d'eau pure.

L'amplification de l'ADN a été réalisée dans un thermocycleur MJ Research PT-100 (Bio-rad, California, USA), préalablement programmé avec les paramètres suivants: 94°C pendant 2 minutes suivis par 39 cycles à 94°C pendant 60 secondes, 68°C pendant 30 secondes et 72°C pendant 60 secondes. Pour l'extension finale, une température de 72°C a été appliquée, pendant 10 minutes.

II.3.3. Recherche de la mutation G143A par la méthode MAMA

La sensibilité ou la résistance des isolats de la collection de *Z. tritici* vis-à-vis des strobilurines a été déterminée en utilisant la méthode MAMA (Mismatch Amplification Mutation Assay) sur une partie du gène *CytB* (Ware, 2006). Deux paires d'amorces

spécifiques ont été utilisées séparément (**Tab. 3**) pour générer des amplicons de 639 pb chez les isolats sensibles (type sauvage) et des amplicons de 302 pb chez les isolats résistants (type mutant). L'ADN des isolats de référence IPO323 et IPO94269 a été considéré comme contrôle positifs pour la sensibilité aux strobilurines.

Le mélange réactionnel pour la recherche de la mutation G143A a été préparé dans des microtubes contenant 1 µl d'ADN génomique (10 ng/µl), 5 µl de tampon de réaction (10 x), 5 µl (600 µM) de dNTP, 0,25 µl (5 U/µl) de Taq Polymerase (Ampli Taq Gold, Roche, Somerville, USA), 2,5 µl (6 µM) d'une des paires d'amorces, et complété avec 50 µl d'eau pure.

L'amplification de l'ADN a été réalisée dans un thermocycleur MJ Research PT-100 (Bio-rad, California, USA), préalablement programmé avec les paramètres suivants : 94°C pendant 2 minutes, suivis par 39 cycles à 94°C pendant 60 secondes, 55°C pendant 30 secondes lorsque le mélange réactionnel contient la paire d'amorce destinée à la détection de la sensibilité ou 60°C pendant 30 seconde lorsque le mélange réactionnel contient l'amorce destinée à détecter la résistance, puis une température de 72°C a été appliquée pendant 60 secondes, pour les deux mélanges réactionnels. L'extension finale a été réalisée à 72°C pendant 10 minutes.

Tableau 3. Paires d'amorces utilisées pour la détermination des mating types et la détection de la mutation G143A au sein de la collection de *Z. tritici*.

<i>Amorces</i>	<i>Séquences(5' à 3')</i>	<i>Références</i>
<i>Mat1-1 F</i>	CCGCTTTCTGGCTTCTTCGCACTG	Waalwijk <i>et al</i> (2002)
<i>Mat1-1 R</i>	TGGACACCATGGTGAGAGAACCT	Waalwijk <i>et al</i> (2002)
<i>Mat1-2 F</i>	GGCGCCTCCGAAGCAACT	Waalwijk <i>et al</i> (2002)
<i>Mat1-2 R</i>	GATGCGGTTCTGGACTGGAG	Waalwijk <i>et al</i> (2002)
StrobSNP2fwd	CTTATGGTCAAATGTCTTTATGATG	Ware (2006)
StrobSNP1rvs	GGTGACTCAACGTGATAGC	Ware (2006)
StrobSNPrcF7	CAATAAGTTAGTTATAACTGTTGCCG	Ware (2006)
StrobSNPrcR1	CTATGCATTATAACCCTAGCGT	Ware (2006)

II.3.4. Révélation des produits d'amplification

Les fragments d'ADN amplifiés ont été séparés selon leur taille par électrophorèse sur un gel d'agarose à 1% dans du TBE 0,5 X (**Annexe 4**), par le dépôt de 5 µl de chaque ADN amplifié sur une microplaque, auxquels ont été additionnés 1 µl d'un mélange composé d'un tampon de charge et d'un colorant révélateur (**Annexe 4**). Après le dépôt des ADN amplifiés dans les puits du gel d'agarose, 5 µl du marqueur de poids moléculaire (1Kb Ladder) ont été déposés aux deux extrémités du gel afin de déterminer la taille des fragments amplifiés. Le gel a été soumis à un courant continu de 80 v durant une heure et 30 minutes. Après la migration, les fragments amplifiés ont été soumis à un émetteur de lumière UV, puis photographiés.

II.3.5. Essai biologique *in vitro* de la sensibilité aux strobilurines

Afin de valider les résultats de la PCR pour la détection de la mutation G143A, les isolats de la collection de *Z. tritici* ont été testés pour leur sensibilité/résistance aux strobilurines, par un test biologique *in vitro*, selon la technique décrite par Ware (2006). Pour chaque isolat, un volume de 5 µl d'une préparation de spores ajustée à 4×10^5 spores/ml a été déposé dans des boîtes de Petri contenant un milieu PDA additionné de 1 ppm d'azoxystrobine (Amistar, Syngenta, Suisse), à raison de trois répétitions. Des boîtes de Petri contenant un milieu PDA additionné de 1% de méthanol ont été utilisées comme témoin. Les boîtes ont été incubées à 20°C, en absence de lumière pendant 10 jours avant la lecture des résultats.

II.3.6. Analyses statistiques des données

La distribution des fréquences des deux idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2* a été analysée par le test du Khi-carré (χ^2 , $P=0,05$) à l'échelle parcellaire et le test d'indépendance de Pearson du Khi-carré à l'échelle régionale, où l'hypothèse nulle (H_0) correspond à l'équivalence des effectifs d'isolats *Mat1-1* et *Mat1-2* selon un ratio 1:1. Les calculs ont été réalisés avec le logiciel R (R Development Core Team, 2006). A une échelle plus réduite, où le nombre d'isolats ne permettait pas l'exécution d'un test statistique, des pourcentages des feuilles et des lésions portant des isolats de mating types opposés ont été calculés.

II.4. Recherche du téléomorphe *Zymoseptoria tritici* dans les conditions naturelles de champ

L'occurrence des pseudothèces du téléomorphe *Z. tritici* a été investiguée, dans la région Nord du pays, dans le but de mettre en évidence l'existence du téléomorphe du pathogène sous les conditions agro-climatiques algériennes, mais aussi pour déterminer les périodes propices à la reproduction sexuée, à la formation des pseudothèces et à la libération des ascospores.

II.4.1. Site d'étude et collecte des échantillons

La recherche des pseudothèces et leur quantification ont été menées sur deux parcelles distinctes, situées à la station expérimentale de l'ITGC à Oued Smar (36° 42' 13" nord, 3° 10' 20" est). La parcelle 1 a été surveillée de 2015 à 2016, en prélevant des débris de cultures de l'année précédente, alors que la parcelle 2 a été surveillée durant la saison de végétation en 2016 (**Fig. 8 a**), en prélevant des feuilles infectées sur des plants de blé dur et de blé tendre, infectées par *Z. tritici*.

III.4.1.1. Collecte des débris de cultures

La parcelle 1 a été semée avec la variété de blé dur cv. Omar 6 (Essai de comportement variétal), durant la campagne 2014-2015, sans application de fongicides. La récolte a été effectuée à la fin du mois de juillet 2015. Après le passage de la moissonneuse, les tiges de la culture ont été laissées en place, sans travail du sol, d'août 2015 à novembre 2016 (**Fig. 8 b**). Les débris constitués de tiges et de feuilles décomposées ont été prélevés mensuellement sur une période allant d'août 2015 à août 2016 (**Fig. 8 c**), à raison de 100 tiges, prélevées aléatoirement, à partir de points répartis uniformément sur l'ensemble de la surface de la parcelle.

III.4.1.2. Collecte des feuilles infectées à partir des plants de blé en végétation

La parcelle 2 (Essais de croisements/PNAB) a été semée au début du mois de novembre 2015, avec une collection constituée de génotypes de blé dur et de blé tendre (80/80), en blocs de cinq lignes. Les populations ont été exposées à l'inoculum naturel, sans application de fongicides (**Fig. 8 d**).

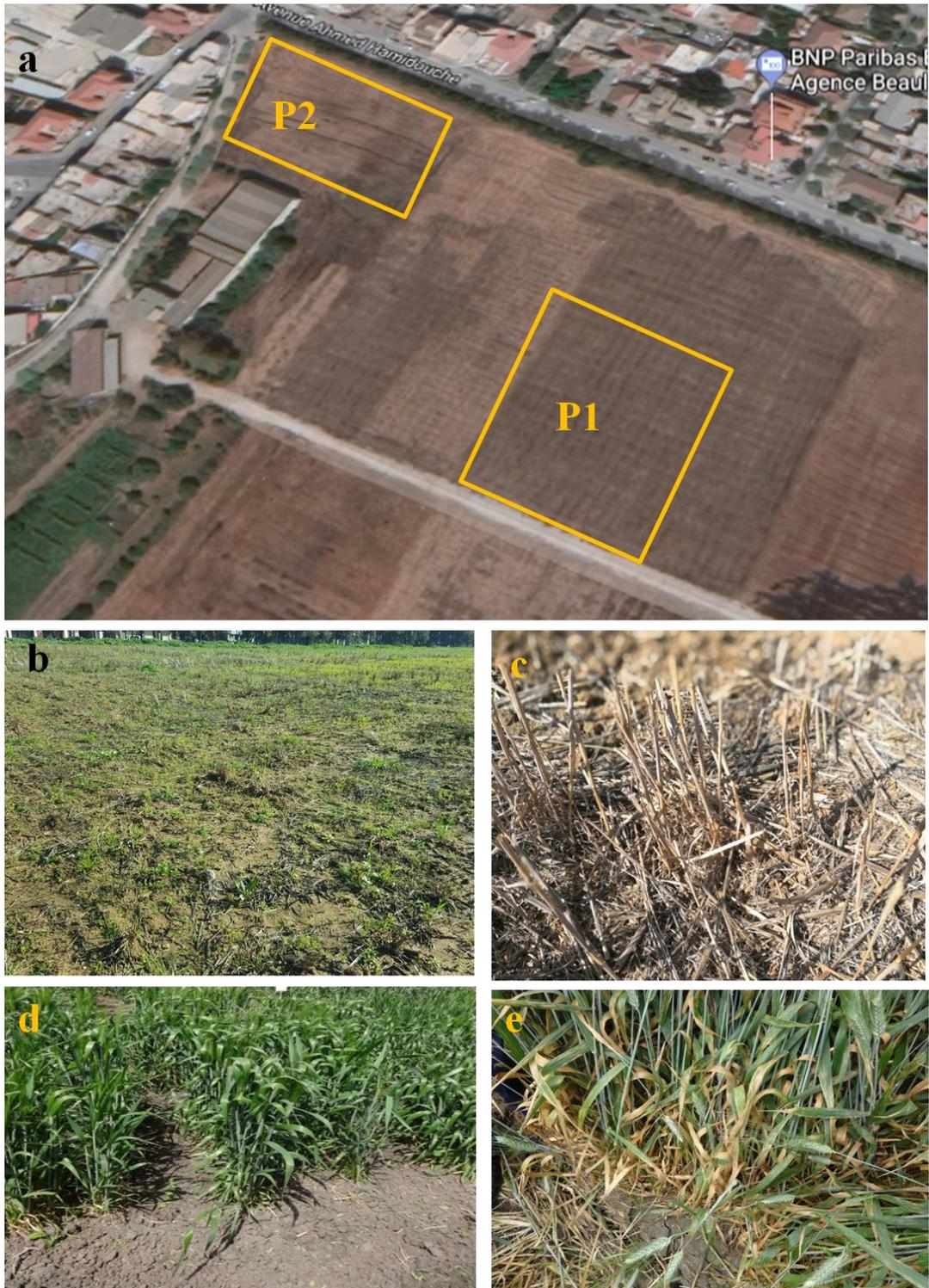


Figure 8. Site de prélèvement des échantillons pour la recherche du téléomorphe *Z. tritici* à la station expérimentale de l'ITGC (Oued Smar) : **(a)** Localisations de la Parcelle 1 (P1) et de la parcelle 2 (P2) ; **(b)** Résidus de cultures, laissés en place en Septembre 2015 ; **(c)** Aspect des résidus de cultures, en Août 2016 ; **(d)** Essais de croisements du PNAB, en mars 2016 ; **(e)** Feuilles basales des plants en végétation, à partir desquelles des échantillons ont été prélevés, en Avril 2016.

Les prélèvements ont été effectués selon une fréquence hebdomadaire d'avril à juillet 2016, où chaque prélèvement correspondait à la collecte aléatoire de 100 feuilles pour les génotypes de blé dur et de 100 feuilles pour les génotypes de blé tendre. Pour chaque prélèvement, les échantillons étaient constitués des quatre premières feuilles à partir de la base de plants de blé en végétation, présentant de fortes attaques de la maladie (**Fig. 8 e**).

II.4.2. Identification des structures de la reproduction sexuée de *Z. tritici*

L'ensemble des échantillons prélevés à partir des deux parcelles a été analysé au laboratoire pour la présence de pseudothèces de *Z. tritici*. Les tiges prélevées de la parcelle 1 (2015-2016) et les feuilles prélevées de la parcelle 2 (2016) ont d'abord été rincés et débarrassés des résidus de terre, puis immergés dans de l'eau, pendant une quinzaine de minutes. Ils ont ensuite été légèrement séchés à l'aide d'un papier buvard. Les tiges et les feuilles ont été examinées individuellement à l'aide d'une loupe binoculaire. Lorsque des pseudothèces ont été repérés, ils ont été prélevés à l'aide d'une aiguille fine, déposés entre lame et lamelle, écrasés puis observés au microscope optique (Leica, Germany). Les asques et les ascospores de *Z. tritici* ont été identifiés sur la base de la description des caractères morphologiques, rapportée par de nombreux auteurs, notamment celle de Sanderson (1972).

II.4.3. Mensurations des structures de la reproduction sexuée de *Z. tritici*

Les pseudothèces ayant présenté des caractéristiques morphologiques similaires à celles de *Z. tritici* ont été prélevés individuellement pour procéder à leurs mensurations, en utilisant un microscope optique (Leica, Germany), préalablement étalonné et d'un micromètre. Les mensurations de 50 pseudothèces, de 100 asques et de 100 ascospores ont été déterminées. Aussi, le nombre d'asques a été comptabilisé pour 50 pseudothèces. Les comptages et les dimensions obtenus ont par la suite été comparés à ceux rapportés dans la littérature.

II.4.4. Test de pathogénicité d'isolats issus d'ascospores de *Z. tritici*

Un test de pathogénicité a été réalisé pour confirmer que les pseudothèces identifiés sur les débris de cultures, dans les conditions naturelles du champ étaient matures et appartenaient à l'espèce *Z. tritici*. Le test a consisté à l'isolement du pathogène, par la capture des ascospores à partir des tissus examinés, la culture des ascospores sur un milieu artificiel, puis l'inoculation de plants de blé sains avec les cultures issues de la germination des ascospores. Les symptômes induits ont été observés, puis le pathogène a été ré-isolé, conformément au postulat de Koch.

II.4.4.1. Isolement du pathogène par la capture des ascospores

L'isolement du pathogène a été réalisé par une capture d'ascospores, selon la technique décrite par Kema *et al.* (1996 c), modifiée. Cette dernière est basée sur l'induction forcée de l'éjection des ascospores, sous l'effet de la variation du taux d'humidité à la surface des asques.

Les échantillons portant des pseudothèces (**Fig. 9 a**) ont été placés dans un bécher contenant de l'eau distillée stérile pendant une heure, puis récupérés, séchés avec un papier absorbant, et déposés sur un couvercle de boîte de Petri (90 cm de diamètre), préalablement tapissé avec un disque de papier buvard (**Fig. 9 b**). Un élastique a été fixé sur le couvercle, de manière à former un motif croisé et à permettre la circulation de l'air lors de la superposition de la boîte sur le couvercle. L'ensemble a été couvert avec une boîte de Petri subdivisée en quatre sections de taille égale, contenant une fine couche de PDA (**Fig. 9 c**). Une fois refermée, le dispositif a été placé sur une paillasse de laboratoire à température ambiante. Une rotation de 90° de la base couvrante est effectuée toutes les 30 minutes, pour permettre la libération des ascospores sur l'ensemble de la surface du milieu de culture.

Après 12 heures d'incubation, la base de la boîte de Petri a été renversée à l'endroit. Le couvercle contenant les fragments de feuilles a été remplacé par un couvercle stérile pour fermer la boîte de Petri et permettre aux ascospores de germer à température ambiante, à l'obscurité, pendant 3 jours.

Les colonies formées ont été observées à la loupe binoculaire, puis au microscope optique. La formation de pycnidiospores, caractéristiques de l'espèce, confirme que la colonie est issue de la germination d'une ascospore unique, libérée à partir des tissus portant des pseudothèces. Huit colonies distinctes ont été prélevées aléatoirement, sur la surface du milieu de culture (**Fig. 9 d**), à l'aide d'une aiguille stérile, puis étalées individuellement sur des boîtes de Petri, contenant un milieu YMA. Les boîtes ont été incubées à 18°C, à l'obscurité, pendant 5 jours.

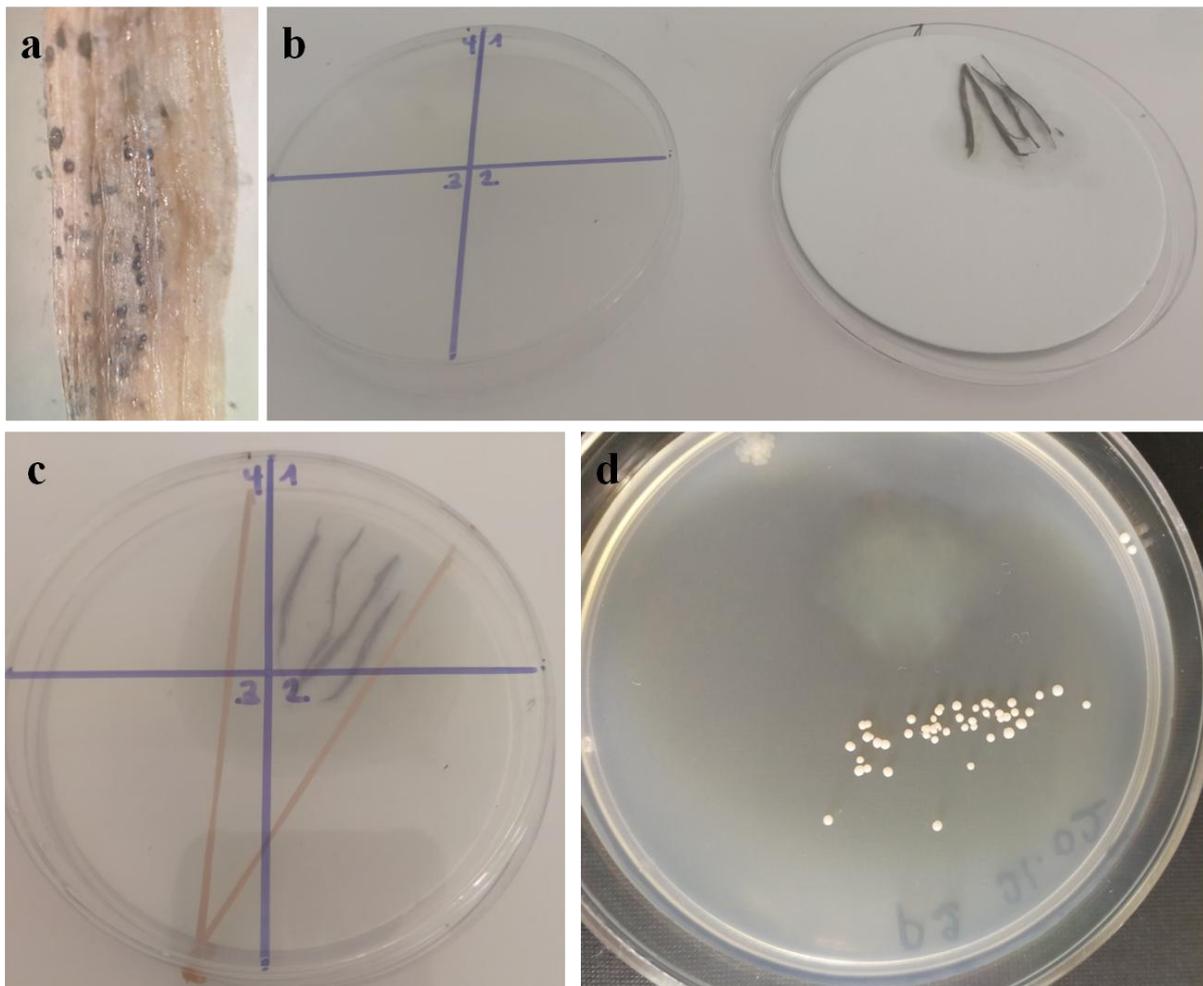


Figure 9. Isolement du pathogène à partir des tissus infectés, par la capture des ascospores, selon la méthode décrite par Kema *et al* (1996 c), modifiée : **(a)** Observation des pseudothèces sous la loupe binoculaire ; **(b)** Dépôt des échantillons sur du papier buvard humidifié, à droite. A gauche, une boîte de Petri quadrillée, contenant une couche de PDA ; **(c)** Fermeture du dispositif avec une la base de la boîte de Petri, avec fixation d'un élastique pour permettre la circulation de l'air ; **(d)** Aspect des colonies de *Z. tritici*, issues de la germination des ascospores, capturées sur PDA, après 6 jours d'incubation.

II.4.4.2. Matériel végétal

Des graines de la variété Hoggar ont été semées dans huit pots en plastique (8 x 8 x 8 cm), préalablement remplis avec du terreau, à raison de 10 graines par pot. Les pots ont été maintenus sous serre, à la station expérimentale de Mehdi Boualem (Barraki, El Harrach), jusqu'au déploiement de la 3^{ème} feuilles, environ 10 jours après le semis.

II.4.4.3. Préparation de l'inoculum, inoculation artificielle et observation des symptômes

L'inoculum utilisé pour le test de pathogénicité a été préparé à partir des isolats issus de la capture et de la germination de huit ascospores. A l'aide d'une spatule stérile, la masse conidiogène de chaque boîte de Petri a été raclée, puis placée dans des flacons contenant 40 ml d'eau distillée stérile. La concentration en spores de chaque flacon a été ajustée à 4×10^6 spores/ml, en utilisant une cellule de Malassez.

Avant l'inoculation, les huit suspensions de spores ont été additionnées de tween 20 (deux gouttes/100 ml de suspension), pour augmenter l'adhérence des pycnidiospores sur les feuilles. Les suspensions de spores ont été pulvérisées individuellement sur les trois premières feuilles des plants âgés de 10 jours. Les plants témoins ont été pulvérisés avec de l'eau distillée stérile.

A la fin de l'opération, les pots ont été recouverts avec des sacs en polyéthylène transparents, préalablement humidifiés avec de l'eau distillée stérile, pendant 72 heures. Après le retrait des sacs, les pots ont été gardés sous serre, à une température moyenne de 20°C et arrosés tous les deux à trois jours, jusqu'au 21^{ème} jpi, pour l'observation des symptômes.

II.4.5. Occurrence du téléomorphe *Z. tritici* dans les conditions naturelles du champ

L'occurrence du téléomorphe *Z. tritici* dans les conditions naturelles de champ a été investiguée, à la fois sur les débris de cultures (Parcelle 1) et les plants de blé en végétation (Parcelle 2), principalement pour déterminer : (1) Les périodes de l'année propices à la formation des pseudothèces, à travers l'estimation des fréquences d'occurrence des pseudothèces sur les deux parcelles ; (2) Les périodes de l'année propices à la libération des ascospores, à travers l'estimation de l'intensité de la décharge des ascospores sur les deux parcelles.

II.4.5.1. Estimation de la fréquence des pseudothèces sur les débris de cultures et les plants en végétation

La présence sur un échantillon d'un ou de plusieurs pseudothèces identifiés comme appartenant à *Z. tritici* a été considérée comme une occurrence positive. Par ailleurs, chaque occurrence notée a été confirmée par le prélèvement d'un pseudothèce, son identification par l'observation microscopique et sa mise en culture sur un milieu PDA.

Le nombre d'occurrence pour chaque date de prélèvement a permis d'estimer la fréquence d'occurrence des pseudothèces, exprimée en pourcentage (PFP%), sur les débris de cultures et sur les feuilles en végétation, selon la formule suivante : **PFP (%) = Ni/Nt x 100**, avec **Ni** représentant le nombre d'échantillons portant des pseudothèces de *Z. tritici* et **Nt** le nombre total d'échantillons analysés.

II.4.5.2. Estimation de l'intensité de la décharge des ascospores sur les débris de cultures et les plants en végétation

L'estimation de l'intensité de décharge des ascospores à partir des échantillons prélevés de la parcelle 1 (Débris de cultures) et de la parcelle 2 (Plants en végétation) a été réalisée selon la technique décrite par Kema *et al* (1996 c) et modifiée par Suffert et Sache (2011), en comptabilisant le nombre total de colonies formées suite à la capture d'ascospores à partir d'échantillons où une occurrence positive de pseudothèces a été notée.

Les échantillons ont été pesés, puis immergés dans de l'eau pendant une heure. Ils ont ensuite été mis entre deux feuilles de papier absorbant, pour enlever l'excès d'eau, puis disposés dans une boîte en plastique (22 cm x 22 cm), préalablement tapissée d'un papier absorbant humidifié (**Fig. 10 a**). Deux rubans adhésifs ont été fixés parallèlement aux arêtes de la boîte, de manière à permettre le dépôt de 5 boîtes de Petri contenant une fine couche de PDA, orientées vers le bas. Le dispositif a été maintenu sur une paillasse de laboratoire, à température ambiante, pendant 24 heures (**Fig. 10 b**). Par la suite, des couvercles stériles ont servi pour refermer les boîtes contenant le milieu PDA, ces dernières ont été incubées à température ambiante, à l'obscurité pendant 3 jours. A l'issue de la période d'incubation, les colonies formées de *Z. tritici* ont été comptabilisées en utilisant une loupe binoculaire.

L'index de décharge des ascospores (IDA) exprimant le nombre d'ascospores libérées par gramme de débris a été calculé, pour chaque échantillon, selon la formule suivante (Suffert et

$$\text{Sache, 2011}) : \text{IDA} = \frac{1}{4} \frac{X}{\pi} \frac{Y}{r^2} \frac{\text{NB Col}}{\text{PS}}$$

X, Y : Longueur et largeur de la boîte utilisée pour la captures des ascospores (20 cm x 20 cm)

IDA : Index de décharge des ascospores

NBCol : Nombre total des colonies comptabilisé sur les 4 boîtes de Pétri

PS : Poids sec des débris, exprimés en grammes, **r²** : Carré du rayon de la boîte de Petri

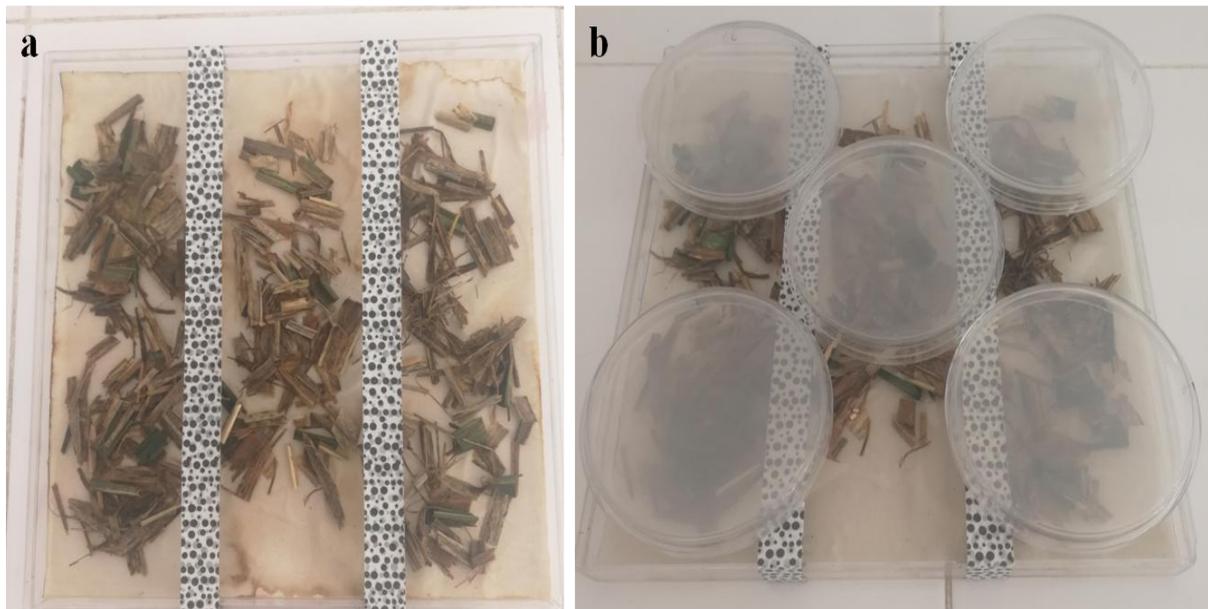


Figure 10. Estimation de l'intensité de la décharge des ascospores, par la capture des ascospores selon la méthode de Kema *et al* (1996 c), modifiée par Suffert et Sache (2011) : (a) Echantillon de feuilles infectées par la tache septorienne, avec présence de pseudothèces, prélevées en Juin 2016, à partir de la parcelle 1 ; (b) incubation du dispositif sur une paille de laboratoire, à température ambiante, pendant 24 heures.

II.5. Etude *in planta* de la reproduction sexuée chez *Z. tritici* en conditions semi-contrôlées

La reproduction sexuée chez *Z. tritici* nécessite la rencontre de deux partenaires compatibles, aux mating types opposés. La formation des fructifications sexuées a lieu sur les tissus fortement infectés (feuilles et tiges), environ 46 à 76 jours après l'infection initiale (Suffert *et al.*, 2011). Deux essais (Essai 1 et Essai 2) ont été menés simultanément pour étudier la reproduction sexuée chez *Z. tritici* et répondre à trois objectifs : (1) La mise au point d'une procédure fiable et reproductible pour le croisement d'isolats compatibles, *in planta*, en conditions semi-contrôlées (Essai 2) ; (2) L'évaluation du pouvoir pathogène des isolats parents inoculés seuls et en combinaisons biparentales, sur deux variétés de blé dur, aux réponses différenciées vis-à-vis de *Z. tritici* (Essai 1) ; (3) L'évaluation de l'effet de l'isolats et de la variété sur l'intensité de la reproduction sexuée chez *Z. tritici* (Essai 2). Les procédures de croisement, d'inoculation et d'induction de la reproduction sexuée ont été réalisées selon les méthodes décrites par Kema *et al* (1996 c) et Suffert et Sache (2011).

II.5.1. Matériel fongique

Cinq isolats de la collection de *Z. tritici* ont été sélectionnés sur la base de leurs mating types, et de leurs sensibilité/résistance aux strobilurines (QoI), avec trois isolats résistants et deux isolats sensibles (**Tab. 4**). Pour chaque isolat, l'inoculum préalablement stocké à -20°C, sous forme de suspension de spores, a été prélevé et étalé dans des boîtes de Petri contenant un milieu YMA. Les cultures de chaque isolat ont été incubées à 18°C à l'obscurité, pendant cinq jours.

Tableau 4. Isolats de *Z. tritici* et combinaisons biparentales utilisés pour les inoculations et les croisements *in planta*, en conditions semi-contrôlées

<i>Isolats Parents</i>	<i>Origine</i>	<i>Croisements</i>						
		Mating type	QoI	I1	I2	I3	I4	I5
I1 (ST65*)	Alger	<i>Mat1-1</i>	R		X	X	X	
I2 (ST99*)	Constantine	<i>Mat1-2</i>	R	X				X
I3 (ST101*)	Constantine	<i>Mat1-2</i>	S	X				X
I4 (ST110*)	Constantine	<i>Mat1-2</i>	R	X				X
I5 (ST120*)	Constantine	<i>Mat1-1</i>	S		X	X	X	

* : Codes des isolats utilisés, rapportés en Annexe 6

R : Résistant aux strobilurines

S : Sensible aux strobilurines

La masse conidiotique de chaque boîte de Petri a été raclée à l'aide d'une spatule stérile et versée dans des flacons contenant 40 ml d'eau distillée stérile. La concentration en spores de chaque flacon a été ajustée à 2×10^5 spore/ml à l'aide d'une cellule de Malassez. Les suspensions biparentales ont été obtenues en mélangeant 15 ml de chaque suspension parentale, selon les combinaisons précédemment reportées (**Tab. 4**)

II.5.2. Matériel végétal

Les variétés de blé dur Hoggar et Simeto ont été retenues sur la base de leurs réponses différenciées vis-à-vis de *Z. tritici*. Hoggar étant considérée comme sensible et Simeto étant considérée comme résistante (Touati-Hattab, 2005 ; Benkorteby, 2006 ; Zibani, 2015 ; Harrat, 2016). Les essais 1, 2 ont été mis en place simultanément, à la fin du mois de janvier 2018.

L'essai 1 a été mené pour évaluer le pouvoir pathogène des isolats, inoculés seuls et en combinaison, sur Hoggar et Simeto. Des pots en plastique (8 cm x 8 cm x 8 cm), contenant un substrat constitué de terreau, de sable et de terre de jardin (1/3, 1/3, 1/3) ont été semés avec 10 à 15 graines de chaque variété, sur une section linéaire. Les pots ont été disposés en bloc aléatoire complet à trois répétitions, dans une serre en verre, située au Centre de Recherche de l'INRAA (Barraki), à une température moyenne de 20°C, sous lumière naturelle, et ont été arrosés régulièrement, jusqu'à l'émergence de la troisième feuille (**Fig. 11 a, b**).

L'essai 2 a été mené pour tester d'une part, la fiabilité de la procédure de croisement, et d'autre part, l'hypothèse de l'existence d'un effet de l'isolat et de la variété sur l'intensité de la reproduction sexuée chez *Z. tritici*. Des pots en plastique (16Ø x 16 cm), contenant le même mélange de substrat décrit précédemment ont été semés avec 20 à 25 graines de chaque variété, puis disposés en bloc aléatoire complet à trois répétitions. Les pots ont été soumis aux mêmes conditions que celles présentées dans l'essai 1 (**Fig. 11 c**).

II.5.3. Méthode d'inoculation artificielle

L'inoculation artificielle a été réalisée sur des plantules âgées de 10 jours pour les deux essais, selon la procédure décrite par Kema *et al* (1996 c), détaillée dans la section **II.4.4**. Dans l'essai 1, des suspensions de spores des cinq isolats parents et des six combinaisons biparentales ont été appliquées à l'aide d'un pulvérisateur à usage unique (**Tab. 4**). Dans l'essai 2, seules les combinaisons biparentales ont été inoculées.

La pulvérisation des pots a été réalisée de manière à assurer une couverture homogène des feuilles par l'inoculum. Les témoins ont été pulvérisés avec de l'eau stérile. Afin de promouvoir l'infection et éviter d'éventuelles contaminations croisées, les pots ont été recouverts avec des sacs en polyéthylène transparents, humidifiés avec de l'eau stérile pendant 72 heures

Après le retrait des sacs en polyéthylène, les plants inoculés lors des deux essais ont été arrosés tous les trois jours et pulvérisés quotidiennement avec de l'eau, à l'aide d'un pulvérisateur, jusqu'à l'apparition des premières pycnides, puis la notation de la maladie, au 21^{ème} jpi.



Figure 11. Présentation de la mise en place de l'essai 1 et de l'essai 2, pour l'étude *in planta* de la reproduction sexuée de *Z. tritici*, en conditions semi-contrôlées, sur le blé dur : **(a)** Réalisation du semis pour l'essai 1 ; **(b)** Essai 1, avec des plantules de blé dur (cvs. Hoggar et Simeto) âgées de 10 jours, cultivées sous serre, à la station expérimentale de l'INRAA-Barraki ; **(c)** Essai 2, destiné aux croisements *in planta*, avec des plantules de la variété Hoggar, âgées de 10 jours, cultivées sous les mêmes conditions que dans l'essai 1.

II.5.4. Conditionnement du matériel végétal pour l'induction de la reproduction sexuée et la formation des pseudothèces *in planta*

Les pots ayant été inoculés avec les six combinaisons biparentales dans l'essai 2 ont été retirés de leur emplacement, au 21^{ème} jpi. L'ensemble a été placé à l'extérieur de la serre et exposé aux conditions environnementales externes, durant quinze semaines (**Fig. 12 a, b**). A partir de la cinquième semaine, les feuilles infectées de chaque pot ont été prélevées et déposées à la surface de pots en plastique, contenant du terreau. L'ensemble a été recouvert d'un filet, pour éviter leur dispersion par le vent, tout en maintenant leur exposition aux conditions extérieures. Afin de favoriser la formation des pseudothèces, une humidification régulière du matériel végétal a été assurée durant la période de conditionnement (**Fig. 12 c**).

A partir de la 5^{ème} semaine après l'inoculation, les tissus infectés ont été soumis à une observation quotidienne, sous une loupe binoculaire, afin de détecter la présence de pseudothèces nouvellement formés. Les pseudothèces identifiés ont été prélevés à l'aide d'une lame fine, écrasés entre lame et lamelle, puis observés sous microscope optique. Le jour d'apparition des pseudothèces a été noté pour chaque pot.



Figure 12. Présentation du dispositif d'essai d'induction *in planta* de la reproduction sexuée chez *Z. tritici*, en conditions semi-contrôlées dans l'essai 2 : (a) Plantules de blé dur, cv. Hoggar, au 14^{ème} jpi, sous serre ; (b) Plantules de blé dur, cv Hoggar, exposés aux conditions climatiques extérieures, au 60^{ème} jpi ; (c) Conditionnement des feuilles infectées pour l'estimation de l'intensité de la reproduction sexuée chez *Z. tritici*.

II.5.5. Paramètres étudiés pour l'évaluation du pouvoir pathogène des isolats inoculés seuls et en combinaison

III.5.5.1. La période de latence (PL)

La période de latence correspondant au temps écoulé entre l'inoculation et l'apparition des premières pycnides a été notée pour chaque interaction compatible dans l'essai 1, et exprimée en nombre de jours.

II.5.5.2. La sévérité de la maladie

Une estimation quantitative de la sévérité de la maladie a été réalisée, selon la méthode décrite par Eyal et Brown (1976), par la notation du pourcentage de la surface foliaire couverte par les pycnides (PSFP) au niveau de la première feuille, au 21^{ème} jpi, à raison de trois feuilles par pot, pour chaque interaction.

Les réponses des deux variétés à l'infection induite par l'inoculation artificielle se traduisent par des interactions exprimant la résistance ou la sensibilité de l'hôte mais aussi par un gradient de réponses allant du plus résistant au plus sensible. Une estimation qualitative établie par Rosielle (1972), modifiée par McCartney *et al* (2002) a permis de classer les réponses obtenues chez les variétés Hoggar et Simeto, sur une échelle allant de 0 à 5 (**Tab. 5**).

Tableau 5. Estimation de la sévérité de la maladie par le pourcentage de surface foliaire couverte par les pycnides (PSFCP), selon Eyal et Brown (1976) et expression des réponses de l'hôte selon l'échelle établie par Rosielle (1972), modifiée par McCartney *et al* (2002).

<i>Echelle</i>	<i>PSFCP</i>	<i>Description des symptômes</i>
0	0%-5%	Immune (Imm) absence de pycnides symptômes peu visibles (réaction d'hypersensibilité).
1	12%-20%	Très résistant (TR), pycnides discrètes sur les parties âgées de la feuille.
2	25%-45%	Résistant (R) quelques formations pycnidiennes parfois coalescentes situées à l'extrémité foliaire.
3	50%-70%	Intermédiaire (I) formations pycnidiennes apparentes, dispersées sur la longueur de la feuille.
4	75%-85%	Sensible (S) formations pycnidiennes étendues et coalescentes.
5	87%-100%	Très sensible (TS) Lésions étendues sur toute la surfaces foliaire et pycnides abondantes.

II.5.6. Paramètres étudiés pour l'évaluation de l'intensité de la reproduction sexuée

II.5.6.1. La sévérité de la maladie

La sévérité de la maladie a été estimée sur les plants co-inoculés avec les six combinaisons biparentales dans l'essai 2, comme décrit dans la section **II.5.5.2**, avec la notation du pourcentage de la surface foliaire couverte par les pycnides (PSFP) au niveau de la première feuille, au 21^{ème} jpi, à raison de dix feuilles par pot, pour chaque interaction.

II.5.6.2. L'intensité de la reproduction sexuée

Les croisements effectués sur les deux variétés ont été considérés comme fertiles à partir de l'observation des premiers pseudothèces, pour les six combinaisons biparentales considérées. Le nombre de jours nécessaires à la formation des pseudothèces a été noté pour chaque couple fertile. Par ailleurs, la production d'ascospores a été retenue comme un marqueur de la capacité reproductive de chaque couple, comme décrit par Suffurt et Sache (2011), et exprimée par l'indice de décharge des ascospores (IDA).

Environ 15 semaines après le premier jour d'inoculation, les feuilles infectées de chaque combinaison biparentale, disposées préalablement dans des pots recouverts d'un filet et exposés aux conditions environnementales externes (**Fig. 12 c**) ont été récupérées individuellement pour procéder à la capture des ascospores. L'IDA de chaque combinaison biparentale fertile a été calculé, selon la formule rapportée dans la section **II.4.5.2**.

II.5.7. Analyses statistiques des données

Dans l'essai 1, les données ont été analysées pour étudier deux composantes du pouvoir pathogène : La période de latence (PL) et le pourcentage de surface foliaire couverte par les pycnides (PSFCP), chez les cinq isolats sélectionnés, inoculés seuls et en combinaison, sur Simeto et Hoggar. Cinq modèles statistiques ont été appliqués pour analyser l'ensemble des données :

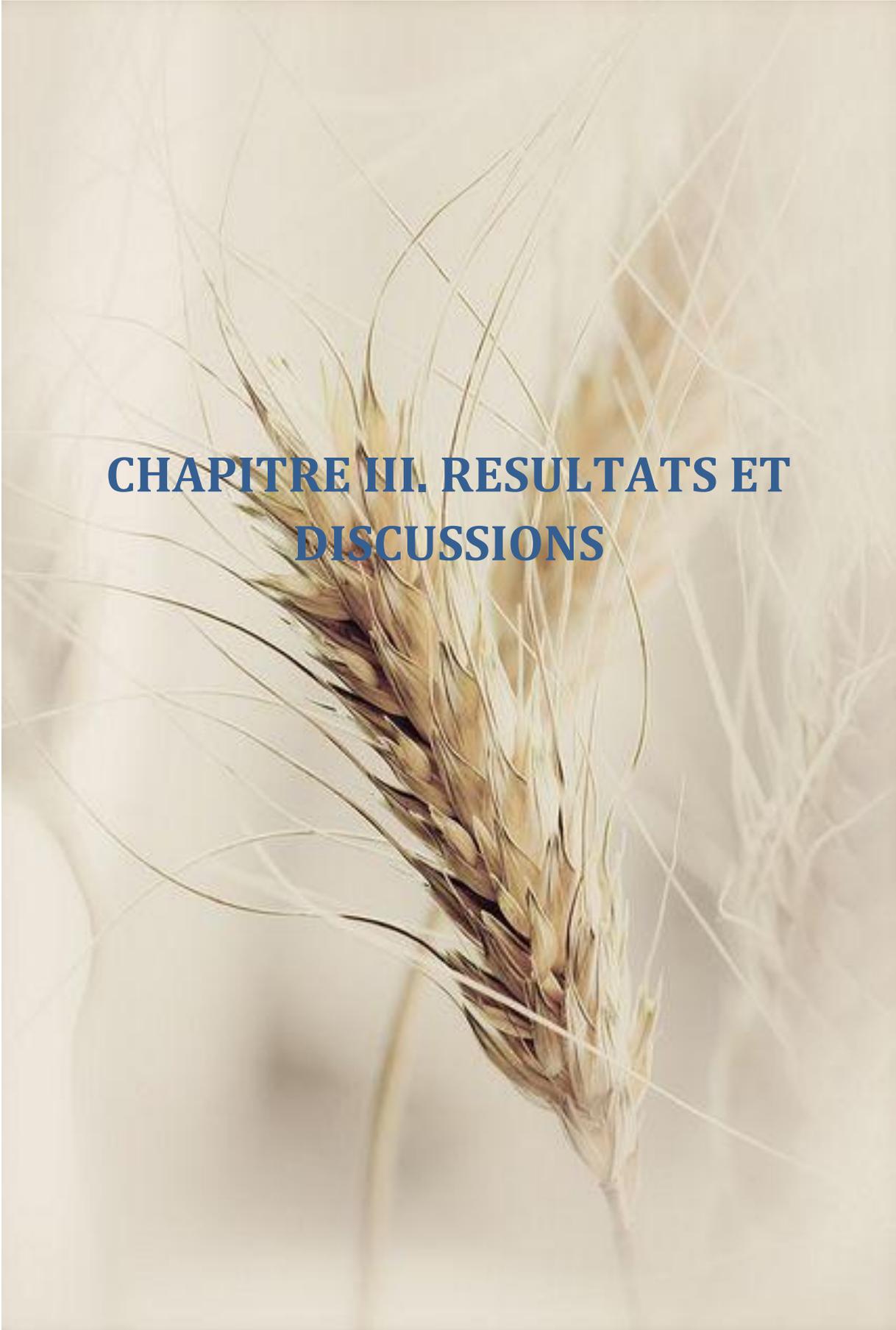
- L'effet de l'isolat et de la variété, ainsi que l'effet de leur interaction sur la période de latence ont été traités par une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (modèle 1).

- L'effet de l'isolat et de la variété, ainsi que l'effet de leur interaction sur la sévérité de la maladie, exprimée par le PSFCP, ont été traités par une analyse de variance multivariée (MANOVA) appliquée aux données non paramétriques (modèle 2). Dans la mesure où les données du PSFCP ne suivaient pas une distribution normale, après l'application du test de Shapiro-Wilk. L'effet des facteurs indépendants (isolat/variété) et leur interaction ont été testés par les contrastes d'Helmert.
- L'effet des isolats parents inoculés seuls et en combinaison sur le PSFCP a été traité par une analyse de variance (ANOVA) à un facteur pour données non paramétriques (Test de Kruskal-Wallis), pour chacune des variétés (modèle 3). Dans le cas où les effets observés sont significatifs, des tests post-hoc pour la comparaison des moyennes par paires ont été appliqués, avec le Test de Dunn à un seuil de confiance de 5% ($\alpha=0,05$).

Dans l'essai 2, les données ont été analysées pour étudier l'effet des isolats parents et de la variété sur l'intensité de la reproduction sexuée, exprimée par l'IDA, chez les combinaisons ayant produit des pseudothèces avec des ascospores matures.

- Une analyse de variance à un facteur (ANOVA) pour données non paramétriques a été réalisée (modèle 4) pour estimer l'effet de la combinaison biparentale sur l'intensité de la reproduction sexuée, exprimée par l'IDA.
- Une analyse de covariance (ANCOVA) a été réalisée (modèle 5) sur les données obtenues pour la variété Hoggar, chez les combinaisons ayant produit des pseudothèces et des ascospores (I1/I2, I1/I4, I5/I2 et I5/I4). La variété Simeto n'a pas été considérée dans l'analyse, dans la mesure où seul le couple I1/I4 a produit des pseudothèces avec des ascospores. Les effets de la variable catégorielle (Isolat parent) et de la covariable (sévérité de la maladie, exprimée par le PSFCP), ainsi que leur interaction sur l'intensité de la reproduction sexuée, exprimée par l'IDA ont été estimés. Au terme de l'analyse, un test post-hoc de comparaison par paires (Test de Tukey au seuil de confiance de 5%, $\alpha=0,05$) a été réalisé pour déterminer l'existence de différences significatives au sein des isolats parents.

- Pour l'ensemble des analyses, une transformation $\log(x+1)$ a été réalisée sur la variable réponse (IDA) pour satisfaire les exigences des différents modèles statistiques. Aussi, les IDA moyens inférieurs à 1 ont été écartés des analyses (I1/I3, I5/I3) et considérés comme étant le résultat de l'échec de la reproduction sexuée. Toutes les analyses (traitement des données, représentations graphiques) ont été réalisées avec le logiciel R, version 3.0.1 (R Core Team, 2013).



**CHAPITRE III. RESULTATS ET
DISCUSSIONS**

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1 La tache septorienne en Algérie

III.1.1. Prévalence de la tache septorienne du blé dans le Centre et l'Est de l'Algérie

Les prospections menées au court de deux campagnes consécutives (2012-2013 et 2013-2014) ont permis de parcourir six zones céréalières du Centre et de l'Est du pays, représentées par les wilayas d'Alger, Blida, Médea, Tipaza, Bouira et Constantine. Au total, 126 champs ont été visités, dans 21 communes à travers les six wilayas. Les observations ont révélé la présence de la tache septorienne à des degrés variables selon l'année de prospection et l'étage bioclimatique de la région prospectée (**Annexe 1, Fig. 13**).



Figure 13. Symptômes de la tache septorienne, causée par *Z. tritici*, observés lors des prospections menées en 2013 et en 2014 : **(a)** Lésions caractéristiques de la maladie, observées en début mars 2013, sur des feuilles de blé dur, à la station de l'ITGC (Oued Smar) ; **(b)** Développement de la maladie à la base des plants, observé à Bouira (Lakhdaria), en avril 2014 ; **(c)** Lésions nécrotiques coalescentes recouvertes de pycnides sur une feuilles de blé dur ; **(d, e)** Variation de la sévérité de la maladie en fonction de l'année de prospection, dans un champs de blé dur, situé à Mouzaia, avec une attaque sévère en 2013 (d) et une attaque limitée aux feuilles basales en 2014 (e).

La présence de la maladie durant la campagne 2012-2013 a été notée sur l'ensemble des wilayas, avec une prévalence moyenne de 70% (**Annexe 1, Fig. 14**). Bien que l'incidence et la sévérité de la maladie n'aient pas été prises en compte dans notre étude, nos observations indiquent que les wilayas du Centre, situées sur la zone littorale et l'étage bioclimatique subhumide (Alger, Blida et Tipaza) ont présenté les degrés de sévérité les plus importants, comparativement aux wilayas situées dans l'intérieur Centre et Est du pays, ces dernières étant classées dans l'étage bioclimatique semi-aride (Bouira, Médéa et Constantine). Durant la campagne 2013-2014, les mêmes sites prospectés l'année qui précède ont montré une tendance inverse. Une prévalence de 41% a été notée pour l'ensemble des wilayas, avec des degrés de sévérité faibles (**Annexe 1, Fig. 14**). En effet, lorsque les symptômes étaient présents dans une parcelle, ils se présentaient sous forme de taches nécrotiques, discrètes et non coalescentes. Aussi, la progression verticale de la maladie paraissait lente, ne dépassant pas la 3^{ème} feuille, avec des feuilles drapeau indemnes sur l'ensemble des champs prospectés (**Fig. 13 d**).

Par ailleurs, l'analyse des données climatiques enregistrées, d'octobre à juin, durant les deux campagnes 2012/2013 et 2013/2014 (INSID, 2015) a montré des variations inter et intra-annuelles, en termes des cumuls mensuels moyens des précipitations, par région et par année (**Annexe 5, Fig. 15**). En considérant les six wilayas, le cumul moyen enregistré était de 625,7 mm en 2013, contre 568,2 mm en 2014. Cependant, durant la période printanière, considérée comme cruciale pour le développement de la maladie en plein champ, une différence nette a été relevée entre les deux campagnes. Les pluies printanières étaient beaucoup plus soutenues durant la campagne 2012-2013, avec un cumul de 188 mm (avril et mai), sur l'étage bioclimatique subhumide (Alger, Blida et Tipaza) et 128 mm sur l'étage bioclimatique semi-aride (Médéa, Bouira et Constantine). Durant la campagne 2013-2014, seulement 6 mm ont été enregistrés dans les zones subhumides (avril et mai), contre 34 mm enregistrés dans les zones semi-arides, avec un cumul maximal de 59 mm, enregistré en mai, à Constantine (**Annexe 5, Fig. 15**).

Bien que le blé tendre n'ait pas été considéré dans l'étude, la présence de la tache septorienne a été observée sur les variétés cultivées de blé tendre, telles que ; Hidab et Anza, où la variété Hidab présentait des degrés d'attaque importants, particulièrement durant la campagne 2012-2013. Les variétés de blé dur rencontrés durant les prospections étaient : Hoggar, Simeto, Waha et GTA Dur, avec des attaques plus importantes chez les deux variétés Hoggar et Waha, durant la campagne 2012-2013.

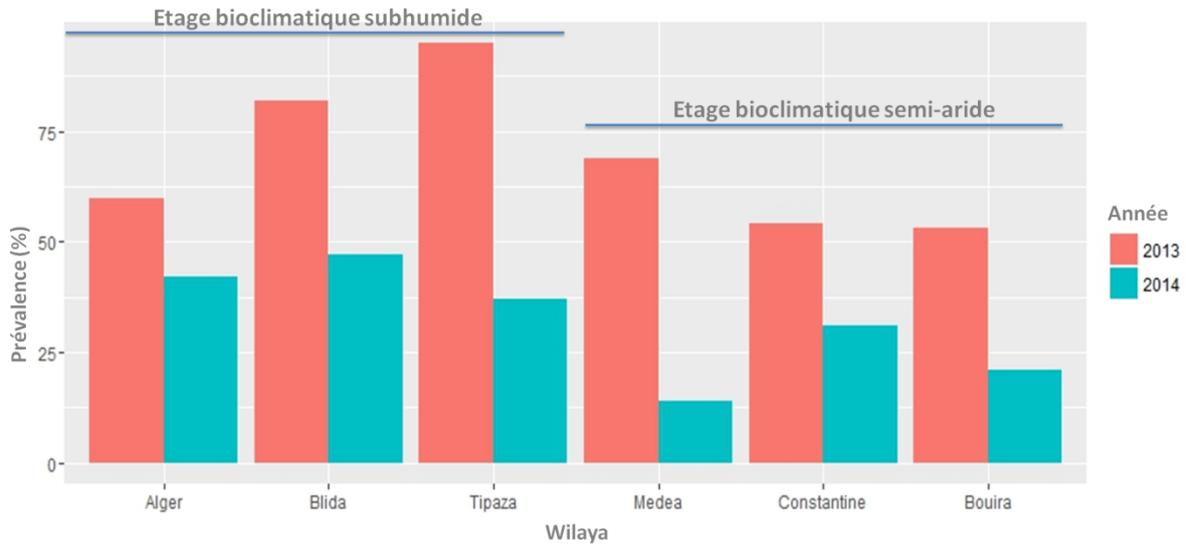


Figure 14. Prévalence de la tache septorienne du blé, dans six régions du Centre et de l’Est du pays, exprimée en pourcentage de champs atteints par la maladie, en 2013 et en 2014.

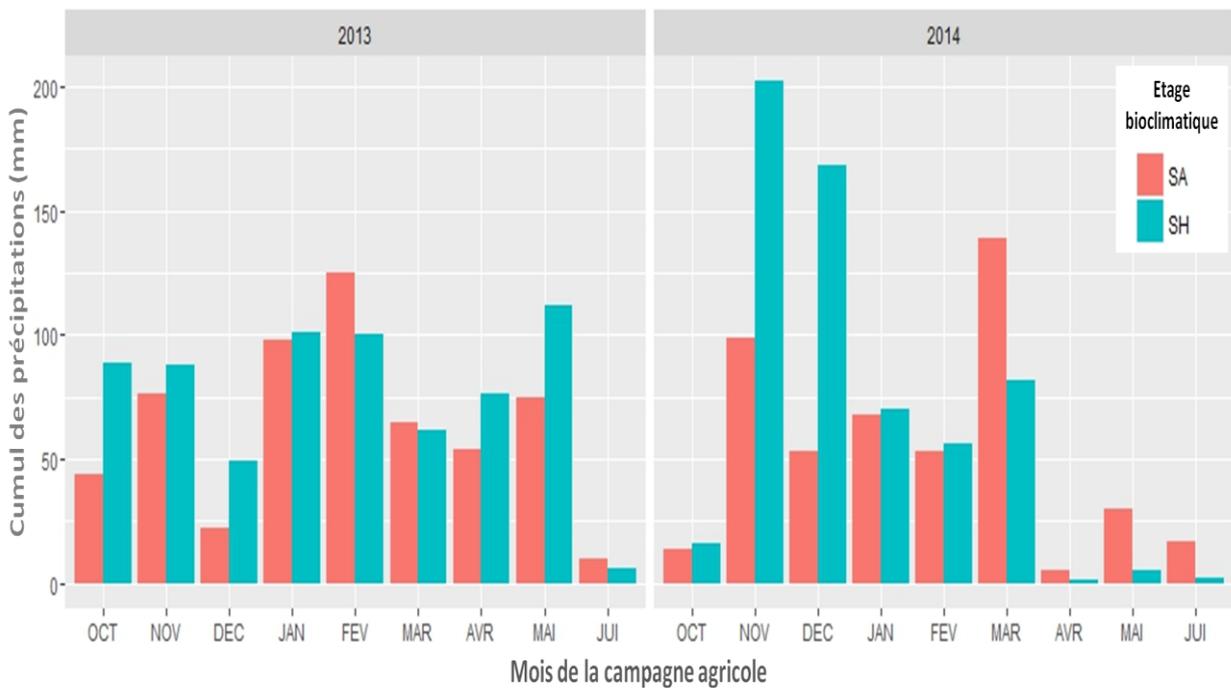


Figure 15. Répartition des cumuls mensuels moyens des précipitations (en mm), enregistrés durant les deux campagnes 2012-2013 et 2013-2014, en fonction de l’étage bioclimatique : subhumide (SH), comprenant Alger, Blida et Tipaza et semi-aride (SA), comprenant Médéa, Bouira et Constantine, selon les données climatiques fournies par l’INSID.

III.1.2. Isolement et identification au laboratoire de *Z. tritici* agent de la tache septorienne du blé

Les isollements pour la constitution d'une collection de *Z. tritici* ont été effectués au laboratoire de mycologie (ENSA, El Harrach). Les échantillons récoltés durant les prospections ont été classés selon leur provenance, et un code d'identification a été attribué à chaque isolat, où sont indiqués : la date de collecte, la wilaya, la parcelle, le plant, la feuille et la lésion d'isolement, pour permettre de distinguer les isolats provenant d'une seule lésion ou ceux provenant de plusieurs lésions sur la même feuille. Sur 500 isolats collectés, 250 ont été conservés (**Annexe 6**).

L'incubation des fragments de feuilles infectées en chambre humide a permis l'observation de cirrhes translucides à ambrés, exsudés par les pycnides, au bout de 3 à 6 heures pour les échantillons frais (**Fig. 16 a**). L'observation microscopique des cirrhes a montré un nombre important de pycnidiospores filiformes, hyalines et septées (**Fig. 16 b**).

Les cirrhes prélevés individuellement et mis en culture sur un milieu YMA ont donné des colonies au bout de 48 heures (**Fig. 16 c**). L'observation microscopique d'échantillons prélevés à partir des colonies formées a permis d'identifier des pycnidiospores caractéristiques de l'espèce *Z. tritici*. Les macropycnidiospores sont similaires à celles observées au niveau des cirrhes, elles sont filiformes, hyalines et septées (3 à 7 septa) prenant naissance par bourgeonnement latéral (**Fig. 16 d**).

Les colonies formées après étalement et incubation pendant 5 à 6 jours ont présenté un aspect crémeux, rosâtre, similaire à celui des colonies bactériennes. L'aspect phénotypique des colonies a varié selon les isolats. Trois types morphologiques ont été observés : le type bactérien de couleur rose (**Fig. 17 a**), le type duveteux avec la formation d'un stroma couvert d'un duvet blanc et fin (**Fig. 17 b**) et le type filamenteux avec des colonies constitué d'un mycélium plat, foncé avec des formations crémeuses lisses (**Fig. 17 c**) ou rugueuses (**Fig. 17 d**).

Les paramètres morpho-culturels tels que l'aspect (bactérien, granuleux, mycélien, bourrelets), la pigmentation (rose, blanc, verts olive, noir, gris), la clarté (clair ou foncé), le type de bordure (stromatique ou mycélienne) et le type de surface (lisse, rugueuse, duveteuse), ont considérablement varié à travers les types morphologiques observés (**Fig. 17 e**).

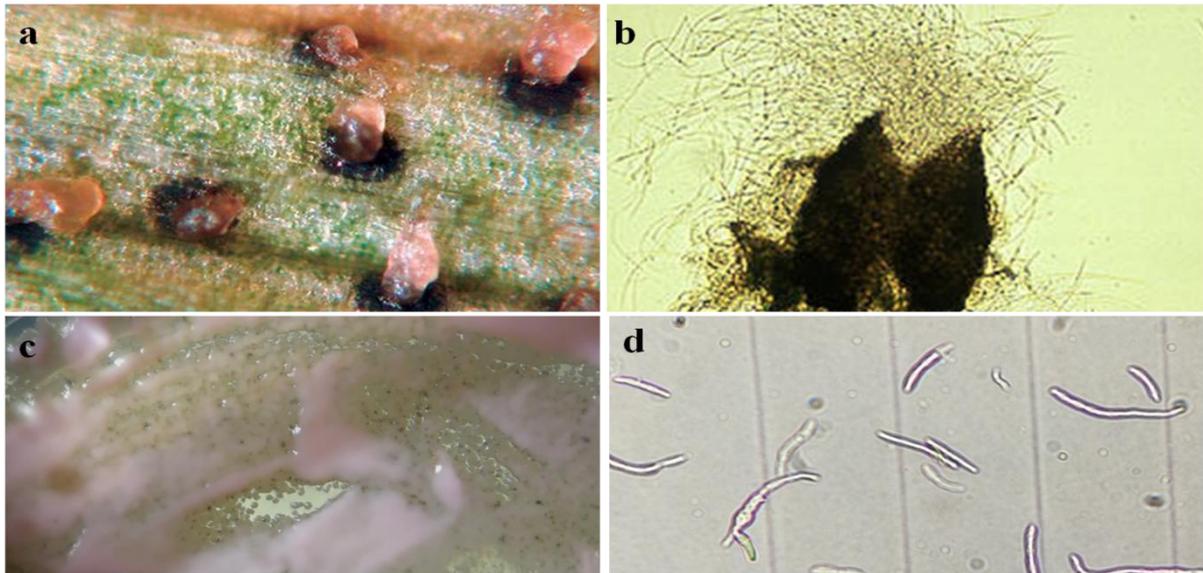


Figure 16. Isolement au laboratoire de *Z. tritici* : **(a)** Exsudation de cirrhes en tortillons à partir de pycnides matures sous l'effet d'une humidité saturante ; **(b)** Libération de pycnidiospores filiformes à partir d'une pycnide (x 400) ; **(c)** Aspect typique d'une culture de *Z. tritici* âgée de 6 jours, sur un milieu PDA ; **(d)** Macropycnidiospores multi-cellulaires formées par bourgeonnement latéral (x 400).

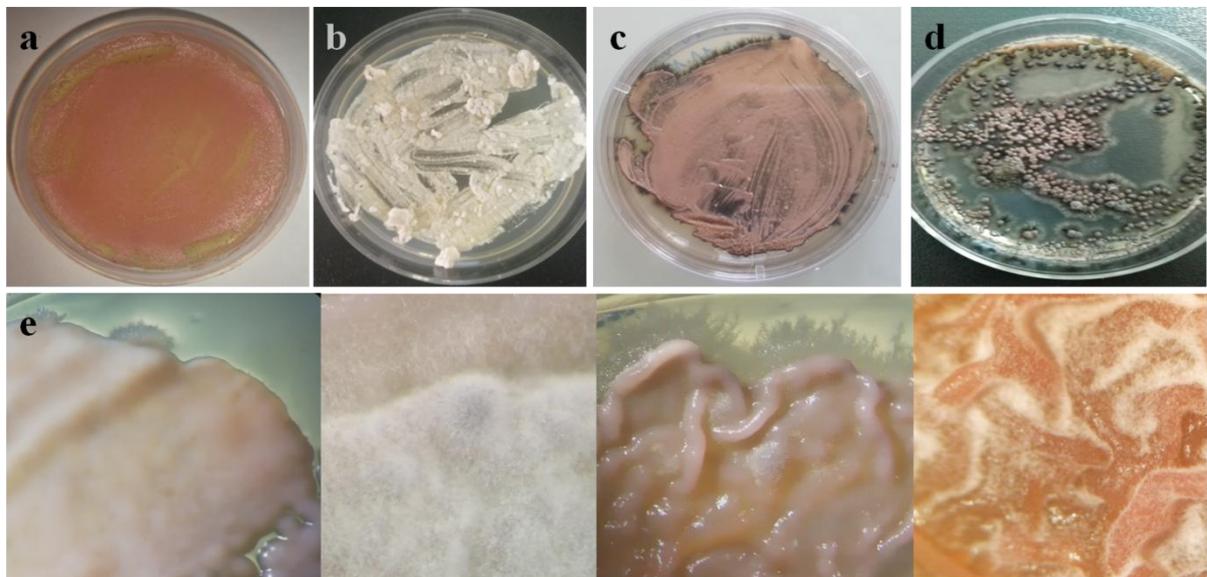


Figure 17. Aspect morpho-cultural de *Z. tritici* cultivé sur un milieu PDA : **(a)** Type bactérien « Yeast like » ; **(b)** Type duveteux avec stroma couvert d'un duvet mycélien blanc et fin ; **(c)** Type filamenteux avec mycélium plat, foncé et des formations crémeuses lisses ; **(d)** Type filamenteux avec mycélium aérien et des formations crémeuses irrégulières ; **(e)** Variabilité des paramètres morpho-culturels chez les isolats de la collection (Aspect, pigmentation, clarté, type de bordure et type de surface).

III.1.3. Discussion

Les résultats obtenus au cours des prospections indiquent la présence de la tache septorienne du blé sur l'ensemble des zones céréalières du Centre et sur une wilaya de l'Est du pays, avec une prévalence plus importante dans les zones littorales, situées dans l'étage bioclimatique subhumide. Ceci concorde avec la tendance rapportée de cette maladie à se développer dans des régions où les températures sont douces, l'humidité élevée et les précipitations supérieures à 700 mm (Shaner et Finney, 1976 ; Fones et Gurr, 2015). Ce sont là autant de facteurs qui déterminent le déclenchement d'une épidémie et la propagation du pathogène, comme cela a été le cas dans les pays du Maghreb en 1969, où des pertes de rendement dépassant les 50% avaient été enregistrées (Wilkinson et Saari, 1974). Par ailleurs, de nombreuses prospections antérieures à cette étude ont permis de noter la présence de la tache septorienne sur l'ensemble du territoire, et de la classer parmi les maladies les plus fréquentes sur les blés en Algérie (Sayoud et Benbelkacem, 1996 ; Hattab-Touati, 2005 ; Ayad, 2011 ; Benslimane, 2011 ; Zibani, 2015 ; Benbelkacem *et al.*, 2016 ; Harrat, 2016 ; INPV, 2016).

La distribution contrastée de la tache septorienne du blé entre deux campagnes successives (2012-2013 et 2013-2014) reflète l'impact des conditions climatiques sur le potentiel de développement de la maladie dans les différentes zones prospectées. En effet, les données pluviométriques fournies par L'INSID, retenues pour les six wilayas prospectées indiquent un cumul moyen des précipitations de 64 mm pour le mois d'avril 2013, avec une moyenne annuelle de 625,7 mm. En revanche, seuls 3 mm ont été enregistrés en avril 2014, avec une moyenne annuelle de 568,2 mm, où un déficit hydrique important a été enregistré (ITGC, 2015). Les pluies printanières contribuent à la dissémination verticale des pycnidiospores qui constitue le moteur de l'évolution de l'épidémie (Suffurt et Sache, 2011). A la faveur de l'humidité ambiante, le champignon est capable de compléter un cycle infectieux en quelques semaines et d'enclencher d'autres cycles dans les mêmes conditions. Par conséquent, l'intensité et la persistance des pluies printanières en 2013 ont forcément contribué à l'installation de la maladie et à sa propagation. A contrario, le déficit pluviométrique enregistré en 2014 semble avoir freiné le développement de la maladie dans les champs où elle a été détectée, expliquant ainsi une progression verticale limitée et restreinte aux 3 premières feuilles, sur l'ensemble des champs visités.

Nos résultats s'accordent avec ceux obtenus par Benbelkacem *et al* (2016) qui ont estimé la prévalence et l'incidence de la tache septorienne du blé à travers les grandes régions céréalières de la zone sub-littorale Est du pays de 2011 à 2014, où des tendances similaires au cours des deux campagnes 2012-2013 et 2013-2014 ont été rapportées.

Lorsque les conditions climatiques étaient favorables, nous avons noté que les variétés de blé dur et de blé tendre ont systématiquement été attaquées par la tache septorienne, à des degrés variables, suggérant ainsi que la majorité des variétés commerciales de blé en Algérie sont sensibles à la maladie. Benbelkacem *et al* (2016) rapportent que sur 160 variétés de blé, 55% présentaient une incidence de la tache septorienne supérieure à 3 sur une échelle de 1 à 9 (Saari et Prescott, 1979), y compris les anciennes variétés commerciales de blé dur.

L'étude des isolats de *Z. tritici* obtenus à partir des échantillons récoltés au cours des prospections nous a permis d'observer un polymorphisme morpho-cultural, reflété par la variabilité des phénotypes cultureux obtenus au sein de notre collection. La variabilité culturelle des isolats de *Z. tritici* a été abordée dans de nombreux travaux en Algérie et dans le monde, dans lesquels les auteurs décrivent un nombre important de morphotypes, où le type bactérien est dominant (Cordo et Lindquist 1987 ; Fitzgerald et Cooke 1989 ; Cordo *et al.*, 1993 ; Benkorteby, 2005 ; Ayad, 2011 ; Zibani, 2015 ; Harrat, 2016). Généralement, le type bactérien correspond au phénotype caractéristique de l'espèce *Z. tritici*, et est considéré comme « typique ». Les autres phénotypes sont supposés être des variants et sont appelés « atypiques » (Cordo *et al.*, 1997 ; Zahri *et al.*, 2015). Les origines du polymorphisme morpho-cultural chez *Z. tritici* sont multiples : la reproduction sexuée, la reproduction parasexuée, les mutations spontanées ou encore une adaptation au milieu, sont autant de facteurs, qui, seuls ou combinés, peuvent induire des variations morphologiques chez le champignon (Griffith et Ao, 1980 ; Osburn *et al.*, 1987 ; Cordo *et al.*, 1997). Au cours de nos observations, nous avons noté que l'aspect culturel des isolats variait en fonction du temps ou encore, entre deux repiquages. Ceci n'est pas surprenant en considérant la nature dimorphique de *Z. tritici*. En effet, le pathogène exhibe deux formes de croissances associées à son pouvoir pathogène, la première est de type bactérien ou « yeast-like », la seconde est filamenteuse ou mycélienne (Rudd *et al.*, 2015) et assure la pénétration du champignon à travers les stomates de la plante. Cette transition peut être mimée *in vitro* au moment du passage de la forme « yeast like » sur un milieu de culture riche en nutriments, à la forme filamenteuse, lorsque le milieu nutritif s'appauvrit (Mehrabi et Kema, 2006).

III.2 Mise en évidence du potentiel de reproduction sexuée et de l'émergence de la résistance aux strobilurines chez *Z. tritici* en Algérie

III.2.1. Distribution des fréquences des idiomorphes *Mat1-1* et *Mat 1-2*

III.2.1.1. Détermination des mating types

Au total, 213 isolats de la collection de *Z. tritici* ont été soumis à une amplification par PCR en multiplex, pour la détermination des mating types *Mat1-1* et *Mat 1-2*. L'amplification spécifique des régions correspondant aux deux idiomorphes a permis de générer selon les isolats deux types d'amplicons, l'un de 340 pb pour les isolats *Mat1-1* et l'autre de 660 pb pour les isolats *Mat1-2*. La présence simultanée des deux amplicons chez le même isolat a été considérée comme une contamination d'ADN lors des manipulations. Au final, 5 isolats ont été écartés de l'analyse et les mating types de 208 isolats de la collection ont pu être déterminés (**Fig. 18**)

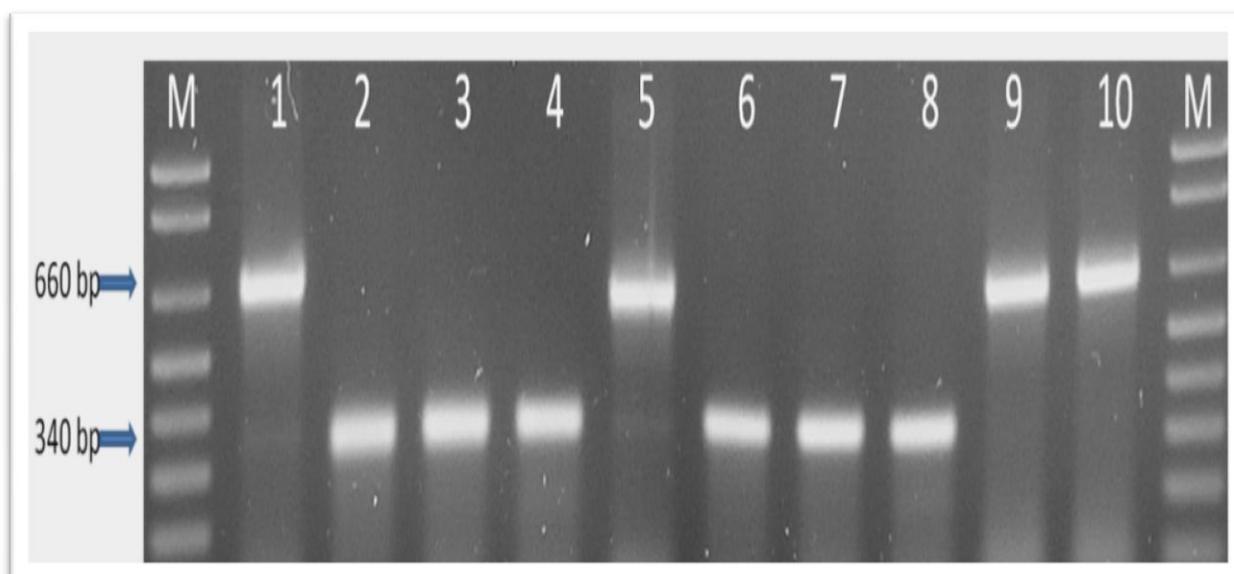


Figure 18. PCR en multiplex pour la détermination des mating types *Mat1-1* et *Mat1-2* au sein de la collection de *Z. tritici* : (M) Marqueur de poids moléculaire 100 pb ; (1) Amplicon de 660 pb (*Mat1-2*) généré chez l'isolat de référence IPO94269 ; (2) Amplicon de 340 pb (*Mat1-1*) généré chez l'isolat de référence IPO323 ; (3, 4 et 5) Amplicons générés chez les isolats ST27, ST29 et ST30 (Oued Smar, Alger) ; (6, 7, 8, 9 et 10) Amplicons générés chez les isolats ST114, ST115, ST118, ST119 et ST120 (Benbadis, Constantine).

III.2.1.2. Distribution macro et micro-géographique des idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2*

La co-occurrence des deux idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2* a été observée au niveau des six wilayas prospectées, y compris dans les wilayas où le nombre d'isolats obtenu était faible (**Tab. 6**). A travers les 208 isolats analysés, toutes wilayas confondues, un ratio de 1:1 a été obtenu avec 110 isolats *Mat1-1* (53%) et 98 isolats *Mat1-2* (47%).

L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative sur la répartition des deux mating types à l'échelle globale ou inter-wilayas (**Fig. 19, Tab. 6**), où les effectifs étaient répartis en fréquences équivalentes. A l'échelle régionale (intra-wilayas), l'analyse a révélé des différences significatives déviant du ratio 1:1, au niveau du champ 2 à Alger et des champs 1 et 3 à Constantine. Cependant les différences observées n'ont pas affecté la répartition globale des mating types au sein des wilayas concernées (**Tab. 6**).

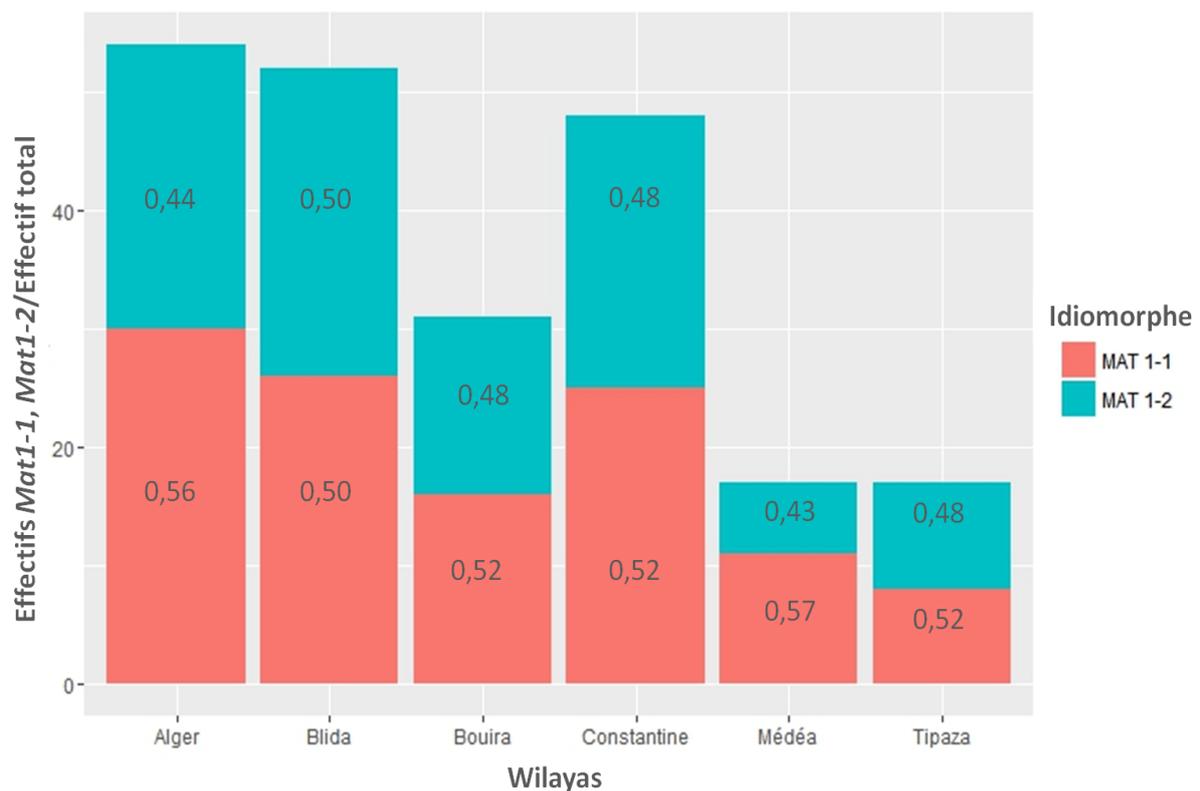


Figure 19. Distribution des fréquences des deux idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2*, à l'échelle macro-géographique (inter-wilayas), pour chaque wilaya prospectée.

A l'échelle des feuilles et des lésions, la co-occurrence des deux idiomorphes *Mat 1-1* et *Mat1-2* a été observée dans l'ensemble des wilayas, y compris celles où le nombre d'échantillons était réduit, comme à Bouira et à Médéa (**Annexes 7, 8**).

Tableau 6. Distributions des fréquences des idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2* à l'échelle macro-géographique (Champs/Wilayas).

Wilaya	Champ	Isolats	Fréquences		Valeurs de χ^2 (df)	
			<i>Mat1-1</i>	<i>Mat1-2</i>	Champs	Wilayas
Alger	1	31	0.48	0.52	0.03 (1)	0.51(5)
	2	13	1.00	0.00	10.28* (1)	
	3	10	0.20	0.80	3.6 (1)	
Blida	1	15	0.53	0.47	0.06 (1)	
	2	15	0.40	0.60	0.6 (1)	
	3	22	0.55	0.45	0.18 (1)	
Canstantine	1	10	1.00	0.00	10.00* (1)	
	2	10	0.70	0.30	1.6 (1)	
	3	28	0.29	0.71	5.14* (1)	
Tipaza	1	17	0.47	0.53	0.05 (1)	
	2	14	0.57	0.43	0.28 (1)	
Bouira	1	12	0.58	0.42	0.33 (1)	
Médéa	1	11	0.55	0.45	0.39 (1)	
Total	13	208	0.53	0.47	0.69 (1)	

*Significatif à $p=0,05$
(df) Degrés de liberté

III.2.2. Occurrence en Algérie de la mutation A143G conférant la résistance aux strobilurines chez *Z. tritici*

La présence de la mutation G143A qui confère la résistance vis-à-vis des strobilurines à *Z. tritici* a été étudiée chez les 208 isolats de la collection, par une amplification spécifique du site de la mutation. Les résultats ont révélé la présence de la mutation G143A chez six isolats provenant des deux wilayas : Alger (03) et Constantine (03), par la présence d'un amplicon de 302 pb, correspondant à l'allèle mutant conférant la résistance aux strobilurines.

Le reste des isolats ont généré un amplicon de 639 pb, indiquant la présence de l'allèle sauvage conférant la sensibilité aux strobilurines (**Annexe 6, Fig. 20**). La fréquence de la substitution G143A a été estimée à 0,02 à travers les wilayas analysées, avec une fréquence de 0,05 (3/54 ; 1 *Mat 1-1*, 2 *Mat 1-2*) dans le champ 1, au niveau de la wilaya d'Alger et 0,06 (3/48 ; 2 *Mat 1-1*, 1 *Mat 1-2*) dans le champ 2, au niveau de la wilaya de Constantine.

Un test biologique *in vitro* de sensibilité aux fongicides a été réalisé afin de valider les résultats obtenus par l'approche moléculaire. Les 208 isolats de la collection ont été cultivés sur un milieu PDA amendé avec de l'azoxystrobine (matière active du fongicide Amistar). Les résultats obtenus ont permis de confirmer les résultats du test PCR, où les six isolats ayant généré l'amplicon correspondant à l'allèle de résistance ont formé des colonies bien développées sur le milieu PDA amendé avec l'azoxystrobine, contrairement aux isolats considérés comme sensibles, qui n'ont affiché aucune croissance mycélienne en présence de la même concentration d'azoxystrobine (**Fig. 21**).

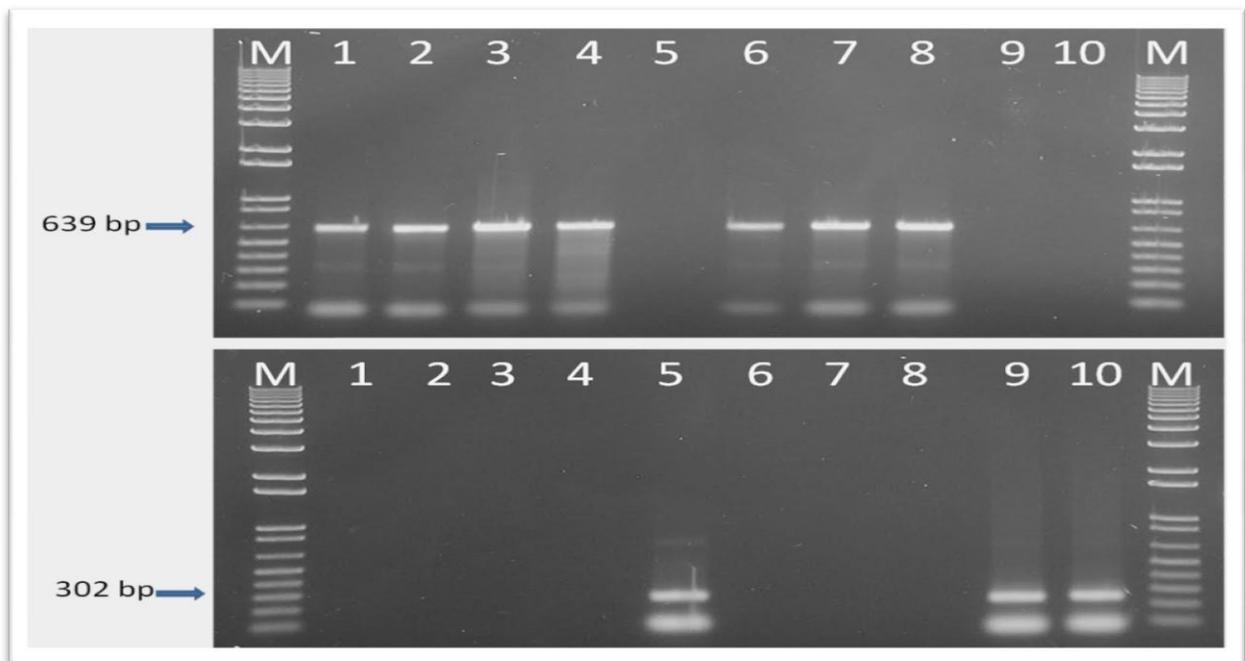


Figure 20. Mismatch Amplification Mutation Assay (MAMA) pour la recherche de la mutation G143A au niveau du gène *Cytb* au sein de de la collection de *Z. tritici* : (M) Marqueur de poids moléculaire, 100 bp ; (1, 2) Isolats de référence sensibles aux strobilurines, IPO94269 et IPO323; (3, 4, 6, 7 et 8) Isolats ST02 (Blida), ST25 (Alger), ST78 (Constantine), ST135 (Tipaza) et ST171 (Médéa), sensibles, porteurs de l'allèle du type sauvage, ayant généré un amplicon de 639 bp ; (5, 9 et 10) Isolats ST57 (Alger), ST99 et ST115 (Constantine), résistants, porteurs de la mutation G143A, ayant généré un amplicon de 302.

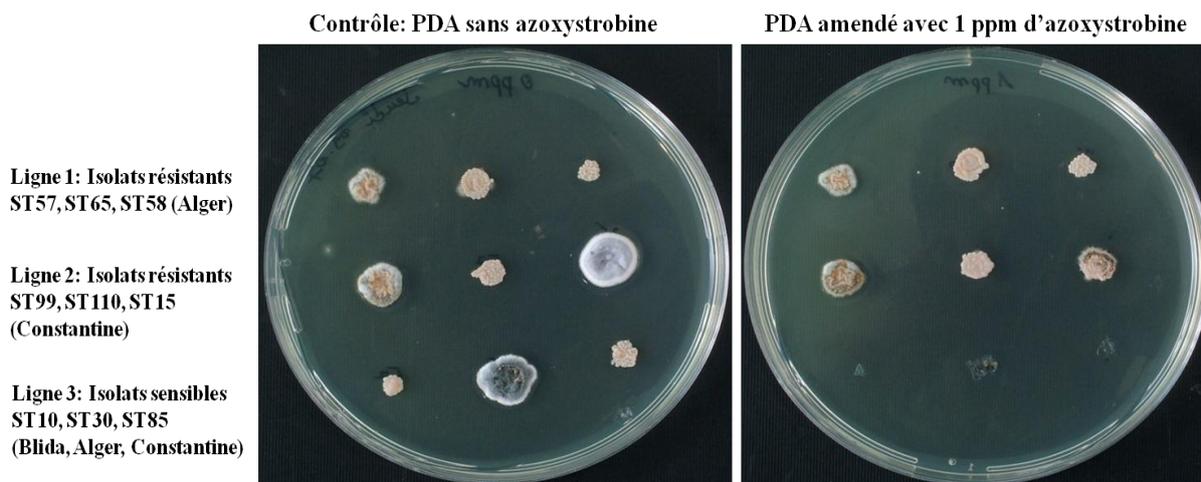


Figure 21. Test biologique de sensibilité aux fongicides QoI (strobilurines) au sein de la collection de *Z. tritici* : **(Lignes 1, 2)** Six isolats (Alger et Constantine), de type mutant, porteurs de la mutation G143A, cultivés sur un milieu PDA amendé avec 1 ppm d'azoxystrobine, ayant affiché une croissance mycélienne en présence du fongicide, à gauche ; **(Ligne 3)** Trois isolats (Blida, Alger, Constantine), de type sauvage, porteurs de l'allèle de sensibilité aux strobilurines, n'ayant affiché aucune croissance mycélienne, à gauche.

III.2.3. Discussion

III.2.3.1. Distribution des fréquences des idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2*

Bien que l'intérêt pour la reproduction sexuée chez *Z. tritici* en Algérie soit récent (Allioui *et al.*, 2014 ; Ayad *et al.*, 2014 ; Harrat, 2016), des études antérieures avaient déjà souligné la récurrence de la reproduction sexuée à travers son impact sur les variations génétiques observées chez des populations d'origine algérienne. Zhan *et al* (2003) ont analysé une collection d'isolats issus de différents continents, dont 54 isolats algériens, qui ont exhibé une diversité génétique et génotypique élevées. Midini et Hamza (2008) ont comparé trois populations distinctes de *Z. tritici* (Algérie, Canada et Tunisie) ; leurs résultats ont révélé que la population algérienne possédait une plus grande diversité génétique, aussi, les tests pathologiques menés ont permis d'identifier 8 pathotypes, dont 4 spécifiques à l'Algérie. Récemment, Harrat (2016) a étudié la diversité génétique de 30 isolats de *Z. tritici* provenant de 27 champs à l'est du pays, en utilisant neuf paires d'amorces microsatellites (SSR) et rapporte l'existence d'un niveau très élevé de variabilité génétique, malgré le nombre réduit d'isolats analysés. Ce sont là autant d'éléments qui nous permettent d'étayer nos résultats. Effectivement, la détermination des mating types des isolats de notre collection révèlent que les idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2* sont distribués en fréquences équivalentes ; ils présentent

un ratio 1:1, aussi bien à l'échelle macro-géographique que micro-géographique. Cela suggère que les populations de *Z. tritici* se reproduisent par la voie sexuée, de manière fréquente et régulière, sous les conditions agro-climatiques du pays. Nos résultats s'accordent avec ceux obtenus dans de nombreux pays où une distribution équivalente des mating types est considérée comme l'indicateur d'une reproduction sexuée régulière et une diversité génétique importante, que ce soit sur le blé dur ou le blé tendre (Chen et Mc-Donald, 1996 ; Zhan *et al.*, 1998 ; Zhan *et al.* 2002 b ; Abrinbana *et al.* 2010 ; Siah *et al.* 2010 b ; El Bekali *et al.*, 2012 ; Boukef *et al.*, 2012 ; Alloui *et al.*, 2014).

Les résultats de l'analyse statistique montrent qu'à l'échelle globale (macro-géographique), le ratio 1:1 est observé dans toutes les régions prospectées. Les mêmes résultats ont été obtenus par Alloui *et al* (2014) sur une population constituée à partir d'isolats provenant de wilayas qui n'ont pas été incluses dans notre étude (Skikda, Guelma, Annaba et Oran). Néanmoins, la présente étude nous permet de considérer que la reproduction sexuée se produit dans des régions éloignées et situées dans des étages bioclimatiques différents. Siah *et al* (2010 b) ont rapporté les mêmes observations chez les populations de *Z. tritici* en France.

Du point de vue local, le champ 1 (Alger) et les champs 1 et 3 (Constantine) ont affiché des distributions déviant significativement du ratio 1:1, sans pour autant influencer sur la distribution équivalente des mating types à l'échelle globale des wilayas concernées. Abrinbana *et al* (2010) et El Bekali *et al* (2012) ont également rapporté des déviations similaires et les ont attribuées à des erreurs d'échantillonnage. Dans notre cas, nous avons supposé que ces déséquilibres pouvaient être le résultat d'une surreprésentation d'individus ayant le même génotype.

A une échelle plus fine (micro-géographique), nos résultats indiquent que dans toutes les régions prospectées, les idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2* coexistent à proportions égales sur une même feuille, mais aussi sur une même lésion, indépendamment de la taille de l'échantillon. De nombreux auteurs ont rapporté que lorsque les lésions s'étendent et se rejoignent, la proximité d'individus de mating types opposés sur une même feuille augmentait les chances de rencontre pour la reproduction sexuée (Zhan *et al.*, 2002 ; Linde *et al.* 2002 ; Eriksen et Munk, 2003 ; Siah *et al.*, 2010 b ; El Bekali *et al.* 2012 ; El Chartouni *et al.* 2012). Par conséquent, l'intensité de la reproduction sexuée serait probablement corrélée à la sévérité de l'épidémie (Cowger *et al.*, 2002).

Nos résultats nous ont également permis d'établir que 62% des feuilles analysées portaient soit des isolats *Mat1-1*, soit des isolats *Mat1-2*. Cette proportion peut être expliquée par le fait qu'une lésion ne peut être induite que par une seule pycnidiospore (McDonald et Martinez, 1990) et que des infections successives par des pycnidiospores issues du même haplotype étaient probables. C'est en faisant les mêmes constatations qu'El Chartouni *et al* (2012) ont estimé que la diversité génotypique observée sur une même feuille pouvait constituer un indicateur de l'intensité de la multiplication asexuée. Nos résultats nous ont également permis de constater que 44% des lésions analysées affichaient la présence des deux idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2*, comme rapporté par d'autres auteurs (Zhan *et al.*, 2003 ; El Bekali *et al.*, 2012 ; El Chartouni *et al.*, 2012). En considérant la nature bipolaire et hétérothallique du système de reproduction chez *Z. tritici*, la coexistence des deux mating types à l'échelle de la lésion favorise la reproduction sexuée et accélère le processus d'adaptation des populations pathogènes aux contraintes de leur environnement (Linde *et al.*, 2002).

III.2.3.2. Présence en Algérie de la mutation G143A au sein de la population de *Z. tritici*

Dans notre étude, nous avons également testé l'hypothèse de l'existence d'isolats résistants aux strobilurines, au sein de notre collection de *Z. tritici*. Nous avons pu détecter la présence de la mutation G143A chez six isolats issus des wilayas d'Alger et de Constantine. Par ailleurs, nous avons confirmé que le gène de résistance est fonctionnel, à travers l'essai biologique *in vitro* de sensibilité aux fongicides.

Nos résultats ont mis en évidence la présence de six isolats résistants, dont trois isolats provenant d'un seul champ, situé à la station expérimentale de l'ITGC à Oued Smar (Alger), un isolat provenant d'un champ de blé tendre à EL Khroub (Constantine) et deux isolats provenant d'un champ de blé dur à Benbadis (Constantine). Nous attribuons la présence d'isolats résistants à la station expérimentale de l'ITGC au fait que la population locale de *Z. tritici* ait été en contact avec un fongicide à base de strobilurines, au cours d'essais d'efficacité du fongicide en question. Par contre, la présence d'isolats résistants à Constantine, dans deux champs éloignés l'un de l'autre soit probablement le résultat de l'utilisation du fongicide pour le contrôle de la maladie, particulièrement dans une wilaya à vocation céréalière.

En dépit du fait que sur un total de 208 isolats de la collection, seuls six isolats mutants ont été identifiés, nos résultats revêtent une importance particulière, dans la mesure où de nombreuses études ont démontré que la fréquence des mutations augmentaient sensiblement

après leur apparition, à la faveur de la reproduction sexuée et de la sélection spontanée des individus porteurs du gène de résistance (Sierotzki *et al.* 2000 ; Chin *et al.* 2001 ; Amil *et al.*, 2007 ; Arango Isaza *et al.* 2016). Le premier cas de résistance aux strobilurines chez *Z. tritici* a été signalé au Royaume Uni en 2002, à de faibles fréquences (Fraaije *et al.*, 2005), puis dans d'autres pays européens où la mutation s'est répandue à une vitesse surprenante (Gisi *et al.*, 2005). En Afrique du Nord, l'emploi des strobilurines reste très limité comparativement aux pays européens (Boukef *et al.*, 2012) et les investigations menées en Algérie, en Tunisie et au Maroc ont indiqué l'absence de la mutation (Stammler *et al.*, 2012 ; Boukef *et al.*, 2012 ; Alloui *et al.*, 2014 ; Somai-Jemmali *et al.*, 2014). Cependant, des auteurs ont récemment signalé l'émergence de la résistance aux strobilurines à de faibles fréquences dans des populations maghrébines de *Z. tritici* (El Bekali *et al.*, 2011 ; Taher *et al.*, 2014; Alloui *et al.*, 2017).

Les informations obtenues auprès des agriculteurs lors de nos prospections indiquent que ces derniers utilisent principalement la famille des DMI pour contrôler les maladies foliaires du blé, Aussi, le recours aux strobilurines reste limité en raison de son coût élevé et est envisagé qu'en cas d'épidémie grave. Cependant, les grands céréaliculteurs rencontrés à Constantine, appliquent l'Amistar Pro (Azoxystrobine, Syngenta), non seulement pour son effet curatif, mais aussi pour son pouvoir à prolonger la période végétative et augmenter la photosynthèse et le rendement par « l'effet vert » comme le rapporte Ingaki *et al.* (2009), ce qui à long terme, pourrait augmenter le risque de propagation de la mutation au sein des populations de *Z. tritici* en Algérie. En effet, nous avons constaté que les isolats mutants sont présents dans des champs qui ont été traités avec le fongicide Amistar Pro, à raison d'une application par an. Cela semble avoir été suffisant pour l'émergence de la mutation G143A, suggérant que ce phénomène est appelé à s'amplifier, d'autant plus que les résultats exposés dans la section précédente, indiquent que la reproduction sexuée était régulière et fréquente chez les populations testées. Si l'on se réfère aux travaux de Ware (2006), la mutation G143A est transmise systématiquement à la descendance lors de croisements *in planta* d'isolats mutants et sauvages. Plus encore, le stress induit par l'application des strobilurines provoque chez les populations de *Z. tritici* une transmission préférentielle du gène de résistance, et semble être à l'origine de l'adaptation fulgurante du pathogène à ce type de pression de sélection (Kema *et al.*, 2018).

III.3 Mise en évidence de la présence au champ du téléomorphe *Z. tritici* en Algérie

III.3.1. Description morphologique des structures de la reproduction sexuée

Les observations réalisées sur les échantillons issus des parcelles 1, 2 (Station expérimentale de l'ITGC, Oued Smar) ont permis d'identifier pour la première fois dans le Nord de l'Algérie, des pseudothèces renfermant des ascospores contenues dans des asques, dont les caractéristiques morphologiques sont similaires à celles décrites par Sanderson (1972), pour l'espèce *Z. tritici*.

Les observations au stéréo-microscope ont montré que les pseudothèces sont brun foncé, globuleux et légèrement enfoncés dans les tissus, quelque soit le support considéré (paille ou tissus foliaire). Aussi, des différences ont été notées en fonction de la nature de l'échantillon (débris de cultures ou feuilles en végétation). Sur les pailles issues de la parcelle 1, les pseudothèces étaient généralement alignés en grand nombre, parallèlement à l'axe longitudinal de la tige (**Fig. 22 a**). Par contre, les tissus foliaires issus de la parcelle 2 ont exhibé un nombre de pseudothèces moins important, avec une distribution spatiale aléatoire, souvent concentrée autour de la région apicale du limbe foliaire (**Fig. 22 b**). La présence de nombreuses pycnides sur les tissus foliaires rend difficile la distinction entre les deux types de fructifications (sexuée et asexuée), dans ce cas ; la taille, la couleur, la forme de la fructification et l'observation au microscope optique permettent la différenciation entre les deux structures (**Fig. 22 b**).

A l'objectif x 40, les pseudothèces apparaissent enfoncés dans le tissu végétal de couleur allant du brun au marron foncé. Leurs formes sont sub-globuleuses ou sphériques, avec un ostiole discret et peu marqué (**Fig. 22 c**). Le diamètre moyen de 50 pseudothèces est de $94 \pm 12,8 \mu\text{m}$ (**Tab. 7**).

Un nombre moyen de 19 asques/pseudothèce a été comptabilisé, avec une variation de 17 à 38 asques. Lorsque les pseudothèces sont écrasés en appuyant sur la lamelle de la préparation, la rupture de la paroi au niveau de l'ostiole laisse échapper de nombreux asques, reliés entre eux par des amas pseudoparenchymateux. Les asques sont pyriformes, hyalins et bituniqués, avec une constriction à leur apex et un pédicelle court à leur base. Leur taille est comprise dans l'intervalle $32-46 \times 10-14 \mu\text{m}$. Les asques contenus dans un pseudothèce ne sont pas tous au même stade de maturité. Certains asques contenaient huit ascospores matures alors que d'autres semblaient contenir des amas cellulaires non différenciés (**Fig. 22 d**).

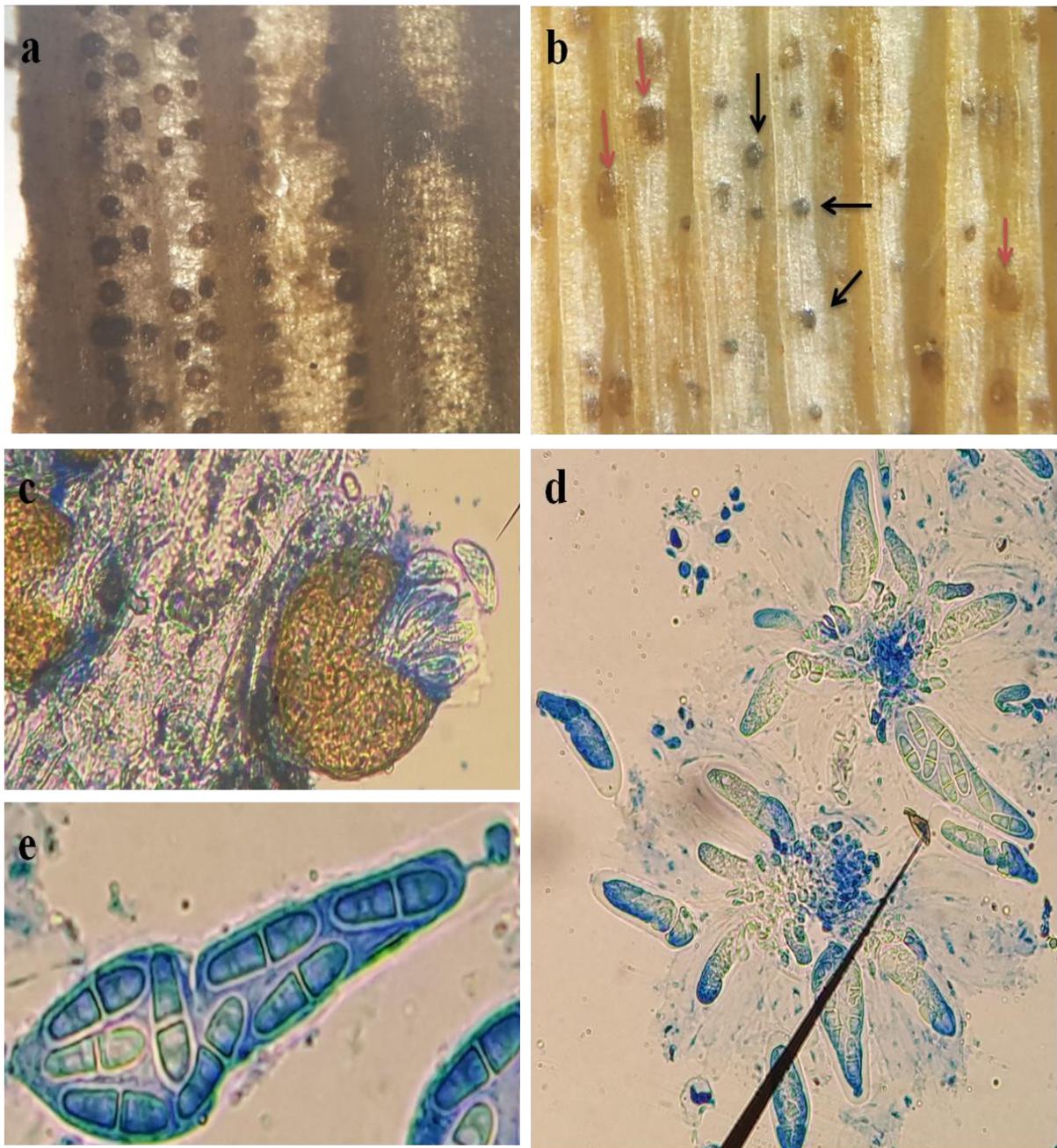


Figure 22. Aspects macroscopiques et microscopiques des structures de reproduction sexuée de *Z. tritici* : **(a)** Pseudothèces formés en lignes parallèles sur un fragment de paille, prélevé en Novembre 2015, observés au stéréo-microscope (500 μ m) ; **(b)** Pseudothèces (flèches noir) répartis sur un tissu foliaire en mélange avec des pycnides (flèche rouge), se distinguant par leur taille et leur couleur sombre, observés au stéréo-microscope (500 μ m) ; **(c)** Pseudothèces matures formés sur un fragment de paille, prélevé en Novembre 2015 (200 μ m) ; **(d)** Groupe d'asques matures (à droite), avec des ascospores différenciées, et immatures (à gauche), pyriformes et bituniqués, issus d'un pseudothèce écrasé entre lame et lamelle (50 μ m) ; **(e)** Asque mature contenant 8 ascospores bicellulaires (10 μ m).

Les ascospores observées sont bicellulaires, elliptiques à biconiques, avec une cellule plus large que l'autre (**Fig. 22 e**) et mesurent en moyenne 8-15 x 2,5-4 µm. Les mensurations des pseudothèces, des asques et des ascospores et leur comparaison à celles décrites dans la littérature sont rapportées dans le Tableau 7.

Tableau 7. Dimensions des pseudothèces, des asques et des ascospores (en µm) de *Z. tritici*, obtenues dans cette étude et comparées aux dimensions rapportées dans la littérature.

Source des données	Pseudothèces (n=50)	Asques (n=50)		Ascospores (n=100)	
		Longueur	Largeur	Longueur	Largeur
Cette étude					
Moyenne	94±12,8 Ø	36,6±10,2	9,2±2,6	12,6±3,1	3,1±0,5
Intervalles	70-120	32-46	10-14	8-15	2,5-4
La littérature					
Sanderson (1972)	78-88,5	34-41	11-13	10-15	2.5-3
Brown (1975)	91-111	30-40	11.5-14	9-16	2.5-3
Sanderson (1976)	68-114	30-40	11.5-14	9-16	2.5-4
Tomilin (1979)	45-50	30-36	9-10	10-12	3-4
Sivanesan (1984)	115	30-40	11-14	9-16	2.5-4
Scott <i>et al</i> (1988)	90-140	30-55	10-20	10-18	3-4.5
Verreet <i>et al</i> (1990)	90-140	30-45	10-15	10-17	3-4
Halama (1996)	92-112	32-36	10-14	14-18	4-5
Hoorne <i>et al</i> (2002)	110-130	~42	-	8-10	2-2,5
Eriksen et Munk (2003)	-	38.8	10.8	8-15	2.5-5
Pastirkack (2005)	88-138	35-61	7.-11	13-17	3-5
Harrat (2016)	68-117	33,5-48	10,5-13	9-14	2-3

III.3.2. Pathogénicité des isolats issus de la germination des ascospores et confirmation du postulat de Koch

La caractérisation morphologique du téléomorphe *Z. tritici* est complétée par un test de pathogénicité d'isolats issus de la germination d'ascospores, afin de confirmer l'appartenance des ascospores à l'espèce *Z. tritici*, par la validation du postulat de Kock, à savoir : l'isolement du pathogène, son inoculation sur un hôte sain sur lequel il induit les symptômes typiques de la maladie, puis son ré-isolement à partir de ce même hôte.

L'isolement du pathogène à partir du téléomorphe a été rendu possible grâce à une procédure impliquant l'induction de décharge des ascospores. Leur capture sur un milieu gélosé a permis de suivre au microscope optique (Objectif x 40), le développement des colonies de *Z. tritici*, depuis les phases initiales, de la germination des ascospores jusqu'à la formation de la crème rosâtre, typique de l'espèce.

Les observations microscopiques ont montré qu'après 12 à 18 heures d'incubation à l'obscurité, deux tubes germinatifs sont émis à partir des extrémités apicales de chaque ascospore, et se prolongent parallèlement à l'axe longitudinal de la spore (**Fig. 23 a**). L'émission de tubes germinatifs secondaires à partir du septum perpendiculaire à l'axe longitudinal de la spore est observée après 24 heures (**Fig. 23 b**). Après 5 jours, la formation de colonies est visible, avec l'émission d'hyphes en marge des colonies ainsi que la production de pycnidiospores caractéristiques de la forme asexuée du champignon (**Fig. 23 c**). Les ascospores issues du même asque ont formé des groupes en clusters, indiquant qu'elles ont été libérées à partir du même pseudothèce (**Fig. 23 d**).

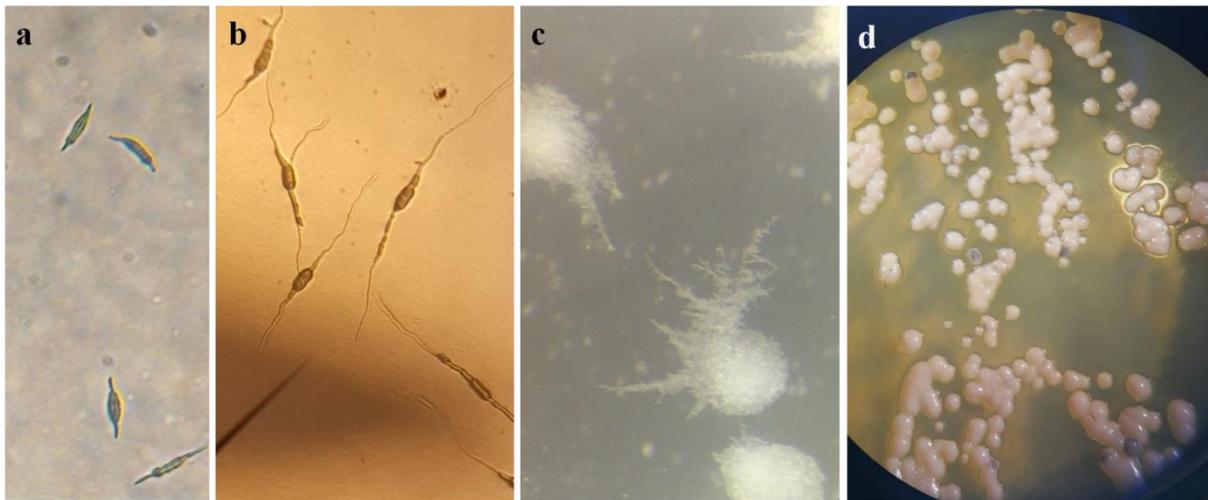


Figure 23. Résultats de l'induction de décharge des ascospores à partir d'un fragment portant des pseudothèces de *Z. tritici* : **(a)** Ascospores capturées sur un milieu PDA, 12 heures après leur libération (100 μm) ; **(b)** Emission de deux tubes germinatifs à partir des extrémités apicales des ascospores, après 24 heures (100 μm) ; **(c)** Aspect de colonies issues de la germination d'ascospores, avec formation d'hyphes et de pycnidiospores (200 μm) ; **(d)** Répartition sur le milieu de culture des colonies de *Z. tritici* issues de la germination des ascospores libérées, où les colonies formant des groupes distincts sont supposées appartenir au même pseudothèce (1 mm).

L'inoculation artificielle de plants sains de blé dur cv. Hoggar avec des isolats issus de la germination des ascospores a permis d'observer les symptômes typiques de la tache septorienne. La maladie s'est exprimée par l'apparition de jaunissements discrets sur les parties terminales des feuilles et parfois sur l'ensemble du limbe, entre le 5^{ème} et le 6^{ème} jpi (Fig. 24 a, b).

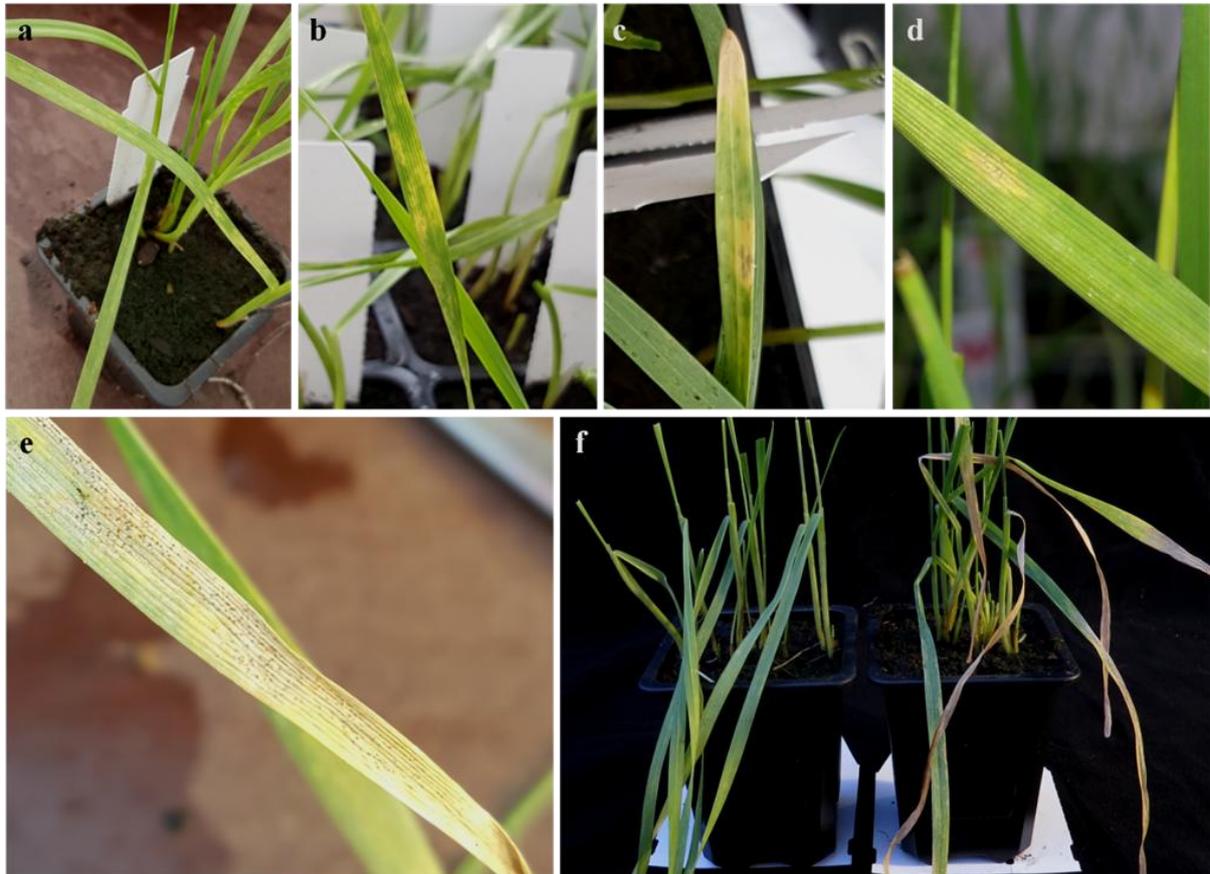


Figure 24. Expression des symptômes de *Z. tritici* sur des feuilles de blé dur cv. Hoggar, inoculées avec un isolat issu de la germination d'une ascospore : (a) Jaunissements discrets sur le limbe au 6^{ème} jpi ; (b) Chloroses étendues au 10^{ème} jpi ; (c) Tache nécrotique au centre d'une chlorose au 12^{ème} jpi ; (d) Premières pycnides au 13^{ème} jpi ; (e) Extension et coalescence des lésions nécrotiques avec pycnides abondantes sur les tissus nécrosés, au 21^{ème} jpi ; (f) Aspect général de plants de blé dur présentant les symptômes typiques de la tache septorienne (à droite) et de plants témoins inoculés avec de l'eau (à gauche).

III.3.3.1 Evolution de la production des pseudothèces et des ascospores sur les débris de cultures

Les fréquences d'occurrence des pseudothèces de *Z. tritici* sur les débris de cultures, exprimées par le rapport en pourcentage du nombre de prélèvements où des occurrences positives au nombre total de prélèvements effectués, ont varié au long de la période d'observation (**Fig. 25**).

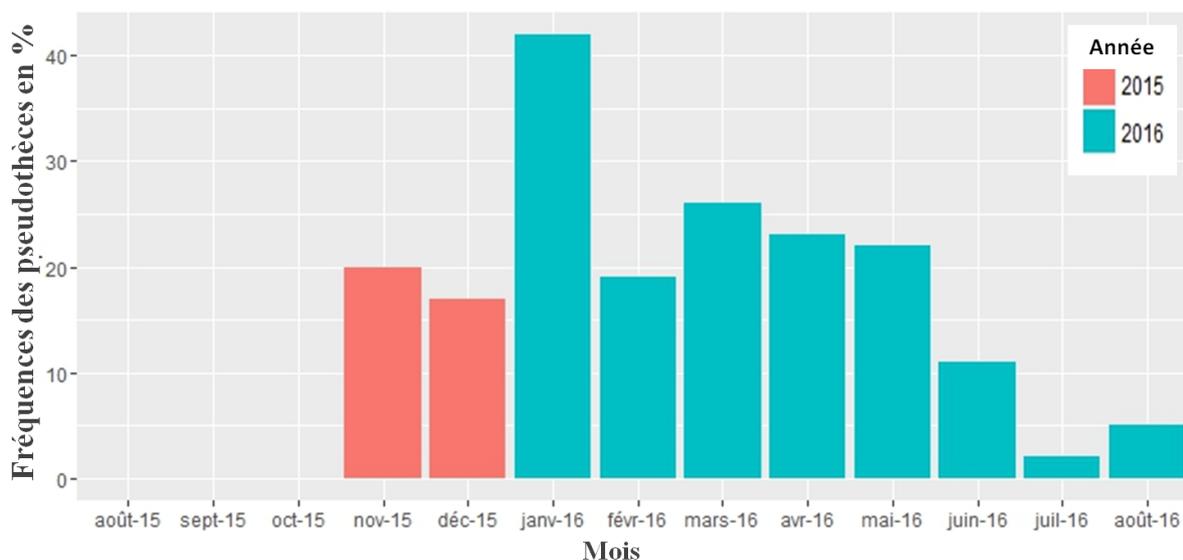


Figure 25. Fréquence d'occurrence mensuelle des pseudothèces *Z. tritici*, exprimée en pourcentage, sur les débris de cultures de la parcelle 1, d'août 2015 à août 2016.

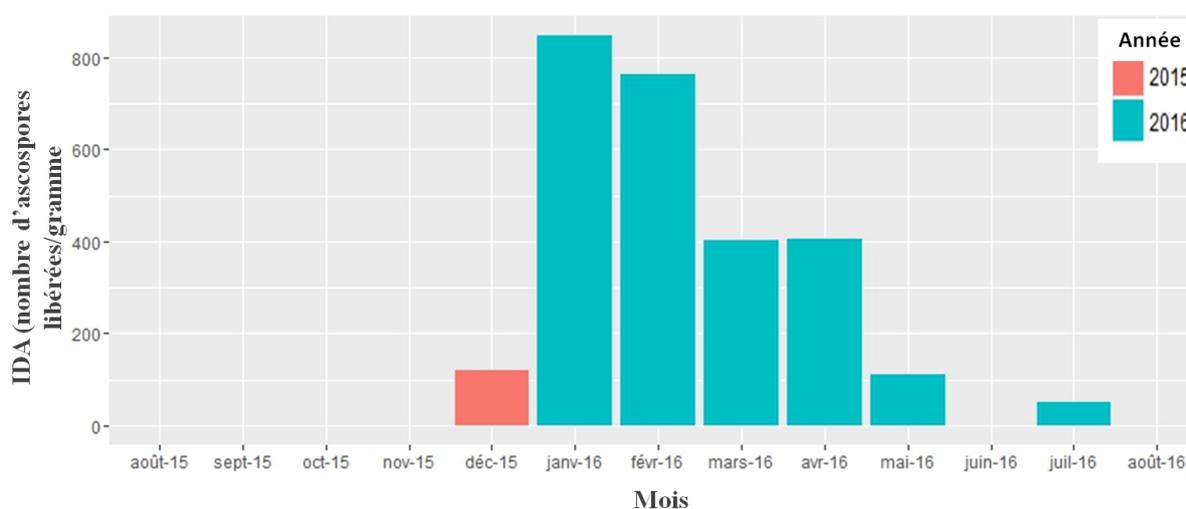


Figure 26. Intensité de décharge mensuelle des ascospores de *Z. tritici*, exprimée par l'IDA (nombre d'ascospores libérées par gramme de tissu infecté), sur les débris de cultures prélevés de la parcelle 1, ayant présenté des occurrences positives.

D'août à octobre 2015, aucune occurrence de pseudothèces n'a été notée. C'est à partir de novembre 2015 que des pseudothèces matures ont été identifiés. Par la suite, des occurrences positives ont été enregistrées avec des fréquences variables, allant de 17% pour décembre 2015 à 42% pour Janvier 2016. A partir de février 2016, le nombre d'occurrences a chuté progressivement, particulièrement durant les derniers mois d'observation, correspondant à juin, juillet et août 2016 (**Fig. 25**).

L'intensité de libération des ascospores (IDA) a suivi une tendance similaire que celle des fréquences d'occurrence des pseudothèce, avec une augmentation progressive du nombre d'ascospores capturées, de décembre 2015 à février 2016. Par la suite, L'IDA a chuté, pour atteindre des valeurs non significatives en juillet 2016 (**Fig. 26**).

III.3.3.2 Evolution de la production des pseudothèces et des ascospores pendant la végétation

L'occurrence des pseudothèces de *Z. tritici* a été suivie sur deux espèces de blé (blé dur et blé tendre), durant la période de végétation, sur la parcelle 2 à partir d'avril 2016, période à laquelle les plants étaient au stade épiaison où les feuilles prélevées à la base des plants présentaient de fortes attaques causées par *Z. tritici*.

Les fréquences des pseudothèces, exprimées en pourcentages d'occurrence ont varié en fonction de la date de prélèvement et de l'espèce hôte (**Fig. 27**). Sur les échantillons de blé dur, les premiers pseudothèces ont été identifiés à la fin du mois d'avril, avec une fréquence de 3%. Le nombre d'occurrence a ensuite présenté une tendance ascendante jusqu'à la mi-juillet, correspondant à la période de récolte, avec une fréquence de 28%. Sur les échantillons de blé tendre, les premiers pseudothèces ont été détectés à la mi-juin, où les fréquences enregistrées ont varié entre 5% à la mi-juin et 11% à la mi-juillet (**Fig. 27**).

La production d'ascospores pendant la végétation, exprimée par l'index de décharge des ascospores (IDA) a également varié, en fonction de la date de prélèvement et de la plante hôte considérée (**Fig. 28**). Sur les feuilles de blé dur, les premières ascospores ont été capturées à la fin avril (95 ascospores/g), avec une évolution peu marquée jusqu'à la fin juin. Par la suite, une augmentation notable a été observée en juillet, avec deux pics (461 et 469 ascospores/g). Suite à quoi, l'IDA a considérablement chuté (173 ascospores/g). Sur les feuilles de blé tendre, une libération d'ascospores a été observée sur les trois dernières dates de prélèvement, avec un IDA maximal durant la deuxième semaine de juillet (159 ascospores/g) (**Fig. 28**).

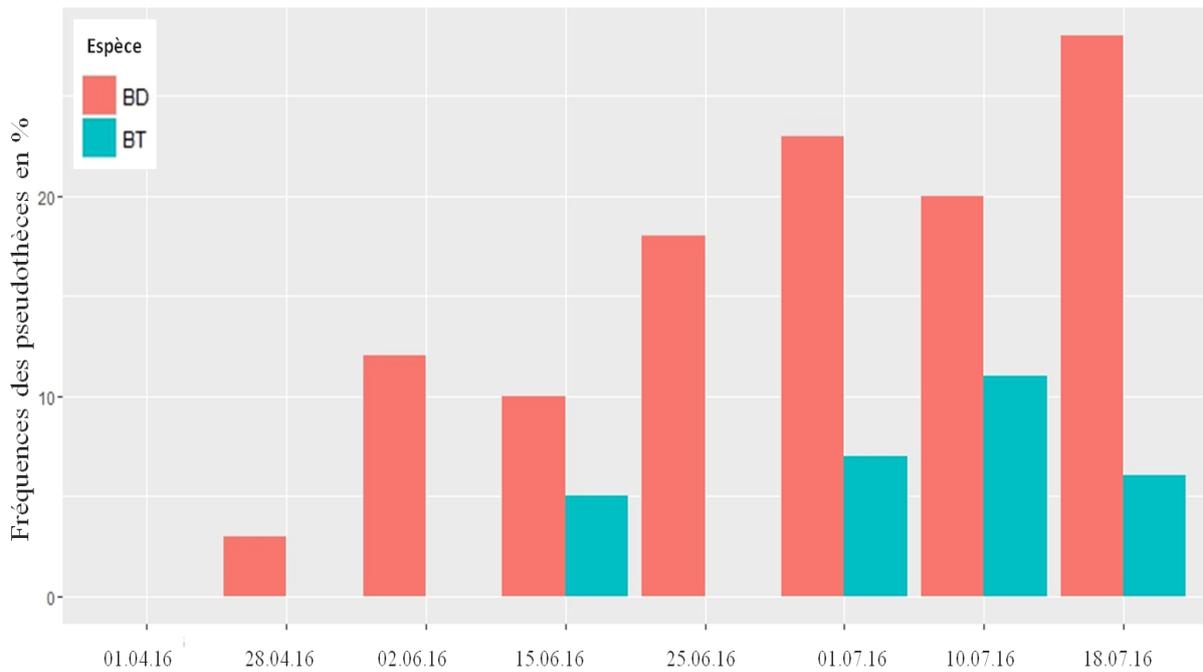


Figure 27. Fréquence d'occurrence des pseudothèces de *Z. tritici*, exprimée en pourcentage, sur les plants de blé dur (BD) et de blé tendre (BT), en végétation, à partir de la parcelle 2, d'avril à juillet 2016.

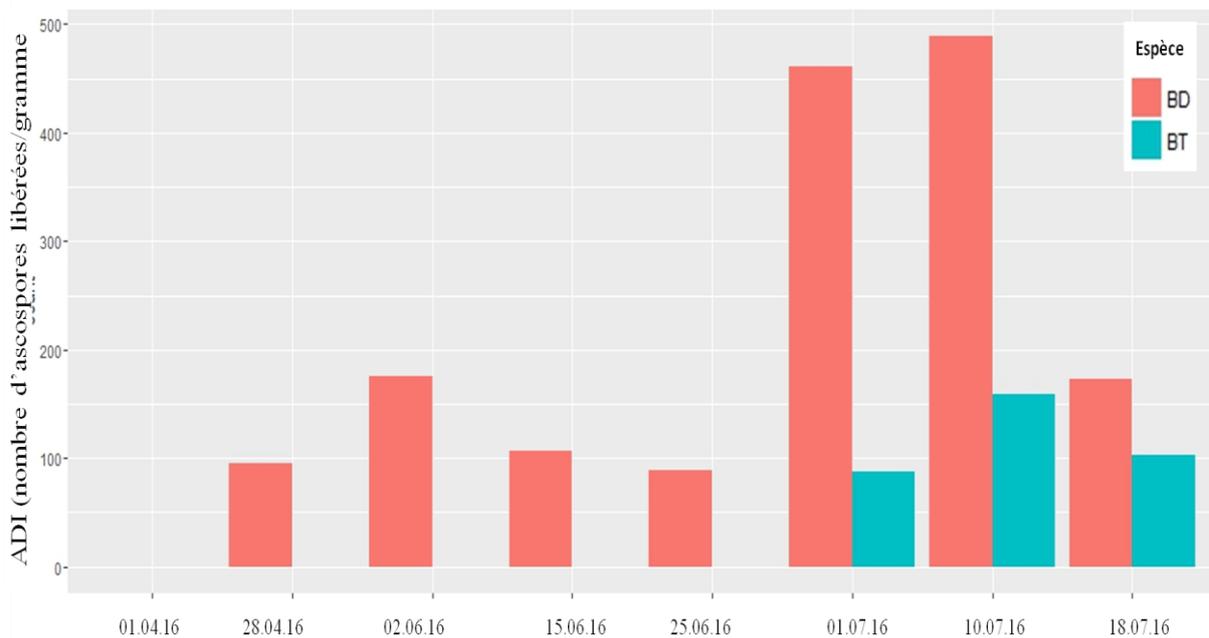


Figure 28. Intensité de décharge des ascospores des pseudothèces de *Z. tritici*, exprimée par l'ADI (nombre d'ascospores/gramme de tissu infecté), sur les plants de blé dur (BD) et de blé tendre (BT), en végétation, à partir de la parcelle 2, d'avril à juillet 2016.

III.3.4. Discussion

L'identification de pseudothèces de *Z. tritici* à la fois sur des débris de cultures et des plants de blé dur et de blé tendre en végétation, au niveau de la station expérimentale de l'ITGC (Oued Smar, Alger), a permis de mettre en évidence l'existence de la forme parfaite de ce pathogène pour la première fois en Algérie, mais aussi de consolider les résultats obtenus lors de notre analyse de la distribution des fréquences des mating types *Mat1-1* et *Mat1-2* à Alger, ainsi que ceux de Alloui *et al* (2014) obtenus pour d'autres régions du pays. Nos résultats s'accordent également avec ceux obtenus par Ayad *et al* (2014) qui ont émis l'hypothèse de l'existence du téléomorphe *Z. tritici* en Algérie, lors de l'obtention de pseudothèces *in vitro*, à partir de croisements d'isolats compatibles.

Par ailleurs, Harrat (2016) avait décrit le téléomorphe *Z. tritici* sur des résidus de cultures prélevés à Constantine, en novembre 2015. Dans cette étude, les premiers pseudothèces identifiés comme ceux de *Z. tritici* ont été observés sur des débris de pailles en novembre 2015 à Alger. La concomitance de nos observations avec ceux de Harrat (2016) implique que le téléomorphe est présent dans des régions géographiquement éloignées, où les conditions climatiques, les pratiques culturales et les variétés cultivées sont très contrastées. A l'échelle Maghrébine, c'est la première signalisation du téléomorphe *Z. tritici*, par l'isolement et la caractérisation de pseudothèces et d'ascospores. Toutefois, Ben Hassine *et al* (2014) ont rapporté l'existence du téléomorphe en Tunisie, seulement par la capture d'ascospores aériennes de *Z. tritici*, et leur identification par PCR. Cependant aucune étude ne fait état de la présence de pseudothèces matures dans les conditions naturelles, ni en Tunisie, ni dans d'autres pays d'Afrique du Nord.

Les fructifications sexuées (pseudothèces, asques et ascospores) prélevées lors de notre étude ont présenté des caractères morphologiques similaires à ceux décrits par Sanderson (1972), lors de la première signalisation du téléomorphe en Nouvelle Zélande. Au-delà des similarités descriptives, les dimensions obtenues se rapprochent de celles rapportées dans la littérature. Le nombre d'asques que peut contenir un pseudothèce est très variable, d'autant que la maturation des asques est échelonnée et que le nombre moyen de 19 asques par pseudothèce obtenus lors de nos comptages, concorde avec l'intervalle rapporté par Eriksen et Munk (2003).

La caractérisation morphologique est une étape cruciale lors de l'identification des champignons, mais dans notre cas, nous ne pouvions nous contenter de ce seul critère. En effet, les pseudothèces présents dans la nature peuvent appartenir à de nombreuses espèces fongiques, phylogénétiquement proches ou éloignées de *Z. tritici*, car souvent les similitudes morphologiques entre les espèces observées sont susceptibles de prêter à confusion. A cet effet, nous avons estimé nécessaire de procéder à la validation du postulat de Kock par l'isolement du pathogène (ascospores), son inoculation sur un hôte sain et en fin son ré-isolement à partir de ce même hôte.

Par ailleurs, Ayad (2012) et Harrat (2016) ont étudié le téléomorphe *Z. tritici* et ont obtenu des colonies typiques du champignon en mettant directement en culture des pseudothèces écrasés. Dans notre cas, nous sommes parvenus à isoler le pathogène à partir du téléomorphe en utilisant la technique décrite par Kema *et al.* (1996 c) modifiée, pour capturer des ascospores à partir d'échantillons supposés porter des pseudothèces de *Z. tritici*. L'adoption de cette technique nous a permis non seulement d'isoler des ascospores, mais aussi d'observer au microscope optique, les phases initiales de la germination des ascospores, avec la formation de deux tubes germinatifs par ascospore, en forme de cornes, très caractéristiques chez cette espèce, comme décrit dans la littérature (Ware *et al.*, 2007 ; Suffert et Sache, 2011 ; Morais, 2015). Nous avons également noté que les colonies nouvellement formées étaient organisées en groupes distincts à la surface du milieu de culture. Nous avons donc supposé que les ascospores contenues dans un même asque, ont probablement été projetées verticalement sous l'effet de la variation de la pression hygrométrique, et par conséquent, se retrouvaient à proximité les unes des autres sur le milieu de capture. Par ailleurs, les mêmes profils de captures ont été décrits par Suffert et Sache (2011).

Par la suite, l'inoculation artificielle de plantules de blé dur avec des suspensions de spores issues de cultures d'ascospores nous a permis d'observer l'expression de symptômes typiques de la maladie. Aussi, la production de pycnides sur les lésions induites par l'inoculation artificielle nous a permis de ré-isoler le pathogène, de le mettre en culture et d'observer la formation de colonies identiques à celles formées par des pycnidiospores.

Ainsi, les critères morphologiques associés au test du pouvoir pathogène des ascospores, nous ont procuré les preuves formelles pour affirmer que les pseudothèces identifiés sur nos échantillons appartenaient bien à l'espèce *Z. tritici*. Il est par ailleurs nécessaire de souligner que tout au long de nos observations, de nombreux pseudothèces ayant montré les caractères

morphologiques comparables à *Z. tritici* se sont avérés appartenir à d'autres espèces, après la capture des ascospores et l'observation des colonies.

Les ascospores issues de la phase sexuée sont transportées par le vent sur de longues distances, et constituent une grande fraction de l'inoculum primaire, à l'origine de l'initiation des infections primaires à l'automne (Suffert *et al.*, 2011). Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à une phase du cycle biologique de *Z. tritici* ; elle comprend la reproduction sexuée, la production de pseudothèces et la libération d'ascospores, et ce, à la fois sur les débris de cultures à la saison (n+1) et pendant la végétation à la saison (n).

Nos investigations ont débuté en août 2015, où aucune occurrence positive de pseudothèces n'a été notée durant les trois premiers mois. Il nous paraît invraisemblable que les pseudothèces ne se soient formés qu'en novembre 2015. Nous attribuons cette absence d'occurrence au fait de la difficulté de reconnaître les pseudothèces et à la procédure utilisée, qui a dû être ajustée et améliorée au fur et à mesure des investigations. Car, si l'on se réfère à la littérature (Halama, 1996 ; Eriksen et Munk, 2003 ; Halama et Sayde, 2001 ; Pastirkac, 2005 ; Mirzwa-Mroz *et al.*, 2005 ; Morais *et al.*, 2015), les premiers cycles de reproduction sexuée sont initiés dès le début de la multiplication asexuée, et bien que tardive, la production de pseudothèces s'opère généralement deux à trois mois après l'apparition des premières pycnides, sous réserve que les conditions environnementales soient favorables.

Du point de vue quantitatif, les fréquences d'occurrence notées sur la parcelle 1 ont varié au cours de la période d'observation, avec une augmentation remarquable (plus de 50%) du nombre d'occurrences entre novembre 2015 et janvier 2016, suivie d'une diminution progressive jusqu'à la fin août 2016. Nous expliquons cette tendance par le fait que la production de pseudothèces s'effectue durant la végétation, durant la saison (n), elle est suivie par une phase de maturité des asques sur les débris, durant la saison (n+1), coïncidant avec la saison automnale, période à laquelle, les ascospores sont libérées et transportées par le vent, pour assurer l'initiation d'infections primaires des parcelles voisines, tel que rapporté dans des travaux précédents (Hunter *et al.*, 1999 ; Suffert *et al.*, 2016 ; Eriksen et Munk, 2003). Par conséquent, nous pouvons avancer que la dynamique de la reproduction sexuée de *Z. tritici* en Algérie est comparable aux tendances saisonnières rapportées en Europe (Suffert *et al.*, 2016 ; Suffert et Sache, 2011 ; Eriksen et Munk, 2003 ; Shaw et Royle, 1989), en dépit des différences des conditions agro-climatiques. Parallèlement à la fréquence d'occurrence des pseudothèces, l'index de décharge des ascospores (IDA) mensuel a suivi la même tendance,

avec deux pics en janvier et en février (848, 764), avec une baisse d'environ 50% de mars à avril (402, 450), et des valeurs minimales en mai et en juillet (110, 50). Ceci laisse suggérer que les stocks d'ascospores s'épuisent au fil du temps, probablement en raison de la décomposition des pseudothèces après la libération des ascospores, sous l'effet des conditions climatiques et l'activité biologique des agents saprophytiques (Suffert *et al.*, 2018). Les résultats obtenus sur la parcelle 1 (débris de cultures) laissent supposer que la reproduction sexuée pendant une saison puisse assurer la survie et la conservation du pathogène sur les débris de cultures, uniquement jusqu'à la saison suivante. Néanmoins, cette hypothèse devrait être vérifiée par une étude comprenant une saison de végétation, suivie de deux saisons successives de mise en jachère.

La présence d'ascospores durant la saison de végétation a déjà été rapportée au Pays Bas (Kema *et al.*, 1996 c), en France (Halama *et al.*, 1996), au Royaume-Uni (Hunter *et al.*, 1999), au Danemark (Eriksen et Munk, 2003) et en Belgique (Duvivier *et al.*, 2013). Les premiers auteurs avaient suggéré que plusieurs cycles sexués pouvaient se succéder, de la levée à la récolte. Par conséquent, nous avons testé cette hypothèse en estimant les fréquences d'occurrence des pseudothèces de *Z. tritici* et les IDA qui leur étaient associés, sur la parcelle 2, en considérant des génotypes de blé dur et de blé tendre, d'avril à juillet 2016. De manière inattendue et inédite, nos résultats ont montré, que des pseudothèces matures de *Z. tritici* étaient présents sur les feuilles en végétation, indépendamment de l'espèce hôte considérée (blé dur, blé tendre). Cependant les fréquences d'occurrences et les IDA enregistrés étaient nettement plus élevés chez les génotypes de blé dur, avec des moyennes respectives de 14% et 198 ascospores/g, contre seulement 3% et 43 ascospores/g en moyenne chez les génotypes de blé tendre. Aussi, les premiers pseudothèces matures ont été identifiés à la fin avril chez le blé dur et à la mi-juin chez le blé tendre, soit, environ un mois et demi de décalage entre les deux espèces. Nous attribuons ces différences au fait qu'il pourrait exister une spécialisation physiologique plus étroite entre la population du pathogène vis-à-vis du blé dur, tel que rapporté par de nombreux auteurs (Eyal *et al.*, 1973 ; Saadaoui, 1987 ; Sayoud, 1995 ; Boughalleb et Harrabi, 1997 ; Kema *et al.*, 1996 a ; Hattab-Touati, 2009). Cependant cet argument ne peut suffire à expliquer ce déséquilibre entre les deux espèces. En effet, la parcelle 2 avait été semée avec plus de 100 génotypes, avec des niveaux de résistance très contrastés. Nous ne pouvons donc pas occulter le fait que la reproduction sexuée ait pu être affectée, et que les résultats obtenus aient pu être biaisés par l'effet de l'hétérogénéité des génotypes cultivés, tel que suggéré par Suffert *et al* (2018).

Les données obtenus à partir des parcelles 1, 2 ne peuvent être comparées, en raison des différences entre les échelles spatio-temporelles lors des investigations. Toutefois, la compilation des résultats nous permet d'avoir une vue d'ensemble du cycle biologique de *Z. tritici*, en considérant les deux phases de reproduction sexuée et de multiplication asexuée. En effet, la proximité des deux parcelles rend concevable que la parcelle 1 ait pu procurer une masse d'inoculum primaire, transportée par le vent, à la fin de l'année 2015 et au début de l'année 2016, pour initier les infections primaires sur la parcelle 2. Par la suite, le développement de la maladie sur les plants de blé au début du printemps 2016 aurait été assuré par la multiplication asexuée, qui, à la faveur des pluies printanières, aurait produit l'inoculum secondaire, constitué principalement de pycnidiospores transportées par les gouttes de pluie. Une fois la maladie installée, les premiers cycles de reproduction sexuée auraient été initiés pour produire des pseudothèces, à partir du mois d'avril, sur les plants de blé dur. Ainsi, il apparaît que le pathogène adopte une stratégie de survie surprenante, où des cycles successifs de reproduction sexuée et de multiplication asexuée se chevauchent pour garantir à la fois une expansion massive de la maladie pendant la végétation et une conservation du champignon après la récolte, tel que suggéré dans des travaux antérieurs (Linde *et al.*, 2002 ; Clinckemaillie *et al.*, 2010 ; Duvivier *et al.*, 2013).

Nous avons également noté que les pseudothèces étaient présents uniquement sur des feuilles fortement attaquées, avec un pourcentage de couverture pycnidienne dépassant 50%, ce qui était le cas de la majorité des feuilles de blé dur. Nous pouvons attribuer cette observation aux conditions nécessaires à la formation des pseudothèces. En effet, la reproduction sexuée est régie par un système bipolaire et hétérothallique, nécessitant la rencontre de deux partenaires de mating types opposés (Kema *et al.*, 1996 c). Dans la mesure où chaque lésion est induite par un seul génotype (McDonald *et al.*, 1999), les lésions doivent fusionner pour permettre aux deux partenaires compatibles de se reproduire (Eriksen et Munk, 2003).

Bien que des zones d'ombre subsistent concernant les facteurs qui régissent la reproduction sexuée chez *Z. tritici*, il semble que cette dernière soit corrélée à la densité des infections et que la formation de pseudothèces soit plus fréquente lorsque les attaques sont sévères (Cowger *et al.*, 2002 ; Eriksen et Munk, 2003 ; Morais, 2015 ; Suffert *et al.*, 2018). Nos résultats suggèrent aussi que l'espèce hôte considérée pourrait vraisemblablement avoir un effet sur l'intensité de la reproduction sexuée chez ce pathogène.

III.4. Etude *in planta* de la reproduction sexuée de *Z. tritici* et l'obtention du téléomorphe en conditions semi-contrôlées

Cette partie du travail vise à étudier la reproduction sexuée de *Z. tritici*, en considérant les facteurs susceptibles d'influencer l'intensité de cette dernière, tels que le pouvoir pathogène de l'isolat ou la réponse de l'hôte vis-à-vis de l'infection. Dans l'essai 1, nous avons testé l'hypothèse que le pouvoir pathogène des isolats varie selon la variété, mais aussi selon le mode d'inoculation des isolats (isolats seuls ou en combinaison). La période de latence (PL) et le pourcentage de la surface foliaire couvert par les pycnides (PSFCP) ont été considérés comme les paramètres étudiés. Dans l'essai 2, nous avons, pour la première fois induit *in planta* la formation du téléomorphe *Z. tritici*, en conditions semi-contrôlées. Nous avons également testé l'effet de deux facteurs (sévérité de la maladie, sensibilité/résistance de la variété), sur l'intensité de la reproduction sexuée.

III.4.1. Variabilité pathologique des isolats inoculés seuls et en combinaison sur les variétés Simeto et Hoggar

Dans l'essai 1, cinq isolats parents (I1, I2, I3, I4 et I5) et six combinaisons biparentales (I1/I2, I1/I3, I1/I4, I5/I2, I5/I3 et I5/I4) ont été inoculés sur les deux variétés Simeto et Hoggar. Toutes les interactions ont permis d'observer des symptômes typiques de la tache septorienne, à l'exception des interactions I4-Simeto et I5/I4-Simeto, ces dernières n'ont produit aucun symptôme et ont présenté un aspect similaire à celui des plants témoins.

Les premiers symptômes ont été observés en premier chez la variété Hoggar, au 6^{ème} jpi, avec des chloroses plus ou moins étendues, formées sur les extrémités des feuilles. Les chloroses se sont étendues, en prenant un aspect nécrosé et les premières pycnides ont été observées au 11^{ème} jpi, chez la variété Hoggar. L'extension des lésions et l'intensité de couverture par les pycnides ont considérablement varié, selon l'isolat et la variété considérés. Par ailleurs, les feuilles des plants témoins ont maintenu une couleur verte et uniforme, au-delà de la période de notation (21^{ème} jpi).

III.4.1.1. La période de latence

La période de latence (PL) a varié pour les deux facteurs considérés (isolat, variété). Les valeurs obtenues indiquent qu'elle est plus courte chez la variété Hoggar, avec une moyenne de 15 jours, comparativement à la variété Simeto, dont la moyenne enregistrée était de 18 jours (**Annexe 9, Fig. 29**).

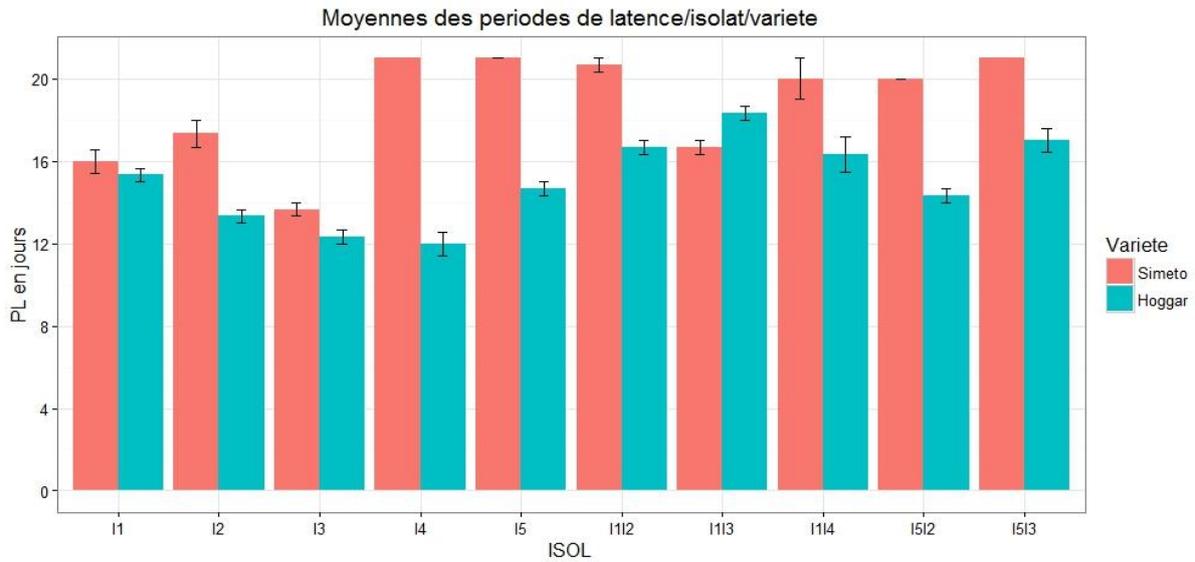


Figure 29. Moyenne des périodes de latence (PL) enregistrées au niveau des variétés Simeto et Hoggar, inoculées avec les isolats seuls et en combinaison. Seules les interactions compatibles sont représentées.

Les isolats I1 et I3 sont ceux qui ont présenté les PL moyennes les plus courtes avec la variété Simeto (entre 14 et 16 jours), alors que le reste des isolats ont produit des pycnides au-delà de 18 jours. Sur la variété Hoggar, ce sont les isolats I3 et I4 qui ont été les premiers à produire des pycnides, avec des PL moyennes de 12 jours (**Annexe 9**).

Par ailleurs, les isolats inoculés en combinaison sont ceux qui ont affiché les PL les plus longues, indépendamment de la variété considérée. L'isolat I4 et la combinaison I5/I4 n'ont pas induit de formation de pycnides, ces derniers ont été écartés de l'analyse subséquente.

L'analyse de variance à deux facteurs (Isolat, Variété) réalisée dans le modèle 1, a indiqué des effets significatifs sur la période de latence, avec $[F(9, 33)=26.5, p = 1.218e-12]$ pour le facteur isolat et un effet plus prononcé $[F(1, 33)=200.6 ; p = 1.399e-15]$ pour le facteur variété. Une interaction significative a également été exprimée entre les effets combinés des deux facteurs considérés $[F(1, 33)=16.2 ; p = 9.605e-10]$ (**Tab. 9**).

Tableau 9. Analyse de variance de la période de latence (PL) en fonction des isolats parents, inoculés seuls ou en combinaisons biparentales, au niveau des deux variétés Simeto et Hoggar.

<i>Sources de variation</i>	<i>dl</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Valeurs F</i>	<i>Pr(>F)</i>
Isolat	9	159.403	26.567	1.218e-12 ***
Variété	1	133.738	200.607	1.399e-15 ***
Isolat*Variété	9	97.312	16.219	9.605e-10 ***
Résidus	33	22.000		

dl : Degrés de liberté, Pr : Probabilité, ***Hautement significatif

III.4.1.2. Le pourcentage de surface foliaire couverte par les pycnides (PSFCP)

Dans l'essai 1, Le PSFCP a été évalué pour chaque interaction compatible, au 21^{ème} jpi. Les types de réaction de l'hôte ont été classés selon une échelle allant de 0 à 5, établie par Rosielle (1972), modifiée par McCartney *et al* (2002) (**Annexe 9**). Le PSFCP moyen, exprimant la sévérité de la maladie a varié en fonction de l'isolat (inoculé seul ou en combinaison), et de la variété (**Annexe 9, Fig. 30**).

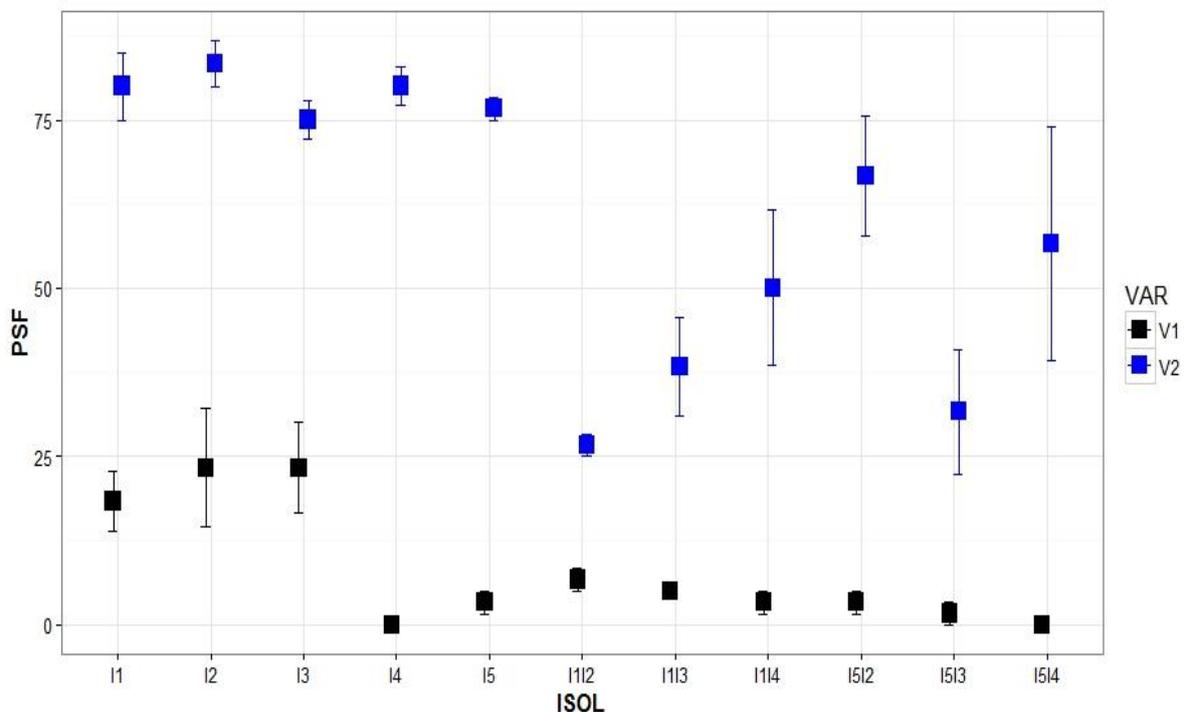


Figure 30. Moyenne des PSFCP obtenues au niveau des variétés Simeto et Hoggar, inoculées avec 5 isolats et 6 combinaisons biparentales. Les barres d'erreurs représentent les écarts types des moyennes (modèle 2).

Les isolats I2 et I3 se sont montrés les plus agressifs sur la variété Simeto, alors qu'I4 et I4/I5 n'ont produit aucun symptôme. Par ailleurs, les isolats I1, I4 ont été les plus agressifs sur Hoggar. Cette dernière a été classée comme sensible en raison du PSFCP moyen obtenu pour l'ensemble des interactions (60,26%), alors que Simeto a été classée comme résistante (9,81%).

L'analyse de variance à deux facteurs (ANOVA) appliquée aux données non paramétriques, par les contrastes d'Helmert, dans le modèle 2 ont indiqué un effet significatif des deux facteurs, isolat et variété, ainsi que leur interaction sur le PSFCP (**Annexe 10, Fig. 30**). Par conséquent, la détermination de l'effet des différents niveaux du facteur isolat sur le PSFCP a été réalisée par deux analyses de variance à un facteur, pour chaque variété dans le modèle 3.

Au niveau de la variété Simeto, la formation des lésions nécrotiques était limitée et la production de pycnide peu abondante, comme l'indiquent les PSFCP moyens enregistrés, où trois types de réactions ont été observés. Bien qu'ayant montré peu d'amplitude, l'agressivité des isolats inoculés seuls ou en combinaison, exprimée par le PSFCP, a varié pour la variété Simeto, où l'isolat I4 s'est montré avirulent. Les isolats I1, I2 et I3 ont été les plus agressifs, avec des PSFCP moyens de 23% pour I2 et I3 et de 18% pour I1. L'isolat I5 s'est montré peu agressif, en affichant un PSFCP moyen de 3% (**Annexe 9**).

Deux réactions de type 0 (Immunité) ont été enregistrées chez l'isolat I4 et la combinaison I5/I4, avec l'absence de lésions nécrosées et de pycnides, comparable aux feuilles témoins, inoculées avec de l'eau (**Annexe 9, Fig. 31 a**). La réaction de type 1 (Très résistant) a été enregistrée chez l'isolat I5, ainsi que chez l'ensemble des combinaisons biparentales (I1/I2, I1/I3, I1/I4, I5/I2 et I5/I3), où le PSFCP moyen a varié entre 1 et 6%. Les symptômes étaient caractérisés par la formation de lésions limitées à la partie supérieure de la feuille, avec une formation discrète de pycnides (**Fig. 31 b**). Les isolats I1, I2 et I3 ont donné des réactions de type 2 (Résistant) et des PSFCP allant de 18 à 23%, avec des lésions nécrotiques plus marquées, parfois éparpillées sur la longueur du limbe, où la formation de pycnides était visible uniquement sur les lésions nécrosées (**Fig. 31 c**).

L'analyse de la variance à un facteur, appliquée aux données non paramétriques (Test de Kruskal-Wallis), réalisée dans le modèle 3 a indiqué un effet hautement significatif du facteur isolat sur le PSFCP ($p = 0,002$) (**Annexe 11**).

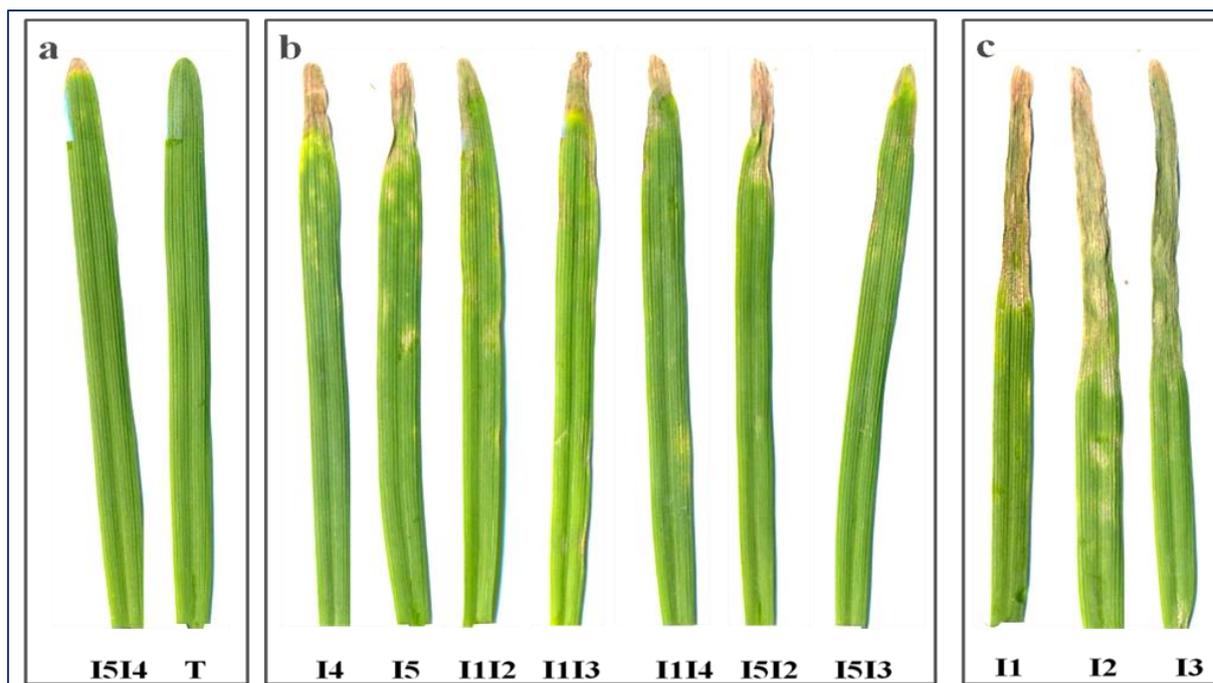


Figure 31. Types de réactions obtenus au niveau de la variété Simeto, au 21^{ème} jpi, selon l'échelle de Rosielle (1972), modifiée par McCartney *et al* (2002) : (a) Réaction de type 0 (Immunité), avec T représentant le témoin ; (b) Réactions de type 1 (Très résistant), (c) Réactions de type 2 (Résistant).

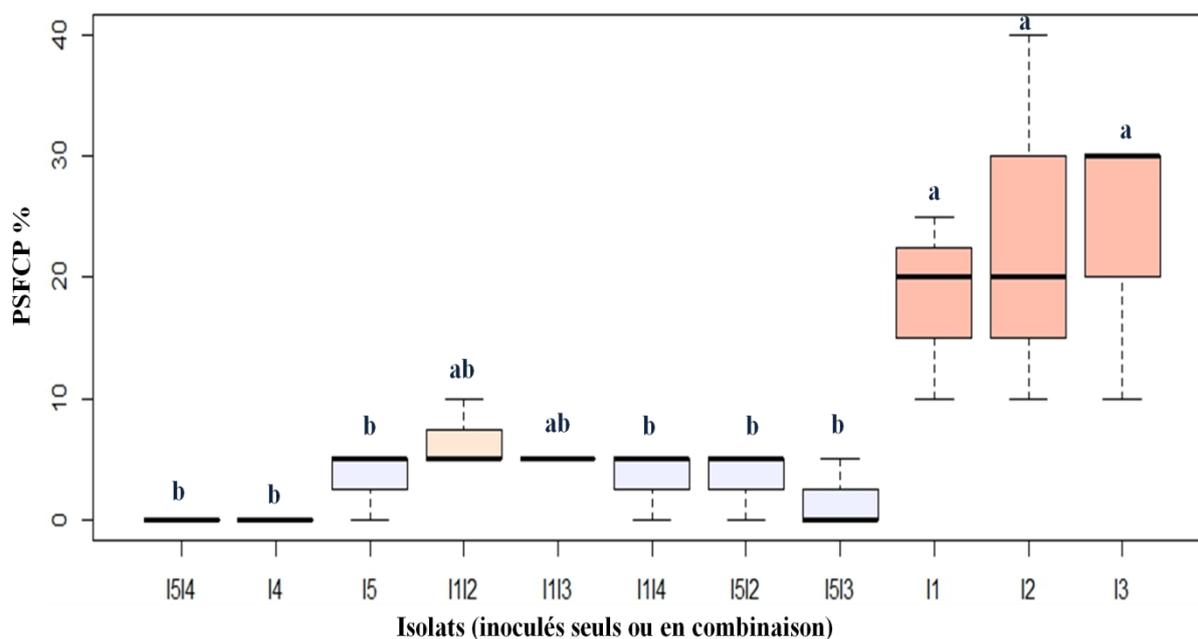


Figure 32. Variation de la sévérité de la maladie, exprimée par le PSFCP (%), au niveau de la variété Simeto, au 21^{ème} jpi, représentée par l'effet des isolats (inoculés seuls et en combinaison). Les groupes présentant des lettres différentes sont significativement différents, selon le Test de Dunn au seuil de confiance de 5% ($P < 0,05$).

Les résultats de l'analyse de variance pour le facteur isolat ont été complétés par l'application du test de Dunn au seuil de confiance de 5%, pour la comparaison des moyennes par paires. Ce dernier a permis de déterminer quels niveaux de la variable indépendante diffèrent les uns des autres. A l'issue du test, trois groupes ont été observés (**Annexe 11, Fig. 32**). Le groupe (a) représente les isolats les plus agressifs, le groupe (b) représente les isolats les moins agressifs, alors que le dernier groupe (ab) a été considéré comme intermédiaire et comprend les deux combinaisons I1/I2 et I1/I3, ce dernier ne diffère pas de manière significative des groupes (a) et (b). Par ailleurs, toutes les combinaisons biparentales ont affiché des PSFCP moyens inférieurs à ceux des isolats parents, indépendamment du niveau d'agressivité exprimé par les isolats considérés (**Fig. 32, 33**).

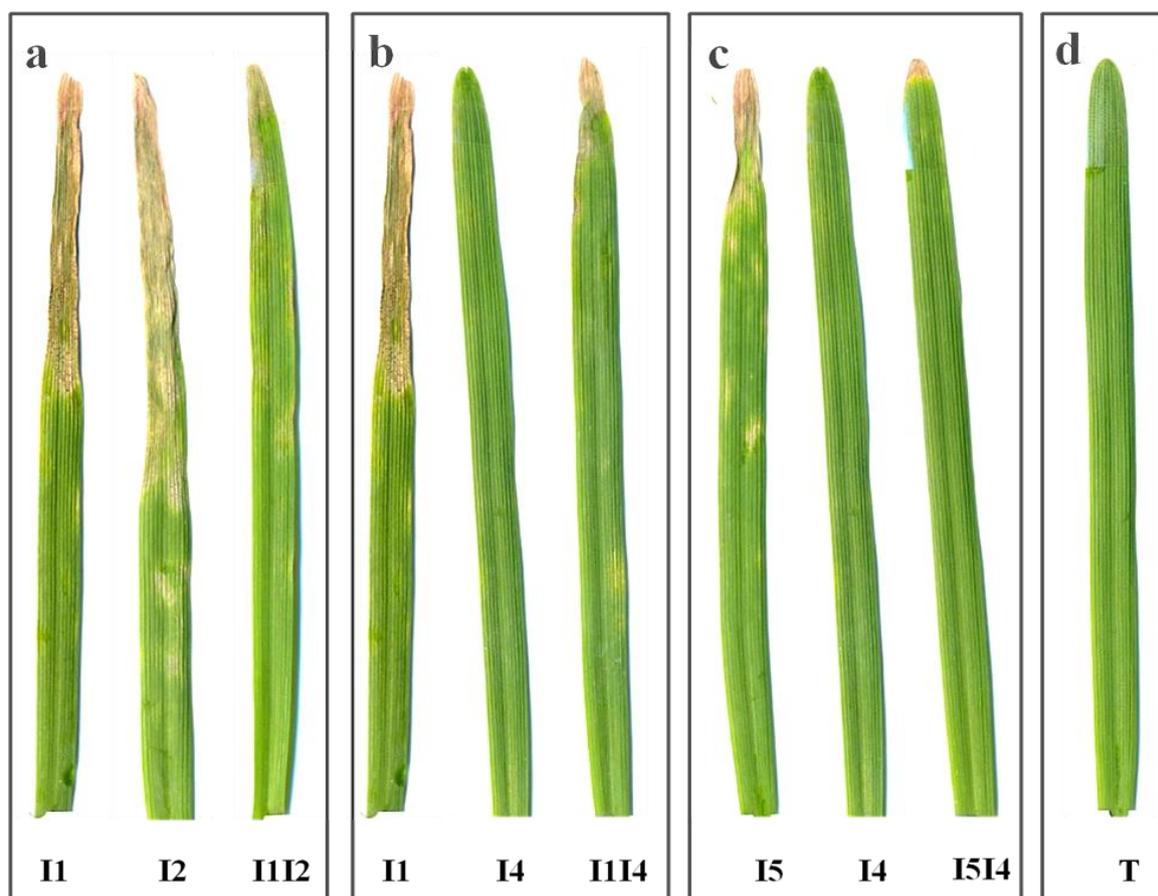


Figure 33. Sévérité de la maladie, au 21^{ème} jpi, exprimée par le PSFCP au niveau de la variété Simeto, selon le mode d'inoculation des isolats (seuls ou en combinaison) : **(a)** La combinaison de deux isolats agressifs induit peu de symptômes ; **(b)** La combinaison d'un isolat virulent et d'un isolat avirulent induit très peu de symptômes ; **(c)** La combinaison d'un isolat peu agressif et d'un isolat avirulent n'induit pas de symptômes ; **(d)** Témoin.

Au niveau de la variété Hoggar, l'ensemble des isolats et des combinaisons ont induit des symptômes plus ou moins étendus, avec une production abondante de pycnides. Le PSFCP moyen a varié de 76 à 83% pour les isolats inoculés seuls et de 26 à 66% pour les isolats inoculés en combinaison. Trois types de réactions ont été enregistrés (**Annexe 9**).

Les combinaisons I1/I2, I1/I3, I1/I4 et I5/I3 ont produit la formation de lésions nécrotiques coalescentes. Leur extension était limitée et la couverture pycnidienne peu marquée. Les PCSFP moyens ont varié entre 26 et 50%. Quatre réactions de type 3 (Intermédiaire) ont été enregistrées pour ces combinaisons (**Fig. 34 b**).

L'isolat I3 et les combinaisons I5/I2 et I5/I4 ont induit des lésions extensives et une forte production de pycnides, avec un PSFCP allant de 51 à 75%, caractéristique des réactions de type 4 (Sensible) (**Fig. 34 c**).

Les isolats I1, I2, I3 et I4 ont induit des lésions coalescentes, marquées par une couverture pycnidienne très dense, avec des PSFCP moyens supérieures à 75%, classés parmi les réactions de type 5 (Très sensible) (**Fig. 34 d**).

Le PSFCP a varié selon l'isolat ou la combinaison considérée. Ceci a été confirmé par le Test de Kruskal-Wallis ($p = 0,01$), indiquant un effet significatif du facteur isolat sur le PSFCP (**Annexe 12, Fig. 35**).

Par ailleurs, l'application du test de Dunn au seuil de confiance de 5% et la comparaison des moyennes par paires a permis de déterminer quels niveaux de la variable indépendante diffèrent les uns des autres. Le test fait ressortir cinq groupes (**Annexe 12, Fig. 35**). Les isolats ayant présenté les PSFCP les plus élevés ont été classés dans le groupe (a). Ces derniers diffèrent de manière significative des isolats du groupe (b), ayant les PSFCP les plus faibles. Les groupes (bc, abc et ac) ont été considérés comme des groupes intermédiaires.

Les résultats ne montrent pas de différences significatives entre les groupes présentant le même mode d'inoculation, particulièrement chez les isolats inoculés seuls. Cependant une différence significative a été notée entre les isolats inoculés seuls et les isolats inoculés en combinaison. A titre d'exemple, les combinaisons impliquant l'isolat parent I1 ont produit moins de symptômes que celles impliquant l'isolat parent I5 (**Fig. 36**).

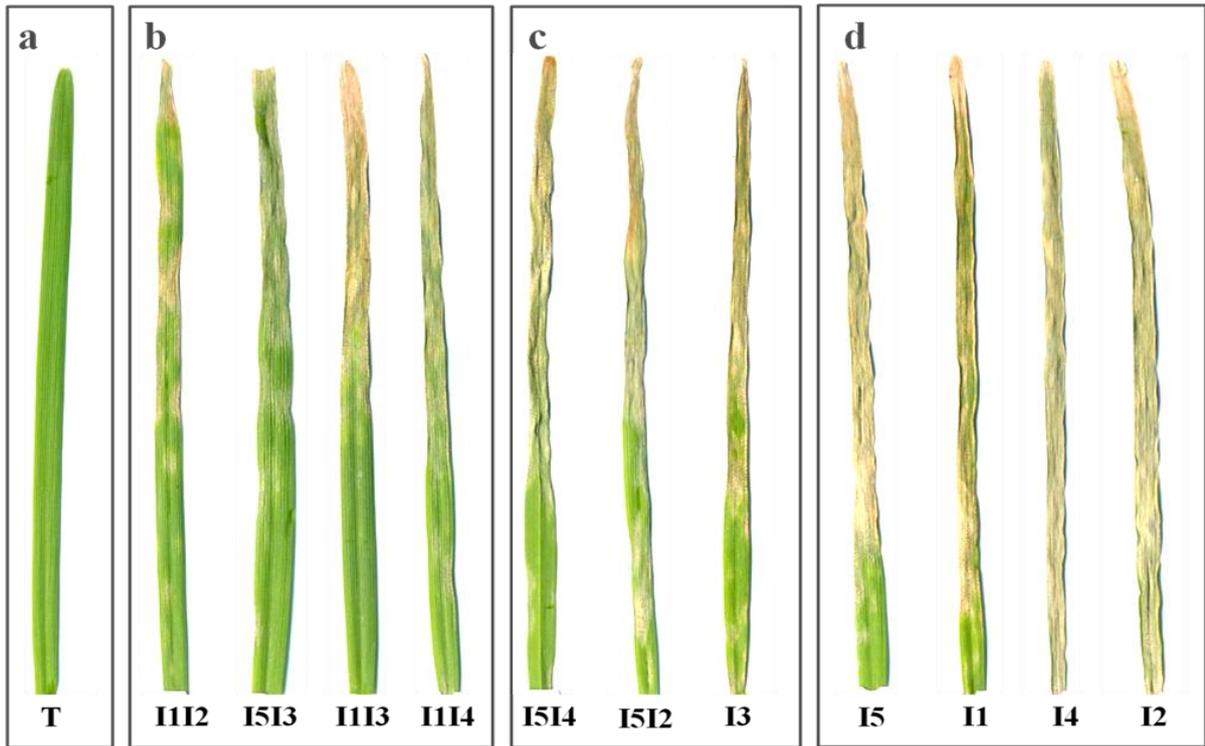


Figure 34. Types de réactions obtenus au niveau de la variété Hoggar, au 21^{ème} jpi, selon l'échelle de Rosielle (1972), modifiée par McCartney *et al* (2002) : (a) Aspect du témoin, inoculé avec de l'eau ; (b) Réactions de type 3 (Intermédiaire), (c) Réactions de type 4 (Sensible) ; (d) Réaction de type 5 (Très sensible).

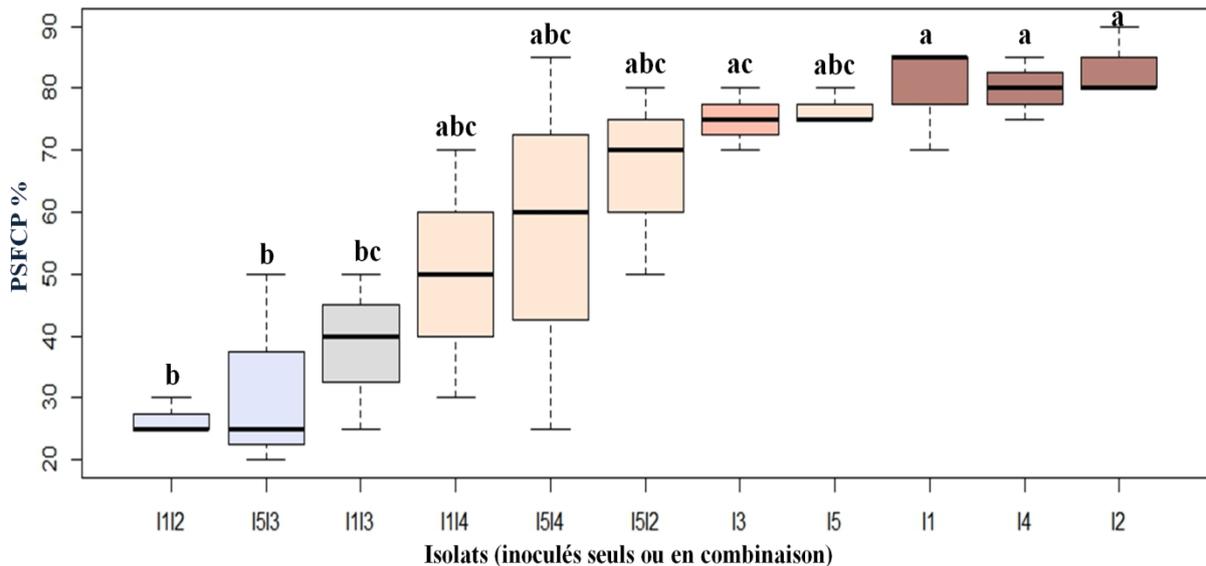


Figure 35. Variation de la sévérité de la maladie exprimée par le PSFCP (%), au niveau de la variété Hoggar, au 21^{ème} jpi, représentée par l'effet des isolats (inoculés seuls et en combinaison). Les groupes présentant des lettres différentes sont significativement différents, selon le test de Dunn ($P < 0,05$).

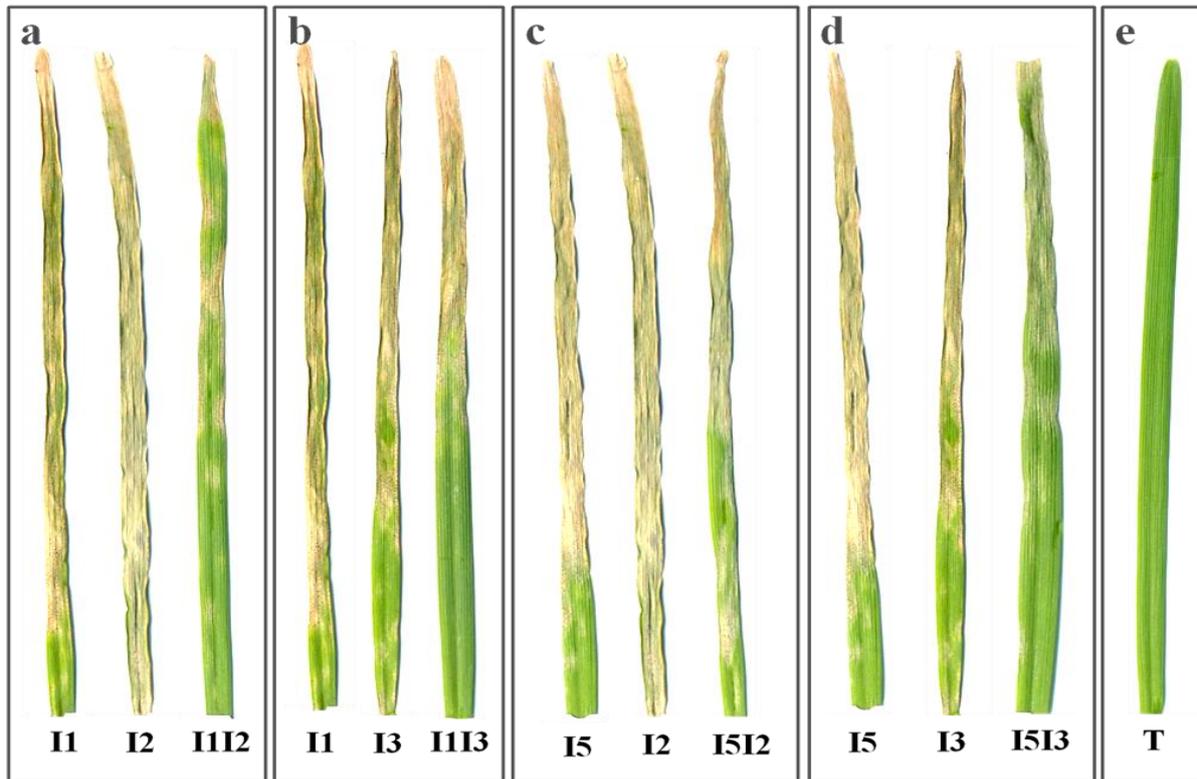


Figure 36. Sévérité de la maladie exprimée par le PSFCP, au niveau de la variété Hoggar, selon le mode d'inoculation des isolats (seuls ou en combinaison), au 21^{ème} jpi : (a, b) Symptômes induits par les combinaisons impliquant le parent I1 ; (c, d) Symptômes induits par les combinaisons impliquant le parent I5 ; (e) Témoin.

III.4.2. Obtention *in planta* du téléomorphe *Z. tritici* en condition semi-contrôlées

Les croisements entre des isolats de *Z. tritici*, de mating types opposés, réalisés dans l'essai 2 nous ont permis d'induire la reproduction sexuée *in planta*, en conditions semi-contrôlées, sur les deux variétés Simeto et Hoggar, avec six combinaisons biparentales, et d'obtenir des pseudothèces matures.

Après que les plants aient été inoculés, des observations régulières au stéréomicroscope nous ont permis d'identifier des structures similaires à des pseudothèces. Des prélèvements suivis d'observations au microscope optique ont permis de confirmer l'appartenance des pseudothèces à l'espèce *Z. tritici*, à travers leurs caractéristiques morphologiques. Bien que peu nombreux par rapport aux pycnides recouvrant les surfaces foliaires infectées, les pseudothèces se différencient par leur forme, leur taille et leur couleur, mais aussi par leur répartition sur les tissus infectés. Généralement sphériques, plus petits, avec une coloration

plus foncée, les pseudothèces sont souvent détectés sur les extrémités et les bordures supérieures des feuilles.

Les premiers pseudothèces prélevés semblaient immatures, à travers l'aspect des asques qu'ils contenaient. Ce n'est qu'au terme de la période d'observation (15 semaines post-inoculation), que des asques avec des ascospores différenciées ont été observés. Aussi, la capture et la culture des ascospores issues des tissus portant des pseudothèces confirment que ces derniers étaient le résultat d'une reproduction sexuée du pathogène *in planta*.

En fonction de la combinaison biparentale, de la variété et de la période d'observation, nous avons pu observer des plages de pseudothèces sur des lésions situées le long du limbe. De manière générale, les caractères macroscopiques et microscopiques des pseudothèces observés sur les tissus infectés par inoculation artificielle ne diffèrent pas de ceux observés dans les conditions naturelles (**Section III.2**).

III.4.2.1. Fertilité des combinaisons biparentales sur les variétés Simeto et Hoggar

Au terme de 15 semaines d'observation, quatre combinaisons biparentales se sont révélées fertiles sur la variété Hoggar, contre une seule combinaison biparentale fertile sur la variété Simeto (**Tab. 10**). La combinaison I5/I2 a produit des structures semblables à des pseudothèces, au bout de 98 jpi, ces derniers semblaient immatures, aussi aucune ascospore n'a été identifiée, ni capturée, même au-delà de la période d'observation. Par conséquent, la combinaison a été considérée comme non fertile et écartée de l'analyse subséquente.

Tableau 10. Intensité de la reproduction sexuée (IDA moyens), nombre de jours post inoculation (NJPI) nécessaires à la formation des pseudothèces et PSFCP moyens chez les combinaisons biparentales.

Combinaison biparentale	<i>Simeto</i>			<i>Hoggar</i>		
	NJPI	PSFCP	IDA	NJPI	PSFCP	IDA
I1/I2	-		-	87	25	4,66
I1/I3	-		-	-	45	0
I1/I4	102	28,33	9	95	46,66	18
I5/I2	98*		-	109	76,66	138
I5/I3	-		-	-	38,33	0
I5/I4	-		-	85	78,33	130

*Pseudothèces immatures avec ascospores non différenciées

Le temps nécessaire à la formation des premiers pseudothèces depuis le jour d'inoculation a varié entre 85 et 109 jpi sur la variété Hoggar. Aussi, l'IDA moyen a varié entre 4,66 (I1/I2) et 130 ascospores/g (I5/I4). La seule combinaison fertile (I1/I4) sur la variété Simeto a produit des pseudothèces au bout du 102^{ème} jpi, avec un IDA moyen très faible (**Tab. 10**).

III.4.2.2. Effets de l'isolat et de la variété sur la reproduction sexuée

Dans le modèle 4, les IDA moyens pour chaque combinaison biparentale ont varié de manière significative ($p = 0,01$), uniquement entre les combinaisons impliquant l'isolat parent I1 (I1/I2, I1/I4) et l'isolat parent I5 (I5/I2, I5/I4). Les IDA les plus importants ont été enregistrés lorsque les isolats I2 et I4 étaient combinés à l'isolat I5. L'IDA le plus faible a été enregistré pour la combinaison I1/I2 (**Annexe 13, Fig. 37**).

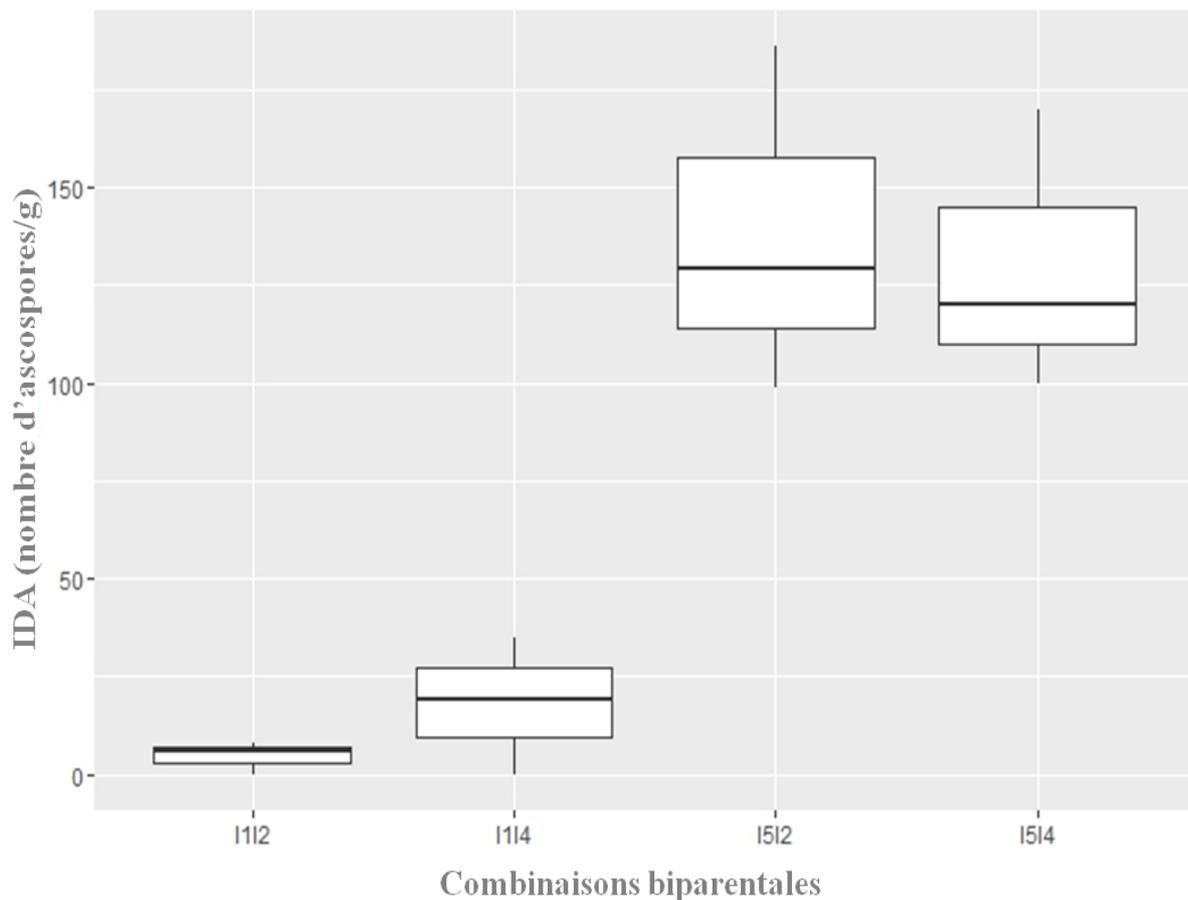


Figure 37. Variations de l'intensité de la reproduction sexuée, exprimée par la moyenne des IDA obtenus chez les plants inoculés selon quatre combinaisons biparentales (I1/I2, I1/I4, I5/I2, I5/I4), les barres d'erreur représentent les écarts types.

Dans le model 5, une analyse de covariance (ANCOVA) a été réalisée, pour déterminer si des différences statistiquement significatives existaient entre les isolats parents, sur l'intensité de la reproduction sexuée, exprimée par l'IDA, en contrôlant l'effet de la covariable sévérité de la maladie, exprimée par le PSFCP.

Les résultats montrent une corrélation positive entre le PSFCP et l'IDA, avec un effet significatif du PSFCP sur l'IDA ($r = 0,03$; $p = 0.0007$), dont l'accroissement est indépendant de l'isolat parent (**Annexe 14, Tab. 11, Fig. 38**). Par ailleurs, les IDA les plus faibles ont été enregistrés chez les combinaisons ayant induit des PSFCP inférieurs à 60%. Aussi, un effet significatif de l'isolat parent sur l'IDA a été enregistré [$F(3, 16) = 22,45$; $p = 5.60e-06$].

Tableau 11. Analyse de la covariance, avec l'effet de l'isolat parent (IP) sur l'intensité de la reproduction sexuée (IDA), en contrôlant l'effet de la sévérité de la maladie (SFCP), chez la variété Hoggar.

Source de variation	dl	Somme des carrés	F	P
IP	3	5.455	22.456	5.60e-06***
PSFCP	1	8.186	101.093	2.55e-08***
IP :PSFCP	3	0.1987	0.8179	0.5027
Residus	16	1.296		

*** Hautement significatif

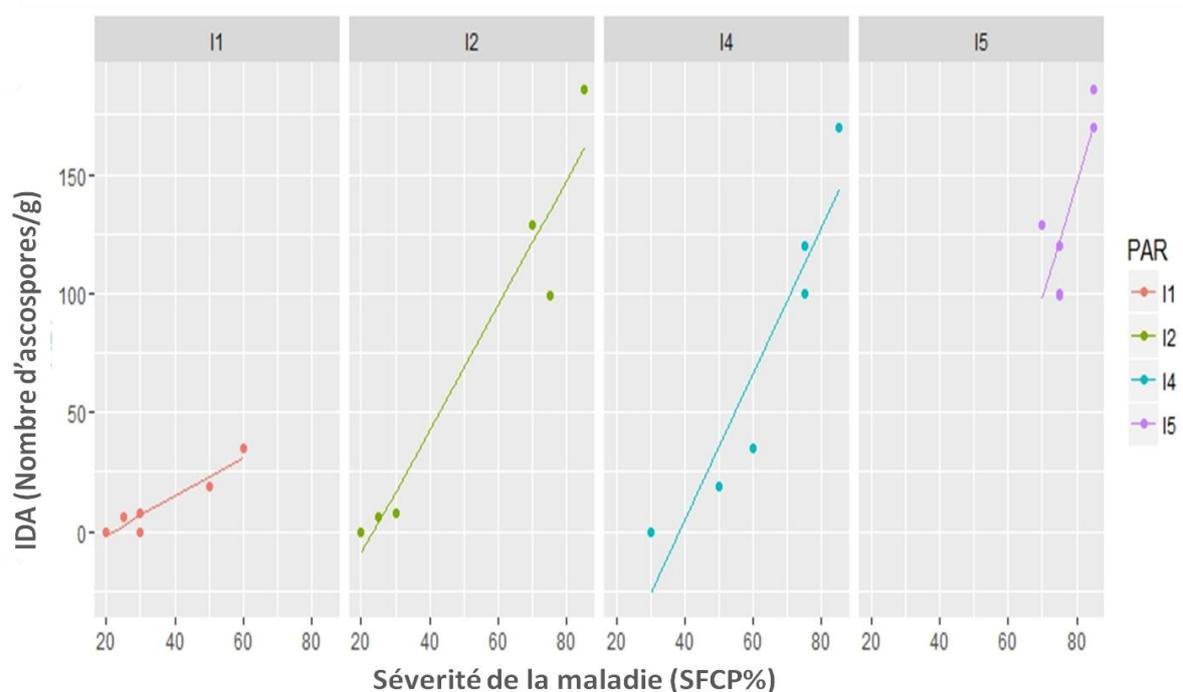


Figure 38. Régressions linéaires représentant l'intensité de la reproduction sexuée (IDA) en fonction de la sévérité de la maladie, exprimée par le PSFCP, avec l'effet de chaque isolat parent (PAR) sur la pente et l'intercept de l'ANCOVA (Modèle 5).

La comparaison par paires entre les isolats parents avec le test de Tukey à $\alpha = 0,05$ (**Annexe 15**) a montré que l'IDA était inférieur chez les combinaisons impliquant l'isolat I1 en comparaison aux combinaisons impliquant l'isolat I5 ($p = 0,02$) (**Fig. 39 a**). Par conséquent, sur les quatre isolats, seuls deux isolats étaient significativement différent d'au moins un autre isolat (**Fig. 39 b**).

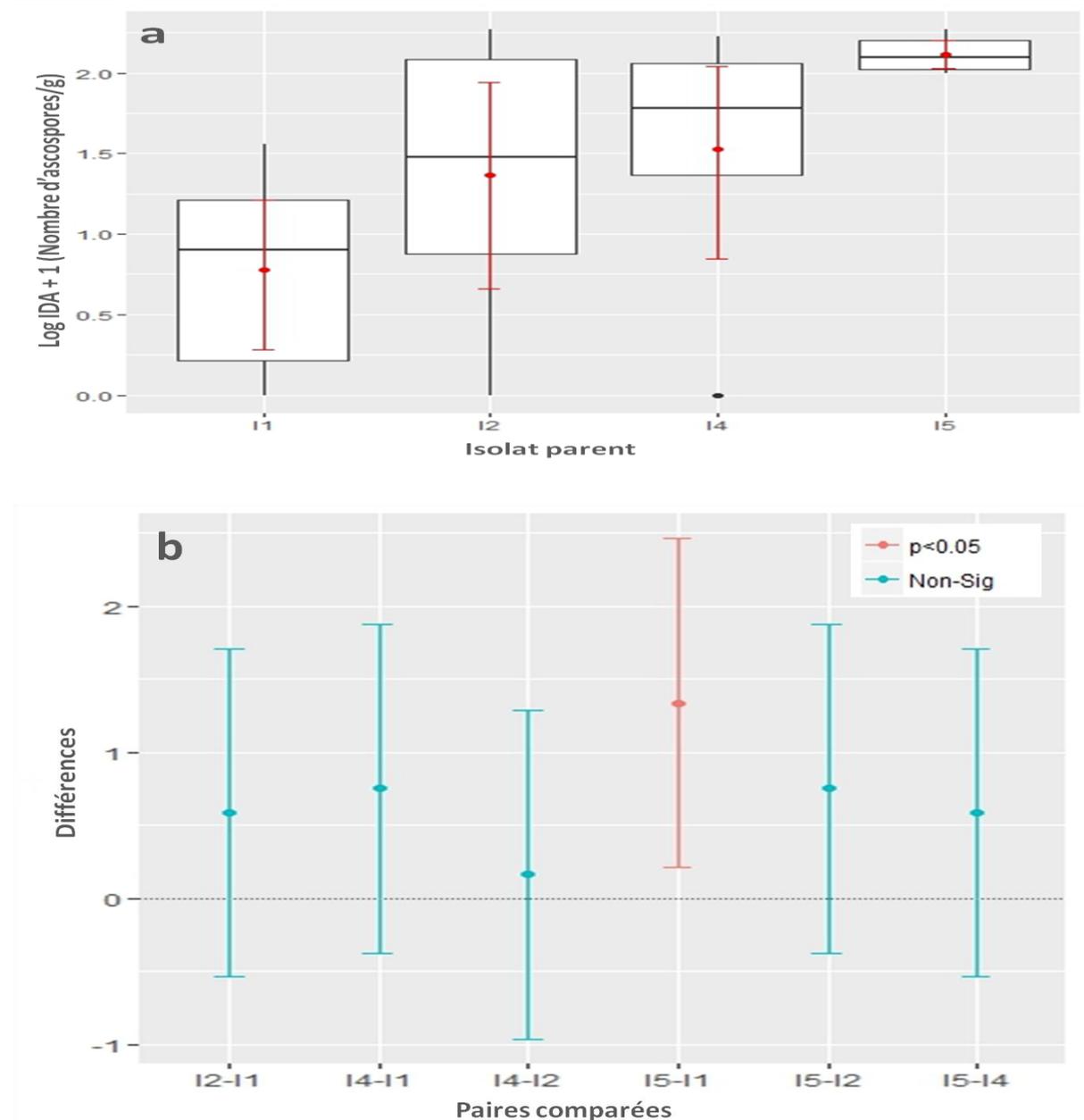


Figure 39. Quantification de l'apport de l'isolat parent (PAR) dans l'intensité de la reproduction sexué, représentée par log (IDA+1): **(a)** Moyennes des IDA de chaque isolat parent, les barres d'erreurs représentent les écarts types ; **(b)** Comparaisons par paires du Test de Tukey au seuil de confiance de 5%, la barre rouge représente les interactions significatives ($\alpha = 0,05$)

III.4.3. Discussion

Cette partie du travail a permis de répondre à la question de l'implication de traits caractérisant la plante hôte (résistance/sensibilité) et le pathogène (agressivité), dans la capacité de reproduction sexuée de *Z. tritici*. Le dispositif expérimental mis en place dans l'essai 1 nous a permis d'évaluer l'agressivité et la période de latence de quelques isolats de *Z. tritici*, au niveau des deux variétés de blé dur, Simeto et Hoggar et de comparer l'effet de leur inoculation seuls ou en combinaison, sur la sévérité de la maladie chez une variété connue pour être résistante (Simeto) et une variété connue pour être sensible (Hoggar). L'essai 2 a été mené afin de valider la procédure d'obtention *in planta* du téléomorphe *Z. tritici* en conditions semi-controlées, mais aussi de tester la fertilité des couples utilisés et d'étudier les liens potentiels entre leur agressivité et leur capacité à se reproduire sur un hôte sensible ou résistant.

III.4.3.1. Variabilité pathologique des isolats inoculés seuls ou combinés sur les variétés Simeto et Hoggar

La notation du premier jour d'apparition de pycnides dans l'essai 1 a montré que les cinq isolats, seuls ou combinés exhibaient des périodes de latence variables, selon la variété inoculée. La période de latence est définie comme le temps écoulé entre l'infection et la production d'unités infectieuses (Madden *et al.*, 2007). Elle détermine l'intervalle entre deux générations successives du pathogène. Elle est considérée comme un paramètre majeur en épidémiologie (Van der Plank, 1963 ; Zadoks, 1972), particulièrement chez les maladies polycycliques (Lannou, 2012), telle que la tache septorienne du blé. La période de latence chez *Z. tritici* est longue et varie de 11 à 35 jours, en conditions de plein champ et de 11 à 14 jours, en conditions contrôlées (Shaw, 1990 ; Kema, 1996). Nos résultats ont montré que la période de latence sur Simeto était plus longue (18 jours) que sur Hoggar (15 jours), avec un effet significatif. Cette différence semble exprimer la capacité de la variété Simeto à contenir l'extension de la maladie, en ralentissant la progression du pathogène. Cela pourrait présenter une importance non négligeable dans l'accumulation saisonnière de l'inoculum sur la plante, comme le rapportent Lovell *et al* (2004). Aussi, une meilleure compréhension de l'effet de la résistance de l'hôte sur la période de latence pourrait apporter des informations utiles pour le contrôle de la maladie au champ.

Les résultats de l'analyse statistique montrent que le facteur isolat a présenté un effet significatif sur la période de latence, chez les deux variétés. La période de latence est considérée comme une variable indissociable de l'agressivité d'un pathogène, vue qu'elle exprime sa capacité à envahir son hôte et à se reproduire (Suffert *et al.*, 2013). Cependant, nos résultats indiquent que pour l'ensemble des interactions, la période de latence tend à s'allonger, lorsque les isolats sont inoculés en combinaison. Nous avons attribué cette différence au fait que deux isolats, co-inoculés sur une même feuille, pourraient vraisemblablement entrer en compétition, à la fois pour l'acquisition des ressources nutritives et pour la multiplication asexuée, comme suggéré par d'autres auteurs (Eyal, 1992 ; Suffert, 2018).

Dans l'essai 1, le pourcentage de la surface foliaire couverte par les pycnides (PSFCP) est le second paramètre que nous avons considéré pour étudier l'agressivité des isolats (inoculés seuls ou en combinaison), vis-à-vis des variétés Simeto et Hoggar. Nos résultats ont montré une variation marquée, en termes d'expression des symptômes et de sévérité de la maladie au niveau des deux variétés. Ceci a été confirmé avec des différences significatives issues de l'analyse statistique (modèle 2). Les réactions obtenues, ont permis de mettre en évidence l'existence d'interactions à la fois quantitatives et qualitatives, entre les isolats utilisés (seuls ou combinés), au niveau des deux variétés Simeto et Hoggar. Ceci n'est pas surprenant, vue que les travaux sur les mécanismes qui régissent l'interaction chez le pathosystème Blé-*Z. tritici* évoquent la dominance des interactions quantitatives, sans pour autant négliger l'existence d'interactions qualitatives (Mundt *et al.*, 1995 ; Kema *et al.*, 1996 a ; Kema *et al.*, 2000 ; Ware, 2006).

Suite aux inoculations, la variété Simeto a montré quatre types de réactions: 0 (immune), 1 (très résistant) et 2 (résistant), correspondant à un comportement de résistance. Bien que les isolats I1, I2 et I3 aient été les plus agressifs, une extension lente des lésions et un PSFCP ne dépassant pas les 25% ont été interprétés comme des réactions de résistance, comme suggéré par McCarteney *et al* (2002). En effet, la quantité élevée d'inoculum, combinée aux conditions contrôlées favorisent le développement de souches agressives, même sur des hôtes résistants (Kema, 1996). A contrario, la variété Hoggar s'est montrée sensible vis-à-vis de l'ensemble des isolats utilisés avec des réactions de type 4 (sensible) et 5 (très sensible). Le comportement des variétés Simeto et Hoggar, vis-à-vis de la tache septorienne a été étudié en Algérie, dans des travaux antérieurs, principalement des expérimentations réalisées en plein

champ ou en conditions contrôlées (Benkorteby, 2005 ; Ayad *et al.*, 2014 ; Zibani, 2015 ; Benbelkacem *et al.*, 2016 ; Harrat, 2016), tous ont rapporté, chez les deux variétés, des réactions similaires à celles observées dans notre étude.

Zymoseptoria tritici est connu pour exhiber à la fois une spécificité d'hôte et une spécificité au cultivar (Kema et van Silfhout, 1997 ; Kema *et al.* 1996 a, b). Même si la spécificité au cultivar ait fait l'objet de controverses dans le passé, les études génétiques ont apporté la preuve formelle de l'existence d'une interaction spécifique de type gène pour gène chez le pathosystème Blé-*Z. tritici* (Kema *et al.*, 2000 ; Brading *et al.*, 2002 ; McCartney *et al.*, 2003 ; Goodwin, 2007 ; Jørgensen *et al.*, 2014). Nos résultats nous ont permis de mettre en évidence une seule interaction spécifique (qualitative), au niveau de la variété Simeto, vis-à-vis de I4 (modèle 3), avec une réaction de type 0 (Immune). Si l'on se réfère à la définition de la virulence proposée par Van der Plank (1968), selon laquelle un agent pathogène virulent est celui qui a la capacité d'infecter un hôte spécifique. Nous sommes en mesure d'avancer qu'I4 serait avirulent vis-à-vis de Simeto ; cette dernière est nécessairement porteuse d'un gène de résistance correspondant. Cette hypothèse est renforcée par le fait qu'I4 s'est montré agressif vis-à-vis de Hoggar. Les mécanismes qui régissent la résistance du blé à *Z. tritici* sont encore mal connus, particulièrement chez le blé dur. Parmi les 21 gènes de résistance cartographiés chez le blé tendre et répondant au phénotype de l'interaction gène pour gène (Brown *et al.*, 2015), seul le gène *stb6* a pu être cartographié et cloné (Saintenac *et al.*, 2018). Dans notre étude, la variété Simeto s'est révélée intéressante pour étudier la variabilité du pouvoir pathogène chez *Z. tritici*. De plus, l'existence d'une ou de plusieurs sources de résistance chez cette dernière, suggère l'intérêt de son utilisation dans un schéma d'amélioration pour la résistance à la tache septorienne du blé en Algérie. En effet, une étude récente rapporte l'identification de deux QTL situés sur le chromosome 4B, chez une population issue d'un croisement Simeto/Levante, où il a été montré que l'héritabilité de la résistance chez le blé dur résultait de l'effet additif de gènes mineurs et de gènes majeurs, spécifiques aux isolats de *Z. tritici* (Aouini, 2018).

La variété Hoggar a affiché une sensibilité vis-à-vis des cinq isolats utilisés avec des variations quantitatives de la sévérité de la maladie, exprimée par le PSFCP. En considérant que 65% des surfaces de blé dur en Algérie sont occupées par les variétés Hoggar et Waha (Boufnar-Zaghouane et Zaguouane, 2006), la dernière étant également sensible à la tache septorienne. Nous pouvons aisément envisager que les populations de *Z. tritici* soient parfaitement adaptées à leurs hôtes, et de ce fait, capables de causer des événements

épidémiques spectaculaires, lorsque les conditions climatiques sont favorables au développement de la maladie, comme cela a été le cas dans le passé (Benbelkacem *et al.*, 2016).

Toutes les interactions étudiées dans l'essai 1 ont montré une différence liée au mode d'inoculation des isolats (seuls ou en combinaison). Les infections multiples et simultanées d'un même hôte par plusieurs génotypes du pathogène sont fréquentes dans les conditions naturelles (Lord *et al.*, 1999 ; Read et Taylor, 2001 ; Hood, 2003 ; Ben Ami *et al.*, 2008). Elles impliquent l'épuisement graduel des ressources nutritives, en raison de la mort de l'hôte et de la compétition entre les différents génotypes du pathogène (Clément *et al.*, 2012). Dans le cas d'infections multiples, les individus les plus agressifs seront favorisés (de Rood *et al.*, 2005), avec la mise en place d'une stratégie dite de « biens communs » ou « allee effect », qui peut engendrer la diminution de la quantité de la maladie (Brown *et al.*, 2002). Ce concept est parfaitement illustré par les réactions obtenues chez les isolats inoculés seuls ou en combinaison sur les deux variétés, où toutes les combinaisons ont produit nettement moins de symptômes que les isolats inoculés seuls. Cela nous a permis d'établir que toutes les combinaisons utilisées ont produit un effet d'infections doubles, avec pénétration des deux isolats, dont l'interaction *in planta* a conduit à une diminution de l'agressivité. En prenant en compte les deux paramètres étudiés dans l'essai 1, nos résultats suggèrent que la co-inoculation implique à la fois l'allongement de la période de latence et la diminution de la couverture pycnidienne (intensité de la multiplication asexuée).

Les interactions obtenues au niveau de la variété Simeto sont intéressantes pour notre étude, dans la mesure où la présence de l'isolat avirulent I4 dans les combinaisons I1/I4 et I5/I4 a supprimé l'effet d'isolats virulents (I1 et I5). Dans ce cas, l'explication plausible est que le contact d'un hôte résistant avec un isolat avirulent a vraisemblablement déclenché une réponse spécifique qui a pu augmenter la protection de l'hôte vis-à-vis d'isolats virulents. De nombreux modèles mathématiques montrent que les infections multiples affectent négativement l'agressivité (Frank, 1996 ; Brown *et al.*, 2002), de même que l'existence de compromis ou « trade-off » entre la compétition et l'agressivité (Chao *et al.*, 2000). C'est ce que nous avons pu observer dans les interactions au niveau de la variété Hoggar. Par ailleurs, Halperin *et al* (1996) rapportent que la suppression de la couverture pycnidienne peut s'expliquer par deux mécanismes distincts : la protection croisée déclenchée chez la plante et la compétition entre les isolats.

III.4.3.2 Obtention *in planta* du téléomorphe *Z. tritici* en conditions semi-contrôlées

Les résultats obtenus dans l'essai 2 nous ont permis dans un premier temps, de valider la procédure de croisement *in planta* en conditions semi-contrôlées, d'isolats compatibles de *Z. tritici*, pour la première fois en Algérie. Ayad *et al* (2014) ont rapporté l'obtention *in vitro* du téléomorphe *Z. tritici*, en inoculant de la paille de blé avec des isolats compatibles, qui après incubation à 10°C à l'obscurité, donnaient naissance à des pseudothèces matures. Par ailleurs, Halama et Sayde (2001) ont rapporté dans leurs travaux que les conditions *in vitro* ne permettaient pas aux pseudothèces de se différencier. Bien que la procédure de croisement *in planta* nécessite entre 8 à 12 semaines d'observations (Kema *et al.*, 1996 c), elle apparaît comme l'approche la plus fiable pour l'obtention de pseudothèces viables et en grand nombre, étant donné que les couples fertiles utilisés dans notre essai, ont libéré des ascospores ayant germé sur un milieu artificiel.

Les conditions semi-contrôlées impliquent le maintien des plants en serre à 20°C, de la levée jusqu'au 21^{ème} jpi. Par la suite, les plants sont exposés aux conditions naturelles (pluies, vent, ensoleillement, température). C'est d'ailleurs durant cette phase que la reproduction sexuée est supposée se produire. L'essai 2 a été mené de la fin décembre 2017 au début mai 2018 (15 semaines d'observation). Cela correspond à la période hivernale, impliquant des températures fraîches et des pluies abondantes. Les conditions citées ci-dessus sont susceptibles d'avoir influencé positivement le succès des croisements réalisés dans notre étude. La corrélation entre les conditions environnementales et la production de pseudothèces est documentée dans des pays situés dans l'Hémisphère nord (Kema *et al.*, 1996 c ; Hunter *et al.*, 1999 ; Suffert *et al.*, 2011 ; Morais, 2015). Nos résultats suggèrent que les conditions climatiques de l'Afrique du Nord sont tout autant propices à la reproduction sexuée chez *Z. tritici*.

Dans notre étude, le temps nécessaire à l'apparition des premiers pseudothèces, chez les couples fertiles a varié entre 85 et 102 jours après l'inoculation. Indépendamment des conditions expérimentales (naturelles ou artificielles), les pseudothèces se forment longtemps après les pycnides (Suffert *et al.*, 2011). Dans les conditions naturelles, Eriksen et Munk (2003) ont estimé qu'au Danemark, une période de 29 à 53 jours, à partir de la fin de la période de latence était nécessaire pour observer des pseudothèces sur du blé infecté, soit 46 à 76 jours après l'infection, en tenant en compte la période de latence. Ces résultats ne s'éloignent pas de ceux obtenus par Hunter *et al* (1999), au Royaume Uni, où une période

allant de 62 à 95 jours a été enregistrée. Lors d'inoculation artificielle, Kema *et al* (1996 c) ont rapporté une période de 35 jours contre 84 à 132 jours rapportés par Hunter *et al* (1999). De telles variations, y compris celles observées dans notre étude ont été justifiées par des différences de conditions expérimentales, mais aussi environnementales. Par ailleurs, un cumul de basses températures pourrait favoriser la maturation des pseudothèces (Eriksen et Munk, 2003).

Dans un deuxième temps, l'essai 2 nous a permis de tester l'hypothèse selon laquelle la reproduction sexuée serait influencée par l'agressivité des isolats inoculés, mais aussi par la réponse de la plante hôte. Nos résultats ont montré un effet hautement significatif de la variété sur l'accomplissement de la reproduction sexuée, puisque cette dernière a été plus importante au niveau de la variété sensible Hoggar, avec 4/6 combinaisons fertiles comparativement à la variété résistante Siméto, avec une seule combinaison fertile. Les champignons biotrophes et hemibiotrophes disposent de peu de temps pour infecter leur hôte, croître et se reproduire par les deux voies, sexuée et asexuée (Kozłowski, 1992 ; Perrin et Sibly, 1993 ; Clément *et al.*, 2010). De ce fait, le basculement d'un mode de reproduction à un autre est déterminé par la disponibilité des ressources nutritives, mais aussi par la co-occurrence de partenaires compatibles (Chamberlain et Ingram, 1997). Bien que nous disposons de peu d'informations sur l'implication de la résistance de l'hôte dans la stratégie reproductive chez *Z. tritici* (Cowger *et al.*, 2002), nos résultats concordent avec ceux obtenus avec d'autres pathosystèmes, tels que *Solanum tuberosum/Phytophthora infestans* (Kozłowski, 1992 ; Perrin et Sibly, 1993 ; Hanson et Shattock, 1998 ; Clément *et al.*, 2010), où les auteurs rapportent une production d'oospores (spores sexuées) nettement plus importante chez les hôtes sensibles, avec des périodes de latence courtes, permettant au pathogène de croître suffisamment avant d'initier la phase de reproduction sexuée.

Au niveau de la variété Simeto, la combinaison I1/I4 est la seule à avoir généré des pseudothèces, avec libération d'ascospores. Ce résultat est en contradiction avec ce qui vient de précéder, compte tenu des réactions enregistrées avec Simeto vis-à-vis de l'ensemble des isolats. Néanmoins, nous pouvons supposer que l'association d'un isolat virulent (I1) avec un isolat avirulent (I4), sur un hôte résistant ait provoqué une pression de sélection, ayant favorisé la transmission de gènes d'avirulence plutôt que la multiplication asexuée des deux partenaires. Nous sommes en mesure d'appuyer cette hypothèse avec les résultats rapportés par Ware (2006) et Kema *et al* (2018), concernant la capacité d'isolats avirulents de *Z. tritici* à se reproduire avec des isolats virulents, sans pour autant provoquer de symptômes visibles.

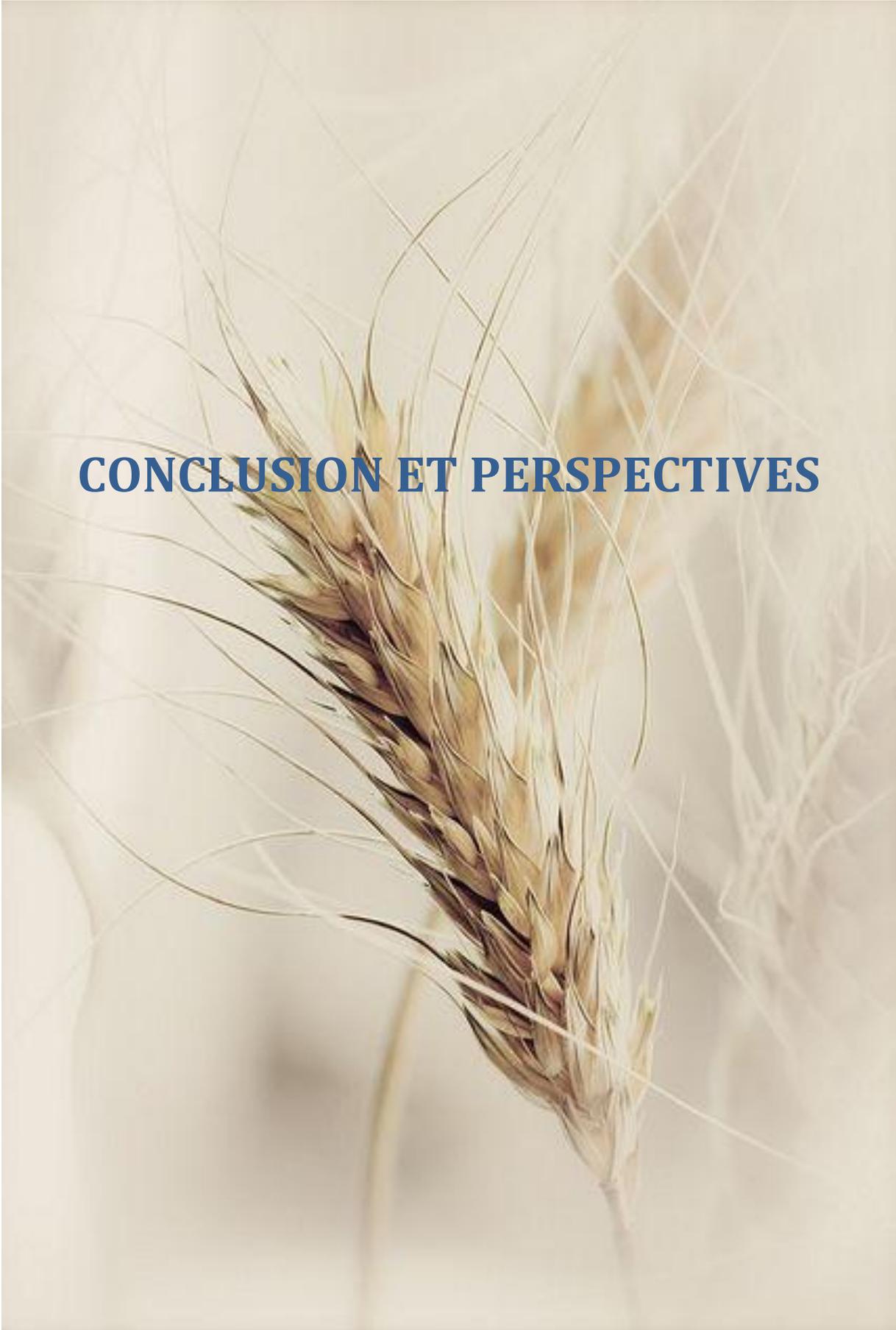
Les mêmes auteurs ont pu mettre en évidence l'accumulation de la biomasse de l'isolat avirulent, sur l'hôte résistant, en dépit de son incapacité à se multiplier par la voie asexuée. Ainsi, le maintien et la transmission de gènes d'avirulence au sein des populations de *Z. tritici* expliquent partiellement la durabilité de la résistance chez le blé vis-à-vis de ce pathogène (Kema *et al.*, 2018 ; Suffert *et al.*, 2018). En effet, les cycles « Boom and bust » définissant le contournement brutale de gènes de résistance chez la plante par une population de pathogène sont richement documentés sur les céréales, particulièrement chez les rouilles (McIntosh et Brown, 1997 ; Kolmer, 1996 ; Person, 1957) et l'oidium (Wolfe et McDermott, 1994 ; Brown *et al.*, 1997). Cependant, ces phénomènes ont rarement été rapportés chez la tache septorienne (Johnson, 1992 ; Kema *et al.* 1996 a, 1999 ; Cowger *et al.*, 2000).

Dans notre étude, seule la variété Hoggar a été considérée pour étudier l'effet de la sévérité de la maladie (covariable) et de l'isolat (variable indépendante) sur l'intensité de la reproduction sexuée (variable dépendante) de *Z. tritici*. Les deux combinaisons I1/I3 et I5/I3 se sont révélées non fertiles sur cette dernière. Nous avons estimé qu'il était possible que des isolats soient moins fertiles que d'autres, vu qu'I3 ne s'est reproduit avec aucun des isolats, sur aucune des variétés. D'autant plus que l'incapacité de certains isolats à se reproduire avec des partenaires compatibles ait déjà été signalée (Suffert *et al.*, 2016).

Par ailleurs, nos résultats ont montré que l'intensité de la reproduction sexuée était positivement corrélée à la sévérité de la maladie. En d'autres termes, plus la multiplication asexuée est importante (couverture pycnidienne) plus l'indicateur de la reproduction sexuée (IDA) est élevé. Peu d'études se sont intéressées aux mécanismes qui régissent simultanément la reproduction sexuée, la multiplication asexuée et la réponse de l'hôte (Drenth *et al.*, 1995 ; Hanson et Shattock, 1998 ; Hammi *et al.*, 2001 ; Stromberg *et al.*, 2001 ; Cowger *et al.*, 2002). Certains auteurs suggèrent l'existence d'un compromis fonctionnel ou « trade-off » entre les deux modes de reproduction, dont la conséquence est une corrélation négative, soit l'accomplissement de l'un à la faveur de l'autre (Pasco *et al.*, 2013 ; Priaud *et al.*, 2013). D'autres auteurs ont invalidé cette hypothèse (Cowger *et al.*, 2002 ; Clément *et al.*, 2010 ; Clément *et al.*, 2012 ; Suffert *et al.*, 2016) en avançant que la reproduction sexuée chez les champignons hémibiotrophes et hétérothalliques serait la conséquence d'une stratégie de survie, lorsque les ressources nutritives de l'hôte sensible (forte multiplication asexuée) s'épuisent rapidement. Dans le contexte de notre étude, nous avons favorisé la deuxième hypothèse, puisque les combinaisons ayant induit les PSFCP les plus importants (I5/I2 et I5/I4) ont été celles qui ont montré les IDA les plus élevés.

Parallèlement à la capacité reproductive des combinaisons biparentales utilisées lors de cette étude, nous avons quantifié l'apport et l'implication de chaque isolat parent dans la reproduction sexuée, pour chaque combinaison. La paire I1-I5 (*Mat1-1*) a présenté des différences significatives, contrairement à la paire I2-I4 (*Mat1-2*) dont les droites de régression étaient similaires. Nous avons donc supposé qu'I5 présentait une plus grande capacité à se reproduire, en comparaison à I1 dont les IDA étaient relativement faibles. Suffert *et al* (2016) ont rapporté des résultats similaires, concernant des isolats présentant des capacités différenciées pour la reproduction sexuée.

Les résultats de l'essai 1 nous ont permis de classer les isolats inoculés au niveau de la variété Hoggar, selon un ordre décroissant, du plus agressif au moins agressif (I2 > I4 > I1 > I5). En considérant ce classement, nous pouvons soupçonner l'existence d'une contre sélection vis-à-vis des isolats les plus agressifs durant la phase asexuée du cycle biologique. Ainsi, les isolats les plus agressifs auraient tendance à se reproduire avec des isolats moins agressifs, afin d'élever graduellement le niveau d'agressivité au sein de la population, tel que suggéré dans de nombreux travaux (Day et Shattok, 1997 ; Cowger et Mundt, 2002 ; Pasco *et al.*, 2015 ; Suffert *et al.*, 2015, 2016).



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

La tache septorienne du blé causée par *Z. tritici* est une maladie commune, fréquemment rencontrée en Algérie. De nombreuses études ont été entreprises dans le passé et ont contribué à une meilleure compréhension des mécanismes qui régissent l'interaction chez le pathosystème Blé-*Z. tritici*. Cependant de nombreuses interrogations subsistent, particulièrement celles liées à la reproduction sexuée du pathogène, sous les conditions agro-climatiques du pays. L'objectif des présents travaux était d'apporter des éléments de réponse, quant au potentiel reproductif du pathogène, mais aussi des facteurs impliqués dans sa capacité à se reproduire par la voie sexuée, à la fois dans les conditions naturelles et expérimentales. Dans cette section, nous allons donc synthétiser les contributions majeures de nos recherches, mais aussi identifier ses limites, afin de mettre en lumière les perspectives jugées prometteuses dans le cadre de nos travaux dans le futur.

Bien que l'estimation de la prévalence de la tache septorienne du blé ne soit pas un objectif spécifique dans le cadre de cette étude, les résultats obtenus lors des prospections ont montré que la maladie était distribuée sur l'ensemble des zones prospectées, là où le blé était cultivé. La prévalence de la maladie s'est avérée plus marquée dans les régions du Centre, situées dans l'étage bioclimatique subhumide, semblant procurer les conditions favorables pour le développement de la maladie, comparativement aux régions situées dans les grandes plaines de l'Est, au climat semi-aride. Les conditions climatiques, particulièrement les précipitations et leurs fréquences, ont également largement influencé l'installation, le développement et la progression verticale de la maladie entre deux campagnes, très contrastées en termes de pluviométrie (2012-2013 et 2013-2014). Nos observations indiquent clairement que lorsque les conditions climatiques étaient favorables (2012-2013), la maladie s'est manifestée invariablement, dans toutes les zones prospectées. Ce qui revient à dire qu'en l'absence d'un dispositif d'alerte précoce, les régions littorales seraient soumises à des risques d'épidémies sévères. D'autant plus que les variétés commerciales de blé dur rencontrées durant les prospections et largement cultivées dans le pays, à savoir ; Hoggar, Waha et Chen'S, ont semblé être particulièrement sensibles aux attaques de la tache septorienne du blé.

Dans le premier volet de notre étude, nous avons analysé la distribution des fréquences des deux idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2*, au sein de notre collection de *Z. tritici*. L'équilibre observé entre les individus de mating types opposés, à toutes les échelles étudiées (régions, champs, feuilles et lésions) indique que la population étudiée se reproduit par la voie sexuée, de manière régulière et fréquente. Le recours à une approche moléculaire nous a permis non seulement de traiter un grand nombre d'isolats, mais aussi de réduire le temps d'investigation, dans la mesure où la détermination des mating types de *Z. tritici* ne peut être réalisée facilement par des confrontations classiques. Bien que cette approche soit indirecte, et que le résultat soit théorique, cela ne laisse que peu de doute quant au taux élevé de recombinaisons génétiques existant au sein des populations algériennes de *Z. tritici*. Cependant, les données recueillies doivent être complétées par une analyse globale de la structure génétique des populations de *Z. tritici*, en envisageant de comparer ces dernières avec des populations issues d'autres régions du monde.

Aussi, nous avons testé l'hypothèse de la présence, au sein de notre collection de *Z. tritici* de la résistance aux strobilurines (QoI), conférée par une mutation monogénique (G143A). Lors de nos investigations, nous avons détecté par l'approche moléculaire, la présence de 6 isolats mutants sur un total de 208 isolats. Les résultats de l'analyse moléculaire ont été complétés par un test biologique *in vitro*, qui nous a permis de valider les phénotypes de résistance. Nos résultats nous ont paru d'abord surprenants, puis alarmants. En effet, les exemples rapportés dans les pays Européens montrent clairement que lorsque la mutation G143A apparaît dans une population, sa propagation par le biais de la reproduction sexuée et des recombinaisons génétiques suit une évolution rapide et spectaculaire. La démarche adoptée nous a certes renseigné sur l'existence de la mutation en Algérie. Néanmoins, nous gagnerons en précision si nous parvenons à déterminer son origine. En effet, des ascospores porteuses de la mutation sont transportées par le vent sur de longues distances, et sont susceptibles de transmettre la mutation dans des zones où des populations n'ont jamais été confrontées au fongicide en question. Cela souligne d'autant plus l'importance de prendre en compte ces résultats et de les intégrer dans des schémas de contrôle de la maladie, afin de maintenir l'efficacité des strobilurines vis-à-vis de la tache septorienne du blé.

Dans le deuxième volet de notre étude, nous avons tenté de consolider les résultats obtenus précédemment, à savoir que la reproduction sexuée était fréquente chez le pathogène, en y apportant la preuve formelle, par la recherche et l'identification de la forme parfaite du pathogène dans les conditions naturelles du champ. Nous sommes parvenus à identifier des

pseudothèces matures issus de la reproduction sexuée de *Z. tritici* pour la première fois, en Novembre 2015, à partir de débris de cultures, sur une parcelle située à la station expérimentale de l'ITGC à Oued Smar (Alger). A notre connaissance, c'est la première signalisation du téléomorphe *Z. tritici* en Algérie, parallèlement aux résultats obtenus par Harrat (2016) à Constantine. Des prélèvements réguliers nous ont également permis de constater que les pseudothèces formés à la saison (n) perduraient sur les débris de cultures infectés et restaient viables durant la saison (n+1). Ainsi, les ascospores libérées à partir des débris de l'année précédente constituent une source d'inoculum supplémentaire pour les parcelles voisines.

Par ailleurs, nous avons suivi l'évolution de la production des pseudothèces durant la végétation, sur des plants de blé dur et de blé tendre infectés naturellement par la tache septorienne. Nos résultats ont montré qu'il était possible d'observer des pseudothèces sur les feuilles basales, au début du mois d'avril. Cependant, à ce stade, les asques observés au microscope étaient immatures. Ce n'est qu'à la fin du mois d'avril que nous avons pu observer des asques contenant des ascospores différenciés. Les données recueillies mettent en évidence, la capacité surprenante de *Z. tritici* à assurer sa survie via la reproduction sexuée, à la fois sur les débris de culture mais aussi sur les plants en végétation. Du point de vue qualitatif, nos résultats indiquent que la distribution spatio-temporelle de l'occurrence des pseudothèces n'est pas figée, ne se limitant pas à une seule saison, ni à un seul support (paille, feuilles en décomposition et feuilles sur plants), ni à une seule espèce (blé dur et blé tendre). En l'absence de l'équipement requis pour une étude quantitative précise (Piège volumétrique d'ascospores), nous n'avons pas pu estimer avec exactitude, la quantité d'ascospores libérées au niveau des parcelles testées. Par conséquent, l'influence que pourraient avoir les ascospores sur l'initiation et le développement de la maladie sous les conditions naturelles, reste à explorer. Cependant, nous pouvons avancer que la station expérimentale de l'ITGC offre un environnement idéal pour répondre à de telles questions. Des céréales cultivées à l'année, dans des conditions favorables au développement de la maladie, une distribution équivalente des deux mating types, la présence de souches résistantes aux strobilurines, et la présence de la forme parfaite du champignon, sont autant d'éléments essentiels dans la conduite d'une étude globale, pour une meilleure compréhension de la dynamique épidémiologique de la tache septorienne du blé sous nos latitudes.

Enfin, les résultats obtenus dans le dernier volet de ce travail nous ont permis de valider la procédure de croisements d'isolats compatibles *in planta* en conditions semi-contrôlées et d'obtenir des pseudothèques matures, capables de libérer des ascospores, au bout de 15 semaines d'expérimentation. La procédure de croisement s'est révélée fiable et reproductible. Aussi, les conditions extérieures d'exposition des plants co-inoculés semblent avoir été favorables à la formation des pseudothèques. Le succès des croisements ouvre la voie à de nouvelles opportunités pour l'étude des modes de transmission de gènes de virulence ou d'avirulence chez *Z. tritici*, et par conséquent, pourrait faciliter l'identification de sources de résistance, ainsi que leur héritabilité chez le blé dur.

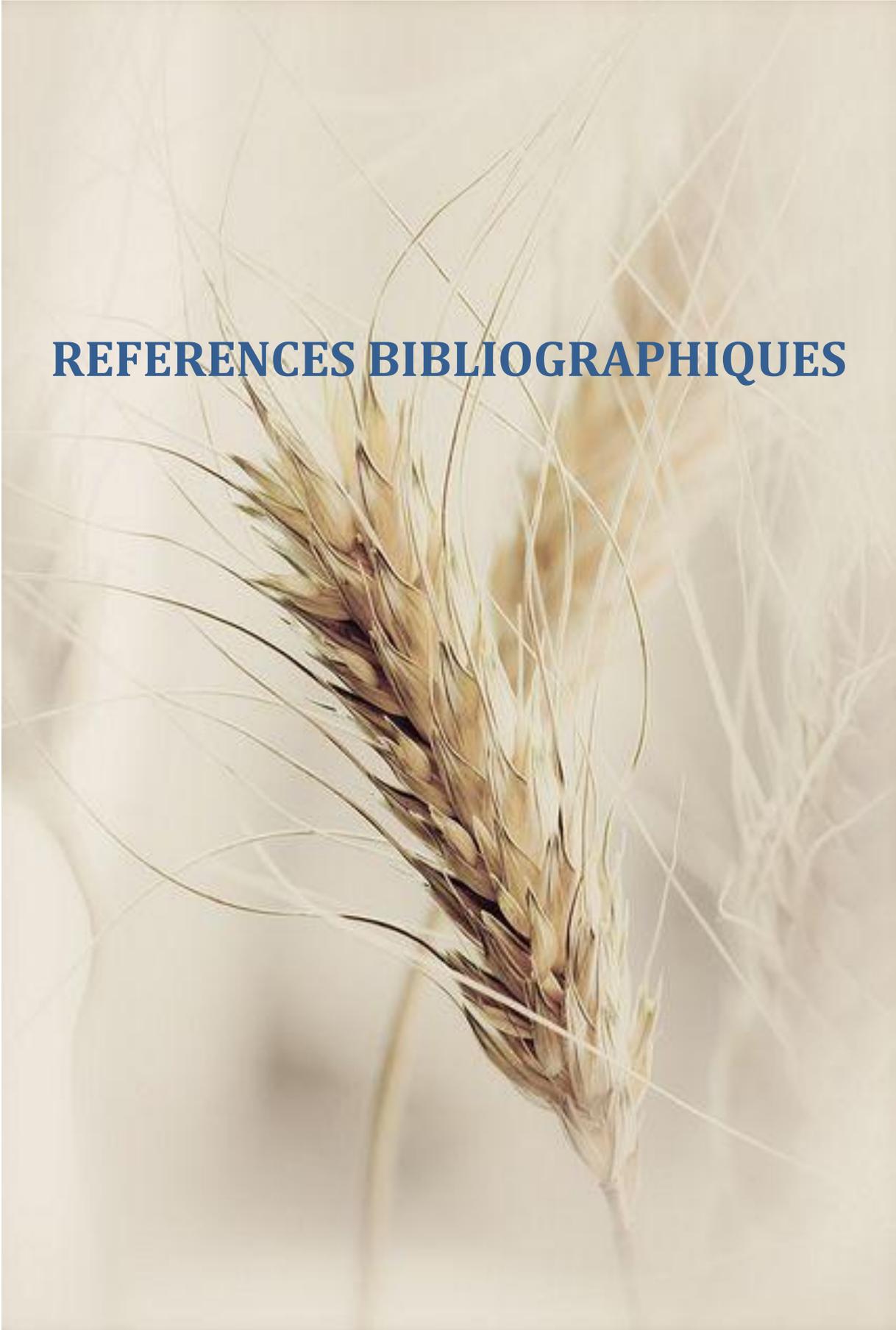
Nous avons également étudié *in planta* la reproduction sexuée de *Z. tritici*, au niveau de deux variétés aux comportements différenciés. Le premier essai nous a permis de confirmer ce qui a été rapporté par d'autres auteurs, concernant le comportement de Simeto (résistante) et de Hoggar (sensible), vis-à-vis de *Z. tritici*. Par ailleurs, nous avons également pu mettre en évidence l'existence d'interactions spécifiques dépendantes du mode d'inoculation des isolats (seuls ou en combinaison), avec une diminution notable du pouvoir pathogène, lorsque les isolats sont co-inoculés. Une diminution qui pourtant, n'impacte pas le pouvoir reproductif des isolats, puisque le deuxième essai nous a permis d'observer une reproduction sexuée chez 4 combinaisons fertiles. Ainsi nous sommes parvenus à démontrer que la résistance chez une variété donnée, pouvait réduire la multiplication sexuée chez le pathogène, sans pour autant bloquer sa reproduction sexuée. Ce constat dénote de l'importance d'approfondir nos connaissances des interactions au sein de ce pathosystème. D'autant plus que l'avirulence chez un des partenaires ne constitue pas un critère d'élimination de ce dernier. Ceci reflète l'incroyable capacité de *Z. tritici* à s'adapter à son environnement, et peut être considéré comme un trait de coévolution avec ses différents hôtes, quelques soit leurs niveaux de résistance. Nous avons également pu montrer que l'intensité de la multiplication asexuée était positivement corrélée à l'intensité de la reproduction sexuée. Néanmoins, nous devons considérer ces résultats avec précaution, tant le nombre d'interactions traitées n'était pas suffisamment élevé, pour appuyer avec certitude notre hypothèse.

Perspectives de recherche

Le travail réalisé et les résultats obtenus au cours de nos présentes recherches nous ont permis d'obtenir des informations substantielles, susceptibles de nous orienter quant aux mesures de contrôle à adopter, pour diminuer l'impact de la maladie sur les cultures de blé, et également approfondir nos connaissances, pour identifier de nouvelles sources de résistance chez la plante hôte.

Ainsi nous sommes en mesure de conclure que la reproduction sexuée chez *Z. tritici* est un processus complexe et intriqué, largement influencé par des facteurs indépendants, dont les interactions conditionnent invariablement le succès. Les résultats obtenus lors de cette recherche, nous ont apporté des réponses concrètes à nos questionnements de départ. Cependant les conclusions auxquelles nous avons abouti suscitent encore plus d'interrogations. C'est pour cela qu'en perspectives futures, nous estimons qu'il serait intéressant d'étendre notre spectre de connaissances par :

- Une étude plus étendue de la structure génétique des populations de *Z. tritici*, par l'utilisation de marqueurs moléculaires (SSR), combinée à une comparaison des populations algériennes avec celles d'autres pays. Cela est susceptible de nous apporter des éléments significatifs, en termes de connaissances concernant l'adaptation et la spécialisation du pathogène au niveau des variétés de blé dur, mais aussi de blé tendre, cultivées en Algérie.
- Le suivi de l'évolution des fréquences de la mutation G143A, ainsi que celle des mutations conférant des résistances aux différentes familles de fongicides, appliquées pour contrôler les maladies foliaires en Algérie.
- Approfondir les investigations quant à l'impact de la reproduction sexuée chez *Z. tritici*, sur le développement de la maladie au champ, en estimant la contribution des pseudothèces dans l'apport de l'inoculum primaire à la levée des plants, mais aussi durant la végétation.
- Approfondir nos connaissances sur les interactions établies au sein du pathosystème Blé-*Z. tritici* par une caractérisation plus étendue du pouvoir pathogène de nos populations. Mais aussi par la recherche de nouvelles sources de résistances, chez les variétés algériennes et les mécanismes de leur héritabilité.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abrinbana, M., Mozafari, J., Shams-Bakhsh, M., and Mehrabi, R. 2010. Genetic structure of *Mycosphaerella graminicola* populations in Iran. *Plant Pathology*. 59: 829-838.
- Adhikari, T. B., Anderson, J. M., and Goodwin, S. B. 2003. Identification and molecular mapping of a gene in wheat conferring resistance to *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology*. 94: 1198-1206.
- Adhikari, T.B., Cavaletto, J. R., Dubcovsky, J., Gieco, J. O., Schlatter, A. R., and Goodwin, S. B. 2004a. Molecular mapping of the Stb4 gene for resistance to Septoria tritici blotch in wheat. *Phytopathology*, 94(11): 1198–1206.
- Adhikari, T. B., Wallwork, H., and Goodwin, S. B. 2004b. Microsatellite markers linked to the Stb2 and Stb3 genes for resistance to Septoria tritici blotch in wheat. *Crop Science*. 44(4): 1403-1411.
- Adhikari, T. B., Yang, X., and Cavaletto J. R. 2004c. Molecular mapping of Stb1, a potentially durable gene for resistance to Septoria tritici blotch in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 109(5): 944–953.
- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*, 5th edn. Amsterdam, the Netherlands: Elsevier.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C. W., and Blackwell, M. 1996. *Introductory Mycology*, 4th Edition. John Wiley and Sons, New York.
- Ali, S., Singh, P. K., McMullen, M. P., Mergoum, M., and Adhikari, T. B. 2008. Resistance to multiple leaf spot diseases in wheat. *Euphytica* 159: 167-179.
- Allioui, N., Siah, A., Brinis, L., Reignault, P., and Halama, P. 2013. Assessment of the cytochrome B substitution G143A in the Algerian population of *Mycosphaerella graminicola*. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*. 78: 613-616.
- Allioui, N., Siah, A., Brinis, L., Reignault, P., and Halama, P. 2014. Mating type distribution provides evidence for sexual reproduction of *Mycosphaerella graminicola* in Algeria. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 36: 475-481.
- Allioui, N., Siah, A., Brinis, L., Reignault, P., and Halama, P. 2016. Identification of QoI fungicide-resistant genotypes of the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici* in Algeria. *Phytopathologia Mediterranea*. 55: 89-97.
- Amil, A. F., Heaney, S. P., Stanger, C., and Shaw, M. W. 2007. Dynamics of QoI sensitivity in *Mycosphaerella fijiensis* in Costa Rica during 2000 to 2003. *Phytopathology* 97: 1451-1457.
- Aouini, L. 2018. Durum wheat and septoria tritici blotch: genes and prospects for breeding. 2018. PhD thesis. Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands. 281p.
- Arama, P. F. 1996. Effect of N fertilizer application on the disease severity of Septoria tritici blotch on wheat in the field. PhD thesis. Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands. pp. 75-82.
- Arango, Isaza., R., Diaz-Trujillo, C., Dhillon, B., Aerts, A., Carlier, J., Crane, C. F., de Jong, T. V., de Vries, I., Dietrich, R., Farmer, A. D., Fortes Ferreira, C., Garcia, S., Guzman, M., Hamelin, R. C., Lindquist, E. A., Mehrabi, R., Quiros, O., Schmutz, J., Shapiro, H., Reynolds, E., Scalliet, G., Souza, M., Jr., Stergiopoulos, I., Van der Lee, T. A. J., De Wit, P. J. G. M., Zapater, M.- F., Zwiers, L.-H., Grigoriev, I. V., Goodwin, S. B., and Kema, G. H. J. 2016. Combatting a global threat to a clonal crop: Sequencing the banana black Sigatoka pathogen *Pseudocercospora fijiensis* (synonym *Mycosphaerella fijiensis*) reveals clues for disease control. *PLoS Genetics*. 12(10): e1006365.
- Arraiano, L.S., Worland, A. J., Ellerbrook, C., and Brown, J. K. M. 2001. Chromosomal location of a gene for resistance to Septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in the hexaploid wheat 'Synthetic 6x'. *Theor Appl Genet* 103:758-764.

- Arraiano, L. S., and Brown, J. K. M. 2006. Identification of isolatespecific and partial resistance to *Septoria tritici* blotch in 238 European wheat cultivars and breeding lines. *Plant Pathology*. 55: 726-738.
- Arraiano, L.S., Balaam, N., Fenwick, P. M., Chapman, C., Feuerhelm, D., Howell, P., Smith, S. J., Widdowson, J. P., and Brown, J. K. M. 2009. Contributions of disease resistance and escape to the control of septoria tritici blotch of wheat. *Plant Pathology*. 58: 910-922.
- Ayad, J. 2007. Etude de la diversité phénotypique et pathologique de *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt. et obtention du téléomorphe en Algérie. Thèse de Magistre, ENSA (El Harrach), 90p.
- Ayad, D., Sayoud, R., Benbelkacem, K., and Bouznad, Z. 2014. La tache septorienne du blé: Première signalisation de la présence en Algérie des deux mating types du téléomorphe *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schröter, (anamorphe: *Septoria tritici* Rob ex Desm.) et diversité phénotypique de l'agent pathogène. *Nature et Technologie*. 11: 34-45.
- Bahat, A., Gelernter, I., Brown, M. B., and Eyal, Z. 1980. Factors affecting the vertical progression of septoria leaf blotch in short-statured wheat. *Phytopathology* 70, 179-84.
- Ballantyne, B., and Thomson, F. 1995. Pathogenic variation in Australian isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Australian Journal of Agricultural Research* 46: 921-934.
- Bannon, F. J., and Cooke, B. M. 1998. Studies on dispersal of *Septoria tritici* pycnidiospores in wheat-clover intercrops. *Plant Pathology* 47: 49-56.
- Bartlett, D. W., Clough, J. M., Godfrey, C. R. A., Godwin, J. R., Hall, A. A., Heaney, S. P., and Maund, S. J. 2001. Understanding the strobilurin fungicides. *Pesticide Outlook*. 143-148.
- Barlett, D.W., Clough, J. M., Godwin, J. R., Hall, A. A., Hamer, M., and Parr-Dobrzanski, B. 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Management Science*. 58: 649–662.
- Bar-Yosef, O., and Kislev, M. 1989. Early Farming Communities in the Jordan Valley. In *Foraging and Farming: The Evolution of Plant Exploitation*. D. R. Harris and G. C. Hillman, eds. Pp. 632-642. Boston: Unwin Hyman.
- Ben hassine, A., and Hamada, W. 2014. First isolation of the *Mycosphaerella graminicola* teleomorph stage causing Septoria leaf blotch on wheat in Tunisia. *New Disease Reports* 29: 18.
- Ben-Ami, F., Mouton, L., and Ebert, D. 2008. The effects of multiple infections on the expression and evolution of virulence in a *Daphnia*-endoparasite system. *Evolution* 62: 1700-1711.
- Benbelkacem, A., Djenadi, C., and Meamiche, H. 2016. Mitigation of the Global Threat of Septoria Leaf Blotch of Cereals in Algeria. *International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences*. 2 (2): 28-35.
- Benkorteby, H. 2005. Etude de la tache foliaire à *Septoria tritici* Rob. In Desm. (*Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt.) chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.): Héritabilité de la résistance chez des hybrides F1 et des population F5. Thèse de Magister, E. N. S. A. (El Harrach). 81p.
- Benslimane, H. 2011. Etude de la tache bronzée du blé en Algérie. Identification des races de l'agent causal *Pyrenophora tritici-repentis* (Died) Drechs et diversité génétique. Thèse de Doctorat. 153p.
- Billard, E., Serrão, E. A., Pearson, G. A., Engel, C. R., Destombe, C., and Valero, M. 2005. Analysis of sexual phenotype and prezygotic fertility in natural populations of *Fucus spiralis*, *F. vesiculosus* (*Fucaceae*, *Phaeophyceae*) and their putative hybrids. *European Journal of Phycology*. 40: 397–407.
- Bonjean, A. 2001. Histoire de la culture des céréales et en particulier de celle du blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Eds. Le Perchec S., Guy P. et Fraval A. *Agriculture et biodiversité des plantes. Dossier de l'environnement de l'INRA*. 21: 29-37.
- Boufnar, H., et Zeghouane, O. 2006. Guide des principales variétés de céréales à paille en algérie(blé dur ; blé tendre ; orge et avoine). Eds. ITGC, INRA et ICARDA (Alger).174p.

- Boukef, S., McDonald, B. A., Yahyaoui, A., Rezgui, S., and Brunner, P. C. 2012. Frequency of mutations associated with fungicide resistance and population structure of *Mycosphaerella graminicola* in Tunisia. *European Journal of Plant Pathology*, 132, 111-122.
- Boulal, H., Zaghouane, O., El Mourid, M., and Rezgui, S. 2007. Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blé et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Eds. ITGC, INRAA et ICARDA (Alger). 176 p.
- Bozzini, A. 1988. Origin, distribution, and production of durum wheat in the world. in: *Durum Wheat: Chemistry & Technology*. G. Fabriani and C. Lintas, eds. Am. Assoc. Cereal Chem.: USA. Pp. 1-16.
- Brading, P. A., Verstappen, E. C. P., and Kema, G. H. J., and Brown, J. K. M. 2002. A gene-for-gene relationship between wheat and *Mycosphaerella graminicola*, the Septoria tritici blotch pathogen. *Phytopathology*. 92(4): 439-445.
- Braun, H. J., Rajaram, S., and van Ginkel, M. 1996. CIMMYT's approach to breeding for wide adaptation. *Euphytica* 92: 147-153.
- Brokenshire, T. 1975. The role of graminaceous species in the epidemiology of *Septoria tritici* on wheat. *Plant Pathology*. 24: 33-38.
- Brown, J. S. 1975. The ascogenous state of *Septoria tritici* found in Victoria. *Australian Plant Pathology Society Newsletter*. 4: 37-37.
- Brown, J. S., Kellock, A. W. and Paddick, R. G. 1978. Distribution and dissemination of *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroeter in relation to the epidemiology of speckled leaf blotch of wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*. 29:1139-45.
- Brown, J.K.M., Foster, E.M., and O'Hara, R.B. 1997. Adaptation of powdery mildew populations to cereal varieties in relation to durable and non-durable resistance. In *The Gene-for Gene Relationship in Plant-Parasite Interaction*, ed. IR Crute, EB Holub, JJ Burdon, pp. 119-138. Wallingford, UK: CABI.
- Brown, J. K. M., Kema, G. H. J., Forrer, H. R., Verstappen, E. C. P., Arraiano, L. S., Brading, P. A., Foster, E. M., Fried, P. M., and Jenny, E. 2001. Resistance of wheat cultivars and breeding lines to septoria tritici blotch caused by isolates of *Mycosphaerella graminicola* in field trials. *Plant Pathology*. 50: 325-338.
- Brown, J. K. M., Chartrain, L., Lasserre-Zuber, P., and Saintenac, C. 2015. Genetics of resistance to *Zymoseptoria tritici* and applications to wheat breeding. *Fungal Genetics and Biology*. 79:33-41.
- Brown, S.P., Hochberg, M.E., and Grenfell, B.T. 2002. Does multiple infection select for raised virulence? *Trends in Microbiology* 10: 401-405.
- BSA (Bulletin de Statistiques Agricoles). 2007. Inventaire statistique des terres agricoles. MADR, Série B, 1970-2007. 21p.
- Carlile, W. R. 1998. *New Studies in Biology: Control of Crop Diseases*, Edward Arnold, UK. 100p.
- Cavara, F. 1893. Über einige parasitische Pilze auf dem Getreide. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten*. 3: 16-26.
- Chamberlain, M. and Ingram, D.S. 1997. The balance and interplay between asexual and sexual reproduction in fungi. In: *Advances in Botanical Research Incorporating Advances in Plant Pathology*, Vol. 24, pp. 71-87. Academic Press Ltd, London.
- Chao, L., Hanley, K.A., Burch, C.L., Dahlberg, C., Turner, P.E. and Kin. 2000. selection and parasite evolution: Higher and lower virulence with hard and soft selection. *Quarterly Review of Biology*. 75: 261-275.
- Chartrain, L., Brading, P. A., Makepeace, J. C. and Brown, J. K. M. 2004. Sources of resistance to Septoria tritici blotch and implications for wheat breeding. *Plant Pathology*, 53: 454-460.

- Chartrain, L., Berry, S.T., and Brown, J. K. M. 2005a. Resistance of wheat line Kavkaz-K4500 L.6.A.4 to *Septoria tritici* blotch controlled by isolate-specific resistance genes. *Phytopathology*. 95(6): 664-671.
- Chartrain, L., Joaquim, P., Berry, S. T., Arraiano, L. S., Azanza, F., and Brown, J. K. M 2005b. Genetics of resistance to *Septoria tritici* blotch in the Portuguese wheat breeding line TE 9111. *Theoretical Applied Genetics*. 110(6): 1138–1144.
- Chartrain, L., Sourdille, P., Bernard, M., and Brown, J. K. M. 2009. Identification and location of *Stb9*, a gene for resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat cultivars Courtot and Tropicalc. *Plant Pathology*. 58: 547-555.
- Chen, R.S., and McDonald, B. A. 1996. Sexual reproduction plays a major role in the genetic structure of populations of the fungus *Mycosphaerella graminicola*, *Genetics*, 142: 1119-1127.
- Chin, K. M., Wirz, M., and Laird, D. 2001. Sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis* from banana to trifloxystrobin. *Plant Disease*. 85: 1264-1270.
- Clément, J.A.J., Magalon, H., Pelle, R., Marquer, B., Andrivon, D., 2010. Alteration of pathogenicity-linked life-history traits by resistance of its host *Solanum tuberosum* impacts sexual reproduction of the plant pathogenic oomycete *Phytophthora infestans*. *J. Evol. Biol.* 23, 2668–2676.
- Clément, J.A.J., Magalon, H., Glais, I., Jacquot, E., and Andrivon, D. 2012. To be or not to be solitary: *Phytophthora infestans* dilemma for optimizing its reproductive fitness in multiple infections. *PLoS One* 7, e37838.
- Clinckemaillie, A., Dedeurwaerder, G., Duvivier, M., Moreau, J.M., and Legrève, A. 2010. Presence of airborne inoculum of *Mycosphaerella graminicola* and occurrence of sexual reproduction during the growing season in Belgium. *Phytopathology* 100: S26.
- CNIS (2005). Agriculture algérienne. Les statistiques. [Http://www.douanes.cnis.dz](http://www.douanes.cnis.dz).
- Cohen, L., and Eyal, Z. 1993. The histology of processes associated with the infection of resistant and susceptible wheat cultivars with *Septoria tritici*. *Plant Pathology*. 42: 737-743.
- Cools, H.J., and Fraaije, B.A. 2013. Update on mechanisms of azole resistance in *Mycosphaerella graminicola* and implications for future control. *Pest Management Science*. 69: 150-5.
- Cordo, C., and Lindquist, J. 1987. Análisis cualitativo de la variabilidad cultural de *Septoria tritici*. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 25: 59-77.
- Cordo, C. A., Perelló, A., and Arriaga, H. 1993. Estabilidad de la virulencia sobre trigo en aislamiento de *Mycosphaerella graminicola*. *Fitopatología Brasileria*. 18: 371-378.
- Cowger, C., Hoffer, M. E., and Mundt, C. C. 2000. Specific adaptation by *Mycosphaerella graminicola* to a resistant wheat cultivar. *Plant Pathology*. 49: 445-451.
- Crous, P. W. 1998. *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs associated with leaf spot diseases of Eucalyptus. *Mycologia Memoir*. 21: 1-170.
- Crous, P.W., Shivas, R.G., Wingfield, M.J., Summerell, B. A., and Rossman, A. Y. 2012. Fungal Planet description sheets 128-127. *Persoonia* 29: 138–153.
- Cunfer, B. M. 1999. *Stagonospora* and *Septoria* pathogens of cereals: The infection process. In: van Ginkel M, McNab A and Krupinsky J (eds) *Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: A Compilation of Global Research* D.F CIMMYT, Mexico.
- Cunfer, B. M., and Ueng, P.P. 1999. Taxonomy and identification of *Septoria* and *Stagonospora* species on small-grain cereals. *Annual Review of Phytopathology*. 37: 267-284.

- Dahl, C., Biemann, H. P., and Dahl, J. 1987. A protein kinase antigenically related to pp60v src possibly involved in yeast cell cycle control: positive in vivo regulation by sterol. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 84(12): 4012-4016.
- Day, J.P., and Shattock, R.C. 1997. Aggressiveness and other factors relating to displacement of populations of *Phytophthora infestans* in England and Wales. *European Journal of Plant Pathology*. 103: 379-391.
- de Roode, J.C., Helinski, M.E.H., Anwar, M.A., and Read, A.F. 2005. Dynamics of multipleinfection and within-host competition in genetically diverse malaria infections. *American Naturalist*. 166: 531-542.
- De Vita, P., Nicosia, O. L. D., Nigro, F., Platani, C., Riefolo, C., Fonzo, N-D., and Cattivelli, L. 2007. Breeding progress in morpho-physiological, agronomical and qualitative traits of durum wheat cultivars released in Italy during the 20th century. *European Journal of Agronomy*. 26: 39-53.
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., and Foster, G. D. 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*. 13: 414-430.
- Debela, S., and Pinto, F. F. 1974. Development of *Septoria tritici* on wheat in Ethiopia. Pages 267-274 in: Proc. of Fourth FAO/ Rockefeller Foundation Wheat Seminar. Tehran, Iran, 21 May-2 June 1973. 441 pp.
- Debuchy, R., Berteaux-Lecellier, V., and Silar, P. 2010. Mating systems and sexual morphogenesis in ascomycetes. in *Cellular and Molecular Biology of Filamentous Fungi*, edited by K. A. Borkovich, and D. J. Ebbole. pp. 501–535. American Society for Microbiology Press, Washington, DC.
- Desmazières, J. B. H. J. 1842. Cryptogames nouvelles. *Annales des Sciences Naturelles*. 2 (17): 107.
- Diaz de Ackermann, M., Stewart, S., and Ibañez, W. 1995. Pathogenic variability of *Septoria tritici* isolates from South America. In: Gilchrist L, van Ginkel M, McNab A, Kema GHJ (eds), *Proceedings of the Septoria tritici Workshop, International Maize and Wheat Improvement Centre (CIMMYT), Mexico DF*, pp 41-50.
- Diaz de Ackermann, M. 1996. Chemical control of *Septoria tritici* on spring wheat. *CIMMYT*, 1996, p. 147-151.
- Djermoun, A. 2009. La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie*. 1 : 45–53.
- Drabešová J., Ryšánek, P., Brunner, P., McDonald, B.A., and Croll, D. 2013. Population genetic structure of *Mycosphaerella graminicola* and Quinone Outside Inhibitor (QoI) resistance in the Czech Republic. *European Journal of Plant Pathology*. 135: 211-224.
- Drenth, A., Janssen, E.M., and Govers, F. 1995. Formation and survival of oospores of *Phytophthora infestans* under natural conditions. *Plant Pathology* 44: 86-94.
- Dubin, H. J., and Rajaram, S. 1996. Breeding disease-resistant wheats for tropical highlands and lowlands. *Annual Review of Phytopathology*. 34: 530-526.
- Duncan, K. E., and Howard, R. J. 2000. Cytological analysis of wheat infection by the leaf blotch pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Mycological Research*. 104: 1074-1082.
- Duveiller E., Singh R. P., Nicol J. M. 2007. The challenges of maintaining wheat productivity: pests, diseases, and potential epidemics. *Euphytica*. 157: 417-430.
- Duvivier, M., Dedeurwaerder, G., De Proft, M., Moreau, J. M., and Legrève, A. 2013. Realtime PCR quantification and spatio-temporal distribution of airborne inoculums of *Mycosphaerella graminicola* in Belgium. *European Journal Plant Pathology*. 137: 325-341.
- Duvivier, M. 2015. Distribution of the Airborne Inoculum of Wheat Leaf Rust and *Septoria tritici* Blotch. PhD thesis. Université Catholique de Louvain, Belgique, 181p.

- Dvorak, J., and Zhang, H. B. 1990. Variation in repeated nucleotide sequences sheds light on the phylogeny of the wheat B and G genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 87: 9640-9644.
- El Bekali, A. Y., Ramdani, A., Siah, A., Tisserant, B., Deweer, C., Hafidi, M., Reignault, P., and Halama, P. 2011. Detection of strobilurin-resistant isolates of *Mycosphaerella graminicola* in Morocco. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*. 76: 715-719.
- El Bekali, A. Y., Ramdani, A., El Chartouni, L., Tisserant, B., Deweer, C., Fichter- Roisin, C., Sanssene, J. B., Durand, R., Halama, P., and Reignault, P. 2012. First report of the mating types *MAT1-1* and *MAT1-2* of *Mycosphaerella graminicola* in Morocco. *Journal of Plant Pathology*. 94: 243-247.
- Eriksen, L., Munk, L. 2003. The occurrence of *Mycosphaerella graminicola* and its anamorph *Septoria tritici* in winter wheat during the growing season. *European Journal of Plant Pathology*. 109: 253-259.
- Estepa, L. K., Torriani, S. F. F., Zala, M., Anderson, N. P., Flowers, M. D., McDonald B. A., Mundt, C. C., and Brunner, P. C. 2014. Emergence and early evolution of fungicide resistance in North American populations of *Zymoseptoria tritici*. *Plant Pathology*. 64: 961- 971.
- Eyal, Z., Amiri, Z., and Wahl, I. 1973. Physiologic specialization of *Septoria tritici*. *Phytopathology*. 63: 1087-1091.
- Eyal, Z. and Brown, M. B. 1976. A quantitative method for estimating density of *Septoria tritici* pycnidia on wheat leaves. *Phytopathology*. 66:11-14.
- Eyal, Z., Scharen, A. L., Prescott, J. M., and Van Ginkel, M. 1987. The Septoria diseases of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT, Mexico. pp 45.
- Eyal, Z. 1992. The response of field-inoculated wheat cultivars to mixtures of *Septoria tritici* isolates. *Euphytica* 61: 25-35.
- Eyal, Z. 1999. The *Septoria tritici* and *Stagonospora nodorum* blotch diseases of wheat. *European Journal of Plant Pathology*. 105: 629-41.
- Farih, A., and Ezzahiri, B. 1996. Distribution et importance des septorioses au Maroc. *Proceeding du Symposium Régional. Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires*, 11-14 November 1996, Rabat, Maroc, Ezzahiri B., Al Yamani A., Farih A., El Yamani M., (Eds.), Rabat, INRA, 390 p.
- Feldman, M. 2001. The origin of cultivated wheat. In: Bonjean A.P., Angus, W.J., eds. *The wheat book: a history of wheat breeding*. Lavoisier Publishing, Paris, pp. 3-56.
- Ferjaoui, S., Sbei, A., Aouadi, N., and Hamza, S. 2011. Monogenic inheritance of resistance to *Septoria tritici* blotch in durum wheat 'Agili'. *International Journal of Plant Breeding*. 5: 17-20.
- Fitt, B. D. L., McCartney, H. A. and Walklate, P. J. 1989. The role of rain in dispersal of pathogen inoculum. *Annual Review of Phytopathology*. 27: 241-270.
- Fitzgerald, W., and Cooke, B. M. 1989. Spore germination and pycnidial development in wheat and barley isolates of *Septoria nodorum* on cellulose film. In: III International workshop on *Septoria* species of cereals. Dublin, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture 4.
- Fones, H., and Gurr, S. 2015. The impact of *Septoria tritici* Blotch disease on wheat: An EU perspective. *Fungal Genetics Biology*. 79:3-7.
- Fones, H.N., Eyles, C.J., Kay, W., Cowper, J., and Gurr, S.J. 2017. A role for random, humidity dependent epiphytic growth prior to invasion of wheat by *Zymoseptoria tritici*. *Fungal Genetics and Biology* 106 : 51-60.
- Fraaije, B. A., Lucas, J. A., Clark, W. S. and Burnett, F. J. 2003. QoI resistance development in populations of cereal pathogens in the UK. In: *The BCPC International Congress - Crop Science and Technology*, 689-694.

- Fraaije, B. A., Cools, H. J., Fountaine, J., Lovell, D. J., Motteram, J., West, J. S., and Lucas, J. A. 2005. Role of ascospores in further spread of QoI-resistant cytochrome b alleles (G143A) in field populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology*. 95(8): 933-941.
- Frank, S.A.1996. Models of parasite virulence. *Quarterly Review of Biology* 71:37-78.
- Fuckel, L. 1865. *Fungi Rhenani Exsiccati Cent.* 15-16: 1401-1600.
- Garcia, C., and Marshall, D. 1992. Observations on the ascogenous stage of *Septoria tritici* in Texas. *Mycological Research*. 96: 65-70.
- Ghaneie, A., Mehrabi, R., Safaie, N., Abrinbana, M., Saidi, A., and Aghae, M. 2012. Genetic variation for resistance to *Septoria tritici* blotch in Iranian tetraploid wheat landraces. *European Journal of Plant Pathology*. 132: 191-202.
- Gisi, U., Hermann, D., Ohl, L., and Steden, C. 1997. Sensitivity profiles of *Mycosphaerella graminicola* and *Phytophthora infestans* populations to different classes of fungicides. *Pesticide Science*, 51: 290-298.
- Gisi, U., Sierotzki, H., Cook, A., and McCaffery, A. 2002. Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. *Pest Management Science* 58. 859-67.
- Gisi, U., Pavic, L., Stanger, C., Hugelshofer, U. and Sierotzki, H. 2005. Dynamics of *Mycosphaerella graminicola* populations in response to selection by different fungicides. In: *Modern Fungicides and Antifungal Compounds IV*. Dehne, H.W., Gisi, U., Kuck, K.H., Russell, P.E. and Lyr, H.,eds, pp. 89-101. Alton, UK: BCPC.
- Golabadi, M. A., Arzani, S. A., and Maibody, M. 2006. Assessment of drought tolerance in segregating populations in durum wheat. *African Journal of Agricultural Research*. 1(5): 62-171.
- Goodwin, S. B. 2007. Back to basics and beyond: increasing the level of resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat. *Australian Plant Pathology*. 36: 532-538.
- Goodwin, S. B, Cavaletto, J.R., Lowe, I., Thompson, I., Xu, S. X., Adhikari, T. B., and Dubcovsky, J. 2008. Validation of a new map location for the *Stb3* gene for resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat. 7th International *Mycosphaerella* and *Stagonospora* Symposium, August 18-22, Ascona, Switzerland.
- Goodwin, S. B., and Thompson, I. 2011. Development of Isogenic Lines for Resistance to *Septoria Tritici* Blotch in Wheat. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 47 (Special Issue): 98-101.
- Gough, F. J. and Lee T. S. 1985. Moisture effects on the discharge and survival of conidia of *Septoria tritici*. *Phytopathology*. 75: 180-182.
- Griffiths, E., and Ao, H. C. 1980. Variation in *Septoria nodorum*. *Annual Review of Applied Biology*. 94: 294-296.
- Hadany, L., and Feldman, M. W. 2005. Evolutionary traction: the cost of adaptation and the evolution of sex. *Journal of Evolutionary Biology*. 18:309-314.
- Halama, P. 1996. The occurrence of *Mycosphaerella graminicola*, teleomorph of *Septoria tritici* in France. *Plant Pathology* 45: 135-138.
- Halama P et Sayde, C. 2001. Etude préliminaire à l'obtention de la forme sexuée de *Mycosphaerella graminicola* et à l'expression enzymatique de *septoria tritici*. *Annales de recherche scientifique* 3 :107-117.
- Halperin, T., Schuster, S., Pnini-Cohen, S., Zilberstein, A., and Eyal, Z. 1996. The suppression of pycnidial production on wheat seedlings following sequential inoculation by isolates of *Septoria tritici*. *Phytopathology*. 86: 728-732.

- Hammi, A., Bennani, A., El Ismaili, A., Msatef, Y., and Serrhini, M.N. 2001. Production and germination of oospores of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Morocco. *European Journal of Plant Pathology*. 107: 553-556.
- Hanson, K., and Shattock, R.C. 1998. Formation of oospores of *Phytophthora infestans* in cultivars of potato with different levels of race nonspecific resistance. *Plant Pathology*. 47: 123-129.
- Hardwick, N. V. 1998. Whither or whither extension plant pathology? *Plant Pathology*. 47 : 379-393.
- Hardwick, N.V., Jones, D.R., and Slough, J.E. 2001. Factors affecting disease of winter wheat in England and Wales, 1989–98. *Plant Pathology*. 50: 453-62.
- Harrat, W. 2016. Diversité phénotypique et génotypique de *Mycosphaerella graminicola* (=Zymoseptoria tritici) agent de la septoriose du blé en Algérie. Thèse de Doctorat, E.N.S.A. (El Harrach). 109 p.
- Harris, D. R. 1998. The origins of agriculture in south west Asia. *Review of Archaeology*. 19: 5-11.
- Hattab-Touati, S. 2005. Etude de la septoriose du blé due à *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt. en Algérie : Spécialisation parasitaire et pouvoir pathogène. Mémoire de Magister, E.N.S.A. (El Harrach). 95p.
- Hawksworth, D. L., Crous, P. W., Redhead, S. A., Reynolds, D. R., and Samson, R. A. 2011. The Amsterdam Declaration on Fungal Nomenclature. *IMA Fungus* 2: 105-112.
- Heaney, S. P., Hall, A. A., Davies, S. A., and Olaya, G. 2000. Resistance to fungicides in the QoI STAR cross resistance group: current perspectives. *Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference – Pests & Diseases*, pp. 755-762.
- Henchion, M., Hayes, M., Mullen, A. M., Fenelon, M. and Tiwari, B. 2017. Future protein supply and demand: strategies and factors influencing a sustainable equilibrium. *Foods*. 6(7): 53.
- Henze, M., Beyer, M., Klink, H., and Verreet, J.A. 2007. Characterizing meteorological scenarios favorable for *Septoria tritici* infections in wheat and estimation of latent periods. *Plant Disease*. 91: 1445-1449.
- Hillman, G. C. 1996. Late Pleistocene changes in wild plant- foods available to hunter-gatherers of the Northern Fertile Crescent: possible preludes to cereal cultivation, in Harris (ed.). 159-203.
- Hilu, H. M. and Bever, W. M. 1957. Inoculation, oversummering, and susceptible pathogen relationship of *Septoria tritici* on triticum species. *Phytopathology*, 47: 474-480.
- Holmes, S. J. I., and Colhoun, J. 1975. Straw-borne inoculum of *septoria nodorum* and *Septoria tritici* in relation to incidence of disease on wheat plants. *Plant Pathology*. 24: 63-66.
- Hood, M.E. 2003. Dynamics of multiple infection and within-host competition by the anther-smut pathogen. *American Naturalist*. 162: 122-133.
- Hoorne, C., Lamari, L., Ballance, G. M., and Gilbert, J. 2002. First report of *Mycosphaerella graminicola*, the sexual state of *Septoria tritici*, in Manitoba, Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 24: 445-449.
- House, G.J., Brust, G.E. 1989. Ecology of Low-Input, No-Tillage Agroecosystems. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 27: 331-345.
- Huang, S.A., Sirikhachornkit, X. S., Faris, J., Gill, B. S., Haselkorn, R., and Gornicki, P. 2002. Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the Triticum/Aegilops complex and the evolutionary history of polyploid wheat. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 99: 8133-8138.
- Hunter, R., Coker, R. R., and Royle, D. J. 1999. The teleomorph stage, *Mycosphaerella graminicola*, in epidemics of *Septoria tritici* blotch on winter wheat in UK. *Plant Pathology*. 48: 51-57.

- Inagaki, M., Mori, M., and Nachit, M. 2009. Effect of a strobilurin-class fungicide on water use in synthetic bread wheat genotypes grown under increasing water deficit conditions. *Cereal Research Communications*. 37: 513-519.
- INPV (Institut National de Protection des Végétaux, Comité des céréales). 2016. Evaluation de l'encadrement des céréales durant le période 2010-2015. *Céréaliculture*. 66: 29-36.
- INSID (Institut National des Systèmes d'Irrigation et de Drainage). 2015. Bulletin agrométéorologique, Campagnes 2012-2013, 2013-2014.
- Jlibene, M., Gustafson, J.P., Rajaram, M.S. 1994. Inheritance of resistance to *Mycosphaerella graminicola* in hexaploid wheat. *Plant Breeding*. 112: 301-310.
- Jlibene, M. 1996. Etat des recherches sur la septoriose au Maroc. In: Ezzahiri, B., Lyamani, A., Farih, A., El Yamani, M. (Eds.). *Proceedings du Symposium Régional sur les Maladies des Céréales et des Légumineuses Alimentaires*, 11-14 novembre 1996. Maroc, Rabat, INRA, pp 203-207.
- Johnson, R. 1992. Past, present and future opportunities in breeding for disease resistance, with examples from wheat. *Euphytica* 63: 3-22.
- Jørgensen, L. N., Hovmøller, M. S., Hansen, J. G., Lassen, P., Clark, B., Bayles, R., *et al.* (2014). IPM Strategies and Their dilemmas including an introduction to www.eurowheat.org. *J. Integr. Agric.* 13, 265-281.
- Kema, G. H. J., Annone, J. G., Sayoud, R., van Silfhout, C. H., van Ginkel, M., and de Bree, J. 1996a. Genetic variation for virulence and resistance in the wheat-*Mycosphaerella graminicola* pathosystem. 1. Interactions between pathogen isolates and host cultivars. *Phytopathology*. 86:200-212.
- Kema, G. H. J., Sayoud, R., Annone, J. G., and van Silfhout, C. H. 1996b. Genetic variation for virulence and resistance in the wheat-*Mycosphaerella graminicola* pathosystem. 2. Analysis of interactions between pathogen isolates and host cultivars. *Phytopathology*. 86: 213–220.
- Kema, G. H. J., Verstappen, E. C. P., Todorova, M., and Waalwijk, C. 1996c. Successful crosses and molecular tetrad and progeny analyses demonstrate heterothallism in *Mycosphaerella graminicola*. *Current Genetics*. 30: 251-258.
- Kema, G. H. J., and van Silfhout, C. H. 1997. Genetic variation for virulence and resistance in the wheat *Mycosphaerella graminicola* pathosystem. 3. Comparative seedling and adult plant experiments. *Phytopathology*. 87: 266-272.
- Kema, G. H. J., Verstappen, E. C. P., and Waalwijk, C. 2000. Avirulence in the wheat *Septoria tritici* leaf blotch fungus *Mycosphaerella graminicola* is controlled by a single locus. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 13: 1375-1379.
- Kema, G.H.J., Mirzadi Gohari, A., Aouini, L., Gibriel, H.A.Y., Ware, S.B., van den Bosch, F., Manning-Smith, R., Alonso-Chavez, V., Helps, J., Ben M'Barek, S., *et al.* 2018. Stress and sexual reproduction affect the dynamics of the wheat pathogen effector AvrStb6 and strobilurin resistance. *Nature Genetics* 50: 375-380.
- Keon, J., Antoniw, J., Carzaniga, R., Deller, S., Ward, J. L., Baker, J. M., Beale, M. H., Hammond-Kosack, K., and Rudd, J. J. 2007. Transcriptional adaptation of *Mycosphaerella graminicola* to programmed cell death (PCD) of its susceptible wheat host. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 20: 178–193.
- Khlestkina, E. K., and Salina, E. A. 2001. Genome-specific markers of tetraploid wheats and their putative diploid progenitor species. *Plant Breeding*. 120: 227-232.
- King, J. E., Jenkins, J. E. E., and Morgan, W. A. 1983. The estimation of yield losses in wheat from severity of infection by *Septoria* species. *Plant pathology*. 32: 239-249.
- Kolmer, J.A. 1996. Genetics of resistance to wheat leaf rust. *Annual Review of Phytopathology*. 34: 435-455.
- Komugi. 2011. Wheat Genetic Resources Database, <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/>.

- Kozłowski, J. 1992. Optimal allocation of resources to growth and reproduction – implications for age and size at maturity. *Trends of Ecology Evolution*. 7: 15-19.
- Krattinger, S. G., and Keller, B. 2016. Molecular genetics and evolution of disease resistance in cereals. *New Phytologist*. 212: 320-332.
- Krupinsky, J. M. 1999. Influence of cultural practices on *Septoria/Stagonospora* diseases. p. 105-110. In M. van Ginkel et al. (ed.) *Septoria and Stagonospora* diseases of cereals. A compilation of global Research. CIMMYT, México DF, México.
- L'Herbier, C. 2014. Le marché du blé dur : service agronomie- Economie-Environnement. (ed.) ARVALIS. 79 : 25.
- Lannou C. 2012. Variation and selection of quantitative traits in plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*. 50: 319-338.
- Laumont, P. et Erroux, J. 1962. Les blés tendres cultivés en Algérie. *Annales de l'Ecole Nationale d'Agriculture*. 3: 1-60.
- Leroux, P., Gredt, M., Walker, A. S., Moinard, J. M. and Caron, D. 2005. Resistance of the wheat leaf blotch pathogen *Septoria tritici* to fungicides in France. In: *Modern Fungicides and Antifungal Compounds IV* (Dehne, H.W., Gisi, U., Kuck, K.H., Russell, P.E. and Lyr, H., eds), pp. 115–124. Alton, UK: BCPC.
- Leroux, P., Walker, A. S., Albertini, C., and Gredt, M. 2006. Resistance to fungicides in French populations of *Septoria Tritici*, the causal agent of wheat leaf blotch. In Bryson R.J., Burnett F.J., Foster V., Fraaije B.A., & K. R. (Eds.), *Aspects of Applied Biology. Fungicide Resistance: Are we winning the battle but losing the war ?*, Edinburgh. Warwick: Warwick HRI. 78: 153-162.
- Leroux, P., Albertini, C., Gautier, A., Gredt, M. and Walker, A. S. 2007. Mutations in the CYP51 gene correlated with changes in sensitivity to sterol 14(-demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science*. 63: 688-698.
- Lindhout, P. 2002. The perspectives of polygenic resistance in breeding for durable disease resistance. *Euphytica*. 124: 217-226.
- Liu, Y., Zhang, L., Thompson, I. A., Goodwin, S. B., and Ohm, H. W. 2013. Molecular mapping re-locates the Stb2 gene for resistance to *Septoria tritici* blotch derived from cultivar Veranopolis on wheat chromosome 1BS. *Euphytica* 190: 145-156.
- Lord, C.C., Barnard, B., Day, K., Hargrove, J.W., McNamara, J.J., *et al.* 1999. Aggregation and distribution of strains in microparasites. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 354: 799-807.
- Loughman, R., and Thomas, G. 1992. Fungicide and cultivar control of *Septoria* diseases of wheat. *Crop Protection*. 11: 349-354.
- Lovell, D. J., Parker, S. R., Hunter, T., Welham, S. J., and Nichols, A. R. 2004. Position of inoculum in the canopy affects the risk of *septoria tritici* blotch epidemics in winter wheat. *Plant Pathology*. 53: 11-21.
- MacKey, J. 2005. Wheat: its concept, evolution, and taxonomy. In: Royo C, Nachit MM, Di Fonzo N, Araus JL, Pfeiffer WH, Slafer GA (eds) *Durum wheat breeding: current approaches and future strategies*. Food Products Press, New York, pp 3-61.
- Madariaga, B.R. 1986. Occurrence in Chile of *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroeter, teleomorph of *Septoria tritici* Rob. ex Desm. *Agricultura Tecnica*. 46: 209-211.
- Madden, L.V., Hughes, G., and van den Bosch, F. 2007. *The Study of Plant Disease Epidemics*, St. Paul, MN: APS Press.

- Mavroeidi, V. I. and Shaw, M. W. 2005. Sensitivity distributions and cross resistance patterns of *Mycosphaerella graminicola* to fluquinconazole, prochloraz and azoxystrobin over a period of 9 years. *Crop Protection*. 24: 259-266.
- Mbarek, K. B., and Teixeira-da Silva, J. A. 2011. Infection effects of *Septoria* leaf blotch on grain yield and its components of three bread wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.). *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*. 5 (Special Issue 2): 80-85.
- McCartney, C. A., Brûlé-Babel, A. L., and Lamari, L. 2002. Inheritance of race-specific resistance to *Mycosphaerella graminicola* in wheat. *Phytopathology* 92: 138-144.
- McCartney, C. A., Brule-Babel, A. L., Lamari, L., and Somers, D. J. 2003. Chromosomal location of a race-specific resistance gene to *Mycosphaerella graminicola* in the spring wheat ST6. *Theoretical and Applied Genetics*. 107: 1181-6.
- McDonald, B. A., Zhan, J., and Burdon, J. 1999. Genetic structure of *Rhynchosporium secalis* in Australia. *Phytopathology*. 89: 639-645.
- McDonald, C. C., and Linde, C. 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology*. 40: 349-379.
- McIntosh, R.A., and Brown, G.N. 1997. Anticipatory breeding for resistance to rust diseases in wheat. *Annual Review of Phytopathology* 35: 311-326.
- McIntosh, R. A., Devos, K.M., Dubcovsky, J., Rogers, W. J., Morris, C. F., Appels, R., Somers, D. J., and Anderson, O. A. 2007. Catalogue of gene symbols for wheat: 2007 Supplement (2009-10-2), <http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/awn/53/Textfiles/WGC.html>.
- Medini, M., Ferdjaoui, S., Bahri, B., Mhri, W., Hattab, S., and Hamza, S. 2014. Bulk segregant analysis and marker-trait association reveal common AFLP markers for resistance to septoria leaf blotch in Tunisian old durum wheat. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement*. 18 (1): 3-10.
- Mehrabi, R., and Kema, G. H. 2006. Protein kinase A subunits of the ascomycete pathogen *Mycosphaerella graminicola* regulate asexual fructification, melanization and osmosensing. *Molecular Plant Pathology*. 7: 565-577.
- Metha, Y.R. 1989. Occurrence of *Septoria tritici* and its perfect state in Brazil. In: *International Workshop on Septoria Diseases of Cereals 3*. Zurich. Proceedings. Zurich: Swiss Federal Research Station for Agronomy. pp. 34-35.
- Milisaukas, S. 2011. *European Prehistory: A Survey*, 2nd Edition. New York: Academic Press.
- Mirzwa Mróz, E., Tvarůšek, L., aw Zamorski, C., and Nowicki, B. 2005. Research on the development of *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroeter teleomorph on wheat leaves from Poland and Czech Republic. *Acta Agrobotanica*. 58 (1): 59-65.
- Moragues, M., Moralejo, M., Sorrells, M. E., and Royo, C. 2007. Dispersal of durum wheat landraces across the Mediterranean basin assessed by AFLPs and microsatellites. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 54: 1133-1144.
- Morais, D. 2015. Les déterminants des phases épidémiques précoces de la septoriose du blé (*Zymoseptoria tritici*) : quantité, efficacité et origine de l'inoculum primaire. Thèse de Doctorat, AgroParisTech, France. 206 p.
- Morais, D., Laval, V., Sache, I., and Suffert, F. 2015. Comparative pathogenicity of sexual and asexual spores of *Zymoseptoria tritici* (*Septoria tritici* blotch) on wheat leaves. *Plant Pathology*. 64: 1429-1439.
- Morais, D., Laval, V., Sache, I., and Suffert, F. 2016. Inferring the origin of primary inoculum of *Zymoseptoria tritici* from differential adaptation of resident and immigrant populations to wheat cultivars. *European Journal of Plant Pathology*. 145: 393-404.

- Mundt, C. C., Hoffer, M. E., Ahmed, H. U., Coakley, S. M., DiLeone, J. A., and Cowger, C. 1999. Population genetics and host resistance. In: Lucas JA, Bowyer P, Anderson HM, eds. *Septoria* on Cereals: A Study of Pathosystems. CAB International, Wallingford, 115-130.
- Mundt, C. C. 2002. Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annual Review of Phytopathology*. 40: 381-410.
- Mundt, C. C. 2014. Durable resistance: a key to sustainable management of pathogens and pests. *Infection, Genetics and Evolution*. 27: 446-455.
- Naouari, M., Siah, A., Elgazzah, M., Reignault, P., and Halama, P. 2013. *Mycosphaerella graminicola* is Still Fully Sensitive to Strobilurin Fungicides. *Journal of Agricultural Science and Technology A*. 3: 955-959.
- Narvaez, I. M., and Caldwell, R. M. 1957. Inheritance of resistance of leaf blotch of wheat caused by *Septoria tritici*. *Phytopathology*. 47: 529.
- Nazco, R., Villegas, D., Ammar, K., Javier Peña, R., Moragues, M., and Royo, C. 2012. Can Mediterranean durum wheat landraces contribute to improved grain quality attributes in modern cultivars? *Euphytica*. 185:1-17.
- Ni, M., Feretzaki, M., Sun, S., Wang, X., and Heitman, J. 2011. Sex in Fungi. *Annual Review of Genetics*. 45: 405-430.
- O'Driscoll, A.O., Kildea, S., Doohan, F., Spink, J., and Mullins, E. 2014. The wheat–*Septoria* conflict: a new front opening up? *Trends Plant Science*. 19: 602-610.
- ONFAA (Office National des Filières Agro-Alimentaires). 2016. Bilan du commerce extérieur des céréales.<http://onfaa.inraa.dz/images/doconfaa/Bilan%20cereales%202016.pdf>.
- ONFAA. 2017. Suivi de campagne, Céréales. Note de conjoncture, N°5 (Juillet 2017).
- Orton, E. S., Deller, S., and Brown, J. K. 2011. *Mycosphaerella graminicola*: from genomics to disease control. *Molecular Plant Pathology*. 12: 413-424.
- Osburn, A. E., Scott, P. R., Caten, C. E. 1987. The effects of host passaging on the adaptation of *Septoria nodorum* to wheat on barley. *Plant Pathology*. 35: 135-145.
- Palmer, C., and Skinner, W. 2002. *Mycosphaerella graminicola*: latent infection, crop devastation and genomics. *Molecular Plant Pathology*. 3: 63-70.
- Pariaud, B., van den Berg, F., van den Bosch, F., Powers, S.J., Kaltz, O., and Lannou, C. 2013. Shared influence of pathogen and host genetics on a trade-off between latent period and spore production capacity in the wheat pathogen, *Puccinia triticina*. *Evol. Appl.* 6: 303-312.
- Parker, S.R., Welham, S., Paveley, N. D., Foulkes, J., and Scott, R. K. 2004. Tolerance of septoria leaf blotch in winter wheat. *Plant Pathology*. 53 : 1-10.
- Pasco, C., Montarry, J., Marquer, B., and Andrivon, D. 2015. And the nasty ones lose in the end: foliar pathogenicity trades off with asexual transmission in the Irish famine pathogen *Phytophthora infestans*. *New Phytologist*. 209: 334-342.
- Pastircak, M. 2005. Occurrence of *Mycosphaerella graminicola*, teleomorph of *Septoria tritici*, in Slovakia. *Phytoparasitica* 33(4):377-379.
- Pedersen, E. A. 1989. Epidemiology of the *septoria* diseases of wheat. M.Sc. thesis. Department of Crop Science and Plant Ecology, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canada.
- Perrin, N., and Sibly, R.M. 1993. Dynamic-models of energy allocation and investment. *Annual Review of Ecological Systems*. 24: 379-410.

- Person, C. 1959. Gene-for-gene relationships in host: parasite systems. *Canadian Journal of Botany* 37: 1101-1130.
- Poland, J.A., Balint-Kurti, P.J., Wisser, R.J., Pratt, R.C., and Nelson R.J. 2009. Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends in Plant Science*. 14: 21-29.
- Polley, R.W. and Thomas, M. R. 1991. Surveys of disease of wheat in England and Wales, 1976-1988. *Annals of Applied Biology*. 119: 1-20.
- Ponomarenko A., Goodwin, S.B. and Kema, G.H.J. 2011. *Septoria tritici* blotch (STB) of wheat. *Plant Health Instructor*.10p.
- Quaedvlieg, W., Kema, G.H.J., Groenewald, J.Z., Verkley, G.J.M., Seifbarghi, S., Razavi, M., Gohari, A.M., Mehrabi, R., and Crous, P.W. 2011. *Zymoseptoria* gen. nov.: a new genus to accommodate *Septoria*-like species occurring on graminicolous hosts. *Persoonia* 26: 57-69
- Quaedvlieg, W., Verkley, G.J.M., Shin, H.D., Barreto, R.W., Alfenas, A.C., et al. 2013. Sizing up *Septoria*. *Studies in Mycology* 75: 307-390.
- Rachedi, M. 2003. Les céréales en Algérie, problématique et option de réforme. *Céréaliculture* 38: 1-7.
- Ranieri, R. 2015. Geography of the durum wheat crop. *Pastaria International*. 6: 24-36.
- Rastoin, J.L, and Benabderrazik, H. 2014. Céréales et oléoprotéagineux au Maghreb: pour un codéveloppement de filières territorialisées.
- Read, A.F., and Taylor, L.H. 2001. The ecology of genetically diverse infections. *Science* 292: 1099-1102.
- Riley, E.A. 1960. A revised list of plant diseases in Tanganyika territory. *Mycological Papers No. 75*. Kew Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute. 42pp.
- Rillo, A.O., and Caldwell, R.M. 1966. Inheritance of resistance to *Septoria tritici* in *Triticum aestivum* subsp. vulgare 'Bulgaria 88'. *Phytopathology*. 56: 897.
- Risser, P., Ebmezer, E., Korzun, V., Hartl, L., and Miedaner, T. 2011. Quantitative trait loci for adult-plant resistance to *Mycosphaerella graminicola* in two winter wheat populations. *Phytopathology*. 101(10): 1209-1216.
- Royo, C., Álvaro, F., Martos, V., Ramdani, A., Isidro, J., Villegas, D., and Del Moral, L.F.G. 2007. Genetic changes in durum wheat yield components and associated traits in Italian and Spanish varieties during the 20th century. *Euphytica* 155:259-270.
- Royo, C., Nazco, R., and Villegas, D. 2014. The climate of the zone of origin of Mediterranean durum wheat (*Triticum durum* Desf.) landraces affects their agronomic performance. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 61:1345-1358.
- Rudd, J.J., Keon, J., and Hammond-Kosack, K.E. 2008. The wheat mitogen-activated protein kinases TaMPK3 and TaMPK6 are differentially regulated at multiple levels during compatible disease interactions with *Mycosphaerella graminicola*. *Plant Physiology*. 147: 802–815.
- Rudd, J.J. 2015. Previous bottlenecks and future solutions to dissecting the *Zymoseptoria tritici*- wheat host-pathogen interaction. *Fungal Genetics and Biology* 79:24-28
- Saadaoui, E.M. 1975. Contribution à l'étude des septorioses du blé au Maroc. Mém. 3ème Cycle, Inst. Agro. Vét. Hassan II, Rabat, Maroc, 40 p.
- Saari, E. E., Wilcoxson, R. D. 1974. Plant disease situation of high-yielding dwarf wheats in Asia and Africa. *Annual Review of Phytopathology*. 12:49-68.

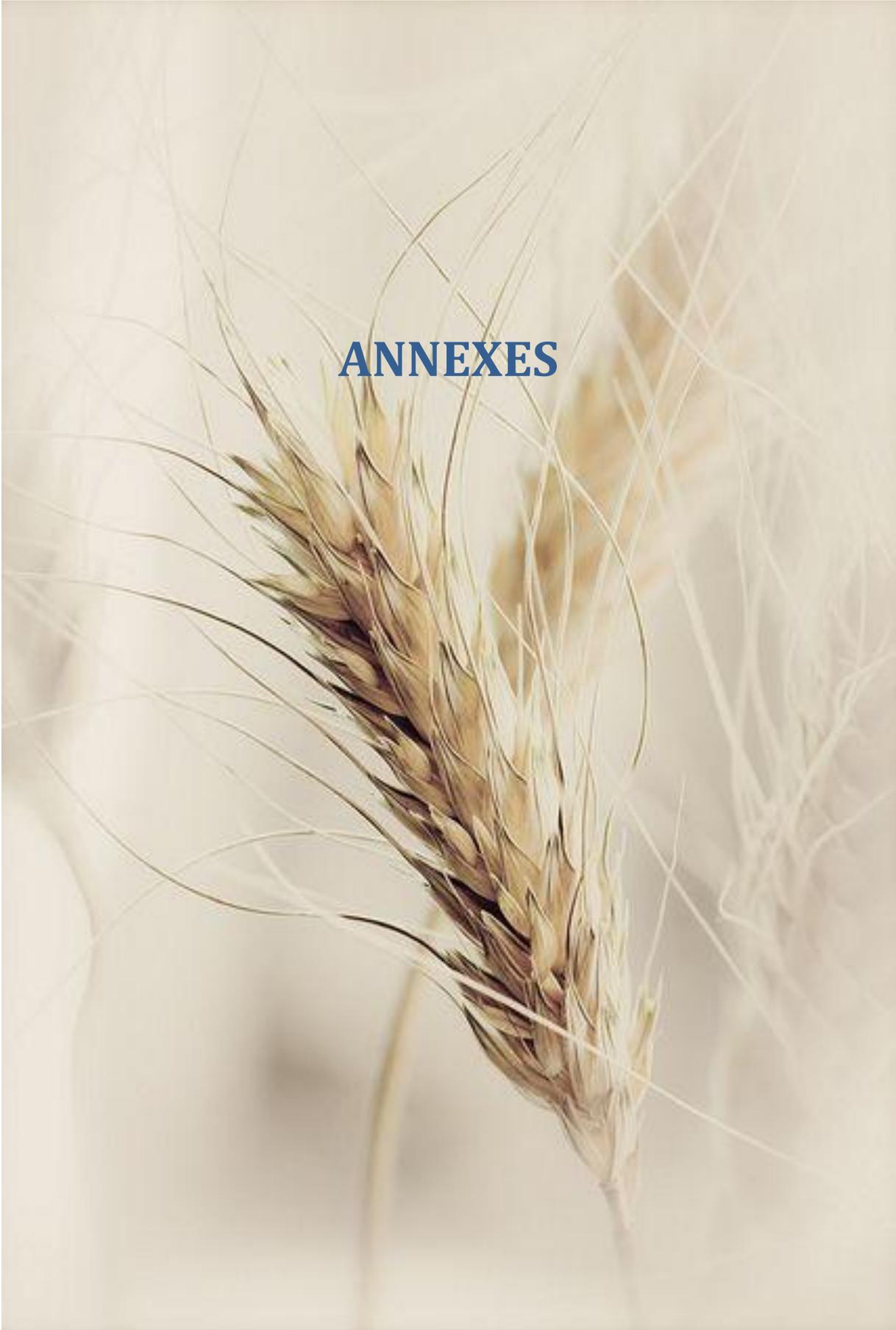
- Saari, E.E., and Prescott, J.M. 1975. A scale for appraising the foliar intensity of wheat disease. *Plant Disease Report*. 59: 377-380.
- Saintenac, C., Lee, W.S., Cambon, F., Rudd, J.J., King, R.C., Marande, W., Powers, S.J., Berges, H., Phillips, A.L., Uauy, C., et al. 2018. Wheat receptor-kinase-like protein *Stb6* controls gene-for-gene resistance to fungal pathogen *Zymoseptoria tritici*. *Nature Genetics* 50: 368-374.
- Saint-Jean, S., Chelle, M., and Huber, L. 2004. Modelling water transfer by rain-splash in a 3D canopy using Monte Carlo integration. *Agricultural and Forest Meteorology* 121: 183-196.
- Sanderson, F. R. 1972. A *Mycosphaerella* species as the ascogenous state of *Septoria tritici* Rob. and Desm. *New Zealand Journal of Botany*. 10:707-710.
- Sanderson, F.R. 1976. *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Sanderson comb. Nov., the ascogenous state of *Septoria tritici* Rob. ex Desm. *New Zealand Journal of Botany*. 14: 359-360.
- Sanderson, F.R., Scharen, A.L., and Scott, P.R. 1985. Sources and importance of primary infection and identities of associated propagules. pp. 57-64 in A.L. Scharen, ed. *Septoria of Cereals*. Proc. Workshop, August 2-4, 1983, Bozeman, MT. USDA-ARS Publ. No. 12. 116 pp.
- Sayoud, R. 1995. Possible specialization of *Mycosphaerella graminicola* on durum wheat in Algeria. In: Proceedings of a *Septoria tritici* Workshop, Gilchrist, S., Van Ginkel, M., McNab, A. and Kema, G.H.J. (eds). CIMMYT, Mexico, D.F., p. 51.
- Sayoud, R., et Benbelkacem, K. 1996. Situation des maladies des céréales en Algérie. Proceeding du Symposium sur les Maladies des Céréales et de Légumineuses Alimentaires. 11-14 Novembre 1996, Rabat, Maroc.
- Sayoud, R., Ezzahiri, B., and Bouznad, Z. 1999. Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. ITGC, Alger. 64pp.
- Scharen, A.L. 1999. Biology of the *Septoria/Stagonospora* Pathogens: An Overview. In: Van Ginkel, M., McNab, A., Krupinsky, J. (Eds.). *Septoria and Stagonospora Diseases of cereals: A compilation of global research*. Mexico, D.F.: CIMMYT, pp. 19-22.
- Schiff, C. L., Wilson, I. W., and Somerville, S. C. 2001. Polygenic powdery mildew disease resistance in *Arabidopsis thaliana*: quantitative trait analysis of the accession Warschau-1. *Plant Pathology* 50, 690-701.
- Schluter, K., and Janati, A. 1976. Les septorioses du blé au Maroc. *Phytopathologia Mediterranea* 15: 7-13.
- Schröter, J. 1894. *Kryptogamen-Flora von Schlesien*. 3-2(9): 257-384.
- Scott, P.R., Sanderson, F.R., and Benedikz, P.W. 1988. Occurrence of *Mycosphaerella graminicola*, teleomorph of *Septoria tritici*, on wheat debris in the UK. *Plant Pathology*. 37: 285-290.
- Serrago, R.A., Carretero, R., Bancal, M.O., and Miralles, D.J. 2009. Foliar diseases affect the eco-physiological attributes linked with yield and biomass in wheat (*Triticum aestivum* L.). *European Journal of Agronomy*. 31: 195-203.
- Shaner, G., and Finney, R.E. 1976. Weather and epidemics of septoria leaf blotch of wheat. *Phytopathology*. 66: 781-785.
- Shaner, G., and Finney, R.E. 1982. Resistance in soft red winter wheat to *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology*. 72: 154-158.
- Shaw, M.W., Royle, D.J. 1989. Airborne inoculum as a major source of *Septoria tritici* (*Mycosphaerella graminicola*) infections in winter wheat crops in the UK. *Plant Pathology*. 38: 35-43.
- Shaw, M.W. 1990. Effects of temperature, leaf wetness and cultivar on the latent period of *Mycosphaerella graminicola* on winter wheat. *Plant Pathology*, 39, 255-268.

- Shaw, M.W. and Royle, D.J. 1993. Factors determining the severity of epidemics of *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) on winter wheat in the UK. *Plant Pathology*. 42: 882-899.
- Shetty, N. P., Kristensen, B. K., Newman, M. A., Moller, K., Gregersen, P. L. and Jorgensen, H. J. L. 2003. Association of hydrogen peroxide with restriction of *Septoria tritici* in resistant wheat. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 62: 333-346.
- Shipton, W.A., Boyd, W.J.R., Rosielle, A.A., and Shearer, B.L. 1971. The common *Septoria* diseases of wheat. *Botanical Review*. 27: 231-262.
- Shoemaker, R.A., and Babcock, C. E. 1989. *Phaeosphaeria*. *Canadian Journal of Botany*. 67: 1500-1599.
- Siah, A., Deweer, C., Morand, E., Reignault, P., and Halama, P. 2010a. Azoxystrobin resistance of French *Mycosphaerella graminicola* strains assessed by four in vitro bioassays and by screening of G143A substitution. *Crop Protection*. 29: 737-743.
- Siah, A., Tisserant, B., Chartouni, L.E., Duyme, F., Deweer, C., Roisin-Fichter, C., Sanssene, J., Durand, R., Reignault, P., and Halama, P. 2010b. Mating type idiomorphs from a French population of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*: widespread equal distribution and low but distinct levels of molecular polymorphism. *Plant Pathology*. 59: 661-670.
- Siah, A., Elbekali, A.Y., Ramdani, A., Reignault, P., Torriani, S.F.F., Brunner, P.C., and Halama, P. 2014. QoI resistance and mitochondrial genetic structure of *Zymoseptoria tritici* in Morocco. *Plant Disease*. 98:1138-1144.
- Sierotzki, H., Parisi, S., Steinfeld, U., Tenzer, I., Poirey, S., and Gisi, U. 2000. Mode of resistance to respiration inhibitors at the cytochrome bc1 enzyme complex of *Mycosphaerella fijiensis* field isolates. *Pest Management Science*. 56:833-841.
- Simón, M. R., and Cordo, C. A. 1998. Diallele analysis of four resistance components to *Septoria tritici* in six crosses of wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Breed*. 117:123-126.
- Simón, M. R., Cordo, C.A., Castillo, N.S., Struik, P. C., and Börner, A. 2012. Population structure of *Mycosphaerella graminicola* and location of genes for resistance to the pathogen: recent advances in Argentina. *International Journal of Agronomy*. vol. 2012, Article ID 680275, 7 pages.
- Sivanesan, A. 1984. The bitunicate Ascomycetes and their anamorphs. *J. Cramer, Vaduz, Lichtenstein*. pp. 182-241.
- Somai-Jemmali, L., Selim, S., Siah, A., and Hamada, W. 2014. Fungicide sensitivity of *Mycosphaerella graminicola* Tunisian isolates: The importance of drug transporter genes in the process of fungicide tolerance. *Phytopathologia Mediterranea*. 53: 83-93.
- Somai-Jemmali, L. 2015. Stimulateurs des défenses naturelles du blé dur en Tunisie et du blé tendre en France contre la septoriose causée par *Zymoseptoria tritici*. Thèse de Doctorat. Université du Littoral Côte d'Opale. France. pp. 221
- Somasco, O. A., Qualset, C. O., and Gilchrist, D. G. 1996. Single-gene resistance to *Septoria tritici* blotch in the spring wheat cultivar 'Tadina'. *Plant Breeding*. 115: 261-267.
- Soriano, J. M., Malosetti, M., Rosello, M., Sorrells, M. E., and Royo, C. 2017. Dissecting the old Mediterranean durum wheat genetic architecture for phenology, biomass and yield formation by association mapping and QTL meta-analysis. *PLoS ONE*. 12(5): e0178290.
- Sprague, R. 1938. The status of *Septoria graminum*. *Mycologia*. 30:672-678.
- Stammler, G., Taher, K., Koch, A., Haber, J., Liebmann, B., Bouagila, A., Yahyaoui, A., and Nasraoui, B. 2012. Sensitivity of *Mycosphaerella graminicola* isolates from Tunisia to epoxiconazole and pyraclostrobin. *Crop Protection*. 34: 32-36.

- Steinberg, G. 2015. Cell biology of the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. Fungal Genetics and Biology. 79: 17-23.
- Stergiopoulos, I., van Nistelrooy, J.G.M., Kema, G.H.J. and De Waard, M.A. 2003. Multiple mechanisms account for variation in base-line sensitivity to azole fungicides in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. Pest Management Science. 59: 1333-1343.
- Stromberg, A., Bostrom, U. and Hallenberg, N. 2001. Oospore germination and formation by the late blight pathogen *Phytophthora infestans* in vitro and under field conditions. Journal of Phytopathology. 149: 659-664.
- Stukenbrock, E. H., Banke, S., Javan-Nikkhah, and McDonald, B. A. 2007. Origin and domestication of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* via sympatric speciation. Molecular Biology and Evolution. 24: 398-411.
- Stukenbrock, E. H., Quaedvlieg, W., Javan-Nikkhah, M., Zala, M., and Crous, P.W., and McDonald, B. A. 2012. *Zymoseptoria ardabilia* and *Z. pseudotritici*, two progenitor species of the septoria tritici leaf blotch fungus *Z. tritici* (synonym: *Mycosphaerella graminicola*). Mycologia. 104: 1397-1407.
- Suffert, F., and Sache, I. 2011. Relative importance of different types of inoculum to the establishment of *Mycosphaerella graminicola* in wheat crops in northwest Europe. Plant Pathology. 60: 878-889.
- Suffert, F., Sache, I., and Lannou, C. 2011. Early stages of *septoria tritici* blotch epidemics of winter wheat: Build-up, overseasoning, and release of primary inoculum. Plant Pathology. 60: 166-177.
- Suffert, F., Sache, I., and Lannou, C. 2013. Assessment of quantitative traits of aggressiveness in *Mycosphaerella graminicola* on adult wheat plants. Plant Pathology. 62: 1330-1341.
- Suffert, F., Ravigné, V., and Sache, I. 2015. Seasonal changes drive short-term selection for fitness traits in the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. Applied and Environmental Microbiology. 81: 6367-6379.
- Suffert, F., Delestre, G., Carpentier, F., Walker, A. S., Gazeau, G., Gélisse, S., and Duplaix, C. 2016. Fashionably late partners have more fruitful encounters: impact of the timing of co-infection and pathogenicity on sexual reproduction in *Zymoseptoria tritici*. Fungal Genetics and Biology. 92: 40-49.
- Suffert, F., Delestre, G., and Gélisse, S. 2018. Sexual reproduction in the fungal foliar pathogen *Zymoseptoria tritici* is driven by antagonistic density-dependence mechanisms. Microbial Ecology, in press.
- Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes: fungi imperfecti with pycnidia, acervuli, and stromata. (ed.) Kew: Commonwealth Mycological Institute. 696p.
- Suty, A., and Kuck, K.H. 1996. Sensitivity of wheat leaf spot *Septoria tritici* to tebuconazole. Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference, Pests Diseases, pp. 689-694.
- Tabib Ghaffary, S.M., Faris, J.D., Friesen, T.L., Visser, R.G.F., Van der Lee, T.A.J., Robert, O., and Kema, G.H. J. 2011. New broad-spectrum resistance to *septoria tritici* blotch derived from synthetic hexaploid wheat. Theoretical Applied Genetics. 124: 125-142.
- Tagg, N., Innes, D. J. and Doncaster, C. P. 2005 Outcomes of reciprocal invasions between genetically diverse and genetically uniform populations of *Daphnia obtusa* (Kurz). Oecologia. 143: 527-536.
- Taher, K., Graf, S., Fakhfakh, M. M., Salah, H.B.H., Yahyaoui, A., Rezgui, S., Nasraoui, B., and Stammler, G. 2014. Sensitivity of *Zymoseptoria tritici* isolates from Tunisia to pyraclostrobin, fluxapyroxad, epxiconazole, metconazole, prochloraz and tebuconazole. Journal of Phytopathology. 162: 4428.
- Tanno, K. I., and Willcox, G. 2006. How fast was wild wheat domesticated? Science. 311: 1886.
- Taylor, R. D., and Koo, W. W. 2015. 2015 outlook of the U.S. and world wheat industries, 2015-2024. Agribusiness of Applied Economy. 738: 1-23.

- Tomilin, B.A. 1979. Key to fungi of the genus *Mycosphaerella* Johans. Nanka, Leningrad, USSR. pp. 200-201.
- Torriani, S. F. F., Bruner, P. C., McDonald, B. A., and Sierotzki, H. 2009a. QoI resistance emerged independently at least 4 times in European populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science*. 65: 155-162.
- Torriani, S. F. F., Linde, C. C., and McDonald, B. A. 2009b. Sequence conservation in the mitochondrial cytochrome gene and lack of G143A QoI resistance allele in a global sample of *Rhynchosporium secalis*. *Australasian Plant Pathology*. 38: 202-7.
- Troccoli, A., Borrelli, G. M., De Vita, P., Fares, C., and Di Fonzo, N. 2000. Durum wheat quality: A multidisciplinary concept. *Journal of Cereal Science*. 32: 99-113.
- Turgeon, B.G.L. 1998. Application of mating type gene technology to problems in fungal biology. *Annual Review of Phytopathology*. 36: 115-37.
- Van der Plank, J.E. ., 1968 . Disease resistance in plants. Academic Press, New York/London, 206 pp .
- Van der Plank, J.E. 1963. Plant disease: epidemic and control. Academic Press, New York,
- Vavilov, N. 1926. Studies on the origin of cultivated plants. *Bulletin of Applied Botany*. 16 (II): 1-246.
- Verkley, G.J.M., Crous, P.W., Groenewald, J.Z., Braun, U., and Aptroot, A. 2004. *Mycosphaerella punctiformis* revisited: morphology, phylogeny, and epitypification of the type species of the genus *Mycosphaerella* (*Dothideales*, *Ascomycota*). *Mycological Research*. 108: 1271-1282.
- Verreet, J.A., Hoffmann, G.M., Portner, J. 1990. Nachweis des Teleomorph *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroeter (Anamorph: *Septoria tritici* Rob. apud Desm.) in der Bundesrepublik Deutschland. *Journal of Phytopathology*. 130: 105-113.
- Viennot-Bourgin, G. 1949. Les champignons parasites des plantes cultivées. (ed.) Masson & Cie, Editeurs, 1851 p.
- Viljanen-Rollinson, S.L.H., Marroni, M.V., Butler, R.C., Deng, Y., and Armour, T. 2005. Latent periods of *Septoria tritici* blotch on ten cultivars of wheat. *New Zealand Plant Protection*. 58: 256-260.
- Waalwijk, C., Mendes, O., Verstappen, E.C.P., Waard, M.A., and Kema, G.H.J. 2002. Isolation and characterization of the mating type idiomorphs from the wheat *septoria* leaf blotch fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Fungal Genetic and Biology*. 35: 277-286.
- Wang, G.Z., Miyashita, N.T. and Tsunewaki, K. 1997. *Proceedings of the National Academy of Science*. USA. 94: 14570–14577.
- Ware, S. B. 2006. Aspects of sexual reproduction in *Mycosphaerella* species on wheat and barley: Genetic studies on specificity, mapping and fungicide resistance. Ph.D. thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. 192p.
- Ware, S. B., Verstappen, E. C. P., Breeden, J., Cavaletto, J. R., Goodwin, S. B., Waalwijk, C., Crous, P. W., and Kema, G. H. 2007. Discovery of a functional *Mycosphaerella teleomorph* in the presumed asexual barley pathogen *Septoria passerinii*. *Fungal Genetics and Biology*. 44: 389-397
- Wilson, R. E. 1985. Inheritance of resistance to *Septoria tritici* in wheat. In A.L. Scharen, ed. *Septoria of Cereals*. Proc. Workshop, Bozeman, MT, USA, 2-4 Aug. 1983, p. 33-35. USDA-ARS Pub. No. 12. 116 pp.
- Winget, M., and Chalbi, H. 2004. *Cooking the North African Way*. Ed. Lerner Publications Company, A division of Lerner Publishing Group 241 First Avenue North Minneapolis, MN 55401 U.S.A. p. 73.
- Wolfe, M.S., and McDermott, J.M. 1994. Population genetics of plant pathogen interactions: the example of the *Erysiphe graminis-Hordeum vulgare* pathosystem. *Annual Review of Phytopathology* 32: 89-113.

- Yang, N., MacDonald, M. C., Solomon, P. S., and Milgate, A. W. 2018. Genetic mapping of *Stb19*, a new resistance gene to *Zymoseptoria tritici* in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*.
- Zadoks, J. C., 1972. Modern concepts of disease resistance in cereals. In: *The way ahead in plant breeding*. Proc. 6th Congr. Eucarpia (Ed. Lupton, Jenkins & Johnson, Cambridge) 89-98.
- Zahri, S., Farih, A., Badoc, A., and Douira, A. 2008. Importance des septorioses dans les champs de blés Marocains. *Bulletin de la Société de Pharmacologie de Bordeaux*. 147: 29-38.
- Zahri S., Farih A., Badoc A. et Douira A., 2014. Statut des principales maladies, cryptogamiques foliaires du blé au Maroc en 2013. *Journal of Applied Biosciences* 77, 6543-6549.
- Zaghouane, O. 2015. Evolution de la production céréalière durant le programme de renouveau agricole et rural (2009-2013). *Céréaliculture*. 64: 41-51.
- Zhan, J., Mundt, C.C., and McDonald, B.A. 1998. Measuring immigration and sexual reproduction in field populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology*. 88: 1330-1337.
- Zhan, J., Mundt, C.C., Hoffer, M. E., and McDonald, B.A. 2002a. Local adaptation and effect of host genotype on the rate of pathogen evolution: an experimental test in plant pathosystem. *Journal of Evolutionary Biology*. 15: 634-647.
- Zhan, J., Kema, G. H. J., Waalwijk, C., and McDonald, B. A. 2002b. Distribution of mating type alleles in the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* over spatial scales from lesions to continents. *Fungal Genetics and Biology*. 36: 128-136.
- Zhan, J., Pettway, R.E., and McDonald, B.A. 2003. The global genetic structure of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* is characterized by high nuclear diversity, low mitochondrial diversity, regular recombination, and gene flow. *Fungal Genetic and Biology*. 38: 286-297.
- Zhan, J., and McDonald, B.A. 2004. The interaction among evolutionary forces in the pathogenic fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Fungal Genetics and Biology*. 41: 590-599.
- Zhan, J., Mundt, C.C., and McDonald, B.A. 2007. Sexual reproduction facilitates the adaptation of parasites to antagonistic host environments: Evidence from empirical study in the wheat–*Mycosphaerella graminicola* system. *International Journal of Parasitology*. 37:861-870.
- Zhan, J.S., Thrall, P.H., and Burdon, J.J. 2014. Achieving sustainable plant disease management through evolutionary principles. *Trends in Plant Science*. 19: 570-575.
- Zibani, A. 2015. Recherche de génotypes de blé dur résistants à l'égard de *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt. (*Septoria tritici* Rob. ex Desm.) agent causal de la tache septorienne du blé. Thèse de Magister, E.N.S.A, (El Harrach), 103p.
- Zohary, D., and Hopf, M. 2000. *Domestication of plants in the Old World*, 3rd ed. Oxford Science Publications, Oxford.



ANNEXES

ANNEXE 1 : Prospections et échantillonnage

Nombre de champs prospectés par Wilayas et par communes en 2012/2013, 2013/2014

Wilaya	Commune	2012-2013	2013-2014
Alger	Oued Smar	1 / 4	1 / 4
	Baraki	1 / 2	1/3
	Reghaia	6 / 8	2/6
	Rouiba	4/6	5/8
Sous-total		12/20	9/21
Blida	El Afroun	3/3	4/7
	Mouzaia	4/4	2/6
	Hamr el Ain	4/4	2/6
	Beni Tamou	3/5	1/8
	Ain erroumana	5/7	2/7
Sous-total		19/23	18/34
Bouira	Borj Okhris	3/5	1/5
	Lakhdaria	2/4	2/5
	Kadiri	2/4	0/4
Sous-total		7/13	3/14
Constantine	El Khroub	7/12	4/6
	Bounouara	3/6	2/8
	Deleriou	2/4	0/5
Sous-total		12/22	6/19
Médéa	ksar El Boukhari	2/4	1 / 4
	Chellalet	3/3	1/5
	Ain Boucif	4/6	0/5
Sous-total		9/13	2/14
Tipaza	Bou Ismail	5/6	3/6
	Hadjout	6/6	4/8
	Cherchell	8/8	2/10
Sous-total		19/20	9/24
TOTAL		78/111	52/126

ANNEXE 2 : Composition des milieux de culture *in vitro* de *Zymoseptoria tritici*

Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)

PDA déshydraté 39 g,
H2O 1 Litre

EAU GELOSEE

Agar 20 g
H2O 1 Litre

Milieu YMA (Yeast Malt Agar)

Extrait de Malt 4 g
Extrait de levure 4 g
Glucose 4 g
Agar 15 g
H2O 1 Litre

Les milieux sont stérilisés dans un autoclave, à 120°C pendant, 20 minutes

Milieu + Antibiotique

50 mg/l de Streptomycine (Sigma) sont additionnés au milieu tiède, préalablement autoclavé.

ANNEXE 3 : Protocole d'extraction de l'ADN génomique avec l'automate King Fisher

1. Placer 10 mg de spores lyophilisées dans des microtubes (racked 10x96 ; Qiagen Cat.no. 19560) et ajouter des microbilles en chrome de 3,2 mm (Biospec Cat.no. 11079132c) et refermer les microtubes.
2. Placer les tubes sur le support adapté au broyeur Retch MM300 et agiter pendant 20 secondes, deux fois à 30 rpm/seconde. Changer l'orientation du support avec les microtubes entre deux agitations. Centrifuger les microtubes 5 minutes à 3000 rpm.
3. Ajouter 300 µl de tampon de lyse et 0,5 µl de RNAse (2 mg/ml) à chaque tube. Agiter les microtubes pendant 20 secondes dans l'agitateur Retch MM300 et placer l'ensemble des microtubes dans un bain Marie à 65°C pendant 30 minutes en agitant manuellement les microtubes toutes les 10 minutes.
4. Remplir 5 plaques de 96 puits avec les réactifs du kit d'extraction AGOWA sbeadex Maxi Plant (Cat.no. 41250) dans l'ordre suivant :

Plaque 1	Plaque Deep Well	520 µl tampon de liaison
Plaque 2	Plaque Deep Well	400 µl tampon de lavage 1
Plaque 3	Plaque Deep Well	400 µl tampon de lavage 2
Plaque 4	Plaque Deep Well	400 µl eau pure
Plaque 5	Microplaque 96 puits	120 µl tampon d'élution
5. Après l'incubation à 65°C, centrifuger les microtubes à 6000 rpm pendant 5 minutes. Prélever 200µl des surnageants de chaque microtubes et le placer dans les puits de la plaque 1, puis ajouter 60 µl de la solution à billes magnétiques.
6. Programmer l'automate pour une extraction d'ADN en sélectionnant l'option Maxi protocole. Après la mise en marche, l'automate indique dans quelles positions les plaques doivent être placées. Récupérer la plaque 5 contenant les ADN après 30 minutes et procéder à la conservation des échantillons pour des analyses ultérieures.

ANNEXE 4 : Composition des solutions utilisées pour la révélation des fragments d'ADN amplifiés

TBE 5 X

Tris base	108 g
Acide Borique	55 g
EDTA 0.5 M pH 8.0	40 ml
H2O	2 L

Placer le flacon de 2 L sur un agitateur magnétique jusqu'à dissolution et l'obtention d'une solution concentrée 5 X. Diluer 10 fois pour obtenir une solution concentrée 0,5 X

GEL D'AGAROSE 1%, 100 ml

Agarose	1 g
TBE 1 X	100 ml

Chauffer le flacon pendant 30 secondes aux microondes après, puis couler le gel sur le support en disposant les peignes dans leurs emplacement. Laisser polymériser pendant une dizaine de minutes.

Coloration des fragments d'ADN amplifiés

Un mélange constitué d'un tampon de charge (Orange G) et d'un colorant (GelRed) est préparé, afin de visualiser les bandes obtenues, après amplification :

Tampon de charge Orange G 6 X

Sucrose	40 g
Orange G	0,25 g
TE	10 ml

Dans un tube Eppendorff, mélanger 1 ml du tampon de charge Orange G 6 X et 12,5 µl de GelRed. Vortexer et entreposer à 4°C. Ajouter 1 µl de la solution obtenue à 5 µl d'ADN avant de remplir les puits du gel d'agarose.

ANNEXE 5 : Données climatiques (2012-2013, 2013-2014)

1. Cumuls mensuels moyens des précipitations dans les six wilayas prospectées (Alger, Blida, Tipaza, Médéa, Bouira et Constantine) durant la campagne agricole 2012-2013 (INSID, 2015).

EB	Wilaya	10-12	11-12	12-12	01-13	02-13	03-13	04-13	05-13	06-13	Cumul
SH	Alger	89	88	49	101	100	62	76	112	6	683,0
	Tipaza	89	88	49	101	100	62	76	112	6	683,0
	Blida	89	88	49	101	100	62	76	112	6	683,0
SA	Médéa	55	129	21	116	127	79	76	155	11	769,0
	Bouira	43	71	27	114	128	68	54	60	2	567,0
	Constantine	33	29	19	64	119	47	31	10	17	369,0
Moyennes		66,3	82,2	35,7	99,5	112,3	63,3	64,8	93,5	8,0	625,7

2. Cumuls mensuels moyens des précipitations dans les six wilayas prospectées (Alger, Blida, Tipaza, Médéa, Bouira et Constantine) durant la campagne agricole 2013-2014 (INSID, 2015).

EB	Wilaya	10-13	11-13	12-13	01-14	02-14	03-14	04-14	05-14	06-14	Cumul
SH	Alger	16	202	168	70	56	82	1	5	51	651,0
	Tipaza	16	202	168	70	56	82	1	5	51	651,0
	Blida	16	202	168	70	56	82	1	5	51	651,0
SA	Médéa	13	138	93	108	85	159	7	13	38	654,0
	Bouira	3	74	36	54	44	127	1	18	29	386,0
	Constantine	27	86	30	43	31	132	6	59	2	416,0
Moyennes		15,2	150,7	110,5	69,2	54,7	110,7	2,8	17,5	37,0	568,2

EB : Etage bioclimatique

SH : Subhumide

SA : Semi-aride

ANNEXE 6 : Origine des isolats de la collection de *Z. tritici* utilisée dans cette étude avec les deux mating types et la détermination de la présence ou de l'absence de la mutation G143A.

Code	Année	Espèce	Variété	Origine géographique	Mating type	G143A
ST01	2013	Blé dur	Hoggar	Blida, Ain Erroumana	MAT 1-2	Absente
ST02	2013	Blé dur	Hoggar	Blida, Ain Erroumana	MAT 1-2	Absente
ST04	2013	Blé dur	Hoggar	Blida, Ain Erroumana	MAT 1-2	Absente
ST05	2013	Blé dur	Hoggar	Blida, Ain Erroumana	MAT 1-2	Absente
ST06	2013	Blé dur	Hoggar	Blida, Ain Erroumana	MAT 1-2	Absente
ST10	2013	Blé dur	Hoggar	Blida, Ain Erroumana	MAT 1-2	Absente
ST11	2013	Blé dur	Chen'S	Blida, Chiffa	MAT 1-2	Absente
ST12	2013	Blé dur	Chen'S	Blida, Chiffa	MAT 1-2	Absente
ST14	2013	Blé dur	Chen'S	Blida, Chiffa	MAT 1-2	Absente
ST15	2013	Blé dur	Chen'S	Blida, Chiffa	MAT 1-2	Absente
ST18	2013	Blé dur	Chen'S	Blida, Chiffa	MAT 1-1	Absente
ST19	2013	Blé dur	Chen'S	Blida, Chiffa	MAT 1-1	Absente
ST22	2013	Blé dur	Chen'S	Alger, Reghaia	MAT 1-1	Absente
ST23	2014	Blé dur	Waha	Alger, Meftah	MAT 1-1	Absente
ST25	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	MAT 1-1	Absente
ST27	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	MAT 1-1	Absente
ST29	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	MAT 1-1	Absente
ST30	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	MAT 1-2	Absente
ST31	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	MAT 1-2	Absente
ST32	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	MAT 1-2	Absente
ST33	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	MAT 1-2	Absente
ST34	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	MAT 1-1	Absente
ST35	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	MAT 1-2	Absente
ST36	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	MAT 1-1	Absente
ST37	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	MAT 1-1	Absente

ST38	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST39	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST40	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST41	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST42	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST43	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST44	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST45	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST46	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST47	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST48	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST49	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST51	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST52	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST53	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST54	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST55	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST56	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST57	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Présente
ST58	2014	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT1-1</i>	Présente
ST60	2014	Blé dur	Chen'S	Blida, Mouzaia	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST61	2014	Blé dur	Chen'S	Blida, Mouzaia	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST62	2014	Blé dur	Chen'S	Blida, Mouzaia	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST63	2013	Blé dur	Hoggar	Alger, Rouiba	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST64	2013	Blé dur	Hoggar	Alger, Rouiba	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST65	2013	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT1-1</i>	Présente
ST66	2013	Blé dur	Hoggar	Alger, Rouiba	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST67	2013	Blé dur	Hoggar	Alger, Rouiba	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST69	2013	Blé dur	Hoggar	Alger, Rouiba	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST70	2013	Blé dur	inconnue	Alger, Steouali	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST71	2013	Blé dur	inconnue	Alger, Steouali	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST72	2013	Blé dur	inconnue	Alger, Steouali	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST73	2013	Blé dur	inconnue	Alger, Steouali	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST74	2013	Blé dur	inconnue	Alger, Steouali	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST76	2013	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST78	2013	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST79	2013	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST80	2013	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST81	2013	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST82	2013	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST83	2013	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST84	2013	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST85	2013	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST87	2013	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente

ST90	2013	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST91	2014	Blé tendre	HD1220	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST92	2014	Blé tendre	HD1220	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST93	2014	Blé tendre	HD1220	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST95	2014	Blé tendre	HD1220	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST96	2014	Blé tendre	HD1220	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST97	2014	Blé tendre	HD1220	Constantine, El Khroub	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST98	2014	Blé tendre	HD1220	Constantine, El Khroub	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST99	2014	Blé tendre	HD1220	Constantine, El Khroub	<i>MAT 1-2</i>	Présente
ST100	2014	Blé tendre	HD1220	Constantine, El Khroub	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST101	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST103	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST104	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST106	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST107	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST108	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST109	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST110	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Présente
ST111	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST112	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST113	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST114	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST115	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Présente
ST118	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST119	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST120	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST121	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, Benbadis	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST123	2014	Blé dur	GTA dur	Constantine, Bounouara	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST124	2014	Blé dur	GTA dur	Constantine, Bounouara	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST125	2014	Blé dur	GTA dur	Constantine, Bounouara	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST126	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST127	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST128	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST129	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST130	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST131	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST132	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST133	2014	Blé dur	Hoggar	Constantine, El Khroub	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST134	2014	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Rached	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST135	2014	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Rached	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST137	2014	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Rached	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST138	2014	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Rached	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST139	2014	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Rached	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST140	2014	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Rached	<i>MAT1-1</i>	Absente

ST141	2014	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Rached	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST142	2014	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Rached	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST143	2013	Blé dur	Hoggar	Tipaza, Cherchell	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST144	2013	Blé dur	Hoggar	Tipaza, Cherchell	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST145	2013	Blé dur	Hoggar	Tipaza, Cherchell	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST146	2013	Blé dur	Hoggar	Tipaza, Cherchell	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST147	2013	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Ghuiles	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST148	2013	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Ghuiles	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST149	2013	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Ghuiles	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST151	2013	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Ghuiles	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST152	2013	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Ghuiles	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST155	2013	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Ghuiles	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST156	2013	Blé dur	Waha	Tipaza, Sidi Ghuiles	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST158	2013	Blé dur	Hoggar	Tipaza, Hadjout	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST159	2013	Blé dur	Hoggar	Tipaza, Hadjout	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST161	2013	Blé dur	Hoggar	Tipaza, Hadjout	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST162	2013	Blé dur	Hoggar	Tipaza, Hadjout	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST163	2013	Blé dur	Chen'S	Tipaza, Attatba	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST164	2013	Blé dur	Chen'S	Tipaza, Attatba	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST165	2013	Blé dur	Chen'S	Tipaza, Attatba	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST166	2013	Blé dur	Chen'S	Tipaza, Attatba	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST167	2013	Blé dur	Chen'S	Tipaza, Attatba	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST168	2013	Blé dur	Chen'S	Tipaza, Attatba	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST169	2013	Blé dur	Chen'S	Tipaza, Attatba	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST170	2013	Blé dur	Chen'S	Tipaza, Attatba	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST171	2013	Blé dur	Waha	Médéa, Kasr El Bokhari	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST172	2013	Blé dur	Waha	Médéa, Kasr El Bokhari	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST173	2013	Blé dur	Waha	Médéa, Kasr El Bokhari	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST174	2013	Blé dur	Waha	Médéa, Kasr El Bokhari	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST176	2013	Blé dur	Chen'S	Médéa, Kasr El Bokhari	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST181	2014	Blé dur	Hoggar	Médéa, Kasr El Bokhari	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST182	2014	Blé dur	Hoggar	Médéa, Kasr El Bokhari	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST185	2014	Blé dur	Hoggar	Médéa, Chellalet	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST186	2014	Blé dur	Hoggar	Médéa, Chellalet	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST187	2014	Blé dur	Hoggar	Médéa, Chellalet	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST188	2014	Blé dur	Hoggar	Médéa, Chellalet	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST189	2013	Blé dur	Waha	Bouira, Lakhdaria	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST190	2013	Blé dur	Waha	Bouira, Lakhdaria	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST191	2013	Blé dur	Waha	Bouira, Lakhdaria	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST192	2013	Blé dur	Waha	Bouira, Kadiri	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST194	2013	Blé dur	Waha	Bouira, Kadiri	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST195	2013	Blé dur	Waha	Bouira, Kadiri	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST196	2014	Blé dur	Waha	Bouira, Kadiri	<i>MAT1-1</i>	Absente
ST197	2014	Blé dur	Waha	Bouira, Kadiri	<i>MAT1-1</i>	Absente

ST198	2014	Blé dur	Waha	Bouira, Kadiri	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST199	2014	Blé dur	Waha	Bouira, Borj Okhris	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST201	2014	Blé dur	Waha	Bouira, Borj Okhris	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST203	2014	Blé dur	Waha	Bouira, Borj Okhris	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST204	2013	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST205	2013	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST206	2013	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST207	2013	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST208	2013	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST209	2013	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST210	2013	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST211	2013	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST212	2013	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST213	2013	Blé dur	Omar 6	Alger, Oued Smar	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST214	2013	Blé dur	Chen'S	Blida, Afroun	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST215	2013	Blé dur	Chen'S	Blida, Afroun	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST216	2013	Blé dur	Chen'S	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST217	2014	Blé dur	Chen'S	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST218	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST219	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST220	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST221	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST222	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST223	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST224	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST225	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST226	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST227	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST228	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST229	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST230	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST231	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST232	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Afroun	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST233	2013	Blé dur	GTA dur	Blida, Hamr EL Ain	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST234	2013	Blé dur	GTA dur	Blida, Hamr EL Ain	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST235	2013	Blé dur	GTA dur	Blida, Hamr EL Ain	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST236	2013	Blé dur	GTA dur	Blida, Hamr EL Ain	<i>MAT 1-1</i>	Absente
ST237	2013	Blé dur	GTA dur	Blida, Hamr EL Ain	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST238	2013	Blé dur	GTA dur	Blida, Hamr EL Ain	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST239	2014	Blé dur	Waha	Blida, Hamr EL Ain	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST240	2014	Blé dur	Waha	Blida, Hamr EL Ain	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST241	2014	Blé dur	Waha	Blida, Hamr EL Ain	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST242	2014	Blé dur	Waha	Blida, Hamr EL Ain	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST243	2014	Blé dur	Waha	Blida, Hamr EL Ain	<i>MAT 1-2</i>	Absente

ST244	2014	Blé dur	Waha	Blida, Hamr EL Ain	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST245	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Mouzaia	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST246	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Mouzaia	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST247	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Mouzaia	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST248	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Mouzaia	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST249	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Mouzaia	<i>MAT 1-2</i>	Absente
ST250	2014	Blé dur	Hoggar	Blida, Mouzaia	<i>MAT 1-2</i>	Absente

ANNEXE 7 : Distribution des idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2* à l'échelle micro-géographique, chez les isolats issus d'une même feuille.

N ^b . Feuilles	Wilaya	N ^b . Isolats	<i>Mat1-1</i>	<i>Mat1-2</i>
1	Alger	6	2	4
2	Alger	7	3	4
3	Alger	7	5	2
4	Alger	8	2	4
5	Alger	7	7	0
6	Alger	6	6	0
7	Alger	10	2	8
8	Blida	11	11	0
9	Blida	6	6	0
10	Blida	6	4	2
11	Blida	8	0	8
12	Blida	15	2	13
13	Constantine	8	8	0
14	Constantine	9	6	3
15	Constantine	11	0	11
16	Constantine	6	3	3
17	Constantine	11	5	6
18	Tipaza	8	8	0
19	Tipaza	7	0	7
20	Tipaza	9	5	4
1	Tipaza	7	3	4
22	Bouira	3	3	0
23	Bouira	7	3	4
24	Bouira	2	1	1
25	Médéa	5	3	2
26	Médéa	6	3	3
Total		196	101	95

ANNEXE 8 : Distribution des idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2* à l'échelle micro-géographique, chez les isolats issus d'une même lésion.

N ^b .Lesions	Wilaya	N ^b .isolats	<i>mat1-1</i>	<i>mat1-2</i>
1	Alger	3	1	2
2	Alger	3	3	0
3	Alger	3	1	2
4	Alger	4	4	0
5	Blida	4	4	0
6	Blida	4	1	3
7	Blida	4	0	4
8	Blida	5	1	4
9	Constantine	5	5	0
10	Constantine	4	1	3
11	Constantine	5	5	0
12	Constantine	3	2	1
13	Tipaza	3	3	0
14	Tipaza	3	0	3
15	Tipaza	3	1	2
16	Tipaza	4	2	2
17	Bouira	2	1	1
18	Médéa	4	2	2
Total		66	37	29

ANNEXE 9 : Composantes du pouvoir pathogènes (PL et PSFCP), considérées dans cette étude.

Moyennes des périodes de latence (PL) et des pourcentages de la surface foliaire couverte par les pycnides (PSFCP), sur les variétés Simeto et Hoggar, inoculées avec les isolats, seuls et en combinaison.

Isolat	Simeto		Hoggar	
	PL	PSFCP	PL	PSFCP
I1	16.00	18.33 TR	15,33	80,00 S
I2	17.33	23,33 TR	13,33	83,33 S
I3	13.66	23,33 TR	12,33	73,00 S
I4	-	-	12,00	80,00 S
I5	21.00	3,33 I	14,66	76,66 S
I1/I2	20.66	6,66 TR	16,66	26,66 R
I1/I3	16.66	5,00 I	18,33	38,33 R
I1/I4	20.00	3,33 I	16,33	50,00 I
I5/I2	20.00	3,33 I	14,33	66,66 I
I5/I3	21.00	1,66 I	17,00	31,66 R
I5/I4	-	- I	15,33	56,66 I
Moyenne totale	18,47	9,81 TR	15,05	60,26 S

ANNEXE 10 : Résultats de la MANOVA (Modèle 2)

1. Résultats de l'interaction à l'aide de la RDA. Les facteurs A et B forment la matrice des covariables

	Df	Variance	F	Pr(>F)
Model	10	67.226	3.7333	0.002 **
Residual	44	79.231		

2. Résultats du facteur principal A par RDA. B et l'interaction forment la matrice des covariables

	Df	Variance	F	Pr(>F)
Model	11	798.75	40.325	0.001 ***
Residual	44	79.23		

3. Résultats du facteur principal B par RDA. A et l'interaction forment la matrice des covariables

	Df	Variance	F	Pr(>F)
Model	1	653.99	363.19	0.001 ***
Residual	44	79.23		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

ANNEXE 11 : ANOVA pour données non paramétriques, au niveau de la variété Simeto (Modèle 3)

Test de Kruskal-Wallis (PSFCP% en fonction de l'isolat, modèle 3)

Kruskal-Wallis chi-squared = 26.6335, df = 10, p-value = 0.002975

Test de Dunn au seuil de confiance de 0,05

Comparison	Z	P.unadj	P.adj	Comparison	Z	P.unadj	P.adj
I1 - I1I2	1.03	0.29	0.29	I1 - I1I3	1.39	0.16	0.16
I1I2 - I1I3	0.35	0.72	0.72	I1 - I1I4	1.89	0.05	0.05
I1I2 - I1I4	0.86	0.38	0.38	I1I3 - I1I4	0.50	0.61	0.61
I1 - I2	-0.13	0.89	0.89	I1I2 - I2	-1.17	0.24	0.24
I1I3 - I2	-1.52	0.12	0.12	I1I4 - I2	-2.03	0.04	0.04
I1 - I3	-0.19	0.84	0.84	I1I2 - I3	-1.23	0.21	0.21
I1I3 - I3	-1.59	0.11	0.11	I1I4 - I3	-2.09	0.03	0.03
I2 - I3	-0.06	0.94	0.94	I1 - I4	2.91	0.00	0.00
I1I2 - I4	1.52	0.06	0.06	I1I3 - I4	0.12	0.03	0.03
I1I4 - I4	1.01	0.30	0.30	I2 - I4	3.04	0.00	0.00
I3 - I4	3.11	0.00	0.00	I1I2 - I5	0.86	0.38	0.38
I1 - I5	1.89	0.05	0.05	I1I3 - I5	0.50	0.61	0.61
I1I4 - I5	0.00	1.00	1.00	I3 - I5	2.09	0.03	0.03
I2 - I5	2.03	0.04	0.04	I4 - I5	-1.01	0.30	0.30
I1 - I5I2	1.89	0.05	0.05	I1I2 - I5I2	0.86	0.38	0.38
I1I3 - I5I2	0.50	0.61	0.61	I1I4 - I5I2	0.00	1.00	1.00
I2 - I5I2	2.03	0.04	0.04	I3 - I5I2	2.09	0.03	0.03
I4 - I5I2	-1.01	0.30	0.30	I5 - I5I2	0.00	1.00	1.00
I1 - I5I3	2.40	0.01	0.01	I1I2 - I5I3	1.36	0.17	0.17
I1I3 - I5I3	1.01	0.30	0.30	I1I4 - I5I3	0.50	0.61	0.61
I2 - I5I3	2.54	0.01	0.01	I3 - I5I3	2.60	0.00	0.00
I4 - I5I3	-0.50	0.61	0.61	I5 - I5I3	0.50	0.61	0.61
I5I2 - I5I3	0.50	0.61	0.61	I1 - I5I4	2.91	0.00	0.00
I1I2 - I5I4	1.87	0.06	0.06	I1I3 - I5I4	1.52	0.12	0.12
I1I4 - I5I4	1.01	0.30	0.30	I2 - I5I4	3.04	0.00	0.00

I3 - I5I4	3.11	0.00	0.00	I4 - I5I4	0.00	1.00	1.00
I5 - I5I4	1.01	0.30	0.30	I5I2 - I5I4	1.01	0.30	0.30
I5I3 - I5I4	0.50	0.61	0.61				

ANNEXE 12 : ANOVA pour données non paramétriques, au niveau de la variété Hoggar (Modèle 3)

Test de Kruskal-Wallis (PSFCP% en fonction de l'isolat, modèle 3)

Kruskal-Wallis, chi-squared = **22.5344**, df = 10, p-value = **0.0126**

Test de comparaisons multiples au seuil alpha=0,05

Comparison	Z	P.unadj	P.adj	Comparison	Z	P.unadj	P.adj
I1 - I2	-0.27	0.78	0.78	I1 - I3	0.63	0.52	0.5
I2 - I3	0.91	0.36	0.36	I1 - I4	0.04	0.96	0.96
I2 - I4	0.31	0.74	0.74	I3 - I4	-0.59	0.55	0.55
I1 - I5	0.46	0.63	0.63	I3 - I5	-0.17	0.86	0.86
I2 - I5	0.74	0.45	0.45	I4 - I5	0.42	0.67	0.67
I1 - I1I2	2.63	0.00	0.00	I2 - I1I2	2.91	0.00	0.00
I4 - I1I2	2.59	0.00	0.00	I5 - I1I2	2.17	0.02	0.02
I1 - I5I3	2.59	0.00	0.00	I2 - I5I3	2.87	0.00	0.00
I3 - I5I3	1.95	0.05	0.05	I4 - I5I3	2.5	0.01	0.01
I5 - I5I3	2.12	0.03	0.03	I1I2 - I5I3	0.04	0.96	0.96
I2 - I1I3	2.53	0.01	0.01	I4 - I1I3	2.21	0.02	0.02
I3 - I1I3	1.61	0.10	0.10	I1I2 - I1I3	-0.38	0.70	0.70
I5I3 - I1I3	-0.34	0.73	0.73	I1 - I1I4	1.78	0.07	0.07
I2 - I1I4	2.06	0.03	0.03	I3 - I1I4	1.14	0.25	0.25
I4 - I1I4	1.74	0.08	0.08	I5 - I1I4	1.31	0.18	0.18
I1I2 - I1I4	-0.85	0.39	0.39	I1 - I5I4	1.23	0.21	0.21
I5I3 - I1I4	-0.80	0.41	0.41	I1I3 - I1I4	-0.46	0.63	0.63
I2 - I5I4	1.51	0.13	0.13	I3 - I5I4	0.59	0.55	0.55
I4 - I5I4	1.19	0.23	0.23	I5 - I5I4	0.76	0.44	0.44
I1I2 - I5I4	-1.40	0.16	0.16	I5I3 - I5I4	-1.36	0.17	0.17
I1I3 - I5I4	-1.02	0.30	0.30	I1I4 - I5I4	-0.55	0.58	0.58
I1 - I5I2	1.02	0.30	0.30	I2 - I5I2	1.29	0.19	0.19
I3 - I5I2	0.38	0.70	0.70	I4 - I5I2	0.97	0.32	0.32
I5 - I5I2	0.55	0.58	0.58	I1I2 - I5I2	-1.61	0.10	0.10
I5I3 - I5I2	-1.57	0.11	0.11	I1I3 - I5I2	-1.23	0.21	0.21
I1I4 - I5I2	-0.76	0.44	0.44	I5I4 - I5I2	-0.21	0.83	0.83

ANNEXE 13 : ANOVA de l'intensité de la reproduction sexuée (Modèle 4)

Intensité de la reproduction sexuée (ADI) en fonction de la combinaison parentale (PAR)

	Df	SumSq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
PAR	3	5.561	1.8538	7.392	0.0108 *
Residuals	8	2.006	0.2508		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

**ANNEXE 15 : ANALYSE DE VARIANCE DE L'INTENSITE DE LA REPRODUCTION SEXUEE EN
FONCTION DE L'ISOLAT PARENT**

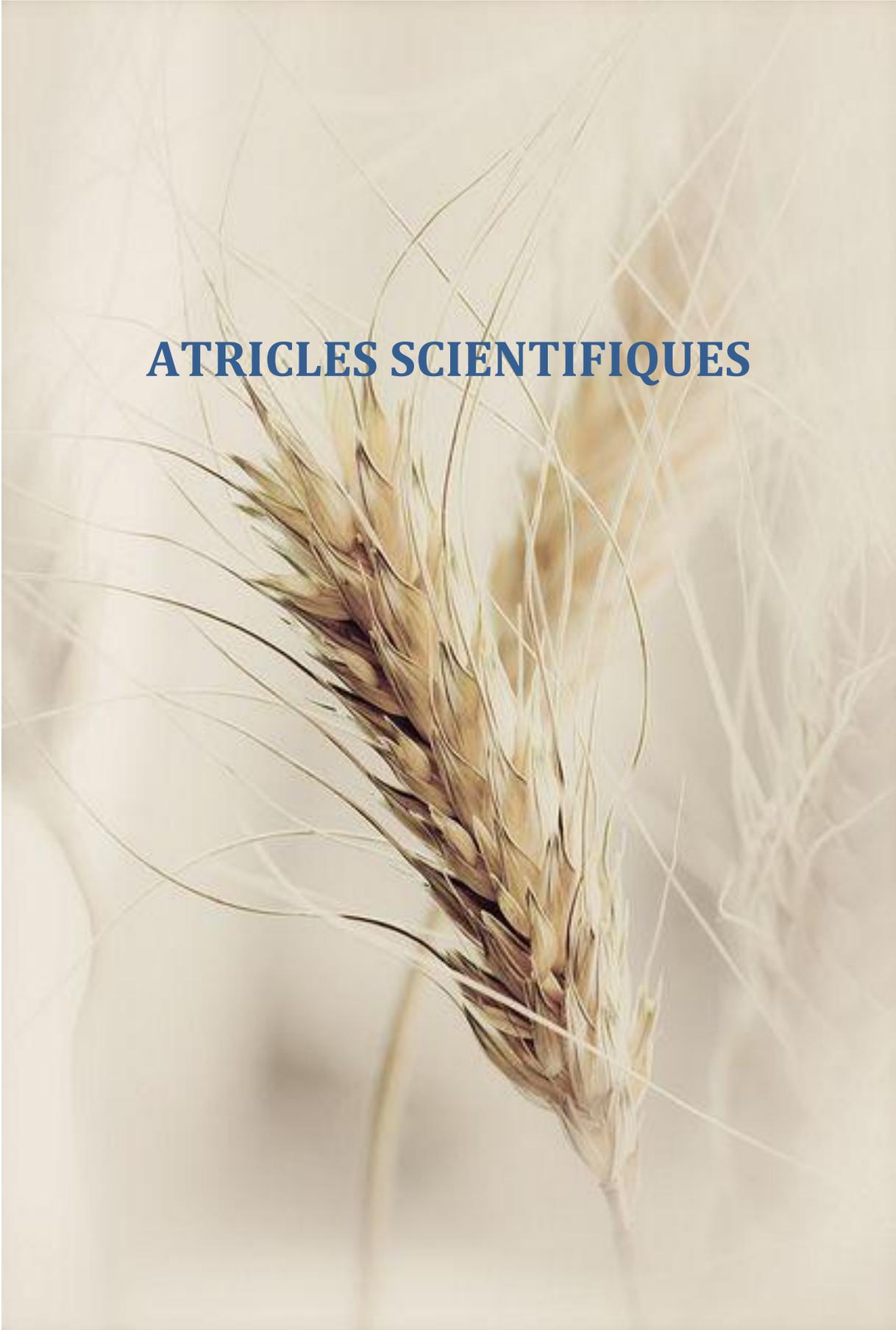
Résumé de la table de variance

	Df	Sum Sq	MeanSq	F value	Pr(>F)
PAR	3	5.4551	1.81836	3.7568	0.02737
Residuals	20	9.6803	0.48402		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Test de TukeyHSD au seuil de confiance, alpha = 0,05

	diff	lwr	upr	p adj
I2-I1	0.5866667	-0.5375804	1.710914	0.4784877
I4-I1	0.7516667	-0.3725804	1.875914	0.2713924
I5-I1	1.3383333	0.2140862	2.462580	0.0161253**
I4-I2	0.1650000	-0.9592471	1.289247	0.9759744
I5-I2	0.7516667	-0.3725804	1.875914	0.2713924
I5-I4	0.5866667	-0.5375804	1.710914	0.478487



ARTICLES SCIENTIFIQUES

Equal Distribution of Mating Type Alleles and the Presence of Strobilurin Resistance in Algerian *Zymoseptoria tritici* Field Populations

Hayet Meamiche Neddaf, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Moléculaire, El Harrach, Algérie; and Institut National de Recherche Agronomique d'Algérie, Division de Biotechnologies et d'Amélioration des Plantes, El Harrach, Algérie; Lamia Aouini, Wageningen University and Research Center, Wageningen, The Netherlands; Zouaoui Bouznad, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Moléculaire; and Gert H. J. Kema, Wageningen University and Research

Abstract

Zymoseptoria tritici, the causal agent of septoria tritici blotch, is an important wheat pathogen responsible for high yield losses worldwide. The assessment of the distribution of both mating type idiomorphs was studied in several wheat-growing areas in North Algeria. Both mating types occurred at all spatial scales tested and showed an equal frequency distribution at the country level, with 53% for *Mat1-1* and 47% for *Mat1-2*. At finer scales, co-occurrence of both mating types was found in 38% of leaves analyzed and 44% of the studied lesions. Additionally,

efficacy reduction of strobilurin applications prompted us to study strobilurin resistance conferred by the G143A substitution in the mitochondrial cytochrome *b* gene, which was found for the first time in six strains. The results suggest that the Algerian *Z. tritici* population undergoes frequent sexual reproduction mirrored by co-occurrence of both mating types, which likely will rapidly increase the fraction of strobilurin-resistant isolates in the Algerian population, as has been shown in all other regions where strobilurin resistance surfaced.

The foliar wheat pathogen *Zymoseptoria tritici* (Quaedvlieg et al. 2011) causes septoria leaf blotch (STB), which is considered to be one of the most devastating wheat diseases worldwide (Fones and Gurr 2015; Torriani et al. 2015) and occurs every year throughout the major Algerian wheat-growing regions (Benbelkacem et al. 2011). *Z. tritici* is heterothallic with a bipolar mating system (Kema et al. 1996), undergoing both sexual and asexual reproduction. Sexual spores (ascospores) are airborne and can be dispersed over long distances, whereas asexual spores (pycnidiospores) are dispersed by rain splash over only limited distances (Chen and McDonald 1996; McDonald and Martinez 1990). Several secondary cycles of sexual reproduction occur within a single growing season (Hunter et al. 1999; Kema et al. 1996; Zhan et al. 2003), generating a high degree of genetic variation distributed even at small spatial scales (McDonald and Martinez 1990; Zhan et al. 2002, 2003). The mating type loci of *Z. tritici* have been intensively studied over the last decades (Kema et al. 1996; Siah et al. 2010b; Waalwijk et al. 2002; Zhan et al. 2002), showing their occurrence with equal distribution in most parts of the world as well as in some areas of Algeria (Abrinbana et al. 2010; Alloui et al. 2014; Boukef et al. 2012; Elbekali et al. 2012; Siah et al. 2010b; Zhan et al. 2002). Usually, an equal distribution of the *Mat1-1* and *Mat1-2* idiomorphs in natural field populations is consistent with frequent sexual cycles (Hunter et al. 1999; Zhan et al. 2002). Sexual reproduction generates new genotypes able to circumvent host resistance (Cowger and Mundt 2002) as well as adapt to other selective environments, such as those generated by fungicides. Disease control of STB is mainly based on chemical treatments (Fraaije et al. 2005) such as the chemical group of quinone outside inhibitors (QoI), also known as strobilurins. Due to their broad spectrum (Bartlett et al. 2002) and their additional favorable effects on plant physiology (Ruske et al. 2003), strobilurins were intensively used in STB management. The QoI act by binding to the quinoloydizing (Qo) site of the mitochondrial cytochrome *bc1* protein complex, thereby interfering with the mitochondrial respiration in the fungus (Bartlett et al. 2002). However, contrary to expectations, resistance to QoI rapidly surfaced in the United Kingdom in 2001 (Fraaije et al. 2003) and is conferred by a point mutation at codon 143 in the cytochrome

b (*Cytb*) gene, which led to an amino acid exchange from glycine to alanine at position 143 (G143A). This substitution in *Cytb* prevents binding of strobilurins to the Qo site and thereby restores mitochondrial respiration in the fungus (Fraaije et al. 2003; Gisi et al. 2002; Torriani et al. 2009). Intensive deployment of strobilurins over the last decade in Europe boosted the emergence and rapid spread of resistant strains among many countries (Drabešová et al. 2013; Fraaije et al. 2005; Gisi et al. 2005; Siah et al. 2010a; Torriani et al. 2009). In Maghreb countries, sterol demethylation inhibitors (DMI), also known as azoles, are widely used for STB control, and the use of strobilurins is fairly limited. Consequently, *Z. tritici* populations in these countries are supposed to be rather sensitive to strobilurins, supported by the absence of the G143A substitution in both Tunisia and Algeria (Alloui et al. 2013; Boukef et al. 2012; Somai-Jemmali et al. 2014; Stammler et al. 2012). However, recent studies reported the occurrence of QoI resistance in *Z. tritici* at low frequencies in Tunisia (Taher et al. 2014) and Morocco (Elbekali et al. 2011; Siah et al. 2014).

Here, we (i) determined the distribution of both *Z. tritici* mating types in Central and Eastern Algeria over different spatial scales and (ii) identified, for the first time, QoI resistance in these populations.

Materials and Methods

Sampling and strain isolation. A set of 213 *Z. tritici* isolates was obtained in 2013 and 2014 from naturally infected durum wheat fields (*Triticum durum* Desf.) in six different wheat-growing areas of Algeria (Alger, Blida, Tipaza, Constantine, Bouira, and Tipaza) (Fig. 1). Sampling was carried out from three durum wheat cultivars: Vitron, Chen'S, and Ammar 6 (Table 1). Leaves from different plants showing necrotic blotches with pycnidia were collected randomly from one or three fields at each location, and fragments of 5 cm were fixed to glass slides with sticky tape and kept under high-humidity conditions for 24 h. Subsequently, chyrri from single pycnidia—one or more per lesion from one or more distinct lesions per leaf—were collected with a sterilized needle under a stereomicroscope and transferred to potato dextrose agar (PDA) supplemented with streptomycin (50 mg/liter). After colony appearance, pycnidiospores were spread onto fresh PDA petri plates and kept at room temperature for 4 days; and, finally, single colonies were transferred to fresh PDA plates and stored at 4°C until DNA extraction. In total, 213 isolates were collected, maintained, and analyzed (Table 1).

DNA extraction. Prior to genomic DNA extraction, *Z. tritici* isolates were grown on PDA for 5 days at 18°C. Spore masses were subsequently scraped from the petri dishes and lyophilized in microtubes for 24 h (Epsilon 1-4/2-4 LCS plus; Martin Christ, Osterode am

Corresponding author: G. H. J. Kema; E-mail: gert.kema@wur.nl.

Accepted for publication 5 October 2016.

Harz, Germany). Two DNA extraction methods were used according to the pathogen population size. For the majority of isolates (192 isolates), DNA was isolated with a KingFisher DNA extraction robot (Thermo Electron Corporation, Breda, The Netherlands). Lyophilized spores were placed in microtubes containing a chrome/steel bead of 3.2 mm (Biospec Products, Bartlesville, OK) and were bead-beaten twice with a Tissue Lyser II (Qiagen, Hilden, Germany) for 20 s at 30 rpm/s. Lysis buffer was added (300 μ l) along with 0.5 μ l of RNase (2 mg/ml) and the microtube content was once more bead-beaten for 20 s. After 30 min of incubation at 65°C, the microtubes were centrifuged for 10 min at 6,000 rpm (Sigma, Osterode am Harz, Germany). Clear supernatants (200 μ l) were collected and used to fill deep well plates containing 520 μ l of binding buffer and 60 μ l of coated magnetic particles from the sbeadex Maxi Plant kit (LGCgroup, Berlin). During the process, the particle-bound DNA was washed twice with 400 μ l of wash buffer and once with 400 μ l of nuclease-free water. Finally, DNA was eluted in 120 μ l of elution buffer and quantified with a spectrophotometer (ND-1000, NanoDrop Technologies, Wilmington, DE). For the remaining 20 isolates, the Wizard Magnetic DNA purification System for food Kit (Promega Corp., Madison, WI) was used according to the manufacturer's instructions, with a slight modification. Lyophilized spores (50 mg) were placed in 2-ml tubes with a tungsten carbide bead and shaken in a Mini bead beater (Biospec Products) for 10 s at a maximum speed. Lysis buffer (500 μ l) was added and cells were disrupted by another round of bead-beating following the same protocol. The obtained DNA was resuspended in 100 μ l of nuclease-free water and quantified as mentioned above.

Polymerase chain reaction mating type and QoI resistance analyses. The mating type of each isolate was identified using a multiplex polymerase chain reaction (PCR) amplification of partial sequences from the two mating type idiomorphs, according to Waalwijk et al. (2002). The specific *Mat1-1* and *Mat1-2* primers (Table 2) generate amplicons of 340 and 660 bp in length for *Mat1-1* and *Mat1-2*, respectively. DNA of the *Z. tritici* *Mat1-1* and *Mat1-2* reference isolates IPO323 and IPO94269, respectively, were included as positive controls.

Sensitivity or resistance for the QoI fungicides among the *Z. tritici* isolates was determined following a mismatch amplification mutation assay, according to Ware (2006). The specific primers (Table 2) generate a 639-bp DNA fragment in sensitive isolates and a 302-bp DNA fragment in resistant isolates. DNA of the standard sensitive *Z. tritici* isolates IPO323 and IPO94269 were used as positive controls. PCRs for mating type analyses were carried out by adding 1 μ l of genomic DNA (10 to 20 ng/ μ l), 5 μ l of 10 \times PCR buffer, 5 μ l (600 μ M) of dNTP, 0.25 μ l (5 U/ μ l) of Taq DNA Polymerase (Ampli Taq Gold; Roche, Somerville,

MA), and 2.5 μ l (6 μ M) of each primer to 50 μ l of nuclease free water. DNA samples were amplified using an MJ Research PT-100 thermocycler (Bio-Rad, Hercules, CA) programmed at 94°C for 2 min followed by 39 cycles of 94°C for 60 s, 68°C for 30 s, and 72°C for 60 s. The final extension was carried out at 72°C for 10 min.

For QoI analyses, thermal cycling conditions started with initial denaturation at 94°C for 2 min followed by 39 cycles of 60 s at 94°C, 30 s at 55°C when primers pairs for sensitive isolates were used or 30 s at 60°C when primers pairs for resistant isolates were used, before 60 s at 72°C for extension for both sets of PCR. Final PCR cycles were followed by incubation for 10 min at 72°C and cooling-off at 10°C. Amplification products were stained with GelRed, separated in 1% agarose gel, and visualized under UV-light.

Table 1. Origin of *Zymoseptoria tritici* isolates used in this study

Location	N ^a	Cultivar	Year of sampling
Alger	37	Vitron	2013 to 2014
	18	Ammar 6	2014
Blida	9	Vitron	2014
	43	Chen'S	2014
Bouira	13	Waha	2014
Constantine	50	Vitron	2014
Médéa	11	Vitron	2014
Tipaza	32	Vitron	2014
Total	213

^a Number of isolates.

Table 2. Primers used for *Zymoseptoria tritici* in this study

Primer	Sequence (5' to 3')
MAT1-1 F ^a	CCGCTTTCTGGCTTCTTCGCACTG
MAT1-1 R ^a	TGGACACCATGGTGAGAGAACCT
MAT1-2 F ^a	GGCGCCTCCGAAGCAACT
MAT1-2 R ^a	GATGCGGTTCTGGACTGGAG
StrobSNP2fwd ^b	CTTATGGTCAAATGTCTTTATGATG
StrobSNP1rvs ^b	GGTGACTCAACGTGATAGC
StrobSNPrcF7 ^b	CAATAAGTTAGTTATAACTGTTGCGG
StrobSNPrcR1 ^b	CTATGCATTATAACCCTAGCGT

^a Waalwijk et al. (2002).

^b Ware (2006).

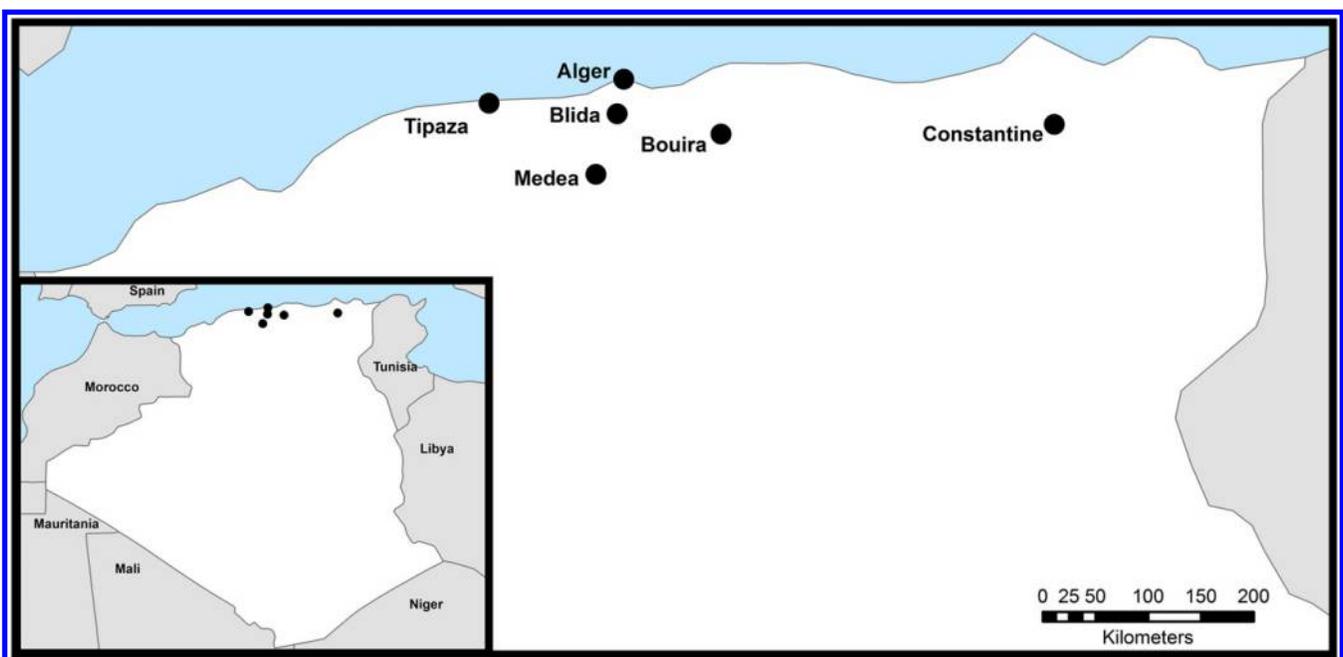


Fig. 1. Map displaying sampling locations of the *Zymoseptoria tritici* populations.

Fungicide sensitivity bioassay. In order to validate the PCR analyses for QoI resistance, colony development of six isolates carrying the QoI-resistant allele and three isolates carrying the QoI-sensitive allele was compared on strobilurin-amended (azoxystrobin at 1 ppm; Amistar; Syngenta, Basel, Switzerland) PDA plates as described earlier (Ware 2006). Isolates (5 µl with a concentration of 4 × 10⁵ spore/ml) were spotted on amended agar plates as well as regular PDA plates amended with 1% methanol as controls. All plates were replicated three times and incubated in the dark at 20°C for 10 days.

Data analyses. The mating type distributions were determined at different spatial scales: within lesions, within leaves, within fields, and within locations. To detect any significant deviation from the expected 1:1 ratio, frequencies of both mating types were analyzed at field and location level using the χ^2 test at the significance level $P = 0.05$, and the distributions between locations were tested using Pearson's χ^2 test.

Results

Mating types determination. In total, 213 *Z. tritici* isolates were obtained (Table 1) and subsequently assayed for *Mat1-1* and *Mat1-2* frequencies. The mating-type-specific PCR generated a single amplicon of either 340 or 660 bp, corresponding with the *Mat1-1* or *Mat1-2* alleles, respectively, in 208 isolates (Fig. 2).

Macro- and microgeographical distribution of *Z. tritici* *Mat* alleles. Both mating types were found among all *Z. tritici* isolates that were isolated from the six sampled locations. Overall, the 208 tested isolates showed a 1:1 ratio as expected in random mating populations with 110 isolates (53%) *Mat1-1* and 98 *Mat1-2* isolates (47%).

The χ^2 test analysis revealed no significant differences in the frequencies of the two mating types within and among locations (Table 3). Both mating types occurred at equal frequencies in each location, with an absolute equal distribution in Blida (Table 3). One to three fields per location were analyzed and tested for the mating type frequencies with a χ^2 test and the results showed that field 2

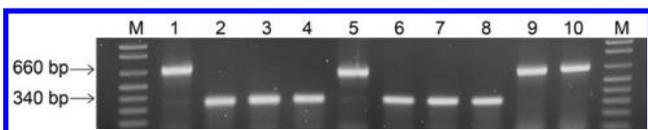


Fig. 2. Multiplex polymerase chain reaction for *Mat1-1* or *Mat1-2* mating type determinations in Algerian *Zymoseptoria tritici* isolates. Lanes 1 and 2: specific amplicons generated in the reference isolates IPO94269 (660 bp, *Mat1-2*) and IPO323 (340 bp, *Mat1-1*); lanes 3 to 10: various explanatory field isolates from Alger, Blida, and Constantine; and lane M, 100-bp DNA ladder.

Table 3. Frequency distributions of *Zymoseptoria tritici* mating types within fields and among locations

Location	Field	N ^a	Frequency		χ^2 Values (df)	
			<i>Mat1-1</i>	<i>Mat1-2</i>	Within fields	Among locations
Alger	1	31	0.48	0.52	0.03 (1)	0.51 (5)
	2	13	1.00	0.00	10.28* (1)	...
	3	10	0.20	0.80	3.6 (1)	...
Blida	1	15	0.53	0.47	0.06 (1)	...
	2	15	0.40	0.60	0.6 (1)	...
	3	22	0.55	0.45	0.18 (1)	...
Constantine	1	10	1.00	0.00	10.00* (1)	...
	2	10	0.70	0.30	1.6 (1)	...
	3	28	0.29	0.71	5.14* (1)	...
Tipaza	1	17	0.47	0.53	0.05 (1)	...
	2	14	0.57	0.43	0.28 (1)	...
Bouira	1	12	0.58	0.42	0.33 (1)	...
Médéa	1	11	0.55	0.45	0.39 (1)	...
Total	13	208	0.53	0.47	0.69 (1)	...

^a Number of isolates.

from Alger and fields 1 and 3 from Constantine showed a significant deviation from a 1:1 ratio (χ^2 test, $P = 0.05$). The former fields showed exclusively *Mat1-1* strains.

Occurrence of the two mating types on the same leaf or within the same lesion was observed in each location tested, even in fields with a small sample sizes such as those from Bouira and Médéa (Tables 4 and 5). A fine spatial scale investigation on wheat leaves revealed the coexistence of both mating types in the same lesion in 44% (8 of 18) of the cases whereas, when multiple lesions on the same leaf were analyzed, both mating types were found in 38% (10 of 26) of the leaves. Co-occurrence of both mating types with a 1:1 ratio was observed at either lesion and at each leaf scale.

Table 4. Distribution of *Zymoseptoria tritici* mating types among isolates from the same leaf

Leaf number	Location	No. isolates	<i>Mat1-1</i>	<i>Mat1-2</i>
1	Alger	6	2	4
2	Alger	7	3	4
3	Alger	7	5	2
4	Alger	8	2	4
5	Alger	7	7	0
6	Alger	6	6	0
7	Alger	10	2	8
8	Blida	11	11	0
9	Blida	6	6	0
10	Blida	6	4	2
11	Blida	8	0	8
12	Blida	15	2	13
13	Constantine	8	8	0
14	Constantine	9	6	3
15	Constantine	11	0	11
16	Constantine	6	3	3
17	Constantine	11	5	6
18	Tipaza	8	8	0
19	Tipaza	7	0	7
20	Tipaza	9	5	4
21	Tipaza	7	3	4
22	Bouira	3	3	0
23	Bouira	7	3	4
24	Bouira	2	1	1
25	Médéa	5	3	2
26	Médéa	6	3	3
Total		196	101	95

Table 5. Distribution of *Zymoseptoria tritici* mating types among isolates from the same lesion

Lesion number	Location	N ^a	<i>Mat1-1</i>	<i>Mat1-2</i>
1	Alger	3	1	2
2	Alger	3	3	0
3	Alger	3	1	2
4	Alger	4	4	0
5	Blida	4	4	0
6	Blida	4	1	3
7	Blida	4	0	4
8	Blida	5	1	4
9	Constantine	5	5	0
10	Constantine	4	1	3
11	Constantine	5	5	0
12	Constantine	3	2	1
13	Tipaza	3	3	0
14	Tipaza	3	0	3
15	Tipaza	3	1	2
16	Tipaza	4	2	2
17	Bouira	2	1	1
18	Médéa	4	2	2
Total	...	66	37	29

^a Number of isolates.

Screening for the G143A substitution. The presence of the G143A substitution conferring resistance in *Z. tritici* to QoI-based fungicides was investigated at six locations in Algeria by screening 213 isolates for the G143A mutation. We found six isolates from two different fields (Alger and Constantine) with a single 302-bp amplicon corresponding to the resistance allele A143, whereas the remaining isolates showed the 639-bp amplicon that is indicative of strobilurin sensitivity (Fig. 3). The G143A substitution occurred with a frequency of 0.02 among the locations tested and was found in field 1 in Alger with a frequency of 0.05 (3 of 54; 1 *Mat1-1* and 2 *Mat1-2*) and with a frequency of 0.06 (3 of 48; 2 *Mat1-1* and 1 *Mat1-2*) in field 2 in Constantine. Thus, in both locations, the G143A mutation occurred independently of the mating type of the *Z. tritici* isolates.

The sensitivity bioassay with azoxystrobin-amended PDA plates was performed with the six isolates carrying the G143A mutation and three wild-type isolates from the same fields. In vitro fungicide sensitivity bioassay results were consistent with the PCR assays, because the six isolates considered resistant to QoI formed colonies on the PDA plates amended with azoxystrobin at 1 ppm (Fig. 4), whereas the three isolates considered sensitive to QoI showed no mycelial growth at the same azoxystrobin concentration.

Discussion

The present study reveals that both *Z. tritici* mating types occur with equal frequency distributions at all scales studied. This suggests regular sexual reproduction cycles under Algerian conditions. Our results accord with previous reports from different countries all over the world (Siah et al. 2010b; Zhan et al. 2002), including countries with very different climatic conditions (Abrinbana et al. 2010; Allioui et al. 2014; Boukef et al. 2012; Elbekali et al. 2012), although the *Z. tritici* teleomorph was never reported in natural fields in Algeria. Evidence of the occurrence of sexual reproduction was pointed out by several authors in the past. Zhan et al. (2003), who analyzed a global collection from different continents, including 52 Algerian isolates, reported a high genotypic diversity, which highlighted a significant role of sexual recombination in shaping the *Z. tritici* population structure. Later, Midini and Hamza (2008) compared three populations from Canada, Tunisia, and Algeria and reported that the latter population showed the highest genetic diversity. Moreover, the assessment of virulence on a differential set that included bread and durum wheat cultivars allowed them to differentiate eight significantly different levels of pathogenicity, with four of those being unique to Algeria. Hence, these reports support our data and likely reflect the pathogens' adaptation potential to either environmental conditions or wheat species diversity in the country, as reported by McDonald and Linde (2002).

At the country level, the mating type ratio did not deviate significantly from the expected 1:1 = *Mat1-1:Mat1-2* ratio, which was also reported for field populations in other Algerian regions (Allioui et al. 2014). However, the present study further supports the evidence of the occurrence of sexual recombination by showing that both mating types coexist with equal distributions regardless of climatic conditions, agricultural practices, and host distribution, similar to what was found in the French *Z. tritici* population, where the distribution of the mating types was also independent of geographical diversity (Siah et al. 2010b). Some individual fields—field 2 from Alger and fields 1 and 3 from Constantine—did not match 1:1 distributions for both mating type alleles but, at the location level, these frequencies were equal and, hence, such deviations are considered to result from sampling errors (Abrinbana et al. 2010; Elbekali et al. 2012). In our study, deviations may theoretically also result from an overrepresentation of clones because our data were not clone corrected due to the lower number of isolates per location. Indeed, our results confirmed earlier reports on the co-occurrence of both *Z. tritici* mating types at the leaf and lesion scales—even when the sample size was not large—in all locations sampled (Elbekali et al. 2012; El Chartouni et al. 2012; Linde et al. 2002; Siah et al. 2010b; Zhan et al. 2002). At the leaf scale, 62% of tested leaves were colonized by either *Mat1-1* or *Mat1-2* strains, which is not surprising,

because most lesions are believed to be initiated by a single genotype (McDonald and Martinez 1990). As a consequence, successive leaf infections with pycnidiospores from the same haplotype could occur. Therefore, El Chartouni et al. (2012) suggested that genetic diversity at the leaf scale might be a good assessment of asexual reproduction. At the lesion scale, both mating types occurred in 44% of lesions when more than two isolates were assayed, similar to previous findings in other countries (Elbekali et al. 2012; El Chartouni et al. 2012). Given the known bipolar heterothallic mating system of *Z. tritici* (Kema et al. 1996), coexistence of isolates with the opposite mating type at small spatial scales facilitates mating, enabling rapid adaptation to environmental stresses (Linde et al. 2002).

The first QoI-resistant isolates of *Z. tritici* were detected in the United Kingdom in 2001 (Fraaije et al. 2005) and subsequently in five other European countries (Gisi et al. 2005). In the Maghreb countries, strobilurin deployment was limited compared with Europe, and recent investigations have reported the absence of the G143A substitution in Tunisia and Algeria (Allioui et al. 2013; Boukef et al. 2012; Somai-Jemmali et al. 2014; Stammer et al. 2012). The same results were initially reported in Morocco from a subset of 134 isolates collected in 2008 (El Bekali et al. 2011). However, the same study revealed, for the first time, the occurrence of QoI-resistant isolates in Morocco from a subset of 96 isolates collected in 2010. Similarly, Taher et al. (2014) detected three QoI-resistant isolates in Tunisia.

The collection of 213 field isolates of *Z. tritici* from six locations in Algeria was screened for QoI resistance and the G143A mutation was identified for the first time and confirmed with a fungicide sensitivity bioassay. Although just six mutants were found among these 213 isolates, the finding is significant because, thus far, all studies also in related fungi such as *Pseudocercospora fijiensis* in banana (Amil et al. 2007; Arango Isaza et al. 2016; Chin et al. 2001; Sierotzki et al. 2000) have shown that, once the mutation is selected, its frequency rapidly increases over time. Thus far, it was only observed in Alger and Constantine and none were found in Blida, Tipaza, Bouira, and Médéa, indicating that the QoI resistance likely only recently emerged in Algeria. However, we expect that it will spread rapidly over larger areas, because wind dispersal of ascospores (Torriani et al. 2009) combined with selection (Gisi et al. 2005) and stress-driven unavoidable paternal mating (Ware 2006) will dramatically increase the frequency of this newly emerged QoI resistance.

Our results showed the presence of QoI resistance in Algeria only in fields that were sprayed yearly with Amistar Pro (Azoxystrobin;

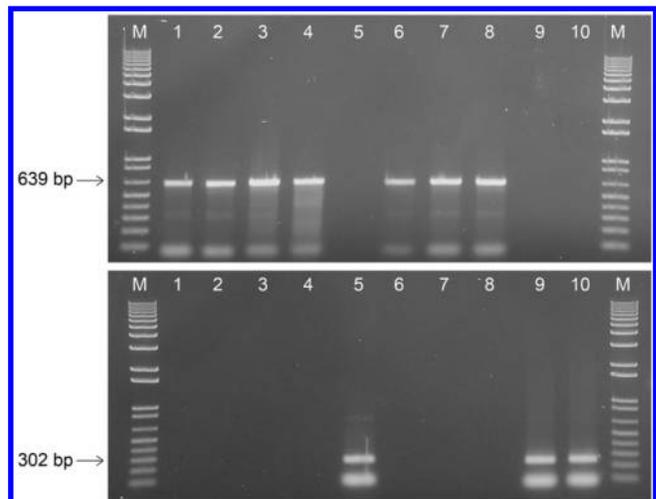


Fig. 3. Mismatch amplification mutation assay to determine the G143A mutation in the cytochrome *b* gene in an Algerian *Zymoseptoria tritici* population. Lanes 1 and 2: sensitive control isolates IPO94269 and IPO323; lanes 3, 4, 6, 7, and 8: sensitive isolates carrying the wild-type allele and showing an amplicon of 639 bp; lanes 5, 9, and 10: resistant isolates with the G143A mutation indicated by the 302-bp amplicon; and lane M, 100-bp DNA ladder.

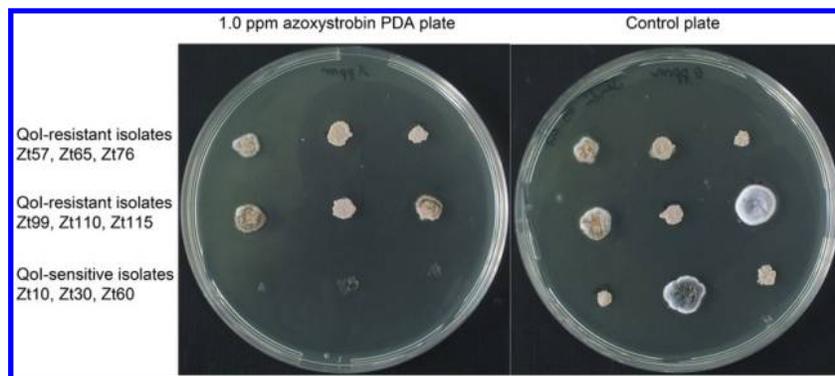


Fig. 4. Quinone outside inhibitor(QoI) fungicide sensitivity assay. Six *Zymoseptoria tritici* isolates carrying the G143A mutation grow normally on potato dextrose agar (PDA) plates amended with azoxystrobin at 1 ppm, whereas the three wild-type isolates were unable to develop colonies (left panel). PDA control plate amended with 1% methanol (right panel).

Syngenta). Information collected during this study showed that DMIs remain the main fungicide class for STB management in Algeria. Strobilurins are applied once a year, mainly for their greening effect, which contributes to a slight yield increase in some genotypes under water deficiency, as reported by Inagaki et al. (2009). Hence, a unique application each season was apparently enough for strobilurin resistance emergence. However, the low frequency of the G143A substitution reported in this study highlights the difference between European and North African populations of *Z. tritici* and provides a unique opportunity to monitor the expansion of QoI-resistant strains in these and other locations.

Finally, the coexistence of the *Z. tritici* mating types across several spatial scales in Algeria opens up many possibilities for further studies, such as sexual crossings between isolates with known or unknown mating types to further the understanding of the epidemiology of *Z. tritici* in a wheat production system that is dominated by durum wheat under Mediterranean conditions.

Acknowledgments

This work was partially supported by the National Institute of Agricultural Research of Algeria. We thank M. Abdelguerfi, who hosts H. Meamiche Neddaf at the laboratory of molecular biology (Departement de Phytotechnie, ENSA, Alger); L. N. Salhi, for providing some reagents when needed; A. Benbelkacem for his support; A. M. Gohari for technical advice; and H. Benslimane for reviewing specific aspect of this project.

Literature Cited

Abrinbana, M., Mozafari, J., Shams-Bakhsh, M., and Mehrabi, R. 2010. Genetic structure of *Mycosphaerella graminicola* populations in Iran. *Plant Pathol.* 59:829-838.

Allioui, N., Siah, A., Brinis, L., Reignault, P., and Halama, P. 2013. Assessment of the cytochrome B substitution G143A in the Algerian population of *Mycosphaerella graminicola*. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 78:613-616.

Allioui, N., Siah, A., Brinis, L., Reignault, P., and Halama, P. 2014. Mating type distribution provides evidence for sexual reproduction of *Mycosphaerella graminicola* in Algeria. *Can. J. Plant Pathol.* 36:475-481.

Amil, A. F., Heaney, S. P., Stanger, C., and Shaw, M. W. 2007. Dynamics of QoI sensitivity in *Mycosphaerella fijiensis* in Costa Rica during 2000 to 2003. *Phytopathology* 97:1451-1457.

Arango Isaza, R., Diaz-Trujillo, C., Dhillon, B., Aerts, A., Carlier, J., Crane, C. F., de Jong, T. V., de Vries, I., Dietrich, R., Farmer, A. D., Fortes Ferreira, C., Garcia, S., Guzman, M., Hamelin, R. C., Lindquist, E. A., Mehrabi, R., Quiros, O., Schmutz, J., Shapiro, H., Reynolds, E., Scalliet, G., Souza, M., Jr., Stergiopoulos, I., Van der Lee, T. A. J., De Wit, P. J. G. M., Zapater, M.-F., Zwieters, L.-H., Grigoriev, I. V., Goodwin, S. B., and Kema, G. H. J. 2016. Combatting a global threat to a clonal crop: Sequencing the banana black Sigatoka pathogen *Pseudocercospora fijiensis* (synonym *Mycosphaerella fijiensis*) reveals clues for disease control. *PLoS Genet.* 12:e1006365.

Bartlett, D. W., Clough, J. M., Godwin, J. R., Hall, A. A., Hamer, M., and Parr-Dobrzanski, B. 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Manage. Sci.* 58: 649-662.

Benbelkacem, K., Bouznad, Z., Benslimane, H., and Salhi, L. N. 2011. Occurrence of Septoria leaf blotch in Algeria and assessment of wheat resistance. In: 8th Int. Symp. *Mycosphaerella* and *Stagonospora* Dis. Cereals, Mexico City.

Boukef, S., McDonald, B. A., Yahyaoui, A., Rezgui, S., and Brunner, P. C. 2012. Frequency of mutations associated with fungicide resistance and population

structure of *Mycosphaerella graminicola* in Tunisia. *Eur. J. Plant Pathol.* 132:111-122.

Chen, R. S., and McDonald, B. A. 1996. Sexual reproduction plays a major role in the genetic structure of populations of the fungus *Mycosphaerella graminicola*, the Septoria tritici blotch fungus. *Phytopathology* 92:439-445.

Chin, K. M., Wirz, M., and Laird, D. 2001. Sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis* from banana to trifloxystrobin. *Plant Dis.* 85:1264-1270.

Cowger, C., and Mundt, C. C. 2002. Agressiveness of *Mycosphaerella graminicola* isolates from susceptible and partially resistant wheat cultivars. *Phytopathology* 92:624-630.

Drabešová, J., Ryšánek, P., Brunner, P., McDonald, B. A., and Croll, D. 2013. Population genetic structure of *Mycosphaerella graminicola* and Quinone Outside Inhibitor (QoI) resistance in the Czech Republic. *Eur. J. Plant Pathol.* 135:211-224.

Elbekali, A. Y., Ramdani, A., El Chartouni, L., Tisserant, B., Deweer, C., Fichter-Roisin, C., Sanssene, J. B., Durand, R., Halama, P., and Reignault, P. 2012. First report of the mating types MAT1-1 and MAT1-2 of *Mycosphaerella graminicola* in Morocco. *J. Plant Pathol.* 94:243-247.

Elbekali, A. Y., Ramdani, A., Siah, A., Tisserant, B., Deweer, C., Hafidi, M., Reignault, P., and Halama, P. 2011. Detection of strobilurin-resistant isolates of *Mycosphaerella graminicola* in Morocco. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 76:715-719.

El Chartouni, L., Tisserant, B., Siah, A., Duyme, F., Durand, R., Halama, P., and Reignault, P. 2012. Evolution of *Mycosphaerella graminicola* at the wheat leaf level and at the field level. *Phytopathol. Mediterr.* 2:332-339.

Fones, H., and Gurr, S. 2015. The impact of *Septoria tritici* Blotch disease on wheat: An EU perspective. *Fungal Genet. Biol.* 79:3-7.

Fraaije, B. A., Cools, H. J., Fontaine, J., Lovell, D. J., Motteram, J., and West, J. S. 2005. Role of ascospores in further spread of QoI-resistant cytochrome b alleles (G143A) in field populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* 95:933-941.

Fraaije, B. A., Lucas, J. A., Clark, W. S., and Burnett, F. J. 2003. QoI resistance development in populations of cereal pathogens in the UK. In: Proc. BCPC Int. Congr. The British Crop Protection Council, Alton, Hampshire, UK. *Crop Sci. Technol.* 2:689-694.

Gisi, U., Pavic, L., Stanger, C., Hugelshofer, U., and Sierotzki, H. 2005. Dynamics of *Mycosphaerella graminicola* populations in response to selection by different fungicides. Pages 89-101 in: Modern fungicides and antifungal compounds IV. H. W. Dehne, U. Gisi, K. H. Kuck, P. E. Russell, and H. Lyr, eds. BCPC, Alton, UK.

Gisi, U., Sierotzki, H., Cook, A., and McCaffery, A. 2002. Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. *Pest Manage. Sci.* 58:859-867.

Hunter, R., Coker, R. R., and Royle, D. J. 1999. The teleomorph stage, *Mycosphaerella graminicola*, in epidemics of Septoria tritici blotch on winter wheat in UK. *Plant Pathol.* 48:51-57.

Inagaki, M., Mori, M., and Nachit, M. 2009. Effect of a strobilurin-class fungicide on water use in synthetic bread wheat genotypes grown under increasing water deficit conditions. *Cereal Res. Comm.* 37:513-519.

Kema, G. H. J., Verstappen, E. C. P., Todorova, M., and Waalwijk, C. 1996. Successful crosses and molecular tetrad and progeny analysis demonstrate heterothallism in *Mycosphaerella graminicola*. *Curr. Genet.* 30:251-258.

Linde, C. C., Zhan, J., and McDonald, B. A. 2002. Population structure of *Mycosphaerella graminicola*: From lesions to continents. *Phytopathology* 92: 946-955.

McDonald, B. A., and Linde, C. 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:349-379.

McDonald, B. A., and Martinez, J. P. 1990. DNA restriction fragment length polymorphisms among *Mycosphaerella graminicola* (anamorph Septoria tritici) isolates collected from a single wheat field. *Phytopathology* 80: 1368-1373.

- Medini, M., and Hamza, S. 2008. Pathotype and molecular characterization of *Mycosphaerella graminicola* isolates collected from Tunisia, Algeria, and Canada. *J. Plant Pathol.* 90:65-73.
- Quaedvlieg, W., Kema, G. H. J., Groenwald, J., Verkley, G., Seifbarghi, S., Razavi, M., Gohari, A. M., Mehrabi, R., and Crous, P. 2011. *Zymoseptoria* gen. nov.: A new genus to accommodate Septoria-like species occurring on graminicolous hosts. *Persoonia Mol. Phylogeny Evol. Fungi* 26:57-69.
- Ruske, R. E., Gooding, M. J., and Jones, S. A. 2003. The effects of triazole and strobilurin fungicide programmes on nitrogen uptake, partitioning, remobilization and grain N accumulation in winter wheat cultivars. *J. Agric. Sci.* 140:395-407.
- Siah, A., Deweer, C., Morand, E., Reignault, P., and Halama, P. 2010a. Azoxystrobin resistance of French *Mycosphaerella graminicola* strains assessed by four in vitro bioassays and by screening of G143A substitution. *Crop Prot.* 29: 737-743.
- Siah, A., Elbekali, A. Y., Ramdani, A., Reignault, P., Torriani, S. F. F., Brunner, P. C., and Halama, P. 2014. QoI resistance and mitochondrial genetic structure of *Zymoseptoria tritici* in Morocco. *Plant Dis.* 98:1138-1144.
- Siah, A., Tisserant, B., El Chartouni, L., Duyme, F., Deweer, C., Fichter, C., Sanssené, J., Durand, R., Reignault, P., and Halama, P. 2010b. Mating type idiomorphs from French population of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*: Widespread equal distribution and low but distinct levels of molecular polymorphism. *Fungal Biol.* 114:980-990.
- Sierotzki, H., Parisi, S., Steinfeld, U., Tenzer, I., Poirey, S., and Gisi, U. 2000. Mode of resistance to respiration inhibitors at the cytochrome bc1 enzyme complex of *Mycosphaerella fijiensis* field isolates. *Pest Manage. Sci.* 56:833-841.
- Somai-Jemmali, L., Selim, S., Siah, A., and Hamada, W. 2014. Fungicide sensitivity of *Mycosphaerella graminicola* Tunisian isolates: The importance of drug transporter genes in the process of fungicide tolerance. *Phytopathol. Mediterr.* 53:83-93.
- Stammler, G., Taher, K., Koch, A., Haber, J., Liebmann, B., Bouagila, A., Yahyaoui, A., and Nasraoui, B. 2012. Sensitivity of *Mycosphaerella graminicola* isolates from Tunisia to epoxiconazole and pyraclostrobin. *Crop Prot.* 34: 32-36.
- Taher, K., Graf, S., Fakhfakh, M. M., Salah, H. B. H., Yahyaoui, A., Rezgui, S., Nasraoui, B., and Stammler, G. 2014. Sensitivity of *Zymoseptoria tritici* isolates from Tunisia to Pyraclostrobin, Fluxapyroxad, Epoxiconazoles, Metconazole, Prochloraz and Tebuconazole. *J. Phytopathol.* 162:442-448.
- Torriani, S. F. F., Bruner, P. C., McDonald, B. A., and Sierotzki, H. 2009. QoI resistance emerged independently at least 4 times in European populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Manage. Sci.* 65:155-162.
- Torriani, S. F. F., Melichar, J. P. E., Mills, C., Pain, N., Sierotzki, H., and Courbot, M. 2015. *Zymoseptoria tritici*: A major threat to wheat production, integrated approaches to control. *Fungal Genet. Biol.* 79:8-12.
- Waalwijk, C., Mendes, O., Verstappen, E. C. P., de Waard, M. A., and Kema, G. H. J. 2002. Isolation and characterization of the mating type idiomorphs from the wheat Septoria leaf blotch fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Fungal Genet. Biol.* 35:277-286.
- Ware, S. B. 2006. Aspects of sexual reproduction in *Mycosphaerella* species on wheat and barley: Genetic studies on specificity, mapping and fungicide resistance. Pages 101-122 in: Ph.D. thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands.
- Zhan, J., Kema, G. H. J., Waalwijk, C., and McDonald, B. A. 2002. Distribution of mating type alleles in the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* over spatial scales from lesions to continents. *Fungal Genet. Biol.* 36: 128-136.
- Zhan, J., Pettway, R. E., and McDonald, B. A. 2003. The global genetic structure of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* is characterized by high nuclear diversity, low mitochondrial diversity, regular recombination, and gene flow. *Fungal Genet. Biol.* 38:286-297.



First report of the *Zymoseptoria tritici* teleomorph stage causing septoria leaf blotch of wheat in Algeria

W. Harrat^{1,2}, H. Meamiche Neddaf^{1,2*}, A. Keddad¹ and Z. Bouznad¹

¹ Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Moléculaire, Avenue Hassen Badi, El Harrach, Algeria; ² Institut National de Recherche Agronomique d'Algérie, 2 rue les Frères Oudek, El Harrach, Algeria

*E-mail: meamiche.hayet@gmail.com

Received: 04 May 2017. **Published:** 06 Jun 2017. **Keywords:** ascospores, durum wheat, pseudothecia, sexual reproduction

Durum wheat (*Triticum durum*) is one of the most important cereal crops in Algeria with an annual production of approximately 1.3 million tonnes in 2015-2016. Septoria leaf blotch caused by *Zymoseptoria tritici* (syn. *Mycosphaerella graminicola*) is considered to be one of the major diseases affecting both durum and bread wheat in Algeria. Algerian *Z. tritici* populations undergo frequent sexual reproduction mirrored by co-occurrence of both mating types (Allioui *et al.*, 2014; Meamiche Neddaf *et al.*, 2017). Pseudothecia have been obtained under controlled conditions (Ayad *et al.*, 2014), however the natural occurrence of the teleomorph stage has never been reported in the country.

In November 2015, wheat stubble from naturally infected wheat fields in two different growing regions in Algeria (Algiers and Constantine) was sampled and examined for the presence of pseudothecia. Pseudothecia were observed using a stereomicroscope (Fig. 1). Five to ten pseudothecia were picked off with a needle, placed on a microscope slide in a drop of water, crushed and identified on the basis of their morphological characteristics (Fig. 2). Pseudothecia were dark brown, 68-117 µm in diameter, asci were hyaline, bitunicate, obpyriform, 33.5-48 × 10.5-33 µm and contained eight ascospores per ascus (Fig. 3). Ascospores were two-celled, hyaline, 9-14 × 2-3 µm.

Leaf samples bearing abundant fruiting bodies were selected and ascospores trapped using the inverted Petri dish method (Kema *et al.*, 1996). Ascospore-derived isolates were sub-cultured on potato dextrose agar, incubated at 18°C during five days in the dark prior to undertaking a pathogenicity test. Young wheat plants cv. Hoggar were inoculated by spraying a spore suspension (5×10^6 spores/ml) supplemented with two drops of Tween 20 per 40 ml, placed in moistened plastic bags for 72 h and kept under greenhouse conditions. Control plants were sprayed with sterile water. After 14 ± 2 days typical necrotic blotches with pycnidia were observed (Fig. 4). The pathogen was consistently reisolated from lesions. No symptoms were observed on the control plants inoculated with sterile water.

This is the first report of the *Zymoseptoria tritici* teleomorph causing

septoria leaf blotch on wheat in Algeria. Regular sexual reproduction generates new genotypes able to overcome host resistance (Cowger & Mundt, 2002) and adapt to other selective pressures, such as those generated by fungicide application.

Acknowledgements

The authors would like to thank Gert Kema for his support and Frederic Suffert for his technical assistance. W. Harrat and H. Meamiche Neddaf contributed equally to this work.

References

- Allioui N, Siah A, Brinis L, Reignault P, Halama P, 2014. Mating type distribution provides evidence for sexual reproduction of *Mycosphaerella graminicola* in Algeria. *Canadian Journal of Plant Pathology* **36**, 475-481. <http://dx.doi.org/10.1080/07060661.2014.964777>
- Ayad D, Sayoud R, Benbelkacem K, Bouznad Z, 2014. La tache septorienne du blé: Première signalisation de la présence en Algérie des deux mating types du téléomorphe *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schröter, (anamorphe: *Septoria tritici* Rob ex Desm.) et diversité phénotypique de l'agent pathogène. *Nature et Technologie* **11**, 34-45.
- Cowger C, Mundt CC, 2002. Aggressiveness of *Mycosphaerella graminicola* isolates from susceptible and partially resistant wheat cultivars. *Ecology and Population Biology* **92**, 624-630. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.6.624>
- Kema GHJ, Verstappen ECP, Todorova M, Waalwijk C, 1996. Successful crosses and molecular tetrad and progeny analysis demonstrate heterothallism in *Mycosphaerella graminicola*. *Current Genetics* **30**, 251-258. <http://dx.doi.org/10.1007/s002940050129>
- Meamiche Neddaf H, Aouini L, Bouznad Z, Kema GHJ, 2017. Equal distribution of mating type alleles and the presence of strobilurin resistance in Algerian *Zymoseptoria tritici* field populations. *Plant Disease* **101**, 1-6. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-03-16-0298-RE>

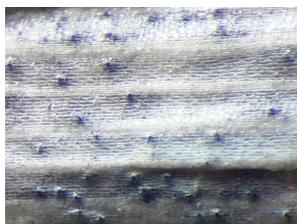


Figure 1

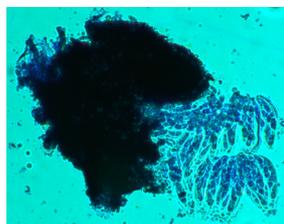


Figure 2

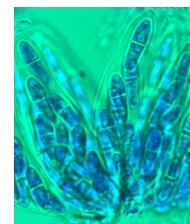


Figure 3



Figure 4

To cite this report: Harrat W, Meamiche Neddaf H, Keddad A, Bouznad Z, 2017. First report of the *Zymoseptoria tritici* teleomorph stage causing septoria leaf blotch of wheat in Algeria. *New Disease Reports* **35**, 30. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2017.035.030>

©2017 The Authors

This report was published on-line at www.ndrs.org.uk where high quality versions of the figures can be found.

RESUME

La tache septorienne du blé, causé par le champignon hétérothallique *Zymoseptoria tritici* est largement répandue en Algérie et dans le monde, avec des pertes de rendement variant entre 30 et 70%. En Algérie, elle est classée parmi les maladies les plus fréquentes, avec une prévalence plus importante au nord du pays. L'objectif de ce travail est d'étudier le mode de reproduction sexué et asexué de *Z. tritici* par : (1) La détermination des deux mating types *Mat1-1* et *Mat1-2* par PCR et l'analyse de leur distribution à l'échelle macro et micro-géographique ; (2) La recherche de la mutation monogénique G143A, conférant la résistance aux fongicides de la famille des strobilurines (QoI) par la technique MAMA ; (3) la mise en évidence de l'existence du téléomorphe *Z. tritici* dans les conditions naturelles de champ et l'étude des fréquences d'occurrences des fructifications sexuées en fonction des saisons ; (4) L'acquisition de connaissances pour l'héritabilité de la résistance par l'optimisation d'une procédure pour l'induction *in planta* de la reproduction sexuée en conditions semi-contrôlées.

Les mating types de 208 isolats, issus de six régions étudiées, ont été déterminés. L'analyse statistique des données a démontré une co-occurrence des deux mating types à l'échelle globale, reflétée par une distribution équivalente des fréquences, répondant à un ratio 1 : 1, avec 53% d'isolats *Mat 1-1* et 47% d'isolats *Mat1-2*. Aussi, la présence des deux mating types a été observée dans 38% des feuilles testées et 44% des lésions testées. L'occurrence de la mutation G143A a été investiguée sur 208 isolats. La présence de six isolats mutants, résistants aux strobilurines, détectés dans deux wilayas (Alger et Constantine) a été mise en évidence à la fois par la présence de la bande spécifique au gène mutant (résistant) ainsi que par les tests biologiques *in vitro* de sensibilité aux fongicides. Ce type de résistance est rapporté pour la première fois en Algérie. La recherche des structures de reproduction sexuée de *Z. tritici*, dans la wilaya d'Alger, d'août 2015 à août 2016 a permis de signaler la présence du téléomorphe, dans les conditions naturelles, pour la première fois en Algérie. Les caractères morphologiques des fructifications sexuées (pseudothèces, asques et ascospores), l'isolement du pathogène par la capture des ascospores et le test de pathogénicité ont confirmé l'appartenance des structures prélevées à l'espèce *Z. tritici*. Les fréquences d'occurrence des pseudothèces et l'intensité de décharge des ascospores enregistrées durant la période d'étude ont montré que les pseudothèces étaient présents sur les débris de cultures, avec des pics de maturité et de libération des ascospores situés entre novembre 2015 et janvier 2016. Les pseudothèces ont également été identifiés sur des plants de blé dur et de blé tendre en végétation, avec une dominance des fréquences sur le blé dur, à partir de la fin juin 2016. L'obtention *in planta* du téléomorphe *Z. tritici* en conditions contrôlées a permis de valider la procédure de croisement entre des isolats compatibles, avec l'induction de la formation de pseudothèces matures. Aussi, les inoculations réalisées ont permis d'observer des réponses différenciées des deux variétés utilisées, Simeto et Hoggar, vis-à-vis de *Z. tritici*. La reproduction sexuée est favorisée chez un hôte sensible (Hoggar) plutôt que chez un hôte résistant (Simeto). Cependant, la résistance de l'hôte (Simeto) ralentit le développement de la maladie et agit sur la multiplication asexuée, sans pour autant empêcher la reproduction sexuée, lorsque deux isolats compatible se rencontrent.

ABSTRACT

Septoria Tritici Blotch cause by the heterothallic fungus *Zymoseptoria tritici* is a large distributed wheat disease in Algeria and worldwide, with yeild losses up from 30 to 70%. In Algeria, the disease is considered as frequent, with an increased occurrence in the north part of the country. The aim of this thesis is to study sexual and asexual reproduction pathway of *Z. tritici* by: (1) Determination of both mating types Mat1-1 and Mat1-2 on a *Z. tritici* population and analyzing their frequencies distribution among macro and micro geographical scale; (2) Investigation for the G143A monogenic mutation conferring resistance of *Z. tritici* to strobilurins fungicides (QoI), using the MAMA technique ; (3) Providing evidence of the teleomorph *Z. tritici* occurrence under natural field conditions and investigation of frequencies occurrence of sexual fructification across seasons ; (4) Acquiring knowledge for resistance inheritance in wheat by optimizing an *in planta* crossing procedure to induce sexual reproduction of *Z. tritici*, under semi-controlled conditions.

Mating types of 208 isolates of *Z. tritici* from six wheat growing regions in Algeria were determined. Statistical analysis showed co-occurrence of both mating types at a global scale, reflected with an equal distribution of frequencies of mating types, with a 1:1 ratio and 53% Mat1-1 isolates and 47% Mat1-2 isolates. Also, co-occurrence of both mating types was revealed on 38% of leaves tested and 44% of lesions tested. Occurrence of the G143A mutation was investigated among 208 isolates of *Z. tritici* collection; six mutant isolates were showed to be resistant to strobilurins among two wilayas (Alger and Constantine). Resistance profile was confirmed by presence of specific bands of the mutant gene (resistant) and also by an *in vitro* bioassay of sensitivity to fungicides. This kind of resistance within *Z. tritici* population is reported for the first time in Algeria. Investigation for sexual fructifications of *Z. tritici*, in Alger, from august 2015 to august 2016 led to report the presence of the teleomorph of the fungus, under natural field conditions, for the first time in Algeria. Morphologic characteristics of sexual fructifications (pseudothecia, ascus and ascospores), isolation of the pathogene by ascospores trapping procedures and pathogenicity test confirmed all together that pseudothecia collected from field belong to *Z. tritici* species. Pseudothecia frequencies occurrence and ascospores discharge intensity recorded during the survey period indicate that pseudothecia were present on plant debris with a major peaks between November 2015 and January 2016. Pseudothecia were also observed on wheat plants during vegetation with dominant frequencies on durum wheat plot, from late june 2016. Inducing teleomorph formation *in planta* under semi-controlled conditions led to the validation of the crossing procedure of two compatible partners, as a result, mature pseudothecia of *Z. tritici* were obtained. Also, inoculations conducted showed differentiated responses of two varieties used, Simeto and Hoggar. Sexual reproduction is more effective on a susceptible host (Hoggar) than on a resistant one (Simeto). However, host resistance may delay the asexual multiplication of the pathogene without preventing sexual reproduction, when two compatible partners meet.

ملخص

مرض تبقع الأوراق الناجم عن الفطر الهيتيروتايليكي *Zymoseptoria tritici* منتشر على نطاق واسع في الجزائر وفي العالم، مسببا بذلك خسائر معتبرة للمحاصيل التي تتراوح بين 30 و70%. في الجزائر، يعتبر هذا المرض الأكثر انتشارا، مع نسبة أعلى في شمال البلاد. الهدف من هذا العمل هو دراسة النمط الجنسي والتكاثر اللاجنسي لـ *Z. tritici* من خلال: (1) تحديد نوعي التزاوج *MAT 1-1* و *MAT 1-2* بواسطة تقنية PCR و تحديد توزيعهما على نطاق ماكروجغرافي وميكروجغرافي؛ (2) البحث عن الطفرة الجينية G143A التي تمنح مقاومة الفطريات اتجاه عائلة المبيدات strobilurines (QoI) بواسطة تقنية MAMA؛ (3) تسليط الضوء على احتمال تواجد الشكل المثالي لـ *Z. tritici* تحت ظروف الحقل الطبيعية ودراسة ترددات وقوعه على مر الفصول؛ (4) اكتساب معارف جديدة حول وراثته عوامل المقاومة للقمح اتجاه *Z. tritici* عن طريق تحسين تقنية التهجين بين سلالتين متوافقتين وتحريض التكاثر الجنسي في النبتة تحت ظروف شبه خاضعة للمراقبة.

تم تحديد أنواع التزاوج عند 208 عزلة موزعة على 06 ولايات في الجزائر. اظهر التحليل الاحصائي للبيانات على حدوث متلازم لكل من النوعين على المستوى الوطني، منعكس من خلال توزيع تردد متكافئ، يستجيب لنسبة 1:1، مع 53% عزلة *MAT 1-1* و 47% عزلة *MAT 1-2*. أيضا، لوحظ تواجد كلا النوعين من التزاوج في 38% و 44% من الأوراق والبقع المختبرة. تم الاستطلاع على حدوث الطفرة G143A عبر 208 عزلة لـ *Z. tritici* وتم اثبات وجود 06 عزلات متحولة مقاومة للمبيدات من نوع strobilurines في ولايتي الجزائر وقسنطينة، وهذا من خلال وجود الفرقة الخاصة بالطفرة الجينية G143A وكذلك الاختبار البيولوجي للحساسية اتجاه المبيدات. تم الإبلاغ عن هذا النوع من المقاومة لأول مرة في الجزائر. عملية البحث عن الشكل المثالي لـ *Z. tritici* ابتداء من أوت 2015 الى غاية أوت 2016 مكنت بالشارة الى وجود الهياكل التناسلية للفطر، تحت ظروف الحقل الطبيعية لأول مرة في الجزائر. وبالإضافة، فإن الملاحظات الشكلية للهياكل التناسلية وعزل الفطر عن طريق قبض الاسكوسبوريات واختبار مرضية العزل الناتجة، اكدت أن الهياكل التناسلية المعزولة تنتمي الى حنطة *Z. tritici*. أظهرت دراسة ترددات وقوع البسودوثيسيا وكثافة تصريف الاسكوسبوريات المسجلة خلال فترة الدراسة أن الشكل المثالي *Z. tritici* متواجد على أنقاض المحاصيل، مع قمم نضج وتصريف الاسكوسبوريات بين نوفمبر 2015 وجانفي 2016. سجلت أيضا ترددات وقوع الشكل المثالي على القمح اللين والقمح الصلب خلال فترة نمو النبات، مع هيمنة الترددات عند القمح الصلب، اين تمت ملاحظتها ابتداء من شهر جوان 2016.

سمحت عملية الحصول على الشكل المثالي لـ *Z. tritici* في النبتة تحت ظروف شبه خاضعة للرقابة من التحقق على صحة اجراء التهجين بين علتين متوافقتين جنسيا، مع استقراء تشكيل البسودوثيسيا ناضجة لـ *Z. tritici*. كما سمحت التطعيمات الاصطناعية التي أجريت على نوعي القمح الصلب Simeto وهقار ملاحظة استجابات متباينة للنوعين اتجاه عامل المرض لـ *Z. tritici*. حيث لوحظ أن التكاثر الجنسي يفضل على مضيف حساس (هقار) بدلا من مضيف مقاوم (Simeto) مع ذلك فإن مقاومة المضيف تؤدي إلى ابطاء ظهور المرض والتكاثر اللاجنسي دون منع التكاثر الجنسي عند التقاء عزلتين متوافقتين.