

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 Bouhaf, 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).

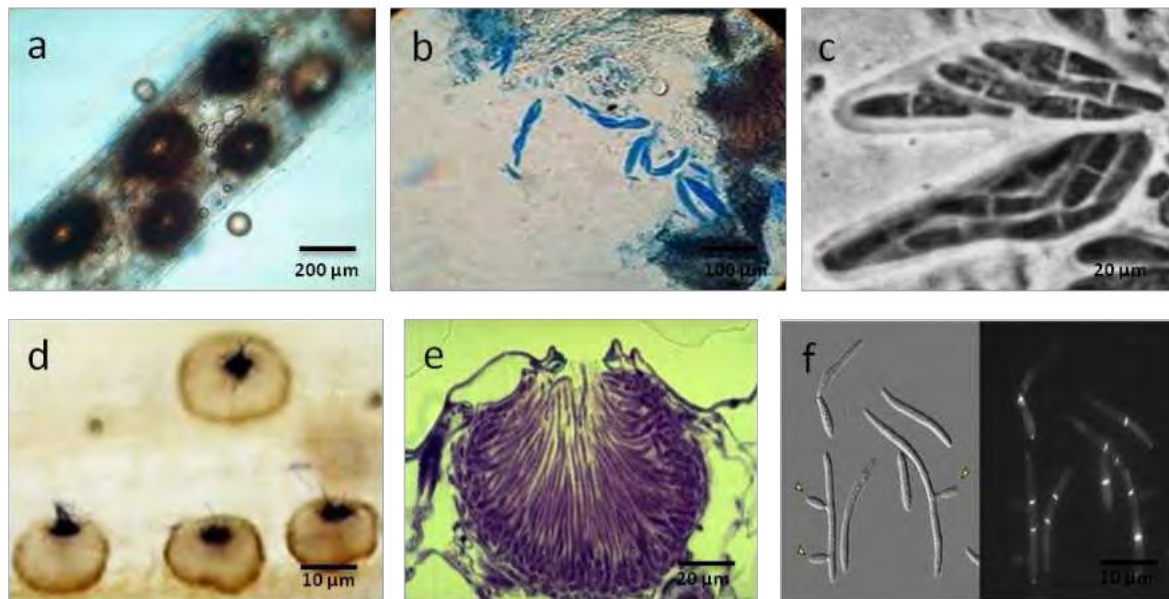


Figure 2. Fructifications sexuées et asexuées de *Z. tritici* : **(a)** Alignement de pseudothèces observés au microscope optique (Morais, 2015) ; **(b)** Pseudohèce avec asques (Suffert *et al*, 2016) ; **(c)** Asques pyriformes (Sanderson, 1972) ; **(d)** Pycnides avec pycnidiospores aux bords des 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'écartier 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).

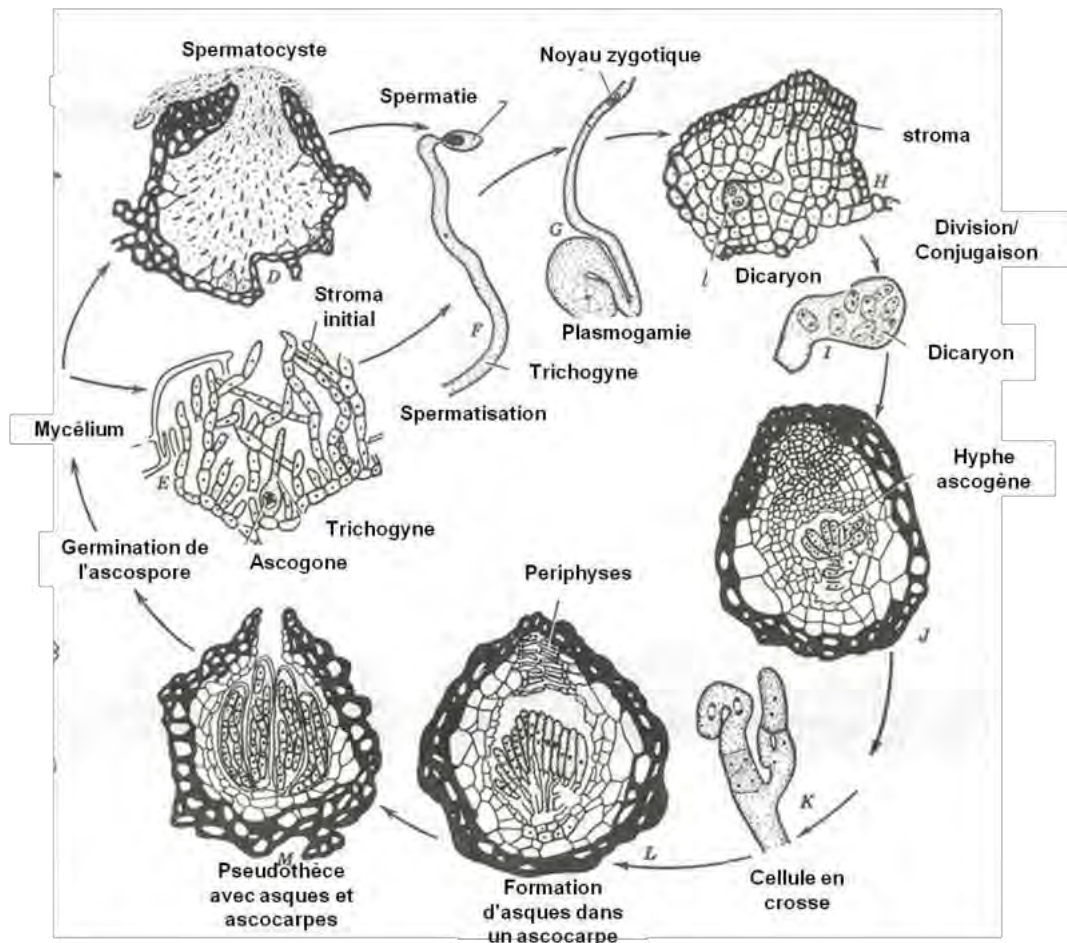


Figure 3. Processus de la reproduction sexuée de *Z. tritici*, adapté par Alexopoulos *et al* (1996), à partir du cycle sexué des espèces de la famille des *Mycosphaerellaceae* (Ware, 2006).

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).

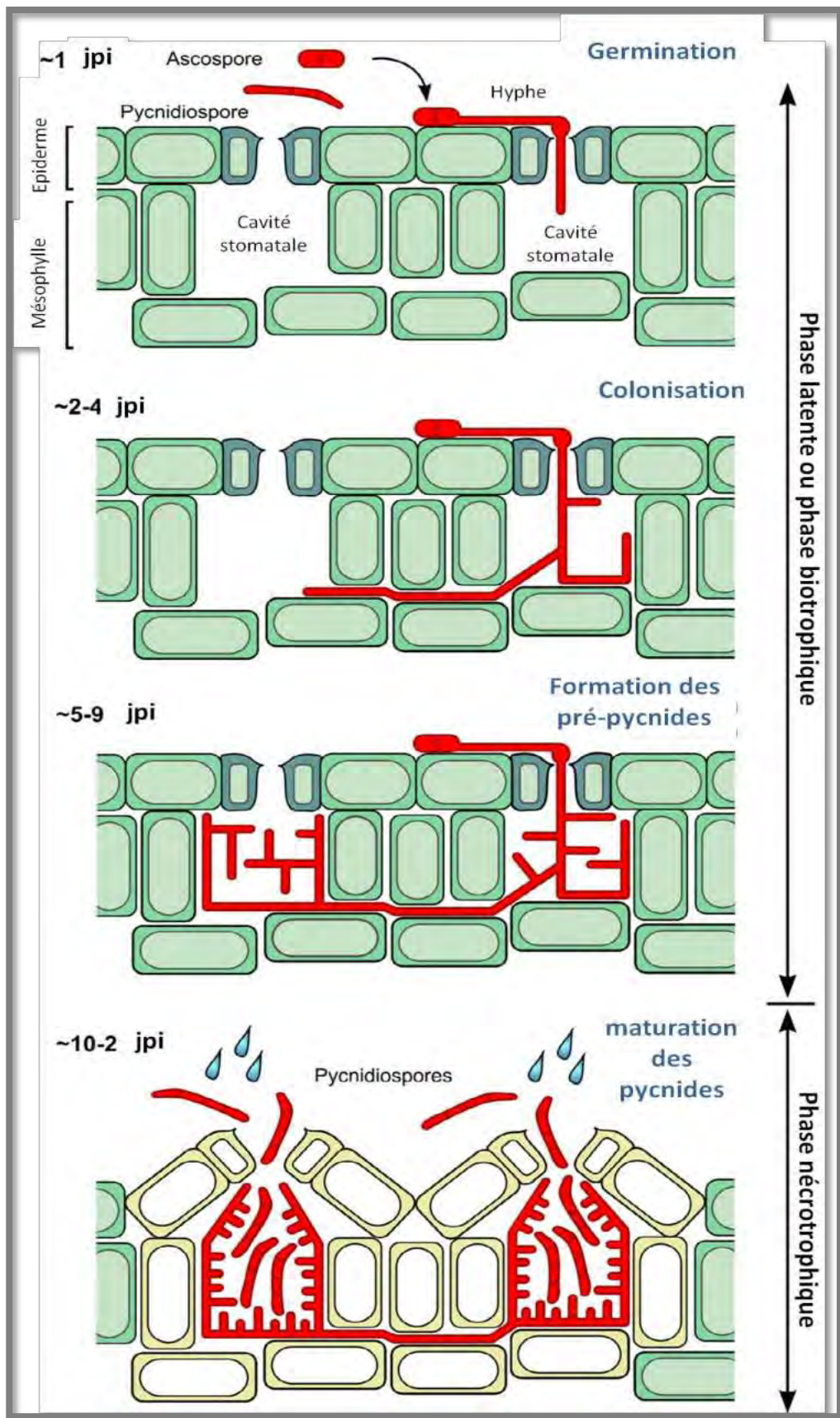


Figure 5. Schéma du cycle infectieux de *Z. tritici*, selon Steinberg (2015)

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).

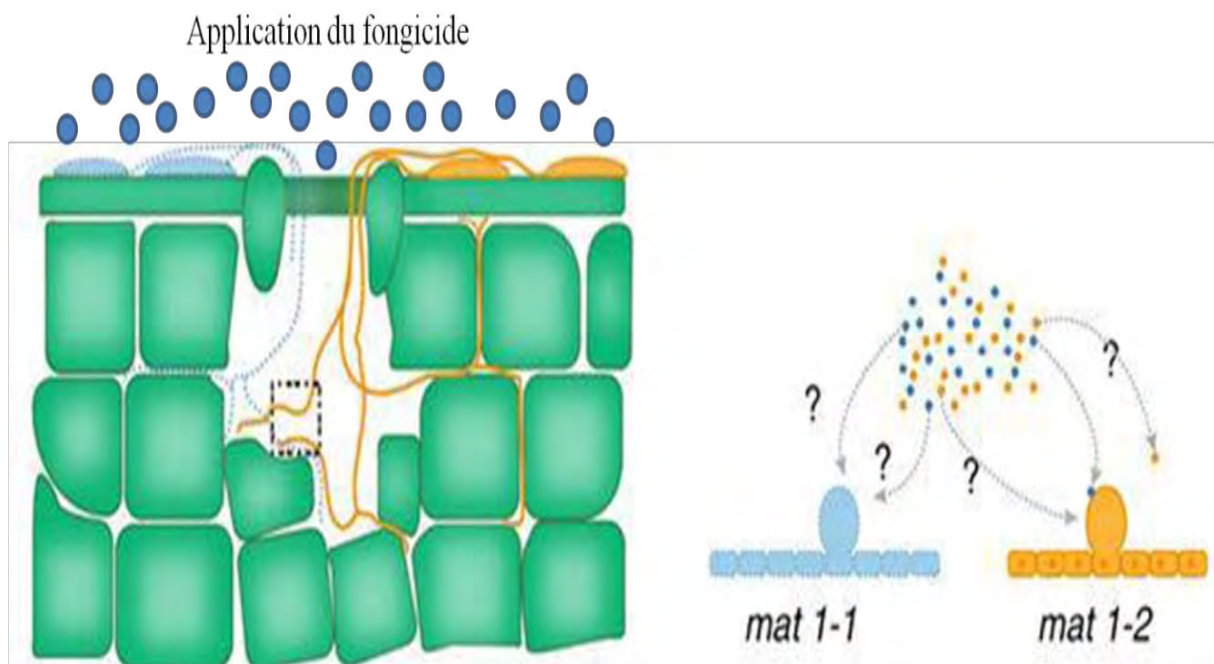


Figure 6. Reproduction sexuée chez *Z. tritici*, sous l'effet d'une pression de sélection de type fongicide (strobilutines), selon Kema *et al* (2018) : La biomasse de l'isolat sensible (*Mat1-1*) diminue sous l'effet du fongicide, alors que la production de spermaties est maintenue. L'isolat résistant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

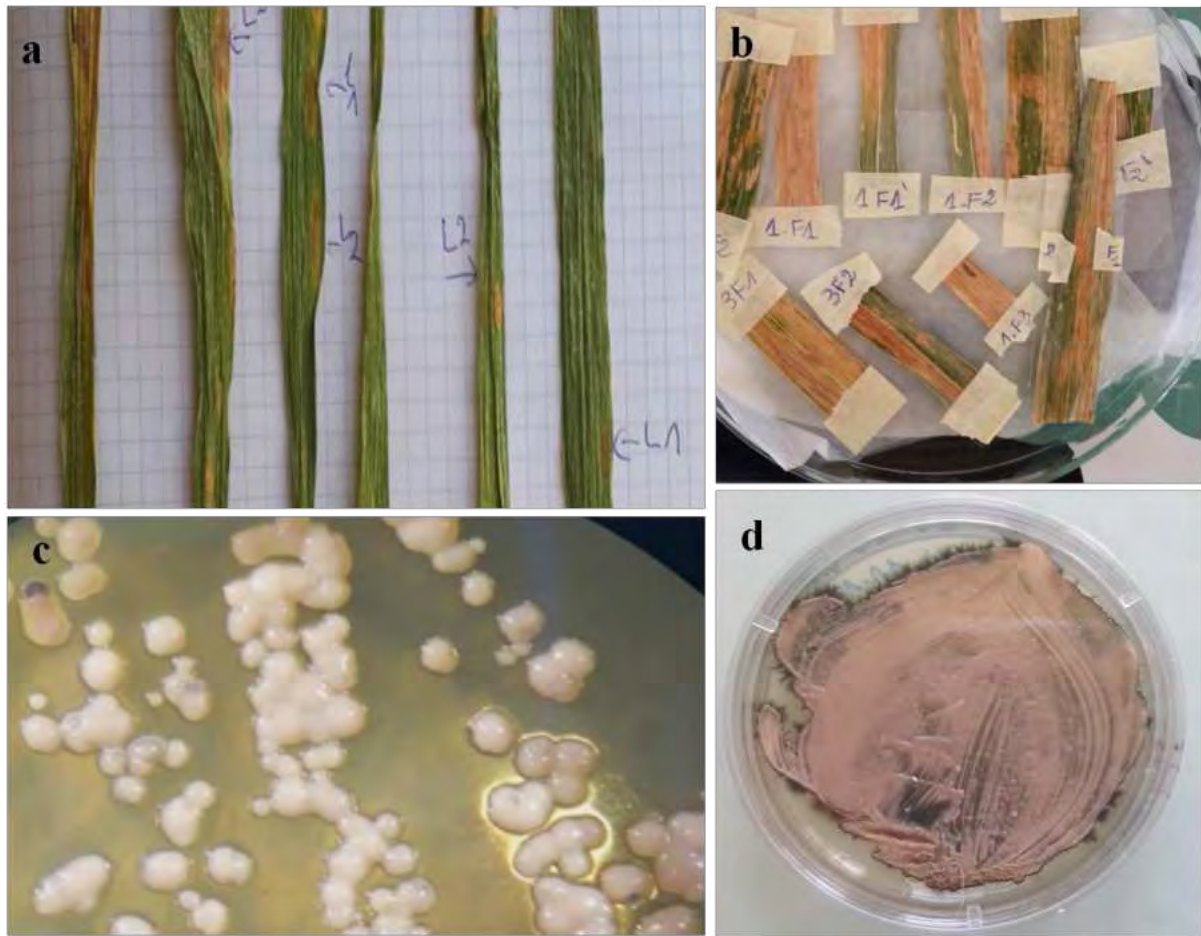


Figure 7. Etapes d'isolement de *Z. tritici* au laboratoire : **(a)** Feuilles présentant les symptômes de la tache septorienne ; **(b)** Incubation des fragments de feuilles infectées dans une boîte de Petri en verre ; **(c)** Microcolonies issues de la germination des pycnidiospores contenues dans 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**).

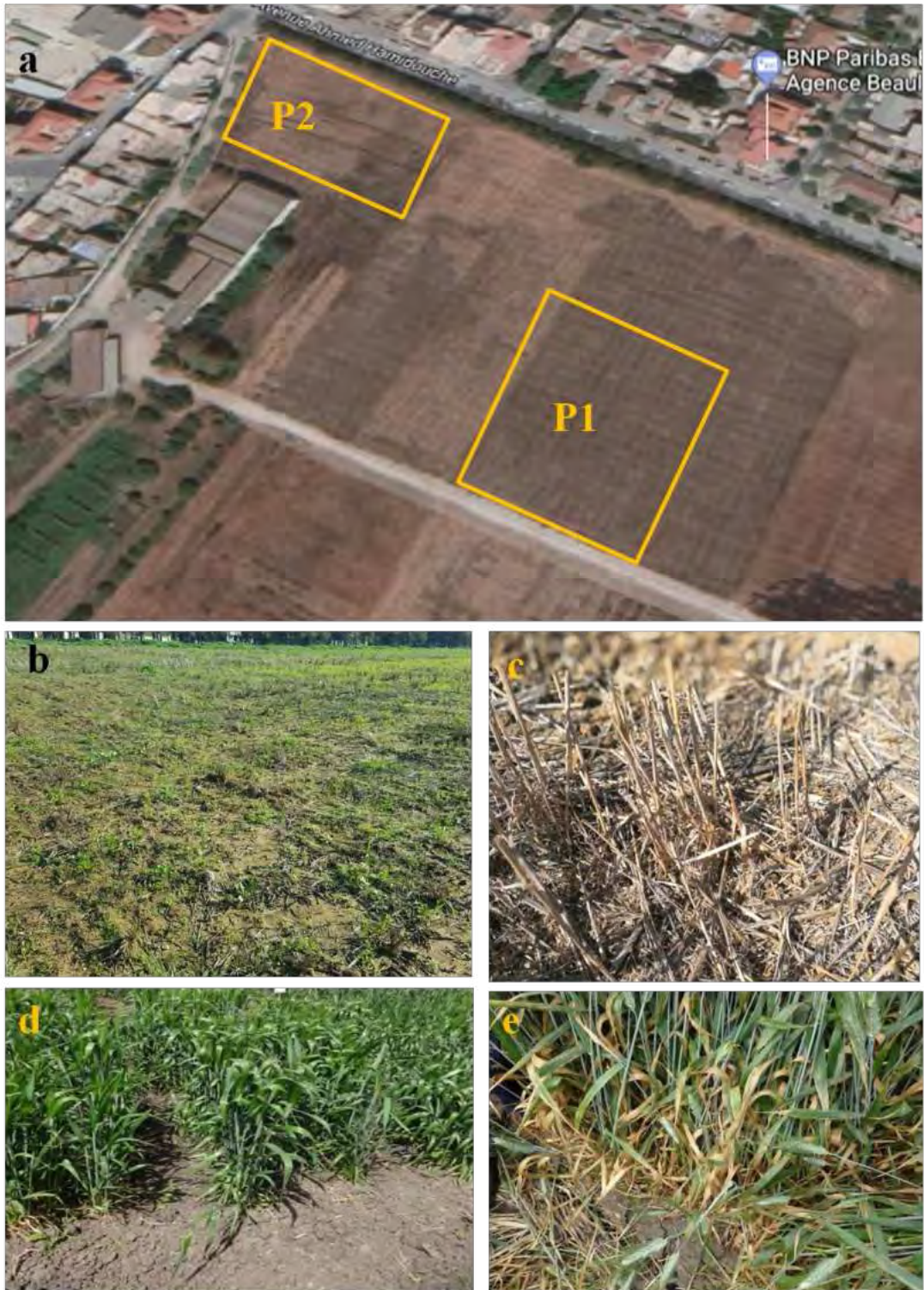


Figure 8. Site de prélèvement des échantillons pour la recherche du télomorphe *Z. tritici* à la station expérimentale de l'ITGC (Oued Smar) : **(a)** Localisations de la Parcelle 1 (P1) et de la parcelle 2 (P2) ; **(b)** Résidus de cultures, laissés en place en Septembre 2015 ; **(c)** Aspect des résidus 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.

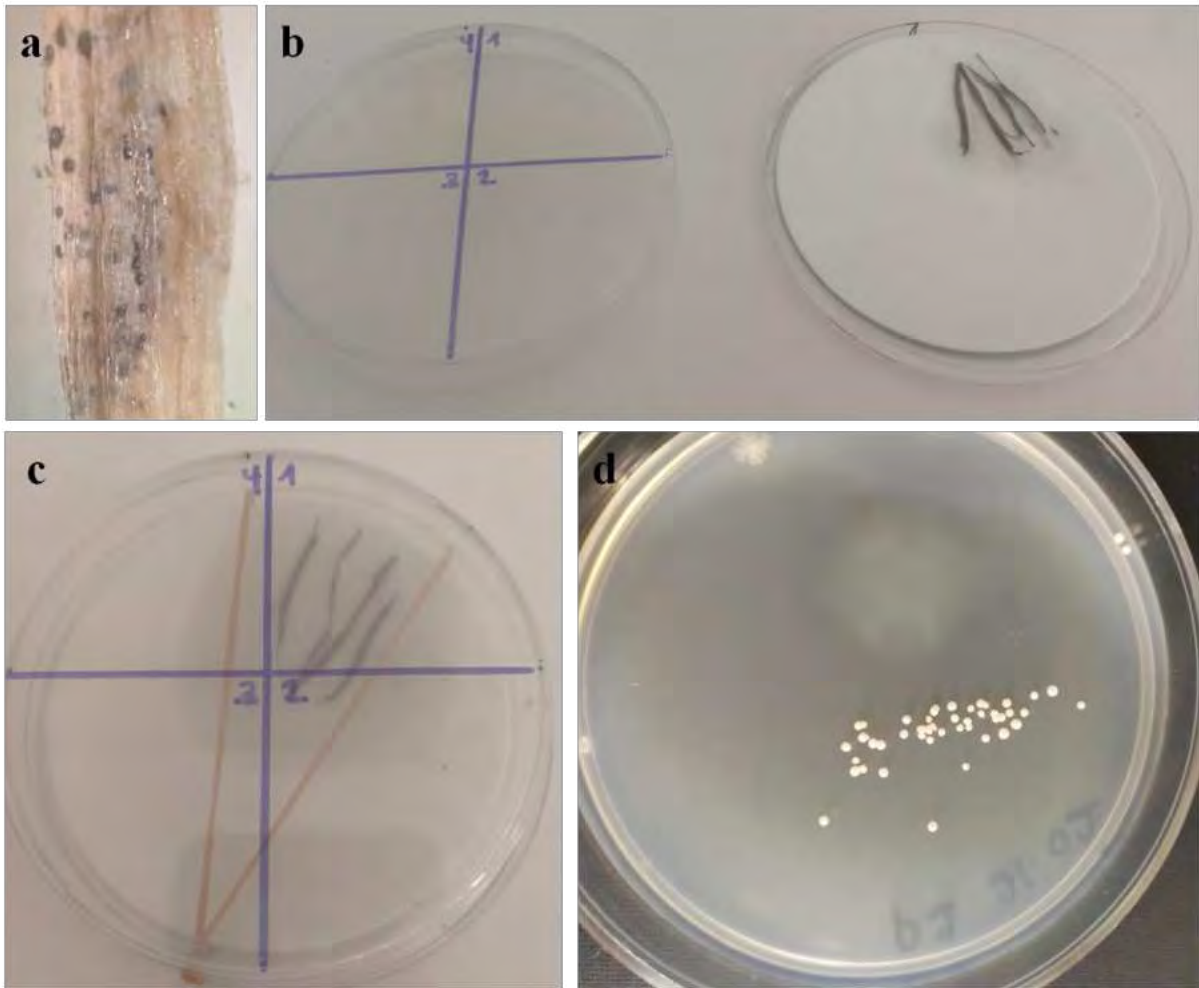


Figure 9. Isolement du pathogène à partir des tissus infectés, par la capture des ascospores, selon la méthode décrite par Kema *et al* (1996 c), modifiée : **(a)** Observation des pseudothèces sous la loupe binoculaire ; **(b)** Dépôt des échantillons sur du papier buvard humidifié, à droite. A gauche, 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

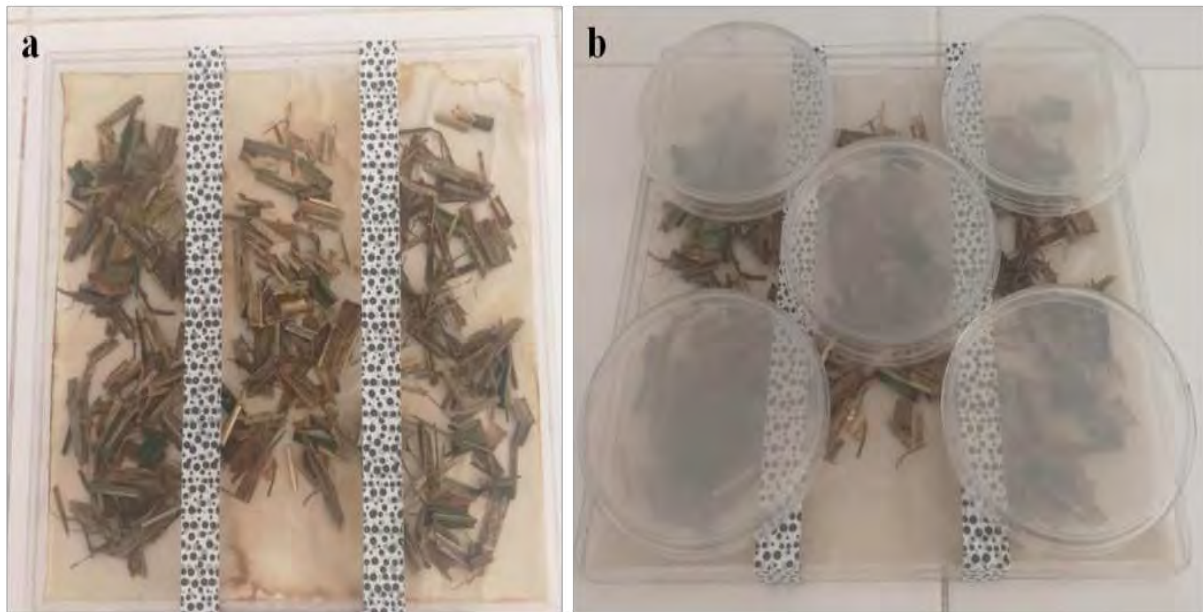


Figure 10. Estimation de l'intensité de la décharge des ascospores, par la capture des ascospores selon la méthode de Kema *et al* (1996 c), modifiée par Suffert et Sache (2011) : (a) Echantillon de feuilles infectées par la tache septorienne, avec présence de pseudothèces, prélevées en Juin 2016, à 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>						
		<i>Mating type</i>	<i>QoI</i>	<i>I1</i>	<i>I2</i>	<i>I3</i>	<i>I4</i>	<i>I5</i>
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 conidiogène 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 (model 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 cours 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.

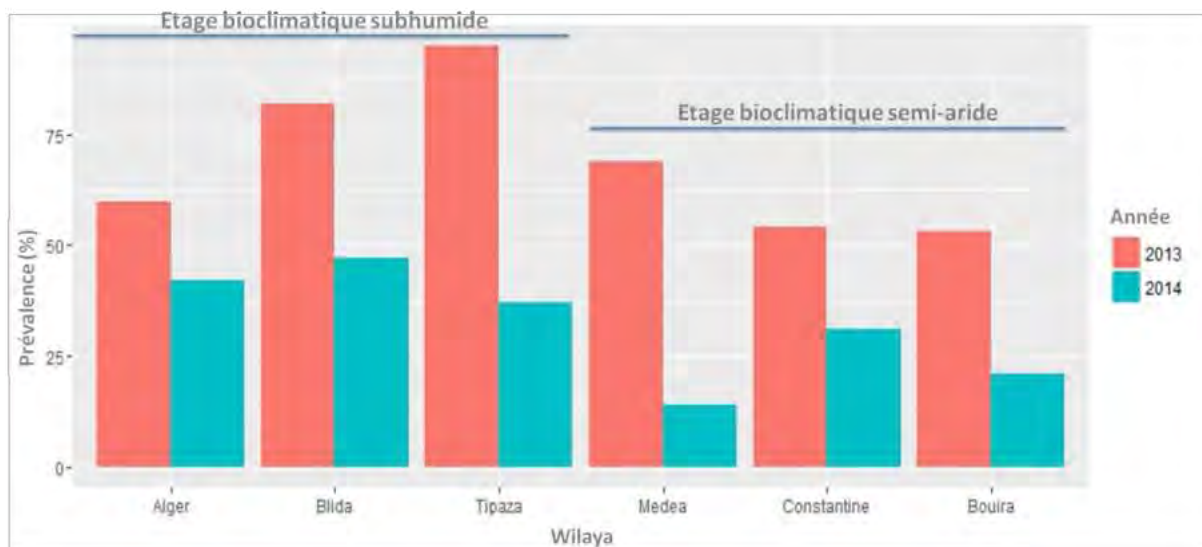


Figure 14. Prévalence de la tache septorienne du blé, dans six régions du Centre et de l’Est du pays, exprimée en pourcentage de champs atteints par la maladie, en 2013 et en 2014.

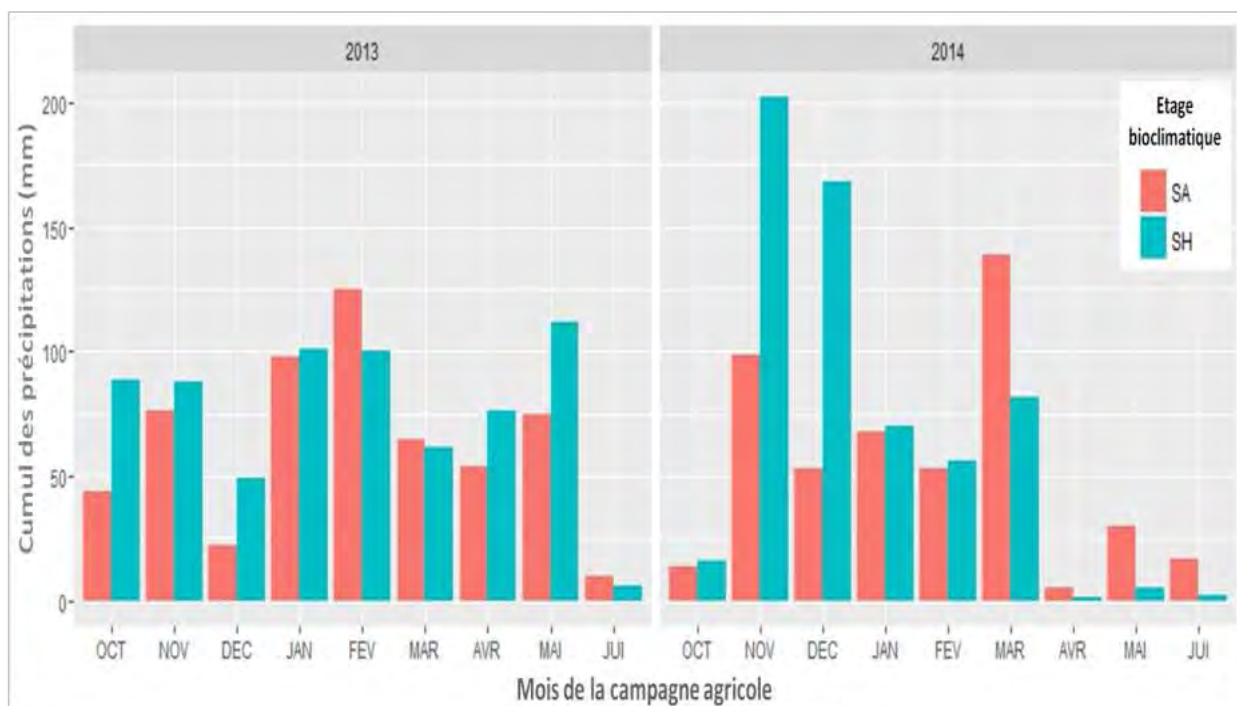


Figure 15. Répartition des cumuls mensuels moyens des précipitations (en mm), enregistrés durant les deux campagnes 2012-2013 et 2013-2014, en fonction de l’étage bioclimatique : subhumide (SH), comprenant Alger, Blida et Tipaza et semi-aride (SA), comprenant Médéa, Bouira et Constantine, selon les données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

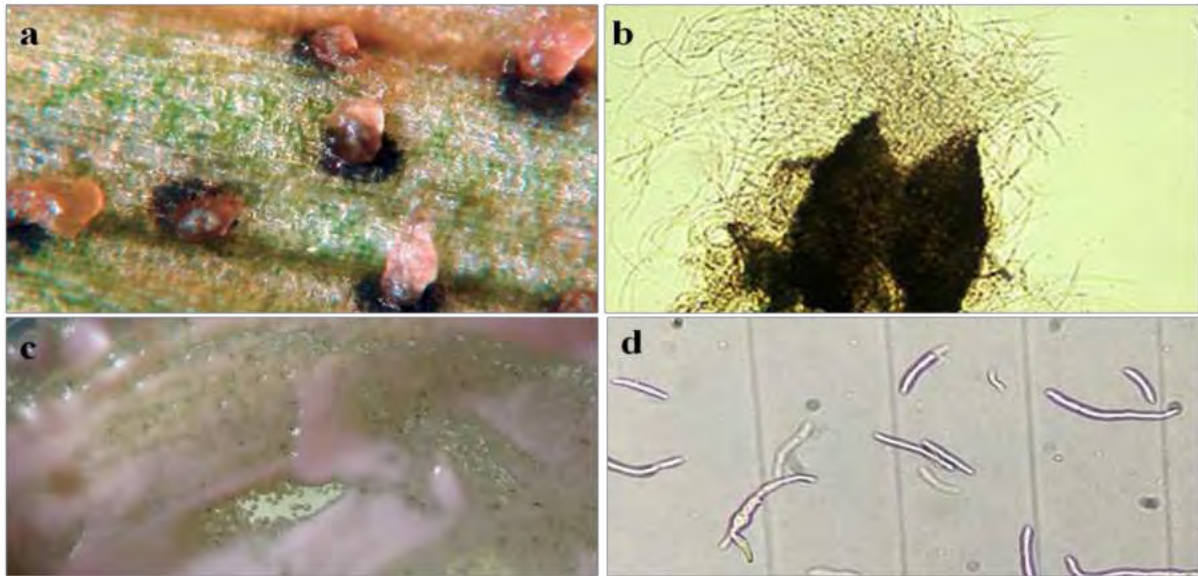


Figure 16. Isolement au laboratoire de *Z. tritici* : **(a)** Exsudation de cirrhes en tortillons à partir de pycnides matures sous l'effet d'une humidité saturante ; **(b)** Libération de pycnidiospores filiformes à partir d'une pycnide (x 400) ; **(c)** Aspect typique d'une culture de *Z. tritici*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

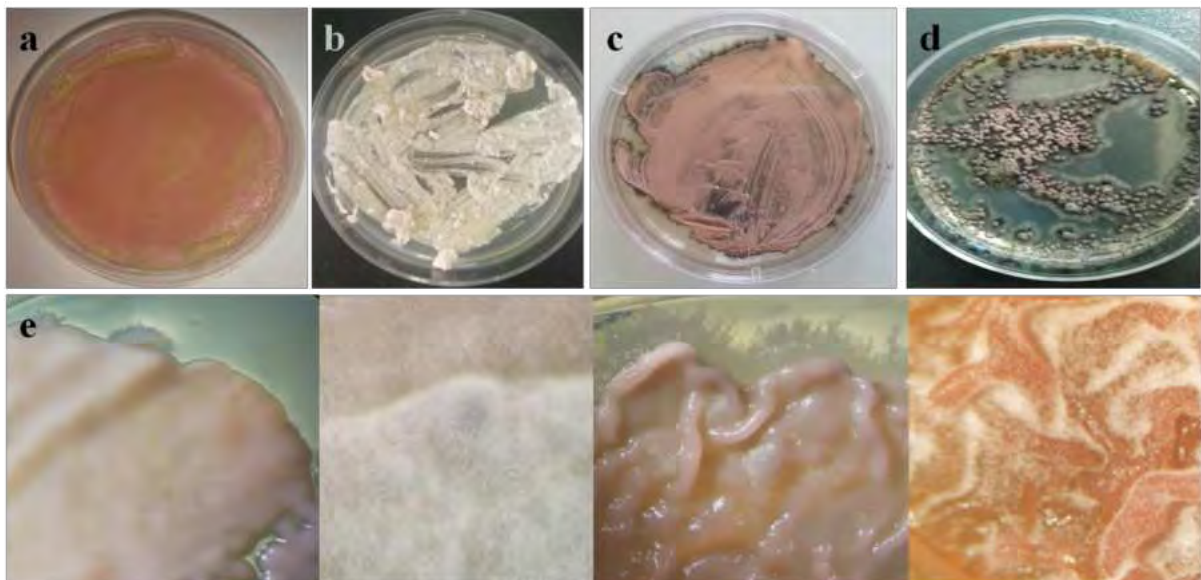


Figure 17. Aspect morpho-cultural de *Z. tritici* cultivé sur un milieu PDA : **(a)** Type bactérien « Yeast like » ; **(b)** Type duveteux avec stroma couvert d'un duvet mycélien blanc et fin ; **(c)** Type filamenteux avec mycélium plat, foncé et des formations crémeuses lisses ; **(d)** Type filamenteux 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**)

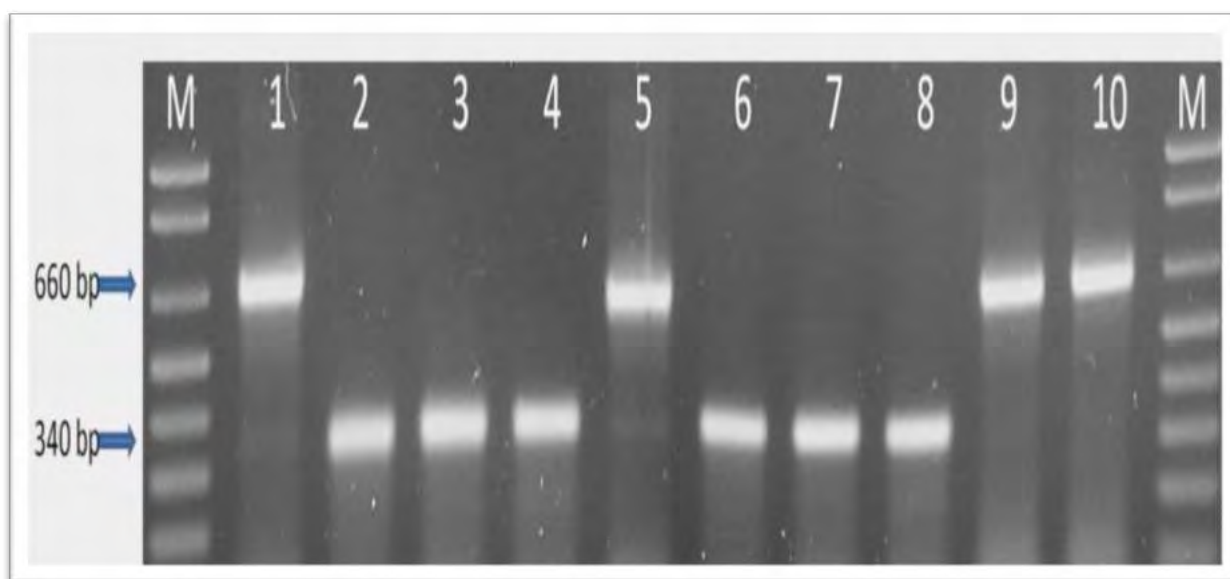


Figure 18. PCR en multiplex pour la détermination des mating types *Mat1-1* et *Mat1-2* au sein de la collection de *Z. tritici* : (M) Marqueur de poids moléculaire 100 pb ; (1) Amplicon de 660 pb (*Mat1-2*) généré chez l'isolat de référence IPO94269 ; (2) Amplicon de 340 pb (*Mat1-1*) généré chez l'isolat 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**).

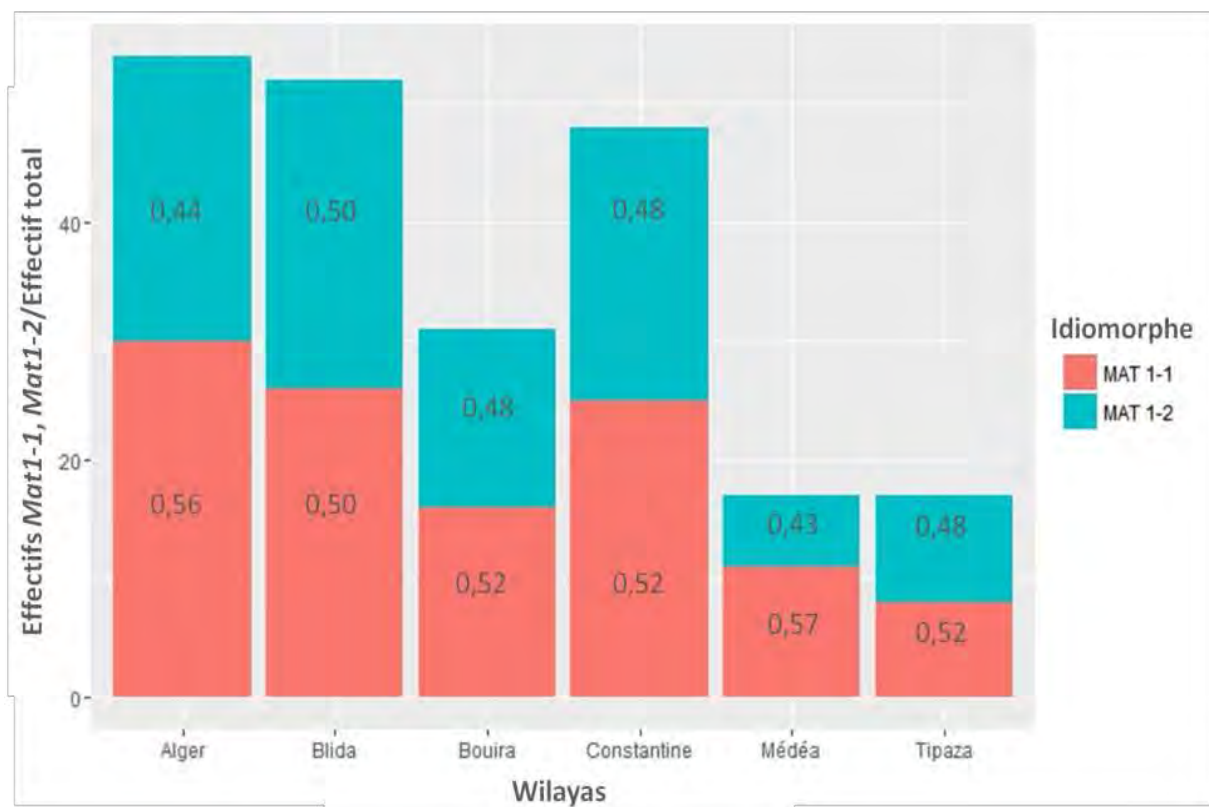


Figure 19. Distribution des fréquences des deux idiomorphes *Mat1-1* et *Mat1-2*, à l'échelle macro-géographique (inter-wilayas), pour chaque wilaya prospectée.

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**).

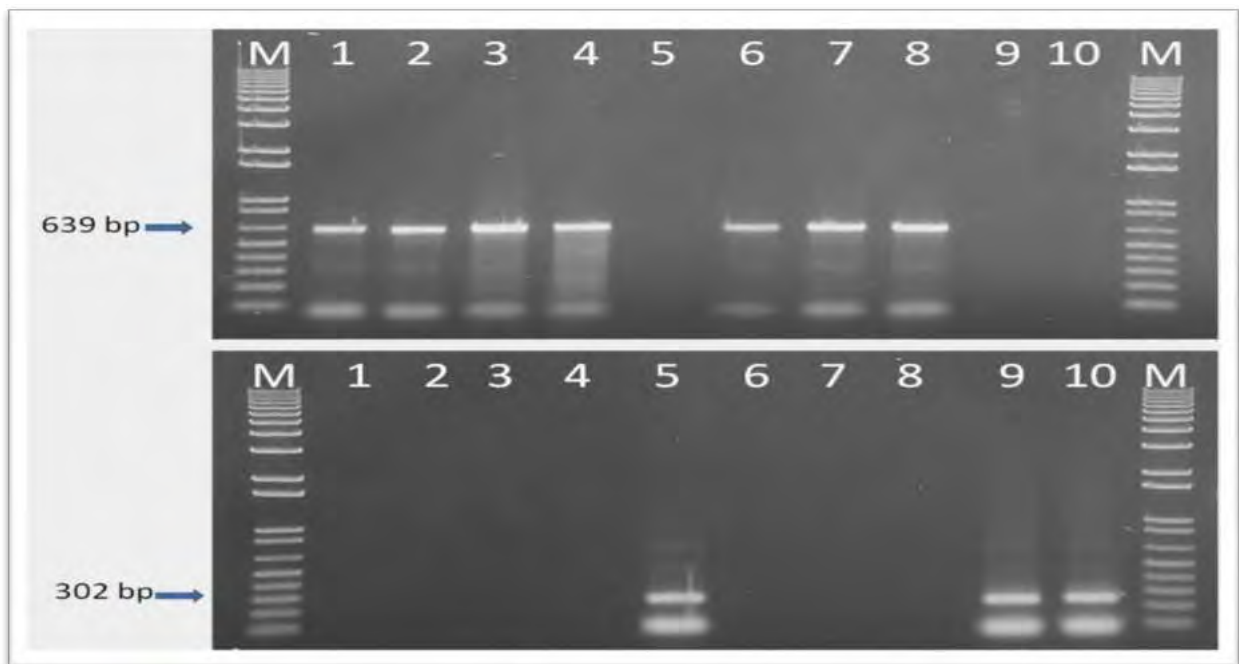


Figure 20. Mismatch Amplification Mutation Assay (MAMA) pour la recherche de la mutation G143A au niveau du gene *Cytb* au sein de de la collection de *Z. tritici* : (M) Marqueur de poids moléculaire, 100 bp ; (1, 2) Isolats de référence sensibles aux strobilurines, IPO94269 et IPO323; (3, 4, 6, 7 et 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.

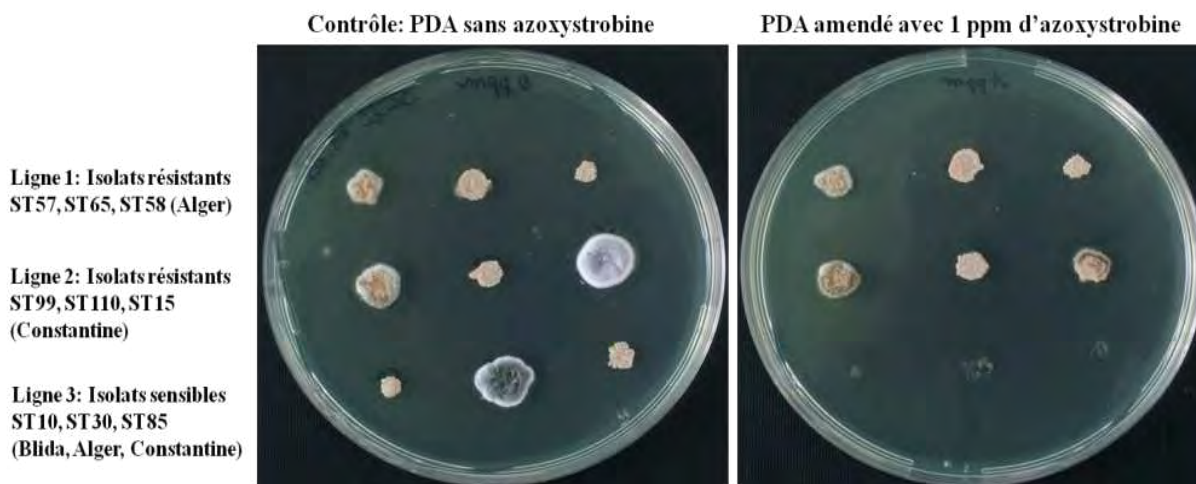


Figure 21. Test biologique de sensibilité aux fongicides QoI (strobilurines) au sein de la collection de *Z. tritici* : **(Lignes 1, 2)** Six isolats (Alger et Constantine), de type mutant, porteurs de la mutation G143A, cultivés sur un milieu PDA amendé avec 1 ppm d'azoxystrobine, ayant affiché une 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**).

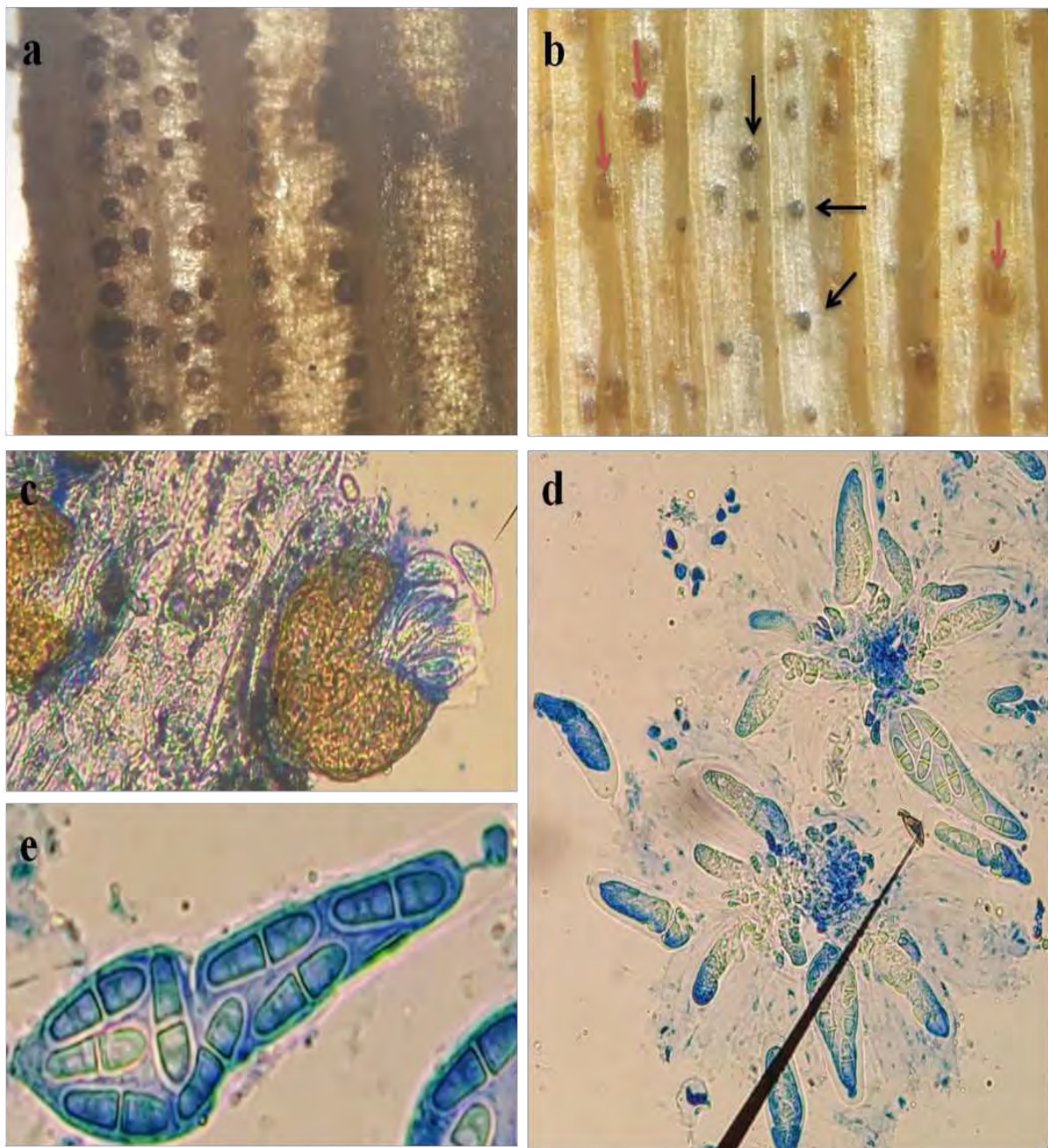


Figure 22. Aspects macroscopiques et microscopiques des structures de reproduction sexuée de *Z. tritici* : **(a)** Pseudothèces formés en lignes parallèles sur un fragment de paille, prélevé en Novembre 2015, observés au stéréo-microscope (500 μ m) ; **(b)** Pseudothèces (flèches noir) répartis sur un tissu foliaire en mélange avec des pycnidies (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**).

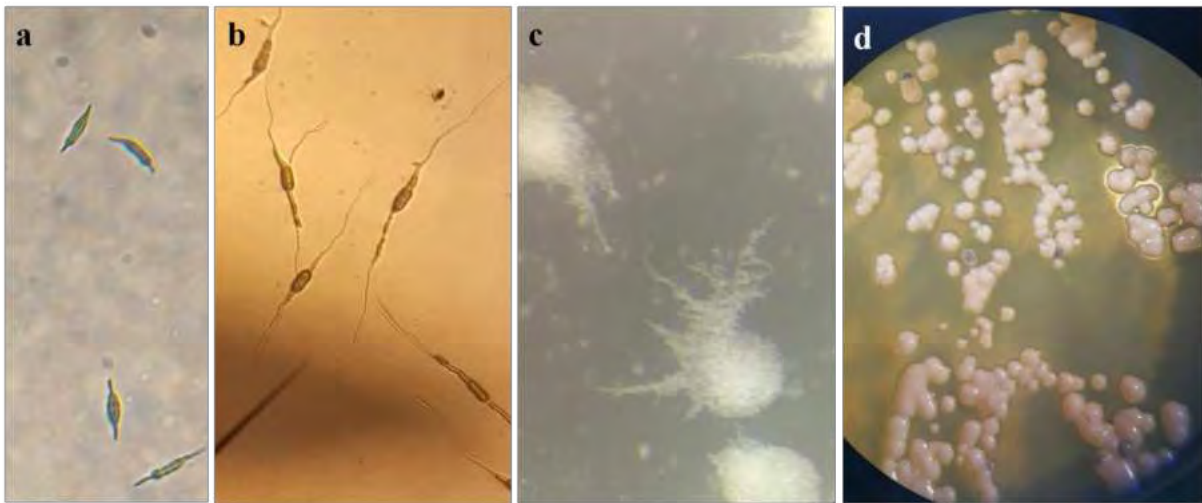


Figure 23. Résultats de l'induction de décharge des ascospores à partir d'un fragment portant des pseudothèces de *Z. tritici* : **(a)** Ascospores capturées sur un milieu PDA, 12 heures après leur libération (100 μm) ; **(b)** Emission de deux tubes germinatifs à partir des extrémités apicales des ascospores, 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).

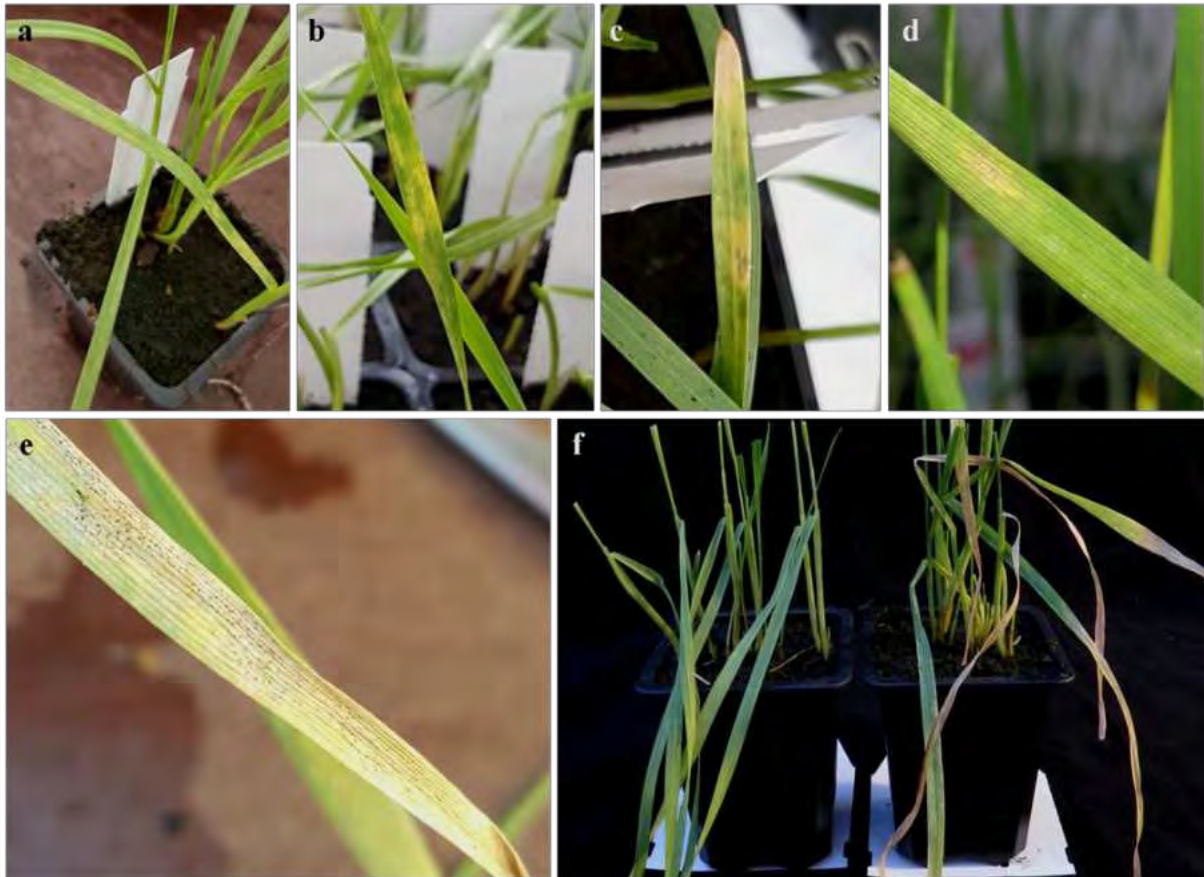


Figure 24. Expression des symptômes de *Z. tritici* sur des feuilles de blé dur cv. Hoggar, inoculées avec un isolat issu de la germination d'une ascospore : (a) Jaunissements discrets sur le limbe au 6^{ème} jpi ; (b) Chloroses étendues au 10^{ème} jpi ; (c) Tache nécrotique au centre d'une chlorose 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).

A partir du 10^{ème} jpi, les taches chlorotiques ont pris une apparence aqueuse puis nécrotique (**Fig. 24 b, c**). L'apparition des premières pycnides a été notée au 13^{ème} jpi. Les pycnides se forment généralement sur des tissus nécrosés, cependant elles ont été observées sur des taches chlorotiques (**Fig. 24 d**). Au 21^{ème} jpi, les lésions étaient coalescentes, avec de larges zones de tissus nécrotiques, de couleur brun foncé à gris cendré, recouvertes de pycnides (**Fig. 24 e**). Aucun symptôme n'a été noté chez les plants témoins, inoculés avec de l'eau (**Fig. 24 f**).

Les parties de feuilles sélectionnés pour le ré-isolement du pathogène ont exudé du cirrhe après 4 heures d'incubation. L'observation microscopique des cirrhes a montré la présence de pycnidiospores typiques de *Z. tritici*. Par ailleurs, la mise en culture de ces cirrhes sur un milieu PDA a induit la formation de colonies crémeuses rosâtres, identiques à celles issues de la germination des pycnidiospores.

III.3.3. Occurrence du téléomorphe *Z. tritici* sous les conditions naturelles du champ

L'occurrence des pseudothèces du téléomorphe *Z. tritici*, sous les conditions naturelles du champ a été suivie au cours de la campagne 2015-2016, au niveau de deux parcelles situées à la station expérimentale de l'ITGC (Oued Smar). La production d'ascospores exprimée par l'index de décharge des ascospores a également été estimée. Des pseudothèces matures observés à la fois sur les débris de cultures (parcelle 1) et les plants de blé dur et de blé tendre en végétation (parcelle 2) a permis de mettre en évidence l'occurrence du téléomorphe *Z. tritici* au niveau des parcelles étudiées, au cours des deux années d'observation : 2015 et 2016 (**Tab. 8**).

Tableau 8. Occurrence des pseudothèces de *Z. tritici* 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.

Années	2015					2016							
	08	09	10	11	12	01	02	03	04	05	06	07	08
Sur les résidus de cultures Parcelle 1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pendant la végétation (blé dur) Parcelle 2	PP					-	+	PP	+	récolte			
Pendant la végétation (blé tendre) Parcelle 2	←—————→							-	+	PP	+	←————→	

PP : Pas de prélèvements

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**).

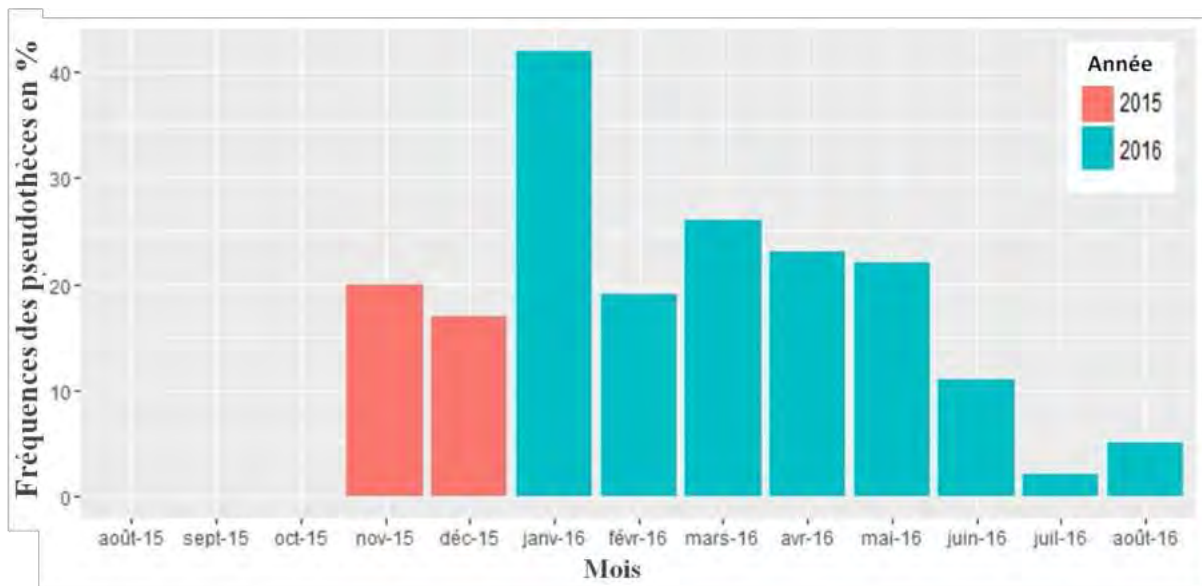


Figure 25. Fréquence d'occurrence mensuelle des pseudothèces *Z. tritici*, exprimée en pourcentage, sur les débris de cultures de la parcelle 1, d'août 2015 à août 2016.

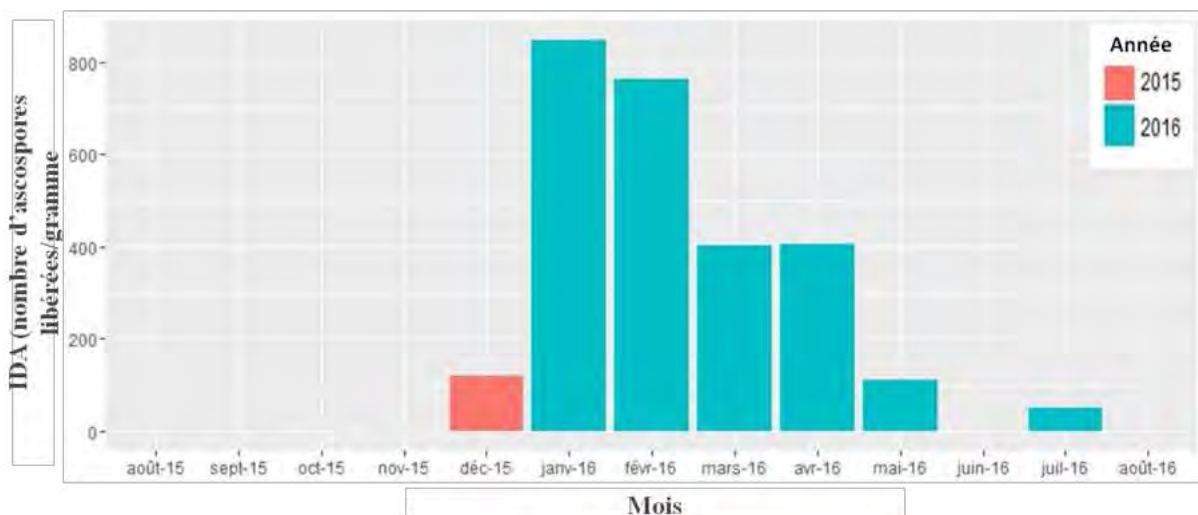


Figure 26. Intensité de décharge mensuelle des ascospores de *Z. tritici*, exprimée par l'IDA (nombre d'ascospores libérées par gramme de tissu infecté), sur les débris de cultures prélevés de la parcelle 1, ayant présenté des occurrences positives.

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**).

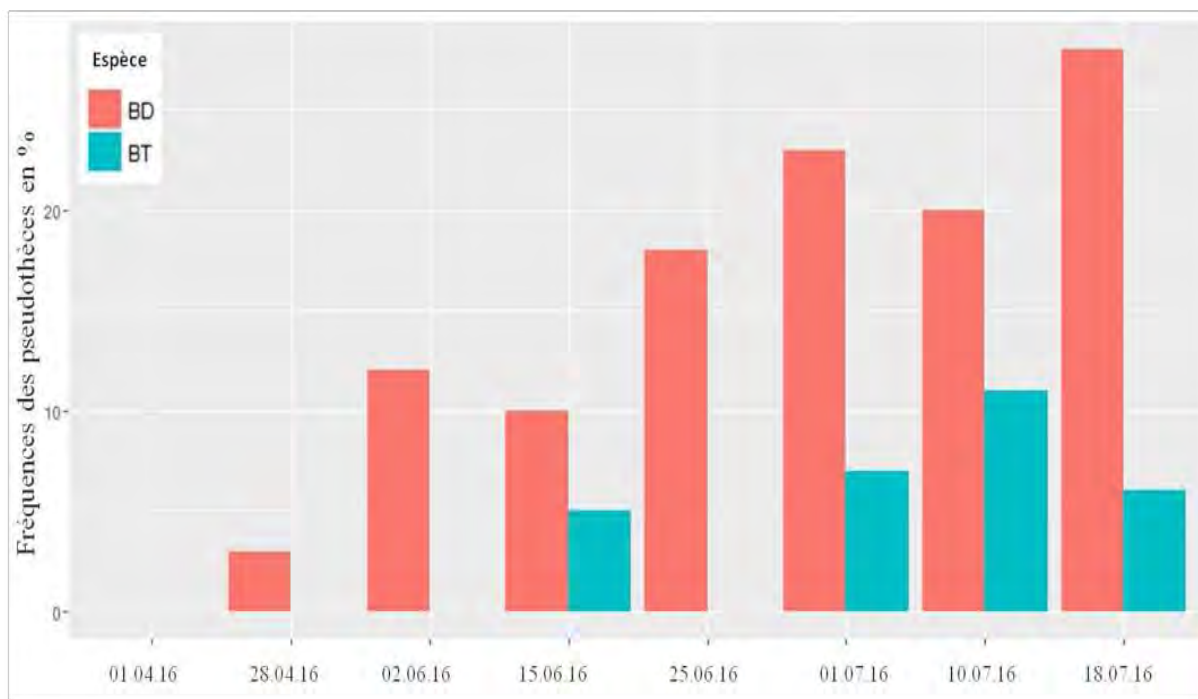


Figure 27. Fréquence d'occurrence des pseudothèces de *Z. tritici*, exprimée en pourcentage, sur les plants de blé dur (BD) et de blé tendre (BT), en végétation, à partir de la parcelle 2, d'avril à juillet 2016.

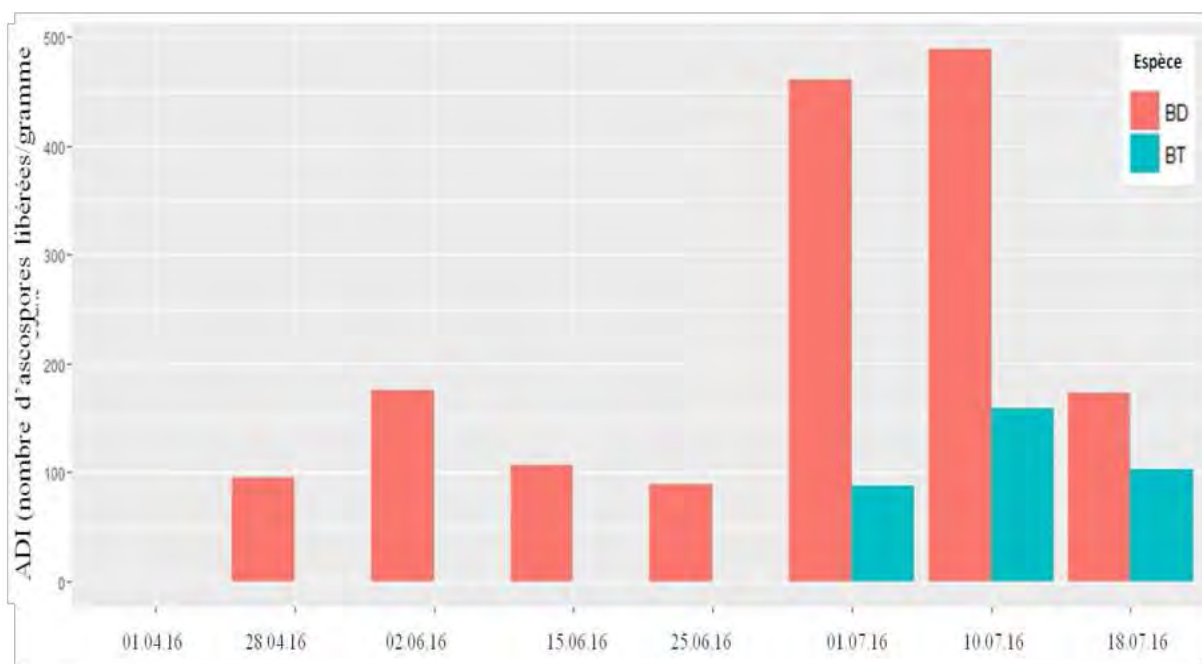


Figure 28. Intensité de décharge des ascospores des pseudothèces de *Z. tritici*, exprimée par l'ADI (nombre d'ascospores/gramme de tissu infecté), sur les plants de blé dur (BD) et de blé tendre (BT), en végétation, à partir de la parcelle 2, d'avril à juillet 2016.

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**).

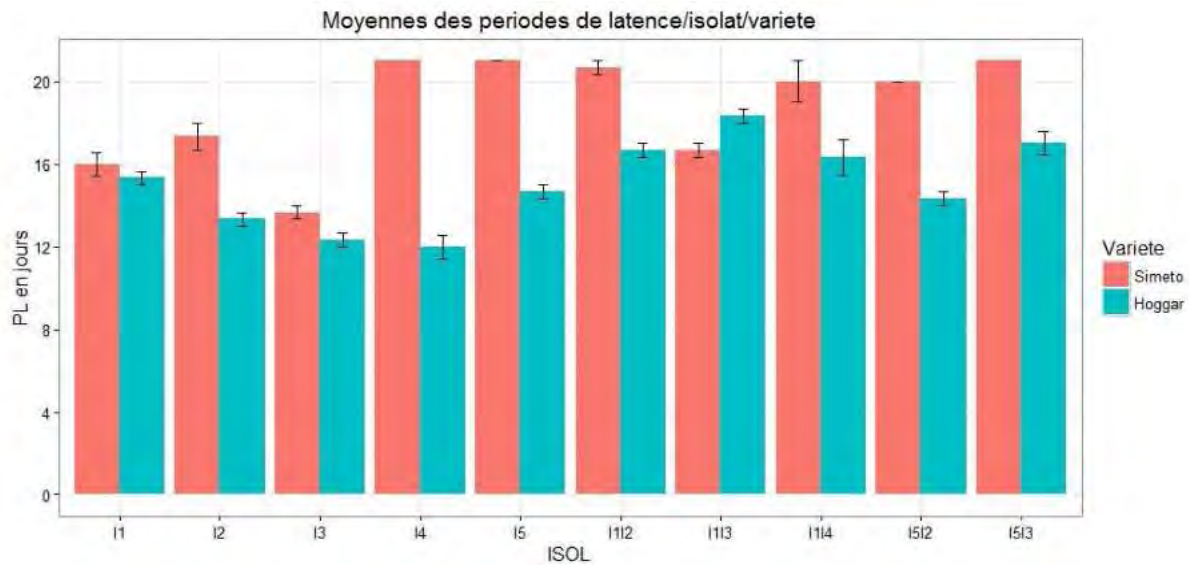


Figure 29. Moyenne des périodes de latence (PL) enregistrées au niveau des variétés Simeto et Hoggar, inoculées avec les isolats seuls et en combinaison. Seules les interactions compatibles sont représentées.

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**).

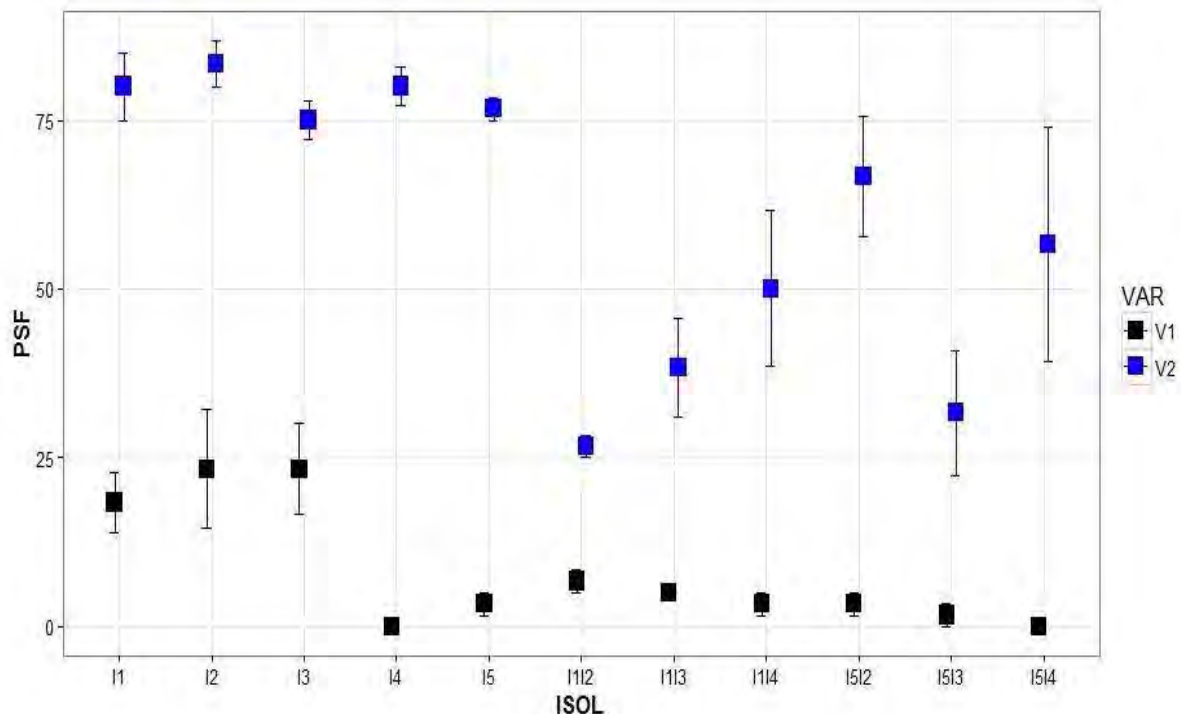


Figure 30. Moyenne des PSFCP obtenues au niveau des variétés Simeto et Hoggar, inoculées avec 5 isolats et 6 combinaisons biparentales. Les barres d'erreurs représentent les écarts types des moyennes (modèle 2).

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**).

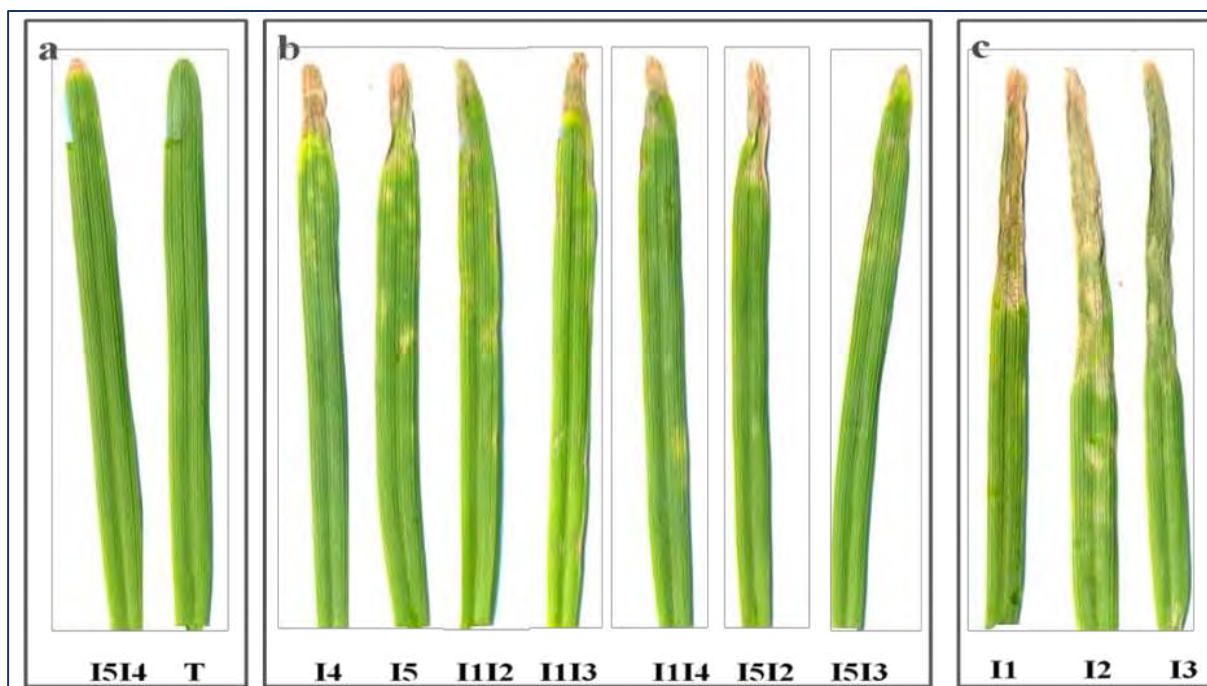


Figure 31. Types de réactions obtenus au niveau de la variété Simeto, au 21^{ème} jpi, selon l'échelle de Rosielle (1972), modifiée par McCartney *et al* (2002) : (a) Réaction de type 0 (Immunité), avec T représentant le témoin ; (b) Réactions de type 1 (Très résistant), (c) Réactions de type 2 (Résistant).

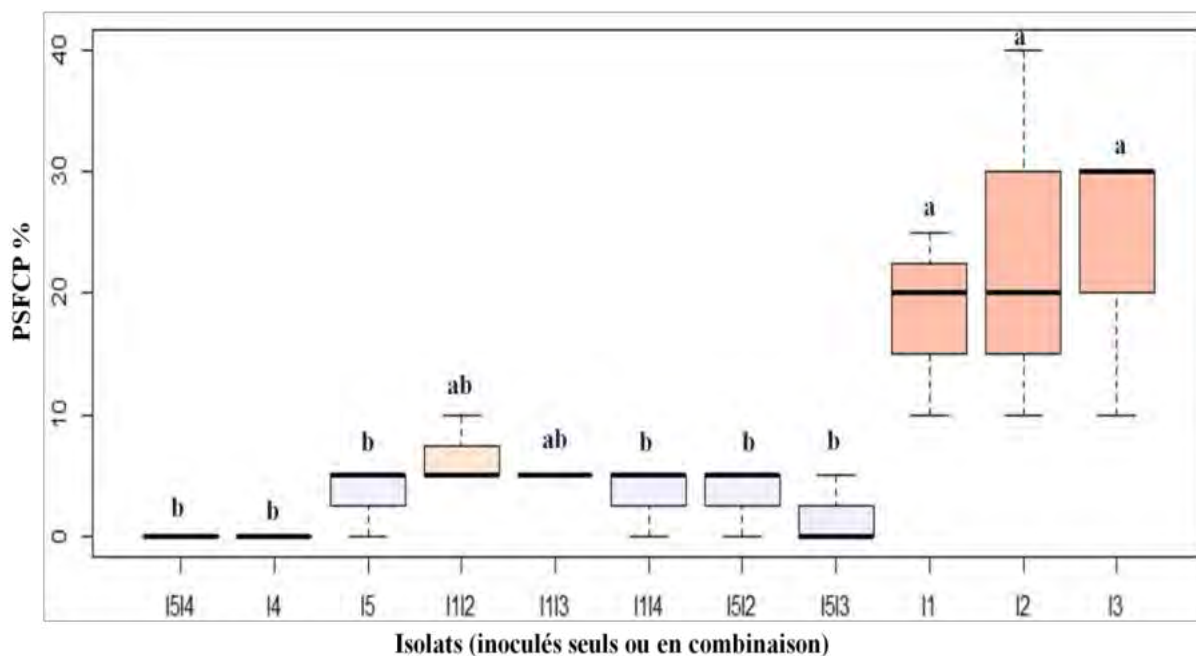


Figure 32. Variation de la sévérité de la maladie, exprimée par le PSFCP (%), au niveau de la variété Simeto, au 21^{ème} jpi, représentée par l'effet des isolats (inoculés seuls et en combinaison). Les groupes présentant des lettres différentes sont significativement différents, selon le Test de Dunn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

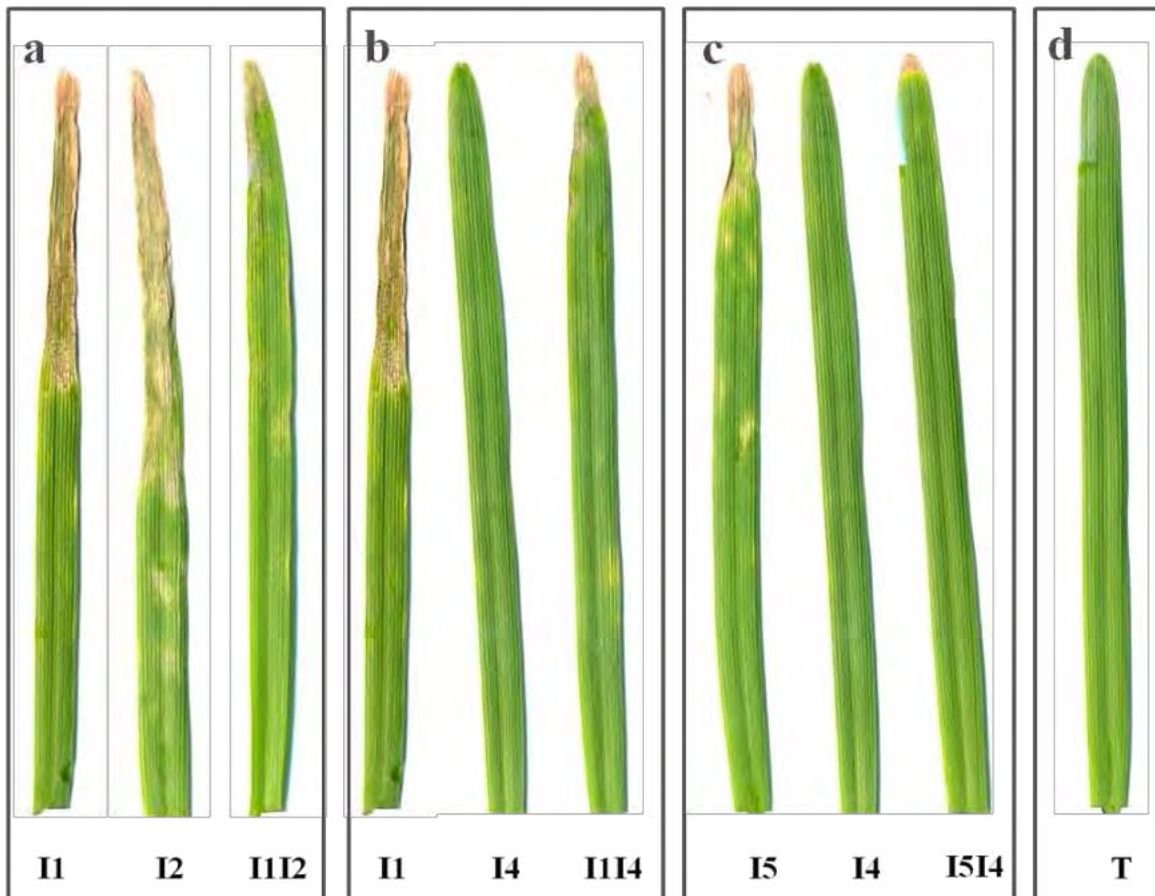


Figure 33. Sévérité de la maladie, au 21^{ème} jpi, exprimée par le PSFCP au niveau de la variété Simeto, selon le mode d'inoculation des isolats (seuls ou en combinaison) : **(a)** La combinaison de deux isolats agressifs induit peu de symptômes ; **(b)** La combinaison d'un isolat virulent et d'un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

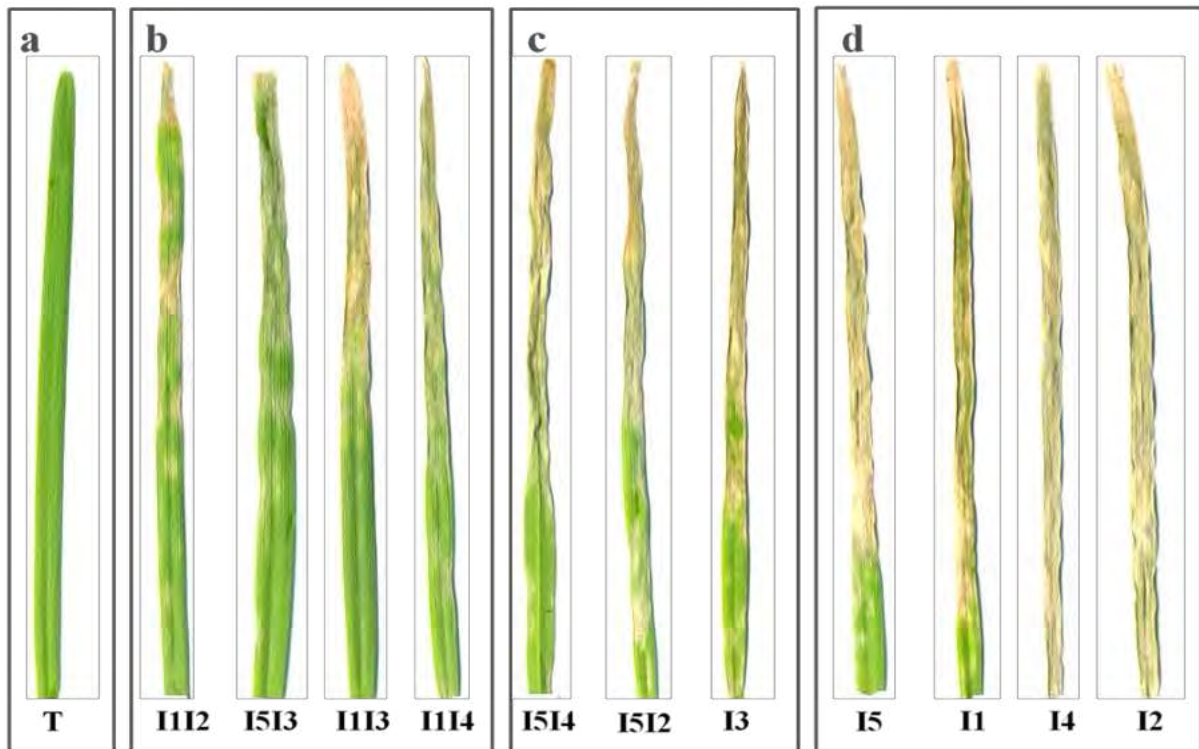


Figure 34. Types de réactions obtenus au niveau de la variété Hoggar, au 21^{ème} jpi, selon l'échelle de Rosielle (1972), modifiée par McCartney *et al* (2002) : (a) Aspect du témoin, inoculé avec de l'eau ; (b) Réactions de type 3 (Intermédiaire), (c) Réactions de type 4 (Sensitive) ; (d) Réaction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

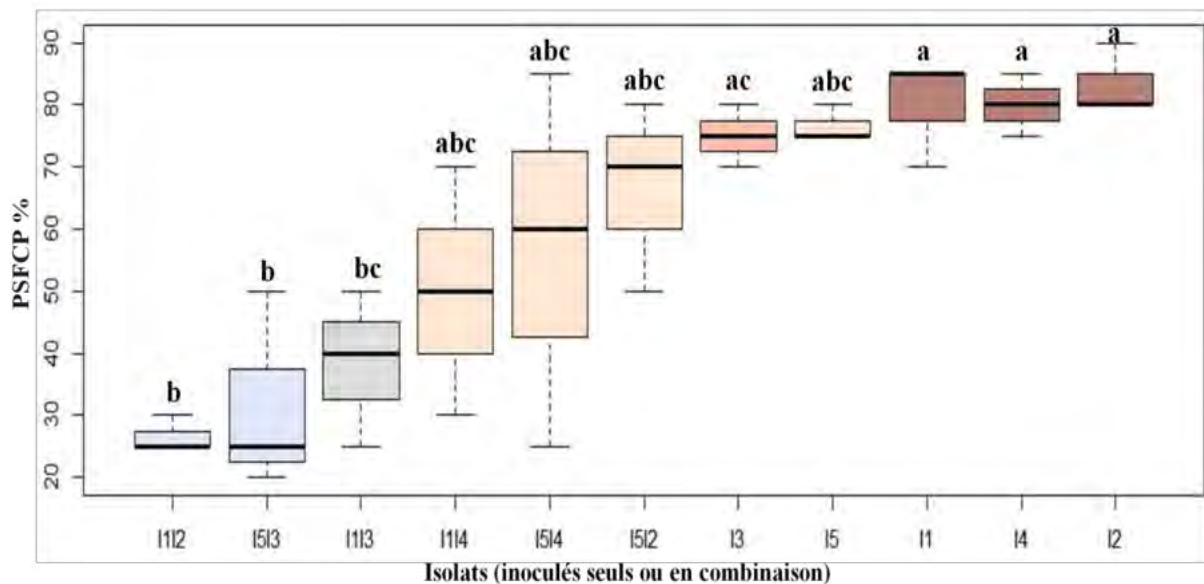


Figure 35. Variation de la sévérité de la maladie exprimée par le PSFCP (%), au niveau de la variété Hoggar, au 21^{ème} jpi, représentée par l'effet des isolats (inoculés seuls et en combinaison). Les groupes présentant des lettres différentes sont significativement différents, selon le test de Dunn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

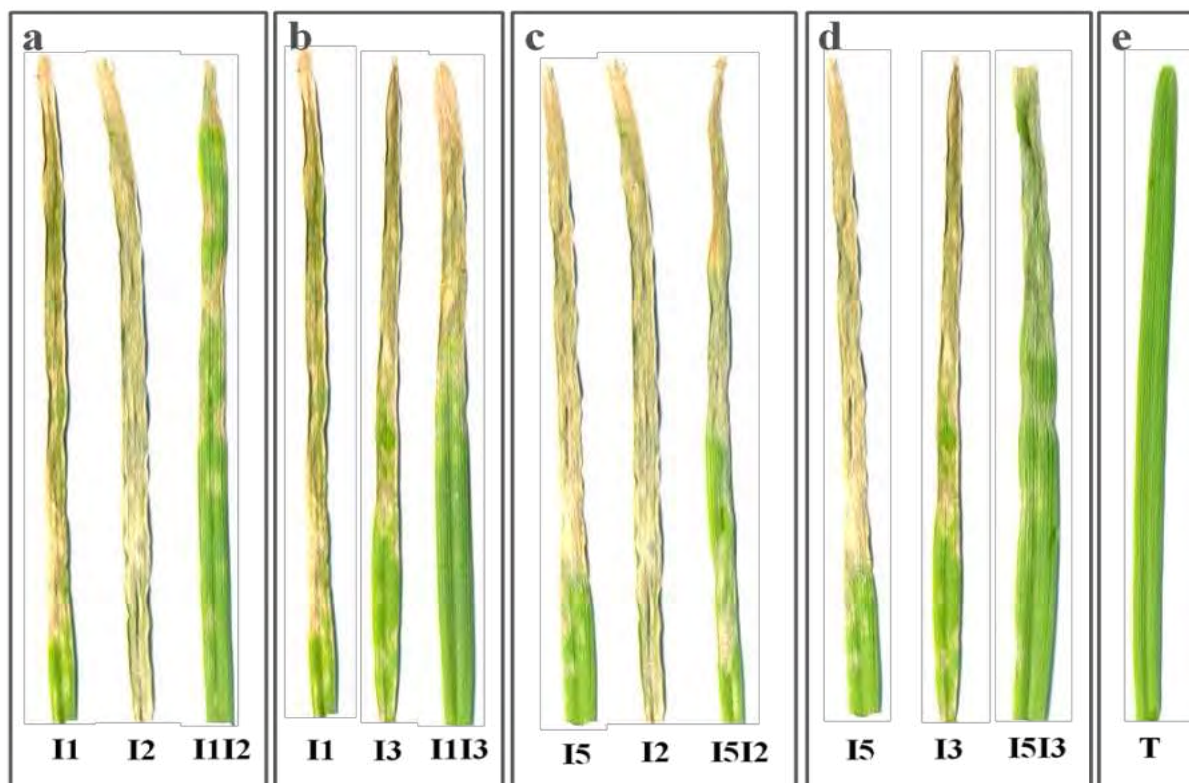


Figure 36. Sévérité de la maladie exprimée par le PSFCP, au niveau de la variété Hoggar, selon le mode d'inoculation des isolats (seuls ou en combinaison), au 21^{ème} jpi : (a, b) Symptômes induits par les combinaisons impliquant le parent I1 ; (c, d) Symptômes induits par les combinaisons impliquant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

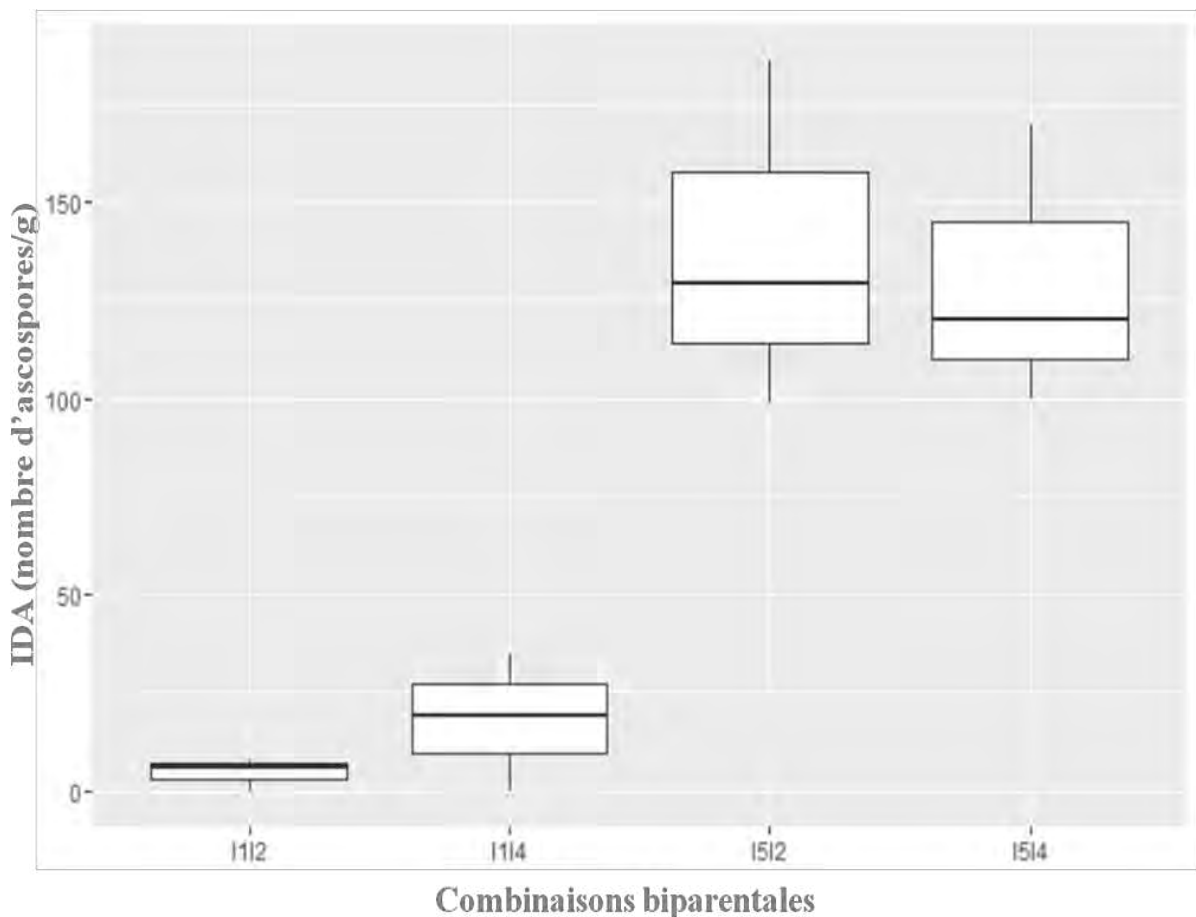


Figure 37. Variations de l'intensité de la reproduction sexuée, exprimée par la moyenne des IDA obtenus chez les plants inoculés selon quatre combinaisons biparentales (I1/I2, I1/I4, I5/I2, I5/I4), les barres d'erreur représentent les écarts types.

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

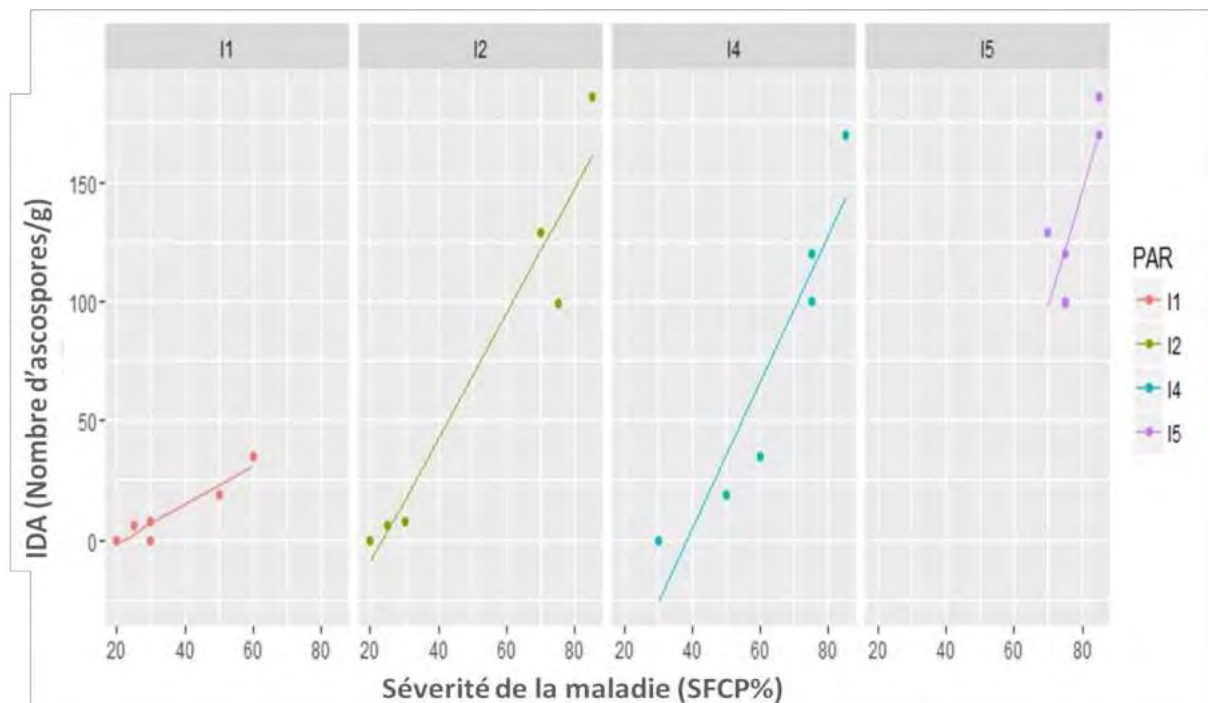


Figure 38. Régressions linéaires représentant l'intensité de la reproduction sexuée (IDA) en fonction de la sévérité de la maladie, exprimée par le PSFCP, avec l'effet de chaque isolat parent (PAR) sur la pente et l'intercept de l'ANCOVA (Modèle 5).

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**).

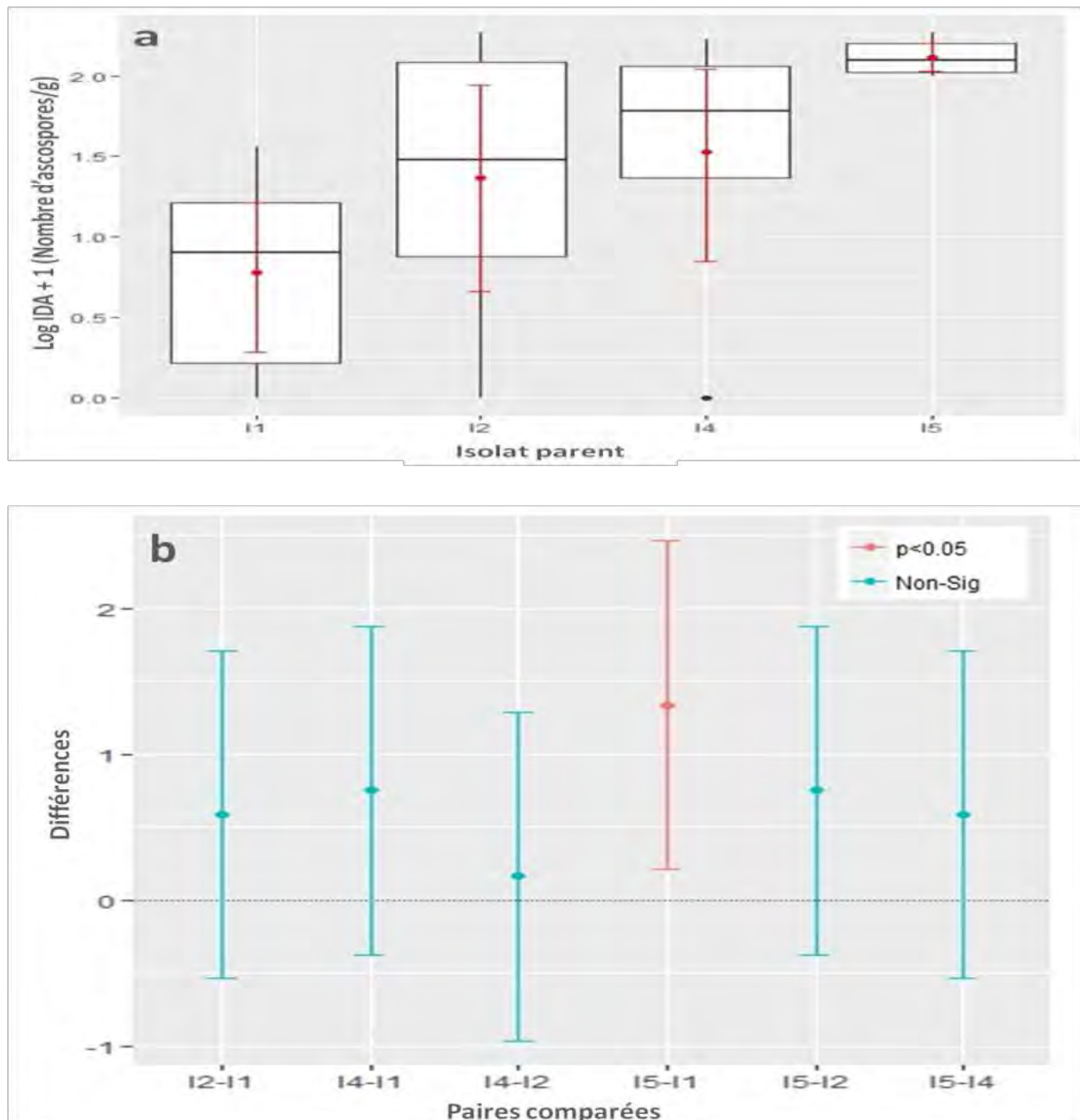


Figure 39. Quantification de l'apport de l'isolat parent (PAR) dans l'intensité de la reproduction sexué, représentée par log (IDA+1): **(a)** Moyennes des IDA de chaque isolat parent, les barres d'erreurs représentent les écarts types ; **(b)** Comparaisons par paires du Test de Tukey au seuil de confiance 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 reproductrice 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 précédentes 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.

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 compatibles 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 varities 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.