

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة الحراش – الجزائر

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL-HARRACH-ALGER

THESE

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

Présentée par

ABDALLAH-NEKACHE Nora

Identification, détermination du chémotype et étude de la pathogénicité des principales espèces fongiques associées avec la fusariose de l'épi et la pourriture racinaire du blé en Algérie

Devant le jury composé de :

Présidente :	Dr. TAOUTAOU Abdelmoumen	MCA	ENSA (Alger)
Directrice de thèse :	Pr. BOUREGHDA Houda	Professeur	ENSA (Alger)
Examineurs:	Dr. BENZINA-TIHAR Farida	MCA	UMBB
	Pr. BENCHABANE Messaoud	Professeur	Univ-Blida
	Dr. BENBELKACEM Abdelkader	DR	INRAA (Constantine)

*A la mémoire de notre chère Professeur LOUANCHI Meriem
QUE DIEU l'accueille dans son vaste paradis*

Dédicaces

A la mémoire de mon cher père qui m' a quitté à l'âge de six ans, malgré le peu de temps que tu as passé avec nous je n'oublierai jamais ton image, tes gestes et tes paroles... J'aurai aimé que tu assiste à un jour pareil mais la vie veut autrement, repose en paix cher père tu seras toujours dans nos cœurs.

A la mémoire de mon cher frère Mohamed qui nous a quittés sans nous prévenir, tu resteras toujours dans nos mémoires.

A la mémoire de ma tante Malika qui nous a quitté il y a peu, que DIEU t'accueille dans son vaste paradis.

A ma chère mère que DIEU la garde et la protège qui a su jouer le rôle d'une mère et d'un père pour veiller toujours et à notre éducation et à nos études.

A mes frères Rabah et Ali qui m'ont toujours aidé et encouragé dans ma vie et mes études

A mon mari Mourad, avec qui je partage cette vie, ses joies et ses peines

A mes enfants Yacine, Meriem, Maram et Miral qui m'offrent la joie, le courage et la force pour pouvoir surmonter toutes les difficultés et continuer....

A ma famille, mon frère Amar et mes sœurs Fatma et Ouardia, à mes belles sœurs Djamilia, Farida, Sarah et Asmaa, à mes nièces et mes neveux et leurs progénitures chacun par son nom.

A ma belle-famille, mon beau père et ma belle-mère, mes beaux frères et mes belles sœurs ainsi que leurs enfants.

A ma chère amie Samia

A tous les étudiants avec qui j'ai passé ces années à l'ENSA, en particulier la promotion de phytopathologie 2009/2010 ainsi que mes amies doctorantes.

A tous mes enseignants depuis l'école primaire jusqu'à l'université et à toute personne ayant contribué à ma formation

Nora

Remerciements

Avant tout, je remercie DIEU le tout puissant pour m'avoir donné le courage, la force et la patience pour pouvoir mener à terme ce travail.

Ce travail est le fruit d'une collaboration scientifique entre le laboratoire de phytopathologie et de biologie moléculaire du département de botanique (ENSA, Alger) et l'unité MycSA (INRA, Bordeaux, France). C'est avec un grand plaisir que je réserve ces lignes en signe de gratitude et de reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Je remercie ma directrice de thèse M^{lle} BOUREGHDA Houda qui m'a accompagnée durant mes trois mémoires à l'ENSA (ingénieur, magister et doctorat) pour qui je ne trouve pas vraiment les mots pour exprimer mon profond respect et ma très grande reconnaissance pour son écoute, sa générosité, sa patience, son optimisme et son extraordinaire force de travail. J'ai de la chance d'avoir travaillé avec vous.

Je remercie M^r Bouznad, Professeur au département de Botanique pour m'avoir donné l'opportunité de partir en stage dans le cadre de son projet ainsi que pour tout ce qu'il m'a appris en phytopathologie.

Je remercie infiniment M^r TAOUTAOU Abdelmoumen, Maître de conférences A à l'ENSA pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury. Je remercie beaucoup M^{me} BENZINA-TIHAR Farida, Maître de conférences A à l'UMBB (Boumerdes) ; M^r BENCHABANE Messaoud, Professeur à l'université de Blida ; Dr. BENBELKACEM Abdelkader, Directeur de recherche à l'INRAA (Constantine) pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je remercie tous mes enseignants qui nous ont accompagné tout au long du parcours à l'ENSA durant le tronc commun ainsi que la spécialité. Un grand merci particulièrement pour mes enseignants au département de Botanique M^r Ghezlane, M^r ABDELKRIM, M^r Keddad, M^r Traikia , M^{me} Djebbari et M^{lle} Zermane...et les autres chacun par son nom.

Je remercie ma collègue Laraba Imène avec qui j'ai partagé les prospections pour la collecte des échantillons durant les deux ans.

J'exprime aussi mes remerciements à Monsieur Christian Barreau, chargé de recherche à l'INRA de Bordeaux, pour son accueil, sa disponibilité, son intérêt pour ce travail et pour ses nombreux conseils avisés tout au long de mon stage en France. Je remercie également toute l'équipe de MycSA pour l'accueil, je m'adresse particulièrement à Marie France, Mounia et Nadia et je remercie Christine et Enric pour leur aide dans les manipulations.

Un grand merci pour mes collègues de pailleuse Meriem, Nadia, Saliha et les autres, ainsi que tout le personnel de département de botanique en particulier M^{me} Fatima pour sa patience, son aide et ses précieux conseils. Un merci particulier à Houria doctorante dans la même spécialité pour sa bonté et son aide, que DIEU t'aide à terminer ta thèse, tu mérites tout le bonheur du monde. Je remercie également Abdenour pour sa précieuse aide en statistiques. Je remercie Dr. BOUREGHDA Nadia pour la réalisation de la carte géographique de la distribution des maladies. J'exprime aussi mon remerciements au personnel qui assure le suivi des essais en plein champs, à M^r Chaib et en particulier à Mohamed (El bousseâdi) pour sa bonté et son sérieux au travail.

Je remercie ma famille en particulier ma mère pour sa disponibilité, son aide et sa compréhension et qui a joué tout au long de ces années de thèse le rôle de mère pour mes enfants malgré son âge, ce qui m'a permis d'avancer dans mes travaux sans m'inquiéter pour mes enfants. Que DIEU lui offre longue vie pour que je puisse lui rendre même un peu de ce qu'elle m'a offert.

Un grand merci à toute ma famille pour ses encouragements, son aide durant les moments difficiles, je remercie mes frères Rabah, Amar et Ali pour leurs conseils et leurs encouragement et ma sœur Ouardia pour son aide et sa patience. Je remercie aussi mes neveux Redouane et Anis pour m'avoir aidé dans le désherbage manuel de l'essai en plein champs. Je remercie également mon beau-frère Hamid pour son aide (surtout financière) m'ayant permis d'effectuer les prospections dans les nombreuses wilayas du pays.

Un grand merci pour ma chère amie Samia qui a été présente à mes côtés durant les moments de joie et de malheur, pour son écoute et sa compréhension, tu resteras toujours ma meilleure amie.

Je remercie infiniment mon mari sans qui ce travail n'aurait pas abouti pour sa patience, sa compréhension ainsi que son aide précieuse dans toutes les étapes de la réalisation de ce travail commençant par les prospections, la réalisation des essais en plein champs, les essais sous serre, les inoculations et même parfois au laboratoire durant les périodes trop chargées. Mourad, tu es mon meilleur binôme que je n'ai jamais eu. Ce travail est en grande partie le fruit de tes efforts et tes sacrifices, quoique je dise je ne peux pas exprimer ma reconnaissance envers toi. Je ne peux pas goûter ce fruit sans se rappeler de tes sacrifices, sans se rappeler que tu sors de ton travail le soir non pas pour aller se reposer, mais pour entretenir les différents essais, semer, irriguer, inoculer....MERCI

Enfin un grand merci pour mes enfants pour m'avoir donné le courage, la force, la volonté et la joie pour pouvoir continuer malgré les nombreux obstacles. Vous êtes ma source d'énergie mes poussins.

LISTE DES ABREVIATIONS

15-ADON: 15-acétyldéoxynivalénol

3-ADON: 3-acétyldéoxynivalénol

AND: Acide Désoxyribonucléique

ARN: Acide Ribo-Nucléique

av. J- C. : Avant Jésus-Christ

Cp : Crossing point

CTAB: Cetyl Trimethylammonium Bromide

CWDE : Enzymes de dégradation de la paroi cellulaire

dNTP: Désoxyribonucléoside triphosphate

DON: Déoxynivalénol

EFSA : Autorité Européenne de Sécurité des Aliments

ELISA: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

F: *Fusarium*

FAO: Food and Agriculture Organization

FCC : *F. culmorum* obtenus des collets

FCE : *F. culmorum* obtenus des épis

FCR: Fusarium Crown Rot

FFSC: *Fusarium fujikuroi* species complex

FGSC: *Fusarium graminearum* species complex

FHB: Fusarium Head Blight

FOSC: *Fusarium oxysporum* species complex

FP: *F. pseudograminearum*

FSSC: *Fusarium solani* species complex

FX: Fusarénone X

HIS: Hyperspectral imaging

HPLC: High-Performance Liquid Chromatography*

Kb: kilobases

M: *Microdochium*

MADR: Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural

NIV: Nivalénol

OAIC : Office Algérien Interprofessionnel des Céréales

pb: Paires de bases

PCR: Polymerase Chain Reaction

PDA: Potato Dextrose Agar

PDB: Potato Dextrose Broth

PMG : Poids de Mille Graines

q-PCR: PCR quantitative

QTL : Quantitative Trait Locus

rpm: Rotation par minute

T: Triticum

TAE: Tris Acétate EDTA

TCTB : trichothécènes de type B

TEF : Facteur d'Elongation de la Transcription

USDA: United States Department of Agriculture

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Schéma de l'origine des génomes portés par les différents blés.....	6
Figure 2. Production moyenne du blé dans le monde.....	7
Figure 3. Production céréalière (millions de tonnes) en Algérie durant l'année 2019.....	8
Figure 4. Les principales maladies fongiques du blé.....	12
Figure 5. Symptômes de la pourriture du collet.....	14
Figure 6. Images microscopiques (microscope confocal à balayage laser) de développement de <i>Fusarium culmorum</i> sur les racines primaires de blé.....	15
Figure 7. Bases moléculaires de l'interaction céréale hôte- <i>Fusarium pseudograminearum</i>	17
Figure 8. Symptômes observés après l'inoculation des épis du blé par <i>F. culmorum</i>	22
Figure 9. Apparition des symptômes de la fusariose de l'épi.....	23
Figure 10. Un modèle simplifié de l'interaction <i>Fusarium graminearum</i>	25
Figure 11. Cycle de vie de <i>Fusarium pseudograminearum</i> causant la pourriture du collet dans les cultures céréalières.....	30
Figure 12. Modèle de cellule végétale montrant la réaction des plantes après le traitement au DON.....	34
Figure 13. Équipement de l'imagerie hyperspectrale.....	36
Figure 14. Carte bioclimatique du nord de l'Algérie.....	39
Figure 15. Les foyers du blé présentant des épis échaudés avec des bases brunes.....	45
Figure 16. Isolement des agents de la pourriture du collet.....	46
Figure 17. Colonies de <i>F. culmorum</i> , <i>F. pseudograminearum</i> , et <i>Microdochium nivale</i> âgées de 4 jours incubées à 25°C à l'obscurité.....	49
Figure 18. Profils de migration sur gel d'agarose des produits d'amplification par les amorces spécifiques des espèces <i>F. culmorum</i> et <i>F. pseudograminearum</i>	49
Figure 19. Les fréquences des espèces isolées à partir du collet durant les années 2014 et 2015.....	55
Figure 20. Les fréquences des espèces isolées à partir des épis durant les années 2014 et 2015.....	56

Figure 21. Le nombre des espèces des genres <i>Fusarium</i> et <i>Microdochium</i> isolées à partir des collets et des épis durant les années 2014 et 2015.....	57
Figure 22. Carte géographique du nord de l'Algérie montrant la distribution de la fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé ainsi que les différentes espèces responsables de ces deux maladies dans les régions prospectées.....	59
Figure 23. Structure chimique des trichothécènes de type B.....	66
Figure 24. Les chémotypes des isolats de <i>F. culmorum</i> et <i>F. pseudograminearum</i> déterminés par q-PCR.....	73
Figure 25. Profils de la q-PCR pour les chémotypes DON et NIV.....	74
Figure 26. Echelle de notation de la sévérité de la maladie.....	83
Figure 27. Dispositif expérimental des techniques d'inoculation par fragment mycélien et par suspension de spores.....	84
Figure 28. Dispositif expérimental du test de l'inoculation des épis au stade floraison.....	85
Figure 29. Diamètre moyen des colonies pour chaque groupe.....	87
Figure 30. Test de pathogénicité <i>in vitro</i> pour les quatre groupes étudiés.....	89
Figure 31. Moyenne des pourcentages de réduction de la croissance du coléoptile du blé inoculées <i>in vitro</i>	90
Figure 32. Effet des isolats de <i>Fusarium</i> spp. et de <i>Microdochium</i> spp. sur la croissance du coléoptile du blé après 4 jours d'incubation à 25°C.....	91
Figure 33. Moyennes des pourcentages de retard de la croissance du coléoptile et de la croissance mycélienne des groupes étudiés.....	92
Figure 34. Test de pathogénicité sur collet par la technique d'inoculation par fragment mycélien pour les quatre groupes étudiés.....	95
Figure 35. Moyennes des pourcentages de maladie sur la partie basale induite par la technique d'inoculation par fragment mycélien.....	96
Figure 36. Les plantules de blé après 20 jours d'inoculation par fragment mycélien.....	97
Figure 37. Pourcentage de maladie après inoculation de la partie basale des plantules du blé par des suspensions de spore.....	98
Figure 38. Symptômes de la pourriture du collet sur les plantules du blé âgées de 49 jours inoculées par des suspensions de spores des isolats du groupe FCE.....	99
Figure 39. Comparaison entre les résultats des deux techniques d'inoculation (fragment mycélien et suspension de spores) de la partie basale du blé par les 10 isolats du groupe FCE.....	100

Figure 40. Pourcentage de maladie des isolats de <i>Fusarium</i> et de <i>Microdochium</i> après inoculation artificielle des épis en floraison.....	102
Figure 41. Moyenne des pourcentages de maladie sur les épis.....	103
Figure 42. Symptômes sur des épis de blé inoculés par différentes espèces.....	104
Figure 43. Pourcentages de réduction du PMG pour les isolats de chaque groupe FCC, FCE, FP et M.....	106
Figure 44. Moyennes de la réduction du PMG pour les 4 groupes FCE, FCC, FP et M.....	107
Figure 45. Ré-isolément des agents fongiques à partir des organes inoculés.....	108
Figure 46. Les différents tests de pathogénicité.....	109

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Les amorces spécifiques utilisées pour l'identification des isolats des genres <i>Fusarium</i> et <i>Microdochium</i>	43
Tableau 2. Les étapes de la PCR pour les différentes espèces.....	44
Tableau 3. Identification moléculaire des espèces isolées des collets et des épis du blé dur et du blé tendre collectés dans différentes régions céréalières du nord de l'Algérie.....	50
Tableau 4. Les espèces de <i>Fusarium</i> et de <i>Microdochium</i> isolées du collet durant les années 2014 et 2015 et identifiées par PCR.....	54
Tableau 5. Les espèces de <i>Fusarium</i> isolées des épis et identifiées par PCR durant les années 2014 et 2015.....	56
Tableau 6. Chémotypes des isolats de <i>F. culmorum</i> (FCC et FCE) et des isolats de <i>F. pseudograminearum</i>	70
Tableau 7. Résultats de la q-PCR déterminant les chémotypes des isolats de <i>F. culmorum</i> et de <i>F. pseudograminearum</i> déterminés par les valeurs de Cp.....	71
Tableau 8. Les isolats utilisés dans les tests de pathogénicité.....	80
Tableau 9. Diamètre des colonies de <i>Fusarium</i> et de <i>Microdochium</i> après 4 jours d'incubation à 25°C.....	86
Tableau 10. Pourcentage de réduction de la longueur du coléoptile des du blé inoculées avec les isolats de <i>Fusarium</i> et de <i>Microdochium in vitro</i>	88
Tableau 11. Test de pathogénicité sur collet par la technique d'inoculation par fragment mycélien pour les quatre groupes étudiés.....	94
Tableau 12. Pourcentage de la maladie par la technique de l'inoculation du collet des plantules de blé par des suspensions de spores des isolats du groupe FCE.....	98
Tableau 13. Pourcentage de maladie induit par des isolats de <i>Fusarium</i> et de <i>Microdochium</i> après inoculation artificielle des épis en floraison.....	101
Tableau 14. Pourcentage de réduction du PMG sous l'effet des isolats de <i>Fusarium</i> et de <i>Microdochium</i> après inoculation des épis en floraison.....	105
Tableau 15. Corrélations entre les trois tests de pathogénicité ainsi que le pourcentage de réduction du PMG pour les isolats du groupe FCC.....	110
Tableau 16. Corrélations entre les trois tests de pathogénicité ainsi que le pourcentage de réduction du PMG pour les isolats du groupe FCE.....	110

Tableau 17. Corrélations entre les trois tests de pathogénicité ainsi que le pourcentage de réduction du PMG pour les isolats du groupe FP.....110

INTRODUCTION GENERALE

Le blé (*Triticum* spp.) est une culture d'un grand intérêt agronomique, elle constitue la première source de calories et de protéines dans l'alimentation humaine. Cultivé sur 220 millions d'hectares dans le monde, sa production annuelle de plus de 700 millions de tonnes fournit environ 20% des calories et des protéines consommées par 2,5 milliards de personnes dans le monde (Ma et *al.*, 2020). Le blé tendre compte pour 95% de la production mondiale des blés, alors que le blé dur ainsi que d'autres céréales ne représentent que 5% de la production (Venske et *al.*, 2019). Le blé tendre est le plus adopté par l'homme grâce à sa grande capacité d'adaptation à l'environnement ainsi que sa "plasticité génomique" conférée par sa nature allopolyploïde. Également, en raison de ses excellentes qualités pour l'alimentation humaine et animale, non seulement en ce qui concerne la teneur en glucides, protéines et vitamines, mais aussi pour la propriété élastique unique de son gluten, qui fournit un usage plus diversifié pour sa farine (Venske et *al.*, 2019).

L'Algérie est un grand consommateur de céréales et considère le blé comme le principal aliment de base. Le blé est utilisé principalement pour le pain et les pâtes alimentaires. La consommation algérienne de blé a augmenté au cours des dernières années en raison de l'urbanisation accrue et de la croissance démographique. Pour cela, le gouvernement déploie beaucoup d'efforts pour augmenter la production en utilisant plus de semences certifiées, d'engrais et de soutien technique. Bien que la production nationale se soit améliorée au fil des ans, elle reste axée sur les conditions météorologiques et ne répond pas à la demande intérieure. Par conséquent, l'Algérie continue à importer du blé, essentiellement du blé tendre. Les céréales représentent toujours une part importante des importations alimentaires algériennes. Les importations de céréales ont atteint 3,09 milliards de dollars en 2018 et représentaient 36,09% des importations totales, selon les chiffres des douanes algériennes (USDA, 2019).

La production du blé est soumise à plusieurs contraintes abiotiques (sécheresse et salinité) et biotiques (ravageurs et maladies). Les maladies fongiques affectent directement la productivité des cultures en réduisant les rendements, mais affectent également la qualité des céréales. Les fusarioses sont parmi les maladies les plus importantes sur blé. Selon l'organe attaqué, différentes maladies sont regroupées dans le mot « fusarioses », pourriture du collet quand le collet est attaqué et fusariose de l'épi quand l'épi est attaqué. Ainsi, deux genres fongiques sont principalement impliqués dans les fusarioses du blé : *Microdochium*, avec deux espèces majoritaires *Microdochium majus* (Wollenweber) et *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels

& Hallet (Glynn et al., 2005) et *Fusarium*. Au sein du genre *Fusarium*, les espèces prédominantes sur blé sont *F. graminearum* Schwabe, *F. culmorum* (Wm.G. Sm.) Sacc et *F. pseudograminearum* (Aoki & O'Donnell), cependant d'autres espèces peuvent causer ces maladies et même dominer dans certaines régions (Beccari et al., 2018b).

La pourriture du collet ou pourriture racinaire connue également sous le nom de pourriture du pied (*Fusarium crown rot*) est causée principalement par *F. pseudograminearum*, *F. culmorum* et *F. graminearum* (Obanor et Sharkraborty, 2014 ; Beccari et al., 2018b), d'autres espèces appartenant aux genres *Microdochium* et *Fusarium* peuvent aussi causer la maladie. Le blé dur est particulièrement plus sensible à cette maladie que le blé tendre et l'orge (Alahmad et al., 2018). L'infection précoce du blé peut avoir lieu dès le stade de semis et peut entraîner la fonte des semis (Scherf et al., 2013). À des stades ultérieurs, le pathogène infecte les racines, le collet et les gaines foliaires et peut coloniser toute la base de la tige jusqu'au troisième nœud (Knight et Sutherland, 2016).

La fusariose de l'épi ou la gale de l'épi (*Fusarium Head Blight*) est causée principalement par des espèces du genre *Fusarium*. Bien que *Fusarium graminearum* (téléomorphe *Gibberella zeae* (Schwein) Petch) ait été signalé comme étant l'espèce prédominante chez le blé et l'orge, d'autres espèces jouent un rôle important dans certaines régions. Il s'agit notamment de *F. culmorum*, *F. avenaceum* (Fries) Saccardo, *F. pseudograminearum*, *F. poae* (Peck) Wollenweber, *F. asiaticum* et d'autres (Pasquali et al., 2016). Selon les conditions agronomiques et environnementales, les agents pathogènes provoquent préférentiellement l'une des deux maladies. Rarement, la pourriture du collet et la fusariose de l'épi peuvent constituer un problème en même temps et dans les mêmes conditions (Scherf et al., 2013).

L'infection précoce par la pourriture du collet entraîne la mort des plantules avant ou après la levée, une décoloration brune sur les coléoptiles entraînant des pertes de rendement importantes. Ces pertes de rendement se produisent lorsque l'agent pathogène altère la fonction des tissus vasculaires et induit l'échaudage des plants avant maturité (Winter et al., 2019). Cependant, le rendement et la qualité des graines sont particulièrement affectés lorsque ces agents pathogènes induisent la fusariose de l'épi, infectant les épis à l'anthèse et colonisant les tissus jusqu'à la récolte des grains. La fusariose de l'épi provoque la contamination des graines par des mycotoxines (Spanu et al., 2018).

Si les isolats du genre *Microdochium* sont non toxigènes, les principales espèces de *Fusarium* infectant le blé sont susceptibles de produire des mycotoxines notamment les trichothécènes de type B ou TCTB (Gourdain et al., 2016). L'entrée des mycotoxines dans la chaîne alimentaire de l'homme s'effectue soit par les denrées brutes (céréales, farines...), soit par

des produits élaborés (céréales de petits déjeuners, gâteaux...), mais aussi éventuellement par des produits d'origine animale, si ce dernier a consommé une nourriture contaminée. Les trichothécènes sont toxiques pour l'homme et pour l'animal. Les risques résultant de l'exposition (essentiellement chronique) sont considérés comme un problème majeur en santé publique et en médecine vétérinaire (Balzer et al., 2004). Les molécules constituant les TCTB sont le déoxynivalénol (DON) et ses formes acétylées et le nivalénol (NIV) et sa forme acétylée la fusarénone X. Un isolat de *Fusarium* ne peut produire qu'un seul type de TCTB avec un seul type de dérivé acétylé. On parle de chémotype (Pasquali and Migheli, 2014; Maeda et al., 2020). La détermination des chémotypes des isolats des espèces les plus répandues dans une région donnée est primordiale pour estimer les risques vu que différentes mycotoxines ont des effets toxicologiques différents. En effet, le NIV est plus toxique que le DON pour l'homme et les animaux domestiques, tandis que les dérivés acétylés du DON sont plus toxiques pour les céréales que le NIV (Tok and Arslan, 2016).

La lutte contre ces deux maladies est rendue particulièrement difficile en raison de la diversité des espèces pathogènes qui en sont responsables et qui possèdent des caractéristiques épidémiologiques différentes. La stratégie principale de lutte contre les maladies provoquées par *Fusarium* dans les céréales repose actuellement sur le principe de réduction de l'inoculum pour prévenir l'infection initiale. Ces mesures s'accompagnent de l'utilisation des fongicides qui donnent souvent des résultats insuffisants et n'empêchent pas l'accumulation des mycotoxines dans les graines. De plus, ces actions ne garantissent pas un contrôle constant, en particulier contre une maladie aussi imprévisible que la fusariose. Cependant, ces mesures ont essentiellement un caractère préventif et entrent dans le cadre d'une stratégie qui permet de freiner la dispersion de l'inoculum, et de prévenir l'infection de l'épi. Devant une telle situation, un grand intérêt doit être accordé à cette maladie (Rojas et al., 2018).

L'identification correcte des espèces de *Fusarium* est fondamentale pour déterminer le potentiel de production de trichothécènes et pour envisager les méthodes de lutte appropriées. L'identification de *Fusarium* au niveau d'espèce basée sur les caractéristiques morphologiques des colonies et des micro- et macroconidies est sujette à des erreurs en raison de la plasticité des traits morphologiques. En tant que telle, la morphologie ne parvient pas souvent à faire la distinction entre les espèces de *Fusarium* (Ramdass et al., 2020). Compte tenu de la difficulté de l'identification morphologique, l'identification moléculaire est de plus en plus utilisée. Elle est généralement basée sur l'amplification, par PCR (Polymerase Chain Reaction), de régions spécifiques. Cette technique se caractérise par sa simplicité, sa rapidité et son extrême sensibilité avec le potentiel théorique de détecter une seule séquence cible (Edwards et al., 2002). En plus de l'identification des espèces, l'étude de leur agressivité aide à mieux

comprendre l'épidémiologie du complexe fongique associé à la fusariose du blé afin d'entreprendre des stratégies de lutte plus efficaces.

En Algérie, les travaux qui ont traité la fusariose de l'épi ou bien la pourriture du collet du blé (Touati-Hattab et *al.*, 2016 ; Hadjout et *al.*, 2017 ; Laraba et *al.*, 2017) se sont basés beaucoup plus sur une seule espèce *F. culmorum*. En Algérie aucune étude complète n'a porté sur l'identification des principaux agents de la pourriture racinaire et de la fusariose de l'épi chez le blé en prospectant plusieurs régions céréalières du pays.

Les objectifs tracés lors de ce travail de thèse sont :1) isoler et identifier les agents fongiques responsables de la pourriture du collet et la fusariose de l'épi du blé en Algérie par les méthodes morphologiques et moléculaires ; 2) caractériser les chémotypes des principales espèces toxigènes ; 3) étudier l'agressivité des principales espèces obtenues vis-à-vis les organes de blé qui sont naturellement attaqués par la fusariose, à savoir la graine, le collet et l'épi et la recherche d'éventuelles corrélations entre ces tests d'agressivité.

Cette thèse est constituée de quatre chapitres dont le premier est consacré à une synthèse bibliographique. Le deuxième chapitre est consacré à l'identification des espèces responsables de la fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé en Algérie ainsi que la répartition de ces deux maladies dans les régions prospectées. L'identification a été réalisée au début par des critères morphologiques et ensuite elle a été confirmée par les outils moléculaires (PCR) en utilisant des amorces spécifiques pour chaque espèce. Le troisième chapitre concerne l'étude des chémotypes des principales espèces toxigènes obtenues. Enfin le dernier chapitre est consacré aux études d'agressivité des principales espèces toxigènes et non toxigènes et cela en inoculant les différents organes qui sont naturellement infectés par les fusarioses à savoir les graines, les collets et les épis. Les graines ont été inoculées *in vitro* par le mycélium des agents pathogènes et l'agressivité est évaluée par l'effet sur la croissance du coléoptile. Pour l'étude de l'agressivité des isolats sur les parties basales du blé (collets), deux techniques ont été utilisées (sous serre). La première technique consiste à l'inoculation des graines par des fragments mycéliens au semis et la deuxième consiste à appliquer des suspensions de spores au niveau des collets des plantules au stade deux à trois feuilles. Enfin l'inoculation des épis a été réalisée en plein champs et l'évaluation de l'agressivité des isolats a été complétée par l'évaluation de la réduction de poids de mille graines.

Chapitre I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Le blé

I.1.1. Origine

Le blé a été amélioré par l'homme au cours des dernières 8 000 à 10 000 années. Au début, pour l'Homme, cette période a marqué la transition entre un mode de vie basé sur la chasse et la cueillette à un mode de vie basé sur l'agriculture et l'élevage, entraînant ainsi sa sédentarisation (Dubcovsky et Dvorak, 2007). Les blés cultivés appartiennent au genre *Triticum* et possèdent différents niveaux de ploïdie qui témoignent des événements de polyploïdisation survenus au cours de leur histoire évolutive, avant domestication. On distingue ainsi des espèces diploïdes telles que l'engrain (*Triticum monococcum* L.), des espèces tétraploïdes comme l'amidonnier (*T. turgidum* L.) et des espèces hexaploïdes (*T. aestivum* L.). Les blés tétraploïdes se sont différenciés en plusieurs sous-espèces comme l'amidonnier domestiqué (*T. turgidum* L. ssp. *dicoccoïdes* Körn.) et le blé dur (*T. turgidum* L. ssp. *durum* Desf.). Il en est de même pour les blés hexaploïdes où l'on distingue deux sous-espèces cultivées, le blé tendre (*T. aestivum* L. ssp. *aestivum* L.) et le grand épeautre (*T. aestivum* L. ssp. *spelta* L.) (Bonnot, 2016, Fig. 1). Les deux sous espèces les plus cultivées sont le blé tendre et le blé dur, Le blé tendre est une espèce hexaploïde ($2n = 6 \times = 42$, Génome AABBDD) alors que le blé dur ($2n=4 \times = 28$, génome AABB) est une espèce tétraploïde (Marcussen *et al.*, 2014).

Sur la base d'éléments archéologiques, génétiques et botaniques, l'origine des premiers blés cultivés à savoir l'engrain diploïde (*T. monococcum*) et l'amidonnier tétraploïde (*T. turgidum* spp. *dicocum*) a été estimée à une zone limitée du croissant fertile située à l'amont du Tigre et de l'Euphrate et qui correspond à des territoires de l'actuelle Syrie et de la Turquie. L'origine géographique du blé tendre semble quant à elle être localisée au Nord-Ouest de l'Iran et/ou au Nord-Est de la Turquie. La diffusion du blé en Afrique s'est faite à partir de l'Égypte vers 6 000 av. J- C. De la même manière, le blé est introduit depuis l'Iran jusqu'en Asie centrale et atteint la Chine de 3 000 av. J- C. La voie principale vers l'Europe était depuis l'Anatolie jusqu'à la Grèce (8 000 av. J- C.), puis vers le nord à travers les Balkans jusqu'au Danube (7 000 av. J- C.) et jusqu'en Italie, la France et l'Espagne (7 000 av. J- C.), pour finalement atteindre le Royaume-Uni et la Scandinavie d'environ 5 000 av. J- C. Le blé a été introduit par les Espagnols au Mexique en 1529 et en Australie en 1788 (Shewry, 2009). Pendant longtemps, les chercheurs avaient pensé que le blé tendre n'existait pas en Afrique du Nord avant l'arrivée des Arabes.

Néanmoins, pendant l'occupation française de l'Algérie, seul le blé dur était cultivé dans les zones des plaines. Le blé tendre était considéré comme une culture distincte, qui poussait spontanément dans des champs de blé dur. Entre la fin du XVIIIe et le début du XIXe siècle, les agriculteurs ne s'intéressaient qu'au blé dur qui était donc largement cultivé (Benbelkacem, 2014).

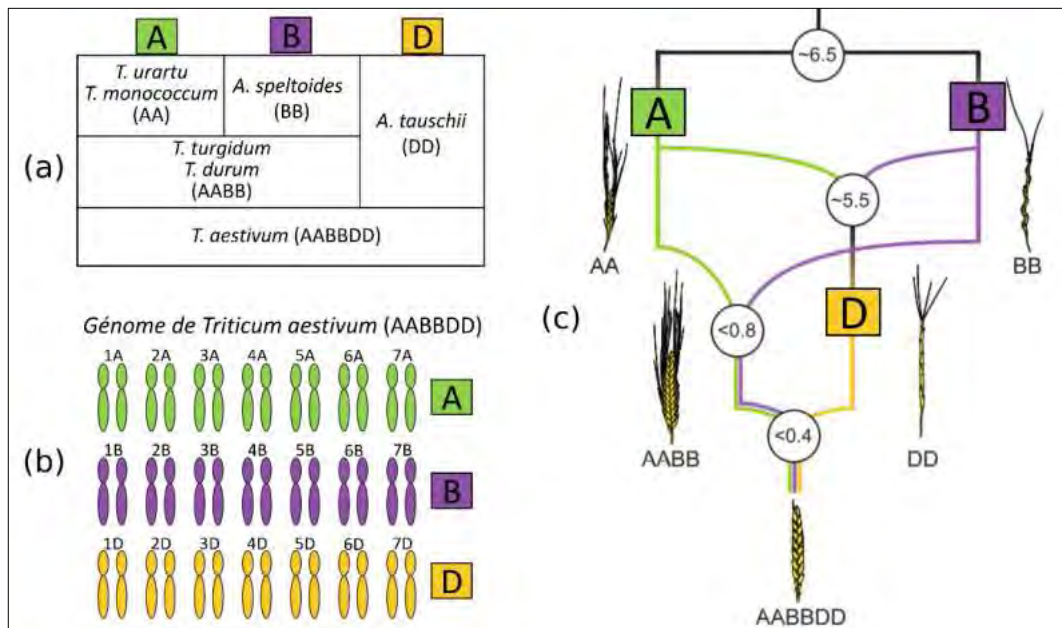


Figure 1. Schéma de l'origine des génomes portés par les différents blés. (a) Catégorisation des différentes espèces de blé en fonction de leurs niveaux de ploïdie, portant les génomes A, B et/ou D. (b) Schéma du caryotype du blé tendre (*Triticum aestivum* ssp. *aestivum*) hexaploïde. (c) Schéma de l'histoire évolutive des blés, les dates estimées des événements étant exprimées en millions d'années (Marcussen *et al.*, 2014).

I.1.2. Caractéristiques de la culture

Le blé appartient à la famille des *Poaceae* et au genre *Triticum*. C'est une plante annuelle, monocotylédone formée d'un chaume portant un épi. Le blé dispose d'un double système racinaire (racines séminales et adventives). L'épi du blé est formé d'épillets portant trois ou quatre fleurs. Le grain est un caryopse, constitué de trois groupes de composants principaux : l'amidon, les protéines et les polysaccharides de la paroi cellulaire, et une gamme de composants mineurs (Shewry *et al.*, 2013). Les protéines de blé sont composées d'albumines et de globulines (soluble dans les solutions aqueuses), et les gliadines et les glutenines (insolubles dans les solutions aqueuses) qui sont responsables de la formation de gluten (Ortega *et al.*, 2019).

On distingue couramment deux grandes phases dans le développement d'un plant de blé: la phase végétative et la phase reproductive. La transition entre ces deux phases diffère entre les blés dits « d'hiver » qui sont semés à l'automne et qui nécessitent une période de froid, appelée vernalisation, pour initier la formation de leur appareil reproducteur, et les blés dits « de printemps » qui ne nécessitent pas cette période de vernalisation (Acevedo *et al.*, 2002). Le blé d'hiver (surtout tendre) qui a un besoin absolu en froid (et ou jours courts) pour épier est cultivé en Europe de l'ouest et de l'est, aux USA, au Canada, en Turquie et en Asie centrale ; et le blé du printemps qui n'a pas besoin de froid pour épier, est cultivé en Afrique du Nord, au moyen orient et au sud de l'Australie (Hamadache, 2013).

I.1. 3. Production

Le blé est cultivé du 67° au nord au 45° au sud, avec une large gamme d'altitudes, mais il est moins cultivé dans les régions tropicales (Venske *et al.*, 2019). En 2018, plus de 730,4 millions de tonnes de cette céréale ont été produites sur 220 millions d'hectares dans le monde (FAO, 2019). Ceci a placé le blé en deuxième position après le maïs (*Zea mays* L.) en termes de production parmi les cultures céréalières, mais en première position en termes de superficie récoltée parmi toutes les cultures. Environ 95% du blé cultivé est du blé tendre, les 5% restants étant du blé dur et quelques autres types moins importants (Venske *et al.*, 2019). Les principaux pays producteurs de blé sont la Chine, l'Inde, les États-Unis, la Russie, la France, le Canada, l'Allemagne, la Turquie, l'Australie et l'Ukraine (Gaur et Mogalapu, 2018 ; Fig. 2).

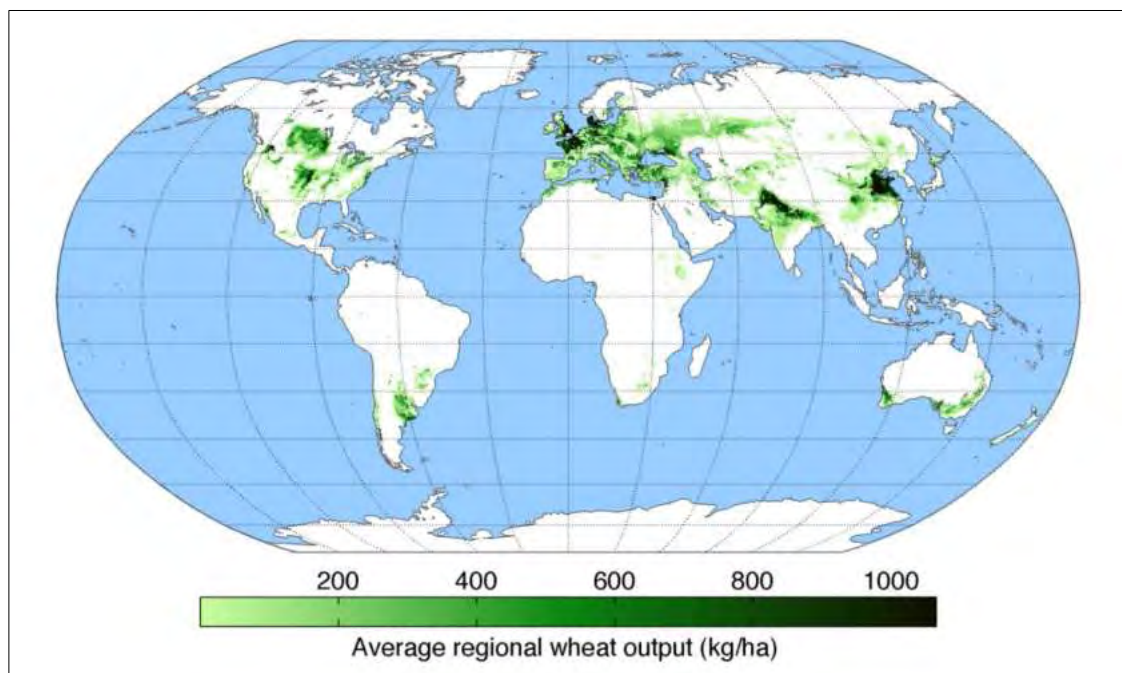


Figure 2. Production moyenne du blé dans le monde (https://en.wikipedia.org/wiki/International_wheat_production_statistics)

I.1.4. Le blé en Algérie

Le blé constitue la base de l'alimentation de la population algérienne, il est utilisé pour fabriquer le pain, les gâteaux et les pâtes alimentaires, il est aussi utilisé pour l'alimentation animale et pour l'amendement du sol. Malgré la place stratégique des céréales dans le système alimentaire algérien et dans son économie nationale, leur production reste insuffisante et ne répond qu'à 25-30% des besoins de la population (Chourghal et *al.*, 2016).

La superficie consacrée aux céréales en 2019 a atteint 3,55 millions d'hectares (une augmentation de 3% par rapport au chiffre de l'an dernier ; 3,44 millions d'hectares). La région de l'Est qui représente 46% de la production céréalière du pays a alloué 1,58 million d'hectares aux céréales (MADR, 2019). Le blé dur est la céréale la plus ré pondue, il est surtout cultivé à l'est (Constantine, Mila, Souk Ahras et Sétif). Le blé tendre est surtout cultivé à l'ouest du pays (Tiaret, Saida et Sidi Bel-Abbes). Les superficies récoltées sont souvent inférieures aux superficies emblavées, principalement à cause de la sécheresse printanière (Hamadache, 2013).

La production du blé en 2019 est estimée à environ 4 millions de tonnes (Fig. 3), similaire à la production de 2018 (3.94 millions de tonnes). Même au cours des années où la production intérieure était élevée, le pays dépendait fortement des importations de céréales, le blé tendre étant le plus important. Au cours des cinq dernières années, le pays a importé en moyenne environ 8 millions de tonnes de blé tendre par an, ce qui représente environ 70% des besoins de sa population croissante. L'Algérie importe le blé de France, du Canada, d'Allemagne, des États-Unis d'Amérique, d'Espagne et du Mexique (FAOSTAT, 2019).

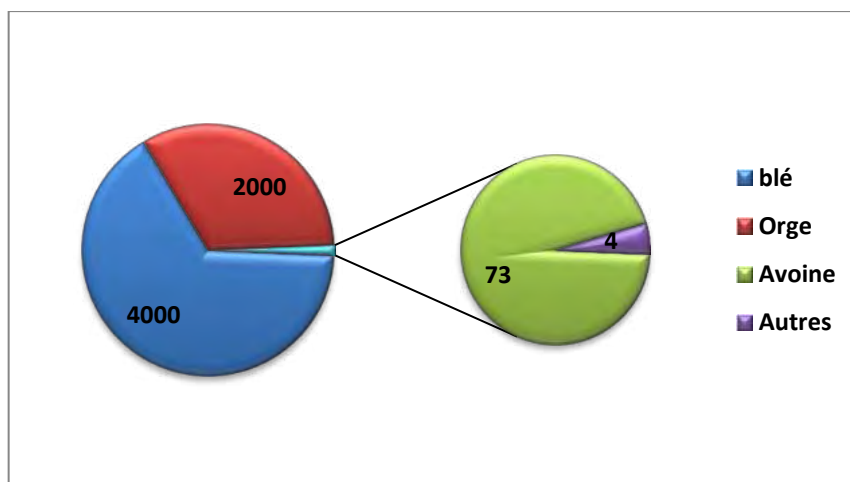


Figure 3. Production céréalière (milles tonnes) en Algérie durant l'année 2019 (FAOSTAT, 2019)

En Algérie, le secteur agricole dépend essentiellement des précipitations et les terres non irriguées couvrent 98,6% de la superficie agricole totale dont 50% sont occupées par des céréales et principalement par du blé dur (Chourghal et *al.*, 2016). La sécheresse est l'une des principales contraintes de la production des céréales en Algérie (Touchan et *al.*, 2016). Le régime pluviométrique du pays se caractérise par un gradient croissant ouest-est et sud-nord alors que le régime thermique suit le sens inverse (Hamadache, 2013).

On distingue trois zones céréalières en Algérie selon la pluviométrie et l'altitude, la zone littorale, sublittorale et les hauts plateaux. Les hauts Plateaux représentent la principale zone céréalière de l'Algérie, bordés au Nord par l'Atlas tellien et au Sud par l'Atlas saharien, ils parcourent en diagonale l'Algérie jusqu'au Nord-Ouest tunisien à une altitude moyenne de 1000 m. Les étés sont arides et les hivers assez pluvieux (300 à 500 mm) mais rigoureux avec, en fin d'hiver et début de printemps, des risques de gel pouvant être préjudiciable aux céréales en montaison ou de vent venant du Sahara (le sirocco) pouvant les dessécher sur pied (Bauval, 2017). Dans cette zone la céréaliculture est intensive et les conditions climatiques sont favorables, mais elle est influencée par les risques de déficit hydrique. La sécheresse est l'un des principaux facteurs de stress qui prévaut sur les hauts plateaux surtout l'Est algérien (Bouchemal et *al.*, 2018). La pratique de l'irrigation des céréales concerne actuellement 84 069 ha soit 2,5% des terres emblavées. Cet effort qui représente 9,43% de la surface totale irriguée est surtout localisé dans la partie sud du pays (Zella et *al.*, 2015).

Les sols des zones céréalières en Algérie sont pauvres en matières organiques et en phosphore assimilable, ils se caractérisent aussi par la présence de sels dans leurs profils comme les carbonates, les sulfates, le chlorure et le sodium (Hamadache, 2013). De grandes parties des terres agricoles algériennes sont menacées par la salinité, en particulier dans les zones arides, où les céréales irriguées sont cultivées chaque année (Fellahi et *al.*, 2019).

I.1.5. Etat phytosanitaire du blé en Algérie

Les cultures du blé sont soumises chaque année à une pression parasitaire importante et complexe (bactéries, champignons, virus et nématodes) et aux ravageurs (pucerons, insectes), capables d'attaquer toutes les parties de la plante, à tous les stades de son développement et pendant la conservation. Les maladies fongiques sont très dommageables, elles sont capables de provoquer des symptômes très variés (Fig. 4), et de générer des impacts quantitativement très variables sur le rendement et/ou la qualité du blé.

I.1.5.1. Les maladies fongiques

Les principales maladies fongiques sont les rouilles, la septoriose, la tache auréolée, l'oïdium et les fusarioses. Les rouilles sont représentées par trois espèces, la rouille jaune causée par *Puccinia striiformis* West., la rouille des feuilles causée par *P. triticina* Eriks., et la rouille des tiges causée par *P. graminis* Pers. f. sp. *tritici* Eriks et E. Henn. (Martínez–Moreno and Solís, 2019), la troisième espèce étant absente en Algérie. La septoriose des feuilles est causée par *Zymoseptoria tritici* (Desm.), où en Algérie les deux mating-types MAT1-1 et MAT1-2 existent et sont distribués d'une façon équilibrée ce qui suggère un potentiel élevé de la reproduction sexuée (Alliouiet *al.*, 2014 ; Meamiche-Neddaf et *al.*, 2017). La tache auréolée « tan spot » est causée par *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. (Anamorphe *Drechslera tritici-repentis*) qui a été signalé en Algérie, mais l'ampleur des pertes économiques est inconnue, les isolats de ce champignon sont regroupés en huit races (Lamari et Strelkov, 2010). En Algérie, les races 1, 4, 5, 6, 7 et 8 ont été trouvées et un nouveau profil de virulence a été identifié (Benslimane et *al.*, 2011). L'oïdium est causé par *Blumeria graminis* (DC.) E.O. Speer f. sp. *tritici* (syn. *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*), il cause des pertes importantes de rendement en conditions méditerranéennes et dans le monde entier (Attab et Brinis, 2012). Les fusarioses sont causées principalement par des espèces appartenant à deux genres *Fusarium* et *Microdochium* et seront détaillées par la suite.

I.1.5.2. Les maladies bactériennes

Plusieurs bactéries peuvent attaquer le blé dont la strie bactérienne des feuilles causée par *Xanthomonas translucens* (Khenfous-Djebari et *al.*, 2019), *Rathayibacter tritici*, *Erwinia rhaiphonhici*, *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* (Djebari, 2005).

I.1.5.3. Les maladies virales

Les maladies virales sont en train de prendre de l'extension en Algérie. Ainsi, le Barley Yellow Dwarf Virus (BYDV) a été signalé dans plusieurs régions céréalières et sur plusieurs espèces végétales (blé dur, blé tendre et orge). Le BYDV constitue une menace pour les céréales en Algérie (Oufferroukh et *al.*, 2010). Il appartient au groupe de lutéovirus qui sont strictement transmis par des pucerons, les plantes infectées sont plus sujettes à l'infection fongique et aux stress abiotiques, avec un effet négatif sur le rendement et un retard dans la date de l'épiaison (Ben Ghanem et *al.*, 2018).

I.1.5.4. Les nématodes

Trois principaux genres de nématodes sont inféodés au blé en Afrique du nord, *Pratylenchus*, *Ditylenchus* et *Heterodera*. Cependant l'espèce *Heterodera avenae* est la plus répandue en Algérie, elle s'attaque aux racines du blé ce qui crée dans les champs des plages de plantes chétives et de taille réduite. Récemment, Smaha et al. (2019) ont confirmé la présence de trois espèces d'*Heterodera* en Algérie, *H. hordecalis*, *H. avenae* et *H. filipjevi*.

I.1.5.5. Les ravageurs et les maladies de conservation :

La conservation du blé constitue le seul moyen d'assurer le lien entre la récolte de l'année et la consommation permanente. Les récoltes conservées en général dans des conditions inadéquates sont attaquées par des moisissures, des insectes et des rongeurs. Des pertes pouvant dépassées 35% sont enregistrées ces dernières années selon les déclarations de l'Office Algérien Interprofessionnel des Céréales (OAIC). Une étude réalisée par Aoues et al. (2017) au niveau des silos de stockage de blé au nord de l'Algérie a mis en évidence trois principaux ordres d'insectes ravageurs, les Lépidoptères, les Coléoptères et les Hyménoptères. L'espèce la plus dominante est *Rhyzopertha dominica* suivie par *Sitophilus oryzae* puis par *Ephestia kuehniella*. La flore fongique est composée de plusieurs genres de champignons majeurs appartenant à deux groupes distincts: ceux du groupe de "champs" comme *Alternaria*, *Fusarium* et *Bipolaris* et ceux appartenant au groupe de "stockage" tel que *Aspergillus* et *Penicillium*. Le genre le plus abondant est *Aspergillus* suivi par le genre *Alternaria*. En plus de l'altération de la qualité du grain ces champignons produisent des mycotoxines qui peuvent nuire à la santé humaine.

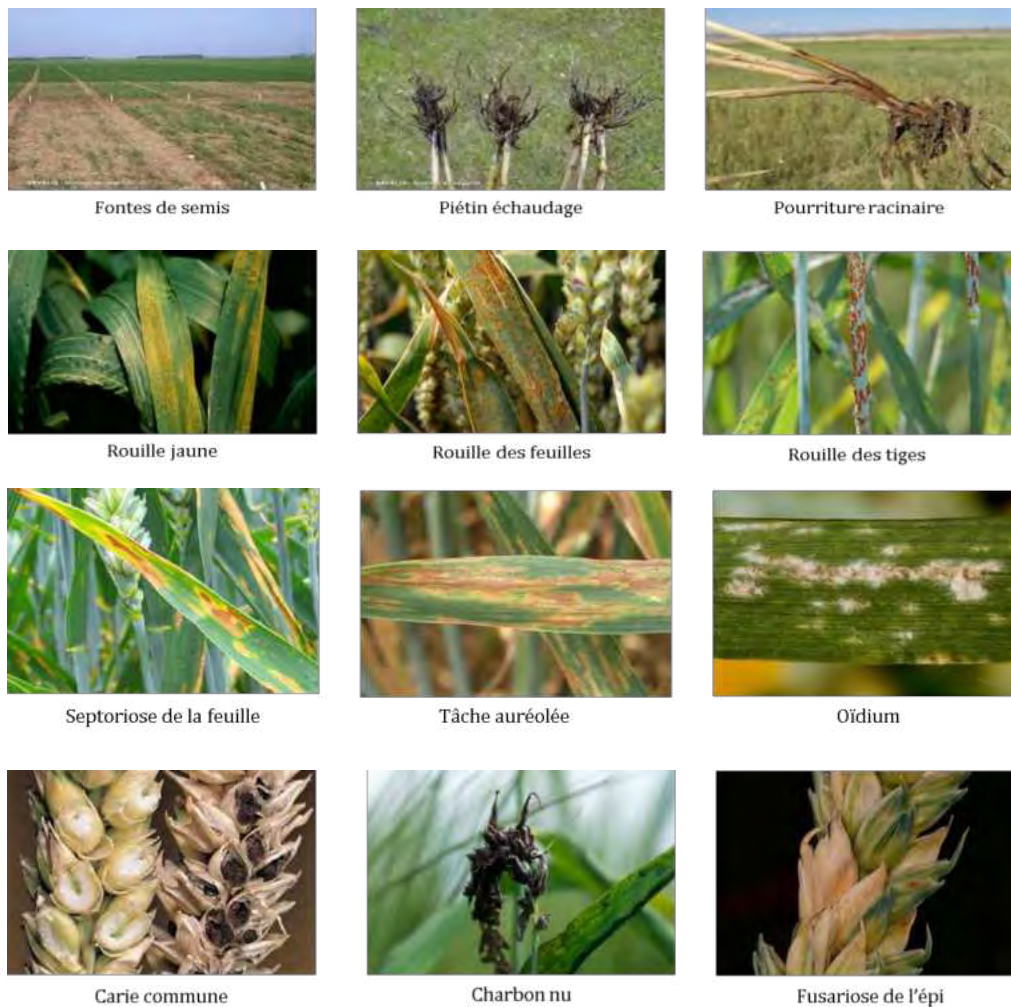


Figure 4. Les principales maladies fongiques du blé
(<https://www.syngenta.fr/cultures/cereales/article-fongicide/maladies-du-ble>)

I.2. La pourriture du collet et la fusariose de l'épi du blé

Le blé peut être attaqué par un complexe d'espèces de genre *Fusarium* et *Microdochium* qui peuvent causer des fontes de semis, des pourritures du collet et la fusariose de l'épi. Les deux dernières maladies sont détaillées ci-dessous.

I.2.1. Données sur la pourriture du collet

La pourriture du collet est répandue dans la plupart des régions productrices de céréales dans le monde, y compris en Europe, en Australie, en Amérique du Nord, en Amérique du Sud, en Asie de l'Ouest et en Afrique du Sud. Cette maladie est aussi signalée en Afrique du nord (Kammoun et al., 2009 ; Laraba et al., 2017). La pourriture du collet est un problème chronique où les conditions climatiques sèches sont présentes et la monoculture du blé est adoptée

(Obanor & Chakraborty, 2014 ; Beccari et *al.*, 2018b). Le blé dur est particulièrement plus sensible à cette maladie, ce qui entraîne des pertes de rendement supérieures à celles du blé tendre et de l'orge (Hollaway et *al.*, 2013).

I.2.1.1. Agents causaux

La pourriture du collet est principalement causée par les espèces *F. pseudograminearum*, *F. culmorum* et *F. graminearum* (Akinsanmi et *al.*, 2004 ; Dyer et *al.*, 2009 ; Scherm et *al.*, 2013 ; Beccari et *al.*, 2018b). Dans les zones tempérées, *Microdochium nivale* est également capable de causer la maladie (Johansson et *al.*, 2003). Autres espèces sont rapportées dans différentes régions du monde comme *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. crookwellense* (Alahmad et *al.*, 2018). Ces espèces peuvent coexister avec d'autres espèces comme l'agent de la pourriture commune *Bipolaris sorokiniana*, les agents du take-all *Gaeumannomyces graminis* et *Pythium* spp. qui causent des symptômes similaires à la pourriture du collet causée par *Fusarium* spp. (Kazan et Gardiner, 2018). En Algérie une nouvelle espèce *F. algeriens* Laraba & O'Donnel associée avec la pourriture du collet a été isolée des parties basales du blé dur (Laraba et *al.*, 2017).

I.2.1.2. Symptomatologie

Le premier symptôme observé lors d'une infection est une brûlure de plantules en pré-émergence au stade de semis. La pourriture du collet s'établit généralement comme une nécrose « brun miel » du collet et des tissus de la tige inférieure. La décoloration brune peut se produire sur les entre-nœuds, le collet et les feuilles de la couronne, tandis que les lésions sont généralement concentrées sur les parties inférieures de la tige pendant les stades de croissance adulte (Fig. 5a,c,d). Dans des conditions humides, un mycélium rose peut être observé sous les gaines des feuilles et autour des nœuds. La maladie est également identifiable chez les plants adultes par la présence des épis blancs prématurés (Smiley, 2019a) partiellement remplis ou totalement stériles qui sont généralement intercalés tout au long du champ (Fig. 5b). Les symptômes sont aggravés par le stress hydrique au cours de l'anthèse et du remplissage du grain (Alahmad et *al.*, 2018). Beccari et *al.* (2018b) en inoculant les bases des tiges du blé par les trois espèces *F. pseudograminearum*, *F. culmorum* et *F. graminearum* ont montré que les symptômes ont été principalement localisés dans la zone inoculée, qui s'est étendue jusqu'au deuxième nœud pour toutes les espèces inoculées et seules les souches les plus agressives ont causé des symptômes jusqu'au troisième nœud.

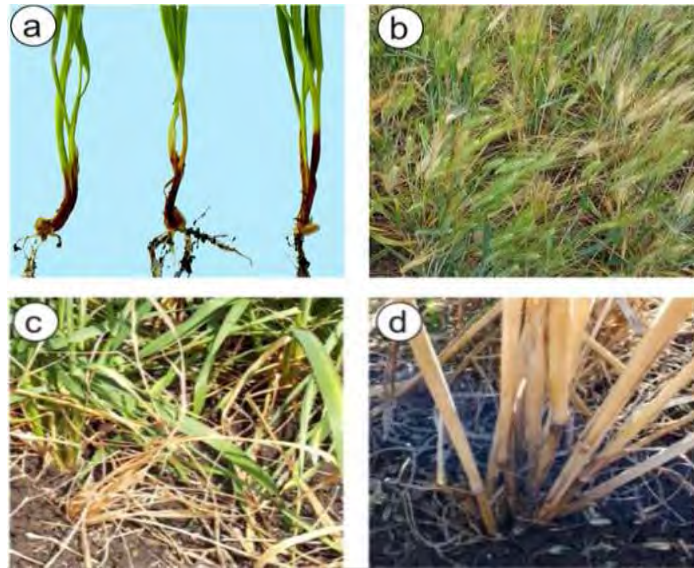


Figure 5. Symptômes de la pourriture du collet, (a) brunissement de la partie basale des tiges ; (b) formation des épis blancs bien visibles à la fin de la saison ; (c) mort précoce des plantules ; (d) décoloration brune de la couronne, des entre-nœuds et des feuilles basales (Alahmad et *al.*, 2018).

I.2.1.3. Dégâts

L'incidence et la gravité de la pourriture du collet sont négativement corrélées avec le rendement en grains, nombre de grains par épi, poids de mille grains, hauteur des talles et le poids de la paille. Une estimation des pertes de rendement dans le nord-ouest des États-Unis a indiqué que cette maladie peut causer jusqu'à 35% de réduction du rendement en grains de blé sous les niveaux naturels d'inoculum (Smiley et *al.*, 2005). Murray et Brennan, (2009) rapportent qu'en Australie, la pourriture du collet causée par *F. pseudograminearum* peut entraîner régulièrement une perte de rendement de 10% (Kazan et Gardiner, 2018). Smith et *al.* (2019) ont montré que la salinité du sol aggrave les dégâts causés par la pourriture du collet.

I.2.1.4. Epidémiologie et développement de la maladie

Les facteurs clés dans le développement de la pourriture du collet sont la culture précédente, la gestion des résidus, la fertilisation azotée, la densité des plants et les conditions environnementales. Cette maladie est sévère lorsque le blé est cultivé dans les zones chaudes, où la plante hôte est plus sujette au stress hydrique, les conditions de sécheresse augmentent la susceptibilité de la plante plutôt que la virulence du champignon (Sherm et *al.*, 2013).

Inoculum : Les agents pathogènes se conservent dans les résidus de culture sous forme de mycélium, ou sous forme de spores asexuées (chlamydospores, macroconidies, microconidies) ou sexuées (ascospores) mais la propagule infectieuse dominante sur le terrain

n'est pas connue. Le chaume de la récolte de l'année précédente est à l'origine de l'inoculum (Kazan et Gardiner, 2018). *Fusarium pseudograminearum* peut survivre dans les chaumes de blé plus de 3 ans (Burgess, 2014). Les plantes hôtes (*Agrostis*, *Bromus*, *Medicago*, *Festuca*...), peuvent également jouer le rôle de réservoir de *Fusarium* sans présenter de symptômes visibles (Champeil et al., 2004 ; Alahmad et al., 2018).

Pénétration: Pour pénétrer, les agents pathogènes possèdent plusieurs mécanismes leurs permettant d'affranchir les barrières de la plante hôte. Wang et al. (2017) montrent que La colonisation du tissu de blé par *F. pseudograminearum* est réalisée par la formation d'un appressorium cloisonné et la génération d'une cheville de pénétration pour percer les cellules internes de la gaine foliaire. Knight et Sutherland (2013 ; 2016) ont rapporté que *F. pseudograminearum* pénètre fréquemment les tissus par les stomates. Les facteurs de virulence de *Fusarium* sont la production de mycotoxines (comme le DON) et la production des enzymes de dégradation de la paroi cellulaire (CWDE) telles que les xylanases, les cellulases et les pectinases (Tini et al., 2019). Ces enzymes jouent un rôle crucial dans les processus de colonisation et d'établissement de la maladie. Les CWDE sont impliqués dans la modification de la structure des parois cellulaires, augmentant l'accessibilité des composants de la paroi cellulaire et leur dégradation par d'autres enzymes, ce qui permet le succès des étapes de l'infection et de propagation du mycélium du champignon dans les tissus internes de la plante hôte (Dehghanpour-Farashah et al., 2019a). À l'aide d'un mutant ne produisant pas de DON chez *F. pseudograminearum*, il a été montré que le DON joue un rôle important dans la virulence dans le cas de la pourriture du collet (Powell et al., 2017).

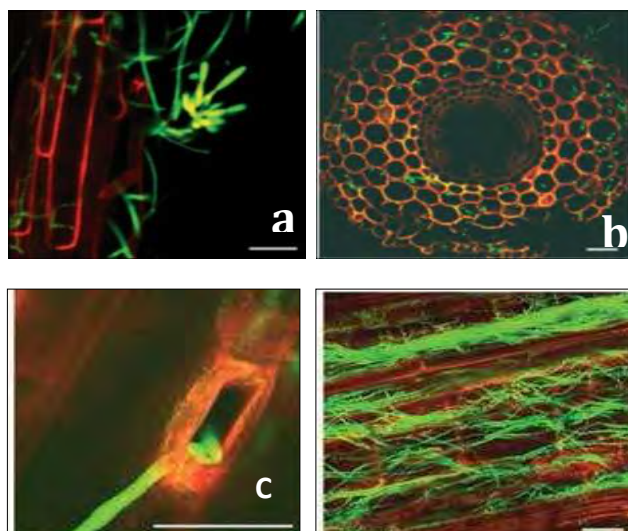


Figure 6. Images microscopiques (microscope confocal à balayage laser) de développement de *Fusarium culmorum* sur les racines primaires de blé cv. Genio. (a) branche de conidiophores dans la zone inoculée. (b) invasion hyphale de la lumière de cellules du cortex dans les tissus non inoculés, (c) tentative de pénétration du champignon par des stomates au niveau de la feuille, (d) hyphes autour du point d'inoculation dans la feuille (Beccari et al., 2011).

Progression de l'agent pathogène : Lorsque la graine germe, le champignon pénètre à travers les lésions qui se forment lors de l'émergence de la racine primaire, comme, il peut pénétrer à travers les stomates (Fig. 6c) au niveau du point d'insertion de la gaine basale de la feuille. Les agents pathogènes commencent à coloniser le blé en progressant à travers les feuilles des gaines de la base de la tige (Beccari et al., 2011 ; Knight & Sutherland, 2016). Ensuite, ils entrent dans la tige via le point d'attache des gaines foliaires au chaume (Covarelli et al., 2012). Par la suite, les agents pathogènes colonisent les tissus parenchymateux de la tige par croissance intercellulaire et intracellulaire (Mudge et al., 2006 ; Covarelli et al., 2012). La colonisation suit, initialement, une voie intercellulaire apoplastique entre les cellules de l'épiderme et du cortex ; par la suite, le champignon progresse de manière intra-cellulaire dans la symplaste pour achever la colonisation des tissus (Beccari et al., 2011; Covarelli et al., 2012). Le champignon peut se développer plus loin, bien qu'il soit généralement limité aux premiers nœuds basaux (Fig. 6). Le brunissement basal peut se produire avant la présence du champignon dans ces parties, en raison de la réponse de la plante à l'infection (Beccari et al., 2011 ;Covarelli et al., 2012). Knight & Sutherland (2016 ; 2017) ont également révélé la capacité de *F. pseudograminearum* à coloniser les tissus vasculaires. Le champignon bloque les tissus vasculaires et restreint à la fois la translocation de l'eau et des nutriments au sein de la plante, ce qui peut potentiellement contribuer à la formation des épis blancs (Knight et Sutherland, 2016 ; Kazan et Gardiner, 2018). Beccari et al. (2018) ont montré que *F. pseudograminearum*, *F. culmorum* et *F. graminearum*, suivent un schéma similaire de progression des symptômes, de colonisation fongique et de translocation de DON après une infection de la base de la tige et les différences notées étaient principalement attribuables à l'agressivité des souches.

Risque de la translocation du DON aux épis: les chercheurs qui ont étudié la translocation systémique de DON aux épis à la suite d'infections dans les bases des tiges, ont révélé la présence de cette mycotoxine dans les épis y compris les grains, mais n'ont pas signalé la présence du champignon au niveau des épis (Covarelli et al., 2012 ; Winter et al., 2013 ; Moretti et al., 2014 ; Beccari et al., 2018). Cependant de rares études ont montré la présence de la mycotoxine et du champignon au niveau des épis après inoculation des bases des tiges (Mudge et al., 2006 ; Poels et al., 2006). Toutes ces études montrent que l'infection à la base de plant (pourriture du collet) peut être considérée comme une source supplémentaire potentielle de contamination par le DON en grains. Winter et al. (2013) ont démontré que cette mycotoxine peut être transportée dans la phase aqueuse via le flux de transpiration dans les vaisseaux du xylème. Cependant, les faibles quantités de DON détectées dans les tissus de l'épi suggèrent que la pourriture du collet pose très peu de menaces à la contamination des graines, ces auteurs ont

décrit que le transport vasculaire du DON du pédoncule au grain a été interrompu par une barrière entre le grain et le rachis (Beccarri et *al.*, 2018).

1.2.1.5. Interaction *Fusarium*-blé lors de la pourriture du collet

L'interaction entre les espèces de *Fusarium* et le blé est l'un des pathosystèmes les plus étudiés et les plus importants en phytopathologie (Dean et *al.*, 2012). La dynamique de l'infection fongique semble être quelque peu similaire pour la pourriture du collet et la fusariose de l'épi. Le champignon présente deux phases : une phase sans symptômes biotrophique dans laquelle le champignon colonise le tissu intercellulaire et une phase symptomatique nécrotrophe où le champignon dégrade le tissu infecté (Brown et *al.*, 2017). Cependant, son mode de vie endophyte prouvé et les dernières découvertes au niveau moléculaire suggèrent une interaction plus complexe qui soulève des questions sur son écologie (Selosse et *al.*, 2018). *F. pseudograminearum* infecte et colonise les tissus hôtes en produisant des toxines, enzymes de dégradation de la paroi cellulaire, enzymes ciblant la défense et des effecteurs fongiques. La plante hôte se défend contre les attaques des pathogènes en produisant des phytoalexines, des protéines liées à la pathogénèse, des hormones de défense et des protéines impliquées dans la détoxification des toxines (Fig. 7 ; Kazan et Gardiner, 2018).

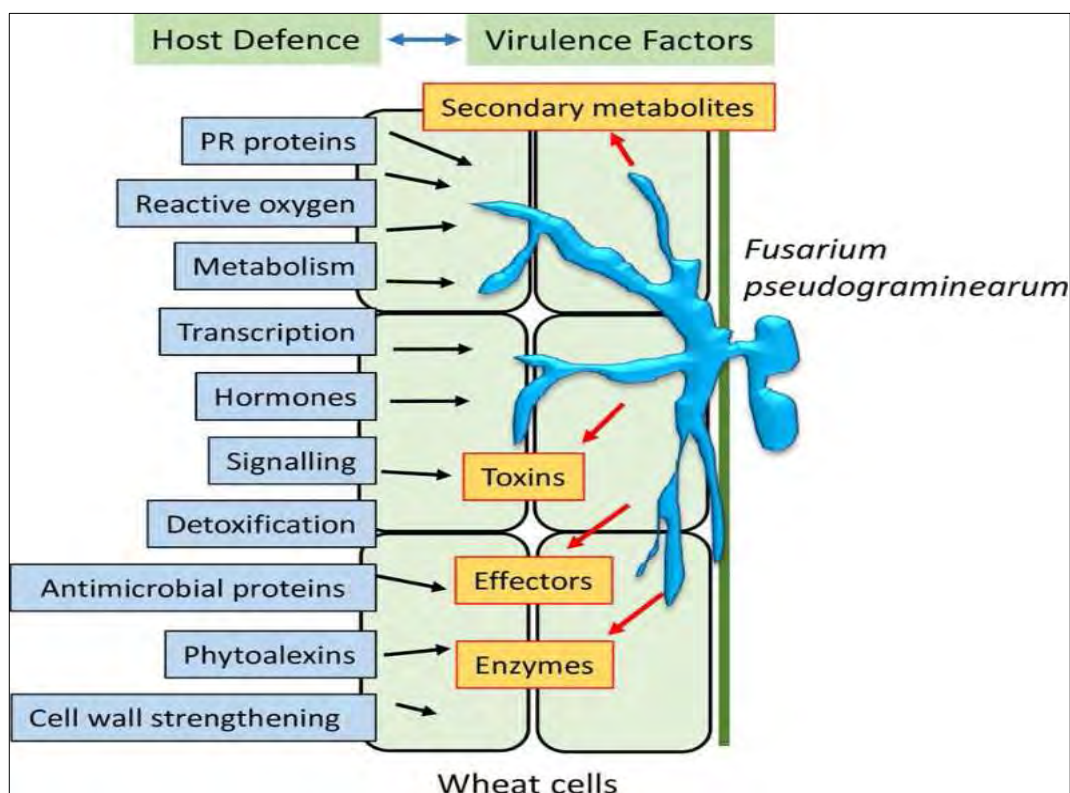


Figure 7. Bases moléculaires de l'interaction céréale hôte-*Fusarium pseudograminearum*. Mécanismes de pathogénicité de *F. pseudograminearum* (cases orange), et mécanismes de défense (cases bleues) de la plante hôte (Kazan et Gardiner, 2018)

I.2.1.6. Méthodes de lutte contre la pourriture du collet

I.2.1.6.1. Pratiques culturales

L'incorporation des résidus de culture dans le sol peut considérablement réduire les niveaux d'inoculum. Cependant, cette pratique peut influencer négativement les rendements céréaliers dans les régions sèches en augmentant l'évaporation de l'eau du sol et l'élimination de l'humidité qui serait autrement disponible pour la culture, en particulier pendant les premiers stades de développement (Kazan et Gardiner, 2018). Petronaitis et *al.* (2018) ont utilisé les radiations micro-ondes pour traiter les résidus de cultures et ils ont constaté une nette réduction de la survie de *F. pseudograminearum* dans les chaumes de blé dur surtout quand ces derniers se retrouvent dans un sol humide. Une exposition de 30s aux radiations micro-ondes a éradiqué le champignon des tissus de l'hôte.

La rotation des céréales avec des cultures non hôtes comme le pois chiche, la fève, le haricot et autres constitue un moyen efficace pour la réduction de la quantité d'inoculum dans le sol (Evans et *al.*, 2010). Une modélisation de l'incidence de la maladie sur 5 ans de culture dans différents plans de rotation ont révélé que l'incidence peut être réduite à 25–30% sur une période de rotation de 2 ans avec le pois chiche et 12% pour 3 ans de rotation avec du sorgho contre 60% d'incidence lors de la culture successive du blé (Backhouse, 2014).

Une autre stratégie utilisée pour la gestion de la pourriture du collet est le semis interligne où les graines nouvellement plantées sont placées entre deux lignes de la récolte précédente. Cette pratique culturale aide à prévenir l'infection du collet en évitant le contact entre les parties inférieures des plants de la nouvelle culture et les chaumes infectés. La diminution de l'infection est due à un contact physique moins direct et une expression pathogène réduite. Verrell et *al.* (2009) ont montré que le semis entre les rangs augmentait le rendement de 9% par rapport au semis sur les mêmes rangées de l'année précédente et a réduit également l'incidence de la maladie (Verrell et *al.*, 2017). Simpfendorfer et *al.* (2012) ont également signalé des avantages du semis entre les rangs avec une réduction de 50% de l'incidence de la maladie.

I.2.1.6.1. Lutte biologique

Les entomopathogènes fongiques, *Beauveria bassiana* et *Metarhizium brunneum* peuvent favoriser la croissance du blé après leur implantation endophytique, comme ils réduisent le taux d'infection par *F. culmorum* (Jaber, 2018). *Piriformospora indica* a la capacité à protéger le blé contre *F. pseudograminearum* (Dehghanpour-Farashah, et *al.*, 2019b). Allali et *al.* (2019) ont isolé du Sahara algérien une actinobactérie *Nocardioopsis dassonvillei* MB22 qui s'est avérée

efficace contre *Bipolaris sorokiniana* l'agent de la pourriture racinaire du blé et semble promouvoir la croissance des plantes. Les bactéries du genre *Streptomyces* présentent des caractéristiques prometteuses, elles favorisent la croissance des plantes, inhibent la croissance de *Fusarium* spp. et limitent l'accumulation de mycotoxines (Colombo et al., 2019). Dendouga et al. (2016) ont noté une activité antagoniste des isolats de *Trichoderma* vis-à-vis des agents de la pourriture du collet en Algérie.

I.2.1.6.3. Lutte chimique

Le traitement des semences avec des fongicides ou leur application à la base des tiges ne semblent pas fournir suffisamment de protection contre la pourriture du collet (Evans et al., 2010). Cependant, Moya-Elazondo et al. (2016) ont trouvé que le traitement de la semence avec le difénoconazole méfénoxam réduit la gravité de la maladie jusqu'à 50% sous des conditions contrôlées. Akgul et Erkilic (2016) ont testé différents fongicides à base de triazole comme traitement des semences et ont constaté que le tébuconazole était le plus prometteur avec une efficacité de 47,8% pour le contrôle de l'infection par *F. culmorum* dans des conditions sous serre. Ces résultats concordent avec ceux de Balmas et al. (2006) qui ont constaté que le traitement des graines avec du tébuconazole réduit la sévérité de la maladie de 45% par rapport au contrôle non traité. De plus, les applications combinées des agents de lutte biologique et les fongicides semblent offrir une protection supplémentaire contre la maladie (Moya-Elizondo et al., 2016). Il n'est cependant pas clair si ces effets fonctionnent dans des conditions de terrain (Alahmad et al., 2018). L'utilisation de semences saines traitées par des fongicides représente un des moyens de contrôle, mais se limite généralement aux premiers stades de cycle du blé, car les fongicides ne maintiennent pas leur efficacité pour une période plus longue (Balmas et al., 2006 ; Scherm et al., 2013).

I.2.1.6.4. Résistance génétique

Aucun cultivar entièrement résistant à la pourriture du collet n'est actuellement disponible. Une résistance partielle de l'hôte identifiée contre *F. pseudograminearum* se comporte comme un trait quantitatif contrôlé par de nombreux gènes qui ont des effets relativement faibles (Liu et Ogonnaya, 2015). Des QTL conférant une résistance du blé à la pourriture du collet ont été signalés sur 13 des 21 chromosomes possibles du blé hexaploïde. En effet, la résistance à cette maladie n'est pas spécifique à l'espèce pathogène et elle a un effet additif. Il semble aussi que la hauteur des plants et le taux de croissance affectent la gravité de la maladie. La sélection assistée par marqueurs pour la résistance à cette maladie ait été lancée mais les marqueurs disponibles sont tous dérivés de la cartographie QTL, qui ne fournissent qu'une résolution limitée (Liu et Ogonnaya, 2015). Erginbas-Orakci et al. (2018) ont identifié trois

associations de marqueur-trait liées à la résistance à la pourriture du collet causée par *F. culmorum*; deux d'entre eux sur le chromosome 3B et le troisième sur le chromosome 2D.

I.2.2. Données sur la fusariose de l'épi

La fusariose de l'épi (Fusarium Head Blight) est une maladie mondialement répandue qui affecte toutes les céréales « à petits grains », et en particulier le blé et l'orge. Elle a été rapportée pour la première fois en Angleterre en 1884 et en Nebraska (USA) en 1898. Actuellement elle est répandue dans plusieurs pays du monde et elle est plus importante aux États-Unis, au Canada, en Europe, en Asie, et en Amérique du sud (Kaur et al., 2018). En Afrique du nord, cette maladie a été signalée par plusieurs auteurs, en Tunisie (Kammoun et al., 2009 ; Kammoun et al., 2010), et en Algérie (Touati-Hattab et al., 2016 ; Laraba et al., 2017). Depuis le début des années 1990, la fusariose de l'épi est devenue l'une des maladies les plus importantes auxquelles sont confrontés les producteurs de blé. Le problème croissant de cette maladie est probablement dû à l'adoption accrue de pratiques de conservation du sol, à l'expansion de la production de maïs en rotation, à l'utilisation de variétés de blé sensibles et à la variabilité climatique. Le blé dur est connu pour son extrême sensibilité à la fusariose de l'épi (Haile et al., 2019).

I.2.2.1. Agents causaux

La fusariose de l'épi peut être causée par des espèces appartenant à deux genres : le genre *Microdochium*, avec deux espèces connues *M. majus* et *M. nivale* (Glynn et al., 2005) et le genre *Fusarium* qui comprend plusieurs espèces. De nombreuses espèces fusariennes ont été identifiées dont les principales capables d'induire la fusariose de l'épi de blé sont : *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. tricinctum*, *F. poae*, *F. langsethiae*, *F. arthrosporioides*, *F. avenaceum*, *F. sporotrichioides*, *F. equiseti*, *F. crookwellens* et *F. pseudogrammeum* (Xu and Nicholson, 2009, Chettouhi, 2015). Parmi les différentes espèces responsables de la fusariose, *Fusarium graminearum* est considérée comme la plus répandue et la plus importante au monde (Beccarri et al., 2019), ceci a été attribué à sa meilleure adaptation aux conditions environnementales variables (Panwar et al., 2017).

I.2.2.2. Symptomatologie

Les symptômes de la fusariose de l'épi sont aussi diversifiés en fonction de la localisation du point de pénétration du parasite, la maladie sera plus ou moins importante. Le champignon colonise les épillets, produisant des lésions brunes sur les glumes (Janssen et al., 2018). Au sein de l'hôte, les infections à *Fusarium* commencent par des hyphes avançant entre les cellules hôtes vivantes sans provoquer de symptômes visibles de la maladie, rappelant un biotrophe

apoplastique. Cette période prolongée d'infection asymptomatique s'étend sur plus d'un centimètre au-delà des symptômes visibles de la maladie. Le développement ultérieur des symptômes de la maladie derrière le front de l'infection est représenté par le blanchiment du tissu de blé (Figure 8). Cela coïncide avec la mort des cellules de l'épi du blé qui sont entourées des hyphes du champignon et la colonisation intracellulaire de ces cellules végétales mortes, similaire à un pathogène nécrotrophique. Par conséquent, les extrémités du long du continuum de ces deux tissus végétaux (sans et avec des symptômes visibles) infectés spatialement séparés dans le temps sont décrites en fonction de leur aspect macroscopique et sont dénommés asymptomatique ou symptomatique (Fig. 9; Brown *et al.*, 2017).

La maladie se caractérise par une destruction complète de l'intégrité cellulaire des tissus touchés, entraînant la mort cellulaire et la dégradation de la chlorophylle, et les dommages sont principalement accompagnés d'une augmentation transitoire de la transpiration, suivie par la dessiccation des tissus (Bauriegel *et al.*, 2011). Les grains fusariés sont déformés petits et ridés. Ils ont souvent un aspect crayeux, Ropelewska *et al.* (2019) ont montré qu'il y a une forte corrélation entre la texture des grains et la quantité d'ADN de l'agent pathogène au niveau des grains.

I.2.2.3. Dégâts

Les dégâts de la fusariose de l'épi sont quantitatifs et qualitatifs, en effet cette maladie peut induire des pertes de rendement allant de 30 à 70 % (Parry *et al.*, 1995; Pancaldi *et al.*, 2010). Comme elle peut être à l'origine de la contamination des grains par les mycotoxines dont l'ingestion par les animaux et les humains cause des mycotoxicoses (Femenias *et al.*, 2019). Les grains de blé endommagés par la fusariose de l'épi présentent des changements dans leur structure cellulaire et dans la composition des granules de glucide, de protéines et de l'amidon de l'endosperme. Ceci modifie leurs propriétés physiques et chimiques, altérant les caractéristiques de qualité souhaitées pour les produits de boulangerie (Alconado *et al.*, 2019). Ortega *et al.* (2019) ont montré que la présence de *Fusarium* spp. pendant le stockage altère les protéines du gluten affectant ainsi les propriétés de la pâte de blé et par conséquent, une qualité de panification insatisfaisante.

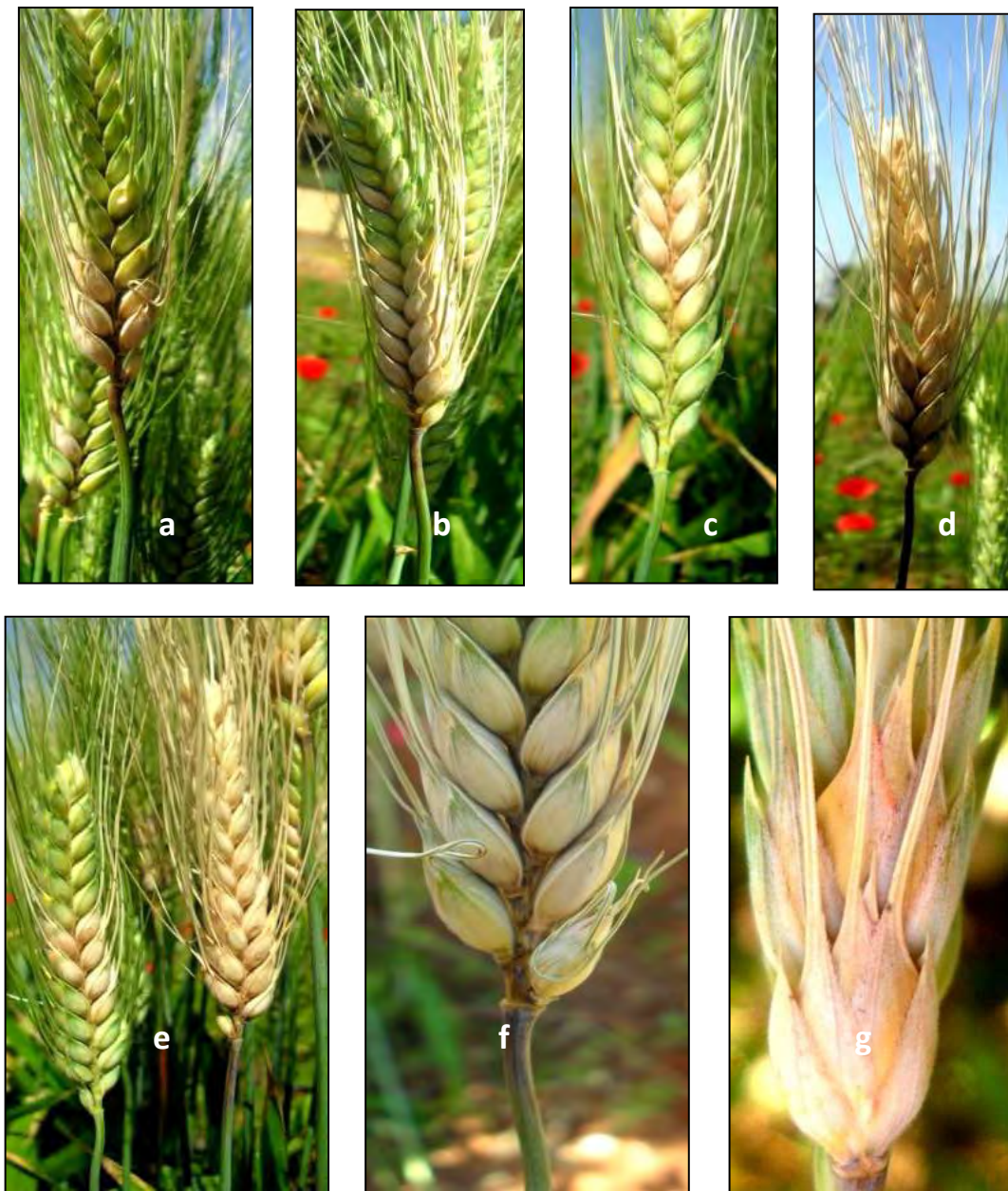


Figure 8. Symptômes observés après l'inoculation des épis du blé par *F. culmorum*. a : début d'attaque sur la partie basale de l'épi, b : attaque plus évoluée de la base de l'épi, c : attaque au milieu de l'épi, d : épi entièrement attaqué, e : deux épis atteints, f : rachis atteint avec une couleur violacée, g : amas de spores orange sur les deux épillets (Abdallah-Nekache, 2013).

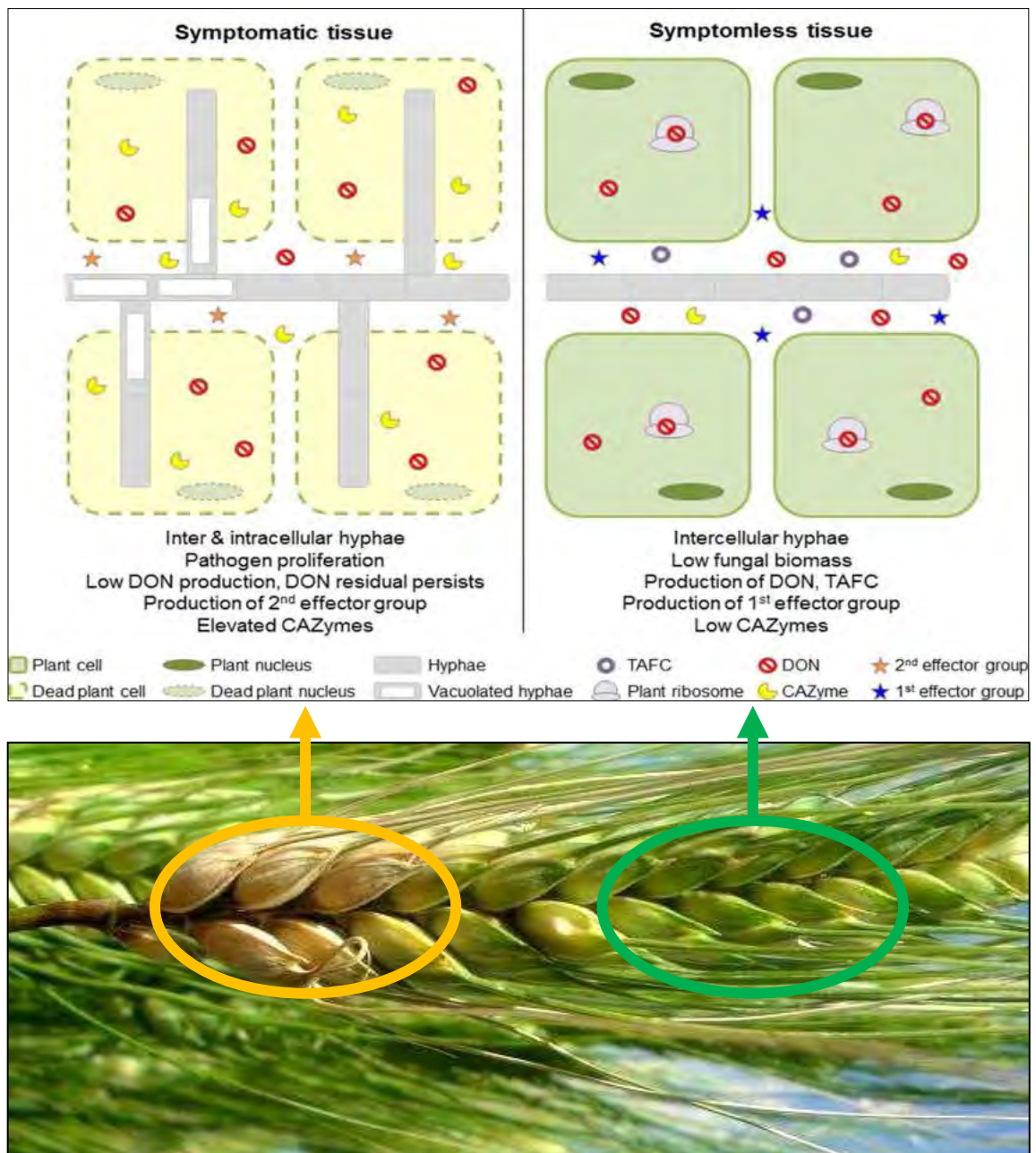


Figure 9. Apparition des symptômes de la fusariose de l'épi : a, un modèle temporel spatial pour l'infection à *Fusarium* du tissu floral du blé. Ce modèle décrit la régulation transcriptionnelle de stratégies de virulence déployées dans les tissus du blé asymptomatique et symptomatique d'une interaction compatible. CAZyme, enzyme actif en glucides; DON, déoxynivalénol; TAFC, triacétylfusarinine C. (Brown et al., 2017) ; b, épi du blé montrant les deux zones symptomatique et asymptomatique (Abdallah-Nekache, 2013).

I.2.2.4. Épidémiologie et développement de la maladie

Le risque d'infection est associé à l'importance de l'inoculum présent sur les résidus de culture, aux conditions environnementales présentes au moment de l'épiaison et de la floraison et à la sensibilité du cultivar choisi.

Inoculum : La fusariose de l'épi a une phase parasitaire initiale lorsque l'agent pathogène est développé sur un tissu fonctionnel et un saprophyte final après la mort des tissus. Bien que les anthères soient clairement les premières parties florales à être infectées, le champignon peut être en mesure de déclencher l'infection à la surface de l'épillet. Les ascospores et les conidies se développent à la surface des plantes infectées ou des résidus d'une manière saprophyte et garantit ainsi la disponibilité d'un inoculum (Guenther et Trail, 2005). De plus certaines mauvaises herbes inféodées aux céréales peuvent héberger le pathogène d'une façon asymptomatique ce qui contribue à l'augmentation du taux de l'inoculum. Suproniene et *al.* (2019) ont isolé *F. graminearum* à partir de 41 espèces végétales, ces isolats peuvent causer la fusariose de l'épi après inoculation artificielle du blé. Les éclaboussures sont le principal moyen d'infection initiale pour la fusariose de l'épi (Osborne et Stein, 2007). Les conidies peuvent être dispersées seulement sur une courte distance à travers le ruissellement de pluie, cependant, les ascospores peuvent être dispersées à des centaines de kilomètres par le vent (Magliano et Kikot, 2013).

Pénétration de l'agent pathogène : Après avoir atterri sur les tissus de la fleur, les spores peuvent coloniser la surface externe des glumes ou pénétrer directement par les stomates, les ouvertures de lemma-paléa et les anthères exposées (Champeil et *al.*, 2004). Les anthères sont des organes riches en nutriments et ont de fortes concentrations de stimulants de croissance tels que la bétaine et la choline qui facilitent l'infection initiale par l'agent pathogène. Si les anthères ne sont que partiellement extrudées, ou coincés entre le paléa et le lemma, ils servent de pont pour faciliter l'infection dans la cavité de fleuron. Cependant, si les anthères sont complètement extrudées, il devient plus difficile pour le pathogène de les coloniser pour infecter d'autres tissus floraux (Xu et *al.*, 2020). Le champignon forme des structures spécialisées telles que les appressoria composées et les coussins d'infection pour pénétrer les bractées florales et les tissus ovariens céréaliers (Boenisch et Schäfer, 2011).

Propagation à l'intérieur de l'hôte : L'infection est plus élevée dans des conditions d'humidité et de température élevées. Initialement, les hyphes fongiques se développent dans l'apoplaste sans provoquer de symptômes visibles. Ils atteignent le rachis et se propagent aux épillets voisins à la fois d'une manière basipète et acropète mais pas à travers le tissu vasculaire (Brown et *al.*, 2010). À mesure que la maladie progresse, des tissus colonisés meurent et des

symptômes apparaissent (Brown et *al.*, 2010). Aux stades ultérieurs de la colonisation, les épillets deviennent roses ou oranges car l'agent pathogène produit du mycélium ou des sporodochies où les conidies sont produites sur le tissu nécrosé. Ces spores peuvent passer l'hiver sur les résidus de récolte, en particulier sur les tissus qui ne se dégradent pas facilement. Les grains infectés agissent donc comme un vecteur de maladie lorsqu'ils sont semés. Celles-ci germent et peuvent développer une pourriture du collet (Scherf et *al.*, 2013).

1.2.2.5. Interaction *Fusarium*-blé lors de la fusariose de l'épi

L'agressivité de *Fusarium* spp. pourrait être attribuée à différents mécanismes, tels que la production et la libération d'enzymes et de protéases extracellulaires dégradant les parois des cellules végétales qui sont cruciales dans les processus de colonisation fongique et d'établissement des maladies. Une fois l'infection établie, des mycotoxines sont libérées et elles interfèrent avec le métabolisme de l'hôte (Alconado et *al.*, 2019). Chez le blé, *F. graminearum* infecte les épillets et colonise tout l'épi en se développant à travers le nœud du rachis au bas de chaque épillet. Sans la mycotoxine désoxynivalénol (DON), l'agent pathogène ne peut pas pénétrer le nœud du rachis et le blé est capable de résister à la colonisation (Bönnighausen et *al.*, 2019). Les métabolites du blé contribuant à la résistance ont été classés en sept groupes: phénylpropanoïdes (plus de 50% des composés ont été annotés en tant que tels), acides gras, terpénoïdes, acides aminés et dérivés, glucides, amines et polyamines et autres (Gauthier et *al.*, 2015). La résistance à la fusariose de l'épi associée à l'épaississement de la paroi cellulaire secondaire est le résultat de l'accumulation de flavonoïdes et d'autres composés (Fig. 10 ; Shah et *al.*, 2017).

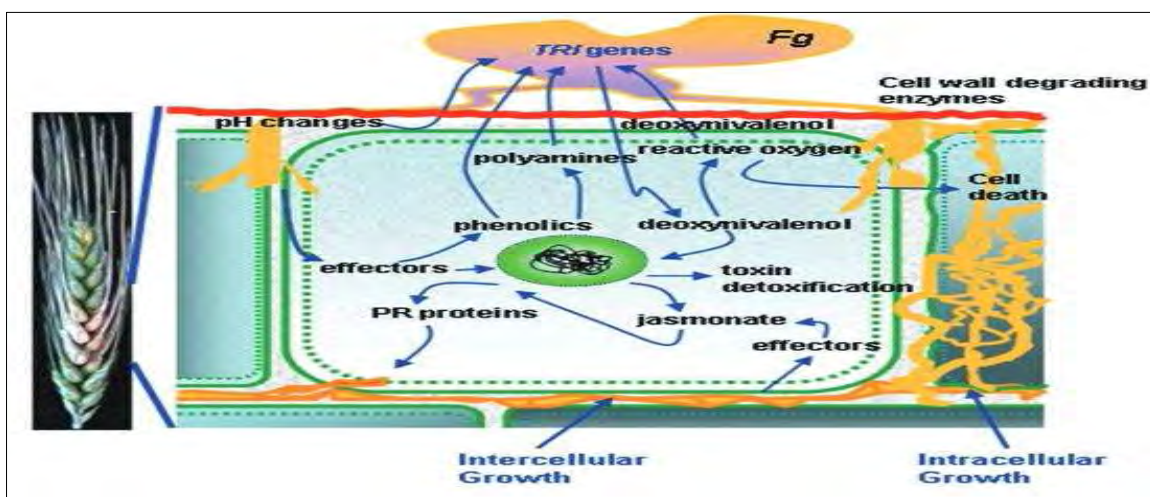


Figure 10. Un modèle simplifié d'interaction *Fusarium graminearum* – blé. Le champignon produit des effecteurs, des enzymes dégradant la paroi cellulaire et des toxines pour coloniser le blé. La plante répond à l'infection en produisant des hormones liées à la défense, des protéines

liées à la pathogénèse (PR), de l'oxygène réactif et des protéines impliquées dans la détoxification de la cellulite. (Kazan et *al.*, 2012)

I.2.2.6. Lutte contre la fusariose de l'épi

Différentes stratégies de lutte sont adoptées notamment culturelles, biologiques, génétiques et chimiques.

I.2.2.6.1. Pratiques culturelles

La gestion de cette maladie repose sur des pratiques agricoles qui réduisent la quantité initiale de l'inoculum. Les rotations des cultures avec des cultures non céréalières (Qiu et *al.*, 2016). Brûlage des chaumes (interdit dans l'UE pour les cultures céréalières) ou le renouvellement du sol par le labour peut également être utilisé. Ces opérations de travail du sol peuvent réduire l'incidence et la gravité de la maladie ainsi que les niveaux de mycotoxines de manière significative (Scala et *al.*, 2016). Cependant, ils peuvent également entraîner des pertes de paramètres de qualité du sol tels que la structure, la porosité et l'humidité. Yang et *al.* (2010) rapportent qu'une diminution de la fertilisation azotée s'est également avérée augmenter l'infection à *Fusarium* dans l'orge, ce qui suggère qu'une fertilisation azotée équilibrée peut être un moyen possible de minimiser les risques de la fusariose de l'épi (Rojas, 2018).

I.2.2.6.2. Lutte biologique

Plusieurs agents de lutte biologique ont été décrits comme efficaces contre la fusariose de l'épi. Parmi les agents les plus intéressants, *Clonostachys rosea*, en raison de ses résultats validés sur le terrain et qui sont similaires à ceux obtenus avec le tébuconazole (Xue et *al.*, 2014). Yobo et *al.* (2019) proposent d'intégrer des espèces de *Trichoderma* avec des fongicides. De même, le traitement de la semence avec le champignon endophyte racinaire *Piriformospora indica* réduit les symptômes de la pourriture du collet sous des conditions de serre et réduit également l'incidence et la sévérité de la fusariose de l'épi jusqu'à 70% chez le blé lorsqu'il est inoculé dans le sol au moment du semis (Rabiey et *al.*, 2015 ; Rabiey et Shaw, 2016). Des souches bactériennes telles que *Bacillus amyloliquefaciens* FLN13 et *Lactobacillus plantarum* SLG17 ont réduit l'indice de la maladie jusqu'à 50% lorsqu'elles sont inoculées simultanément à la floraison (Baffoni et *al.*, 2015). Des agents de lutte biologique comme *Streptomyces* sp. peuvent également être appliqués aux débris des cultures pour réduire la quantité de l'inoculum et du DON (Palazzini et *al.*, 2017).

Il a été montré que des endophytes appartenant à *Paenibacillus polymyxa* produisent des fusaridines qui contribuent à l'activité antifongique contre *F. graminearum*. La coexistence de ces bactéries avec *F. graminearum* dans les grains pendant le stockage à température ambiante a

entraîné une diminution significative de l'accumulation de DON (Mousa et *al.*, 2015 ; Venkatesh et Keller, 2019). De plus, Perczak et *al.* (2019) ont utilisé des huiles essentielles de certaines plantes et ils ont trouvé des taux de 99.99% d'inhibition de la croissance de *F. culmorum* et de *F. graminearum*, et jusqu'à 100% de réduction de la concentration des trichothécènes B. Malgré des résultats initialement prometteurs, la plupart des agents de lutte biologique potentiels qui sont pulvérisés sur les épis ou appliqués sur les graines manquent de consistance sur le terrain ou ont des propriétés industrielles limitées (Rojas et *al.*, 2018).

I.2.2.6.3. Lutte chimique

Les fongicides sont largement utilisés mais ils fournissent une protection limitée de la maladie. Un certain nombre de fongicides y compris le carbendazime, l'hexaconazole, le mancozèbe, le bénomyl, le prochloraz, le propiconazole, le tébuconazole et le triadiménol sont utiles pour le contrôle de la fusariose de l'épi. Cependant, aucun de ces produits chimiques n'a entraîné un contrôle complet de la maladie. De plus Il existe une forte possibilité de développement d'une résistance aux fongicides due à une utilisation excessive des mêmes types de fongicides. En favorisant l'adoption de fongicides, l'industrie chimique devrait fabriquer des produits avec des effets secondaires minimales (Dweba et *al.*, 2017).

I.2.2.6.4. Résistance génétique

Cinq types de résistance à la fusariose de l'épi ont été décrits chez le blé mais seulement les trois premiers types sont utilisés par les sélectionneurs. Le type I correspond à la résistance à l'infection initiale des épillets (pénétration) ; le type II est la résistance à la propagation / extension du champignon entre les différents épillets ; le type III est la résistance à l'accumulation des mycotoxines ; le type IV est la résistance à l'infection des grains et le type V est la tolérance. Malgré toutes les recherches dans ce domaine, aucun cultivar du blé n'a été identifié et publié avec une résistance ou une immunité totale à la fusariose de l'épi. C'est en partie parce que la résistance à la fusariose est un trait quantitatif qui est contrôlé par de nombreux gènes dont l'héritage quantitatif conduit à un gain génétique lent par unité de temps pendant la reproduction (Dweba et *al.*, 2017).

Plus de 100 QTL ont été identifiés comme contrôlant la résistance du blé à la fusariose avec des niveaux de signification variables. Selon Brar et *al.* (2019) sur plus de 100 QTL identifiés pour leur résistance à cette maladie, seuls sept ont été officiellement désignés comme gènes mendéliés: Fhb1 dérivé de Sumai 3 (Cuthbert et *al.*, 2006), Fhb2 de Sumai 3 (Cuthbert et *al.*, 2007), Fhb3 de *Leymus racemosus* (Qi et *al.*, 2008), Fhb4 de Wangshuibai (Xue et *al.*, 2010), Fhb5 de Wangshuibai et Sumai3 (Xue et *al.*, 2011), Fhb6 d'*Elymus tsukushiensis* (Cainong et *al.*, 2015) et Fhb7 de *Thinopyrum ponticum* (Guo et *al.*, 2015). Récemment, Su et *al.* (2019) ont

montré que le gène TaHRC code pour une protéine nucléaire conférant une sensibilité à la fusariose de l'épi et qu'une délétion au niveau de ce gène entraîne une résistance à cette maladie. La résistance du blé à la fusariose de l'épi est un domaine de recherche très prometteur, plusieurs travaux dans le monde ont été publiés à ce sujet (Hu et *al.*, 2019, Ma et *al.*, 2019 ; Gatti et *al.*, 2019; Zhu et *al.*, 2019 ;Da Silva et *al.*, 2019).

I.2.2.6.5. Lutte intégrée

Récemment, plusieurs auteurs proposent d'intégrer les fongicides avec les agents de lutte biologique (Schisler et *al.*, 2015 ; Yobo et *al.*, 2019) ou avec les méthodes génétiques (Paul et *al.*, 2019). Les méthodes génétiques, impliquant la sélection pour la résistance, lorsqu'elles sont intégrées aux autres méthodes de contrôle mentionnées peuvent être une solution potentielle de contrôle durable de cette maladie (Dweba et *al.*, 2017).

I.2.3. Relation entre la pourriture du collet et la fusariose de l'épi

La fusariose de l'épi et la pourriture du collet sont deux maladies causées par des espèces appartenant aux mêmes genres *Fusarium* et *Microdochium*. Mondialement, l'espèce la plus importante pour la fusariose de l'épi est *F. graminearum* et l'espèce la plus étudiée pour la pourriture du collet est *F. pseudograminearum*, tandis que *F. culmorum* est important pour les deux maladies. Les autres espèces semblent jouer un rôle moins important. La plupart de ces espèces peuvent causer la pourriture du collet et la fusariose de l'épi si les conditions sont réunies (pathogène virulent, hôte sensible et conditions environnementales favorables). De plus, la pourriture du collet peut contribuer à l'accumulation des mycotoxines au niveau des épis (Beccari et *al.*, 2018b). Le choix des variétés résistantes envers ces deux maladies est délicat, Li et *al.* (2010) ont montré que les loci conférant une résistance à la fusariose de l'épi et à la pourriture du collet sont situés sur des chromosomes différents dans le génome du blé. Ainsi, bien qu'il soit possible que les gènes affectant les deux maladies puissent exister dans d'autres cultivars ou dans des conditions différentes, un dépistage distinct semble être nécessaire pour identifier les sources de résistance à la pourriture du collet et la fusariose de l'épi .

I.3. Le genre *Fusarium*

I.3.1. Historique et taxonomie

Fusarium est un genre de champignons filamenteux cosmopolites ascomycètes (Sordariomycetes: Hypocreales: Nectriaceae) qui comprend de nombreux pathogènes des végétaux producteurs de toxines (Ma et *al.*, 2013). Les premières des classifications

taxonomiques ont été établies sur la base des caractères morphologiques. Le concept générique de *Fusarium* a été étudié pour la première fois par Link avec le critère principal étant la présence des conidies distinctes en forme de banane. Wollenweber & Reinking (1935) ont fondé un système de classification basé sur 16 sections, 65 espèces et 77 variétés et formes sous-spécifiques. Dans les années 40 et 50, Snyder et Hansen ont réduit le nombre des espèces du genre à neuf. Gordon a considéré les téléomorphes dans ses descriptions. Messiaen et Cassini ont développé un système basé sur le modèle de Snyder et Hansen mais, ils ont utilisé des variétés botaniques plutôt que, cultivars au niveau sous-spécifique. Le prochain développement significatif dans la taxonomie de *Fusarium* a été fait par Booth qui a publié en 1971 « The Genus *Fusarium* » avec une description des espèces sous forme monographique. En 1983, Nelson, Toussoun et Marasas ont publié un manuel d'identification de *Fusarium* (Leslie et Summerell, 2006). Leslie et Summerell (2006) ont intégré les concepts morphologiques, biologiques et phylogéniques des espèces et ont publié «The *Fusarium* Laboratory Manual» en décrivant 70 espèces. Plus tard, grâce aux outils moléculaires et bioinformatiques, les espèces ont été classées à l'aide d'analyses phylogénétiques. En 2011, Watanabe et al. ont proposé une nouvelle classification basée sur la distribution des espèces du genre *Fusarium* dans sept clades (Stępień et al., 2019). Aoki et al. (2014) ont classé les espèces de *Fusarium* en quatre complexes basés sur l'analyse des séquences de la sous-unité ARN polymérase II (RPB2), complexe d'espèces *Fusarium fujikuroi* (FFSC), *Fusarium graminearum* (FGSC), *Fusarium oxysporum* (FOSC) et *Fusarium solani* (FSSC)), mais certaines espèces bien connues n'étaient pas attribuées à l'un de ces complexes. Laurance et al. (2015) ont décrit 16 complexes d'espèces arrangés en clades phylogénétiques basés sur l'analyse des séquences RPB1 et RPB2. Selon Summerell (2019), il existe actuellement 23 complexes d'espèces dans le genre *Fusarium*.

I.3.2. Cycle de vie

Certaines espèces de *Fusarium* produisent des spores méiotiques (sexuelles) et jusqu'à trois types de spores mitotiques (asexuées). Cependant, tous les types de spores ne sont pas connus pour être produits par toutes les espèces, et moins de 20% des *Fusaria* ont un cycle sexuel connu. Les ascospores sont produites par groupes de huit dans l'asque contenu dans le périthèce. Les espèces homothalliques sont capables de s'auto-féconder, produisant une descendance d'ascospores clonales (apomixie); les espèces hétérothalliques sont autostériles (Fig. 11) . Trois formes principales des spores mitotiques (asexuées) peuvent être produites selon l'espèce : les macroconidies, les microconidies et les chlamydospores (Ma et al., 2013).

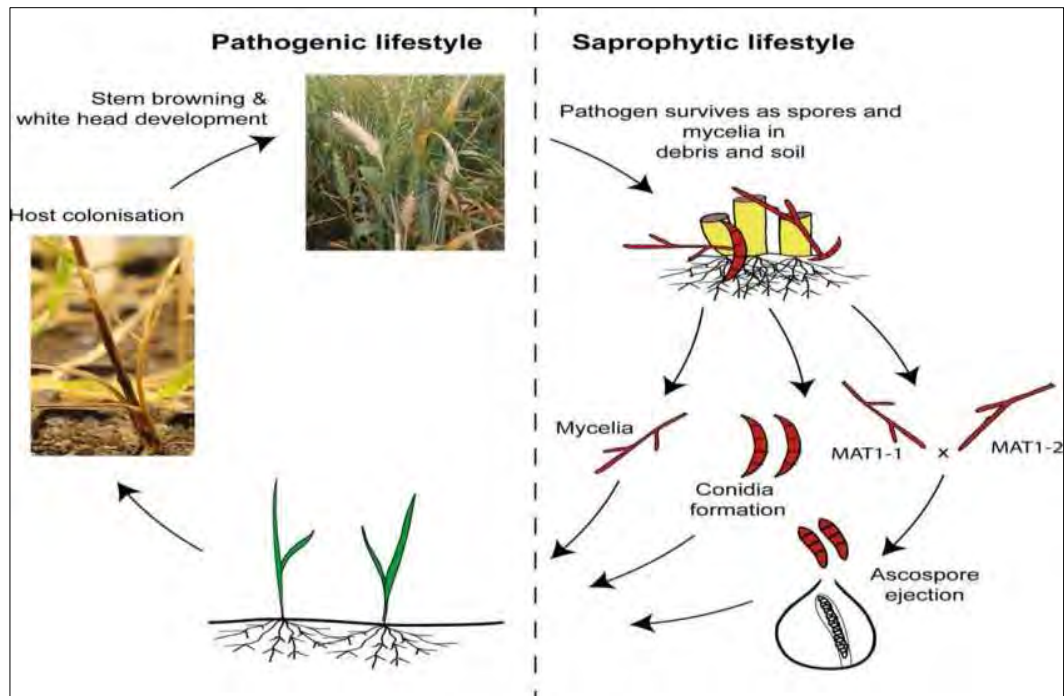


Figure 11. Cycle de vie de *Fusarium pseudograminearum* causant la pourriture du collet dans les cultures céréalières. Le pathogène survit de façon saprophyte sous forme de chlamydospores et mycélium dans les débris végétaux, quand les plantules sont colonisées, ils développent des symptômes de brunissement à la base de la tige. Ces symptômes se propagent aux tiges, avec une formation potentielle des épis blancs pendant le remplissage du grain. *F. pseudograminearum* peut également subir un cycle sexuel sur les débris végétaux pour produire des structures sexuelles appelées périthèces contenant des ascospores qui sont rejetées dans l'environnement (Kazan et Gardiner, 2018).

I.3.3. Identification des espèces de *Fusarium*

I.3.3.1. Identification morphologique

L'identification morphologique des *Fusaria* repose sur plusieurs critères dont les plus importants sont liés aux macroconidies, microconidies et aux chlamydospores. Les caractères des macroconidies utilisés sont la forme, le nombre de cloisons, la taille ainsi que la forme des cellules basale et apicale. Les microconidies ne sont pas produites par toutes les espèces de *Fusarium* donc leur présence ou absence est un critère important d'identification, en plus de leur forme, leur taille, leur cellule conidiogène (monophialide ou polyphialide) ainsi que leur arrangement sur et autour de cette cellule conidiogène. Les chlamydospores sont aussi caractérisées par leur absence ou présence ainsi que la manière dont elles sont formées (individuelle, en chaîne...etc). D'autres caractères considérés comme secondaires sont adoptés : la pigmentation, la vitesse de croissance et les métabolites secondaires sécrétés (Leslie et Summerell, 2006). L'obtention des caractéristiques d'un isolat par des études morphologiques permet au moins une affectation à une section spécifique d'espèces qui partagent des caractères

morphologiques communs. Cependant, cette identification n'est pas toujours précise et ne permet pas la distinction entre les espèces morphologiquement identiques telles que *F. pseudograminearum* et *F. graminearum* et autres. Pour cela, le recours aux outils moléculaire est nécessaire pour distinguer entre ces espèces et pour donner une identification précise pour chaque isolat.

I.3.3.2. Identification moléculaire

L'application des méthodes moléculaires permet de rendre plus facile l'identification moins ambiguë ainsi que la quantification des espèces d'intérêt. Diverses méthodes d'identification moléculaire ont été appliquées pour étudier les espèces de *Fusarium*, comme la PCR conventionnelle par l'utilisation des amorces spécifiques, la PCR en temps réel et le séquençage. Certains des gènes les plus fréquemment séquencés pour l'identification de *Fusarium* incluent le facteur d'élongation et de translocation (*tef-1 α*), l'ARN polymérase 1 et 2 (RPB1 et RPB2), β -tubuline (*tub*) et les histones (*his*). La séquence qui en résulte est ensuite comparée à des séquences similaires de souches d'espèces apparentées. Les limites de cette analyse ont été le coût et la disponibilité des données des séquences de souches de référence. Actuellement, il existe deux bases de données spécifiques pour *Fusarium* : Fusarium ID et Fusarium MLST, en plus des séquences de *Fusarium* disponibles à GenBank (Summerell, 2019).

I.3.4. Les principales espèces du complexe Fusarien chez le blé

F. graminearum : c'est l'espèce la plus dominante sur céréale dans le monde, son téléomorphe est *Gibberella zeae*. Sa forme asexuée constitue la grande partie de son cycle biologique. Son génome séquencé et la capacité à réaliser des analyses fonctionnelles chez ce champignon en ont fait un modèle d'étude pour les champignons mycotoxinogènes (Chetouhi, 2015). Cette morpho-espèce comprend au moins 16 espèces biogéographiquement structurées, phylogénétiquement distinctes. Jusqu'à présent, 15 des 16 espèces ont été officiellement décrites (Wang et al. 2019).

F. pseudograminearum : cette espèce a été considérée pendant longtemps autant que *F. graminearum* groupe 1. Aoki et O'Donnell (1999a) ont analysé les informations de la séquence de β -tubuline des isolats du groupe 1 et du groupe 2 de *F. graminearum* entraînant un reclassement du groupe 1 en tant que nouvelle espèce *F. pseudograminearum*. Bien que des similitudes morphologiques visibles entre ces espèces ne fassent pas le reflet de leur relation génétique précise, des niveaux élevés d'affinité mitochondriale reflètent leurs similitudes culturelles et morphologiques. Aoki et O'Donnell (1999b) en faisant de recombinaison pour 18 isolats de *F. pseudograminearum* ont décrit *Gibberella coronicola* sp. nov. comme un téléomorphe

de *F. pseudograminearum* (Alahmad et al., 2018). Le téléomorphe, *G. coronicola* aurait été observé rarement dans des conditions de terrain (Bentley et al., 2008).

F. culmorum : C'est un pathogène important du blé, il se reproduit de manière asexuée au moyen de conidies, qui constituent le principal mode de dispersion. Sa forme sexuée est inconnue (Wagacha et Muthomi, 2007).

Les espèces du genre Microdochium : Les espèces du genre *Microdochium* du complexe de la fusariose de blé ont été initialement identifiées comme étant des espèces de *Fusarium* sur leurs caractéristiques conidiales (Wollenweber et Reinking, 1935) et ont ensuite été différenciées de *Fusarium* sur la base de la morphologie (Gams et Muller, 1980). L'espèce *Microdochium* a ensuite été divisée en deux variétés (var.) *M. nivale* var. *nivale* (Fries) Samuels et Hallet et *M. nivale* var. *majus* (Wollenw.) Samuels et Hallet (Gams et Muller, 1980; Gerlach et Nirenberg, 1982). Basée sur l'analyse de la séquences partielle du gène codant pour le facteur d'élongation de la transcription (TEF - 1 α) Glynn et al. (2005), ont décrit *M. nivale* et *M. majus* comme des espèces distinctes. Les formes sexuelles des espèces de *Microdochium* appartiennent au genre *Monographella* (*Amphisphaeriaceae*, *Xylariales*).

1.5. Les fusariotoxines

1.5.1. Généralités

Les fusariotoxines sont des métabolites secondaires produits par les espèces de *Fusarium* pendant leur croissance et leur stockage, ces molécules sont dotées d'une stabilité chimique et thermique. En outre, ces mycotoxines peuvent nuire à la santé humaine et animale en consommant des aliments contaminés (Madhysatha et Marquardt, 2019). Les mycotoxines les plus importantes du blé sont les trichothécènes (TCT), elles sont classées en quatre groupes : A, B, C et D, ce sont des métabolites secondaires de nature sesquiterpénique. Ces métabolites partagent tous le même squelette tricyclique et diffèrent par la présence de motifs d'oxygénation, d'acétylation ou d'acylation de ce squelette (Pasquet, 2014).

Les trichothécènes sont le principal groupe de mycotoxines produit par diverses espèces phytopathogènes de *Fusarium*. La contamination par ces toxines est principalement causée par la contamination des céréales avant la récolte par *Fusarium* spp. Mais peut également se produire pendant le stockage si la culture n'est pas séchée correctement. Du fait que les mycotoxines sont très stables à la chaleur (au-dessus de 100°C) et ne peuvent pas être détruites en profondeur par le traitement thermique conventionnel, la toxine peut également se trouver

dans le pain, les produits de boulangerie, la farine et ses produits (Golge and Kabak, 2020), dans certains cas, comme pour la panification, sa concentration peut également être augmentée (Vidal et al., 2016). Selon Moretti et al. (2019) les changements climatiques peuvent augmenter le risque des mycotoxines en Europe et dans différents pays du monde.

I.5.2. Les chémotypes de *Fusarium* spp.

F. graminearum et *F. culmorum* produisent différents ensembles de métabolites secondaires, selon leur structure sont classés en différents chémotypes. Actuellement, la description de quatre chémotypes pour *F. graminearum* et *F. culmorum* peut être résumée comme chémotype NIV, qui produit du nivalénol et ses formes acétylées; le chémotype 3-ADON produit du désoxynivalénol et du 3- acétyldésoxynivalénol, tandis que le chémotype 15-ADON produit du désoxynivalénol et du 15-acétyldésoxynivalénol. Un quatrième chémotype (nommé «inconnu») fait référence aux espèces capables de synthétiser à la fois NIV et DON (NIV / DON chémotype). La production de ces deux types codés par des gènes appelés gènes TRI. Ces gènes sont responsables de la variation du chémotype (Pereira et al., 2019). Les différents chémotypes peuvent se produire dans le même site géographique; cependant, l'un d'eux sera prédominant. Par ailleurs, la répartition géographique concernant l'apparition des chémotypes semble dépendre des continents et même des régions d'un même pays. Les informations sur les chémotypes survenant dans une région sont cruciales en raison des différences toxicologiques observées entre DON et NIV (Khaneghah et al., 2018). Le NIV étant environ dix fois plus toxique que le DON (Yli-Mattila, 2010). La distribution des chémotypes dépend fortement des facteurs climatiques en particulier pendant et parfois après la floraison (Vogelgsang et al., 2017), le précédant cultural (Pasquali et al., 2010) et elle est moins dépendante de la région géographique (Vogelgsang et al., 2017).

Des études antérieures ont montré qu'environ 59% des céréales récoltées à l'échelle mondiale sont contaminées par le DON. L'incidence la plus faible (près de 50%) a été détectée en Europe, tandis que la plus élevée (76%) a été trouvée en Afrique (Pereira et al., 2019). De plus, le déoxynivalénol est la mycotoxine la plus détectée dans les ingrédients pour la production d'aliments pour les animaux (Peng et al., 2018). Le NIV est un métabolite typique après des étés secs et chauds et lorsque la récolte est réalisée plus tôt que d'habitude. La réglementation concernant le nivalénol n'a pas encore été établie mais étant donné sa toxicité relativement plus élevée que le DON, une plus grande attention devrait être accordée à cette toxine (Patriarca et Pinto, 2017).

I.5.3. Détoxification de DON par la plante

La plante hôte est capable de détoxifier les différentes mycotoxines produites par les différentes espèces du genre *Fusarium* (Fig. 12). Ces processus de détoxification impliquent des modifications chimiques de ces toxines induisant ce qu'on appelle « les formes masquées du DON ». Ces métabolites chimiquement modifiés sont ensuite transportés vers les vacuoles pour leur dégradation, vers les parois végétales, ou vers l'apoplasme (Chetouhi, 2015). En effet, les formes masquées du DON ne sont pas surveillées dans le cadre du contrôle alimentaire de routine et leur toxicité réelle chez l'homme et les animaux est incertaine. Récemment, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a publié un avis scientifique sur le DON en insistant que le règlement devrait plutôt couvrir la somme du DON et de ses formes modifiées (Righetti et al., 2020). De plus, ces métabolites peuvent se former le long de la transformation des aliments à partir de matières premières contaminées et, dans ce cas, peuvent être reconvertis en toxine parentale pendant le métabolisme animal et humain (Freire et Sant'Ana, 2018).

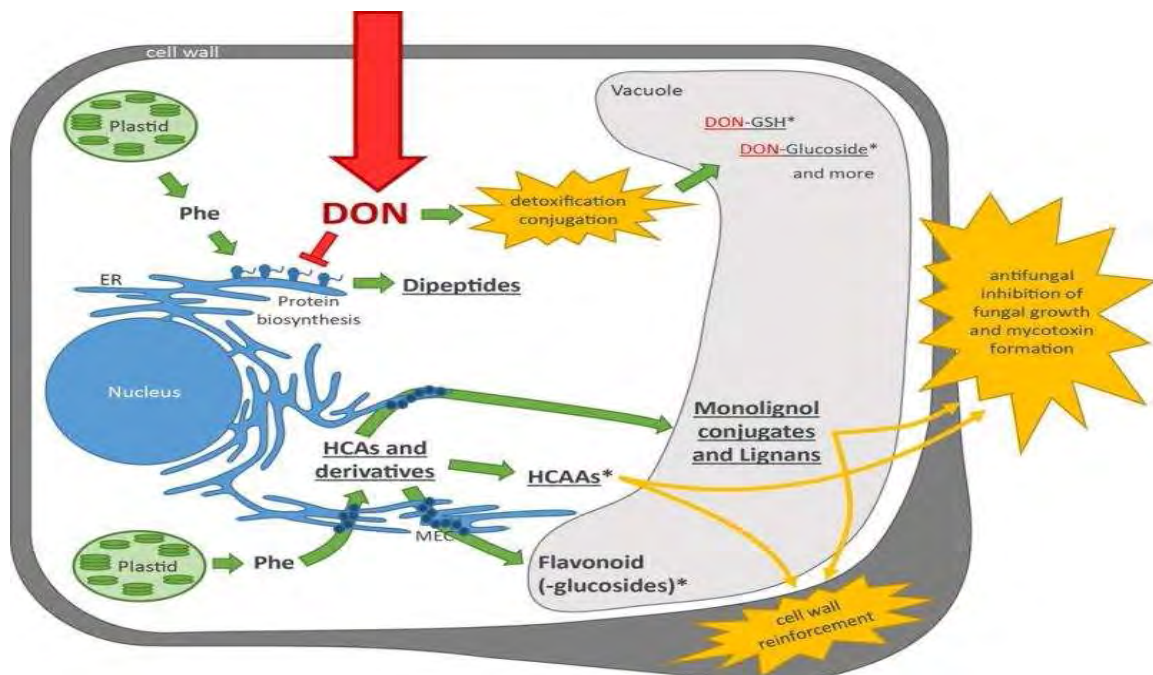


Figure 12. Modèle de cellule végétale montrant la réaction des plantes après le traitement au DON. Les flèches vertes indiquent l'activité métabolique de la plante et la flèche rouge indique le DON et son mode d'action. Les métabolites soulignés (classes) indiquent une régulation positive lors du traitement au DON. Explosion jaune: réponses de défense des plantes. DON : déoxynivalénol; Phe : phénylalanine; ER : réticulum endoplasmique; GSH : glutathion; HCA : acide hydroxycinnamique; HCAA : amide d'acide hydroxycinnamique; MEC : complexe multienzymatique (Doppler et al., 2019).

I.5.4. Risques liés aux mycotoxines et réglementation

Les mycotoxines présentent à la fois des effets aigus et chroniques toxiques chez l'homme et l'animal. L'épidémie de toxicité due au *Fusarium* a été signalée dans de nombreux pays, notamment en Europe, en Asie, en Afrique, en Nouvelle-Zélande et en Amérique du Sud (Marin et *al.*, 2013). Par conséquent, afin de protéger la santé des personnes, certains pays ont surveillé en permanence les concentrations maximales de mycotoxines dans les aliments et dans d'autres produits de base. La toxicité du DON, en particulier pour l'homme et les animaux, a été fortement étudiée dans la littérature. Son ancien nom de vomitoxine résume parfaitement l'effet majeur provoqué par son ingestion (Pasquet, 2014). L'ingestion du DON peut entraîner une toxicité aiguë et chronique. Les symptômes aigus comprennent un inconfort abdominal, un malaise, une diarrhée, une augmentation de la salivation, un vomissements et anorexie. Le plus souvent les effets observés de l'exposition chronique au DON peuvent être classés comme altération de l'efficacité nutritionnelle, perte de poids et anorexie (Pestka, 2007). De Santis et *al.* (2019) ont quantifié la teneur en DON de l'urine de différents individus italiens et ont trouvé cette mycotoxine dans 76 % des échantillons avec une incidence maximale chez les enfants et les adolescents.

Le règlement européen (CE) 1881/2006 a fixé des teneurs maximales en DON dans les céréales non transformées et les produits à base de céréales destinés à la consommation humaine directe dans la gamme de 1750 à 200 µg / kg (De Santis et *al.*, 2019). La réglementation européenne de DON pour les aliments pour bébés à base de céréales est particulièrement stricte et le niveau maximum autorisé de DON est de 200 µg / kg (Pascari et *al.*, 2019).

I.5.5. Techniques de détection de la contamination par *Fusarium* spp. et par le DON

Diverses techniques ont été utilisées pour la détection et la quantification de la contamination par *Fusarium* et par le DON dans les céréales. Des méthodes chimiques typiques, y compris le dosage immuno-enzymatique (ELISA) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), sont utilisées pour déterminer la concentration du DON dans le blé.

Malgré la précision montrée par ces méthodes, elles sont longues, coûteuses et destructrices d'échantillons. La combinaison d'outils de spectroscopie et d'imagerie ouvre un nouveau champ dans la détection des champignons toxigènes et de leurs métabolites dans les céréales. L'imagerie hyper spectrale (HSI) a été considérée comme une méthode rapide, non destructive et peu coûteuse. L'examen des études a montré que cette technique est capable de classer les grains endommagés par les champignons et les grains sains avec une grande précision par une simple analyse (Fig. 13). De plus, la classification des niveaux de DON

spécifiques au grain a été atteinte dans certaines études, essayant d'approcher le seuil des limites légales afin d'être utilisé dans des applications réelles (Golge et Kabak, 2020).

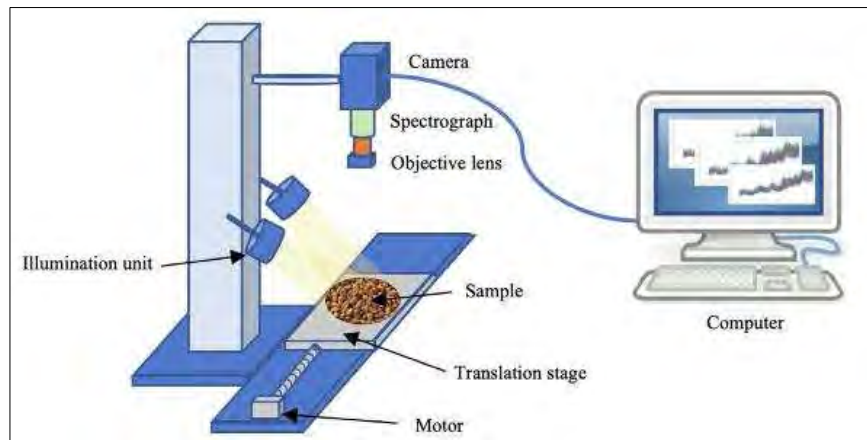


Figure 13. Équipement de l'imagerie hyperspectrale (Femenias et *al.*, 2019)

1.5.6. Stratégies de réduction de la contamination par les mycotoxines

Il existe des stratégies avant et après récolte pour réduire la contamination par les mycotoxines dans les grains. Les méthodes de pré-récolte comprennent l'utilisation des variétés résistantes, la gestion de la maladie au champ, utilisation d'agents biologiques et chimiques, gestion des récoltes. Les interventions post-récolte qui réduisent les mycotoxines comprennent le séchage approprié, le transport et l'emballage appropriés, le tri, le nettoyage, l'utilisation de pesticides synthétiques et l'irradiation (Neme et Mohammed, 2017). Les mêmes stratégies sont utilisées pour l'alimentation animale en plus de l'ajout des additifs alimentaires pour compenser les effets néfastes des régimes alimentaires contaminés par des mycotoxines sur le corps animal (Peng et *al.*, 2018).

En plus des méthodes chimiques et physiques comme le chauffage et l'irradiation UV (Shanakhat et *al.*, 2019), de nombreuses études ont montré que les mycotoxines peuvent être transformées en dérivés non toxiques par plusieurs micro-organismes comme ceux isolés des intestins de diverses espèces animales dont la vache, le rat, le mouton et le porc. Diverses biotransformations microbiennes des trichothécènes ont été signalées, y compris l'acétylation, la désacétylation, l'oxygénation, la désépoxydation, l'épimérisation, et la glucosylation. De nombreux enquêteurs ont montré que certaines souches de bactéries lactiques et de bifidobactéries étaient capables de se lier efficacement aux mycotoxines *in vitro* et *in vivo* (Juodeikiene et *al.*, 2018). De plus, la levure dans la clade *Trichomonascus* peut détoxifier la toxine T-2 en néosolaniol. Gao et *al.* (2018) ont isolé une nouvelle bactérie *Eggerthella* sp. DII-9 des intestins des poules et ont montré sa capacité à biotransformer le DON, HT-2, T-2 triol et T-2

tétraol. La gestion efficace après récolte des produits stockés nécessite des critères de surveillance clairs et une mise en œuvre des relations avec les facteurs abiotiques et biotiques pour s'assurer que la contamination par les mycotoxines est minimisée et que les céréales peuvent passer par la chaîne alimentaire pour être transformées (Neme et Mohammed, 2017).

Chapitre II : IDENTIFICATION DES AGENTS FONGIQUES RESPONSABLES DE LA POURRITURE RACINAIRE ET DE LA FUSARIOSE DE L'ÉPI DU BLE EN ALGERIE

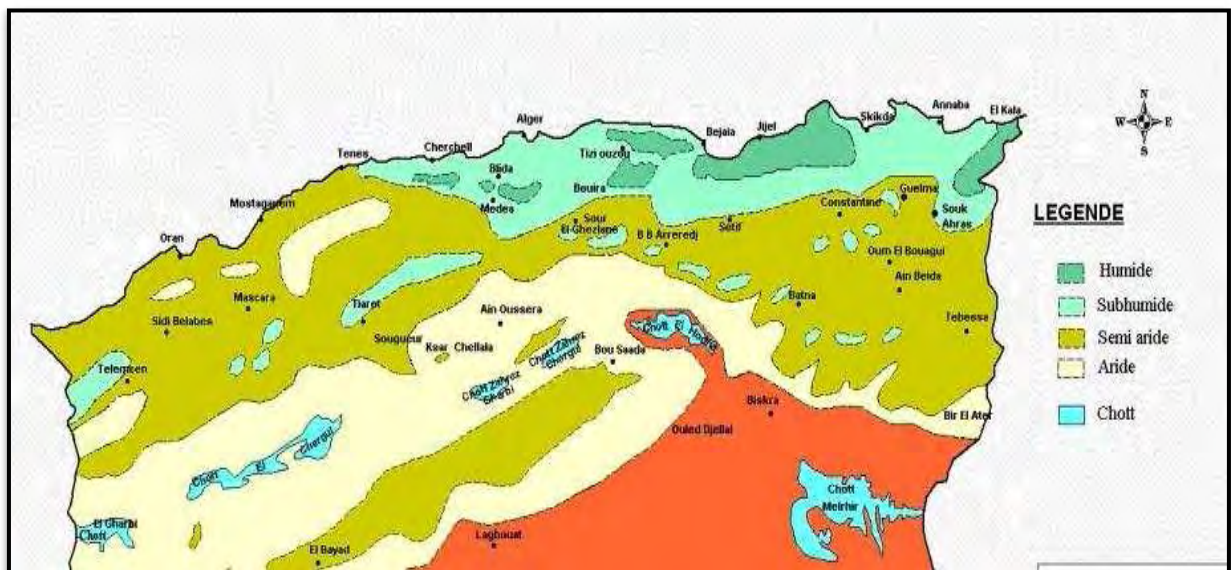
II. 1. Introduction

Le blé est sujet aux attaques par plusieurs espèces du genre *Fusarium* et *Microdochium* qui peuvent être à l'origine de différents types de symptômes. Ces symptômes diffèrent selon les organes attaqués par ces agents fongiques (graine, collet ou épi) induisant respectivement trois maladies distinctes à savoir la fonte de semis, la pourriture du collet et la fusariose de l'épi. Les agents responsables de ces maladies regroupent principalement deux genres *Fusarium* et *Microdochium*, le genre *Fusarium* est représenté par plusieurs espèces tandis que le genre *Microdochium* est représenté par deux espèces. Ces espèces ont des caractéristiques différentes qui peuvent potentiellement influencer leur développement ou leur production de mycotoxines lors d'une épidémie. Par exemple, le genre *Fusarium* a la capacité à produire des mycotoxines tandis que les espèces du *Microdochium* ne sont pas toxigènes (Gagkaeva et al., 2020). Également, la distribution et la prédominance d'une ou plusieurs de ces espèces pathogènes est en grande partie liée aux facteurs climatiques (l'humidité et la température) qui diffèrent selon les régions

La pourriture du collet est aggravée par la sécheresse, tandis que la fusariose de l'épi est favorisée par une humidité prolongée pendant la floraison du blé (Obanor et Chakraborty, 2014). Le climat de l'Algérie est favorable pour le développement des deux maladies. En effet, ce climat est caractérisé par une grande diversité, les régions du centre et du nord-est sont caractérisées par des climats humide et subhumide suivi par le semi-aride en se dirigeant vers le sud, tandis que toute la région nord-ouest est caractérisée par un climat semi-aride et dans certaines zones même aride (Fig. 14 ; Nedjraoui et Bedrani, 2008).

La pourriture du collet est causée principalement par *F. culmorum*, *F. pseudograminearum* et *F. graminearum*, mais d'autres espèces de *Fusarium* et de *Microdochium* (*M. nivale* et *M. majus*) peuvent également provoquer la maladie dans le monde (Scherm et al., 2013 ; Obanor et Chakraborty, 2014 ; Beccari et al., 2018b ; Matušinsky et al., 2019). Cette maladie survient surtout dans les régions arides et semi-arides (Kazan et Gardiner, 2018). Les agents responsables de la fusariose de l'épi incluent *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*,

F. pseudograminearum, *F. poae*, *F. asiaticum*, *F. langsethiae*, *F. sporotrichioides*, *M. nivale* et *M. majus* (Nielsen et al., 2010 ; Hayashi et al., 2014 ; Pasquali et al. 2016 ; Ma et al., 2020). Mais ce n'est pas exclusif du fait que de nouveaux agents fongiques sont isolés et identifiés dans plusieurs régions du monde (O'Donnell et al., 2008; Gräfenhan et al., 2016). Parmi les agents de la fusariose, *F. graminearum* est considéré mondialement comme étant l'agent le plus important de la fusariose de l'épi du blé. Les espèces prédominantes varient d'une année à l'autre et d'une région à l'autre, selon la température, l'humidité et la rotation des cultures (Ma et al., 2020).



14. Carte bioclimatique du nord de l'Algérie montrant les régions du centre et de l'est avec un climat humide, subhumide et semi-aride et les régions de l'ouest avec un climat semi-aride et aride (ANAT, 2004).

Vue cette diversité des agents causant les fusarioses chez le blé, la connaissance des espèces qui dominent dans une région donnée est primordiale avant d'envisager des méthodes de lutte. En Algérie, les espèces responsables des fusarioses chez le blé, leur répartition ainsi que la distribution des deux maladies dans les principales zones céréalières du pays ont été peu étudiées. Pour répondre à ces problématiques, des prospections ont été réalisées dans différentes régions du nord Algérien incluant l'est, l'ouest et le centre. Les échantillons présentant des symptômes de la pourriture du collet et/ ou la fusariose de l'épi ont été collectés afin d'isoler les agents responsables. Les isolats obtenus sont purifiés pour être ensuite identifiés.

L'identification morphologique des espèces ne fournit pas suffisamment de précision et il est difficile de distinguer certaines espèces morphologiquement identiques telles que *F.*

graminearum et *F. pseudograminearum* ainsi que *M. majus* et *M. nivale* (Aoki et O'Donnel, 1999 ; Glyn et al., 2005) en se basant uniquement sur les critères morphologiques. Pour cela les isolats doivent être identifiés par des méthodes moléculaires qui sont plus précises telle que la PCR qui se base sur l'utilisation d'amorces spécifiques pour chaque espèce. Dans ce contexte, les isolats obtenus lors de cette étude ont été identifiés morphologiquement afin de séparer les deux genres *Fusarium* et *Microdochium* et certaines espèces. En plus cette identification nous a permis donc de classer les isolats selon leur description approximative pour faciliter le choix des amorces de la PCR et minimiser le nombre de manipulation à réaliser.

II.2. Matériel et méthodes

II.2.1. Prospections et collecte des échantillons

Les prospections pour la collecte des échantillons destinés à l'isolement des agents associés à la fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé ont été réalisées à la fin du mois d'avril et durant le mois de mai au cours de deux campagnes agricoles successives (2013 /2014 et 2014/2015). Deux cents vingt-huit (228) champs ont été prospectés dans 23 wilayas durant la première campagne et 146 champs ont été prospectés dans 18 wilayas durant la deuxième campagne (Annexe 1).

Les champs ont été choisis de manière aléatoire, des échantillons de blé dur et de blé tendre ont été prélevés, mais le blé dur était le plus dominant parce qu'il était le plus attaqué et le plus répandu dans les régions prospectées. Les échantillons collectés présentaient les symptômes typiques de la fusariose de l'épi ou de la pourriture du collet ou les deux maladies au même temps. Pour chaque champ, de 5 à 10 plants symptomatiques ont été prélevés au hasard. Les échantillons ont été conditionnés dans des sacs en papier étiquetés pour indiquer la région et la date du prélèvement.

II.2.2. Isolement, purification et conservation des isolats

Les échantillons ont été triés et codifiés avant l'isolement. Pour chaque plant, les deux parties collet et épis présentant des symptômes sont analysées. Les épis des plants présentant des symptômes uniquement sur collet ont été analysés pour chercher une éventuelle existence de l'agent pathogène dans ces parties asymptomatiques. Les collets et les épis ont été coupés en petits fragments, rincés pendant 5 mn dans une solution d'hypochlorite de sodium à 2%, rincés trois fois dans de l'eau distillée stérile puis séchés sur du papier Joseph stérile. Les fragments ainsi désinfectés ont été déposés dans des boîtes de Petri contenant le milieu PDA (Annexe 2) et

incubés à une température comprise entre 22 et 25 °C pendant 5 à 7 jours sous lumière continue. Les colonies avec un aspect correspondant à celui des genres *Fusarium* ou *Microdochium* ont été transférées séparément à d'autres boîtes de Petri contenant le milieu PDA. Chaque colonie a subi la culture monospore avant l'identification, cette dernière a été réalisée en plaçant des fragments mycéliens de cultures en sporulation dans des tubes à essai stérilisés contenant 10 ml d'eau distillée stérile. Après agitation, une goutte d'une suspension de spores d'une concentration de 10^2 à 10^3 conidie / ml est étalée sur des boîtes du Petri contenant du milieu PDA appauvri en glucose. Après 24h d'incubation à une température comprise entre 22 et 25°C, les conidies monospores en germination ont été repiquées à nouveau dans des boîtes de Petri contenant le milieu PDA et incubées dans les mêmes conditions citées précédemment. Des cultures monospores de tous les isolats obtenus sont conservées à 4°C dans des tubes inclinés contenant le milieu PDA.

II.2.3. Identification morphologique

L'identification morphologique est basée sur les critères macroscopiques et microscopiques des isolats fongiques obtenus, ces derniers sont cultivés sur milieu PDA et incubées à une température comprise entre 22°C et 25°C sous lumière continue. Les critères macroscopiques comprennent l'aspect des colonies, leur densité, ainsi que la pigmentation du mycélium. Les caractéristiques microscopiques ont été déterminées par l'observation des types de spores développées, la forme et le nombre de septations des macroconidies, la présence ou l'absence des microconidies et des chlamydozoospores, la forme ainsi que la présence ou l'absence de phialide. Les espèces appartenant au genre *Fusarium* ont été identifiées morphologiquement en utilisant les ouvrages de Leslie et Summerell (2006) et Burgess et al.(1994), tandis que les isolats appartenant au genre *Microdochium* ont été identifiés selon la description de Hoshino et al. (2009).

II.2.4. Identification moléculaire

Compte tenu de la difficulté de l'identification morphologique des espèces de *Fusarium* et de *Microdochium*, les cultures monospores ont fait l'objet d'une identification moléculaire. Cette dernière a été basée sur l'amplification de l'ADN par PCR (Polymerase Chain Reaction) en utilisant des amorces spécifiques pour chaque espèce.

Le choix des amorces spécifiques a été basé essentiellement sur l'identification morphologique d'une part et par rapport aux espèces de *Fusarium* décrites comme étant les plus importantes sur blé dans la littérature d'autre part. Ces dernières comptent *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. pseudograminearum*, en plus de certaines espèces considérées

comme moins importantes comme *F. avenaceum*, *F. temperatum*, *F. subglutinans* et *F. verticillioides*, ainsi que les deux espèces du genre *Microdochium* (*M. nivale* et *M. majus*). Les amorces des autres espèces considérées comme étant pathogènes sur blé n'étaient pas disponibles, pour cela un nombre d'isolats obtenus lors de cette étude reste encore non identifié.

II.2.4.1. Extraction de l'ADN

Des isolats fongiques (n = 117) ont été cultivés sur milieu PDA pendant 7 jours; le mycélium a été récupéré dans des tubes de micro-centrifugation de 2 ml et lyophilisé pendant 24 h; le mycélium lyophilisé a été broyé en une poudre fine. L'extraction de l'ADN des isolats du genre *Fusarium* a été réalisée selon le protocole Phenol / chloroforme (Merhedj et al., 2010) et l'extraction de l'ADN des isolats du genre *Microdochium* a été réalisée selon le protocole CTAB décrit par Aoki et O'donnell (1999). Ces deux techniques d'extraction d'ADN sont présentées en Annexe 3. La concentration et la pureté de l'ADN ont été déterminées par spectrométrie (NanoDrop®) à 230, 260 et 280 nm, la pureté est évaluée par rapport aux protéines (260/280), et la pureté par rapport aux solvants utilisés (260/230). Les échantillons d'ADN ont été dilués à 20 ng/μl, dans de l'eau (nucléase free) et conservés à -20°C.

II.2.4.2. Amplification de l'ADN par des amorces spécifiques de l'espèce (PCR conventionnelle)

Afin de confirmer l'identification morphologique, une PCR conventionnelle a été réalisée en testant les isolats avec des amorces spécifiques à l'espèce (Tableau 1). Les isolats ont été d'abord testés par les amorces de *F. culmorum* puisque le nombre des isolats appartenant à cette espèce par identification morphologique était le plus important ; ensuite le reste des isolats a été testé par les amorces de *F. graminearum* puis *F. pseudograminearum*. Les isolats restants sont testés par les amorces de *F. avenaceum*, *F. verticillioides*, *F. temperatum* et *F. subglutinans* (Wollenweber & Reinking) Nelson, Toussoun & Marasas. Les isolats identifiés morphologiquement comme étant *Microdochium* sp. ont été testés par les amorces de *M. majus* et *M. nivale* (Tableau 1).

Pour chaque réaction, 1 μl (20 ng / μl) de l'ADN a été additionné à 24 μl du mélange réactionnel de la PCR contenant 0,5 μl de chaque amorce spécifique à l'espèce (50 μM), 5 μl de tampon PCR, 0,4 μl de dNTP (25 mM), 17,5 μl d'H₂O et 0,1 μl (5u / μl) d'ADN polymérase GoTaqR (Promega, USA). Les PCR ont été réalisées dans un thermocycleur T100 (BIO RAD), les programmes de la PCR pour les différentes espèces sont détaillés dans le tableau 2. Les produits d'amplification ont été séparés par électrophorèse (80-90 V, 60 mA, 100 W, 30 min) dans des

gels d'agarose à 1% dans un tampon TAE 1X coloré avec 4 µl / 100 ml de colorant ADN Clear Sight (Euromedex), puis photographiés à l'aide d'un transluminateur (UV BIO-RAD).

Tableau 1. Les amorces spécifiques utilisées pour l'identification des isolats des genres *Fusarium* et *Microdochium*.

Espèces	Amorces	Séquences	Taille (pb)	Références
<i>F. culmorum</i>	F co 1F F co1 R	ATGGTGAACCTCGTCGTGGC CCCTTCTTACGCCAATCTCG	570 pb	Nicholson et al., 1998
<i>F. graminearum</i>	Fg 16NF Fg 16 NR	ACAGATGACAAGATTCAGGCACA TTCTTTGACATCTGTTCAACCCA	280 pb	Nicholson et al., 1998
<i>F. pseudo-graminearum</i>	Fp1-1 Fp1-2	CGGGGTAGTTTCACATTTTCYG GAGAATGTGATGASGACAATA	523 pb	Aoki and O'donnell 1999
<i>F. avenaceum</i>	JIAF/ JIAR	CGGTTGTTTCATCATCTCTGA GCTCCCGATGTAGAGCTTGTT	220 pb	Turner et al., 1998
<i>F. verticillioides</i>	Fum 1-654 Fum 1-654	CGGTTGTTTCATCATCTCTGA GCTCCCGATGTAGAGCTTGTT	504 pb	Aguado et al., 2018
<i>F. temperatum</i>	Ftemp-F Ftemp-R	AAGACCTGGCGGGC TCAGAAGGTTGTGGCA	296 pb	Scaufaire et al., 2011
<i>F. subglutinans</i>	61-2F 61-2R	GGCCACTCAAGAGGCGAAAG GTCAGACCAGAGCAATGGGC	445 pb	Möller et al., 1999
<i>M. nivale</i>	Y13NF Y13NR	TGCAACGTGCCAGAAGCT AATCGCCGCTGTCTACTAAAGC	310 pb	Lees et al., 1995 ;
<i>M. majus</i>	Mnm2F Mnm2R	ACCAGCCGATTTGTGGTTATG GGTCACGAGGCAGAGTTCG	710 pb	Nicholson et al., 1996

Tableau 2. Les étapes de la PCR pour les différentes espèces

Espèce	Dénaturation initiale	Nombre de cycles	Etapes du cycle	Extension finale
<i>F. culmorum</i>	2 min à 95 ° C	35	30 s à 95 ° C 30 s à 60 ° C 40 s à 72 ° C	5 min à 72 ° C
<i>F. graminearum</i>	2 min à 95 ° C	35	30 s à 95 ° C 30 s à 60 ° C 30 s à 72 ° C	5 min à 72 ° C
<i>F. pseudograminearum</i>	2 min à 95 ° C	35	30 s à 95 ° C 30 s à 55 ° C 40 s à 72 ° C	5 min à 72 ° C
<i>F. avenaceum</i>	2 min à 95 ° C	35	30 s à 95 ° C 30 s à 58 ° C 30 s à 72 ° C	5 min à 72 ° C
<i>F. verticillioides</i>	2 min à 95 ° C	35	30 s à 95 ° C 30 s à 57 ° C 40 s à 72 ° C	5 min à 72 ° C
<i>F. temperatum</i>	2 min à 95 ° C	35	30 s à 95 ° C 30 s à 60 ° C 30 s à 72 ° C	5 min à 72 ° C
<i>F. subglutinans</i>	2 min à 95 ° C	35	30 s à 95 ° C 30 s à 65 ° C 40 s à 72 ° C	5 min à 72 ° C
<i>M. nivale majus</i> et <i>M. nivale nivale</i>	2 min à 95 ° C	39	30 s à 95 ° C 30 s à 58 ° C 1 min 12 s à 40 ° C	5 min à 72 ° C

II.3. Résultats

II.3.1. Distribution de la pourriture du collet et de la fusariose de l'épi dans les régions prospectées et symptômes observés

La pourriture du collet a été observée dans la plupart des régions prospectées, ses symptômes sont représentés par un brunissement du collet, des premiers entre-nœuds et un échaudage complet des plants dans le cas des attaques sévères. De loin, la pourriture du collet est facilement reconnue par les plages de plants avec des épis blanchâtres échaudés qui sont clairsemés dans les champs (Fig. 15). Les symptômes de la fusariose de l'épi se traduisent le plus souvent par l'échaudage de certains groupes d'épillets, d'une partie ou de la totalité de l'épi. Les symptômes se manifestent par la présence d'un ou de plusieurs épillets décolorés sur les épis verts. Les grains mûrs récoltés étaient ratatinés, légers, blancs crayeux ou parfois roses, on parle alors de grains momifiés ou endommagés ou grains fusariés. La fusariose de l'épi a été observée surtout dans les régions du centre et de l'est du pays.



Figure 15. Les foyers du blé présentant des épis échaudés avec des bases brunes, a : dans la wilaya de Tiaret ; b et d : dans la wilaya de Bouira . c : des plants présentant des symptômes de la pourriture du collet (brunissement des parties basales) dans la région de Tarik Ibn Ziad dans la wilaya de Ain Defla.

II.3.2. Identification morphologique

Lors de l'isolement des agents associés à la fusariose de l'épi et à la pourriture du collet du blé, plusieurs autres genres de champignons sont apparus sur le milieu de culture seuls ou avec les espèces des genres *Fusarium* et *Microdochium*. L'identification morphologique préliminaire des espèces isolées à partir des épis et des collets a permis la distinction de plusieurs genres dont le plus fréquent est le genre *Alternaria*, suivi par le genre *Fusarium* et le genre *Microdochium*, d'autres genres ont été aussi identifiés tel que *Epicoccum*.

Les colonies avec un aspect ressemblant à *Fusarium* ou à *Microdochium* (Fig. 16) sont repiquées séparément. Après l'obtention des cultures monospores, ces colonies sont identifiées à l'aide des critères macroscopiques et microscopiques. Dans ce travail, uniquement les isolats dont l'identification morphologique a été confirmée par les outils moléculaires sont considérés. Une exception a été faite pour le genre *Microdochium* dont quelques isolats sont utilisés dans les études d'agressivité et qui sont identifiés uniquement par des aspects morphologiques comme étant *Microdochium* sp.

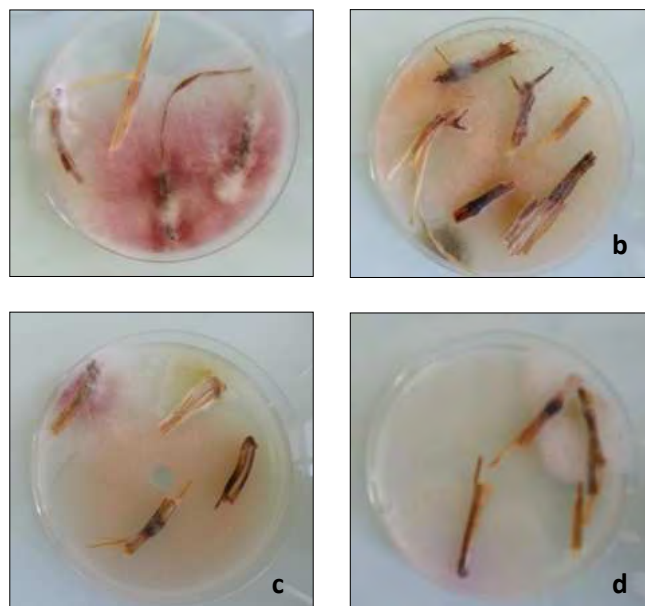


Figure 16. Isolement des agents de la pourriture du collet. Chaque boîte de Petri contient des fragments d'un seul plant. a : des colonies du genre *Fusarium*, b : des colonies appartenant au genre *Microdochium*, c : des colonies de *Fusarium* et de *Microdochium* apparues sur les fragments du même plant, d : colonie appartenant au genre *Fusarium*.

Les isolats identifiés morphologiquement comme étant *F. culmorum* présentent sur milieu PDA des colonies de couleur qui vire du blanc vers le rose et un mycélium aérien et abondant avec un pigment rouge qui se forme en contact de l'agar (Fig. 17). Les macroconidies sont épaisses et faiblement arquées avec 3 à 4 cloisons, la cellule apicale est arrondie et la cellule basale n'est pas nettement pédicellée. Les microconidies sont absentes tandis que les chlamydospores sont observées chez certains isolats et parfois sont portées par les macroconidies.

Les isolats avec des caractéristiques morphologiques correspondant aux deux espèces morphologiquement identiques *F. graminearum* ou *F. pseudograminearum* ont présenté un mycélium abondant allant du blanc vers le rose avec un pigment rouge qui se forme en contact de l'agar (Fig. 17). Les macroconidies sont relativement minces et presque droites à modérément courbées avec 5 à 6 cloisons. La cellule apicale est pointue et parfois allongée et la cellule basale est bien développée et pédicellée. Les microconidies sont absentes et les chlamydospores sont présentes chez certains isolats.

Les isolats identifiés comme étant *F. avenaceum* présentent un mycélium allant du blanc au gris rosâtre. Les macroconidies sont longues et minces. La cellule apicale est longue et effilée et la cellule basale est entaillée ou pédicellée. Les microconidies et les chlamydospores sont absentes.

Les isolats identifiés comme *F. verticillioides* ont présenté des colonies avec un pigment gris violacé à noir. Les macroconidies sont relativement longues et minces avec 3 à 5 cloisons, la cellule apicale est courbée et souvent effilée, la cellule basale est pédicellée. Les microconidies sont ovales et généralement sans cloisons, la cellule conidiogène est monophialide. Les chlamydospores sont absentes.

Les isolats appartenant au genre *Microdochium* ont présenté des colonies avec une coloration qui vire du blanc vers le rose saumon (Fig 17). Les conidies sont courbées, effilées vers chaque extrémité, avec un apex pointu et une base arrondie. Les conidies courbées, falciformes, se rétrécissant vers l'extrémité avec un sommet pointu et une base arrondie et dont le nombre de cloisons varie de zéro à trois. En raison des différents téléomorphes et de la présence de cellules conidiogènes annéliques plutôt que de phialides, cette espèce est exclue de *Fusarium* (Nelson et al., 1983).

Il est à noter que l'identification morphologique ne permet pas la distinction entre les espèces morphologiquement identiques telles que *F. graminearum* et *F. pseudograminearum*

ainsi qu'entre *M. nivale* et *M. majus*. Cependant cette identification préliminaire nous a facilité le choix des amorces pour la PCR.

II.3.3. Identification moléculaire

Pour confirmer l'identité des espèces, des amorces spécifiques d'espèces principalement associées à la fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé ont été utilisées. L'identification moléculaire par amplification de l'ADN a conduit à des produits dont les tailles correspondent aux valeurs publiées pour la PCR spécifique à l'espèce *F. culmorum* (570 pb; Nicholson et al., 1998), *F. verticillioides* (504 pb; Aguado et al., 2018), *F. avenaceum* (220 pb; Turner et al., 1998), confirmant l'identification morphologique basée principalement sur la description de Leslie et Summerell (2006). Ces PCR spécifiques aux espèces ont également permis d'identifier *F. pseudograminearum* (523 pb, Aoki et O 'donnell, 1999) morphologiquement similaire à *F. graminearum* en tant qu'agent causal de la fusariose de l'épi et de la pourriture du collet du blé en Algérie (Fig. 18). Les isolats identifiés comme étant *Microdochium* selon leurs caractères morphologiques ont également été identifiés comme étant *M. nivale* (310 pb) et *M. majus* (710 pb) (Lees et al., 1995; Nicholson et al., 1996). Cependant, aucun isolat n'a été positif avec les amorces de *F. graminearum* (280 pb, Nicholson et al. 1998), *F. temperatum* (296 pb, Scaufaire, 2011) et *F. subglutinans* (445 pb, Möller et al., 1999).

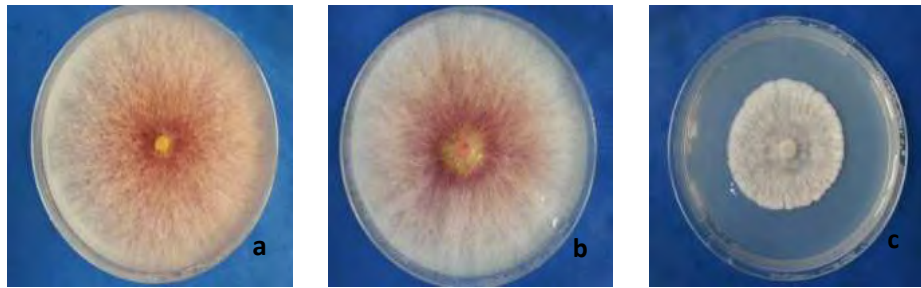


Figure 17. Colonies de *F. culmorum* (a), *F. pseudograminearum* (b) et *Microdochium nivale* (c) âgées de 4 jours incubées à 25°C à l'obscurité.

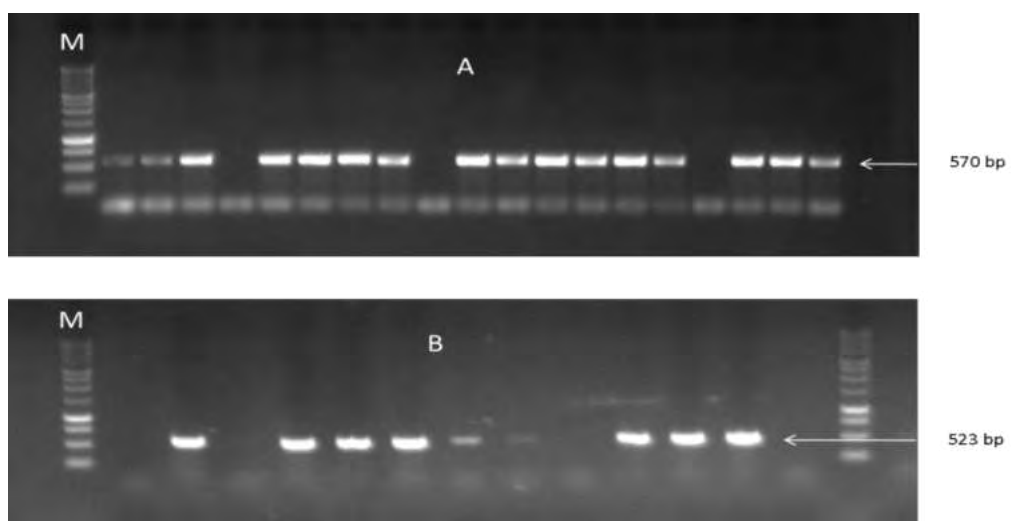


Figure 18. Profils de migration sur gel d'agarose des produits d'amplification par les amorces spécifiques des espèces ; A: *F. culmorum* (570 pb) et B: *F. pseudograminearum* (523 pb). M : marqueur 1kb.

Tableau 3. Identification moléculaire des espèces isolées des collets et des épis du blé dur et du blé tendre collectés dans différentes régions céréalières du nord de l'Algérie.

Code	Wilaya	Commune	Blé	Organe	Année	Espèce
F1.1	Constantine	Aïn Abid	Dur	Collet	2014	<i>F.culmorum</i>
F1.3	Constantine	Aïn El Bay	Tendre	Collet	2014	<i>F.culmorum</i>
F1.4	Constantine	Aïn El Bay	Tendre	Collet	2014	<i>F.pseudograminearum</i>
F1.5	Guelma	Guelma	Dur	Collet	2014	<i>F.culmorum</i>
F1.6	Guelma	El Fedjoudj	Dur	Epi	2014	<i>F.culmorum</i>
F1.7	Guelma	Djeballah khemissi	Dur	Epi	2014	<i>F.culmorum</i>
F1.9	Boumerdes	Issers	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.10	Boumerdes	Issers	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.11	Boumerdes	Issers	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.12	Boumerdes	Issers	Dur	Epi	2014	<i>F.culmorum</i>
F1.13	Boumerdes	Chabet El Aneur	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.14	Boumerdes	Chabet El Aneur	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.15	Boumerdes	Chabet El Aneur	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.16	Tizi ousou	Tizi Gheniff	Dur	Collet	2014	<i>F. avenaceum</i>
F1.17	Tizi ousou	Draâ El Mizan	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.18	Tizi ousou	Draâ El Mizan	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.19	Tizi ousou	Draâ El Mizan	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.20	Tizi ousou	Draâ El Mizan	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.21	Tizi ousou	Draâ El Mizan	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.22	Alger	Dar El Beïda	-	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.23	Alger	Rouïba	-	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.24	Mila	Oued Athmenia	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.25	Mila	Chelghoum El Aïd	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.26	Mila	Chelghoum El Aïd	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.27	Mila	Tadjenanet	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.28	Mila	Tadjenanet	Dur	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>
F1.30	Blida	Boufarik	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.31	Blida	Mouzaïa	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.33	Souk Ahras	Sedrata	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.37	Mascara	Sidi Abdelmoumen	Tendre	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>
F1.38	Aïn Defla	Bir Ould Khelifa	Dur	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>
F1.39	Aïn Defla	Bir Ould Khelifa	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>

CH II : IDENTIFICATION DES AGENTS RESPONSABLES DE LA FUSARIOSE

F1.40	Aïn Defla	Bir Ould Khelifa	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.42	Aïn Témouchent	El Amria	Dur	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>
F1.44	Guelma	Guelma	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.45	Guelma	Guelma	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.46	Guelma	Guelma	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.47	Guelma	Guelma	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.48	Guelma	Guelma	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.49	Skikda	Zit El-Anba	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.50	Guelma	Djebbalah khemissi	Dur	Epi	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.51	Batna	El Kasbat	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.52	Bouira	Bouira	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.53	Bouira	Bouira	Dur	Epi	2014	<i>F. culmorum</i>
F1.55	Bouira	Bouira	Dur	Epi	2014	<i>F. culmorum</i>
F2.4	Aïn témouchent	Aïn témouchent	-	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.7	Aïn Defla	Bordj ElAmir Khaled	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.8	Aïn Defla	Aïn Defla	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.14	Aïn témouchent	El Malah	Tendre	Collet	2015	<i>F. verticillioides</i>
F2.20	Relizane	Relizane	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.24	Aïn témouchent	Chentouf	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.25	Boumerdes	Chabet El Aneur	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.26	Boumerdes	Chabet El Aneur	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.27	Boumerdes	Chabet El Aneur	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.28	Boumerdes	Chabet El Aneur	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.32	Tizi ousou	Tizi Gheniff	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.33	Tizi ousou	Tizi Gheniff	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.35	Tizi ousou	Tizi Gheniff	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.36	Tizi ousou	Tizi Gheniff	Dur	Collet	2015	<i>F. pseudograminearum</i>
F2.37	Tizi ousou	Draâ El Mizan	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.39	Tizi ousou	Draâ El Mizan	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.41	Tizi ousou	Draâ El Mizan	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.42	Tiziou zou	Draâ El Mizan	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.43	Tizi ousou	Draâ El Mizan	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.44	Tizi ousou	Draâ El Mizan	-	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.45	Tizi ousou	Draâ El Mizan	-	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.46	Tizi ousou	Draâ El Mizan	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.47	Tizi ousou	Tizi Gheniff	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>

CH II : IDENTIFICATION DES AGENTS RESPONSABLES DE LA FUSARIOSE

F2.48	Tipaza	Ahmar El Aïn	-	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.49	Tipaza	Ahmar El Aïn	-	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.50	Tipaza	Ahmar El Aïn	-	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.51	Blida	Mouzaia	-	Collet	2015	<i>F. avenaceum</i>
F2.52	Blida	El-Affroun	-	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.53	Blida	Ahmar El Aïn	-	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.54	Blida	Ahmar El Aïn	-	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.55	Blida	Ahmar El Aïn	-	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.56	Bouira	Bouira	-	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.57	Constantine	Aïn El Bey	Tendre	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.58	Constantine	Aïn Smara	Dur	Collet	2015	<i>F. pseudograminearum</i>
F2.60	Constantine	El Khroub	-	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.61	Constantine	El Khroub	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.62	Constantine	El Khroub	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.63	Constantine	El Khroub	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.64	Mila	Oued Athmania	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.65	Mila	Oued Athmania	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.66	Mila	Chelghoum El Aïd	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.67	Mila	Chelghoum El Aïd	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.68	Mila	Oued Athmania	Dur	Collet	2015	<i>F. pseudograminearum</i>
F2.69	Mila	Oued Athmania	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.71	Bordj Bou Arreridj	Aïn Taghrout	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.72	Bordj Bou Arreridj	Aïn Taghrout	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.76	Batna	Ras El Aïoun	-	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.79	Batna	Talkhamt	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.80	Batna	Batna	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>
F2.86	Oum El-Bouaghi	Meskiana	Tendre	Epi	2014	<i>F. verticillioides</i>
F2.87	Guelma	Bouati Mahmoud	Dur	Collet	2014	<i>F. verticillioides</i>
F2.91	Oum El-Bouaghi	Meskiana	Tendre	Epi	2014	<i>F. pseudograminearum</i>
F2.92	Guelma	Guelma	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>
F2.93	Oum El-Bouaghi	Aïn Fakroun	Tendre	Collet	2014	<i>F. Pseudograminearum</i>
F2.94	Guelma	Guelma	Dur	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>
M1	Sidi bel Abbès	Sidi bel Abbès	Dur	Collet	2015	<i>Microdochium sp.</i>
M2	Bouira	Haizer	Dur	Collet	2014	<i>Microdochium sp.</i>
M3	Tipaza	Ahmar El Aïn	-	Collet	2015	<i>M.nivale</i>
M4	Tipaza	Ahmar El Aïn	-	Collet	2015	<i>Microdochium sp.*</i>

CH II : IDENTIFICATION DES AGENTS RESPONSABLES DE LA FUSARIOSE

M5	Tipaza	Sidi Rached	-	Collet	2015	<i>Microdochium sp.*</i>
M6	Boumerdes	Issers	Dur	Collet	2015	<i>Microdochium sp.*</i>
M7	Blida	El Affroun	-	Collet	2015	<i>Microdochium sp.*</i>
M8	Bouira	Taghzout	-	Collet	2015	<i>Microdochium sp.*</i>
M9	Boumerdes	Issers	Dur	Collet	2015	<i>Microdochium sp.*</i>
M10	Tizi ousou	Draâ El Mizan	Dur	Collet	2015	<i>M.nivale</i>
M11	Sidi Bel Abbès	Sidi Bel Abbès	Dur	Collet	2015	<i>M. majus</i>
M12	Aïn Témouchent	Chentouf	Dur	Collet	2015	<i>M. majus</i>
M14	Tipaza	Ahmar El Aïn	-	Collet	2015	<i>M. majus</i>
M15	Bouira	Bouira	-	Collet	2015	<i>M. majus</i>
M16	Bouira	Bouira	-	Collet	2015	<i>M. majus</i>
M17	Bouira	Bouira	-	Collet	2015	<i>M. majus</i>
M18	Constantine	Aïn El Bey	Dur	Collet	2015	<i>M. majus</i>
M20	Constantine	Aïn Smara	Dur	Collet	2015	<i>M. majus</i>
M21	Mila	Tadjnanet	-	Collet	2015	<i>M. majus</i>
M22	Mila	Oued Athmania	Dur	Collet	2015	<i>M. majus</i>
M23	Bordj Bou Arreridj	Bir Kasdali	Dur	Collet	2015	<i>M. majus</i>
M25	Bordj Bou Arreridj	Bir Kasdali	Dur	Collet	2015	<i>M. nivale</i>
M27	Sétif	El Eulma	Dur	Collet	2015	<i>M. majus</i>
M29	Sétif	Aïn Azel	Dur	Collet	2015	<i>M. nivale</i>
M30	Sétif	Guellal	Dur	Collet	2015	<i>M. majus</i>

* Ces espèces de *Microdochium* sont identifiées uniquement sur la base des critères morphologiques.

II.3.4. Les espèces identifiées à partir des collets et des épis

Sur la base de l'identification moléculaire, six espèces fongiques ont été identifiées à partir du collet: *F. culmorum* (68%), *M. majus* (13%), *F. pseudograminearum* (10%), *M. nivale* (4%), *F. verticillioides* (3%) et *F. avenaceum* (2%) au cours des deux années (Tableau 4, Fig. 19). Seulement deux espèces: *F. culmorum* et *F. pseudograminearum* ont été isolées des épis. Durant l'année 2014, 6 isolats de *F. culmorum* et 1 seul isolat de *F. pseudograminearum* ont été obtenu des épis. Durant l'année 2015, uniquement l'espèce *F. culmorum* a été obtenue des épis (n = 10). La fréquence des espèces isolées des épis est très réduite par rapport aux espèces isolées des collets (Tableau 5, Fig. 20).

Tableau 4. Les espèces de *Fusarium* et de *Microdochium* isolées du collet durant les années 2014 et 2015 et identifiées par PCR.

Espèces	Année 2014		Année 2015		Total	
	nombre	%	Nombre	%	nombre	%
<i>F. culmorum</i>	34	77,3	34	60,7	68	68
<i>F. graminearum</i>	0	0	0	0	0	0
<i>F. pseudograminearum</i>	7	15,9	3	5,4	10	10
<i>F. avenaceum</i>	1	2,3	1	1,8	2	2
<i>F. verticillioides</i>	2	4,5	1	1,8	3	3
<i>M. nivale</i>	/	0	4	7,1	4	4
<i>M. majus</i>	/	0	13	23,2	13	13
Total	44	100	56	100	100	100

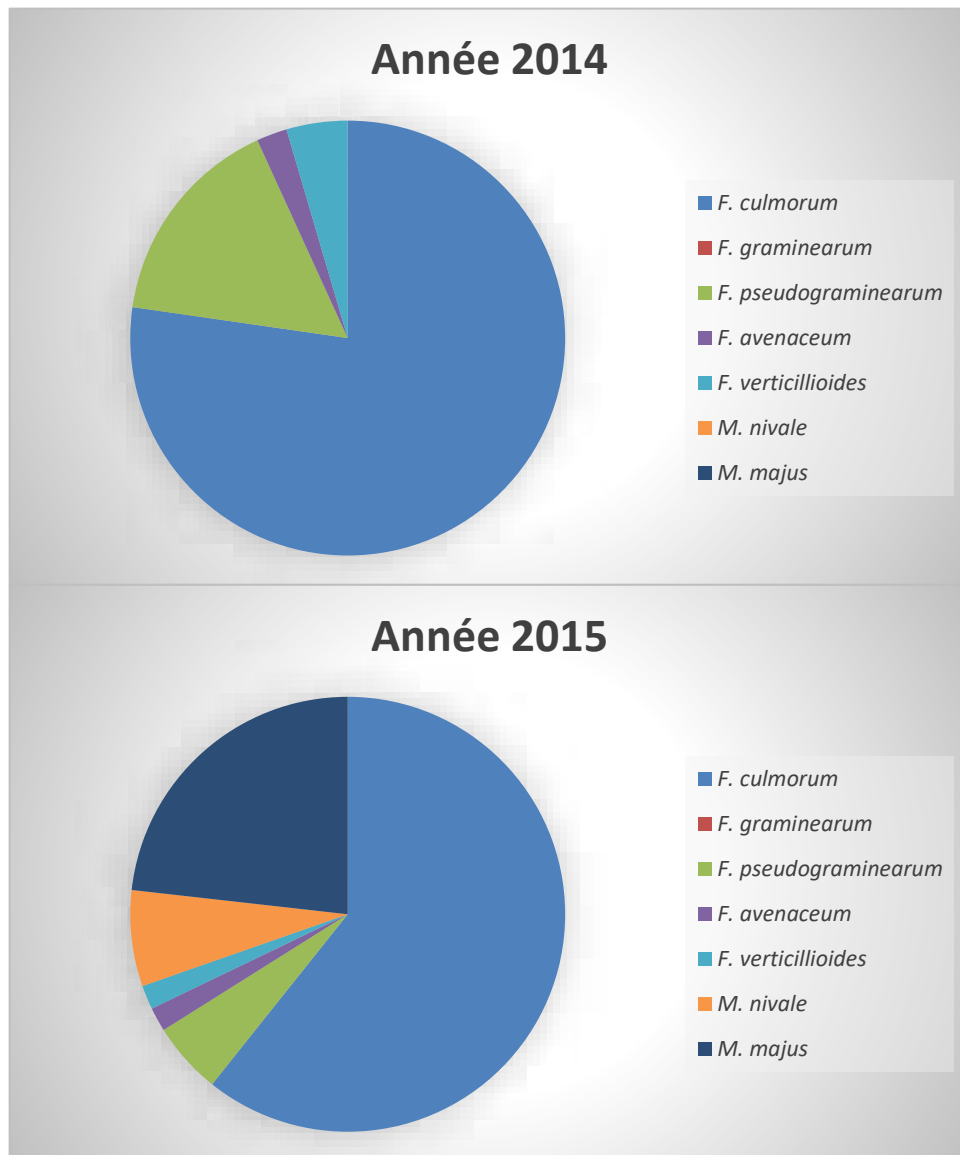
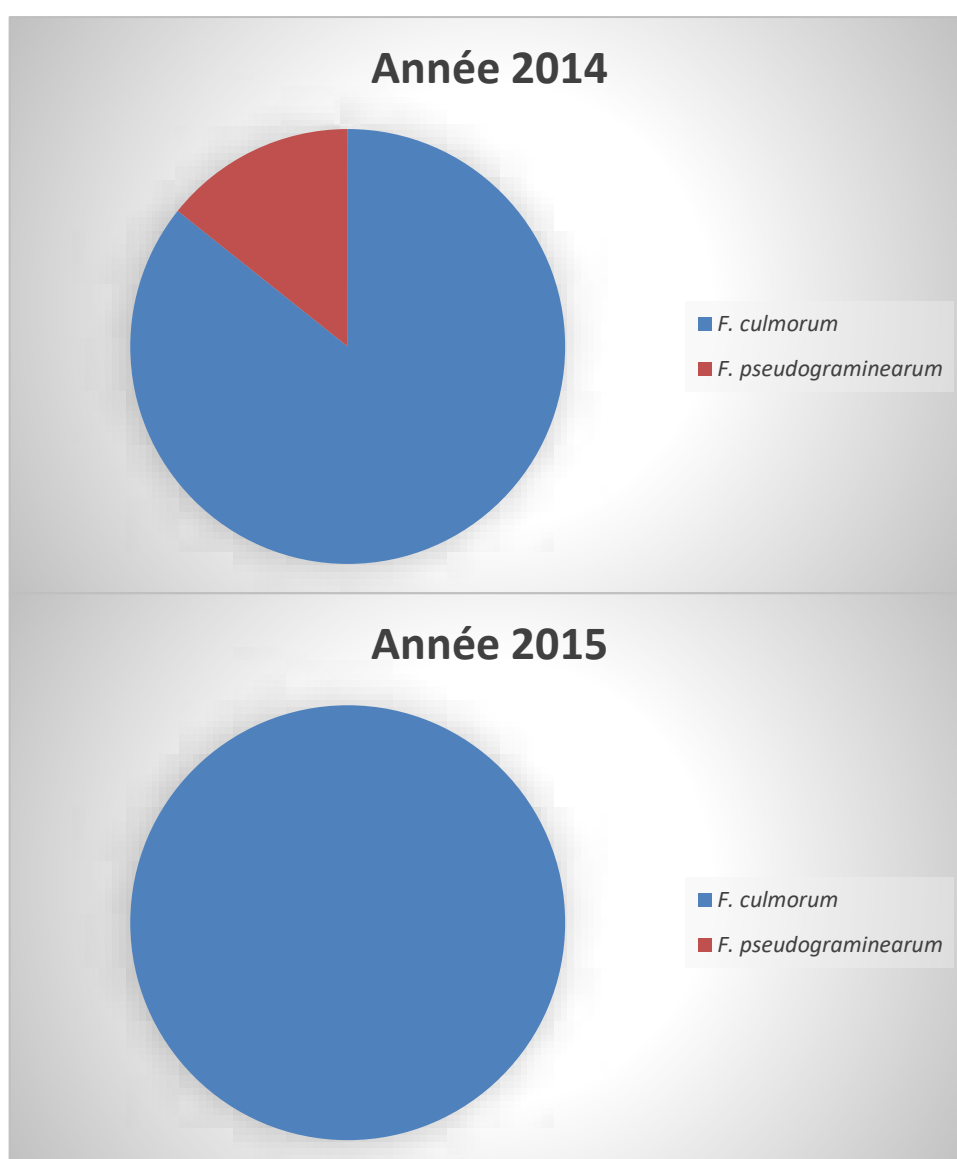


Figure 19. Les fréquences des espèces isolées à partir du collet durant les années 2014 et 2015.

Tableau 5. Les espèces de *Fusarium* isolées des épis et identifiées par PCR durant les années 2014 et 2015.

Espèces	Année 2014		Année 2015		Total 2 ans	
	nombre	%	Nombre	%	nombre	%
<i>F. culmorum</i>	6	85.7	10	100	16	94.1
<i>F. graminearum</i>	0	0	0	0	0	0
<i>F. pseudograminearum</i>	1	14.3	0	0	1	5.9
Total	7	100	10	100	17	100

**Figure 20.** Les fréquences des espèces isolées à partir des épis durant les années 2014 et 2015

II.3.5. Comparaison de la fréquence des espèces selon les deux années de prospection et selon les organes attaqués épi et collet

La comparaison des fréquences des espèces selon les organes montre clairement que les parties basales du blé sont les plus touchées par les agents de la fusariose et cela pendant les deux années de prospection (Fig. 21). Cependant, la fréquence des espèces ne diffère pas considérablement selon les années de prospection. L'espèce la plus dominante pour les deux organes (épi et collet) et pendant les deux années de prospection est *F. culmorum* ; 34 isolats de *F. culmorum* sont obtenus des collets durant l'année 2014 et le même nombre est obtenu durant l'année 2015. Cependant, 6 isolats sont obtenus des épis durant l'année 2014 et 10 isolats pour l'année 2015. L'espèce *F. pseudograminearum* est obtenue des collets et des épis durant l'année 2014 (7 isolats du collet et un isolat de l'épi), tandis que 3 isolats seulement sont obtenus des collets durant l'année 2015. Les espèces *F. avenaceum* et *F. verticillioïdes* sont obtenus avec de très faibles fréquences, un isolat de *F. avenaceum* est obtenu pour chaque année ; 2 et 1 isolats de *F. verticillioïdes* pour 2014 et 2015 respectivement. Pour les espèces du genre *Microdochium*, seuls les isolats de l'année 2015 sont considérés vu que ceux de 2014 ont été contaminés lors de la conservation avant qu'ils soient identifiés par les outils moléculaires.

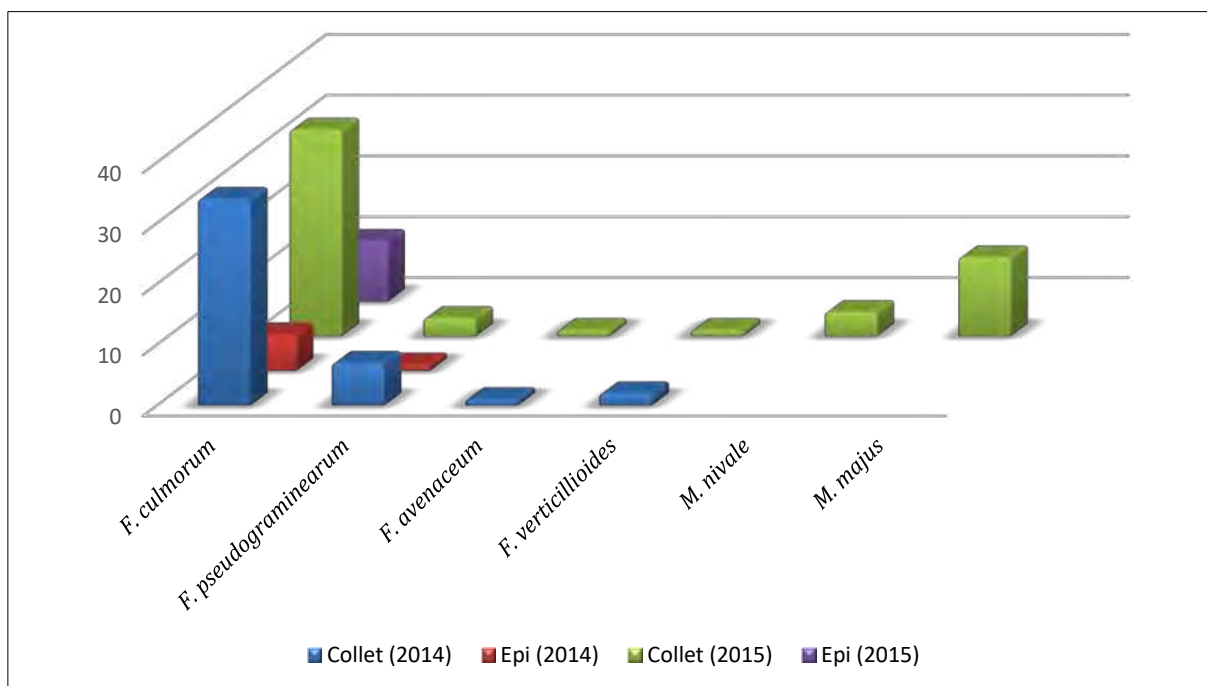


Figure 21. Le nombre des espèces des genres *Fusarium* et *Microdochium* isolées à partir des collets et des épis durant les années 2014 et 2015.

II.3.6. Distribution des deux maladies et des différentes espèces pathogènes qui leur sont associées dans les régions prospectées.

Les prospections réalisées ont montré une distribution hétérogène des deux maladies dans les régions prospectées. La pourriture du collet est la plus répandue, présente dans toutes les zones prospectées représentées par les étages bioclimatiques humide, subhumide et semi-aride, tandis que la fusariose de l'épi s'est limitée aux régions de l'est et du centre dans les étages bioclimatiques humide, subhumide et semi-aride et absente dans les régions de l'ouest caractérisées par un climat semi-aride et aride.

L'évaluation de la distribution des espèces dans les différentes wilayas a montré que *F. culmorum* est l'espèce la plus répandue, elle représente 68% du total des espèces isolées du collet et 94,1% du total des espèces isolées des épis, elle est présente dans la plupart des régions prospectées. Cette espèce est associée à la pourriture du collet dans les régions de l'ouest et associée aux deux maladies dans les régions du centre et de l'est. La deuxième espèce rencontrée est *Microdochium majus*, elle est obtenue uniquement des parties basales du blé (13% des espèces isolées du collet), elle est isolée de l'ouest dans la wilaya de Sidi Bel Abbès, au centre dans les wilayas de Tipaza et Bouira et à l'est dans les wilayas de Bordj Bou Arreridj, Sétif, Mila et Constantine. La troisième espèce rencontrée est *F. pseudograminearum*, cette espèce a été isolée à l'ouest dans les wilayas de Ain Témouchent et Mascara, au centre dans les wilayas de Ain Defla et Tizi-Ouzou, et à l'est dans les wilayas de Mila, Constantine et Guelma. *M. nivale* a été isolé du centre dans les wilayas de Tipaza et de Tizi-Ouzou et de l'est dans les wilayas de Bordj Bou Arreridj et Sétif. Avec une fréquence faible, *F. verticillodes* a été isolé à l'ouest dans la wilaya de Mascara et à l'est dans les wilayas d'Oum El Bouaghi et Guelma. *F. avenaceum* a été isolé du centre dans les wilayas de Blida et de Tizi-Ouzou (Fig. 22).

Des différences dans la distribution des espèces selon les étages bioclimatiques ont été notées, *F. culmorum* est distribué dans les étages bioclimatiques humide, subhumide et semi-aride, *F. pseudograminearum* est isolé des champs situés surtout dans le semi-aride à l'exception d'un isolat obtenu de la wilaya de tizi ousou (subhumide). Il est à noter aussi que le seul isolat de *F. pseudograminearum* obtenu de l'épi provient de la wilaya de Oum El bouaghi située dans l'étage bioclimatique semi-aride. L'espèce *M. majus* est distribué dans l'étage bioclimatique semi-aride à l'est et à l'ouest et on la rencontre aussi dans le subhumide au centre dans les wilayas de Bouira et de Tipaza. *M. majus* est distribuée dans le semi-aride à l'est et dans le subhumide au centre du pays. *F. verticillodes* est obtenue de l'étage bioclimatique semi-aride de l'est et de l'ouest, tandis que *F. avenaceum* est isolé de l'étage bioclimatique subhumide au centre du pays.

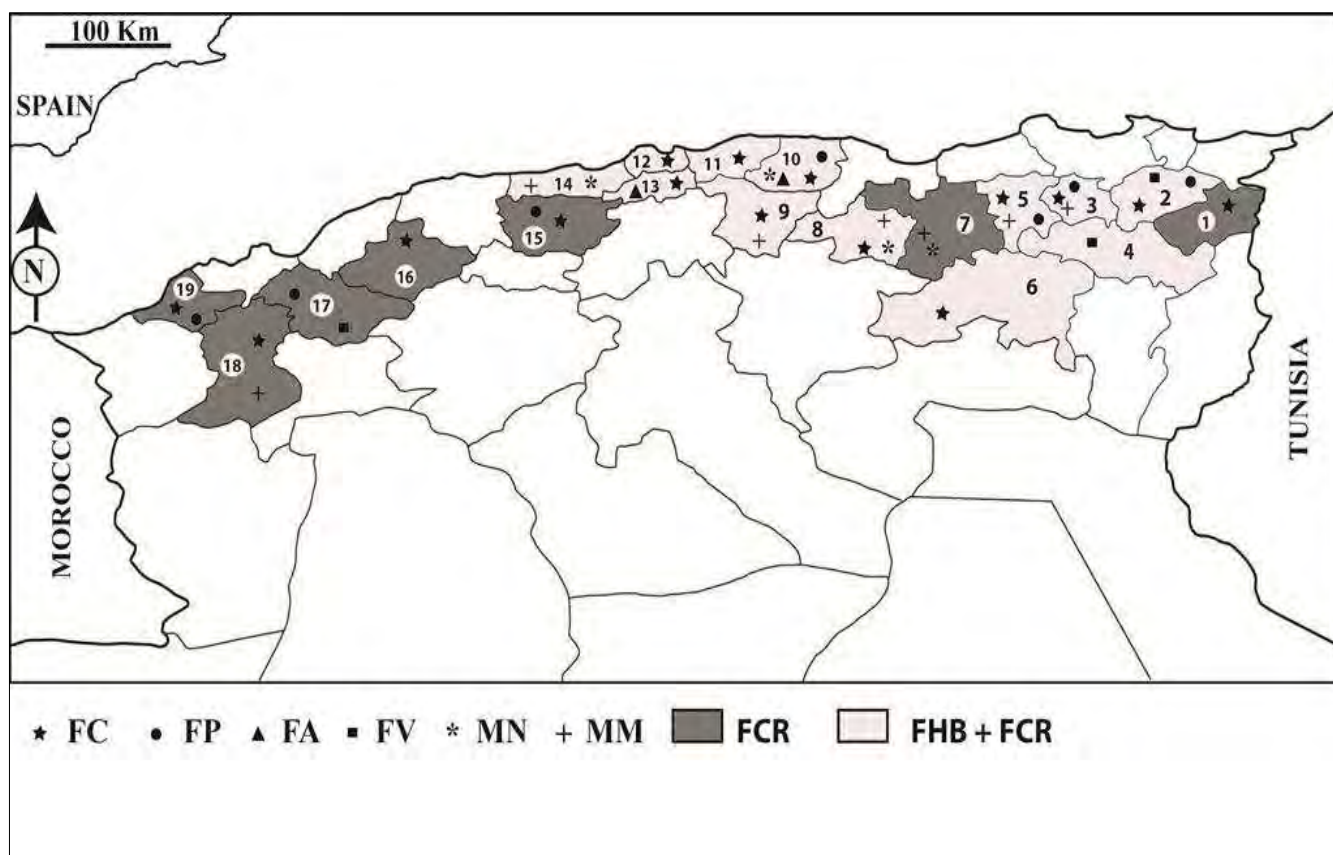


Figure 22. Carte géographique du nord de l'Algérie montrant la distribution de la fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé ainsi que les différentes espèces responsables de ces deux maladies (FC: *F. culmorum*, FP: *F. pseudograminearum*, FA: *F. avenaceum*, FV: *F. verticillioides*, MN: *M. nivale* et MM: *M. majus*) dans les zones prospectées durant les années 2014 et 2015. 1 Souk Ahres, 2 Guelma, 3 Constantine, 4 OumElBouaghi, 5 Mila, 6 Batna, 7 Sétif, 8 Bordj Bou Arreridj, 9 Bouira, 10 Tizi ousou, 11 Boumerdes, 12 Alger, 13 Blida, 14 Tipaza, 15 Aïn El Defla, 16 Relizane, 17 Mascara, 18 Sidi Bel Abbas, 19 Aïn Témouchent.

II.4. Discussion

Ce deuxième chapitre a été consacré à l'étude de la distribution de la fusariose de l'épi et de la pourriture du collet du blé dans les principales régions céréalières prospectées dans le nord du pays ainsi que l'identification des espèces qui leur sont associées.

Les résultats obtenus lors de cette étude ont montré la présence de la pourriture du collet dans la plupart des régions prospectées incluant l'est, l'ouest et le centre durant les deux années 2014 et 2015. Cela s'explique par les conditions climatiques favorables au développement de cette maladie. En effet, cette maladie constitue un problème chronique là où sont réunies les conditions de sécheresse et la monoculture du blé (Obanor et Chacrabarty, 2014). Ces deux conditions sont réunies dans la plupart des régions où est cultivé le blé en Algérie, en réalité, le blé est concentré beaucoup plus dans les zones semi arides (MADRP, 2016). Selon Beccari *et al.* (2018b) et Ullah *et al.* (2020), cette maladie s'aggrave avec les conditions de sécheresse. La pourriture du collet du blé est largement répandue dans les pays caractérisés par des climats aride et semi-aride du monde, y compris les autres pays du Nord de l'Afrique comme la Tunisie (Kammoun *et al.*, 2009, Gargouri *et al.*, 2011, Chekali *et al.*, 2013) et le Maroc (El Yacoubi *et al.*; 2012, Touhami et Douira, 2019), ainsi que l'Australie (Backhouse *et al.*, 2004, Obanor et Chacrabarty, 2014; Smith *et al.*, 2019), les États-Unis (Smiley *et al.*, 2005, Moya-Elizondo *et al.*, 2011), le Canada (Mishra *et al.*, 2006), la Nouvelle-Zélande (Bentley *et al.*, 2006), l'Afrique du Sud (Lamprecht *et al.*, 2006), la Syrie (Alkadri *et al.*, 2013), l'Iraq (Hameed *et al.*, 2012), l'Iran (Pouzeshimiab *et al.*, 2016; Saremi *et al.*, 2006), la Turquie (Tunali *et al.*, 2008), le sud de l'Italie (Scherm *et al.*, 2013), et la Chine (Ji *et al.*, 2016).

Lors des deux années de prospections, la fusariose de l'épi était moins fréquente et se limitait aux régions du centre et de l'est. Ces zones sont caractérisées par un climat humide et subhumide où la pluviométrie est relativement importante. Cette maladie est absente dans les régions de l'ouest au cours des deux années. Cette absence peut s'expliquer par les conditions climatiques de ces zones, défavorables à son développement; le nord-ouest de l'Algérie se caractérise par un climat semi-aride et généralement par une faible pluviométrie. Similairement, Kammoun *et al.* (2009) ont signalé la fusariose de l'épi en Tunisie uniquement au nord du pays dans les deux étages bioclimatiques subhumide et semi-aride supérieure. En effet, les facteurs climatiques sont connus comme déterminants pour le développement de la fusariose de l'épi (Langseth *et al.*, 1995). D'après Francl *et al.* (1999), l'humidité relative détermine la sévérité et l'intensité de la maladie, alors que la pluviométrie et la température influencent la quantité d'inoculum. En plus de ces conditions climatiques favorables, la susceptibilité des variétés à cette maladie peut amplifier sa présence et sa sévérité dans les champs de blé. Nos

résultats correspondaient aussi à ceux trouvés par Obanor et Chakraborty (2014), qui ont signalé qu'en Australie, la pourriture du collet était chronique et répandue dans toutes les régions productrices de blé, tandis que la fusariose de l'épi était limitée à certaines régions où les conditions humides dans le temps coïncident avec la floraison.

L'identification morphologique préliminaire des espèces isolées à partir des épis et des collets a permis la distinction de plusieurs genres dont le plus fréquent est le genre *Alternaria*, suivi par le genre *Fusarium* et le genre *Microdochium*, d'autres genres ont été aussi identifiés tel que *Epicoccum*. Plusieurs auteurs ont rapporté la concurrence entre les genres *Alternaria* et *Fusarium* chez le blé. Jevtić et al. (2019) ont trouvé un niveau de contamination par *Alternaria* supérieur au niveau d'infection par *Fusarium*, ils ont isolé *Alternaria* à partir de 80% des échantillons de graines de blé. Tittlemier et al. (2019) en analysant le blé canadien ont trouvé que la tentoxine, produite par *Alternaria* est la toxine la plus courante dans 90% des échantillons analysés. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés en Italie par Beccari et al., (2020a). De plus, lors des isollements effectués dans cette présente étude, il a été observé que les colonies d'*Alternaria* concurrençaient les colonies de *Fusarium* ou de *Microdochium* surtout si ces dernières apparaissent en retard et que leur vitesse de croissance est relativement faible. Cela suggère une certaine perte des isolats de l'agent pathogène due à l'envahissement du milieu de culture par *Alternaria*.

L'étude des principales espèces causant la pourriture du collet des blés algériens a montré la diversité de ces espèces dominées essentiellement par *F. culmorum*. Les espèces *M. majus*, *F. pseudograminearum*, *M. nivale*, *F. verticillioides* et *F. avenaceum* sont aussi obtenues des collets des plants de blé symptomatiques.

F. culmorum est l'espèce dominante isolée des collets du blé dans la plupart des régions prospectées. Ce résultat correspond à ceux obtenus dans des études antérieures menées dans d'autres pays méditerranéens tel que la Tunisie (Rebib et al., 2014, Oufensou et al., 2019), le Maroc (El Yacoubi et al., 2012), la Turquie (Tunali et al., 2008 ; Gebremariam et al., 2018), l'Italie (Scherm et al., 2013), et d'autres pays comme l'Irak (Matny et al., 2018) l'Iran (Eslahi, 2012) et la Nouvelle-Zélande (Bentley et al., 2006), où *F. culmorum* était l'espèce dominante en tant qu'agent causal de la pourriture du collet du blé.

F. pseudograminearum a été également recensé dans les régions caractérisées par un climat semi-aride de l'est, du centre et de l'ouest du pays. Nous rapportons ici l'identification de *F. pseudograminearum* pour la première fois sur blé en Algérie. Cette espèce est le principal agent causal de la pourriture du collet en Australie (Chakraborty et al., 2006 ; Obanor et chakraborty, 2014 ; Kazan et Gardiner, 2018 ; Alahmad et al., 2018). *F. pseudograminearum* a

été signalée en Tunisie (Kammoun et *al.*, 2009), la Nouvelle-Zélande (Bently et *al.*, 2006), l'Iran (Saremi et *al.*, 2007). Récemment, elle a été rapportée comme le principal agent de la pourriture du collet du blé en Chine (Zhou et *al.*, 2019 ; Deng, et *al.*, 2020). La présence prédominante de *F. pseudograminearum* en Australie en tant que principal pathogène de la pourriture du collet a été expliquée par les conditions environnementales relativement chaudes et sèches dans les zones céréalières australiennes (Chakraborty et *al.*, 2006). De même, des enquêtes menées dans le nord-ouest du Pacifique aux États-Unis ont montré que *F. pseudograminearum* est plus fréquent dans les régions chaudes et sèches (Poole et *al.*, 2013). En Europe elle a été isolée pour la première fois à partir des collets du blé dur en Espagne (Agustí-Brisach et *al.*, 2018).

On note dans cette étude l'absence de l'espèce *F. graminearum* dans toutes les régions prospectées. Cette espèce avec *F. culmorum* et *F. pseudograminearum* sont considérés parmi les agents causaux les plus importants de la pourriture du collet dans le monde. Cependant, elle est moins étudiée que ces deux dernière pour cette maladie (Winter et *al.*, 2019). Elle est rapportée dans plusieurs pays tels que la France (Ioos *al.*, 2004), les Etats-Unis (Dyer et *al.*, 2009) et l'Australie (Akinsamni et *al.*, 2004).

L'espèce *F. verticillioides* universellement associée à la culture du maïs a également été isolée des bases des tiges du blé. Sur la culture de blé cette espèce est non agressive et elle produit des quantités non significatives de fumonosines (Shephard et *al.*, 2005). Elle est présente dans les régions climatiques plus sèches et plus chaudes, telles que celles présentes dans les régions tempérées, semi-tropicales et tropicales, notamment européennes, méditerranéennes, africaines et les zones de culture du maïs du Moyen-Orient (Beccari et *al.*, 2020b).

L'espèce *F. avenaceum* a été représentée avec uniquement deux isolats. Cette espèce est rapportée comme agent de la pourriture du collet du blé dans plusieurs régions de monde. Elle a été isolée des collets du blé en Turquie (Gebremariam et *al.*, 2018). *F. avenaceum* est aussi associé à la fusariose de l'épi (Vogelgsang et *al.*, 2008). Récemment, elle avait été recensée comme espèce dominante isolée à partir des épis du blé dur au centre de l'Italie (Beccari et *al.*, 2018a).

Les isolats appartenant au genre *Microdochium* ont été identifiés comme *M. nivale* et *M. majus* et ils ont été isolés uniquement des collets de blé. *M. majus* est signalé pour la première fois sur blé en Algérie. En Tunisie *M. nivale* a été considéré comme le principal agent de la fusariose de l'épi en 2004 dans les régions du nord à climat subhumide et semi-aride (Kammoun et *al.*, 2009). Dans les régions froides et humides du nord de l'Europe, *M. nivale* et *M. majus* sont considérés comme les agents causaux les plus importants des fontes de semis (Simpson et *al.*, 2000; Waalwijk et *al.*, 2003; Ioos et *al.*, 2004; Abdelhalim et *al.*, 2020).

La fusariose de l'épi est moins fréquente que la pourriture du collet selon les résultats des prospections. Deux espèces sont identifiées à partir des épis, *F. culmorum* comme l'espèce prédominante et *F. pseudograminearum* représentée par un seul isolat obtenu dans la wilaya d'Oum El Bouaghi caractérisée par le climat semi-aride.

La prédominance de *F. culmorum* au niveau des épis concordent avec d'autres études menées en Tunisie (Kammoun et al., 2010) et au sud de l'Italie (Scherm et al., 2013). *F. culmorum* a été signalée comme le deuxième agent causal de la fusariose de l'épi du blé dans le monde (Miedaner et al., 2008; Yli-Mattila et al., 2013; Pasquali et Migheli, 2014). Jusqu' à présent le stade sexué chez ce champignon nécrotrophique demeure inconnu. Cependant, les deux mating-types ont été signalés dans plusieurs pays suggérant l'éventuelle existence du télemorphe chez ce champignon (Miedaner et al., 2001, 2008; Obanor et al., 2010; Çepni et al., 2013; Albayrak et al., 2016). Récemment, les deux mating-types ont été signalés aussi en Algérie (Laraba et al., 2017).

F. culmorum est fréquemment signalé comme le principal agent de la pourriture du collet et de la fusariose de l'épi dans la région méditerranéenne, ce qui est contraire aux situations de l'Europe centrale et du nord. Avant l'année 2000, *F. culmorum* était l'agent prédominant de la fusariose de l'épi dans le Nord, le Centre et l'Ouest de l'Europe. Cependant, depuis lors, un changement a été observé dans de nombreux pays européens où la dominance de *F. culmorum* semble être remplacée par *F. graminearum* sensu stricto (s.s.). Ce changement progressif peut s'expliquer par l'augmentation de la production du maïs ainsi que son utilisation en rotation avec le blé, ce qui favorise *F. graminearum* qui est l'espèce dominante sur cette culture. Autres causes du remplacement de *F. culmorum* par *F. graminearum* peut être lié à l'adaptation progressive de *F. graminearum* aux climats plus froids ou à l'augmentation enregistrée des températures moyennes provoquée par le changement climatique (Bilska et al., 2018).

Comme pour la pourriture du collet, on note l'absence de l'espèce *F. graminearum* dans toutes les régions prospectées. Cette espèce est considérée mondialement comme le principal agent causal de la fusariose de l'épi et comme un organisme modèle pour plusieurs études génétiques. *F. graminearum* était l'espèce la plus répandue durant huit ans de prospections en Suisse (Vogelgsang et al., 2019), elle était l'espèce dominante de la fusariose de l'épi en Chine (Li et al. 2019) en Ontario au Canada (Xue et al., 2019) et en Pologne (Góral et al., 2019). L'absence de cette espèce dans les échantillons analysés diminue les risques vu qu'elle est plus dangereuse du fait qu'elle secrète différents mycotoxines et que sa capacité de reproduction sexuée facilite sa dispersion via les ascospores qui peuvent être transportées à de longues distances par le vent (Keller et al., 2014). Cette absence peut être expliquée par les conditions

climatiques défavorables à son développement étant donné que la sécheresse est la principale contrainte de la céréaliculture algérienne. En effet, Beyer et *al.* (2014) et Bilska et *al.* (2018) ont remarqué que l'espèce *F. culmorum* était la moins inhibée par la sécheresse par rapport à *F. graminearum* et *F. poae*.

La deuxième espèce identifiée comme agent causal de la fusariose de l'épi est *F. pseudograminearum*. Bien que principalement associée à la pourriture du collet dans les régions sèches, *F. pseudograminearum* peut également causer la fusariose de l'épi surtout si des conditions humides existent pendant la floraison (Obanor et *al.*, 2013). Par exemple, *F. pseudograminearum* a contribué aux épidémies de la fusariose de l'épi survenues dans les années 80 (Burgess et *al.*, 1987) et des années 1990 (Southwell et *al.*, 2003), ainsi qu'en 2010-2011 (Obanor et *al.*, 2013), en Australie. Elle a également été observée de façon sporadique en Australie au cours de certaines années dans les cultures de blé irriguées par aspersion (Backhouse et *al.*, 2004). *F. pseudograminearum* a également été signalé sur des épis de blé dans la province du Hebei en Chine (Ji et *al.*, 2016). La fusariose de l'épi causée par *F. pseudograminearum* se caractérise par le développement d'épillets nécrotiques ou blanchis contaminés par la toxine fongique désoxynivalénol (DON) et ces symptômes sont similaires à ceux causés par le principal pathogène *F. graminearum* (Kazan et Gardiner, 2018).

Cette étude a montré la prévalence de la pourriture du collet dans la plupart des zones céréalières du nord de l'Algérie ainsi que la présence de la fusariose de l'épi qui se limite aux régions du centre et de l'est du pays. L'identification des espèces associées à ces deux maladies a montré la dominance de l'espèce *F. culmorum* et l'absence de *F. graminearum* qui est considérée mondialement comme étant le principal agent de la fusariose de l'épi. De plus, quatre espèces ont été signalées pour la première fois sur blé en Algérie. Il s'agit de *F. pseudograminearum*, *M. majus*, *F. verticillioides* et *F. avenaceum*. Vu que la composition des espèces associées à la fusariose peut varier d'une année à l'autre, des études régulières devraient être réalisées pour mettre en évidence les espèces existantes afin d'envisager des méthodes de lutte plus efficaces. Dans le chapitre suivant, nous allons étudier les chémotypes des principales espèces de la fusariose obtenues lors de cette étude.

Chapitre III : CHEMOTYPES DES PRINCIPALES ESPECES CAUSANT LA POURRITURE DU COLLET ET LA FUSARIOSE DE L'ÉPI DU BLE

III.1. Introduction

La fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé sont parmi les maladies les plus importantes et mondialement répandues sur blé. Dans le chapitre précédant nous avons identifié les principales espèces responsables de ces deux maladies sur blé dur et blé tendre en Algérie. En plus de la réduction du rendement, ces maladies affectent également la qualité du grain par l'accumulation des mycotoxines. Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par plusieurs genres de champignons, dont *Fusarium*, causant une grande préoccupation pour la santé humaine et animale. Les agents pathogènes associés à la fusariose de l'épi et à la pourriture du collet sur blé comprennent des espèces toxigènes appartenant au genre *Fusarium* et des espèces non toxigènes appartenant au genre *Microdochium*. La production des mycotoxines au sein des *Fusaria* diffère selon les espèces et même selon les isolats de la même espèce.

Les principales mycotoxines produites par les espèces du genre *Fusarium* associées au blé sont les trichothécènes. Les trichothécènes ont été classés en quatre groupes, mais le type A et le type B sont toxicologiquement les plus importants et les plus étudiés. La toxine T-2, la toxine HT-2 et le diacétoxyscirpénol (DAS) appartiennent tous au groupe A (Covarelli et al., 2015). Les trichothécènes de type B ou TCTB sont caractérisées en plus de leur fonction époxyde par la présence d'une fonction cétone en position C8 (Balzer et al. 2004). Les molécules constituant les TCTB sont le déoxynivalénol (DON) et ses formes acétylées en position C3 (3-ADON) ou en position C15 (15-ADON), le nivalénol (NIV) et sa forme acétylée en position C4, la fusarénone X (FX). Une souche de *Fusarium* ne peut produire qu'un seul type de TCTB avec un seul type de dérivé acétylé. On parle de chémotype. Certaines souches présentent donc un chémotype DON/15-ADON, ou DON/3-ADON et d'autres un chémotype NIV/FX (Pasquali et Migheli, 2014; Maeda et al., 2020).

Le DON et le NIV ne diffèrent que par leur C4; le NIV a un groupe hydroxyle à cette position tandis que le DON ne l'a pas (Fig. 23). Ces changements peuvent affecter grandement la toxicité, différentes mycotoxines ont des effets toxicologiques différents. Le NIV est plus toxique que le DON pour l'homme et les animaux domestiques, tandis que les dérivés acétylés du DON sont plus toxiques pour les céréales que le NIV (Desjardins, 2006 ; Tok and Arslan, 2016). Les

trichothécènes tels que le DON sont des inhibiteurs puissants de la biosynthèse des protéines eucaryotes (Van der Lee et al., 2015). Les trichothécènes sont hautement phytotoxiques et jouent également un rôle important comme facteurs de virulence (Pasquali et Micheli, 2014). Selon Beccari et al. (2018b), les isolats les plus agressif des trois espèces de *F. culmorum*, *F. pseudograminearum* et *F. graminearum* sont ceux qui sont aptes d'accumuler les plus grandes concentrations du DON dans les tissus de la tige, lors de leur colonisation, suite à l'inoculation du collet des plants de blé. Selon les mêmes auteurs, les isolats les plus agressifs induisent également les plus grandes concentrations du DON au niveau des tissus de l'épi et des graines, par translocation à partir du collet suite à l'inoculation. Néanmoins, Mudge et al. (2006) avait rapporté que la production du DON était induite durant la colonisation des tissus de la la base de la tige, mais que la production du DON n'est pas nécessaire pour provoquer les symptômes de la pourriture du collet sur blé. Dehghanpour-Farashah et al. (2019a) ont trouvé que la virulence des isolats de *Fusarium* produisant des trichothécènes était plus élevée que celle des isolats non producteurs de trichothécènes.

Les chémotypes DON et NIV peuvent être observés dans les mêmes régions géographiques et généralement l'un des chémotypes est prédominant (Tok and Arslan, 2016). Il est donc important d'obtenir des informations sur les chémotypes qui dominent dans une région géographique donnée afin de réduire le risque de contamination des denrées alimentaires ou des aliments pour animaux.

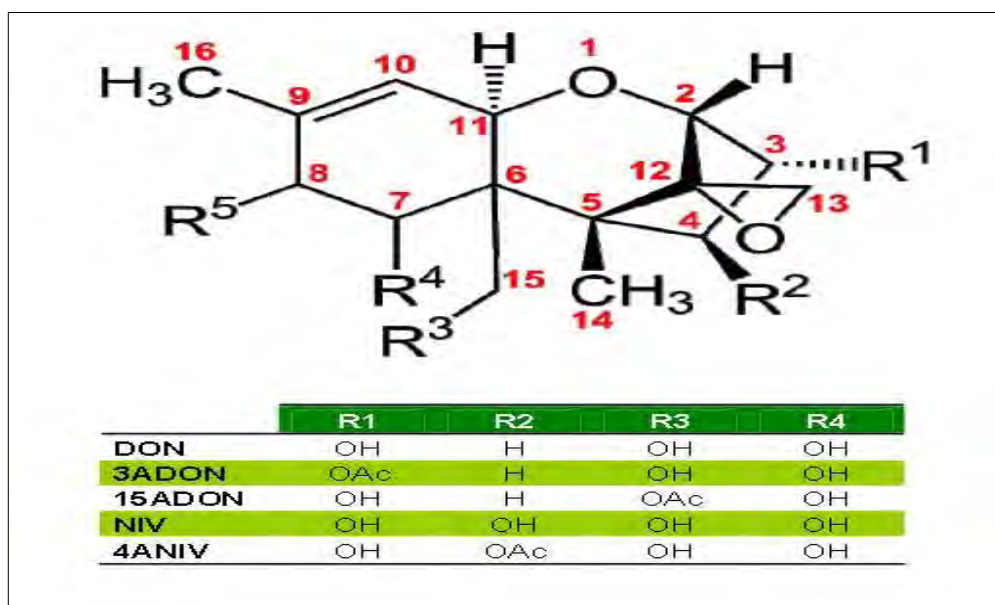


Figure 23. Structure chimique des trichothécènes de type B (Merhedj, 2010)

De nombreux gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des trichothécènes ont été identifiés et nommés gènes *Tri*, mais quelques-uns demeurent inconnus. Ainsi, 16 gènes *Tri* ont été dénombrés dont 12 d'entre eux sont regroupés en cluster *Tri* (Brown *et al.*, 2004). D'autres gènes sont situés hors cluster. Trois autres loci ont été identifiés : l'un est composé du gène *Tri101* (Kimura *et al.*, 1998), un autre comporte le *Tri15*, et le dernier comprend les gènes *Tri16* et *Tri1* (Brown *et al.*, 2003; Meek *et al.*, 2003; McCormick *et al.*, 2004).

Kulik *et al.* (2017) ont récemment rendu compte de l'utilité du gène *Tri12* pour l'identification des génotypes des trichothécènes. Les polymorphismes des séquences qui bordent ce gène semblent être liés à des chémotypes spécifiques qui rendent ces régions pertinentes pour le développement des amorces dans la détection basée sur la PCR. Le gène *Tri12* a également été utilisé pour le développement d'outils pour la q-PCR (PCR quantitative appelée également PCR en temps réel), ainsi pour la détection et la quantification des producteurs de NIV, 3-ADON et 15-ADON dans les semences de blé. Nielsen *et al.* (2012) ont également utilisé la q-PCR pour quantifier les chémotypes des différents échantillons de semences (blé, orge, triticale, seigle et avoine) au Danemark (Villafana *et al.*, 2019). Kulik *et al.* (2017) ont utilisé les sondes Taqman tandis que Nielsen *et al.* (2012) ont utilisé un agent intercalant, le SYBRGREEN®.

L'objectif de ce chapitre est de déterminer les chémotypes des principales espèces causant la fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé en Algérie. Ainsi, la technique de q-PCR a été utilisée pour déterminer les chémotypes des isolats de *F. culmorum* et de *F. pseudograminearum*.

III.2. Matériel et méthodes

Pour identifier les chémotypes des espèces de *Fusarium*, 67 isolats provenant de différentes régions ont été sélectionnés pour des analyses de PCR en temps réel. Ces isolats ont été déjà identifiés par des amorces spécifiques par PCR classique et ils appartiennent à deux espèces *F. culmorum* et *F. pseudograminearum*. Ces deux espèces ont été choisies parce qu'elles sont les principaux agents causaux toxigènes de la fusariose du blé en Algérie (voir chapitre 2). Des amorces spécifiques de la séquence du gène *Tri 12* de chaque chémotype ont été utilisées pour caractériser les chémotypes produisant du NIV ou du DON (L. Pinson-Gadai, communication personnelle).

Le principe de la PCR en temps réel repose sur la possibilité de suivre la quantité d'ADN présente dans la réaction à tout instant. Des sondes fluorescentes se fixent soit sur l'ADN

double brin (technologie SYBR) ou sur une séquence d'ADN précise (technologie Taqman). Ces sondes ne fluorescent qu'une fois fixées à l'ADN (soit à cause d'un « quencher » soit car la fluorescence nécessite un ADN double brin). Un seuil de fluorescence est établi par le programme de l'appareil de PCR en temps réel. Une fois que la quantité d'ADN permet aux sondes fluorescentes de dépasser ce seuil alors on obtient un numéro de cycle PCR appelé « Cp » qui veut dire Crossing point.

L'amplification du fragment du gène Tri12 a été évaluée dans un volume réactionnel final de 10 µl, en utilisant le kit LightCycler® TaqMan® Master (Roche Applied Science, France). Le mélange contient 1 µl de chaque échantillon d'ADN (20 µg/µl) ; 5,2 µl de H₂O qualité PCR ; 2 µl du mélange réactionnel LC Fast Start TaqMan 5X (kit PCR Quanti FastSyber Green) ; 0,25 µl de chaque amorce ; 0,5 µl de la sonde et 0,8 µl du MgCl₂. Les amorces ont été utilisées à une concentration finale de 0.5 µM et la sonde à une concentration de 0.1µM tandis que le MgCl₂ a été supplémenté au mélange réactionnel de La PCR à une concentration finale de 3mM pour le DON/3A-DON et 5mM pour NIV/FX. Les analyses par PCR en temps réel ont été réalisées à l'aide du système LightCycler ® 2.0 et du logiciel LightCycler 4.05.

Pour identifier le chémotype 3-ADON, le couple d'amorce Tri12-3ADON-F et R (20 µM) a été utilisé selon le programme d'amplification suivant, 94 ° C pendant 10 min, puis 45 cycles à 95 ° C pendant 10 s, 65 ° C pour 40 s et 72 ° C pendant 30 s et une étape d'extension finale à 72 ° C pendant 5 min. Les amorces Tri12Niv-Fx F et R (20 µM) ont été utilisées pour identifier le chémotype NIV / FX selon un programme de 10 min à 95 ° C suivie de 45 cycles de 10 s à 95 ° C, 40 secondes à 58 ° C et 30 secondes à 72 ° C, suivies d'une phase d'extension finale de 5 minutes à 72 ° C.

La fluorescence est mesurée à chaque fin de cycle. Après 45 cycles d'amplification, la courbe de dénaturation est tracée en faisant varier la température de 65°C à 95°C par paliers de 0,1°C/s avec mesure de la fluorescence à la fin de chaque palier. Une gamme de dilution a été préparée à partir du mélange standard. Pour chaque gène, l'efficacité de la PCR (*E*) a été déterminée grâce à la gamme de dilutions comme décrit par Ponts *et al.* (2007).

Analyse des résultats après la PCR quantitative : Dans la méthode de quantification absolue, l'appareil Ligth Cycler compare l'amplification d'un ADN cible d'un échantillon inconnu à une courbe standard préparée avec des concentrations connues de ce même ADN cible. Les courbes standard ont été générées par dilution en série d'ADN de *F. culmorum* (20 ng à 0.002 ng) (Ponts *et al.*, 2007). L'émission de fluorescence est mesurée à la fin de chaque étape d'élongation pour chacun des cycles, permettant ainsi de suivre l'augmentation de la quantité d'ADN amplifié durant la réaction. Pour chaque couple d'amorce l'efficacité de la PCR (*E*) a été déterminée en

utilisant une courbe standard générée en traçant les valeurs de crossing point "Cp" (points de passage), contre les valeurs de log des facteurs de dilution de l'ADN. E est obtenue à partir de la pente de la régression linéaire: $E = 2 (10^{-1/\text{Slope}})$ avec $E_{\text{max}} = 2$ ($E = 100\%$). Les courbes standard ont été générées par dilution en série d'ADN de 20 ng/μl à 0.002 ng/μl de l'ADN de *F. culmorum* 3-ADON (INRA 268).

III.3. Résultats

III.3.1. Chémotypes des espèces

Le deuxième objectif de cette thèse était de déterminer les chémotypes des principales espèces isolées des épis et des collets du blé. Etant donné que les espèces du genre *Microdochium* ne produisent pas de mycotoxines, donc les espèces testées sont *F. culmorum* et *F. pseudograminearum*. Les valeurs de crossing point (Cp) mesurées ont montré que tous les isolats de *F. culmorum* provenant des épis (n= 14) sont du chémotype 3-ADON. Cinquante-trois (53) isolats de *F. culmorum* isolés à partir du collet ont été étudiés, les résultats de la q-PCR ont révélé que la majorité appartient au chémotype 3-ADON (n=49) tandis que 4 isolats uniquement sont du chémotype NIV (Tableau 6, Fig. 24, Fig. 25). Les isolats considérées comme étant du chémotype 3-ADON ont montré les mêmes valeurs du Cp que le témoin positif 117 INRA (Bordeaux), tandis que les isolats du chémotype NIV présentent les mêmes valeurs du Cp que les souches de références 243 INRA (INRA-Bordeaux, témoin positif du chemotype NIV).

Le chémotype 3-DON a été distribué dans la plupart des régions prospectées, tandis que le chémotype NIV est identifié à partir des plants prélevés dans les wilayas de Ain Defla, Batna et Tizi-Ouzou. Les 5 isolats de *F. pseudograminearum* obtenus à partir des collets sont du chémotype 3-ADON à l'exception d'un isolat qui s'est avéré non producteur de trichothécènes de type B. Les isolats de *F. pseudograminearum* à chémotype 3-ADON proviennent des wilayas de Constantine, Mila, Mascara et Ain Defla (Tableau 7).

Tableau 6. Chémotypes des isolats de *F. culmorum* (FCC et FCE) et des isolats de *F. pseudograminearum*

Espèce	3-ADON	NIV	Total
<i>F. culmorum</i> isolé des épis	14	0	14
<i>F. culmorum</i> isolé du collet	49	4	53
<i>F. pseudograminearum</i>	4	0	5
Total	67	4	72

Tableau 7. Résultats de la q-PCR déterminant les chémotypes des isolats de *F. culmorum* et de *F. pseudograminearum* déterminés par les valeurs de Cp (Crossing point).

Isolats	Région d'isolement	Organe	Année (récolte)	Espèce	Cp 3-ADON	Cp NIV	Chémo-type
F1.1	Constantine	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	21,49	-	3-ADON
F1.3	Constantine	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	20,04	-	3-ADON
F1.4	Constantine	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>	21,69	-	3-ADON
F1.5	Guelma	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	21,66	-	3-ADON
F1.6	Guelma	Epi	2014	<i>F. culmorum</i>	20,62	-	3-ADON
F1.7	Guelma	Epi	2014	<i>F. culmorum</i>	21,32	-	3-ADON
F1.9	Boumerdes	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	21,84	-	3-ADON
F1.10	Boumerdes	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	21,28	-	3-ADON
F1.11	Boumerdes	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	21,11	-	3-ADON
F1.12	Boumerdes	Epi	2014	<i>F. culmorum</i>	21,28	-	3-ADON
F1.13	Boumerdes	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	21,85	-	3-ADON
F1.14	Boumerdes	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	21,51	-	3-ADON
F1.15	Boumerdes	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	21,36	-	3-ADON
F1.17	Tizi-Ouzou	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	22	-	3-ADON
F1.18	Tizi-Ouzou	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	20,89	-	3-ADON
F1.19	Tizi-Ouzou	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	21,3	-	3-ADON
F1.20	Tizi-Ouzou	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	22,27	-	3-ADON
F1.21	Tizi-Ouzou	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	22,28	-	3-ADON
F1.22	Alger	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	20,99	-	3-ADON
F1.23	Alger	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	21,33	-	3-ADON
F1.24	Mila	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	22,1	-	3-ADON
F1.25	Mila	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	20,66	-	3-ADON
F1.26	Mila	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	21,73	-	3-ADON
F1.27	Mila	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	21,28	-	3-ADON
F1.28	Mila	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>	21,67	-	3-ADON
F1.30	Blida	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	12,22	-	3-ADON
F1.31	Blida	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	36,17	-	3-ADON
F1.33	Souk Ahras	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	21,08	-	3-ADON
F1.37	Mascara	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>	27,33	-	3-ADON
F1.38	Ain defla	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>	31,94	-	3-ADON
F1.39	Ain defla	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	Rien-	21,2	NIV
F1.40	Ain defla	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	27,69	-	3-ADON
F1.42	Ain Témouchent	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>	Rien	Rien	Rien

F1.44	Guelma	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	28,91	-	3-ADON
F1.45	Guelma	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	29,39	-	3-ADON
F1.46	Guelma	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	30,26	-	3-ADON
F1.47	Guelma	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	32,51	-	3-ADON
F1.48	Guelma	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	29,56	-	3-ADON
F1.49	Guelma	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	32,95	-	3-ADON
F1.50	Guelma	Epi	2014	<i>F. culmorum</i>	31,28	-	3-ADON
F1.51	Batna	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	> 40	22,41	NIV
F1.52	Bouira	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	31,26	-	3-ADON
F1.53	Bouira	Epi	2014	<i>F. culmorum</i>	31,61	-	3-ADON
F1.55	Bouira	Epi	2014	<i>F. culmorum</i>	32,18	-	3-ADON
F2.4	AïnTémouchent	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	22,99	-	3-ADON
F2.7	A defla	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	>35.0	27.88	NIV
F2.20	Relizane	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	22,77	-	3-ADON
F2.24	Sidi Bel Abbès	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	23,18	-	3-ADON
F2.25	Boumerdes	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	22,94	>35.0	3-ADON
F2.26	Boumerdes	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	24,26	-	3-ADON
F2.32	Tizi-Ouzou	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	23,48	-	3-ADON
F2.35	Tizi-Ouzou	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	23,28	-	3-ADON
F2.37	Tizi-Ouzou	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	-	26.84	NIV
F2.43	Tizi-Ouzou	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	22,72	-	3-ADON
F2.46	Tizi-Ouzou	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	23,02	-	3-ADON
F2.48	Tipaza	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	24,21	-	3-ADON
F2.49	Tipaza	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	22,66	-	3-ADON
F2.52	Blida	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	22,57	16,44	3-ADON
F2.56	Bouira	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	22,57	-	3-ADON
F2.63	Constantine	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	23,07	-	3-ADON
F2.66	Mila	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	22,65	-	3-ADON
F2.69	Mila	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	22,79	-	3-ADON
F2.71	Bordj BouArreridj	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	24,48	-	3-ADON
F2.72	Bordj Bou Arreridj	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	22,85	-	3-ADON
F2.76	Batna	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	23,20	-	3-ADON
F2.79	Batna	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	23,11	-	3-ADON
F2.80	Batna	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	22,01	15,07	3-ADON
F2.92	Guelma	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	23,54	-	3-ADON
117 INRA (témoin positif 3-ADON)					20,42	-	3-ADON
243 INRA (témoin positif NIV)					-	20,36	NIV

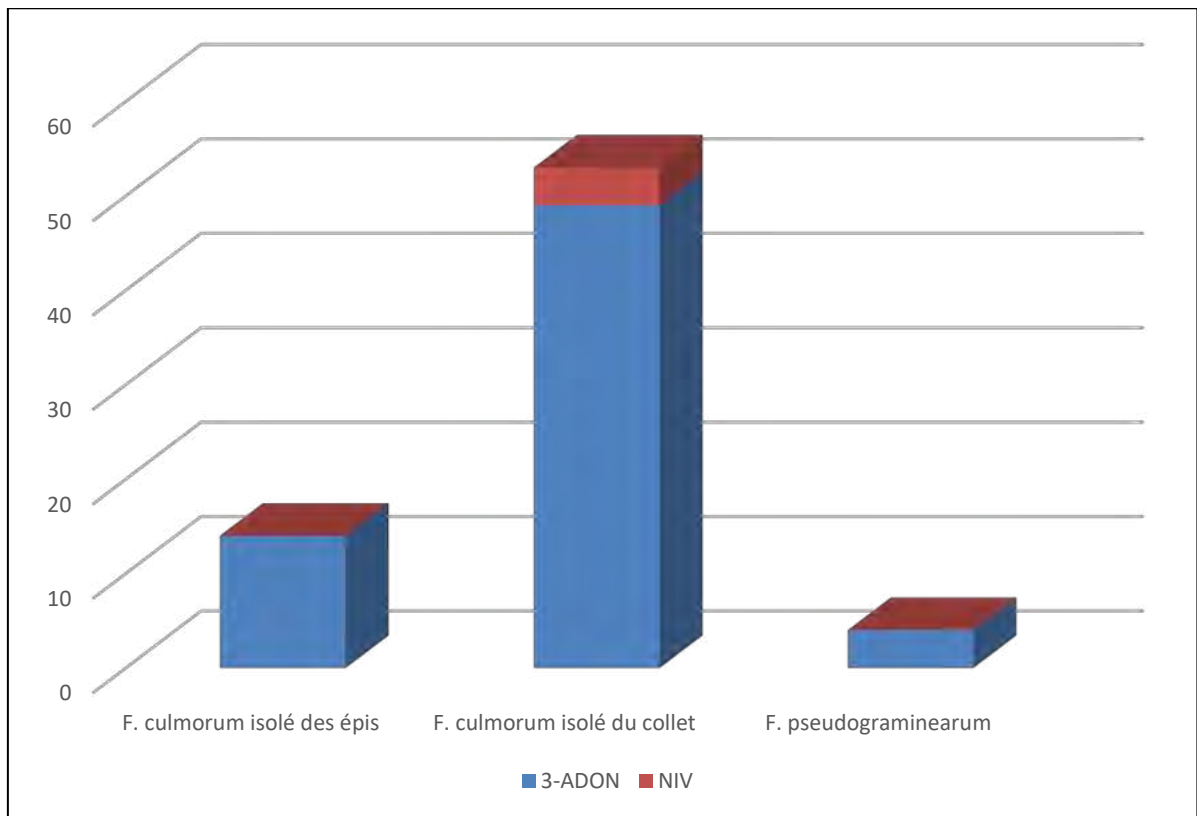


Figure 24. Les chémotypes des isolats de *F. culmorum* et *F. pseudograminearum* déterminés par q-PCR.

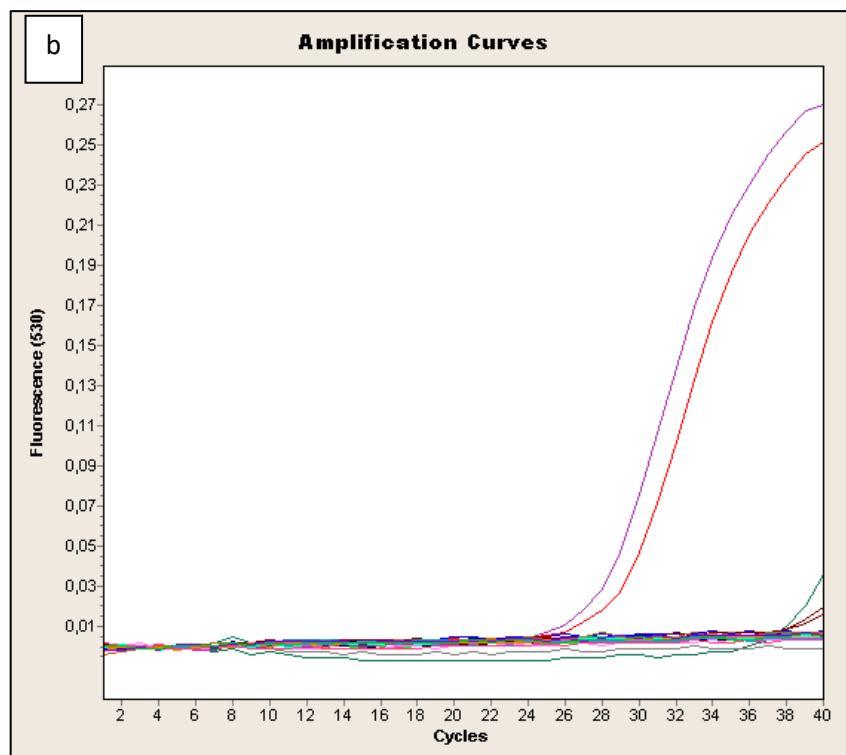
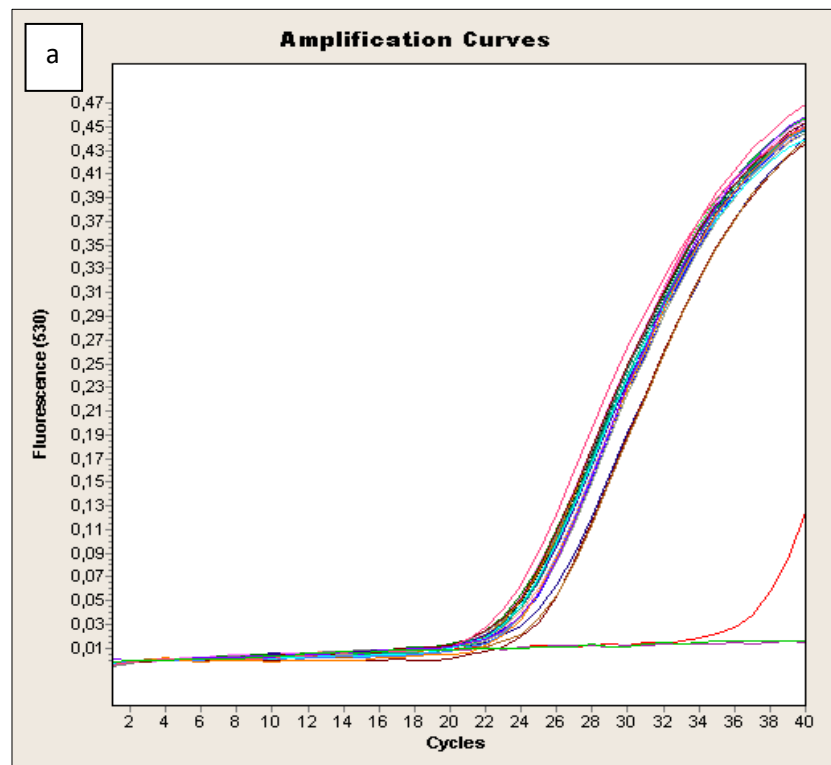


Figure 25. Profils de la q-PCR pour les chémotypes DON (a) et NIV (b).

III.4. Discussion

La détermination des chémotypes des isolats impliqués dans la pourriture du collet et la fusariose de l'épi du blé est primordiale pour obtenir des informations épidémiologiques sur la population colonisant le blé dans une zone donnée. Elle permet également d'informer sur le risque toxigène que la présence d'un certain chémotype peut avoir pour les denrées alimentaires ou l'aliment des animaux, dans la perspective à long terme de développer des modèles préventifs pour diminuer ce risque. Ce chapitre vise à déterminer les chémotypes des isolats de *F. culmorum* et de *F. pseudograminearum*, principaux agents toxigènes responsables de ces deux maladies en Algérie.

L'identification des chémotypes par l'usage de la PCR en temps réel a montré l'existence des deux chémotypes DON et NIV dans les blés algériens. Le chémotype NIV a été identifié uniquement chez les isolats de *F. culmorum* obtenus de la partie basale des plants du blé, et aucun isolat obtenu des épis n'a présenté ce chémotype. Les chémotypes NIV et DON ont été identifiés ensemble, en Europe et en Amérique du Sud, et le chémotype DON était dominant dans ces régions. Dans les pays asiatiques comme la Corée et le Japon, le chémotype NIV avait la plus grande distribution (Gale et *al.*, 2011; Lee et *al.*, 2002 ; Dehghanpour-Farashah et *al.*, 2018).

Le chémotype dominant des isolats de *F. culmorum* obtenus à partir du collet était le 3-ADON (n=49) et uniquement 4 isolats appartiennent au chémotype NIV. Ces résultats correspondent à ceux trouvés dans des travaux antérieurs en Algérie. Yekkour et *al.* (2015) ont rapporté que les 12 isolats de *F. culmorum* utilisés dans leur étude et obtenus des parties basales des cultures du blé et d'orge sont du chémotype 3-ADON. Logrieco et *al.* (2003) ont mentionné qu'en régions méditerranéennes, tous les isolats de *F. culmorum* analysés se sont avérés du chémotype 3-ADON. En Tunisie, Oufensou et *al.* (2019) ont rapporté la dominance du chémotype 3-ADON (96% 3-ADON et 4% sont NIV) chez les isolats de *F. culmorum* causant la pourriture racinaire du blé confirmant les résultats obtenus précédemment par Rebib et *al.* (2014). Matny et *al.* (2017) ont signalé la dominance du chémotype 3-ADON chez les isolats de *F. culmorum* causant la pourriture racinaire du blé en Iraq, tandis que le chémotype 15-ADON n'était pas détecté. Nos résultats sont cohérents avec ceux-ci et d'autres études démontrant la dominance du chémotype 3-ADON du *F. culmorum* associé à la pourriture racinaire dans le Moyen-Orient et sous différentes conditions climatiques (Yörük et Albayrak, 2012; Alkadri et *al.*, 2013; Mert-Turk et Gencer 2013; Motallebi et *al.*, 2015). La plupart des études menées sur le chémotype de *F. culmorum* chez le blé montrent la prévalence uniquement du 3-ADON et du NIV et l'absence du 15-ADON. Quarta et *al.* (2005) ont trouvé que les trois souches de *F. culmorum* de France, précédemment signalées comme producteurs de 15-ADON, avaient le chémotype 3-ADON

supportant ainsi l'hypothèse selon laquelle les isolats européens de *F. culmorum* produisant du désoxynivalénol n'appartiennent qu'au chémotype 3-ADON. Cependant la présence du chémotype 15-ADON de *F. culmorum* a été signalée sur blé en Turquie (Mert-Türk et Gencer, 2013).

La totalité des isolats de *F. culmorum* obtenus à partir des épis sont de chémotype 3-ADON. Les résultats de Touati-Hattab (2018) ont montré que 95% des isolats de *F. culmorum* isolés des graines du blé en Algérie sont du chémotype 3-ADON, et seulement 5% sur les 40 isolats se sont avérés de chémotype NIV. Ce résultat concorde avec des études antérieures, qui ont rapporté la dominance du chémotype DON associé à l'espèce *F. culmorum* causant la fusariose de l'épi. En Tunisie les résultats de Kammoun et al. (2010) ont donné des pourcentages de 98% (3-ADON) et de 2% (NIV). Miedaner et al. (2013) ont indiqué une dominance de 100% pour le chémotype 3-ADON en analysant des isolats de *F. culmorum* obtenus des épis du Syrie, de l'Allemagne et de la Russie. De même, Alkadri et al. (2013) ont révélé que les ratios sont de 60% pour le chémotype 3-ADON et 40% pour le NIV en Syrie. Ces résultats sont en accord avec des études précédentes réalisées dans les pays du nord de la Méditerranée, dont la Sardaigne (Balmas et al., 2015), l'Italie (Beccari et al., 2018a), la France (Boutigny et al., 2014), le Portugal, la Yougoslavie, la Pologne, la Russie, et la Hongrie (Logrieco et al., 2003; Pasquali et Migheli, 2014; Christ et al., 2011). La dominance du chémotype DON a été également rapportée en Allemagne (Tóth et al., 2004) et en Royaume-Uni (Jennings et al., 2004).

Les quatre isolats de *F. pseudograminearum* étaient du chémotype 3-ADON. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés dans d'autres pays notamment en Australie où la majorité des isolats de *F. pseudograminearum* produisent du 3-ADON (Chakraborty et al., 2006; Obanor et Chakraborty, 2014). En Nouvelle Zélande, Monds et al. (2005) ont signalé la production de 3-ADON et de NIV par *F. pseudograminearum*. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Dehghanpour-Farashah et al. (2018) qui ont signalé la production de DON et de NIV par ce champignon. Le rôle du DON dans la pathogénèse chez *F. pseudograminearum* pendant la pourriture racinaire n'est pas encore bien compris, mais le DON semble être nécessaire pour la propagation du champignon de la base de la tige aux entre-nœuds supérieurs (Powell et al., 2017). Il a été prouvé également que *F. pseudograminearum* produit plus de DON pendant l'infection des plantes que pendant la croissance saprophyte (Tunali et al., 2012), suggérant que la plante hôte peut induire la production du DON chez l'agent pathogène. Dans une étude en conditions contrôlées, l'infection des tiges du blé par *F. pseudograminearum* a également conduit à l'accumulation de DON dans les épis des plants infectés, bien que les niveaux de toxines étaient bien inférieurs à ceux couramment observés après une infection à *F. graminearum* des épis de blé (Mudge et al., 2006). Powell et al. (2017) suggèrent que le DON peut contribuer dans la

virulence de *F. pseudograminearum*. De plus, Beccari et al. (2018b) ont constaté que le DON peut être transporté vers les épis après une inoculation des bases des tiges du blé par les isolats les plus agressifs de *F. graminearum*, *F. pseudograminearum* et *F. culmorum*.

D'une façon générale, le DON est plus dominant que le NIV mais les facteurs influençant leur distribution restent encore mal compris. Covarelli et al. (2015) ont suggéré que les conditions climatiques peuvent fortement affecter l'occurrence de 3-ADON et 15-ADON, alors que la contamination par le NIV peut se produire indépendamment des conditions climatiques. Gosman et al. (2010) ont montré une croissance plus rapide des individus de *F. graminearum* du chémotype DON dans les épis, par rapport à ceux de chémotype NIV. En effet plusieurs auteurs rapportent que le DON est produit par *F. graminearum* et *F. culmorm* dans le blé et l'orge dans les régions tempérées à prédominance chaude (Kebede et al., 2020).

Pour minimiser le risque des fusariotoxines sur blé, il est indispensable de caractériser les espèces de *Fusarium*, associées à la fusariose en termes de leur production en mycotoxines. Le chémotypage génétique est un outil essentiel pour caractériser les populations de *Fusarium* infectant le blé mais la présence d'un produit d'amplification reflète la possibilité qu'une toxine particulière soit produite, cependant, la biosynthèse de la toxine reste à confirmer par analyse chimique. Il est important de souligner que sans une identification chimique appropriée des différents types de trichothécène B, les méthodes génétiques ne peuvent pas être considérées comme suffisantes pour déterminer avec précision la capacité de produire la toxine par n'importe quel isolat.

De plus, il est à souligner que la plupart des isolats analysés au cours de cette étude sont obtenus à partir des collets des plants dont les épis n'ont pas présenté des *Fusaria* lors des isolements. Si cette information signifie que le risque de la mycotoxine produite est minime puisque la partie basale n'est pas consommée par les humains, des études ont montré la translocation des mycotoxines des collets aux épis (Mudge et al., 2006 ; Beccari et al., 2018b). D'où l'intérêt d'analyser les graines du blé obtenues à partir des plants atteints de la pourriture racinaire même si le champignon n'est pas présent au niveau des épis et cela est faisable en analysant directement les parties de l'épi sans passer par l'isolement de l'agent pathogène.

Chapitre IV : ETUDE DE LA PATHOGENICITE DES PRINCIPALES ESPECES ASSOCIEES A LA FUSARIOSE DU BLE

IV.1. Introduction

L'identification des espèces de *Fusarium* et de *Microdochium* associées à la fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé a montré une diversité du complexe fusarien qui attaque le blé en Algérie. Six espèces ont été identifiées, du collet : *F. culmorum*, *M. majus*, *F. pseudograminearum*, *M. nivale*, *F. verticillioides* et *F. avenaceum*; et deux espèces ont été identifiées de l'épi : *F. culmorum* et *F. pseudograminearum*. Pour les deux organes épi et collet, l'espèce *F. culmorum* s'est montrée prédominante. Les agents de la fusariose peuvent attaquer le blé pendant tout son cycle de développement allant de la graine jusqu'à la formation de l'épi et le remplissage des graines, induisant ainsi des fontes de semis, des pourritures du collet et la fusariose de l'épi.

L'analyse des échantillons récoltés lors des prospections effectuées durant cette étude a montré que les deux espèces *F. culmorum* et *F. pseudograminearum* ont été associées à la fois à la pourriture du collet et à la fusariose de l'épi. Les autres espèces identifiées comme *M. majus*, *M. nivale*, *F. verticillioides* et *F. avenaceums* ont toutes été obtenues du collet. Cette diversité des espèces et des symptômes de la fusariose chez le blé rend la situation plus délicate à comprendre et jusqu'à aujourd'hui la spécificité des isolats vis-à-vis des organes reste à clarifier. L'étude de la pathogénicité et de l'agressivité de ces espèces aide à mieux comprendre l'épidémiologie du complexe fongique associé à la fusariose du blé afin d'entreprendre des stratégies de lutte appropriées.

Pour cela, ce quatrième chapitre de la thèse va être consacré à l'étude de la pathogénicité des principales espèces de la fusariose identifiées à savoir *F. culmorum*, *F. pseudograminearum* et *Microdochium* spp. Ces agents pathogènes vont être inoculés artificiellement au niveau des graines, des collets et des épis. Pour cela, 40 isolats (10 *F. culmorum* isolés du collet, 10 *F. culmorum* isolés des épis, 10 *F. pseudograminearum* et 10 *Microdochium* sp.) sont choisis de différentes régions prospectées afin d'être utilisés pour les différents tests de pathogénicité.

Le premier test consiste à inoculer les graines *in vitro* et les incuber à une température de 25°C pour estimer l'effet des isolats sur la croissance du coléoptile. La deuxième technique consiste à déposer des fragments mycéliens de l'agent pathogène à proximité des graines lors

du semis dans un sol stérilisé afin d'évaluer l'agressivité des isolats sur la base du collet. Pour la troisième technique, il a été procédé à inoculer des plantules de blé âgées de 2 semaines avec des suspensions de spores des agents pathogènes. Le dernier test consiste à l'inoculation artificielle des épis en plein champs au stade floraison afin d'estimer l'indice de maladie ainsi que la réduction de poids de milles graines (PMG). A la fin, des corrélations entre ces différents tests ont été calculées.

IV.2. Matériel et méthodes

IV.2.1. Matériel végétal et fongique

Le matériel végétal utilisé pour tous les tests de pathogénicité est la variété du blé dur Vitron. Elle est originaire d'Espagne, caractérisée par une paille haute à moyenne, un cycle végétatif demi-précoce, un tallage moyen, elle est mieux adaptée aux régions arides et semi-arides et elle a une bonne productivité (Bouthiba et al., 2009).

Le matériel fongique est constitué de 40 isolats appartenant aux deux principaux genres associés à la fusariose du blé *Fusarium* et *Microdochium*. Ce matériel comprend 10 isolats de *F. culmorum* isolés des collets (FCC), 10 isolats de *F. culmorum* isolés des épis (FCE), 10 isolats de *F. pseudograminearum* (9 isolés du collet et un isolat isolé de l'épi) et 10 isolats de *Microdochium* sp. Les informations concernant ces isolats sont détaillées au niveau du tableau 8. Avant de réaliser les tests de pathogénicité, une évaluation de la croissance fongique de ces isolats est effectuée à 25°C.

IV.2.2. Evaluation de la croissance mycélienne à 25°C

L'évaluation de la croissance fongique des 40 isolats utilisés dans les différents tests de pathogénicité est réalisée à 25°C. Un explant mycélien de 6 mm de diamètre prélevé des cultures âgées de 7 jours de chaque isolat est déposé au milieu des boîtes de Petri contenant le milieu PDA à raison de quatre répétitions par isolat. Les boîtes sont incubées à l'obscurité à 25°C pendant 4 jours, des mesures des diamètres des colonies sont effectuées chaque 24 heures.

Tableau 8. Les isolats utilisés dans les tests de pathogénicité

Isolats	Wilaya(commune)	Blé	Organe	Année d'isolement	Espèce	Chémo-type
FCC1	Blida (Boufarik)	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCC2	Constantine (Aïn Abid)	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCC3	Boumerdes (Issers)	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCC4	Constantine (Ain El Bey)	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCC5	Relizane (Relizane)	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCC6	Aïn Defla (Ouldkhlifa)	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	Non testé
FCC7	Mila (ChelghoumLaïd)	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCC8	Constantine (El Khroub)	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	Non testé
FCC9	Tizi Ouzou (Tizi Gheniff)	Dur	Collet	2015	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCC10	Souk Ahres(Sedrata)	Dur	Collet	2014	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCE1	Boumerdes (Issers)	Dur	Epi	2014	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCE2	Bordj Bou Arreridj (Aïn Taghrout)	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCE3	Batna (Ras El Aioun)	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCE4	Constantine (El Khroub)	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCE5	Tizi Ouzou (Draâ El Mizan)	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCE6	Guelma (El Fedjoudj)	Dur	Epi	2014	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCE7	Batna (Talkhamt)	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCE8	Batna (Talkhamt)	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCE9	Guelma (Djeballah khemissi)	Dur	Epi	2014	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FCE10	Mila (Chelghoum Laïd)	Dur	Epi	2015	<i>F. culmorum</i>	3-ADON
FP1	Tizi Ouzou (Tizi Gheniff)	Dur	Collet	2015	<i>F. pseudograminearum</i>	Non testé
FP2	Guelma (Guelma)	Dur	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>	Non testé
FP3	Mascara (Mascara)	Tendre	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>	Non testé
FP4	Constantine (Aïn Smara)	Dur	Collet	2015	<i>F. pseudograminearum</i>	Non testé
FP5	Boumerdes(Chabet El Aneur)	Dur	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>	3-ADON
FP6	Mila (Tadjenanet)	Dur	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>	3-ADON
FP7	Aïn Defla (Bir Ould Khelifa)	Dur	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>	Non testé

FP8	Aïn Témouchent (El Amria)	Dur	Collet	2014	<i>F. pseudograminearum</i>	Non testé
FP9	Oum El Bouaghi (Meskiana)	Tendre	Epi	2014	<i>F. pseudograminearum</i>	Non testé
FP10	Mila (Oued El Athmania)	Dur	Collet	2015	<i>F. pseudograminearum</i>	Non testé
M1	Sidi Bel Abbes	Dur	Collet	2015	<i>Microdochium</i> sp.	-
M2	Bouira	-	Collet	2014	<i>Microdochium</i> sp.	-
M3	Tipaza (Hmar El Aïn)	-	Collet	2015	<i>M.nivale</i>	-
M4	Tipaza (Hmar El Aïn)	-	Collet	2015	<i>Microdochium</i> sp.	-
M5	Tipaza (Sidi Rached)	Dur	Collet	2015	<i>Microdochium</i> sp.	-
M6	Boumerdes (Issers)	-	Collet	2015	<i>Microdochium</i> sp.	-
M7	Blida (Bouroumi)	-	Collet	2015	<i>Microdochium</i> sp.	-
M8	Bouira (Taghzout)	Dur	Collet	2015	<i>Microdochium</i> sp.	-
M9	Boumerdes (Issers)	Dur	Collet	2015	<i>Microdochium</i> sp.	-
M10	Tiziouzou (Draa El Mizan)	-	Collet	2015	<i>M.nivale</i>	-

IV.2.3. Effet des isolats de *Fusarium* spp. et de *Microdochium* spp. sur la croissance du coléoptile *in vitro*.

La technique adoptée est celle décrite par Mesterhazy (1983). Des flacons contenant 50 ml de bouillon de pomme de terre PDB (Potato Dextrose Broth) sont inoculés avec 4 explants mycéliens de 6 mm de diamètre pour chaque isolat de *Fusarium* spp. et de *Microdochium* spp. prélevés sur des cultures âgées de 7 jours. Les flacons sont incubés à la température ambiante sous agitation continue (250 rpm) pendant 7 jours. Au bout du 7^{ème} jour d'incubation, les cultures sont centrifugées (5000 tours, 10 min). Ainsi le mycélium est récupéré et dilué à 13,3 mg/ml dans du Tween 20 à 0,2 %.

Dans des boîtes de Petri de 85 mm de diamètre contenant le milieu PDA, une rondelle de papier filtre stérilisé (85 mm de diamètre) est placée sur le milieu, ensuite 8ml de mycélium (dilué dans le Tween 20 à 0,2 % et homogénéisé) sont déposés sur le premier papier filtre et couverts avec un 2^{ème} papier filtre stérile. Un nombre de 25 graines de blé préalablement désinfectées (un rinçage à l'hypochlorite du sodium à 2% suivi de deux rinçages à l'eau distillée stérile puis séchées à l'aide du papier Joseph stérile) sont déposées dans chaque boîte. Les boîtes contenant les graines inoculées par les différents isolats sont incubées à l'obscurité à 25°C à raison de quatre répétitions pour chaque isolat. Des boîtes témoins sont réalisées et incubées dans les mêmes conditions. Pour ces dernières, le mycélium dilué est remplacé par une humidification des graines par de l'eau distillée stérilisée. Les mesures de la croissance du

coléoptile sont effectuées au bout du 4^{ème} jours d'incubation. Les résultats sont exprimés par le pourcentage du retard de la croissance du coléoptile par rapport au témoin. Ces pourcentages sont calculés par la formule suivante :

$$\% \text{ RCC} = \frac{\text{Té} - \text{In}}{\text{té}} \times 100$$

Où % RCC est le pourcentage de retard de la croissance de coléoptile par rapport au témoin ; Té : la longueur moyenne des coléoptiles des boites témoins ; In : la longueur moyenne des coléoptiles des boites inoculées par les différents isolats.

IV.1.3. Etude de la pathogénicité des isolats de *Fusarium spp.* et *Microdochium spp.* sur le collet du blé

IV.1.3.1. Inoculation du collet par fragment mycélien

Ce test est réalisé selon la méthode de Demirci et Dane (2003). Les 40 isolats cités précédemment ont été utilisés pour ce test. Les plants de blé ont été cultivés dans des pots de 8 cm de diamètre contenant un mélange stérile de terre et de terreau (2/1). Quatre graines de blé stérilisées ont été semées dans chaque pot. Un fragment de 5 mm de diamètre de cultures de *Fusarium* ou de *Microdochium* âgées de 7 jours a été mis en contact direct avec chaque graine. L'inoculum et les graines ont été soigneusement recouverts par le mélange de sol. Pour le témoin, l'explant mycélien est remplacé par un explant de PDA de même diamètre. Les pots ont été placés dans la serre. Un dispositif complètement aléatoire avec six pots (deux pots ont été considérés comme une répétition) a été adopté (Fig. 27). Les plants de blé ont été arrosés tous les 2 jours, jusqu'au 50^{ème} jour, la fin de l'essai. Le semis a été réalisé le 16 Mars 2016 et les notations des résultats le 5 Mai 2016. A la fin de l'essai, les plants de blé ont été soigneusement retirés du sol. Pour l'évaluation de la pourriture du collet, une échelle de 0 à 3 comme décrit par Grey et Mathre (1984) a été utilisée : 0 = Absence de symptômes, 1 = 1-25% de brunissement du collet, 2 = 25-50% de brunissement du collet, 3 = > 50% de brunissement du collet (Fig. 26).

La sévérité de la maladie (SM) de chaque traitement a été calculée en utilisant l'indice de McKinney (1923), qui exprime le pourcentage de la gravité maximale de la maladie (à savoir 100), selon la formule : $SM = \frac{\sum (c \times f)}{n \times N} \times 100$
Où c = classe de maladie, f = fréquence, n = nombre d'observations et N = valeur maximale de l'échelle empirique adoptée (classe 3).

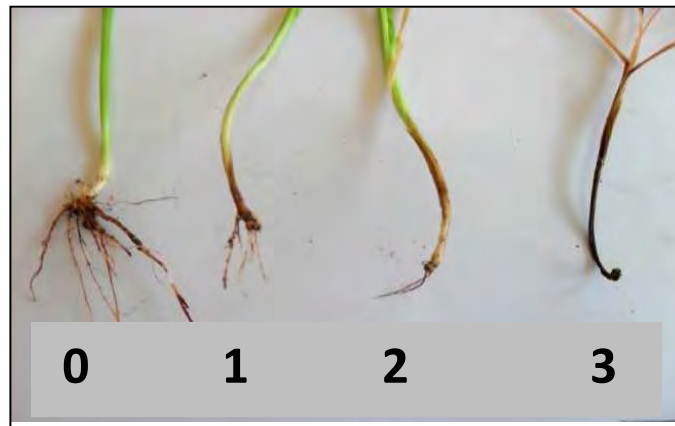


Figure 26. Echelle de notation de la sévérité de la maladie (de 0 à 3).

IV.1.3.2. Inoculation du collet par les suspensions de spores de l'agent pathogène

La technique adoptée est celle décrite par Motallebi et *al.* (2015). Pour ce test, le matériel fongique est constitué uniquement du groupe FCE (10 isolats de *F. culmorum* isolés à partir des épis). Des plants de blé ont été cultivés dans des pots de 8 cm de diamètre contenant un mélange stérile de terre et du terreau (2/1), puis les pots ont été placés dans la serre. Le semis a été réalisé le 10 Mars, l'inoculation le 24 Mars et la notation des symptômes le 28 Avril 2016. Cinq graines de blé préalablement désinfectées (comme indiqué précédemment) ont été semées dans chaque pot. Six pots sont consacrés pour chaque isolat (2 pots sont considérés comme une répétition) et six pots pour les plants témoins. Après 2 semaines du semis, au stade deux feuilles (GS 12 de Zadoks).

Les plantules de blé sont inoculées avec la suspension de spores d'une concentration de 2×10^5 spores/ml (à raison de 100 μ l pour chaque plantule) ou de l'eau distillée stérile pour les plants témoins. Les suspensions de conidies ont été préparées à partir de cultures des agents pathogènes âgées de 10 jours. Ces dernières ont été incubées sous lumière continue à 20°C. Le mycélium a été gratté et mis dans des flacons contenant de l'eau distillée stérile. Le mélange de mycélium, de macroconidies et d'eau a été filtré à travers deux couches de mousseline stérilisées.

Le sol autour des plantules a été retiré et l'inoculum a été déposé avec une micropipette au niveau du collet, 1-2 cm au-dessus du sol, pour permettre à la suspension d'atteindre la base de la tige. Le sol a ensuite été redéposé autour des plantules. Trois semaines après l'inoculation, chaque plantule a été soigneusement retirée du sol et lavée. L'évaluation de la sévérité de la maladie a été effectuée par l'utilisation de l'échelle et de la formule décrites précédemment (Fig. 27).

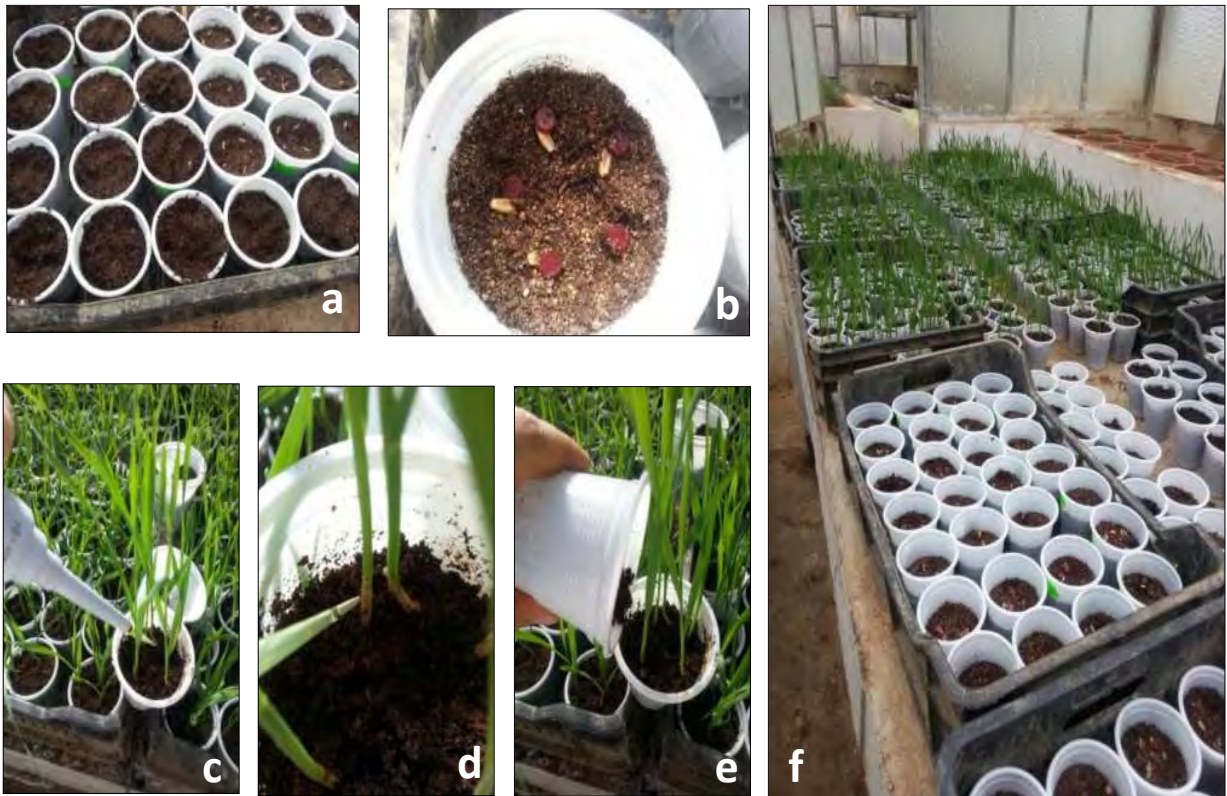


Figure 27. Dispositif expérimental des techniques d'inoculation des graines et du collet, a : technique d'inoculation des graines par des fragments mycéliens des agents pathogènes ;c, d et e : technique d'inoculation du collet par des suspension de spores des agents pathogènes ; f : dispositif expérimental pour les deux techniques (la technique du fragment en bas de l'image et la technique de suspension en haut de l'image).

IV.1.3. Etude de la pathogénicité des isolats de *Fusarium* spp. et de *Microdochium* spp. sur les épis de blé

La pathogénicité des 40 isolats (détaillés précédemment) a été évaluée sur les épis par l'inoculation artificielle en plein champs des plants de blé en période floraison durant l'année 2016. Des parcelles élémentaires ont été établies à la station expérimentale de l'ENSA El Harrach, trois micro-parcelles de 1m² ont été réservées pour chaque isolat. Le dispositif expérimental établi est un dispositif en blocs aléatoires complets. Le blé a été semé dans 5 lignes au niveau de chaque micro-parcelle.

Préparation de l'inoculum : Les suspensions de conidies ont été préparées à partir de cultures des agents pathogènes âgées de 10 jours. Ces dernières ont été incubées sous lumière continue à 20°C. Le mycélium a été gratté et mis dans des flacons contenant de l'eau distillée stérile. Le mélange de mycélium, de macroconidies et d'eau a été filtré à travers deux couches de mousseline stérilisées. La concentration des spores a été déterminée avec une cellule de Malassez et la suspension a été ajustée à une concentration de 5×10^5 conidies/ml.

Inoculation : L'inoculation des épis de blé a été réalisée au stade mi-floraison (GS) 65 (Zadoks et al., 1974). Les épis de blé ont été inoculés le 16 Avril 2016 avec la suspension de conidies de chaque isolat par pulvérisation jusqu'au ruissellement de l'inoculum sur les épis. Cette opération a été effectuée à l'aide d'un pulvérisateur donnant un jet homogène et continu. Les plants témoins ont été pulvérisés par de l'eau. Tous les plants ont été irrigués quotidiennement pendant 5 jours après l'inoculation.

Notation des symptômes : L'évaluation visuelle de la maladie a été effectuée 20 jours après l'inoculation (6 Mai 2016) en comptant le nombre d'épillets symptomatiques et le nombre total d'épillets de chaque épi inoculé, puis transformés en pourcentage d'infection. Cinquante (50) épis ont été notées sur chaque micro-parcelle.

Moisson, battage et PMG : À maturité physiologique, les épis inoculés ont été récoltés soigneusement à la main et le battage a été effectué à l'aide d'une batteuse électrique. Les graines issues de chaque micro-parcelle ont été conservées séparément dans des sacs en papier placés dans une chambre froide. Le Poids de Mille Graines (PMG) a été pesé pour chaque traitement et pour les témoins, le pourcentage de réduction de poids de milles graines par rapport au témoin a été ensuite calculé.



Figure 28. Dispositif expérimental du test de l'inoculation des épis au stade floraison.

IV.1.5. Analyses statistiques

Les données ont été soumises à des analyses de variance (ANOVA) en utilisant le logiciel Statistica version 12. La significativité des différences observées a été évaluée en réalisant le test HSD de Tukey et les réponses ont été jugées significatives au niveau de 5% ($P = 0,05$). Les corrélations (coefficient de Pearson) entre les différents tests ont été calculées avec le même logiciel

IV.3. Résultats

IV.3.1. Evaluation de la croissance mycélienne à 25°C des isolats choisis pour les tests de pathogénicité

L'étude de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* et de *Microdochium* à 25°C a montré une différence entre les espèces et au sein de la même espèce ($p < 0,001$). Après 4 jours d'incubation, tous les isolats de *F. culmorum* ont présenté un diamètre de 85 mm à l'exception de FCC2 et ECE9 qui ont des diamètres de 81 et 48 mm respectivement. Les isolats appartenant au groupe FP ont montré des diamètres allant de 35 à 85 mm, quant aux isolats de *Microdochium* sp., ils ont enregistré des diamètres allant de 48 à 71 mm (Tab. 9, Fig. 29).

Tableau 9. Diamètre des colonies de *Fusarium* spp. et de *Microdochium* spp. après 4 jours d'incubation à 25°C

Isolats	Diamètre (mm)±ES	Isolats	Diamètre (mm)±ES	Isolat	Diamètre (mm)±ES	Isolat	Diamètre (mm)±ES
FCC1	85 ^g	FCE1	85 ^g	FP1	56 ^b ±0,8	MN1	69 ^{ef} ±1,0
FCC2	81 ^g ± 2,0	FCE2	85 ^g	FP2	35 ^a ±2,8	MN2	64 ^{de} ±2,1
FCC3	85 ^g	FCE3	85 ^g	FP3	85 ^g	MN3	48 ^b ±0,9
FCC4	85 ^g	FCE4	85 ^g	FP4	85 ^g	MN4	64 ^{de} ±3,0
FCC5	85 ^g	FCE5	85 ^g	FP5	85 ^g	MN5	67 ^{def} ±1,2
FCC6	85 ^g	FCE6	85 ^g	FP6	85 ^g	MN6	56 ^b ±0,3
FCC7	85 ^g	FCE7	85 ^g	FP7	64 ^{de} ±3,4	MN7	62 ^{cd} ±1,5
FCC8	85 ^g	FCE8	85 ^g	FP8	85 ^g	MN8	71 ^f ±0,6
FCC9	85 ^g	FCE9	48 ^b ±1,2	FP9	85 ^g	MN9	63 ^{de} ±1,0
FCC10	85 ^g	FCE10	85 ^g	FP10	81 ^g ±1,2	MN10	67 ^{def} ±1,8

Les valeurs suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon le test de HSD de Tukey. ES : Erreur standard.

Diamètre moyen pour chaque groupe : Le calcul du diamètre moyen pour chaque groupe révèle une différence très hautement significative entre les groupes ($p < 0,001$), le groupe FCC a le diamètre moyen le plus élevé (84,60 mm) suivi par le groupe FCE (81,47 mm) puis FP (74,57 mm) et enfin le groupe M (63,20 mm) avec le diamètre moyen le plus réduit à 25°C.

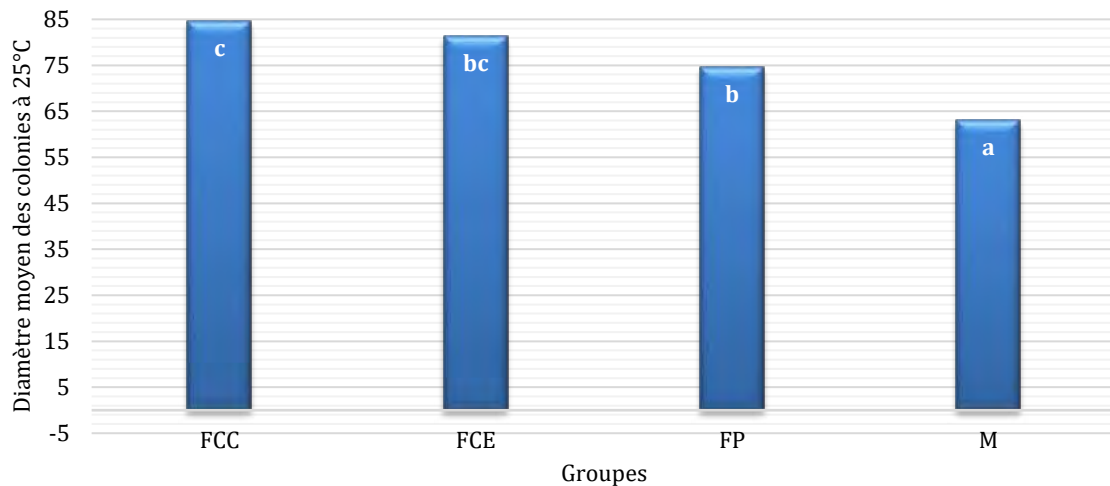


Figure 29. Diamètre moyen des colonies pour chaque groupe (FCC : *F. culmorum* isolés du collet, FCE : *F. culmorum* isolé des épis, FP : *F. pseudograminearum* et M : *Microdochium* spp.)

IV.3.2. Effet des isolats de *Fusarium* et de *Microdochium* sur la croissance du coléoptile du blé *in vitro*.

IV.3.2.1. Effet des isolats

Les résultats de l'inoculation des graines avec les différents isolats de *Fusarium* et de *Microdochium* ont montré que tous les isolats étaient agressifs avec des variations intra et interspécifiques. Des différences très hautement significatives ont été notées au sein des isolats du groupes FCE ($p < 0.001$) et FP ($p < 0.001$), tandis que les isolats des groupes FCC et M ($p > 0,05$) n'ont pas montré de différences significatives. Huit isolats (FCC1, FCC2, FCC10, FP5, FCE5, FCE10 et FP3) ont induit un retard de la croissance du coléoptile de 100%, ils appartiennent aux trois groupes FCC (*F. culmorum* isolé du collet), FCE (*F. culmorum* isolé de l'épi) et FP (*F. pseudograminearum*). D'autres isolats ont causé aussi plus de 90% de retard de la croissance du coléoptile, il s'agit de FCE7, FCE4, FCC8, FCE1, FP4, FCC5, FCE8, FCC9, FCE6, FCC7, FP9, FCC4, FCE3, FP6 et FCC6 classés par ordre décroissant. Les isolats restants ont causé entre 41.4% à 86.1 %. Ces derniers constituent un mélange des groupes de *Microdochium* et *F. pseudograminearum* et deux isolats de *F. culmorum* FCC3 isolé du collet et FCE9 isolé de l'épi. Il est à noter que ces deux isolats sont les seuls appartenant à *F. culmorum* à avoir une agressivité faible. L'isolat M9 appartenant au genre *Microdochium* s'est avéré le moins agressif parmi la collection testée. Il est à noter aussi que malgré que la plupart des isolats de *Microdochium* sont considérés comme étant les moins agressifs, certains isolats ont causé des pourcentages de

réduction relativement élevés comme M3 et M2 (86,1 et 84,2% respectivement) (Tableau 10, Fig. 30, Fig. 32).

Tableau 10. Pourcentage de réduction de la longueur du coléoptile du blé inoculé avec les isolats de *Fusarium* et de *Microdochium in vitro* et incubées à 25°C pendant 4 jours.

Isolats	Pourcentage de réduction de la longueur de coléoptile \pm ES	Isolats	Pourcentage de réduction de la longueur de coléoptile \pm ES
FCC1	100.0 ^h	FP1	74.5 ^{bcdefgh} \pm 12,8
FCC2	100.0 ^h	FP2	68.4 ^{bcdefgh} \pm 8,1
FCC3	65.3 ^{abcdef} \pm 22,9	FP3	100.0 ^h
FCC4	96.9 ^{fgh} \pm 1,3	FP4	98.5 ^{gh} \pm 1,5
FCC5	98.5 ^{gh} \pm 0,7	FP5	100.0 ^h
FCC6	91.1 ^{c^{efgh}} \pm 6,4	FP6	95.8 ^{fgh} \pm 1,7
FCC7	97.5 ^{gh} \pm 2,5	FP7	68.1 ^{abcdefg} \pm 3,9
FCC8	99.4 ^{gh} \pm 0,6	FP8	72.9 ^{bcdefgh} \pm 0,2
FCC9	97.9 ^{gh} \pm 2,1	FP9	97.3 ^{gh} \pm 1,7
FCC10	100 ^h	FP10	100 ^{bcdefgh}
FCE1	99.4 ^{gh} \pm 0,3	M1	48,6 ^{ab} \pm 3.5
FCE2	95.9 ^{gh} \pm 3,1	M2	84,2 ^{cdefgh} \pm 3.3
FCE3	96.9 ^{fgh} \pm 0,5	M3	86,1 ^{defgh} \pm 1.6
FCE4	99.6 ^{gh} \pm 0,4	M4	55,7 ^{abcd} \pm 3.2
FCE5	100.0 ^h	M5	63,2 ^{abcde} \pm 1.8
FCE6	97.6 ^{gh} \pm 2,4	M6	60,8 ^{abcde} \pm 3.2
FCE7	99.9 ^h \pm 0,1	M7	71,4 ^{bcdefgh} \pm 3.3
FCE8	98.4 ^{gh} \pm 1,6	M8	50,4 ^{ab} \pm 3.2
FCE9	45.0 ^{ab} \pm 17,2	M9	41,4 ^a \pm 1.6
FCE10	100.0 ^h	M10	53,1 ^{abc} \pm 1.6

Les valeurs suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon le test de HSD de Tukey. E : erreur standard.

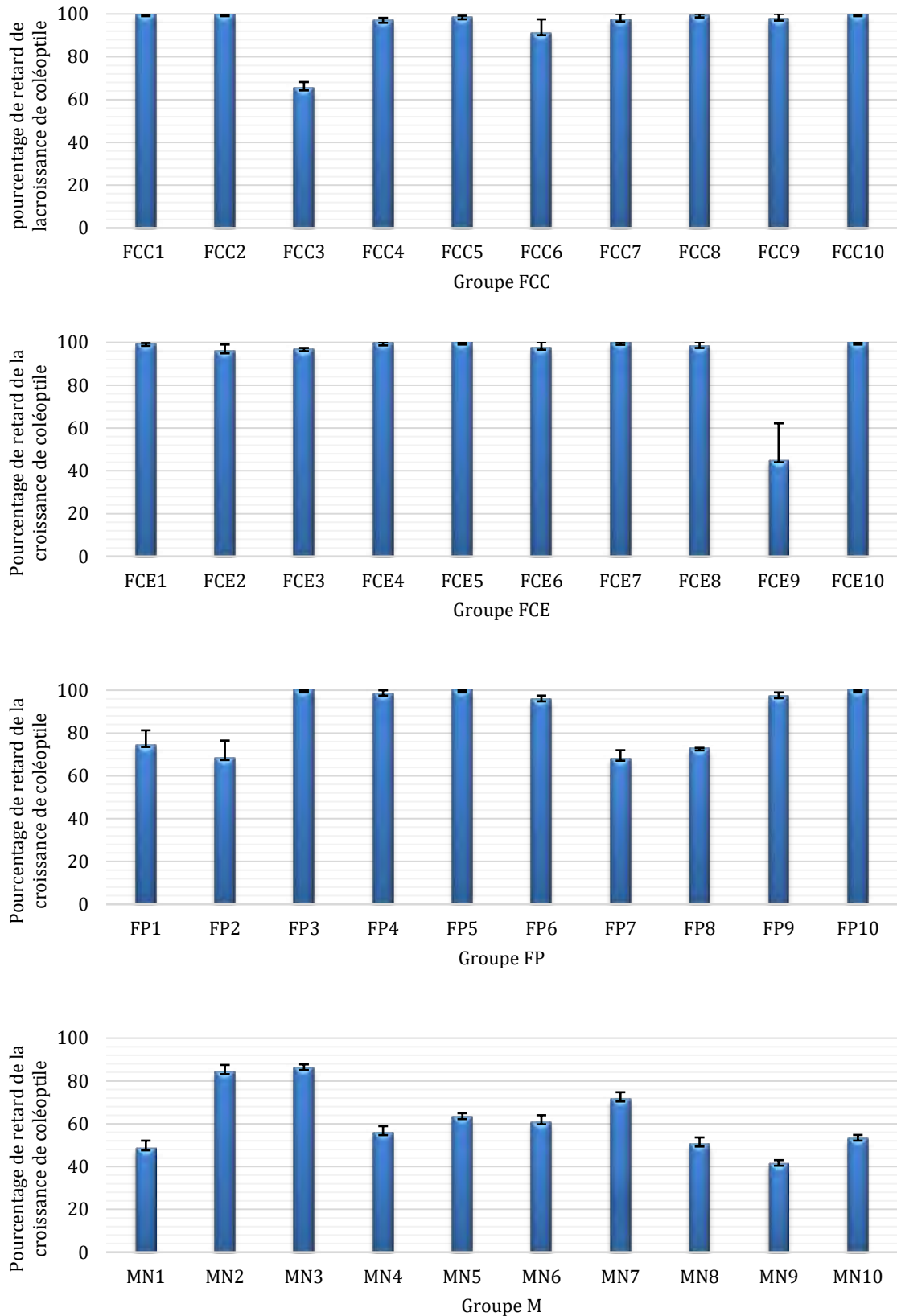


Figure 30. Test de pathogénicité *in vitro* pour les quatre groupes étudiés, *F. culmorum* isolés du collet (FCC), *F. culmorum* isolés des épis (FCE), *F. pseudograminearum* (FP) et *Microdochium* ssp. (M) exprimé par le pourcentage de retard de la croissance de coléoptile par rapport au témoin après 4 jours d'incubation à 25°C. Les barres correspondent à l'erreur standard.

IV.3.2.2. Effet de l'origine des isolats

Au cours de cet essai, 10 isolats de *F. culmorum* collectés des épis (FCE) et 10 isolats obtenus à partir du collet (FCC) ont été testés sur les graines du blé *in vitro*. Les résultats ont montré que tous les isolats testés provenant de l'épi ou du collet ont causé l'inhibition ou le retard de la croissance du coléoptile avec des pourcentages supérieurs à 65,3% pour les isolats du collet et supérieurs à 45% pour les isolats de l'épi. Cet essai a montré qu'il n'existe pas de différence significative dans d'agressivité ($p = 0.74$) entre les isolats de *F. culmorum* obtenus de l'épi ou du collet.

IV.3.2.3. Effet des espèces

Les analyses statistiques des moyennes des pourcentages de sévrité des différents groupes ont montré qu'ils peuvent être classés en deux catégories, la première contenant trois groupes FCC, FCE et FP respectivement qui sont considérés comme étant les plus agressifs, et la deuxième catégorie comporte les isolats de *Microdochium ssp.* Il est à noter donc qu'il n'existe pas de différence significative entre l'agressivité des trois groupes FCC, FCE et FP ($p = 0.21$) pour cette technique (Fig. 31).

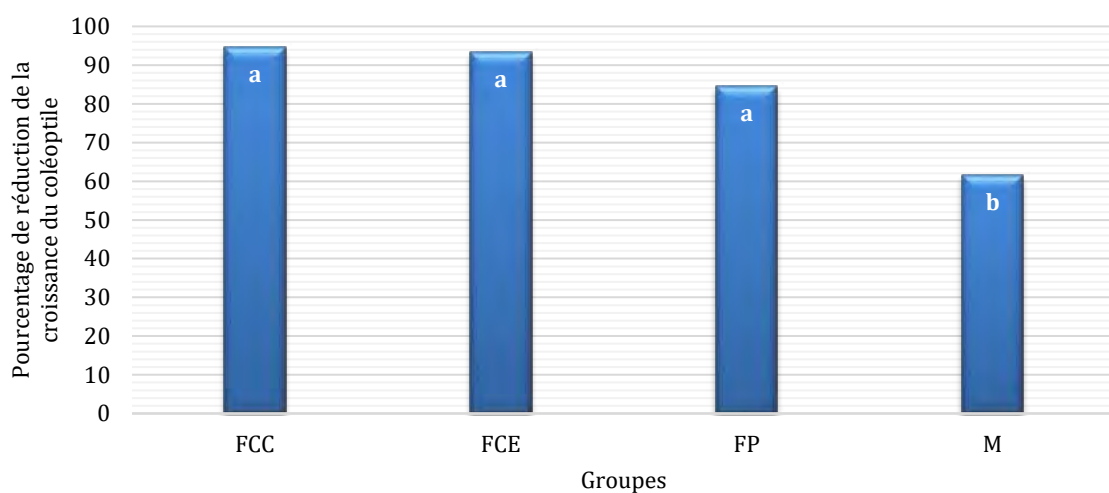


Figure 31. Moyenne des pourcentages de réduction de la croissance du coléoptile du blé inoculé *in vitro* avec des isolats appartenant à *F. culmorum* isolés du collet (FCC), *F. culmorum* isolés des épis (FCE), *F. pseudograminearum* (FP) et *Microdochium ssp.* (M). Le nombre d'isolats pour chaque groupe est fixe et égal à 10.

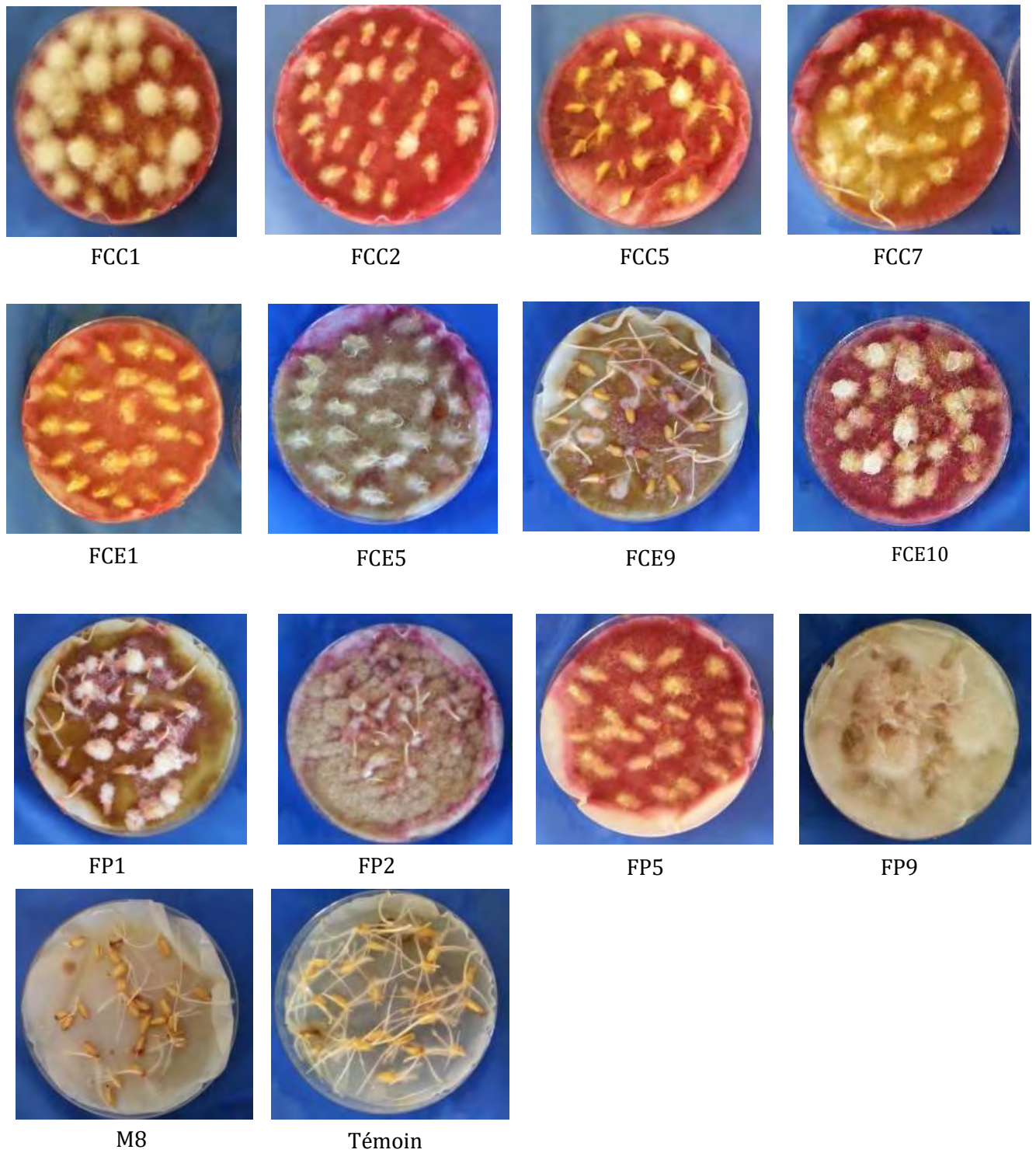


Figure 32. Effet des isolats de *Fusarium* spp. et de *Microdochium* spp. sur la croissance du coléoptile des graines de blé après 4 jours d'incubation à 25°C.

IV. 3.2.4. Relation entre la croissance mycélienne des isolats et leur agressivité à 25°C

Les boîtes de Petri destinées au test de pathogénicité *in vitro* ainsi que l'évaluation de la croissance fongique sont incubées à 25°C et les mesures sont effectuées après 4 jours. Une forte corrélation hautement significative ($r = 0,69$, $p < 0,001$) a été notée entre l'agressivité et la croissance mycélienne à 25°C.

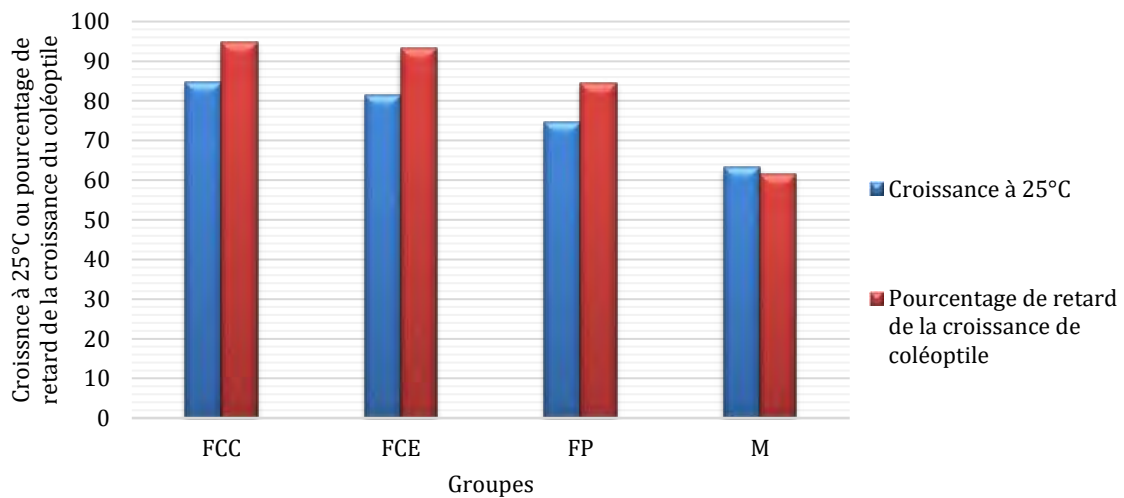


Figure 33. Moyennes des pourcentages de retard de la croissance du coléoptile et de la croissance mycélienne des groupes *F. culmorum* isolés du collet (FCC), *F. culmorum* isolés des épis (FCE), *F. pseudograminearum* (PF) et *Microdochium* sp. (M) incubés à 25°C.

IV.3.3. Etude de l'agressivité des isolats de *Fusarium* et de *Microdochium* sur la partie basale des plantules du blé

IV.3.3.1. Inoculation par fragment mycélien

IV.2.3.1.1. Effet des isolats

Les résultats relatifs au test de pathogénicité sur la partie basale des plantules de blé par la technique d'inoculation par fragment mycélien ont montré que la plupart des isolats des espèces testées ont engendré l'apparition d'un brunissement au niveau du collet. En revanche, les plantules témoins n'ont montré aucun symptôme durant toute la période de l'essai (Fig. 36). Les résultats ont montré aussi que les pourcentage de maladie sont variables selon les espèces et selon les isolats. Des différences très hautement significatives ($p < 0.05$) ont été notée entre les isolats de chacun des groupes FCC, FCE et FP ; tandis que les isolats du groupe M n'ont pas montré une différence significative ($p = 0.27$). Les isolats de l'espèce *F. pseudograminearum* étaient les plus agressifs. Les isolats du groupe FP ont induit des pourcentages de maladie allant de 22.1 % à 72.9 % à l'exception des deux isolats FP2 et FP1 qui ont induit des pourcentages de maladie très faibles. Les isolats de *F. culmorum* ont tous été agressifs, seuls les deux isolats FCC3 et FCE9 ont induit un pourcentage de maladie très faible. Les isolats du groupe FCC (à l'exception de FCC3) ont induit des pourcentages de maladie allant de 27.7 % à 62.9 %. Les isolats du groupe FCE (à l'exception de FCE9) ont induit des pourcentages de maladie allant de 15 % à 43.1 %. Les isolats de *Microdochium* sont les moins agressifs, huit d'entre eux n'ont pas causé de symptômes visibles et les deux autres ont induit un pourcentage de maladie de 3.3 et 4.2% seulement (Tableau 11, Fig. 34) .

IV.3.3.1.2. Effet de l'origine des isolats de *F. culmorum* sur l'agressivité sur le collet

Les isolats des deux groupes FCC (isolats obtenus à partir du collet) et FCE (isolats obtenus à partir de l'épi) ont été agressifs sur le collet. La différence entre les deux groupes d'isolats s'est avérée non significative ($p = 0.11$). En effet, l'origine (collet ou épi) des isolats de l'espèce *F. culmorum* n'a pas d'influence sur la pathogénicité et l'agressivité. On conclut donc que la pathogénicité de *F. culmorum* sur la partie basale des plantules de blé n'est pas influencée par leur origine d'isolement, ainsi les isolats obtenus du collet et ceux obtenus des épis peuvent induire des symptômes similaires sur la partie basale.

Tableau 11. Test de pathogénicité sur collet par la technique d'inoculation par fragment mycélien pour les quatre groupes étudiés (FCC, FCE, FP et M) exprimé par la surface du collet nécrosée.

Isolat	Pourcentage de la maladie \pm ES	Isolat	Pourcentage de la maladie \pm ES
FCC1	35,8 ^{abcdefg} hijk \pm 5,5	FP1	2,5 ^{abc} \pm 1,4
FCC2	30,2 ^{abcdefg} hi \pm 7,2	FP2	1,0 ^{ab} \pm 1
FCC3	2,7 ^{abc} \pm 1,4	FP3	68,8 ^{ijk} \pm 4,8
FCC4	38,8 ^{abcdefg} hijk \pm 8,6	FP4	69,8 ^k \pm 2,8
FCC5	60,4 ^{ghijk} \pm 6,3	FP5	44,8 ^{efghijk} \pm 9,9
FCC6	27,9 ^{abcdefg} h \pm 1,8	FP6	35,4 ^{abcdefg} hijk \pm 6,4
FCC7	39,6 ^{bcdefg} hijk \pm 1	FP7	22,1 ^{abcde} f \pm 11
FCC8	29,0 ^{abcdefg} h \pm 9	FP8	72,9 ^k \pm 7,5
FCC9	27,7 ^{abcde} f \pm 6,6	FP9	70,8 ^k \pm 2,1
FCC10	62,9 ^{hijk} \pm 4,1	FP10	56,3 ^{fghijk} \pm 7,9
FCE1	30,4 ^{abcdefg} hij \pm 9,3	M1	0,0 ^a
FCE2	43,1 ^{defghijk} \pm 9,8	M2	0,0 ^a
FCE3	36,0 ^{abcdefg} hijk \pm 6,2	M3	0,0 ^a
FCE4	29,2 ^{abcdefg} h \pm 2,8	M4	4,2 ^{abcd} \pm 0,1
FCE5	15,0 ^{abcde} \pm 1,4	M5	0,0 ^a
FCE6	41,5 ^{cdefghijk} \pm 5,5	M6	3,3 ^{abc} \pm 0,1
FCE7	34,6 ^{abcdefg} hijk \pm 5,2	M7	0,0 ^a
FCE8	20,8 ^{abcdef} \pm 8,3	M8	0,0 ^a
FCE9	6,9 ^{abcde} \pm 2,9	M9	0,0 ^a
FCE10	22,9 ^{abcde} f \pm 4.2	M10	0,0 ^a

Les valeurs suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon le test de HSD de Tukey. ES : erreur standard.

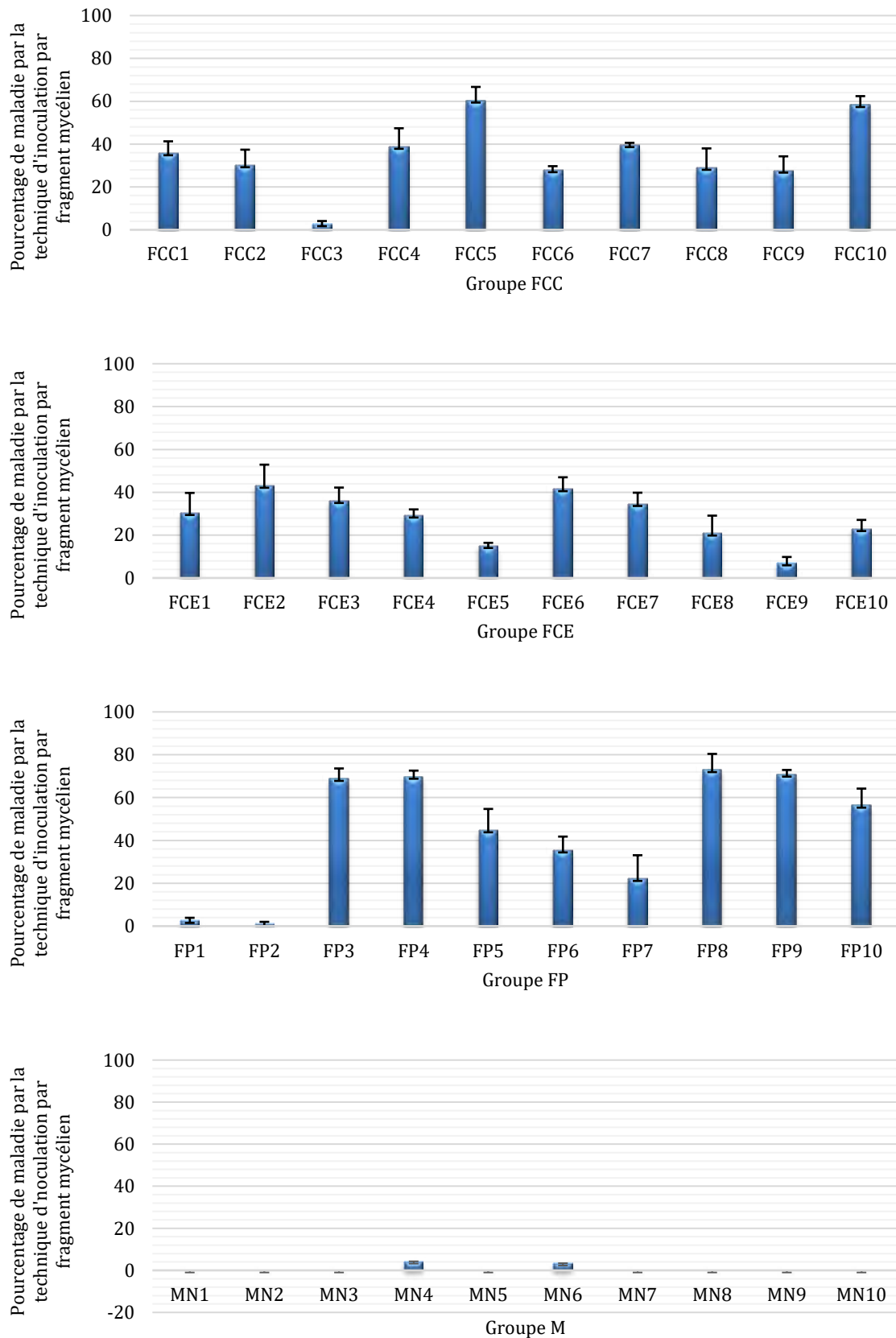


Figure 34. Test de pathogénicité sur collet par la technique d'inoculation par fragment mycélien pour les quatre groupes étudiés (FCC, FCE, FP et M) exprimé par la surface du collet nécrosée. Les barres correspondent à l'erreur standard.

IV.3.3.1.3. Effet des espèces

Les analyses statistiques des moyennes de l'agressivité des différents groupes ont montré qu'il existe une variabilité interspécifique ($p < 0.001$) entre les quatre groupes étudiés. Le groupe le plus agressif est FP suivi par FCC, puis par FCE et enfin le groupe le moins agressif est M. Une différence significative est notée aussi entre les deux espèces *F. pseudograminearum* et *F. culmorum* ($p = 0.02$). On conclut donc que l'espèce *F. pseudograminearum* est la plus agressive selon la technique de l'inoculation des graines par des fragments mycéliens de l'agent pathogène (Fig. 35).

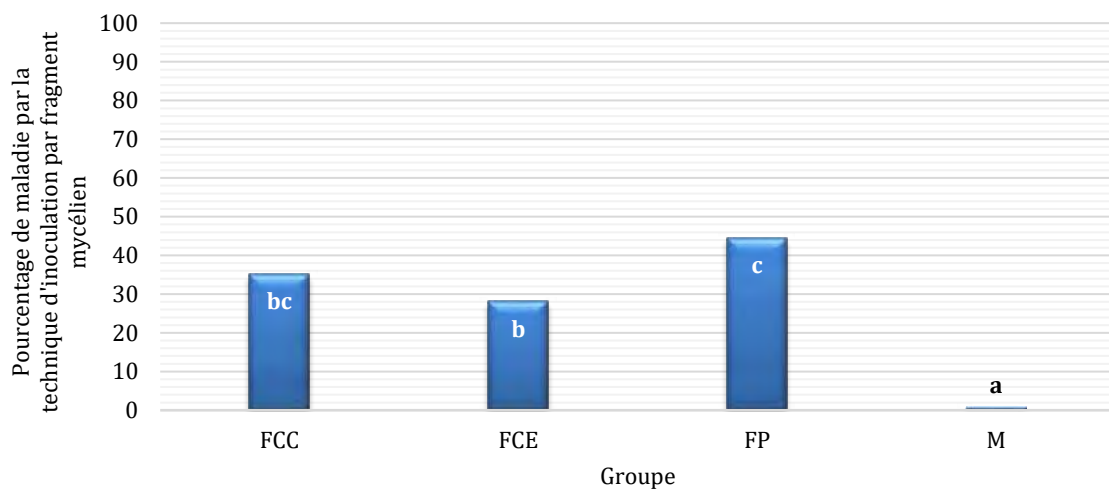


Figure 35. Moyennes des pourcentages de maladie sur la partie basale induite par la technique d'inoculation par fragment mycélien des isolats appartenant à *F. culmorum* isolés du collet (FCC), *F. culmorum* isolés des épis (FCE), *F. pseudograminearum* (PF) et *Microdochium* spp. (M). Le nombre d'isolats pour chaque groupe est fixe et égal à 10.

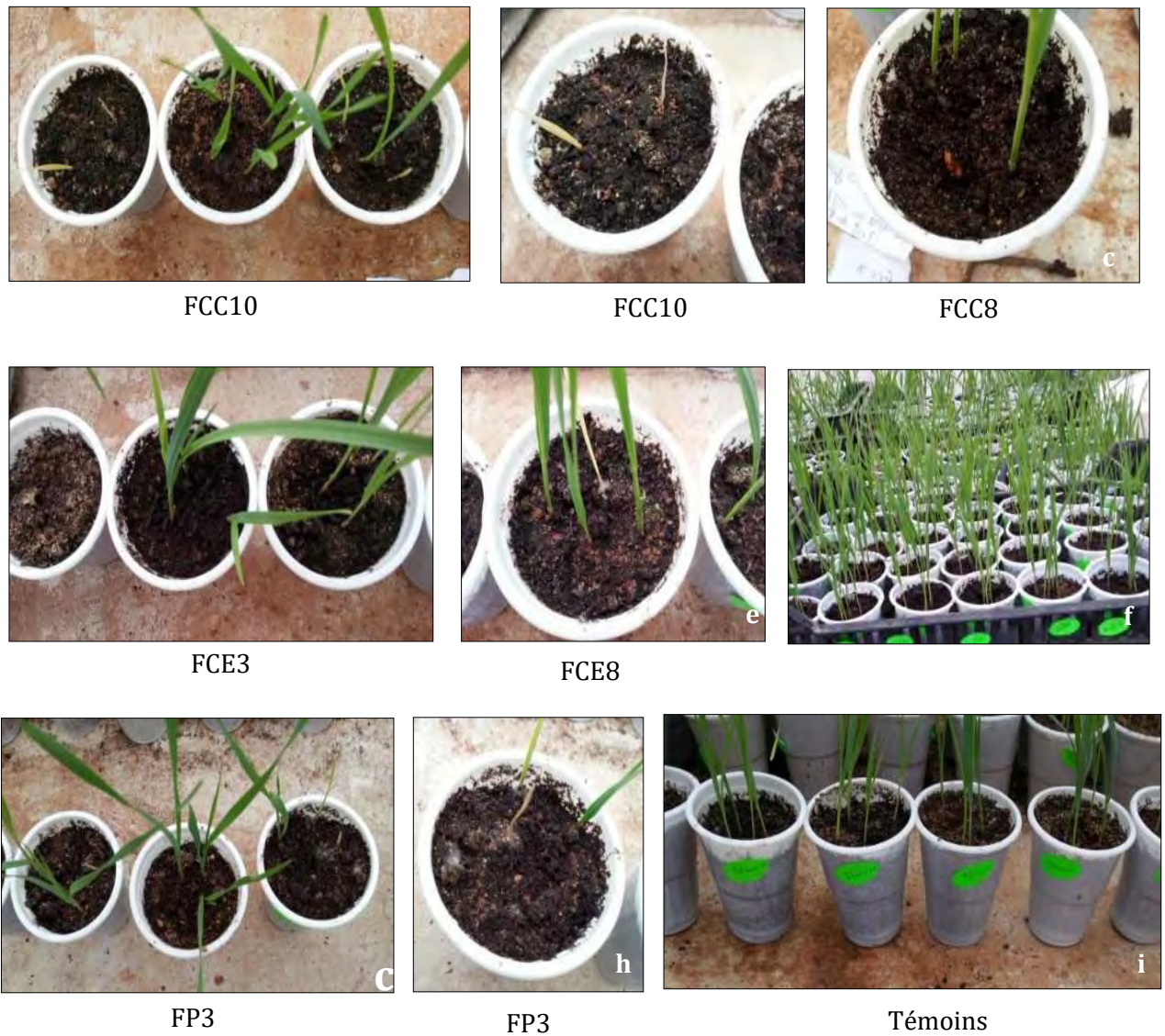


Figure 36. Les plantules de blé après 20 jours d'inoculation par fragment mycélien, a et b : l'isolat FCC10 cause des fontes de semis en post et pré-émergence ; c : l'isolat FCC8 causant une fonte de semis en pré-émergence ; d et e : les isolats FCE3 et FCE8 causant des fontes de semis post et pré-émergence ; f : les isolats de *Microdochium* spp. ; g et h : l'isolat FP3 causant des fontes de semis en post et pré-émergence ; i : les plants témoins

IV.3.3.2. Inoculation par la technique des suspensions de spores

La technique de l'inoculation de la partie basale des plantules de blé par des suspensions de spores de l'agent pathogène a été considérée uniquement pour les isolats du groupe FCE. Les résultats montrent que l'isolat le plus agressif est FCE4 avec un pourcentage de maladie de 80,6 %. Les autres isolats ont causé entre 50,4 et 79,6 %, à l'exception de l'isolat FCE9 qui est le moins agressif avec un pourcentage de maladie de 4,2% uniquement (Tableau 12, Fig. 37, Fig. 38).

Tableau 12. Pourcentage de la maladie par la technique de l'inoculation du collet des plantules de blé par des suspensions de spores des isolats du groupe FCE.

Isolats	Pourcentage de maladie \pm ES
FCE1	64,8 ^b \pm 9,3
FCE2	63,8 ^b \pm 2,6
FCE3	50,4 ^b \pm 7,6
FCE4	80,6 ^b \pm 12,2
FCE5	73,5 ^b \pm 9,6
FCE6	79,6 ^b \pm 9,2
FCE7	66,5 ^b \pm 9,2
FCE8	67,1 ^b \pm 9,1
FCE9	4,2 ^a \pm 4,2
FCE10	72,5 ^b \pm 12,7

Les valeurs suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon le test de HSD de Tukey. ES : erreur standard.

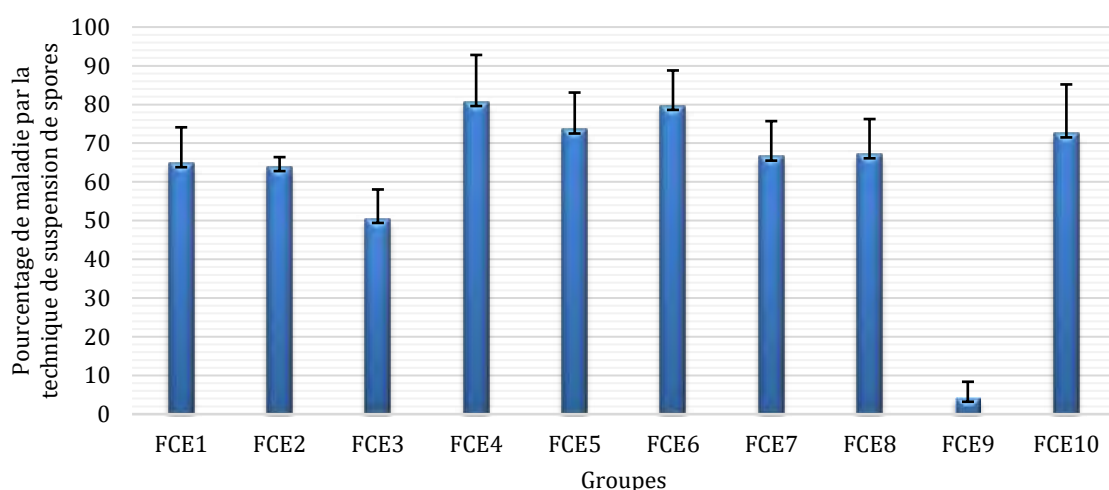


Figure 37. Pourcentage de maladie après inoculation de la partie basale des plantules du blé par des suspensions de spore des isolats du groupe FCE, les barres correspondent à l'erreur standard.



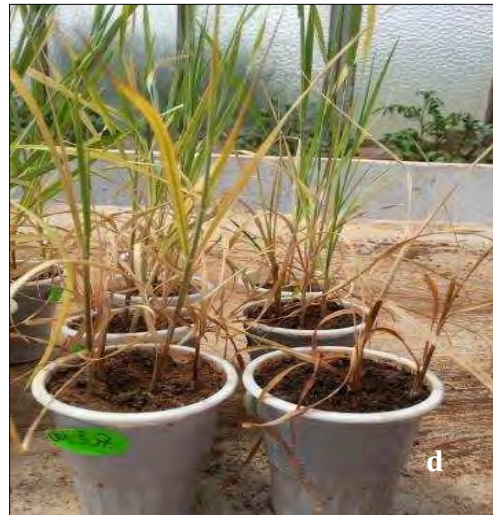
FCE7



FCE5



FCE10 et témoin



FCE10

Figure 38. Symptômes de la pourriture du collet sur les plantules du blé âgées de 49 jours inoculées par des suspensions de spores des isolats du groupe FCE. a et b : symptômes dus aux isolats FCE7 et FCE5 respectivement ; c : symptômes dus à l'isolat FCE10 (à gauche) et témoin (à droite) ; d : symptômes dus à l'isolat FCE10.

IV.3.3.3. Comparaison entre les deux techniques d'inoculation des bases des tiges par les isolats du groupe FCE

La comparaison des deux techniques d'inoculation montre que la technique des suspensions de spores cause plus de symptômes visibles. L'isolat le moins agressif reste le même (FCE9) pour les deux techniques mais les isolats les plus agressifs sont différents. L'isolat le plus agressif pour la technique du fragment mycélien est FCE2 et l'isolat le plus agressif par la technique des suspensions de spores est FCE4 (Fig. 39).

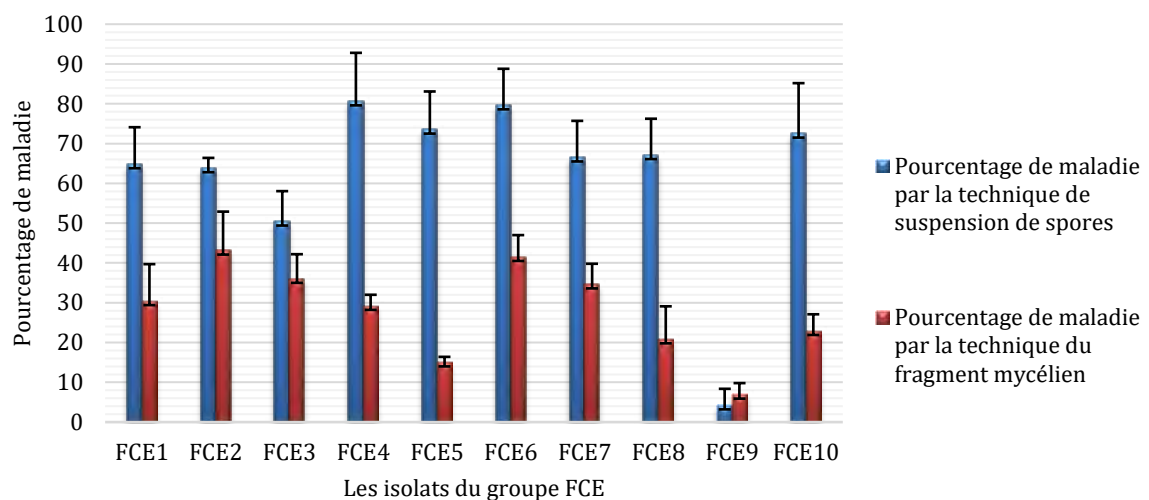


Figure 39. Comparaison entre les résultats des deux techniques d'inoculation (fragment mycélien et suspension de spores) de la partie basale du blé par les 10 isolats du groupe FCE.

IV.3.4. Etude de la pathogénicité des isolats de *Fusarium spp.* et de *Microdochium spp.* sur les épis et effet sur le rendement (PMG)

IV.3.4.1. Effet des isolats

L'inoculation des épis du blé par des suspensions de spores des agents fongiques a montré que tous les isolats ont causé des symptômes sur les épis. Cependant sur les 40 isolats testés, 21 isolats ont causé des pourcentages de maladie très réduits, il s'agit de tous les isolats de *Microdochium* et 9 isolats appartenant à l'espèce *F. pseudograminearum* ainsi que les deux isolats de *F. culmorum* FCC3 et FCE9. Ces isolats ont induit des pourcentages de maladie inférieurs à 13,4 % et sont considéré comme un groupe distinct d'isolats moins ou non agressif sur les épis. Le reste des isolats ont tous causé un pourcentage de maladie supérieure à 42%. L'isolat le plus agressif est FCC8 qui a causé un pourcentage de maladie de 70,3%. Des différences très hautement significatives ont été notées au sein des isolats de chacun des groupes FCC, FCE et FP ($p < 0.001$), tandis que les isolats du groupe M ont montré des

différences non significatives ($p = 0.20$) par rapport au pourcentage de maladie (Tableau 13, Fig. 40, Fig. 42).

IV.3.4.2. Effet de l'origine des isolats de *F. culmorum*

L'origine des isolats (collet ou épi) de *F. culmorum* n'a pas d'effet ($p = 0.94$) sur la pathogénicité et l'agressivité de ces derniers après inoculation des épis. Les isolats obtenus du collet sont aussi agressifs sur les épis, d'ailleurs, l'isolat le plus agressif sur épi est bien FCC8 qui est obtenu du collet. On remarque une alternance du classement des isolats obtenus des épis et ceux obtenus des collets lors du classement selon l'agressivité. En effet, les isolats du collet causent entre 50,8 et 70,3% (à l'exception de FCC3) et les isolats obtenus des épis causent un pourcentage de maladie variant entre 42 et 68,6% (à l'exception de FCE9).

Tableau 13. Pourcentage de maladie induit par des isolats de *Fusarium* et de *Microdochium* après inoculation artificielle des épis en floraison.

Isolat	Pourcentage de maladie \pm ES	Isolat	Pourcentage de maladie \pm ES
FCC1	67,6 ^{cd} \pm 2,9	FP1	1,1 ^a \pm 0,5
FCC2	63,1 ^{cd} \pm 1,5	FP2	1,1 ^a \pm 0,2
FCC3	2,3 ^a \pm 0,4	FP3	42,0 ^b \pm 3,0
FCC4	67,1 ^{cd} \pm 3,8	FP4	9,3 ^a \pm 4,2
FCC5	51,3 ^{bcd} \pm 10,8	FP5	1,7 ^a \pm 0,4
FCC6	63,2 ^{cd} \pm 8,0	FP6	13,4 ^a \pm 3,7
FCC7	53,8 ^{bcd} \pm 5,0	FP7	12,5 ^a \pm 2,8
FCC8	70,3 ^d \pm 1,1	FP8	6,8 ^a \pm 0,4
FCC9	50,8 ^{bcd} \pm 2,7	FP9	11,9 ^a \pm 2,6
FCC10	51,6 ^{bcd} \pm 4,9	FP10	11,7 ^a \pm 0,9
FCE1	65,4 ^{cd} \pm 7,2	M1	1,2 ^a \pm 0,1
FCE2	68,6 ^{cd} \pm 5,8	M2	1,0 ^a \pm 0,2
FCE3	65,2 ^{cd} \pm 4,8	M3	1,9 ^a \pm 0,5
FCE4	49,4 ^{bc} \pm 3,0	M4	1,6 ^a \pm 0,2
FCE5	42,0 ^b \pm 5,1	M5	1,2 ^a \pm 0,2
FCE6	56,4 ^{bcd} \pm 4,9	M6	2,1 ^a \pm 0,6
FCE7	63,0 ^{cd} \pm 3,8	M7	2,0 ^a \pm 0,5
FCE8	56,4 ^{bcd} \pm 0,5	M8	0,8 ^a \pm 0,1
FCE9	12,1 ^a \pm 3,0	M9	1,3 ^a \pm 0,5
FCE10	59,3 ^{bcd} \pm 2,1	M10	1,3 ^a \pm 0,3

Les valeurs suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon le test de HSD de Tukey. ES : erreur standard.

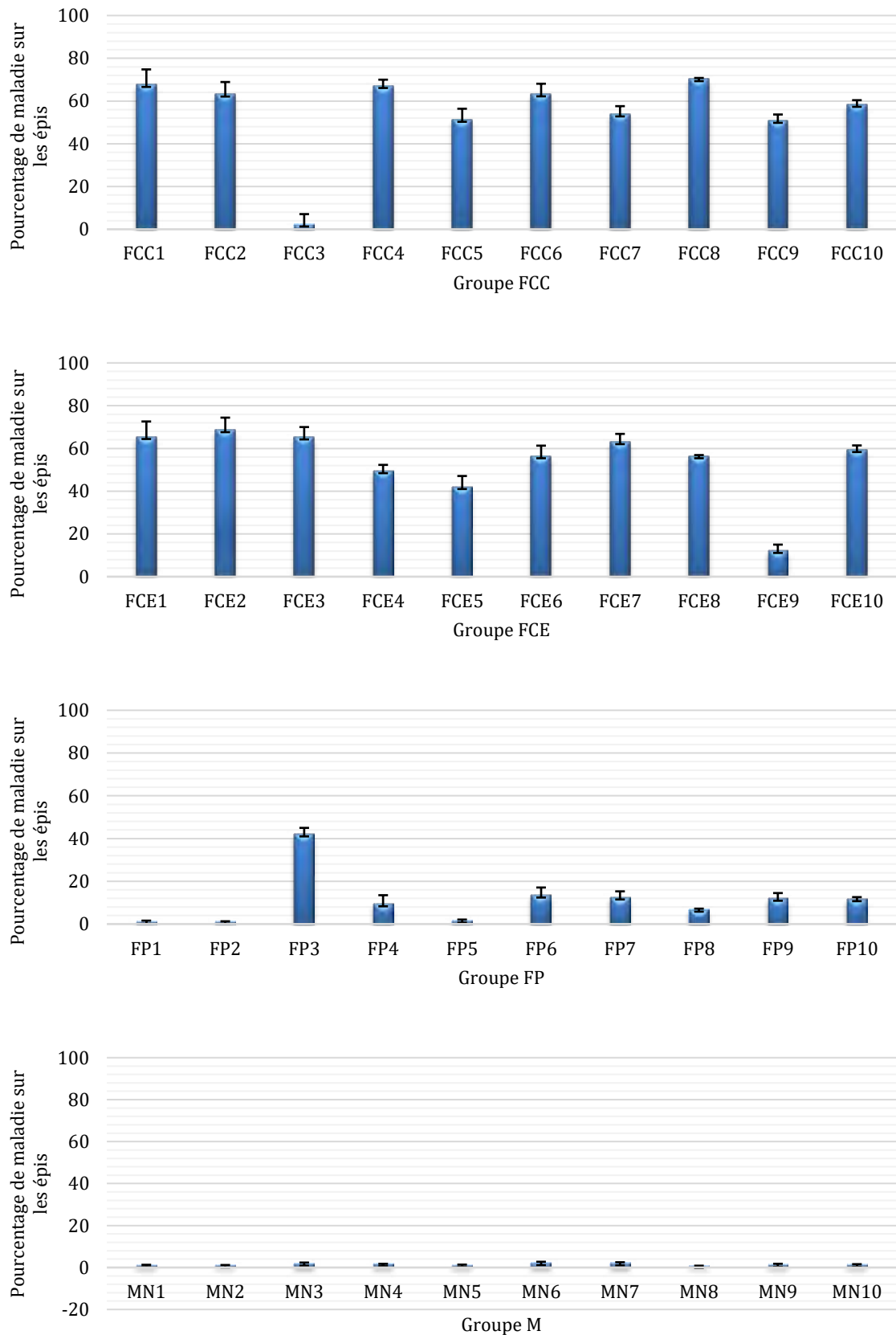


Figure 40. Pourcentage de maladie des isolats de *Fusarium* et de *Microdochium* après inoculation artificielle des épis en floraison. Les barres correspondent à l'erreur standard.

IV.3.4.3. Effet des espèces

Des différences très hautement significatives sont notées entre les espèces ($p < 0.001$) par rapport à l'agressivité sur épi. Les espèces de *Fusarium* et de *Microdochium* sont classées en deux catégories selon leur agressivité vis-à-vis des épis, *Microdochium* spp. et *F. pseudograminearum* sont les moins agressives causant des moyennes de pourcentage de maladie de 1,4 et 11,1% respectivement. En revanche, les deux groupes de l'espèce *F. culmorum* (FCC et FCE) sont les plus agressifs avec des pourcentages moyens de 53,8 et 54,1% pour FCE et FCC respectivement (Fig. 41).

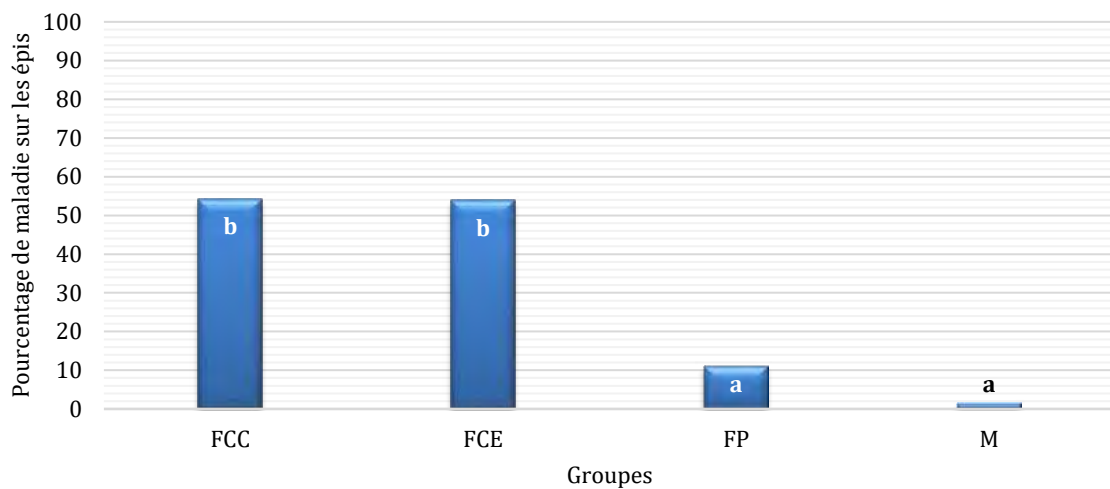


Figure 41. Moyenne des pourcentages de maladie sur les épis des isolats appartenant à *F. culmorum* isolés du collet (FCC), *F. culmorum* isolés des épis (FCE), *F. pseudograminearum* (FP) et *Microdochium* spp. (M). Le nombre d'isolats pour chaque groupe est fixe et égal à 10.

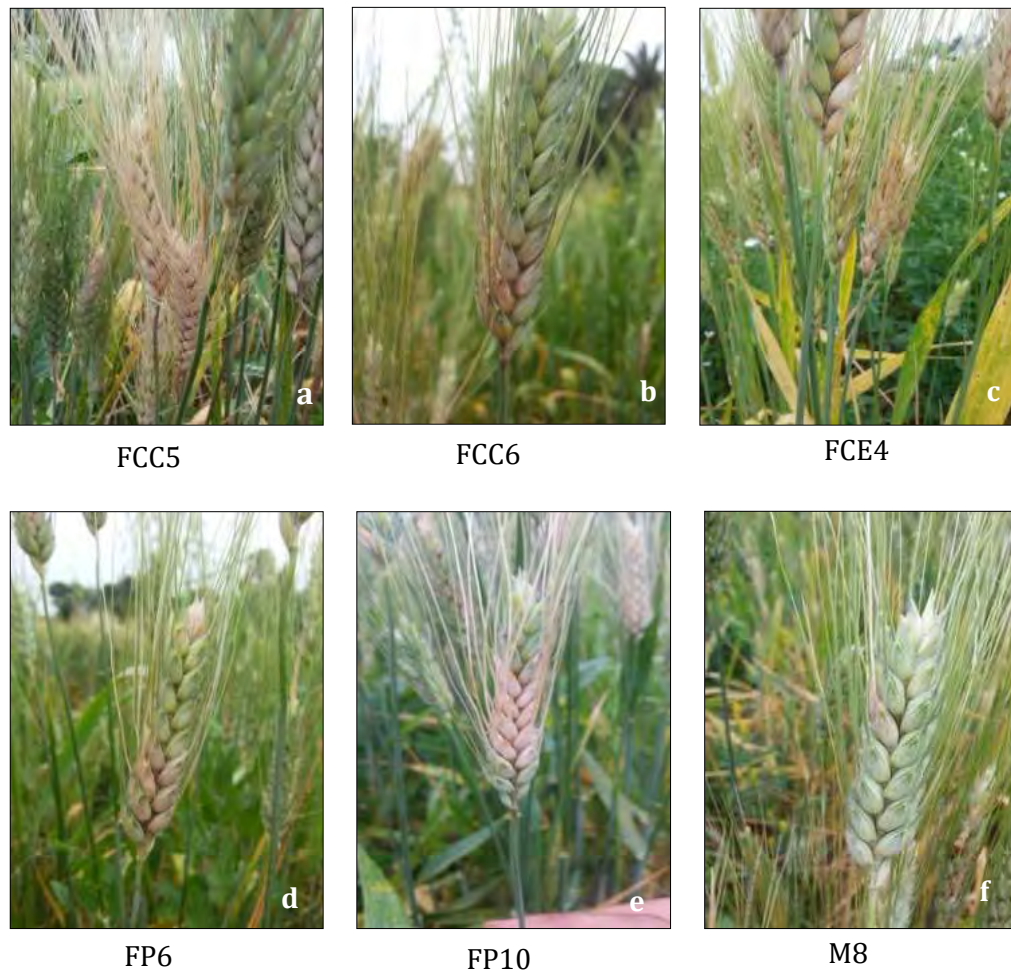


Figure 42. Symptômes sur des épis de blé inoculés par différentes espèces. a, b et c : symptômes dus aux isolats appartenant à *F. culmorum* ; d et e : symptômes dus aux isolats appartenant à l'espèce *F. pseudograminearum* ; f : symptômes dus à l'isolat M8 appartenant à *Microdochium* .

IV.3.5. Etude de l'effet des isolats de *Fusarium* et de *Microdochium* sur le poids de milles graines (PMG)

IV.3.5.1. Effet des isolats

Les valeurs du PMG sont transformées en pourcentage de réduction du PMG par rapport au témoin non inoculé. Les résultats obtenus montrent que les isolats de *Microdochium* et *F. pseudograminearum* causent les pourcentages de réduction du PMG les plus réduits, tandis que les isolats de *F. culmorum* causent les pourcentages les plus élevés. Des exceptions où l'isolat FCC3 cause la plus faible valeur de réduction de PMG et l'isolat de FP3 cause un pourcentage de réduction comparable aux résultats des isolats de *F. culmorum*. Des différences très hautement significatives ont été notées au sein des isolats du groupe FCC ($p < 0.001$), tandis que les isolats

des groupes restant n'ont pas montré de différences significatives ($p = 0.12$ pour FCE ; $p = 0.21$ pour FP ; $p = 0.64$ pour M) (Tableau 14, Fig. 43).

Tableau 14. Pourcentage de réduction du PMG sous l'effet des isolats de *Fusarium* et de *Microdochium* après inoculation des épis en floraison

Isolat	% réduction du PMG ±ES	Isolat	% réduction du PMG ±ES
FCC1	24,5 abcde7,9	FP1	14,1 abcde12,7
FCC2	22,6 abcde±1,1	FP2	5,5abc±12,7
FCC3	1,6 ^a ±0,9	FP3	27,2 abcde±,4
FCC4	31,2 bcde±1,3	FP4	9,1abcde±6,1
FCC5	30,2 bcde±1,7	FP5	12,5 abcde±3,3
FCC6	36,2 ^e ±4,3	FP6	14,6 abcde±1,6
FCC7	29,2 abcde±5,8	FP7	11,2abcde±5,8
FCC8	31,2 bcde±1,0	FP8	5,8abc±3,2
FCC9	33,1 ^{cde} ±3,8	FP9	22,3 abcde±3,2
FCC10	26,0 abcde±2,5	FP10	17,2 abcde±5,1
FCE1	23,7 abcde±7,0	M1	12,4abcde±5,1
FCE2	26,4 abcde±0,6	M2	5,4abc±1,0
FCE3	36,3 ^e ±4,8	M3	5,2 ^{ab} ±4,4
FCE4	32,1 bcde±0,4	M4	5,8abc±2,9
FCE5	26,6 abcde±7,7	M5	11,9abcde±0,5
FCE6	34,4 ^{de} ±4,6	M6	6,6abcd±4,5
FCE7	34,5 ^e ±3,1	M7	18,8 abcde±2,7
FCE8	33,1 ^{cde} ±0,8	M8	12,1abcde±10,1
FCE9	15,4abcde±0,8	M9	12,4abcde±6,0
FCE10	25,7 abcde±4,7	M10	13,5 abcde±6,3

Les valeurs suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) selon le test de HSD de Tukey. ES : erreur standard.

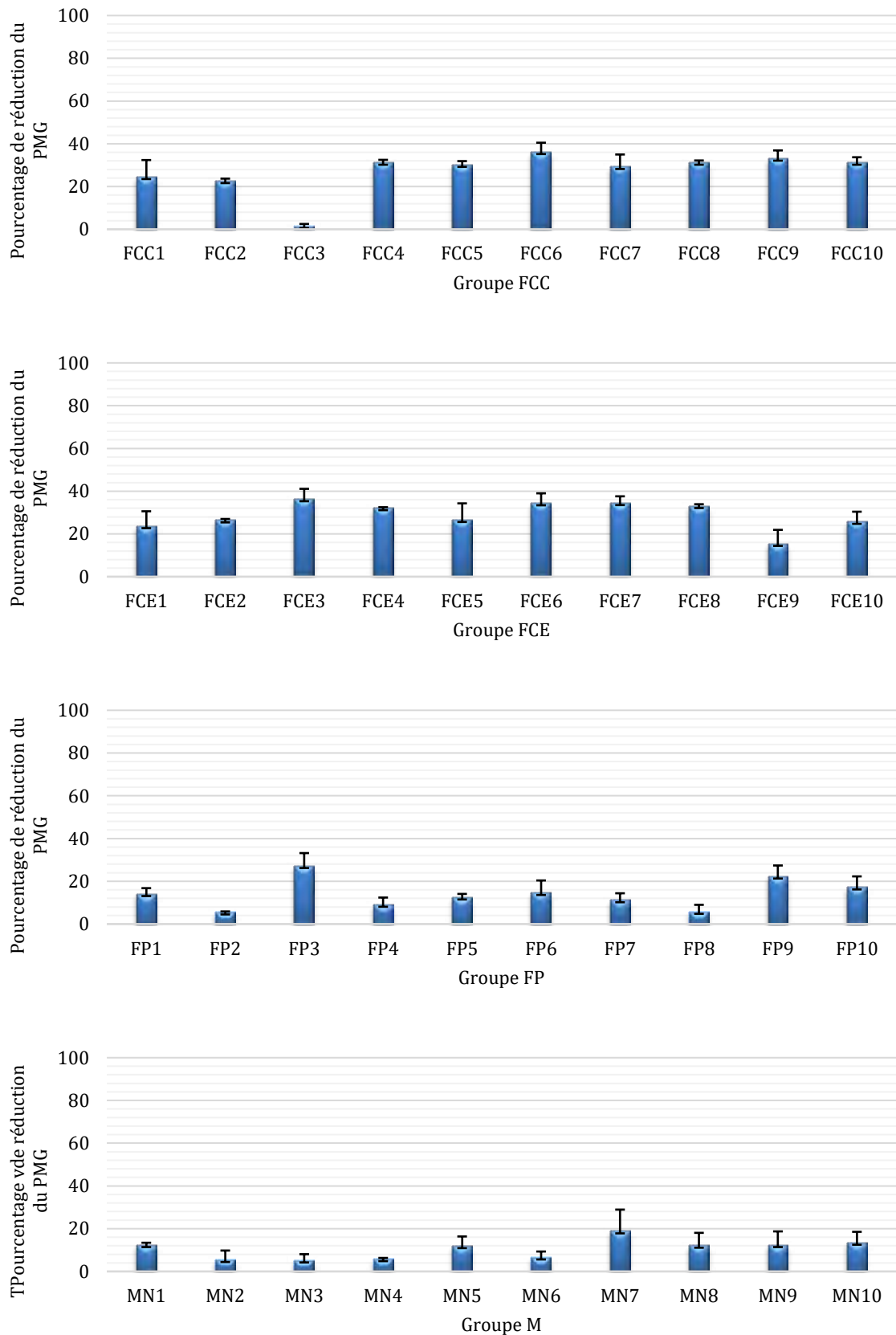


Figure 43. Pourcentages de réduction du PMG pour les isolats de chaque groupe FCC, FCE, FP et M. Les barres correspondent à l'erreur standard.

IV.3.5.2. Effet de l'origine des isolats

L'origine des isolats (collet ou épi) de *F. culmorum* n'a pas d'effet ($p = 0.39$) sur la réduction du PMG de ces derniers. Le classement de tous les isolats selon leur pourcentage de réduction du PMG montre une alternance dans le classement des isolats obtenus du collet ou des épis.

IV.3.5.3. Effet des groupes (espèces)

Des différences très hautement significatives ont été notées entre les espèces ($p < 0.001$). Le pourcentage de réduction du PMG est variable selon les espèces, les deux groupes du *F. culmorum* causent les pourcentages de réduction du PMG les plus élevés (28,8 et 28,6% respectivement) suivis par les deux groupes FP et M (14 et 10,4 % respectivement) (Fig. 44).

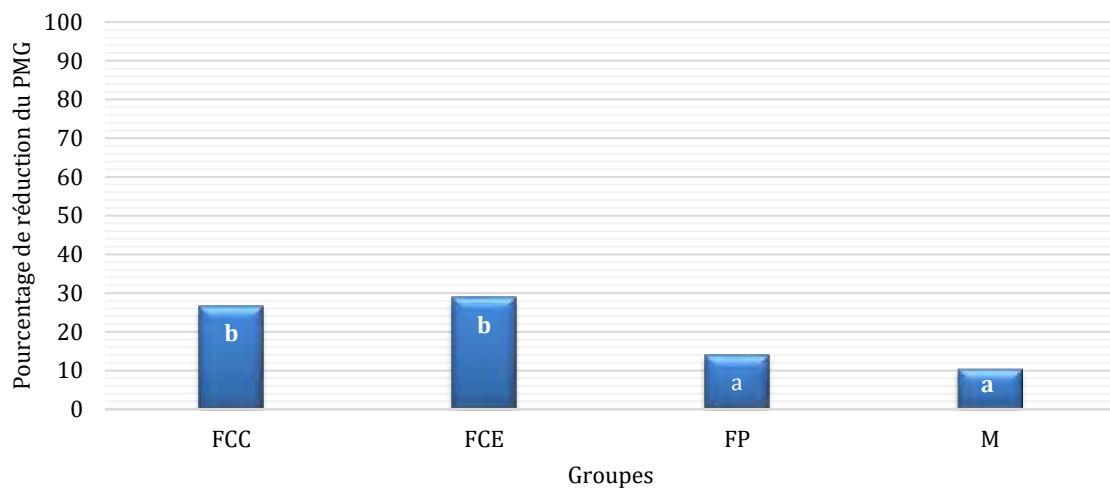


Figure 44. Moyenne de la réduction du PMG pour les 4 groupes FCE, FCC, FP et M.

IV.3.6. Ré-isolément des isolats à partir des organes inoculés lors des tests de pathogénicité *in vivo*

Après la notation des résultats, les agents fongiques sont réisolés à partir des organes inoculés (fig. 45). On remarque l'apparition d'autres genres comme *Alternaria* et *Epicoccum* lors des isoléments à partir des graines issues des épis inoculés car l'essai a été réalisé en conditions naturelles en plein champs.

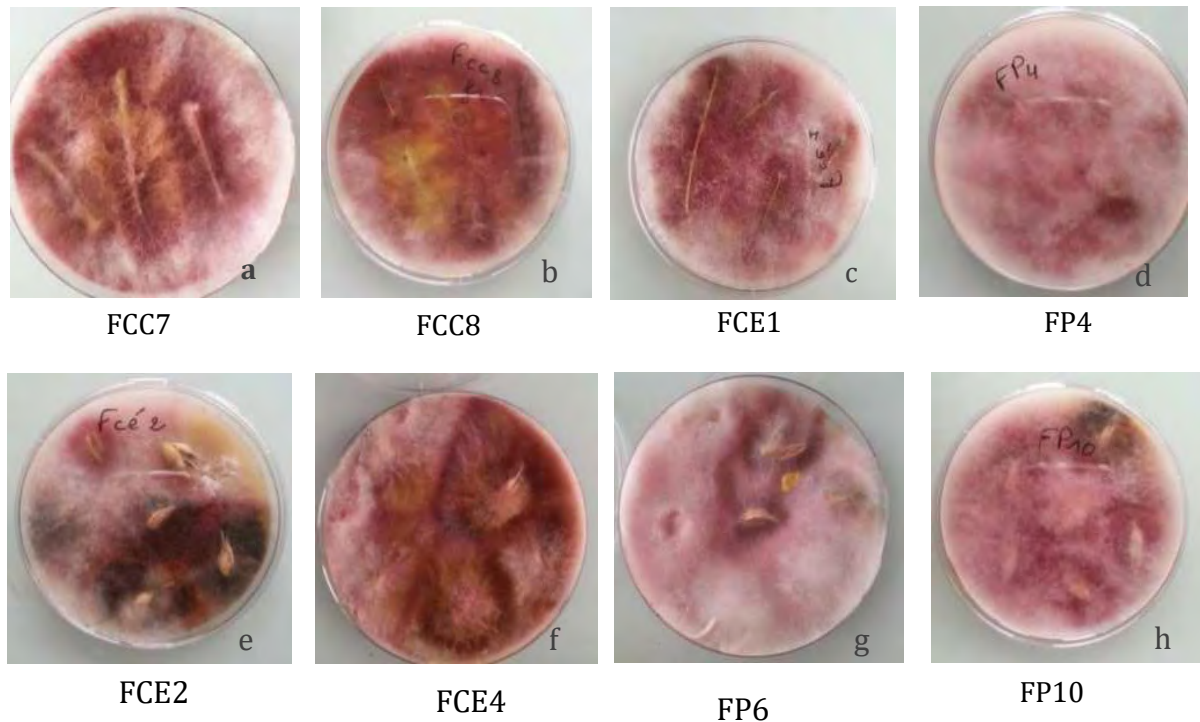


Figure 45. Ré-isolement des agents fongiques à partir des organes inoculés. a, b, c et d : ré-isolement à partir des collets inoculés par la technique d'inoculation par fragment mycélien des isolats FCC7, FCC8, FCE1 et FP4 respectivement ; e, f, g, et h : ré-isolement à partir des graines issues des épis inoculés en plein champs par les isolats FCE2, FCE4, FP6 et FP10 respectivement.

IV.3.7. Comparaison entre les différents tests de pathogénicité

Le classement des isolats selon l'agressivité sur les différents organes inoculés montre que les isolats les plus agressifs et les moins agressifs pour chaque organe ne sont pas les mêmes. Cependant certains isolats ont pour tous les tests une agressivité réduite, c'est le cas de FCC3 du groupe FCC, FCE9 du groupe FCE ainsi que les deux isolats FP1 et FP2 du groupe FP. Pour les isolats les plus agressifs, ils diffèrent selon les organes inoculés, on remarque une alternance des isolats des trois groupes FP, FCC et FCE pour l'inoculation des graines *in vitro*, une dominance des isolats du groupe FP pour l'inoculation de la partie basale et une alternance des isolats des groupes FCC et FCE pour le test sur les épis et le pourcentage de réduction du PMG. D'une façon générale l'espèce *F. culmorum* est plus agressive sur les graines *in vitro* et sur les épis, l'espèce *F. pseudograminearum* est plus agressive sur le collet (la partie basale) et les isolats de *Microdochium* sont les moins agressifs (Fig. 46).

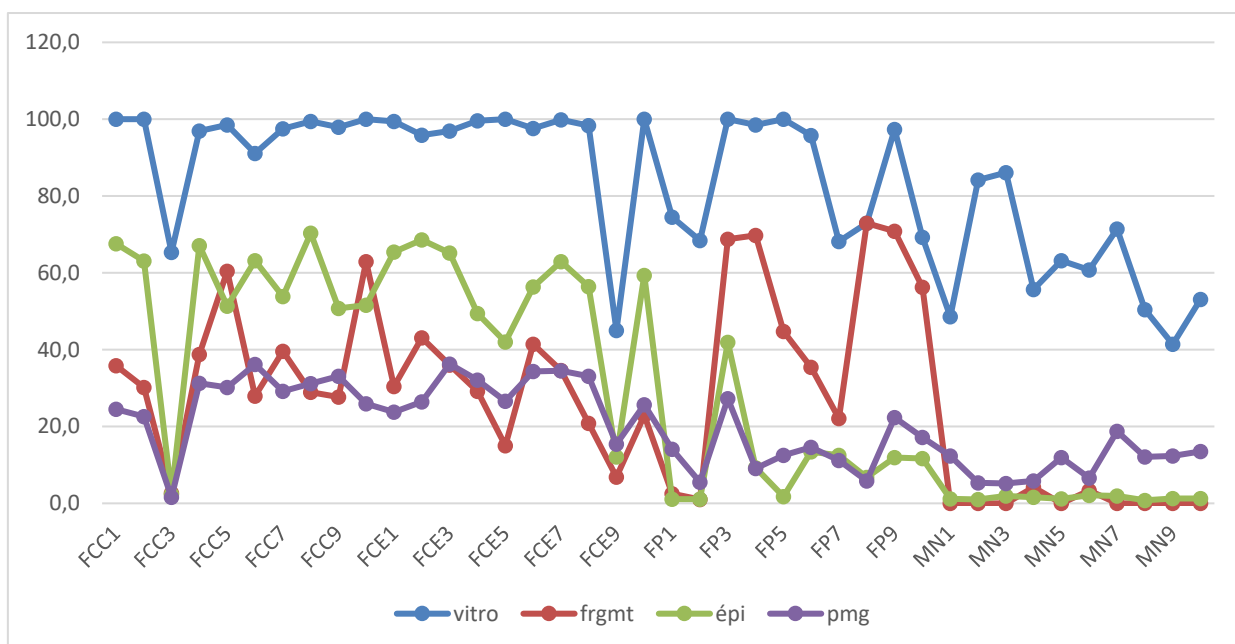


Figure 46. Les différents tests de pathogénicité (vitro : le test d'inoculation des graines de blé *in vitro*, frgmt : l'inoculation des graines par les fragments mycéliens, épi : l'inoculation des épis, pmg : le pourcentage de réduction du PMG).

IV.3.8. Etude des corrélations entre les différents tests pathologiques

L'étude des corrélations entre les différents tests de pathogénicité réalisés au cours de ce travail a révélé l'existence des corrélations intéressantes entre ces derniers. Quatre corrélations significatives ont été notées pour le groupe FCC, la plus élevée est celle entre le test de pathogénicité *in vitro* et le test de pathogénicité sur les épis ($r = 0,89$, $p = 0,001$), une autre forte corrélation significative est notée entre le test de pathogénicité sur les épis (pourcentage de maladie sur les épis) et le pourcentage de réduction du PMG ($r = 0,83$, $p = 0,003$), le test *in vitro* est donc aussi corrélé avec le pourcentage de réduction du PMG ($r = 0,80$, $p = 0,006$), la dernière corrélation significative ($0,70$, $p = 0,022$) a été notée entre le test *in vitro* et le test de pathogénicité sur collet par inoculation par fragment mycélien (Tableau 15). Plusieurs corrélations significatives ont été notées pour le groupe FCE dont la plus élevée est celle entre le test du pathogénicité *in vitro* et le test de pathogénicité sur collet par la technique de suspension de spores ($r = 0,93$, $p = 0,000$). Le test *in vitro* est aussi corrélé avec le test de pathogénicité sur les épis ($r = 0,85$, $p = 0,002$) et le pourcentage de réduction du PMG ($r = 0,71$, $p = 0,021$). Une autre corrélation significative ($r = 0,81$, $p = 0,004$) est notée entre le test de pathogénicité sur collet par la technique du fragment mycélien et le test de pathogénicité sur les épis (Tableau 16). Une seule corrélation significative ($r = 0,76$, $p = 0,011$) a été trouvée pour le groupe FP entre le pourcentage de maladie sur les épis et le pourcentage de réduction du PMG (Tableau 17). Aucune corrélation significative n'a été notée pour le groupe M.

Tableau 15. Corrélations entre les trois tests de pathogénicité ainsi que le pourcentage de réduction du PMG pour les isolats du groupe FCC (*F. culmorum* isolés du collet)

Groupe FCC	<i>In vitro</i>	Fragment	Épi	PMG
<i>In vitro</i>	1,00			
Fragment	0,70 (p = 0,022)	1,00		
Épi	0,89 (p= 0,001)	0,46 (p= 0,178)	1,00	
PMG	0,80 (p= 0,006)	0,52 (p= 0,120)	0,83 (p= 0,003)	1,00

Tableau 16. Corrélations entre les trois tests de pathogénicité ainsi que le pourcentage de réduction du PMG pour les isolats du groupe FCE (*F. culmorum* isolés des épis)

Groupe FCE	<i>In vitro</i>	Suspension	Fragment	Épi	PMG
<i>In vitro</i>	1,00				
Suspension	0,93(p=0,000)	1,00			
Fragment	0,59 (p= 0,072)	0,52 (p= 0,123)	1,00		
Épi	0,85 (p= 0,002)	0,68 (p= 0,029)	0,81 (p= 0,004)	1,00	
PMG	0,71 (p= 0,021)	0,63 (p= 0,049)	0,63 (p= 0,052)	0,64 (p=0,046)	1,00

Tableau 17. Corrélations entre les trois tests de pathogénicité ainsi que le pourcentage de réduction du PMG pour les isolats du groupe FP (*F. pseudograminearum*)

Groupe FP	<i>In vitro</i>	Fragment	Épi	PMG
<i>In vitro</i>	1,00			
Fragment	0,52 (p=,122)	1,00		
Épi	0,40 (p= 0,258)	0,47 (p= 0,144)	1,00	
PMG	0,50 (p= 0,144)	0,37 (p= 0,294)	0,76 (p= 0,011)	1,00

IV. 4. Discussion

Pour étudier la pathogénicité des isolats appartenant aux principales espèces associées à la fusariose du blé en Algérie, différents tests ont été réalisés. Ces tests consistent à inoculer artificiellement les principaux organes atteints naturellement par ces agents pathogènes à savoir la graine, le collet et l'épi. Les graines sont inoculées *in vitro* tandis que les collets et les épis sont inoculés *in planta*.

La première partie de ce chapitre consiste à l'inoculation des graines *in vitro* par les isolats appartenant aux principales espèces de la fusariose du blé en Algérie. Les résultats ont montré que tous les isolats ont causé une réduction de la croissance du coléoptile par rapport au témoin non inoculé avec des variations intra et interspécifiques. Il s'est avéré également que les deux groupes de *F. culmorum* FCC (collet) et FCE (épi) ainsi que le groupe de *F. pseudograminearum* sont les plus agressifs, tandis que les isolats appartenant au groupe *Microdochium ssp.* sont les moins agressifs. Ces résultats concordent avec ceux obtenus dans plusieurs études de pathogénicité et qui ont montré que les espèces *F. culmorum*, *F. pseudograminearum* et *F. graminearum* sont les plus agressives sur blé par rapport aux autres espèces pathogènes.

Brennan et al. (2003) ont réalisé ce même test de pathogénicité *in vitro* pour cinq espèces *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum* et *Microdochium nivale* et ils ont trouvé que les deux espèces *F. culmorum* et *F. graminearum* sont les plus agressives. Ils ont noté aussi que ces deux espèces causent plus de retard de la croissance du coléoptile dans des températures allant de 20 à 25°C (>89,3% de réduction).

Plusieurs autres études ont adopté des tests de pathogénicité *in vitro* pour évaluer l'agressivité des isolats et des espèces ou pour estimer la résistance des variétés du blé. L'étude de Sakr (2017) a confirmé la pertinence de la méthode du test *in vitro* (effet de l'agent pathogène sur la croissance du coleoptile) modifiée à utiliser comme test rapide et fiable pour analyser l'agressivité chez les espèces associées à la fusariose du blé. Sakr (2018) a réalisé le test de pathogénicité *in vitro* pour estimer la résistance des variétés du blé tendre à la fusariose de l'épi. Ce même auteur a réalisé l'inoculation sur feuilles détachées *in vitro* pour estimer la pathogénicité de 16 isolats de *Fusarium* causant la fusariose de l'épi de blé (Sakr, 2020). Bai et Shaner (1996) ont également signalé une relation directe entre la croissance *in vitro* et la pathogénicité *in vivo* des isolats de *F. graminearum*. Ils ont trouvé que les isolats de *F. graminearum* de Chine avaient le meilleur taux de croissance (incubé à température ambiante) et lorsqu'ils sont utilisés pour des inoculations sous serre (23–25 °C), ces isolats ont également causé la plus grande sévérité de FHB.

Une forte corrélation hautement significative ($r = 0,69$, $p < 0,001$) a été calculée entre l'agressivité et la croissance mycélienne à 25°C. Cela peut suggérer que les isolats qui ont une croissance mycélienne plus élevée ont une agressivité élevée comme l'isolat FCE9 qui a une croissance réduite et une sévérité très réduite ; mais cela n'est pas toujours vrai vu que l'isolat FCC3 de l'espèce *F. culmorum* a une croissance élevée mais une agressivité très réduite. Ainsi, on ne pourrait pas prédire la sévérité des isolats à partir de leur croissance mycélienne.

La deuxième partie de ce chapitre consiste à évaluer l'agressivité de ces espèces vis-à-vis de la partie basale des plantules du blé (le collet) *in planta*. Pour cela, deux techniques sont utilisées, la première consiste à inoculer les graines au moment du semis par des explants mycéliens de l'agent pathogène tandis que la deuxième technique consiste à inoculer les collets des plantules de blé âgées de deux semaines par des suspensions de spores de l'agent pathogène.

Les résultats de l'inoculation par fragment mycélien montrent que tous les isolats de *F. culmorum* et *F. pseudograminearum* ont causé des symptômes visibles sur le collet, tandis que seul deux isolats de *Microdochium* ssp. ont causé la maladie. Le classement des quatre groupes montre que le groupe FP est le plus agressif suivi par FCC, puis FCE et enfin M. La technique d'inoculation des plantules de blé âgées de deux semaines par des suspensions de spores a été considérée uniquement pour le groupe FCE, les autres groupes sont aussi étudiés par cette technique mais les résultats ne sont pas considérés à cause d'un petit retard dans la date d'inoculation. Il est à noter que pour cette technique, les suspensions de spores des agents pathogènes doivent être préparées et ajustées avant que les plantules du blé atteignent l'âge de deux semaines pour éviter tout décalage dans les dates d'inoculation. La comparaison des indices de maladie des deux techniques pour le groupe FCE montre que la technique d'inoculation par des suspensions de spores cause les indices de maladie les plus élevés.

Ozdemir et al. (2020) ont inoculé les bases de plantules de différentes variétés de blé par deux isolats *F. culmorum* et *F. pseudograminearum* et ont montré que l'isolat de *F. culmorum* était plus agressif. De plus, des fortes corrélations ont été notées entre l'indice de pathogénicité sur le collet et les quantités d'ADN évaluées par q-PCR. Gebremariam et al. (2018) ont montré que sur blé dur *F. culmorum*, *F. pseudograminearum* et *F. graminearum* étaient les plus agressives sur collet. Dehghanpour-Farashah et al. (2020) en comparant la pathogénicité de différents isolats de *Fusarium* ont trouvé que le niveau le plus élevé de l'indice de la maladie a été observé pour *F. pseudograminearum*, *F. culmorum*, *F. flocciferum* et *F. solani* et le plus faible indice a été observé pour *F. equiseti*. Ces mêmes auteurs ont signalé des différences significatives dans les indices d'agressivité selon les espèces, en particulier, *F. culmorum* a

tendance à causer plus de fontes de semis tandis que *F. pseudograminearum* et *F. graminearum* ont tendance à causer plus de pourritures du collet.

En Australie, Obanor et Chakraborty (2014) ont constaté que *F. graminearum* est un pathogène prédominant de l'épi et que *F. pseudograminearum* est un pathogène du collet qui peut provoquer la fusariose de l'épi sous certaines conditions climatiques (humidité prolongée durant la floraison). Le génome de *F. pseudograminearum* contient un gène avec une homologie avec le pathogène fongique des céréales *Phaeosphaeria nodorum* et des bactéries mais pas avec aucune espèce de *Fusarium*. Ces auteurs suggèrent que ce gène qui est peut-être acquis par transfert horizontal améliore l'agressivité de *F. pseudograminearum* vis à vis de la partie basale du blé. D'autres gènes du génome de cette espèce peuvent également contribuer à sa spécialisation en tant que pathogène du collet du blé. La recherche menée par Knight et al. (2017) a montré que la gravité de la pourriture du collet causée par *F. pseudograminearum* dans les tiges de blé dur peut être exprimée en utilisant différents indices : la décoloration visuelle, la quantification de la biomasse fongique ainsi que la colonisation des vaisseaux par l'agent pathogène. Pouzeshimiab et al. (2016) ont trouvé des différences significatives dans l'agressivité des isolats de *F. pseudograminearum* inoculés aux collets du blé sous serre. Cette variabilité est indépendante de la région géographique des isolats. De plus, des comparaisons entre *F. pseudograminearum* et *F. culmorum* a montré que *F. pseudograminearum* cause des symptômes de maladie plus graves en fin de saison (Smiley et al., 2005). Alors qu'une comparaison similaire entre *F. culmorum* et *F. graminearum* n'a montré aucune différence (Fernandez et Chen, 2005). Outre les comparaisons interspécifiques, des études ont identifié des différences significatives entre les isolats au sein des mêmes espèces, des différences qui semblent être affectés par la variation annuelle du climat (Smiley et al., 2005).

Beccari et al. (2018b) ont réalisé des inoculations artificielles des plantules du blé par trois espèces *F. culmorum*, *F. pseudograminearum* et *F. graminearum* et ils ont conclu que dans les mêmes conditions expérimentales, ces espèces suivent généralement un schéma similaire dans la progression des symptômes, la colonisation fongique et la translocation du DON vers les épis après l'inoculation de la base de la tige. Ceci est une confirmation que la pourriture du collet provoquée par ces espèces pourrait être considérée comme une source potentielle supplémentaire de contamination des grains par le DON. Cependant, les faibles quantités de DON détectées dans les tissus des épis dans cette étude et le gradient descendant du rachis aux grains de DON transloqué après une infection à la base de tige signalée dans des études précédentes (Mudge et al., 2006; Covarelli et al., 2012), suggèrent que l'infection du collet représente très peu de menace pour la contamination des épis. Covarelli et al. (2012) ont montré que la progression des *Fusarium* pathogènes à travers la tige dépend de l'agressivité des isolats.

De plus, Winter et al. (2013), en étudiant la translocation du DON après une infection de la base de la tige par *F. culmorum*, ont observé l'accumulation de DON dans les épis et dans les enveloppes, mais pas dans les grains mûrs. Ces auteurs ont décrit que le transport vasculaire du DON du pédoncule au grain a été interrompu par une zone barrière à l'interface entre le grain et le rachis.

La comparaison des deux techniques d'inoculation (fragments mycéliens et suspensions de spores) pour le groupe FCE a montré que la technique d'inoculation des bases de tiges par des suspensions de spores cause des indices de maladie plus élevés que la technique du fragment. Gargouri-Kammoun et al. (2009) ont utilisé les deux techniques d'inoculation, ces derniers auteurs ont montré une différence d'agressivité significative entre les isolats ($P < 0,01$). Cependant, contrairement à nos résultats, la technique d'inoculation par fragment mycélium a entraîné les indices de maladie les plus élevés. Erginbas-Orakci et al. (2016) ont utilisé trois techniques d'inoculation sur différentes parties des plants de blé et ils ont trouvé des différences importantes de la sévérité de la pourriture du collet. Dodman et Wildermuth (1987) ont montré que la résistance était mieux exprimée lorsque l'inoculum était appliqué sur ou dans le sol, plutôt que directement sur les plantes dans des pots sous des conditions de serre. Smiley (2019) a comparé deux techniques d'inoculation du blé par *F. pseudograminearum* et *F. culmorum*, les résultats ont montré que la technique basée sur le mélange des graines du blé avant le semis par un inoculum de *Fusarium* sur avoine cause plus de fontes de semis que la technique basée sur un inoculum de graines de mil entier colonisées et placées à 2 cm au-dessus des graines de blé.

L'étude de l'agressivité sur les épis a montré que les isolats appartenant à l'espèce *F. culmorum* sont les plus agressifs suivis par l'espèce *F. pseudograminearum* puis par *Microdochium* ssp. Polišenská et al. (2020) ont réalisé des inoculations artificielles par *F. culmorum* sur six génotypes de blé tendre dans deux localités et durant trois années successives et ils ont montré que la réponse des caractéristique des grains de blé à l'infection par *F. culmorum* a été largement influencée par le génotype et l'environnement confirmant ainsi la nature multifactorielle de la fusariose de l'épi. Gaikpa et al. (2020) ont réalisé l'inoculation artificielle par *F. culmorum* de quatre céréales dont le seigle, le triticale, le blé dur et le blé tendre, leurs résultats suggèrent que le blé dur puis le blé tendre sont les plus sensibles à la fusariose de l'épi et peuvent accumuler des niveaux élevés de DON.

Dans notre étude, la majorité des isolats de *F. pseudograminearum* sont obtenus à partir du collet ce qui indique déjà que cette espèce a tendance à causer plus de pourriture du collet que de la fusariose de l'épi. Cependant son isolement à partir de l'épi (un isolat) nous laisse suggérer qu'elle peut de même attaquer les épis mais dans des conditions particulières.

L'inoculation des épis par les isolats de cette espèce a révélé qu'ils sont agressifs et ont causé des indices de maladies différents mais toujours inférieurs aux indices de maladie causés par les isolats de *F. culmorum*. Des études antérieures ont rapporté *F. pseudograminearum* comme agent de la fusariose de l'épi notamment en Australie (Miedaner et al., 2008 ; Obanor et al., 2013), la chine (Xu et al., 2015 ; Ji et al., 2016), l'Iraq (Minati, et al., 2019), la France (Sonia et al., 2020). Les résultats de l'inoculation des épis par les isolats de *Microdochium* spp. (obtenus tous à partir des collets) ont révélé une très faible agressivité. Aamot et al. (2020) ont rapporté une relation entre la diminution de la qualité boulangère des graines et la présence de *M. majus*.

Pour les isolats du genre *Microdochium* les pourcentages de sévérité (pour tous les tests) relativement faibles peuvent être dus à la température un peu élevée dans laquelle les tests sont réalisés. Ces températures diffèrent de l'optimum thermique de cette espèce qui est d'environ 20 °C.

La fusariose de l'épi implique une diminution du rendement due aux graines fusariées qui sont chétives et déformées et qui sont dans la plupart des cas perdues lors du battage à cause de leur petite taille. En plus de la perte quantitative, la qualité du rendement est altérée à cause de l'accumulation de mycotoxines au niveau des graines. L'inoculation des épis par les isolats des différentes espèces a montré la réduction du PMG pour la plupart des isolats avec des variations intra et interspécifiques. Linkmeyer et al. (2016) ont montré que l'inoculation des épis du blé par pulvérisation de *F. culmorum* a un effet sur la diminution du PMG et que la sévérité de la maladie dépend du point de l'infection. Polišenská et al. (2020) ont noté une réduction du PMG ainsi que d'autres critères qualitatifs des graines à la suite de l'infection par *F. culmorum*. Bellesi et al. (2019) ont trouvé que les espèces du genre *Fusarium* ont des effets négatifs sur la qualité des graines et la composition en gluten ; et ils ont conclu que la présence de ces champignons durant le stockage altère la qualité des pâtes et du pain. Góral et al. (2019) ont trouvé une corrélation significative entre les symptômes d'infection de l'épi et le pourcentage de réduction de PMG. L'infection de l'épi était corrélée avec la biomasse de *F. culmorum* et la concentration de NIV dans le grain. En revanche, aucune corrélation n'a été trouvée entre l'indice de la fusariose de l'épi et la concentration du DON.

Au terme de cette étude, nous avons noté l'absence de spécificité des isolats vis-à-vis des organes des plants du blé. En effet, les isolats obtenus des collets ont induit des indices de maladie élevés sur les épis et les isolats obtenus des épis ont induit des indices de maladie élevés sur le collet. Fernandez et al. (2005) ont montré que les isolats obtenus à partir du collet et ceux obtenus à partir des épis ont une pathogénicité similaire sur les épis. Contrairement à Akinsanmi et al. (2004) qui ont trouvé que les isolats appartenant à différentes espèces de *Fusarium*

provenant de chaume et du collet étaient plus agressifs sur la partie basale, tandis que les isolats obtenus du nœud de la dernière feuille étaient plus agressifs sur les épis. De plus, les isolats qui étaient très agressifs sur collet étaient ceux provenant des enclos avec du blé suivant le blé, tandis que ceux des champs avec du blé suivant le maïs ou le sorgho étaient très agressifs sur les épis signalant ainsi l'effet de la rotation sur le développement d'une maladie ou de l'autre. Ces auteurs n'ont pas trouvé de corrélation significative entre l'agressivité des isolats sur le collet et l'agressivité sur épi.

De fortes corrélations très hautement significatives sont notées entre le test de pathogénicité *in vitro* et le test d'inoculation des épis pour les deux groupes de *F. culmorum*. Cela semble très intéressant vu que le test *in vitro* est une technique simple et rapide contrairement à l'inoculation des épis en plein champs qui est longue, couteuse et nécessite tout le cycle de la céréale. Donc ce test peut être utilisé pour le choix des isolats *in vitro* avant de passer en plein champs. Browne et Cooke (2004) ont réalisé un essai impliquant l'inoculation de feuilles détachées *in vitro* avec *M. nivale* dont les résultats ont été similaires à ceux de l'inoculation des épis (sauf pour quelques génotypes comme Sumai 3), ils ont suggéré que ce test plus simple peut être utilisé pour évaluer la résistance des variétés du blé à la fusariose de l'épi. Sakr (2020) a réalisé ce test *in vitro* sur feuilles détachées en plus d'un autre test *in vitro* sur des plantules du blé et il a conclu que ces tests rapides peuvent être utilisés pour le choix des isolats *in vitro* avant de passer aux essais en plein champs.

Enfin, l'évaluation de l'agressivité des isolats de *Fusarium* et *Microdochium* est cruciale pour concevoir des stratégies de lutte contre les maladies et décrire l'épidémiologie du complexe de la fusariose de blé. La variabilité parmi les isolats d'une même espèce devrait être prise en considération lors du choix de la stratégie de contrôle de la maladie. Les isolats les plus agressifs identifiés par les protocoles d'inoculation utilisés dans la présente étude peuvent être utilisés pour dépister les lignées de blé/cultivars pour une résistance potentielle à la maladie.

CONCLUSION GENERALE

Le blé est une culture d'une grande importance pour l'alimentation humaine, l'Algérie est parmi les pays les plus consommateurs de cette céréale. Malgré tous les efforts déployés pour améliorer la productivité ainsi que la production, plusieurs contraintes influencent négativement sa production. Les fusarioses sont parmi les maladies fongiques les plus redoutables sur céréales qui affectent négativement la production en quantité et en qualité par la production des mycotoxines. Les prospections effectuées durant les deux campagnes 2013/2014 et 2014/2015 ont permis de mettre en évidence les principales espèces responsables de la fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé en Algérie ainsi que la distribution de ces deux maladies dans les différentes zones céréalières du pays. Ce travail a permis aussi la caractérisation des chémotypes des espèces toxigènes ainsi que l'agressivité des principales espèces isolées à partir des épis et des collets.

Les résultats obtenus lors des prospections ont mis en évidence l'existence de la pourriture du collet et la fusariose de l'épi dans nos céréales. En effet, les caractéristiques du climat algérien sont très favorables au développement de ces maladies étant donné que la sécheresse est la principale contrainte de la céréaliculture Algérienne ce qui favorise le développement des pourritures du collet. De plus, des pluies printanières sont aussi fréquentes et varient selon les années, ce qui fournit une certaine humidité favorable au développement des agents de la fusariose de l'épi. La pourriture du collet prévaut dans la plupart des régions prospectées incluant l'est, l'ouest et le centre durant les deux années 2014 et 2015. Cela s'explique par les conditions climatiques favorables au développement de cette maladie. Lors des deux années de prospections, la fusariose de l'épi était moins fréquente et se limitait aux régions du centre et de l'est. Ces zones sont caractérisées par un climat humide et subhumide où la pluviométrie est relativement importante. Cette maladie est absente dans les régions de l'ouest au cours des deux années et cela peut s'expliquer par les conditions climatiques de ces zones, défavorables à son développement ; le nord-ouest de l'Algérie se caractérise par un climat semi-aride et généralement par une faible pluviométrie.

L'étude des principales espèces causant la pourriture du collet des blés algériens a montré la diversité de ces espèces dominées essentiellement par *F. culmorum*. Les espèces *M. majus*, *F. pseudograminearum*, *M. nivale*, *F. verticillioides* et *F. avenaceum* sont aussi obtenues des collets des plants de blé symptomatiques. La fusariose de l'épi est moins fréquente que la pourriture racinaire selon les résultats des prospections. Deux espèces sont identifiées à partir des épis, *F. culmorum* comme l'espèce prédominante et *F. pseudograminearum* représentée par

un seul isolat obtenu dans la wilaya d'Oum El Bouaghi caractérisée par le climat semi-aride. On note l'absence de l'espèce *F. graminearum* dans toutes les régions prospectées. Cette espèce est considérée mondialement comme le principal agent causal de la fusariose de l'épi. On note pour ces deux maladies la dominance de l'espèce toxigène *F. culmorum* et l'absence de *F. graminearum*.

L'identification des chémotypes par l'usage de la PCR en temps réel a montré l'existence des deux chémotypes DON et NIV dans les blés algériens. Le chémotype NIV a été identifié uniquement chez les isolats de *F. culmorum* et *F. pseudograminearum* obtenus de la partie basale des plants du blé, et aucun isolat obtenu des épis n'a présenté ce chémotype. Le chémotype dominant des isolats de *F. culmorum* obtenus à partir du collet était le 3-ADON (n=49) et uniquement 4 isolats appartiennent au chémotype NIV. La totalité (n=14) des isolats de *F. culmorum* obtenus à partir des épis sont de chémotype 3-ADON. Les quatre isolats de *F. pseudograminearum* étaient du chémotype 3-ADON et un isolat ne produit pas de TCTB.

Pour étudier la pathogénicité des isolats appartenant aux principales espèces associées la fusariose de blé en Algérie, différents tests ont été réalisés. Ces tests consistent à inoculer artificiellement les principaux organes attaqués naturellement par ces agents pathogènes à savoir la graine, le collet et l'épi. Les graines sont inoculées *in vitro* tandis que les collets et les épis sont inoculés *in planta*. Quarante (40) isolats ont été utilisés dans cette étude, 10 isolats de *F. culmorum* isolés des collets (FCC), 10 isolats de *F. culmorum* isolés des épis (FCE), 10 isolats de *F. pseudograminearum*(FP) et 10 isolats de *Microdochium* spp. (M).

Les résultats de l'inoculation des graines *in vitro* par les isolats appartenant aux principales espèces de la fusariose de blé en Algérie ont montré que tous les isolats ont causé une réduction de la croissance du coléoptile par rapport au témoin non inoculé avec des variations intra et interspécifiques. Il s'est avéré également que les deux groupes de *F. culmorum* FCC (collet) et FCE (épi) ainsi que le groupe de *F. pseudograminearum* sont les plus agressifs, tandis que les isolats de *Microdochium* ssp. sont les moins agressifs.

L'évaluation de l'agressivité de ces espèces vis-à-vis de la partie basale des plantules du blé (le collet) *in planta* a été réalisée par deux techniques, la première consiste à inoculer les graines au moment du semis par des explants mycéliens de l'agent pathogène tandis que la deuxième technique consiste à inoculer les collets des plantules de blé âgées de deux semaines par des suspensions de spores de l'agent pathogène.

Les résultats de l'inoculation par fragment mycélien montrent que tous les isolats de *F. culmorum* et *F. pseudograminearum* ont causé des symptômes visibles sur le collet, tandis que

seul deux isolats de *Microdochium* spp. ont causé la maladie. Le classement des quatre groupes montre que le groupe FP (*F. pseudograminearum*) est le plus agressif suivi par FCC (*F. culmorum* isolés du collet), puis FCE (*F. culmorum* isolés des épis) et enfin M (*Microdochium* sp.). La technique d'inoculation des plantules de blé âgées de deux semaines par des suspensions de spores a été considérée uniquement pour le groupe FCE, les autres groupes sont aussi étudiés par cette technique mais les résultats ne sont pas considérés à cause d'un petit retard dans la date d'inoculation. La comparaison des indices d'agressivité par les deux techniques pour le groupe FCE montre que la technique d'inoculation par des suspensions de spores cause les indices de maladie les plus élevés.

L'étude de l'agressivité sur les épis a montré que les isolats appartenant à l'espèce *F. culmorum* sont les plus agressifs suivis par l'espèce *F. pseudograminearum* puis par *Microdochium* spp. Dans notre étude, la majorité des isolats de *F. pseudograminearum* sont obtenus à partir du collet ce qui indique déjà que cette espèce a tendance à causer plus de pourriture du collet que la fusariose de l'épi. Cependant son isolement à partir de l'épi (un isolat) nous laisse suggérer qu'elle peut également attaquer les épis mais dans des conditions particulières. L'inoculation des épis par les isolats de cette espèce a révélé qu'ils sont agressifs et ont causé des indices de maladie différents mais toujours inférieurs aux indices de maladie causés par les isolats de *F. culmorum*.

La fusariose de l'épi implique une diminution du rendement due aux graines fusariées qui sont chétives et déformées et qui sont dans la plupart des cas perdues lors du battage à cause de leur petite taille. L'inoculation des épis par les isolats des différentes espèces a montré la réduction du PMG pour la plupart des isolats avec des variations intra et interspécifiques.

Au terme de cette étude, nous avons noté l'absence de spécificité des isolats vis-à-vis des organes des plants du blé. En effet, les isolats obtenus des collets ont induit des indices de maladie élevés sur les épis et les isolats obtenus des épis ont induits des indices de maladie élevés sur le collet.

De fortes corrélations très hautement significatives sont notées entre le test de pathogénicité *in vitro* et le test d'inoculation des épis pour les deux groupes de *F. culmorum*. Cela semble très intéressant vu que le test *in vitro* est une technique simple et rapide contrairement à l'inoculation des épis en plein champs qui est longue, coûteuse et nécessite tout le cycle de la céréale. Donc ce test peut être utilisé pour le choix des isolats *in vitro* avant de passer en plein champs.

Ce travail de thèse offre des résultats préliminaires de la situation des fusarioses du blé en Algérie notamment la distribution des deux maladies, les principaux agents causaux, leurs chémotypes ainsi que leur agressivité vis-à-vis des parties du blé attaquées. Cependant, beaucoup de travail reste à réaliser à l'avenir, ainsi cette thèse ouvre un grand nombre de perspectives :

- Il serait souhaitable d'étudier les agents causaux de ces maladies sur plusieurs années vue qu'elles dépendent fortement des conditions environnementales en particulier la fusariose de l'épi. De plus, des prospections plus larges sont nécessaires pour bien comprendre la constitution du complexe fusarien des blés algériens.
- L'absence de *Fusarium graminearum* dans la collection obtenue lors de cette étude ne signifie pas son absence absolue au niveau de nos céréales, pour cela d'autres prospections sont nécessaires en incluant les champs du blé irrigués du sud et ceux qui sont en rotation avec le maïs ou qui sont à côté des champs du maïs (qui est la meilleure plante hôte pour *F. graminearum*).
- Vue que le milieu de culture PDA utilisé pour l'isolement des *Fusaria* est non sélectif, il serait intéressant lors des prochaines prospections d'utiliser un milieu sélectif au *Fusaria* pour obtenir le maximum d'agent pathogènes et éviter les pertes d'isolats à cause de la concurrence avec d'autres genres notamment *Alternaria*.
- Plus que la moitié de la collection obtenue lors de cette étude reste non identifiée moléculairement, il serait intéressant d'avoir recours au séquençage pour les isolats non identifiés.
- L'identification des chémotypes des isolats ne signifie pas forcément qu'ils sont capables de produire ces mycotoxines, il serait souhaitable d'évaluer leur potentiel toxigène en utilisant les méthodes chimiques (HPLC).
- Il serait souhaitable de réaliser les tests d'agressivité pour les autres espèces, et refaire les tests *in vitro* et sur collet pour les isolats de *Microdochium* avec des températures plus basses.
- Il serait encore intéressant de rechercher au sein de nos cultivars de blé (tendre et dur) une résistance vis-à-vis la fusariose de l'épi (dont quelques travaux existent déjà) et vis-à-vis la pourriture du collet qui est la maladie la plus répandue selon nos résultats (absence de travaux à notre connaissance).
- Enfin, ce travail de thèse offre une collection d'agents pathogènes identifiés et caractérisés selon les chémotypes et l'agressivité vis-à-vis les différents organes de la plante hôte. Ces derniers vont servir comme matériel fongique pour plusieurs autres études notamment la recherche des cultivars résistants, les études épidémiologiques, les

essais de lutte biologiques et même dans les autres disciplines outre que la phytopathologie.

SOMMAIRE

DEDICACES.....	I
REMERCIEMENTS.....	II
LISTE DES ABREVIATIONS.....	IV
LISTE DES FIGURES.....	VI
LISTE DES TABLEAUX.....	IX
INTRODUCTION GENERALE	1
Chapitre I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	5
I.1. Le blé.....	5
I.1.2. Origine	5
I.1.2. Caractéristiques de la culture	6
I.1. 3. Production	7
I.1.4. Le blé en Algérie	8
I.1.6. Etat phytosanitaire du blé en Algérie	9
I.1.6.1. Les maladies fongiques	10
I.1.6.2. Les maladies bactériennes.....	10
I.1.6. 3. Les maladies virales	10
I.1.6.4. Les nématodes	11
I.1.6.5. Les ravageurs et les maladies de conservation :.....	11
I.2. La pourriture du collet et la fusariose de l'épi du blé.....	12
I.2.1. Données sur la pourriture du collet	12
I.2.1.1. Agents causaux	13
I.2.1.2. Symptomatologie.....	13
I.2.1.3. Dégâts.....	14
I.2.1.4. Epidémiologie et développement de la maladie.....	14
I.2.1.5. Interaction <i>Fusarium</i> -blé lors de la pourriture du collet	17
I.2.1.6. Méthodes de lutte contre la pourriture du collet	18
I.2.1.6.4. Résistance génétique.....	19
I.2.2. Données sur la fusariose de l'épi	20
I.2.2.1. Agents causaux	20
I.2.2.2. Symptomatologie.....	20
I.2.2.3. Dégâts	21

I.2.2.4. Epidémiologie et développement de la maladie	24
I.2.2.5. Interaction <i>Fusarium</i> -blé lors de la fusariose de l'épi	25
I.2.2.6. Lutte contre la fusariose de l'épi	26
I.2.3. Relation entre la pourriture du collet et la fusariose de l'épi	28
I.3. Le genre <i>Fusarium</i>	28
I.3.1. Historique et taxonomie	28
I.3.2. Cycle de vie	29
I.3.3. Identification des espèces de <i>Fusarium</i>	30
I.3.3.1. Identification morphologique	30
I.3.3.2. Identification moléculaire	31
I.3.4. Les principales espèces du complexe Fusarien chez le blé	31
I.5. Les fusariotoxines	32
I.5.1. Généralités	32
I.5.2. Les chémotypes de <i>Fusarium</i> spp.	33
I.5.3. Détoxification de DON par la plante	34
I.5.4. Risques liés aux mycotoxines et réglementation	35
I.5.5. Techniques de détection de la contamination par <i>Fusarium</i> spp. et par le DON	35
I.5.6. Stratégies de réduction de la contamination par les mycotoxines	36
Chapitre II : IDENTIFICATION DES AGENTS FONGIQUES RESPONSABLES DE LA POURRITURE RACINAIRE ET DE LA FUSARIOSE DE L'EPI DU BLE EN ALGERIE	38
II. 1. Introduction	38
II.2. Matériel et méthodes	40
II.2.1. Prospections et collecte des échantillons	40
II.2.2. Isolement, purification et conservation des isolats	40
II.2.3. Identification morphologique	41
II.2.4. Identification moléculaire	41
II.2.4.1. Extraction de l'ADN	42
II.2.4.2. Amplification de l'ADN par des amorces spécifiques de l'espèce (PCR conventionnelle)	42
II.3. Résultats	45
II.3.1. Distribution de la pourriture du collet et de la fusariose de l'épi dans les régions prospectées et symptômes observés	45
II.3.2. Identification morphologique	46
II.3.3. Identification moléculaire	48
II.3.4. Les espèces identifiées à partir des collets et des épis	54

II.3.5. Comparaison de la fréquence des espèces selon les deux années de prospection et selon les organes attaqués épi et collet.....	57
II.3.6. Distribution des deux maladies et des différentes espèces pathogènes qui leur sont associées dans les régions prospectées.....	58
II.4. Discussion	60
Chapitre III : CHEMOTYPES DES PRINCIPALES ESPECES CAUSANT LA POURRITURE DU COLLET ET LA FUSARIOSE DE L'EPI DU BLE	65
III.1. Introduction.....	65
III.2. Matériel et méthodes	67
III.3. Résultats.....	70
III.3.1. Chémotypes des espèces.....	70
III.4. Discussion.....	75
Chapitre IV : ETUDE DE LA PATHOGENICITE DES PRINCIPALES ESPECES ASSOCIEES A LA FUSARIOSE DU BLE	78
IV.1. Introduction.....	78
IV.2. Matériel et méthodes	79
IV.2.1. Matériel végétal et fongique	79
IV.2.2. Evaluation de la croissance mycélienne à 25°C.....	79
IV.2.3. Effet des isolats de <i>Fusarium</i> spp. et de <i>Microdochium</i> spp. sur la croissance du coléoptile <i>in vitro</i>	81
IV.1.3. Etude de la pathogénicité des isolats de <i>Fusarium</i> spp. et <i>Microdochium</i> spp. sur le collet du blé.....	82
IV.1.3.1. Inoculation du collet par fragment mycélien.....	82
IV.1.3.2. Inoculation du collet par les suspensions de spores de l'agent pathogène.....	83
IV.1.3. Etude de la pathogénicité des isolats de <i>Fusarium</i> spp. et de <i>Microdochium</i> spp. sur les épis de blé	84
IV.1.5. Analyses statistiques	85
IV.3. Résultats.....	86
IV.3.1. Evaluation de la croissance mycélienne à 25°C des isolats choisis pour les tests de pathogénicité	86
IV.3.2. Effet des isolats de <i>Fusarium</i> et de <i>Microdochium</i> sur la croissance du coléoptile du blé <i>in vitro</i>	87
IV.3.2.1. Effet des isolats.....	87
IV.3.2.2. Effet de l'origine des isolats.....	90
IV.3.2.3. Effet des espèces	90
IV. 3.2.4. Relation entre la croissance mycélienne des isolats et leur agressivité à 25°C.....	92
IV.3.3. Etude de l'agressivité des isolats de <i>Fusarium</i> et de <i>Microdochium</i> sur la partie basale des plantules du blé	93

IV.3.3.1. Inoculation par fragment mycélien.....	93
IV.3.3.2. Inoculation par la technique des suspensions de spores.....	98
IV.3.3.3. Comparaison entre les deux techniques d'inoculation des bases des tiges par les isolats du groupe FCE.....	100
IV.3.4. Etude de la pathogénicité des isolats de <i>Fusarium</i> spp. et de <i>Microdochium</i> spp. sur les épis et effet sur le rendement (PMG).....	100
IV.3.4.1. Effet des isolats.....	100
IV.3.4.2. Effet de l'origine des isolats de <i>F. culmorum</i>	101
IV.3.4.3. Effet des espèces	103
IV.3.5. Etude de l'effet des isolats de <i>Fusarium</i> et de <i>Microdochium</i> sur le poids de milles graines (PMG).....	104
IV.3.5.1. Effet des isolats.....	104
IV.3.5.2. Effet de l'origine des isolats.....	107
IV.3.5.3. Effet des groupes (espèces).....	107
IV.3.6. Ré-isolement des isolats à partir des organes inoculés lors des tests de pathogénicité <i>in vivo</i>	107
IV.3.7. Comparaison entre les différents tests de pathogénicité.....	108
IV.3.8. Etude des corrélations entre les différents tests pathologiques	109
IV. 4. Discussion.....	111
CONCLUSION GENERALE	117
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	122
ANNEXES	
TRAVAUX DE RECHERCHE	
RESUME	
ABSTRACT	
ملخص	

RESUME

La fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé sont parmi les maladies les plus importantes des céréales dans le monde. Elles sont responsables de pertes quantitatives de rendement et qualitatives par la sécrétion des mycotoxines dangereuses pour la santé humaine et animale. Ces deux maladies sont causées principalement par des espèces appartenant à deux genres *Fusarium* et *Microdochium*. La composition du complexe d'espèces qui cause les fusarioses diffère selon les régions et selon les conditions climatiques des années. L'identification des espèces appartenant à ce complexe est primordiale avant d'envisager des méthodes de lutte. L'objectif de ce travail est l'investigation de la distribution de ces deux maladies sur blé dans les principales zones céréalières du pays, et cela implique aussi l'identification des principales espèces responsables, leur distribution, leurs chémotypes ainsi que leur agressivité vis-à-vis des différents organes attaqués à savoir la graine le collet et l'épi.

L'identification morphologique et moléculaire des isolats obtenus des collets ont montré l'occurrence de six espèces fongiques : *Fusarium culmorum* (68%), *F. pseudograminearum* (10%), *F. verticillioides* (3%), *F. avenaceum* (2%), *Microdochium majus* (13%) et *M. nivale* (4 %). Deux espèces seulement ont été obtenues des épis : *F. culmorum* (94,1 %) et *F. pseudograminearum* (5,9 %). On note dans cette étude la dominance de l'espèce *F. culmorum* et l'absence de l'espèce *F. graminearum* sur blé dans toutes les régions prospectées de l'Algérie. L'identification des chémotypes a montré l'existence des deux chémotypes DON et NIV dans les blés algériens. Le chémotype dominant des isolats de *F. culmorum* obtenus à partir du collet était le 3-ADON (n=49) et uniquement 4 isolats appartiennent au chémotype NIV. La totalité (n=14) des isolats de *F. culmorum* obtenus à partir des épis sont de chémotype 3-ADON. Les quatre isolats de *F. pseudograminearum* étaient du chémotype 3-ADON. L'évaluation de l'agressivité des principales espèces isolées a montré que *F. culmorum* est l'espèce la plus agressive sur graines et sur épis après inoculation tandis que l'espèce *F. pseudograminearum* est plus agressive sur le collet. Les isolats appartenant au genre *Microdochium* sont les moins agressifs pour tous les tests d'agressivité réalisés. Au terme de cette étude, nous avons noté l'absence de spécificité des isolats vis-à-vis des organes des plants du blé. En effet, les isolats obtenus des collets ont induit des indices de maladie élevés sur les épis et les isolats obtenus des épis ont induit des indices de maladie élevés sur le collet. De fortes corrélations très hautement significatives sont notées entre le test de pathogénicité *in vitro* et le test d'inoculation des épis pour les deux groupes de *F. culmorum*, ce qui permet de prédire le comportement des isolats de *F. culmorum* sur les épis en se basant sur leur agressivité *in vitro* qui est une technique simple et rapide. Les résultats de cette étude nous offrent des informations préliminaires sur la situation de la pourriture du collet et la fusariose de l'épi au sein de nos cultures du blé.

ABSTRACT

Fusarium head blight (FHB) and Fusarium crown rot (FCR) of wheat are among the most important diseases of cereals in the world. Both diseases are responsible for quantitative and qualitative losses of yield through the secretion of mycotoxins dangerous for human and animal health. FHB and CR are caused by species belonging to two genera *Fusarium* and *Microdochium*. The composition of the species complex that causes Fusarium diseases on wheat differs according to the region and also to the climatic conditions which characterize the year. The identification of species belonging to this complex is essential before considering control methods. The objective of this work is to assess the distribution of these two diseases in the main cereal growing areas of the country, and this also involves the identification of the main responsible species, their distribution, their chemotypes as well as their aggressiveness towards the various organs attacked, namely the seed, the collar and the ear.

The morphological and molecular identification of the isolates obtained from the crowns showed the occurrence of six fungal species: *Fusarium culmorum* (68%), *F. pseudograminearum* (10%), *F. verticillioides* (3%), *F. avenaceum* (2%), *Microdochium majus* (13%) and *M. nivale* (4%). Only two species were obtained from the ears: *F. culmorum* (94.1%) and *F. pseudograminearum* (5.9%). In this study, we note that *F. culmorum* is the main species associated to *Fusarium* diseases on wheat, and also the absence of the species *F. graminearum* in all the surveyed regions of Algeria. The identification of the chemotypes showed the existence of the two chemotypes DON and NIV in Algerian wheat. The dominant chemotype of the *F. culmorum* isolates obtained from the crowns was 3-ADON (n = 49) and only 4 isolates belong to the NIV chemotype. All (n = 14) isolates of *F. culmorum* obtained from the ears are of 3-ADON chemotype. All four isolates of *F. pseudograminearum* were of the 3-ADON chemotype. Assessment of the aggressiveness of the main isolated species showed that *F. culmorum* was the most aggressive species on seeds and in the ear after inoculation, while the species *F. pseudograminearum* was more aggressive on the crown. Isolates belonging to *Microdochium* are the least aggressive on all aggressiveness tests performed. Finally, at the present study, we noted the absence of isolates specificity towards the organs of the wheat plants. In fact, the isolates obtained from the crowns induced high disease indices on the ears and the isolates obtained from the ears induced high disease indices on the crowns. Strong very highly significant correlations are noted between the *in vitro* pathogenicity test and the ear inoculation test for the two groups of *F. culmorum*, these results provide a simple and rapid *in vitro* test to predict pathogenicity of the *F. culmorum* isolates for head blight. The results of this study provide us preliminary information on the crown rot and *Fusarium* head blight situation in our wheat crops.

ملخص

يعد مرضي لفحة السنابل وتعفن تاج القمح من أهم أمراض الحبوب في العالم فهما مسئولان عن الخسائر الكمية والنوعية في المحصول من خلال إفراز السموم الفطرية التي تشكل خطورة على صحة الإنسان والحيوان. يتسبب هذان المرضان بشكل رئيسي عن أنواع تنتمي إلى جنسين *Fusarium* و *Microdochium*. كما يختلف تكوين مركب الأنواع الذي يتسبب في هذين المرضين من منطقة إلى أخرى حسب الظروف المناخية السائدة على مر السنين. يعد تحديد الأنواع التي تنتمي إلى هذا المجمع أمراً ضرورياً قبل التفكير في طرق التحكم. الهدف من هذا العمل هو تقصي توزيع هذين المرضين على القمح في مناطق زراعة الحبوب الرئيسية في الجزائر، و أيضاً تحديد الأنواع الرئيسية المسؤولة، وتوزيعها، وأنماطها الكيميائية، فضلاً عن عدوانيتها تجاه الأجزاء المختلفة لنبات القمح و هي البذور، التاج والسنابل.

أظهر التحديد المورفولوجي والجزيئي للعزل المأخوذة من التيجان الحاملة لأعراض العفن التاجي وجود ستة أنواع من الفطريات *F. culmorum* (68%), *F. pseudograminearum* (10%), *F. verticillioides* (3%), *F. avenaceum* (2%), *Microdochium majus* (13%) et *M. nivale* (4 %). *F. culmorum* (94,1 %) و *F. pseudograminearum* (5,9 %) نلاحظ في هذه الدراسة هيمنة النوع *F. culmorum* وغياب النوع *F. graminearum* على القمح في جميع المناطق التي شملتها الدراسة في الجزائر. أظهر التعرف على الأنماط الكيميائية وجود نمطين كيميائيين DON و NIV في القمح الجزائري. كان النمط الكيميائي السائد لعزل *F. culmorum* التي تم الحصول عليها من التيجان الحاملة للأعراض هو 3-ADON (ن = 49) و 4 عزل فقط تنتمي إلى النمط الكيميائي NIV وجميع العزل (ن = 14) من *F. culmorum* التي تم الحصول عليها من السنابل هي من النمط الكيميائي 3-ADON. جميع العزل (ن=4) من *F. pseudograminearum* كانت من النمط الكيميائي 3-ADON. أظهر تقييم عدوانية الأنواع الرئيسية المعزولة أن *F. culmorum* هي أكثر الأنواع شراسة على البذور والسنابل بينما كان النوع *F. pseudograminearum* أكثر شراسة على التاج. بينت هذه الدراسة أن العزل التي تنتمي إلى جنس *Microdochium* هي الأقل عدوانية في جميع اختبارات القدرة العدوانية التي تم إجراؤها. كما بينت أيضاً عدم تخصص العزل تجاه أعضاء نباتات القمح، بحيث تسببت العزل التي تم الحصول عليها من التيجان في مؤشرات عالية للمرض على السنابل والعزل التي تم الحصول عليها من السنابل أيضاً في مؤشرات عالية للمرض على التيجان. لوحظت ارتباطات قوية للغاية ذات دلالة إحصائية بين اختبار القدرة الإراضية في المختبر واختبار العدوى على السنابل لمجموعة *F. culmorum*، مما يجعل من الممكن التنبؤ بسلوك عزل *F. culmorum* على السنابل بناءً على عدوانيتها في المختبر. وهي تقنية بسيطة وسريعة. تزودنا نتائج هذه الدراسة بمعلومات أولية عن حالة تعفن التاج ولفحة السنابل لنبات القمح في الجزائر.