

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**
-الجزائر- الحراش- للفلاحة العليا الوطنية المدرسة
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL HARRACH-ALGER

Thèse

**En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat LMD en Sciences
Agronomiques**

Option: Agro-écosystèmes et stress biologiques

Thème

**Etude de la rayure réticulée de l'orge causée par
Pyrenophora teres (Died.) Drechsler : Structure de la
population pathogène et efficacité des traitements
fongicides.**

Préparée par : LAMMARI Hamama-Imène

Soutenue le 18/04/2021 devant le jury composé de :

Président : Mr. Mefti M., Professeur à ENSA, El-Harrach (Alger).

Directrice de thèse: Mme Benslimane H., Professeur à ENSA, El-Harrach (Alger).

Examineurs : Mr. Bouras N., Professeur à l'Université de Ghardaïa.

Mr. Rouag N., Professeur à l'Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Invité : Mr. Hasnaoui H., chef de service des inspections vétérinaires et phytosanitaires
à la Direction des services agricoles (DSA) de Boumerdes.

Année universitaire : 2020/2021

Dédicace

Je souhaite rendre hommage à celle qui m'a élevé, celle qui a été plus qu'une maman pour moi et qui m'a submergée par son amour et sa tendresse, à ma défunte grand-mère (Mima), celle qui m'a toujours soutenue et encouragée et qui voyait en moi sa fierté. Repose en paix ma chère Mima, tu vivras éternellement dans nos cœurs, que dieu le miséricordieux t'accueille dans son vaste paradis.

Je dédie ce travail à mes adorables parents, à la plus forte, la plus tendre et la plus courageuse des mamans et à mon adorable papa chéri, aux yeux du quel je grandirai jamais ! Je vous aime plus que tout, sans votre amour, vos sacrifices et votre soutien moral et matériel, je ne serais jamais là, j'espère de tout mon cœur être votre fierté pour toujours.

Je dédie aussi ce travail à Yacine mon meilleur ami, mon confident et mon mari chéri qui a toujours su être là quand il le fallait, et qui m'a encouragée et épaulée tout au long de ce parcours, merci pour tout !

Je le dédie particulièrement à mon bébé Adem Aylane, mon enfant chéri, qui a vécu avec moi la partie la plus belle de cette expérience et qui a éprouvé à travers moi, tout un tas de sentiments couronnés de fierté, de satisfaction et de joie avant même sa naissance. J'espère que le jour où tu grandiras et que tu seras capable de lire ces quelques lignes, tu serais fier de ta maman qui t'aime plus que tout !

Je le dédie également à mon adorable neveu Daniel, à ma jolie nièce Lyna, à mes chers frères Yacine, Khier et Karim, à mes belles sœurs, à ma belle-mère, mon beau-père et toute ma belle-famille (Yazzag), à mes adorables sœurs de cœur qui se reconnaîtront sans doute et à toute personne qui m'est chère.

Remerciements

Avant de commencer l'exposé de mes recherches, je remercie tout d'abord Dieu le tout-puissant, de m'avoir donnée le courage, la force et la patience pour accomplir ce travail.

Je tiens ensuite à manifester ma reconnaissance, à tous ceux qui m'ont aidée à le mener à bien.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à ma directrice de thèse Dr. Benslimane H. Professeur, à l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie d'El-Harrach (Alger), pour avoir assuré la direction scientifique de ce travail. Je tiens vraiment à lui adresser mes vifs remerciements et reconnaissances pour son soutien précieux lors de la réalisation et de la rédaction de ce travail, je la remercie de m'avoir enseigné les règles de l'intégrité scientifique et la rigueur de la démarche expérimentale, de m'avoir offert la liberté de travail et de m'avoir accordé sa confiance. Je la remercie aussi pour m'avoir toujours encouragée à aller de l'avant pendant les moments les plus difficiles, car souvent, quand je trébuchais, ses paroles sages étaient ma source de motivation et de force pour me relever. J'ai énormément appris de vous Madame et je garderai pour toujours le souvenir de cette aventure qui m'a permis de voir en vous beaucoup plus qu'une directrice de thèse, un exemple de personne généreuse, honnête, dévouée et surtout correcte.

Je remercie très vivement le professeur Mefti M., de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie d'El-Harrach (Alger), pour l'honneur qu'il nous a fait en présidant le jury de cette thèse ; qu'il veuille bien trouver ici l'assurance de ma profonde gratitude.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude au Pr. Rouag N. de l'Université Ferhat Abbas Sétif et au Pr. Bouras N. de l'université de Ghardaïa, pour avoir accepté de donner de leur temps pour examiner ce travail.

J'exprime ma profonde reconnaissance au Dr. Stammler G., de BASF, SE en Allemagne pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire « Fungicide Resistance Management », à Ludwigshafen en Allemagne, et pour les conditions idéales de travail qu'il a mis à ma disposition. Je remercie également, Angelika Hawlik et Birgit Wieja, ainsi que toute l'équipe de BASF avec qui j'ai travaillé durant mon séjour scientifique et avec qui j'ai surtout beaucoup appris.

Je tiens à exprimer mes profonds remerciements, à Dr. Fellahi Z. E. A, ainsi qu'au Dr. Benbelkacem A. et Mr. Hannachi A. (INRAA, Unité de Recherche de Sétif), pour leur accueil et leur précieuse assistance technique et logistique lors des prospections de la région de Sétif. Je remercie également, Dr. Guendouz A. (INRAA, Unité de Recherche de Sétif) pour m'avoir accordée l'accès à la cité universitaire à Sétif.

Je remercie vivement Mr. Hasnaoui H., chef de service des inspections vétérinaire et phytosanitaire à la Direction des services agricoles (DSA) de la wilaya de Boumerdès, le personnel du service des inspections vétérinaires et sanitaires à la Direction des services agricoles (DSA) de la wilaya de Bouira, ainsi que Dr. Boulassel A. (chercheur) et Mr. Tarikt A. E. (directeur de la station expérimentale) de l'Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie (INRA) à Béjaïa, pour nous avoir fourni les informations nécessaires à la réalisation des prospections et pour leur précieuse assistance technique et logistique lors de la réalisation de ces dernières.

Je remercie également Pr. Benrima A. , doyenne de la faculté des sciences de la nature et de la vie à Université de Blida ainsi que Dr. Mohamed Mahmoud F., enseignant chercheur du département de Biologie et Physiologie Cellulaire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, pour m'avoir accordé l'accès à la station expérimentale, pour la réalisation des prospections.

Je tiens aussi à exprimer ma gratitude à Mme Ait Idir D. membre du laboratoire de Biologie moléculaire (responsable de la licence Biologie moléculaire), au chef du département de Biologie Dr. Messouden ainsi qu'à l'ingénieur de laboratoire Mme Bouledjnet F. de l'Université M'Hamed Bougara de Boumerdès, pour m'avoir accordé l'accès au laboratoire et pour avoir mis à ma disposition tout le matériel nécessaire à l'élaboration de mon travail, je remercie encore une fois Mme Bouledjnet F. pour ses recommandations, explications et conseils.

Mes profonds remerciements vont aussi, à tous mes professeurs qui ont contribué à ma formation au sein de l'ENSA et particulièrement à ceux du département de Botanique, parmi lesquels je cite spécialement ; Mme Djebbari et Mr. Traikia, qui avec leurs encouragements et leur bonne humeur m'ont toujours redonnée le sourire.

Je remercie également nos ingénieurs et techniciens de laboratoire, Fatima, Nesrine, Soumia, Meriem, Arbeya, Alia, Sabrina, Hind et Mohammed, ainsi que mes collègues de la formation

doctorale pour tous les bons moments passés ensemble durant ce parcours, Nourddine qui, son aide ne m'a jamais fait défaut, Massi, Safou, Nesma, Sara et spécialement à Nawal et Aicha avec lesquelles, cette aventure m'a permis de passer d'inoubliables moments.

J'exprime ma grande reconnaissance à tous ceux, de près ou de loin, dont l'assistance ou les conseils m'ont permis de mener à bien ce travail.

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

I. Introduction

II. Synthèse bibliographique

II. 1. La rayure réticulée de l'orge	5
II. 1. 1. Symptomatologie de la rayure réticulée de l'orge.....	5
II. 1. 2. Epidémiologie de la rayure réticulée de l'orge et cycle de vie de l'agent causal <i>P. teres</i>	6
II. 1. 3. Effet de la rayure réticulée sur le rendement de l'orge et sa qualité	9
II. 2. L'agent causal de la rayure réticulée de l'orge.....	10
II. 2.1. Taxonomie de <i>Pyrenophora teres</i>	10
II. 2. 2. Critères morphologiques d'identification de <i>P. teres</i>	10
II. 2. 3. Distinction des deux formes de <i>P. teres</i>	12
II. 3. Méthodes de lutte contre la rayure réticulée de l'orge	14
II. 3. 1. Méthodes génétiques	14
II. 3. 2. Méthodes biologiques	15
II. 3. 3. Méthodes alternatives	16
II. 3. 4. Méthodes chimiques	16
II. 4. Fitness du pathogène et facteurs d'agressivité	17
II. 4.1. Fitness du pathogène	17
II. 4. 2. Facteurs d'agressivité.....	18
II. 4. 3. Fitness du pathogène et résistance aux fongicides.....	18
II. 5. La résistance aux fongicides dans le contexte des groupes chimiques ISDH, QoI et IDM.....	19
II. 5. 1. Types de résistances aux fongicides	19
II. 5. 1. 1. La résistance qualitative.....	20
II. 5. 2. 2. La résistance quantitative.....	20
II. 5. 2. Pression sélective des fongicides et développement des résistances: chez <i>P. teres</i> ..	22
II. 5. 3. Résistance de <i>P. teres</i> vis-à-vis des QoIs et des ISDHs.....	24
II. 5. 4. Résistance de <i>P. teres</i> vis-à-vis des fongicides inhibiteur d'azoles/déméthylase....	27
II. 5. 5. Stratégie de gestion de la résistance des champignons aux fongicides	28

III. MATERIEL ET METHODES

III. 1. Prospections et collecte des échantillons.....	30
--	----

III. 2. Techniques d'isolement et de conservation des isolats	31
III. 2. 1. Isolement monospores	31
III. 2. 2. Conservation des isolats	31
III. 3. Identification des deux formes du pathogène (<i>Ptt</i> et <i>Ptm</i>) par PCR.....	31
III. 3. 1. Obtention des cultures fongiques.....	31
III. 3. 2. Extraction de l'ADN à partir du mycélium des différents isolats.....	31
III. 3. 2. 1. Extraction d'ADN par la méthode phénol-chloroforme modifiée	32
III. 3. 2. 1. 1. Protocole d'extraction.....	32
III. 3. 2. 1. 2. Evaluation qualitative et quantitative de l'ADN extrait.....	33
III. 3. 2. 2. Extraction d'ADN par le Kit NucleoSpin® DNA Plant II.....	33
III. 3. 3. Amplification des ADN(s) par PCR.....	35
III. 3. 4. Visualisation des produits d'amplification	37
III. 4. Caractérisation culturale.....	37
III. 5. Evaluation du pouvoir pathogène	37
III. 5. 1. Evaluation du pouvoir de sporulation.....	38
a) Induction de la sporulation et préparation des suspensions de spores.....	38
b) Dénombrement des spores.....	38
III. 5. 2. Evaluation de la sévérité de la maladie	38
a) Obtention du matériel végétal	39
b) Préparation de l'inoculum	39
c) Inoculation des plants.....	40
d) Estimation de l'agressivité	40
III. 5. 3. Evaluation de la vitesse de la croissance mycélienne.....	42
III. 6. Recherche des mutations conférant la résistance aux QoI et aux ISDH.....	42
III. 6. 1. Obtention des cultures et extraction d'ADN.....	43
III. 6. 2. Amplifications des ADN(s) par PCR.....	43
III. 6. 3. Recherche des mutations génétiques par Pyroséquençage.....	45
III. 6. 4. Lecture des résultats	49
III. 7. Evaluation <i>in vitro</i> de l'efficacité des fongicides par microtitration sur plaque.....	50
III. 7. 1. Culture des isolats et préparation de l'inoculum fongique.....	51
III. 7. 2. Choix et préparation des gammes de fongicides	51
III. 7. 3. Test d'efficacité des fongicides en Microplaques de dosage.....	53
III. 7. 4. Incubation des plaques et lecture des résultats.....	53
III. 8. Evaluation <i>in planta</i> de l'efficacité des fongicides sous serre en conditions contrôlées...54	

III. 8. 1. Obtention des plants d'orge.....	54
III. 8. 2. Obtention des suspensions de spores.....	55
III. 8. 3. Choix et préparation des gammes de fongicides.....	55
III. 8. 4. Traitement fongicide des plants d'orge.....	56
III. 8. 5. Inoculation des plants.....	56
III. 8. 6. Estimation du pourcentage de la maladie.....	56
III. 9. Analyses statistiques.....	57

IV. RESULTATS ET DISCUSSION

IV. 1. Identification symptomatologique des deux formes et construction de la collection.....	58
IV. 2. Identification moléculaire des deux formes du pathogène <i>P. teres</i> f. <i>teres</i> et <i>P. teres</i> f. <i>maculata</i>	60
IV. 3. Caractérisation culturelle des isolats.....	67
a) Texture et couleur du mycélium.....	69
b) Observation des contours de colonies, des corémies et des agrégations mycéliennes.....	73
IV. 4. Evaluation du pouvoir pathogène.....	79
IV. 4. 1. Evaluation du pouvoir de sporulation des isolats <i>in vitro</i>	79
IV. 4. 2. Evaluation de la sévérité de la maladie	80
IV. 4. 3. Etude de la croissance mycélienne des isolats	83
IV. 5. Sensibilité de la population algérienne de <i>P. teres</i> aux fongicides (QoIs, ISDHs et IDMs).....	86
IV. 5. 1. Recherche des mutations conférant la résistance aux QoI et aux ISDH par Pyroséquençage.....	86
IV. 5. 2. Evaluation <i>in vitro</i> de l'efficacité des fongicides par la technique de la microtitration sur plaque	87
IV. 5. 2. 1. Évaluation de la sensibilité de la population algérienne de <i>P. teres</i> aux QoI.....	89
IV. 5. 2. 2. Évaluation de la sensibilité initiale de la population algérienne de <i>P. teres</i> au Fluxapyroxad (ISDH) (baseline sensitivity).....	90
IV. 5. 2. 3. Évaluation de la sensibilité de la population algérienne de <i>P. teres</i> aux IDM.....	90
IV. 5. 2. 4. Évaluation <i>in planta</i> de l'efficacité des fongicides sous serre.....	91

V. Conclusion et recommandations105

VI. Références Bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

ABC: ATP binding cassette
ACTA : Association de coordination technique agricole
APS: l'adénosine phosphosulfate
ATP : Adénosine triphosphate
CCD: Charge Coupled Device
CE₅₀: La concentration efficace médiane
CNCC : Centre National de Contrôle et de Certification des semences et plants
cyt b : cytochrome b
Dntp : désoxyribonucléoside triphosphate
DPVCT: Direction de la protection des végétaux et des contrôles techniques
DSA: Direction des Services Agricoles
EDTA : Éthylènediaminetétraacétique
ET : écart type
FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations
FRAC: Fungicide Resistance Action Committee's
Fw : forward
m.a.: matière active
GST : Glutathion S-transférase
IDM : Inhibiteurs de la Déméthylation
INRA: Institut National des Recherches Agronomiques
ISDH: Inhibiteurs de la Succinate Déshydrogénase
ITGC: Institut Technique des Grandes Cultures
MDR: Multi-drog resistance
MFS: Major facilitator superfamily
NFNB: net form of net blotch
NTC : negative control
ONFAA : Observatoire National des Filières Agricoles et Agroalimentaires.
PA : Purify agar
PCA : Potato Carrot Agar
PCR : Polymerase Chain Reaction
PDA: Potato Dextrose Agar
POA: Peanut Oatmeal Agar
Ptm: *Pyrenophora teres* f. *maculata*
Ptt: *Pyrenophora teres* f. *teres*
QoI: Quinone outside Inhibitor (Inhibiteur Externe de la Quinone)
Qsp : quantité suffisante pour

QTL : quantitative trait loci

Rv : reverse

SAA : Saccharose Asparagine Agar

SDH: succinate dehydrogenase enzyme

SDS : Sodium dodecyl sulfate

SFNB: spot form of net blotch

SNP: single nucleotide polymorphism

TAE : tris-acetate-EDTA

TE : Tris-EDTA

Tris-HCL : Trisaminométhane-Hydrochloride

YBA : yeast-peptone-acetate

Liste des figures

Figure 1 : Symptômes de la rayure réticulée sur les feuilles d'orge.....	6
Figure 2 : Cycle de développement des deux agents causaux de la rayure réticulée de l'orge <i>P. teres</i> f. <i>teres</i> et <i>P. teres</i> f. <i>maculata</i>	8
Figure 3 : Structures de reproduction sexuée et asexuée de <i>P. teres</i> f. <i>teres</i>	11
Figure 4 : Schéma du processus infectieux causé par <i>P. teres</i> f. <i>maculata</i> (à gauche) et <i>P. teres</i> f. <i>teres</i> (droite) au niveau les plants d'orge sensibles.....	13
Figure 5 : Diagrammes montrant les distributions bimodale et unimodale des degrés, caractérisant le développement de la sensibilité, respectivement dans le cas d'une résistance qualitative (haut) ou quantitative (bas).....	21
Figure 6 : Schéma explicatif du processus de sélection durant le développement de la résistance aux fongicides	23
Figure 7 : Fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale au niveau des complexes II et III, montrant la structure de la succinate deshydrogénase, ainsi que les acides aminés impliqués dans les différentes interactions.	26
Figure 8 : Effet des triazoles sur l'inhibition du cytochrome au niveau de la cellule fongique P450 _{14DM} , bloquant ainsi la production de l'ergostérol (principal stérol de la membrane cellulaire fongique), et provoquant l'accumulation d'un stérol toxique entraînant un stress au niveau de la membrane cellulaire	28
Figure 9 : Carte géographique mettant en évidence les régions céréalières prospectées.....	30
Figure 10 : Schéma explicatif des différentes étapes d'extraction d'ADN par le kit NucleoSpin® DNA Plant II.....	34
Figure 11 : Feuilles d'orge détachées et placées dans des boîtes de Petri en verre (20cm de diamètre) contenant deux couches de papier buvard, stérilisées humidifiées par une solution d'eau distillée stérile additionnée de 0,004% de benzimidazole.....	39
Figure 12 : Echelles numériques utilisées lors de l'estimation visuelle de la réaction de la plante à la maladie de la rayure réticulée de l'orge.....	44

Figure 13 : Schéma illustrant les étapes du pyrosequençage.	46
Figure 14 : Illustration de l’outil à vide avec les sondes de filtrage (PyroMark® Q96 Vacuum), et de la station de travail contenant les différents bacs de solutions.....	48
Figure 15 : Exemple d’un pyrogramme issu de l’analyse d’un isolat non mutant (TTC) (a) et d’un isolat mutant (Codon : CTC) dans le cas de la mutation F129L (b).....	50
Figure 16 : Exemple d'un test fongicide sur plaque de microtitration.....	53
Figure 17 : Plants d’orge au stade BBCH 11, utilisés lors des tests <i>in planta</i>	55
Figure 18 : Symptômes de la rayure réticulée observés sur culture d’orge.....	59
Figure 19 : Conidies et conidiopore de <i>Drechslera teres</i> (Anamorphe de <i>Pyrenophora teres</i>), a) Conidies, b) Conidie en germination c) Conidiopore (GX40 (4cm=50µm)).....	60
Figure 20 : Gel d'agarose à 3%, mettant en évidence les produits de la PCR multiplexe et permettant de distinguer les deux formes du pathogène	60
Figure 21 : Carte géographique mettant en évidence le nombre total des isolats testés ainsi que l’importance des deux formes (<i>Ptt</i> et <i>Ptm</i>) dans chacune des wilayas prospectées.....	63
Figure 22 : Différentes couleurs de mycélium développées sur milieu PDA.	70
Figure 23 : Pourcentages des isolats présentant chacune des couleurs de mycélium observées.....	71
Figure 24 : Différents aspects de colonies développées sur milieu PDA	72
Figure 25 : Pourcentages des isolats présentant chacun des différents aspects de mycélium....	73
Figure 26 : Différents aspects de corémies développées sur milieu PDA.....	75
Figure 27 : Pourcentages des isolats chez qui les différents niveaux de formation des corémies (minime, abondante ou très abondante) ont été notés chez les isolats appartenant à la forme <i>Ptm</i> (A) et à la forme <i>Ptt</i> (B).....	76
Figure 28 : Symptômes induits sur feuilles d’orge détachées de la variété Saida, suite à l’inoculation par les isolats de <i>P. teres</i>	82

Figure 29 : Comparaison des croissances mycéliennes journalières (moyenne \pm écart type) des isolats de la forme <i>Ptt</i> par rapport à ceux de la forme <i>Ptm</i> , pour les 6 jours d'évaluation.....	84
Figure 30 : Sensibilités des isolats algériens de <i>P. teres</i> exprimées par les CE ₅₀ (moyenne \pm ET), enregistrées suite aux six traitements fongicides testés, et comparées à celles des isolats témoins (sensibles et résistants) provenant d'Europe.....	88
Figure 31 : Moyennes des pourcentages d'inhibitions de la rayure réticulée, sur les plants d'orge inoculés par les deux isolats algériens (Pt157 et Pt142), résultants des trois doses (dose préconisée complète, 1/3 et 1/9 de la dose préconisée) appliquées d'azoxystrobine, de fluxapyroxad et d'époxiconazole, testés en traitements préventifs, un jour avant l'inoculation.....	92
Figure 32 : Pourcentages des inhibitions (moyenne \pm ET) de la rayure réticulée de l'orge, enregistrés dans le cas des traitements à base d'azoxystrobine (28 g m.a./ha, 83 g m.a./ha et 250 g m.a./ha) appliqués en traitement préventif, un jour avant l'inoculation par les isolats de type « sauvage » de <i>P. teres</i> provenant d'Algérie (Pt157 et Pt142) et d'Europe (Pt1830, Pt1804 et Pt1746) et par des isolats mutants porteurs de la mutation F129L (Pt1669, Pt1685).....	93
Figure 33 : Pourcentages des inhibitions (moyenne \pm ET) de la rayure réticulée de l'orge, enregistrés dans le cas des traitements à base de fluxapyroxad (14 g m.a./ha, 42 g m.a./ha et 125 g m.a./ha) appliqués en traitement préventif, un jour avant l'inoculation par les isolats de type « sauvage » de <i>P. teres</i> provenant d'Algérie (Pt157 et Pt142) et d'Europe (Pt1830, Pt1804 et Pt1746), et par des isolats mutants porteurs de la mutation C-G97R (Pt1669, Pt1900).....	94
Figure 34 : Pourcentages des inhibitions (moyenne \pm ET) de la rayure réticulée de l'orge, enregistrés dans le cas des traitements à base d'époxiconazole (14 g m.a./ha, 42 g m.a./ha et 125 g m.a./ha) appliqués en traitement préventif, un jour avant l'inoculation par les isolats de <i>P. teres</i> provenant d'Algérie (Pt157 et Pt142) et d'Europe (Pt1830, Pt1804, Pt1746, Pt1685, Pt1669 et Pt1900)	95

Liste des tableaux

Tableau I : Substitutions détectées chez des isolats de <i>P. teres</i> résistants aux ISDHs provenant des pays Européens.....	27
Tableau II : Séquences des deux paires d'amorces permettant la différenciation des deux formes de <i>P. teres</i>	35
Tableau III : Composition du mélange réactionnel utilisé lors des amplifications	39
Tableau IV : Mélange réactionnel utilisé lors des amplifications des gènes par PCRs simples volumes/échantillon.....	36
Tableau V : Echelles de notations utilisées lors de l'évaluation de la réaction des feuilles d'orge de la variété Saida, aux deux formes de la maladie	40
Tableau VI : Résistances, type de l'analyse utilisée, année et lieu de la première détection.....	42
Tableau VII : Mélange réactionnel utilisé lors des amplifications des séquences des gènes concernées par les mutations ciblées.....	43
Tableau VIII : Amorces utilisées pour l'amplification des parties de gènes ciblées et pour les réactions de pyroséquençage.....	44
Tableau IX : Préparation de l'ADN amplifié pour les réactions du pyroséquençage.....	47
Tableau X : Codons sauvages et mutés au niveau des séquences déterminant la réaction du champignon à l'égard du groupe fongicides pour chacune des mutations étudiées.....	49
Tableau XI : Ingrédients actifs, classes des fongicides, code de la formulation, fabricant et concentrations utilisées pour chaque fongicide dans le test de microtitration sur plaque <i>in-vitro</i>	52
Tableau XII : Préparation de la série de dilutions des différents fongicides.....	52
Tableau XIII : Isolats utilisés comme témoins (sensibles/résistants) pour le test <i>in-vitro</i>	54
Tableau XIV : Isolats provenant d'Europe utilisés comme témoins (sensibles/résistants) pour le test <i>in-vivo</i>	54
Tableau XV : Fongicides modes d'action et concentrations utilisés pour le test <i>in-planta</i> sous serre.....	55
Tableau XVI : Comparaison entre les résultats de l'identification symptomatologique et moléculaire (PCR) des deux formes <i>Ptt</i> et <i>Ptm</i>	62
Tableau XVII : Caractères cultureux notés pour l'ensemble des 50 isolats analysés.....	68
Tableau XVIII : Agressivité (basée sur le degré d'attaque) notée chez les isolats collectés au	

niveau des champs des wilayas prospectées.....	83
Tableau XIX : Classification des isolats par le test k-moyennes (k-mean Clustering), montrant les 5 différents groupes, le nombre d'isolats réunis dans chaque groupe, et les intervalles des CE ₅₀ , pour les six fongicides testés.....	88

I. Introduction

En Algérie, les céréales occupent une place importante dans le système alimentaire et dans l'économie nationale. L'orge (*Hordeum vulgare* L.) étant l'une des céréales les plus cultivées, occupe la deuxième place après le blé dur (*Triticum durum* L.) avec une superficie cultivée de 1.133.005 ha et 1.647.746 de tonnes produites en 2019 (FAOSTAT, 2021). Cette céréale représente une culture stratégique dans le système alimentaire en Algérie, c'est une culture qui, à travers les temps, a pu garder sa place parmi les céréales les plus consommées dans ce pays. Cette espèce rustique, mérite une attention particulière grâce à sa capacité à s'adapter parfaitement au climat algérien et à ses vertus et qualités nutritionnelles. En Algérie, l'orge est essentiellement consommée dans l'alimentation du bétail, comme graines ou fourrage vert, et en plus modestes quantités dans l'alimentation humaine (Hales, 2015).

Les importations annuelles de l'Algérie ont atteint les 289.644 tonnes en 2018 (ONFAA, 2019), ceci peut être expliqué par la faible production, engendrée par les différents problèmes que subit la culture de l'orge au cours de son cycle de croissance. Parmi ces derniers, les mauvaises pratiques culturales, la sécheresse intense ainsi que les maladies de l'orge. Celles-ci sont principalement l'helminthosporiose, la rhynchosporiose, la rouille brune, la rouille jaune, l'oïdium, la ramulariose, le charbon couvert, et la rayure réticulée (Sayoud *et al.*, 1999), sujet des travaux de notre thèse.

La rayure réticulée de l'orge est l'une des maladies les plus communes sur cette culture, elle est causée par le champignon *Pyrenophora teres* Drechsler (anamorphe : *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem.). Elle se présente sous deux formes symptomatologiques selon l'agent causal ; le symptôme causé par *P. teres* f. *teres* (*Ptt*) sous forme de lésions allongées (NFNB), et le symptôme causé par *P. teres* f. *maculata* (*Ptm*) sous forme de lésions circulaire (SFNB).

Cette maladie est répandue dans toutes les régions cultivées par l'orge et a une importance économique dans le monde entier, du fait qu'elle peut causer des baisses de rendements allant jusqu'à 44 % (Jayasena *et al.*, 2007 ; Murray et Brennan, 2010).

En Algérie, cette maladie foliaire est parmi les maladies fongiques de l'orge les plus redoutables et les plus rencontrées au champ (Sayoud *et al.*, 1999 ; Boungab, 2013). La gestion de cette maladie dans le cadre d'une lutte intégrée, implique des actions à plusieurs niveaux ; mettant en œuvre principalement, la résistance variétale et les traitements chimiques. En absence de sources de résistance, l'utilisation des fongicides dans la lutte contre cette maladie est actuellement très répondue.

Afin d'assurer une efficacité des moyens de lutte, une connaissance préalable de la structure des populations pathogènes est primordiale. Le déploiement géographique des variétés résistantes, ainsi que l'élaboration des programmes de lutte chimique dépendent de la connaissance préalable de la présence/absence des deux formes du pathogène (*Ptt* ou *Ptm*), ainsi que de la prévalence de chacune d'elles. La résistance des variétés d'orges à chacune des deux formes est en effet, gouvernée par deux mécanismes différents (la résistance quantitative et la résistance qualitative) (O'boyle, 2009 ; Statkevičiūtė *et al.*, 2010). De même qu'une mise en place d'un programme de sélection variétale efficace, exige des connaissances approfondies de la diversité du pathogène, et implique la nécessité d'inclure les deux formes de ce pathogène dans les études dédiées à cet effet (Tuohy *et al.*, 2006).

Par ailleurs, en plus des facteurs environnementaux, de la nature et de la concentration d'un fongicide, la forme du pathogène, influence également l'efficacité des stratégies appliquées en lutte chimique. Dans le cas de la rayure réticulée de l'orge, plusieurs auteurs ont confirmé la différence de sensibilité existante, entre les deux formes *Ptt* et *Ptm* à l'égard des fongicides (Sheridan et Nendick, 1987 ; Bendahmane *et al.*, 1992 ; Campbell et Crous, 2002 ; Akhavan, 2017). Ainsi, l'utilisation des fongicides doit être raisonnée en considérant cette différence.

En Algérie, les données concernant la présence et la distribution des deux formes de la rayure réticulée de l'orge dans les populations pathogènes sont très limitées. En se basant sur l'aspect symptomatologique observés, il a été reporté que la forme *Ptt* était la plus répandue dans le Nord-Ouest du pays (Boungab *et al.*, 2012), mais aucune autre étude examinant la prévalence des deux formes n'a été réalisée dans les autres régions du pays. L'ambiguïté du diagnostic symptomatologique au champ, pourrait être à l'origine du manque d'informations à ce sujet.

L'utilisation des fongicides est l'une des méthodes les plus courantes dans le contrôle de la rayure réticulée, qui représente encore une contrainte majeure à la production mondiale d'orge. Cependant, leur utilisation doit être soigneusement raisonnée en raison du risque de développement des résistances, spécialement dans le cas des fongicides à site unique tel que chez le groupe des Inhibiteurs Externes de la Quinone (QoIs); le groupe des Inhibiteurs de la Succinate Déshydrogénase (ISDH) et le groupe des Inhibiteurs de la Déméthylation (IDM). L'impact de la résistance des pathogènes aux fongicides et la dégradation de la résistance des plantes hôtes, se reflètent clairement sur l'efficacité des mesures de lutte utilisées contre les maladies foliaires et mènent souvent à l'échec de ces dernières (Walters *et al.*, 2012).

Bien que les résistances aux QoI, ISDH et IDM chez *P. teres* soient actuellement largement répandues dans plusieurs pays (Semar *et al.*, 2007 ; Sierotzki *et al.*, 2007 ; Marzani *et al.*, 2013 ; Mair *et al.*, 2016 ; Rehfus, 2016), aucune enquête n'a été menée sur le statut de ces résistances en Algérie, et dans les zones géographiques nord-africaines.

En raison de l'absence d'utilisation des variétés résistantes à la rayure réticulée de l'orge et du fait que, les deux principales variétés dominantes en Algérie (Saida183 et Tichedrette) (Ghalem-Djender *et al.*, 2016) sont très sensibles à cette maladie (Reguieg *et al.*, 2013), la lutte contre la rayure réticulée de l'orge est souvent basée sur l'utilisation des fongicides et des pratiques culturales. Toutefois, leur utilisation pléthorique, ainsi que le non-respect des mesures anti-résistances mènent souvent, au développement des résistances ayant des conséquences graves sur l'efficacité des traitements. Ces phénomènes de résistance aux fongicides, causent parfois un échec de contrôle et conduisent les agriculteurs à accroître les doses et les nombres d'applications nécessaires au contrôle des maladies fongiques. Ceci se répercute en conséquent, négativement sur l'environnement, et sur la santé des consommateurs.

Afin de fournir une meilleure connaissance de la population pathogène de *P. teres* en Algérie, permettant un meilleur contrôle de la rayure réticulée de l'orge, deux grands volets ont fait l'objet de nos travaux. Le premier, a été focalisé sur la structure de la population pathogène de *P. teres* et le second, sur l'efficacité de trois groupes chimiques de fongicides, dans la lutte contre la maladie de la rayure réticulée de l'orge.

À cet effet, une prospection dans les régions céréalières du pays a été conduite, elle a permis la récolte d'échantillons d'orge présentant les symptômes de la maladie, puis la construction d'une collection d'isolats qui composent la population pathogène étudiée.

Ainsi, une première partie de notre travail a été consacrée à l'évaluation de l'occurrence et de la distribution géographique des deux formes du pathogène (*Ptt* et *Ptm*) en Algérie. Deux méthodes ont été utilisées ; l'une basée sur le diagnostic symptomatologique ; elle a été poursuivie dans un premier temps, à travers l'analyse des symptômes observés dans les champs prospectés. L'autre, basée sur l'identification moléculaire par PCR et a été réalisée dans un second temps au laboratoire.

Une seconde partie, a été focalisée sur l'étude des caractères cultureux de la population pathogène, et de l'agressivité qui est l'un des composants du pouvoir pathogène. Cette partie a été menée afin de mettre en évidence la diversité culturelle et la variabilité du pouvoir pathogène

au sein de la population algérienne du pathogène de *P. teres*. La caractérisation culturelle a concerné l'observation de la couleur et l'aspect du mycélium, le contour des colonies, la présence/absence des corémies, des agrégations mycéliennes et des pigmentations. L'agressivité de ces isolats, a été évaluée à travers certains de ses traits élémentaires de nature quantitative ; à savoir le taux de sporulation *in-vitro* et la sévérité de la maladie. De même, le taux de la croissance mycélienne qui est un paramètre facilement mesurable de la fitness du pathogène, a été également inclus dans cette évaluation. Une comparaison de ces caractères chez les deux formes a été aussi réalisée, ceci afin de déterminer les éventuelles caractéristiques distinctives des deux formes de *P. teres* (*Ptt* et *Ptm*).

La troisième partie de notre travail a été dédiée à l'évaluation de la sensibilité de la population algérienne de *P. teres* aux fongicides des groupes chimiques les plus utilisés dans la lutte contre la rayure réticulée de l'orge dans le monde (Les Inhibiteurs Externes de la Quinone (QoIs); les Inhibiteurs de la Succinate Déshydrogénase (ISDH) et les Inhibiteurs de la Déméthylation (IDM)), et des potentialités de cette population à développer des résistances vis-à-vis de ces fongicides. Ces analyses sont primordiales à l'élaboration d'un programme de contrôle chimique adéquat. Afin de vérifier l'éventuelle existence de résistances liées aux mutations ponctuelles vis-à-vis des deux groupes des strobilurines (QoIs) et carboxamides (ISDHs), la méthode innovante du pyrosequençage a été utilisée. Les strobilurines (QoIs), sont en effet classés comme étant un groupe à risque élevé, alors que les carboxamides (ISDHs), sont classés comme étant à risque moyen à élevé. L'efficacité *in vitro* et *in planta*, de six matières actives appartenant aux trois groupes chimiques et à différentes doses, a été aussi évaluée.

Les fongicides choisis sont déjà homologués et préalablement utilisés dans les champs de cultures d'orge en Algérie ; ils ont été donc testés afin d'explorer leurs efficacités actuelles. À l'exception du fongicide fluxapyroxad qui n'a pas encore été homologué sur les cultures d'orge en Algérie ; et qui a été testé afin de déterminer son efficacité initiale (baseline), vis-à-vis des isolats de *P. teres* en Algérie, ceci permettrait de proposer son introduction dans le cas où son efficacité est confirmée.

II. Synthèse bibliographique

II. 1. La rayure réticulée de l'orge : La rayure réticulée de l'orge est l'une des maladies les plus couramment rencontrées sur cette culture, elle est causée par un champignon hétérothallique, *Pyrenophora teres* Drechsler (Anamorph *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem.).

II. 1. 1. Symptomatologie de la rayure réticulée de l'orge : Cette maladie existe partout où l'orge est cultivée, les symptômes sont généralement foliaires, mais peuvent tout de même atteindre d'autres parties du plant (gaines et glumes des feuilles), en cas d'attaques sévères (Neate and McMullen, 2005). L'attaque au niveau des arêtes et des bractées florales, conduit à l'infection des semences (Van Den Berg, 1988).

Le champignon *Pyrenophora teres* existe sous deux formes : *P. teres* f. *teres* (*Ptt*) et *P. teres* f. *maculata* (*Ptm*) ; comme leurs noms l'indiquent, les deux formes provoquent des symptômes différents. La forme réticulée de la maladie (NFNB) est causée par *Ptt*, cette forme du pathogène, produit des symptômes caractérisés par des bandes nécrotiques, longitudinales ou transversales, se développant suivant les nervures des feuilles, ces bandes sont entourées par des chloroses (Smedegård-Petersen, 1971 ; Ellwood *et al.*, 2010). La forme circulaire ou ponctiforme (SFNB) causée par *Ptm*, elle produit des lésions circulaires ou elliptiques de couleur brune, accompagnées aussi par des chloroses (Smedegård-Petersen, 1971 ; Ellwood *et al.*, 2010).

Selon Lightfoot et Able (2010), la différence entre les symptômes causés par les deux formes de *P. teres*, peut être expliquée par la différence du processus infectieux chez chacune d'elles. Dans le cas de NFNB, peu de temps après la mise en contact du pathogène avec la surface foliaire, le champignon initie directement sa pénétration, les symptômes commencent à être visibles au bout de 24 h ; ils sont caractérisés par de petites lésions circulaires et elliptiques apparaissant sur la surface pénétrée. Ces dernières se prolongent verticalement à la nervure principale. Elles se développent ensuite en taches brunes montrant des stries longitudinales et transversales, formant ainsi un réseau (Fig. 1a) (Liu *et al.*, 2011). Cependant, dans le cas de SFNB, l'agent causal *Ptm*, semble avoir une germination et une croissance moins rapides, et forme un nombre plus important de vésicules intracellulaires. L'attaque cause la mort des cellules voisines au point de pénétration du pathogène, les chloroses entourant les cellules adjacentes, deviennent ainsi évidentes (Fig. 1b) (Lightfoot and able, 2010).



Figure 1 : Symptômes de la rayure réticulée sur les feuilles d'orge. (A) La forme « réticulée » (NFNB) causée par *P. teres* f. *teres* ; les symptômes sont en réseaux, sous forme de lésions suivant les nervures des feuilles, montrant des stries longitudinales et transversales. (B) La forme « circulaire » (SFNB) causées par *P. teres* f. *maculata*, exprimée par des lésions ovoïdes sous forme de taches noires (Sym *et al.*, 2018).

II. 1. 2. Épidémiologie de la rayure réticulée de l'orge et cycle biologique de l'agent causal *P. teres* : Le développement d'épidémies de la rayure réticulée de l'orge, est dépendant de trois principaux facteurs ; la quantité d'inoculum primaire, le nombre de cycles d'infections secondaires et de la sensibilité de l'hôte. La réponse de ce dernier à l'infection par *P. teres* dépend fortement de son stade de développement, de la variété de l'orge cultivée et des conditions climatiques (Kangor *et al.*, 2017). Peu après l'infection, les lésions se développent instantanément et le champignon sporule durant les cinq jours suivant l'inoculation, permettant une augmentation remarquable de la taille des lésions, qui peut mener à la mort de la feuille au bout de 15 jours (Jordan, 1981).

L'agent causal de la rayure réticulée de l'orge (*P. teres*) est un pathogène transmissible par semences et qui possède la capacité de se reproduire de deux façons ; sexuée et asexuée (Van den Berg & Rosnagel, 1991 ; Peever *et al.*, 1994). En conditions normales et en milieu

naturel, durant la phase reproductive sexuée, l'infection primaire peut s'établir par le biais de deux principales sources d'inoculum. La première étant, à partir de la dispersion des ascospores libérées par des pseudothèces provenant des débris de cultures précédemment infectées, ou à partir des conidies provenant d'hôtes intermédiaires du genre *Hordeum* (servant de réservoir d'inoculum), ou encore à partir des chlamydospores conservés sur les débris végétaux de la saison précédente (Pienning, 1961, Shipton *et al.*, 1973). La seconde source, est le mycélium contenu dans les semences contaminées. Dans ce cas, plusieurs facteurs peuvent agir sur l'infection et le développement de la maladie, tels que le nombre de semences atteintes utilisées, la dose de semis et les conditions édaphiques et climatiques (Carmona *et al.*, 2008) (Fig. 2).

Pendant la phase de reproduction asexuée, l'infection secondaire est provoquée par les conidiospores produites sur la surface des feuilles qui seront dispersées par le vent et l'eau vers d'autres feuilles saines (Martin and Clough, 1984 ; Van-den-berg, 1988). Quand les conditions environnementales sont favorables, plusieurs cycles secondaires de la maladie se produisent par le biais de ces conidies, provoquant une accentuation de la sévérité de la maladie sur les plantes sensibles (Liu *et al.*, 2011).

La dispersion des conidies joue en effet, un rôle primordial dans l'épidémiologie de la maladie, le vent et l'eau sont les deux principaux facteurs qui déterminent l'ampleur de la transmission de cette maladie foliaire à travers une surface cultivée (Parry, 1990). Dans ce contexte, il est à rappeler que la sporulation de *P. teres* est négligeable par temps froid ($T < 2^{\circ}C$), elle est cependant optimale à une température qui se situe entre 15 et 20° C (Shaw, 1986). Elle nécessite une humidité très élevée d'une durée de 10 à 30 heures, et la germination des conidies n'est possible qu'en présence d'H% (Shaw, 1986).

Par ailleurs, une hygrométrie d'au moins 95% serait favorable au développement de la maladie (Morvan, 2006). Kosiada (2008), avait également montré que l'infection par le pathogène dépend de la période de solarisation, de l'isolat de *P. teres* utilisé et de la température environnante. En effet, le nombre des plants infectés s'était montrés dépendant de la hausse de la température ; l'infection avait atteint son optimum à 25° C, après une durée de solarisation de 10 heures (Kosiada, 2008).

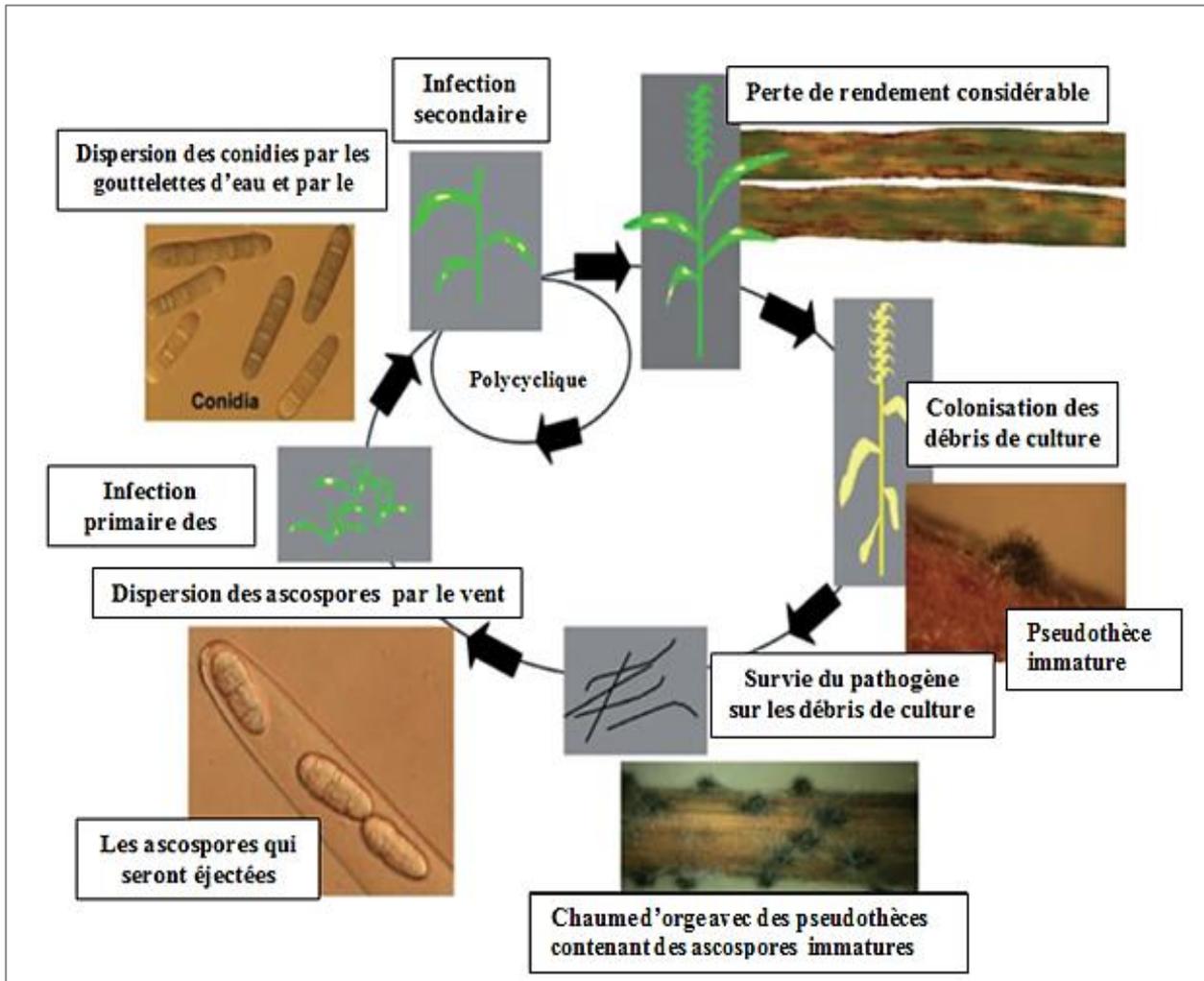


Figure 2 : Cycle de développement des deux agents causaux de la rayure réticulée de l'orge *P. teres f. teres* et *P. teres f. maculata* (Liu *et al.*, 2011).

La phase épidémique aura généralement lieu pendant les stades gonflement et épiaison, cependant l'épidémie peut parfois avoir lieu pendant la montaison (Bayer, 2020). Lorsque toutes les conditions favorables au développement du champignon sont réunies, le cycle infectieux peut être complété au bout de 10 à 14 jours (Parry, 1990). Quand la quantité d'inoculum primaire est importante, la maladie se développe très rapidement et l'épidémie peut devenir très grave sur les variétés sensibles (Van Den Berg, 1988).

Pour passer la mauvaise saison, le champignon peut survivre et se conserver pendant très longtemps sous forme d'ascocarpes (périthèces), qui résistent nettement, mieux aux conditions climatiques sévères (Pienning, 1961). Après la germination des structures de conservations, le pathogène entame une infection primaire sur l'orge, même après des années de sa conservation sur les débris végétaux (Pienning, 1961). A cet effet, des rotations de longues durées allant jusqu'à 4 ans sont recommandées dans le cas de *P. teres*, afin de réduire l'inoculum primaire et d'éviter les risques d'épidémies sévères (Van Den Berg, 1988). Les taux d'infections élevés sont, en effet, généralement liés au maintien de la culture de l'orge deux années consécutives dans un champ précédemment infecté, en particulier si les chaumes ne sont pas profondément enfouis (Turkington *et al.*, 2006).

II. 1. 3. Effet de la rayure réticulée sur le rendement de l'orge et sa qualité : La rayure réticulée de l'orge est une maladie qui peut s'avérer très sévère en présence des conditions météorologiques idéales. L'attaque par le champignon *P. teres*, provoque une réduction de la surface foliaire, de la hauteur de la plante et du poids du grain, de même qu'un retard de l'apparition des nouvelles feuilles est observé (Deadman et cooke, 1988). L'infection sévère des feuilles, affecte significativement le rendement, en diminuant le nombre de grains par épi, ainsi que le poids de mille grains (Jordan, 1981). Quand les trois étages foliaires supérieurs sont atteints, les pertes signalées sont souvent les plus graves (Morvan, 2006). Une perte de la capacité assimilatrice, ainsi que l'action directe des mycotoxines (ex : aspergillomarasmine A), provoquent d'importantes baisses de rendement, et ce, en diminuant le poids de mille grains et le nombre de grains par épi dans le cas où l'attaque avait eu lieu pendant l'épiaison (Morvan, 2006).

Ainsi, cette maladie cause des réductions de productions atteignant les 44 % et occupe donc une place économique importante à travers le monde (Jayasena *et al.*, 2007 ; Murray et Brennan, 2010).

II. 2. L'agent causal de la rayure réticulée de l'orge

II. 2. 1. Taxonomie de *Pyrenophora teres* : *Pyrenophora teres* (Died.) Drechsler (anamorph *Drechslera teres* (Sacc.) Shoemaker; syn. *Helminthosporium teres* Sacc.), est l'agent causal de la rayure réticulée de l'orge, ce pathogène fait partie du : Règne des *Fungi*, Sub-règne des *Dikarya*, Division des *Ascomycota*, Sub-division des *Pezizomycotina*, Classe des *Dothideomycètes*, Ordre des *Pleosporales*, Famille des *Pleosporaceae* et au Genre *Pyrenophora* (MycBank, 2020).

Le nom binomial de ce champignon a connu plusieurs changements à travers les temps, Dedicke avait précédemment donné le nom de *Pleospora teres* Died. au stade parfait de ce pathogène (Gaur *et al.*, 2006). De même pour le stade imparfait où l'anamorphe *Drechslera teres* était auparavant dénommé *Helminthosporium*, jusqu'à la fin des années 1950, quand le genre *Helminthosporium* a été subdivisé en se basant sur la morphologie des spores en deux genres distincts : *Drechslera* et *Bipolaris* (Shoemaker, 1959).

II. 2. 2. Critères morphologiques d'identification de *P. teres* : Les conidies de *P. teres* sont de forme cylindrique, mesurant généralement 60-120 μm x 16-23 μm , et sont munies de quatre à six cloisons transversales (Zillinsky, 1983). Ces dernières naissent sur des conidiophores qui mesurent jusqu'à 200 μm de longueur et 7-11 μm de diamètre, elles sont de couleur brun clair ou moyen (Zillinsky, 1983). Les conidiophores de *P. teres* se présentent seuls ou en groupes de deux ou trois, et comportent souvent quatre à six pseudosepta (Liu *et al.*, 2011).

À la fin de la saison de culture, le champignon colonise le tissu sénescant et produit des pseudothèces, qui sont de couleur noire garnis de setes (poils noirs) autour d'un col court, de forme sphérique et d'un diamètre d'environ 1-2 mm (Zillinsky, 1983 ; Liu *et al.*, 2011). Les ascospores libérées par les pseudothèces sont d'une taille d'environ 18-28 μm x 43-61 μm , ils sont bruns clairs et ellipsoïdales, et ont souvent trois à quatre septa transversaux et/ou deux septa longitudinaux dans les cellules médianes (Liu *et al.*, 2011) (Fig. 3).

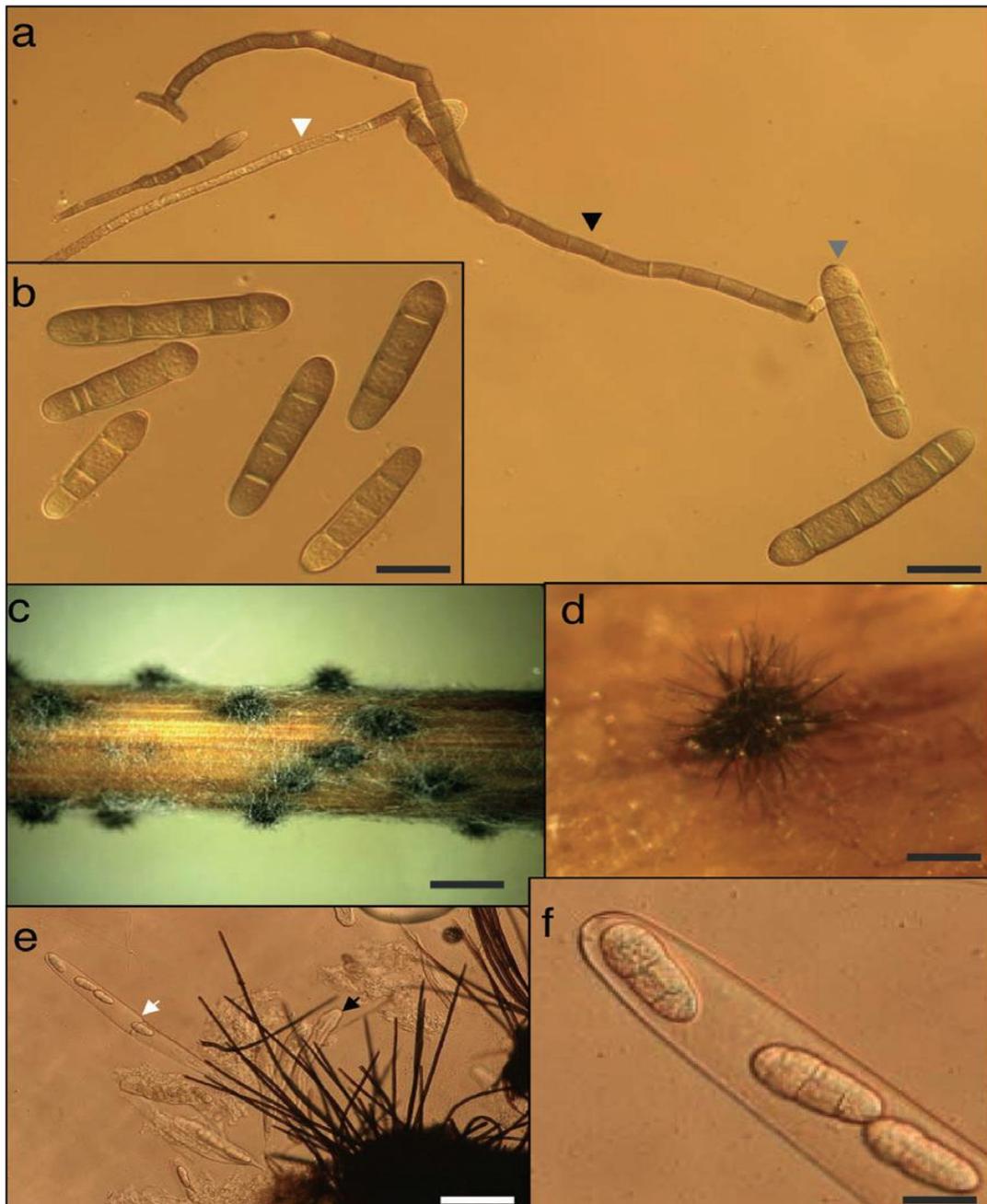


Figure 3 : Structures de reproduction sexuée et asexuée de *P. teres* f. *teres*. (a) Conidie (flèche en gris), conidiophores (flèche en noire) et mycélium (flèche blanche), (b) Conidie contenant de 3 à 5 septa, (c) Paille d'orge contenant des pseudothèces noirâtres. (d) Pseudothèces immatures en forme globuleuse avec présence de filaments de sètes bruns foncés, ressemblant à des cheveux (e) Rupture d'un pseudothèce montrant un asque immature et bituniqué (flèche noire), et un asque mature (flèche blanche) dans lequel la paroi interne a éclaté et quelques ascospores ont été éjectés. (f) ascospores avec trois ou quatre septa transversaux et un ou deux longitudinaux (Liu *et al.*, 2011).

II. 2. 3. Distinction des deux formes de *P. teres*: Sur le plan morphologique, il n'existe pas de différences apparentes entre *P. teres* f. *teres* (*Ptt*) et *P. teres* f. *maculata* (*Ptm*). Les deux formes restent donc indiscernables par leurs caractères morphologiques (Liu *et al.*, 2011). En se basant sur les symptômes produits par chacune des formes sur le feuillage de l'orge, Smedegard-Petersen (1971) avait subdivisé l'espèce *P. teres* en deux formes pathogènes.

La forme *Ptm* a d'abord été décrite comme étant une espèce distincte et le nom *P. japonica* S. Ito & Kurib lui a été attribué par Ito et Kuribayashi en (1931). Mais son croisement réussi au laboratoire avec l'espèce *P. teres* par Mc Donald (1967) et par Smedegard-Petersen (1971), a permis de conclure que ces deux champignons appartenaient à la même espèce. Toutefois, les travaux de Rau *et al.* (2007), suggèrent l'existence d'un isolement génétique ancien entre les deux formes, ainsi que la rareté voir l'absence de leur croisement dans les conditions naturelles. Actuellement, plusieurs études rapportent que les deux formes de ce pathogène appartiennent à deux groupes phylogénétiques divergents (Rau *et al.*, 2003 ; Leisova *et al.*, 2005 ; Rau *et al.*, 2007 ; Lehmensiek *et al.*, 2010). Ils auraient divergé il y a plus de 519 000 ans, génétiquement différentes, elles sont toutefois morphologiquement identiques (Ellwood *et al.*, 2010 ; Liu *et al.*, 2011). Des propositions ont été ainsi faites pour modifier la taxonomie de ces deux formes, mais jusqu'à nos jours aucune modification n'a été officiellement autorisée (Lu *et al.*, 2010).

Leurs processus infectieux et les symptômes causés par chaque forme, sont aussi différents. Ceci peut être expliqué par le fait que le mode d'infection des deux formes est distinct. Selon Lightfoot et Able (2010), il existe une différence claire dans le temps et l'ampleur de la croissance fongique entre les deux formes. *Ptm* semble se développer d'abord en tant que biotrophe, formant des vésicules intracellulaires à l'intérieur des cellules épidermiques, cette phase est ensuite suivie par le passage à une phase nécrotrophe s'établissant dans le mésophylle. En revanche, *Ptt* pénètre plus rapidement dans le mésophylle et n'a pas de stade biotrophique. *Ptm* serait donc considéré comme un hémibiotrophe alors que *Ptt* comme un nécrotrophe (Lightfoot and Able, 2010) (Fig. 4).

La différence entre les deux formes de *P. teres* a été également démontrée, à travers leurs effets différentiels à l'égard des différentes variétés d'orge et dans leur niveau de sensibilité à l'égard des fongicides. Ces deux aspects ont été largement étudiés, par différents auteurs, qui ont pu mettre en évidence des effets distincts des deux agents pathogènes, sur la résistance variétales et sur l'efficacité des fongicides (Campbell et Crous, 2002 ; Akhavan *et al.*, 2016 ; Çelik Oğuz, 2017).

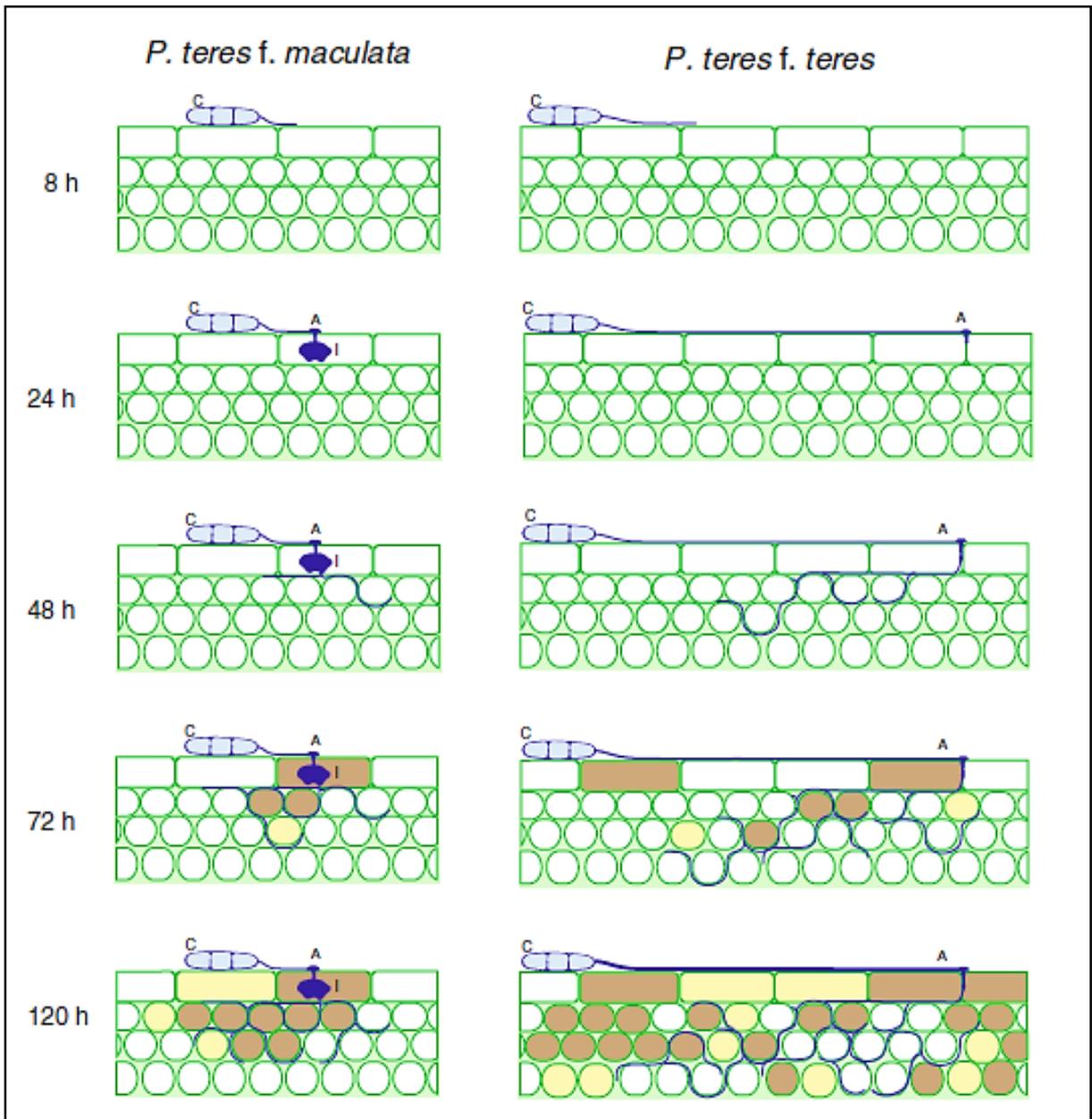


Figure 4 : Schéma du processus infectieux causé par *P. teres f. maculata* (à gauche) et *P. teres f. teres* (droite) au niveau les plants d'orge sensibles. C = conidie, A = appressorium, I = vésicule intracellulaire. Les cellules en cours l'agrégation cytoplasmique sont colorée en jaune, alors que les cellules brunes représentent celles qui semblent être mortes (Lightfoot et Able, 2010).

Campbell et Crous (2002) ont constaté que les isolats de *Ptm* étaient moins sensibles que les isolats de *Ptt*, vis-à-vis de plusieurs fongicides du groupe des IDMs, tel que le propiconazole, le tébuconazole et le bromuconazole. Également, Scott *et al.* (1992) ont noté que deux applications de propiconazole étaient nécessaires afin de contrôler la SFNB causée par le *Ptm*, alors qu'une seule application était suffisante pour contrôler la NFNB causée par le *Ptt*.

La résistance de l'hôte à l'égard de la forme *Ptm*, semble être gouvernée uniquement par des gènes mineurs, à travers une résistance quantitative (Syme *et al.*, 2018). Cependant, dans le cas de la forme *Ptt*, des observations rapportées par Syme *et al.* (2018), suggèrent l'implication des gènes de résistance dominants, plus typiques aux interactions biotrophiques. En effet des réactions différentielles plus complexes ont été observées; elles impliquent des gènes de sensibilité dominants chez l'hôte, qui gouvernent les interactions hôte-éliciteurs nécrotrophiques. De même, des gènes de résistance dominants, subitement contournés chez des cultivars résistants, ont été décrits.

II. 3. Méthodes de lutte contre la rayure réticulée de l'orge : Pour assurer une lutte efficace contre cette maladie foliaire, une combinaison adéquate des outils et ressources de la protection des cultures disponibles, est nécessaire. Ceci, afin de réduire les dégâts causés par les symptômes liés à cette dernière. La lutte contre la rayure réticulée de l'orge est principalement basée sur l'application d'une ou de plusieurs méthodes sanitaires combinées.

II. 3. 1. Méthodes génétiques : La résistance des plantes a été amplement utilisée dans la lutte contre les maladies des plantes cultivées. Cependant, cette résistance, conférée par différentes sources, n'est souvent pas stable en raison des adaptations rapides des agents pathogènes (Leach *et al.*, 2001). Ceci nécessite une modification régulière des variétés, afin de maîtriser la virulence du parasite (Bouharmont, 1994). Ainsi, les résistances quantitatives sont prétendues plus stables que les résistances complètes (Kolmer, 1996), en raison de leurs bases génétiques souvent plus complexes, et de la pression de sélection moins puissante qu'elles exercent sur les populations pathogènes (Anderson, 2010).

Plusieurs études se sont concentrées sur la compréhension de la virulence de *P. teres* et de la résistance des variétés d'orge à son égard (Mironenko *et al.*, 2002 ; Mironenko *et al.*, 2005 ; Serenius *et al.*, 2005 ; Manninen *et al.*, 2006 ; Jalli, 2010 ; Boungab *et al.*, 2012). Statkeviciūtė *et al.* (2010) et O'Boyle (2009), ont conclu que le déterminisme génétique de la résistance de l'hôte à l'égard des deux formes du pathogène (*Ptt* et *Ptm*), est contrôlé de façon indépendante.

Les principaux gènes de résistance de chaque type sont situés en effet sur deux chromosomes différents ; à savoir 6H et 4H, pour *Ptt* et *Ptm* respectivement (Friesen *et al.*, 2006). Dans le même contexte, Manninen *et al.* (2006) ont étudié une lignée d'orge éthiopienne porteuse de deux gènes majeurs indépendants, responsables de la résistance de l'orge à la rayure réticulée, ils ont démontré que le gène Rpt5 agit à l'égard de *Ptt*, alors que le gène Rpt6 agit à l'égard de le *Ptm*. Auparavant, le gène de résistance majeur (Rpt4), qui conférait une résistance uniquement au *Ptm*, avait été identifié (Williams *et al.*, 1999). Plus récemment, quatre QTL conférant une résistance uniquement contre *Ptt*, située sur les chromosomes 1H, 4H et 5H, ont été rapportés par Afanasenko *et al.* (2015).

II. 3. 2. Méthodes biologiques : La lutte biologique a récemment connu un intérêt particulier pour plusieurs chercheurs. Ce moyen de lutte consiste en l'utilisation des organismes vivants, ou des substances provenant de ces derniers, afin de réduire les dégâts causés par les agents pathogènes (Taibi *et al.*, 2014).

Ainsi ; suite à des tests *in vitro* et *in vivo*, O' Brien (2005) a pu identifier quatre souches bactériennes ; *Pseudomonas fluorescens* (MKB100 et MKB156) et *Pseudomonas* sp. (MKB158 et MKB194), ayant le potentiel de réduire le développement de la rayure réticulée de l'orge sur les plant d'orges infectés, comparés aux plants témoins. De même, Hokeberg *et al.* (1997) ont constaté que l'utilisation de la souche MA342 de *Pseudomonas chlororaphis*, en traitement de semences, a entraîné une réduction de plus de 98 % de l'incidence des plantes infectées par *P. teres* en culture suite à l'inoculation de la semence.

Des champignons ont aussi été identifiés comme agents de lutte biologique potentiels ; tel que *Peniophora nuda* qui cause des dommages structuraux aux niveaux des hyphes de *P. teres*, dès leur contact avec ceux de cet antagoniste (Lartey *et al.*, 2013a). Par ailleurs, Moya *et al.* (2018) ont pu démontrer que les composés organiques volatiles émis par les champignons *Trichoderma harzianum* et *Trichoderma longibrachiatum* ont un effet antagoniste contre *P. teres*, ils pourraient être utilisés, comme une alternative aux fongicides synthétiques.

Les extraits aqueux des plantes d'*Anacyclus valentinus*, de *Tetraclinis articulata* et d'*Inula viscosa*, ont été testés *in vitro* et *in vivo* par Boungab *et al.* (2015). Les résultats obtenus *in vitro* ont révélé une réduction importante de la croissance mycélienne de *P. teres* de l'ordre de 72,27 % pour *A. valentinus* et de 87,05 % pour *T. articulata* (Boungab *et al.*, 2015). *In vivo*, la meilleure réduction de la sévérité de la maladie a été notée dans le cas de l'extrait de *T. articulata*

qui a provoqué une réduction de 79,21 %, suivi par *Inula viscosa* avec une réduction égale à 72,55%. L'effet fongicide de *Thymelea sp.* sur *P. teres* f. *teres* a aussi été prouvée par Taibi *et al.* (2014).

II. 3. 3. Méthodes alternatives : Plusieurs méthodes de lutte alternatives sont utilisées dans la lutte contre la rayure réticulée de l'orge. Parmi elles, les méthodes culturales qui impliquent l'optimisation des pratiques culturales, permettant de réduire les dommages causés par le pathogène. Dans ce contexte, l'utilisation des semences certifiées, la réalisation d'un travail du sol adéquat et la pratique des rotations de cultures (O'Brien, 2005), peuvent se révéler très utiles. Ainsi, une analyse comparative a montré que lorsque la monoculture d'un cultivar d'orge était pratiquée, des niveaux plus élevés de la rayure réticulée et un poids de mille grains plus faible étaient observés, ceci comparé à une rotation de plusieurs cultivars (Turkington *et al.*, 2005).

L'induction des résistances de la plante a connu également une grande attention ces dernières années. Une pré-inoculation des feuilles d'orge par l'un des champignons non pathogènes ; *Bipolaris maydis* ou *Parastagonospora nodorum* (Berk), a entraîné une réduction significative du taux d'infection par un isolat virulent de *P. teres* f. *maculata* (Jørgensen *et al.*, 1996). L'effet de la phytostimulation exercée par deux souches de *Pseudomonas fluorescens* chez l'orge, sur la diminution de la sévérité de la rayure réticulée a été démontré par Bouacid (2011).

El-Nawawy *et al.* (2016) ont prouvé que l'application de mono-phosphate de potassium KH₂PO₄, de nano-composite d'argile de chitosan, d'acide humique, ou de métasilicate de sodium, réduisait les symptômes de la rayure réticulée sur l'orge. Leurs travaux ont révélé que le monophosphate de potassium et l'argile de chitosan, étaient les plus efficaces.

II. 3. 4. Méthodes chimiques : Parmi toutes les méthodes de lutte utilisées, la lutte chimique semble être la plus rapide et la plus efficace dans le cas d'épidémies fongiques subites, c'est aussi l'une des méthodes les plus simples à appliquer par les agriculteurs. Cependant, la durabilité de leur efficacité à long terme, reste dépendante de plusieurs critères, permettant le contrôle des résistances aux fongicides et de leurs propagations.

À côté des variétés résistantes et des pratiques culturales, les fongicides sont vastement utilisés pour lutter contre *P. teres*. En réalité, en raison de l'absence de cultivars très résistants, la rayure réticulée de l'orge est principalement contrôlée par l'application de fongicides (Sierotzki *et al.*, 2007). De nombreuses classes de fongicides sont utilisés dans le monde entier,

pour lutter contre cette maladie fongique, notamment les Inhibiteurs Externes de la Quinone (QoI), les Inhibiteurs de la Succinate Déshydrogénase (ISDH) et les Inhibiteurs de la Déméthylase (IDM) (Mair *et al.*, 2016 ; Rehfus *et al.*, 2016, Stepanović *et al.*, 2016).

L'efficacité de ces groupes chimiques a été largement étudiée. Une étude d'efficacité de dix traitements incluant des fongicides des deux familles QoI et IDM a été réalisée par Jayasena *et al.* (2002) durant les deux campagnes 1999 et 2000, celle-ci a mis en avant le fait que le pyraclostrobine, le propiconazole et le mélange de propiconazole avec l'iprodione était les plus efficaces contre la rayure réticulée de l'orge. L'azoxystrobine, la trifloxystrobine, le difénoconazole et l'époxiconazole ont également permis un bon contrôle de la maladie (Jayasena *et al.*, 2002).

Egalement, les résultats reportés dans des essais menés par Stepanovic *et al.* (2016), soulignent l'efficacité des mélanges contenant des fongicides appartenant aux deux groupes fongicides (QoIs et IDMs). Le traitement (pyraclostrobine + époxiconazole) à 1,0 L ha⁻¹ a entraîné le meilleur contrôle de la maladie dans les deux expérimentations, avec une efficacité de 91,8 % en 2010, et 97 % en 2011.

Des traitements à base d'ISDH testés par Rehfus (2018) *in planta* sur des isolats de *P. teres*, ont énoncé des taux d'inhibition très importants avec des moyennes de 92 % pour le fluopyram, 98 % pour le fluxapyroxad, et 95 % pour le penthiopyrade. Ces résultats ont été obtenus à une dose égale à 125 g m.a. ha⁻¹ (dose préconisée au champ).

II. 4. Fitness du pathogène et facteurs d'agressivité

II. 4. 1. Fitness du pathogène : La fitness du pathogène est un élément de comparaison courant en biologie, elle peut être définie comme étant la capacité d'un allèle à survivre et à se reproduire avec succès à l'état individuel ou en groupe (Fan, 2015). En d'autres termes, c'est la capacité d'un agent pathogène à persister dans la nature (Shaner *et al.*, 1992). Dans les études menées en phytopathologie, la fitness est souvent étudiée en se concentrant sur un seul aspect du cycle de vie de l'organisme fongique (Fan, 2015). Les adaptations des agents pathogènes des cultures à la résistance variétale et aux fongicides, fournissent d'excellents exemples de survie des individus les plus aptes (ayant une meilleure fitness), et démontrent aussi la rapidité avec laquelle les forces évolutives peuvent intervenir chez les micro-organismes (Hollomon et Brent, 2009).

La fitness implique de nombreuses composantes ; l'agressivité, la période de latence, le taux de reproduction, le taux de croissance, le taux de transmission et aussi la capacité à survivre entre les saisons (Zhan *et al.*, 2013 ; Mikaberidze et McDonald, 2015). Plusieurs de ces composantes sont souvent utilisées pour évaluer la fitness d'un isolat, notamment la croissance mycélienne sur un milieu PDA, la sensibilité osmotique, la germination et production des spores *in vitro*, ainsi que la virulence et le pouvoir de sporulation de l'agent pathogène *in vivo* (Bardas *et al.*, 2008 ; Bauske et Gudmestad, 2018).

II. 4. 2. Facteurs d'agressivité : En phytopathologie, le pouvoir pathogène peut être défini par deux composantes. La première étant la virulence, selon VanderPlank (1968), elle est de nature qualitative ; le terme décrit selon cet auteur la capacité d'un pathogène à infecter un génotype particulier de l'hôte. C'est pour cela que le terme « virulence » est utilisé pour désigner l'aptitude d'un génotype pathogène, à contourner un facteur de résistance chez l'hôte (Sacristan and Garcia-Arenal, 2008). Selon Salvaudon *et al.* (2007), la virulence correspond à une réduction de fitness chez l'hôte ; en effet elle est à l'origine du détournement des ressources disponibles chez l'hôte, conduisant à la réduction de sa fitness (Salvaudon *et al.*, 2007). La deuxième étant, l'agressivité qui est de nature quantitative, elle est décrite comme étant le degré des dégâts causées sur l'hôte suite à l'infection par le pathogène (Van der Plank, 1968). L'agressivité est un caractère composé de plusieurs constituantes, soumises à plusieurs forces évolutives, qui peuvent ou pas être corrélées entre elles (Andanson, 2010).

Selon Pariaud *et al.* (2009), l'agressivité combine les deux notions « la fitness du pathogène » et « la virulence » ; un pathogène possédant, une virulence et une fitness plus élevées, sera généralement considéré comme plus agressif ; il va en effet provoquer des épidémies plus rapides et des dégâts plus graves sur les cultures. Elle est également désignée par Andanson (2010), comme étant l'aptitude d'un champignon, à créer une épidémie dans une parcelle et qui dépend de certains caractères quantitatifs, tels que son taux de sporulation, la taille des lésions provoquées sur l'hôte et sa période de latence.

Pariaud *et al.* (2009) ont conclu que les populations pathogènes peuvent s'adapter de manière quantitative à leurs hôtes (en laboratoire, sur le terrain en conditions expérimentales, ou en conditions naturelles), entraînant ainsi des modifications de leur agressivité.

II. 4. 3. Fitness du pathogène et résistance aux fongicides : Utilisés en traitement préventif ou en curatif, les traitements pesticides fournissent une protection des cultures assez efficace

contre les maladies fongiques, néanmoins, leur efficacité reste instable en raison de l'adaptation rapide des populations pathogènes (Andanson, 2010). L'utilisation intensive des fongicides, peut entraîner une perte d'efficacité partielle, ou totale en raison de la sélection rapide des phénotypes résistants, plus adaptés au développement dans un environnement traité avec un fongicide (Walker, 2013). L'incidence des mutants initialement rares dans la population pathogène, augmentera si une pression sélective est exercée par l'application de fongicides (Brent et Hollomon, 2009). En effet, les isolats résistants ont une meilleure adaptation en présence de fongicides que les isolats sensibles (Marzani, 2013).

La dispersion et la persistance d'organismes résistants aux pesticides dans la nature, sont dépendantes de la fitness des génotypes sensibles et résistants (Cowen *et al.*, 2001). Selon Bardas *et al.* (2008), le développement de la résistance aux fongicides serait atténué si la sous-population résistante, présentait une fitness parasitaire ou saprophytique moindre. Une bonne connaissance des composantes de la fitness des agents pathogènes fongiques, et de leurs mécanismes de résistance, contribuera certainement à une meilleure gestion de la résistance aux produits antifongiques (Anderson, 2005).

Les mutations liées aux résistances aux fongicides entraînent souvent un coût sur l'adaptation des souches résistantes, qui va s'exprimer par une réduction de leur vigueur (Fitness cost pour les Anglo-saxons) (Anderson, 2005). Ceci s'explique par le fait que toute mutation conférant une résistance aux fongicides, peut également perturber ou réduire le fonctionnement de l'un des processus physiologiques ou biochimiques essentiels à la survie de la cellule (Anderson, 2005). Les pénalités de l'adaptation (Fitness penalties) sont généralement indiquées, comme étant une situation où une souche résistante devient en absence d'un fongicide, moins adaptée que les souches sensibles (Hawkins et Fraaije, 2018).

L'implication de cette perte de l'adaptation (Fitness loss) du pathogène dans la résistance, conduit à recommander l'alternance entre les produits chimiques à modes d'actions différents, afin de lutter et de retarder l'évolution de la résistance (Bardas *et al.*, 2008). Si par contre, le développement de la résistance n'est pas associé à la perte de la fitness, d'autres stratégies telles que l'utilisation de mélanges, la réduction des doses d'application ou du nombre d'applications, devrait être mis en œuvre (Bardas *et al.*, 2008).

II. 5. La résistance aux fongicides dans le contexte des groupes chimiques ISDH, QoI et IDM

II. 5. 1. Types de résistances aux fongicides : Malgré l'excellente efficacité des fongicides dans la lutte contre les maladies des plantes, de nombreux agents pathogènes ont réussi à développer des résistances à ces derniers (Fernández-Ortuño *et al.*, 2008 ; Avenot et Michailides, 2010 ; Mair *et al.*, 2016). L'augmentation de la proportion des agents pathogènes présentant une résistance ou une sensibilité réduite, a fortement affecté les performances de nombreux fongicides modernes (Marzani *et al.*, 2013). Deux types de résistance à l'égard des fongicides sont connus chez les agents pathogènes ; la première est qualitative, alors que la seconde est quantitative.

II. 5. 1. 1. La résistance qualitative : Elle est caractérisée par une perte soudaine et marquée de l'efficacité du fongicide et par la présence d'agents pathogènes strictement sensibles, ou résistants ayant des réponses très différentes (Brent et Hollomon, 2007). C'est une résistance qualifiée de « discontinue » ou encore de « discrète » (Brent et Hollomon, 2007) (Fig. 5). Ce type de résistance est due à une mutation dans le gène codant pour un site ciblé par les fongicides (Fig. 6a) ; dans ce cas les mutants insensibles sont sélectionnés, et les individus sont soit sensibles ou résistants aux fongicides (Brent et Hollomon, 2007 ; Deising *et al.*, 2008). La résistance de *P. teres* à l'égard des fongicides appartenant au Inhibiteurs Externes de Quinone (QoI pour les anglosaxons) est de nature qualitative (monogénique) (Brent et Hollomon, 2007).

Bien que les mécanismes gouvernant la résistance aux Inhibiteurs de la Succinate Déshydrogénase (ISDH = SDHI pour les anglosaxons), sont génotypiquement comparables à ceux de la résistance aux QoIs, ils sont plus complexes et leur évolution pourrait être phénotypiquement plus proche de la résistance des IDMs qui est quantitative (polygénique) (Rehfus, 2018).

Il est à noter que malgré l'existence d'un nombre élevé de mutations provoquant la résistance aux ISDHs, les isolats de *P. teres* résistants ne présentent qu'une seule mutation *Sdh*, et non pas plusieurs mutations au sein des gènes cibles, comme c'est le cas dans la résistance quantitative chez les IDMs (Rehfus, 2018).

II. 5. 1. 2. La résistance quantitative : Dans le cas de cette résistance, la diminution du contrôle des maladies, ainsi que celle de la sensibilité des populations d'agents pathogènes, se manifestent progressivement et de façon partielle et variable en degré. Ce type de résistance est appelé « continu » ou « à multi-étapes » (Fig. 5) (Brent et Hollomon, 2007).

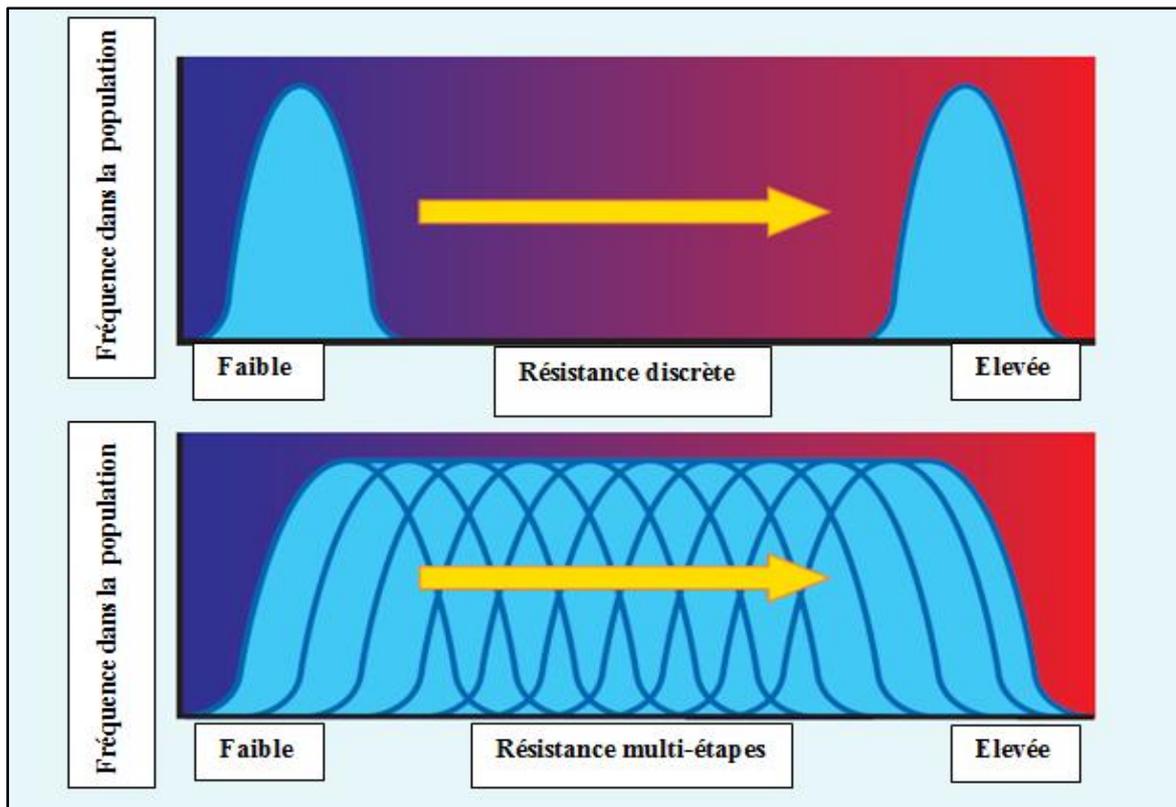


Figure 5 : Diagrammes montrant les distributions bimodale et unimodale des degrés, caractérisant le développement de la sensibilité, respectivement dans le cas d'une résistance qualitative (haut) ou quantitative (bas). Les ombres en bleu indiquent la population sensible de base, alors que l'ombrage rouge indique la population résistante résultante (Brent et Hollomon, 2007).

Comme dans le cas des IDMs, ce type de résistance « polygénique » se développe progressivement et de façon moins brutale et s'avère plus complexe, car des mutations de différents gènes et d'autres mécanismes y sont impliqués (Brent et Hollomon, 2007 ; Deising *et al.*, 2008) . La résistance dans ce cas, peut être due à différents mécanismes, induits par le stress fongicide sub-létal, qui conduit à une induction des gènes responsables de la résistance aux traitements fongicides ultérieurs (Deising *et al.*, 2008) (Fig. 6 B). En conséquent, la population présentera de plus en plus un nombre croissant d'individus à des degrés de résistance plus élevés ; les individus exprimant une diminution de la sensibilité aux fongicides ont plus de chances de survivre aux traitements (Deising *et al.*, 2008).

Ce type de résistance, est finalement régi par la capacité du champignon à assurer le maintien d'une faible concentration du fongicide au niveau intracellulaire (Reimann et Dising, 2005). Ceci est possible grâce aux modifications de la structure des membranes plasmiques, réduisant

leur perméabilité aux fongicides (Löffler *et al.*, 2000). Le maintien de d'une faible concentration du fongicide au niveau intracellulaire est aussi possible via la synthèse d'enzymes spécifiques dégradant les molécules fongicides (Reimann et Dising, 2005), et via la surexpression du gène codant pour la cible du fongicide, permettant une neutralisation maximale des molécules antifongique. Ce phénomène a été récemment, décrit par Mair *et al.* (2016) dans le cas de *P. teres*, et ce, pour le gène codant pour la cible des fongicides IDMs (CYP51).

Le renforcement de la synthèse des transporteurs d'efflux qui ont la capacité d'évacuer les molécules antifongiques vers l'espace extracellulaire, joue également un rôle important dans ce type de résistance (DelSorbo *et al.*, 2000 ; Deising *et al.*, 2008). Les pompes à efflux les plus courantes chez les champignons sont les transporteurs ABC (ATP binding cassette) et MFS (Major Facility Superfamily). Certaines publications parlent des résistances multiples dues à des transporteurs MFS capables d'expulser plusieurs fongicides de différents groupes (Roohparvar *et al.*, 2007). Les mécanismes d'efflux sont aussi responsables des résistances multidrogues (MultiDrug Resistance : MDR) chez de nombreux microorganismes, ce phénomène qui consiste en un développement de résistance contre plusieurs produits chimiques, repose sur la surexpression des transporteurs d'efflux (Heick *et al.*, 2020).

Plusieurs cas de MDR ont été détectés chez les champignons phytopathogènes tel que : *Zymoseptoria tritici*, agent de la septoriose du blé (Roohparvar *et al.*, 2007, Gazeau *et al.*, 2016), et *Botrytis cinerea* agent de la pourriture grise (Kretschmer *et al.*, 2008 ; Leroux *et al.*, 2010).

II. 5. 2. Pression sélective des fongicides et développement des résistances: chez *P. teres*:
Lors de l'introduction d'un nouveau fongicide, ce dernier se montre efficace sur la population pathogène ciblée, qui se compose principalement d'individus sensibles. Son application répétée (ou celle d'un autre fongicide à même mode d'action), va exercer une pression sélective sur les individus en éliminant au fur et à mesure les individus sensibles et laissant place aux individus résistants pour devenir majoritaires dans la population, et ainsi causer la perte d'efficacité du fongicide (Bourgeois *et al.*, 2009).

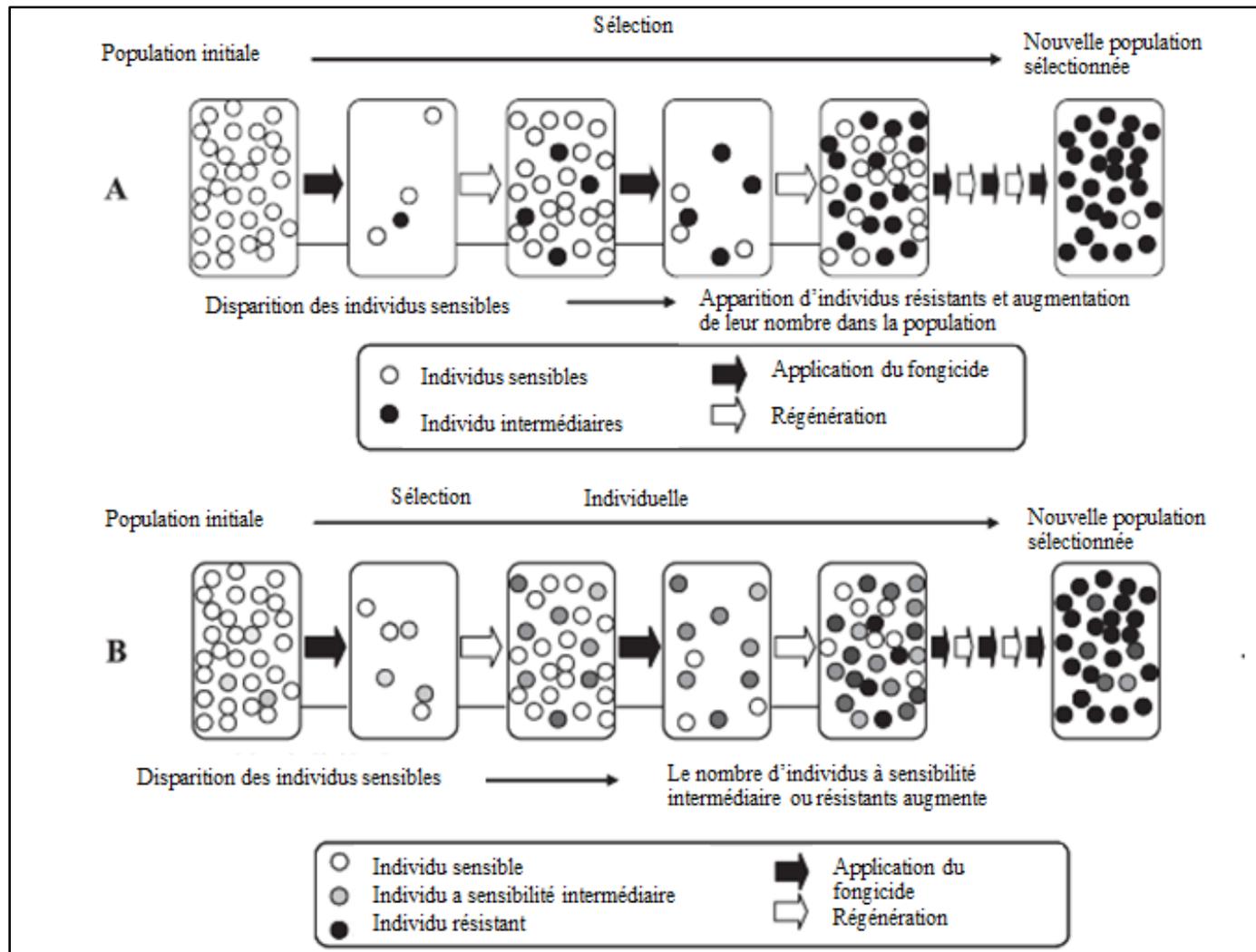


Figure 6 : Schéma explicatif du processus de sélection durant le développement de la résistance aux fongicides (En considérant le fongicide comme agent de sélection). (a) Cas de résistance qualitative, (b) Cas de résistance quantitative (Deising *et al.*, . 2008).

Ainsi, les fongicides ne sont pas mutagènes et ne sont pas responsables de l'apparition d'individus résistants. Ils ne font donc qu'exercer une sélection sur les individus résistants qui apparaissent de façon aléatoire dans une population et qui restent minoritaires et inaperçus en l'absence d'une pression de sélection (Bourgeois *et al.*, 2009).

Le développement des résistances aux fongicides chez les agents phytopathogènes, semble être fermement lié au mode d'action du fongicide et son site cible, aussi à la biologie et à la variabilité du pathogène (Walters *et al.*, 2012). La sporulation abondante, la dispersion efficace des spores, ainsi qu'un temps de génération court, font partie des facteurs épidémiologiques qui favorisent le risque de développement des résistances aux fongicides (Hollomon et Brent, 2007). Par ailleurs, les populations pathogènes à grande variabilité génétique, peuvent rapidement développer des mutations et surmonter les traitements fongicides (Peltonen *et al.*, 1996).

P. teres, développe durant la saison, plusieurs cycles de reproduction secondaires, à travers lesquels des conidies sont produites (Liu *et al.*, 2011), ce champignon est donc à l'état haploïde pendant la majeure partie de son cycle biologique. L'haploïdie et la grande variabilité génétique, sont des facteurs associés à un risque plus élevé d'émergence de la résistance aux fongicides, et de sa propagation dans une population (Brent et Hollomon, 2007 ; Angelini *et al.*, 2015).

II. 5. 3. Résistance de *P. teres* vis-à-vis des QoIs et des ISDHs: L'efficacité des fongicides à site unique est le résultat de la liaison de la molécule fongicide à une protéine cellulaire chez le champignon, qui induit la perturbation d'une fonction enzymatique. Ceci va provoquer un arrêt de la croissance fongique, traduit par un contrôle de la maladie (Latin, 2017).

Dans le cas de résistance aux fongicides, l'isolat résistant subit un changement moléculaire au niveau du site de liaison du fongicide (Latin, 2017). La molécule active de ce dernier est empêchée de se lier à l'enzyme cible et de perturber ainsi sa fonctionnalité, l'agent pathogène continue alors sa croissance de façon normale (Latin, 2017).

La classe des fongicides Strobilurines (QoI) a donné d'excellents résultats dans la lutte contre le pathogène *P. teres* dans plusieurs pays (Semar *et al.*, 2007 ; Marzani, 2011 ; Akhavan, 2017). Le premier fongicide de la classe QoI a été lancé sur les marchés, il y a seulement deux décennies (Oliver et Hewitt, 2014). Les premières strobilurines (strobilurine A et B) ont été découvertes dans un champignon basidiomycète *Strobilurus tenacellus*, en 1977 (Anke *et al.*, 1977). Selon Oliver et Hewitt (2014), les QoIs sont actifs contre une large gamme de

champignons, notamment les oomycètes, les basidiomycètes et les ascomycètes, ils sont aussi non-toxiques pour les organismes non ciblés et se dégradent rapidement dans la nature. Ce groupe de fongicides inhibe la respiration mitochondriale du champignon en se liant au site (Qo) du complexe cytochrome bc1 (Fig. 7), le transfert d'électrons est alors bloqué et la synthèse d'ATP est arrêtée (Fernández-Ortuño *et al.*, 2008). Par conséquent, une inhibition de la germination des spores et du développement mycélien est induite (Reddy, 2012).

En 1966, von Schmelting et Kulka (1966) avaient décrit les premiers ISDH ayant une activité fongicide, ils avaient conclu que les dérivés de 1,4-oxathiin, constituaient une nouvelle classe de fongicides systémiques, qui contrôlent sélectivement les maladies des plantes, sans avoir d'effets néfastes sur l'hôte. Les fongicides de la classe des carboxamides (ISDH) sont largement utilisés dans le contrôle de la rayure réticulée de l'orge, en particulier, en Europe (Rehfus *et al.*, 2016). Leur site cible est l'enzyme succinate déshydrogénase (SDH), et la respiration fongique est inhibée en bloquant les sites de liaison à l'ubiquinone dans le complexe mitochondrial II (Fig. 7) (Avenot et Michailides, 2010).

En raison de leur haute spécificité du site d'action, en particulier s'ils sont appliqués de manière excessive, le comité d'action contre la résistance aux fongicides (FRAC), a classifié les QoIs parmi les composés présentant un haut risque de perte d'efficacité (FRAC, 2019a). Ce risque est évalué de moyen à haut, chez les ISDHs (FRAC, 2019a).

Trois mutations ponctuelles du cytochrome b (F129L, G137R et G143A) responsables de la résistance aux fongicides du groupe QoIs, ont été détectées chez plusieurs champignons phytopathogènes (Fisher et Meunier, 2008). Deux d'entre elles ; la F129L (responsable de la substitution de la phénylalanine par la leucine à la position 129) et très rarement la G137R (responsable de la substitution de la glycine par l'arginine en position 137), ont été détectées dans les populations de *P. teres* (FRAC, 2013 ; Marzani *et al.*, 2013).

Par ailleurs, une résistance au nouveau groupe des fongicides carboxamides (ISDH) chez *P. teres*, a récemment émergé et s'est révélée être associée à de nombreuses mutations. Celles-ci se produisant dans les gènes codant pour les sous-unités de l'enzyme succinate déshydrogénase (SDH) (Rehfus, 2018). Des mutations se produisant dans la sous-unités sdh-B (Keon *et al.*, 1991 ; Skinner *et al.*, 1998 ; Avenot *et al.*, 2008, Fraaije *et al.*, 2012), dans la sous-unité sdh-C (Avenot *et al.*, 2009 ; Glaettli *et al.*, 2009 ; Fraaije *et al.*, 2012 ; Dooley *et al.*, 2016) ainsi que dans la sous-unité sdh-D (Avenot *et al.*, 2009 ; Glaettli *et al.*, 2009), ont été rapportées chez plusieurs champignons phytopathogènes.

Tableau I: Substitutions détectées chez des isolats de *P. teres* résistants aux ISDHs provenant des pays Européens (Rehfus, 2018).

Variante ISDH	Codon chez l'isolat sauvage > Codon <i>Sdh</i> chez l'isolat mutant	Variante ISDH	Codon chez l'isolat sauvage > Codon <i>Sdh</i> chez l'isolat mutant
B-H277Y	CAC>TAC	D-D124E	GAC>GAA
C-S73P	TCG>CCG	D-H134R	CAC>CGC
C-N75S	AAC>AGC	D-G138V	GGT>GTT
C-G79R	GGT>CGT	D-D145G	GAT>GGT
C-S135R	AGC>AGA(G)	D-E178K	GAG>AAG
D-D124N	GAC>AAC		

II. 5. 4. Résistance de *P. teres* vis-à-vis des fongicides inhibiteur d'azoles/déméthylase :

L'utilisation d'anciens fongicides tels que les Inhibiteurs de la Déméthylation (IDM) a récemment diminué, mais reste tout de même, largement utilisée dans certains pays comme l'Australie (Mair *et al.*, 2016) et l'Algérie (DPVCT, 2017).

Les IDMs agissent en inhibant l'activité de l'enzyme 14 α -déméthylase du stérol en se liant sélectivement au cytochrome P450 14 α -déméthylase (CYP51) (Fig. 8). En conséquent, la biosynthèse des ergostérols, qui sont des composants principaux des membranes fongiques, est bloquée (Lamb *et al.*, 1999; López Ruiz *et al.*, 2010). L'ergostérol agit comme un composant fonctionnel dans le maintien de l'intégrité de la membrane ; sa réduction entraîne une perturbation de la membrane et une fuite d'électrolyte (Joseph-Horne *et al.*, 1996).

Récemment, certains travaux ont révélé que la réduction de la sensibilité des populations de *P. teres* aux fongicides de ce groupe, étaient aussi liés à certaines mutations ponctuelles. Ainsi, la réduction de la sensibilité à ce groupe de fongicides, est le résultat de modifications des acides aminés au niveau de la cible moléculaire des azoles, qui est l'enzyme CYP51, et la surexpression de cette dernière (Mair *et al.*, 2016). Par conséquent, les isolats de *P. teres* f. *teres* présentant une sensibilité moindre aux IDMs, portent un allèle (Cyp51A: KO103A1) renfermant la mutation F489L du Cyp51A (Mair *et al.*, 2016). Cette mutation au niveau du codon 489, induit une substitution de la phénylalanine par de la leucine dans les résidus composant la sterol 14 α -demethylase, une enzyme présente au niveau du cytochrome P450.

Des mutations chez d'autres agents pathogènes des céréales comme *Z. tritici* (Huf *et al.*, 2018) ou *Ramularia collo-cygni* (Rehfus *et al.*, 2019) ont été aussi signalées comme ayant un effet sur la sensibilité aux IDMs.

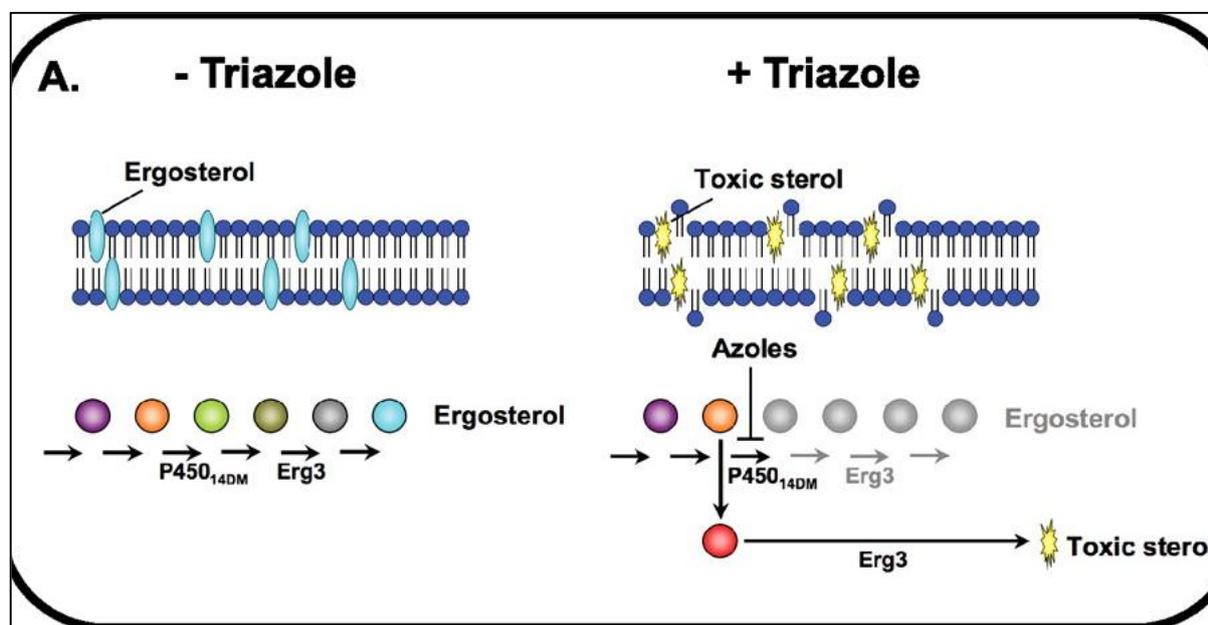


Figure 8 : Effet des triazoles sur l'inhibition du cytochrome au niveau de la cellule fongique P450_{14DM}, bloquant ainsi la production de l'ergostérol (principal stérol de la membrane cellulaire fongique), et provoquant l'accumulation d'un stérol toxique entraînant un stress au niveau de la membrane cellulaire (Cowen et Steinbach, 2008).

Chez *P. teres f. maculata*, Mair *et al.* (2019) ont démontré que la réduction de sensibilité à l'égard de ce groupe chimique, est associée à la présence de plusieurs mutations, aussi bien au niveau du promoteur, que de la région codante, du gène Cyp51A. La présence d'un transposant responsable de la surexpression du gène Cyp51A, a été aussi retrouvée chez les isolats résistants. Par ailleurs, la substitution au niveau de Cyp51A, conduisant à l'apparition de la mutation F489L, a été aussi révélée chez les isolats hautement ou moyennement résistants de *P. teres f. maculata* (Mair *et al.*, 2019). Toutefois, chez *Ptm*, la mutation F489L résulte de l'un des trois SNPs observés au niveau du codon 489, alors que chez *Ptt*, la variation est unique (Mair *et al.*, 2016).

II. 5. 5. Stratégie de gestion de la résistance des champignons aux fongicides : Les stratégies de gestion des résistances aux fongicides visent à retarder l'évolution et la propagation des résistances au sein d'une population de pathogènes initialement sensibles, tout en assurant un contrôle efficace de la maladie (Hobbelen *et al.*, 2014). Le but n'est donc pas de gérer la résistance une fois qu'elle s'est développée, mais plutôt d'empêcher ou de retarder son

développement (Reddy, 2013).

Par ailleurs, l'étude de l'efficacité des fongicides et la surveillance permanente des résistances aux fongicides sont très importantes dans les stratégies de contrôle des maladies. En Australie, par exemple, un échec dans la lutte contre l'oïdium chez l'orge à l'aide d'IDM a entraîné des dommages économiques estimés à 100 millions AU \$ par an. Cette épidémie était la plus grave dans l'histoire de la résistance aux fongicides (Tucker *et al.*, 2015).

Dans le cas de la résistance dues aux mutations, l'augmentation des doses de fongicides utilisées n'aura aucun effet, car la structure de l'enzyme cible, devient fondamentalement différente (Latin, 2017). La lutte antifongique contre les maladies des plantes, doit donc être raisonnée afin d'assurer un équilibre sain entre les applications chimiques, la préservation de l'environnement, et la prévention d'apparition et de propagation des résistances aux fongicides.

La résistance aux fongicides tels que les QoIs, peut être contrôlée en limitant le nombre de leurs utilisations, et en respectant les doses préconisées aux champs (Reddy, 2013). Également, en les appliquant en mélange avec d'autres fongicides ou encore avec d'autres moyens de lutttes non-chimiques, telles que les variétés résistantes et la rotation (Reddy, 2013).

De même, il est recommandé d'utiliser les fongicides ISDHs au maximum en deux applications préventives par culture, le fongicide doit aussi être utilisé en mélange avec un fongicide d'un groupe différent (McKay *et al.*, 2011). Les applications à doses réduites, répétées de ces fongicides et leur utilisation lorsque la maladie est déjà bien établie, ne sont pas recommandées, en raison de l'accroissement du risque de sélection d'individus résistants dans les populations d'agents pathogènes (McKay *et al.*, 2011).

Enfin, la réduction de la pression de la maladie à travers des pratiques autres que chimiques, contribue à réduire les chances qu'une mutation conférant la résistance aux fongicides ne se produit (Reddy, 2013). Ceci est rendu possible grâce à la conservation d'une taille réduite de la population pathogène (Reddy, 2013).

III. MATERIEL ET METHODES

III. 1. Prospections et collecte des échantillons : La collecte des échantillons a été réalisée suite à des prospections menées dans toutes les régions céréalières algériennes où l'orge est cultivé ; est, centre et ouest du pays. Elle a touché 17 wilayas ; Aïn-Defla, Alger, Bouira, Médéa, Sétif, Tipaza, Constantine, Médéa, Tizi-Ouzou, Aïn-Témouchent, Sidi-Bel-Abbès, Blida, Béjaïa, Boumerdès, Tlemcen, Oum-El-Bouaghi et Biskra (Fig. 9). Les parcelles d'orge ont été visitées à partir du stade début épiaison ; un total de 58 parcelles a été ainsi prospecté dans 42 sites différents.

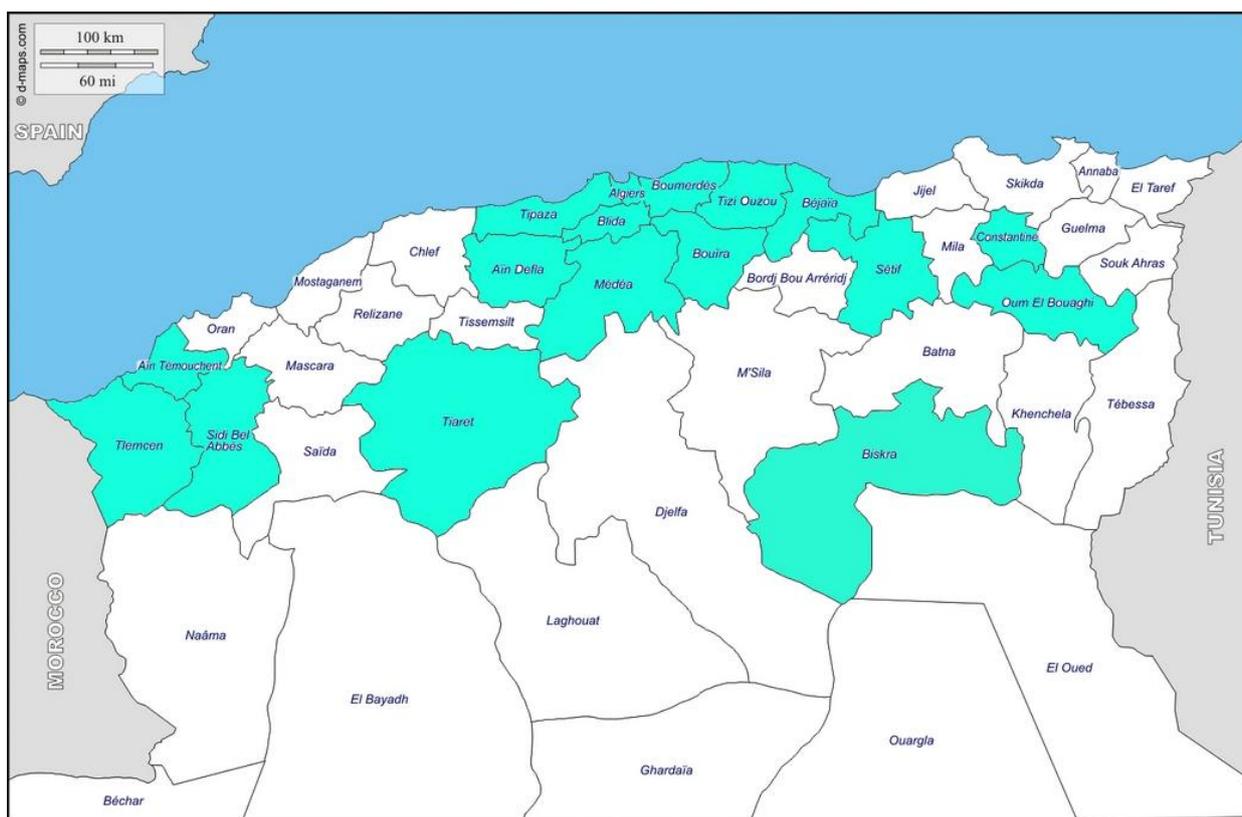


Figure 9 : Carte géographique mettant en évidence les régions céréalières prospectées.

Les feuilles d'orge montrant les symptômes de la rayure réticulée, ont été récoltées et rapportées au laboratoire afin d'isoler l'agent pathogène. Les symptômes pris en considération regroupent, les taches brunes en forme de bandes nécrotiques en réseaux, entourées par des chloroses et qui sont causées par la forme *Ptt*, ainsi que les lésions circulaires ou elliptiques de couleur brune accompagnées aussi par des chloroses et qui sont causées par la forme *Ptm*.

Après leur collecte, les feuilles infectées ont été soigneusement conservées dans des sachets de papier Kraft étiquetés, notant les dates et les zones des prélèvements. Elles ont été séchées à l'air libre puis conservées à 4 °C, jusqu'à leur utilisation pour l'isolement de l'agent pathogène.

III. 2. Techniques d'isolement et de conservation des isolats

III. 2. 1. Isolement monospore : Les feuilles d'orge ayant montrées des symptômes de la maladie, ont été découpées au niveau des lésions en fragments d'environ 1 cm de longueur. Ceux-ci, ont subi une désinfection à l'hypochlorite de sodium à 2 % pendant 5 minutes, suivit de trois lavages à l'eau distillée stérile pendant 5 minutes chacun.

Les fragments sont par la suite déposés dans des boites en verre stériles, contenant du papier Joseph humidifié à l'eau distillée stérile (servant de chambre humide). Ces dernières ont subi une alternance de lumière-obscurité (12 h /12 h), à 25 °C pendant 3-4 jours, afin d'induire la production de fructifications chez le champignon.

Après la sporulation confirmée de l'agent pathogène, l'espèce *P. teres* a été identifiée sur la base des caractères microscopiques observés des conidies, puis isolée. À cet effet, des cultures monospores ont été obtenues par prélèvement direct des conidies. Ces dernières sont prélevées individuellement à partir de la surface du végétal et déposées sur du milieu PDA (Pomme de terre 20 %, Glucose 2 %, Agar 2 %) (Annexe 1), contenu dans des boites de Petri de 9 cm.

Cette technique a été réalisée soigneusement sous une loupe binoculaire en milieu aseptique, en utilisant une pipette Pasteur stérile étirée. Les boites de Petriensemencées sont incubées à 20 °C à la lumière blanche jusqu'à ce que les colonies se développent.

III. 2. 2. Conservation des isolats : Après développement des colonies, un total de 212 isolats (Annexe 2. 1), ont été obtenus et conservés à -18 °C, sous forme de disques mycéliens desséchés, préalablement développés sur milieu gélosé. Ces derniers ont été obtenus à l'aide d'un emporte-pièce de 5 mm de diamètre, déposés dans des boites de Petri exposées semi-ouvertes, à un flux d'air stérile sous une hotte à flux laminaire pendant la nuit, jusqu'à dessèchement complet des disques. Les disques obtenus ont finalement été mis dans des tubes Eppendorf stériles étiquetés et conservés à -18 °C jusqu'à leur utilisation.

III. 3. Identification des deux formes du pathogène (*Ptt* et *Ptm*) par PCR

III. 3. 1 Obtention des cultures fongiques : Les isolats ont été cultivés sur du milieu PDA, à raison de 3 boites pour chaque isolat. Les boites ont été ensuite incubées à 25 °C pendant 7 jours, en obscurité totale jusqu'à obtention de colonies bien développées.

III. 3. 2. Extraction de l'ADN à partir du mycélium des différents isolats : Les ADN de 212 isolats de *P. teres* (Annexe 2. 1), ont été extraits à partir du mycélium en utilisant deux

méthodes distinctes. Dans un premier temps, les ADN(s) d'une centaine d'isolats ont été extraits par la méthode classique du phénol-chloroforme de Promrga, modifiée par Ouaar *et al.* (2017). Pour le reste de la collection, les extractions des ADN(s) ont été réalisées à l'aide du kit NucleoSpin® DNA Plant II, en utilisant le processus de la pompe à vide (MACHEREY-NAGEL), conformément aux instructions du fabricant.

III. 3. 2. 1. Extraction d'ADN par la méthode phénol-chloroforme modifiée

III. 3. 2. 1. 1. Protocole d'extraction : Le mycélium frais de chacun des isolats a été introduit dans un tube Eppendorf contenant une petite quantité de verre broyé, au préalable stérilisé par autoclavage, par la suite la masse fongique a été broyée par écrasement du mycélium manuellement à l'aide d'un micro-pillions. L'utilisation du verre broyé à cette étape permet un meilleur broyage et une libération plus efficace du contenu cellulaire.

Le contenu des tubes a été homogénéisé par un passage au vortex après l'addition de la solution de lyse (50 mM Tris-HCL pH=7,4, 50 mM EDTA, 3 % SDS, 2 % Protéinase K) (Annexe 3. 2) à raison de 600 µl/tube, puis incubé à 65 °C dans un bain Marie durant 15 minutes. Après la fin de l'incubation, 10 µl d'ARNase (1 µg/µl) ont été additionnés au lysat cellulaire et les échantillons ont été mélangés en inversant les tubes délicatement et incubés à 37 °C durant 15 minutes. Afin de faire précipiter les protéines, 200 µl de la solution de précipitation (Acétate de sodium 3 M) (Annexe 3. 3) ont été ajoutés au lysat et les tubes ont été mélangés en utilisant un vortex durant 20 secondes, puis centrifugés durant 10 minutes à 13000 g. Après centrifugation le surnageant a été récupéré dans un nouveau tube de 2 ml à l'aide d'une micropipette (P100), puis un volume égal d'une solution de chloroforme (50 :50) a été ajouté et le contenu des tubes délicatement mélangé, par inversion de ces derniers.

Les tubes ont été centrifugés à 13000 g pendant 10 minutes et le surnageant a été pipeté délicatement et transféré dans un nouveau tube de 1,5 ml, dans lequel 600 µl d'isopropanol froid ont été rajoutés pour précipiter l'ADN. Les tubes ont été par la suite inversés délicatement, afin d'homogénéiser le contenu, puis incubés à - 4 °C pendant 30 minutes. Puis le contenu des tubes a été centrifugé à 13000 g pendant 5 minutes, et le culot composé d'ADN a été récupéré. Deux lavages successifs de ce dernier ont été réalisés, par rajout de l'éthanol à 70 % à raison de 500 µl dans chaque tube, suivie de leur centrifugation pendant 5 minutes à 13000 g. Le surnageant est éliminé à chaque fois et l'ADN précipité dans le culot, est récupéré.

Les tubes ont été déposés ouverts sur du papier absorbant sur la pailleuse jusqu'à complète

évaporation de l'éthanol, reconnue à la disparition de l'odeur. Après séchage total de l'ADN, 50 µl de TE (Tris 10 mM, EDTA 1 mM, pH=8) (Annexe 3. 4), ont été ajoutés afin de diluer les échantillons d'ADN qui ont été enfin conservés à -18 °C, jusqu'à leur utilisation.

III. 3. 2. 1. 2. Evaluation qualitative et quantitative de l'ADN extrait

- a. Evaluation de la concentration des ADN extraits :** Les concentrations ont été déterminées par spectrophotométrie. À cet effet, 5 µl d'ADN ont été mélangés à 95 µl de tampon TE (Annexe 3. 4), avant la lecture des valeurs au spectrophotomètre.
- b. Evaluation de la qualité des ADN extraits :** Le rapport DO260/DO280 a été considéré ; les valeurs DO260/DO280 doivent être comprises entre 1,8 et 2, lorsqu'elles étaient en dehors de cet intervalle, certaines étapes d'extractions ont été reprises (traitement ARNase ou précipitations des protéines).

Par ailleurs, un test gel a été réalisé et le profil des ADNs a été ainsi analysé sur gel d'agarose à 0,8 %. Après avoir préparé le gel d'agarose, 3 µl de Bromure d'Ethidium/100 ml de gel, ont été ajoutés. Une fois le gel coulé et les ADNs déposés aux fonds des puits, leur migration a été effectuée dans une solution de TAE (2 M Tris, 0,05 M EDTA, 1 M acide acétique, pH=8) (Annexe 3. 5), à 90 volts durant 20 minutes. Enfin, les bandes ont été visualisées sous lumière ultraviolette, sur un écran d'ordinateur.

III. 3. 2. 2. Extraction d'ADN par le Kit NucleoSpin® DNA Plant II

Lors de l'utilisation du Kit NucleoSpin® DNA Plant II, environ 100 mg de tissu fongique ont été broyés en utilisant un broyeur de tissu (QIAGEN). Celui-ci permet de secouer vigoureusement les tubes contenant chacun, une bille d'acier stérilisée déposée au fond du tube, et le mycélium frais. Ce dernier a été préalablement congelé pendant 5 minutes dans de la neige carbonique. Le mycélium a été ainsi réduit en une poudre fine, parfaitement homogénéisée.

Après broyage, 400 µl de tampon de lyse (PL1, CTAB) (NucleoSpin® DNA Plant II) et 10 µl de RNase (12 mg /ml), ont été ajoutés aux lysats cellulaires. Les tubes ont été ensuite mélangés au vortex et incubés à 65 °C dans un thermo-mixeur pendant 30 minutes à 400 tours/minute. Après cela, les tubes ont été centrifugés à 11000 g pendant 5 minutes et les lysats clarifiés ont été recueillis, et mélangés avec 450 µl de tampon de liaison de (PC) (NucleoSpin® DNA Plant II) dans un bloc à puits carrés (Fig. 10).

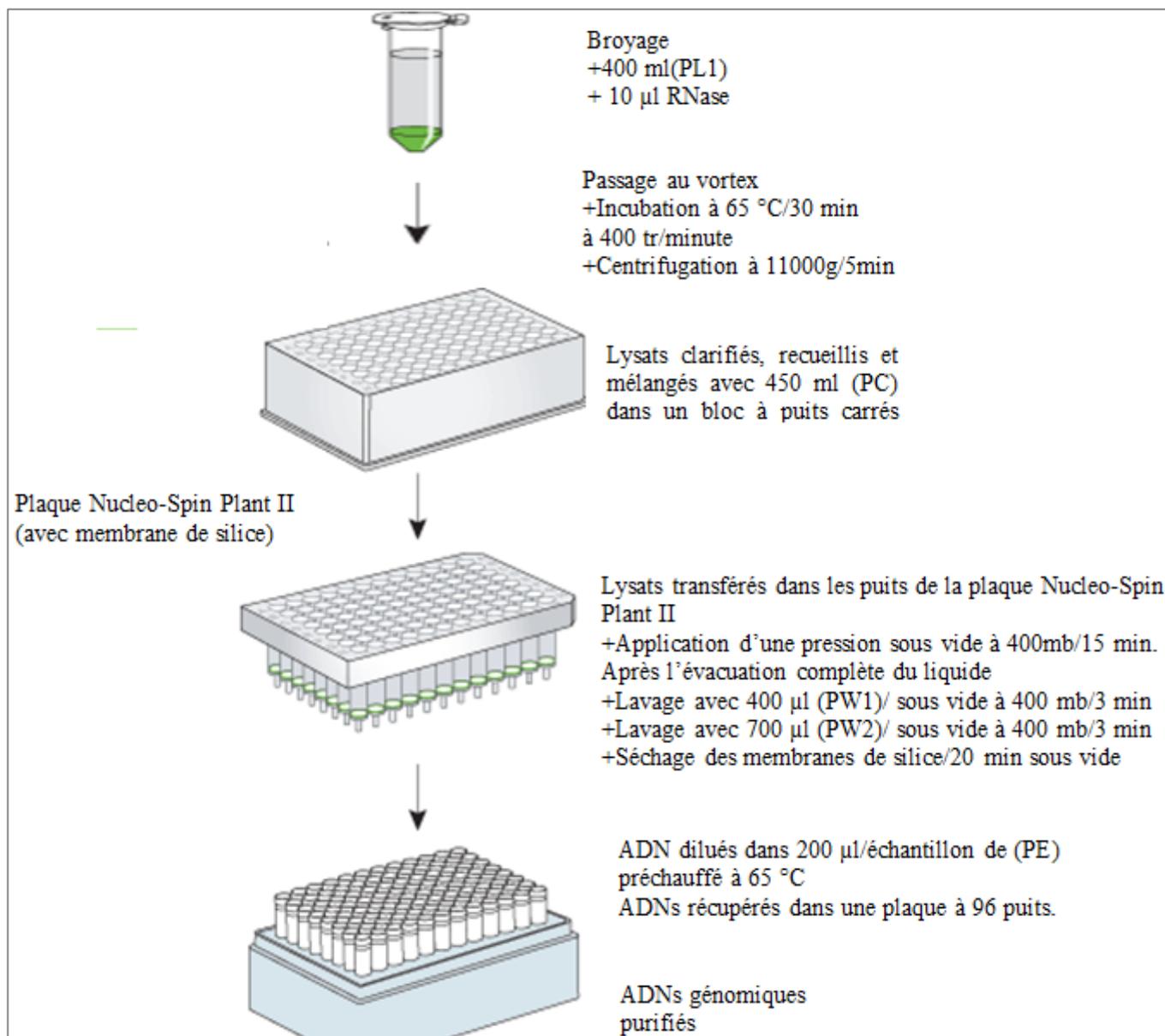


Figure 10 : Schéma explicatif des différentes étapes d'extraction d'ADN par le kit NucleoSpin® DNA Plant II.

Les lysats ont été transférés dans les puits de la plaque de liaison NucleoSpin® DNA Plant II (avec membrane de silice), préalablement insérée dans la colonne à vide. Pour permettre aux échantillons de passer à travers la membrane de silice, où l'ADN était piégé, une pression sous vide a été appliquée à 400 millibars pendant 15 minutes. Après l'évacuation complète du liquide, deux lavages, l'un en utilisant 400 µl du tampon de rinçage (PW1) (NucleoSpin® DNA Plant II), et l'autre en rajoutant 700 µl du tampon de rinçage (PW2) (NucleoSpin® DNA Plant II), ont été réalisés sous vide à 400 millibars pendant 3 minutes chacun. Les membranes de silice ont été ensuite complètement séchées pendant 20 minutes sous vide (Fig. 10).

Finalement, les ADN ont été dilués dans 200 µl de tampon d'éluion (PE, 5 mM Tris/HCl,

pH= 8,5) (NucleoSpin® DNA Plant II) préchauffé à 65 °C, et récupéré dans une plaque à 96 puits. La plaque a été placée sous la colonne à vide de manière à ce que chaque échantillon soit récupéré séparément dans l'un des puits (Fig. 10).

III. 3. 3. Amplification des ADN(s) par PCR : Dans le but de différencier les deux formes de *P. teres* au sein de la collection d'isolats, des PCR ont été réalisées en utilisant les deux paires d'amorces décrites par Williams *et al.* (2001) (Tab. II).

Tableau II : Séquences des deux paires d'amorces permettant la différenciation des deux formes de *P. teres*.

Forme recherchée	Codes des amorces	Séquences des amorces	Taille de la bande à amplifier
<i>P. teres f. teres</i>	PTT-F	CTCTGGCGAACCGTTC	378 bp
	PTT-R	ATGATGGAAAAGTAATTTGTA	
<i>P. teres f. maculata</i>	PTM-F	TGCTGAAGCGTAAGTTTC	411 bp
	PTM-R	ATGATGGAAAAGTAATTTGTG	

Les PCR multiplex ont été réalisées en utilisant deux méthodes distinctes ; la première était celle décrite par Williams *et al.* (2001), dans un volume réactionnel de 25 µl, dont les composants sont indiqués par le tableau III. A cet effet, 1µl d'ADN (50 ng/µl) a été ajouté.

Tableau III : Composition du mélange réactionnel utilisé lors des amplifications

Composant	Volume (µl)	Concentration finale
Eau	6	/
Tampon (X5)	5	1
dNTP (10 mM)	0,625	0,25 mM
Fw amorce (10 µmol/µl) (<i>Ptt</i>)	2,5	25 µmol
Rv amorce (10 µmol/µl) (<i>Ptt</i>)	2,5	25 µmol
Fw amorce (10 µmol/µl) (<i>Ptm</i>)	2,5	25 µmol
Rv amorce(10 µmol/µl)(<i>Ptm</i>)	2,5	25 µmol
Taq polymérase (2U/µl)	0,5	1 U
DNA (50 ng/µl)	1	50 ng

Les amplifications des régions ciblées ont été effectuées selon un programme de PCR par essais (Touchdown PCR), réalisée en 35 cycles. Les réactions comportaient une phase de dénaturation initiale à 94 °C pendant 1 minute, suivie de 10 cycles se composant chacun d'une dénaturation à 94 °C pendant 30 secondes, suivie d'une hybridation à 65 °C ; la température a été diminuée durant cette phase, d'un degré Celsius (-1 °C) à chaque cycle jusqu'à atteindre 56 °C. La phase d'extension a été effectuée à 72 °C pour 30 secondes. Les dix cycles ont été suivis par 25 autres, composés chacun par une phase de dénaturation à 94 °C pendant 30 secondes, une phase d'hybridation à 55 °C pendant 30 secondes, et autre d'extension à 72 °C pour 1 minute. Le programme a été finalisé par une élongation finale à 72 °C pendant 2 minutes.

Les ADNs de deux isolats identifiés comme étant *Ptt* et *Ptm*, fournis par Pr. Nasraoui B., INAT, Tunisie, étaient utilisés comme témoins positifs. Alors que l'eau distillée stérile a été utilisé comme témoin négatif.

La deuxième méthode utilisée consistait en une PCR simple, modifiée à partir de la première méthode (Touchdown). Les PCR ont été réalisées en utilisant la taq polymérase Maxima Hot Start (PCR Master Mix 2X), dans un volume réactionnel final de 25 µl dont les composants et leurs volumes respectifs sont indiqués dans le tableau IV.

Tableau IV : Mélange réactionnel utilisé lors des amplifications des gènes par PCRs simples volumes/échantillon.

Composant	Volume (µl)	Concentration finale
Eau	5	/
Amorce F 10 pmol/µl (<i>Ptt</i>)	1,25	12,5 pmol
Amorce R 10 pmol/µl (<i>Ptt</i>)	1,25	12,5 pmol
Amorce F 10 pmol/µl (<i>Ptm</i>)	1,25	12,5 pmol
Amorce R 10 pmol/µl (<i>Ptm</i>)	1,25	12,5 pmol
ADN (1-30 ng/ul)*	2,5	/

* Concentration obtenue via l'extraction par le kit NucleoSpin® DNA Plant II, selon (MACHEREY-NAGEL).

Les microplaques à 96 puits contenant les produits réactionnels ont été centrifugés pendant 10 secondes avant d'être introduits dans un thermocycleur (Thermal cycler, Mastercycler gradient, Eppendorf AG, Hamburg, Germany). Les conditions réactionnelles consistaient en une dénaturation initiale à 95° C pendant 4 minutes, suivie de 39 cycles, chacun composé d'une phase de dénaturation à 94° C pendant 15 secondes, une phase d'hybridation à 55 °C pendant

20 secondes et une phase d'élongation à 72 °C pendant 20 secondes. Les cycles étaient suivis d'une étape d'élongation finale à 72 °C pendant 5 minutes.

III. 3. 4. Visualisation des produits d'amplification : Les fragments amplifiés ont été visualisés par électrophorèse sur du gel agarose à 3 %. Celui-ci a été préparé à base de TAE (2 M Tris, 0,05 M EDTA, 1 M acide acétique, pH=8) (Annexe 3. 5), auquel le bromure d'Ethidium (3 µl/100 ml) a été ajouté. Les échantillons ont été mélangés avec du tampon de charge (5 µl du tampon/20 µl) puis déposés dans les puits du gel d'agarose, un des puits a été consacré au marqueur moléculaire (3 µl) et un autre pour le témoin négatif. La migration a été réalisée sous un courant de 90 volts dans du tampon TAE, jusqu'à l'arrivée du front de migration à 0,5-1 cm de l'extrémité du gel. Enfin, les fragments amplifiés ont été visualisés sous lumière ultraviolette.

Les poids moléculaires des différentes bandes amplifiées, ont été ensuite identifiés par comparaison avec le marqueur de poids moléculaire et les isolats ont été regroupés selon les deux formes du pathogène. La forme (*Ptt*) pour les isolats ayant présenté des bandes de 378 pb, et la forme (*Ptm*) pour les isolats ayant présenté des bandes de 411 pb.

III. 4. Caractérisation culturelle: Afin de vérifier l'existence d'une variabilité morphologique au sein de notre collection fongique, la caractérisation d'un nombre représentatif de 50 isolats, incluant (38 *Ptt* et 12 *Ptm*) et choisis en fonction des différentes localités prospectées, a été réalisée (Annexe 2. 2). Les isolats ont été cultivés dans du milieu PDA, jusqu'à obtention de colonies bien développées. Des disques de 6 mm de diamètre ont été ensuite prélevés à la périphérie des colonies et déposés au centre des boîtes de Petri contenant du milieu PDA, à raison de 3 répétitions pour chaque isolat. Les boîtes ont été incubées à 25 °C pendant 7 jours, en obscurité totale jusqu'à la fin des notations.

Les caractères étudiés incluent, la couleur des colonies (vert très foncé, foncé, clair, blanc), l'aspect du mycélium (cotonneux, pelucheux, aérien, ras), la diffusion de pigmentations dans le milieu de culture (orange, jaune), la formation des corémies, et la présence d'agréments du mycélium.

III. 5. Evaluation du pouvoir pathogène : L'agressivité, l'un des deux composants du pouvoir pathogène a été évaluée pour un nombre représentatif de 45 isolats (34 *Ptt* et 11 *Ptm*) choisis en fonction des différentes localités prospectées (Annexe 2. 2). L'agressivité combine les deux notions de fitness et de virulence, elle est souvent décomposée en plusieurs traits

élémentaires de nature quantitative (Pariaud *et al.*, 2009). Parmi ces derniers, ceux utilisés lors de nos travaux ; le taux de sporulation *in-vitro*, la sévérité de la maladie (Pariaud *et al.*, 2009), et par extension le taux de la croissance mycélienne qui est un paramètre facilement mesurable de la fitness du pathogène (Pringle et Taylor, 2002).

III. 5. 1. Evaluation du pouvoir de sporulation

a) Induction de la sporulation et préparation des suspensions de spores : Des fragments de 6 mm de diamètre ont été prélevés à partir de cultures âgées de 8 jours et transférés dans des boîtes de Petri contenant du V8-PDA (Pomme de terre 20 %, Glucose 20 g, Agar 20 g, CaCO₃ 3 g, Jus V8 150 ml (Annexe 1), Eau distillée qsp 1000 ml.) à raison de 3 répétitions par isolat. Après cela, les boîtes ont été incubées à l'obscurité pendant 5 jours à 20 °C, jusqu'à obtention de colonies d'environ 4 cm de diamètre. Les cultures ont été ensuite inondées par de l'eau distillée stérile et le mycélium est rabattu à l'aide du fond d'un tube à essai préalablement flambé à la flamme. Enfin, les boîtes ont été vidées de l'eau et exposées à la lumière blanche pendant 18 h à 20 °C, suivie de 24 h à l'obscurité à une température de 14 °C.

b) Dénombrement des spores : Afin de quantifier la production de spores pour chacun des 45 isolats (Annexe 2. 2), trois disques (6 mm de diamètre) ont été prélevés de chacun d'une répétition, à la périphérie des colonies et ont été mis chacun dans un tube Eppendorf contenant 1 ml d'eau distillée stérile. Après que les tubes aient été mélangés vigoureusement au vortex pendant 1 minute, 3 prélèvements d'un volume de 10 µl chacun, ont été prélevés de chaque tube et déposés séparément entre lames et lamelles, afin de procéder au comptage des spores. Ainsi, 9 dénombrements différents ont été réalisés pour chaque isolat. Le comptage a été réalisé, sous microscope optique à un grossissement de (G×100) à l'aide d'un compteur manuel ; pour ce faire, la totalité de la surface occupée par la goutte étalée entre la lame et la lamelle, a été observée allant du haut vers le bas et de droite vers la gauche. La production des spores a été estimée par le nombre de spores/ml/mm² de culture mycélienne.

III. 5. 2. Evaluation de la sévérité de la maladie : La sévérité de la maladie, est une variable composée, résultante d'autres traits de l'agressivité, qui sont les effets intégratifs de l'efficacité de l'infection et de la taille de lésion (Pringle et Taylor, 2002). Cette évaluation permet ainsi l'estimation de l'agressivité de l'isolat, basée sur la sévérité des symptômes induits sur l'hôte. L'estimation a été réalisée sur feuilles détachées selon le protocole de (El Mor *et al.*, 2018) qui ont démontré la corrélation hautement significative entre la réaction de la plante hôte au pathogène et celle des feuilles détachées.

a) Obtention du matériel végétal : En raison de l'utilisation importante en culture de la variété Saida, ainsi que de sa sensibilité à l'égard de la rayure réticulée reconnue, cette dernière a été choisie pour la réalisation de ce test. Le test a été effectué à l'égard de 45 isolats (Annexe 2. 2), choisis comme décrit auparavant.

Les graines provenant de la station de l'INRAA (Institut Nationale de la Recherche Agronomique d'Algérie) de Sétif, ont été utilisées pour l'obtention des plants d'orge au stade 2 feuilles. Le test a été effectué comme décrit par El Mor *et al.* (2018) avec quelques modifications. Les feuilles détachées à partir des plants d'orges, ont été placées dans les boîtes en verre à raison de 3 feuilles par boîte, 3 boîtes ont été préparées pour chaque isolat. Les boîtes utilisées, étaient des boîtes de Petri en verre de 20 cm de diamètre contenant deux couches de papier buvard (Fig. 11), au préalable stérilisées au four Pasteur à 120 °C durant 30 minutes. Avant le dépôt des feuilles d'orge le papier buvard a été humidifié par une solution d'eau distillée stérile additionnée de 0,004% de benzimidazole.



Figure 11 : Feuilles d'orge détachées et placées dans des boîtes de Petri en verre (20 cm de diamètre) contenant deux couches de papier buvard, stérilisées humidifiées par une solution d'eau distillée stérile additionnée de 0,004% de benzimidazole.

b) Préparation de l'inoculum : L'induction de la sporulation a été réalisée comme décrit au chapitre II. 5. 2. Après la fin des périodes d'incubation des cultures, les colonies ont été immergées d'eau distillée stérile (environ 10 ml) et les spores ont été délicatement détachées à l'aide d'une anse à ensemencement stérile. La suspension de spores a été ensuite filtrée à travers une compresse de gaze stérile et récupérée dans des tubes à essai de type FALCON de 50 ml stérilisés à l'autoclave. Enfin, la concentration de la suspension a été ajustée à 5000 spores/ml

(El Mor *et al.*, 2018).

c) Inoculation des plants : Après ajustement des concentrations et adition d'une goutte de Tween 20 à chaque tube, les suspensions ont été bien mélangées. Les feuilles ont été par la suite inoculées à l'aide d'un pulvérisateur manuel à raison de 10 ml d'inoculum/3 feuilles. Les boites ont été incubées dans une chambre de culture pendant 4 jours, à une température de 20-22 °C pendant la journée, et 16-18 °C la nuit sous une photopériode de 18 h.

d) Estimation de l'agressivité : Les réactions de la plante hôte ont été notés selon deux échelles différentes. La première allant de 1 à 10, correspondant respectivement à des réactions de résistance allant de résistant à très sensible, décrite par (Tekauz *et al.*, 1985) pour les isolats de la forme *Ptt* (Tab. V, Fig. 12A). La seconde allant de 1 à 9 et classant les isolats en résistants ou sensibles, décrite par (Tekauz *et al.*, 2011) pour la forme *Ptm* (Tab. V, Fig. 12B).

Tableau V : Échelles de notations utilisées lors de l'évaluation de la réaction des feuilles d'orge de la variété Saïda, aux deux formes de la maladie (Tekauz *et al.*, 1985 ; Tekauz *et al.*, 2011).

Échelle de notation de la réaction à la forme réticulée de la maladie										
Score	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Réaction	R	R-MR	MR	MR-MS	MR-MS	MR-MS	MS	MS-S	S	TS
Échelle de notation de la réaction à la forme circulaire de la maladie										
Score	1-2		3	5	7	8-9				
Réaction	R				S					

*R : résistant, MR : moyennement résistant, MS : moyennement sensible, S : sensible, TS : très sensible

Pour chacune des deux formes du pathogène, et en fonction du degré d'attaque noté, permettant de distinguer des réactions différentes chez la plante (Tekauz *et al.*, 1985 ; Tekauz *et al.*, 2011) (Tableau V), l'agressivité des isolats a été évaluée.

Ainsi, pour les isolats de la forme *Ptm* deux niveaux d'agressivité ont été mis en évidence ; lorsque la variété Saïda est considéré résistante (degré d'attaque entre 0 et 3), les isolats sont notés faiblement agressifs, si par contre la variété est retrouvée sensible (degré d'attaque entre

5 et 9), les isolats sont notés alors très agressifs. Dans le cas de la forme *P. teres f. teres*, trois niveaux d'agressivité ont été mis en valeur. Lorsque la variété Saïda s'est montrée résistante à moyennement résistante (degré d'attaque de 0 à 5), les isolats ont été considérés comme ayant une faible agressivité. Lorsque la variété Saïda est considérée possédant une résistance intermédiaire (degré d'attaque entre 5,1 et 8), les isolats ont été considérés comme moyennement agressifs. Enfin, si la variété Saïda était retrouvée sensible à très sensible (degré d'attaque supérieur à 8,1), les isolats ont été jugés très agressifs.

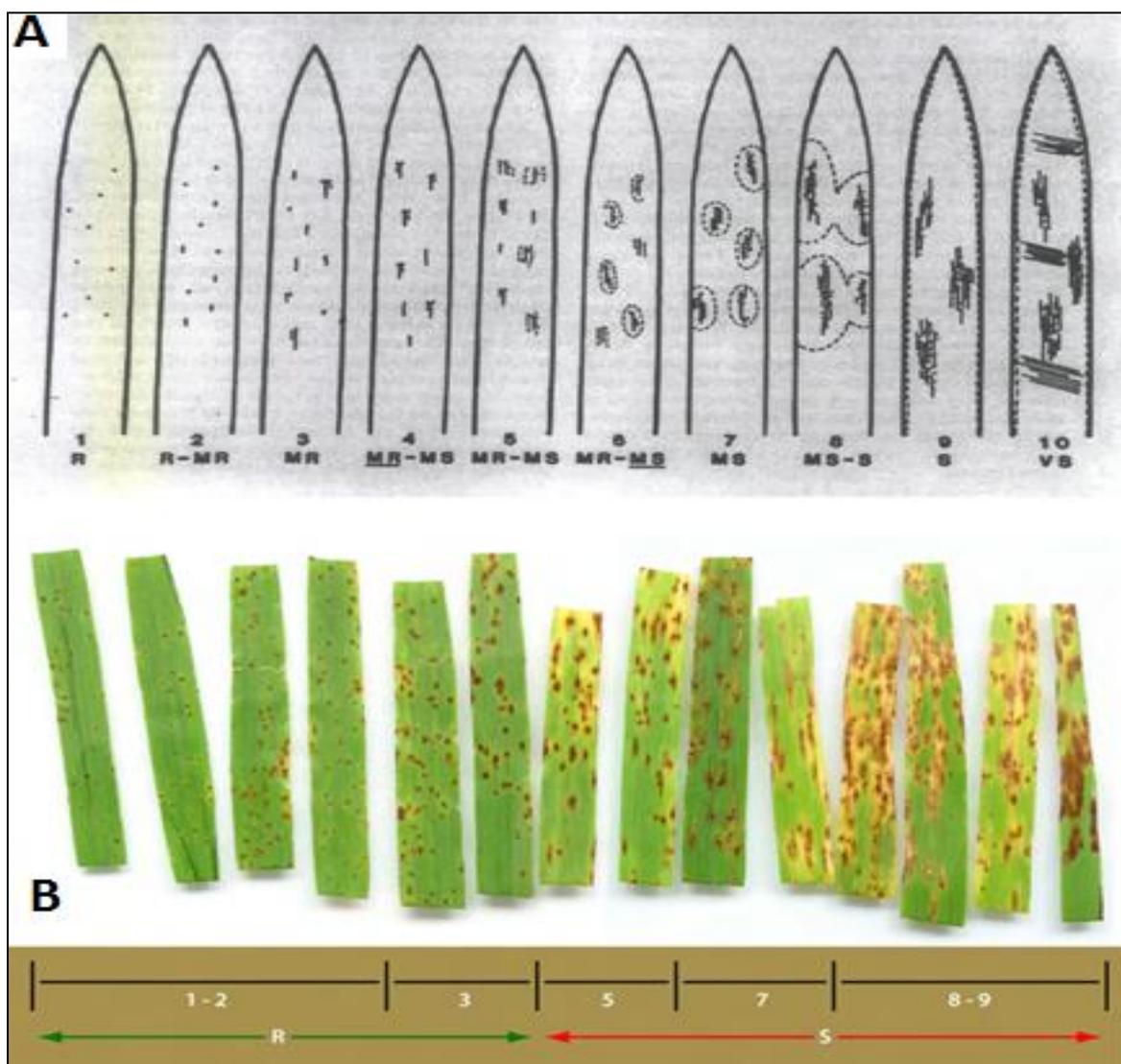


Figure 12 : Échelles numériques utilisées lors de l'estimation visuelle de la réaction de la plante à la maladie de la rayure réticulée de l'orge. A) Evaluation de la réaction à l'égard de *P. teres f. teres* selon Tekauz (1985). B) Evaluation de la réaction à l'égard de *P. teres f. maculata* selon Tekauz *et al.* (2011).

III. 5. 3. Evaluation de la vitesse de la croissance mycélienne : La croissance radiale de 50 isolats (Annexe 2. 2), a été déterminée sur milieu PDA, à 25 °C et à obscurité totale. À partir de chaque isolat monospore, un fragment de 6 mm a été prélevé à la périphérie des colonies et déposé au centre d'une boîte de Petri contenant le milieu de culture utilisé, 3 répétitions pour chaque isolat ont été réalisées. Les mesures quotidiennes de la croissance radiale des colonies ont été notées durant une semaine (mm/jour), à l'aide d'une loupe binoculaire étalonnée pendant les deux premiers jours et à l'œil nu pour le reste des mesures en utilisant une règle.

III. 6. Recherche des mutations conférant la résistance aux QoI et aux ISDH: Une analyse moléculaire par Pyroséquençage a été réalisée sur l'ensemble des isolats de la collection. L'objectif de cette dernière étant la recherche d'éventuelles mutations au niveau des gènes *cyt b* et *SDH* (Tab. VI), conférant la résistance aux groupes des Inhibiteurs Externes de la Quinone (QoI) et des Inhibiteurs de la Succinate Déshydrogénase (ISDH), chez les isolats de *P. teres*. À cet effet, le pyroséquençeur de type PSQ96MA (Qiagen) a été utilisé.

Tableau VI : Résistances, type de l'analyse utilisée, année et lieu de la première détection.

Groupe fongique	Risque de développement de résistance**	Analyse moléculaire/détection au champ	Mutation	Année et lieu de la première détection
QoI	Elevé	Moléculaire	Au niveau du gène codant pour le <i>Cyt b</i> : F129L (TTC--CTC/TTA) G137R (GGG--AGG)	2007 En Allemagne (Semar <i>et al.</i> , 2007)
ISDH	Moyen à élevé	Moléculaire	Au niveau des gènes codant pour les sous-unités B et C de l'enzyme SDH : B-H277Y (CAC—TAC) * C-N75S (AAC—AGC)* C-G79R (GGT—CGT)* C-S135R (CAC—CGC)* C-H134R(AGC—AGA(G))*	2012 2013 2013 2013 2013 En Europe (Rehfus <i>et al.</i> , 2016)
IDM	Moyen	Détection au champ	/	1985 En Nouvelle-Zélande (Sheridan <i>et al.</i> , 1985).

*(Codon de type sauvage--codon mutant) ** selon (FRAC, 2019a)

III. 6. 1. Obtention des cultures et extraction d'ADN : La méthode de culture des isolats lors de l'extraction des ADN a été décrite au chapitre II. 3. 2. 2. Les ADN de 212 isolats de *P. teres* ont été extraits à l'aide du kit NucleoSpin DNA Plant II (MACHEREY-NAGEL) en utilisant le processus de la pompe à vide.

III. 6. 2. Amplifications des ADN(s) par PCR : Afin d'amplifier les séquences des gènes concernées par les mutations ciblées (Tab. VI), des PCR ont été réalisées à l'aide d'un thermocycleur de la marque Peqlab VWR (modèle Peqstart × 96). Les réactions d'amplifications ont été induites dans des plaques de 96 puits, à raison de 25 µl de volume réactionnel final (Tab. VII) dans chaque puits. Les amplifications ont été réalisées à l'aide du kit Maxima Hot Start PCR Master Mix (Maxima Hot Start Taq DNA polymerase, tampon hot start PCR 2x, chaque dNTP 0,4 mM, Mg²⁺ 4 mM), et des couples d'amorces marqués à la biotine (Tab. VIII).

Tableau VII : Mélange réactionnel utilisé lors des amplifications des séquences des gènes concernées par les mutations ciblées.

Composant	Volume (µl)	Concentration finale
Eau	7,5	/
Maxima PCR Master-mix (2×)	12,5	1×
Amorce R* (10 pmol/µl)	1,25	12,5 pmol
Amorce F* (10 pmol/µl)	1,25	12,5 pmol
ADN (1-30 ng/ul)	2,5	/

*L'une des deux amorces est marquée à la biotine

Les plaques contenant les produits réactionnels, ont été centrifugés pendant 10 secondes avant de les introduire dans le thermocycleur. Les conditions réactionnelles consistaient en une dénaturation initiale à 95 °C pendant 4 minutes, suivie de 39 cycles chacun composé, d'une phase de dénaturation à 94 °C pendant 15 secondes, une phase d'hybridation à 55 °C pendant 20 secondes, et une phase d'élongation à 72 °C pendant 20 secondes. Les cycles étaient suivis d'une étape d'élongation finale à 72 °C, pendant 5 minutes. Deux répétitions ont été réalisées pour chaque isolat et pour chaque mutation.

Tableau VIII : Amorces utilisées pour l'amplification des parties de gènes ciblées et pour les réactions de pyroséquençage.

Nom d'amorces	Type de réactions	Séquence (5'-3')*
KES1845(Fw) KES1846(Rv)a	Amplification d'une partie du gène <i>sdh B</i>	ACAGGACGCCCTCAACAACAG ACTCTCCCTATTTGCCACGTGAT
KES1848(Fw) KES1849(Rv)a	Amplification d'une partie du gène <i>sdhC</i>	ATCTACAGGCCGCAAATCAC CCAAATGCCTCAATCCGTTAAG
KES2025(Fw)a KES2026(Rv)	Amplification d'une partie du gène <i>sdhC</i>	CTTAGACTTGCAGCAACTG ATACCGAAGAGGTAGAGAGAAC CG
KES432(Fw) KES433(Rv)a	Amplification d'une partie du gène <i>cyt b</i>	TCCTAACTTAAAAGGTTACACAA GGCTT AACCATTTTGGGCTATGTTGGTA
KES630(Fw)a KES631(Rv)	Amplification d'une partie du gène <i>cyt b</i>	GGCTGAAATGCTGCTTAATGT AATTTTCACCTCAAAGGCTCATT
KES1847(Fw)	Pyroséquençage B-H277Y	GAGCTTGTACCGATGC
KES1956(Fw)	Pyroséquençage C-N75S	TGGCCTCATCGCTCA
KES2027(Rv)	Pyroséquençage C-G79R	CGGAGAGAACGATAC
KES1851(Fw)	Pyroséquençage C-H134R et C-S135R	CGTTCCCCTTCTTCTTT
KES434(Fw)	Pyroséquençage F129L dans le <i>cyt b</i>	CGGAACTTAGACAGCC
KES 632(Fw)	Pyroséquençage G137R dans le <i>cytb</i>	CAAAGGCTCATTGTC

^a Extrémité 5' des amorces marquées avec de la biotine* Selon (FRAC, 2015 ; Rehfus *et al.*, 2016).

III. 6. 3. Recherche des mutations génétiques par Pyroséquençage : Le pyroséquençage est une méthode de séquençage d'ADN basée sur le principe du séquençage par synthèse. Il permet le séquençage en temps réel de 20 à 30 paires de bases et peut donc être utilisé pour la détection et la quantification des mutations. Quatre enzymes sont nécessaires dans une réaction de pyroséquençage ; le fragment de Klenow de l'ADN polymérase I, l'ATP sulfurylase, la luciférase et l'apyrase (Ahmadian *et al.*, 2006) . Le principe de cette technique consiste en la détection du pyrophosphate (PPi) libéré après chaque incorporation d'un dNTP au brin d'ADN. Le PPi est converti par l'ATP sulfurylase en ATP, qui sert de substrat à la luciférase émettant de la lumière détectable par un capteur CCD (Charge Coupled Device : systèmes de transfert de charges) (Petrosino *et al.*, 2009 ; Van der Torre *et al.*, 2020).

Le mélange réactionnel contient également les substrats enzymatiques, l'adénosine phosphosulfate (APS) et la D-luciférine, ainsi que la matrice de séquençage hybridée à l'amorce. La technique utilise une cascade de réactions enzymatiques débutant par une incorporation de nucléotides et se terminant par l'émission d'un signal lumineux détectable (Ahmadian *et al.*, 2006), les différentes étapes du pyroséquençage peuvent être synthétisées par la Figure 13.

Les réactions du pyroséquençage ont été réalisées sur des produits PCR marqués par de la biotine. La biotine joue un rôle important, en agissant comme étant un marqueur détectable par les conjugués fluorescents des streptavidine qui se lie spécifiquement aux biomolécules biotinylées (Fig.13).

Après leur refroidissement, les produits de PCR marqués à la biotine ont été immobilisés à l'aide des billes de Streptavidin Sepharose (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK) dissoutes dans du tampon de liaison (PyroMark, Qiagen, Hilden, Germany) comme indiqué dans le tableau IX. Ce dernier indique également la composition de la solution dans laquelle la réaction de pyroséquençage a été réalisée.

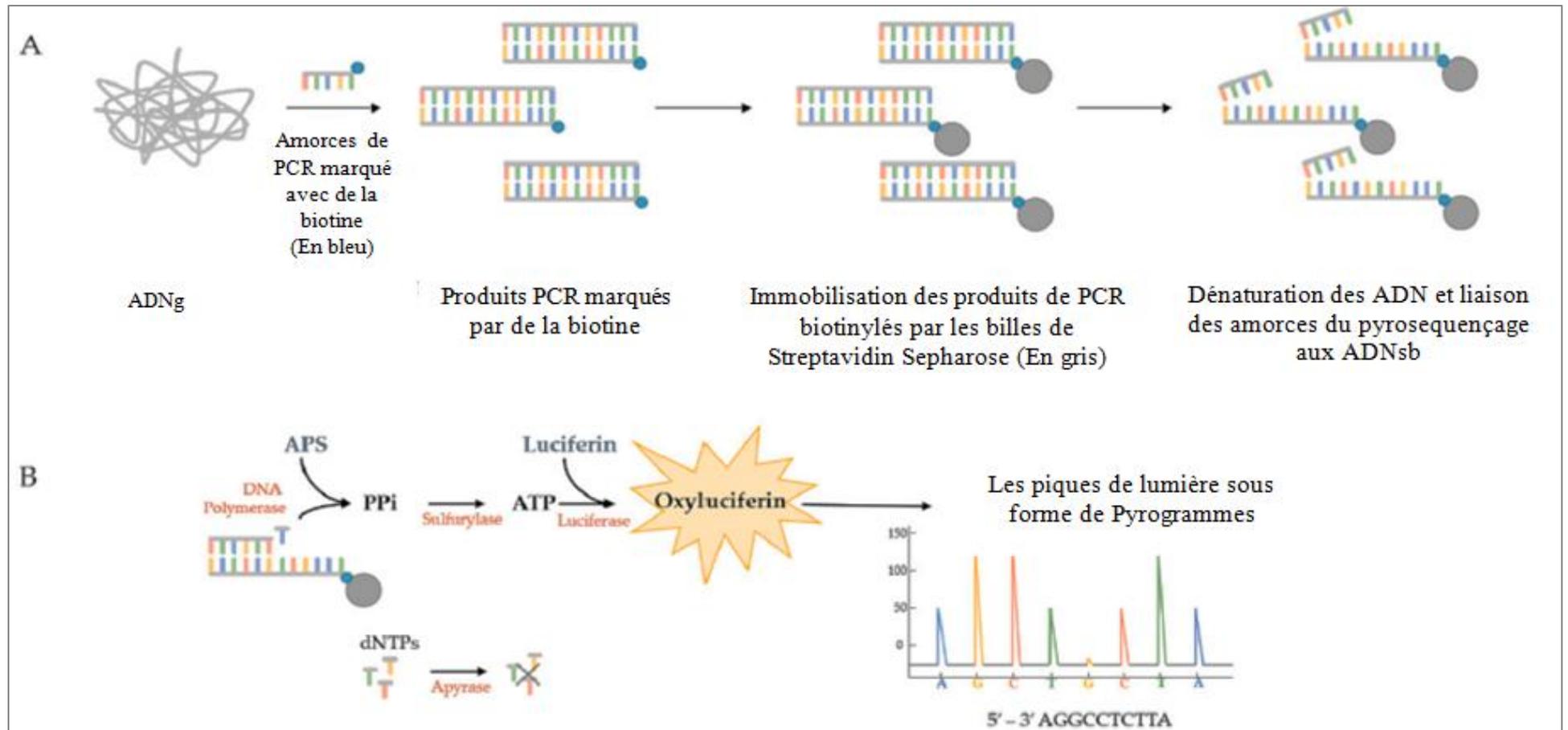


Figure 13: Schéma illustrant les étapes du pyrosequençage. A) Immobilisation des produits PCR biotinylés, par la Streptavidin Sepharose. B) Si le dNTP ajouté est complémentaire à la matrice il est incorporé par ADN-polymérase au brin d'ADN et un pyrophosphate (PPi) est libéré. Le PPi est converti par l'ATP sulfurylase en ATP. L'ATP sert de substrat à la luciférase émettant de la lumière détectable. Les nucléotides non-complémentaires en excès sont dégradés après chaque cycle par l'apyrase (Van der Torre *et al.*, 2020).

Tableau IX : Préparation de l'ADN amplifié pour les réactions du pyrosequençage.

Composant du mélange		Volume [μ L]
Immobilisation des produits PCR	Les produits PCR	25
	Tampon de liaison (Binding buffer)	37
	Streptavidin Sepharose	3
Préparation des solutions de pyrosequençage.	Tampon d'hybridation	38,75
	Amorces de séquençage	1,25

La plaque de PCR à 96 puits a été ensuite scellée et mise à agitation constante de 800 à 1000 tours/minute pendant 15 minutes à température ambiante, afin de permettre une meilleure liaison des produits de PCR biotinylés sur des billes de streptavidine.

À la fin de cette étape, l'ADN matrice de pyroséquençage simple brin a été préparé. La plaque PCR a été retirée de l'agitateur, après mise en marche de la pompe à vide les sondes de filtrage (PyroMark® Q96 Vacuum) (Fig. 14) ont été mises en contact avec les produits PCR liés à la streptavidine jusqu'à aspiration de la totalité de l'échantillon. Les complexes ADN biotinylé/streptavidine capturés par les sondes de filtrage était perçu par la formation d'un agrégat de poudre blanchâtre sur les sondes (Fig. 14). Les sondes ont été par la suite déplacées (avec les produits capturés) dans un bac de rinçage (Fig. 14) contenant de l'éthanol à 70 %, jusqu'à absorption totale du volume de la solution. Les mêmes étapes ont été réalisées pour le bac contenant la solution de dénaturation de l'hydroxyde de sodium (0,2 M NaOH, Qiagen, Hilden, Germany) et celui contenant le tampon de lavage (10 mM Tris-acetate, pH 7,6 ; Qiagen, Hilden, Germany).

Entre temps, une nouvelle plaque à 96 puits contenant 1,25 μ l de l'amorce de séquençage et 38,75 μ l du tampon d'hybridation (20 mM Tris-acetate, pH=7,6, and 2 mM Mg-acetate, PyroMark Annealing buffer, Qiagen, Hilden, Germany) dans chaque puits a été préparée (Tab. IX). Les séquences des amorces utilisées dans les réactions du pyroséquençage, et les parties des gènes à amplifier pour chaque mutation sont citées dans le tableau VIII.

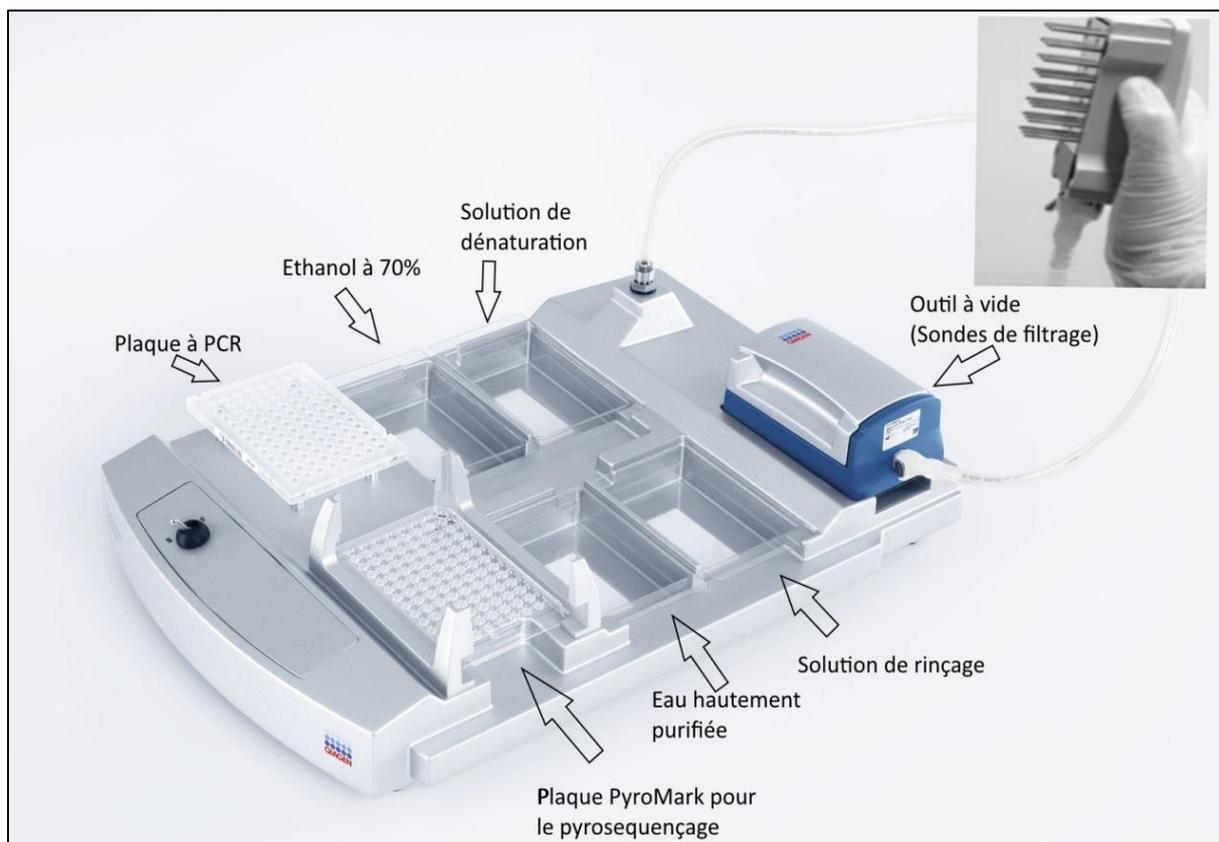


Figure 14: Illustration de l’outil à vide (aspirateur) avec les sondes de filtrage (PyroMark® Q96 Vacuum) et de la station de travail contenant les différents bacs de solutions (www.qiagen.com) (Modifiée).

L’outil à vide a été tenu à un angle de 90 °C et séché pendant quelques secondes, puis remis en position horizontale. Afin de récupérer la poudre blanche (représentant le complexe ADN monocaténaire/Streptavidine) dans les puits de la nouvelle plaque, les sondes de filtrage ont été placées en dessus des puits de la plaque du pyrosequençage de façon parallèle et sans que les extrémités des sondes ne touchent la solution, l’aspirateur a été ensuite éteint et la poudre blanchâtre récupérée en agitant l’outil à vide dans les puits contenant le tampon d’hybridation préparé à base de l’amorce de séquençage correspondante (Tab. IX).

Avant la réaction de pyroséquençage, la plaque contenant les ADNs monocaténaire a été chauffée à 80 °C pendant 2 minutes, pour prévenir la formation d’hélices. Les réactions de pyroséquençage ont été réalisées à l’aide d’un PSQ96MA (Qiagen, Hilden, Germany) en utilisant des réactifs PyroMark Gold Q96 (Qiagen, Hilden, Germany), suivant les indications décrites par les fabricants. Pour la validation des essais, un témoin négatif (sans ADN) et un témoin positif avec un isolat sensible, ont été utilisés.

Les paramètres de la machine du pyroséquençage ont été sélectionnés conformément aux instructions du fabricant en choisissant le programme adéquat pour le pathogène étudié et pour chaque mutation. La cartouche à réactifs a été ensuite chargée avec la quantité adéquate de chacun des réactifs PyroMark Gold Q96 (Les dNTP, mixte de substrat, mixte d'enzymes, PyroMark Gold Q96 Reagents, Qiagen, Hilden, Germany), ces quantités ont été calculées automatiquement et données par le logiciel (Pyrosequencing Assay Design (Version 1.0.6) Qiagen, Hilden, Germany). Ceci est réalisé selon le pathogène, le nombre d'échantillons et la mutation à étudier. Après avoir installé la cartouche avec précaution dans l'appareil PyroMark Q96MA, la plaque à 96 puits a été soigneusement placée dans l'appareil et le programme de pyroséquençage choisis a été mis en marche sur l'ordinateur.

III. 6. 4. Lecture des résultats : Des pyrogrammes ont été produits par le logiciel de Pyroséquençage (Pyrosequencing Assay Design, Version 1.0.6) pour chaque échantillon à la fin de l'analyse (Annexe 4). La lecture des résultats consiste en une comparaison des pics exprimant les modèles d'addition de nucléotides (échantillons analysés), à ceux des génotypes théoriques d'une séquence cible contenant la mutation d'intérêt, connue sous le nom de « séquence à analyser » (Sequence to analyse (QIAGEN, 2016) (Tab. VIII ; Tab. X). Cette séquence a été introduite au préalable dans le logiciel pour configurer l'essai de pyroséquençage.

Tableau X : Codons sauvages et mutés au niveau des séquences déterminant la réaction du champignon à l'égard du groupe fongicides pour chacune des mutations étudiées.

Groupe de fongicides	Mutations	Codon sauvage (non muté)	Codon muté*
ISDH	B-H277Y	CAC	TAC
	C-N75S	AAC	AGC
	C-G79R	GGT	CGT
	C-H134R	CAC	CGC
	C-S135R	AGC	AGA(G)
QoI	F129L	TTC	CTC/TTA/TTG
	G137R	GGG	AGG

*selon (FRAC, 2015 ; Rehfus, 2018).

La lecture des séquences nucléotidiques permet donc d'attribuer un génotype (non-mutant ou mutant) à chacun des isolats. Cette dernière se fait par traduction des pics et de leur hauteur, qui est proportionnelle au nombre des nucléotides identiques incorporés dans l'ADN en élongation (Fig. 15b). Dans le cas d'absence d'incorporation des nucléotides distribués, ceci est indiqué par une ligne verticale (Fig. 15a).

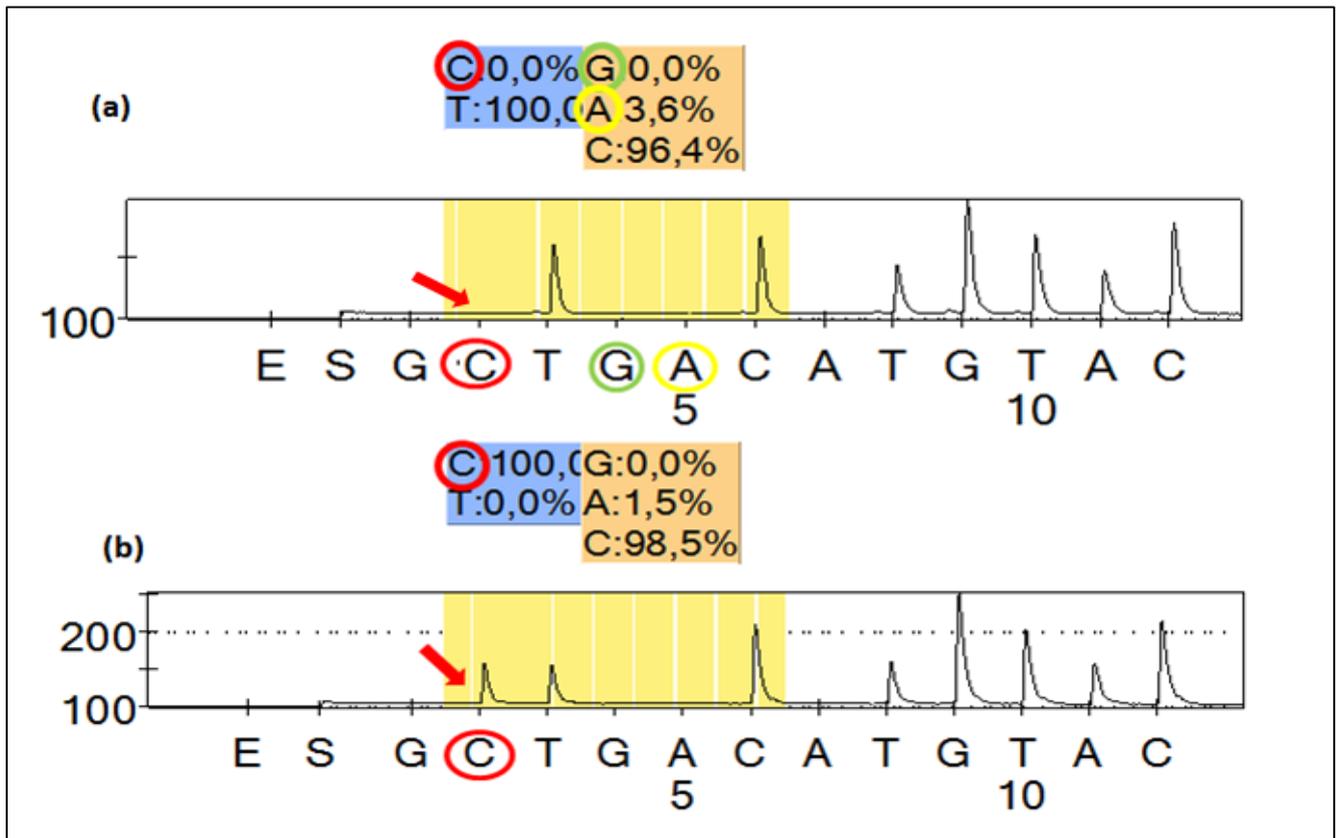


Figure 15 : Exemple d'un pyrogramme issu de l'analyse d'un isolat non-mutant (TTC) (a) et d'un isolat mutant (Codon : CTC) dans le cas de la mutation F129L (b) (FRAC, 2015- modifié).

III. 7. Evaluation *in vitro* de l'efficacité des fongicides par microtitration sur plaque :

Dans la présente étude, un essai *in vitro* sur des plaques de microtitration a été utilisé. Cette méthode est basée sur la mesure de la densité optique des tissus fongiques développés à différentes concentrations de fongicide dans les 96 puits. Cette mesure est suivie d'une comparaison de la croissance de chaque isolat et à chaque concentration, avec la croissance du même isolat dans des contrôles non-traités. Cette méthode semble être plus efficace par rapport à d'autres techniques conventionnelles, telle que la méthode de mesure de la croissance radiale sur gélose (Tremblay *et al.*, 2003).

La sensibilité de 45 isolats représentatifs de *P. tere* (34 *Ptt* et 11 *Ptm*) (Annexe 2. 2) a été testée en utilisant la technique de « microtiter plate » vis-à-vis d'une gamme de fongicides (azoxystrobine, pyraclostrobine, fluxapyroxad, propiconazole, epoxiconazole et tebuconazole) appartenant aux trois groupes chimiques ; QoI, ISDH et IDM.

Les tests ont été pratiqués selon FRAC (2017) (Fungicide Resistance Action Committee), tel indiqué sur le site du comité (www.frac.info/monitoring-methods) et correspondent aux méthodes de surveillance de BASF (2009). Les fongicides testés (Tab. X), sont déjà disponibles ou prochainement disponibles sur le marché algérien.

III. 7. 1. Culture des isolats et préparation de l'inoculum fongique : Un disque mycélien (d=5 cm) sur milieu PDA desséché antérieurement pour conservation, a été déposé sur un milieu PDA frais. Après développement des colonies (5 jours d'incubation à obscurité), les isolats ont été repiqués sur du milieu POA (10 % d'extrait de feuille d'arachide, 3 % de farine d'avoine, 4 % d'agar) (Annexe 1). Le milieu POA a été choisi pour sa capacité à provoquer une production de spores importante. Les cultures fongiques ont été incubées durant 12 jours ; en alternant 12 h à 18 °C et 12 h à 22 °C

Les conidies de chaque isolat de *P. teres* provenant des cultures âgées de 12 jours, ont été récupérées à l'aide d'une spatule de Drigalski et utilisées pour préparer une suspension de spores dans un milieu YBA doublement concentré (2 % d'extrait de levure, 2 % de Bacto Peptone, 4 % d'acétate de sodium) (Annexe 1). La suspension a été filtrée à travers une couche de gaze stérilisée et ajustée à une densité de 4×10^3 à l'aide d'hématimètres et d'un compteur manuel.

III. 7. 2. Choix et préparation des gammes de fongicides : Les six produits formulés appartenant aux familles chimiques QoI, ISDH et IDM, ont été dissous dans de l'eau désionisée stérile pour la préparation des solutions mères et des différentes dilutions (Tab. XI). Celles-ci ont été par la suite mélangées à des suspensions de spores. La préparation des différentes solutions fongiques testées est indiquée dans le tableau XII.

Tableau XI: Ingrédients actifs, classes des fongicides, code de la formulation, fabricant et concentrations utilisées pour chaque fongicide dans le test de microtitration sur plaque *in-vitro*

Classe*	Fongicides	Code de la formulation	Entreprise*	Formulation	Concentrations (ppm: mg L ⁻¹)
IDM	Propiconazole	BAS 9075 0F	Syngenta	Tilt®, 250 SC	0,03-0,1-0,3-1-3-10-30
	Tebuconazole	BAS 9126 4F	Bayer	Folicur®, 250 EW	0,03-0,1-0,3-1-3-10-30
	Epoxiconazole	BAS 9164 1F	BASF	Opus®, 125 SC	0,001-0,03-0,1-0,3-1-3-10
QoI	Azoxystrobine	BAS 500 13F	Syngenta	Amistar®, 250 SC	0,003-0,01-0,03-0,1-0,3-1-3
	Pyraclostrobin	SC 480 35F	BASF	Cabrio®, 250 EC	0,001-0,003-0,01-0,03-0,1-0,3
ISDH	Fluxapyroxad	BAS 700 01F	BASF	Imtrex®, 62,5 EC	0,003-0,01-0,03-0,1-0,3-1-3

* selon ACTA (Association de coordination technique agricole, 2017).

Tableau XII : Préparation de la série de dilutions des différents fongicides.

Dilution (concentration dans la solution fongicide diluée [mg L ⁻¹])	Concentration finale dans la plaque à microtitration [mg L ⁻¹]
9,8 mL eau + 0,2 ml 10.000 mg L ⁻¹ solution (200)	100
7 mL eau+ 3 ml 200 mg L ⁻¹ solution (60)	30
9 mL eau + 1 ml 200 mg L ⁻¹ solution (20)	10
9 mL eau + 1 ml 60 mg L ⁻¹ solution (6)	3
9 mL eau+ 1 ml 20 mg L ⁻¹ solution (2)	1
9 mL eau + 1 ml 6 mg L ⁻¹ solution (0,6)	0,3
9 mL eau + 1 ml 2 mg L ⁻¹ solution (0,2)	0,1
9 mL eau+ 1 ml 0,6 mg L ⁻¹ solution (0,06)	0,03
9 mL eau + 1 ml 0,2 mg L ⁻¹ solution (0,02)	0,01
9 mL eau + 1 ml 0,6 mg L ⁻¹ solution (0,006)	0,003

III. 7. 3. Test d'efficacité des fongicides en Microplaques de dosage : Dans chaque plaque à 96 alvéoles, deux isolats de *P. teres* ont été testés contre les différents traitements (fongicide x concentrations) en quatre répétitions. Dans chaque plaque, un témoin négatif sans spores a été utilisé également quatre fois (Fig. 16). Le test a été réalisé en mélangeant 50 μ L de fongicides dilué avec 50 μ L de suspension de spores ou de milieu sans spores (témoin négatif). Des isolats comportant des mutations conférant la résistance aux fongicides du groupe QoI et ISHD, un isolat précédemment décrit comme ayant une sensibilité réduite aux IDMs (Tab. XIII), ainsi que des isolats sensibles d'origine européenne, ont été utilisés comme témoins.

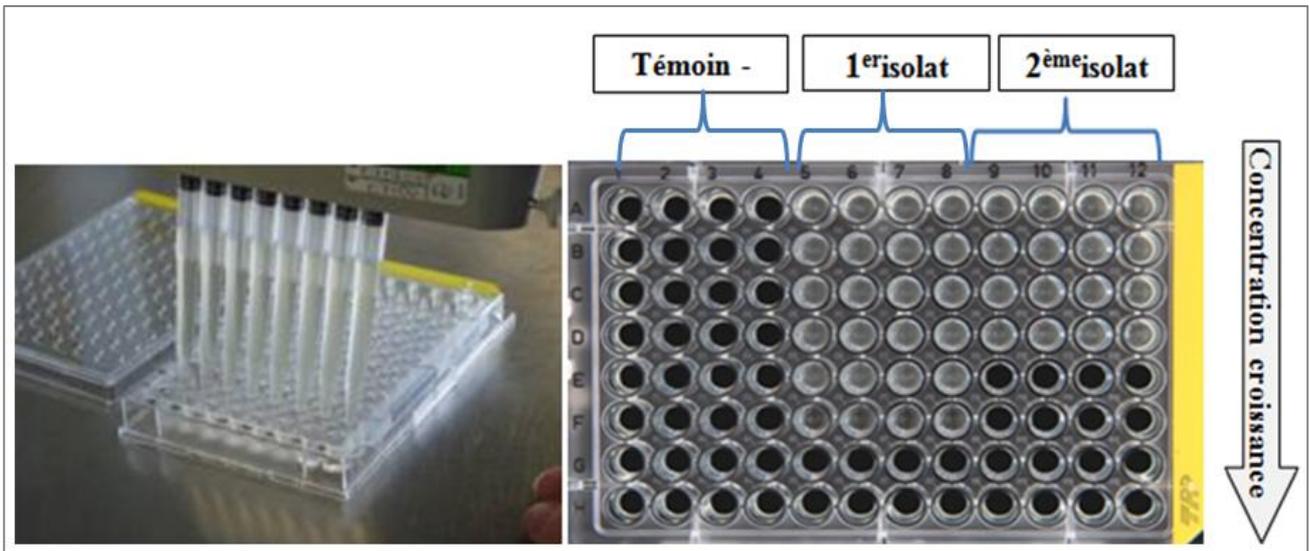


Figure 16 : Exemple d'un test fongicide sur plaque de microtitration, aucun fongicide n'a été appliqué dans la rangée A. La concentration du fongicide augmente de la rangé B jusqu'à la rangé H. Les colonnes de 1 à 4 représentent les témoins négatifs non inoculés. Les colonnes 5 à 8 (1^{er} isolat) et de 9 à 12 (2^{ème} isolat), ont été inoculées avec le même nombre de spores dans chaque puits.

III. 7. 4. Incubation des plaques et lecture des résultats : Les plaques ont été incubées à 18 °C en obscurité. Cinq jours plus tard, la croissance a été mesurée en utilisant un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 405 nm. Les valeurs ont été corrigées par comparaison avec les blancs. Puis, les valeurs de la CE₅₀ (concentration permettant 50 % d'inhibition de la croissance du champignon par rapport au témoin non traité) ont été déterminées par analyse de probit. À cet effet, le logiciel ELN de BASF a été utilisé. Les valeurs obtenues ont été enfin comparées avec celles observées chez les isolats sensibles ou résistants (mutants) utilisés comme témoins.

Tableau XIII : Isolats utilisés comme témoins (sensibles/résistants) pour le test *in-vitro*.

Témoins résistants			Témoins sensibles		
Isolat	Provenance	Groupe chimique	Isolat	Provenance	Groupe chimique
Pt1685 (F129L)	Allemagne, 2012	QoIs	Pt1844	Allemagne 2015	QoIs, ISDHs et IDMs
Pt1669 (F129L+G79R)	Allemagne, 2012	QoIs et ISDHs			
Pt1900 (G79R)	Entre Paris et Reims (FRANCE), 2015	ISDHs	Pt1755	Royaume-Uni, 2015	QoIs, ISDHs et IDMs
Pt1923(C-N75S)	Entre St. Menehould et Metz-Saarbrücken (DFR) 2015	ISDHs			
Pt1635	Cork, Moorepark (IE) 2010	Sensibilité réduite aux IDMs	Pt1022	Swansea (Royaume-Uni) 1998	QoIs, ISDHs et IDMs

III. 8. Evaluation *in planta* de l'efficacité des fongicides sous serre en conditions contrôlées : La sensibilité de deux isolats de *P. teres* (Pt142, Pt157) a été testée *in-planta* vis-à-vis de trois fongicides ; azoxystrobine (QoI), fluxapyroxad (ISDH) et epoxiconazole (IDM) (Tab. XV). Trois isolats résistants comportant les deux mutations (F129L et/ou G79R) ainsi que trois isolats de types sauvages ont été utilisés comme témoins (Tab. XIV).

Tableau XIV : Isolats provenant d'Europe utilisés comme témoins (sensibles/résistants) pour le test *in- vivo*.

Témoins résistants		Témoins sensibles	
Isolat	Groupe chimique	Isolat	Groupe chimique
Pt1900 (G79R)	ISDHs	Pt1830	QoIs, ISDHs et IDMs
Pt1685 (F129L)	QoIs	Pt1746	Pas de mutation (Sensible)
Pt1669 (F129L+G79R)	QoIs et ISDHs	Pt1804	QoIs, ISDHs et IDMs

III. 8. 1. Obtention des plants d'orge : Le cultivar d'orge « Astrid », sensible à *P. teres* a été cultivé, à raison de 10 plants par pot (10 cm × 10 cm), 7 jours avant l'application des fongicides. Les semis ont été disposés sous serre à 19 °C, soumis à une photopériode de 16 h.

Les plants d'orge obtenus (Fig. 17), ont été utilisés au stade BBCH 11, première feuille étalée (Hack *et al.*, 1992).

III. 8. 2. Obtention des suspensions de spores : La production des spores a été réalisée comme décrit au chapitre II. 7. 1., à partir de 2-3 boîtes de Petri par isolat. Toutefois, les isolats à plus faible potentiel de sporulation ont été transférés dans 10 boîtes de POA. Après avoir été raclées à l'aide d'une spatule de Drigalski, les cultures ont été rincées moyennant un milieu liquide à base de malt et de gélatine (0,25 % de malt, 0, 25% de gélatine) (Annexe 1). Les suspensions ont été par la suite filtrées à l'aide de deux couches de gaze stérilisées et ajustées à une concentration finale de $(1-2) \times 10^4$ spores mL⁻¹.



Figure 17 : Plants d'orge au stade BBCH 11, utilisés lors des tests *in planta*.

III. 8. 3. Choix et préparation des gammes de fongicides : La sensibilité des isolats Pt142 et Pt157, a été testée vis-à-vis de trois fongicides (azoxystrobine, epoxiconazole, fluxapyroxad), *in planta*. Les composés fongicides testés et leurs trois concentrations indiquées dans le tableau XV, ont été préparés soigneusement au préalable. Les dilutions des produits formulés ont été effectuées dans de l'eau.

Tableau XV : Fongicides, modes d'action et concentrations utilisés pour le test *in-planta* sous serre.

Fongicides (mode d'action)	Famille de fongicides	Concentrations
Azoxystrobine (systémique et translaminaire)	QoI	28/83/250 (g m.a./ha)
Epoxiconazole (systémique)	IDM	14/42/125 (g m.a./ha)
Fluxapyroxad (systémique locale/ translaminaire)	ISDH	14/42/125 (g m.a./ha)

III. 8. 4. Traitement fongicide des plants d'orge : Un jour avant l'inoculation des plants, les différents traitements ont été appliqués en préventif. Les fongicides et les concentrations utilisées pour chacun d'eux, sont listés dans le tableau XV. Au maximum, 16 pots ont été traités à la fois au sein d'une chambre de pulvérisation (SPK011, BASF SE, Ludwigshafen, Germany) avec 100 ml de solution fongicide, à l'aide de buses à jet plat à un débit d'application de 400 L/ha. Pour chaque traitement fongicide et chaque dose, trois pots (répétitions) ont été pulvérisés. À la fin des traitements, les plants ont été placés dans une chambre de culture, à 19 °C et une humidité de 50 %, pendant une nuit.

III. 8. 5. Inoculation des plants : Les plants à inoculer ont été préalablement séparés par groupes distincts, destinés à l'inoculation par chaque isolat (un isolat inoculé par chariot de serre). L'inoculation a été réalisée pour chaque isolat à part, à l'aide d'un pulvérisateur manuel à pression (Taille de la buse : 0,8 mm) ce dernier contenait les suspensions de spores préparées à des volumes suffisants, pour assurer 2 ml de suspension pour un pot contenant 10 plantules. Lors de l'inoculation, les plants à inoculer ont été placés sur une toison humide recouverte d'une feuille semi-perméable. On note que trois répétitions de témoins négatifs (non-traités) ont été utilisés pour chaque fongicides.

La pulvérisation des plants par les suspensions de spores a été réalisée de façon homogène touchant tous les côtés des plants. Des plants en trois répétitions par traitement, ont été installés selon un plan expérimental entièrement aléatoire. Afin d'éviter le ruissellement des spores, les plants inoculés ont été protégés par des bordures et des couvercles en plastique transparents et ont été ensuite conservées dans une chambre humide pendant les deux premiers jours, à 22 °C et 88 % d'humidité. À la fin de cette période, la protection a été retirée et l'incubation des plants a été poursuivie à 20 °C, sous une photopériode de 16 h, jusqu'à apparition des symptômes.

III. 8. 6. Estimation du pourcentage de la maladie : Cinq jours après l'inoculation, la surface foliaire infectée a été évaluée par une estimation visuelle (en %) par rapport à la surface foliaire totale. Les valeurs d'inhibition ont été ensuite calculées par le logiciel ELN de BASF, selon la méthode d'Abbott (1925) à travers laquelle :

$$\text{Le pourcentage d'efficacité} = [(\% \text{ INT} - \% \text{ IT}) / \% \text{ INT}] \times 100.$$

Où : % INT = % infection dans les plants non traités et % IT= infection dans les plants traités.

III. 9. Analyses statistiques : Les données recueillies ont subi différentes analyses statistiques, choisies à chaque fois en fonction de la nature des données et de l'objectif poursuivi. Les tests statistiques ont été effectués à l'aide du logiciel SPSS (IBM SPSS Statistics 23.0) avec $\alpha = 0,05$.

Ainsi, le test de Kruskal-Wallis (Kruskal et Wallis, 1952) a été réalisé afin de comparer les valeurs du pouvoir de sporulation, du degré d'attaque et de la croissance mycélienne, notées pour chacun des isolats. De même, l'existence éventuelle d'une différence entre les deux formes du pathogène (*Ptt* et *Ptm*), quant aux deux paramètres (pouvoir de sporulation et croissance mycélienne), a été vérifiée grâce au test de Mann-Whitney (Mann et Whitney, 1947).

Les valeurs obtenues suite à l'évaluation de l'agressivité par les trois traits étudiés ; pouvoir de sporulation, degré d'attaque et croissance mycélienne, ont fait l'objet d'une analyse de corrélation à l'aide du test Rho de Spearman (non-paramétrique). Cette analyse a été réalisée pour chacune des deux formes du pathogène séparément.

Par ailleurs et afin de classer les isolats en fonction de leur sensibilité à chaque fongicide, un test de classification k-means (nuées dynamiques) (MacQueen, 1967) a été effectué sur les valeurs moyennes de la CE_{50} . Les groupes ont été choisis pour maximiser les différences entre les observations des différents groupes. La qualité de la classification a été vérifiée par une évaluation du coefficient de détermination R^2 et de la valeur F ($F = (R^2 / k - 1) / ((1 - R^2) / n - k)$). Une bonne classification est supposée lorsque R^2 est le plus proche de 1 et la valeur de F le plus haut possible (Tuffery, 2012).

En fin, le test bilatéral (T-test) a été utilisé pour comparer les valeurs de CE_{50} obtenues chez les isolats de *Ptt*, par rapport à ceux enregistrées chez *Ptm*. L'analyse a été menée pour chacun des six fongicides testés.

IV. Résultats et discussion

IV. 1. Identification symptomatologique des deux formes et construction de la collection : Les prospections effectuées dans les différentes zones céréalières du pays, durant les campagnes agricoles 2015/2016 et 2016/2017, ont montré que la maladie était présente dans toutes les régions prospectées. Elles ont également permis de réaliser une première identification des deux formes de la rayure réticulée de l'orge. Cette identification a été basée sur l'observation des deux symptômes typiques, causés par *P. teres* f. *teres* et *P. teres* f. *maculata*. Les deux principaux types de symptômes pris en considération regroupaient, en premier les taches en forme de bandes nécrotiques longitudinales ou transversales, se développant de part et d'autres suivant les nervures des feuilles et étant entourées par des chloroses. Les observations réalisées dans les champs infectés par la maladie, ont montré que la formation de ces taches donnait un aspect de réseaux, très typique dans le cas de la forme *P. teres* f. *teres* (Fig. 18). Le second type de symptômes rencontré dans les champs prospectés, se manifestait par des lésions de forme circulaire, elliptique ou allongée et de couleur brune, entourées par des chloroses bien délimitées. Ces symptômes sont ceux exprimés par la plante hôte dans le cas d'une infection par *P. teres* f. *maculata* (Fig. 18).

Cette investigation préliminaire au champ, basée uniquement sur un diagnostic symptomatologique, a mis en évidence la prépondérance des symptômes causée par *Ptt* (Tab. XVII, Fig. 19) qui ont été observés dans toutes les zones prospectées (Fig. 9). A l'opposé, les symptômes typiques causés par *Ptm* (Fig. 19) ont été moins fréquents et rencontrés uniquement dans quatre régions du pays (Aïn-Defla, Alger, Boumerdès et Bouira (Tab. XVII).

L'espèce *Pyrenophora teres* a été confirmée par la suite au laboratoire grâce aux caractéristiques des conidies. Celles-ci sont de couleur marron clair (verdâtre), de forme cylindrique, droite et arrondie aux deux extrémités. Les conidies présentaient des cloisons transversales dont le nombre était généralement de 2 à 5 et la germination pouvait se produire à partir de n'importe quelle cellule de la conidie (Fig. 19). Après isolement et identification du pathogène, une collection de 212 isolats de l'agent causal *P. teres* a été conçue.

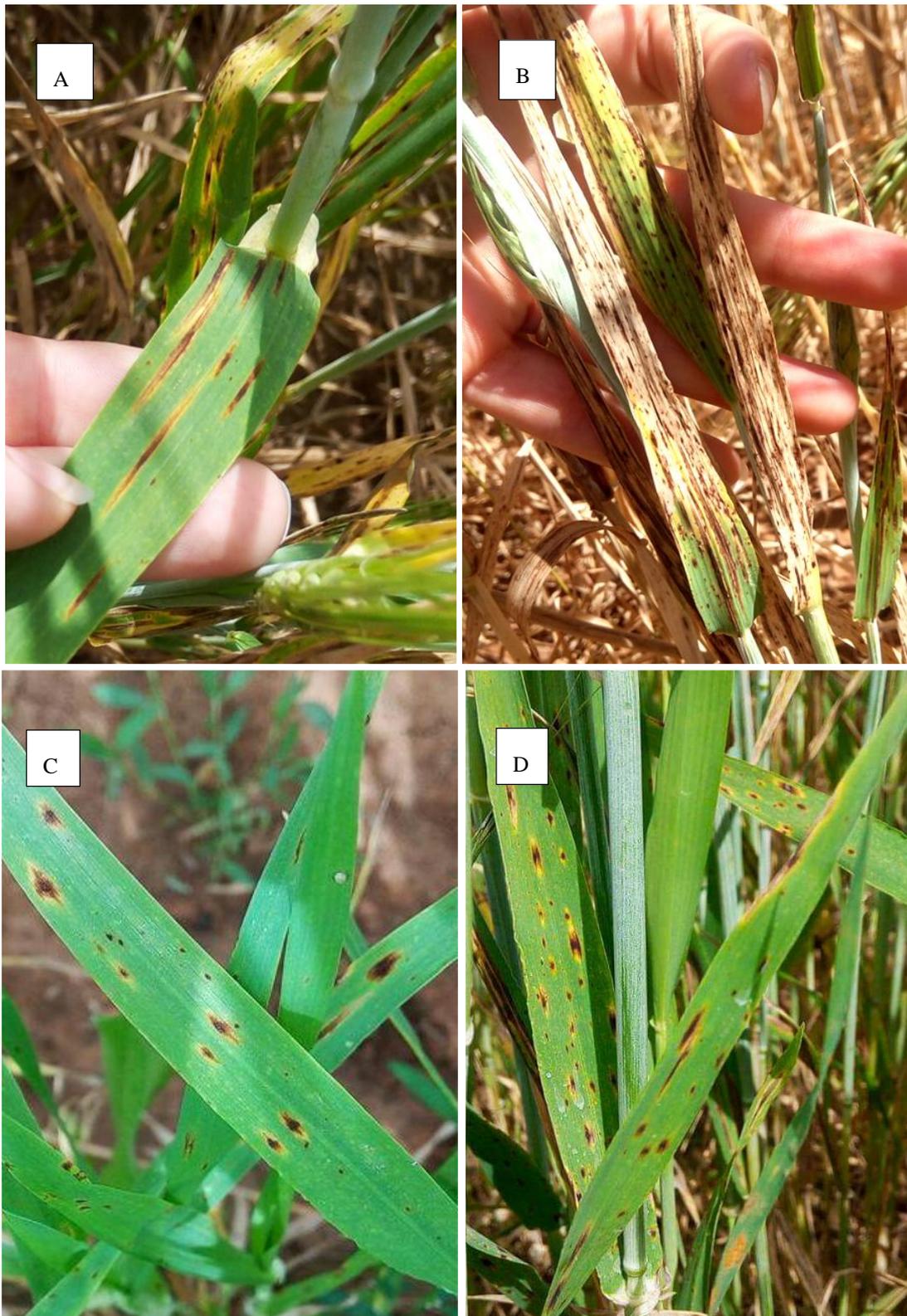


Figure 18 : Symptômes de la rayure réticulée observés sur culture d’orge. (A, B) Symptômes en réseau sur feuilles d’orge provoqués par la forme *Ptt*. (C, D) Symptômes en taches brunes sur feuilles d’orge provoqués par la forme *Ptm*.

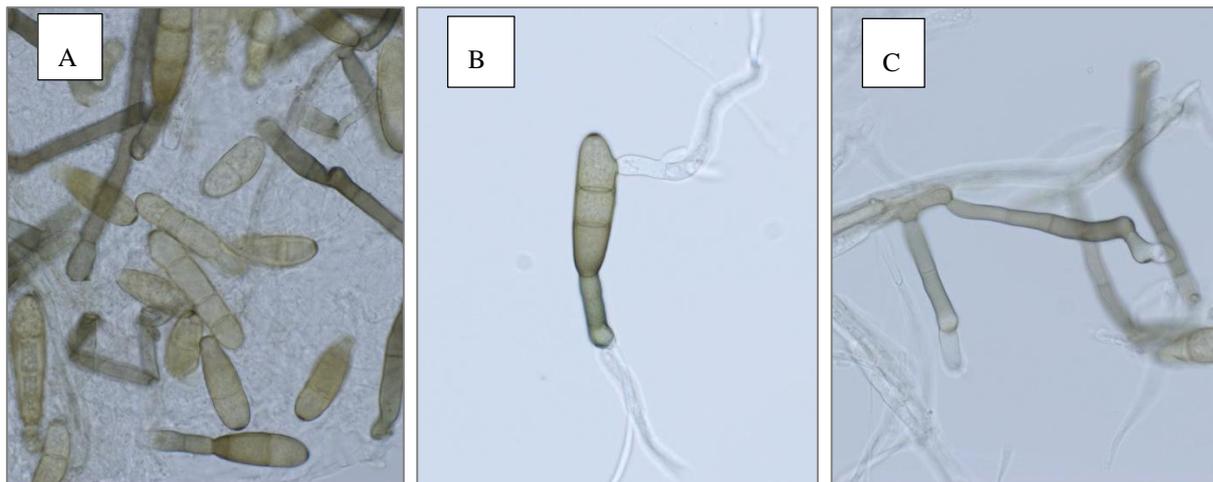


Figure 19 : Conidies et conidiopore de *Drechslera teres* (Anamorphe de *Pyrenophora teres*), a) Conidies, b) Conidie en germination c) Conidiopore (GX400 (4cm=50µm)).

IV. 2. Identification moléculaire des deux formes du pathogène *P. teres f. teres* et *P. teres f. maculata* : Le résultat des amplifications pour les 212 échantillons d'ADN analysés sont réunis en annexe 2.1.

L'analyse des gels à 3 % d'agarose, a mis en évidence des fragments d'ADN amplifiés d'une taille égale à 378 pb (Fig. 20) confirmant la présence de la forme *Ptt*, chez 165 isolats. La forme *Ptm*, a été par contre confirmée par l'amplification d'un fragment de 411 pb (Fig. 20) et qui a été observé chez 47 isolats.

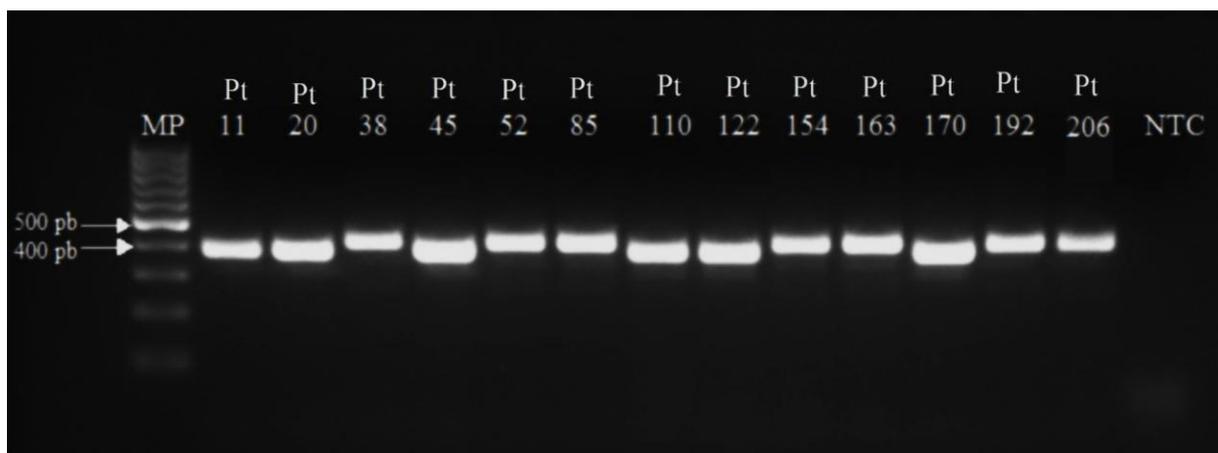


Figure 20: Gel d'agarose à 3 %, mettant en évidence les produits de la PCR multiplexe et permettant de distinguer les deux formes du pathogène (bandes de 378 pb : isolats identifiés comme *Ptt*, bandes de 411 pb : isolats identifiés comme *Ptm*, NTC : témoin négatif, MP : marqueur de poids moléculaire (100 pb)).

Les pourcentages de chacune des deux formes du pathogène, dans chacune des wilayas prospectées, obtenus pour les deux méthodes d'identification (moléculaire et symptomatologique), sont résumés dans le tableau (XVI). De même que le nombre d'isolats analysés et l'importance de chaque forme sont représentés par la figure 21.

On se basant sur les résultats obtenus suite aux amplifications des deux séquences spécifiques, il a été conclu que 77,8 % des isolats de la population étudiée faisaient partie de la forme *Ptt*, tandis que 22,2 % appartenaient à la forme *Ptm* du pathogène. L'analyse de ses résultats montre que contrairement à l'identification basée uniquement sur des symptômes observés, l'analyse moléculaire a révélé que la forme *Ptm* était présente dans neuf wilayas du pays incluant : Boumerdès, Alger, Béjaïa, Tipaza, Blida, Bouira, Aïn-Defla, Sétif et Oum El-Bouaghi. Ceci à des pourcentages de prévalence variables allant de 11,76 à 57 % (Tableau XVI), et un pourcentage moyen égal à 34,4 % pour les neuf wilayas concernées par la présence de la forme *Ptm*. L'occurrence la plus élevée de *Ptm* a été retrouvée à Bouira, qui était la seule wilaya où cette forme était plus présente que la forme *Ptt* (57 % des isolats analysés). Ce pourcentage était suivi par celui d'Oum El-Bouaghi, avec 50 %, Aïn-Defla, avec un pourcentage de 44,4 %, puis Boumerdès avec 40,9 % et enfin Blida avec 40 % d'isolats appartenant à la forme *Ptm*.

Cependant, aucun isolat de la forme *Ptm* n'a pas été détecté chez les isolats provenant des wilayas suivantes : Constantine, Aïn-Témouchent, Tlemcen, Sidi-Bel-Abbès, Biskra, Médéa, Tizi-Ouzou et Tiaret (Fig. 21, Tableau XVI).

Ainsi, suivant les régions géographiques, les deux formes semblent être distribuées différemment. En effet, les deux agents pathogènes semblent être largement répandus dans plusieurs wilayas de la partie Centre et Est du Nord de l'Algérie, tandis que dans la partie Nord-ouest du pays, *Ptt* était la seule forme rencontrée. Par conséquent, nous pouvons affirmer que la forme *Ptt* de *P. teres* est la plus répandue au Nord de l'Algérie.

Il est à noter que dans certains cas (Boumerdès et Alger), il a été possible de rencontrer les deux formes du pathogène dans le même champ. À Alger, les deux formes ont même été retrouvées au niveau de feuilles d'orge, échantillonnées à partir de la même plante. Par ailleurs, plusieurs isolats, identifiés comme étant *Ptm*, ont été obtenus à partir de lésions collectées à des localités adjacentes à ceux où *Ptt* a été largement trouvé. Ce fut le cas dans les wilayas de Boumerdès, Alger, Béjaïa, Bouira, Aïn-Defla et Sétif.

Tableau XVI : Comparaison entre les résultats de l'identification symptomatologique et moléculaire (PCR) des deux formes *Ptt* et *Ptm*.

Wilayas prospectées	Nombre de localités	Nombre total d'isolats analysés	Identification symptomatologique		Identification moléculaire par PCR	
			<i>Ptt</i> *(%)	<i>Ptm</i> *(%)	<i>Ptt</i> *(%)	<i>Ptm</i> *(%)
Aïn-Defla	3	9	55,6	44,4	55,6	44,4
Aïn-Témouchent	1	3	100	0	100	0
Alger	8	68	95,6	4,4	79,4	20,6
Béjaïa	7	22	100	0	86,4	13,6
Biskra	1	1	100	0	100	0
Blida	2	5	100	0	60,0	40,0
Bouira	5	14	57,1	42,9	43,0	57,0
Boumerdès	8	22	81,8	18,2	59,1	40,9
Constantine	2	6	100	0	100	0
Médéa	2	7	100	0	100	0
Om-El-Bouaghi	1	2	100	0	50	50
Sétif	6	17	100	0	88,2	11,8
Sidi-belabes	1	4	100	0	100	0
Tiaret	1	3	100	0	100	0
Tipaza	5	13	100	0	69,2	30,8
Tizi-Ouzou	4	10	100	0	100	0
Tlemcen	1	6	100	0	100	0

**Ptt*= *P. teres* f. *teres*; **Ptm*= *P. teres* f. *maculata*

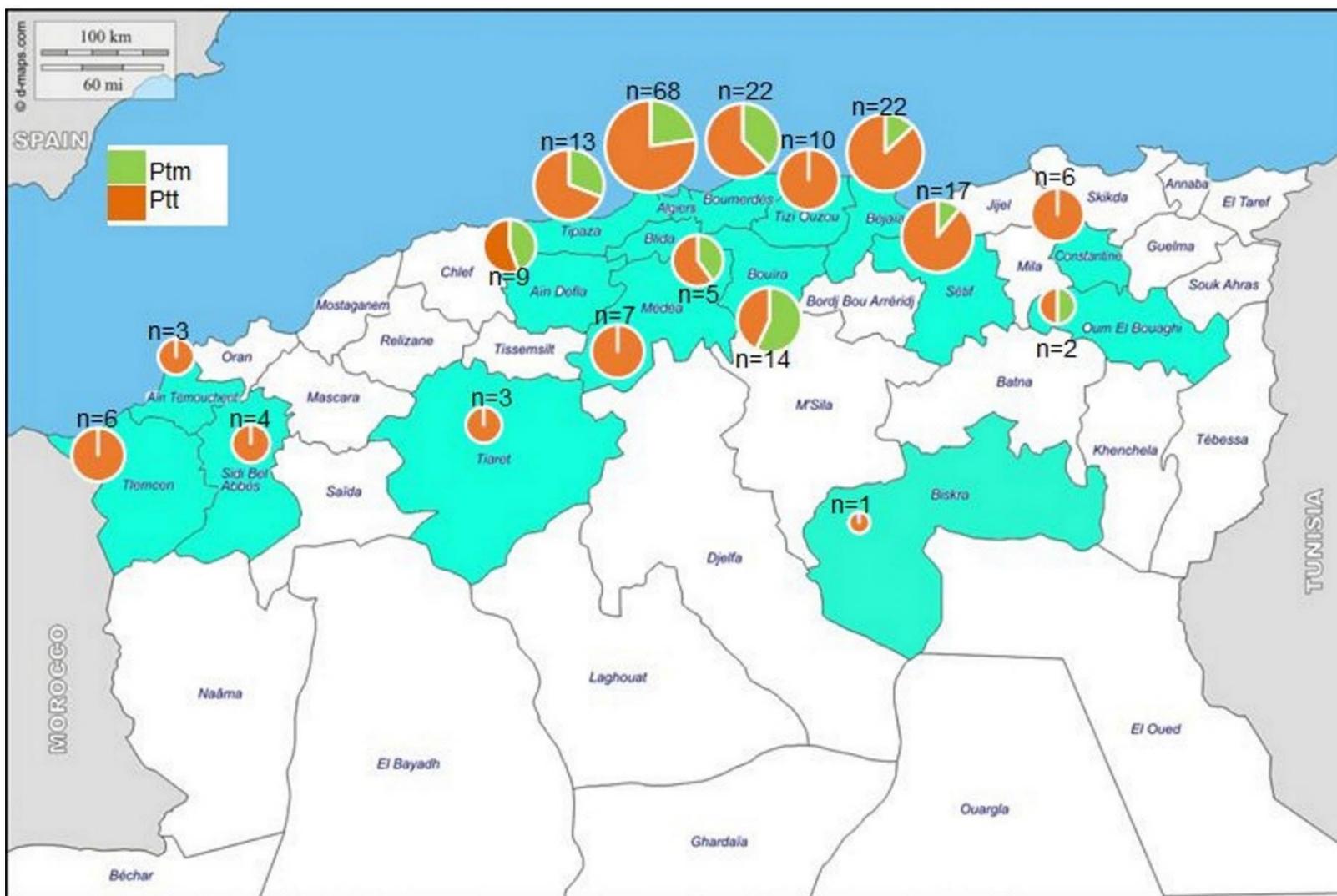


Figure 21 : Carte géographique mettant en évidence le nombre total des isolats testés ainsi que l'importance des deux formes (*Ptt* et *Ptm*) dans chacune des wilayas prospectées.

Discussion :

Dans la plupart des cas, l'analyse moléculaire avait confirmé les identifications basées sur les symptômes observés sur les feuilles d'orge infectées. Cependant, cela n'était pas le cas pour certains isolats provenant de Béjaïa (Pt77, Pt78, Pt79), de Blida (Pt163, Pt164), d'Oum El-Bouaghi (Pt221), de Sétif (Pt231, Pt232) et de Tipaza (Pt152, Pt153, Pt154, Pt206), pour lesquels une éventuelle confusion de symptômes caractérisant les deux formes a été révélée suite à l'analyse moléculaire. En effet, sur la base des observations symptomatologiques, ces isolats étaient considérés comme appartenant à la forme *Ptt* (tableau XVI), alors que les résultats des PCRs ont confirmé par la suite leur appartenance à la forme *Ptm*. Par conséquent, la méthode moléculaire s'est avérée nettement plus fiable que la caractérisation symptomatologique simple, qui peut parfois porter à confusion.

Les résultats obtenus ainsi suite aux tests moléculaires, ont confirmé la prépondérance de la forme *Ptt* en Algérie, mais ont aussi révélé une présence plus étendue de la forme *Ptm*, que ce qui a été reporté dans l'analyse symptomatologique.

Ainsi, l'identification symptomatologique semble être moins précise que l'analyse moléculaire ; pratiquée seule, elle pourrait conduire à des résultats erronés. Ceci est encore plus probable, dans le cas des fortes attaques qui se manifestent par des symptômes confondus et aussi en cas d'attaques mixtes. À cet effet, de nombreuses études se sont concentrées sur le développement d'amorces de PCR permettant la distinction entre les deux formes de *P. teres*. En plus de la méthode suivie lors de notre travail, Leišova *et al.* (2005) et Lu *et al.* (2010) ont également conçu, des amorces permettant la différenciation des deux formes du pathogène par simple PCR.

Les résultats de l'identification par PCR, ont révélé que *Ptt* était la forme la plus répandue de la rayure réticulée en Algérie. De même que cette forme était présente dans tous les champs prospectés à travers le pays, alors que la forme *Ptm* était rencontrée à une fréquence moindre. À notre connaissance, la présente étude est la seule étude conduite dans ce sens en Algérie jusqu'à présent. Une étude précédente basée sur la description symptomatologique, réalisée par Boungab (2013), concernant uniquement la partie Nord-ouest du pays, a indiqué aussi une fréquence plus élevée de la forme *Ptt* dans la région d'étude.

La prépondérance de *Ptt* par rapport à *Ptm* a été rapportée dans plusieurs pays, tels que le Maroc, la Tunisie, l'Italie, la Turquie, la République Tchèque et le Canada (Cherif *et al.*, 1994 ; Douiyssi *et al.*, 1998 ; Rau *et al.*, 2003 ; Leišova *et al.*, 2005 ; Damgaci, 2014 ; Akhavan *et al.*, 2015). Serenius *et al.* (2005) et Statkeviciute *et al.* (2010) ont même rapporté une présence exclusive de la forme *Ptt* en Lituanie et en Finlande. La présence de la forme *Ptm* a été signalée dans plusieurs pays, dont les États-Unis (Liu et Friesen 2010 ; Lartey *et al.*, 2013 ; Marshall *et al.*, 2015), l'Égypte (Haggag, 2010) et la Hongrie (Ficsor *et al.*, 2010). Dans certains pays tel que, l'Afrique du Sud (Louw *et al.*, 1996), le Sud-est d'Australie (Mc Lean *et al.*, 2010) et l'Éthiopie (Teferi *et al.*, 2015), cette forme a été signalée comme étant la plus répandue.

La prédominance de la forme *Ptt* dans les zones de culture d'orge en Algérie pourrait être une conséquence des conditions de cultures locales. Selon Serenius *et al.* (2005), la dominance de *Ptt* dans une région définie, pourrait être le résultat des conditions favorisant le développement de cette forme au détriment de la forme *Ptm*, pour des raisons non identifiées.

Les raisons impliquant cette différence de distribution des deux formes entre les régions, restent donc encore inconnues. Néanmoins, il est possible qu'elle soit liée à l'occurrence de génotypes particuliers de l'hôte dans les zones de culture de l'orge. En effet Statkeviciūtė *et al.* (2010) et O'Boyle (2009), ont conclu que la résistance de l'hôte aux deux formes de *P. teres* était contrôlée par des facteurs génétiques différentes. Par conséquent, la prédominance de l'une ou de l'autre des deux formes, peut être associée à la popularité de quelques variétés d'orge dans certaines régions.

Cette hypothèse peut être soutenue par plusieurs études, ayant identifié des sources de résistance de l'hôte vis-à-vis de la rayure réticulée de l'orge. Selon les travaux de Friesen *et al.* (2006), les principaux gènes de résistance pour chacune des deux formes (*Ptt* et *Ptm*) étaient localisés sur deux chromosomes différents, 6H et 4H, respectivement. Dans le même contexte, Manninen *et al.* (2006) étudiant une lignée d'orge éthiopienne possédant deux gènes majeurs indépendants impliqués dans la résistance à la rayure réticulée, ont prouvé que le premier gène Rpt5 était efficace contre NFNB, tandis que le deuxième Rpt6 était efficace contre SFNB. Un autre gène de résistance majeur (Rpt4), conférant une résistance à la SFNB uniquement, avait été identifié auparavant (Williams *et al.*, 1999). Plus récemment, quatre QTL se situant sur les chromosomes 1H, 4H et 5H et conférant une résistance uniquement contre *Ptt*, ont été signalés par Afanasenko *et al.* (2015).

D'autres facteurs pourraient être également impliqués dans la distribution et la fréquence des deux formes de *P. teres* dans l'espace et dans le temps. Notamment, l'intensité de la culture d'orge, les pratiques agricoles, l'utilisation de variétés sensibles à l'une ou à l'autre des deux formes (Mc Lean *et al.*, 2010), ainsi que l'évolution de la virulence des populations pathogènes locales (Neupane *et al.*, 2015). La propagation naturelle de l'agent pathogène peut également jouer un rôle dans le changement de la fréquence d'une forme par rapport à l'autre (Tekauz, 1990).

Dans le contexte algérien, il est à rappeler que même si 21 variétés d'orge soient répertoriées dans le catalogue national des variétés des céréales (CNCC, 2015), seules deux variétés locales, sont répondues en Algérie (Ghalem-Djender *et al.*, 2016). Celles-ci sont Saida183 et Tichedrette, cultivées respectivement dans 90 % et 10 % des zones de culture d'orge (Ghalem-Djender *et al.*, 2016). Les deux variétés sont très sensibles à la rayure réticulée de l'orge (Reguieg *et al.*, 2013), mais aucune donnée relative à la réaction différentielle de ces variétés à chacune des formes (*Ptt* et *Ptm*) n'est disponible. La présence élevée de NFNB (77,8 %) témoigne ainsi d'une forte sensibilité de Saida 183 et de Tichedrette au *Ptt* et peut suggérer une tolérance des deux variétés au *Ptm*.

La rayure réticulée de l'orge peut être transmise par semences ; ceci peut conduire à la dissémination de l'agent pathogène à travers le pays. L'utilisation continue dans le temps et l'espace des deux variétés, ainsi que le faible taux de semences d'orge importées pour l'ensemencement en plein champ en Algérie, auraient pu contribuer au maintien de la faible fréquence de la rayure réticulée punctiforme (SFNB) comparée à la rayure réticulée type (NFNB).

Par ailleurs et comme cela a été suggéré par de nombreux auteurs, plusieurs facteurs auraient pu influencer la distribution des formes de la rayure réticulée en Algérie. Ceux-ci peuvent être liés aux pratiques agricoles, la structure de la population de l'agent pathogène, au climat et au sol. En effet, en Algérie, les caractéristiques topographiques et bioclimatiques permettent de distinguer plusieurs systèmes agricoles entre les zones humides du Nord et la zone aride du Sud (Benbelkacem, 1996). Ainsi, trois grandes zones agro-climatiques, où les céréales sont cultivées, ont été définies (Boufenar-Zaghouane et Zaghouane, 2006) ; nos résultats ont montré que les deux formes de maladie, la rayure réticulée type (NFNB) et la rayure réticulée punctiforme (SFNB), étaient présents dans les trois zones.

Cependant, la forme SFNB a été largement plus présente dans deux d'entre elles ; les régions côtières et la zone semi-aride. Dans les régions côtières, telles qu'Alger et Béjaïa, les précipitations annuelles moyennes dépassent 500 mm et les sols sont bruns fertiles à haute teneur en matière organique. Ainsi que dans la zone semi-aride, comprenant les plaines du Tel et la frontière Nord des hauts plateaux, telles que les régions de Aïn-Defla et Bouira, où les précipitations annuelles moyennes varient de 350 à 550 mm et où les sols rouges méditerranéens sont présents dans une grande partie du Nord du Tel.

Dans la zone dite sub-aride, connue comme étant une zone agropastorale, avec des terrains accidentés, où la pluviométrie annuelle moyenne ne dépasse pas les 350 mm et où les sols sont caractérisés par une accumulation réduite de matière organique, la SFNB n'a été rencontrée qu'à Oum-El-Bouaghi. Cette dernière est située à l'Est du pays, où les précipitations sont les plus élevées.

Les résultats de notre étude seront d'une grande utilité pour l'établissement des programmes de lutte contre la rayure réticulée de l'orge en Algérie. L'identification correcte des agents pathogènes est, en effet, indispensable à la lutte rationnelle et efficace contre les maladies qu'ils engendrent. Les programmes de sélections doivent prendre en considération la présence/absence et la répartition des deux formes de la rayure réticulée dans les populations locales de l'agent pathogène. Ceci est indispensable au déploiement correct des variétés résistantes ; le contrôle génétique de la résistance à l'égard des deux formes du pathogènes étant différent. De plus, la mise en place d'un programme de lutte chimique approprié nécessite aussi une bonne connaissance de la distribution des deux formes dans les champs d'orge en Algérie. Ceci, en raison du fait qu'il a été démontré, que les doses de fongicides nécessaires pour contrôler *P. teres* f. *teres* sont souvent significativement différentes de celles nécessaires pour le contrôle de *P. teres* f. *maculata* (Bendahmane, 1992 ; Campbell et Crous, 2002 ; Akhavan, 2017).

IV. 3. Caractérisation culturelle des isolats : Les 50 isolats représentatifs de notre collection (38 *Ptt* et 12 *Ptm*) étudiés, ont présenté des caractères morphologiques variés. Cette variabilité a été notée pour l'ensemble des caractères utilisés ; la couleur et l'aspect du mycélium, la pigmentation et la présence ou l'absence des corémies et des agrégations mycéliennes. L'ensemble des observations relevées lors de cette caractérisation sont synthétisées dans le tableau XVII.

Tableau XVII : Caractères cultureux notés pour l'ensemble des 50 isolats analysés.

Wilaya	Isolat	Couleur du mycélium	Texture du mycélium	Formation de corémies*	Formation d'agréations mycéliennes*	Forme
Tipaza	Pt152	Vert très foncé	Aérien-Cotonneux	-	-	<i>Ptm</i>
Bouira	Pt87	Vert très foncé	Aérien-Cotonneux	+	-	
Boumerdès	Pt115	Vert foncé	Aérien-Cotonneux	-	-	
Alger	Pt38	Vert clair	Ras	-	-	
Ain-Defla	Pt162	Vert très foncé	Aérien-Pelucheux	+	-	
Boumerdès	Pt102	Vert très foncé	Aérien-Pelucheux	+++	-	
Blida	Pt164	Vert très foncé	Aérien-Pelucheux	-	-	
Tipaza	Pt154	Vert très foncé	Aérien-Pelucheux	+	-	
Béjaïa	Pt79	Vert très foncé	Aérien-Cotonneux	+	-	
Bouira	Pt91	Vert très foncé	Aérien-Cotonneux	+	-	
Sétif	Pt232	Vert très foncé	Aérien-Cotonneux	-	-	
Boumerdès	Pt104	Blanche	Aérien-Cotonneux	-	-	
Alger	Pt33	Vert foncé	Aérien-Pelucheux	+++	+++	
Tizi-Ouzou	Pt128	Vert clair	Aérien-Pelucheux	++	++	
Béjaïa	Pt66	Vert clair	Ras	+	+	
Bouira	Pt80	Vert foncé	Ras	-	-	
Tizi-Ouzou	Pt117	Vert foncé	Aérien-Cotonneux	-	+	
Blida	Pt66	Vert foncé	Ras	+	+	
Béjaïa	Pt73	Vert clair	Aérien-Cotonneux	+	+++	
Béjaïa	Pt63	Vert foncé	Ras	+	+	
Constantine	Pt172	Vert foncé	Ras	-	+	
Tlemcen	Pt181	Vert foncé	Ras	-	-	
Sétif	Pt134	Vert très foncé	Aérien-Pelucheux	++	++	
Alger	Pt58	Vert foncé	Aérien-Cotonneux	-	+	

Constantine	Pt169	Vert clair	Ras	-	-	<i>Ptt</i>
Ain-Temouchent	Pt176	Vert très foncé	Aérien-Pelucheux	+	+	
Sétif	Pt142	Vert très foncé	Aérien-Pelucheux	+	+	
Tipaza	Pt145	Vert clair	Ras	-	+++	
Boumerdès	Pt97	Vert très foncé	Aérien-Pelucheux	+	-	
Boumerdès	Pt112	Vert clair	Aérien-Pelucheux	+	+	
Tipaza	Pt148	Vert clair	Ras	+	-	
Tizi-Ouzou	Pt123	Vert très foncé	Aérien-Pelucheux	-	-	
Alger	Pt214	Vert très foncé	Aérien-Cotonneux	-	-	
Médea	Pt199	Vert très foncé	Aérien-Pelucheux	-	-	
Médea	Pt195	Vert foncé	Aérien-Pelucheux	+	+++	
Sidi-Bel-Abbas	Pt185	Vert très foncé	Ras	+	-	
Tipaza	Pt209	Vert très foncé	Aérien-Pelucheux	+	+	
Béjaïa	Pt64	Vert foncé	Aérien-Pelucheux	+	+	
Boumerdès	Pt108	Vert foncé	Ras	+	+	
Sétif	Pt143	Vert foncé	Ras	-	-	
Alger	Pt21	Vert très foncé	Aérien-Pelucheux	+	-	
Boumerdès	Pt107	Vert foncé	Ras	+	-	
Tizi-Ouzou	Pt125	Vert très foncé	Ras	+	+	
Sétif	Pt228	Vert foncé	Aérien-Pelucheux	+	++	
Bouira	P217	Vert très foncé	Aérien-Cotonneux	+	-	
Om-El-Bouaghi	Pt174	Vert très foncé	Aérien-Pelucheux	-	-	
Sétif	Pt137	Vert foncé	Aérien-Pelucheux	-	-	
Ain-Defla	Pt157	Vert clair	Ras	-	-	
Alger	Pt01	Vert clair	Aérien-Cotonneux	+	+	
Boumerdès	Pt92	Vert clair	Aérien-Cotonneux	+	+	

*(+++)
Très abondante, (++) Abondante, (+) Minimale, (-) Absence

a) Texture et couleur du mycélium : Nos observations effectuées à la fin de la période d'incubation, ont montré que la couleur verte prédominait chez les isolats étudiés. Sur le milieu PDA, 22 isolats soit, 44 % de la population étudiée, ont présenté des colonies vertes très foncées (Fig. 22). La couleur vert foncé (olive) (Fig. 22) était notée chez 16 isolats (32 %), alors que 11 isolats seulement (22 %) ont présenté des colonies d'un vert clair (Fig. 22). Parmi toute la

population étudiée, un seul isolat (2 %) appartenant à la forme *P. teres* f. *maculata* (Pt104) et provenant de Boumerdès, avait montré un mycélium de couleur blanchâtre (Fig. 22).

L'analyse de la couleur du mycélium en relation avec l'origine géographique des isolats, a montré que la couleur vert très foncé était prédominante dans la région Nord du centre du pays (Alger, Bouira, Boumerdès, Tipaza, Médéa, Blida, Ain-Defla et Tizi-ouzou). Cette couleur a été notée chez 45,45 % des isolats. Elle est suivie de 27,27 % pour la couleur vert foncé (olive) et de 24,24 % pour la couleur vert clair.

Dans les régions de l'Est (Sétif, Béjaïa, Constantine et Om-El-Bouaghi) et l'Ouest (Tlemcen, Ain-Témouchent et Sidi-Bel-Abbas) du Nord du pays, la couleur vert très foncé a été notée chez 35,71 % et 66,66 % des isolats, respectivement. Le mycélium vert foncé a été exprimé chez 42,86 % des isolats provenant de l'Est du pays et chez 33,33 % des isolats provenant de l'Ouest. Le mycélium vert clair a été noté chez 21,43 % de la population provenant de l'Est du pays et était absent chez les isolats provenant de l'Ouest du pays.

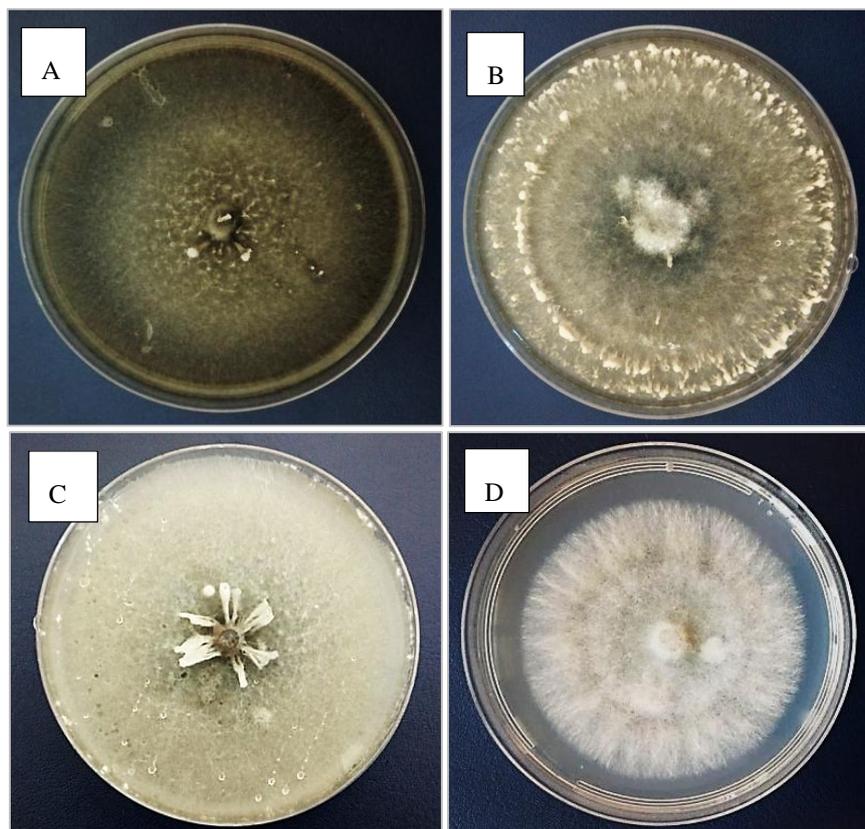


Figure 22 : Différentes couleurs de mycélium développées sur milieu PDA. A) Vert très foncé B) Vert foncé (olive) C) Vert clair D) Blanchâtre.

Lorsque les deux formes du pathogènes sont comparées, nous pouvons constater que chez les isolats *Ptm* la couleur du mycélium « vert très foncé » était largement prédominante, avec 9/12 isolats soit, un pourcentage de 75 %. Les autres couleurs (vert foncé, vert clair et blanc) étaient représentées chacune par un seul isolat soit, 8,33 % pour chaque couleur (Fig. 23). Dans le cas de *Ptt*, la couleur la plus notée était le vert foncé avec un pourcentage de 39,47 %, la couleur vert très foncé était représentée par 34,21 % de la population *P. teres f. teres* et le vert clair par 26,32 % (Fig. 23).

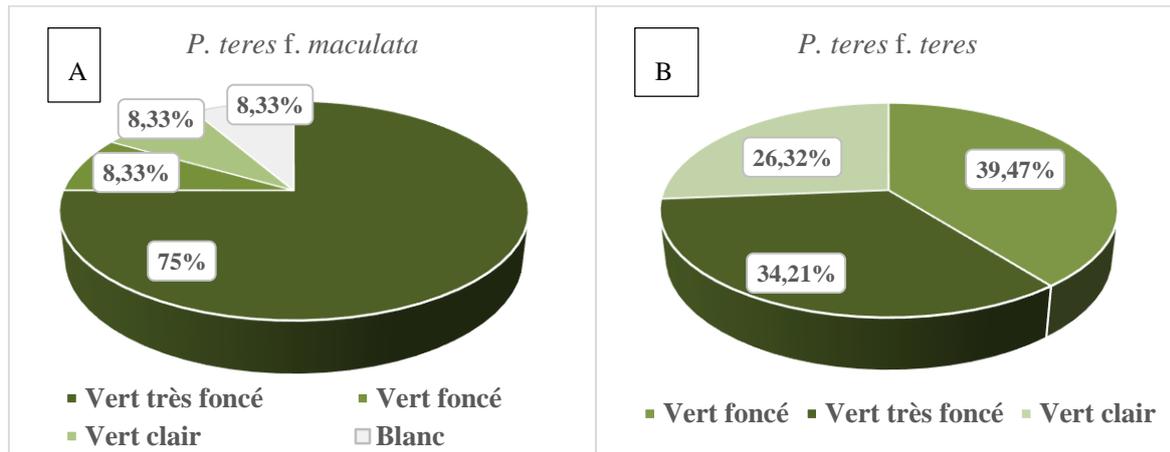


Figure 23 : Pourcentages des isolats représentant chacune des couleurs de mycélium observées (vert très foncé, foncé, clair et Blanc) chez la forme *Ptm* (A) et à la forme *Ptt* (B).

Par ailleurs, les colonies obtenues sur du milieu PDA ont présenté trois différents aspects de mycélium. Ces derniers ont été classés en trois morphotypes distincts : ras, aérien-cotonneux et aérien pelucheux (Tab. XVII, Fig. 24). La majorité des isolats (68 %) de la collection, ont présenté un mycélium aérien. Ce dernier était d’aspect cotonneux chez 28 % des isolats et pelucheux dans le cas de 40 % des isolats. Tandis que, 32 % des isolats de la population étudiée, ont présenté des colonies avec un mycélium ras non aérien.

Le type de mycélium « Aérien », était le plus dominant dans les régions du Nord-centre du pays (Alger, Bouira, Boumerdès, Tipaza, Médéa, Blida, Ain-Defla et Tizi-Ouzou), avec un pourcentage total de 72,72 % (24/33). Parmi ces isolats, 39,39 % (13/33) présentaient un mycélium aérien cotonneux, alors que 33,33 % (11/33) avaient exprimé un mycélium pelucheux. Le type mycélium ras a été par contre noté uniquement chez 27,28 % (9/33) des isolats provenant de cette région.

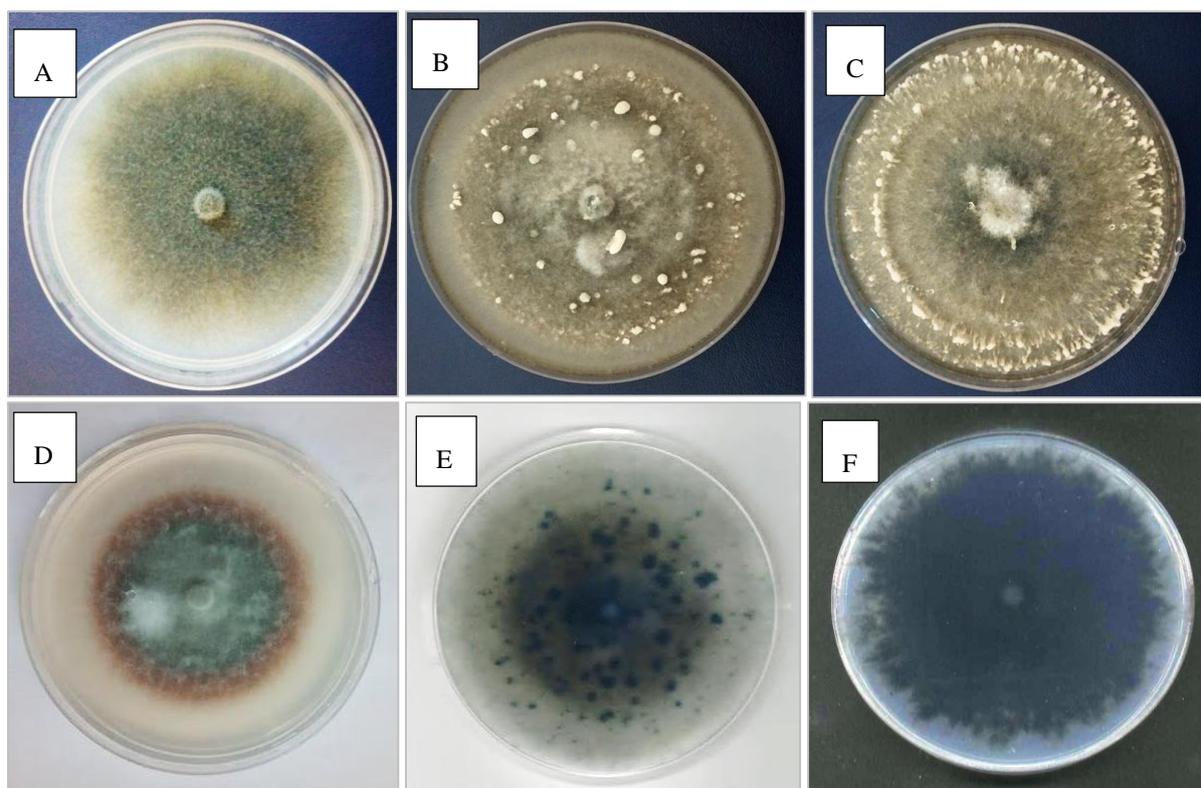


Figure 24: Différents aspect de colonies développées sur milieu PDA : A) Aspect ras et pigmentation jaunâtre, B) Aspect cotonneux, C) Aspect pelucheux, D) Pigmentation orange, E) Agrégations mycéliennes, F) Contour non-régulier.

Les isolats provenant des régions Est du pays (Sétif, Béjaïa, Constantine et Om-El-Bouaghi), ont présenté un mycélium aérien dans 64,29 % des cas (9/14), dont 42,86 % (6/14) présentant un aspect cotonneux et 21,43 % (3/14) un aspect pelucheux. Le mycélium ras a été noté chez 35,71 % (5/14) des isolats de l'Est du pays. Dans le cas des isolats de l'Ouest du pays (Tlemcen, Ain-Témouchent et Sidi-Bel-Abbas), le type aérien-pelucheux a été noté chez un seul isolat (33,33 %). Alors que les deux autres isolats ont présenté un mycélium ras (66,66 %).

Lorsque les isolats des deux formes sont comparés, nous constatons que le morphotype aérien-cotonneux était le plus prépondérant chez les isolats de la forme *Ptm* à raison de 58,33 % (7/12), alors que le morphotype aérien-pelucheux était moins présent avec un pourcentage de 33,33 % (4/12). Le morphotype mycélium ras n'a été par contre enregistré que chez 1 seul isolat de forme *Ptm* (Pt38), soit 8,33 % (Fig. 25). Pour les isolats *Ptt*, les 2 morphotypes les plus présents étaient le mycélium aérien-pelucheux et le mycélium ras, avec des pourcentages de 42,11 % (16/38) et 39,47 % (15/38) respectivement. Alors que le morphotype aérien-cotonneux, était noté chez 18,42 % (7/38) de la population *Ptt* (Fig. 25).

L'apparition d'une pigmentation orange accompagnée d'une perte du pouvoir de sporulation a été aussi observée durant nos travaux chez trois isolats (Pt174, Pt232 et Pt143) soit, 6 % de la population étudiée (Fig. 24). Une pigmentation jaunâtre a été observée chez deux isolats (4 %) de la collection, l'un de forme *Ptm* et l'autre *Ptt* (Pt38 et Pt66) (Fig. 24).

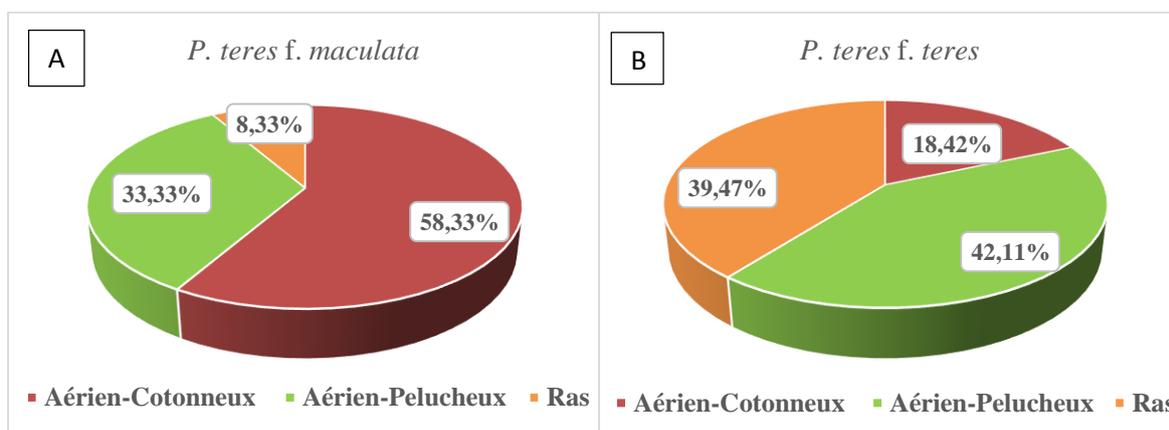


Figure 25 : Pourcentages des isolats présentant chacun des différents aspects de mycélium (Aérien-cotonneux, Aérien-pelucheux et Ras) notés chez les isolats appartenant à la forme *Ptm* (A) et à la forme *Ptt* (B).

b) Observation des contours de colonies, des corémies et des agrégations mycéliennes :

Contour des colonies : La notation des variations du contour des colonies chez les 50 isolats, a mis en évidence la prépondérance du contour régulier. Ceci est vrai chez toute la population étudiée, excepté pour les deux isolats de forme *P. teres f. maculata* Pt87 et Pt152, qui présentaient un contour irrégulier caractérisé par des extrémités en ramifications très typiques (Fig. 24).

Formation des agrégations mycéliennes : Le vieillissement des colonies a été caractérisé chez certains isolats par l'apparition d'agrégations mycéliennes observables sur la face inférieure des colonies. Ce phénomène était absent chez 28 isolats (56 %) de la population étudiée. Cependant, la formation d'agrégations plus ou moins abondantes de forme sphérique et de couleur noirâtre (Tab. XVII, Fig. 24) a été notée chez 22 isolats soit, 44 % de la population étudiée. La formation d'agrégations, était rare chez 15 isolats (30 %), provenant de wilayas confondues, alors qu'une formation abondante a été enregistrée chez 3 isolats (6 %) l'un provenant de Tizi-Ouzou et 2 de Sétif. Elle était encore plus importante chez 4 isolats (8 %), provenant d'Alger, Béjaïa, Médéa et de Tipaza. La formation de ces agrégations mycéliennes

n'a été observée chez aucun isolat *Ptm*, alors qu'elle était notée chez 22 isolats *Ptt* à différentes intensités (Fig. 24).

Formation des corémies : L'apparition de touffes de mycélium blanchâtres ; dites corémies ; dans les cultures de plusieurs isolats, a été notée. La forme et la répartition des corémies étaient largement variables ; chez certains isolats, les corémies étaient arrondies à leurs sommets (Fig. 26 : K), alors que d'autres, avaient une forme plutôt pointue (Fig. 26 : J). La disposition et l'abondance des corémies différaient aussi entre les isolats (Tab. XVII), avec une localisation centrée au niveau de la culture (Fig. 26 : A, B), ou parfois elles sont dispersées sur toute la surface de la culture (Fig. 26 : G, H, I).

La présence d'une formation très abondante de corémies, couvrant la totalité de la surface de la colonie a été notée chez 2 isolats uniquement (Pt33 et Pt102) soit, uniquement chez 4 % des isolats étudiés (Fig. 26 : G, I). Deux autres isolats (4 %) ont aussi montré une formation de corémies abondante, mais dont la répartition était cette fois-ci plus restreinte et localisée seulement au centre ou en périphérie. Par ailleurs, 26 isolats (52 %) ont exhibé une formation de corémies très réduite, avec deux principaux aspects ; distribués sur toute la colonie (Fig. 26 : G, H, I) ou localisés uniquement au centre (Fig. 26 : A, B). Enfin, il est à noter une absence totale de formation de corémies chez les 20 isolats restants (40 %) (Tab. XVII).

La comparaison entre les deux formes du pathogène pour ce caractère, a montré l'absence de corémies notée chez 6, soit 50 % des isolats de la forme *Ptm*. Une formation de corémies très réduite a été observée chez 5 isolats (41,66 %) et un isolat seulement (Pt104) était caractérisé par une formation très abondante de corémies, couvrant la totalité de la colonie (8,33 %) (Fig. 26 : I).

Pour les isolats appartenant à la forme *Ptt*, 14 isolats (36,84 %) avaient manifesté une absence totale de corémies et 21 isolats (55,26 %) une formation très réduite. La formation abondante de corémies, était beaucoup moins observée et a été notée uniquement chez 2 isolats (5,26 %). La formation de corémies très abondante et couvrant la totalité de la surface de la colonie, était aussi rare et notée chez un seul isolat (2,63 %) de la forme *Ptt* (Pt33) (Fig. 27).

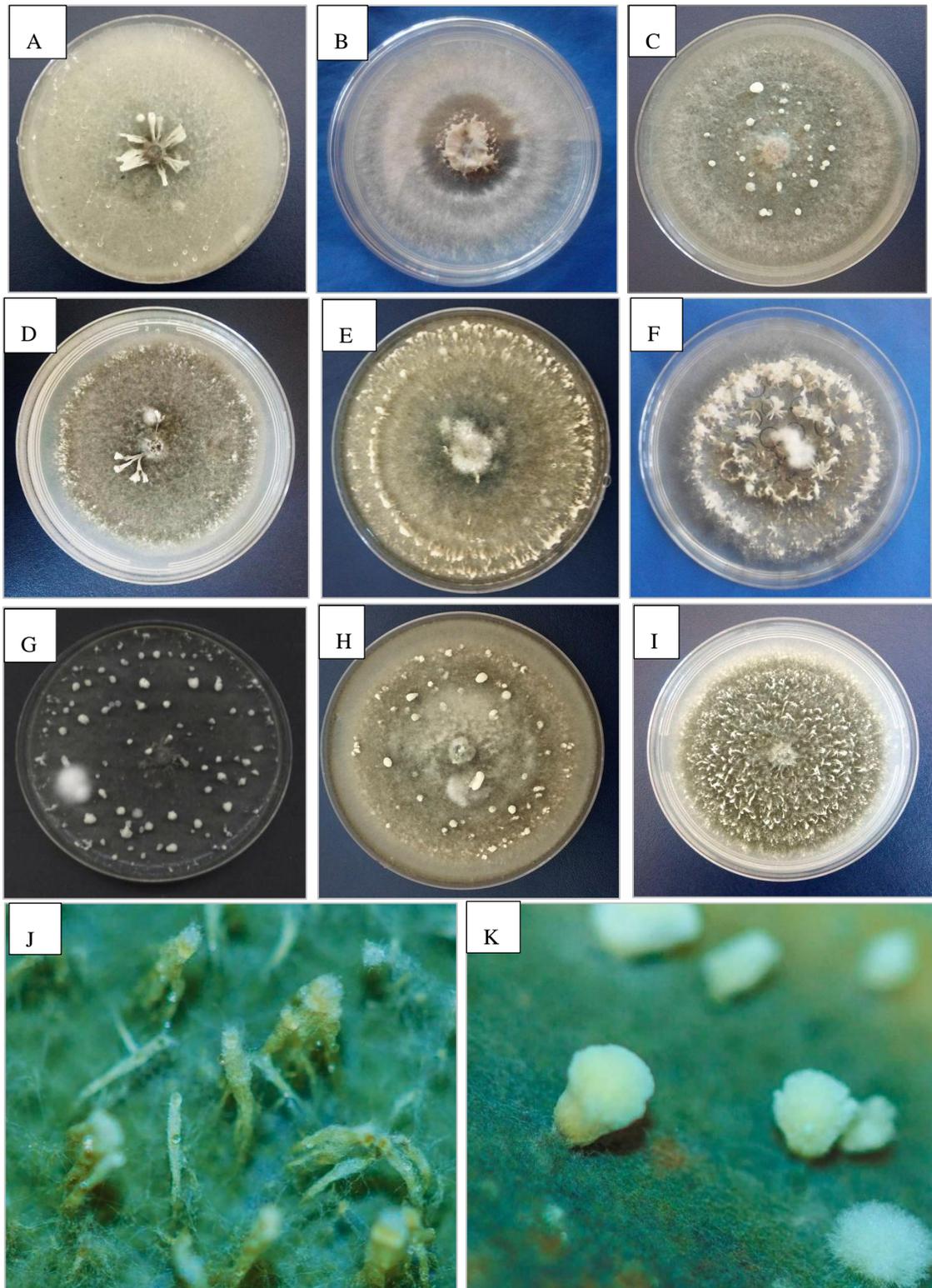


Figure 26 : Différents aspects de corémies développées sur le milieu PDA. (A, B et C) corémies localisées exclusivement au centre. (D, E et F) corémies localisées en périphérie ou en périphérie et au centre. (G, H et I) corémies étalées sur toute la surface. (J) corémies à sommet pointu. (K) corémies à sommet arrondi.

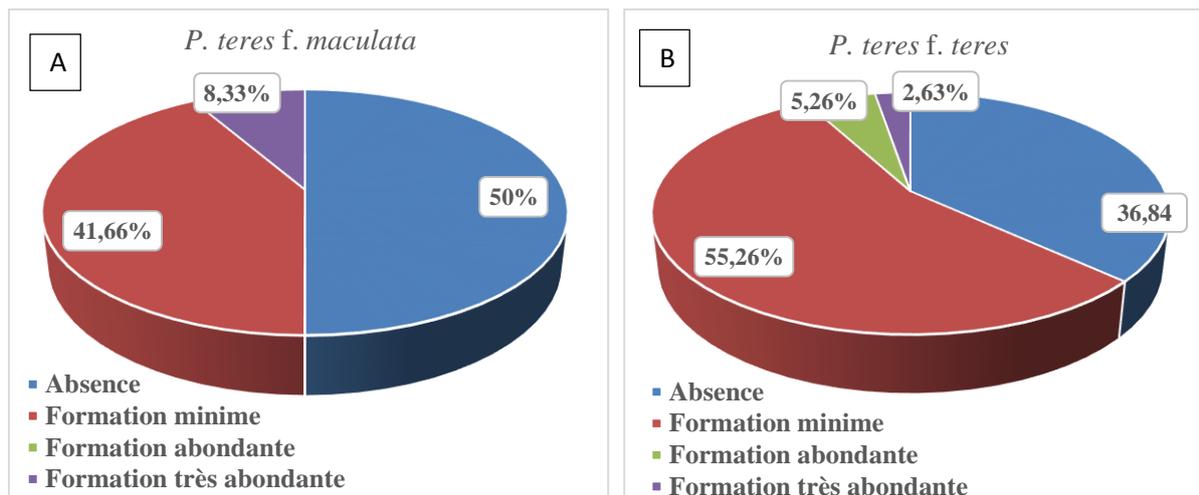


Figure 27 : Pourcentages des isolats chez les différents niveaux de formation des corémies (minime, abondante ou très abondance) ont été notés chez les isolats appartenant à la forme *Ptm* (A) et à la forme *Ptt* (B).

Discussion :

La caractérisation culturelle des 50 isolats représentatifs de la collection de *P. teres* réunie à partir des différentes régions céréalières du pays, a montré non seulement, une variabilité importante entre les isolats provenant de différentes régions, mais aussi entre ceux originaires d'une même région. Cette variabilité a été notée pour les différents caractères cultureux, notamment l'aspect du mycélium, la couleur des colonies, ainsi que la formation des corémies et des agrégations mycéliennes.

Ceci révèle que l'aspect culturel des isolats, ne reflète pas l'origine géographique de ces derniers. Cette conclusion est en accord avec celle de Boungab (2013), qui a rapporté que la morphologie du thalle et sa pigmentation ne reflétaient pas l'origine géographique des isolats. De même, McDonald (1967) et Shipton *et al.* (1973) ont noté que des isolats de *P. teres* dérivant de différentes localités ou d'une même zone, variaient considérablement sur le plan morphologique (In : Liu *et al.*, 2011). La variation de l'aspect culturel d'isolats de *P. teres*, provenant d'une même zone géographique, a été aussi rapportée par Owino *et al.* (2013) qui ont suggéré que cela pourrait être dû à la présence de différentes souches du pathogène dans une même zone d'étude, résultantes des changements évolutifs chez le pathogène, visant à surmonter la résistance de l'hôte.

Concernant la couleur des colonies, 4 couleurs différentes ont été notées à savoir le vert très foncé, le vert foncé (olive), le vert clair et le blanc ; la couleur vert très foncé, était présente

chez 44 % des isolats étudiés et la couleur vert foncé (olive) était notée chez 32 %. L'étude menée par Boungab (2013) réalisée également sur une population pathogène composée de 60 isolats, réunis à partir de la région Nord-Ouest du pays, a révélé aussi l'existence de 4 couleurs. Une prédominance de la couleur vert olive, qui était présente chez 56,66 % de l'ensemble des isolats, suivit par la couleur vert foncé avec 23,33 %, avait été rapporté par l'auteur. Chamekh (2007), a également décrit des colonies de couleur vertes sur les deux milieux organiques PDA et V8.

La couleur verte des colonies, semble être largement présente dans les populations pathogènes de *P. teres* à travers le monde. Elle a été rapportée par Al-Ali (1988) qui a obtenu des colonies vertes sur le milieu organique PCA (Potato Carrot Agar). Sur milieu PDA, Mougou-Hamdane *et al.* (2018) ont obtenu des colonies de couleurs très variables allant de blanchâtre, gris blanchâtre, gris verdâtre, vert clair, vert à vert foncé. Des colonies d'autres couleurs, ont été décrites sur le milieu de culture PDA par Frazzon *et al.* (2002), qui ont obtenu des colonies blanchâtres ou de couleur grisâtre (cendré), et par Owino *et al.* (2013) qui ont observé des colonies de couleur gris foncé, gris clair et noir.

Chez les isolats *Ptm* analysés lors de nos travaux, la couleur du mycélium vert très foncé était largement prédominante avec un pourcentage de 75%, alors que dans le cas de *Ptt*, la couleur la plus notée était le vert foncé (olive) avec un pourcentage de 39,47 %, suivie par la couleur vert très foncé qui était représentée par 34,21 %. Ces résultats sont en concordance avec ceux de Louw *et al.* (1996), qui ont noté sur le milieu PA (Purity Agar), une couleur des colonies allant du vert clair au vert olive pour les isolats de *Ptt* et des colonies de couleur plus foncée pour les isolats de la forme *Ptm*.

En ce qui concerne l'aspect du mycélium, trois morphotypes distincts ont été rencontrés dans notre étude ; mycélium aérien-cotonneux, aérien-pelucheux et ras. Avec une prédominance du mycélium aérien-cotonneux chez la forme *Ptt* et de l'aérien-pelucheux chez la forme *Ptm*. La formation de corémies de différentes formes et des agrégations mycéliennes, a été aussi notée chez plusieurs isolats de notre collection, de provenances confondues et appartenant à l'une ou l'autre de deux formes du pathogène.

Les deux morphotypes cotonneux et ras notés dans nos observations, ont été aussi notés dans l'étude réalisée par Boungab (2013), qui avait en plus décrit deux autres morphotypes qualifiés de rayonnant et zonant. La formation des corémies sous forme de touffes de mycélium

blanchâtre et d'agrégations mycéliennes, a été aussi signalée dans cette dernière étude ; pour les deux types *Ptt* et *Ptm*. Par ailleurs, suite à une caractérisation morphologique réalisée sur des isolats d'origine tunisienne, Mougou-Hamdane *et al.* (2018), ont rapporté que sur le milieu PDA, le mycélium de type cotonneux était plus fréquent que le mycélium de type ras et que tous les isolats avaient produit des corémies sur plusieurs milieux de croissance, mais à une intensité différente. La formation des touffes de mycélium blanchâtre, a été aussi signalée par Frazzon *et al.* (2002). Inversement, Carvalho (1990) confirme l'existence d'une différence notable des corémies produites par les deux formes de *P. teres*. Il a reporté que les isolats de la forme *P. teres f. teres* produisaient des corémies, en forme d'éventail, tandis que ceux de la forme *P. teres f. maculata* produisaient des corémies en touffes.

L'obtention d'agrégations mycéliennes (qualifiés par certains auteurs de sclérotés), sur les milieux de culture a été observée chez plusieurs auteurs. Chamekh (2006) et Boungab (2013), avaient noté leur formation après 15 jours d'incubation sur le milieu de culture PDA. La formation de ces structures, a aussi été reportée sur le milieu SAA (Saccharose Asparagine Agar) (Scott, 1991).

Les caractères cultureux pris en considération dans notre étude ne permettent pas la distinction des deux formes (*Ptt* et *Ptm*) de cet agent pathogène. En effet, ces dernières peuvent manifester les mêmes couleurs, les mêmes textures du mycélium et peuvent toutes les deux montrer (ou pas) une formation des corémies.

Khan et Tekauz (1982), avaient rapporté que les caractères cultureux, ainsi que la morphologie des conidies chez les isolats de *P. teres f. maculata* étaient identiques à ceux de *P. teres f. teres*. De plus, Crous *et al.* (1995), avaient confirmé que les isolats appartenant aux deux formes de *P. teres*, ne pouvaient pas être distingués en se basant sur la morphologie de leurs conidies et conidiophores. Suite à une étude de l'espèce *P. teres* en Algérie incluant des isolats dérivant de symptômes de type réseau et de type tache brune, Boungab (2013) avait aussi conclu que les caractères morphologiques (la pigmentation des colonies, la mensuration des conidies) de l'espèce ne permettaient pas de distinguer les deux formes (*Ptt* et *Ptm*).

Lu *et al.* (2010) ont aussi affirmé que *P. teres f. teres* et *P. teres f. maculata* sont morphologiquement très similaires, et que leur différenciation sur milieu de culture ne peut être possible par les procédures de laboratoire de routine. Ainsi, les deux formes *Ptt* et *Ptm*, ne peuvent pas être distingués en se basant uniquement sur l'aspect morphologique (Liu *et al.*,

2011).

L'apparition d'une pigmentation de couleur orange, accompagnée d'une perte du pouvoir de sporulation, a été aussi observée chez quelques isolats de notre collection. De même, Carvalho (1990) avait noté un changement de couleur du vert à orange-rouge, chez des cultures anciennes. Ce phénomène a été reporté sur les isolats de *P. tritici-repentis* par Benslimane (2013), qui a noté que cela était dû à un repiquage répété d'explants sur milieu PDA, et que ce phénomène a été accompagné par une perte du pouvoir de sporulation chez les isolats concernés Benslimane *et al.* (2017).

IV. 4. Évaluation du pouvoir pathogène : L'agressivité, l'un des deux composants du pouvoir pathogène, a été évaluée pour un nombre représentatif d'environ 50 isolats. L'agressivité pouvant être décomposée en plusieurs traits élémentaires de nature quantitative, a été évaluée par certains de ces derniers ; le taux de sporulation *in-vitro* et la sévérité de la maladie. Par ailleurs, par extension le taux de la croissance mycélienne qui est un paramètre facilement mesurable de la fitness du pathogène, a été également inclus dans cette évaluation.

IV. 4. 1. Évaluation du pouvoir de sporulation des isolats *in vitro* : Ce paramètre a été évalué sur 45 isolats (34 *Ptt* et 11 *Ptm*) sur milieu V8- PDA. Les résultats obtenus ont montré une très grande variabilité entre les isolats étudiés (Annexe, 2. 3.), les taux de sporulation les plus importants étaient notés pour les trois isolats de la forme *Ptt* : Pt148 (Tipaza), Pt142 (Sétif), Pt64 (Béjaïa), avec une moyenne de nombre de spores, respectivement égale à 596 , 523 et 395 spores/mm² de culture. En revanche, des taux de sporulation très faible n'excédant pas les (10 spores/mm²), ont été notés pour deux isolats de forme *Ptm* : Pt87 (Bouira), Pt79 (Béjaïa) et pour deux isolats de forme *Ptt* : Pt209 (Tipaza), Pt185 (Sidi-Bel-Abbès).

Les résultats du test de pouvoir de sporulation des 45 isolats de *P. teres*, a montré une grande variabilité entre les isolats provenant de différentes régions, mais aussi entre ceux originaires d'une même région. Ceci révèle que l'intensité de sporulation des isolats étudiés, n'est également pas liée à l'origine géographique de ces derniers. La variabilité entre les isolats a été confirmée par l'analyse statistique réalisée à travers le test de Kruskal Wallis, qui a mis en évidence une différence très hautement significative (P=0,000) (Annexe 5. 1).

La comparaison entre les moyennes de sporulation obtenues pour les deux formes du pathogène *Ptt* et *Ptm*, a révélé un pouvoir de sporulation plus important dans le cas des isolats *Ptt*, avec une moyenne de 155 spores/mm², comparée à une moyenne égale à 53 spores/mm²,

notée pour les isolats *Ptm*. Cette différence a été statistiquement confirmée en utilisant le test de Mann-Whitney (Test non-paramétrique équivalent du T-test de Student.), qui a mis en évidence une différence hautement significative ($P=0,003$) (Annexe 5. 2).

IV. 4. 2. Évaluation de la sévérité de la maladie : L'étude de l'agressivité à travers l'évaluation de la sévérité de la maladie sur la variété Saïda a été menée sur 45 (34 *Ptt* et 11 *Ptm*) isolats de *P. teres*. Elle a mis en évidence une grande variabilité des degrés d'attaque. Les résultats obtenus confirment que tous les isolats testés *in vitro* par inoculation sur des feuilles détachées de la variété Saïda, ont provoqué des symptômes typiques de la rayure réticulée de l'orge et ce suivant la forme inoculée. Dans le cas de l'inoculation par la forme *Ptt* du pathogène ; les symptômes sont exprimés par des taches nécrotiques brunâtres, plus au moins allongées et qui se développent longitudinalement. Elles se rejoignent formant des réseaux entourés par des chloroses et pouvant occuper toute la surface du limbe (Fig. 28 : A). Dans le cas d'inoculation par la forme *Ptm*, des nécroses ovales bien délimitées et entourées de zones chlorotiques sont observées (Fig. 28 : C). Les résultats du test d'inoculation sont reportés dans le tableau de l'Annexe 2. 4.

Dans le cas de la forme *P. teres f. teres*, chez les isolats très agressifs, la zone nécrosée et la chlorose touchaient toute la surface du limbe (Fig. 28 : B). Pour la forme *P. teres f. maculata*, les taches nécrotiques brunes entourées de chloroses, sont bien délimitées et espacées dans le cas des isolats faiblement agressifs (Fig. 28 : C), mais sont de plus en plus confondues quand les isolats sont plus agressifs (Fig. 28 : D).

L'évaluation de l'agressivité des différents isolats de *P. teres*, via le degré d'attaques causé sur la variété sensible (Saïda), a montré que les isolats étudiés étaient différents pour ce composant du pouvoir pathogène. L'analyse des résultats obtenus, révèle que parmi les isolats de forme *P. teres f. teres*, l'isolat Pt92, provenant de Boumerdès, avait provoqué le degré d'attaque le plus important 9,89/10 et a été donc le plus agressif. Pour la forme *P. teres f. maculata*, les deux isolats Pt154 et Pt164, provenant de Tipaza et Blida, se sont montrés les plus agressifs parmi les isolats testés ; ils ont causé le degré d'attaques le plus élevé, qui était de 8,33/9. L'isolat le moins agressif parmi ceux de la forme *Ptt*, était Pt209 (Tipaza) avec un degré d'attaque de (6,89/10), alors que les isolats Pt232 (Sétif) et Pt87 (Bouira), se sont montrés les moins agressifs parmi les isolats de forme *Ptm*, avec des degrés d'attaque ne dépassant pas 4/9.

L'analyse de la relation des niveaux d'agressivité évalués sur la base du degré d'attaque,

causé par chaque isolat avec l'origine géographique des isolats (Tableau XVIII), révèle les regroupements suivants. Les isolats provenant d'Alger, Boumerdès, Tizi-Ouzou, Blida, Médéa, Ain-Delfa, Constantine, Ain-Temouchent, Sidi-Bel-Abbès et Tlemcen, étaient tous classés comme étant très agressifs. Toutefois, pour le restant des Wilayas, à savoir, Tipaza, Bouira, Béjaïa et Sétif, les degrés d'attaque notés chez les isolats provenant de la même région, étaient variables. À Sétif, 83,33 % des isolats étaient notés très agressifs et uniquement 16,66 % comme étant moyennement agressifs. À Tipaza comme à Béjaïa, 80 % des isolats étaient notés comme étant très agressifs et 20 % comme étant moyennement agressifs. Enfin, à Bouira, 50 % des isolats faisaient partie du groupe des isolats très agressifs face à 25 % pour chacun des deux autres groupes (faiblement agressifs et moyennement agressifs).

Les résultats du test d'agressivité des 45 isolats de *P. teres*, a montré une importante variabilité entre les isolats provenant de différentes régions, mais aussi entre ceux originaires d'une même région. Ceci révèle que l'agressivité des isolats étudiés, n'est pas liée à l'origine géographique de ces derniers. La variabilité entre les isolats a été confirmée par l'analyse statistique réalisée à travers le test de Kruskal Wallis, qui a mis en évidence une différence très hautement significative ($P=0,000$), entre les isolats *Ptt* et une différence hautement significative ($P= 0,003$) pour les isolats *Ptm* (Annexe 5. 3).

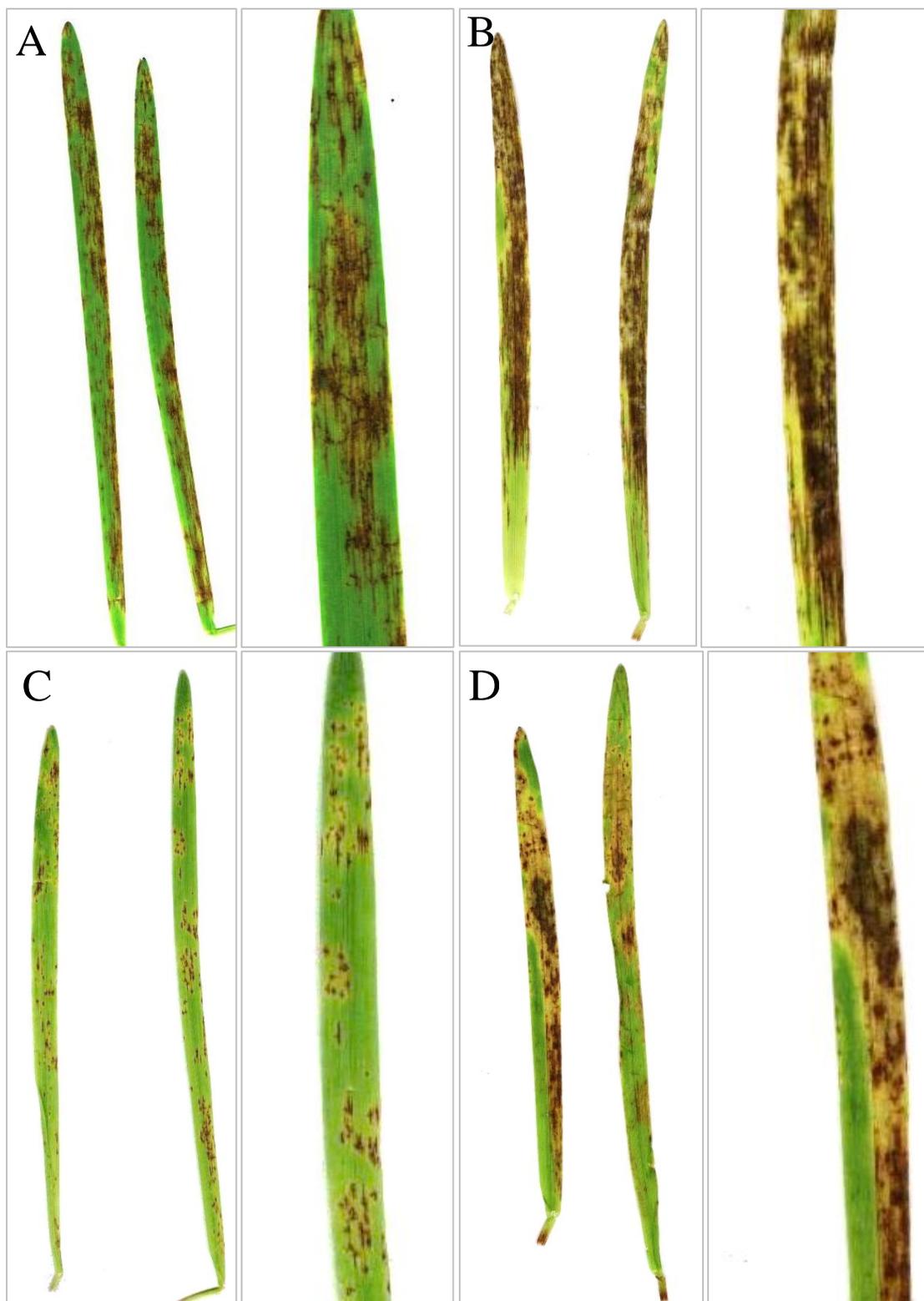


Figure 28: Symptômes induits sur feuilles d’orge détachées de la variété Saida, suite à l’inoculation par les isolats de *P. teres*. (Haut) Symptômes en forme de réseaux induits par les isolats de la forme *Ptt* : (A) Réaction à Pt125, notée 9/10 et (B) Réaction à Pt176 notée 10/10. (Bas) Symptômes en forme de taches brunes causés par les isolats de la forme *Ptm* : (C) Réaction à Pt91 notée 7/9 et (D) Réaction à Pt154 notée : 9/9.

Tableau XVIII : Agressivité (basée sur le degré d'attaque) noté chez les isolats collectés au niveau des champs des wilayas prospectées.

Wilaya	Degré d'attaque					
	Faiblement agressif		Moyennement agressif		Très agressif	
	Nombre d'isolats	Isolats (%)	Nombre d'isolats	Isolats (%)	Nombre d'isolats	Isolats (%)
Tipaza	0	0 %	1	20 %	4	80 %
Boumerdès	0	0 %	0	0 %	7	100 %
Tizi-Ouzou	0	0 %	0	0 %	3	100 %
Alger	0	0 %	0	0 %	5	100 %
Bouira	1	25 %	1	25 %	2	50 %
Blida	0	0 %	0	0 %	2	100 %
Médéa	0	0 %	0	0 %	1	100 %
Ain-Delfa	0	0 %	0	0 %	2	100 %
Constantine	0	0 %	0	0 %	2	100 %
Béjaïa	0	0 %	1	20 %	4	80 %
Sétif	1	16,66 %	0	0 %	5	83,33 %
Ain-Temouchent	0	0 %	0	0 %	1	100 %
Sidi-Bel-Abbas	0	0 %	0	0 %	1	100 %
Tlemcen	0	0 %	0	0 %	1	100 %
Total	2		3		40	

IV. 4. 3. Étude de la croissance mycélienne des isolats : Les résultats notés lors de notre étude (Annexe 2. 5. 1) montrent que les 50 isolats (38 *Ptt* et 12 *Ptm*) étudiés, se développent de manière distincte sur le même milieu de culture PDA et à la même température de 25 °C. La plus faible croissance mycélienne a été enregistrée chez l'isolat Pt115 (*Ptm*) provenant de Boumerdès, avec un diamètre de la colonie ne dépassant pas les 6,43 cm au bout du 6^{ème} jour de mesure. En revanche, l'isolat Pt232 de forme *Ptm* provenant de Sétif ainsi que les huit isolats (Pt143, Pt21, Pt63, Pt172, Pt176, Pt107, Pt228, Pt108) de forme *Ptt*, ont tous atteint le diamètre de croissance mycélienne le plus important (8,6 cm), avec un recouvrement total de la boîte de Petri par le mycélium, après seulement 6 jours d'incubation. Parmi ces isolats, trois provenaient de Sétif, un de Béjaïa, un de Constantine, un d'Aïn-Temouchent et deux de Boumerdès. Ces résultats montrent que, malgré la diversité de leurs origines géographique et de leurs formes pathogènes, ces isolats ont présenté la même vitesse de croissance mycélienne. La variabilité entre les isolats a été confirmée par l'analyse statistique réalisée à travers le test de Kruskal

Wallis, qui a mis en évidence une différence très hautement significative entre les diamètres de croissance des isolats notés au dernier jour (6^{ème}) et durant les autres jours de notation (P=0,000), (Annexe 5. 4. et Annexe 5. 5).

La comparaison des moyennes journalières des croissances de *Ptt* et *Ptm*, a mis en avant que la vitesse de croissance des isolats de la forme *Ptt* était plus importante pendant les 5 premiers jours. Tandis qu'au 6^{ème} jour la vitesse de croissance des isolats *Ptm* s'était montrée plus importante (Fig. 29), (Annexe 2. 5. 2)

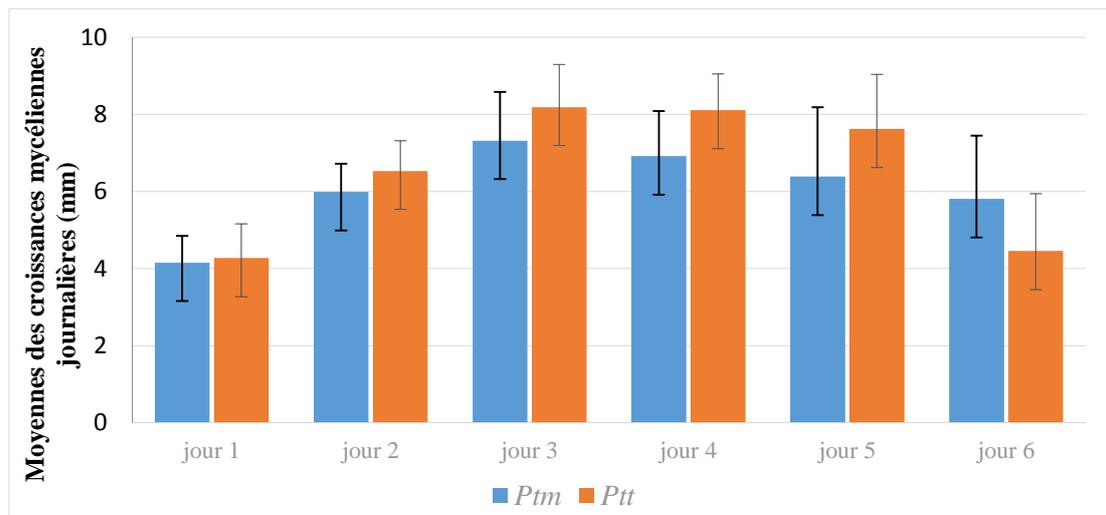


Figure 29 : Comparaison des croissances mycéliennes journalières (moyenne ± écart type) des isolats de la forme *Ptt* par rapport à ceux de la forme *Ptm*, pour les 6 jours d'évaluation.

Le test statistique de Mann-Whitney (Test non-paramétrique équivalent au T-test.) a été utilisé afin de confirmer l'existence ou non, de différence entre la vitesse de croissance des isolats de la forme *Ptt* et ceux de la forme *Ptm*, pour chaque jour de croissance. Les résultats de l'analyse ont montré qu'il existe des différences significatives entre les deux formes à partir du 2^{ème} jour de mesure (P=0,040, P=0,026, P=0,048 et P=0,015 pour le 2^{ème}, 3^{ème}, 5^{ème} et 6^{ème} jour, respectivement). Elle est hautement significative (P=0,006) pour le 4^{ème} jour. Concernant la croissance totale enregistrée au bout de 6 jours, une moyenne de 8,43 cm a été enregistrée pour les isolats *Ptt*, contre une moyenne de 7,91 cm chez les isolats *Ptm*. La comparaison entre les diamètres (croissance totale) enregistrés au 6^{ème} jour par chacune des deux formes *Ptt* et *Ptm*, par le test de Mann-Whitney a mis en évidence la présence d'une différence hautement significative (P=0,002) entre les valeurs notées chez les deux formes (Annexe 5. 6.)

La recherche de corrélations entre les trois paramètres utilisés (le taux de sporulation *in-vitro*, la sévérité de la maladie, par extension le taux de la croissance), via le test Rho de

Spearman a révélé l'absence de corrélations entre ces derniers, et ce, pour les deux formes du pathogène (Annexe 6).

Discussion :

L'évaluation de l'agressivité, réalisée sur les isolats de *P. teres in-vitro*, via trois traits élémentaires de nature quantitative (sporulation, degré d'attaque enregistré sur la plante hôte et la croissance mycélienne), a dévoilé l'existence d'une variabilité entre les isolats provenant de différentes régions, mais aussi entre ceux originaires d'une même région. Ceci révèle que les trois paramètres étudiés, ne reflètent pas la provenance géographique des isolats. La même conclusion concernant la croissance mycélienne et l'agressivité évaluée par le degré d'attaque a été aussi tirée par Boungab (2013), suite à une étude portée sur des isolats de *P. teres* originaires de l'Ouest du pays.

La comparaison entre les intensités de sporulation obtenues pour chacune des formes (*Ptt* et *Ptm*), a révélé un pouvoir de sporulation plus élevé dans le cas des isolats *Ptt* comparé aux isolats *Ptm*. Ces résultats concordent avec ceux de Louw *et al.* (1995), qui ont reportés que les isolats *Ptt* sporulaient plus abondamment ($> 10^4/\text{ml}$) que les isolats de *Ptm* ($<10^4/\text{ml}$). Ceci est également vrai pour ceux rapportés par Scott (1991), qui a noté une sporulation plus abondante sur milieux SAA (Saccharose Asparagine Agar), chez les isolats induisant la forme réticulée de la maladie, comparés aux isolats causant la forme circulaire.

L'inoculation des 45 isolats de *P. teres* (34 *Ptt* et 11 *Ptm*), par le biais de la technique des feuilles détachées (El-Mor *et al.*, 2017), a permis de noter des degrés d'attaques variables sur la variété sensible Saïda. L'étude a également montré la présence d'isolats agressifs et très agressifs, dans la majorité des régions étudiées. Des résultats similaires ont été reportés par Boungab (2003), qui a noté la présence d'isolats agressifs dans 6 wilayas de l'Ouest du pays.

La relation entre le degré d'attaque provoqué par l'agent pathogène et les deux autres paramètres utilisés ont été testée. Les tests statistiques, n'ont révélé aucune corrélation ; ces résultats sont contradictoires avec les résultats de Boungab (2013), qui a reporté une corrélation positive entre la croissance des thalles des isolats et leur degré d'agressivité (évalué par le degré d'attaque). Ils sont cependant, en accord avec ceux de Jalli (2010), qui a montré qu'il n'existait aucune relation entre la réponse à l'infection par *P. teres* (basée sur l'échelle de Tekauz, 1985) et entre la croissance mycélienne et l'intensité de production de spores.

Concernant la vitesse de croissance mycélienne, nos résultats semblent concorder avec ceux de Chamakh (2007), qui durant un essai réalisé sur 5 isolats algériens de *P. teres*, avait noté des croissances mycéliennes allant de 7,23 cm à 8 cm sur milieu PDA, et ce, après 6 jours d'incubation à 23 °C. Sur le même milieu de culture, l'essai de Boungab (2013) porté sur 60 isolats, a mis en évidence des croissances très variables allant de 4,83 cm à 8,5cm, ces résultats ont été obtenus au bout de 7 jours à 22 °C. Il est cependant à noter que des croissances plus importantes (8,6 cm) ont été parfois observées dans notre étude. Ceci pourrait être expliqué par le fait que la température utilisée (25 °C) était plus élevée que dans les deux testes cités précédemment. Des diamètres moins importants ont été rapportés par Mougou-Hamdane *et al.* (2018), sur milieu PDA et à une température égale à 23 °C (une moyenne de 5,46 cm) et par Panã *et al.* (2015) qui ont enregistré une moyenne de 5,5 cm après 6 jours d'incubation.

L'analyse des résultats de la croissance mycélienne totale, a mis en évidence une différence hautement significative entre les deux formes, avec une moyenne de croissance totale et des croissances mycéliennes journalières, plus importante (pendant les 5 premiers jours) chez les isolats *Ptt*. Cette différence constatée, pourrait être en relation avec la différence du processus infectieux chez les deux formes. Comme indiqué par Lightfoot et Able (2010), qui ont étudié ce phénomène *in-planta*, ces auteurs ont conclu que la croissance du mycélium a été plus importante chez *Ptt*, qui s'établit dans la plante hôte, directement comme nécrotrophe et pénètre plus rapidement dans le mésophylle. Ces mêmes auteurs, rapportent que contrairement à la première forme du pathogène, *Ptm* semblait croître initialement comme un biotrophe, formant des vésicules intracellulaires dans les cellules épidermiques, avant de devenir nécrotrophe et se développer dans le mésophylle.

Une moyenne de croissance mycélienne plus importante chez les *Ptt* a été aussi notée par Mougou-Hamdane *et al.* (2018). Alors que Carvalho (1990) et Boungab (2003), n'avaient mentionné aucune différence dans leurs études incluant les deux formes du pathogène. Il est toutefois à rappeler que l'identification des deux formes chez ces derniers, n'était basée que sur le diagnostic symptomatologique, qui peut souvent prêter à confusion.

IV. 5. Sensibilité de la population algérienne de *P. teres* aux fongicides (QoIs, ISDHs et IDMs)

IV. 5. 1. Recherche des mutations conférant la résistance aux QoI et aux ISDH par Pyroséquençage: Les analyses effectuées par pyroséquençage au niveau des gènes codant

pour la protéine membranaire *cytb* et pour les sous-unités (B-C) de l'enzyme *SDH*, ont montré l'absence de toutes mutations. Ainsi, aucune des mutations F129L ou G137R n'a été retrouvée dans le gène codant pour la *cytb*, de même qu'aucune mutation parmi les cinq testés (B-H277Y, C-N75S, C-G79R, C-H134R et C-S135R) n'a été détectée dans les gènes codant pour les *sdh-B* et *sdh-C*, et ce, pour tous les isolats testés. Ces résultats confirment que la population de *P. teres* incluse dans cette étude, comporte uniquement des individus de type sauvage.

Il est important de noter que dans le cas des pyrosequençages concernant la mutation B-H277 aucun signal n'a été détecté pour les isolats de forme *P. teres f. maculata*.

IV. 5. 2. Évaluation *in vitro* de l'efficacité des fongicides par la technique de la microtitration sur plaque : L'ensemble des valeurs moyennes des concentrations efficaces médianes (CE_{50}) enregistrées pour chacun des six fongicides testés, sont réunies dans le tableau de l'annexe 2. 6. Les résultats des tests fongicides appliqués aux 45 isolats représentatifs de la collection de *P. teres* analysée, ont montré que l'effet des fongicides sur l'inhibition de la croissance des isolats *in vitro* était différent comme représenté par la figure 30. L'analyse globale de ces résultats montre que les isolats étudiés étaient plus sensibles aux fongicides du groupe IDM (époxyconazole, tébuconazole et propiconazole) que tous les isolats européens témoins. Comparés aux isolats européens sensibles aux QoI et/ou ISDHs, ils présentaient cependant une sensibilité légèrement plus réduite, à l'azoxystrobine, la pyraclostrobine et au fluxapyroxad (Fig. 30).

Par ailleurs, l'analyse statistique des valeurs de CE_{50} enregistrées pour chaque fongicide (Annexe, 2. 6.), à l'aide de la méthode de classification par k-moyennes (k-mean Clustering), a montré la présence d'un effet différentiel des fongicides sur les isolats testés. En effet, le test statistique appliqué a mis en évidence 5 groupes d'isolats homogènes, avec des différences de sensibilité très significatives (tableau XIX).

L'analyse des résultats réunis dans le tableau précédent, nous montre que pour chaque traitement fongicide, les 45 isolats testés ont été classés dans 5 groupes homogènes, exprimant des différences très significatives. Ce classement a été réalisé en fonction de la sensibilité des isolats à chaque fongicide, et les groupes ont été choisis pour maximiser les différences entre les observations des différents groupes distingués.

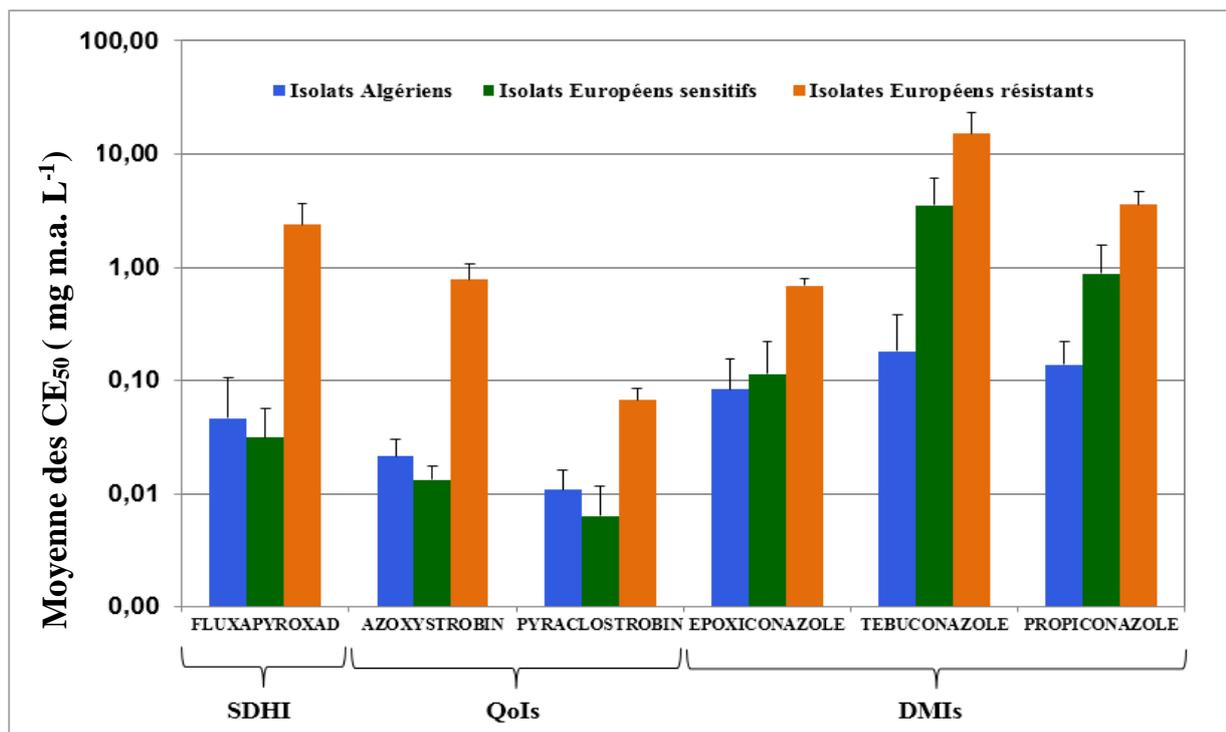


Figure 30 : Sensibilités des isolats algériens de *P. teres* exprimées par les CE₅₀ (moyenne ± ET), enregistrées suite aux six traitements fongicides testés et comparées à celles des isolats témoins (sensibles et résistants) provenant d'Europe.

Tableau XIX: Classification des isolats par le test k-moyennes (k-mean Clustering), montrant les 5 différents groupes, le nombre d'isolats réunis dans chaque groupe et les intervalles des CE₅₀, pour les six fongicides testés.

Azoxystrobine			Pyraclostrobine			Fluxapyroxad		
Groupe	Intervalles des CE ₅₀ (mg (m.a.) L ⁻¹)	Isolats	Groupe	Intervalles des CE ₅₀ (mg (m.a.) L ⁻¹)	Isolats	Groupe	Intervalles des CE ₅₀ (mg (m.a.) L ⁻¹)	Isolats
A	0,005-0,009	2	A	0,002-0,0062	9	A	0,008-0,0286	16
B	0,01-0,019	20	B	0,0065-0,01	17	B	0,0307-0,044	17
C	0,021-0,029	18	C	0,011-0,014	9	C	0,0537-0,0696	8
D	0,034	1	D	0,015-0,018	7	D	0,076-0,098	3
E	0,038-0,041	4	E	0,023-0,026	3	E	0,41	1

Epoxiconazole			Tebuconazole			Propiconazole		
Groupe	Intervalles des CE ₅₀ mg (m.a.) L ⁻¹	Isolats	Groupe	Intervalles des CE ₅₀ mg (m.a.) L ⁻¹	Isolats	Groupe	Intervalles des CE ₅₀ mg (m.a.) L ⁻¹	Isolats
A	0,0015-0,035	15	A	0,0256-0,098	19	A	0,0323-0,0835	14
B	0,037-0,091	13	B	0,113-0,216	12	B	0,086-0,149	14
C	0,099-0,152	9	C	0,251-0,315	10	C	0,155-0,227	12
D	0,166-0,215	5	D	0,37-0,444	3	D	0,249-0,307	4
E	0,228-0,26	3	D	1,217	1	E	0,43	1

IV. 5. 2. 1. Évaluation de la sensibilité de la population algérienne de *P. teres* aux QoI :

Les résultats du test fongicide par l'azoxystrobine ont montré que la CE₅₀ moyenne des isolats étudiés était d'environ 0,021 mg L⁻¹ et que les CE₅₀ enregistrées (0,005 - 0,041 mg L⁻¹), étaient comparables à celles des témoins sensibles européens (0,008 - 0,020 mg L⁻¹). Cependant un intervalle beaucoup plus important (0,39 - 1,34 mg L⁻¹) a été noté pour les isolats témoins européens, porteurs de la mutation F129L. Les valeurs des CE₅₀ exprimées par les isolats algériens dans le cas de la pyraclostrobine variaient entre 0,002 et 0,026 mg L⁻¹ avec une moyenne de 0,011 mg L⁻¹. Ces valeurs étaient également clairement inférieures à celles des isolats européens mutants (F129L) qui variaient de 0,043 à 0,095 mg L⁻¹. Les différences entre les isolats de type sauvage (aussi bien les isolats algériens que les témoins provenant d'Europe) et ceux porteurs de la mutation génétique (F129L), étaient plus faibles dans le cas de pyraclostrobine comparant à l'azoxystrobine (Fig. 30).

Selon la classification par la méthode de k-moyennes (k-mean Clustering), environ 89 % (40 isolats) des isolats algériens avaient une CE₅₀ égale ou inférieure à 0,029 mg L⁻¹ pour l'azoxystrobine, tandis que 93 % (42 isolats) exprimaient une CE₅₀ égale ou inférieure à 0,018 mg L⁻¹ pour la pyraclostrobine (tableau XIX).

La comparaison des CE₅₀ obtenues dans le cas des deux traitements azoxystrobine et pyraclostrobine pour les deux groupes d'isolats *Ptt* et *Ptm*, a montré que les moyennes des CE₅₀ chez les isolats *Ptt*, étaient égales à 0,24 mg L⁻¹ pour l'azoxystrobine et à 0,11 mg L⁻¹ pour la

pyraclostrobine et qu'elles étaient égales à 0,21 mg L⁻¹ azoxystrobine et à 0,12 mg L⁻¹ pyraclostrobine pour les isolats *Ptm*. Un test-t bilatéral a montré que les différences entre les valeurs des CE₅₀ obtenues pour chacune des deux formes n'étaient pas statistiquement significatives à un niveau de 5 % (P= 0,34 pour l'azoxystrobine et P= 0,76 pour la pyraclostrobine).

IV. 5. 2. 2. Évaluation de la sensibilité initiale de la population algérienne de *P. teres* au Fluxapyroxad (ISDH) (baseline sensitivity) : Pour le fongicide du groupe ISDH testé dans notre étude (fluxapyroxad), une CE₅₀ moyenne de 0,047 mg de fluxapyroxad L⁻¹ et des valeurs de CE₅₀ allant de 0,008 à 0,098 mg L⁻¹, ont été enregistrés pour les isolats algériens. Ces valeurs étaient proches de celles des témoins sensibles (Fig. 30), mais clairement inférieures à celles exprimées par les isolats témoins porteurs des deux mutations (C-G79R et C-N75S), dont les valeurs du CE₅₀ variaient de 0,64 à 4,93 mgL⁻¹. Cependant, un comportement particulier à l'égard du traitement par ce fongicide a été relevé chez l'isolat Pt157 (*Ptt*) collecté à Ain-Defla (Bni-mghenem). Ce dernier a montré en effet une CE₅₀ plus élevée que celle du reste des isolats algériens et des témoins sensibles, évaluée à 0,41 mg de fluxapyroxad L⁻¹.

L'analyse statistique a montré que les valeurs de CE₅₀ pour les 45 isolats algériens peuvent également être regroupées en cinq groupes homogènes, exprimant des différences très significatives (tableau XIX). Selon les résultats du regroupement par la méthode de k-moyennes (k-mean Clustering), environ 91 % (41 isolats) des isolats de *P. teres* avaient une CE₅₀ ≤ 0,07 mg de fluxapyroxad L⁻¹ et 97,8 % (44 isolats) avaient une CE₅₀ ≤ 0,098 mg de fluxapyroxad L⁻¹ (tableau XIX).

La CE₅₀ moyenne pour les isolats de *Ptt* était égale à 0,044 mg de L⁻¹ et à 0,022 mg de L⁻¹ pour les isolats *Ptm*. Un test-t bilatéral effectué à un niveau de signification de 5 %, a confirmé que les valeurs de CE₅₀ obtenues pour chacune des formes étaient très significativement différentes (P < 0,001).

IV. 5. 2. 3. Évaluation de la sensibilité de la population algérienne de *P. teres* aux IDM : La population algérienne de *P. teres* a montré des intervalles assez larges de CE₅₀ pour les trois fongicides (IDMs) testés. Nos isolats ont exprimé des CE₅₀ allant de 0,032 à 0,43 mg L⁻¹ pour le propiconazole, de 0,026 à 1,22 mg L⁻¹ pour le tébuconazole et de 0,0015 à 0,26 mg L⁻¹ pour l'époxiconazole, avec des valeurs moyennes de 0,14 , 0,18 et 0,08 mgL⁻¹, respectivement. La population pathogène algérienne s'est montrée plus sensible que les témoins

européens, signalés comme ayant une perte de sensibilité aux IDMs, pour lesquels des valeurs CE_{50} clairement plus élevées étaient enregistrées. Celles-ci ont montré des moyennes égales à 3,56 mg de propiconazole L^{-1} , 15,13 mg de tébuconazole L^{-1} et 0,69 mg d'époxiconazole L^{-1} . La moyenne de la CE_{50} notée pour la population algérienne dans le cas du traitement à l'époxiconazole était très proche de celle des témoins sensibles européens. Cependant, avec le tébuconazole et le propiconazole, une différence claire des moyennes de la CE_{50} a été remarquée (Fig. 30).

Le test des k-moyennes (k-mean Clustering), a indiqué que les valeurs de CE_{50} de tous les isolats testés peuvent être regroupées en cinq groupes homogènes, présentant des différences très significatives (tableau XIX). Selon ces résultats, environ 82 % (37 isolats) de la population algérienne testée avaient une $CE_{50} \leq 0,152$ mg d'époxiconazole L^{-1} , 91 % (41 isolats) ont exprimé une CE_{50} égale ou inférieure à 0,315 mg de tébuconazole L^{-1} et que 89 % (40 isolats) ont montré une $CE_{50} < 0,227$ mg de propiconazole L^{-1} .

Les trois fongicides du groupe IDM testés dans cette étude, se sont montrés plus efficaces contre les isolats *Ptt* que les isolats *Ptm*. Cette différence était significative pour l'époxiconazole et le tébuconazole suite aux résultats du test-t bilatéral ($P < 0,001$ et $P = 0,003$, respectivement). Une CE_{50} moyenne de 0,07 mg d'époxiconazole L^{-1} a été enregistrée pour la forme *Ptt*, tandis qu'une valeur remarquablement plus élevée de 0,15 mg de L^{-1} a été notée pour la forme *Ptm*. Les valeurs enregistrées pour *Ptt* étaient également inférieures à celles des isolats de *Ptm* pour le traitement tébuconazole (0,14 mg L^{-1} et 0,33 mg L^{-1} , respectivement). Cependant, avec le propiconazole, la CE_{50} moyenne des deux formes était très rapprochée avec une CE_{50} moyenne de 0,13 mg L^{-1} pour les isolats de *Ptt* et de 0,16 mg L^{-1} pour les isolats de *Ptm*.

IV. 5. 2. 4. Évaluation *in planta* de l'efficacité des fongicides sous serre : Les essais sous serre en conditions contrôlées, ont révélé que l'efficacité des traitements variait entre les différents fongicides (azoxystrobine, fluxapyroxad et l'époxiconazole). Cette variabilité a été aussi enregistrée entre les doses (dose préconisée complète, 1/9 et 1/3 de la dose préconisée) appliquées. Les résultats obtenus sont illustrés à travers les figures 31, 32, 33 et 34.

Une excellente inhibition de la maladie résultante de l'inoculation des isolats algériens, a été obtenue dans le cas des traitements à l'azoxystrobine et au fluxapyroxad. À l'opposé, l'époxiconazole a montré un niveau de contrôle plus faible de l'infection, par rapport aux deux traitements précédents. Ceci était vrai aussi bien pour, l'inhibition enregistrée suite à

l'application de la dose recommandée sur le terrain, que pour les deux autres dilutions (Fig. 31).

Une analyse plus fine des résultats, révèle que dans le cas des deux traitements azoxystrobine et fluxapyroxad, des pourcentages élevés d'inhibition de la maladie ont été enregistrés. Cette importante inhibition, a été notée suite à l'inoculation de chacun des isolats sensibles (algériens et témoins européens), et ce, même à 1/3 et 1/9 des doses préconisées au champ (Fig. 32, 33). Ainsi, l'efficacité de l'azoxystrobine *in planta* vis-à-vis des deux isolats algériens, était très satisfaisante, avec des valeurs moyennes d'inhibitions de 63,6 %, 75,1 % et de 90,8 % pour l'isolat Pt157, respectivement pour 28 g m.a./ha., 83 g m.a./ha, 250 g m.a./ha. Cette inhibition a été évaluée à 72,87 %, 88,37 % et 93,02 % pour l'isolat Pt142, pour les mêmes doses respectivement.

Ces résultats étaient comparables à ceux obtenus pour les isolats témoins sensibles, cependant, le cas de l'isolat Pt157 est à noter, celui-ci s'est, en effet, montré légèrement moins sensible que les autres isolats à la dose 83 g m.a. /ha d'azoxystrobine (Fig. 32).

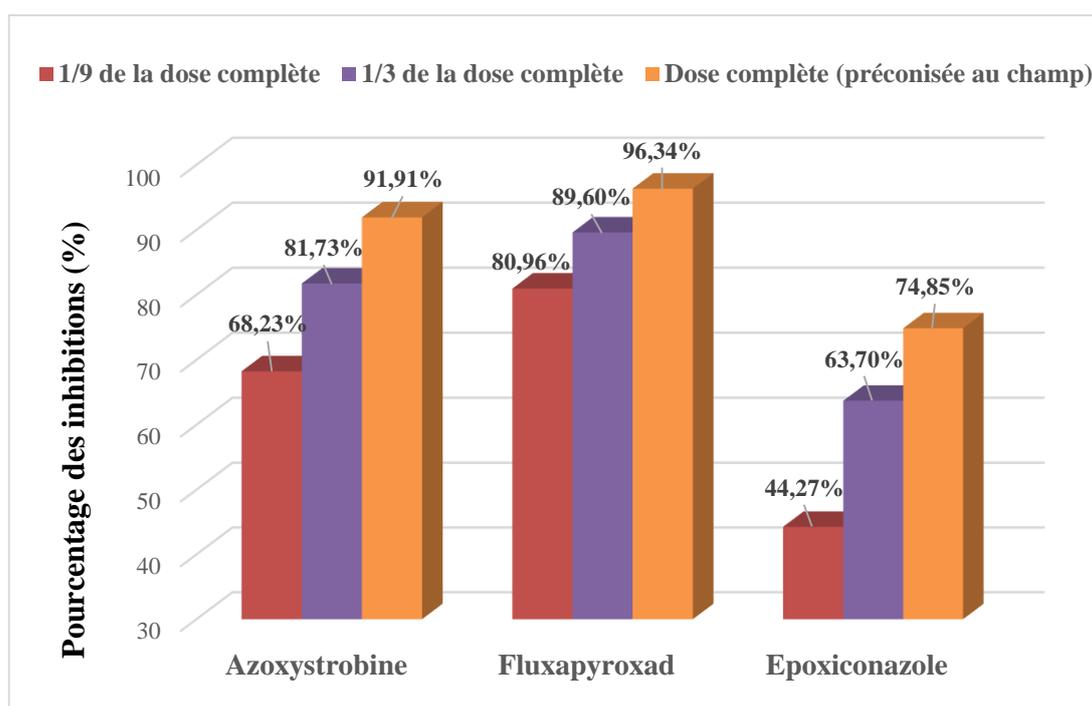


Figure 31 : Moyennes des pourcentages d'inhibitions de la rayure réticulée, sur les plants d'orge inoculés par les deux isolats algériens (Pt157 et Pt142), résultants des trois doses (dose préconisée complète, 1/3 et 1/9 de la dose préconisée) appliquées d'azoxystrobine, de fluxapyroxad et d'époxiconazole, testés en traitements préventifs, un jour avant l'inoculation.

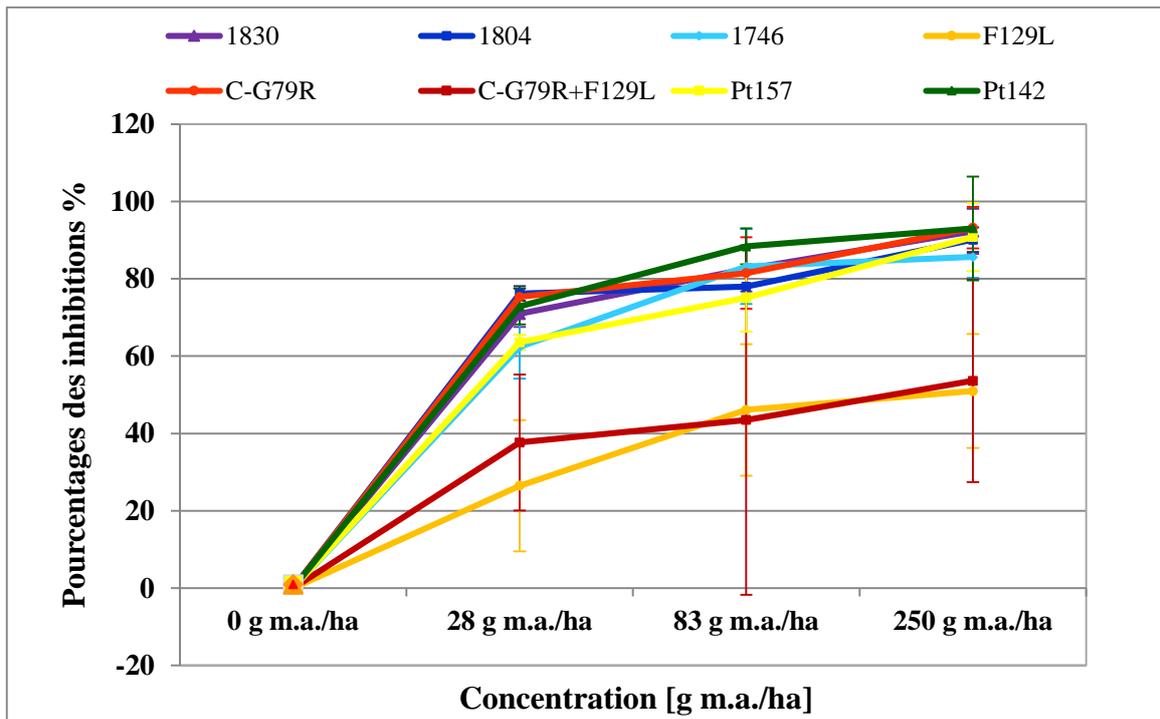


Figure 32 : Pourcentages des inhibitions (moyenne \pm ET) de la rayure réticulée de l'orge, enregistrés dans le cas des traitements à base d'azoxystrobine (28 g m.a./ha, 83 g m.a./ha et 250 g m.a./ha) appliqués en traitement préventif, un jour avant l'inoculation par les isolats de type « sauvage » de *P. teres* provenant d'Algérie (Pt157 et Pt142) et d'Europe (Pt1830, Pt1804 et Pt1746) et par des isolats mutants porteurs de la mutation F129L (Pt1669, Pt1685).

Dans le cas du fluxapyroxad, des pourcentages d'inhibitions de la maladie très satisfaisants ont été enregistrés aussi *in planta*, suite à l'inoculation des isolats algériens Pt157 et Pt142. Les moyennes d'inhibitions enregistrées sont de 75,1 %, de 89,27 % et de 96,55 %, notées dans le cas de Pt157, respectivement pour 14 g m.a./ha, 42 g m.a./ha et 125 g m.a./ha. Elles sont de 86,82 %, 89,92 % et de 96,12 % dans le cas de Pt142, respectivement pour les mêmes doses. Ces valeurs ont été également proches de celles observées suite à l'utilisation des isolats européens sensibles, sauf pour l'isolat Pt157 qui s'est aussi avéré légèrement moins sensible à la dose 14 g m.a./ha (Fig. 33).

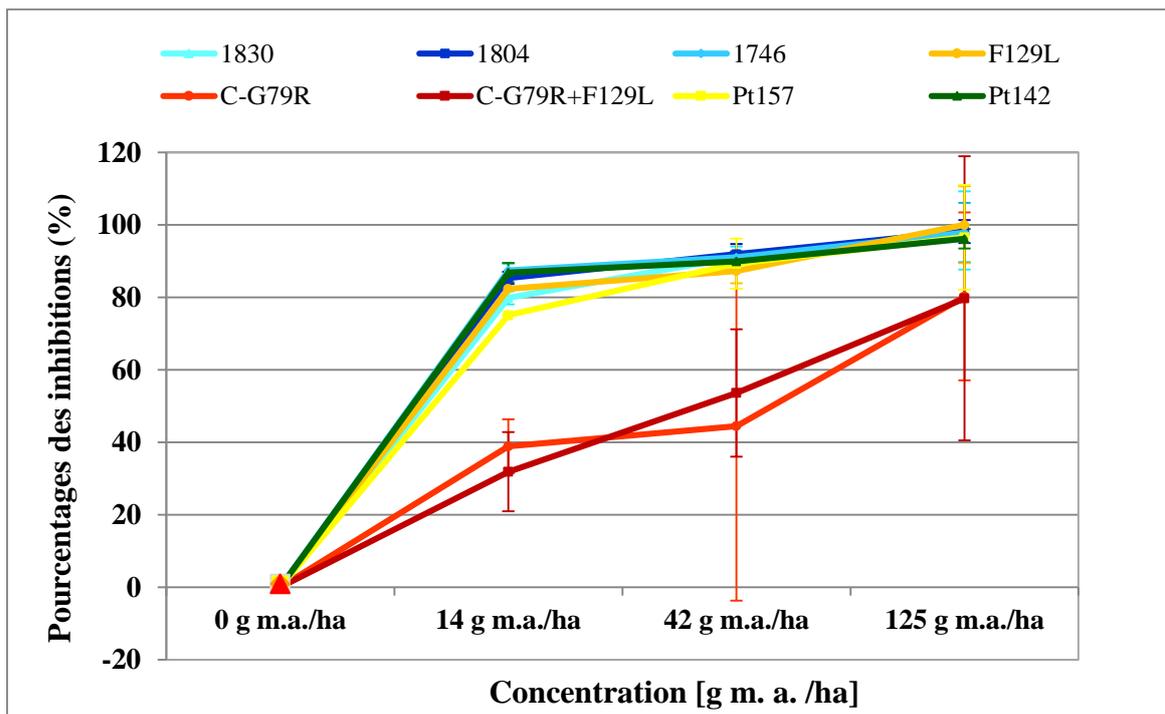


Figure 33 : Pourcentages des inhibitions (moyenne \pm ET) de la rayure réticulée de l'orge, enregistrés dans le cas des traitements à base de fluxapyroxad (14 g m.a./ha, 42 g m.a./ha et 125 g m.a./ha) appliqués en traitement préventif, un jour avant l'inoculation par les isolats de type « sauvage » de *P. teres* provenant d'Algérie (Pt157 et Pt142) et d'Europe (Pt1830, Pt1804 et Pt1746), et par des isolats mutants porteurs de la mutation C-G97R (Pt1669, Pt1900).

Cependant, nos résultats montrent que l'efficacité des deux fongicides : azoxystrobine et fluxapyroxad est fortement affectée comme attendue, par la présence des mutations du gène *cytb* (F129L) et celle du gène *sdh* (C-G79R), chez les témoins résistants de provenance d'Europe. Cela a été évident avec les isolats Pt1685 et Pt1669 porteurs de la mutation F129L (Fig. 32) et avec les isolats Pt1900 et Pt1669 porteur de la mutation C-G79R (Fig. 33).

Comparés aux deux fongicides précédents, les tests *in planta* ont révélé une efficacité moins importante des traitements à base d'époxiconazole. Par ailleurs, et contrairement aux réactions notées dans le cas des traitements à l'azoxystrobine et au fluxapyroxad, les deux isolats algériens testés se sont comportés différemment au traitement à l'époxiconazole. En effet, les pourcentages d'inhibitions notés pour l'isolat Pt157 étaient comparables à ceux des isolats témoins sensibles, tandis que, ceux enregistrés pour l'isolat Pt142, étaient nettement plus importants. Les taux d'inhibition enregistrés pour l'isolat Pt157 étaient de 19,54 %, 44,44 % et 59,77 % respectivement pour les doses 14 g m.a./ha, 42 g m.a./ha et 125 gm.a./ha, alors que pour l'isolat Pt142, ils étaient de 69 %, 83 % et 90 % respectivement pour les mêmes doses

(Fig. 34) d'époxiconazole.

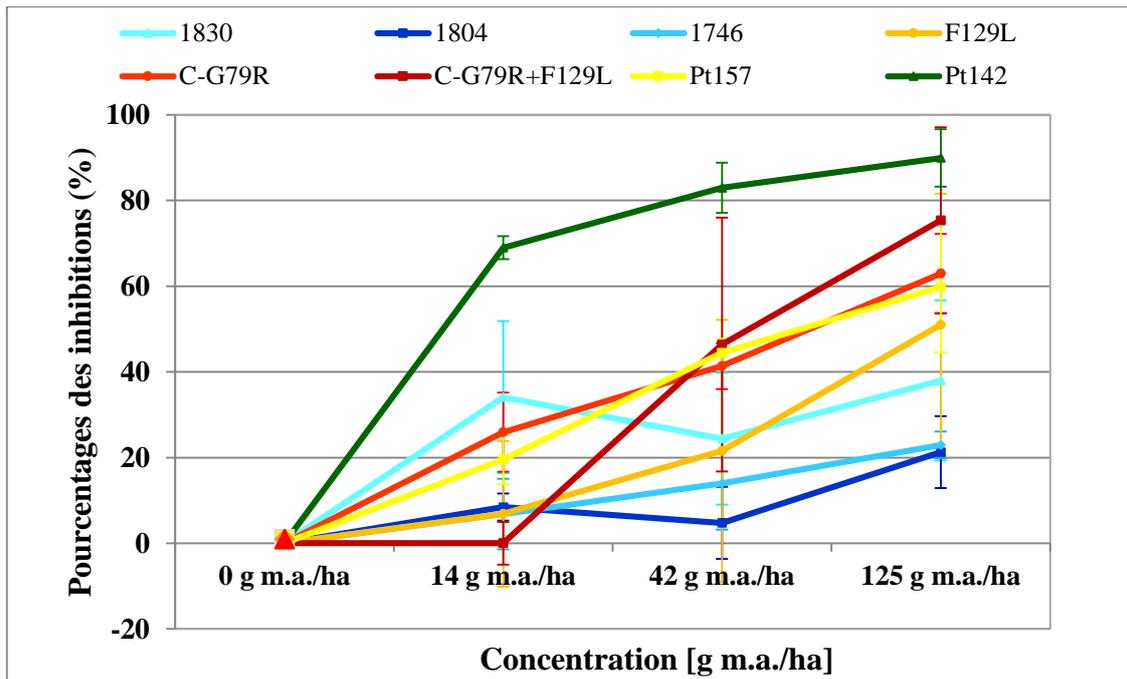


Figure 34 : Pourcentages des inhibitions (moyenne \pm ET) de la rayure réticulée de l'orge, enregistrés dans le cas des traitements à base d'époxiconazole (14 g m.a./ha, 42 g m.a./ha et 125 g m.a./ha) appliqués en traitement préventif, un jour avant l'inoculation par les isolats de *P. teres* provenant d'Algérie (Pt157 et Pt142) et d'Europe (Pt1830, Pt1804, Pt1746, Pt1685, Pt1669 et Pt1900).

Discussion :

L'analyse moléculaire par Pyroséquençage réalisée chez 212 isolats de *P. teres*, isolés à partir de 42 sites répartis sur 17 wilayas algériennes où l'orge est cultivée, a démontré l'absence de mutations conférant la résistance aux fongicides des groupes des Inhibiteurs Externes de la Quinone (QoI) et des Inhibiteurs de la Succinate Déshydrogénase (ISDH). Aucune mutation au niveau des gènes *cytb*, *sdh-b* et *sdh-c*, n'a été détectée chez l'ensemble des isolats analysés.

L'approche adoptée pour la gestion des résistances aux fongicides du groupe chimique QoI, est la recherche des mutations F129L et G137R. En effet, la résistance aux fongicides de ce groupe chez *P. teres* est conférée le plus souvent, par la mutation F129L (FRAC, 2013). La mutation G137R confère également la même résistance, mais celle-ci est plus rare (FRAC, 2013). La mutation G143A n'a jamais été détectée chez *P. teres*, à cause de la présence d'un intron suivant directement le codon 143 (Grasso *et al.*, 2006 ; Fernández-Ortuño *et al.*, 2008),

suggérant que la résistance basée sur la mutation G143A peut ne pas être exprimée chez *P. teres* car elle est létale (Sierotzki *et al.*, 2007).

L'analyse génétique de F129L et G137R, uniquement, est donc suffisante pour vérifier la sensibilité des populations ou des isolats de *P. teres* aux fongicides du groupe QoI. Dans ce contexte et en se basant sur la population de *P. teres* considérée dans cette étude, nos résultats indiquent qu'il n'y a pas de résistance aux QoI dans les régions prospectées d'Algérie. Ceci a été confirmé par l'analyse de sensibilité *in vitro*, de 45 isolats représentatifs et qui a montré des valeurs de CE₅₀ classant tous les isolats comme étant sensibles à l'azoxystrobine et à la pyraclostrobine.

Les valeurs obtenues dans nos tests sont comparables à celles obtenues par (Matsuzaki *et al.*, 2019), qui ont noté une CE₅₀ de 0,0054 mg azoxystrobine L⁻¹ pour un isolat de *P. teres* provenant de France (type sauvage) et 0,31 mg azoxystrobine L⁻¹ pour l'isolat mutants (F129L). Pour le même fongicide, Mair *et al.* (2016), ont aussi noté des CE₅₀ comparables, situés entre 0,004 et 0,015 (µg mL⁻¹) pour des isolats sensibles aux QoIs. En revanche, une valeur beaucoup plus importante, égale à 19,05 (mg L⁻¹) d'azoxystrobine a été enregistrée par Moustafa (2017) sur un isolat provenant d'Egypte. L'estimation des CE₅₀ dans ce dernier cas, a été possible, suite à un test de croissance mycélienne classique (en boîte de Petri) et non à une microtitration comme dans notre étude, ce qui rend la comparaison directe difficile.

Pour le traitement à base de pyraclostrobine, Marzani (2011) a noté des CE₅₀ allant de 0,1 à 0,22 mg L⁻¹ pour les isolats de type sauvage (*Ptt*) et allant de 0,28 à 0,69 mg L⁻¹ pour les mutants. Ces résultats sont très semblables à ceux que nous avons obtenus pour nos isolats de type sauvages, mais sont très divergents dans le cas des isolats mutants. Matsuzaki *et al.* (2019), ont noté une CE₅₀ égale à 0,0013 mg L⁻¹ pour le même isolat de type sauvage et égale à 0,0086 mg L⁻¹ pour le mutant F129L. Suemoto *et al.* (2019) ont noté des CE₅₀ variant entre 0,002 et 0,003 mg L⁻¹ pour les quatre isolats de types sauvages provenant d'Allemagne, de France et de la Pologne et entre 0,029 - 0,033 mg L⁻¹ pour les isolats porteurs de la mutation F129L. Bien que les valeurs des CE₅₀ notées par ces auteurs soient comparables avec celles obtenues dans nos tests, des intervalles plus larges incluant des CE₅₀ plus importantes ont été exprimés par nos isolats (de type sauvage et mutants).

Les valeurs moyennes de la CE₅₀ pour l'azoxystrobine et la pyraclostrobine obtenues pour les *Ptt* et pour les *Ptm* étaient très proches. Ceci est en concordance avec les résultats obtenus

par Akhavan (2017), qui a évalué l'efficacité de pyraclostrobine sur une population de *Ptt* et *Ptm* provenant de l'Ouest Canadien.

Les résultats de nos tests *in vitro* et *in planta*, confirment que l'efficacité des fongicides appartenant au groupe QoI dans la lutte contre la rayure réticulée de l'orge est très importante, et que l'utilisation des QoIs reste toujours recommandée en Algérie. Sachant que plusieurs produits à base de Strobilurines (AMISTAR XTRA, OPERA, PINK et PRIORI® OPTI), ont déjà été homologués en Algérie contre plusieurs maladies de céréales y compris l'orge, depuis plusieurs années (Index Phytosanitaire, 2017). Un suivi régulier de la sensibilité des populations phytopathogènes décrites comme étant à risque par le comité FRAC (notamment *P. teres*), est fortement souhaité afin de détecter les éventuelles mutations pouvant surgir et de permettre une efficacité durable des QoIs en Algérie.

Par ailleurs, l'approche adoptée pour les fongicides du groupe chimique ISDH, trouve également son origine dans les mécanismes de résistance chez *P. teres* à ce groupe de fongicides. En effet, ces mécanismes sont plus complexes, car plusieurs mutations peuvent être impliquées ; elles peuvent provoquer des pertes de sensibilité de niveaux différents chez *P. teres* (Rehfus *et al.*, 2016). Elles seraient donc à l'origine de pertes d'efficacité du fongicide dont l'importance est différentes d'une mutation à une autre. La résistance aux ISDHs chez *P. teres*, est principalement causée par la présence de l'une des onze mutations recensés au niveau des gènes *sdh-b*, *sdh-c* et *sdh-d*, jusqu'à présent (Rehfus, 2018). Ainsi, en parallèle aux tests d'efficacité *in-vitro*, les mutations (B-H277Y, C-N75S, C-G79R, C-S135R et C-H134R) ont été choisies et recherchées, lors de l'analyse de la population algérienne de *P. teres*. La B-H277Y, a été la première mutation identifiée chez des isolats résistants aux ISDH en Europe en 2012, tandis que la C-G79R est la plus fréquente en Europe à partir de 2013 (Rehfus, 2016).

L'analyse *in vitro* de l'efficacité d'un fongicide (fluxapyroxad) de ce groupe chimique sur 45 isolats, a permis d'évaluer la sensibilité initiale (baseline) de la population pathogène présente dans nos champs à ce produit. Cette information sera très précieuse lors de son introduction ; elle permettra d'établir les doses adéquates et rationnelles aux traitements de la maladie en Algérie. L'analyse a révélé, que presque tous les isolats étaient de même sensibles, exception d'un seul isolat qui avait exprimé une valeur de CE₅₀ légèrement plus élevée. Les valeurs des CE₅₀ obtenues durant nos tests, sont similaires à ceux de Suemoto *et al.* (2019) qui ont noté un intervalle de CE₅₀ allant de 0,009 à 0,011 µg de fluxapyroxad mL⁻¹, pour les isolats de type sauvage et de 0,748 µg mL⁻¹ pour l'isolat mutant testé. Pour des isolats de type sauvage

provenant de France, d'Allemagne, du Royaume uni, de Pologne, d'Hongrie et de Belgique, Rehfus (2018) avait noté un intervalle d' CE_{50} variant de 0,003 à 0,009 mg L⁻¹ pour le fluxapyroxad.

L'isolat Pt157, a montré une valeur de CE_{50} légèrement plus élevée ; les ISDH n'étant toujours pas homologués sur la culture de l'orge en Algérie, la présence d'une mutation conférant une résistance aux ISDH chez *P. teres* était peu probable, toutefois l'exception connue chez *Zymoseptoria tritici* (Yamashita et Fraaije, 2017 ; Steinhauer *et al.*, 2019), nous a amené à confirmer cette absence par une analyse supplémentaire des isolats de la collection, moyennant le pyroséquencage. Aucune des cinq mutations n'a été trouvée, notamment chez l'isolat Pt157. En effet, une résistance naturelle au fluopyram et à l'isofétamide (appartenant à la sous classe des SHA-SDHI), a été décrite chez plusieurs isolats de ce pathogène n'ayant jamais été exposé à ces produits chimiques (Yamashita et Fraaije, 2017 ; Steinhauer *et al.*, 2019). Cette résistance spécifique aux SHA-SDHI (une sous-classe des ISDH), n'est pas corrélée aux gènes codants la succinate deshydrogénase (SDH) (Steinhauer *et al.*, 2019). Des analyses génétiques ont permis d'identifier le gène *alt-SDHC*, responsable de cette résistance. Celui-ci code pour un paralogue de la sous-unité C de l'enzyme *SDH* qui n'est pas retrouvé chez les isolats sensibles. Selon les mêmes auteurs, la différence d'un seul résidu au niveau de la protéine codée par le gène *alt-SDHC*, confère la résistance de type SHA-SDHI (Steinhauer *et al.*, 2019).

La réduction de la sensibilité chez cet isolat peut être le résultat de plusieurs facteurs quantitatifs. Ces derniers visent à assurer le maintien d'une faible concentration du fongicide dans l'espace intracellulaire ; ceci étant possible grâce à la mise en jeu du système à efflux, ayant pour rôle de sécréter les molécules fongiques vers l'espace extracellulaire (Del Sorbo *et al.*, 2000 ; Deising *et al.*, 2008). Le champignon peut également changer la structure de sa membrane plasmique, afin de diminuer la perméabilité de cette dernière aux fongicides (Löffler *et al.*, 2000), ou encore synthétiser des enzymes impliquées dans la destruction et la détoxification de la molécule fongicide (Ortiz-Hernández *et al.*, 2013).

Les tests *in planta* sous serre, ont montré que la maladie était contrôlée dans tous les cas d'inoculations par les isolats algériens, y compris celui ayant exprimé une valeur de CE_{50} un peu plus élevée lors du test d'efficacité *in vitro*. Le fongicide a été aussi efficace à l'égard des isolats témoins sensibles, contrairement à ce qui a été observé lors de l'inoculation des isolats de référence porteurs de la mutation C-G79R, même à la dose la plus élevée.

La recherche chez tous les isolats de la collection des cinq mutations du SDH connues, conférant une résistance aux ISDHs, n'a révélé la présence d'aucune mutation. Toutefois, nous signalons la même défaillance des pyroséquençage, précédemment rapportés lors des travaux de Rehfus (2018), concernant la mutation B-H277 chez les isolats *Ptm*. Notre incapacité à analyser les isolats de la forme *P. teres* f. *maculata* par le protocole du pyroséquençage actuellement adopté, peut être expliquée par le fait que les oligonucléotides utilisés lors du pyroséquençage ont été conçus sur des séquences d'ADN de la forme *P. teres* f. *teres*. Parmi ses oligonucléotides, l'amorce KES 1847, utilisée pour la détection de la mutation B-H277Y, qui s'hybride à l'ADN matrice aux positions nucléotidiques 975-990, position où deux SNPs ont été détectés entre les séquences de *Ptt* et *Ptm* (Rehfus, 2018).

L'absence de ces cinq mutations est suffisante dans notre cas pour confirmer l'absence de résistance aux ISDHs en Algérie, ceci malgré l'existence de mutations supplémentaires connues au niveau du gène *sdh-d* conférant une résistance aux ISDHs (Rehfus *et al.*, 2016), non incluses dans notre étude. Cette affirmation se justifie par le fait qu'aucun isolat analysé, n'a montré une valeur de CE₅₀ comparable à celles des isolats témoins mutants. De même que, par l'absence des mutations B-H277R et C-G79R, connues pour être, successivement la plus ancienne et la plus fréquente en Europe.

Dans le cas du traitement fluxapyroxad, les valeurs des CE₅₀ différaient entre *Ptt* et *Ptm*, avec une sensibilité plus élevée de la forme *P. teres* f. *maculata*. Il est peu probable que ces différences puissent être causées par des variations des gènes *sdh*. En effet la comparaison des séquences des gènes *sdh-b*, *sdh-c* et *sdh-d* de 2 isolats *Ptt* (d' Hongrie) et 4 *Ptm* (de différents pays européens), a montré que les séquences étaient identiques au sein de la même forme de la rayure réticulée et presque identiques entre les deux formes (Rehfus *et al.*, 2016). La différence entre les séquences des deux formes est le résultat de la présence de SNPs ; cinq SNP silencieux dans le gène *sdh-b* et quatre au niveau du gène *sdh-c*. L'un de ces derniers, conduit à l'acide aminé R46 chez *Ptt* et à l'acide aminé K46 chez *Ptm*. Ce SNP a également été détecté dans les études de veille sanitaire en 2013 et d'abord interprété à tort comme une mutation C-R46K, qui serait liée à la résistance aux ISDHs (FRAC, 2019). Des études supplémentaires ont montré que, C-R46K n'avait aucun lien avec la sensibilité aux ISDHs. Le séquençage de nombreux autres isolats a montré que cette variation est plutôt un marqueur moléculaire permettant de distinguer les deux formes (BASF, données non publiées in Lammari *et al.*, 2020).

Cela est également vrai pour les SNP silencieux retrouvés au niveau du gène *sdh-b* aux

positions 819 et 822 ; proches du codon H277, qui est la cible des tests de pyroséquençage visant à la détection de la mutation B-H277Y (BASF, données non publiées in Lammari *et al.*, 2020). Des SNPs ont également été détectés dans le gène *sdh-d* ; l'un est silencieux, un autre induit l'apparition de l'acide aminé L40 ou V40, qui n'est cependant pas spécifique à la forme.

L'homologation de ce groupe de fongicides pour utilisation sur les cultures d'orge serait très recommandée, il pourrait être d'une grande utilité dans la lutte contre plusieurs maladies foliaires de l'orge y compris la rayure réticulée qui est actuellement la maladie la plus répandue sur cette culture en Algérie (Boungab *et al.*, 2009 ; Boungab, 2013). Toutefois, après leur homologation, une surveillance permanente de la sensibilité des populations fongiques traitées est primordiale au maintien de l'efficacité des ISDHs.

L'approche adoptée pour l'analyse de la sensibilité aux fongicides du groupe IDMs, n'a pas associé d'analyse génétique. Les données sur les mutations ponctuelles qui influencent la sensibilité aux IDMs chez *P. teres* sont limitées (Mair *et al.*, 2016a), les méthodes moléculaires de détections étaient inexistantes lorsque cette étude a été réalisée. Ainsi, nous avons associé lors de cette étude, des tests *in-vitro* à un test *in-planta*.

Les données recueillies, révèlent que la population algérienne de *P. teres* a exprimé une large gamme de sensibilité aux trois fongicides du groupe chimique IDM inclus dans notre étude. Ceci pourrait être le résultat de l'utilisation de ces fongicides depuis plusieurs années sur les cultures d'orge, provoquant une réduction de sensibilité chez certains isolats. Une telle situation, est en effet à l'origine d'une pression de sélection imposée par l'application excessive des triazoles (Parker *et al.*, 2014 ; FRAC, 2020) pour de nombreuses espèces fongiques. Cependant, les valeurs de CE₅₀ étaient toutes inférieures à celles des isolats témoins européens, de sensibilité réduite (Shiffted isolate) ; ce qui indiquerait que la population algérienne de *P. teres* serait moins adaptée.

Les valeurs des CE₅₀ que nous avons obtenues ; sont comparables à celles notées par Lopez-Ruiz *et al.* (2018). Selon ces derniers, une moyenne de 0,31 mg L⁻¹ a été rapportée pour le tebuconazole et de 0,17 mg L⁻¹ pour l'epoxiconazole, pour un ensemble de 50 isolats collectés en Australie entre 1996 – 2013. Les résultats de l'étude menée par Mair *et al.* (2016), concordent aussi avec les nôtres. Les CE₅₀ notées variaient de 0,02 – 0,23 µg mL⁻¹ pour l'epoxiconazole (avec une moyenne de 0,11 µg mL⁻¹) et de 0,06 – 0,34 µg mL⁻¹ pour le tebuconazole (avec une moyenne de 0,24 µg mL⁻¹), et ce, pour des isolats *Ptt* sensibles collectés entre 1996 – 2012 en

Australie. Dans une autre étude relative à des isolats *Ptm*, Mair *et al.* (2019) ont également rapporté des valeurs de CE₅₀ très semblables avec celle que nous avons obtenues et variant de 0,04 à 0,69 µg mL⁻¹ (moyenne=0,34 µg mL⁻¹) pour le tebuconazole, de 0,02 à 0,37 µg mL⁻¹ (moyenne=0,18 µg mL⁻¹) pour époxiconazole et de 0,09 à 0,24 µg mL⁻¹ (moyenne=0,19 µg mL⁻¹) pour le propiconazole. Pour les deux fongicides époxiconazole et propiconazole, Moustafa (2017) avait noté des IC₅₀ de 0,254 et de 0,263 mg/L pour un isolat provenant d’Egypte.

Tous les fongicides testés de ce groupe, étaient plus efficaces contre *Ptt* que contre *Ptm*, avec une signification statistique élevée dans le cas d’époxiconazole et de tébuconazole. Ces résultats sont conformes à ceux de Campbell et Crous (2002), qui ont signalé que les isolats de la forme *P. teres f. maculata* en provenance d’Afrique du Sud, présentaient une sensibilité plus faible que ceux de la forme *P. teres f. teres*. Cette situation a été rapportée pour cinq fongicides testés, dont le propiconazole et le tébuconazole et a été expliquée par le fait que les deux pathogènes aient subi différentes voies d’évolution. Une tendance à une sensibilité plus faible au propiconazole des isolats *Ptm*, a également été décrite par Akhavan (2017) dans son étude réalisée sur des isolats provenant de l’Ouest Canadien. Des études plus anciennes, réalisées par Bendahmane *et al.* (1992) sur l’action *in vitro* de plusieurs fongicides appartenant au groupe des triazoles (Tebuconazole, Propiconazole, Fluzilazole, Diniconazole, Cyproconazole...) et par Sheridan et Nendick (1987) sur l’action du triadiménol et du flutriafol, ont aussi confirmé que les isolats de forme *Ptt* étaient plus sensibles que ceux de forme *Ptm*.

Les expériences *in planta* (sous serre) dans le cas d’époxiconazole, ont montré que certains isolats témoins européens avaient exprimé des sensibilités plus réduites comparé aux isolats algériens ; puisque l’infection causée par les deux isolats (Pt157 et Pt 142) testés était mieux contrôlée, mais à des taux différents. Cela confirme également que la réduction de la sensibilité aux IDMs en Europe est plus avancée comparé à l’Algérie. Une situation qui est probablement le résultat d’une production d’orge moins intensive en Algérie, associée à une pression moins élevée de la maladie et par conséquent, de l’utilisation moins étendue des fongicides dans les champs algériens.

Les produits du groupe IDM ; propiconazole, tébuconazole et époxiconazole, ainsi que l’azoxystrobine (QoI) sont couramment utilisés en Algérie pour lutter contre les maladies foliaires des céréales y compris la rayure réticulée de l’orge. Notre étude indique une légère réduction de sensibilité de la population pathogène à l’égard des IDM et une sensibilité totale aux QoI. Par conséquent, les IDM et les QoI sont toujours des outils précieux pour contrôler les

deux formes de *P. teres*.

Les légères différences de sensibilité aux fongicides entre les deux formes *Ptt* et *Ptm* vis-à-vis des différents groupe y compris les ISDHs, pourraient être causées par des facteurs quantitatifs incluant ; l'assimilation, le stockage, le transport et la métabolisation de la molécule fongicide (de Waard *et al.*, 2006). Dans ce contexte, les études montrant qu'une résistance aux ISDHs (non liée au site cible) préexistait dans les population de *Z. tritici*, même avant l'introduction de ces fongicides (Yamashita et Fraaiji, 2017 ; Steinhauer *et al.*, 2019), confirment la nécessité de la prise en considération de cette résistance, dans la conception rationnelle des stratégies de lutte et de gestion de la résistance. En effet, mis à part des mutations génétiques (facteur qualitatif), plusieurs mécanismes peuvent être responsables de la perte de sensibilité aux fongicides.

Les mécanismes à l'origine d'une réduction de sensibilité aux fongicides ne faisant pas intervenir les sites cibles au niveau des gènes concernés, peuvent être résumés en ; (i) la surexpression de la cible qui diminue l'efficacité du produit ; signalée comme mécanisme de résistance chez plusieurs champignons (Yamashita et Fraaije, 2017), (ii) la détoxification qui fait intervenir le métabolisme fongique, afin de détoxifier les molécules fongicides en une forme non-toxique (Ortiz-Hernández *et al.*, 2013). Ce phénomène a été rapporté sur *Botrytis cinerea* vis-à-vis des hydroxylanilides (BASF, 2020) et sur *Venturia inaequalis*, vis-à-vis du fongicide QoI (Krésoxim-méthyl) par le biais d'une activité estérasique (Jabs *et al.*, 2001). (iii) l'intervention du système à efflux, par surexpression des protéines de transport dont les plus courantes chez les champignons sont les transporteurs ABC (ATP binding cassette) et les MFS (Major Facility Superfamily) (Neysten, 2018).

Le rôle de ces protéines de transport dans la résistance aux fongicides, a été démontré récemment, sur plusieurs champignons à intérêt agronomique tel que *B. cinerea* et *Mycosphaella graminicola*, *P. tritici-repentis* et *Zymoseptoria tritici* (Reimann et Deising, 2004 ; de Waard *et al.* , 2006 ; Gutiérrez-Alonso, 2015). Dans le cas *Zymoseptoria tritici*, pathogène du Blé ; la surexpression d'un transporteur ABC, seul ou en combinaison avec une régulation positive du gène Glutathion S-transférase (GST), peut également conférer une résistance au fluxapyroxad et une sensibilité plus faible à d'autres ISDHs (Gutiérrez-Alonso, 2015). Egalement, Fraaije *et al.* (2016), ont pu démontrer la contribution de la surexpression de CYP51 et / ou de MgMfs1, qui sont une superfamille majeur de facilitateurs de transporteurs (major facilitator superfamily = MFS) au niveau de la pompe à efflux, à l'insensibilité des

azoles. L'implication de GST fongiques dans la résistance aux fongicides, avait été mise en évidence chez *Saccharomyces pastorianus* en début des années 1970 (Tillman *et al.*, 1973).

Sur la base des valeurs de sensibilité déterminées par les tests *in vitro* (microtitration), nous pourrions conclure que les fongicides de la famille QoIs (pyraclostrobine et azoxystrobine) sont les plus efficaces, suivis par le fluxapyroxad et les IDM (époxyconazole, propiconazole, tébuconazole). Cependant, le test *in planta* a montré que le fluxapyroxad était le plus efficace et qu'il offrait le meilleur contrôle de la maladie contre tous les isolats sensibles de type sauvage (algériens et européens), même aux doses 1/9 et 1/3 de la dose préconisée au champ. Ces différences entre les résultats des tests *in vitro* et *in planta* (sous serre) pourraient être liées à l'effet de l'hôte, c'est-à-dire aux interactions plante-pathogène, à la rétention, l'absorption et à la métabolisation du fongicide sur et dans la plante. Reis *et al.* (2015) avait expliqué les différences entre les résultats des tests réalisés *in vitro* et ceux réalisés en plein champs, par plusieurs facteurs liés à l'hôte et aux conditions climatiques. Dans notre cas, étant donné que les tests *in planta* étaient réalisés dans des conditions contrôlées, seuls les effets liés à l'hôte peuvent être considérés. Initialement, lors d'une application de fongicide, une quantité de ce dernier peut rester non absorbée par la plante. Une fois le fongicide absorbé, il subit une dilution dans les tissus foliaires et sera ensuite confronté à l'activité détoxifiante exercée par la plante afin d'éliminer les molécules xénobiotiques (Reis *et al.*, 2015).

Comparées aux conditions des tests *in vitro* (microtitration), celles des tests *in planta* (sous serre) sont beaucoup plus proches des conditions naturelles du terrain et reflètent donc mieux l'efficacité des produits fongicides dans les conditions réelles sur le terrain. Les tests *in planta* sont également importants pour estimer les effets de la résistance acquise sur les performances du produit.

Les rapports sur la sensibilité aux fongicides d'agents pathogènes des céréales en Algérie sont rares. En effet, les études de sensibilité sur les agents pathogènes des céréales n'ont été réalisées que pour *Z. tritici* (Allioui *et al.*, 2016, Meamiche-Neddaf *et al.*, 2017). Ces équipes ont pu détecter une résistance aux QoIs chez un faible pourcentage d'isolats, et ce, dans plusieurs wilayas d'Algérie. Cependant, compte tenu de l'expérience européenne du développement et de propagation de la résistance aux QoIs, ces résultats montrent la nécessité de poursuivre ce type d'investigation.

Notre étude fournit un aperçu de la situation de la sensibilité des populations de *P. teres* à l'égard des classes de fongicides les plus utilisées pour le contrôle de la rayure réticulée de l'orge. Même si la situation de la sensibilité des populations pathogènes aux QoIs, ISDHs et IDMs est, selon nos investigations, favorable, de bonnes stratégies de gestion de la résistance sont obligatoires pour maintenir l'efficacité sur le terrain des produits fongicides à différents modes d'action.

V. Conclusion et recommandations

La culture d'orge est souvent confrontée à de nombreuses contraintes biotiques, en particulier les maladies causées par des agents fongiques, qui affectent fortement les rendements de cette dernière. Le présent travail, nous a permis de faire la lumière sur l'une des plus importantes maladies fongiques de l'orge « la rayure réticulée », et ce, par l'étude de plusieurs aspects relatifs à la structure de la population algérienne de l'agent causal *Pyrenophora teres*.

En effet, notre investigation nous a permis de constater sur le terrain, l'ampleur de l'infestation des champs par cette maladie, qui est causée aussi bien par ; *P. teres* f. *teres* que par *P. teres* f. *maculata*. La présence de cette dernière dans toutes les wilayas prospectées, signifie que les deux formes pathogènes (*Ptt* et *Ptm*) sont déjà bien établis, et que des mesures de lutte doivent être prises impérativement, afin de contrôler la maladie de la rayure réticulée de l'orge et de limiter son extension.

L'identification moléculaire réalisée sur 212 isolats, a permis de dresser l'importance de chacune des deux formes du pathogène et leur répartition géographique. Nos résultats ont indiqué que *Ptt* était la forme la plus dominante en Algérie et qu'elle était répandue dans presque toutes les wilayas étudiées, tandis que la forme *Ptm* était rencontrée moins fréquemment. La comparaison entre les deux méthodes d'identification utilisées, nous a permis de conclure que l'identification symptomatologique était moins précise que l'identification moléculaire et qu'elle pourrait parfois conduire à des résultats non-concluants. Cette étude est la première caractérisation moléculaire de la population algérienne de *P. teres* dans le but de distinguer les deux formes de l'agent pathogène. Une identification correcte des agents causaux des maladies des plantes est primordiale, pour tout programme de gestion basé sur la sélection variétale et/ou le contrôle chimique. Les élaborateurs des programmes de lutte, doivent impérativement avoir connaissance de la présence/répartition des deux formes de la rayure réticulée à travers les champs d'orge en Algérie, afin de pouvoir déployer correctement les variétés résistantes et de choisir les solutions de lutte chimique appropriées.

La caractérisation culturale de 50 isolats (38 *Ptt* et 12 *Ptm*) représentatifs de la collection, nous a permis de distinguer la présence de quatre couleurs différentes de colonies et de grouper les isolats étudiés en trois morphotypes, se distinguant par la texture de leur mycélium. Il a été ensuite constaté que ce classement, ainsi que les autres caractères examinés (corémies, agrégations mycéliennes, contour des colonies, diffusion de pigmentation), n'étaient pas associés à l'origine géographique des isolats et ne permettaient pas de différencier les deux

formes *Ptt* et *Ptm*.

Par ailleurs, l'agressivité de ces isolats, a été évaluée à travers certains de ses traits élémentaires de nature quantitative ; à savoir le taux de sporulation *in-vitro* et la sévérité de la maladie. Le taux de la croissance mycélienne qui est un paramètre facilement mesurable de la fitness du pathogène, a été également inclus dans cette évaluation. Les résultats obtenus ont mis en évidence une importante variabilité entre les isolats. La sévérité de la maladie notée suite à l'inoculation des 45 isolats de *P. teres* à la variété sensible (Saida), nous a permis de distinguer des degrés d'attaque variables avec une prédominance des isolats notés comme étant très agressifs. Tous les isolats inoculés, ont pu provoquer des symptômes typiques de la rayure réticulée, et ce, pour chacune des deux formes.

Concernant la croissance mycélienne, ainsi que le pouvoir de sporulation, la comparaison entre les isolats étudiés a confirmé la présence d'une variabilité très importante entre ces derniers. Les résultats ont aussi mis la lumière sur le fait que les isolats de la forme *Ptt* exprimaient une croissance mycélienne et un pouvoir de sporulation, plus importants comparés aux isolats de la forme *Ptm*.

Enfin, la sensibilité de la population algérienne de *P. teres* aux trois groupes de fongicides : QoIs, ISDHs et IDMs a été évaluée. L'approche poursuivie a comporté une recherche des mutations conférant la résistance aux QoIs et aux ISDHs par la technique du pyroséquençage, des tests de sensibilité *in-vitro* par microtitration sur plaques et des tests de sensibilité *in-planta* en conditions contrôlées. Les résultats obtenus ont montré, qu'aucune mutation conférant une résistance aux QoIs ou aux ISDHs n'a été identifiée et que le pyraclostrobine et l'azoxystrobine étaient les plus efficaces *in vitro*, tandis que le fluxapyroxad a montré la meilleure inhibition de la maladie *in planta*. Les valeurs des CE₅₀ exprimées par chacune des formes (*Ptt* et *Ptm*) n'ont pas montré de différences significatives pour les deux traitements QoIs et du propiconazole. Cependant, dans le cas des traitements de fluxapyroxad, d'époxiconazole et de tébuconazole, des différences significatives entre les deux formes, ont été remarquées.

Par conséquent, et à la lumière des résultats de notre étude, afférente à la maladie de la rayure réticulée de l'orge ainsi que son agent causal *Pyrenophora teres* et des données déjà existantes, l'installation d'une stratégie de lutte efficace nous semble primordiale.

La présence confirmée des deux formes, du pathogène dans plusieurs wilayas, implique plus d'efforts dans la lutte contre la maladie, en raison de la réaction différentielle de l'hôte aux deux

formes, ainsi que de l'efficacité différentielle des fongicides, telle démontrée à travers les résultats de nos essais *in vitro*. Les programmes de sélection variétale, ainsi que l'application des traitements fongicides, devraient donc impérativement tenir compte de la forme pathogène (*Ptt/Ptm*) présente ou prévalent dans le site à traité.

Par ailleurs, les données recueillies au sujet de l'état des lieux de l'efficacité des différents fongicides testés, représentent un outil très utile. En absence de sources de résistances, la stratégie de lutte à poursuivre devrait assurer l'efficacité la plus durable possible, des fongicides appartenant aux groupes chimiques des QoIs et IDMs, déjà présents sur le marché algérien, alors que l'introduction et l'homologation des ISDHs serait intéressante. L'association de la lutte chimique aux autres méthodes telles que : les méthodes génétiques, biologiques et alternatives reste indispensable, afin d'assurer une lutte intégrée durable et efficace.

Concernant la lutte chimique, nous proposons une stratégie de lutte associée à une gestion anti-résistance, qui est principalement basée sur la réduction de la pression de sélection du pathogène, permettant d'éviter ou de retarder l'apparition d'une résistance dans les populations de *P. teres*. Pour cela, les bonnes pratiques agricoles conduisant à une pression de la maladie moindre telles que : l'utilisation de variétés d'orge plus résistantes, l'élimination des débris de cultures précédemment infectées, la rotation des cultures, le contrôle des adventices considérés comme hôtes intermédiaires, la gestion de l'azote (afin d'éviter une végétation excessive des plantes), ainsi que l'utilisation des semences propres préalablement testées et traitées, sont des actions qui doivent être mises en œuvre en association avec la lutte chimique.

La surveillance continue de la sensibilité des populations pathogènes et le respect des mesures anti-résistances, sont indispensables à la réussite de tout traitement fongicide. Ainsi, la limitation du nombre de pulvérisations de fongicides d'un même groupe, est fortement recommandée, afin de retarder l'accumulation des individus résistants dans la population pathogène. Selon le comité FRAC, le fractionnement des doses recommandées et leur application en plusieurs fois, exerce une pression de sélection continue sur la population pathogène et favorisent ainsi le développement de populations résistantes. C'est pourquoi, il est indispensable d'appliquer les fongicides selon les recommandations du fabricant (doses préconisées, intervalle d'application et stade de croissance indiqué).

Par ailleurs, l'utilisation de mélanges de fongicides aide à retarder la sélection des individus résistants et pourrait s'avérer aussi être un autre outil très pertinent dans la stratégie proposée.

L'alternance entre les différents modes d'actions, est également considérée comme une gestion très efficace contre la résistance aux fongicides. À cet effet, et en se basant principalement sur les recommandations du comité FRAC, pour l'utilisation des QoIs, ISDHs et des IDMs sur les céréales, nous recommandons de toujours appliquer les fongicides à risque élevé ou moyen de résistance, tel que les QoIs et les ISDHs, en mélange avec d'autres fongicides à mode d'action différent (Ex : IDMs, fongicide multi-sites). Ceci est applicable pour contrôler la rayure réticulée de l'orge et les maladies foliaires des céréales en général.

Les mélanges en réservoir (en cuve) peuvent fournir une certaine flexibilité. Toutefois, la conception d'une combinaison idéale dans le cadre de la réglementation, nécessite plusieurs conditions. Celles-ci sont, les connaissances approfondies concernant la compatibilité des mélanges, leur autorisation, l'ordre d'introduction des produits selon leur formulation, ainsi que leurs modes d'actions. Ainsi, nous recommandant l'utilisation des co-formulations proposées par les fabricants, ayant déjà sélectionné les ingrédients, le rapport des mélanges et les dose les mieux adaptés à l'emploi.

En cas d'absence de résistances, comme le montre nos résultats dans la population pathogène étudiée, les mélanges entre des composantes à risque élevé (ex : QoI), ou entre une composante à risque élevé et une composante à risque moyen (ex : IDMs), peuvent être utilisés en raison de leur très grande efficacité. Cependant, ces mélanges devront être abandonnés si la résistance à l'un ou aux deux composants devait apparaître. En effet, les recommandations de FRAC, déconseillent l'emploi de ces mélanges dans le cadre d'une stratégie de lutte contre les résistances aux fongicides, en présence d'une résistance.

L'application des produits fongicides contre la rayure réticulée de l'orge en lutte préventive, ou à un stade précoce de la maladie (en début d'attaques), est toujours préférable et peut aboutir à un bon contrôle de la maladie dès son déclenchement. De plus, un timing optimal est un moyen efficace pour la gestion de la résistance aux fongicides. Ceci est important, en raison du fait que la taille de la population d'un agent pathogène est plus réduite au début de la maladie, que lorsqu'elle est déjà bien établie sur le terrain ; la pression de sélection serait donc réduite lorsque des applications préventives sont utilisées. Pour les QoI et les ISDH, il est recommandé de limiter le nombre de pulvérisations de fongicides d'un même groupe (exprimant une résistance croisée entre eux), à un maximum de deux pulvérisations par culture. De même, l'application répétée de IDMs seuls ne doit pas être réalisée sur la même culture au cours d'une même saison et contre des agents pathogènes à risque, tel que la rayure réticulée de l'orge.

En s'appuyant sur les résultats de nos tests *in vitro* et *in planta*, nous pouvons confirmer l'excellente efficacité de l'azoxystrobine et de la pyraclostrobine testés dans la lutte contre la rayure réticulée de l'orge. Concernant le fluxapyroxad, ce fongicide a montré d'excellents résultats *in vitro* et les meilleurs *in planta*, où il offrait le meilleur contrôle de la maladie contre tous les isolats sensibles de type sauvage, même aux doses 1/9 et 1/3 de la dose préconisée au champ.

Les données recueillies pour les produits du groupe chimique des IDMs, révèlent que la population algérienne de *P. teres* a exprimé *in vitro*, une large gamme de sensibilité aux trois fongicides inclus dans notre étude. Ce qui montre une réduction de sensibilité chez certains isolats ; plus particulièrement chez les isolats de la forme *Ptm*. Ces derniers, se sont montrés beaucoup moins sensibles dans les cas des traitements tebuconazole et epoxiconazole, un fait, qui devrait être prise en considération dans l'élaboration de programmes de lutte chimique dans le futur.

Enfin, et en se basant sur ce qui a été précédemment conclu, nous recommandons l'homologation des produits à base de fluxapyroxad et de pyraclostrobine dans la lutte contre la rayure réticulée de l'orge en Algérie. Leur introduction permettra un meilleur contrôle de la rayure réticulée. De même que d'autres tests d'efficacité réalisés vis-à-vis des autres pathogènes de la culture d'orge, nous semble d'intérêt dans le futur.

En ce qui concerne, l'azoxystrobine, nous avons constaté que cette molécule est beaucoup moins présente que les IDMs dans la lutte contre la rayure réticulée de l'orge en Algérie (Index phytosanitaire, 2017), et ce, malgré son efficacité meilleure comparant à ces derniers. À cet effet, nous recommandons l'homologation d'autres produits à base d'azoxystrobine, pour la lutte contre la rayure réticulée de l'orge.

Vu la réduction de sensibilité qui a été remarquée chez certains de nos isolats à l'égard des IDMs, leur utilisation seul favoriserait encore cette réduction de sensibilité et doit être évitée. Ainsi, nous préconisant de toujours les utiliser en mélanges avec un produit QoI et/ou un ISDH. L'utilisation des mélanges à base de QoI, ISDH, ainsi que l'association de l'un de ces deux groupes avec un IDM est fortement recommandé, afin d'assurer une meilleure et plus durable efficacité de ces trois groupes chimiques.

Étant donné que, les données afférentes aux mutations ponctuelles influençant la sensibilité aux IDMs chez *P. teres* sont maintenant disponibles, une étude moléculaire des isolats ayant

montré des sensibilités réduites aux trois fongicides IDM testés s'impose. Il serait aussi très intéressant d'étudier l'influence des autres mécanismes (non liés aux mutations ponctuelles) induisant des résistances aux fongicides, chez *P. teres*.

Malgré les importants dégâts causés par la rayure réticulée de l'orge, les études portant sur les différents aspects de la maladie (épidémiologie, diagnostic, surveillance, lutte, incidence et répartition) et sur la caractérisation de son agent causal *P. teres*, restent insuffisantes en Algérie. Elles doivent être entreprises plus souvent et d'une manière plus étendue touchant la totalité des zones céréalières.

Également, les études de sensibilité aux fongicides, ainsi que la surveillance continue des résistances, semblent être négligées et devraient avoir plus d'attention dans les études liées à la protection des cultures en Algérie. Ces pratiques devraient aussi s'étendre également aux autres agents pathogènes des céréales en Algérie. Ceci permettrait d'avoir une meilleure compréhension de la situation globale actuelle, et d'optimiser ainsi des programmes de lutte contre les maladies fongiques, en assurant une durabilité de l'efficacité des groupes chimiques utilisés.

VI. Références Bibliographiques

1. Abbott, W. S. 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18: 265–267.
2. ACTA (Association de coordination technique agricole). 2017. Index phytosanitaire ACTA 2017. Editeur : ACTA Éditions, Paris, France. 1 060 p.
3. Afanasenko, O. S., Koziakov, A. V., Hedlay, P. E., Lashina, N. M., Anisimova, A. V., Manninen, O., Jallid, M. and Potokinae, E. K. 2015. Mapping of the loci controlling the resistance to *Pyrenophora teres* f. *teres* and *Cochliobolus sativus* in two double haploid barley populations. *Russian Journal of Genetics*. 5:242-253.
4. Ahmadian, A., Ehn, M. and Hober, S. 2006. Pyrosequencing: History, biochemistry and future. *Clinica Chimica Acta*. 363: 83-94.
5. Akhavan, A. 2017. Genetic structure, virulence and fungicide sensitivity of *Pyrenophora teres* f. *teres* and *P. teres* f. *maculata* populations from western Canada. PhD thesis. University of Alberta, Alberta, Canada. 232p.
6. Akhavan, A., Turkington, T. K., Askarian, H., Tekauz, A., Xi, K., Tucker, J. R., Strelkov, S. E. 2016. Virulence of *Pyrenophora teres* populations in western Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 38(2), 183–196.
7. Akhavan, A., Turkington, T. K., Kebede, B., Tekauz, A., Kutcher, H. R., Kirkham, C., Xi, K., Kumar, K., Tucker, J. R. and Strelkov, S. E . 2015. Prevalence of mating type idiomorphs in *Pyrenophora teres* f. *teres* and *P. teres* f. *maculata* populations from the Canadian prairies. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 37:52-60.
8. Al-ali, B. Y. Y. 1988. The pathogenicity of *Pyrenophora teres*. PhD Thesis. University of London. London, United Kingdom. 210p.
9. Alloui N., Siah A., Brinis, L., Reignault, P. and Halama, P. 2016. Identification of QoI fungicide-resistant genotypes of the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici* in Algeria. *Phytopathologia Mediterranea*. 55:89-97.
10. Andanson, A. 2010. Evolution de l’agressivité des champignons phytopathogènes, couplage des approches théorique et empirique. Thèse de Doctorat. Université Nancy I – Henri Poincaré. Nancy, France.162p.
11. Angelini, R. M. D. M., Pollastro, S. and Faretra, F. 2015. Chapter 2: Genetics of Fungicide

- Resistance. In: Fungicide resistance in plant pathogens: principles and a guide to practical management, eds. by H. Ishii and D. W. Hollomon. Springer. Tokyo, Japan. pp. 329–340.
12. Anke T., Oberwinkler, F., Steglich, W., Schramm, G .1977. The strobilurins- new antifungal antibiotics from the basidiomycete *Strobilurus tenacellus* (Pers. ex Fr.) Sing. *Journal of Antibiotics*. 30: 806-810.
 13. Avenot, H. F. and Michailides. T. J. 2010. Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi. *Crop Protection*. 29: 643-651.
 14. Bardas, G. A., Myresiotis, C. K. and Karaoglanidis, G. S. 2008. Stability and fitness of anilinopyrimidine-resistant strains of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*. 98:443-450.
 15. BASF. 2020. Résistance aux produits phytosanitaires : les mécanismes en jeu. https://www.agro.basf.fr/fr/produits/prevention_des_resistances_aux_produits/les_mecanismes_en_jeu/
 16. Bauske, M. J. and Gudmestad, N. C. 2018. Parasitic fitness of fungicide-resistant and -sensitive isolates of *Alternaria solani*. *Plant Disease*. 102(3):666-673.
 17. Bayer. Agri. 2020. bayer-agri.fr
 18. Benbelkacem, A. 1996. Adaptation of cereal cultivars to extreme agroecologic environments of North Africa. *Field Crops Research*. 45(1-3) : 49-55.
 19. Bendahmane, B. S. 1992. Contribution à la lutte chimique contre *Drechslera teres* (Sacc.) shoem., agent de l'helminthosporiose de l'orge. Thèse Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, France, 111p.
 20. Benslimane, H. 2012. Etude de la tache bronzée du blé en Algérie : Identification des races de l'agent causal *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs et diversité génétique. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, El-Harrach, Alger, Algérie. 163p.
 21. Benslimane, H., Aouali, S., Khalfi, A., Ali, S., and Bouznad, Z. 2017. *In vitro* Morphological Characteristics of *Pyrenophora tritici-repentis* Isolates from Several Algerian Agro-Ecological Zones. *Plant Pathology Journal*. 33(2): 109-117.

22. Bouacid, S. 2011. Exploitation des potentialités bénéfiques des rhizobactéries (groupe *Pseudomonas fluorescens*) dans la phytostimulation et la protection de l'orge. Mémoire de Magister en Amélioration des Productions Végétales et des Ressources Génétiques. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, El-Harrach, Alger, Algérie. 127p.
23. Boufenar-Zaghouane F. and Zaghouane O. 2006. Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). ITGC, 154p.
24. Bouharmont, J. 1994. Création variétale et amélioration des plantes. In : Ameziane, E. H. T. and Persoons, E. (eds), Agronomie moderne, bases physiologiques et agronomiques de la production végétale. pp : 312-338. Hatier – Aupelf. UREF, Paris, France.
25. Boungab, K. 2013. La rayure réticulée de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) dans le Nord-Ouest Algérien : importance, morphologie et pouvoir pathogène chez *Pyrenophora teres f. teres* et recherche de moyens de lutte. Thèse de Doctorat. Université d'Oran, Oran, Algérie. 171p.
26. Boungab, K., Belabid, L., Fortas, Z. and Bayaa, B. 2012. Pathotype diversity among Algerian isolates of *Pyrenophora teres f. teres*. *Phytopathologia Mediterranea*. 51:577–586.
27. Boungab, K., Tadjeddine, A., Belabid, L., Fortas, Z. and Bassam, B. 2015. Exploitation of some plant extracts for ecofriendly management of Net Blotch of Barley. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(2):732-739
28. Bourgeois, L., Latorse, M. P. and Suty-Henze, A. 2009. La gestion de la résistance aux fongicides. Colloque phytoprotection résistance et approche systémique: nouveau défis. 22 Octobre 2009. Québec, Canada.
29. Brent, K. J. and Hollomon, D.W. 2007. Fungicide Resistance: The Assessment of the Risk, eds. by Fungicide Resistance Action Committee, Brussels, Belgium. 53p.
30. C. N. C. C. 2015. Bulletin des variétés de céréales autogames. Eds. by National Center for Seed and Plants Control and Certification (CNCC), Algiers, Algeria. 257p.
31. Campbell, G. F. and Crous, P. W. 2002. Fungicide sensitivity of South African net- and spot-type isolates of *Pyrenophora teres* to ergosterol biosynthesis inhibitors. *Australasian Plant Pathology*. 31:151–155.
32. Carmona, M., Barreto, D., Moschini, R. and Reis, E. 2008. Epidemiology and Control of

- Seed-borne *Drechslera teres* on Barley. *Cereal Research Communications*. 36(4): 637–645.
33. Carvalho, D. G. A. 1990. Comparative Study of *Pyrenophora teres* Drechs. f. *teres* and *Pyrenophora teres* Drechs. f. *maculata* Smedeg. cause of "net" and "spot" type net blotch respectively on New Zealand Barley. Université Victoria de Wellington. Wellington, Nouvelle-Zélande. 107p.
 34. Çelik Oğuz, A., Karakaya, A., Ergün, N. and Sayim, İ. 2017. Turkish barley landraces resistant to net and spot forms of *Pyrenophora teres*. *Phytopathologia Mediterranea*. 56 (2) : 217–223.
 35. Chamekh R., 2007. Caractérisation de cinq isolats de *Drechslera teres* (sacc.), agent responsable de la rayure réticulée de l'orge (*Hordeum vulgare* L.). Mémoire de Magister, Université d'Oran es-senia, 69p.
 36. Cherif, M., Harrabi, M. and Morjane, H. 1994. Distribution and importance of wheat and barley diseases in Tunisia, 1989 to 1991. *Rachis*. 13: 25–34.
 37. Cowen, L. E. and Steinbach, W. J. 2008. Stress, Drugs, and Evolution: the Role of Cellular Signaling in Fungal Drug Resistance. *Eukaryotic Cell*. 7(5): 747–764. 1535-9778/08/\$08.000 doi:10.1128/EC.00041-08.
 38. Cowen, L. E., Kohn, L. M. and Anderson, J. B. 2001. Divergence in fitness and evolution of drug resistance in experimental populations of *Candida albicans*. *Journal of Bacteriology*. 183(10) : 2971–2978.
 39. Crous, P. W., Janse, B. J. H., Tunbridge, J. and Holz, G. 1995. DNA homology between *Pyrenophora japonica* and *P. teres*. *Mycological Research*. 99 (9): 1098-1102
 40. Damgaci, E. 2014. Investigations on the prevalence of barley net blotch (*Pyrenophora teres* Drechs.) the yield losses caused by disease and the relationships between disease and yield components. *Bitki Koruma Bülteni*. 54(4): 311-341.
 41. De Waard, M. A., Andrade, A. C., Hayashi, K., Schoonbeek, H., Stergiopoulos, I. and Zwiers, L. H. 2006. Impact of fungal drug transporters on fungicide sensitivity, multidrug resistance and virulence. *Pest Management Science*. 6(3): 195-207.
 42. Deadman, M. L. and Cooke, B. M. 1988. The effect of *Drechslera teres* seed infection on

- spring barley seedling growth. *Annals of applied. Biology*. 112 (2): 385-388.
43. Deising, H., B.; Reimann, S. and Pascholati, S. F. 2006. Mechanisms and significance of fungicide resistance. *Brazilian Journal of Microbiology*. 39:286-295.
 44. Del Sorbo, G., Schoonbeek, H. and De Waard, M. A. 2000. Fungal Transporters Involved in Efflux of Natural Toxic Compounds and Fungicides. *Fungal Genetics and Biology*. 30: 1–15
 45. Direction de la protection des végétaux et des contrôles techniques (DPVCT). 2017. Index des Produits Phytosanitaires à usage Agricole. Algiers, Algeria. 230p.
 46. Dooley, H., Shaw, M. W., Mehenni-Ciz, J., Spink, J. and Kildea, S. 2016. Detection of *Zymoseptoria tritici* SDHI-insensitive field isolates carrying the SdhC-H152R and SdhD-R47W substitutions. *Pest Management Science*. 72(12): 2203 –2207.
 47. Douiyssi, A., Rasmusson, D. C. and Roelfs, A. P. 1998. Responses of barley cultivars and lines to isolates of *Pyrenophora teres*. *Plant Disease*. 82: 316-321.
 48. Ellwood, S. R., Liu, Z., Syme, R.A., Lai, Z., Hane, J. K., Keiper, F., Moffat, C.S., Oliver, R.P. and Friesen, T. L .2010. A first genome assembly of the barley fungal pathogen *Pyrenophora teres f. teres*. *Genome Biology*. 11: R109.
 49. El-Mor, M., Fowler, R. A., Platz, G. J., Sutherland, M. W. and Martin, A. 2018. An improved detached leaf assay for phenotyping net blotch of barley caused by *Pyrenophora teres*. *Plant Disease*. 102(4):760-763. doi: 10.1094/PDIS-07-17-0980-RE.
 50. El-Nawawy, M. A.; Mosustafa N. A. and Ibrahim, S. Ph. 2016. Efficacy of some ecofriendly inducers in controlling barley net blotch. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology*. 7 (6): 153 – 161.
 51. Fan, Z. 2015. Fitness of *Alternaria alternata* field isolates with multiple fungicides resistance. Mémoire Master of Science. Clemson University, South Carolina, États-Unis. 44p.
 52. FAOSTAT. 2020. <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC>
 53. Fernández-Ortuño, D., Torés, J. A., de Vicente, A. and Pérez-García, A. 2008. Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. *International Microbiology*.

11:1-9.

54. Ficsor, A., Bakonyi, J., Tóth, B., Tomcsányi, A., Palágyi, A., Cso"sz, M., Károlyi-Csépló", M., Mészáros, K. and Vida, G. 2010. First report of spot form of net blotch of barley caused by *Pyrenophora teres* f. *maculata* in Hungary. *Plant Disease*, 94: 1062.
55. Fisher, N. and Meunier, B. 2008. Molecular basis of resistance to cytochrome bc 1 inhibitors. *FEMS Yeast Research*. 8: 183–192.
56. Fraaije, B. A., Bayon, C., Atkins, S., Cools, H. J., Lucas, J. A. and Fraaije, M. W. 2012. Risk assessment studies on succinate dehydrogenase inhibitors, the new weapons in the battle to control *Septoria* leaf blotch in wheat. *Molecular Plant Pathology*. 13(3): 263–275.
57. Fraaije, B., Diez, P., Kirikyali, N., Luo, J. and Hawkins, N. 2016. Azole and SDHI sensitivity status of *Zymoseptoria tritici* field populations sampled in France, Germany and the United Kingdom during 2015. 18th International Reinhardsbrunn Symposium on Modern Fungicides and Antifungal Compounds Friedrichroda – Germany, April 24–28, 2016.
58. FRAC. 2010. FRAC recommendations for fungicide mixtures designed to delay resistance evolution. <https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-recommendations-for-fungicide-mixtures/frac-recommendations-for-fungicide-mixtures---january-2010.pdf>
59. FRAC. 2013. QoI working group of FRAC, Minutes of the meeting All crops: December 11th, 2013 Organised by Syngenta. Frankfurt, Germany. https://www.frac.info/docs/default-source/working-groups/qoi-fungicides/group/minutes-of-the-2013-qoi-meeting-recommendations-for-2014.pdf?sfvrsn=4a1e469a_6
60. FRAC. 2015. Molecular genetic detection of mutations conferring QoI resistance in *Pyrenophora teres* in barley leaves. Pyrnte-pyro-monitoring-method-basf-2015. <https://www.frac.info/knowledge-database/monitoring-methods>
61. FRAC. 2017. Fungicide Resistance Action Committee. Pyrnte Monitoring Methods BASF (2009). <https://www.frac.info/knowledge-database/monitoring-methods>
62. FRAC. 2019a. Pathogen Risk List. https://www.frac.info/docs/default-source/publications/pathogen-risk/frac-pathogen-list-2019.pdf?sfvrsn=caf3489a_2
63. FRAC. 2019b. Fungicide resistance management in cereals. FRAG-UK. <https://projectblue.blob.core.windows.net/media/Default/Imported%20Publication%20Do>

[cs/AHDB%20Cereals%20&%20Oilseeds/Disease/FRAG/FRAG%20Fungicide%20resistance%20management%20in%20cereals%202019.pdf](https://www.ahdb.co.uk/ahdb/Cereals%20&%20Oilseeds/Disease/FRAG/FRAG%20Fungicide%20resistance%20management%20in%20cereals%202019.pdf)

64. FRAC. 2020. Sterol Biosynthesis Inhibitor (SBI) Working Group. Minutes from Annual Meeting on January 24th, 2020. Protocol of the discussions and recommendations of the SBI working group of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC).
https://www.frac.info/docs/default-source/working-groups/sbi-fungicides/group/minutes-of-the-2020-sbi-telco-meeting-recommendations-for-2020-june2020-update.pdf?sfvrsn=1648499a_2
65. Frazzon A. P. G., Matsumura, A. T. S. and Van Der Sand, S. T. 2002. Morphological characterisation and genetic analysis of *Drechslera teres* isolates. *Genetic and Molecular Biology*. 25(2): 235-241.
66. Friesen, T. L., Faris, J. D., Lai, Z. and Steffenson, B. J. 2006. Identification and chromosomal location of major genes for resistance to *Pyrenophora teres* in a doubled-haploid barley population. *Genome*. 49:855-859.
67. Gaur, A., Dev, U. Mitter. V. 2006. Pathological and Taxonomical Aspects of the Genus *Drechslera*. pp. 49-78. In: *Current concepts in Botany*. ed. K.G. Mukerji and C. Manoharachary. New Delhi.
68. Gazeau, G., Auclair, C., Delestre, G., Suffert, F. and Walker, A. S. 2016. Assessing the risk of combination between MDR and specific resistance towards SDHI I *Zymoseptoria tritici*. 18th International Reinhardtsbrunn Symposium on Modern Fungicides and Antifungal Compounds. April 24 – 28, 2016. Friedrichroda – Germany.
69. Ghalem-Djender, Z., Boukhobza, N., Yallaoui-Yaici, N., Meziani, M., Oumedjkane, K., Mahiddine, D., Ait Ghezali, A., Chaou, L., Kaced, K. and Bouziri, S. 2016. Répartition des variétés de céréales à paille au niveau des zones-écologique du nord de l'Algérie et choix variétal. *Céréaliculture*. 67: 43-69.
70. Glaettli, A., Stammler, G., Schlehner, S. 2009. Mutations in the target proteins of succinate-dehydrogenase inhibitors (SDHI) and 14a-demethylase inhibitors (DMI) conferring changes in the sensitivity – structural insights from molecular modelling. In: 9th International Conference on Plant Diseases. Tours, France, 2009, pp. 670-681.
71. Grasso, V., Palermo, S., Sierotzki, H., Garibaldi, A. and Gisi, U. 2006. Cytochrome b gene

- structure and consequences for resistance to Qo inhibitor fungicides in plant pathogens. *Pest Management Science*. 62: 465–472.
72. Gutiérrez-Alonso, O. 2015. Genome-wide transcriptional response to multi-site inhibitors and resistance mechanisms to SDHIs in *Zymoseptoria tritici*. Thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy. University of Reading. Reading, Royaume-Uni. pp. 194.
 73. Hack, H., H. Bleiholder, L. Buhr, U. Meier, U. Schnock-Fricke, E. Weber and A. Witzemberger, 1992: Einheitliche Codierung der phänologischen. Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen - Erweiterte BBCH-Skala, Allgemein -. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 44: 265-270.
 74. Haggag, W. 2010. First report of the spot form of net blotch of barley caused by *Pyrenophora teres* f. sp. *maculata* in Egypt. *Journal of Plant Pathology*. 92 (4): S118.
 75. Hales, N. 2015. Algeria, Grain and Feed Annual. USDA Foreign Agriculture Service. Report Number: AG1501.
 76. Hawkins, N. J. and Fraaije, B. A. 2018. Fitness penalties in the evolution of fungicide resistance. *Annual Review of Phytopathology*. 56:16.1–16.22.
 77. Heick, T. M., Lapalu, N. and Fillinger, S. 2020 Amplicon-deep sequencing using Oxford-Nanopore® technology to quantify multi-drug-resistant strains in *Zymoseptoria tritici* populations. ECFG15 - 15th European Conference on Fungal Genetics, April 24 – 28, 2020. Rome, Italy.
 78. Hobbelen P. H. F., Paveley N. D. and van den Bosch F. 2011. Delaying selection for fungicide insensitivity by mixing fungicides at a low and high risk of resistance development: A modeling analysis. *Phytopathology*. 101:1224–1233.
 79. Hobbelen, P. H. F., Paveley, N. D. and van den Bosch, F. 2014. The emergence of resistance to fungicides. *PLOS ONE*. 9:DOI:10.1371/journal.pone.0091910.
 80. Hobbelen, P. H. F., Paveley, N. D., Oliver, R. P. and van den Bosch, F. 2013. The usefulness of fungicide mixtures and alternation for delaying the selection for resistance in populations of *Mycosphaerella graminicola* on winter wheat: A modeling analysis. *Phytopathology*. 103: 690-707.
 81. Hökeberg, M., Gerhardson, B., & Johnsson, L. 1997. Biological control of cereal seed-

- borne diseases by seed bacterization with greenhouse-selected bacteria. *European Journal of Plant Pathology*. 103(1): 25–33. doi:10.1023/a:1008681608400 .
82. Hollomon, D. W. and Brent, K. J. 2009. Combating plant diseases – the Darwin connection. *Pest Management Science*. 65: 1156–1163.
 83. Huf, A., Rehfus, A., Bryson, R., Vögele, R. T. and Stammler, G. 2018. Proposal for a new nomenclature for CYP51 haplotypes in *Zymoseptoria tritici* and analysis of their distribution in Europe. *Plant Pathology*. 67:1706-1712.
 84. Ito, S. and Kuribayashi, K. 1931. The ascioerous forms of some oraminicolous species of *Helminthosporium* in Japan. *Journal of the Faculty of Agriculture, Hokkaido Imperial University, Sapporo*. 29: 85-125
 85. Ito, Y., Muraguchi, H., Seshime, Y., Oita, S. and Yanagi, S. O. 2004. Flutolanil and carboxin resistance in *Coprinus cinereus* conferred by a mutation in the cytochrome b560 subunit of succinate dehydrogenase complex (complex II). *Molecular Genetics and Genomics*. 272: 328–335.
 86. Jabs, T.; Cronshaw and K.; Freund, A. 2001. New strobilurin resistance mechanism in apple scab (*Venturia inaequalis*). *Mitteilungen der Deutschen Dendrologischen Gesellschaft*. 31: 15-16.
 87. Jalli M., 2010. The virulence of Finnish *Pyrenophora teres* f. *teres* isolates and its implications for resistance breeding. Doctoral Dissertation, University of Helsinki, Finland, 45p.
 88. Jayasena, K. W., Van Burge A., Tanaka K., Majewski, J. and Loughman, R., 2007. Yield reduction in barley in relation to spot-type net blotch. *Australasian Plant Pathology*. 36:429-433.
 89. Jayasena, K.W., Loughman, R., Majewski, J. 2002. Evaluation of fungicides in control of spot-type net blotch on barley. *Crop Protection*. 21: 63–69.
 90. Jordan, V. W. L. 1981. Aetiology of barley net blotch caused by *Pyrenophora teres* and some effects on yield. *Plant Pathology*. 30:77-87.
 91. Jørgensen, H. J. L., Andersen, H., and Smedegaard-Petersen. 1996. Control of *Drechslera teres* and other barley pathogens by preinoculation with *Bipolaris maydis* and *Septoria*

- nodorum*. *Phytopathology*. 86: 602-607.
92. Joseph-Horne, T., Hollomon, D., Manning, N. and Kelly, S. L. 1996. Investigation of the Sterol Composition and Azole Resistance in Field Isolates of *Septoria tritici*. *Applied and Environmental Microbiology*. 62 (1): 184–190.
 93. Kangor, T., Sooväli, P., Tamm, Y., Tamm, I. and Koppel, M. 2017. Malting barley diseases, yield and quality responses to using various agro-technology regimes. Proceedings of the latvian academy of sciences. Section B, Vol. 71, No. 1/2 (706/707), pp. 57–62. DOI: 10.1515/prolas-2017-0010.
 94. Keon, J. P. R., White, G. A. and Hargreaves, J. A. 1991. Isolation, characterization and sequence of a gene conferring resistance to the systemic fungicide carboxin from the maize smut pathogen, *Ustilago maydis*. *Current Genetics*. 19 :475-481.
 95. Khan, T. N. and Tekauz, A. 1982. Occurrence and pathogenicity of *Drechslera teres* isolates causing spot-type symptoms on barley in Western Australia. *Plant disease*. 66:423-425.
 96. Kolmer, J. A. 1996. Genetics of resistance to wheat leaf rust. *Annual Review of Phytopathology*. 34:435–55.
 97. Kosiada, T. 2008. Influence of temperature and daylight length on barley infection by *Pyrenophora teres*. *Journal of plant protection research*. 48(1) : 9-15. DOI: 10.2478/v10045-008-0002-0.
 98. Kretschmer, M. and Hahn, M. 2008. Fungicide resistance and genetic diversity of *Botrytis cinerea* isolates from a vineyard in Germany. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 115 (5): 214–219.
 99. Kruskal, W. H., and Wallis, W. A. 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association*. 47: 583–621.
 100. Lamb, D., Kelly, D. and Kelly, S. 1999. Molecular aspects of azole antifungal action and resistance. *Drug Resistance Updates*. 2: 390–402.
 101. Lammari, H. I., Rehfus, A., Stammler, G and Benslimane, H. 2020. Sensitivity of the *Pyrenophora teres* Population in Algeria to Quinone outside Inhibitors, Succinate Dehydrogenase Inhibitors and Demethylation Inhibitors. *The Plant Pathology Journal*.

- 36(3): 218–230.
102. Lartey, R. T., Caesar-TonThat, T. C., Caesar, A. J., Sainju, U. M. and Evans, R. G. 2013. First report of spot form net blotch caused by *Pyrenophora teres* f. *maculata* on barley in the Mon-Dak area of the United States. *Plant Disease*. 97: 143-144.
103. Lartey, R., Salami, A., Caesar, T., Balogh, E., Hanson, S., Ghoshroy, S. 2013. Investigation of *Peniophora nuda* for biological control of *Cercospora beticola* and *Pyrenophora teres*. International Congress of Plant Pathology Abstracts and Proceedings. <https://www.ars.usda.gov/research/publications/publication/?seqNo115=29528>
104. Latin, R. 2017. Understanding Fungicide resistance the fundamental elements and practical consequences of turf disease control. *Green Section Record*. 55(13): 7pp.
105. Leach, J. E., Vera Cruz, C. M., Bai, J., Leung, H. 2001. Pathogen fitness penalty as a predictor of durability of disease resistance genes. *Annual Review of Phytopathology*. 39:187–224.
106. Lehmensiek, A., Bester-van der Merwe, A. E., Sutherland, M. W., Platz, G., Kriel, W. M., Potgieter, G. F. and Prins, R. 2010. Population structure of South African and Australian *Pyrenophora teres* isolates. *Plant Pathology*. 59(3): 504–515.
107. Leisova, L., Kucera, L., Minarikova, V. and Ovesna, J. 2005. AFLP-based PCR markers that differentiate spot and net forms of *Pyrenophora teres*. *Plant Pathology*. 54: 66–73.
108. Leroux, P., Gredt, M., Leroch, M. and Walker, A. S. 2010. Exploring mechanisms of resistance to respiratory inhibitors in field strains of *Botrytis cinerea*, the causal agent of gray mold. *Applied and Environmental Microbiology*. 76(19): 6615–6630.
109. Lightfoot, D. J. and Able, A. J. 2010. Growth of *Pyrenophora teres* in planta during barley net blotch disease. *Australasian Plant Pathology*. 39 (6): 499–507.
110. Lightfoot, D. J. and Able, A. J. 2010. Growth of *Pyrenophora teres* in planta during barley net blotch disease. *Australasian Plant Pathology*. 39(6): 499–507.
111. Liu, Z. H., and Friesen, T. L. 2010. Identification of *Pyrenophora teres* f. *maculata*, causal agent of spot type net blotch of barley in North Dakota. *Plant Disease*. 94: 480–480.
112. Liu, Z., Ellwood, S. R., Oliver, R. P. and Friesen, T. L. 2011. *Pyrenophora teres*: Profile

- of an increasingly damaging barley pathogen. *Molecular Plant Pathology*. 12(1): 1–19.
- 113.Loffler, J., Einsele, H., Hebart, H, Schumacher, U., Hrastnik, C. and Daum, G. 2000. Phospholipid and sterol analysis of plasma membranes of azole-resistant *Candida albicans* strains. *FEMS Microbiology Letters*. 185: 59-63.
- 114.Lopez-Ruiz, F., Mair, W., Thomas, G., Jayasena, K. and Hills, A. 2019. The incidence of fungicide resistance in spot form net blotch (SFNB) and its implications. <https://grdc.com.au/resources-and-publications/grdc-updatepapers/tab-content/grdc-update-papers/2019/02/the-incidence-of-fungicide-resistance-in-spot-form-net-blotch-sfnband-its-implications>.
- 115.Louw, J. P. J., Crous, P. W. and Holz, G. 1996. Relative importance of the barley net blotch pathogens *Pyrenophora teres* f. *teres* (net-type) and *P. teres* f. *maculata* (spot-type) in South Africa. *African Plant Protection*. 2: 1–7.
- 116.Lu, S., Platz, G. J., Edwards, M. C. and Friesen, T. L. 2010. Mating type locus-specific polymerase chain reaction markers for differentiation of *Pyrenophora teres* f. *teres* and *P. teres* f. *maculata*, the causal agents of barley net blotch. *Phytopathology*. 100 (12):1298-1306.
- 117.MacQueen, J. 1967. Some methods for classification and analysis of multivariate observations. Proceedings of the Fifth Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability, Vol. 1: Statistics, 281-297, University of California Press, Berkeley, Calif. <https://projecteuclid.org/euclid.bsm/1200512992>.
- 118.Mair, W. J. , Thomas, G. J., Dodhia, K., Hills, A. L., Jayasena, K.W., Ellwood, S. R., Oliver, R. P. and Lopez-Ruiz, F. J. 2019. Parallel evolution of multiple mechanisms for demethylase inhibitor fungicide resistance in the barley pathogen *Pyrenophora teres* f. *sp. maculata*. bioRxiv preprint first posted online Oct. 16, 2019; doi: <http://dx.doi.org/10.1101/798991>.
- 119.Mair, W. J., Deng, W., Mullins, J. G. L., West, S., Wang, P., Besharat, N., Ellwood, S. R., Oliver, R. P. and Lopez-Ruiz, F. J. 2016. Demethylase Inhibitor Fungicide Resistance in *Pyrenophora teres* f. *sp. teres* associated with target site modification and inducible overexpression of Cyp 51. *Frontiers in Microbiology*. 7:1279.
- 120.Mann, H. B. and Whitney, D. R. 1947. On a test of whether one of two random variables

- is stochastically larger than the other. *Annals of Mathematical Statistics*. 18 (1): 50–60. doi:10.1214/aoms/1177730491. MR 0022058. Zbl 0041.26103.
121. Manninen, O. M., Jalli, M., Kalendar, R., Schulman, A., Afanasenk, O. and Robinso, J. 2006. Mapping of major spot-type and net-type net-blotch resistance genes in the Ethiopian barley line CI 9819. *Genome*. 49: 1564–1571.
122. Marshall, J. M., Kinzer, K. and Brueggeman, R. 2015. First Report of *Pyrenophora teres* f. *maculata* the Cause of Spot Form Net Blotch of Barley in Idaho. *Plant Disease*. 99 (12):1860.
123. Martin, R. A. and Clough, K. S. 1984. Relationship of airborne spore load of *Pyrenophora teres* and weather variables to net blotch development on barley, *Canadian Journal of Plant Pathology*. 6 (2): 105-110, DOI: 10.1080/07060668409501569.
124. Marzani, Q. A., Swarbrick, P. and Rossall, S. 2013. Correlation of the F129L mutation in *Pyrenophora teres*, the pathogen of net blotch of barley, with the efficacy of QoI fungicides. *IOSR journal of agriculture and veterinary science*. 3:66-72.
125. Marzani, Q., A. 2011. Fungicide resistance and efficacy for control of *Pyrenophora teres* and *Mycosphaerella graminicola* on barley and wheat. PhD thesis, University of Nottingham, United Kingdom. 222pp.
126. Matsuzaki, Y., Kiguchi, S., Suemoto, H. and Iwahashi, F. 2020. Antifungal activity of metyltetraprole against the existing QoI-resistant isolates of various plant pathogenic fungi. *Pest Management Science*. 76: 1743–1750.
127. McDonald, W. C., 1967. Variability and the inheritance of morphological mutants in *Pyrenophora teres*. *Phytopathology*. 57: 747–755.
128. McKay, A. H., Hagerty, G. C., Follas, G. B., Moore, M. S. Christie, M.S. and Beresford, R. M. 2011. Succinate dehydrogenase inhibitor (SDHI) fungicide resistance prevention strategy. *New Zealand Plant Protection*. 64: 119-124.
129. McLean, M. S., Howlett, C. B. J. and Hollaway, G. J. 2010. Spot form of net blotch, caused by *Pyrenophora teres* f. *maculata*, is the most prevalent foliar disease of barley in Victoria, Australia. *Australasian Plant Pathology*. 39: 46-49.
130. Meamiche-Neddaf, H., Aouini, L., Bouznad, Z. and Kema, G. H. J. 2017. Equal

- Distribution of Mating Type Alleles and the Presence of Strobilurin Resistance in Algerian *Zymoseptoria tritici* Field Populations. *Plant Disease*. 101:544-549.
131. Mikaberidze, A. and McDonald, B. A. 2015. Fitness Cost of Resistance: Impact on Management. In: Fungicide resistance in plant pathogens: principles and a guide to practical management, eds. by H. Ishii and D. W. Hollomon. Springer. Tokyo, Japan. pp. 329–340.
132. Mironenko, N. V., Afanasenko, O. S., Filatova, O. A. and Kopahnke, D. 2005. Genetic Control of Virulence of *Pyrenophora teres* Drechs, the Causative Agent of Net Blotch in Barley. *Russian Journal of Genetics*. 41(12): 1389–1394. Translated from *Genetika*. 41(12):1674–1680.
133. Mironenko, N., Filatova, O., and Afanasenko, O. 2002. Genetic Control of *Pyrenophora teres* Virulence to Three Barley Accessions, *Plant Protection Science*. 38 (2): 612–614.
134. Morvan Y., 2006. Les maladies fongiques de l'orge. Helminthosporium de l'orge (*Drechslera teres*). Source : Basf Agro. N° 645, France, 3p.
135. Mougou-Hamdane, A., Touati, R., Faddaoui, S., Garbouj, R., BenAraar and A., Nasraoui, B. 2018. Barley Net Blotch in Tunisia: Areal distribution, forms and molecular identification. *Tunisian Journal of Plant Protection*. 13 (1): 57-68.
136. Moustafa, N. A. 2017. Use of Linear correlation between *in vitro* and *in vivo* tests for evaluating efficiency of some fungicides in controlling net blotch of barley (*Hordeum vulgare*). *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology*. 8(2): 35 – 45.
137. Moya, P., Girotti, J. R., Toledo, A. V. and Sisterna, M. N. 2018. Antifungal activity of *Trichoderma* VOCs against *Pyrenophora teres*, the causal agent of barley net blotch. *Journal of Plant Protection Research*. 58 (1): 45–53, DOI: 10.24425/119115.
138. Murray, G. M. and Brennan, J. P. 2010. Estimating disease losses to the Australian barley industry. *Australasian Plant Pathology*. 39: 85 – 96.
139. Mycobank. 2020. <http://www.mycobank.org/BioLOMICSDetails.aspx?Rec=9136> Neate, S. and McMullen, M. 2005. Barley Diseases Handbook, North Dakota State University, 52 pp.
140. Neupane, A., Tamang, P., Brueggeman, R. S. and Friesen, T. L. 2015. Evaluation of a

- barley core collection for spot form net blotch reaction reveals distinct genotype-specific pathogen virulence and host susceptibility. *Phytopathology*. 105: 509–517.
141. Nysten, A. 2018. Étude De l'évolution des résistances aux fongicides Carboxamides dans les populations Belges de *Zymoseptoria tritici*. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de master bio-ingénieur en agronomie. Université catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgique. 107p.
142. O' Brien, E. 2005. Biological Control of *Pyrenophora teres*. Mémoire M.Sc. degree, Letterkenny Institute of Technology. Donegal, Irlande. 103p.
143. O'Boyle, P. D. 2009. Genetic characterization and linkage mapping of barley net blotch resistance genes. PhD. dissertation, Virginia Polytechnic Institute, State University, Blacksburg. 72p.
144. Oliver, R. P. and Hewitt, H. G. 2014. Fungicides in Crop Protection (2nd edition). CABI Publishing, Wallingford, UK. 200p.
145. ONFAA. 2019. Bilan du commerce extérieur algérien des céréales, 2018.
146. Ortiz-Hernández, M. L., Sánchez-Salinas, E., Dantán-González, E. and Castrejón-Godínez, M. L. 2013. Pesticide Biodegradation: Mechanisms, Genetics and Strategies to Enhance the Process, Biodegradation - Life of Science, Rolando Chamy and Francisca Rosenkranz, IntechOpen, DOI: 10.5772/56098. Available from: <https://www.intechopen.com/books/biodegradation-life-of-science/pesticide-biodegradation-mechanisms-genetics-and-strategies-to-enhance-the-process>
147. Ouaar, N., Lammari, H. I., Benslimane, H. 2017. Optimization of DNA extraction from two phytopathogenic fungi (*Pyrenophora tritici-repentis* and *Pyrenophora teres*). The first international congress of Biothechnologies for sustainable development CIBSDD2017, Boumerdès, Algeria.
148. Owino A. A., Ochuodho J. O., Were J. O. 2013. Morphological diversity of net blotch fungi (*Pyrenophora teres*) infecting barley (*Hordeum vulgare*) in barley growing areas of Kenya. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Science*. 1(6): 473-479.
149. Pană, M., Cristea, S., Manole, M., S., Cernat, S., Zala, C. and Berca, L. M. 2015. Research on the influence of temperature, light and culture media on growth and development of

- Pyrenophora teres* fungus (*in vitro*). *Lucrări Științifice, seria Agronomie*. 58 (2): 147-150.
150. Pariaud, B., Ravigné, V., Halkett, F., Goyeau, H., Carlier, J. and Lannou, C. 2009. Aggressiveness and its role in the adaptation of plant Pathogens. *Plant Pathology*. 58: 409–424.
151. Parker, J. E., Warrilow, A. G. S., Price, C. L., Mullins, J. G. L., Kelly, D. E., and Kelly, S. L. 2014. Resistance to antifungals that target CYP51. *Journal of Chemical Biology*. 7(4): 143–161. doi:10.1007/s12154-014-0121-1.
152. Parry, D. W. 1990. *Plant Pathology in Agriculture*. Eds. Cambridge University Press Archive, Cambridge, Royaume Uni. 385p.
153. Peevert, L. and Milgroom, G. 1994. Genetic structure of *Pyrenophora teres* populations determined with random amplified polymorphic DNA markers. *Canadian Journal of Botany*. 72: 915-923.
154. Peltonen, S., Jalli, M., Kammiovirta, K. and Karjalainen, R. 1996. Genetic variation in *Drechslera teres* populations as indicated by RAPD markers. *Annals Of Applied Biology*. 128:465-477.
155. Petrosino, J. F., Highlander, S., Luna, R. A., Gibbs, R. A. and Versalovic, J. 2009. Metagenomic Pyrosequencing and Microbial Identification. *Clinical Chemistry*. 55(5): 856–866.
156. Piening, L. J. 1961. The occurrence of *Pyrenophora teres* on barley straw in Alberta. *Canadian plant disease survey*. 41(5):299-300.
157. Pringle A. and J. W. Taylor. 2002. The fitness of filamentous fungi. *Trends in Mycology*. 10 (10): 474-481.
158. Rau, D., Attene, G., Brown, A. H. D., Nanni, L., Maier, F. J., Balmas, V., Saba, E., Schafer, W. and Papa, R. 2007. Phylogeny and evolution of mating-type genes from *Pyrenophora teres*, the causal agent of barley ‘net blotch’ disease. *Current Genetics*. 51: 377-392.
159. Reguieg, M. M., Labdi, M., Benbelkacem, A., Hamou, M., Maatougui, M. E. H., Grando, S. and Ceccarelli, S. 2013. First experience on participatory barley breeding in Algeria. *Journal of crop improvement*. 27(4): 469-486.

160. Rehfus, A. 2018. Analysis of the emerging situation of resistance to succinate dehydrogenase inhibitors in *Pyrenophora teres* and *Zymoseptoria tritici* in Europe. PhD in Agricultural Sciences. University of Hohenheim, Stuttgart, Germany. 195p.
161. Rehfus, A., Matusinsky, P., Strobel, D., Bryson, R. and Stammler, G. 2019. Mutations in target genes of succinate dehydrogenase inhibitors and demethylation inhibitors in *Ramularia collo-cygni* in Europe. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 126: 447–459. <https://doi.org/10.1007/s41348-019-00246-4>
162. Rehfus, A., Miessner, S., Achenbach, J., Strobel, D., Bryson, R. and Stammler, G. 2016. Emergence of succinate dehydrogenase inhibitor resistance of *Pyrenophora teres* in Europe. *Pest Management Science*. 72:1977-1988.
163. Reimann, S. and Deising, H. B. 2005. Inhibition of Efflux Transporter-Mediated Fungicide Resistance in *Pyrenophora tritici-repentis* by a Derivative of 4'-Hydroxyflavone and Enhancement of Fungicide Activity. *Applied And Environmental Microbiology*. 71(6) : 3269–3275.
164. Reis, E. M.; Zanatta, M.; Carmona, M. and Menten, J. O. M. 2015. Relationship between IC50 determined *in vitro/in vivo* and the fungicide rate used in the field. *Summa Phytopathologica*. 41(1): 49-53.
165. Roohpar, R., De Waard, M. A., Kema, G. and Zwiers, L. H. 2007. MgMfs1, a major facilitator superfamily transporter from the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*, is a strong protectant against natural toxic compounds and fungicides. *Fungal Genetics and Biology*. 44(5): 378-88. DOI: 10.1016/j.fgb.2006.09.007.
166. Sacristán, S. and García-Arenal, F. 2008. Virulence evolution Challenges for molecular plant pathology over the next ten years: The evolution of virulence and pathogenicity in plant pathogen populations. *Molecular Plant Pathology*. 9(3): 369–384. DOI: 10.1111/J.1364-3703.2007.00460.X.
167. Salvaudon, L., Héraudet, V. et. Shykoff, J. A. 2007. Genotype-specific interactions and the trade-off between host and parasite fitness. *BMC Evolutionary Biology*. 7:189. doi:10.1186/1471-2148-7-189.
168. Sayoud, R., Ezzahiri, B and Bouznad, Z. 1999. Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. ITGC, Alger, Algérie. 64 p.

- 169.Scott, D. B. 1991. Identity of *Pyrenophora* isolates causing net-type and spot-type lesions on barley. *Mycopathologia*. 116: 29-35.
- 170.Scott, D. B., van Niekerk, H. A. and Paxton, T. G. 1992. Effect of propiconazole on necrotrophic fungi and yield of barley genotypes differing in susceptibility to *Rhynchosporium secalis*. *Crop Protection*. 11(3): 243–247.
- 171.Semar, M., Strobel, D., Koch, A., Klappach, K. and Stammler, G. 2007. Field efficacy of pyraclostrobin against populations of *Pyrenophora teres* containing the F129L mutation in the cytochrome b gene. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 114:117-119.
- 172.Serenius, M., Mironenko and N., Manninen, O. 2005. Genetic variation, occurrence of mating types and different forms of *Pyrenophora teres* causing net blotch of barley in Finland. *Mycological Research*. 109: 809-817.
- 173.Shaner, G. 1992. Nomenclature and Concepts of pathogenicity and virulence. *Annual Review of Phytopathology*. 30:47-66.
- 174.Shaw, M. W. 1986. Effects of temperature and leaf wetness on *Pyrenophora teres* growing on barley cv. Sonja. *Plant Pathology*. 35: 294-309.
- 175.Sheridan, J. E. and Nendick, D. K. 1987. Strains of *Pyrenophora teres* in New Zealand barley crops with reduced sensitivity to ergosterol biosynthesis inhibitor fungicides, Proceedings of the New Zealand Weed and Pest Control Conference: Vol. 40.
- 176.Sheridan, J. E., Grbavac, N. and Sheridan, M. H. 1985. Triadimenol insensitivity in *Pyrenophora teres*. *Transactions of the British Mycological Society*. 85 (2): 338-341.
- 177.Shipton, W. A., Khan, T. N. and Boyd, W. J. 1973. Net blotch of barley. *Review of Plant Pathology*. 52:269–290.
- 178.Shoemaker, R. A. 1959. Nomenclature of *Drechslera* and *Bipolaris*, grass parasites segregated from '*Helminosporium*'. *Canadian Journal of Botany*. 37(5):879-887.
- 179.Sierotzki, H., Frey, R., Wullschleger, J., Palermo, S., Karlin, S., Godwin, J. and Gisi, U. 2007. Cytochrome b gene sequence and structure of *Pyrenophora teres* and *P. tritici-repentis* and implications for QoI resistance. *Pest Management Science*. 63:225-233.
- 180.Skinner, W., Bailey, A., Renwick, A., Keon, J., Gurr, S. and Hargreaves, J. 1998. A single

- amino-acid substitution in the iron-sulphur protein subunit of succinate dehydrogenase determines resistance to carboxin in *Mycosphaerella graminicola*. *Current Genetics*. 34: 393–398.
- 181.Smedegard-Petersen, V. 1977. Inheritance of Genetic Factors for Symptoms and Pathogenicity in Hybrids of *Pyrenophora teres* and *Pyrenophora graminea*. *Phytopathologische Zeitschrift*. 89:193-202.
- 182.Smedegard-petersen, V. 1978. Genetics of heterothallism in *Pyrenophora graminea* and *P. teres*. *Transactions of the British Mycological Society*. 70 (1) 99-102.
- 183.Statkeviciute, G., Brazauskas, G., Semaskien, R., Leistrumaite, A., Dabkevicius, Z. 2010. *Pyrenophora teres* genetic diversity as detected by ISSR analysis. *Zemdirbystė-Agriculture*. 97: 1392-1396.
- 184.Steinbauer, D., Salat, M., Frey, R., Mosbach, A., Luksch, T., Balmer, D., Hansen, R., Widdison, S., Logan, G., Dietrich, R. A., Kema, G. H. J., Bieri, S., Sierotzki, H., Torriani, S. F. F. and Scalliet, G. 2019. A dispensable paralog of succinate dehydrogenase subunit C mediates standing resistance towards a subclass of SDHI fungicides in *Zymoseptoria tritici*. *bioRxiv*: 616904.
- 185.Stepanović, M., Rekanović, E., Milijašević-Marčić, S., Potočnik, I., Todorović, B. and Stepanović, J. 2016. Field efficacy of different fungicide mixtures in control of net blotch on barley. *Pesticides & Phytomedicine* (Belgrade). 31(1-2): 51–57.
- 186.Suemoto, H., Matsuzaki, Y. and Iwahashi, F. 2019. Metyltetraprole, a novel putative complex III inhibitor, targets known QoI-resistant strains of *Zymoseptoria tritici* and *Pyrenophora teres*. *Pest Management Science*. 75:1181–1189.
- 187.Syme, R. A., Martin, A., Wyatt, N. A., Lawrence, J. A., Muria-Gonzalez, M. J., Friesen, T. L. and Ellwood, S. R. 2018. Transposable element genomic fissuring in *Pyrenophora teres* is associated with genome expansion and dynamics of host–pathogen genetic interactions. *Frontiers in Genetics*. 9:130. doi: 0.3389/fgene.2018.00130.
- 188.Taibi, K., Bentata, F., Labhili, M., Bentourtou, F., El Alaoui Faris, F. E., Ibjibijen, J. and El Aissami, A. 2014. Evaluation de l'effet antifongique de l'extrait aqueux de *Thymelaea* sp. sur *Pyrenophora teres*. *Revue Marocaine de Protection des Plantes*. 6: 21-28.

189. Teferi, T. A., Wubshet, M. L. and Aregawi, T. B. 2015. Occurrence and intensity of net and spot blotch of barley in South Tigray, Ethiopia. *Global journal of pests, diseases and crop protection*. 3 (4):113-123.
190. Tekauz, A. 1985. A numerical scale to classify reactions of barley to *Pyrenophora teres*. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 7:181-183.
191. Tekauz, A., 1990. Characterization and distribution of pathogenic variation in *Pyrenophora teres* f. *teres* and *P. teres* f. *maculata* from Western Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 12: 141–148.
192. Tekauz, A., Desjardins, M. and Kleiber, F. 2011. Evaluating the *Pyrenophora teres* international standard barley differential set with Canadian isolates of the pathogen. 4th International Workshop on Barley Leaf Blights (IWBLB); Dundee, Scotland, UK.
193. Tillman, R. W., Siegel, M. R., and Long, J. W. 1973. Mechanism of action and fate of the fungicide chlorothalonil (2,4,5,6-tetrachloroisophthalonitrile) in biological systems. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 3(2): 160–167.
194. Tremblay, D. M., Talbot, B. G., and Carisse, O. 2003. Sensitivity of *Botrytis squamosa* to different classes of fungicides. *Plant Disease*. 87:573-578.
195. Tucker, M., Lopez-Ruiz, F., Jayasena, K. and Oliver, R. 2015. Origin of fungicide-resistant barley powdery mildew in Western Australia: lessons to be learned. In: Fungicide resistance in plant pathogens: principles and a guide to practical management, eds. by H. Ishii and D. W. Hollomon, pp. 329–340. Springer. Tokyo, Japan.
196. Tuffery, S., 2012. Data Mining et statistique décisionnelle: L'intelligence des données, Ed. Technip. Paris, France. 826 p.
197. Tuohy, J. M., Jalli, M., Cooke, B. M. and Sullivan, E. O. 2006. Pathogenic variation in populations of *Drechslera teres* f. *teres* and *D. teres* f. *maculata* and differences in host cultivar responses. *European Journal of Plant Pathology*. 116:177–185.
198. Turkington, T. K., Clayton, G.W., Klein-Gebbinck, H.W., Lupwayi, N. Z., Harker, K. N. , O'Donovan, J. T., Burnett , P. A. and Xi., K. 2006. Impact of crop management on leaf diseases in Alberta barley fields, 1995–1997. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 28(3): 441-448.

199. Van den Berg, C. G. J. 1988. Epidemiology of *Pyrenophora teres* and its effect on grain yield of *Hordeum vulgare*. A Thesis for the Degree of Doctor of Philosophy. University of Saskatchewan. Saskatoon, Canada. 190p.
200. Van den Berg, C. G. J. and Rossnagel, B. G. 1991. Epidemiology of spot-type net blotch on spring barley in Saskatchewan. *Phytopathology*. 81: 1446-1452.
201. Van den Berg, F., van den Bosch, F. and Paveley, N. 2013. Optimal fungicide application timings for disease control are also an effective anti-resistance strategy: a case study for *Zymoseptoria tritici* (*Mycosphaerella graminicola*) on wheat. *Phytopathology*. 103:1209-1219.
202. Van den Bosch, F., Paveley, N., van den Berg, F., Hobbelen, P. and Oliver, R. 2014. Mixtures as a fungicide resistance management tactic. *Phytopathology*. 104:1264-1273.
203. Van der Torre, M. H. , Novak-Frazer, L. and Rautemaa-Richardson, R. 2020 Detecting Azole-Antifungal Resistance in *Aspergillus fumigatus* by Pyrosequencing. *Journal of Fungi*. 6(1): 12.
204. Van der plank, J. E. 1968. Disease resistance in plants. Ed. Academic Press, New York, USA. 206 p.
205. Von Schmeling, B., Kulka, G. 1966. Systemic fungicidal activity of 1,4-oxathiin derivatives. *Science*. 152: 659-660.
206. Walker, A. S. 2013. Diversité et adaptation aux fongicides des populations de *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise. Thèse de doctorat. Université Paris-Sud, Paris, France. 170p.
207. Walters, D. R., Avrova, A., Bingham, I. J., Burnett, F. J., Fountaine, J., Havis, N. D., Hoad, S. P., Hughes, G., Looseley, M., Oxley, S. J. P., Renwick, A., Topp, C. F. E., Newton, A. C. 2012. Control of foliar diseases in barley: towards an integrated approach. *European Journal of Plant Pathology*. 133:33–73
208. Williams, K. J., Lichon A., Gianquitto, P., Kretschmer, J. M., Karakousis, A., Manning, S., Langridge, P. and Wallwork, H. 1999. Identification and mapping of a gene conferring resistance to the spot form of net blotch (*Pyrenophora teres* f. *maculata*) in barley. *Theoretical and Applied Genetics*. 99: 323–327.

209. Williams, K. J., Smyl, C., Lichon, A., Wong, K.Y. and Wallwork, H. 2001. Development and use of an assay based on the polymerase chain reaction that differentiates the pathogens causing spot form and net form of net blotch of barley. *Australasian Plant Pathology*. 30:37-44.
210. Yamashita, M. and Fraaije B. 2017. Non-target site SDHI resistance is present as standing genetic variation in field populations of *Zymoseptoria tritici*. *Pest Management Science*. 74:672-681.
211. Zhan, J. and McDonald, B. A. 2013. Experimental Measures of Pathogen Competition and Relative Fitness. *Annual Review of Phytopathology*. 51:131–53.
212. Zillinsky, F. J. 1983. Common diseases of small grain cereals: a guide to identification. CIMMYT. El Batan, Mexico. 141p.

Annexes

1. Composition et préparation des milieux de culture utilisés

Milieu PDA (Potatoes Dextrose Agar)

Pomme de terre.....200g.
Glucose.....20g.
Agar.....20g.
Eau distillée.....qsp 1000 ml
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

Milieu YBA (Yeast Bacto Acetate) doublement concentré

Extrait de levure.....20g
Bacto Peptone.....20g
Acétate de sodium.....40g
Eau distillée.....qsp 1000 ml
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

Milieu V8-PDA : Pomme de terre 200 g

Glucose20 g
Agar.....20 g
CaCO₃.....3 g
Jus V8150 ml
Eau distilléeqsp 1000 ml (=850 ml).
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

Préparation du Jus V8 :

- ✓ 1 cuillère à soupe d'huile d'olive
- ✓ 1 cuillère à soupe de miel
- ✓ 5 tomates de grand calibre
- ✓ ½ oignon
- ✓ 2 gousses d'ail
- ✓ 1 betterave hachée
- ✓ 1 carotte
- ✓ 2 petits concombres hachés
- ✓ ¼ verre de Persil haché le tout mixé à l'aide d'un mixeur.

Milieu POA (Peanut Oat Agar)

Extrait de feuille d'arachide.....50 g
Flocons d'avoine.....15 g
Agar.....20 g
Eau.....500 ml

Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

Coulé en raison de 15mL par boîte de Petri (une couche fine de milieu)

Milieu inoculation de *P. teres*

Extrait de malt25 g
Gélatine25 g
Eau.....qsp 1000 ml

Gélatine est dissoute dans de l'eau chaude.

2. Tableaux annexes

2. 1. Collection des isolats *P. teres* constituée durant la saison agricole 2015/2016

Tableau : Codes des 212 isolats utilisés, leurs origines, année d'isolement et forme de *P. teres* (*Ptt* ou *Ptm*) détectée par PCRs.

	Codes d'isolats	Wilayas	Localités	Année d'isolement	* Forme de <i>P. teres</i>
1	Pt 1	Alger	Oued Semar (Champ 1)	2015	NFNB
2	Pt2	Alger	Oued Semar (Champ 1)	2015	NFNB
3	Pt3	Alger	Oued Semar (Champ 1)	2015	NFNB
4	Pt4	Alger	Oued Semar (Champ 1)	2015	NFNB
5	Pt5	Alger	Oued Semar (Champ 1)	2015	NFNB
6	Pt6	Alger	Oued Semar (Champ 2)	2015	NFNB
7	Pt7	Alger	Oued Semar (Champ 2)	2015	NFNB
8	Pt8	Alger	Oued Semar (Champ 2)	2015	NFNB
9	Pt9	Alger	Oued Semar (Champ 2)	2015	NFNB
10	Pt10	Alger	Oued Semar (Champ 2)	2015	NFNB
11	Pt 11	Alger	Oued Semar (Champ 3)	2015	NFNB
12	Pt12	Alger	Oued Semar (Champ 3)	2015	NFNB
13	Pt13	Alger	Oued Semar (Champ 3)	2015	NFNB
14	Pt14	Alger	Oued Semar (Champ 3)	2015	NFNB
15	Pt15	Alger	Oued Semar (Champ 4)	2015	NFNB
16	Pt215	Alger	Oued Semar (Champ 4)	2015	NFNB
17	Pt216	Alger	Oued Semar (Champ 4)	2015	NFNB
18	Pt16	Alger	CNCC (Lot de grains 1)	2016	NFNB
19	Pt17	Alger	CNCC (Lot de grains 1)	2016	NFNB
20	Pt18	Alger	CNCC (Lot de grains 1)	2016	NFNB
21	Pt19	Alger	CNCC (Lot de grains 1)	2016	NFNB
22	Pt20	Alger	CNCC (Lot de grains 2)	2016	NFNB
23	Pt21	Alger	CNCC (Lot de grains 2)	2016	NFNB
24	Pt22	Alger	CNCC (Lot de grains 2)	2016	NFNB
25	Pt23	Alger	Oued Semar (Champ 5)	2015	NFNB
26	Pt24	Alger	Oued Semar (Champ 5)	2015	NFNB
27	Pt25	Alger	Oued Semar (Champ 5)	2015	NFNB

28	Pt26	Alger	Oued Semar (Champ 5)	2015	NFNB
29	Pt27	Alger	Oued Semar (Champ 5)	2015	NFNB
30	Pt28	Alger	Oued Semar (Champ 5)	2015	NFNB
31	Pt29	Alger	Oued Semar (Champ 5)	2016	NFNB
32	Pt30	Alger	ENSA (Genotype 1)	2016	NFNB
33	Pt31	Alger	ENSA (Genotype 1)	2016	NFNB
34	Pt32	Alger	ENSA (Genotype 1)	2016	NFNB
35	Pt33	Alger	ENSA (Genotype 2)	2016	NFNB
36	Pt34	Alger	ENSA (Genotype 2)	2016	NFNB
37	Pt35	Alger	ENSA (Genotype 2)	2016	NFNB
38	Pt36	Alger	ENSA (Genotype 3)	2016	NFNB
39	Pt37	Alger	ENSA (Genotype 3)	2016	SFNB
40	Pt38	Alger	ENSA (Genotype 3)	2016	SFNB
41	Pt39	Alger	ENSA (Genotype 3)	2016	SFNB
42	Pt40	Alger	ENSA (Genotype 4)	2016	NFNB
43	Pt41	Alger	ENSA (Genotype 4)	2016	NFNB
44	Pt42	Alger	ENSA (Genotype 5)	2016	SFNB
45	Pt43	Alger	ENSA (Genotype 5)	2016	SFNB
46	Pt44	Alger	ENSA (Genotype 6)	2016	NFNB
47	Pt45	Alger	ENSA (Genotype 6)	2016	NFNB
48	Pt230	Alger	ENSA (Genotype 6)	2016	NFNB
49	Pt46	Alger	ENSA (Genotype 7)	2016	SFNB
50	Pt47	Alger	ENSA (Genotype 7)	2016	SFNB
51	Pt48	Alger	ENSA (Genotype 7)	2016	SFNB
52	Pt49	Alger	ENSA (Genotype 8)	2016	SFNB
53	Pt50	Alger	ENSA (Genotype 8)	2016	SFNB
54	Pt51	Alger	ENSA (Genotype 9)	2016	NFNB
55	Pt52	Alger	ENSA (Genotype 9)	2016	NFNB
56	Pt53	Alger	ENSA (Genotype 9)	2016	NFNB
57	Pt54	Alger	ENSA (Genotype 9)	2016	NFNB
58	Pt188	Alger	ENSA	2017	NFNB
59	Pt189	Alger	ENSA	2017	NFNB
60	Pt190	Alger	ENSA	2017	NFNB

61	Pt191	Alger	ENSA	2017	NFNB
62	Pt192	Alger	ENSA	2017	SFNB
63	Pt55	Alger	Bouchaoui	2016	NFNB
64	Pt56	Alger	Bouchaoui	2016	NFNB
65	Pt58	Alger	Bouchaoui	2016	NFNB
66	Pt59	Alger	Bouchaoui	2016	NFNB
67	Pt222	Alger	Bouchaoui	2016	NFNB
68	Pt223	Alger	Bouchaoui	2016	NFNB
69	Pt60	Béjaïa	Oued Ghir	2016	NFNB
70	Pt61	Béjaïa	Oued Ghir	2016	NFNB
71	Pt62	Béjaïa	Oued Ghir	2016	NFNB
72	Pt63	Béjaïa	Oued Ghir	2016	NFNB
73	Pt64	Béjaïa	INRAA	2016	NFNB
74	Pt65	Béjaïa	INRAA	2016	NFNB
75	Pt66	Béjaïa	Ifnayen (Champ 1)	2016	NFNB
76	Pt67	Béjaïa	Ifnayen (Champ 1)	2016	NFNB
77	Pt68	Béjaïa	Ifnayen (Champ 1)	2016	NFNB
78	Pt69	Béjaïa	Ifnayen (Champ 2)	2016	NFNB
79	Pt70	Béjaïa	Ifnayen (Champ 2)	2016	NFNB
80	Pt71	Béjaïa	Ifnayen (Champ 2)	2016	NFNB
81	Pt73	Béjaïa	Ifnayen (Champ 3)	2016	NFNB
82	Pt74	Béjaïa	Ifnayen (Champ 3)	2016	NFNB
83	Pt75	Béjaïa	Ifnayen (Champ 4)	2016	NFNB
84	Pt76	Béjaïa	Ifnayen (Champ 4)	2016	NFNB
85	Pt77	Béjaïa	Ifnayen (Champ 5)	2016	SFNB
86	Pt78	Béjaïa	Ifnayen (Champ 5)	2016	SFNB
87	Pt79	Béjaïa	Ifnayen (Champ 5)	2016	SFNB
88	Pt203	Béjaïa	INRAA	2016	NFNB
89	Pt204	Béjaïa	INRAA	2016	NFNB
90	Pt205	Béjaïa	INRAA	2016	NFNB
91	Pt80	Bouira	Sour El Ghozlane (Champ1)	2016	NFNB
92	Pt81	Bouira	Sour El Ghozlane	2016	NFNB

			(Champ1)		
93	Pt82	Bouira	Sour El Ghozlane (Champ1)	2016	NFNB
94	Pt83	Bouira	Sour El Ghozlane (Champ2)	2016	SFNB
95	Pt84	Bouira	Sour El Ghozlane (Champ2)	2016	SFNB
96	Pt85	Bouira	Sour El Ghozlane (Champ2)	2016	SFNB
97	Pt86	Bouira	Houachria	2016	SFNB
98	Pt87	Bouira	Houachria	2016	SFNB
99	Pt88	Bouira	Houachria	2016	SFNB
100	Pt90	Bouira	AïnBessem	2016	SFNB
101	Pt91	Bouira	AïnBessem	2016	SFNB
102	Pt217	Bouira	Sidi Khelifa	2016	NFNB
103	Pt218	Bouira	Sidi Khelifa	2016	NFNB
104	Pt219	Bouira	Sidi Khelifa	2016	NFNB
105	Pt92	Boumerdès	Zemmouri (Champ 1)	2016	NFNB
106	Pt94	Boumerdès	Zemmouri (Champ 1)	2016	NFNB
107	Pt95	Boumerdès	Zemmouri (Champ 2)	2016	NFNB
108	Pt96	Boumerdès	Zemmouri (Champ 2)	2016	NFNB
109	Pt97	Boumerdès	Zemmouri (Champ 3)	2016	NFNB
110	Pt98	Boumerdès	Zemmouri (Champ 3)	2016	NFNB
111	Pt99	Boumerdès	Zemmouri (Champ 3)	2016	NFNB
112	Pt100	Boumerdès	Isser-Teliss	2016	NFNB
113	Pt102	Boumerdès	Isser-Teliss	2016	SFNB
114	Pt103	Boumerdès	Isser-Teliss	2016	SFNB
115	Pt104	Boumerdès	Isser-Bouchakour	2016	SFNB
116	Pt105	Boumerdès	Isser-Bouchakour	2016	SFNB
117	Pt106	Boumerdès	Isser-Bouchakour	2016	SFNB
118	Pt107	Boumerdès	Thénia	2016	NFNB
119	Pt108	Boumerdès	Thénia	2016	NFNB
120	Pt110	Boumerdès	Thénia	2016	NFNB

121	Pt111	Boumerdès	Corso	2016	NFNB
122	Pt112	Boumerdès	Corso	2016	NFNB
123	Pt113	Boumerdès	Cap Djinet	2016	SFNB
124	Pt114	Boumerdès	Cap Djinet	2016	SFNB
125	Pt115	Boumerdès	Cap Djinet	2016	SFNB
126	Pt116	Boumerdès	Cap Djinet	2016	SFNB
127	Pt117	Tizi Ouzou	Draâ El Mizan	2016	NFNB
128	Pt118	Tizi Ouzou	Draâ El Mizan	2016	NFNB
129	Pt119	Tizi Ouzou	Draâ El Mizan	2016	NFNB
130	Pt121	Tizi Ouzou	Draâ El Mizan	2016	NFNB
131	Pt122	Tizi Ouzou	Draâ El Mizan	2016	NFNB
132	Pt123	Tizi Ouzou	Draâ El Mizan	2016	NFNB
133	Pt126	Tizi Ouzou	Assi Youcef (Champ 2)	2016	NFNB
134	Pt129	Tizi Ouzou	Assi Youcef (Champ 2)	2016	NFNB
135	Pt130	Tizi Ouzou	Assi Youcef (Champ 3)	2016	NFNB
136	Pt131	Tizi Ouzou	Assi Youcef (Champ 3)	2016	NFNB
137	Pt132	Sétif	Ksar El Abtal (Champ 1)	2016	NFNB
138	Pt133	Sétif	Ksar El Abtal(Champ 1)	2016	NFNB
139	Pt135	Sétif	Ksar El Abtal (Champ 1)	2016	NFNB
140	Pt136	Sétif	Ksar El Abtal (Champ 1)	2016	NFNB
141	Pt137	Sétif	Ksar El Abtal (Champ 2)	2016	NFNB
142	Pt138	Sétif	Ksar El Abtal (Champ 2)	2016	NFNB
143	Pt139	Sétif	CNCC (cv.Saida)	2016	NFNB
144	Pt140	Sétif	CNCC (cv.Saida)	2016	NFNB
145	Pt141	Sétif	CNCC (cv.Saida)	2016	NFNB
146	Pt142	Sétif	CNCC (cv.Tichedrett)	2016	NFNB
147	Pt143	Sétif	Drâa El Miad	2016	NFNB
148	Pt144	Sétif	Drâa El Miad	2016	NFNB
149	Pt231	Sétif	Aïn Oulmène	2016	SFNB
150	Pt232	Sétif	Aïn Oulmène	2016	SFNB
151	Pt233	Sétif	CNCC (cv.Tichedrett)	2016	NFNB
152	Pt227	Sétif	Draa El Miaad	2016	NFNB
153	Pt228	Sétif	Kasr el abtal (Champ 2)	2016	NFNB

154	Pt145	Tipaza	Garman	2016	NFNB
155	Pt146	Tipaza	Garman	2016	NFNB
156	Pt147	Tipaza	Garman	2016	NFNB
157	Pt148	Tipaza	Sidi Rached	2016	NFNB
158	Pt149	Tipaza	Sidi Rached	2016	NFNB
159	Pt150	Tipaza	Oued Bourkika	2016	NFNB
160	Pt151	Tipaza	Oued Bourkika	2016	NFNB
161	Pt152	Tipaza	Hadjout	2016	SFNB
162	Pt153	Tipaza	Hadjout	2016	SFNB
163	Pt154	Tipaza	Ahmar El Aïn	2016	SFNB
164	Pt206	Tipaza	Ahmar El Aïn	2016	SFNB
165	Pt208	Tipaza	German	2016	NFNB
166	Pt209	Tipaza	Oued Bourkika	2016	NFNB
167	Pt155	Aïn Defla	Bni Meghenem	2016	NFNB
168	Pt157	Aïn Defla	Bni Meghenem	2016	NFNB
169	Pt158	Aïn Defla	Bni Meghenem	2016	NFNB
170	Pt159	Aïn Defla	Mekhatria (Champ 1)	2016	NFNB
171	Pt160	Aïn Defla	Mekhatria (Champ 1)	2016	NFNB
172	Pt161	Aïn Defla	Mekhatria (Champ 2)	2016	SFNB
173	Pt162	Aïn Defla	Mekhatria (Champ 2)	2016	SFNB
174	Pt224	Aïn Defla	Mekhatria (Champ 2)	2016	SFNB
175	Pt225	Aïn Defla	Mekhatria (Champ 2)	2016	SFNB
176	Pt163	Blida	Amroussa	2016	SFNB
177	Pt164	Blida	Amroussa	2016	SFNB
178	Pt165	Blida	Faculty of biology	2016	NFNB
179	Pt166	Blida	Faculty of biology	2016	NFNB
180	Pt226	Blida	Faculty of biology	2016	NFNB
181	Pt167	Constantine	El Khroub (V.Saida 183)	2016	NFNB
182	Pt168	Constantine	El Khroub (V.Saida 183)	2016	NFNB
183	Pt169	Constantine	El Khroub (V.Saida 183)	2016	NFNB
184	Pt170	Constantine	El Khroub (V. Hamra)	2016	NFNB
185	Pt171	Constantine	El Khroub (V. Hamra)	2016	NFNB
186	Pt172	Constantine	El Khroub (V. Hamra)	2016	NFNB

187	Pt175	Aïn-Témouchent	Aïn-Témouchent	2016	NFNB
188	Pt176	Aïn-Témouchent	Aïn-Témouchent	2016	NFNB
189	Pt177	Aïn-Témouchent	Aïn-Témouchent	2016	NFNB
190	Pt178	Tlemcen	Tlemcen (Wheat)	2016	NFNB
191	Pt179	Tlemcen	Tlemcen (Wheat)	2016	NFNB
192	Pt180	Tlemcen	Tlemcen (Wheat)	2016	NFNB
193	Pt181	Tlemcen	Tlemcen (Wheat)	2016	NFNB
194	Pt182	Tlemcen	Tlemcen (Wheat)	2016	NFNB
195	Pt183	Tlemcen	Tlemcen (Wheat)	2016	NFNB
196	Pt184	Sidi-Bel-Abbès	Sidi-Bel-Abbès	2016	NFNB
197	Pt185	Sidi-Bel-Abbès	Sidi-Bel-Abbès	2016	NFNB
198	Pt186	Sidi-Bel-Abbès	Sidi-Bel-Abbès	2016	NFNB
199	Pt187	Sidi-Bel-Abbès	Sidi-Bel-Abbès	2016	NFNB
200	Pt193	Biskra	Biskra	2016	NFNB
201	Pt195	Médéa	Berrouaghia	2016	NFNB
202	Pt196	Médéa	Berrouaghia	2016	NFNB
203	Pt197	Médéa	Berrouaghia	2016	NFNB
204	Pt198	Médéa	Aïn El Melh	2016	NFNB
205	Pt199	Médéa	Aïn El Melh	2016	NFNB
206	Pt200	Médéa	Aïn El Melh	2016	NFNB
207	Pt201	Médéa	Aïn El Melh	2016	NFNB
208	Pt210	Tiaret	Hamadia	2016	NFNB
209	Pt211	Tiaret	Hamadia	2016	NFNB
210	Pt212	Tiaret	Hamadia	2016	NFNB
211	Pt174	Oum El-Bouaghi	Oum El-Bouaghi	2016	NFNB
212	Pt221	Oum El-Bouaghi	Oum El-Bouaghi	2016	SFNB

* NFNB = Net Form of Net Blotch, SFNB = Spot Form of Net Blotch

2. 2. Isolats de *P. teres* pour lesquels la variabilité morphologique, le pouvoir pathogène,

et la sensibilité aux fongicides ont été évalués

Tableau : Codes et formes des isolats utilisés lors des tests fongicides, test de croissance, test d'agressivité et test de pouvoir de sporulation.

Isolats	Forme	Test de croissance mycélienne	Test d'agressivité	Pouvoir de sporulation	Test Fongicides
Pt33	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt129	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt66	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt80	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt117	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt152	<i>Ptm</i>	+	+	+	+
Pt166	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt74	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt63	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt87	<i>Ptm</i>	+	+	+	+
Pt115	<i>Ptm</i>	+	+	+	+
Pt172	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt38	<i>Ptm</i>	+	+	+	+
Pt104	<i>Ptm</i>	+	-	-	-
Pt181	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt135	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt58	<i>Ptt</i>	+	-	-	+
Pt162	<i>Ptm</i>	+	+	+	+
Pt102	<i>Ptm</i>	+	+	+	+
Pt169	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt176	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt142	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt164	<i>Ptm</i>	+	+	+	-
Pt145	<i>Ptt</i>	+	+	+	-
Pt97	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt112	<i>Ptt</i>	+	-	-	+
Pt154	<i>Ptm</i>	+	+	+	+
Pt148	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt123	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt79	<i>Ptm</i>	+	+	+	+

Pt215	<i>Ptt</i>	+	+	+	-
Pt199	<i>Ptt</i>	+	+	+	-
Pt195	<i>Ptt</i>	+	-	-	+
Pt185	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt209	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt91	<i>Ptm</i>	+	+	+	+
Pt64	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt108	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt232	<i>Ptm</i>	+	+	+	-
Pt143	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt21	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt107	<i>Ptt</i>	+	+	+	-
Pt125	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt228	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt217	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt92	<i>Ptt</i>	+	+	+	-
Pt157	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt01	<i>Ptt</i>	+	+	+	+
Pt192	<i>Ptm</i>	-	-	-	+
Pt137	<i>Ptt</i>	+	+	+	-
Pt 174	<i>Ptt</i>	+	-	-	-
Pt196	<i>Ptt</i>	-	-	-	+
Pt61	<i>Ptt</i>	-	-	-	+
Pt119	<i>Ptt</i>	-	-	-	+
Pt90	<i>Ptm</i>	-	-	-	+
		totale 50	totale 45	totale 45	totale 45

*(+) Isolat testé, (-) Isolat non test

2. 3. Résultats du test de pouvoir de sporulation

Tableau : Codes, formes des isolats utilisés, nombre de spores/10 μ l (moyenne \pm écart type) et nombre de spores/ml/mm² obtenues pour chacun des 45 isolats testés.

Isolats	Forme	Moyenne (spores/10 μ l) \pm ET	Moyenne spores/ml/mm ²	Isolats	Forme	Moyenne (spores/10 μ l) \pm ET	Moyenne spores/ml/mm ²
Pt145	<i>Ptt</i>	39,11 \pm 23,71	138	Pt199	<i>Ptt</i>	19,56 \pm 4,50	69
Pt123	<i>Ptt</i>	23,56 \pm 12,80	83	Pt117	<i>Ptt</i>	14,00 \pm 6,49	50
Pt176	<i>Ptt</i>	55,22 \pm 25,48	195	Pt63	<i>Ptt</i>	19,22 \pm 9,14	68
Pt154	<i>Ptm</i>	28,89 \pm 12,27	102	Pt66	<i>Ptt</i>	16,45 \pm 8,01	58
Pt169	<i>Ptt</i>	33,11 \pm 2,50	117	Pt129	<i>Ptt</i>	45,56 \pm 24,78	161
Pt91	<i>Ptm</i>	31,00 \pm 2,18	110	Pt157	<i>Ptt</i>	22,34 \pm 5,51	79
Pt64	<i>Ptt</i>	111,56 \pm 0,77	395	Pt38	<i>Ptm</i>	29,56 \pm 6,73	105
Pt185	<i>Ptt</i>	2,00 \pm 0,88	7	Pt74	<i>Ptt</i>	31,22 \pm 13,24	110
Pt108	<i>Ptt</i>	93,78 \pm 4,14	332	Pt181	<i>Ptt</i>	38,11 \pm 18,17	135
Pt164	<i>Ptm</i>	42,89 \pm 31,86	152	Pt166	<i>Ptt</i>	31,00 \pm 5,93	110
Pt215	<i>Ptt</i>	19,56 \pm 17,72	69	Pt135	<i>Ptt</i>	18,67 \pm 10,14	66
Pt142	<i>Ptt</i>	147,66 \pm 70,60	523	Pt172	<i>Ptt</i>	49,78 \pm 41,29	176
Pt79	<i>Ptm</i>	2,00 \pm 1,33	7	Pt33	<i>Ptt</i>	34,67 \pm 22,43	123
Pt148	<i>Ptt</i>	168,45 \pm 51,30	596	Pt115	<i>Ptm</i>	9,22 \pm 6,74	33
Pt209	<i>Ptt</i>	0,67 \pm 0,88	2	Pt80	<i>Ptt</i>	14,55 \pm 11,71	51
Pt232	<i>Ptm</i>	3,56 \pm 1,02	13	Pt87	<i>Ptm</i>	0,55 \pm 0,69	2
Pt97	<i>Ptt</i>	60,55 \pm 21,15	214	Pt162	<i>Ptm</i>	4,45 \pm 2,04	16
Pt107	<i>Ptt</i>	82,11 \pm 40,31	291	Pt102	<i>Ptm</i>	3,89 \pm 1,71	14
Pt143	<i>Ptt</i>	52,11 \pm 12,34	184	Pt01	<i>Ptt</i>	15,55 \pm 0,19	55
Pt228	<i>Ptt</i>	60,66 \pm 23,80	215	Pt92	<i>Ptt</i>	38,33 \pm 12,49	136
Pt217	<i>Ptt</i>	12,33 \pm 4,62	44	Pt152	<i>Ptm</i>	7,44 \pm 3,98	26
Pt125	<i>Ptt</i>	49,78 \pm 5,98	176	Pt137	<i>Ptt</i>	19,89 \pm 8,92	70
Pt21	<i>Ptt</i>	40,45 \pm 2,27	143				

2. 4. Résultats du test d'agressivité

Tableau : Wilayas, codes, formes des isolats utilisés et degrés d'attaque obtenue pour chacun des 45 isolats Algériens testés.

Forme « <i>P. t. teres</i> »			Forme « <i>P. t. teres</i> »			Forme « <i>P. t. maculata</i> »		
Provenance	Isolat	degrés d'attaque (x/10)	Provenance	Isolat	degrés d'attaque (x/10)	Provenance	Isolat	degrés d'attaque (x/9)
Tipaza	Pt209	6,89	Constantine	Pt169	9,22	Sétif	Pt232	3,56
Bouira	Pt217	7,33	Alger	Pt215	9,22	Bouira	Pt87	3,67
Béjaïa	Pt66	7,78	Boumerdès	Pt117	9,22	Alger	Pt38	6,78
Sétif	Pt142	8,11	Boumerdès	Pt107	9,33	Boumerdès	Pt102	6,78
Sétif	Pt228	8,33	Sétif	Pt137	9,33	Bouira	Pt91	7,44
Tipaza	Pt148	8,44	Constantine	Pt172	9,33	Tipaza	Pt152	8,00
Béjaïa	Pt74	8,44	Alger	Pt21	9,44	Béjaïa	Pt79	8,00
Tizi-Ouzou	Pt129	8,56	Béjaïa	Pt64	9,67	Boumerdès	Pt115	8,11
Tlemcen	Pt 181	8,56	Boumerdès	Pt108	9,67	Ain-Defla	Pt162	8,22
Sétif	Pt135	8,78	Médéa	Pt199	9,67	Blida	Pt164	8,33
Tizi-Ouzou	Pt125	8,89	Bouira	Pt80	9,67	Tipaza	Pt154	8,33
Boumerdès	Pt97	9	Ain-Témouchent	Pt176	9,78			
Blida	Pt166	9	Sidi-Bel-Abbès	Pt185	9,78			
Tizi-ouzou	Pt123	9,11	Ain-Defla	Pt157	9,78			
Sétif	Pt143	9,11	Alger	Pt33	9,78			
Béjéïa	Pt 63	9,11	Alger	Pt01	9,78			
Tipaza	Pt145	9,22	Boumerdès	Pt92	9,89			

2. 5. Résultats du test de la croissance mycélienne

2. 5. 1. Tableau : Wilayas, codes, formes des isolats utilisés, rayon de la croissance mycélienne journalière (mm) pour les 6 jours de croissance et diamètre total des colonies au 6^{ème} jour de mesure (mm).

Wilayas	Isolat	Forme	Rayon de croissance 1^{er} jour (mm)	Rayon de croissance 2^{ème} jour (mm)	Rayon de croissance 3^{ème} jour (mm)	Rayon de croissance 4^{ème} jour (mm)	Rayon de croissance 5^{ème} jour (mm)	Rayon de croissance 6^{ème} jour (mm)	Diamètre total des colonies au 6^{ème} jour (mm)
Tipaza	Pt152	<i>Ptm</i>	3,67	6,17	5,83	5,17	7,33	4,33	71
Bouira	Pt 87	<i>Ptm</i>	4,17	6	7,33	6,17	4,33	6	74
Boumerdès	Pt115	<i>Ptm</i>	4,17	5,5	5,5	5,5	3,33	5,17	64,34
Alger	Pt38	<i>Ptm</i>	5	5,83	6	6,5	9,83	6,33	84,98
Boumerdès	Pt104	<i>Ptm</i>	5,33	6,83	7,17	6,33	7,83	6,17	85,32
Ain-Defla	Pt162	<i>Ptm</i>	3,67	5,83	6,83	6,33	4,67	8,17	77
Boumerdès	Pt102	<i>Ptm</i>	3,67	5,17	6,67	6,17	5,67	9	78,7
Blida	Pt164	<i>Ptm</i>	3,67	5,17	9,5	8,17	5,33	6,17	82,02
Tipaza	Pt154	<i>Ptm</i>	3,67	5,33	9,17	8,17	7,33	2,83	79
Béjaia	Pt79	<i>Ptm</i>	3,33	5,83	7,83	8,5	7,5	5,33	82,64
Bouira	Pt91	<i>Ptm</i>	4,17	6,5	8,33	8	6,67	5,67	84,68
Sétif	Pt232	<i>Ptm</i>	5,33	7,67	7,67	8	6,83	4,5	86
Béjaia	Pt174	<i>Ptt</i>	4,5	7,5	6,83	8,67	5	5,67	82,34
Alger	Pt33	<i>Ptt</i>	5,33	5,67	8,67	9,5	8,17	2,33	85,34
Tizi-Ouzou	Pt128	<i>Ptt</i>	4,83	6,83	7,83	7,67	10,33	2	84,98
Béjaia	Pt66	<i>Ptt</i>	4,33	7,33	7,83	8	9,17	3	85,32
Médéa	Pt80	<i>Ptt</i>	5,5	6,17	9,17	7,33	9	2,33	85
Alger	Pt117	<i>Ptt</i>	4,67	6,67	8	8,33	9,33	2,67	85,34
Blida	Pt166	<i>Ptt</i>	4,17	6,83	9,67	6,83	9,67	2,67	85,68
Béjaia	Pt74	<i>Ptt</i>	5,83	5,5	8,17	8,33	9,17	2,83	85,66
Béjaia	Pt63	<i>Ptt</i>	3,83	6,5	8,33	7,33	9,83	4,17	85,98
Sétif	Pt72	<i>Ptt</i>	5,67	6,33	8,33	7,67	7,67	4,33	86
Tlemcen	Pt181	<i>Ptt</i>	4,83	7,17	7,83	8,17	9	2,83	85,66
Sétif	Pt135	<i>Ptt</i>	5	7,33	7,67	8,5	8,5	2,83	85,66
Alger	Pt58	<i>Ptt</i>	4,83	6,67	7,5	8,83	8,83	3,17	85,66
Tipaza	Pt169	<i>Ptt</i>	3,67	6,5	8,83	9,33	5,83	5,67	85,66
Ain-	Pt176	<i>Ptt</i>	3,33	6,5	9,17	10	7,17	3,83	86

Temouchent									
Sétif	Pt142	<i>Ptt</i>	4,33	5,67	10	7,83	6,83	5	85,32
Boumerdès	Pt145	<i>Ptt</i>	4	6,83	8,17	9,83	5,67	3,5	82
Boumerdès	Pt97	<i>Ptt</i>	4,33	5,67	10	7,5	8	4,33	85,66
Boumerdès	Pt112	<i>Ptt</i>	4,83	5,5	8,67	8,83	5,17	6,67	85,34
Tipaza	Pt148	<i>Ptt</i>	3,33	6,5	8,17	7,17	7,83	5,67	83,34
Tizi-Ouzou	Pt123	<i>Ptt</i>	5,17	5,17	9	8,5	6,67	5,17	85,36
Constantine	Pt215	<i>Ptt</i>	4,17	6,83	7,67	8,83	6,83	5,33	85,32
Bouira	Pt199	<i>Ptt</i>	4	7,5	7,83	8,17	6,67	5,33	85
Médéa	Pt195	<i>Ptt</i>	3,17	7	8,67	6,17	11	3,17	84,36
Sidi-Bel- Abbas	Pt185	<i>Ptt</i>	4,17	6,5	8,67	9,17	6	5	85,02
Tipaza	Pt209	<i>Ptt</i>	3,5	6,83	8	8,33	7,67	4,33	83,32
Béjaia	Pt64	<i>Ptt</i>	4,83	5,5	7,83	7,83	6,33	5,67	81,98
Boumerdès	Pt108	<i>Ptt</i>	4,67	8	7,5	9	6,67	4,17	86
Sétif	Pt143	<i>Ptt</i>	5,67	6,33	8,5	8,33	6,33	4,83	85,98
Alger	Pt20	<i>Ptt</i>	4,17	6,83	9	7,83	6,33	5,83	85,98
Boumerdès	Pt107	<i>Ptt</i>	4,5	7,33	9	8,67	7,5	3	86
Tizi-Ouzou	Pt125	<i>Ptt</i>	3,67	7	8,67	8	7	5,33	85,34
Sétif	Pt228	<i>Ptt</i>	5,17	5,5	10	7,83	7,33	4,17	86
Bouira	Pt217	<i>Ptt</i>	3,33	6,67	8,83	8,83	7,33	4,83	85,64
Boumerdès	Pt92	<i>Ptt</i>	2,33	7,83	5,83	7,5	7,5	6,33	80,64
Alger	Pt157	<i>Ptt</i>	2,5	7,5	5,67	7,17	7,33	6,5	79,34
Alger	Pt01	<i>Ptt</i>	3,67	5,17	6	5,83	7,17	6,67	75,02
Constantine	Pt137	<i>Ptt</i>	2,5	5	5,67	6,5	7,67	8,17	77

2. 5. 2. Tableau : Moyenne±écart type de la croissance mycélienne journalière (mm) pour chacune des formes *Ptm* et *Ptt* et pour chacun des 6 jours de mesures.

Jour de mesure	<i>Ptm</i> (moyenne± ET)	<i>Ptt</i> (moyenne± ET)
jour 1	4,15±0,70	4,27±0,89
jour 2	5,99±0,73	6,53±0,78
jour 3	7,32±1,26	8,19±1,10
jour 4	6,92±1,17	8,11±0,94
jour 5	6,39±1,79	7,62±1,42
jour 6	5,81±1,64	4,46±1,48

2. 6. Détails des résultats obtenus lors de l'évaluation *in vitro* de l'efficacité des fongicides

Tableau : Valeurs des CE₅₀ obtenues pour chaque traitement fongicide testé et pour chacun des 45 isolats Algériens étudiés.

Forme	Isolate	Azoxystrobine (mg L⁻¹)	Pyraclostrobin (mg L⁻¹)	Epoxiconazole (mg L⁻¹)	Tebuconazole (mg L⁻¹)	Propiconazole (mg L⁻¹)	Fluxapyroxad (mg L⁻¹)
<i>Ptm</i>	Pt87	0,015	0,013	0,118	0,291	0,194	0,027
	Pt152	0,024	0,007	0,166	0,145	0,105	0,023
	Pt90	0,039	0,026	0,187	0,385	0,430	0,022
	Pt192	0,027	0,017	0,215	0,253	0,146	0,025
	P91	0,041	0,015	0,142	1,217	0,149	0,022
	Pt154	0,025	0,010	0,072	0,119	0,090	0,044
	Pt115	0,027	0,011	0,132	0,187	0,205	0,019
	Pt38	0,017	0,005	0,012	0,052	0,092	0,015
	Pt162	0,021	0,010	0,236	0,444	0,142	0,008
	Pt102	0,011	0,009	0,091	0,206	0,086	0,020
	Pt79	0,012	0,003	0,188	0,310	0,123	0,017
	Pt33	0,021	0,008	0,008	0,026	0,032	0,031
	Pt58	0,015	0,005	0,007	0,034	0,050	0,036
	Pt80	0,017	0,009	0,030	0,098	0,071	0,055
	Pt97	0,014	0,005	0,035	0,064	0,056	0,029
	Pt135	0,018	0,006	0,044	0,091	0,102	0,040
	Pt142	0,027	0,007	0,009	0,034	0,040	0,084
	Pt169	0,018	0,009	0,039	0,068	0,060	0,042
	Pt195	0,021	0,008	0,050	0,081	0,099	0,062
	Pt196	0,028	0,008	0,010	0,031	0,059	0,027
	Pt209	0,028	0,008	0,010	0,037	0,081	0,070
	Pt217	0,019	0,008	0,040	0,063	0,084	0,055
	Pt228	0,034	0,006	0,010	0,049	0,056	0,035
	Pt129	0,015	0,016	0,022	0,076	0,196	0,034

<i>Ptt</i>	Pt123	0,009	0,007	0,002	0,032	0,049	0,013
	Pt117	0,013	0,009	0,104	0,133	0,061	0,026
	Pt157	0,024	0,011	0,121	0,136	0,099	0,414
	Pt176	0,016	0,016	0,084	0,204	0,169	0,054
	Pt185	0,041	0,024	0,125	0,275	0,204	0,042
	Pt125	0,027	0,014	0,037	0,078	0,178	0,043
	Pt166	0,029	0,017	0,152	0,307	0,212	0,041
	Pt148	0,028	0,014	0,099	0,206	0,192	0,064
	Pt01	0,029	0,018	0,052	0,113	0,105	0,034
	Pt61	0,010	0,002	0,260	0,277	0,307	0,016
	Pt21	0,005	0,011	0,059	0,315	0,249	0,037
	Pt108	0,012	0,018	0,012	0,084	0,125	0,041
	Pt112	0,025	0,014	0,193	0,297	0,273	0,033
	Pt143	0,013	0,007	0,070	0,251	0,065	0,058
	Pt119	0,024	0,013	0,015	0,049	0,099	0,076
	Pt64	0,038	0,023	0,026	0,113	0,227	0,098
	Pt74	0,014	0,008	0,228	0,370	0,210	0,042
	Pt172	0,018	0,010	0,087	0,252	0,155	0,054
	Pt66	0,025	0,013	0,133	0,216	0,250	0,034
	Pt63	0,016	0,004	0,054	0,134	0,181	0,021
Pt181	0,013	0,006	0,005	0,034	0,045	0,032	

2. 7. Détails des résultats obtenus lors de l'évaluation *in planta* de l'efficacité des fongicides

AZOXYSTROBINE	% Inhibition							
	Pt157	Pt142	Pt1830	Pt1804	Pt1746	Pt1685	Pt1669	Pt1900
0 g m.a./ha	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
28 g m.a./ha	63,60	72,87	70,93	76,19	62,37	26,47	37,68	75,31
83 g m.a./ha	75,10	88,37	82,56	78,02	83,15	46,08	43,48	81,48
250 g m.a./ha	90,80	93,02	92,25	90,11	85,66	50,98	53,62	93,21
FLUXAPYROXAD	% Inhibition							
	Pt157	Pt142	Pt1830	Pt1804	Pt1746	Pt1685	Pt1669	Pt1900
0 g m.a./ha	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
14 g m.a./ha	75,10	86,82	79,84	85,35	87,46	82,35	31,88	38,89
42 g m.a./ha	89,27	89,92	91,09	91,94	91,04	87,25	53,62	44,44
125 g m.a./ha	96,55	96,12	98,45	98,17	97,85	100,00	79,71	80,25
EPOXYCONAZOLE	% Inhibition							
	Pt157	Pt142	Pt1830	Pt1804	Pt1746	Pt1685	Pt1669	Pt1900
0 g m.a./ha	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
14 g m.a./ha	19,54	68,99	34,11	8,42	10,39	6,86	0,00	25,93
42 g m.a./ha	44,44	82,95	24,42	4,76	6,81	21,57	46,38	41,36
125 g m.a./ha	59,77	89,92	37,98	21,25	22,94	50,98	75,36	62,96

3. Composition des solutions utilisées lors de l'extraction de l'ADN

3. 1-Solution EDTA (0.5 M, pH=8) (solution stock)

18,61g pour100 ml

Ajuster le pH en utilisant des pastilles de NaOH.

3.2-Solution de lyse : (50mM Tris-base, pH=7,4, 50mM EDTA, 1 % SDS, Proteinase K 200µg/ml)

-Tris-base0,6057g

-EDTA (0,5M)10ml

-SDS1 g

-Eau distillée complétée98ml

Après filtration et autoclavage la proteinase K sera ajoutée

-Protéinase K (10mg/ml) : 2ml (le volume sera précisé plus tard et sera ajoutée après autoclavage).

3.3-Solution de précipitation (Acétate de sodium 3M) :

-Acétate de sodium24, 609g

-Eau distillée100ml

Microfiltration et autoclavage.

3.4-Solution de TE (Tris 10mM, EDTA 1mM)

-Tris0, 06g

-EDTA (0,5M).....0, 1 ml

-Eau distillée50ml

-pH : 8

Faire une microfiltration et autoclaver.

3. 5-Solution de TAE (50X) (2M Tris, 0.05 M EDTA, 1M acide acétique, pH=8)

-Tris-base121 g

-Acide acétique28, 55ml

-EDTA (0,5M).....50ml

-Eau distillée500 ml

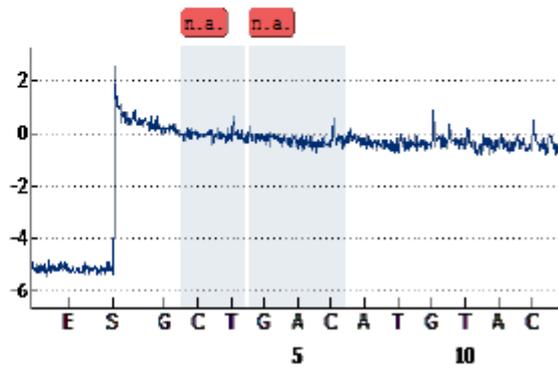
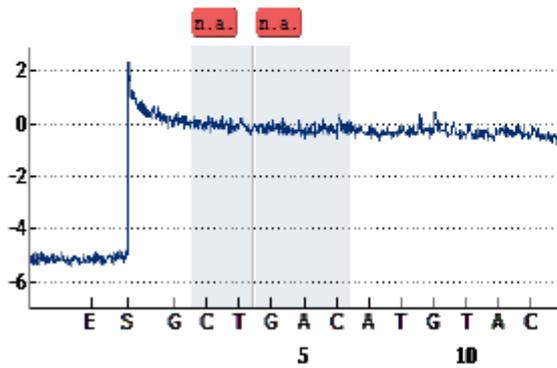
4 : Exemples de pyrogrammes pour le cas de la mutation F129L :

4. 1. Résultats des pyrogrammes obtenus dans le cas de témoin négatif sans ADN (NTC) et de témoin sensible non-mutant (sens control PT).

AQ Pyrogram Report Run: 170928 Pymte F129L Imene 52-97

Well: A1
 Assay: Pymte_DTR F129L
 Sample ID: NTC
 Sequence to analyze:
 T/CTG/C/ACTGGGTTACCAACATAGCCCAAA

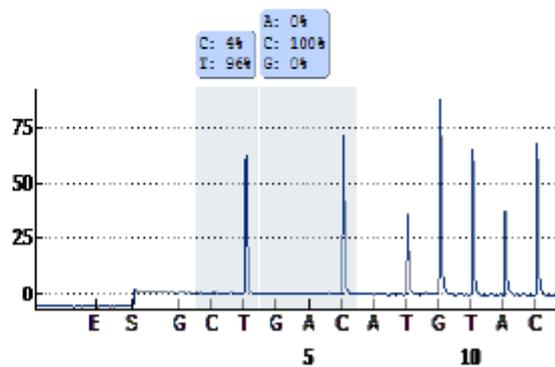
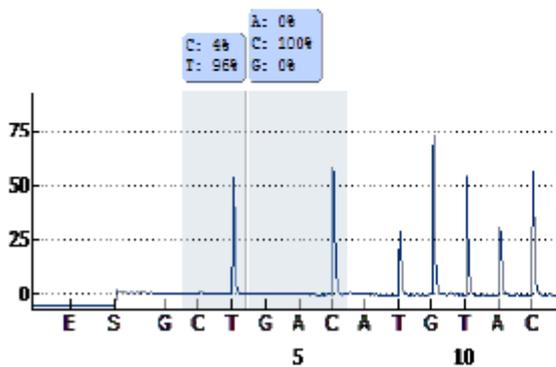
Well: A2
 Assay: Pymte_DTR F129L
 Sample ID: NTC
 Sequence to analyze:
 T/CTG/C/ACTGGGTTACCAACATAGCCCAAA



AQ Pyrogram Report Run: 170928 Pymte F129L Imene 52-97

Well: B1
 Assay: Pymte_DTR F129L
 Sample ID: sens control PT ...
 Sequence to analyze:
 T/CTG/C/ACTGGGTTACCAACATAGCCCAAA

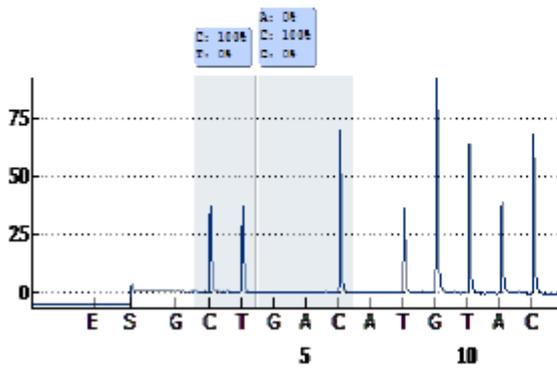
Well: B2
 Assay: Pymte_DTR F129L
 Sample ID: sens control PT ...
 Sequence to analyze:
 T/CTG/C/ACTGGGTTACCAACATAGCCCAAA



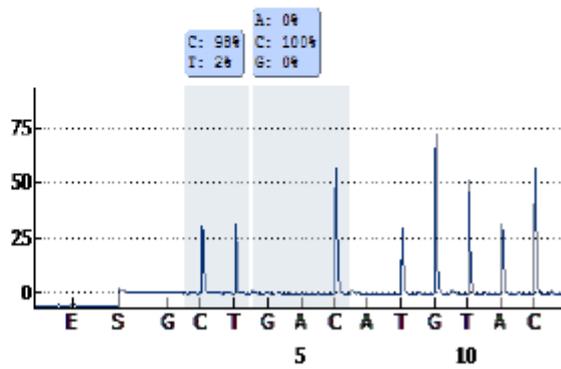
4. 2. Résultats des pyrogrammes obtenus dans le cas de témoin résistant porteur de la mutation F129L (res control) et d'un exemple choisi parmi les isolats Algériens testés (Pt67) montrant l'absence de la mutation F129L.

AQ Pyrogram Report Run: 170928 Pymte F129L Imene 52-97

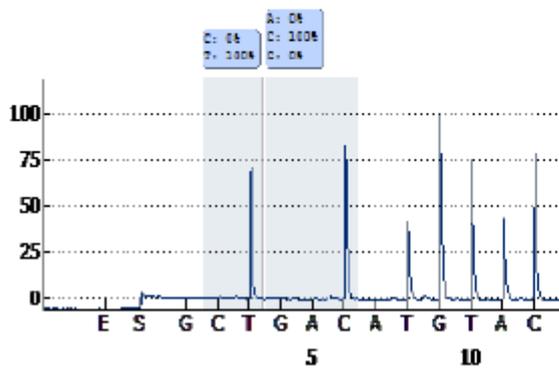
Well: C1
 Assay: Pymte_DTR F129L
 Sample ID: res control
 Sequence to analyze:
 T/CTG/C/ACTGGGTTACCAACATAGCCCAAA



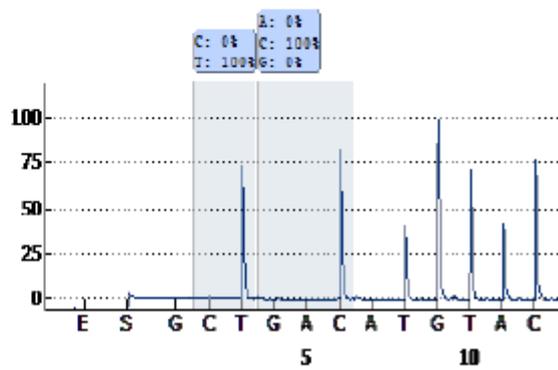
Well: C2
 Assay: Pymte_DTR F129L
 Sample ID: res control
 Sequence to analyze:
 T/CTG/C/ACTGGGTTACCAACATAGCCCAAA



Well: C5
 Assay: Pymte_DTR F129L
 Sample ID: Pt 67
 Sequence to analyze:
 T/CTG/C/ACTGGGTTACCAACATAGCCCAAA



Well: C6
 Assay: Pymte_DTR F129L
 Sample ID: Pt 67
 Sequence to analyze:
 T/CTG/C/ACTGGGTTACCAACATAGCCCAAA



5. Analyse statistique

5. 1. Pouvoir de sporulation : comparaison entre les isolats par l'analyse statistique réalisée à travers le test de Kruskal-Wallis (alternative non paramétrique de l'ANOVA)

Récapitulatif du test Kruskal-Wallis pour échantillons indépendants

N total	135
Statistiques de test	117,779 ^a
Degré de liberté	44
Sig. asymptotique (test bilatéral)	,000

a. Les statistiques de test sont réglées pour les ex aequo.

Récapitulatif du test d'hypothèse

	Hypothèse nulle	Test	Sig.	Décision
1	La distribution de NOMBRE DE SPORES/MM ² est la même sur les catégories de ISOLAT.	Test Kruskal-Wallis pour échantillons indépendants	,000	Rejeter les hypothèses nulles.

Les significations asymptotiques sont affichées. Le niveau de signification est de ,050.

5. 2. Pouvoir de sporulation: comparaisons entre les deux formes *Ptt* et *Ptm* par l'analyse statistique réalisée à travers le test de Mann-Whitney (alternatif non paramétrique du T-test)

Récapitulatif du test U de Mann-Whitney pour échantillons indépendants

N total	45
U de Mann-Whitney	76,000
W de Wilcoxon	142,000
Statistiques de test	76,000
Erreur standard	37,859
Statistiques de test standardisées	-2,932
Sig. asymptotique (test bilatéral)	,003
Sig. exacte (test bilatéral)	,003

Récapitulatif du test d'hypothèse

	Hypothèse nulle	Test	Sig.	Décision
1	La distribution de SporeDans1 cm2 est la même sur les catégories de Forme.	Test U de Mann-Whitney pour échantillons indépendants	.003 ^a	Rejeter les hypothèses nulles.

Les significations asymptotiques sont affichées. Le niveau de signification est de ,050.

a. La signification exacte est affichée pour ce test.

5. 3. Degrés d'attaque : comparaison entre les isolats par l'analyse statistique réalisée à travers le test de Kruskal-Wallis (alternative non paramétrique de l'ANOVA)

a. Comparaison entre les isolats *Ptt* :

Récapitulatif du test Kruskal-Wallis pour échantillons indépendants

N total	102
Statistiques de test	69.699 ^a
Degré de liberté	33
Sig. asymptotique (test bilatéral)	.000

a. Les statistiques de test sont réglées pour les ex aequo.

Récapitulatif du test d'hypothèse

	Hypothèse nulle	Test	Sig.	Décision
1	La distribution de Degés d'Agressivité des isolats Ptt est la même sur les catégories de Isolats Ptt.	Test Kruskal-Wallis pour échantillons indépendants	.000	Rejeter les hypothèses nulles.

Les significations asymptotiques sont affichées. Le niveau de signification est de .050.

b. Comparaison entre les isolats *Ptm* :

Récapitulatif du test Kruskal-Wallis pour échantillons indépendants

N total	33
Statistiques de test	26.794 ^a
Degré de liberté	10
Sig. asymptotique (test bilatéral)	.003

a. Les statistiques de test sont réglées pour les ex aequo.

Récapitulatif du test d'hypothèse

	Hypothèse nulle	Test	Sig.	Décision
1	La distribution de Degrés d'agressivité des isolats Ptm est la même sur les catégories de Isolats Ptm.	Test Kruskal-Wallis pour échantillons indépendants	.003	Rejeter les hypothèses nulles.

Les significations asymptotiques sont affichées. Le niveau de signification est de .050.

5. 4. Croissance mycélienne : comparaison entre les diamètres de croissance mycélienne des isolats (au 6^{ème} jour) par l'analyse statistique réalisée à travers le test de Kruskal-Wallis (alternative non paramétrique de l'ANOVA)

Récapitulatif du test Kruskal-Wallis pour échantillons indépendants

N total	150
Statistiques de test	126,325 ^a
Degré de liberté	49
Sig. asymptotique (test bilatéral)	,000

a. Les statistiques de test sont réglées pour les ex aequo.

Récapitulatif du test d'hypothèse

	Hypothèse nulle	Test	Sig.	Décision
1	La distribution de Croissance totale (au 6 ^{ème} jour) est la même sur les catégories de isolat.	Test Kruskal-Wallis pour échantillons indépendants	,000	Rejeter les hypothèses nulles.

Les significations asymptotiques sont affichées. Le niveau de signification est de ,050.

5. 5. Croissance mycélienne : comparaison entre les diamètres de croissance mycélienne des isolats (du 1^{er} au 5^{ème} jour) par l'analyse statistique réalisée à travers le test de Kruskal-Wallis (alternative non paramétrique de l'ANOVA)

Tests statistiques^{a,b}

	jour1	jour2	jour3	jour4	jour5	jour6	Croissance Totale
Khi-deux	127,315	105,128	121,589	107,867	114,196	115,474	126,325
ddl	49	49	49	49	49	49	49
Sig. asymptotique	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000

a. Test de Kruskal Wallis

b. Variable de regroupement : VAR00001

5. 6. Croissance mycélienne : comparaisons entre les deux formes *Ptt* et *Ptm* par l'analyse statistique réalisée à travers le test de Mann-Whitney (alternatif non paramétrique du T-test)

Récapitulatif du test d'hypothèse				
	Hypothèse nulle	Test	Sig.	Décision
1	La distribution du 1 ^{er} jour est la même sur les catégories de forme.	Test U de Mann-Whitney pour échantillons indépendants	,501	Garder les hypothèses nulles.
2	La distribution du 2 ^{ème} est la même sur les catégories de forme.	Test U de Mann-Whitney pour échantillons indépendants	,040	Rejeter les hypothèses nulles.
3	La distribution du 3 ^{ème} est la même sur les catégories de forme.	Test U de Mann-Whitney pour échantillons indépendants	,026	Rejeter les hypothèses nulles.
4	La distribution du 4 ^{ème} Jour est la même sur les catégories de forme.	Test U de Mann-Whitney pour échantillons indépendants	,006	Rejeter les hypothèses nulles.
5	La distribution du 5 ^{ème} Jour est la même sur les catégories de forme.	Test U de Mann-Whitney pour échantillons indépendants	,048	Rejeter les hypothèses nulles.
6	La distribution du 6 ^{ème} Jour est la même sur les catégories de forme.	Test U de Mann-Whitney pour échantillons indépendants	,015	Rejeter les hypothèses nulles.
7	La distribution de la croissance totale du 6 ^{ème} Jour est la même sur les catégories de forme.	Test U de Mann-Whitney pour échantillons indépendants	,002	Rejeter les hypothèses nulles.

Les significations asymptotiques sont affichées. Le niveau de signification est de ,050.

6. Résultats de corrélations non paramétriques (Test Rho de Spearman)

6. 1. Cas des isolats *Ptt* :

		Corrélations			
		Pouvoir de sporulation	Croissance mycélienne	Sévérité de la maladie	
Rho de Spearman	Pouvoir de sporulation	Coefficient de corrélation	1,000	,324	-0,011
		Sig. (bilatéral)	.	0,061	0,952
		N	34	34	34
	Croissance mycélienne	Coefficient de corrélation	0,324	1,000	-0,172
		Sig. (bilatéral)	0,061	.	0,332
		N	34	34	34
	Sévérité de la maladie	Coefficient de corrélation	-0,011	-0,172	1,000
		Sig. (bilatéral)	0,952	0,332	.
		N	34	34	34

6. 2. Cas des isolats *Ptm* :

		Corrélations			
		Pouvoir de sporulation	Croissance mycélienne	Sévérité de la maladie	
Rho de Spearman	Pouvoir de sporulation	Coefficient de corrélation	1,000	,182	,522
		Sig. (bilatéral)	.	,593	,100
		N	11	11	11
	Croissance mycélienne	Coefficient de corrélation	,182	1,000	-,330
		Sig. (bilatéral)	,593	.	,322
		N	11	11	11
	Sévérité de la maladie	Coefficient de corrélation	,522	-,330	1,000
		Sig. (bilatéral)	,100	,322	.
		N	11	11	11

7. Résultats du Test-t bilatéral, comparant les moyennes des CE₅₀ obtenues pour les isolats de *Ptt* et les isolats *Ptm*, pour chacun des six traitements fongicides testés

		Test de Levene sur l'égalité des variances		Test t pour égalité des moyennes						
		F	Sig.	t	ddl	Sig. (bilatéral)	Différence moyenne	Différence erreur standard	Intervalle de confiance de la différence à 95 %	
EC50 AZOXYSTROBINE	Hypothèse de variances égales	,145	,706	,968	43	,339	,002938	,003036	-,003185	,009061
	Hypothèse de variances inégales			,887	14,926	,389	,002938	,003312	-,004124	,010000
LOG (EC50) PYRACLOSTROBINE	Hypothèse de variances égales	,005	,947	,305	43	,761	,02495	,08169	-,13979	,18970
	Hypothèse de variances inégales			,287	15,430	,778	,02495	,08699	-,16001	,20992
EC50 FLUXAPYROXAD	Hypothèse de variances égales	,287	,595	3,899	42	,000	,0889953	,0228270	,0429284	,1350621
	Hypothèse de variances inégales			4,390	17,983	,000	,0889953	,0202727	,0464010	,1315895
LOG (EC50) TEBUCONAZOLE	Hypothèse de variances égales	,557	,460	3,101	43	,003	,38008	,12258	,13288	,62728
	Hypothèse de variances inégales			3,117	17,130	,006	,38008	,12192	,12300	,63716
EC50 EPOXICONAZOLE	Hypothèse de variances égales	5,886	,020	-3,710	42	,001	-,0222364	,0059931	-,0343310	-,0101417
	Hypothèse de variances inégales			-5,201	36,887	,000	-,0222364	,0042757	-,0309007	-,0135720
LOG (EC50) PROPICONAZOLE	Hypothèse de variances égales	4,431	,041	1,312	43	,197	,12039	,09179	-,06473	,30551
	Hypothèse de variances inégales			1,539	23,213	,137	,12039	,07824	-,04138	,28216
* Si la Sig. du test levene est < 0,05 on prend en considération la Sig. (bilatéral) de l'hypothèse de variances inégales pour interpréter les résultats du Test-t										

Résumé

La rayure réticulée de l'orge est l'une des maladies foliaires les plus communes en Algérie. Elle est causée par le champignon *Pyrenophora teres* qui peut se présenter en deux formes pathogènes ; *Pyrenophora teres* f. *teres* et *P. teres* f. *maculata*. Une prospection des différentes zones céréalières du pays réalisée sur les cultures d'orge durant deux campagnes agricoles, a permis d'obtenir 212 isolats provenant de 42 localités dans les 17 Wilayas prospectées. Une identification moléculaire réalisée sur l'ensemble des isolats a permis d'établir l'importance des deux formes *Ptt* et *Ptm*, ainsi que leur répartition géographique en Algérie. Les résultats ont indiqué que *Ptt* était la forme la plus dominante. La comparaison entre ces résultats et ceux de l'évaluation symptomatologique, a permis de conclure que cette dernière était moins précise et moins concluante. La caractérisation culturale de 50 isolats (38 *Ptt* et 12 *Ptm*) représentatifs de la collection en considérant plusieurs traits cultureux, a montré l'existence de quatre couleurs distinctes de colonies, et de trois morphotypes, se distinguant par la texture et l'aspect de leur mycélium. Nos observations nous ont permis de constater que les caractères cultureux examinés, n'étaient pas associés à l'origine géographique des isolats et qu'ils ne permettaient pas de différencier entre les deux formes *Ptt* et *Ptm*. L'agressivité de ces isolats, a été évaluée par l'étude *in-vitro*, de trois traits importants ; à savoir le taux de sporulation, la sévérité de la maladie, ainsi que le taux de la croissance mycélienne. Les résultats obtenus ont mis en évidence l'existence d'une différence très hautement significative entre les isolats étudiés pour le taux de sporulation, et celui de la croissance mycélienne. La sévérité de la maladie notée suite à l'inoculation de 45 isolats (34 *Ptt* et 11 *Ptm*) à la variété Saida, nous a permis de constater une prédominance des isolats notés très agressifs. La sensibilité de la population algérienne de *P. teres* aux trois groupes de fongicides : les Inhibiteurs Externes de la Quinone (QoIs), les Inhibiteurs de la Succinate Déshydrogénase (ISDHs) et les Inhibiteurs de la Déméthylation (IDMs), a aussi été évaluée par : l'analyse des gènes cibles pour 212 isolats par pyroséquençage (dans le cas des QoI et ISDH), les tests de sensibilité *in vitro* en utilisant des tests de microtitration pour six fongicides (azoxystrobine, pyraclostrobine, fluxapyroxad, époxiconazole, tébuconazole et propiconazole) et par les tests de sensibilité *in planta* sous serre pour trois fongicides (azoxystrobine, fluxapyroxad, époxiconazole). Les résultats ont montré, l'absence de toutes les mutations (testées) liée aux résistances aux QoIs ou aux ISDHs. De même, ils ont révélé que le pyraclostrobine et l'azoxystrobine, du groupe des QoIs, possédaient les meilleures efficacités *in vitro*, alors qu'*in planta* le fluxapyroxad avait la meilleure performance. La comparaison entre les valeurs des CE₅₀ de chacune des formes (*Ptt* et *Ptm*), a pu mettre en évidence des différences significatives entre leurs sensibilités dans le cas des traitements au fluxapyroxad, à l'époxiconazole et au tébuconazole.

Mots clés : Orge ; *Pyrenophora teres* f. *maculata* ; *Pyrenophora teres* f. *teres* ; Rayure réticulée ; Sensibilité aux fongicides.

Summary

Net blotch of barley is one of the major leaf spot diseases in Algerian fields; it is caused by the fungus *Pyrenophora teres*, which occurs in two forms, *P. teres* f. *teres* (*Ptt*) and *P. teres* f. *maculata* (*Ptm*). A survey in barley growing areas was carried out during two growing seasons, allowed us to get 212 isolates, sampled across 42 locations in 17 provinces. A molecular analysis conducted in all isolates led to establish the importance of the two forms *Ptt* and *Ptm*, as well as their geographic distribution in Algeria. The results showed that *Ptt* is the dominating type of net blotch. A comparison between these results and those of symptoms-based identification concluded that the last method is less precise and less conclusive than the molecular one. The cultural characterization of 50 isolates (38 *Ptt* and 12 *Ptm*), through several cultural characters, showed four distinct colony colors, and three morphotypes distinguished by the texture and aspect of their mycelium. Our observations allowed us to note that the cultural characters were not associated to the geographic origins of the isolates, and that they did not allow the distinction between the two forms *Ptt* and *Ptm*. Their aggressiveness was also assessed *in vitro*, using three important traits; sporulation rate, disease severity, and mycelial growth rate. The results highlighted a highly significant difference among studied isolates, including the sporulation rate and mycelial growth. The disease severity recorded, resulting from inoculation of the 45 isolates (34 *Ptt* and 11 *Ptm* on the susceptible variety Saida, enabled us to note a predominance of very aggressive isolates. The sensitivity of the Algerian population of *P. teres* to the three groups of fungicides; Quinone outside inhibitors (QoIs), Succinate dehydrogenase inhibitors (SDHIs) and Demethylation inhibitors (DMIs), was also evaluated through, target gene analysis for 212 isolates using pyrosequencing (in case QoIs and SDHIs), *in vitro* sensitivity tests using microtiter test for six fungicides (azoxystrobin, pyraclostrobin, fluxapyroxad, epoxiconazole, tebuconazole and propiconazole), and *in planta* sensitivity tests under glasshouse conditions for three fungicides (azoxystrobin, fluxapyroxad, epoxiconazole). Results show the absence of all tested mutations conferring QoIs or SDHIs resistances. Then that the pyraclostrobin and azoxystrobin belonging to the QoI group, were the most efficient fungicides *in vitro*, whereas fluxapyroxad displayed the best disease inhibition *in planta*. The comparison of EC₅₀ values recorded for each form of net blotch, showed significant difference in efficiency of fluxapyroxad, epoxiconazole and tebuconazole treatments.

Key words: Barley; Net blotch; *Pyrenophora teres* f. *maculata*; *Pyrenophora teres* f. *teres*; Sensitivity.

المخلص

يعتبر مرض التبغ الشبكي للشعير من أهم الأمراض الفطرية التي تصيب الشعير في الجزائر. يعرف العامل الممرض باسم *Pyrenophora teres* الذي يتواجد في نمطين مسببين لأعراض مختلفة *P. teres f. maculata* و *P. teres f. teres*. تمت معاينة مجموعة من الحقول عبر مختلف مناطق زراعة الحبوب بالوطن خلال موسمين زراعيين، ما مكنا من الحصول على 212 عزلة منحدره من 42 منطقة موزعة عبر 17 ولاية. اظهرت نتائج التوصيف الجزيئي الذي تم اجراؤه على كافة العزلات اهمية تواجد كل من النمطين، وكذا توزيعهما الجغرافي في الجزائر. أوضحت النتائج أن النوع (*Ptt*) هو الأكثر شيوعا. بينما أظهرت المقارنة بين هذه النتائج و تلك المتحصل عليها من خلال تقييم الأعراض المرضية أن هذه الأخيرة أقل دقة وأقل حسما. إن دراسة خصائص المستعمرات الفطرية لخمسون عزلة نموذجية منتقاة من النمطين (*Ptt* 38 و *Ptm* 12) باعتبار عدة سمات خاصة بالمستعمرات، بينت وجود أربع ألوان مختلفة من المستعمرات وثلاثة أنماط مظهرية تتميز بالاختلاف في تلاحم ومظهر نسيج الميسليوم. ملاحظتنا مكنتنا من التحقق من أن خصائص المستعمرات المدروسة لا تتعلق بالمصدر الجغرافي للعزلات وأنها لم تمكن من التمييز بين نمطي الفطر (*Ptt*, *Ptm*). تم تقييم شراسة هذه العزلات من خلال دراسة في المختبر لثلاث سمات مهمة، وهي معدل التبوغ و شدة اعراض المرض وكذا معدل النمو الميسليوم الفطري. أوضحت النتائج المتحصل عليها، وجود فروق ذات دلالة إحصائية عالية بين العزلات التي تمت دراستها، وخصت معدلات التبوغ ومعدل النمو الميسليوم الفطري. سمحت معدلات الإصابة التي سجلت بعد النقل الاصطناعي للعدوة باستعمال 45 عزلة (*Ptt* 34 و *Ptm* 11) بملاحظة رجحان العزلات الأكثر شراسة. قدمت من خلال البحث، دراسة حساسية عزلات *P. teres* بالنسبة لثلاث مجموعات من مبيدات الفطريات؛ و هي مثبتات الكينون الخارجية (QoIs) ومثبتات هيدروجيناز السكسينات (SDHIs) ومثبتات إزالة الميثيل (DMIs) من خلال تحليل الجينات المستهدفة و المسببة لمقاومة المبيدات الفطريات لدى 212 عزلة. اجريت التحاليل باستخدام تقنية سلسلة البايرو (pyrosequencing) من اجل البحث عن الطفرات الوراثية المسببة لفقدان حساسية الفطر حيالة المبيدات من نوع QoI و SDHI. كما اجريت اختبارات الحساسية في المختبر باستخدام تقنية microtiter حيالة ستة مبيدات فطرية (propiconazole و tebuconazole ،epoxiconazole، fluxapyroxad، pyraclostrobin ،azoxystrobin) تنتمي الى المجموعات الثلاثة. واخيرا اختبرت الحساسية بعد النقل الاصطناعي للعدوة لدى نبتة الشعير في بيئة البيوت الزجاجية باستخدام ثلاثة مبيدات الفطريات (epoxiconazole،fluxapyroxad ،azoxystrobin).أظهرت النتائج عدم وجود أي طفرة من الطفرات المختبرة المسببة لمقاومة المبيدات من نوع QoIs أو SDHIs، و أن pyraclostrobin و azoxystrobin المنتمين لمجموعة QoI، أكثر المبيدات الفطرية فعالية في المختبر، في حين ان fluxapyroxad أفضل تثبيط للمرض في التجارب المجرة على النبات. أظهرت مقارنة معدلات EC₅₀ المسجلة لكل من النمطين المتسببين في التبغ الشبكي للشعير اختلافاً كبيراً في فعالية المبيدات الفطرية fluxapyroxad و epoxiconazole و tebuconazole.

الكلمات المفتاحية: الشعير، الحساسية للمبيدات الفطريات، *P. teres f. maculata*، *P. teres f. teres*،