

*Recherche de marqueurs de la
spécialisation parasitaire de *Pyrenophora
tritici-repentis* (Died.) Drechs., agent de la
tache bronzée sur blé dur (*Triticum durum*
Desf.) et blé tendre (*Triticum aestivum* L.).*

Présenté par : Mme. TIZIOUALOU GHAZIA.
Directeur de thèse : Mr. BOUZNAD Z. Professeur .
12/10/2009

Président : Mme. LOUANCHI M. Maître de conférences . Examineur : Mr. GUEZLANE A. Maître de conférences . Mr BENBELKACEM A. Maître de conférences .

Table des matières

Remerciements . . .	5
Résumé . . .	6
Summary . . .	7
INTRODUCTION . . .	8
ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE . . .	10
Généralités sur la céréaliculture en Algérie . . .	10
Maladies fongiques du blé . . .	10
La maladie de la tache bronzée du blé . . .	11
Importance et distribution de la maladie . . .	11
L'agent causal de la maladie et sa position taxonomique . . .	13
Symptômes et quantification de la maladie . . .	13
Gamme d'hôte . . .	13
Caractères morphologiques . . .	14
Biologie et épidémiologie . . .	16
Développement des symptômes et désignation des Pathotypes / Races . . .	19
Toxines produites par <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> . . .	21
Toxine induisant la nécrose . . .	22
Toxines induisant la chlorose . . .	22
Modèle gène pour gène chez <i>P.tritici-repentis</i> . . .	23
Stratégie de lutte . . .	23
MATERIEL ET METHODES . . .	25
Matériel végétal . . .	25
Matériel fongique . . .	26
Etude des caractères morphologiques et cultureux des isolats . . .	28
Caractères cultureux . . .	28
Croissance mycélienne à différentes températures . . .	28
croissance mycélienne sur milieu à base de feuilles vertes de blé . . .	28
Mensuration des conidies . . .	28
Analyse statistique . . .	29
Détermination des races des différents isolats . . .	29
Présentation de l'essai . . .	29
Technique utilisée . . .	29
Echelle de notation . . .	30
Spécialisation parasitaire de <i>P.tritici-repentis</i> sur des variétés locales . . .	31
Présentation de l'essai . . .	31
Technique d'isolement monospore . . .	33
Obtention de l'inoculum . . .	33
Technique de sporulation . . .	34
Obtention de la suspension de conidies . . .	34
Ajustement de la suspension de conidies . . .	34

Inoculation des plantules . . .	35
Notation et analyse statistique des résultats . . .	36
Etude des composés toxiques des deux types d'isolats . . .	38
Dispositif expérimental . . .	38
Techniques utilisées . . .	39
RESULTATS ET DISCUSSION . . .	44
Etude des caractères morphologiques et culturaux des isolats . . .	44
Caractères culturaux . . .	44
Croissance mycélienne aux différentes températures . . .	46
croissance mycélienne sur milieu à base de feuilles vertes de blé . . .	50
Mensuration des conidies . . .	52
Détermination des races des différents isolats étudiés . . .	61
Spécialisation parasitaire de <i>P.tritici-repentis</i> sur des variétés locales . . .	70
Etude des composés toxiques des deux types d'isolats . . .	77
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES . . .	82
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES . . .	85

Remerciements

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à Monsieur Bouznad Z., Professeur à l'ENSA d'El Harrach (Alger), pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses conseils et critiques judicieux qui m'ont permis de combler certaines lacunes, pour sa disponibilité et son souci, qui m'ont permis de bénéficier de son expérience. Je lui exprime tout mon respect et ma profonde gratitude.

Mes vifs remerciements et mon profond respect vont également à Madame LOUANCHI M., Maitre de conférences à l'ENSA d'El Harrach (Alger) qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury.

Je ne manquerai pas d'exprimer mes sincères remerciements et mon grand respect à :

Monsieur GUEZLANE A., Maitre de conférences à l'ENSA d'El Harrach (Alger), pour ses discussions enrichissantes au cours de la réalisation de ce mémoire et pour avoir accepté de juger ce travail.

Monsieur BEN BELKACEM K., Directeur de la Station Expérimentale de l'ITGC d'El Khroub, pour nous avoir accompagné durant notre prospection à Constantine, d'avoir pris soin de nous, et de nous avoir fourni les limbes foliaires provenant de différentes régions de l'Est algérien.

Ainsi qu'à Monsieur SAYOUD R., qui lui aussi nous a accompagné durant notre prospection à Constantine et nous a fait bénéficier de son savoir et son expérience.

Je tiens à remercier aussi, mes parents, mon mari, toute ma famille et tous mes amis pour leur soutien dans les moments difficiles et qui m'ont aidé même dans mon travail.

Résumé

Pyrenophora tritici-repentis est l'agent causal de la maladie de la tache bronzée du blé, une maladie d'une grande importance économique. Le présent travail se propose d'étudier les marqueurs de la spécialisation parasitaire de *P. tritici-repentis* sur blé dur et blé tendre ; pour cela nous avons étudié la variabilité morphologique et culturale de 13 isolats collectés de différentes régions de l'Algérie ; déterminé leur race sur une gamme d'hôte différentielle ; étudier la spécialisation pathogénique sur des variétés locales ; ainsi que l'effet des filtrats de culture des deux types d'isolats virulents sur les variétés sensibles de blé dur et blé tendre.

Les caractères culturaux n'ont pas révélé une variabilité qui différencie les isolats obtenus de blé dur de celles obtenus de blé tendre. Par contre, La croissance mycélienne journalière et la taille des conidies obtenue sur feuilles vertes de blé, semblent être des marqueurs de la spécialisation de *P. tritici-repentis* sur blé dur et blé tendre, du fait qu'ils nous ont permis de différencier les deux types d'isolats.

L'agressivité et la virulence des isolats, sur la gamme différentielle, semblent aussi être un marqueur de cette spécialisation puisque nous constatons que les isolats de blé dur sont plus virulents que les isolats de blé tendre.

Par ailleurs, il n'existe pas de spécialisation pathogénique sur les deux espèces de blé, du fait que toutes les deux ont présenté une sensibilité aux deux types d'isolats, et une même sévérité de maladie.

Le dernier test sur les filtrats de cultures, nous montre que la période d'apparition des symptômes, après infiltration des filtrats de cultures bruts, peut être un marqueur de la spécialisation parasitaire du *P. tritici-repentis* sur les deux espèces de blé. Contrairement aux types des symptômes apparus, qui n'ont révélé aucune différence entre les deux types d'isolats du fait qu'ils peuvent reproduire les symptômes de la maladie chez l'espèce de blé tendre comme chez le blé dur, et inversement ; seulement le blé dur semble être plus sensible à ces derniers que le blé tendre.

Mots clés:

Pyrenophora tritici-repentis, spécialisation parasitaire, spécificité, marqueurs, espèces, blé dur, blé tendre, filtrat de culture, gamme d'hôte différentielle, race.

Summary

Pyrenophora tritici-repentis is the causal agent of tan spot disease of wheat, a disease of great economic importance. This work proposes to study the markers of parasitic specialization of *P. tritici-repentis* on durum and common wheat, and for this we have studied the morphological and cultural variability of 13 isolates collected from different regions of Algeria, determined race on a range of host differential, explore pathogenic specialization on local varieties as well as the effect of culture filtrate of both types of virulent isolates on susceptible varieties of durum and common wheat.

The characters have not revealed cultural variability that distinguishes isolates obtained from durum wheat from those obtained from common wheat. By against, daily mycelia growth and size of conidia obtained from green leaves of wheat seem to be markers of specialization *P. tritici-repentis* on durum and common wheat, because they permit us to differentiate the two types of isolates.

The aggressiveness and virulence of isolates on the differential range also appear to be markers for the specialization that we see that the durum isolates are more virulent than the isolates from common wheat.

Moreover, there is no specialization pathogenic of the two species of wheat, that both have presented sensitivity to both types of isolates, and the same severity of illness.

The last test of the cultures filtrates, we show that the period of onset of symptoms after infiltration of crude culture filtrates, may be a marker for the parasitic specialization of *P. tritici-repentis* on two species of wheat. Unlike, the typical symptoms appeared, which showed no difference between the two types of isolates because they can reproduce the symptoms of the disease in case of common wheat like durum wheat, and vice versa, only durum wheat seems to be more sensitive to them as common wheat.

Key words:

Pyrenophora tritici-repentis, parasitic specialisation, specificity, markers, spaces, durum whet, common whet, culture filtrate, differential host rang, race.

INTRODUCTION

Le blé est parmi les céréales les plus cultivées et les plus consommées aujourd'hui dans le monde ; il représente avec le riz et le maïs 85,4% de la production céréalière mondiale. Il existe plusieurs espèces de blé, dont deux ont une grande importance économique, le blé dur (*Triticum turgidum* L. **Subsp. Durum** Desf.) est très riche en gluten, et utilisé pour produire les semoules et les pâtes alimentaires. Le blé tendre (*Triticum aestivum* L. **subsp. aestivum**) est cultivé pour produire de la farine utilisée pour la fabrication du pain. Ces deux espèces de blé ont été générées par des événements successifs de polyploïdisation (Chantret et al., 2005), qui ont donné le blé dur tétraploïde et le blé tendre hexaploïde.

L'Algérie reste fortement dépendante des importations pour couvrir ses besoins en céréales, blé dur et blé tendre en particulier. La production nationale du blé ne couvre en moyenne que 30 % de la consommation de blé, estimée à 08 millions de tonnes annuellement. En 2006 la production du blé dur a atteint 17.728.000 quintaux et celle du blé tendre 9.151.300 quintaux, sur des superficies de 1.162.880 ha et 620.945 ha respectivement (MADR, 2007).

La faible production des céréales en générale et du blé en particulier, est due à plusieurs facteurs, parmi lesquels nous citons les facteurs biotiques et abiotiques qui menacent sa production et son rendement sur le plan qualitatif et quantitatif. Le blé peut être attaqué par de nombreuses maladies à différents stades de son développement. Ces attaques peuvent occasionner des pertes importantes lorsque les variétés utilisées sont sensibles et les conditions de l'environnement sont favorables au développement des maladies. Les maladies foliaires à elles seules peuvent réduire de 15% à 25% la production de blé (Ezzahiri, 2001). Les septorioses, les rouilles et la maladie de la tache bronzée ou tache helminthosporienne constituent les principales maladies foliaires du blé en Algérie (Bendif, 1994) ; l'oïdium peut aussi prendre de l'ampleur dans certaines situations. Toutes ces maladies ont un caractère explosif et peuvent se propager très rapidement sur les variétés sensibles.

La maladie de la tache bronzée ou auréolée est largement distribuée dans les régions productrices du blé; les attaques sont importantes dans les régions à pluviométrie élevée, plus particulièrement au Nord du pays. Les pertes de rendement causées par cette maladie varient avec les conditions climatiques, la sensibilité de la variété, le stade de la culture au moment de l'attaque, ainsi qu'à la virulence et l'agressivité du pathogène. Ces pertes peuvent atteindre 50% quand la maladie est présente tout au long du cycle de la culture, et entre 15% à 25% quand elle attaque aux stades tardifs seulement (Bendif, 1994)

Cette maladie fongique est causée par *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs, dont l'anamorphe est *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shom. Ce champignon possède une large gamme d'hôte, comprenant 37 espèces de graminées (Krupinsky, 1992). Le blé, avec ses deux sous espèces (*Triticum aestivum* et *Triticum durum*) demeure l'hôte préférentiel ; l'orge (*Hordeum vulgare*) et l'avoine (*Avena sativa*) ne sont pas touchées (Hosford et Morrall, 1975).

La spécialisation parasitaire est un mécanisme par lequel un agent pathogène se spécialise par son parasitisme sur un hôte donné, désigné hôte spécifique. La spécificité étant un terme plus général pour désigner la capacité d'un agent pathogène à attaquer

certain cultivars hôtes. Ce concept est d'une extrême importance pour le développement d'une stratégie de lutte, utilisant la résistance variétale (Lepoivre, 2002). Cette spécialisation peut être marquée par, des marqueurs physiologiques (réaction différentielle des plantes hôtes aux isolats de la même espèce), biochimiques (production des toxines) ou autres. La notion de spécificité pathogénique chez un agent pathogène correspond à l'existence, au sein de la population de l'agent concerné, des sous groupes qui diffèrent par leur capacité à infecter des espèces ou des variétés d'hôtes donnés (Boulif, Amiri et Saoud, 1996).

Le présent travail se propose donc d'étudier les marqueurs de la spécialisation parasitaire de *P. tritici-repentis* sur les deux espèces de blé, dur et tendre en Algérie. Il s'agira de voir s'il existe ou pas dans la population de *P. tritici-repentis* des sous groupes qui diffèrent par rapport à leur pouvoir pathogène à infecter les deux espèces de blé dur et tendre, s'agit-il d'un même groupe ou de deux groupes différents qui varient selon, leur pouvoir pathogène, leurs aspects culturels ou leurs caractères morphologiques ?

Pour cela, nous avons étudié dans une première étape, la variabilité morphologique de 13 isolats collectés de différentes régions de l'Algérie, en tenant compte des critères suivants : type de croissance des colonies, couleur du mycélium et du substrat, la croissance mycélienne sous différentes conditions de température et de milieu, ainsi que la taille des conidies.

Dans une deuxième étape, nous avons étudié la spécialisation pathogénique de deux isolats issus de deux espèces de blé différents (blé dur et blé tendre) sur une gamme de variétés locales, afin de préciser la présence ou l'absence d'une spécialisation au sein d'une même culture, et évaluer le niveau de résistance de ces variétés à l'égard des deux isolats étudiés.

Dans une troisième étape, nous avons déterminé les races des différents isolats, sur une gamme d'hôte différentielle standardisée.

Enfin nous nous sommes intéressés à l'étude de la spécificité des composés toxiques produits par les deux types d'isolats de *P. tritici-repentis*, obtenus de blé dur et blé tendre, en utilisant les variétés qui se sont révélées les plus sensibles lors du test pathogénique sur les variétés locales. Ces composés éventuellement présents dans les filtrats de culture, peuvent intervenir dans le processus infectieux.

Ces différentes parties d'étude, sont liées entre elles par une seule et même question fondamentale dans l'étude des relations hôte - pathogène : Existe-t-il une spécialisation parasitaire de *P. tritici-repentis* sur les deux espèces de blé (blé dur et blé tendre)?

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

Généralités sur la céréaliculture en Algérie

Les céréales constituent avec leurs dérivés un système alimentaire important en Algérie. Elles occupent 2.671.951 ha, dont 2.671.140 ha pour les céréales d'hiver (blé dur, blé tendre, orge, avoine, triticales) et 811 ha pour les céréales d'été (maïs, sorgho). Les superficies consacrées au blé dur ont été estimées en 2006 à 1.162.880 ha ; celles de blé tendre sont plus faibles avec 700.000 ha (MADR, 2007).

La production des céréales en 2006 a atteint 40.177.350 quintaux, selon la direction des statistiques au niveau du MADR (Fig.1), avec 17.728.000 quintaux de blé dur et 9.151.300 quintaux de blé tendre.

Le rendement à l'hectare en céréales étant faible, atteignant les 15 quintaux/ha, l'Algérie ne pourra pas, du moins dans les quelques années à venir, se permettre une autosuffisance en céréales. Elle reste fortement dépendante des importations, estimées à une moyenne 531.895.103 de dollars, ce qui représente 23% des produits importés annuellement (Smadhi et al., 2008).

Le volume des importations de l'Algérie pour le blé, durant l'année 2007 a atteint les 5,1 millions de tonnes, ce qui la place au cinquième rang mondial des pays importateurs (MADR, 2007).

En 2006, il a été noté 4,8 millions de tonnes contre 4,1 millions de tonnes en 2005. L'Algérie importe plus de blé tendre que de blé dur ; sur la quantité globale importée, le volume de blé tendre a atteint 1,8 millions de tonnes, contre 680.730 tonnes de blé dur.

Maladies fongiques du blé

Le blé peut être affecté par de nombreuses maladies à différents stades de développement de la culture, qui peuvent être d'origine bactérienne, virale, ou fongique. Ces attaques peuvent occasionner des pertes importantes surtout lorsque la variété utilisée est sensible, et que les conditions de l'environnement sont favorables à l'expansion de la maladie.

En absence de la plante hôte, les champignons responsables des maladies du blé se conservent sur différents supports comme la semence, les débris des cultures et le sol. Le mode de conservation est important à connaître, puisqu'il détermine, en partie la stratégie de lutte à adopter.

Une prospection nationale réalisée durant la campagne agricole 1991-1992, a couvert toutes les régions céréalières du pays, où 130 champs ont été visités. Il a été noté que les maladies les plus importantes en incidence et en sévérité ont été pour les blés : la séptoriose et la tache bronzée. Malgré le nombre restreint de champs de blé tendre prospectés, il apparaît que les maladies citées se développent surtout sur les blés durs, situation qui s'explique, probablement, par une spécificité du pathogène (Bendif, 1994).

D'autres prospections ont été réalisées durant la campagne 2004-2005 et en avril 2006 (Ben-Belkacem, 2006). Il a été signalé qu'une même importance des séptorioses et de l'helminthosporiose était notée sur blé dur et tendre. En 2006, l'incidence de ces maladies a atteint 100 % dans les régions de Constantine, Skikda, Annaba, Mila, El-Taref et Guelma (Tabl.1). Leur prévalence par zone sur les deux espèces de blé, est présentée dans le tableau 2.

La maladie de la tache bronzée du blé

Importance et distribution de la maladie

La tache bronzée du blé ou tache auréolée ou encore tan spot (appellation anglo-saxonne), a été recensée dans la majorité des zones de culture de blé dans le monde (Fig.2) ; c'est une maladie d'une grande importance économique (Strelkov et Lamari, 2003).

Elle a été détectée pour la première fois à New York aux Etats Unis en 1940, et dans le Kansas en 1947 ; son incidence et sa sévérité n'ont cessé d'augmenter jusqu'à présent. Dans les années 1970, l'incidence de la maladie a augmenté dans l'Oklahoma et les plaines Sud des Etats Unis. Elle a été identifiée au Canada en 1939, mais la première épidémie la plus sévère est apparue en 1974. Elle a été observée pour la première fois en France en 1974 (Champion, 1997). Les pertes de rendement attribuées à cette maladie ont été estimées de 03% à 50 % en plein centre des Etats-Unis et au Canada (Strelkov et Lamari, 2003). En 1986, la maladie a été observée en Asie centrale pour la première fois et peu après elle été considérée comme étant la principale maladie du blé (Strelkov et Lamari 2003).

En Algérie, la tache bronzée du blé est largement distribuée dans les régions productrices du blé, ainsi qu'au Maroc et en Tunisie. Les attaques sont plus importantes dans les zones les plus arrosées. La sévérité est importante dans les zones du littoral algérien, moyenne dans les plaines intérieures et faibles à négligeable dans les hauts plateaux (Sayoud et al., 1999).

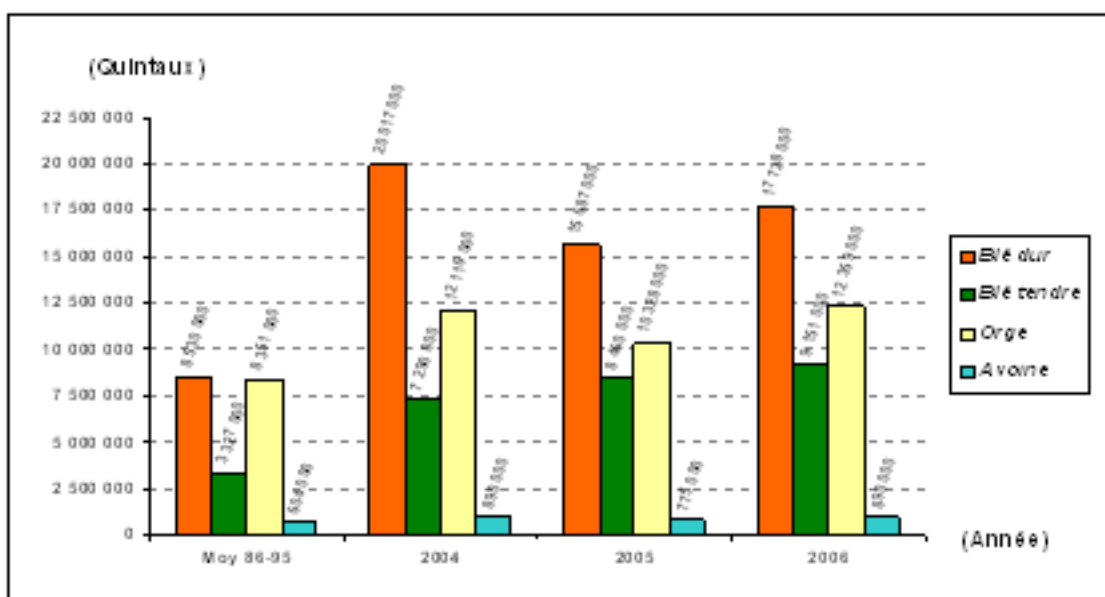


Figure 1: Accroissement de la production des céréales en Algérie

Wilaya	N° des champs	Maladies observées sur blé dur			Maladies observées sur blé tendre		
		<i>Septoria tritici</i>	<i>Septoria nodorum</i>	Tache aurolée	<i>Septoria tritici</i>	<i>Septoria nodorum</i>	Tache aurolée
Constantine	8	100 %	0,37 %	0,75 %	100 %	0,66 %	100 %
Skikda	6	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Annaba	4	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Mila	6	0,83 %	0,66 %	100 %	100 %	100 %	100 %
El-Tarf	1	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Guelma	3	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Séif	3	0 %	0,33 %	100 %	0 %	0 %	0 %
Jijel	1	100 %	100 %	100 %	0 %	0 %	0 %
O El Bouaghi	3	0,66 %	0,66 %	100 %	100 %	100 %	100 %

Tableau 1: Incidence des maladies rencontrées par wilaya sur le blé dur et tendre (1^{ère} prospection - Avril 2006) [Ben Belkacem, 2006]

Zone	Wilaya	N° des champs	Maladies		
			<i>Septoria tritici</i>	<i>Septoria nodorum</i>	Tache aurolée
Littoral	Skikda	7	65%- 7%	35,7%- 2,4%	52,8%- 4,7%
	Constantine				
Sublittoral	Mila	23	51,3%- 5%	22,3%- 2%	52,6%- 5,4%
	Guelma				

Tableau 2 : Prévalence des maladies rencontrées par zone sur blé dur et tendre (2^{ème} prospection – fin Mai 2006) [Ben Belkacem, 2006]

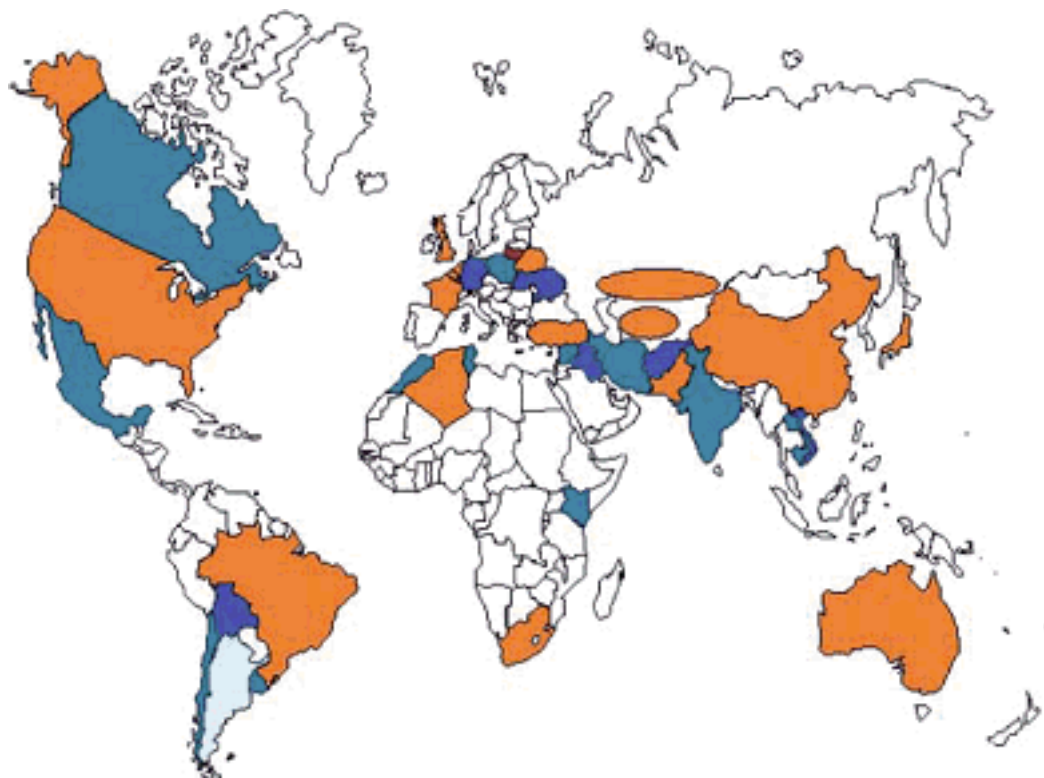


Figure 2 : Distribution Géographique du tan spot [*Pyrenophora tritici-repentis*]. (Strelkov et Lamari, 2003)

Les régions colorées représentent les surfaces où le champignon ou/et la maladie sont présents.

Les différentes couleurs sont utilisées pour délimiter les pays.

L'agent causal de la maladie et sa position taxonomique

Pyrenophora tritici-repentis (Died.) Drechs., agent responsable de la maladie de la tache bronzée ou auréolée du blé (Hecker et Forrer, 2003). Appartient au règne des Fungi, au phylum des Ascomycota, caractérisé principalement par la production d'asques bituniqués à l'intérieur d'un stroma préformé (=Ascostroma) qui constitue l'ascocarpe (Alexopoulos et al., 1996), à la classe des Dothidiomycetes, ordre des Pleosporales, la famille des **Pleosporaceae** et du genre **Drechslera** (Ainsworth et al., 1973 ; Kiffer et Morelet, 1997). Cette famille contient entre autre le genre *Setosphaeria* et *Cochliobolus*, et qui comportent des espèces parasites économiquement importantes de certaines céréales (Barr, 1987).

La forme conidienne asexuée ou anamorphe est ***Drechslera tritici-repentis*** , et la forme sexuée ou téléomorphe est *Pyrenophora tritici-repentis* (Zillinsky, 1983).

Symptômes et quantification de la maladie

L'infection et les symptômes de la maladie apparaissent à tous les stades du développement de la culture de blé (Deval et al., 2000). Ils se manifestent sur les feuilles en produisant des taches chlorotiques ou/et nécrotiques plus ou moins losangiques, sur les limbes des feuilles jeunes ou adultes (Fig.3). Ces lésions peuvent présenter au centre un petit point marron foncé (Fig.4), caractérisant la zone de pénétration du champignon (Sayoud et al., 1999). Sur les cultivars résistants, aucune extension de lésion ne se reproduit (Lamari et Bernier, 1989a ; Orolaza et al., 1995).

Le type de symptôme varie selon le génotype de l'hôte, les conditions de l'environnement et le type de toxines émises par le pathogène (Sutton et Hunt, 1990) ; ces toxines varient selon la race du pathogène. La taille des taches s'accroît au cours du temps et peut atteindre plusieurs centimètres. Lorsqu'elles convergent et se rejoignent, ces symptômes peuvent facilement se confondre avec ceux de la septoriose (Fig.5).

Dans le cas d'une forte attaque, la maladie peut se propager à la gaine, aux glumes, et infecter les grains en occasionnant des colorations roses ou rougeâtres (Valder, 1954; Fernandez et al., 1998). Il peut y avoir aussi une réduction du nombre de graines et de leur taille (Rees et Platz, 1992).

Plusieurs systèmes de notations ont été utilisés pour décrire la réaction de l'hôte au ***P. tritici-repentis*** . Il y a ceux qui incluent le pourcentage d'infection seulement (Nagle et al., 1982), et ceux qui combinent la taille des lésions avec le pourcentage d'infection (Luz et Hosforde, 1980). D'autres associent la taille des lésions, le pourcentage de surface de feuilles infectées et la position des feuilles (Raymond et al., 1985), ou encore le type des lésions (Hosford, 1971 ; Gilchrist et al., 1984). Une échelle de 1 à 5 basée sur le type de lésion a été développée par Lamari et Bernier (1989a) en excluant le pourcentage de surface de feuille infectée.

Toutefois, une autre échelle adoptée par Tomas et Bockus (1987), basée sur la réaction de l'hôte aux produits toxiques du filtrat de culture du champignon, permet d'étudier la participation des composés toxiques dans la symptomatologie du tan spot.

Gamme d'hôte

Ce pathogène facultatif a été considéré comme un nécrotrophe, car il cause des dommages extensifs aux tissus de l'hôte dans sa phase parasitaire, mais il peut aussi survivre en saprophyte sur les tissus de plantes durant sa phase non pathogène.

Parmi tous les *Pyrenophora spp.*, l'espèce *P. tritici-repentis* a une large gamme d'hôte et est capable d'infecter environ 26 espèces de graminées (Shomaker, 1962 ; Morrall et Howard, 1975). De même ce champignon a l'aptitude de coloniser une large gamme de plantes, dont la plupart se développent dans les zones de production de blé et fournit l'inoculum primaire pour l'épidémie de la maladie (Krupinsky, 1982, 1987, 1992). *P. tritici-repentis* est non pathogène sur orge, avoine et faiblement pathogène sur le ray gras (Weise, 1987 ; Maraite et al., 1992).

Caractères morphologiques

Sur milieu de culture, les colonies de *P. tritici-repentis* sont grises verdâtre, striées et peu élevées avec très peu de conidies (Fig.7). Lorsque ces dernières sont présentes, elles se forment sur des conidiophores droits ou flexueux (Fig.8), mesurant jusqu'à 400µm (Champion, 1997).

Les jeunes conidies sont sub-hyalines et prennent une couleur grise jaunâtre en vieillissant. Elles sont cylindriques, légèrement effilées, à paroi mince, munies de 5 à 10 cloisons transversales et mesurent 80-170µm x 12-24 µm (Zillinsky, 1983).

La cellule apicale est assez typique par sa forme en cône et au sommet arrondi, elle rappelle celle d'une tête de serpent (Fig.6)

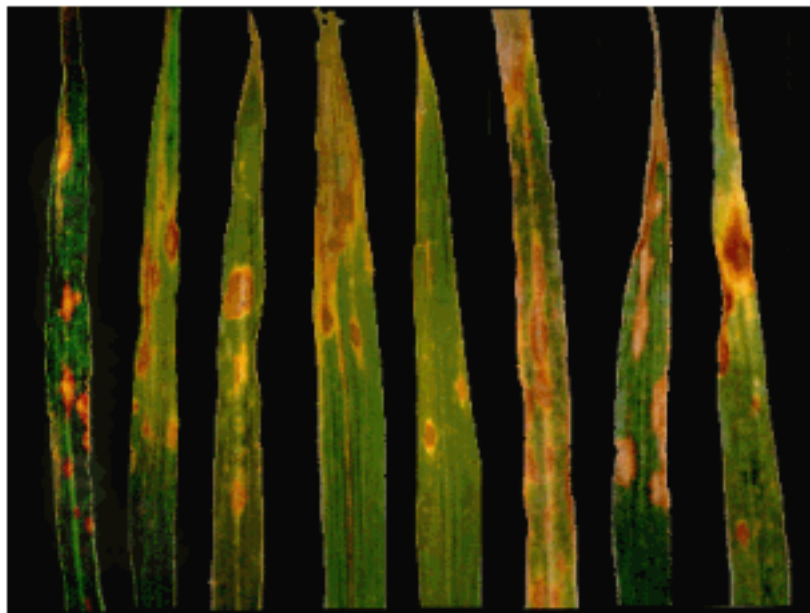


Figure 3 : Aspect des symptômes nécrotiques et chlorotiques du tan spot observés au niveau d'une parcelle de blé à l'INA (El Harrch).

[Source : Tizioualou, 2006]



Figure 4 : Stade initial de la maladie : les points noirs entourés d'une chlorose situés sur la partie supérieure de la feuille [Arnaud, 2006]



Figure 6 : Stade développé de la maladie : plages nécrotiques coalescents avec ou sans chlorose extensive [Arnaud, 2006]

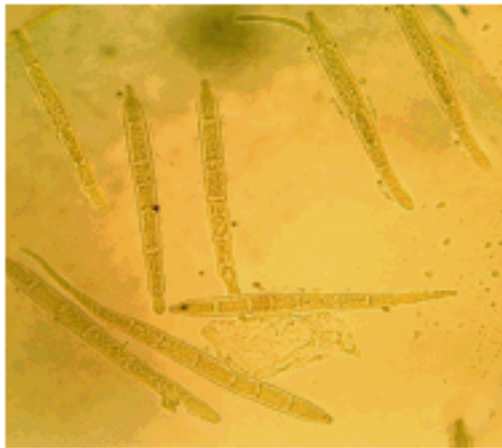


Figure 6 : Macro conidies de *P.tritici-repentis* (G : 40 x 2.5)

[Source : Tizioualou, 2006]

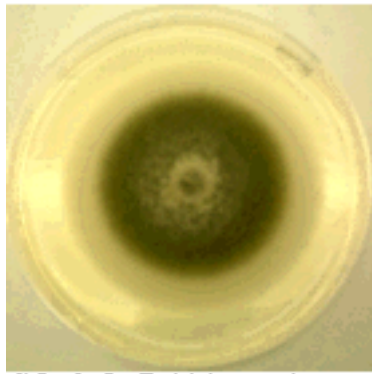


Figure 7 : Colonie de *P.tritici-repentis* sur milieu PDA.

[Source : Tizioualou, 2006]

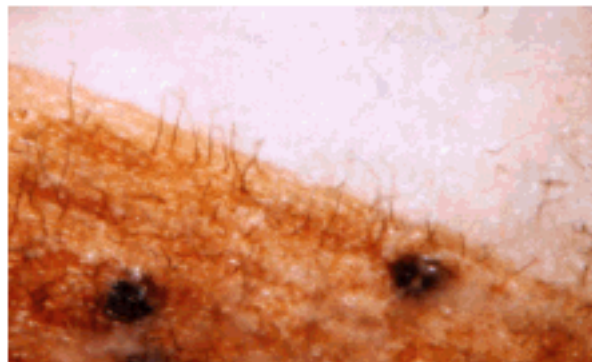


Figure 8 : Formation de conidies sur conidiophores (G : 4 x 10 x 0,8).

[Source : Tizioualou, 2006]

Biologie et épidémiologie

Le cycle biologique de *P.tritici-repentis* implique les deux stades sexué et asexué du champignon (Fig.9). Le stade sexué est caractérisé par la production d'ascospores (Schilder et Bergstrom, 1992). Les spores sexuées ou ascospores sont produites dans des

asques bituniqués, cylindriques et étroits à la base (Fig.10 et 11). Ces asques sont formés à l'intérieure du pseudothecium de forme sphérique, de couleur noire et un diamètre de 200 à 700 μm (Pfender et al., 1988). Ces pseudotheciums sont observés sur les chaumes de blé au courant de l'automne. En présence des conditions favorables d'humidité et de température le pseudothece s'ouvre et libère les ascospores qui vont être disséminées par le vent à une faible hauteur et infecter les feuilles basses de blé (Deval et al., 2000). Selon notre étude effectuée en 2004, sur le *P.tritici-repentis* (Tizioualou, 2004), les premiers symptômes de la maladie, ont été observés au champ le mois de Février, au stade tallage de la culture de blé, suite aux précipitations et aux variations de températures qui se sont enregistrées les deux mois précédents ; les symptômes se sont localisés au niveau des deux premières feuilles basales.

Quelque temps après, le stade asexué est caractérisé par la production de conidies. Les conidies sont à l'origine de la multiplication asexuée, elles sont formées sur des conidiophores droits à la surface de la feuille infectée. Celles-ci sont cylindriques, arrondies à l'apex et mesurent entre 95 à 165 μm de long et 14 à 18 μm de large (Shoemaker, 1962) ; elles sont plus légères que les ascospores et peuvent être disséminées par le vent à une hauteur plus importante et infecter les feuilles hautes du blé (Deval et al., 2000). Ces conidies germent, puis le mycélium se propage entre les cellules du mésophylle foliaire pour réémerger en formant de nouvelles conidies à la surface de la feuille.

La sporulation des conidies dépend de l'humidité ambiante; la rosée nocturne suffit pour la déclencher ; leur formation se fait à une température optimale d'environ 21°C à 23°C. Afin que l'infection puisse se propager de façon efficace, il faut des conditions d'humidité différentes, à des intervalles précis et à des températures au-dessus de 20°C.

La germination des conidies et l'infection des tissus ont lieu durant les nuits humides et tièdes ; la durée d'humectation nécessaire pour la germination est de 24 à 48 heures et pour qu'il y ait infection il faut que la feuille de blé soit couverte d'humidité pendant 6 à 48 heures, selon le degré de résistance de la variété. Les températures optimales pour l'infection se situent entre 18°C et 28°C. Il n'y a pas d'infection à des températures inférieures à 6°C ou supérieures à 32°C (Sayoud et al., 1999). La dissémination des conidies se fait par le vent durant les jours chauds et secs. Un temps chaud qui alterne avec des périodes de pluie, accompagné de fortes rosées, suffit donc à *P. tritici-repentis* pour déclencher une épidémie. Le temps de latence à des températures de 20°C- 25°C est d'environ trois à quatre jours et la sporulation a lieu dans les six à huit jours qui suivent.

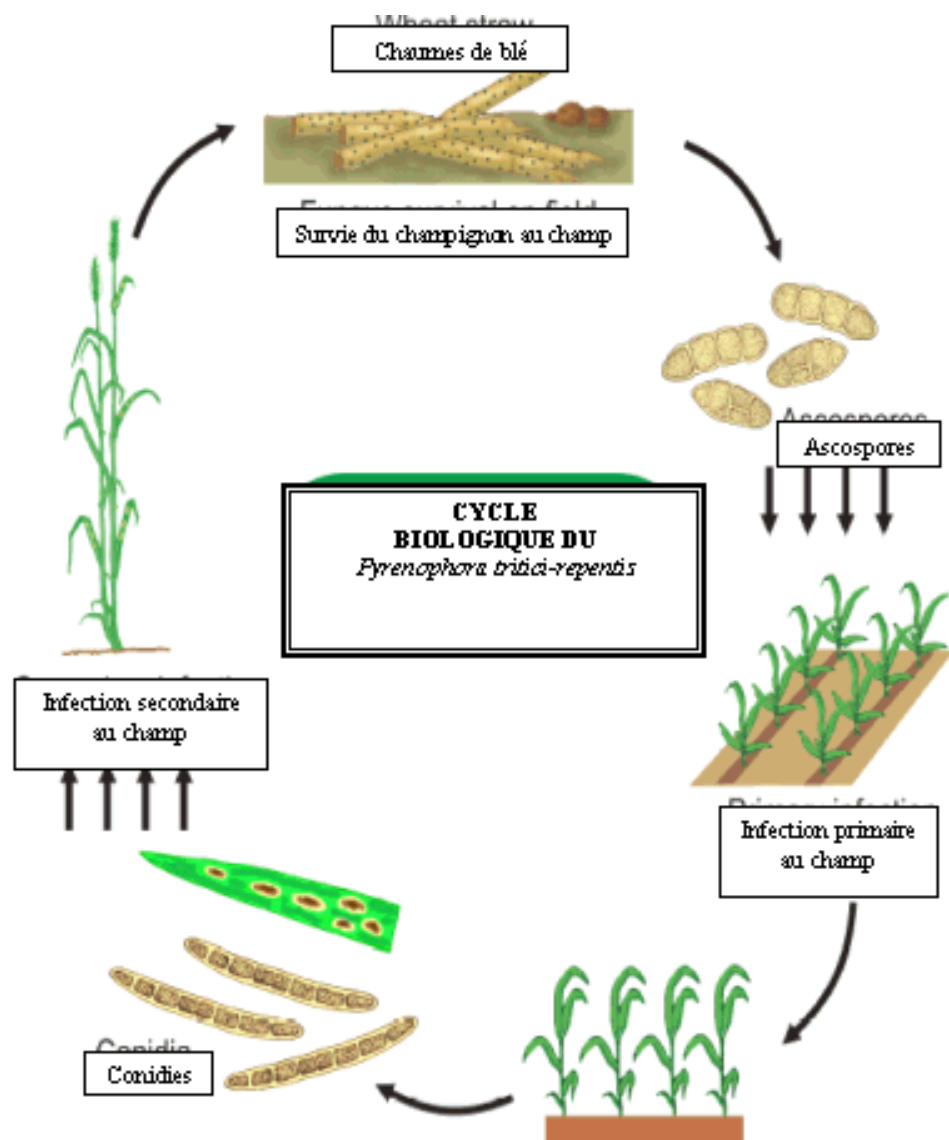


Figure 9 : Cycle biologique du *Pyrenophora tritici-repentis* [Santana et Friesen, 2007]

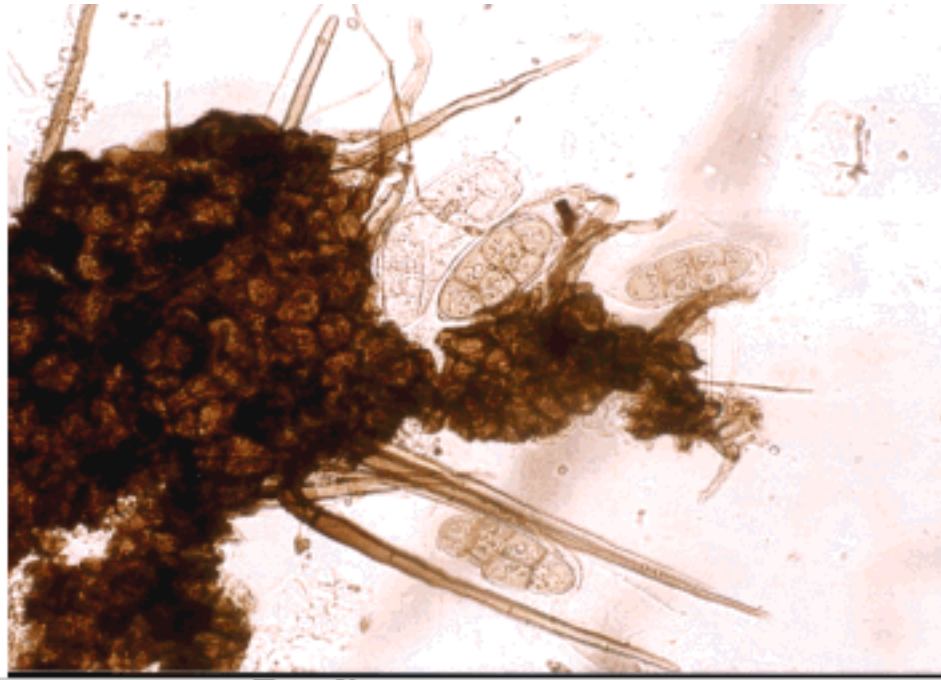


Figure 10 : Pseudothèque observé au microscope (G : 40 x 12.5)

[Source : Tizioualou, 2006]

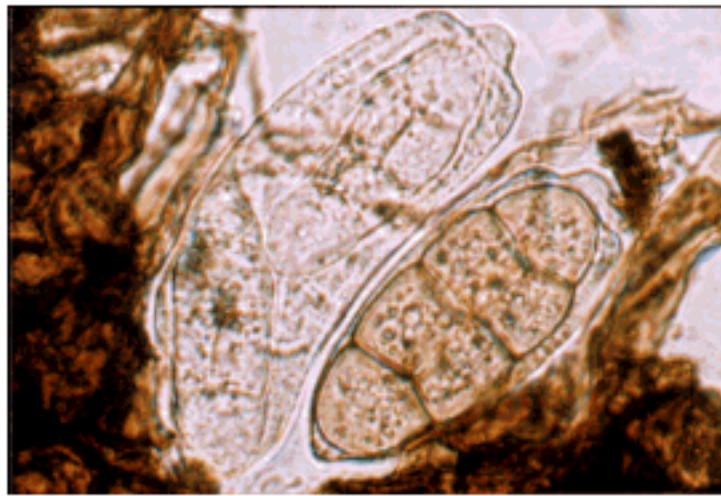


Figure 11 : Asque et ascospores observé au microscope (G : 100 x 12.5)

[Source : Tizioualou, 2006]

Développement des symptômes et désignation des Pathotypes / Races

La variabilité de l'expression des symptômes nécrotiques et chlorotiques associés à la maladie du tan spot, semble être le résultat de l'interaction spécifique entre l'hôte et le pathogène. Les isolats individuels de *P.tritici-repentis* peuvent induire indépendamment, dans des lignées spécifiques de blé, l'un ou l'autre des symptômes (Lamari et Bernier, 1989a, 1989b, 1991).

Ce comportement conforte la classification initiale des isolats de *P.tritici-repentis* en quatre pathotypes. Cette classification a été basée sur leur habilité d'induire, sur une gamme d'hôte différentielle, nécrose et chlorose (pathotype 1, nec+/chl+), nécrose seulement (pathotype 2, nec+/chl-), chlorose seulement (pathotype 3, nec-/chl+), ou bien aucun symptôme (pathotype 4, nec-/chl-) (Lamari et Bernier, 1989a).

Le système de classification basé sur les symptômes a été limité au maximum à 04 catégories et n'a pas pu introduire de nouveaux modes de virulence. L'identification des isolats capables de causer la chlorose sur les lignées ou cultivars connus auparavant d'être résistants à tous les isolats, a induit à l'introduction d'un schéma de désignation de races, basé sur la virulence des isolats sur la gamme différentielle d'hôte (Lamari et al., 1995).

Actuellement, 08 races de *P.tritici-repentis* ont été caractérisées, en se basant sur leur mode de virulence sur 4 lignées différentielles de blé : Glenlea, 6B365, 6B662 et Salamouni (Tabl.3) ; les races 1 et 4 correspondent aux pathotypes originaux 1 et 4 (Lamari et al., 1995). La plupart des isolats de la race 5 sont obtenus généralement du Nord d'Afrique (Lamari et al., 1995). Quoique plus tard quelques unes étaient retrouvées au Nord d'Amérique et très récemment en Azerbaïdjan (Ali et Francl, 1999 et 2003 ; Lamari et al., 1998). Trois races additionnées, désignées races 6, 7 et 8, ont été récemment identifiées à partir d'une collection d'Algérie et de Caucase et de la région du croissant fertile (Strelkov et al., 2002 ; Lamari et al., 2003).

Les isolats de race 1 et 2 furent obtenus principalement des blés hexaploïdes (blé tendre), tandis que les isolats des races 3, 5, 7 et 8 furent trouvés en prédominance ou exclusivement sur des blés tétraploïdes (blé dur).

Les races virulentes du *P.tritici-repentis* peuvent avoir un mode de virulence simple ou complexe (Strelkov et al., 2002; Lamari et al., 2003). Les races 2, 3 et 5 peuvent attaquer seulement une des trois lignées différentielles et elles sont considérées à être des races basiques. Les races 1,6, et 7 peuvent attaquer deux lignées différentielles, et, donc ils combinent la virulence des deux races basiques. Finalement, l'isolat de race 8 combine la virulence des 3 races basiques, pour cela elle peut attaquer les trois lignées différentielles (Tabl.3, Fig.12 et 13).

Quand la gamme d'hôte différentielle a été développée, et de nouveaux isolats ont été testés, le nombre de races n'a pas cessé d'augmenter (Meinhardt et al., 2003 ; Ciuffeti et al., 2003). Mais comme les races sont actuellement définies sur un groupe très limité d'hôtes différentiels, l'éventail

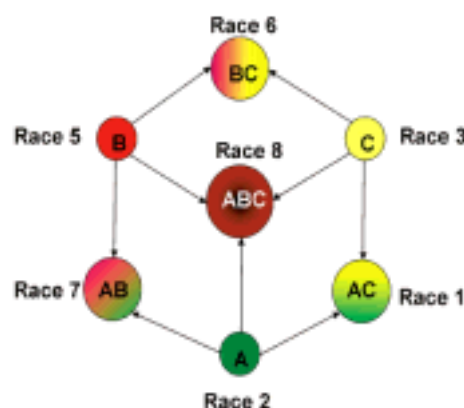


Figure 12 : Diagramme représentant la relation entre les toxines et les races du *P. tritici-repentis*. (Lamari et al., 2003).

Le (A) présente la Ptr ToxA ; le (B) la Ptr ToxB et le (C) la Ptr ToxC.

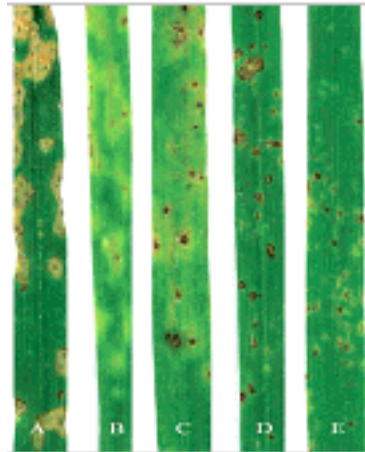


Figure 13 : Symptômes causés par *P. tritici-repentis* sur la gamme d'hôte différentielle de blé. (Lamari et Bernier, 1989c).

complet de la diversité chez le *P. tritici-repentis* n'a vraisemblablement pas été complètement évalué (Lamari et al., 2001)

Lignés ou cultivars	Races							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Glenlea	S(N)	S(N)	R	R	R	R	S(N)	S(N)
6B662	R	R	R	R	S(C)	S(C)	S(C)	S(C)
6B365	S(C)	R	S(C)	R	R	S(C)	R	S(C)
Salamouni	R	R	R	R	R	R	R	R

Tableau 3 : Réaction de 04 géotypes de blé aux différentes races connues de *P. tritici-repentis* (Strelkov et Lamari, 2003).

N= nécrose et C= chlorose

R= résistance et S= sensible

Toxines produites par *Pyrenophora tritici-repentis*

Les effets destructifs des nombreux microorganismes infectieux peuvent être déterminés par l'action de leurs toxines. Les toxines produites par les pathogènes du genre *Drechslera* sont des facteurs majeurs dans les processus infectieux. Les types d'isolats virulents et avirulents de *P. tritici-repentis*, sont capables de la pénétration et la colonisation. Mais seulement les isolats produisant la toxine sont capables d'accomplir le processus d'infection (Lamari et Bernier, 1989 b).

La connaissance des toxines peut contribuer à la compréhension des maladies des plantes aux deux niveaux : moléculaire et écologique. Certaines toxines sont la clé à la compréhension de la pathogénicité, de la virulence, de la spécificité d'hôte pour plusieurs interactions de plante/microorganismes infectieux, et de la résistance dans plusieurs plantes hôtes (Scheffer, 1983).

Tomas et Bockus (1987), ont été les premiers à rapporter l'effet des composés toxiques du *P. tritici-repentis* à induire des symptômes du tan spot, quand ils sont infiltrés dans les plantes hôtes. Les filtrats de cultures peuvent être utilisés pour démontrer le caractère de résistance et de sensibilité de la plante hôte, car la résistance aux maladies peut être considérée en partie, liée à l'insensibilité aux composés toxiques (Singh, 2001).

Les races de *P. tritici-repentis* produisent au moins trois toxines spécifiques à l'hôte, actives sur des lignées ou cultivars hôtes précis, causant des symptômes de nécrose bronzée et d'une chlorose extensive dans les cultivars sensibles de blé (Brown et Hunger, 1993 ; Anderson et al., 1999 ; Ciuffetti et Tuori, 1999). Au total, huit races de l'agent pathogène ont jusqu'à maintenant été identifiées à partir de collections faites dans plusieurs parties du monde (Strelkov et Lamari, 2003), représentant tous les types de virulence prévus des trois toxines correspondant à trois gènes de sensibilité de l'hôte.

Toxine induisant la nécrose

Lamari et Bernier (1989, b, c) ont montré que le filtrat de culture brut et dialysé de *P. tritici-repentis*, issu des isolats de pathotype 1 et 2, contenait une toxine qui induisait des symptômes nécrotiques, sur les cultivars sensibles. Cette toxine est spécifique aux cultivars et se présente comme étant un facteur de pathogénicité.

Des composés toxiques induisant la nécrose, issus des filtrats de culture de *P. tritici-repentis* ont été purifiés et caractérisés par chromatographie et immunologie (Ballance et al., 1989 ; Tomas et al., 1990 ; Tuori et al., 1995 ; Zhang et al., 1997 ; Meinhadt et al., 1997). Tous ces auteurs avaient décrit une toxine induisant la nécrose sur les variétés sensibles, présente dans le filtrat de culture de ce champignon. Cette toxine était de nature protéique et d'un poids moléculaire élevé de 13,2 à 14,7KDa. Lamari et Gilbert (1998) avaient appelé la toxine induisant la nécrose, produite par la race 1 et 2, Ptr nécrosis toxine ou Ptr ToxA.

P. tritici-repentis produit une deuxième classe de phytotoxines induisant la nécrose, elles sont composées de lactames spirocyclique (Amide cyclique caractérisé par un groupe NHCO) nommés triticones (Kenfield et al., 1988). Ces phytotoxines consistent en six structures similaires de triticones (A, B, C, D, E et F). Les triticones ont été déterminés comme étant non sélectives à l'hôte par leur habilité d'induire la nécrose (Hallock et al., 1993).

Lamari et Bernier (1994), ont constaté que les cultivars qui sont sensibles aux toxines induisant la nécrose, deviennent insensibles à une température de 27°C. Cependant, quand les plantes sont infiltrées avec la toxine à 27°C puis transférées à une température de 22°C, elles redeviennent à nouveau sensibles à la toxine. Ils conclurent que ce comportement est déterminé par des protéines et suggèrent que la destruction de l'interaction compatible peut être causée par l'échec de l'interaction de la toxine avec son récepteur. Anderson et al., (1999) ont proposé que l'insensibilité n'est pas conférée par le produit de gène à cent pour cent, mais plutôt par l'absence de gène de sensibilité à la toxine. Ils ont émis une hypothèse que la toxine induisant la nécrose interagit avec le produit de gène et confèrent la sensibilité chez l'hôte. Ces types de réactions suggèrent qu'un seul gène récessif contrôle l'insensibilité à la Ptr ToxA (Lamari et Bernier, 1989b ; Lamari et Bernier, 1991 ; Singh et Hughes, 2005 ; Faris et al., 1996).

Toxines induisant la chlorose

Une deuxième toxine spécifique à l'hôte, capable d'induire une chlorose extensive sur des lignées de blé, a été identifiée initialement dans des filtrats de culture des isolats de la race 5 (Orolaza et al., 1995). Cette toxine connue sous le nom de Ptr chlorosis toxin, est actuellement désignée Ptr ToxB (Ciuffeti et al., 1998) ; elle cause une chlorose par un mécanisme de photo-oxydation de la chlorophylle. Comme la Ptr ToxA, la Ptr ToxB apparaît un déterminant primaire de la maladie dans l'interaction Blé - *P.tritici-repentis* (Strelkov et al., 1998, 1999). Cette toxine est généralement une protéine à faible poids moléculaire de 6,6KDa (Martinez et al., 2001 ; Strelkov et al., 2005 ; Strelkov et al., 2003 ; Lamari et al., 2003). Le gène qui code pour la Ptr ToxB est présent en multiples copies chez les isolats des races 5, 6, 7 et 8 de *P. tritici-repentis*. La Ptr ToxB a été caractérisée comme étant une molécule qui a une grande stabilité, du fait qu'elle peut maintenir son activité toxique après une heure à une température de 55°C (Strelkov et al., 1999).

La présence d'une troisième toxine spécifique Ptr ToxC a été prédite par de nombreuses études (Lamari et Bernier, 1991 ; Gamba et Lamari, 1998 ; Gamba et al., 1998). Cette toxine cause une chlorose sur la lignée 6B365, contrairement à la Ptr ToxB qui cause une chlorose sur la lignée 6B662 de la gamme d'hôte différentielle. Récemment, cette toxine a été purifiée partiellement à partir d'isolat de *P.tritici-repentis* de la race 1 (Effertz et al., 2002). **Des études génétiques et autres suggèrent que cette toxine est produite par les races 3, 6 et 8 (Lamari et Bernier, 1991 ; Strelkov et al., 2002 ; Lamari et al., 2003). Contrairement à la Ptr ToxA et PtrToxB, la PtrToxC n'est pas de nature protéique, elle semble être une molécule à faible poids moléculaire, non ionique et polaire (Effertz et al., 2002).** Il a été mis d'accord de désigner la toxine induisant la chlorose, produite par la race 1 et 3, Ptr ToxC et celle produite par la race 5, Ptr ToxB (Lamari et Gilbert, 1998).

Modèle gène pour gène chez *P.tritici-repentis*

L'incompatibilité dans la relation hôte-pathogène est sous-tendue par des caractères monogéniques dominants R et Avr dans chaque partenaire et ces gènes se correspondent un à un, d'où la théorie dite « gène pour gène » ; toute autre association impliquant les allèles récessifs de ces gènes (r, Avr) conduisant à la compatibilité, c'est-à-dire à la maladie (Bové, 2001).

Les analyses génétiques de l'hôte et de l'agent pathogène suggèrent qu'une relation de un à un existe dans l'interaction blé – *P.tritici-repentis*. Sauf que le modèle décrit pour la tache auréolée du blé semble être l'image inversée du classique gène pour gène, en ce qu'il est basé sur la compatibilité. Il est proposé alors que le modèle gène pour gène puisse être étendu, tel que prédit par d'autres, à des pathosystèmes impliquant plusieurs toxines spécifiques à l'hôte (Strelkov et Lamari, 2003).

Stratégie de lutte

La résistance variétale est l'une des solutions idéales pour la lutte contre la maladie de la tache bronzée (Bowden, 2000) ; elle dispense l'agriculteur des coûts qu'il aurait à engager dans la lutte chimique, tout en préservant l'environnement. En Algérie, les variétés locales sont très sensibles alors qu'une résistance variétale notable existe chez plusieurs cultivars améliorés : INRAT 69 et Ziad (Sayoud et al., 1999).

Parmi les techniques culturales recommandées pour réduire la sévérité, il y a la rotation culturale qui permet d'éviter les risques des premières infections, et l'enfouissement des

pailles après les récoltes afin de réduire la quantité d'inoculum et donc l'intensité des attaques (Deval et al., 2000).

En cas de forte épidémie, des variétés sensibles à la maladie sont utilisées, il est nécessaire d'intervenir par une ou deux applications de fongicide bien positionnées durant le cycle végétatif de la culture. L'azoxystrobine est une matière active découverte nouvellement de la famille des Strobilurines ; elle est particulièrement efficace avec 80% à 90% d'efficacité contre l'helminthosporiose du blé (Deval et al., 2000), ou d'autres matières actives comme : carbendazime, époxiconazole, flusilazole, prochloraze, propiconazole, tridémorphe (Colson et al., 2003).

Les traitements de semences peuvent être aussi efficaces pour réduire l'importance de l'inoculum primaire qui est conservé dans les grains (Sayoud et al., 1999).

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Une gamme d'hôte différentielle, développée et fournie par Lamari et Bernier (1989c), a été utilisée pour la détermination des races. Elle comprend 04 cultivars de blé tendre : Glenlea, 6B365, 6B662 et Salamouni. Ces cultivars ont une réaction connue avec toutes les races de *P. tritici-repentis* caractérisées jusqu'à maintenant (Tabl.4) et comprenant 08 races au total (Lamari et al., 2003)

Races	4	2	1	8	7	5	6	3
Cultivar								
Glenlea	R	Ptr ToxA (S-N)				R	R	R
6B662	R	R	R	Ptr ToxB (S-C)				R
6B365	R	R	Ptr ToxC (S-C)		R	R	Ptr ToxC (S-C)	
Salamouni	R	R	R	R	R	R	R	R
Nombre de toxines	0	1	2	3	2	1	2	1

de *P.tritici-repentis* (Strelkov et Lamari, 2003)

R : résistant **S** : sensible

N : développement d'une nécrose **C** : développement d'une chlorose

Les graines traitées de la gamme d'hôte ont été multipliées en plein champ à l'INA (EL-Harrach), le semis a été réalisé en janvier 2006 d'une façon linéaire, à raison de trois lignes et une vingtaine de graines pour chaque cultivar (Fig.14)

Le test de la spécialisation pathogénique de *P. tritici-repentis* a été réalisé sur une gamme de variétés cultivées (Tabl.5). Ce sont les variétés les plus répandues et les plus utilisées en Algérie provenant de la station de l'ITGC de Oued Smar, récoltées durant la campagne agricole 2004-2005; 04 variétés fixées de blé dur, 04 de blé tendre et 01 variété d'orge. Ces génotypes sont choisis afin d'étudier leur comportement vis à vis des isolats de *P. tritici-repentis* isolés des deux espèces de blé. Avant leur utilisation, les graines sont désinfectées à l'hypochlorite de sodium à 2° et leur pourcentage de germination est évalué.

Espèces	Non des variétés	Appellation	Origine	Taux de germination
Blé dur	VITRON	V1	I.T.G.C. (Oued Smar)	87 %
	CHEN'S	V2		83 %
	WAHA	V3		66 %
	MOROCCO10	V4		53 %
Blé tendre	H97813	V5		60 %
	HIDHAB	V6		100 %
	ANZA	V7		90 %
	MEXIPAK	V8		80 %
Orge	SAIDA	V9		60 %

Tableau 5 : Noms des variétés utilisées avec leur taux de germination.

L'étude des composés toxiques des deux types d'isolats (I1.BT et I2.BD), a été réalisée en utilisant les deux variétés VITRON de blé dur et HIDHAB de blé tendre, qui se sont montrées sensibles dans le premier test de la spécialisation pathogénique effectué sous serre. Afin d'obtenir un semis homogène, les graines sont mises en pré-germination, et seules les graines ayant germées de façon homogène sont sélectionnées.

Matériel fongique

Notre recherche de marqueurs de la spécialisation parasitaire de *P. tritici-repentis* sur les deux espèces de blé, a été menée à partir de plusieurs isolats, obtenus de limbe foliaire de plusieurs variétés. Ces isolats proviennent des régions céréalières du centre d'Algérie (Oued Smar et INA d'El Harrach) de l'Est (Constantine, Mila, Guelma, Sétif) et de l'ouest (Mascara). Les échantillons sont obtenus au cours de prospections réalisées entre le mois de Mars et le mois de Mai de l'année 2006. Parmi les 90 isolements effectués, 30 isolats de *P. tritici-repentis* ont été déterminés et identifiés par la méthode directe d'observation au scotch, ensuite confirmés après réalisation d'un test d'isolement et de sporulation sur milieu V8-PDA. Sept (07) isolats issus de blé dur et six (06) isolats issus de blé tendre ont été sélectionnés d'après l'aspect cultural de la colonie. Les différents isolats obtenus sont présentés dans le tableau 6, avec indication de leur région et espèce hôte d'origine. Les races des isolats ainsi que les caractères culturaux et morphologiques (aspect cultural, croissance mycélienne à différentes températures et sur milieux différents, la taille des conidies) ont été ensuite étudiés.

Tableau 6 : Désignation et codification des isolats utilisés et leur espèce hôte d'origine.

Isolats	Région d'origine	Espèce du cultivar	Caractérisation des symptômes observés
I3C.BT	ALGER / ITGC, Oued Semar	Blé tendre (ANZA)	Présence de nécrose seulement
I2C.BT	ALGER / ITGC, Oued Semar	Blé tendre (HIDHAB)	Nécroses losangiques avec un point noir au centre (symptôme typique)
I5E.BT	MILA / Boucenna- Oued Otmania	Blé tendre (HIDHAB)	Plages nécrotiques avec peu de chlorose
I42E.BT	GUELMA / ITGC	Blé tendre	Plages nécrotiques avec peu de chlorose
I111E.BT	CONSTANTINE / Beni Mestina	Blé tendre (HIDHAB)	Petites taches nécrotiques sans chlorose avec un petit point marron au centre
I107E.BT	CONSTANTINE / Ibn Ziad	Blé tendre (HIDHAB)	Plages nécrotiques avec un point noir au centre et une chlorose bien maquée
I4C.BD	ALGER / ITGC, Oued Semar	Blé dur (CHEN'S)	Symptôme typique du TAN SPOT
I103E.BD	SETIF /Ain Tabahraot	Blé dur	Plages nécrotiques avec chlorose
I23E.BD	CONSTANTINE / Ouldja	Blé dur (GTA dur)	Grande tache nécrotique losangique avec un point noir au centre (Symptôme typique)
I106E.BD	MILA / Grarem Gouga	Blé dur (BIDI17)	Petites taches nécrotiques qui coalescent entre elle avec peu de chlorose
I34E.BD	GUELMA / ITGC	Blé dur	Plages chlorotiques avec très peu de nécrose
INA.BD	ALGER / INA, EL Harrache	Blé dur (SYEMETO)	Grande tache nécrotique losangique avec un point noir au centre (Symptôme typique)
I98O.BD	MASCARA	Blé dur (WAHA)	Petites taches nécrotiques qui coalescent entre elle avec peu de chlorose

BD : blé dur ; **BT** : blé tendre ;

O : Ouest ; **E** : Est ; **C** : Centre ;

Les numéros : présentent les numéros d'isolements.

Les isolats ayant servi à l'étude de la spécialisation pathogénique sur blé dur et blé tendre, ont été isolés à partir d'échantillons de feuilles de blé dur (variété CHEN'S) et blé tendre (variété HIDHAB), présentant des symptômes caractéristiques de *P. tritici-repentis*. Les feuilles ont été récoltées lors d'une prospection effectuée en février 2006 à la station ITGC de Oued Smar (Tabl.7).

Espèce de la plante	Variété	Isolat
Blé tendre	HIDHAB	I1.BT
Blé dur	CHEN'S	I2.BD

Tableau 7 : Origine des isolats et leur codification

L'étude des composés toxiques a été réalisée avec les deux types d'isolats qui se sont montrés plus agressifs sur les cultivars de la gamme d'hôte différentielle. Les isolats I4C.BD

et I2C.BT ont été utilisés pour la production des filtrats de culture bruts et la purification partielle des composés toxiques.

Chaque isolat a été multiplié sur le milieu PDA à 25°C dans des conditions d'obscurité ; un petit fragment de chaque isolat a été prélevé des tubes de conservation et repiqué sur milieu de culture, puis incubé, jusqu'à ce que, la colonie atteigne un diamètre de 5 cm.

Etude des caractères morphologiques et cultureux des isolats

Caractères cultureux

L'étude des caractères cultureux des différents isolats, est réalisée en prélevant un explant de 5mm de diamètre à partir de chaque colonie obtenue par culture monospore. Celui-ci est transféré au centre d'une boîte de Pétri contenant un milieu PDA. Après une incubation de 10 jours à une température de 25°C et à l'obscurité, nous notons pour chaque isolat le type de croissance ainsi que la couleur du mycélium et du substrat.

Croissance mycélienne à différentes températures

La croissance radiale journalière de chaque isolat a été déterminée sur milieu PDA avec une incubation à l'obscurité et à différentes températures (5, 10, 15, 20, 25, 30 et 35°C). A partir de chaque isolat, obtenu par culture monospore, on prélève à la périphérie de chaque colonie âgée de 6 jours, un explant de 6 mm de diamètre que l'on place au centre d'une boîte de Pétri contenant un milieu PDA. Des mesures quotidiennes de la croissance radiale des colonies sont réalisées pendant une semaine.

Ce test a pour but de connaître la température optimale de croissance pour chaque isolat, et de savoir s'il existe une spécificité de croissance mycélienne entre les deux types d'isolats obtenus des deux espèces de blé dur et de blé tendre, et de les classer.

croissance mycélienne sur milieu à base de feuilles vertes de blé

Cette technique consiste à étudier la variabilité de la croissance mycélienne des deux types d'isolats, sur deux milieux à base de feuilles de blé dur et blé tendre. Ce test nous permet de savoir si la spécialisation a une relation avec la composition de ces deux milieux. Pour cela 30g de feuilles vertes, sont broyées à l'aide d'un mixeur, en ajoutant 20gr d'agar et en ajustant à 1litre, puis le milieu est autoclavé pendant 20 mn à 120°C.

Un explant de 5mm des différents isolats est repiqué sur les différents milieux, puis les boîtes sont incubées à une température de 25°C et la vitesse de croissance journalière a été estimée.

Mensuration des conidies

Ces mesures nécessitent au préalable l'étalonnage du microscope, qui est réalisé à l'aide d'un micromètre objectif et d'un micromètre oculaire (Langeron, 1942).

Les mensurations ont été réalisées sur des conidies obtenues sur deux substrats différents. Le premier *in vitro* sur milieu V8-PDA et le deuxième *in vivo* sur feuilles infectées après inoculation artificielle. Les mensurations portent sur la mesure de la longueur et le diamètre des conidies ainsi que le nombre de cloisons ; 50 à 100 conidies de chaque isolat ont été mesurées.

* **Conidies obtenues *in vitro*** : Les différents isolats sont soumis à la sporulation sur milieu V8-PDA selon la technique de Lamari et Bernier (1989a). Les conidies sont ensuite récupérées dans du glycérol à 20% et conservées à -19°C jusqu'au moment de leur utilisation. La taille des conidies des différents isolats est déterminée à l'aide du micromètre oculaire.

* **Conidies obtenues *in vivo*** : les différents isolats sont inoculés artificiellement sur des variétés de blé dur et de blé tendre, et après l'apparition des symptômes, les feuilles infectées sont mises en chambre humide pour leur sporulation, puis les conidies sont récupérées et mesurées de la même manière que précédemment.

Analyse statistique

L'analyse de la variance ainsi que le test LSD au seuil de 95,0% sont réalisés à l'aide d'un logiciel appelé STATGRAFICS. Il permet une analyse de la variance multifactorielle basée sur plusieurs tests qui déterminent quel est le facteur qui a un effet statistiquement significatif sur la ou les variables testées. Cette analyse teste aussi l'interaction significative pour les différents facteurs. Le test F dans le tableau d'ANOVA nous permet d'identifier les facteurs significatifs. Pour chaque facteur significatif, plusieurs tests vont nous indiquer de quelle manière ils sont différents les uns des autres. La valeur de P teste la signification statistique de tous les facteurs. Le P doit avoir une valeur inférieure à 0.05 pour que le facteur ait un effet statistiquement significatif sur la variable étudiée à un niveau de 95,0%.

Détermination des races des différents isolats

Cette étude a pour but de savoir s'il est possible de classer les isolats obtenus de blé dur et ceux obtenus de blé tendre en deux groupes de races distincts, et donc de savoir si ces deux types d'isolats peuvent appartenir ou non à deux groupes différents de races.

Présentation de l'essai

Quatre lignées ont été plantées dans une terrine où chaque une a été semée en une ligne qui contient 10 graines espacées de 2 à 3 cm ; les graines ont été mises en pré germination dans des boîtes en verre à une température de 20°C et une photopériode de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Chaque terrine a été inoculée avec un seul isolat des treize isolats étudiés, et toutes les inoculations sont répétées trois fois avec un témoin, soit un total de 52 terrines. Les terrines ont été disposées sous serre selon un dispositif en randomisation totale (Fig.15). L'essai était mis en place le 17 novembre 2006 dans des conditions plus ou moins contrôlées dans une serre en verre à l'INA (El Harrach).

Technique utilisée

Recherche de marqueurs de la spécialisation parasitaire de *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs., agent de la tache bronzée sur blé dur (*Triticum durum* Desf.) et blé tendre (*Triticum aestivum* L.).

L'inoculum de conidies a été produit comme décrit précédemment (Lamari et Bernier, 1989c). C'est à dire que les plants sont inoculés à la deuxième ou troisième feuille avec une suspension de 3500 conidies/ml dans laquelle 10 gouttes de Tween 20/litre sont ajoutées. La suspension est appliquée sur le feuillage à l'aide d'un pulvérisateur manuel. Après inoculation, les plantes sont placées dans une chambre humide pendant 24 heures à 22°C-18°C (jour/nuit) avec 16 heures de photopériode. L'humidité continue du feuillage est maintenue grâce à un système de micro aspersion. L'apparition des symptômes est observée quotidiennement.

Echelle de notation

Le type de virulence sur la gamme différentielle, est évalué par le développement de la maladie 6 à 7 jours après inoculation des plants. Pour déterminer les races des isolats, on note la présence ou/et l'absence d'une nécrose ou de chlorose sur les différents cultivars de la gamme différentielle selon le tableau 8 (Strelkov et Lamari, 2003).



Figure 14 : Multiplication de la gamme différentielle d'hôte

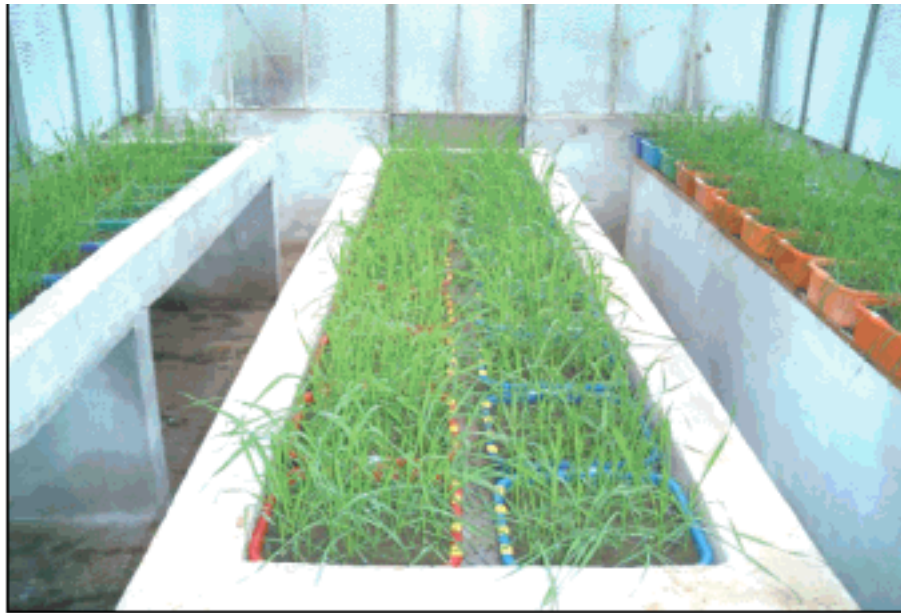


Figure 15 : Dispositif expérimental pour le test d'identification des races

Tableau 8 : Type de virulence selon la réaction de la gamme d'hôte différentielle.

Races Cultivar	1	2	3	4	5	6	7	8
Glenlea	S (N)	S (N)	R	R	R	R	S (N)	S (N)
6B662	R	R	R	R	S (C)	S (C)	S (C)	S (C)
6B365	S (C)	R	S (C)	R	R	S (C)	R	S (C)
Salamouni	R	R	R	R	R	R	R	R

R : résistant S : sensible

N : développement d'une nécrose C : développement d'une chlorose

Spécialisation parasitaire de *P.tritici-repentis* sur des variétés locales

cet essai a pour but de tester la spécialisation pathogénique du *P.tritici-repentis* sur les deux espèces de blé : dur et tendre. Il nous permet d'évaluer le comportement de deux isolats obtenus des deux espèces différentes de blé, et d'observer le comportement des différentes variétés vis à vis de ces deux isolats (I1.BT et I2.BD).

Présentation de l'essai

L'essai consiste à réaliser une inoculation croisée des deux isolats (I1.BT et I2.BD) sur des variétés de blé dur et tendre et une variété d'orge qui sont toutes les trois des plantes hôtes ; l'orge étant une espèce très résistante à ce pathogène (Ali et Francl, 2001).

L'essai a été réalisé selon un dispositif en randomisation totale avec 04 répétitions (Tabl.10), c'est à dire que les différentes combinaisons génotypes/isolats sont affectées

Recherche de marqueurs de la spécialisation parasitaire de *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs., agent de la tache bronzée sur blé dur (*Triticum durum* Desf.) et blé tendre (*Triticum aestivum* L.).

aléatoirement dans tout l'essai, ce qui nous donne un total de $9 \times 3 \times 4 = 108$ terrines (Fig.16et 17) où :

- 9 = le nombre total des variétés utilisées
- 3 = le nombre d'isolats I1 + I2 + I0 (témoin non inoculé)
- 4 = le nombre de répétitions pour chaque combinaison

L'essai a été effectué le 04 mars 2006 dans des terrines en plastique contenant un substrat stérilisé à la chaleur humide. Ce dernier est composé de sable, terreau et terre à des proportions de 1/3 pour chaque constituant. Chaque terrine contenant 20 graines (pour une densité de semis élevée) est considérée comme une unité expérimentale (micro-parcelle).

L'essai est conduit sous serre avec une température qui a varié de 22°C à 26°C. L'irrigation est réalisée avec un système de micro-aspersion à raison de 300 ml/jour pour chaque micro-parcelle. Une fertilisation en azote et en phosphore a été apportée.

Dispositif en randomisation totale avec 3 facteurs :

Facteur 1 : Variété

V1= VITRON	} BD	V5= H97813	} BT	V9= SAÏDA (Orge)
V2= CHEN'S		V6= HD1220		
V3= WAHA		V7= ANZA		
V4= MOROCO 10		V8= MEXIPAK		

Facteur 2 : Isolat

I0= témoin I1= Isolat de blé tendre I2= Isolat de blé dur

Facteur 3 : Répétition R1 ; R2 ; R3 ; R4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
V2.I1.R4	V5.I0.R2	V8.I0.R1	V5.I1.R1	V3.I0.R2	V1.I0.R1	V6.I0.R4	V6.I1.R4	V4.I2.R3	V1.I2.R3	V3.I2.R3	V1.I2.R2	V8.I1.R4	V9.I1.R1
V2.I2.R1	V1.I0.R4	V5.I2.R1	V5.I0.R1	V4.I1.R3	V7.I0.R4	V2.I2.R3	V4.I2.R1	V2.I1.R1	V7.I0.R3	V1.I2.R1	V8.I0.R4	V4.I0.R4	V5.I2.R2
V4.I1.R4	V3.I1.R1	V3.I2.R1	V9.I2.R3	V7.I0.R2	V4.I0.R3	V6.I1.R1	V1.I2.R4	V6.I2.R1	V5.I2.R3	V3.I0.R4	V9.I2.R1	V9.I0.R1	V6.I2.R2
V8.I0.R3	V1.I1.R4	V6.I1.R2	V7.I1.R1	V4.I2.R2	V7.I1.R4	V2.I0.R2	V8.I2.R1	V3.I1.R2	V5.I1.R2	V6.I2.R3	V6.I0.R3	V7.I1.R3	V4.I0.R2
15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
V1.I1.R2	V7.I2.R4	V1.I0.R3	V3.I2.R4	V4.I1.R1	V2.I0.R3	V3.I1.R3	V9.I1.R4	V3.I0.R3	V4.I0.R1	V9.I0.R2	V2.I2.R2	V3.I1.R4	
V5.I2.R4	V5.I1.R3	V7.I1.R3	V8.I0.R2	V2.I0.4	V8.I1.R1	V7.I1.R2	V1.I0.R2	V6.I2.R4	V2.I1.R3	V4.I2.R4	V8.I1.R2	V6.I0.R2	
V8.I2.R2	V2.I0.R1	V6.I0.R1	V3.I0.1	V2.I2.R4	V6.I1.R3	V9.I1.R3	V3.I2.R2	V8.I1.R3	V9.I0.R4	V1.I1.R3	V2.I1.R2	V9.I2.R4	
V7.I2.R1	V5.I0.R4	V7.I0.R1	V9.I2.R2	V5.I1.R4	V5.I0.R3	V8.I2.R4	V7.I2.R2	V9.I0.R3	V1.I1.R1	V8.I2.R3	V9.I1.R2	V4.I1.R2	

Tableau 9 : Dispositif expérimental de la première inoculation sous serre



Figure 16 : Dispositif expérimental en randomisation totale.



Figure 17 : Disposition des pots aléatoirement au niveau de la serre

Technique d'isolement monospore

Tous les isolats utilisés dans nos essais sont issus d'une culture provenant d'une seule spore. Cette technique consiste à :

- Découper des feuilles infectées montrant le symptôme caractéristique de la tache bronzée, en fragments d'environ 5 mm de long ;
- Désinfecter ces fragments dans l'hypochlorite de sodium à 2° pendant 5mn ;
- Rincer les fragments dans 3 bains d'eau distillée stérile pendant 5mn pour chaque bain ;
- Mettre les fragments dans une chambre humide, constituée par une boîte de Pétri stérilisée contenant du papier filtre stérile imbibé d'eau distillée stérile ;
- Incuber les boîtes 18 heures sous la lumière à 22°C, puis 18 heures d'obscurité à 15°C ;
- Après 2 à 3 jours d'incubation, les conidies se forment et deviennent visibles sous la loupe ; une seule conidie est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur puis déposée sur du milieu PDA ;
- Après 2 jours d'incubation à la lumière continue et sous une température de 22°C, la conidie germe et donne naissance à une colonie pure issue d'une seule conidie après quelques jours.

Obtention de l'inoculum

Recherche de marqueurs de la spécialisation parasitaire de *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs., agent de la tache bronzée sur blé dur (*Triticum durum* Desf.) et blé tendre (*Triticum aestivum* L.).

Après l'obtention d'une culture monospore des deux isolats I1.BT et I2.BD, ces derniers ont été soumis à un test de sporulation, afin de produire un grand nombre de conidies qui vont servir pour la préparation de l'inoculum.

Technique de sporulation

La technique de sporulation que nous avons adoptée, est celle préconisée par Lamari et Bernier (1989a) qui consiste à :

Repiquer un explant de 5 mm de la culture monospore du champignon cultivé sur milieu V8-PDA composé de :

150 ml	Jus V8	} Autoclaver 20 mn à 120°C
10 g	PDA en poudre	
03 g.....	CaCO ₃	
10 g	Agar	
850 ml.....	d'eau distillée stérile	

- Incuber la culture sous obscurité à 20°C jusqu'à ce que la colonie soit distante de 2 cm du bord de la boîte ;
- Inonder la colonie avec 3 à 5 ml d'eau distillée stérile ;
- Abaisser le mycélium avec la base d'un tube en verre stérile ;
- Enlever l'excès d'eau qui se trouve dans la boîte ;
- Incuber pendant 18 heures sous lumière continue à 20-24°C, puis 18 heures à l'obscurité à 15°C.

Obtention de la suspension de conidies

Après vérification de la présence des conidies sous la loupe et au microscope, ces dernières ont été récupérées selon la technique adoptée par Ali et Francl (2001), qui consiste à :

- Inonder la culture avec 20 ml d'eau distillée stérile ;
- Récupérer les conidies à l'aide d'une boucle en verre stérile dans des tubes à essais stériles ;
- Laisser la suspension de conidies à 5°C pendant 10 à 15 mn.

Ajustement de la suspension de conidies

La quantité de conidies récupérées dans les tubes (20 ml) est évaluée. Vu la grande taille des conidies de *P. tritici-repentis* (~200µm) la technique des deux diagonales n'a pas été utilisée. Nous avons opté pour l'utilisation d'une micropipette de 1µl.

On prend 1µl de la solution de conidies contenue dans le tube, on la dépose sur une cellule de Malassez et on dénombre la totalité des conidies présentes. Plusieurs répétitions ont été réalisées pour une estimation de la moyenne. La concentration en conidies est calculée comme suit :

Le nombre de conidies par 1ml = le nombre de conidies par 1 μ L x 10³

Après que la concentration par tube est estimée, la suspension d'inoculum est donc ajustée à 3500 conidies / ml, selon la procédure décrite par Jordahl et Francl (1992). Une goutte de Tween 20 (Polyoxyethylene Sorbitan Monolaurate) est additionnée par 100 ml de suspension d'inoculum.

Inoculation des plantules

L'inoculation artificielle a lieu le 27 mars 2006 dans des conditions plus ou moins contrôlées au niveau de la serre en verre de l'INA (El Harrach). Elle est réalisée au stade 3 - 4 feuilles par une pulvérisation sur des plantules entières à l'aide d'un pulvérisateur manuel gradué de 1littre (Fig.18).

Le volume d'inoculum par terrine ou unité expérimentale est de 22 ml, soit une quantité totale utilisée de 800 ml = 9 x 4 x 22, pour inoculer un isolat.

Après inoculation, les plantes sont placées dans une enceinte à humidité saturante à 21°C pendant 48 heures avec 16 heures de lumière et 16 heures d'obscurité (Raymand et al., 1985 ; Lamari et Bernier, 1989a). Dans nos conditions, les terrines sont recouvertes de sachets en plastique transparent qui gardent une humidité élevée au niveau des plantes (Fig.19).

Des pulvérisations fréquentes (2 à 3 fois/jour) ont été effectuées pour maintenir une eau libre sur le feuillage durant les 48 heures qui suivent l'inoculation. Après cette période, les sachets sont enlevés en maintenant une pulvérisation d'eau fréquente du feuillage, à raison de 2 fois/jour, jusqu'à l'apparition des symptômes, avec une température qui varie de 24° à 28°C.



Figure 18 : Pulvérisation manuelle à l'aide d'un pulvérisateur à main



Figure 19 : Présentation des recouvrements en plastique des terrines après inoculation artificielle.

Notation et analyse statistique des résultats

Selon Lamari et Bernier (1989b), la notation ou l'évaluation de la maladie se fait 06 à 08 jours après inoculation ; dans notre cas, la date d'apparition des premiers symptômes a lieu le 04 avril 2006 soit 07 jours après inoculation, et la notation s'est faite le 06 avril 2006 soit 09 jours après inoculation pour une meilleure expression de la maladie.

Deux types de notations ont été réalisés :

Pourcentage d'attaque : cela consiste à compter le nombre de plants atteints par terrine puis l'exprimer en pourcentage de plants infectés.

Sévérité d'attaque : elle a été estimée selon l'échelle de notation de 1 à 5 (Hosford, 1987 ; Gildrist et al., 1984). Celle-ci est basée sur le type de lésion pour catégoriser les réactions de l'hôte aux deux isolats de *P. tritici-repentis* ; Lamari et Bernier (1989b) ont exclu le pourcentage de surface de feuilles infectées (Fig.20).

L'échelle de notation se présente comme suit :

- 1- Petites taches marron foncé à noire sans chlorose ou nécrose bronzée au tour
..... **(R)**
- 2- Petites taches marron foncé à noire avec très peu de chlorose ou de nécrose bronzées..... **(MR)**
- 3- Petites taches marron foncé à noire complètement entourées par une chlorose distincte ou nécrose bronzée ; les lésions généralement ne coalescent pas.....
..... **(MS)**
- 4- Petites taches marron foncé à noires complètement entourées par une zone chlorotique ou nécrotique bronzée, quelques lésions se coalescent
..... **(S)**

5- Un centre marron foncé à noire peut ou ne peut être distinct, seulement quelques lésions

consistent en une chlorose coalescente ou des zones nécrotiques bronzées.....
.....(TS)

R : Résistant

MR : Modérément résistant

MS : Modérément sensible

S : Sensible

TS : Très sensible

La présence de chlorose et/ou de nécrose est prise en considération dans notre notation :

CH+ : Extension de chlorose N+ : Présence de nécrose

CH- : Absence de chlorose N- : Absence de nécrose

Après notation, une analyse de la variance a été réalisée en utilisant le test LSD, afin de déterminer d'une part, l'existence d'une éventuelle variabilité du pouvoir pathogène entre les deux isolats obtenus de blé dur et blé tendre, et entre les différentes variétés testées. D'autre part voir s'il y a ou pas une spécialisation pathogénique des isolats vis à vis des espèces choisies.

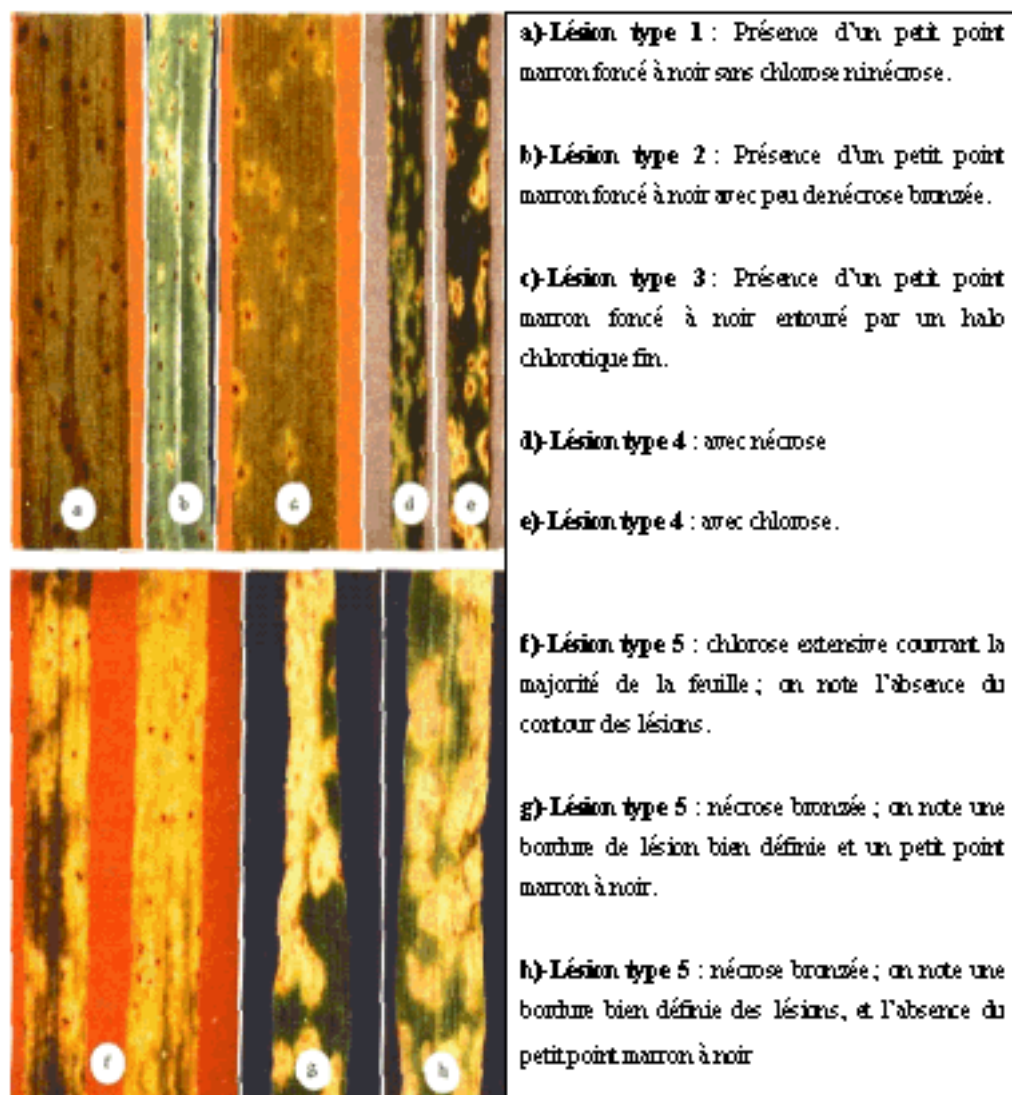


Figure 20 : Echelle de notation basée sur le type de lésions (nécrotiques ou/et chlorotiques) adoptée par Lamari et Bernier (1989, b)

Etude des composés toxiques des deux types d'isolats

Selon Tomas et Bockus (1987), la sensibilité au filtrat de culture est hautement corrélée à la sensibilité au pouvoir pathogène, cela suggère que la résistance à la maladie serait due à l'absence d'une sensibilité aux toxines. Le résultat obtenu dans leur étude démontre que le filtrat de culture peut être utilisé dans la détermination de la résistance au tan spot. L'étude de ces composés toxiques permet sans doute une meilleure compréhension de la spécialisation parasitaire des isolats de *P.tritici-repentis* obtenus de blé dur et de blé tendre.

Dispositif expérimental

Nous avons utilisé deux terrines pour chaque type de filtrat (brut, concentré et dialysé), dont chacune contient 3 lignes de la même variété et chaque ligne contient 15 graines (Fig.21). Deux variétés : HIDHAB et VITRON, ont été retenues dans cette expérimentation.

Les plants de la première ligne sont infiltrés par le filtrat de culture de l'isolat I2C.BT, ceux de la deuxième ligne par le filtrat de culture de l'isolat I4C.BD, et ceux de la troisième ligne sont utilisés comme témoin.

Avant de les semer, les graines sont soumises à une pré-germination afin de choisir les jeunes plantules homogènes, qui ont le même rythme de croissance.

Les jeunes plantules sont incubées dans une chambre de culture à 20°-22°C avec 12 heures lumière et 12 heures d'obscurité, jusqu'au stade d'infiltration (stade 2-3 feuilles).

Techniques utilisées

Préparation du filtrat de culture

Le filtrat de culture de *P. tritici-repentis* est préparé, selon les étapes décrites par Effertz et al., (2002) comme suit :

Culture du champignon pendant 07 jours à 20°C sur milieu V8-PDA ;

Prélèvement à la périphérie de chaque colonie 10 explants de 5 mm de diamètre

Transfert des explants dans un Erlén Meyer de 100 ml contenant 50 ml de PDB (Potato Dextrose Broth = bouillon de pomme de terre)

Incubation de la culture à 20°C pendant 5 jours ou moins, sous agitation continue, jusqu'à la formation d'une boule mycélienne

Entre temps, le milieu Fries de Luke et Wheelen modifié par Tomas et Bockus (1987) est préparé, dont la composition est : (09g) Sucrose - (05g) Tartrate d'Ammonium - (01g) NH₄NO₃ - (01g) K₂HPO₄ - (0,5g) MgSO₄ - (0,13g) CaCl₂ - (0,1g) NaCl - (01g) Extrait de levure de 0.1% - (1000 ml) Eau distillée ; l'ensemble est autoclavé pendant 20 mn à une température de 120°C.

Mettre 50 ml du milieu Fries dans une bouteille en verre de 250 ml; pour chaque isolat nous utilisons 10 bouteilles.

Une quantité de 2 ml de la culture déjà préparée de *P. tritici-repentis* est transférée à l'aide d'une seringue dans 50 ml de milieu Freis, puis incubée à 20°C à l'obscurité totale avec agitation continue pendant 3 semaines (Fig.22)

Les cultures obtenues sont filtrées avec du papier Whatman N°1 sous vide, puis avec une membrane de 0.2µm

Le filtrat brut obtenu peut être stocké à 4°C ou dans la glace à (-19°C) jusqu'à son utilisation (Lamari et Bernier, 1989a).

Purification partielle des composés toxiques

La purification partielle aboutit à l'obtention de produits toxiques responsables de l'apparition d'une chlorose et/ou d'une nécrose bronzée, observées sur les feuilles après infection des tissus par *P.tritici-repentis* . Cette purification se déroule en 04 étapes :

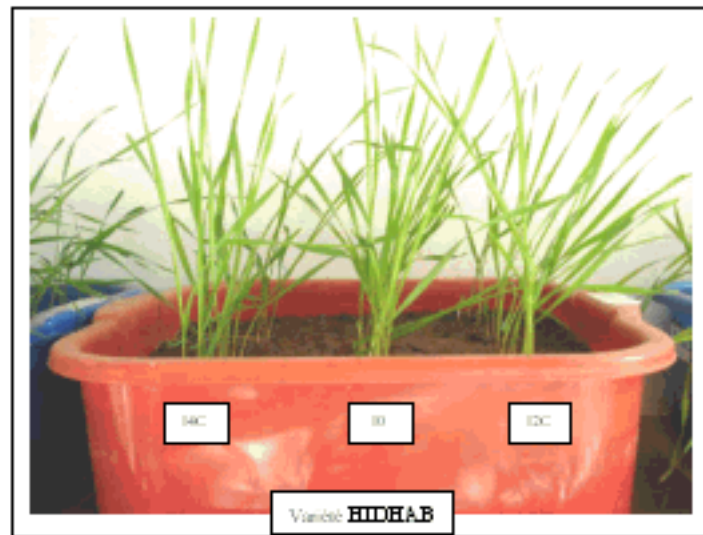
Etape 1 : Le filtrat brut est concentré sous vide partiel à 45°C jusqu'à 1/5 du volume original, à l'aide d'un rotavapor connecté à une pompe à vide (Fig.23), puis ajusté à un Ph 6,8 avec KOH 5N. Le filtrat brut peut être conservé à une température de -18°C, afin d'éviter l'altération des composés qui sont présents lors des manipulations ultérieures (Tomas et Bockus, 1987).

Etape 2 : Le sel et d'autres précipités sont éliminés après réfrigération à 5°C toute une nuit, avec 2 x 5 Volume d'acétate de sodium 20 mM à un Ph 4,6.

Etape 3 : Le filtrat concentré est ensuite centrifugé à 17400 x g pendant 10mn, puis le surnageant est collecté (Strelkov et al., 2002).

Etape 4 : Le surnageant collecté est dialysé toute la nuit contre de l'eau distillée à travers une membrane de dialyse.

Les boudins de dialyse, doivent être préparés avant leur utilisation en découpant les membranes de dialyse en fragments de 20 cm de long, puis sont bouillis pendant 10 mn dans un volume 2% (w/v) bicarbonate de sodium et EDTA 1mM (Ph 8). Pour 1 litre d'eau, nous mettons 20g de bicarbonate de sodium et 2ml d'EDTA 1mM (Ph 8). Les boudins sont ensuite rincés avec l'eau distillée stérile puis bouillis une deuxième fois dans l'EDTA pendant 10 mn, et enfin sont laissés refroidir à 4°C jusqu'à leur utilisation.



*Figure 21 : Présentation des plants infiltrés par deux isolats de *P. tritici-repentis* dans une terrine.*

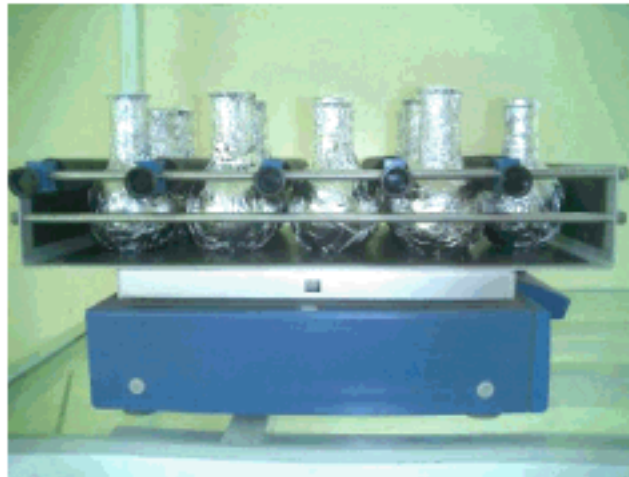


Figure 22 : Culture mycélienne sur le milieu Fries en agitation

Vérification de l'activité phytotoxique des composés purifiés

Les variétés de blé VITRON et HIDHAB, sont cultivées dans une chambre de culture à 21°C avec 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité, jusqu'au stade 2-3 feuilles (Friesen et al., 2003).

Chaque variété est infiltrée avec une quantité de 20µl de chaque solution obtenue à chaque étape de la purification de la toxine (Filtrat de culture brut, concentré et dialysé), à l'aide d'un appareil mis au point par HAGBORD (1970) (Fig.24 et 25) qui permet une pénétration de la solution sans que l'épiderme de la plante ne soit endommagé (Fig.26).

Nous infiltrons les deux variétés de blé dur et tendre, avec un témoin pour chaque variété inoculée ; ensuite nous observons l'apparition ou non des symptômes après 3 à 5 jours d'infiltration ou plus.

L'apparition des symptômes est notée au cours du temps en décrivant le type de symptôme selon l'échelle de notation décrite par Tomas et Bockus (1987) :

- 0.....pas de symptômes.
- 1.....légère chlorose.
- 2.....chlorose marquée et/ou peu de nécrose.
- 3.....nécrose marquée avec ou sans halo jaune.
- 4.....chlorose extensive et nécrose.
- 5.....destruction des tissus en avant du site d'infiltration.

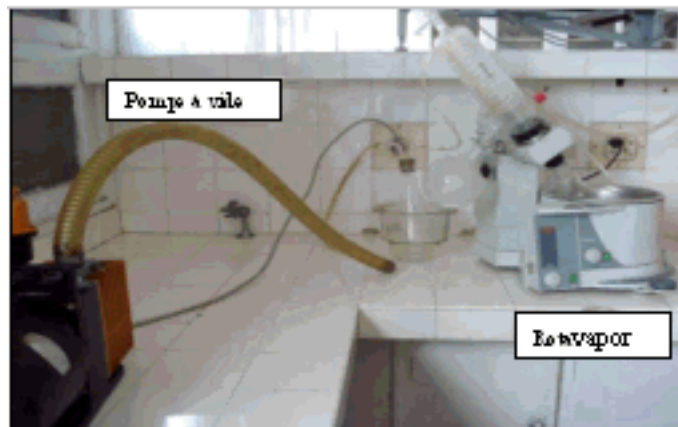


Figure 23 : Concentration du filtrat brut à l'aide d'un Rotavapor relié à une pompe à vide

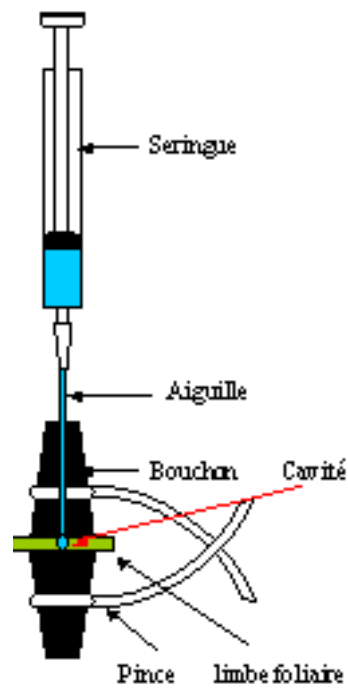


Figure 24 : Présentation schématique du Système HAGBORD



Figure 25 : Système HAGBORD confectionné

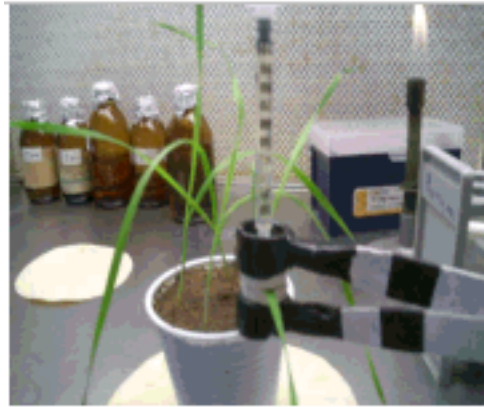


Figure 26 : Technique d'infiltration par le système HAGBORD

RESULTATS ET DISCUSSION

Etude des caractères morphologiques et cultureux des isolats

La caractérisation morphologique et culturelle des isolats issus de blé dur et de blé tendre, a porté sur la taille des conidies obtenues *in vitro* (sur milieu V8-PDA) et *in vivo* (sur feuilles vertes de blé), le type de croissance des colonies, la couleur du mycélium et du substrat, la croissance mycélienne journalière sur milieu PDA à différentes températures ainsi que sur milieu à base de feuilles vertes de blé dur et blé tendre.

Caractères cultureux

Les 13 isolats de *P. tritici-repentis* issus de blé dur et de blé tendre, n'ont pas montré des différences culturelles notables lors de leur premier isolement (Tabl.10). D'une manière générale toutes les colonies ont montré un mycélium cotonneux de couleur verte avec un substrat de même couleur sauf les deux isolats INA.BD et I23E.BD qui ont présenté, respectivement, un mycélium blanc et vert très clair, et un substrat blanc (Fig.27 et 28).

En effet, le pigment d'un isolat donné, dont la couleur est influencée par le type de milieu de culture, constitue une caractéristique qui peut définir selon Christensen et Graham (1934) « une race culturelle ». Toutefois, nous avons remarqué que l'aspect et la couleur des colonies changent avec le temps et avec la température d'incubation (Tabl.12). Hosford (1971) a montré qu'après un transfert fréquent d'une culture mycélienne sur PDA, celle-ci change de couleur (blanc, beige ou orange) et de vitesse de croissance.

Tableau 10 : Caractéristiques culturelles des 13 isolats de *P.tritici-repentis* sur milieu PDA

ISOLATS	Aspect des colonies	Couleur du mycélium	Couleur du substrat
I2C.BT I3C.BT I5.EU I25.EU I42.EU I107.EU I117.EU I117.EU I140.VD I24.FB I26.FB I28.FB I35.FB I35.FB I40.FB I40.FB I46.FB I46.FB I52.CB I52.CB		clair Vert Vert Vert Blanc	

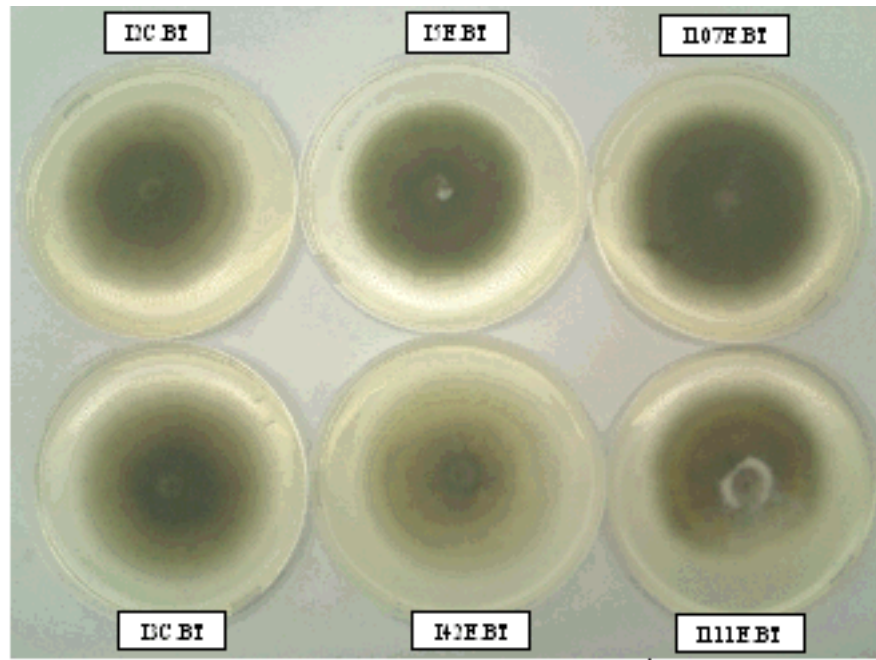


Figure 27: Aspect cultural des isolats issus de feuilles de blé dur sur milieu PDA à une température de 20°C.

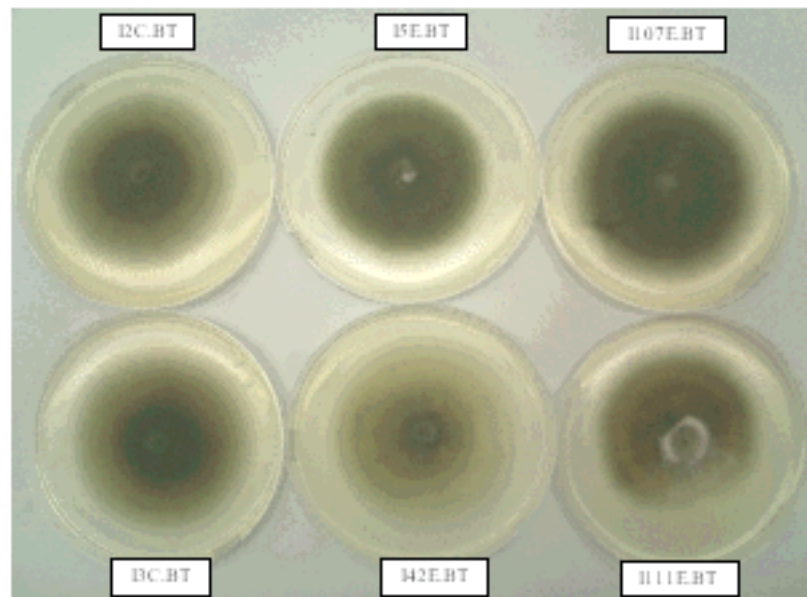


Figure 28 : Aspect cultural des isolats issus de feuilles de blé tendre sur milieu PDA à une température de 20°C.

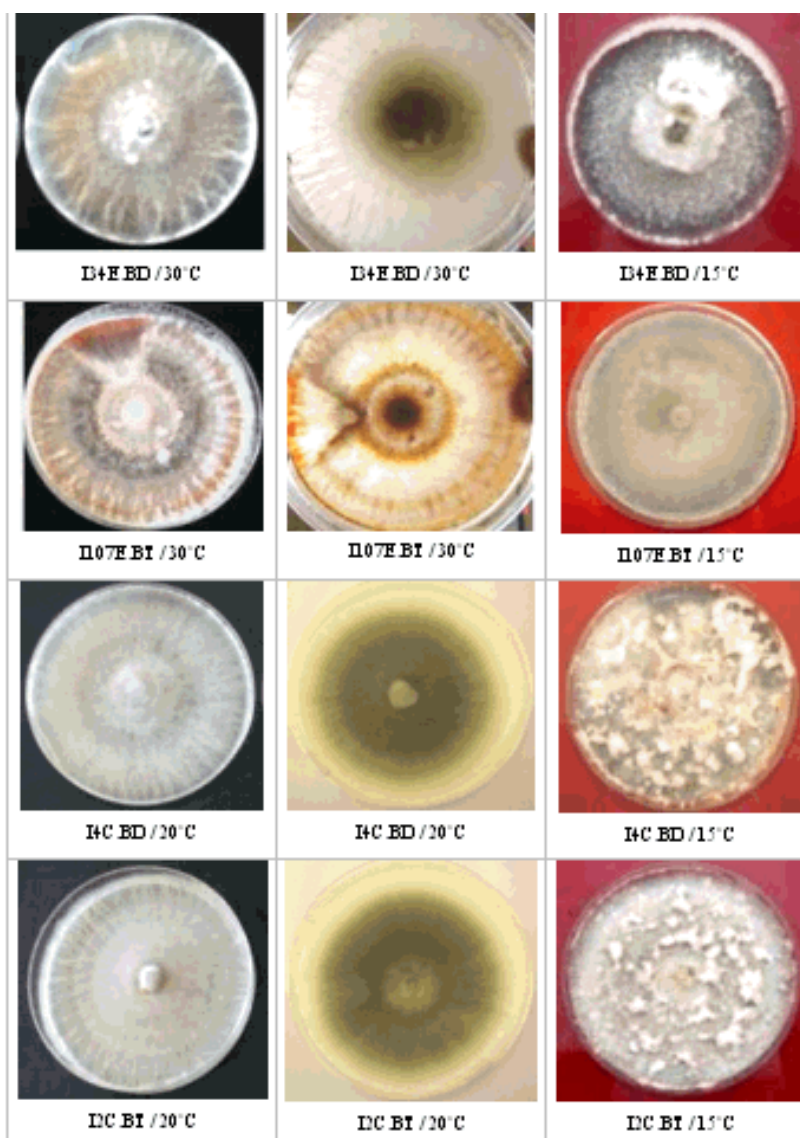


Figure 29: Variabilité des cultures mycéliennes du *P.tritici-repentis* à différentes températures et sur le même milieu de culture PDA

Croissance mycélienne aux différentes températures

Les moyennes de la croissance radiale journalière des 13 isolats de blé dur et blé tendre, ainsi que le diamètre maximal des colonies après 07 jours d'incubation, à différentes températures (5, 1, 15, 20, 25, 30 et 35°C) sont indiquées dans le tableau 11.

Nous observons, que pour les deux types d'isolats, la croissance mycélienne est très faible à la température de 5°C, puis elle augmente progressivement pour atteindre un optimum compris entre 25°C et 30°C, et diminue à la température de 35°C.

Isolats	Températures													
	5°		10°		15°		20°		25°		30°		35°	
	C.J	D.C	C.J	D.C	C.J	D.C	C.J	D.C	C.J	D.C	C.J	D.C	C.J	D.C
I2C.BT	0,1	08	0,7	15,5	3,5	55,6	5,1	76,5	5,10	77,3	5,6	84	0,8	17
I3C.BT	0,1	07	0,1	20	3,6	56	05	76	05	76	5,4	82	02	35
I5E.BT	0,3	10	1,5	25	1,4	25,5	4,9	75,6	5,6	85	5,6	85	1,2	22,3
I42E.BT	0,4	11	0,5	13	2,3	70	4,9	75,6	5,6	85	5,6	85	1,4	25
I107E.BT	0,2	09	1,1	13	0,9	26,6	4,8	6	4,9	84	5,6	85	01	16
I11E.BT	0,1	09	0,5	18,3	1,5	23	3,8	73,6	5,6	75	5,6	85	0,7	20
I4C.BD	0,4	12	0,3	12	4,5	68,3	5,5	83,5	5,6	85	5,6	85	1,7	30,3
I34E.BD	0,2	12	0,2	25	0,4	36,6	1,8	63	4,3	85	4,2	85	0,6	23
I98O.BD	0,2	09	0,7	23	1,6	25	2,1	45	2,9	85	1,7	82,6	0,6	25
I103E.BD	0,4	08	0,7	09	1,3	12	5,1	32	5,6	67	5,3	65	1,6	12
I106E.BD	0,4	11	2,2	16	2,9	24,6	4,1	76,3	5,6	85	5,6	80,6	1,2	28,6
I23E.BD	0	08	1,5	13,5	1,2	24,6	1,9	34,5	3,7	47	3,7	18	1,1	13,3
INA.BD	0,2	06	0,6	27,5	1	32	2,4	34	5,6	38	5,5	58	1,3	21

Tableau 11 : Moyenne de la croissance mycélienne en (mm/jour) et diamètres des colonies obtenu après 7 jours d'incubation en (mm), à différentes températures.

C.J. Croissance mycélienne par jour D.C. Diamètre maximal de la colonie

Nous remarquons, que la plupart des isolats de blé tendre ont un optimum de croissance qui se situe à 30°C, sauf pour les deux isolats I5E.BT et I42E.BD qui est à 25°C. La plupart des isolats de blé dur ont atteint leur optimum à 25°C sauf pour l'isolat INA.BD, se situant à 30°C. Nous remarquons également que l'isolat I98O.BD se distingue de tous les autres isolats par une croissance relativement faible à toutes les températures. L'analyse de la variance multifactorielle pour la croissance mycélienne journalière (mm/jour), montre un effet hautement significatif du facteur TYPE D'ISOLAT, ISOLAT et TEMPERATURE (Tabl.12)

Tableau 12: Analyse de la variance de la croissance mycélienne journalière en (mm/j) des 13 isolats sur milieu PDA et à différentes températures.

Source de variance	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Test F	Probabilité
A : ISOLAT	96,4665	12	8,03887	13,63	0,0000*
B : TYPE D'ISOLAT	16,0663	1	16,0663	18,43	0,0000*
C : TEMPERATURE	950,3420	06	158,39	268,58	0,0000*
RESIDUAL	149,791	254	0,589726		
TOTAL	1212,66	273			

L'analyse des groupes homogènes pour le facteur ISOLAT par rapport à la croissance mycélienne, fait ressortir 06 groupes homogènes chevauchant (A, B, C, D, E et F) ; la croissance mycélienne journalière moyenne varie de 1.38 à 3.40 mm/jour (Tabl.13).

ISOLATS	Moyenne de la croissance mycélienne journalière (mm/j)	Groupes Homogènes
I98O.BD	1.38	A
I34E.BD	1.67	A B
I23E.BD	1.88	B
I1A.BD	2.39	C
I111E.BT	2.56	C D
I107E.BT	2.66	C D
I103E.BD	2.87	D E
I5E.BT	2.93	D E F
I42E.BT	2.96	D E F
I2C.BT	2.98	D E F
I106E.BD	3.14	E F
I3C.BT	3.15	E F
I4C.BD	3.40	F

Tableau 13 : Classement des isolats en groupes homogènes par rapport à la croissance mycélienne journalière moyenne.

Nous remarquons que l'isolat I98O.BD montre la croissance la plus faible avec 1.38 mm/j, par contre l'isolat I4C.BD présente la croissance la plus élevée qui est de 3.40 mm/j. Les isolats I106E.BD et I3C.BT sont groupés dans la gamme de croissance voisine de 3.15mm/j. Les isolats I5E.BT, I42E.BT, I2C.BT, ont une croissance comparable qui est d'environ 2.96 mm/j en moyenne.

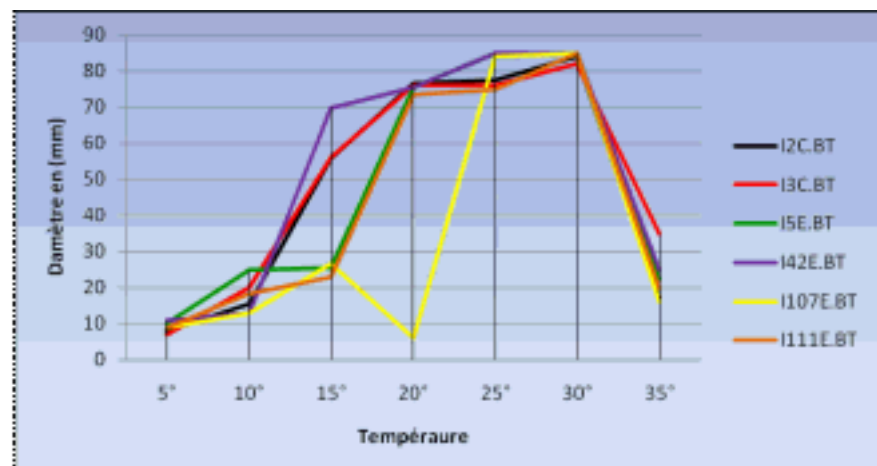


Figure 30 : Optimum de croissance mycélienne des isolats issus de blé tendre sur milieu PDA à différentes températures.

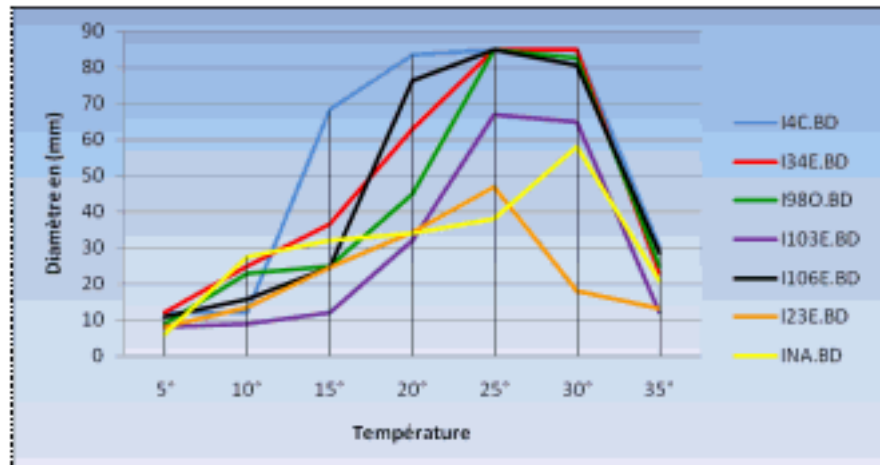


Figure 31: Optimum de croissance mycélienne des isolats issus de blé dur sur milieu PDA à différentes températures.

L'analyse en groupes homogènes des températures par rapport à la croissance mycélienne, selon le test LSD (Tabl.14), fait ressortir 05 groupes homogènes distincts (A, B, C, D et E). Le groupe (A) présente la moyenne de croissance mycélienne journalière des différents isolats à 5°C. A cette température, la croissance de tous les isolats est très faible avec une moyenne de 0.22 mm/j. Le groupe (E) représente la croissance mycélienne des isolats à 25°C et 30°C. Ce groupe présente les meilleures croissances des isolats avec 4.89 et 5.02 mm/j respectivement.

TEMPERATURES	Moyenne de la croissance mycélienne journalière (mm/j)	Groupes homogènes
5°	0.22	A
10°	0.89	B
35°	1.16	B
15°	2.00	C
20°	4.12	D
25°	4.89	E
30°	5.02	E

Tableau 14 : Classement des températures en groupes homogènes par rapport à la croissance mycélienne journalière.

Le classement des types d'isolats en groupes homogènes par rapport à la croissance mycélienne journalière des 13 isolats, selon le test LSD, fait ressortir 02 groupes homogènes bien distincts (A et B). Le groupe (A) qui présente les isolats de blé dur avec une moyenne de croissance mycélienne de 2.41 mm/j, et le groupe (B) les isolats de blé tendre avec une moyenne de 2.95 mm/j, (Tabl.15).

TYPED'ISOLATS	Moyenne de la croissance mycélienne journalière (mm/j)	Groupes homogènes
IBD	2.41	A
IBT	2.95	B

Tableau 15 : Classement des types d'isolats en groupes homogènes par rapport à la croissance mycélienne journalière.

Pour les différentes températures étudiées, les isolats issus de blé dur ont une croissance mycélienne journalière plus faible (2.41 mm/j) que les isolats issus de blé tendre (2.95 mm/j). Les deux types d'isolats se distinguent clairement par rapport à leur croissance mycélienne journalière, quelque soit la température considérée.

croissance mycélienne sur milieu à base de feuilles vertes de blé

La croissance mycélienne journalière des différents isolats issus de blé dur et de blé tendre, ne varie pas selon le facteur MILIEU. En effet, l'analyse de la variance ne représente pas un effet significatif pour la valeur de la probabilité, par contre pour les deux facteurs TYPE D'ISOLAT et ISOLAT l'effet est hautement significatif et la valeur de P est inférieure à 0,005 (Tabl.16).

L'analyse des groupes homogènes des types d'isolats par rapport à la croissance mycélienne journalière fait ressortir 02 groupes distincts, le groupe (A) constitué par les isolats de blé dur avec une croissance de 2,6 mm/j, et le groupe (B) pour les isolats de blé tendre avec une croissance de 5,04 mm/j.

TYPE D'ISOLAT	Croissance Mycélienne Journalière (mm/j)	Groupes homogènes
IED	2,60	A
IBT	5,04	B

Tableau 17 : Classement des types d'isolats en groupes homogènes par rapport à la croissance mycélienne journalière (mm/j).

Pour le facteur ISOLAT, le test LSD fait ressortir 06 groupes plus ou moins chevauchant de A à F. L'isolat I23E.BD représenté par le groupe (A) avec la croissance la plus faible. La plupart des isolats de blé tendre et l'isolat de blé dur I4C.BD, sont rassemblés dans le groupe (F) avec la croissance la plus élevée de 5 à 5,5 mm/jour (Tabl.17). Les groupes chevauchant B, C, D et E rassemblent la plupart des autres isolats de blé dur avec une croissance faible qui varie de 1,18 à 4,30 mm/jour.

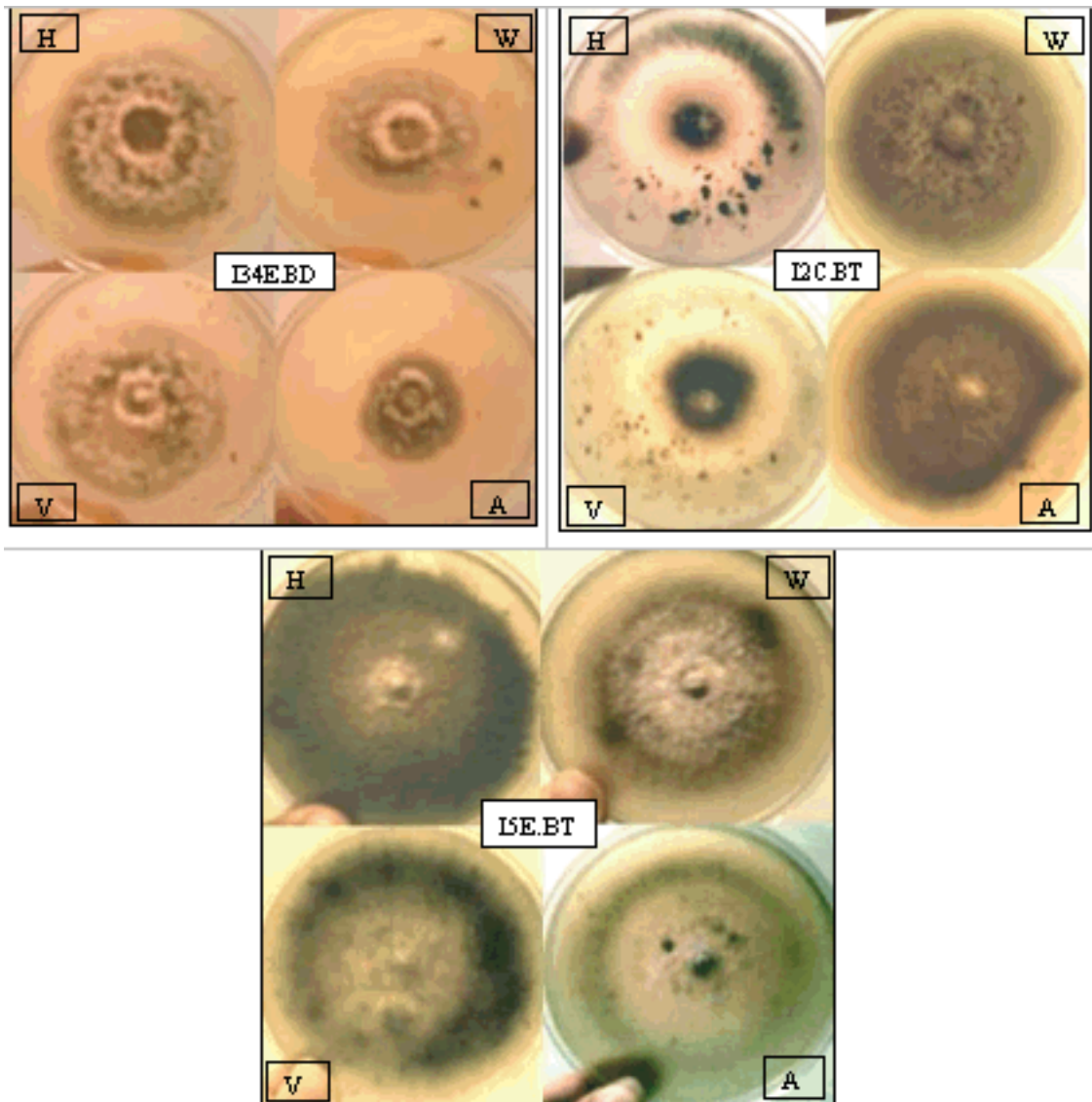


Figure 32 : Aspect cultural des colonies sur milieu à base de feuilles vertes de blé dur et blé tendre

H: HIDHAB (B.T) W: WAHA (B.T)

V: VITRON (B.D) A: ANZA (B.D)

L'ensemble de ces résultats montre, que le facteur MILIEU n'a pas d'effet sur la croissance mycélienne des isolats. Cependant l'analyse des groupes homogènes de ces isolats par rapport à leur croissance, à l'aide du test LSD, fait ressortir que les isolats de blé dur ont une croissance plus faible sur milieu de feuilles vertes que les isolats de blé tendre, indépendamment que ce milieu soit à base de feuilles de blé dur ou de blé tendre (Fig.32).

ISOLAT	Croissance mycélienne journalière (mm/j)	Groupes homogènes
I23E.BD	0,28	A
I103E.BD	1,18	B
I106E.BD	1,28	BC
INA.BD	1,98	C
I111E.BT	2,96	D
I980.BD	3,80	E
I34E.BD	4,30	E
I2C.BT	5,28	F
I4C.BD	5,46	F
BC.BT	5,48	F
I107E.BT	5,50	F
I5E.BT	5,50	F
I42E.BT	5,50	F

Tableau 18 : Classement des isolats en groupes homogènes par rapport à la croissance mycélienne journalière (mm/j).

Mensuration des conidies

Les conidies ayant fait l'objet de mensuration proviennent de deux substrats différents : milieu artificiel (V8-PDA) et fragments de feuilles infectées, après incubation en chambre humide.

Mensuration des conidies obtenues sur milieu artificiel (V8-PDA)

Mensuration de la longueur des conidies :

L'analyse de la variance de la longueur des conidies par rapport au facteur ISOLAT, fait ressortir un effet très hautement significatif avec une probabilité inférieure à 0.005, mais par rapport au facteur TYPE D'ISOLAT, l'effet variance n'est pas statistiquement significatif, car la probabilité étant supérieure.

Tableau 19 : Analyse de la variance de la longueur des conidies (en μm) obtenues *in vitro*.

Source de variance	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Test F	Probabilité
A : ISOLAT	294146,0	12	24512,2	27,05	0,0000*
B : TYPE D'ISOLAT	1139,97	1	1139,97	0,83	0,3623
RESIDUAL	538197,0	594	06,056		
TOTAL	33482,97	607			

Le test LSD a permis de grouper tous les isolats en 08 groupes homogènes chevauchant de A à H (Tabl.20), dont l'isolat INA.BD forme à lui seul le groupe (A) avec une

longueur des conidies la plus faible (117µm). Le groupe (H) concerne les deux isolats de blé dur I98O.BD et I4C.BD avec la longueur la plus élevée (186µm et 189µm respectivement), chevauche avec le groupe (G) qui comprend les isolats I106E.BD et I42E.BT et I111E.BT. Ce dernier groupe chevauche aussi avec les groupes de F à B.

ISOLAT	Moyenne de la longueur des conidies en µm	Groupes homogènes
INA.BD	117.04	A
I103E.BD	137.46	B
I2C.BT	140.90	B
I5E.BT	141.71	B C
I23E.ED	154.54	CD
I34E.ED	157.06	DE
I3C.BT	161.86	DEF
I107E.BT	166.71	EF
I111E.BT	171.24	FG
I42E.BT	180.34	GH
I106E.BD	182.46	GH
I98O.BD	186.57	H
I4C.BD	189.43	H

Tableau 20 : Classement des isolats en groupes homogènes par rapport à la longueur des conidies obtenues *in vitro*.

Mensuration du diamètre des conidies :

L'analyse de la variance du diamètre des conidies par rapport au facteur ISOLAT a fait ressortir un effet très hautement significatif. En revanche, par rapport au facteur TYPE D'ISOLAT, l'effet de variance n'est pas statistiquement significatif (Tabl.21).

Tableau 21 : Analyse de la variance du diamètre des conidies (en µm) obtenues *in vitro*.

Source de variance	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Test F	Probabilité
A : ISOLAT	1117,51	12	93,1261	19.23	0,0000*
B : TYPE D'ISOLAT	0,023542	1	0,023542	0,00	0,9524
RESIDUAL	2876,37	594	4,84237		
TOTAL	3993,90	607			

Le test LSD a permis de rassembler les isolats en 06 groupes homogènes chevauchant de A à F (Tabl.22), dont l'isolat I106.BD forme à lui seul le groupe (A) ayant le diamètre le plus faible (14.37µm). Le groupe (F) comprend les deux isolats I4C.BD et INA.BD, avec le diamètre le plus élevé, 18.11µm et 18.81µm respectivement.

Recherche de marqueurs de la spécialisation parasitaire de *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs., agent de la tache bronzée sur blé dur (*Triticum durum* Desf.) et blé tendre (*Triticum aestivum* L.).

ISOLAT	Moyenne du diamètre des conidies en μm	Groupes homogènes
I106.BD	14,37	A
I2C.BT	14,66	A B
I103.BD	14,72	A B
I98O.BD	14,84	A B
I3C.BT	14,97	A B C
I34E.BD	15,07	A B C
I5E.BT	15,61	B C D
I23E.BD	15,70	C D
I107E.BT	16,25	D E
I111E.BT	16,47	D E
I42E.BT	16,76	E
I4C.BD	18,11	F
I1A.BD	18,81	F

Tableau 22 : Classement des isolats en groupes homogènes par rapport au diamètre des conidies obtenues in vitro.

Evaluation du nombre de cloisons :

L'analyse de la variance du nombre de cloisons des conidies par rapport aux facteurs ISOLAT et TYPE D'ISOLAT a fait ressortir un effet très hautement significatif, puisque la probabilité est bien inférieure à 0.005 (Tabl.23).

Tableau 23 : Analyse de la variance du nombre de cloisons des conidies obtenues in vitro

Source de variance	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Test F	probabilité
A : ISOLAT	1985,14	12	165,429	54,02	0,0000*
B : TYPE D'ISOLT	95,7879	1	95,7879	15,63	0,0001*
RESIDUAL	1819,01	594	3,0623		
TOTAL	3899,938	607			

Le test LSD pour le facteur ISOLAT fait ressortir sept groupes homogènes chevauchant de A à G. Le groupe (G) présente les conidies qui ont le plus grand nombre de cloisons et concerne l'isolat I98O.BD avec 10 cloisons. Le groupe (A) contient les isolats présentant des conidies à faible nombre de cloisons et qui sont : I103E.BD, I5E.BT, I1A.BD, I23E.BD avec 05 cloisons en moyenne (Tabl.24)

ISOLAT	Moyenne du nombre de cloisons des conidies	Groupes homogènes
INA.ED	5.00	A
I103EBD	5.02	A
I5EBT	5.03	A
I23EBD	5.31	A
I34EBD	6.55	B
I111EBT	7.28	B C
I2C.BT	7.55	C
I107EBT	7.97	C D
I106EBD	8.56	D E
I4C.BD	9.00	E F
I3C.BT	9.03	E F
I42EBT	9.25	F
I980BD	10	G

Tableau 24 : Classement des isolats en groupes homogènes par rapport au nombre de cloisons des conidies obtenues *in vitro*

Pour le facteur TYPE D'ISOLAT, le test LSD a permis de distinguer deux groupes homogènes (Tabl.25). Le groupe (A) comprend les isolats de blé dur avec des conidies à sept (07) cloisons et le groupe (B) comprend les isolats de blé tendre avec des conidies à huit (08) cloisons en moyenne.

TYPE D'ISOLAT	Moyenne du nombre de cloisons des conidies	Groupes homogènes
IBD	7	A
IBT	8	B

Tableau 25 : Classement des types d'isolats en groupes homogènes par rapport au nombre de cloisons des conidies obtenues *in vitro*.

La longueur et le diamètre des conidies obtenues *in vitro*, ne varient pas selon l'espèce de blé à partir duquel les isolats ont été isolés (blé dur ou blé tendre), mais ils varient d'un isolat à un autre, par rapport à leurs origines géographiques et d'hôtes diverses.

Les isolats de blé dur et de blé tendre ne constituent pas deux groupes différents selon le critère de la taille des conidies obtenues *in vitro*.

Le nombre de cloisons des conidies varie selon les isolats et l'espèce de blé à partir de laquelle ils sont issus. Les Isolats de blé dur ont un nombre moyens plus faible (7 cloisons) que les isolats de blé tendre (8 cloisons).

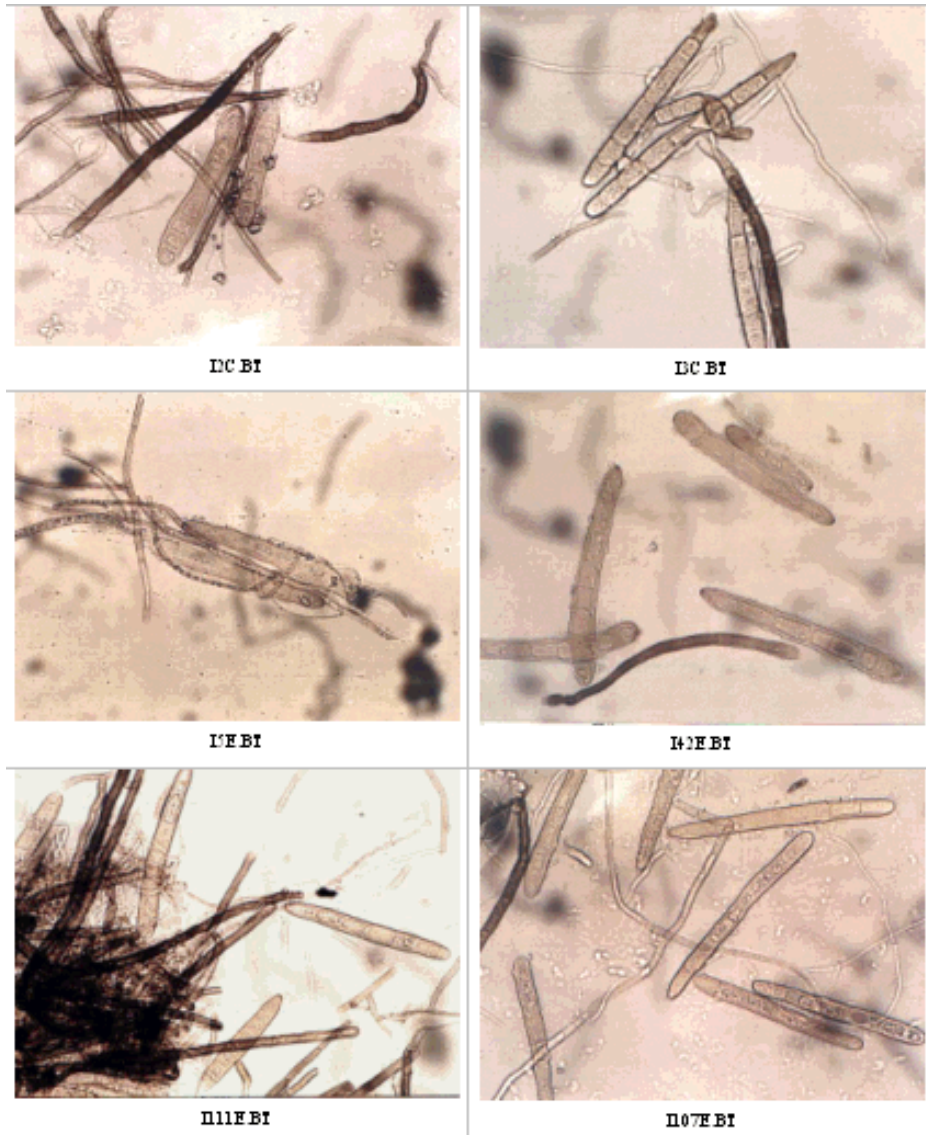
En tenant compte de la taille des conidies obtenues sur milieu artificiel V8-PDA, nous pouvons dire qu'il n'y a pas une différence de taille fondamentale entre les isolats de blé dur et les isolats de blé tendre ; la différence existe seulement au niveau du nombre de cloisons.

Mensuration des conidies obtenues à partir de feuilles infectées

La mensuration des conidies obtenues à partir de feuilles infectées, a révélé des résultats plus ou moins comparables à la mensuration des conidies obtenues sur milieu artificiel (V8-PDA).

Mensuration de la longueur des conidies :

Pour cette variable, l'analyse de la variance par rapport aux facteurs ISOLAT et TYPE D'ISOLAT fait ressortir un effet très hautement significatif, avec une probabilité inférieure à 0.005 (Tabl.26).



au (G : 25 x 3,2)

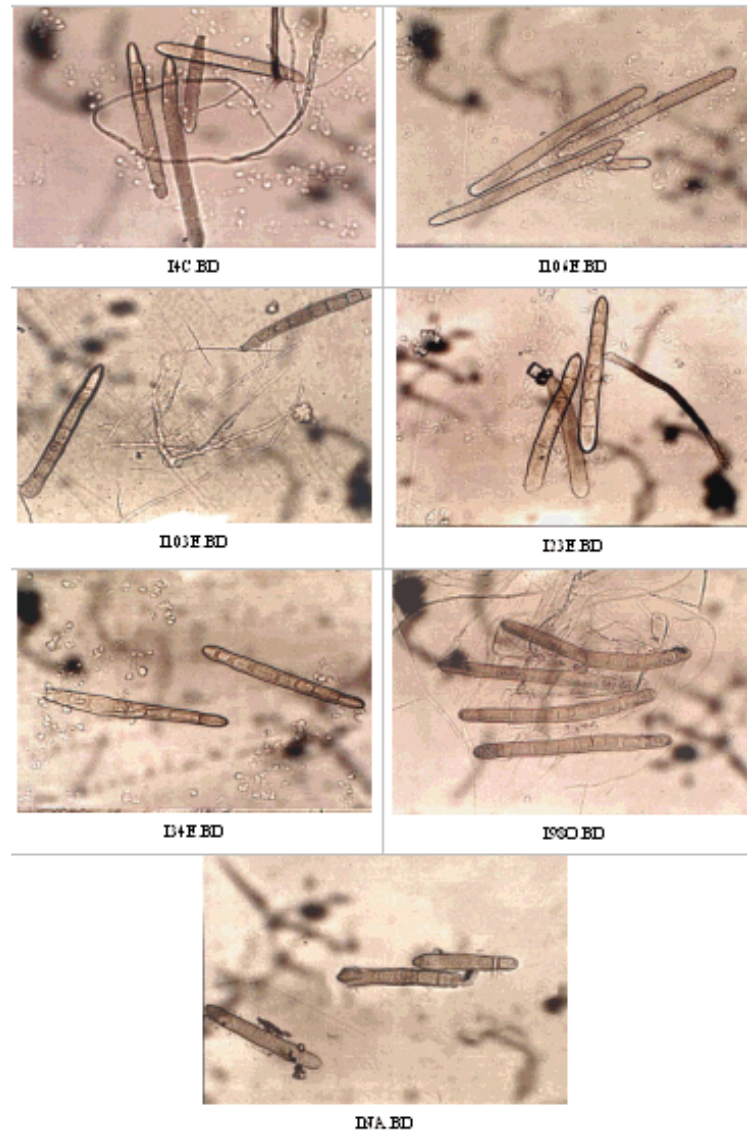


Figure 34 : Conidies des isolats de blé dur obtenues sur milieu V8-PDA au (G : 25 x 3,2)

Tableau 26 : Analyse de la variance de la longueur des conidies (en μm) obtenues *in vivo*.

Source de variance	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Test F	Probabilité
A : ISOLAT	62431,9	6	10405,3	15,73	0,0000*
B : TYPE DISOLAT	25633,2	1	25633,2	31,31	0,0000*
RESIDUAL	137582,0	208	661,451		
TOTAL	225647,1	215			

Le test LSD a permis de regrouper tous les isolats en quatre (04) groupes homogènes de A à D (Tabl.27), dont l'isolat I2C.BT forme le groupe (A) ayant la longueur la plus faible (130 μm). Le groupe (B) comprend les deux isolats I111E.BT et I106E.BD avec environ 143,9 μm et 145,9 μm de longueur moyenne. Le groupe (C) renferme l'isolat I107E.BT et

Recherche de marqueurs de la spécialisation parasitaire de *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs., agent de la tache bronzée sur blé dur (*Triticum durum* Desf.) et blé tendre (*Triticum aestivum* L.).

les deux isolats I98O.BD et I34E.BD. Ce dernier groupe chevauche avec le groupe (D) qui renferme l'isolat I4C.BD. Ce dernier isolat a une longueur moyenne de 179,9 μ m.

ISOLATS	Moyenne de la longueur des conidies en (μ m)	Groupes homogènes
I2C.BT	130,3	A
I111E.BT	142,9	B
I106E.BD	144,9	B
I107E.BT	162,2	C
I98O.BD	165,9	C
I34E.BD	174,1	C D
I4C.BD	179,9	D

Tableau 27 : Classement des isolats en groupes homogènes par rapport à la longueur des conidies obtenues in vivo.

Le classement des types d'isolats selon le test LSD, a permis de grouper les isolats de blé tendre et de blé dur en deux groupes différents, par rapport à la longueur des conidies obtenues *in vivo*. Le groupe (A) comportant les isolats de blé tendre avec une longueur moyenne de 141,7 μ m. Le groupe (B) comprend les isolats de blé dur avec une longueur moyenne de 163,8 μ m (Tabl.28), soit une différence moyenne de 22,1 μ m.

TYPE D'ISOLAT	Moyenne de la longueur des conidies μ m	Groupes homogènes
I.BT	141,7	A
I.BD	163,8	B

Tableau 28 : Classement des types d'isolats en groupes homogènes par rapport à la longueur des conidies obtenues in vivo.

Mensuration du diamètre des conidies :

L'analyse de la variance du diamètre des conidies par rapport au facteur ISOLAT fait ressortir un effet très hautement significatif (Tabl.29). Par rapport au facteur TYPE D'ISOLAT, l'effet de variance n'est pas statistiquement significatif.

Tableau 29 : Analyse de la variance du diamètre des conidies obtenues *in vivo*.

Source de variance	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Test F	Probabilité
A : ISOLAT	535,954	6	89,3256	32,21	0,0000*
B : TYPE D'ISOLAT	7,46062	1	7,46062	1,44	0,2318
RESIDUAL	576,838	208	2,77326		
TOTAL	1120,251	215			

Le test LSD a permis de grouper les isolats en quatre (04) groupes homogènes non chevauchant de A à D (Tabl.30). L'isolat I106E.BD forme le groupe (A) ayant le diamètre le plus faible avec 13,2 μ m. Le groupe (D) présente les deux isolats I34E.BD et I98O.BD avec

le diamètre le plus élevé, soit 17,4µm et 17,8µm en moyenne. Le groupe (B) comprend les isolats I107E.BT et I4C.BD avec 14,4µm et 14,6µm respectivement. Enfin, le groupe (C) comprend les isolats I2C.BT et I111E.BT avec 115,6µm et 16,3µm de diamètre moyen.

ISOLATS	Moyenne du diamètre des conidies en µm	Groupes homogènes
I106E.BD	13.17	A
I107E.BD	14.34	B
I4C.BT	14.57	B
I2C.BT	15.60	C
I111E.BT	16.32	C
I34E.BD	17.37	D
I98O.BD	17.84	D

Tableau 30 : Classement des isolats en groupes homogènes par rapport au diamètre des conidies obtenues *in vivo* .

Evaluation du nombre de cloisons :

L'analyse de la variance du nombre de cloisons des conidies obtenues sur des feuilles infectées, par rapport au facteur ISOLAT et TYPE D'ISOLAT, a fait ressortir également un effet très hautement significatif; les probabilités sont inférieures à 0,005 (Tabl.31).

Tableau 31 : Analyse de la variance du nombre de cloisons des conidies obtenues *in vivo*.

Source de variance	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Test F	probabilité
A : ISOLAT	177,037	6	29,5062	16,44	0,0000*
B : TYPE D'ISOLAT	27,2982	1	27,2982	11,12	0,0010*
RESIDUAL	373,316	208	1,79479		
TOTAL	577,65	215			

Le test LSD pour le facteur ISOLAT fait ressortir quatre (04) groupes homogènes de A à D, avec les deux groupes (D) et (C) qui chevauchent. Le groupe (A) comprend les conidies de l'isolat I2C.BT qui ont le plus faible nombre de cloisons de 3,48 cloisons en moyenne. Le groupe (B) comprend l'isolat I106E.BD avec des conidies de 4,43 cloisons en moyenne. Les groupes chevauchant (C) et (D) comportent les isolats I111E.BT, I4C.BD, I107E.BT, I34E.BD et I98O.BD avec un nombre de cloisons compris entre 5,33 et 6,25 en moyenne (Tabl.32).

Pour le facteur TYPE D'ISOLAT, ce test a permis de grouper les deux types d'isolats en deux groupes distincts (Tabl.33). Le groupe (A) est constitué par les isolats de blé tendre avec 4,71 cloisons en moyenne et le groupe (B) comprend les isolats de blé dur avec 5,43 cloisons en moyenne.

ISOLAT	Moyenne du nombre de cloison des conidies	Groupes homogènes
I2C.BT	3.48	A
I106EBD	4.43	B
I111EBT	5.33	C
I4C.BD	5.63	C D
I107EBT	5.63	C D
I34EBD	6.05	D
I980BD	6.25	D

Tableau 32 : Classement des isolats en groupes homogènes par rapport au nombre de cloisons des conidies obtenues *in vivo*.

TYPED'ISOLAT	Moyenne du nombre de cloison des conidies	Groupes homogènes
IBT	4.71	A
IBD	5.43	B

Tableau 33 : Classement des types d'isolats en groupes homogènes par rapport au nombre de cloisons des conidies obtenues *in vivo*.

Comme dans le test *in vitro*, le diamètre des conidies obtenues *in vivo*, ne varie pas selon l'espèce de blé, mais il varie d'un isolat à un autre par rapport à leur origine géographique. Selon le facteur longueur, il ressort que les conidies des isolats obtenus de blé tendre sont moins longues que celles obtenues de blé dur (141.73µm et 163.84µm respectivement). Le nombre de cloisons des conidies des isolats de blé tendre ont un nombre faible (4,71 cloisons en moyenne) que celles des isolats de blé dur (5,43 cloisons en moyenne).

La différence de la taille des conidies issues des feuilles infectées et celles issues du milieu de culture V8-PDA, est probablement due à la différence de la composition du milieu et des conditions de sporulation ; la variabilité de la taille des conidies au sein de la même population sur le milieu de culture étant très importante, contrairement aux conidies produites sur les feuilles de la plante hôte.

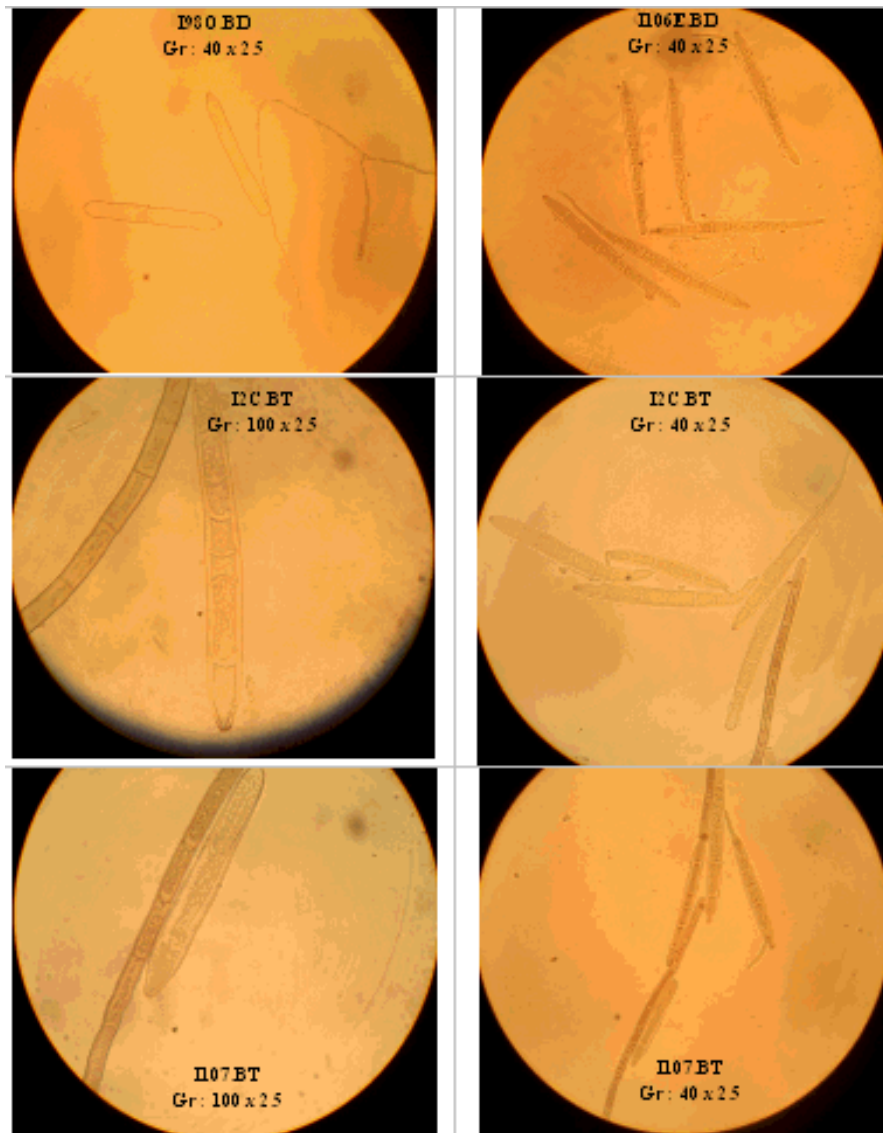


Figure 35 : Conidies obtenues à partir de feuilles infectées par inoculation artificielle observées au Gr : 40 x 2.5 et Gr : 100 x 2.5

Détermination des races des différents isolats étudiés

L'examen de la réaction de la gamme d'hôte différentielle, représentée par une notation effectuée 08 jours après inoculation (Tabl.35), nous permet de constater que les races présentes sont : race 1, race 2, race 4, race 5 et race 7.

Les isolats obtenus de blé tendre appartiennent aux races : 1, 2 et 4, et ceux obtenus de blé dur appartiennent aux races : 4, 5 et 7.

Les races 1 et 2 ne provoquent pas de symptômes sur le cultivar 6B662, c'est à dire qu'ils ne produisent pas la PtrToxB, contrairement aux races 5 et 7 qui ne provoquent pas

Recherche de marqueurs de la spécialisation parasitaire de *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs., agent de la tache bronzée sur blé dur (*Triticum durum* Desf.) et blé tendre (*Triticum aestivum* L.).

de symptômes sur le cultivar 6B365 et ne produisent pas la PtrToxC (Tabl.36). La race 4 ne produit ni la PtrToxA ni la PtrToxC.

Autrement, tous les isolats obtenus de blé tendre ne produisent que la PtrToxA et PtrToxC. Tandis que les isolats obtenus de blé dur produisent la PtrToxA et PtrToxB. Ceci a été observé seulement 08 jours après inoculation.

Si nous examinons la réaction des différents isolats dont la notation est effectuée 21 jours après inoculation, nous constatons que les symptômes ont évolué de la manière suivante :

Les isolats I2C.BT, I4C.BD, I34E.BD, I106E.BD et I98O.BD ont évolué en races 8, c'est-à-dire qu'ils produisent les trois toxines PtrToxA, PtrToxB et PtrToxC. L'isolat I5E.BT de blé tendre s'apparente à la race 7, après qu'il était classé race 4, et il devient producteur de la PtrToxB.

L'analyse de la variance pour les indices d'attaque de tous les isolats inoculés, fait ressortir un effet hautement significatif, avec une valeur de probabilité de 0.0001 (Tabl.34).

Tableau 34 : Analyse de la variance des indices d'attaques des différents isolats

Source de variance	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Test F	Probabilité
A : ISOLAT	100,404	12	8,36699	3,97	0,0001*
RESIDUAL	191,75	91	2,10717		
TOTAL	292,154	103			

Date	Après 8 jours d'inoculation « 08-12-2006 »				Après 3 semaines d'inoculation « 21-12-2006 »			
	Glenlea	6B662	6B365	Salamouni	Glenlea	6B662	6B365	Salamouni
I3C	S N (4-5)	R (1)	S C (4-5)	(R) Pas de Symptômes	S N (4-5)	R (2)	S C (5)	R (1-2)
I2C	S N (4-5)	R (1-2)	S C (4-5)		S N (5)	S C (4)	S C (4-5)	R C (1-2)
I5E	(R) Pas de Symptômes				S N (4-5)	S C (4-5)	R (0)	R (1)
I42E	(R) Pas de Symptômes				(R) Pas de Symptômes			
II11	S N (3-4)	R (1-2)	R (1-2)		S N (4-5)	R C (2)	S C (2-3)	(R) Pas de Symptômes
II07	S N (4-5)	R (0)	R (1-2)	S N (4-5)	R (1-2)	R (1-2)	(R) Pas de Symptômes	
I4C	S N (4-5)	S C (2-3)	R C (1-2)	S N (4-5)	S C (4-5)	S C (4-5)		R (1)
I34E	R (1-2)	S C (3-4)	R (1-2)	S N (5)	S N (3-4)	S C (3-5)		R (1-2)
II03	R (1-2)	R (0)	R (1-2)	R (1-2)	R (0)	R (1-2)		R (0)
II06	S N (4-5)	S C (2-3)	R C (1-2)	S N (4-5)	S N (3-4)	S C (4-5)		R (1-2)
I23E	(R) Pas de Symptômes			(R) Pas de Symptômes				
INA	(R) Pas de Symptômes			S N (4-5)	(R) Pas de Symptômes	R (1-2)		R (1-2)
I98	S N (3-4)	S C (3-4)	R (1-2)	S N (4-5)	S N (4-5)	S C (4-5)		R (1-2)

Tableau 35 : Comportement des isolats de *P.tritici-repentis* sur la gamme différentielle d'hôte développée par Lamari et Bernier (1989)

Races Cultivar	1	2	3	4	5	6	7	8
Glenlea	S (N)	S (N)	R	R	R	R	S (N)	S (N)
6B662	R	R	R	R	S (C)	S (C)	S (C)	S (C)
6B365	S (C)	R	S (C)	R	R	S (C)	R	S (C)
Salamouni	R	R	R	R	R	R	R	R
Notation effectuée après 8 jours d'inoculation	I3C I2C	II11 II07		I5E I42E II03 I23E INA	I34E		I4C II06 I98	
Notation effectuée après 21 jours d'inoculation	I3C II11	II07 INA		I42E II03 I23E			I5E I2C I4C I34E II06 I98	

Tableau 36 : Détermination des races des différents isolats étudiés.

- R = Cultivar Résistant avec un indice d'attaque de 1-2
- S = Cultivar Sensible avec les indices d'attaque 3-4-5
- C = Développement d'une chlorose.

Recherche de marqueurs de la spécialisation parasitaire de *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs., agent de la tache bronzée sur blé dur (*Triticum durum* Desf.) et blé tendre (*Triticum aestivum* L.).

N = Développement d'une nécrose.

Le classement des isolats en groupes homogènes, par le test LSD, par rapport aux indices d'attaques obtenus 08 jours après inoculation artificielle sur la gamme d'hôte différentielle, fait ressortir 03 groupes homogènes chevauchant A, B et C (Tabl.37). Les isolats I5E.DT, I42E.BT, I23E.BD, INA.BD du groupe (A) et les isolats I103E.BD, I107E.BT du groupe (AB) n'ont pas provoqué de symptômes durant cette période d'incubation sur l'ensemble de la gamme d'hôte, qui s'est montrée par conséquent résistante.

En revanche, les isolats de blé tendre I3C.BT et I2C.BT ont provoqué des symptômes sur la gamme différentielle, précisément sur les deux cultivars GLENLEA et 6B365, formant ainsi le groupe (C) avec un indice d'attaque compris entre 2,50 et 3. Les isolats I34E.BD, I111E.BT, I106E.BD, I98O.BD et I4C.BD forment le groupe (BC) avec un indice variant entre 1,63 et 2,13 (Tabl.37).

ISOLATS	Indice d'attaque moyen	Groupes Homogènes
I5E.BT	0.00	A
I23E.BD	0.00	A
I42E.BT	0.00	A
INA.BD	0.00	A
I103E.BD	0.75	AB
I107E.BT	1.50	AB
I34E.BD	1.63	BC
I111E.BT	1.63	BC
I106E.BD	2.13	BC
I98O.BD	2.13	BC
I4C.BD	2.13	BC
I3C.BT	2.50	C
I2C.BT	3.00	C

Tableau 37 : Classement des isolats en groupes homogènes par rapport à la sévérité d'attaque (notation effectuée 08 jours après inoculation).

Quant au classement des isolats en groupes homogènes, par rapport aux indices d'attaques obtenus après 21 jours d'inoculation, il fait ressortir 05 groupes homogènes chevauchant A, B, C, D et E (Tabl.38).

La virulence et l'avirulence de ces isolats sont déterminées par rapport à leur pouvoir de produire 0, 1, 2 ou 3 toxines sur les cultivars de la gamme différentielle d'hôte.

Nous constatons que les isolats I42E.BT et I23E.BD ainsi que I103E.BD et INA.BD sont avirulents avec un indice d'attaque relativement faible, qui varie de 0 à 1,50 (Tabl.38).

Les isolats I107E.BT, I111E.BT, I5E.BT et I3C.BT sont moyennement virulents avec un indice d'attaque variant entre 1,87 et 3,25, alors que les isolats I106E.BD, I34E.BD, I4C.BD, I98O.BD et I2C.BT sont virulents, ayant un indice moyen qui varie de 3,5 à 4.

Selon Lamari et al. (1995), 39 isolats issus de la collection de l'Est algérien, ont été caractérisés avirulents sur les cultivars Salamouni, 6B365 et Glenlea dont seules quelques petites lésions nécrotiques se sont manifestées sur Glenlea, mais qui n'ont pas évolué, provoquant une chlorose extensive sur trois génotypes (Katepwa, Neepawa, 6B662) ; ils ont été attribués à la race 5, du fait qu'ils ne produisent pas de nécrose Ptr ToxA, mais une chlorose sur la 6B662. Dans notre collection la race 5 est observée à Guelma seulement (I34E.BD)

Strelkov et al., (2002), signalent que l'isolat Alg-H2, provenant de l'Est de l'Algérie, a une virulence qui combine celles des races 3 et 5. Ils proposent donc que cet isolat soit classé dans une nouvelle race, appelée race 6. Dans notre collection de l'Est, la race 6 n'a pas été détectée, mais ce sont les races 4, 2, 7 et 1 qui dominent.

Après 21 jours d'inoculation, nous avons observé la présence des races 1, 2, 4, 7 et 8. Ceci montre que les symptômes ont évolué avec le temps, et c'est peut être due aux conditions de température et d'humidité qui n'ont pas été assez favorables pour le développement rapide des symptômes. C'est le cas de l'isolat INA.BD qui a été classé race 4, après 8 jours d'inoculation, période au bout de laquelle il n'a provoqué aucun symptôme sur les 04 génotypes, alors qu'après 21 jours il se classe comme race 2 au vue de la réaction de ces mêmes cultivars.

ISOLATS	Indice d'attaque	Groupes Homogènes
I42E.BT	0.00	A A.Vir
I23E.BD	0.00	A
I103E.BD	0.75	AB A.Vir
INA.BD	1.50	ABC
I107E.BT	1.87	BCD
I111E.BT	2.25	B C D E
I5E.BT	2.50	M.Vir
BC.BT	3.25	C D E
I106E.BD	3.50	D E
I34E.BD	3.62	E
I4C.BD	3.62	E
I2C.BT	3.75	E Vir
I980.BD	3.75	E
		E

Tableau 38 : Classement des isolats en groupes homogènes par rapport à la sévérité d'attaque (notation effectuée 21 jours après inoculation).

Selon le tableau 35, nous remarquons aussi que le cultivar Salamouni a montré des symptômes 21 jours après inoculation, dont l'indice d'attaque varie de 1 à 2. Nous avons considéré ce faible indice comme étant une résistance, parce qu'il n'a pas dépassé l'indice 3.

Selon Lamari et Bernier (1989), la résistance au niveau du cultivar Salamouni est représentée par un point noir qui n'évolue pas avec le temps. Dans notre résultat ce n'est pas le cas, par conséquent il ne s'agit pas d'une résistance totale. L'hypothèse d'une nouvelle race en Algérie qui peut causer un symptôme sur le génotype Salamouni de la gamme d'hôte différentielle n'est pas exclue.

D'après le tableau 38, nous constatons que les isolats les plus virulents sont des isolats de blé dur (I106E.BD, I34E.BD, I4C.BD et I98O.BD), avec l'existence d'un seul isolat (I2C.BT) de blé tendre qui est virulent ; la plupart des isolats de blé tendre sont moyennement virulents (I107E.BT, I111E.BT, I5E.BT et I3C.BT). Les isolats de blé dur sont plus virulents que les isolats de blé tendre, cependant ils peuvent tous les deux produire les trois types de toxines.

Selon Strelkov et Lamari (2003), les races distribuées au Nord d'Afrique sont : race 1, 2, 5 et 6. Dans notre travail, en se basant sur la deuxième notation, c'est-à-dire après 21 jours d'inoculation, les races présentes dans les régions céréalières de l'Algérie sont : race 1, 2, 4, 7, et 8 ; on note l'absence des races 6 et 5. La répartition des races selon l'aire géographique de leur isolement en Algérie est représentée par la figure 36.

Ces races sont distribuées comme suit : à l'Est du pays les races 1, 2, 4, 7 et 8 ; au Centre ce sont les races 1, 2 et 8 qui dominent ; et à l'Ouest nous signalons la présence uniquement de la race 8.

Nous constatons que la race 8, qui est la race la plus virulente, est présente dans toutes ces régions, du fait qu'elle est capable de produire les trois types de toxine PtrToxA, PtrToxB et PtrToxC ; et elle peut être isolée du blé dur ou du blé tendre.

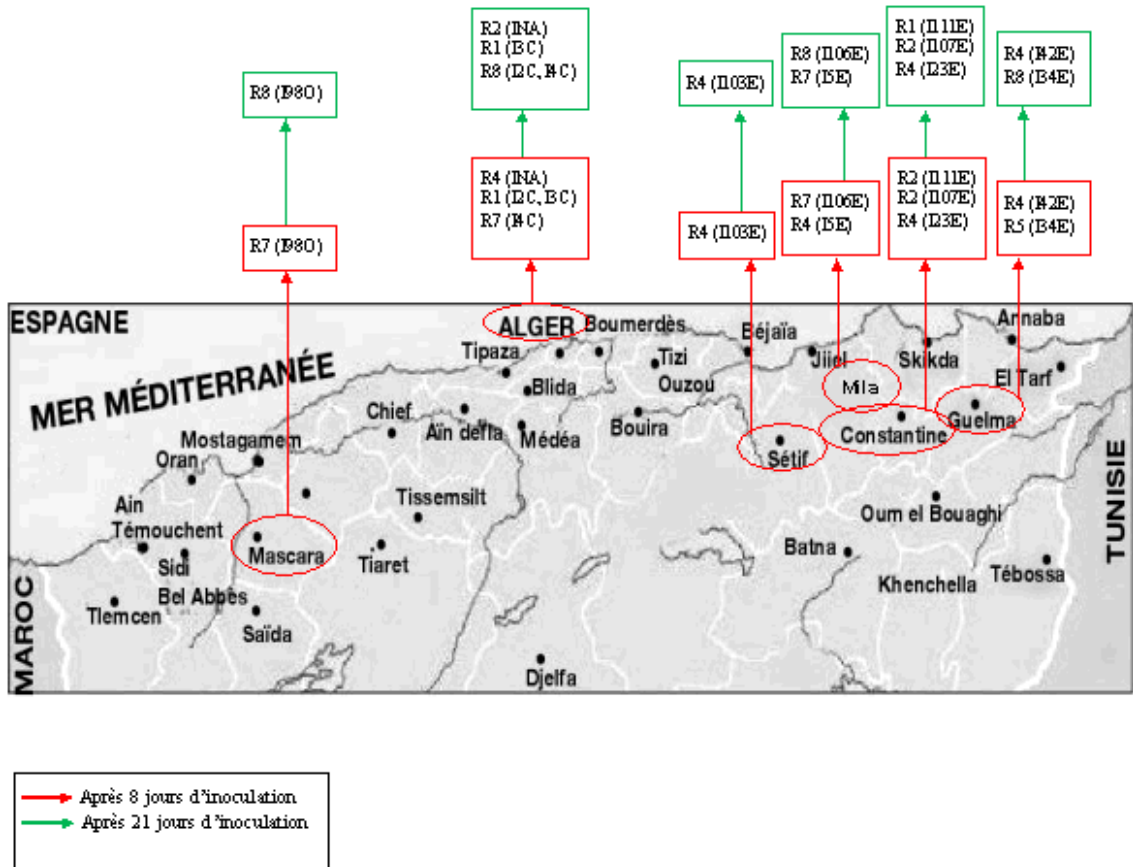


Figure 36 : Distribution géographique des différentes races obtenues 8 jours et 21 jours après l'inoculation

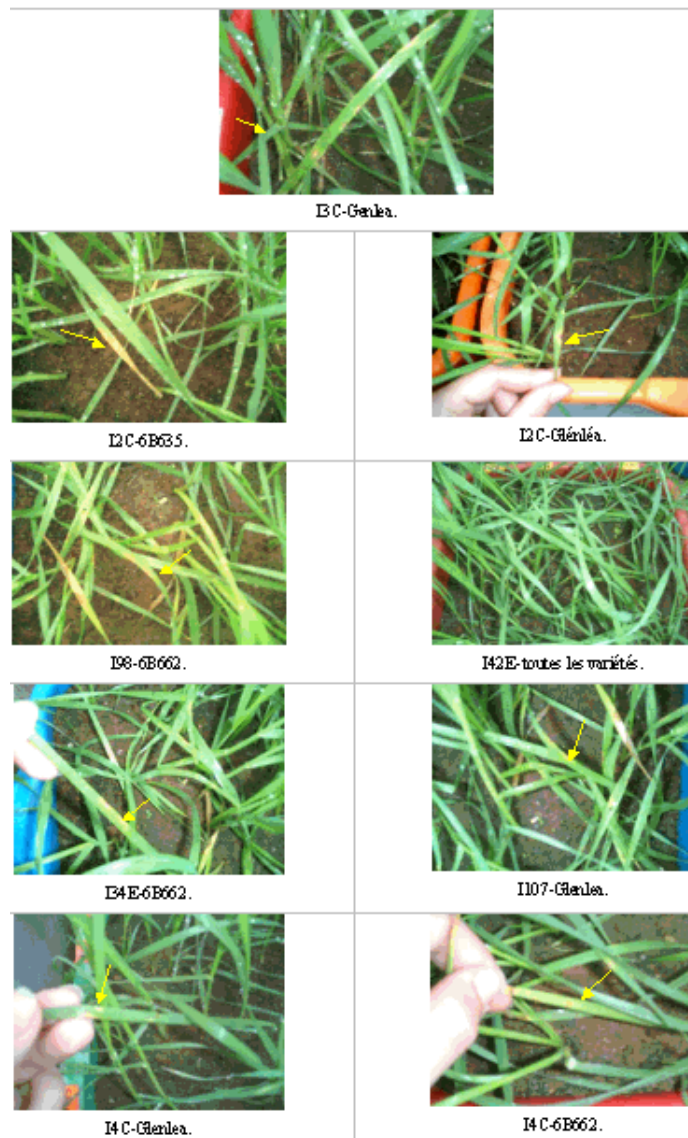


Figure 37 : Symptômes apparus après inoculation des conidies sur la gamme différentielle d'hôte.

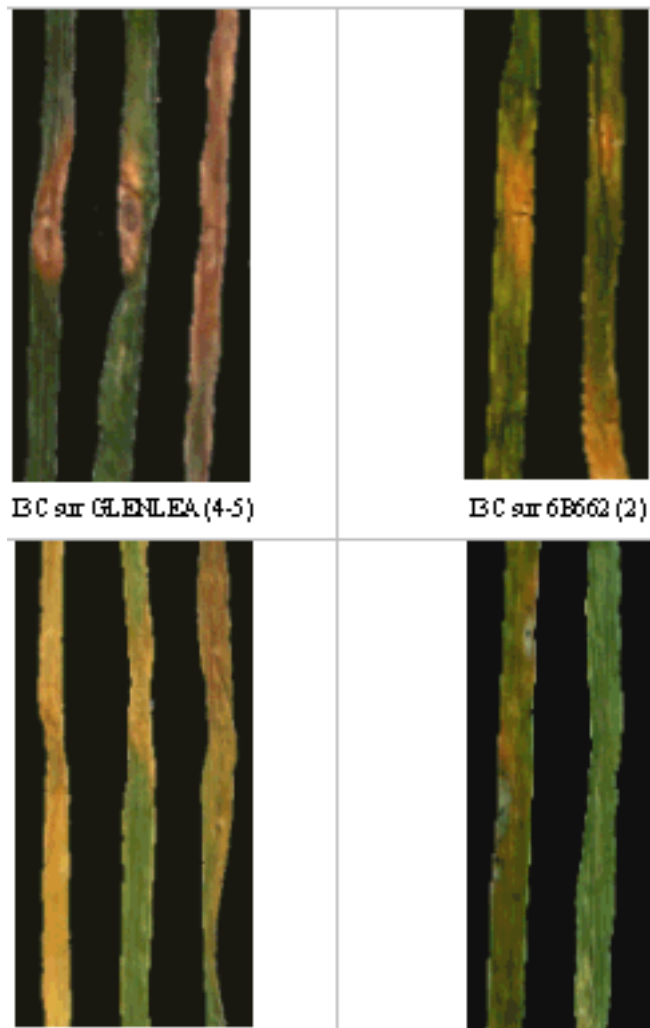


Figure 38 : Symptômes provoqués par l'isolat 13C sur les cultivars de la gamme d'hôte avec leurs indices d'attaque (notation effectuée 21 jours après inoculation)

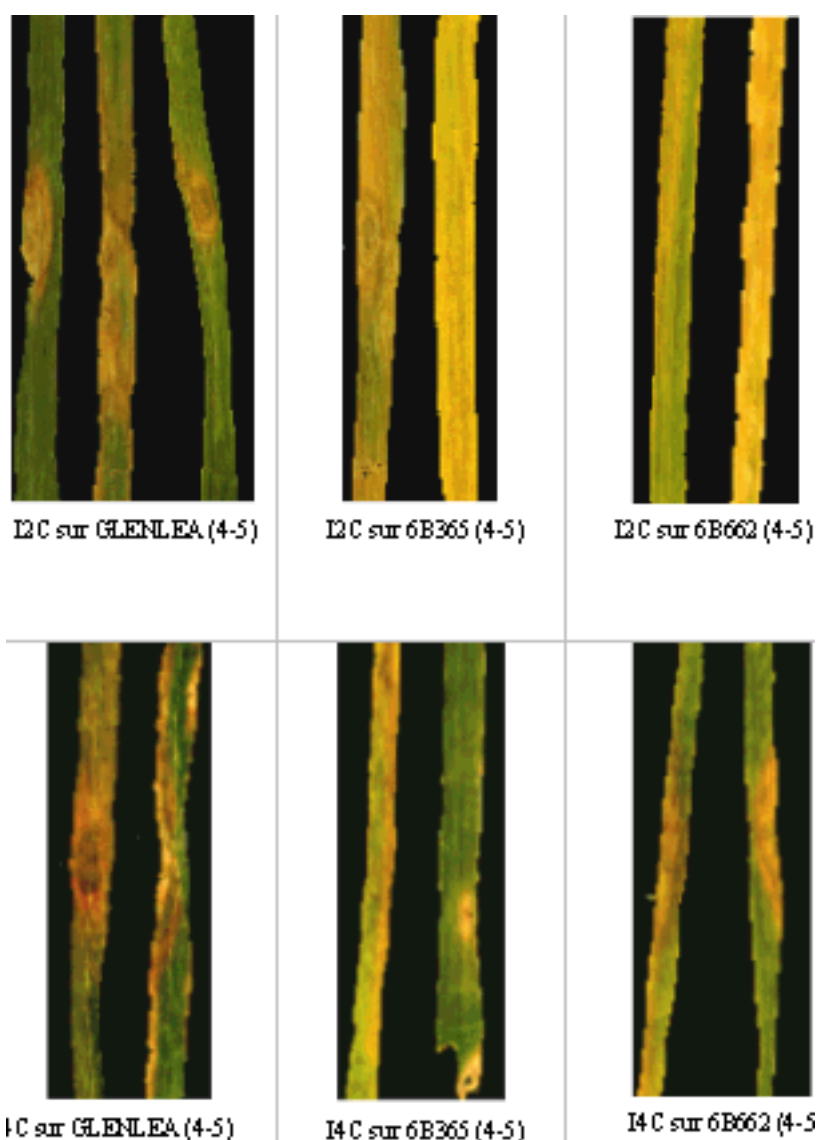


Figure 39 : Symptômes provoqués par les isolats I4C et I2C sur les cultivars de la gamme d'hôte avec leurs indices d'attaque (notation effectuée 21 jours après inoculation)

Spécialisation parasitaire de *P.tritici-repentis* sur des variétés locales

Ce test nous a permis, d'une part, de tester la capacité d'un isolat de blé dur à infecter des variétés de blé tendre ou d'orge et réciproquement pour l'isolat de blé tendre. Cette approche visait à connaître le niveau de la spécialisation parasitaire de *P.tritici-repentis* sur les espèces de blé dur et tendre, ainsi que sur l'orge. Elle nous permettra également d'évaluer l'agressivité des deux isolats (I1.BT, I2.BD) et de connaître les génotypes sensibles et résistants, qui vont être utilisés dans les tests *in vitro*.

Les deux isolats étudiés ont été obtenus à partir de feuilles présentant des symptômes caractéristiques de la tache auréolée, collectées au niveau d'un champ de blé situé à l'ITGC de Oued El Smar, (Fig. 40 et 42). L'aspect cultural de ces deux isolats est cotonneux, avec une couleur blanche pour l'isolat I1.BT et vert foncé pour l'isolat I2.BD (Fig.41 et 43). Les conidies des deux isolats obtenus sur milieu V8-PDA ne présentent pas de différence morphologique (Fig.44 et 45) sauf que l'isolat I1.BT a une sporulation moins abondante que l'isolat I2.BD.

Les premiers symptômes ont apparu 7 jours après inoculation, sur toutes les variétés des deux espèces de blé ; seule la variété d'orge SAÏDA n'a montré que des petits points noirs qui n'ont pas évolué au cours du temps. Les notations ont été effectuées 02 jours après apparition du symptôme afin de se développer et de s'assurer qu'il ne s'agit pas d'une réaction d'hypersensibilité. Les résultats obtenus ont montré des indices d'attaques moyens plus ou moins faibles (Tabl.39). Ils varient de 0,6 à 2,7 pour l'isolat I1.BT et de 0,7 à 3 pour l'isolat I2.BD. Ces faibles indices s'expliquent probablement par les conditions de température et d'humidité au niveau de la serre, qui n'ont pas été favorables pour le développement de la maladie.

Tableau 39 : Indices d'attaques moyens des différentes variétés inoculées par les deux types isolats.

VARIÉTÉS	IAM de I1.BT	Signification	IAM de I2.BD	Signification
VITRON (BD)	2,7	MS	2,9	MS
CHEN'S (BD)	2,2	MR	1,5	MR
WAHA (BD)	2,1	MR	3	MS
MOROCCO10 (BD)	1,6	MR	2,7	MS
H97813 (BT)	2,3	MR	2,2	MR
HD1220 (BT)	2,7	MS	3	MS
ANZA (BT)	2,4	MR	2,6	MR
MEXIPAK (BT)	1,7	MR	1,9	MR
SAÏDA (Orge)	0,6	R	0,7	R



Figure 40 : Symptômes observés au champ sur la variété de blé dur Chen's à l'ITGC- Oued Smar.

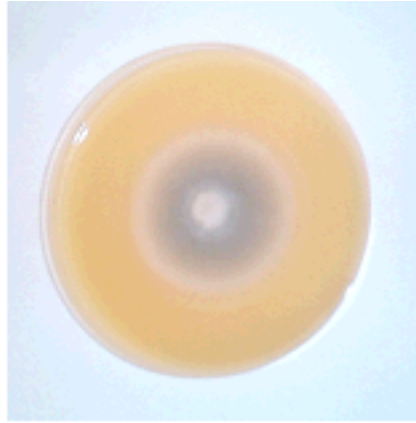


Figure 41 : Culture de l'isolat I2.BD obtenu du blé dur Chen's



Figure 42 : Symptômes observés au champ sur la variété de blé tendre HIDHAB à l'ITGC- Oued Smar.

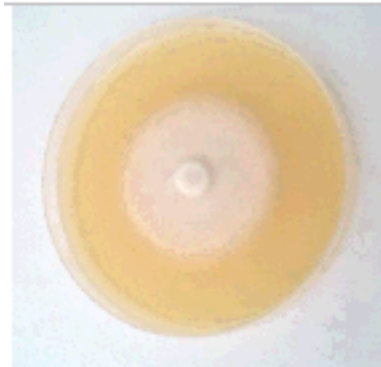


Figure 43 : Culture de l'isolat I1.BT obtenu du blé tendre HIDHAB



Figure 44 : Conidies de l'isolat I2.BD (G : 40 x 12.5)



Figure 45 : Conidies de l'isolat I1.BT (G : 40 x 12.5)

Les pourcentages d'attaque des différentes variétés sont très importants (Tabl.40) ; ils ont atteint 89% pour l'isolat I1.BT et 66% pour l'isolat I2.BD. Les symptômes observés présentent des nécroses et/ou des chloroses indépendamment qu'ils soient causés par l'isolat I1.BT ou l'isolat I2.BD, ou encore qu'ils soient observés sur les variétés de blé dur ou blé tendre. L'orge étant le plus résistant et présente des points noirs qui ne s'étendent pas avec le temps.

Tableau 40 : Pourcentages d'attaques moyens des différentes variétés inoculées par les deux types isolats.

Recherche de marqueurs de la spécialisation parasitaire de *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs., agent de la tache bronzée sur blé dur (*Triticum durum* Desf.) et blé tendre (*Triticum aestivum* L.).

VARIETE	Pourcentage d'attaque de l'isolat I1.BT	Pourcentage d'attaque de l'isolat I2.BD
VITRON	83%	66%
CHEN'S	49%	34%
WAHA	52%	59%
MOROCCO10	48%	34%
H97813	25%	25%
HIDHAB	72%	44%
ANZA	89%	41%
MEXIPAK	54%	23%
SAÏDA	14%	19%

L'analyse de la variance des indices de sévérité de la maladie, montre une différence très significative entre les variétés et entre les espèces de blé dur, blé tendre et d'orge ; elle est non significative en comparant les deux isolats I1.BT et I2.BD (Tabl.41)

Tableau 41 : Analyse de la variance des indices d'attaques moyens notant la sévérité de la maladie.

Source de variance	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Test F	probabilité
A : ESPECE	4.86	2	2.43	10.09	0,0019*
B: VARIETE	5.07	8	0.63	4.12	0.0313*
C : ISOLAT	0.31	1	0.31	2.00	0.1936
RESIDUAL	1.23	8	0.15		
TOTAL	11.47	19	3.52		

Le test LSD réalisé sur les indices de sévérité de la maladie par rapport au facteur VARIETE, a permis de répartir les variétés en 03 groupes homogènes A, B et C dont A et B sont chevauchant. Les deux variétés HIDHAB de blé tendre et VITRON de blé dur, sont classées dans le groupe (A) avec un indice d'attaque moyen proche de 3. La variété d'orge SAÏDA représente le groupe (C) avec un indice d'attaque de 1,1. Les autres variétés sont classées dans le groupe (AB) avec un indice d'attaque moyen qui varie de 1,8 à 2,5 (Tabl.42)

VARIETE	I.A.M.	Groupes homogènes
HD1220	2.9	A
VITRON	2.8	A
WAHA	2.5	A B
ANZA	2.5	A B
H97813	2.2	A B
MOROCCO10	2.1	A B
MEXIPAK	1.9	A B
CHEN'S	1.8	A B
SAIDA	1.1	C

Tableau 42 : Classement des variétés en groupes homogènes par rapport aux indices de sévérité de la maladie.

Quant aux indices d'attaques notés pour chaque espèce, le test LSD a fait ressortir 02 groupes distincts A et B (Tabl.43). Le groupe (A) représente l'espèce d'orge avec un indice moyen de 0,7 et le groupe (B) représente les deux espèces de blé dur et tendre avec 2,3 et 2,4 respectivement.

ESPECE	Moyennes	Groupes homogènes
ORGE	0.7	A
BLE DUR	2.3	B
BLE TENDRE	2.4	B

Tableau 43 : Classement des espèces en groupes homogènes par rapport aux indices de sévérité de la maladie.

Concernant les pourcentages de plants attaqués, l'analyse de la variance pour les trois facteurs ESPECE, VARIETE et ISOLAT, a montré un effet hautement significatif (P=0.03 et P= 0.01). Il y a une différence d'une part entre les deux types d'isolats, et d'autre part une différence de réaction entre les variétés et les espèces vis à vis de ces isolats (Tabl.44).

Tableau 44 : Analyse de la variance des pourcentages moyens de plants attaqués

Source de variance	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Test F	probabilité
A : ESPECE	2149.25	2	1074.63	3.22	0.0751*
B: VARIETE	4644.24	8	580.53	3.97	0.0347*
C: ISOLAT	1222.98	1	1222.98	8.35	0.0197*
RESIDUAL	1171.08	8	146.39		
TOTAL	9187.55	19	3024.53		

Recherche de marqueurs de la spécialisation parasitaire de *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs., agent de la tache bronzée sur blé dur (*Triticum durum* Desf.) et blé tendre (*Triticum aestivum* L.).

Le test LSD réalisé pour le facteur ESPECE montre qu'il existe 02 groupes homogènes chevauchant (A et B), où les variétés de blé dur ont le pourcentage d'attaque le plus élevé (53,1%), et l'orge a le pourcentage le plus faible (16,5%). Les variétés de blé tendre ont un comportement intermédiaire avec (46,6%) de plants attaqués. Pour le Facteur VARIETE, il existe 3 groupes homogènes chevauchant (Tabl.45).

ESPECE	Moyennes	Groupes homogènes
BLE DUR	53.1 %	A
BLE TENDRE	46.6 %	A B
ORGE	16.5 %	B
VARIETE	Moyennes	Groupes homogènes
VITRON	74.3	A
ANZA	64.8	A B
HD1220	57.9	A B
WAHA	55.3	A B
CHEN'S	41.6	B C
MOROCCO10	40.8	B C
MEXIPAK	38.6	B C
H97813	25.0	B C
SAIDA	16.5	C
ISOLAT	Moyennes	Groupes homogènes
I1.BT	55.38	A
I2.BD	38.89	B

Tableau 45 : Classement des espèces, variétés et isolats en groupes homogènes par rapport aux pourcentages moyens de plants attaqués.

Le groupe (A) est représenté par la variété VITRON avec le pourcentage le plus élevé de plants attaqués (74,3%), le groupe (C) comprend les variétés SAIDA et H97813 avec le pourcentage le plus faible (16,5% et 25%). Le groupe (AB) comprend les variétés ANZA, HIDHAB et WAHA avec un pourcentage qui varie de 55,3 % à 64,8%. Enfin le groupe (BC) comprend les variétés CHEN'S, MOROCO10 et MEXIPAK avec un pourcentage qui varie de 38,6 % à 40,8%.

Ce même test a fait ressortir deux groupes distincts pour le facteur ISOLAT, le groupe (A) concernant l'isolat I1.BT avec 55,4% et le groupe (B) comprenant l'isolat I2.BD avec 38,8 % de plants attaqués.

A la lumière de ces résultats, nous considérons que les variétés les plus sensibles sont HIDHAB et VITRON avec un indice d'attaque de près de 3 pour les deux espèces, alors que la variété la plus résistante est la variété d'orge SAIDA. Ce pendant, la sévérité de la maladie est la même pour les deux espèces de blé, contrairement au pourcentage d'attaque. En effet, le pourcentage de plants attaqués des blés durs est plus important que celui des blés tendres, et il est beaucoup plus important pour les blés que pour l'orge.

Ali et Francl (2001) ont montré que les cultivars d'orge infiltrés avec les toxines spécifiques à l'hôte, ou inoculés par les conidies de *P. tritici-repentis* étaient insensibles, parce qu'ils ne produisaient ni chlorose ni nécrose, et que l'orge était hautement résistant à ce champignon.

Nous pouvons conclure que, la spécialisation pathogénique existe entre l'orge et le blé, par contre elle n'existe pas entre les deux espèces de blé (dur et tendre), du fait que la sévérité de la maladie est la même pour les deux espèces.

Etude des composés toxiques des deux types d'isolats

Dans une première étape, l'infiltration de 20µl de filtrat de culture brut à l'intérieur du limbe foliaire, a provoqué l'apparition d'une chlorose extensive avec nécrose (Ch++/N+), 06 jours après infiltration de la variété VITRON avec le filtrat de culture brut de I4C.BD, et de la variété HIDHAB avec le filtrat de culture brut de I2C.BT (Tabl.46). Pour ces deux espèces, les indices d'attaque moyens ont été de 3,6 et 3,7 respectivement.

Par contre, l'infiltration de la variété VITRON avec le filtrat de culture brut I2C.BT et de la variété HIDHAB avec le filtrat de culture de I4C.BD a provoqué l'apparition d'un symptôme de nécrose marquée sans halo jaune ou chlorose (Ch-/N+), 6 à 9 jours après infiltration. Dans ce cas les indices d'attaques moyens ont été plus ou moins faibles 2,8 et 2,6 respectivement, comparativement aux indices précédents (Tabl.46).

Type du filtrat de culture	Variété	Isolat	Date d'apparition du 1er symptôme	I.A.M	Observations
Brut	VITRON	I2C.BT	09 j. après infiltration	2,8	Nécrose marquée sans halo jaune (Ch-/N+)
	VITRON	I4C.BD	06 j. après infiltration	3,6	Chlorose extensive avec nécrose (Ch++/N+)
	HIDHAB	I2C.BT	06 j. après infiltration	3,7	Chlorose extensive avec nécrose (Ch++/N+)
	HIDHAB	I4C.BD	09 j. après infiltration	2,6	Nécrose marquée sans halo jaune (Ch-/N+)
Concentré	VITRON	I2C.BT	04 j. après infiltration	5	Destruction en avant du site infiltré (Ch++/N+)
	VITRON	I4C.BD	04 j. après infiltration	4,7	Chlorose extensive et peu de nécrose (Ch++/N+)
	HIDHAB	I2C.BT	04 j. après infiltration	3	Nécrose marquée sans halo jaune (Ch---/N+)
	HIDHAB	I4C.BD	04 j. après infiltration	3	Nécrose marquée sans halo jaune (Ch---/N+)
Dialysé	VITRON	I2C.BT	06 j. Après infiltration	4-5	Destruction des tissus en avant du site d'infiltration présence de chlorose extensive et d'une nécrose au niveau du point d'infiltration.
	VITRON	I4C.BD			
	HIDHAB	I2C.BT			
	HIDHAB	I4C.BD			

Tableau 46 : Réactions de deux variétés de blé à l'égard de l'infiltration des filtrats de cultures de deux isolats.

Recherche de marqueurs de la spécialisation parasitaire de *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs., agent de la tache bronzée sur blé dur (*Triticum durum* Desf.) et blé tendre (*Triticum aestivum* L.).

Dans une deuxième étape, l'infiltration de la variété HIDHAB avec le filtrat de culture concentré des deux isolats I2C.BT et I4C.BD a provoqué l'apparition de nécrose bien marquée sans halo jaune (Ch--/N+) avec un indice moyen d'attaque égale à 3. Sur la variété VITRON le filtrat de culture concentré de l'isolat I2C.BT, a induit une destruction des tissus en avant du site d'infiltration, avec la présence des deux symptômes chlorose extensive et nécrose (Ch++/N+) ; l'indice moyen d'attaque étant de 5 est le plus élevé. Le symptôme provoqué par le filtrat de culture concentré de l'isolat I4C.BD, sur la variété VITRON, correspond à un indice d'attaque moyen de 4,7 caractérisé par une chlorose extensive et peu de nécrose. Tous ces symptômes ont apparu 04 jours après infiltration, c'est à dire, dans un temps moins court que celui de la première étape, où nous avons utilisé le filtrat de culture brut des isolats.

L'analyse de la variance des indices d'attaques moyens, correspondant aux symptômes qui sont apparus après infiltration des filtrats de cultures bruts des deux isolats, n'a pas montré une différence significative entre la réaction des deux variétés, VITRON de blé dur et HIDHAB de blé tendre. Il est de même pour le facteur ISOLAT, dont la valeur de la probabilité est beaucoup supérieure de 0,005 (Tabl.47).

Tableau 47 : Analyse de la variance des IAM notés après infiltration des filtrats de cultures bruts.

Source de variance	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Test F	Probabilité
A : VARIETE B : ISOLAT RESIDUAL	0.0025 0.0225 0.9025	0.0025 0.0225 0.9025	0.0025 0.0225 0.9025	0.0025 0.0225 0.9025	0.6650 0.9003
TOTAL	0.9275	3			

Contrairement aux résultats obtenus avec les filtrats de cultures bruts, l'analyse de la variance des indices d'attaques moyens notés après infiltration des filtrats de cultures concentrés, des deux isolats, a montré une différence significative entre la réaction des deux variétés de blé dur et blé tendre, avec une probabilité égale à 0,00065. Pour le facteur ISOLAT, cette analyse n'a pas montré d'effet significatif (Tabl.48).

Tableau 48 : Analyse de la variance des IAM notés après infiltration des filtrats de cultures concentrés.

Source de variance	S.C.E	D.D.L	Carrés moyens	Test F	Probabilité
A : VARIETE B : ISOLAT RESIDUAL	3.4225 0.0225 0.0225	0.0225 3.4225 0.0225	3.4225 0.0225 0.0225	0.0225 0.0225 0.0225	0.00065* 0.5000
TOTAL	3.4675	3			

Le test LSD au seuil 95.0% pour le facteur VARIETE, nous a permis de distinguer deux groupes distincts. Le groupe (A) représente l'espèce de blé tendre HIDHAB, avec un indice d'attaque faible égale à 03. Le groupe (B) représente l'espèce de blé dur VITRON avec un indice d'attaque plus élevé, égale à 4,85.

VARIETE	Moyennes	Groupes homogènes
HIDHAB	3.00	A
VITRON	4.85	B

Tableau 49 : Classement des variétés en groupes homogènes par rapport aux IAM des filtrats de cultures concentrés.

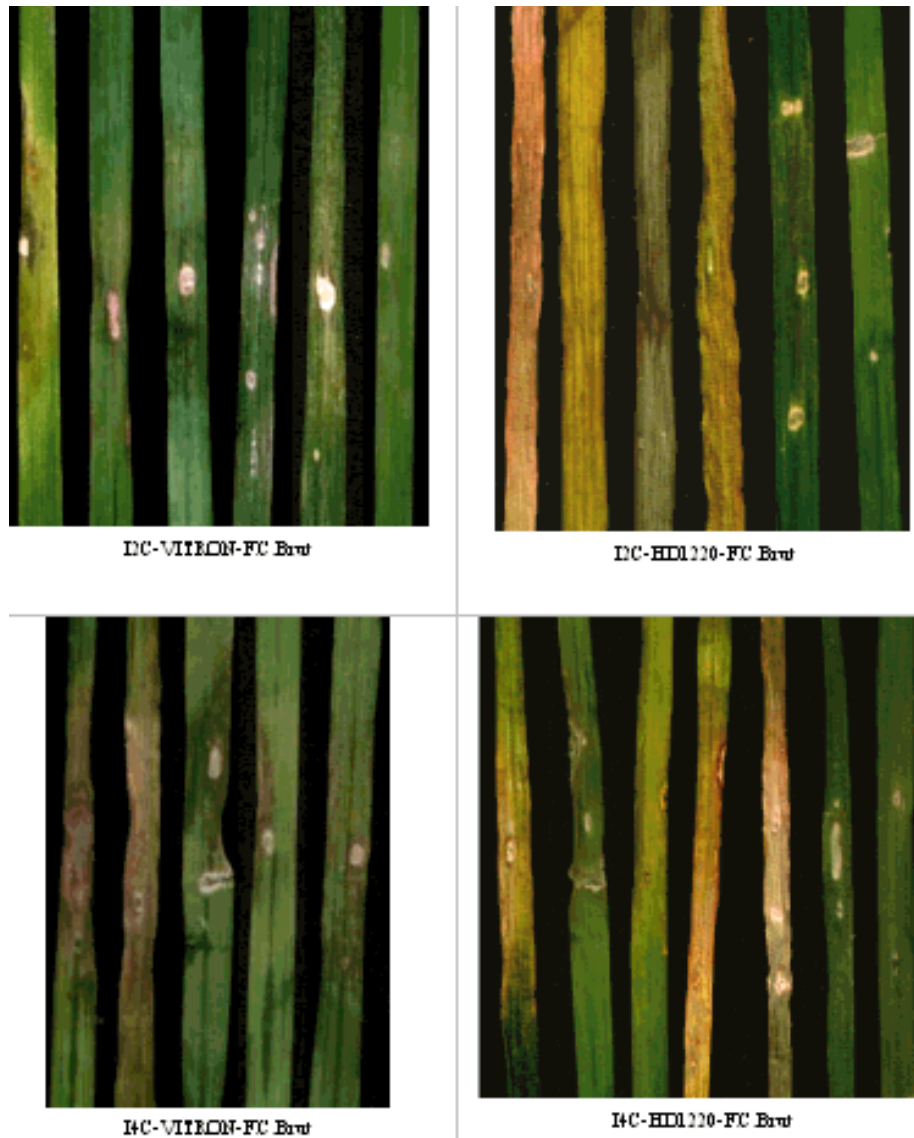


Figure 46 : Symptômes observés sur les variétés VITRON et HIDHAB après infiltration de filtrat de culture brut des deux isolats I4C.BD et I2C.BT.

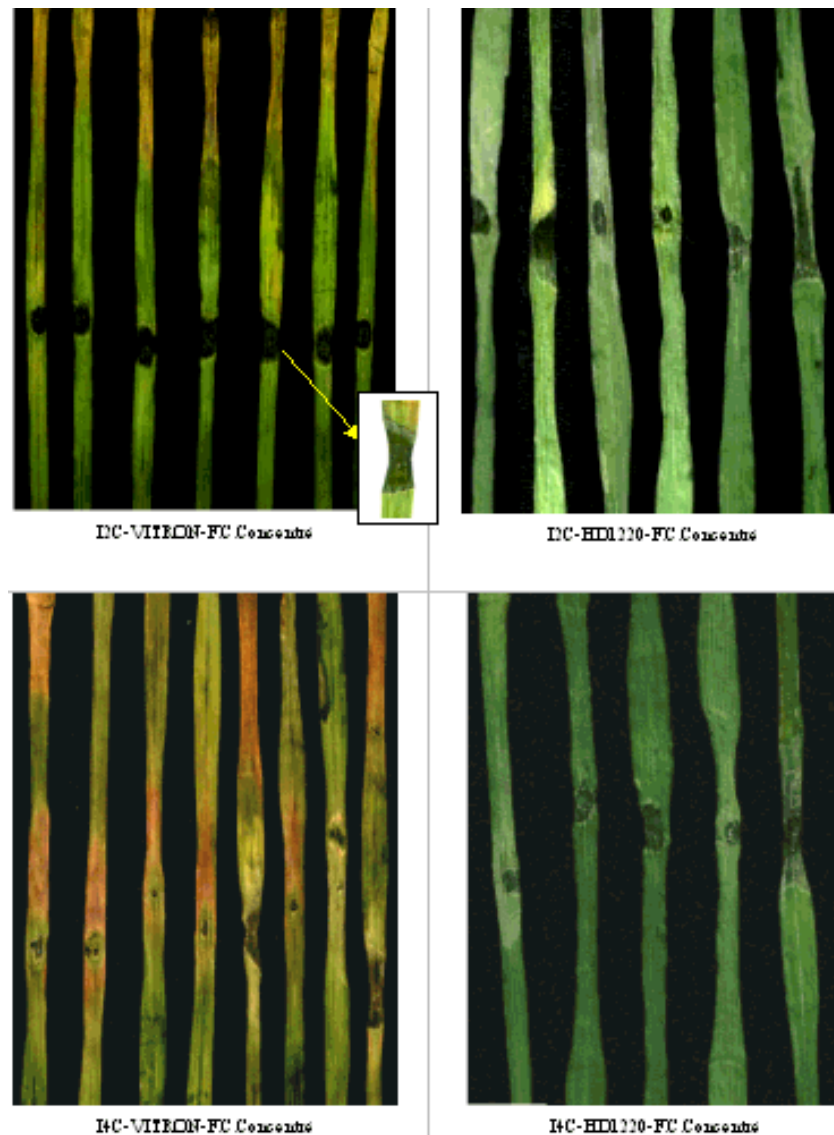


Figure 47 : Symptômes observés sur les variétés VITRON et HIDHAB après infiltration du filtrat de culture concentrés de I4C.BD et I2C.BT

Ces résultats nous permettent de considérer que l'espèce de blé dur est plus sensible aux produits toxiques de *P. tritici-repentis* que l'espèce de blé tendre.

Le test des filtrats de cultures dialysés des deux isolats a montré que le symptôme de chlorose est apparu sur les feuilles infiltrées, alors que par rapport aux données bibliographiques, il ne devrait pas apparaître, du fait que le boudin de dialyse utilisé dans notre test est d'un pouvoir de rétention compris entre 8000 et 10000Da, et la taille de la toxine provoquant la chlorose, cas de Ptr ToxB, est de 6000Da ; cette toxine est sensée sortir du boudin. Ceci nous permet d'émettre l'hypothèse que peut être il existe une toxine d'un poids moléculaire élevé compris entre 8000 et 10000 Da qui peut provoquer le symptôme de chlorose sur les deux espèces de blé.

Les résultats obtenus dans cette partie d'étude montrent, que les filtrats de cultures de *P. tritici-repentis* peuvent reproduire parfaitement, des symptômes de chlorose et de nécrose sur les feuilles infiltrées. Selon Tomas et Bockus (1987), la sensibilité au filtrat de culture est

corrélée à la sensibilité à l'agent pathogène, et l'étude de ces composés toxiques permet une compréhension de la spécialisation parasitaire des isolats de *P. tritici-repentis*. Par ailleurs, nous avons constaté que la période d'apparition des symptômes pour le filtrat de culture brut n'est pas la même pour le filtrat de culture concentré. Plus nous nous rapprochons de la purification de la toxine, plus la période d'apparition des symptômes est courte. Comme nous l'avons remarqué, les symptômes du filtrat brut ont apparus 6 à 9 jours après infiltration, alors que ceux du filtrat concentré l'ont été 4 jours après seulement. Il est à signaler aussi, que l'apparition des symptômes d'infiltration du filtrat de culture de I4C.BD sur l'espèce de blé dur VITRON, est plus rapide que sur l'espèce de blé tendre HIDHAB. Il est de même pour le filtrat de culture I2C.BT, infiltré sur son espèce d'origine de blé tendre HIDHAB. Ceci est remarqué, seulement, dans le cas du filtrat de culture brut.

Nous constatons, aussi, dans le cas des filtrats de cultures brutes, que sur le plan statistique, il n'y a pas une différence significative, ni par rapport au comportement des deux espèces de blé, ni par rapport à la sévérité du symptôme du filtrat de culture des deux isolats. Par ailleurs, une différence existe au niveau du type de symptôme apparu. Les filtrats de cultures des isolats I4C.BD et I2C.BT ont provoqué une chlorose extensive avec nécrose (Ch⁺⁺/N⁺) sur les variétés ou espèce d'où elles ont été isolées, alors qu'elles n'ont provoqué que des nécroses (Ch⁻⁻/N⁺) sur les espèces de type inverses (Fig.46).

Dans le cas des filtrats de cultures concentrés, les résultats statistiques montrent, que l'espèce de blé dur VITRON est plus sensible que l'espèce de blé tendre HIDHAB. Les filtrats de culture des deux isolats ne présentent pas une différence significative. Concernant les types de symptômes observés dans ce cas, nous avons noté que l'espèce de blé tendre HIDHAB n'a pas présenté de chlorose ni avec le filtrat concentré de I2C.BT, ni avec le filtrat concentré de I4C.BD. Seule une nécrose bien marquée s'est manifestée au niveau du site d'infiltration (Ch⁻⁻/N⁺). L'espèce de blé dur VITRON, présente une chlorose extensive importante et peu de nécrose (Ch⁺⁺/N⁺) (Fig.47).

A notre connaissance aucun travail n'a été réalisé dans le sens d'étudier la spécificité des composés toxiques des filtrats de cultures des isolats de *P. tritici-repentis* par rapport aux deux espèces de blé dur et blé tendre. Le seul travail réalisé par Anderson et al., (1999), a montré l'existence d'un gène dit d'insensibilité à la PtrToxA chez le blé dur, détecté à la même région chez le blé tendre.

Pour cela nous n'avons pas pu comparer nos résultats, ce qui nous a permis d'émettre l'hypothèse qu'il n'existe pas de spécificité des composés toxiques sur les deux espèces de blé. Le filtrat de culture de l'isolat obtenu de blé dur peut reproduire la maladie sur les espèces de blé tendre comme sur l'espèce de blé dur et inversement. Cependant le blé dur semble être plus sensible à la toxine provoquant la chlorose que le blé tendre. En général, l'espèce de blé dur est plus sensible aux produits toxiques du *P. tritici-repentis* que l'espèce de blé tendre.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

La maladie de la tache auréolée du blé, ou tan spot, provoque des pertes de récoltes considérables ; elle se manifeste sur les feuilles et les gaines foliaires sous forme de taches losangiques avec la présence de nécroses, entourées d'un halo jaune ou chlorose. Le critère distinctif de ces lésions est le petit point noir qui présente le site de pénétration du champignon. Cette maladie est causée par l'agent pathogène *Pyrenophora tritici-repentis*, qui se développe surtout sur le blé dur plus que le blé tendre, caractère qui peut être attribué à la spécialisation parasitaire de ce pathogène, objet de notre présent travail.

Nous nous sommes intéressés à la recherche des marqueurs de cette spécialisation parasitaire sur les deux espèces de blé (blé dur et blé tendre) ; en utilisant des isolats provenant de différentes zones céréalières algériennes, et qui ont été isolés des deux espèces de blé. Ces marqueurs étudiés sont morphologiques, culturels, ainsi que physiologiques, biochimiques et pathologiques.

Les caractères culturels (type de croissance, couleur du mycélium et du substrat) n'ont pas révélé une variabilité qui différencie les isolats obtenus de blé dur de ceux obtenus de blé tendre. Tous les isolats ont été caractérisés, lors du premier isolement, par un aspect cotonneux du mycélium, d'une couleur vert foncé et d'un substrat de la même couleur. Seul l'isolat INA.BD a présenté un mycélium et un substrat blanc, et l'isolat I23E.BD a montré un mycélium vert clair et un substrat blanc. Par contre, la croissance mycélienne journalière à différentes températures nous a permis de différencier les deux types d'isolats. En effet la croissance mycélienne journalière des isolats de blé dur est plus faible que celle des isolats de blé tendre, et ceci quelque soit la température considérée. Nous avons obtenu le même résultat en utilisant le milieu à base de feuilles vertes de blé dur et blé tendre, c'est-à-dire que les isolats de blé dur ont montré une croissance radiale journalière plus faible que les isolats de blé tendre, indépendamment que le milieu de culture soit à base de feuilles de blé dur ou de blé tendre. Ainsi, la croissance mycélienne journalière semble être un marqueur de la spécialisation du *P.tritici-repentis* sur les deux espèces de blé dur et blé tendre.

Par ailleurs, la mensuration des conidies obtenues *in vitro*, sur milieu artificiel V8-PDA, a montré que les isolats de blé dur ont un nombre de cloisons (7 cloisons en moyenne) plus faible que celui de blé tendre (8 cloisons en moyenne), alors que le diamètre et la longueur des conidies n'ont pas présenté une différence significative par rapport aux deux types d'isolats. La mensuration des conidies obtenues *in vivo*, a révélé des résultats inverses par rapport au test *in vitro*, en ce qui concerne le nombre de cloisons des deux types d'isolats. Les isolats de blé dur ont un nombre moyen de cloisons de 5.43 et ceux de blé tendre 4.71 en moyenne. Il y a une différence significative par rapport à la longueur des conidies, où les conidies de blé tendre se sont montrées plus petites, que les conidies de blé dur. Cependant, la différence des résultats obtenus *in vivo* et *in vitro*, nous montre que le milieu de sporulation peut affecter la taille des conidies ; nous pouvons remarquer que les conidies obtenues *in vitro* sont plus longue que celles obtenues *in vivo*, il en est de même pour le nombre de cloisons et le diamètre des conidies. En effet, la taille des conidies obtenues sur feuilles vertes de blé, c'est-à-dire sur un milieu naturel de sporulation du champignon,

peut être aussi, un marqueur de la spécialisation du *P.tritici-repentis* pour les deux espèces de blé.

L'inoculation des isolats obtenus des espèces de blé dur et blé tendre, sur une gamme d'hôte différentielle standardisée, a permis de déterminer les races existantes en Algérie. Deux notations ont été réalisées 08 et 21 jours après inoculation, sur la base du type de lésions (présence et/ou absence de nécrose ou de chlorose) sur les différents cultivars de la gamme différentielle. A la première notation nous avons noté que, les isolats obtenus de blé tendre appartiennent aux races : 1, 2 et 4, c'est-à-dire qu'ils ne produisent pas la Ptr ToxB, contrairement aux isolats obtenus de blé dur qui appartiennent aux races 4,5 et 7 et qui ne produisent pas la Ptr ToxC. A la deuxième notation nous avons remarqué que les symptômes ont évolué, et quelques isolats se sont apparentés à d'autres races. Cette évolution est peut-être due aux conditions climatiques, qui n'étaient pas favorables à leur développement durant la première notation. En considérant la virulence des isolats par rapport à la deuxième notation, il est apparu que les isolats les plus virulents sont des isolats de blé dur. Parmi les 07 isolats de blé dur, 04 sont virulents et parmi les 06 isolats de blé tendre, 01 seul isolat est virulent. Ils sont classés par ordre du moins virulent au plus virulent comme suit : I106E.BD, I34E.BD, I4C.BD, I2C.BT et I98O.BD avec un indice d'attaque moyen allant de 3,5 à 3,75. La plupart des isolats de blé tendre (I107EBT, I111E.BT, I5E.BT et I3C.BT) sont moyennement virulents, avec un indice d'attaque moyen qui va de 1,87 à 3,25. Nous constatons, que les isolats de blé dur se distinguent des isolats de blé tendre par leur virulence sur la gamme différentielle. Par ailleurs, les deux types d'isolats semblent produire les trois types de toxines PtrToxA, PtrToxB et PtrToxC, par rapport aux types de symptômes causés sur les génotypes de la gamme d'hôte différentielle. L'agressivité et la virulence des isolats, sur la gamme différentielle, semblent être un marqueur qui différencie les deux types d'isolats, mais l'étude des types de races, ne nous a pas permis de distinguer les isolats de blé dur des isolats de blé tendre.

Le test de pathogénicité sur les variétés locales, a montré un comportement différent concernant l'espèce d'orge par rapport aux deux espèces de blé ; elle s'est montrée très résistante aux isolats de *P. tritici-repentis*. Par rapport aux deux espèces de blé (dur et tendre), l'analyse de la variance de la sévérité de la maladie n'a pas montré un effet significatif ; par contre pour les pourcentages de plants attaqués, l'analyse a révélé une différence significative. Le pourcentage de plants de blé dur attaqués est plus important que celui des plants de blé tendre. Cette analyse a révélé aussi, une différence significative entre les deux isolats testés, du fait que l'I1.BT attaque plus de plants que l'I2.BD. Les résultats obtenus de ce test nous révèlent, qu'il n'existe pas de spécialisation pathogénique sur l'espèce de blé dur et le blé tendre, puisque toutes les deux sont sensibles aux deux types d'isolats, et présentent la même sévérité de maladie. Le nombre important de plants de blé dur attaqués par rapport au blé tendre peut être attribué au degré de coévolution de l'association blé dur-*P. tritici-repentis*, du fait que la très haute spécificité des relations hôte-parasite trouve son origine dans la coévolution de ces derniers dans un même biotype (Tugayé, 2001).

Le dernier test sur les filtrats de cultures des isolats, nous montre une fois encore, que l'espèce blé dur est plus sensible que l'espèce blé tendre, puisque elle est sensible aux produits toxiques des deux isolats étudiés ; la sensibilité aux filtrats de cultures est ainsi corrélée à la sensibilité à l'agent pathogène. Sur le plan statistique, nous constatons que pour les filtrats de cultures bruts, il n'y a pas une différence significative, ni par rapport au comportement des deux espèces de blé, ni par rapport à l'importance de la manifestation des symptômes. Cependant, une différence existe au niveau du type de symptômes apparu.

Les filtrats de culture des isolats I4C.BD et I2C.BT ont provoqué une chlorose extensive avec nécrose (Ch⁺⁺/N⁺) sur la variété ou l'espèce d'où elles ont été isolées, alors qu'elles n'ont provoqué que des nécroses (Ch⁻/N⁺) sur l'autre espèce. Par ailleurs, le type de symptôme observé dans le cas des filtrats de cultures concentrés, montre l'absence de chlorose chez le blé tendre HIDHAB, seule une nécrose bien marquée (Ch⁻/N⁺) ; une chlorose extensive importante et peu de nécrose (Ch⁺⁺/N⁺) chez l'espèce de blé dur VITRON sont notées. Le test des filtrats de culture dialysés des deux isolats, montre que le symptôme de chlorose est apparu sur les feuilles infiltrées, alors que par rapport aux données bibliographiques, il ne devrait pas apparaître ; la toxine étant un poids moléculaire de 6 000Da est sensée sortir du boudin. D'où l'hypothèse que peut être il existe une toxine d'un poids moléculaire élevé compris entre 8 000 et 10 000 Da qui peut provoquer le symptôme de chlorose sur les deux espèces de blé. Aucun travail antérieur n'a été réalisé pour étudier la spécificité des toxines des isolats de *P.tritici-repentis*, par rapport aux deux espèces de blé dur et tendre. Pour cela nos résultats manquent d'interprétations convaincantes, qui peuvent expliquer la différence des résultats obtenus avec les filtrats de cultures bruts, concentrés et dialysés. Dans nos résultats, les composés toxiques de l'isolat de blé dur peuvent reproduire les symptômes de la maladie chez l'espèce de blé tendre comme chez le blé dur et inversement ; sauf que le blé dur semble être plus sensible à ces derniers que le blé tendre.

Toutefois, ce dernier test nous montre que, la période d'apparition des symptômes, après infiltration des filtrats de cultures bruts, peut être un marqueur de la spécialisation parasitaire du *P.tritici-repentis* sur ces deux espèces. En effet, les symptômes provoqués par l'infiltration du filtrat de culture brut de l'isolat obtenu de blé dur sur l'espèce de blé dur, se manifestent plus rapidement que quand il est infiltré sur blé tendre ; il est de même pour l'isolat obtenu de blé tendre. La purification des toxines et leur infiltration pourraient nous aider à la compréhension de la spécialisation. En utilisant le filtrat de culture concentré, nous avons constaté que, l'espèce de blé tendre (HIDHAB) n'a pas manifesté de chlorose, seulement une nécrose, contrairement à l'espèce de blé dur (VITRON) qui a manifesté les deux types de symptômes.

Au terme de ce travail, il serait intéressant, de poursuivre ces recherches en purifiant complètement les toxines contenues dans les filtrats de cultures des isolats obtenus des deux espèces, et les comparer sur le plan moléculaire. Comme il serait intéressant d'étudier d'autres marqueurs tels que, les facteurs environnementaux ou les facteurs de coévolution, qui pourraient nous expliquer pourquoi le blé dur est plus attaqué que le blé tendre. Nous avons constaté également que le cultivar Salamouni de la gamme d'hôte différentielle, n'a pas montré une résistance totale aux isolats étudiés. Par conséquent, cette résistance doit être présentée par un point noir qui n'évolue pas avec le temps, d'où l'hypothèse d'une nouvelle race en Algérie, qui pourrait causer un symptôme sur le génotype Salamouni de la gamme différentielle, qui sera à discuter également. De plus, il est intéressant d'étudier le rôle des isolats non pathogènes de la Race 4 dans l'évolution de l'interaction blé – *Pyrenopra tritici-repentis* , du fait qu'ils comptent pour 5% des races isolées à partir de blé (Ali et Francl, 2003).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AINSWORTH, G.C., F.K. SPARROW et A.S. SUSSMAN, 1973.** The Fungi. Vol. IVA. Taxonomic review with keys. Edit. Academic Press. New York USA. 621 pp.
- ALEXOPOULOS, C.J., C.W. MIMS et M. BLACKWELL, 1996.** Introductory Mycology, 4th Edit. Wiley. New York. 869 pp.
- ALI, S., et L.J. FRANCL, 1999.** Races of *Pyrenophora tritici-repentis* on durum wheat in the northern great plains of the U.S.A. *Phytopathology* (Abstract) 89: 2
- ALI, S., et L.J. FRANCL, 2001.** Recovery from barley and reaction of 12 cultivars to five races and two host-specific toxins. *Plant Disease* 85: 580-584.
- ALI, S., et L.J. FRANCL, 2003:** Population race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* prevalent on wheat and non cereal grasses in the great plains. *Plant Disease* 87: 418-422.
- ANDERSON, J.A., R.J. EFFERTE, J.D. FARIS, L.J. FRANCL, S.W. MAINHARDT et B.S. GILL, 1999.** Genetic analysis of sensitivity to a *Pyrenophora tritici-repentis* necrosis inducing toxin, in durum and common wheat. *Phytopathology* 89: 293-297.
- ANONYME 2006.** Résistance aux fongicides : maladies des céréales à paille, état des lieux et recommandations. Edit. INRA, SPV, ARVALIS- Institut du végétal. France.
- ARNAUD, C., 2006.** Les maladies fongiques du blé - L'helminthosporiose du blé : *Drechslera tritici-repentis*. Edit. terre-net. html. www.terre-net.fr.
- BALANCE, G.M., L. LAMARI et C.C. BERNIER, 1989.** Purification and characterization of a host-selective necrosis toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 35: 203-213.
- BARR, M.A., 1987.** Prodomus to class Loculoascomycetes. Pub. Amherst, M.A. 168 pp.
- BENDIF, N., 1994.** La situation actuelle des maladies des céréales en Algérie : Résultats d'enquête. *Céréaliculture* 27: 8-12. Edit. ITGC.
- BOULIF, M., A. AMIRI et H. SAOUD, 1996.** Spécialisation pathogénique chez *Pyrenophora tritici-repentis* dans le Maghreb. Pp. 171-172. In : Proceedings du symposium régional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires 11-14 Novembre 1996, Rabat, Maroc.
- BOVÉ, J., 2001.** Plantes et agents pathogènes, une liaison raffinée et dangereuse : l'exemple des champignons. *Life Sciences* 324: 899-903.
- BLOTTIERE, J., 1930.** Les productions algériennes. a/ les céréales, la vigne et le vin, l'olivier. Cahiers du Centenaire de l'Algérie. Tome IX. Publication du Comité National Métropolitain du centenaire de l'Algérie. 62 pp.
- BROWN, D.A. et R.M. HUNGER, 1993.** Production of a chlorosis-inducing, host-specific, low-molecular weight toxin by isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*, cause of tan spot of wheat. *Journal of phytopathology* 3 : 221-232
-

- CHAMPION, R., 1997.** Identifier les champignons transmis par les semences. Edit. INRA. Paris. 398 pp.
- CHANTRET, N., J. SALSE, F. SABOT, S. RAHMAN, A. BELLEC, B. LAUBIN, I. DUBOIS, C. DOSSAT, P. SOURDILLE, P. JOUDRIER, M.F. GAUTIER, L. CATTOLICO, M. BECKERT, S. AUBOURG, J. WEISSENBACH, M. CABOCHE, M. BERNARD, P. LEROY et B. CHALHOUB, 2005. Molecular basis of evolutionary events, that shaped the hardness locus in diploid and polyploid wheat's species (*Triticum* and *Aegilops*). *The Plant Cell* (Abstract) 17: 4
- CHRISTENSEN, J.J., et T.W. GRAHAM, 1934.** Physiologic specialisation and variation in *Helminthosporium gramineum* Rab. University of Minnesota. Technical bulletin 95: 3-40.
- CIUFFETTI, L.M., V.A. MANNING, J.P. MARTINEZ, I. PANDELOVA et R.M. ANDRIE, 2003.** Pertinacious toxins of *Pyrenophora tritici-repentis* and investigation of the site-of-action of Ptr ToxA. Pp. 96–102. In: Proceedings of the fourth International wheat tan spot and spot blotch workshop. 21–24 July 2002, Bemidji, Minn. Edited by J.B. Rasmussen, T.L. Friesen, and S. Ali. North Dakota Agricultural Experimental Station, North Dakota State University, Fargo, N.D.
- CIUFFETTI, L.M., et R.P. TUORI, 1999.** Advances in the characterization of the *Pyrenophora tritici-repentis*-wheat interaction. *Phytopathology* 89 : 444-449.
- CIUFFETTI, L. M., L.J. FRANCL, G.M. BALANCE, W.W. BOCKUS, L. LAMARI, S.W. MEINHARDT, et J.B. RASMUSSEN, 1998.** Standardization of toxin nomenclature in the *Pyrenophora tritici-repentis*/wheat interaction. *Can. J. Plant Pathol.* 20 : 422-425.
- COLSON, E.S., G.J. PLATZ et T.R. USHER, 2003.** Fungicidal control of *Pyrenophora tritici-repentis* in wheat. *Australasian Plant Pathology* 32: 241-246.
- DEVAL, R., L. BASTARD et A. NUSSEBAUMER, 2000.** Le blé a lui aussi son hélmintosporiose. *Phytoma* 256:17-20.
- EFFERTZ, R.J., S.W. MEINHARDT, J.A. ANDERSEN, J.G. JORDHAL, L.J. FRANCL, 2002.** Identification of chlorosis-inducing toxin from *Pyrenophora tritici-repentis* and the chromosomal location of an insensitivity locus in wheat. *Phytopathology* 92: 527-533.
- EZZAHIRI, B., 2001.** Les maladies du blé. Identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA (Programme National de Transfère de Technologie en agriculture. Edit. MADREF/DERD/Rabat. N°77: 1-4.
- FARIS, J.D., J.A. ANDERSON, L.J. FRANCL et J.G. JORDAHL, 1996.** Chromosomal location of a gene conditioning insensitivity in wheat to a necrosis-inducing culture filtrate from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology* 86: 459–463.
- FERNANDEZ, M.R, R.M. DE-PAUW, J.M. CLARKE, R.P. ZENTNER et B.G. CONKEY, 1998.** Tan spot in western Canada. Pp. 73-79. In: *Helminthosporium Blights of wheat: Spot Blotch and tan spot*. E. Duveiller, H.J. Dubin, J. Reeves, and A. McNab. Edit. CIMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center), D.F., Mexico. 376 pp.

- FRIESEN, T.L., S. ALI, S. KIANAN, L.J. FRANCL et J.B. RASMUSSEN, 2003.** Role of host sensitivity, to PtrToxA, in development of tan spot of wheat. *Phytopathology* 93: 397-401.
- GAMBA, F.M., et L. LAMARI, 1998.** Mendelian inheritance of resistance to tan spot [*Pyrenophora tritici-repentis*] in selected genotypes of durum wheat (*Triticum turgidum*). *Can. J. plant pathol.* 20: 408-414.
- GAMBA, F.M., L. LAMARI et A.L. BRULE-BABEL, 1998.** Inheritance of race-specific necrotic and chlorotic reactions induced by *Pyrenophora tritici-repentis* in hexaploid wheats. *Can. J. plant pathol.* 20: 401-407.
- GILCHRIST, S.L., S.F. FUENTES, M.L. ISLA de BAUER, 1984.** Determinación de fuentes de resistencia contra *Helminthosporium tritici-repentis* bajo condiciones de campo e invernadero. *Agrociencia* 56: 95-105.
- HAGBORG, W.A.F., 1970.** A device for injecting solutions and suspensions into thin leaves of plants. *Can. J. Botany* 48: 1135-36.
- HALLOCK, Y.F., H.S.M. LU, J. CLARDY, G.A. STROBEL, F. SUGAWARA, R. SAMSOEDIN et S. YOSHIDA, 1993.** Triticones, spirocyclic lactams from the fungal plant pathogen *Drechslera tritici-repentis*. *Journal of Natural Products* 56: 747-754.
- HECKER, A., et H. FORRER, 2003.** La maladie des taches auréolées: susceptibilité du blé et lutte. *Agrarforschung* 10 (03): 98-103.
- HOSFORD, R.M., 1971.** Form of *Pyrenophora trichostoma* pathogenic to wheat and other grasses. *Phytopathology* 62: 28-32.
- HOSFORD, R.M., et R.A.A. MORRALL, 1975.** The epidemiology of leaf spots disease in a native prairie. I. The progression of disease with time. *Can. J. Botany* 53: 1040-1050.
- HOSFORD, R. M. Jr., C. R. LAREZ, J.J. HAMMOND, 1987.** Interaction of wet period and temperature on *Pyrenophora tritici-repentis* infection and development in wheat of differing resistance. *Phytopathology* 77: 1021-1027.
- JORDAHL, J.G., et L.J. FRANCL, 1992.** Increase and storage of cultures of *Pyrenophora tritici-repentis*. 109 p. In: *Advances in Tan Spot Research*. Edit. L.J. Francl, J.M. Krupinsky and M.P. Mullen. North Dakota Agriculture.
- KENFIELD, D., S. STROBEL, F. SUGAWAM, D. BERGLUID, et G. STROBEI, 1988.** Triticone A: a novel bioactive lactam with potential as a molecular probe. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 157: 174- 182.
- KRUPINSKY, J.M., 1982.** Observations on the host range of isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Can. J. Plant Pathol.* 4: 42-46.
- KRUPINSKY, J.M., 1987.** Pathogenicity on wheat of *Pyrenophora tritici-repentis* isolated from *Bromus inermis*. *Phytopathology* 77: 760-765.
- KRUPINSKY, J.M., 1992.** Aggressiveness of *Pyrenophora tritici-repentis* isolates from grass and barley hosts. *Plant Disease* 76: 788-789.
- KIFFER, E., et M. MORELET, 1997.** Les Deuteromycètes, classification et clé de détermination. Edit. INRA. France. 306 pp.

- LACROIX, M., 2002.** Maladies des céréales et de la luzerne, diagnostic, dépistage, prévention. Edit. Agriculture, pêcheries et alimentation. Quebec. 90 pp.
- LAMARI, L., et C.C. BERNIER, 1989 (a).** Toxin of *Pyrenophora tritici-repentis*: Host-specificity, significance in disease, and inheritance of host reaction. *Phytopathology* 79: 740-744.
- LAMARI, L., et C.C. BERNIER, 1989 (b).** Virulence of isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* on 11 wheat cultivars and cytology of the differential host reactions. *Can. J. Plant Pathol.* 11: 284-90.
- LAMARI, L., et C.C. BERNIER, 1989 (c).** Evaluation of wheat lines and cultivars to tan spot [*Pyrenophora tritici-repentis*] based on lesion type. *Can. J. Plant Pathol.* 11: 49-56.
- LAMARI, L., et C.C. BERNIER, 1991.** Genetics of tan necrosis and extensive chlorosis in tan spot of wheat caused by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology* 81:1092-1095.
- LAMARI, L., et C.C. BERNIER, 1994.** Temperature-induced resistance to tan spot [*Pyrenophora tritici-repentis*] of wheat. *Can. J. Plant Pathol.* 16: 279-286.
- LAMARI, L., et J. GILBERT, 1998.** Toward a coherent model of host-pathogen interactions in tan spot of wheat: An epilogue to the Third International Workshop on Tan Spot of Wheat. *Can. J. Plant Pathol.* 20: 440-443.
- LAMARI, L., J. GILBERT et A. TEKAUZ, 1998.** Race differentiation in *Pyrenophora tritici-repentis* and survey of physiologic variation in western Canada. *Can. J. Plant Pathol.* 20: 340-396.
- LAMARI L., G.M. BALLANCE, N.P. OROLAZA et R. KOWATSCH, 1995 (a).** In planta production and antibody neutralization of the Ptr necrosis toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology* 85: 333-338.
- LAMARI, L., R. SAYOUD, M. BOULIF et C.C. BERNIER, 1995 (b).** Identification of a new race in *Pyrenophora tritici-repentis*: Implications on the current pathotype classification system. *Can. J. Plant Pathol.* 17: 312-318.
- LAMARI, L., S.E. STRELKOV, A. YAHYAOU, J. ORABI et R.B. SMITH, 2003.** The identification of two new races of *Pyrenophora tritici-repentis* from the host centre of diversity confirms a one-to-one relationship in tan spot of wheat. *Phytopathology* 93: 391-396.
- LANGERON, M., 1942 :** Précis de microscopie : Technique expérimentation - diagnostic. Edit. Masson et Cie, Paris. 1339 pp.
- LEPOIVRE, P., 2002 :** Phytopathologie générale. Les mécanismes de résistance et la spécificité parasitaire. Edit. Deboek Université. Les presses agronomiques de Gembloux. 432pp.
- LUZ, W.C., et R.M. HOSFORDE, 1980.** Twelve *P. trichostoma* races of virulence to wheat in the central plains of North America. *Phytopathology* 70: 1193-1196.
- MARAITE. H., J.F., BEMY. et A. GOFFIN, 1992.** Epidemiology of tan spot in Belgium. Pp. 73-79. In: Advances in tan spot research. North's Dakota Agriculture. Edit. L.J. Francl, J.M. Krupinsky and M.P. Mullen.

- MARTINEZ, J.P., S.A. OTTUM, S. ALI, L.J. FRANCL et L.M. CIUFFETTI, 2001.** Characterization of the ToxB gene from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Molecular plant-microbe interact* 14: 675-677.
- MEINHARDT, S.E., S. ALI, H. LING et L. FRANCL, 2003.** A new race of *Pyrenophora tritici-repentis* that produces a putative host-selective toxin. Pp.117-119. In: Proceedings of the fourth international wheat tan spot and spot blotch workshop. 21-24 July 2002, Bemidji, Minn. Edit. J.B. Rasmussen, T.L. Friesen and S. ALI. North Dakota Agricultural Experimental Station. North Dakota State University, Fargo, N.D.
- MEINHARDT, S.E., H. ZHANG, R. EFFERTZ et L.J. FRANCL, 1997.** Characterization of the toxins h m *Pyrenophora tritici-repentis*. Third international tan spot workshop. Winnipeg, Canada, July 10-11. (Abstract). 13p.
- MORRALL, R.A.A., et R.J. HOWARD, 1975.** The epidemiology of leaf spot disease in a native prairie. II. Airborne spore population of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Can. J. Botany* 53: 2345-2353.
- NAGLE, B.J., R.C. FROHBERG et R.M. HOSFORD, 1982.** Inheritance and resistance to tan spot of wheat. Pp. 40–45. In : Tan Spot of Wheat and Related Diseases Workshop. July 1981, Fargo, N.D. Edited by R.M. Hosford Jr. North Dakota Agricultural Experimental Station, North Dakota State University, Fargo, N.D.
- OROLAZA, N.P., LAMARI, L., et BALANCE, G.M., 1995.** Evidence of a host-specific chlorosis toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*, the causal agent of tan spot of wheat. *Phytopathology* 85: 1282-1287.
- PFENDER, W.F., C.A. PACEY et W. ZHANG, 1988.** Saprophytic growth and pseudothecia production of *Pyrenophora tritici-repentis* in plant tissues held controlled water potentials. *Phytopathology* 78: 1205-1216.
- RAYMOND, P.J., W.W. BOCKUS et B.L. NORMAN, 1985.** Tan spot of winter wheat: procedures to determine host response. *Phytopathology* 75: 686-690.
- REES, R.G., et G.J. PLATZ, 1992.** Tan spot and its control - some Australian experiences. Pp.1-15. In: Advances in tan spot research. Edit. L.J. Francl, J.M. Krupinsky and M.P. McMullen. NDSU Agric. Exp. Sta. Publ. 146 pp.
- SANTANA, F.M., et T.L. FRIESEN, 2007:** Tan spot Disease of Wheat: race characterization. Passo Fundo: Embraga Trigo. 14p. html. Embraga Trigo documentos on line.
- SAYOUD, R., B. EZZAHIRI et Z. BOUZNAD, 1999.** Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. Edit. ITGC. Alger. 64 pp.
- SCHEFFER, R.P., 1983.** Toxins as chemical determinants of plant disease. Pp. 1-40. In: toxins and plant pathogeneses. Edit. Daly J.M. and B.J. Deverall. Copyright Academic Press Australia.
- SCHILDER, A.M.C., et G.C. BERGSTROM, 1992.** Seed transmission of *Pyrenophora tritici-repentis* causal fungus of tan spot of wheat. *European Journal of Plant Pathology* 101: 81-91.
- SHOMAKER, R.A., 1962.** Drechslera lto. *Can. J. Botany* 40: 809-836.
- SINGH, P.K., 2001.** Genetic studies of the resistance to tan spot of wheat and genetic similarity among isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*. Edit. National library of Canada. 14 pp.

- SINGH, P.K. et G.R. HUGHES, 2005.** Genetics control of resistance to tan necrosis toxin induced by *Pyrenophora tritici-repentis* race 1 and 2, in spring and winter wheat genotypes. *Phytopathology* 95: 172-177.
- SMADHI, D., M. SEMIANI, B. MOUHOUCHE et L. ZELLA, 2008.** Pluviométrie et céréaliculture : cas des hauts-plateaux de l'Est Algérien. Edit. INRA. Alger. *Recherche Agronomique* 21: 7-16.
- STOCK, W.S., A.L. BRULE-BABEL et G.A. PENNER, 1996.** A gene for resistance to a necrosis-inducing isolate of *Pyrenophora tritici-repentis* located on 5BL of *Triticum aestivum* cv. *Chinese spring*. *Genome* 39: 598-604.
- STRELKOV, S.E., R.F. KOWATSCH, G.M. BALANCE et L. LAMARI, 2005.** Characterization of the *ToxB* gene from North African and Canadian isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Physiological and molecular plant pathology* 20: 1-7.
- STRELKOV, S.E., L. LAMARI et G.M. ALLANCE, 1998.** Induced chlorophyll degradation by a chlorosis toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Can. J. Plant pathol.* 20: 428-435.
- STRELKOV, S.E., L. LAMARI et G.M. BALANCE, 1999.** Characterization of a host-specific protein toxin (Ptr ToxB) from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 12: 728-732.
- STRELKOV, S.E., L. LAMARI, R. SAYOUD et R.B. SMITH, 2002.** Comparative virulence of chlorosis-inducing races of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Can. J. Plant pathol.* 24: 29-35.
- STRELKOV, S.E., et L. LAMARI, 2003.** Host-parasite interactions in tan spot [*Pyrenophora tritici-repentis*] of wheat. *Can. J. Plant Pathol.* 4 : 339-349.
- SUTTON, J.C., et L.A. HUNT, 1990.** Maladies des feuilles de blé d'automne. Edit. Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation et des Affaires Rurales. L'Ontario.
- TIZIOUALOU, G., 2004 :** Etude de l'efficacité de quelques fongicides contre *Pyrenophora tritici-repentis*, agent de l'helminthosporiose du blé. Mem. Ing. Agro. INA. El Harrach. 97 pp.
- TOMAS, A., et W.W. BOCKUS, 1987:** Cultivar-specific toxicity of culture filtrates of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology* 77:1337-1340.
- TOMAS, A., G.H. FENG, G.R. REECK, W.W. BOCKUS et J.E. LEACH, 1990.** Purification of a cultivar-specific toxin from, *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 3: 221-24.
- TUGAYE, M.T., 2001.** Plantes et agents pathogènes, une liaison raffinée et dangereuse : l'exemple des champignons. *Life sciences* 324 : 899-903.
- TUORI, R.P., T.J. WOLPERT et L.M. CIUFFETTI, 1995.** Purification and immunological characterization of toxic components from culture of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 8: 41-8.
- VALDER, P.G., 1954.** Yellow leaf spot and pink grain in wheat. *Agricultural Gazette of New South Wales* 65: 36-37. (Site internet)
- WEISE, M.V., 1987.** Compendium of wheat diseases. Third edition. Minnesota (USA). American Phytopathological Society. 112 pp.

ZHANG, H.F., L.J. FRANCL, J.G. JORDHAL et S.W. MEINHARDT, 1997. Structural and physical proprieties of a necrosis-inducing toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology* 87: 154-160.

ZILLINSKY, F.J., 1983. Maladies communes des céréales à paille: guide d'identification. Edit. CYMMYT. Londre. 140 pp.