

Institut National Agronomique-EI-Harrach-Alger

- MEMOIRE - En vue de l'Obtention du Diplôme de Magister en Sciences Agronomiques
Option : Phytopathologie et Amélioration de la Résistance des Plantes aux maladies

***Caractérisation morphologique et
purification partielle des composés
toxiques de *Pyrenophoragraminea Ito et
Kurib****

Présenté par :

Melle ZAAMOUM MIYADA

Promoteur : M_r. KEDAD A. Chargé de cours

Année universitaire : 2007-2008

Jury : Président : M_r.BOUZNAD Z. Professeur Examineurs : M_{me} LOUANCHI M. Maître de
conférence M_r. BENBELKACEM A. Maître de conférence M_r. AISSAT A. Maître de conférence

Table des matières

Remerciements . .	5
Résumé . .	6
Abstract . .	7
ص خ لم . .	8
INTRODUCTION . .	9
2.ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE . .	11
2.1. Importance de la culture d'orge dans le monde et en Algérie : . .	11
2.2. LA STRIE FOLIAIRE DE L'ORGE : . .	12
2.2.1. Distribution géographique et incidence de la strie foliaire : . .	13
2.2.2. Importance économique de la strie foliaire : . .	13
2.2.3. Symptomatologie de la strie foliaire : . .	14
2.2.4. Quelques données épidémiologiques sur la strie foliaire : . .	15
2.3. L'AGENT CAUSAL DE LA STRIE FOLIAIRE : . .	16
2.3.1 . Morphologie et taxonomie de <i>P. graminea</i> : . .	16
2.3.2. Biologie de l'agent causal de la strie foliaire : . .	18
2.4. Variabilité du couple <i>Hordeum vulgare</i> / <i>Pyrénophora graminea</i> : . .	19
2.4.1 . Variabilité des isolats de <i>P. graminea</i> : . .	19
2.4.2. Variabilité de la réaction des cultivars d'orge à l'égard des isolats de <i>P. graminea</i> : . .	20
2.5. Les composés PHYTOtoxiques produits par <i>P. graminea</i> : . .	21
2.5.1. Les composés phytotoxiques contenus dans les filtrats de culture de <i>P. graminea</i> : . .	21
2.5.2. Caractérisation et stabilité des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de <i>P. graminea</i> : . .	22
2.5.3. Purification des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de <i>P. graminea</i> : . .	23
2.6. STRATEGIES DE LUTTE CONTRE LA STRIE FOLIAIRE : . .	24
3. MATERIEL ET METHODES . .	26
3.1. MATERIEL . .	26
3.1.1. Matériel végétal : . .	26
3.1.2. Matériel fongique : . .	26
3.2. METHODES : . .	27
3.2.1. Purification et conservation des isolats : . .	27
3.2.2. Etude de la variabilité des isolats de <i>P. graminea</i> : . .	28
3.2.3. Test du pouvoir pathogène: . .	30
3.2.4. Réaction de trois variétés d'orge à l'égard des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de trois isolats de <i>P. graminea</i> : . .	33
3.2.5. Vérification de l'activité phytotoxique des filtrats de culture partiellement purifiés : . .	34
3.2.6. Test de spécificité des composés toxiques contenus dans le filtrat de culture : . .	35
4. RESULTATS ET DISCUSSION . .	37
4.1. ETUDE DE LA VARIABILITE DES ISOLATS DE <i>P. GRAMINEA</i> : . .	37

4.1.1. Sporulation <i>in vitro</i> de <i>P. graminea</i> : . .	37
4.1.2. Caractères culturels : . .	38
4.1.3. Croissance mycélienne radiale : . .	41
4.1.4. Mensuration des conidies de <i>D. graminea</i> : . .	45
4.2. Etude du pouvoir pathogène des isolats et du comportement variétal : . .	48
4.2.1. Pouvoir pathogène des isolats : . .	48
4.2.2. Comportement des variétés d'orge à l'égard des isolats : . .	54
4.3. RéactionS des variétés d'orge à l'égard des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture : . .	56
4.3.1. Réaction de la variété sensible Saida à l'égard des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture : . .	56
4.3.2. Réaction de la variété moyennement résistante Rihane à l'égard des composés toxiques contenus dans les dialysats des filtrats de culture : . .	59
4.3.3. Réaction de la variété résistante Minnesota 23 à l'égard des composés toxiques contenus dans les dialysats des filtrats de culture : . .	59
4.4. Test de spécificité des filtrats de culture : . .	61
5. CONCLUSION . .	63
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES . .	65
ANNEXES . .	73
ANNEXE I préparation du bouillon de paille d'orge . .	73
ANNEXE II préparation des boudins de dialyse . .	73
Annexe III préparation de la solution feso ₄ pour le milieu liquide de tomas et bockus (1987) modifié par haegi et al. (1994) . . .	73
Annexe IV préparation de la solution znso ₄ pour le milieu liquide de tomas et bockus (1987) modifié par haegi et al.(1994). . .	74

Remerciements

Je remercie Dieu qui m'a donné la santé, la patience et le courage pour réaliser ce travail.

Je tiens à remercier particulièrement mon promoteur Monsieur KEDAD. A., Chargé de cours à l'institut National Agronomique d'El Harrach (Alger), pour ces conseils judicieux qui m'ont permis d'améliorer considérablement mon travail.

Mes sincères remerciements s'adressent à Monsieur BOUZNAD Z., Professeur à l'Institut National Agronomique d'El Harrach (Alger), qui nous a fait l'honneur de présider le jury.

Mes vifs remerciements à Monsieur BENBELKACEM A., Maître de conférence à l'Université de Constantine et directeur de l'Institut National de la Recherche Agronomique d'El Khroub, pour son aide précieuse à la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier Madame LOUANCHI M., Maître de conférence à l'Institut National Agronomique d'El Harrach (Alger), pour avoir accepté de juger ce travail.

Mes vifs remerciements à Monsieur AISSAT A., Maître de conférence à l'Université de Blida, pour avoir accepté de juger ce mémoire.

J'exprime ma reconnaissance et mes sincères remerciements à tous ceux qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Résumé

La strie foliaire ou la maladie striée de l'orge causée par *Pyrenophora graminea* est parmi les maladies les plus importantes qui affectent l'orge en Algérie.

Ce présent travail a pour objectifs : l'étude de la variabilité de 18 isolats de *Pyrenophora graminea* provenant de différentes régions de culture d'orge en Algérie, en tenant compte des critères suivants : sporulation, caractères morphologiques et le pouvoir pathogène. Les composés toxiques partiellement purifiés de trois isolats de *Pyrenophora graminea* choisis selon leurs réactions lors du test du pouvoir pathogène ont été testés sur trois variétés d'orge. La spécificité des composés toxiques contenu dans le filtrat de culture de l'isolat le plus virulent a été également testée sur 4 espèces non hôtes.

La sporulation, les caractères morphologiques (type de croissance et couleur des colonies, croissance mycélienne et mensuration des conidies) ainsi que le test du pouvoir pathogène a révélé une grande variabilité entre les 18 isolats. En outre, les trois variétés utilisées lors du test du pouvoir pathogène ont montré un niveau de résistance très différent.

L'infiltration des filtrats de culture des trois isolats induit sur les feuilles des trois variétés des symptômes analogues à ceux observés chez des plantes infectées par le champignon. Cependant, l'extension des stries est en relation avec le degré de virulence de l'isolat et du niveau de résistance de la variété infiltrée. Les composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de *Pyrenophora graminea* confirment leur spécificité à l'orge.

Mots clés : *Pyrenophora graminea*, orge (*Hordeum vulgare*), variabilité, purification partielle, filtrat de culture, spécificité.

Abstract

Barley leaf stripe caused by *Pyrenophora graminea* is a disease among most important ones affecting barley in Algeria.

The objective of this work is to study variability of 18 isolates of *Pyrenophora graminea* collected from different Algerian culture areas using sporulation, morphological characters and pathogenicity. Phytotoxic compound of three strains of *Pyrenophora graminea* was tested on leaf of three varieties of barley. Specificity of phytotoxic compound of *Pyrenophora graminea* was tested on 4 other species.

Sporulation, morphological characters (mycelia growth and colour, conidia diameter) and pathogenicity test showed that broad variability exists between strains of *Pyrenophora graminea* and between barley cultivars, ranging from very high resistance to extremely high susceptibility.

Upon infiltration of barley leaves by culture filtrates is able to reproduce symptoms of the disease but the extension of necrosis induced by the toxin paralleled the degree of virulence of the corresponding fungal isolate and the degree of resistance of variety.

Phytotoxic compounds in culture filtrates of *Pyrenophora graminea* confirmed that it is specific of barley

Key words : *Pyrenophora graminea*, barley (*Hordeum vulgare*), variability, partial purification, culture filtrates, specificity.

ص خ لم

يعتبر مرض تخطط الشعير من أكثر الأمراض الفطرية انتشارا في الجزائر. والمسبب فيه هو *Pyrenophora graminea* □ ويهدف هذا البحث إلى دراسة تنوع عدة عزالات تم جمعها من مناطق مختلفة لزراعة الشعير في الجزائر ولهذا أخذنا العنصر الثالثية بعين الاعتبار. التنوع، *Pyrenophora graminea* بالإضافة إلى ذلك، فمنا بارفناح المحلول الذي يحتوي على . الخصائص المرفولوجية والمرضية وفمنا أيضا بالذبحار هذه المكونات . المكونات السامة لثلاثة عزالات في أوراق ثلاثة أنواع من الشعير □ . السامة على نباتات من فصائل أخرى

التنوع، الخصائص المرفولوجية (طبيعة ولون الميسيليوم، معدل نمو الميسيليوم ومقاوم الكونيدوي) كما أظهرت التجارب أيضا أن الأنواع . والخصائص المرضية أظهرت وجود تنوع بين مختلف العزالات □ . الثلاثة للشعير المستعملة مختلفة من حيث مقاومة المرض

أما بالنسبة للمكونات السامة المتواجدة في البيئة الاصطناعية بعد الترشيح فهي قادرة على أن تسبب □ . نفس أعراض مرض تخطط الشعير إلا أن طول الأعراض مختلف بين الثلاث عزالات المستعملة

كما أظهرت هذه المركبات السامة المتواجدة في البيئة الاصطناعية أنها قادرة على إظهار أعراض □ . غير إلا على الشعير وليس في فصائل أخرى فهي مقاومة لهذا الفطر مرض تخطط الشعير

كلمات المفتاح *Pyrenophora graminea* ، الشعير، تنوع، تصفية جزئية، المحلول المرشح، تخصص

INRODUCTION

Les céréales constituent l'alimentation de base d'une grande partie de la population du globe. Au niveau mondial, elles occupent une superficie de 666,50 millions d'hectares et donnent une production de 2050,90 millions de tonnes (FAO, 2007). L'orge (*Hordeum vulgare* L.) qui est l'une des céréales les plus anciennement cultivées occupe la quatrième place après le blé, le riz et le maïs (POEHLMAN, 1985).

En Algérie, les superficies réservées aux cultures d'orge s'élèvent à 685 000 hectares et donnent une production moyenne de l'ordre de 1 033 000 tonnes ce qui représente un rendement de 15,09 q/ha (FAO, 2005). Cette production ne couvre pas les besoins et l'Algérie a souvent recours à des importations d'orge comme par exemple en 2003 où celles-ci se sont élevées à 400 000 tonnes. Plusieurs facteurs comme les pratiques culturales, les aléas climatiques et l'utilisation de variétés anciennes pourraient expliquer la faiblesse des rendements (BENDIF, 1994; SAYOUD et BENBELKACEM, 1996). Les maladies représentent un facteur non négligeable dans la diminution des rendements surtout lorsque les conditions leur sont favorables. En Algérie, les maladies fongiques les plus communément répandues sur les orges sont : la rayure réticulée, la strie foliaire, la rhynchosporiose, les charbons nu et couvert et l'oïdium. Les pertes causées par ces maladies n'ont cependant jamais été évaluées (Benbelkacem, 1991 ; Bendif, 1994).

La strie foliaire de l'orge causée par *Pyrenophora graminea* Ito & Kurib. est une maladie très fréquente sur les cultures d'orge en Algérie. Elle engendre chaque année des pertes non négligeables. L'incidence élevée de la strie foliaire en Algérie pourrait s'expliquer par l'utilisation des semences non traitées et de variétés très sensibles comme, par exemple, Saida et Tichedrett. Etant donné que le *P. graminea* est essentiellement transmis par les semences, l'absence de traitement de ces dernières entraînent, d'année en année, une augmentation du potentiel d'inoculum de ce pathogène.

L'utilisation de variétés résistantes reste la méthode la plus élégante, la plus économique et la moins polluante pour lutter contre la strie foliaire. La recherche de variétés résistantes à la strie foliaire a fait l'objet de nombreux travaux à travers le monde (Aragona et Porta-Puglia, 1999 ; Tacconi et al., 2001 ; Arru et al., 2002 ; Nielson, 2002 ; Mueller et al., 2003 ; Bonardi et al., 2003 ; Arabi, 2005). Jusqu'en 1995, aucune source de résistance n'a été détectée chez les variétés d'orge cultivées en Algérie (Sayoud et Bendif, 1995). Plus récemment, il a été décelé chez la variété Harmel un certain degré de résistance à l'égard de certaines souches de *P. graminea* (Benbelkacem, 2003 ; Benslimane, 2003).

La variabilité du *P. graminea* a fait également l'objet de nombreux travaux de recherche (GATTI et al., 1992 ; JAWHAR et al., 2000 ; ARABI et al., 2002 ; JAWHAR et al., 2004). La plupart de ces travaux ont montré qu'il existe des différences morphologiques, pathologiques, physiologiques, biochimiques et génétiques entre les divers isolats de *P. graminea* et une variabilité dans le comportement des cultivars d'orge à l'égard de ces derniers. Cette différence dans le comportement des cultivars d'orge laisse supposer l'existence de gènes de résistance et une variabilité de la virulence entre les différents isolats.

C'est dans ce contexte que nous avons essayé d'étudier, dans une première étape, la variabilité de 18 isolats de *P. graminea* provenant de différentes régions algériennes en

tenant compte des critères suivants : sporulation des souches sur deux milieux de culture, caractères culturels (type de croissance des colonies, couleur du mycélium et du substrat), croissance mycélienne sous différentes températures et mensuration des conidies.

Dans une seconde phase, nous avons essayé d'évaluer le niveau de résistance de trois variétés d'orge : Saida, Rihane et Minnesota 23, à l'égard des 18 isolats de *P. graminea*. L'évaluation du niveau de résistance a été réalisée dans le but de déceler une variabilité de la virulence entre les différents isolats, d'identifier une éventuelle source de résistance pouvant être utilisée dans un programme d'amélioration et de confirmer ou d'infirmer les résultats obtenus par Benbelkacem (2003) concernant le comportement des trois variétés à l'égard du *P. graminea*.

Dans une troisième étape, nous nous sommes intéressés aux composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de *P. graminea* car ils semblent jouer un rôle important dans les processus infectieux et, en outre, leur production paraît être étroitement corrélée avec la virulence des isolats (Haegi et PORTA-PUGLIA, 1995). Pour cela, nous avons procédé à une purification partielle des composés toxiques de trois isolats de *P. graminea* choisis, lors du test du pouvoir pathogène, sur la base de leur virulence et de leur agressivité. Afin de détecter l'existence d'une éventuelle relation entre le niveau de virulence des isolats et la production des composés toxiques (HAEGI et al., 1998), les filtrats de culture partiellement purifiés des trois isolats ont été infiltrés sur les limbes foliaires de trois variétés d'orge : Saida, Rihane et Minnesota 23 qui semblent être respectivement sensible, intermédiaire et résistante. La spécificité des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture d'un isolat virulent a été également testée sur 4 espèces végétales (blé, haricot, fève et pois) qui ne sont pas hôtes du *P. graminea*.

2.ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

L'orge est l'une des premières céréales à être domestiqué par l'homme (HARLAN et ZOHARY, 1966 ; ZOHARY, 1973 ; ZOHARY et HOPF, 1988). Cette domestication a pris place dans le Croissant Fertile (L'Irak, la Syrie, le Liban, la Jordanie, l'Israël et la Palestine), il y a de cela 10 000 ans, à partir d'une orge à deux rangs similaire à l'espèce *Hordeum spontaneum* (ZOHARY et HOPF, 1988) qui semble être l'ancêtre sauvage de l'orge actuelle *Hordeum vulgare* L. (HARLAN et ZOHARY, 1966 ; ZOHARY, 1969). Celle-ci est une céréale à paille appartenant à la famille des *Poaceae*. Grâce à sa grande rusticité et à son aptitude à s'adapter à diverses conditions climatiques et édaphiques, l'aire de répartition géographique de cette céréale est très étendue à travers le monde.

2.1. Importance de la culture d'orge dans le monde et en Algérie :

L'orge est principalement utilisée dans l'alimentation humaine (panification et brasserie) et animale (fourrage et grains).

Au niveau mondial, les cultures d'orge couvrent une superficie de 57 millions d'hectares et donnent une production de 155 millions de tonnes (FAO, 2005). La superficie mondiale réservée à la culture d'orge a été relativement stable au cours de ces deux dernières décennies. La Russie demeure le premier pays producteur d'orge avec 18 millions de tonnes suivie par le Canada avec 13,04 millions de tonnes et l'Allemagne avec 12,97 millions de tonnes (FAO, 2005).

En Algérie, l'orge est principalement cultivée au niveau des régions du sublittoral et des hauts plateaux où elle est essentiellement destinée à l'alimentation des ovins. Les variétés d'orge les plus cultivées à l'échelle nationale sont Saida 183 et Tichedrett. Ces deux variétés locales se caractérisent par une grande adaptation aux conditions climatiques des hauts plateaux et celles du sublittoral, elles ont un bon potentiel de production en fourrage et en grain, mais malheureusement elles sont très sensibles à plusieurs maladies comme par exemple la rayure réticulée, la strie foliaire et le BYDV ("Barley Yellow Dwarf Virus") (Tableau I). Ces deux dernières maladies engendrent chaque année des pertes de rendement très importantes surtout lorsque les conditions climatiques sont favorables (MUELLER et *al.*, 2003). Cependant, la strie foliaire dont l'agent

WILAYATE	NB DE CHAMPS	HT ¹	HG ²	C.C ³	RH ⁴	BYDV ⁵
Constantine	5	94	18	– ⁶	32	24
Mila	2	25	25	–	5	45
Guelma	2	15	42	2,5	20	7,5
Sétif	2	50	45	–	5	40
Bejaia	1	20	–	–	–	30
Oum El Bouaghi	4	72	51	–	16	27,5
Khenchela	2	30	22	2,5	17	30
Batna	3	33	13	–	–	33

TABLEAU I Enquête sur les maladies d'orge (exprimé en pourcentage) en Algérie à travers différents champs prospectés en 2004/2005 dans quelques wilayate. (D'après Benbelkacem et al., 2005).

¹ Rayure réticulée, ² Strie foliaire, ³ Charbon couvert, ⁴ Rhynchosporiose, ⁵ BYDV : Barley Yellow Dwarf Virus, ⁶ Présence négligeable

PAYS	INCIDENCE DE LA MALADIE (%)	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES
CANADA	2,8	TEKAUZ et CHICO (1980)
TURKIE	5,3	KAVAK (2004)
TUNISIE	6,7	YAHIAOUI et al. (1995)
IRAN	12,7	BABADOOST et TORABY (1991)
MAROC	26	EZZAHIRI et al., 1996
SYRIE	44 à 92	ARABI et al. (2004)
USA	50	JACKSON ET WEBSTER (1998)
ITALIE	50	TOUBIA-RAHAME et al. (1996)
ECOSSE	69	COCKRELL et al. (1995)
ALGERIE	80	SAYOUD et al. (1999)

Tableau III L'incidence de la strie foliaire exprimée en pourcentage de plants infectés dans quelques pays.

2.2. LA STRIE FOLIAIRE DE L'ORGE :

La strie foliaire de l'orge est une maladie qui est universellement répandue à travers toute l'aire de culture de l'orge. Elle entraîne le plus souvent des pertes de rendements non négligeables.

2.2.1. Distribution géographique et incidence de la strie foliaire :

La strie foliaire a été signalée dans plusieurs pays d'Europe, d'Amérique du nord et du sud et d'Asie (Dreschler, 1923). Elle est largement distribuée dans les zones de culture d'orge en Australie et en Afrique du nord (Zillinsky, 1983 ; WALLWORK, 1995). L'incidence de cette maladie exprimée en pourcentage de plants infectés varie cependant d'un pays à l'autre et d'une année à l'autre (Tableau II). Cette variation semble être due à l'importance de l'inoculum, aux conditions climatiques, aux variétés cultivées et aux semences utilisées (traitées ou non) (TOUBIA-RAHAM *et al.*, 1996 ; NIELSEN et SCHEEL, 1997 ; BABADOOST et JOHNSTON, 1998). L'incidence de la strie foliaire est variable dans les pays du Maghreb. Elle est négligeable en Tunisie, plus ou moins importante au Maroc et très élevée en Algérie où elle peut atteindre 80% (Sayoud *et al.*, 1999). Une enquête menée durant la période 1994-1995 au niveau des zones de culture d'orge en Algérie a montré que sur un total de 226 champs, l'incidence moyenne de la strie foliaire varie de 16,2% à 42,45% (Tableau III).

2.2.2. Importance économique de la strie foliaire :

La strie foliaire semble entraîner une diminution du nombre de talles par pied et du poids de mille grains (BABADOOST et TORABY, 1991 ; VIVEK KUMAR *et al.*, 1998 ; ARABI *et al.*, 2004). Le tableau IV indique certaines estimations de la réduction, de quelques composantes de rendement, causées par la strie foliaire sur l'orge en plein champ. La réduction du poids de mille grains semble être due à une réduction de la surface photosynthétique des limbes et à des troubles de transfert des produits synthétisés vers les épis (GAUNT et WRIGHT, 1992).

Les pertes causées par la strie foliaire varient en fonction du degré d'infection des semences (RICHARDSON *et al.*, 1976 ; BABADOOST et TORABY, 1991), de la variété cultivée (GATTI *et al.*, 1992 ; VIVEK KUMAR *et al.*, 1998 ; ARABI *et al.*, 2004) et des conditions climatiques (VIVEK KUMAR *et al.*, 1998). Sur des variétés sensibles, ces pertes peuvent atteindre 100% (SUNESON, 1946 ; MATHUR *et al.*, 1964 ; RICHARDSON *et al.*, 1976 ; NEERGARD, 1979 ; MAGNUS, 1979 ; PORTA-PUGLIA *et al.*, 1985 ; BEHAR et AULAKH, 1988 ; MATHRE, 1997).

WILAYATE	POURCENTAGE D'INFECTION (%)
Souk Ahras	29,2
Annaba	31,5
Guelma	29,8
Oum El Bouaghi	23,3
Batna	21,3
Constantine	22
Skikda	42,4
Khenchela	30,6
Bouira	39,5
Tiaret Nord	16,2
Tiaret Sud	26,3
Mila	28,3
Sétif	32,6
Bordj Bou Arrerdj	22,3

Tableau III Résultats d'enquête sur la maladie striée de l'orge en Algérie (1995) exprimés en pourcentage d'infection. (D'après Benbelkacem, 2003)

COMPOSANTES DE RENDEMENT	POURCENTAGE DE REDUCTION (%)
Poids de mille grains	79
Nombre de grains / épi	71
Nombre d'épi/ plant	36
Rendement en grains	93

Tableau IV Effet de la strie foliaire sur les composantes de rendement exprimé en pourcentage de réduction (D'après BABADOOST et TORABY, 1991).

2.2.3. Symptomatologie de la strie foliaire :

La strie foliaire est une maladie systémique qui est exclusivement transmise par la semence. En plein champ, les plants infectés montrent un développement réduit et sont, de ce fait, facilement distinguables de ceux qui sont sains (Christensen et GrahaM, 1934 ; RAPILLY, 1971 ; Haegi et al., 1998). Les symptômes varient en fonction de la virulence des souches, de la sensibilité des variétés hôtes et des facteurs climatiques (température et humidité) (Mathre, 1997).

La maladie se manifeste sur les plantules d'orge dès le stade trois feuilles, mais le plus souvent, les symptômes apparaissent durant le tallage et parfois juste avant l'épiaison

(MARTENS *et al.*, 1988). Les symptômes typiques consistent en l'apparition sur les limbes foliaires de stries chlorotiques ou vert jaunâtre, longitudinales et se limitant uniquement aux zones inter-nervaires. Ces stries finissent par s'étendre sur toute la longueur des limbes foliaires (Fig. 1a). Au fur et à mesure du développement de la maladie, les stries inter-nervaires prennent une coloration brun rougeâtre puis virent au brun sombre (Figs. 1b, c). Au stade final de la maladie, les feuilles se nécrosent complètement (Haegi *et al.*, 1998), puis se dessèchent et se déchirent en lanières (Fig. 1d).

Habituellement, les épis des plants infectés éprouvent des difficultés pour émerger de la gaine. Ceux qui émergent de la gaine montrent une distorsion des barbes. Les rares épis formés au niveau des plants infectés sont souvent stériles et exhibent une coloration marron (Fig. 1e) (TEKAUZ et CHICO, 1980 ; ZILLINSKY, 1983).

2.2.4. Quelques données épidémiologiques sur la strie foliaire :

La strie foliaire est une maladie systémique, à cycle simple. Elle est exclusivement transmise par la semence (ZILLINSKY, 1983 ; MATHRE, 1997). Son incidence en plein champ va donc dépendre du taux d'infection des semences ainsi que de la température et de l'humidité du sol au moment de la germination des graines. Les basses températures et une humidité élevée du sol constituent des conditions favorables à l'initiation et au développement des infections au niveau des plantules (Tekauz, 1983 ; SKOU et HAAHR, 1987 ; OBST, 1993 ; SKOU *et al.*, 1994).

Les températures du sol qui sont inférieures à 12°C durant les dix premiers jours après le semis favorisent le développement des infections durant la germination des semences (Tekauz, 1985 ; SKOU *et al.*, 1994 ; MUELLER *et al.*, 2003). Par contre, les températures comprises entre 15 et 20°C réduisent considérablement le taux d'infection qui devient pratiquement nul au-delà de 20°C (Tekauz et Chico, 1980).

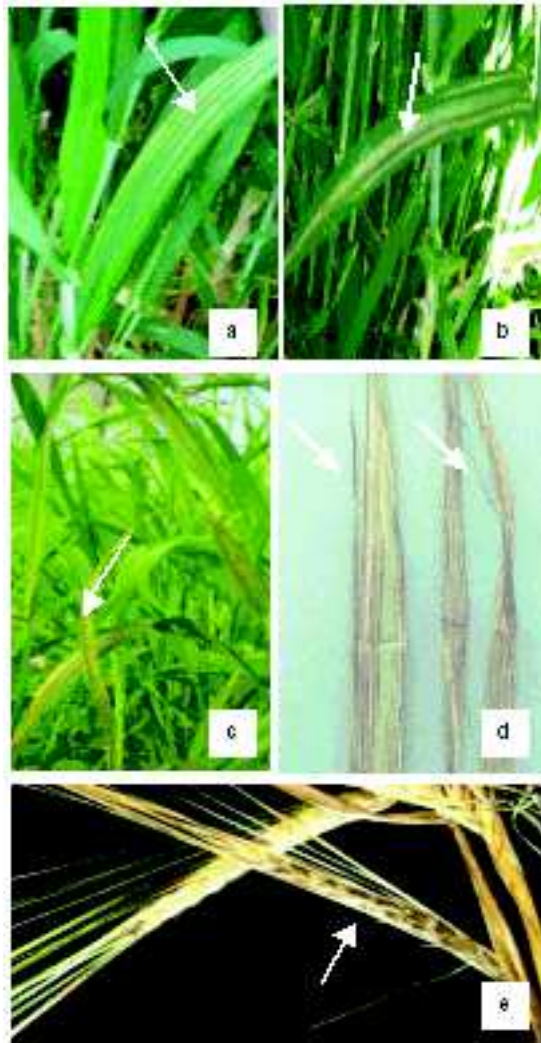


Figure 1 Symptomatologie de la strie foliaire. (a) Limbes foliaires montrant des stries chlorotiques (flèche). (b) Stries inter-nervaires brun rougeâtre (flèche). (c) Stries inter-nervaires brun sombre (flèche). (d) Limbes foliaires entièrement desséchés et déchirés en lanières. (e) Epis stérile (flèche) montrant une coloration marron.

2.3. L'AGENT CAUSAL DE LA STRIE FOLIAIRE :

La strie foliaire de l'orge est causée par *Pyrenophora graminea* Ito et Kuribayashi dont l'anamorphe est *Drechslera graminea* (Rabenh.ex Schlecht.) Shoemaker.

2.3.1 . Morphologie et taxonomie de *P. graminea* :

Le genre *Pyrenophora* Fr. renferme plusieurs espèces inféodées principalement aux *Poaceae* comme, par exemple, *P. graminea*, *P. teres* et *P. tritici-repentis*. Ces espèces appartiennent au phylum *Ascomycota*, à la classe *Dothyeomycetes* [=

“Loculoascomycètes” *sensu* LUTTRELL (1955)] et à la famille des *Pleosporaceae* (ERIKSSON et WINKA, 1997 ; ERIKSSON, 2006; SCHOCH et *al.*, 2006). Cette dernière se caractérise par des ascostromas qui sont principalement des pseudothèces subglobuleux inclus dans un substrat et des ascospores uniseptées et mûriformes (SCHOCH et *al.*, 2006)

Les pseudothèces de *P. graminea* qui sont rarement observés dans la nature (VON ARX, 1987) se forment sur les feuilles mortes et les gaines d’orge durant l’automne (RAPILLY et PON-CHET, 1962 ; ZILLINSKY, 1983). Ces pseudothèces (576-758 x 442-572 µm) sont velus à la partie supérieure et renferment des asques bituniqués à apex arrondi. Les ascospores (43-61 X 16-28 µm) ellipsoïdes, arrondies aux deux extrémités et mûriformes ont une coloration jaune brun. Les cellules terminales de ces ascospores ne sont jamais cloisonnées longitudinalement alors que les médianes en possèdent une ou deux cloisons longitudinales (MATHRE, 1997).

L’anamorphe *D. graminea* est classé dans le groupe artificiel des deutéromycètes parmi la famille des dématiaceae. Il présente des conidiophores bruns et érigés dont la longueur et la largeur varient respectivement entre 135-190 µm et 3,5-8 µm (Drechsler, 1923 ; Christensen et GRAHAM, 1934 ; Zillinsky, 1983). Ils se forment généralement en fascicules de deux à six conidiophores (Figs. 2a et b). Les conidies (50-95 x 15-20 µm) naissent solitairement à travers un pore situé à l’apex du conidiophore qui s’accroît successivement d’une manière sympodiale après la formation de chaque spore. Ces conidies (porospores) sont ellipsoïdes, droites, cylindriques et pourvues de 3 à 6 cloisons transversales (phragmospores) (Figs. 2c et d) (Zillinsky, 1983 ; VON ARX, 1987).

Plusieurs auteurs ont signalé la formation de pycnides chez *D. graminea* sur feuilles d’orge (PUTTERILL, 1954 ; RAPILLY et PONCHET, 1962). D’après MARTHRE (1997), les pycnides de *D. graminea* sont très rarement observées dans la nature. En outre, certains auteurs considèrent ces pycnides comme des structures stériles (PUTTERILL, 1954) alors que d’autres pensent qu’elles sont à rapprocher avec le genre *Phoma* en raison de leur pilosité très réduite ou absente (RAPILLY et PONCHET, 1962).

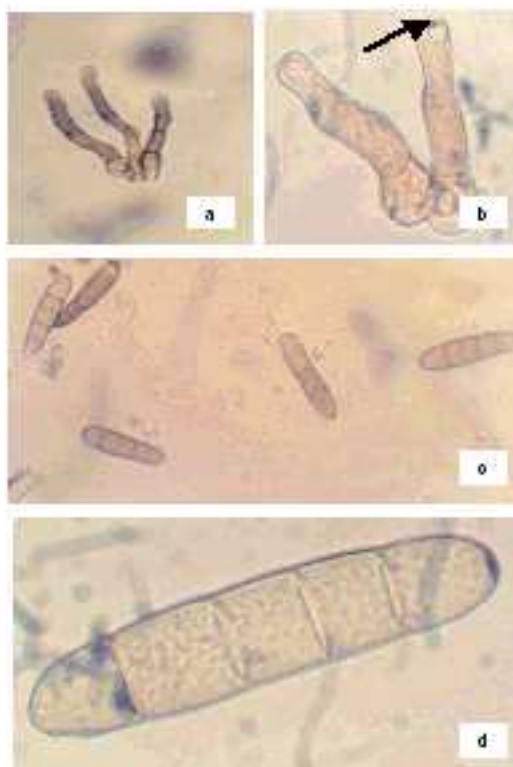


Figure 2 L'anamorphe de *Pyrenophora graminea*. (a) Trois conidiophores de l'anamorphe *D. graminea* groupés en fascicule (x 80). (b) Fascicule de deux conidiophores dont l'un d'eux montre un pore terminal (flèche) par lequel s'est formée une conidie (porospore) (x 320). (c) Conidies transversalement septées (phragmospores) de l'anamorphe *D. graminea* (x 80). (d) Détail d'une conidie montrant quatre cloisons transversales (x 320).

2.3.2. Biologie de l'agent causal de la strie foliaire :

P. graminea semble se conserver sous forme de mycélium dans les enveloppes du grain (RAPILLY et al., 1971 ; ZILLINSKY, 1983 ; PECCHIONI et al., 1999 ; ARABI et al., 2002 ; ARRU et al., 2002 ; ARABI et al., 2004 ; ARABI et al., 2005). Les ascospores issues des pseudothèces ne semblent pas intervenir dans l'initiation de la maladie. En effet, les stromas dans lesquels se différencient les pseudothèces se forment rarement sur les chaumes d'orge durant l'automne (ZILLINSKY, 1983).

Lors de la germination de la semence, le mycélium hibernant au niveau de la graine infecte la plantule à travers le coléorhize (SKOROPAD et ARNY, 1956). Les hyphes progressent ensuite entre les cellules parenchymateuses du nœud scutellaire pour atteindre le coléoptile (HAEGI et al., 1998). A partir de celui-ci, les hyphes pénètrent l'ébauche de la première feuille. Lorsque les tissus constituant la première feuille sont complètement envahis, les hyphes s'étendent à l'ébauche de la deuxième feuille. Le champignon progresse ainsi de proche en proche à travers les feuilles et les tiges et peut atteindre le point végétatif (RAPILLY et al., 1971). Les plantes deviennent ainsi systématiquement infectées (PLATENKAMP, 1976). La croissance et le comportement du champignon durant les premiers stades de l'infection ne sont pas encore connus avec certitude à cause de la

difficulté de suivre la progression du mycélium d'abord à l'intérieur du péricarpe puis plus tard au niveau des plantules (ARAGONA et PORTA-PUGLIA, 1999).

La colonisation des tissus de l'hôte peut durer jusqu'au stade épiaison. A ce moment et lorsque l'humidité de l'air est relativement élevée, le champignon sporule sur les dernières feuilles. Les spores disséminées par le vent vont contaminer le péricarpe des jeunes caryopses où elles germent pour donner un tube germinatif qui évolue en un mycélium (ARRU et *al.*, 2002 ; BENBELKACEM, 2003). L'infection du grain peut intervenir à tout moment à partir de la floraison jusqu'au stade pâteux du grain. Cependant, les grains sont plus sensibles au début de leur formation (Tevidale et Hall, 1976 ; Knudsen, 1980). Les graines produites vont donc héberger le mycélium qui se conservera jusqu'à la prochaine campagne agricole (Lumumba, 1985).

2.4. Variabilité du couple *Hordeum vulgare* / *Pyrenophora graminea*:

Plusieurs travaux réalisés en plein champ ont suggéré qu'il existe une grande variabilité dans l'interaction *D. graminea* (anamorphe de *P. graminea*) □ cultivars d'orge (KLINE, 1971 ; TEKAUZ, 1983 ; KNUDSEN, 1986 ; BOULIF et WILCOXSON, 1988 ; DELOGU et *al.*, 1989 ; GATTI et *al.*, 1992 ; BENBELKACEM, 2000). Ceci semble être dû à la variabilité génétique des génotypes d'orge ou des isolats de *D. graminea* ou des deux à la fois.

2.4.1 . Variabilité des isolats de *P. graminea* :

Plusieurs types de variabilité (pathologique, culturale et génétique) ont été constatés chez *P. graminea*.

2.4.1.1. Variabilité du pouvoir pathogène des isolats de *P. graminea* :

Une grande variabilité du pouvoir pathogène entre les différents isolats de *D. graminea* (anamorphe de *P. graminea*) a été signalée par plusieurs chercheurs (CHRISTENSEN et GRAHAM, 1934 ; ARNY, 1945 ; KLINE, 1972 ; MOHAMMED et MAHMOOD, 1976, SMEDEGARD-PETERSEN et JØRGENSEN, 1982 ; KNUDSEN, 1986 ; HAMMOUDA, 1988 ; GATTI et *al.* 1992 ; DELOGU et *al.*, 1995 ; ZRIBA et HARRABI, 1995 ; ARABI et *al.*, 2002). La plupart de ces travaux ont montré que les isolats de *D. graminea* peuvent être classés en avirulent, intermédiaire et virulent. L'analyse des isolats qui diffèrent par leur virulence s'est avérée extrêmement intéressante pour la recherche de races ayant des gènes spécifiques impliqués dans l'interaction hôte - pathogène. Cette spécialisation physiologique a été signalée en premier par JOHNSON (1925). Par la suite, quatre à cinq races physiologiques ont été identifiées (KNUDSEN, 1980). Cependant, HAEGI et *al.* (1998) pensent qu'il ne semble pas y avoir une spécialisation très claire et qu'il existe seulement une variabilité dans les réactions des génotypes d'orge et dans la virulence des isolats.

1.4.1.2. Variabilité des caractères cultureux des isolats de *P. graminea* :

Plusieurs chercheurs (CHRISTENSEN et GRAHAM, 1934 ; GATTI et *al.*, 1992 ; ZRIBA et HARABI, 1995 ; ARABI et *al.*, 2002 ; BENSLIMANE, 2003) ont remarqué que les divers

isolats de *P. graminea* montrent *in vitro* une grande variabilité des caractères culturels plus particulièrement dans le type de croissance des colonies qui peut être cotonneux, pelucheux, compact, duveteux, spongieux et ras ainsi que dans la couleur du mycélium (vert, blanc, jaune, rouge et noir) et du substrat (rouge, noir, jaune, vert et orange). Cette variabilité des caractères culturels des isolats semble être sous la dépendance des conditions de l'environnement (ARABI *et al.*, 2002). La sporulation des isolats de *P. graminea* sur divers milieux de culture montre également une grande variabilité. En effet, la production des conidies et des conidiophores sur les milieux PDA contenant 2% de paille de riz, V8JA ("V8 Juice Agar") et BSEA ("Barley Straw Extract Agar") diffère entre des isolats provenant de différentes régions du globe et même entre ceux qui appartiennent à une même région (Sengupta et Singh, 1979 ; GRBAVAC, 1981 ; BABADOOST et JONHSTON, 1998).

1.4.1.3. Variabilité moléculaire des isolats de *P. graminea* :

L'utilisation des caractères morphologiques des conidiophores et des conidies et des caractéristiques de la croissance du *P. graminea* sur des milieux spécifiques ne permet pas de distinguer les isolats de ce champignon car ces derniers montrent une grande variabilité. C'est pour cela que plusieurs marqueurs moléculaires [protéines solubles, RFLP (= "Restriction Fragment Length Polymorphism") et RAPD (= "Random Amplification of Polymorphic DNA")] ont été utilisés pour analyser la variabilité génétique des différents isolats de *P. graminea*.

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide des protéines solubles extraites à partir du mycélium de douze isolats de *P. graminea* a permis de mettre en évidence plusieurs groupes (GATTI *et al.*, 1992). Ces derniers indiquent qu'il existe un certain polymorphisme au niveau des protéines des isolats de *P. graminea*. Ce polymorphisme protéique semble être dû à une diversité génétique entre les différents isolats (GATTI *et al.*, 1992 ; ARABI *et al.*, 2002 ; BENSLIMANE, 2003). Aucune corrélation n'a pu être établie jusqu'à présent entre les groupes déterminés par électrophorèse et la virulence des isolats.

L'analyse de l'ADN génomique de neuf isolats de *P. graminea* par RAPD a révélé une différence dans la taille et le nombre de bandes d'ADN amplifiées à l'aide de deux amorces (OPK3 et OPK5) (Jawhar *et al.*, 2000). Ceci indique qu'il existe une grande variabilité entre les isolats de ce champignon et que la RAPD pourrait être utilisée pour la distinction des isolats de *P. graminea*.

La PCR (= "Polymérase Chain Reaction") associée avec la RFLP a été également utilisée pour analyser la variabilité génétique des isolats de *P. graminea*. L'amplification et l'analyse de l'ADN intergénique [IGS (= "Intergenic spacer")] situé entre les gènes codant pour l'ARNr 28S et l'ARNr 18 S de six isolats provenant de trois pays (Italie, Autriche et Tunisie) a révélé un polymorphisme (PECCHIA *et al.*, 1998). L'analyse des profils IGS-RFLP de plusieurs isolats syriens de *P. graminea* a également montré une grande variabilité et a permis de mettre en évidence trois groupes d'isolats distincts (Jawhar *et al.*, 2004).

2.4.2. Variabilité de la réaction des cultivars d'orge à l'égard des isolats de *P. graminea* :

La réaction des cultivars d'orge à l'égard des isolats de *P. graminea* est très variable (TEKAUZ, 1983 ; BOULIF et WILCOXSON, 1988 ; DELOGU *et al.*, 1989). Les inoculations artificielles réalisées sous serre sur plusieurs cultivars d'orge montrent des différences

dans la réponse de ces derniers à l'égard des isolats de *P. graminea*. Les tests en plein champ indiquent également que les cultivars exhibent le plus souvent un comportement très variable.

L'inoculation artificielle des génotypes d'orge par des isolats de *P. graminea* montre que la réaction de ces derniers varie d'un génotype très résistant à un autre très sensible avec un pourcentage d'infection qui varie entre 0 et 100% (KLINE, 1971 ; TEKAUZ, 1983 ; KNUDSEN, 1986 ; BOULIF et WILCOXSON, 1988 ; DELOGU et al., 1989 ; GATTI et al., 1992 ; BENBELKACEM, 2003 ; BENSLIMANE, 2003). ARABI et al. (2004) ont détecté une variabilité dans la sévérité de la maladie en contaminant artificiellement des semences de dix cultivars d'orge par un isolat de *P. graminea* très virulent. Certains de ces cultivars ont exhibé une sensibilité très élevée avec des incidences de la maladie variant entre 81 et 100%, d'autres se sont montrés moins sensibles avec une incidence allant de 57 à 60% et enfin certains se sont avérés modérément résistants avec une incidence de 12 à 26%. Un seul cultivar s'est montré très résistant avec une incidence de 1%. Ceci semble être dû à la variabilité génétique des génotypes d'orge (KNUDSEN, 1986 ; GATTI et al., 1992). Ces derniers qui se sont avérés résistants à la strie foliaire semblent être pourvus d'un ou de plusieurs gènes de résistance à l'égard de cette maladie (ISENBECK, 1930; ARNY, 1945; SUNESON, 1950; KONAK, 1983; BOULIF et WILCOXSON, 1988; VALE et al., 1994; TOUBIA-RAHAME et al., 1996; ARRU et al., 2002; NIELSEN, 2002; BONARDI et al., 2003).

2.5. Les composés PHYTOtoxiques produits par *P. graminea* :

Afin de coloniser les tissus, les champignons phytopathogènes secrètent des enzymes qui dégradent les constituants chimiques de la paroi et produisent des hormones de croissance et divers autres métabolites qui affectent certaines fonctions vitales de la plante hôte (KEEN, 1992). Parmi les métabolites qui ne sont ni des enzymes, ni des hormones, on peut citer les "toxines phytopathogènes" que l'on désigne sous le nom de "phytotoxines" (GOODMAN, et al., 1986). Celles-ci ont été classées soit selon le type d'organismes producteurs (bactéries, champignons), soit selon les caractéristiques chimiques du composé toxique (peptides, terpènes, polysaccharides, ... etc.), soit selon le mode d'action et le rôle possible dans la pathogenèse (SCHEFFER et BRIGGS, 1981 ; LEPOIVRE, 2003). Cependant, la classification la plus acceptable est celle basée sur la sélectivité (= spécificité) de ces composés toxiques (RUDOLPH, 1976 ; SCHEFFER, 1976). Selon cette sélectivité, PRINGLE et SCHEFFER (1964) distinguent les toxines hôtes sélectives (ou hôtes spécifiques) et les toxines non hôtes sélectives.

2.5.1. Les composés phytotoxiques contenus dans les filtrats de culture de *P. graminea* :

Les anamorphes du genre *Pyrenophora* sont connus pour produire différents types de toxines qui sont hôtes sélectives (KONO et al., 1981 ; LAMARI et BRENIER, 1989 ; TOMAS et BOCKUS, 1987 ; VIDHYASEKARAN et al., 1986) ou hôtes non sélectives (GRANITI et PORTA-PUGLIA, 1984 ; ROBESON et STROBEL, 1982 ; STOESSL, 1981 ; STROBEL et al., 1988) (Tableau V). *P. teres*, agent causal de la rayure réticulée, qui est une espèce

étroitement apparentée au *P. graminea* produit trois toxines hôtes sélectives (BACH et al., 1979 ; SMEDEGARD-PETERSEN, 1977) et deux autres non hôtes sélectives (COVAL et al. 1990). *P. graminea*, agent causal de la strie foliaire, produit une toxine hôte sélective désignée sous le nom de "toxine Pg" qui semble être le facteur principal dans l'interaction hôte pathogène (HAEGI et al., 1994).

Les filtrats de culture de *P. graminea* infiltrés dans les limbes foliaires d'orge sont capables de produire les symptômes typiques de la strie foliaire (ARAGONA et al., 1991 ; Haegi et al.,

PATHOGENES	COMPOSES PHYTOTOXIQUES	NATURE CHIMIQUE	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES
A. TOXINES HOTES SELECTIVES			
<i>P. graminea</i>	Toxine Pg	Glycoprotéine	HAEGI et PORTA-PUGLIA (1995)
<i>P. tritici-repentis</i>	Ptr Tox A	Protéine	LAMARI et BRENIER (1989)
	Ptr Tox B	Protéine	OROLAZA et al. (1995)
	Ptr Tox C	(Non encore identifiée)	EFFERTZ et al. (1998)
<i>P. teres</i>	Toxine A	Protéine	SMEDEGARD-PETERSEN (1977)
	Toxine B	Protéine	SMEDEGARD-PETERSEN (1977)
	Toxine C	Protéine	BACH et al. (1979)
B. TOXINES NON HOTES SELECTIVES			
<i>P. teres</i>	Pyrenoline A	Peptide	COVAL et al. (1990)
	Pyrenoline B	Peptide	COVAL et al. (1990)

TABLEAU V Les composés phytotoxiques produits par les anamorphes appartenant au genre Pyrenophora.

1994 ; Haegi et al., 2002 ; Haegi et al., 2004). Ceci laisse suggérer la présence dans ces filtrats de composés toxiques qui induisent l'apparition sur le limbe foliaire de stries nécrotiques caractéristiques de cette maladie. Les composés toxiques contenus dans les filtrats sont produits par tous les isolats testés avec, cependant, des différences dans l'évaluation des symptômes. Certaines souches produisent des symptômes plus accentués que d'autres. Ces différences entre les isolats peuvent être dues soit à la quantité de toxines produites par la souche, soit aux types de molécules toxiques, soit à l'action des autres molécules produites par le pathogène dans le filtrat de culture (HAEGI et al., 1994).

2.5.2. Caractérisation et stabilité des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de *P. graminea* :

Les composés toxiques présents dans les filtrats de culture des isolats de *P. graminea* semblent avoir un poids moléculaire supérieur à 10 000 Da. Ces composés conservent leur activité phytotoxique à des pH compris entre 7 et 9. Le traitement à la chaleur (121°C pendant 15 minutes) n'a aucun effet sur leur activité phytotoxique. Celle-ci se perd

cependant après un traitement de ces composés par l'acide chlorhydrique normal à une température de 110°C pendant 60 minutes.

Les traitements par l'éthanol, le méthanol, le sulfate d'ammonium et la chaleur des filtrats de culture entraînent une précipitation partielle des composés toxiques. Après centrifugation de la solution composés toxiques / solvant, l'activité phytotoxique se retrouve aussi bien dans le surnageant que dans le culot suspendu dans de l'eau distillée. Les composés toxiques sont totalement précipités par l'acétone à \square 20°C (Haegi et al., 1994).

Les enzymes α et β glucosidase, α et β galactosidase, α mannosidase et protéases n'ont aucun effet sur l'activité des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture. Par contre, la β glucuronidase inhibe l'activité phytotoxique de ces composés. Ceux-ci semblent donc contenir une fraction glucidique qui est responsable de l'apparition de stries nécrotiques sur les feuilles (Haegi et Porta-Puglia, 1995 ; HAEGI et al., 1998). Cette hypothèse a été vérifiée par l'utilisation de plants d'orge qui ont subi une transformation par l'introduction du gène Gus A qui code pour la β glucuronidase (Haegi et al., 2002). L'analyse de l'activité de la β glucuronidase dans les plants d'orge transformés montre que celle-ci leur confère une résistance à la toxine Pg. En outre, il existe une bonne corrélation entre l'activité de cette enzyme et la résistance à la toxine.

2.5.3. Purification des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de *P. graminea* :

Différentes techniques de chromatographie (chromatographie à échange d'ions, chromatographie sur gel de filtration et chromatographie sur colonne) ont été utilisées pour purifier les composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de *P. graminea* (Haegi et PORTA-PUGLIA, 1995). La purification de ces composés par les différentes techniques de chromatographie a montré l'existence de deux fractions PI et PII. Le poids moléculaire des fractions PI et PII est respectivement égal à 250 \square 300 KDa et 55 KDa. La spécificité de ces deux fractions a été testée sur diverses plantes (orge, blé dur et tendre, avoine, maïs, fèves, tabac et poirier). La fraction PII qui a été désignée sous le nom de toxine Pg s'est montrée très sélective ; elle n'induit les stries nécrotiques que chez l'orge seulement alors que PI provoque l'apparition de taches nécrotiques ou chlorotiques sur les feuilles des plantes non hôtes du *P. graminea* comme le blé, l'avoine, le maïs, la fève, le tabac et le poirier.

Les deux fractions PI et PII sont composées de glucides et de protéines. L'analyse des glucides par chromatographie en phase liquide (HPLC = "High Performance Liquid Chromatography") montre que les fractions PI et PII contiennent les monosaccharides suivants : acide glucuronique, fructose, galactose et glucose. Le sucre le plus prédominant est le fructose pour les deux fractions (Tableau VI). La fraction PI contient beaucoup plus de galactose et de glucose par rapport à PII. Les polymères contenant l'acide glucuronique sont impliqués dans la phytotoxicité car celle-ci est détruite par la β glucuronidase. La partie protéique des deux fractions n'est pas nécessairement impliquée dans l'activité phytotoxique car le traitement par les différentes protéases n'empêche pas l'apparition de symptômes. (Haegi et PORTA-PUGLIA, 1995).

FRACTIONS	POURCENTAGE DE MONOSACCHARIDES			
	Acide glucuronique	Glucose	Galactose	Fructose
PI	1,52	10,5	18,17	69,77
PII	8,15	4,30	2,36	85,10

TABLEAU VI Composition monosaccharidique des fractions PI et PII déterminée par HPLC (selon Haegi et PORTA-PUGLIA, 1995).

2.6. STRATEGIES DE LUTTE CONTRE LA STRIE FOLIAIRE :

La lutte contre la strie foliaire se base principalement sur la réduction du taux d'inoculum initial. Des méthodes de lutte préventives, chimiques et génétiques ont été préconisées à l'égard de cette maladie.

Parmi les mesures de lutte préventives, on peut citer les semis tardifs qui permettent aux plantules d'échapper à la maladie. En effet, les températures supérieures à 15°C durant les dix premiers jours après les semis réduisent considérablement le taux d'infection des plantules (TEKAUZ, 1985). Etant donné que la strie foliaire est une maladie essentiellement transmise par les semences, la production de ces dernières dans des régions relativement sèches diminue la quantité d'inoculum au niveau des graines d'orge (Jackson et Webster, 1988).

Les fongicides organo-mercuriques introduits durant les années 1920 ont réduit considérablement l'incidence de la strie foliaire (TUNALI, 1995). Cependant, l'interdiction de ces fongicides à cause de leurs effets sur l'environnement et de leur toxicité sur les êtres vivants a orienté la lutte chimique vers la recherche d'autres molécules moins nocives (STEVENS et al., 1997). C'est ainsi que l'utilisation des fongicides systémiques en enrobage des semences comme, par exemple la carboxine associée au thirame a permis de contrôler efficacement la strie foliaire (DELOGU et al., 2003). De même, le prothioconazole qui appartient à la famille chimique des triazolinthiones et qui a été également utilisé en enrobage des semences a montré une bonne efficacité à l'égard du *P. graminea* (Suty-Heinze et al., 2004). Cependant, le coût élevé des traitements chimiques des semences et le risque d'apparition de nouvelles souches résistantes ont réduit l'utilisation des fongicides systémiques (DELOGU et al., 1995 ; DELOGU et al., 2003).

Les limites de l'utilisation des fongicides systémiques (coût élevé, apparition de souches résistantes) ont exigé le développement de nouvelles stratégies de lutte comme la création par hybridation de nouvelles variétés résistantes au *P. graminea* (KLINE, 1972 ; ARAGONA et PORTA-PUGLIA, 1999 ; MUELLER et al., 2003). Pour ce faire, il faut identifier des gènes de résistance afin de les incorporer dans des variétés sensibles. Plusieurs travaux de recherche ont été réalisés dans le but de comprendre les bases de la génétique de la virulence du *P. graminea* et de la résistance des cultivars d'orge

(VALE et *al.*, 1994, PECCHIONI et *al.*, 1996). Cependant, les travaux de différents groupes de chercheurs utilisant des variétés communes d'orge ont aboutit le plus souvent à des résultats contradictoires et, de ce fait, l'hérédité de la résistance à la strie foliaire demeure encore mal comprise. Certains auteurs pensent que la résistance de l'orge est monogénique (qualitative), d'autres estiment qu'elle est polygénique (quantitative) et quelques uns ont suggéré qu'elle est contrôlée par deux à trois gènes.

SKOU et HAAHR (1987), SKOU et *al.* (1994) et TACCONI et *al.* (2001) pensent que la résistance à la strie foliaire est qualitativement contrôlée par un seul gène majeur qui a un comportement semi-dominant. C'est ainsi qu'il a été trouvé chez des variétés danoises un gène de résistance qui a conféré la "résistance Vada" à plusieurs cultivars européens. Ce gène a été localisé et dénommée Rdg1. De même, la résistance partielle du génotype d'orge Proctor semble être conditionnée par un seul gène (PECCHIONI et *al.*, 1996). Récemment, il a été trouvé chez certaines variétés d'orge à six rangs le gène Rdg2 qui a été également identifié et localisé (TACCONI et *al.*, 2001).

SMEDEGARD-PETERSEN et JORGENSEN, (1982), PECCHIONI et *al.* (1996) et ARRU et *al.* (2003) estiment, cependant, que la résistance au *P. graminea* est héritée quantitativement. En effet, plusieurs gènes de résistance ont été identifiés par des marqueurs moléculaires chez le cultivar Vada (PECCHIONI et *al.* 1999) chez lequel une résistance monogénique a pourtant été décrite (SKOU et *al.*, 1994).

Enfin, BOULIF et WILCOXSON (1988) suggèrent que la résistance à la strie foliaire est contrôlée par deux à trois gènes dont deux sont récessifs et ont des effets épistatiques ou additifs. Ces résultats contradictoires montre que les interactions hôte – pathogène chez le couple *P. graminea*/*H. vulgare* ne sont pas encore bien comprises.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. MATERIEL

3.1.1. Matériel végétal :

Trois variétés d'orge : Saida 183, Rihane 03 et Minnesota 23 ont été utilisées pour étudier le pouvoir pathogène des isolats de *P. graminea* récoltés dans différentes régions céréalières d'Algérie. Ces trois variétés qui ont été choisies en raison de leur comportement connu vis-à-vis de la strie foliaire (BENBELKACEM, 2003) nous ont été aimablement fournis par les stations expérimentales de l'ITGC (= Institut Technique des Grandes Cultures) d'Oued Smar et d'El Khroub. L'origine, la provenance ainsi que le comportement de ces variétés à l'égard de la strie foliaire sont indiqués dans le Tableau VII.

VARIETES	ORIGINE	PROVENANCE	COMPORTEMENT
Minnesota 23	USA	ITGC ¹ (El Khroub)	Résistant
Rihane 03	ICARDA ²	ITGC (Oued Smar)	Moyennement résistant
Saida 183	Algérie	ITGC (Oued Smar)	Sensible

TABLEAU VII Origine, provenance et comportement vis-à-vis de la strie foliaire des trois variétés d'orge.

¹ Institut Technique des Grandes Cultures.

² International Center for Agricultural Research in the Dry Area

3.1.2. Matériel fongique :

Les isolats de *P. graminea* ont été obtenus à partir de limbes foliaires présentant des symptômes caractéristiques de la strie foliaire et appartenant aux trois variétés suivantes : Saida 183, El Fouara et Barberousse. Certaines de ces souches ont été isolées à partir de limbes foliaires récoltés lors des prospections réalisées au cours du mois d'avril 2006 dans les zones céréalières du centre (Alger et Bouira) et de l'est (Mila, Guelma et Constantine) alors que d'autres issus des régions d'Oum El Bouaghi, de Khenchela et de Sétif ont été obtenus à partir d'échantillons foliaires qui nous ont été fournis par la station expérimentale de l'ITGC d'El Khroub et qui ont été récoltés au cours de la campagne agricole 2005-2006.

Les codifications utilisées pour la désignation des différents isolats comportent deux lettres et un chiffre. Les deux lettres correspondent à l'abréviation Dg de l'anamorphe *Drechslera graminea* de *P. graminea* alors que le ou les chiffres qui suivent ont été choisis aléatoirement (Tableau VIII).

DESIGNATION DES ISOLATS	ANNEES D'ISOLEMENT	VARIETES	LOCALITES	WILLAYATE
Dg1	2006	Saida	Oued Hamla	Oum El Bouaghi
Dg2	2006	Saida	Oued Othmania	Mila
Dg3	2006	Saida	Ain Regada	Guelma
Dg4	2006	Saida	Tamlouka	Guelma
Dg5	2006	Saida	Bechloul	Bouira
Dg6	2006	Fouara	Beni Mestina	Constantine
Dg7	2006	Barberousse	Ain Abid	Constantine
Dg8	2006	Saida	Guelma	Guelma
Dg9	2006	Saida	El Harrach	Alger
Dg10	2006	Saida	El Asname	Bouira
Dg11	2006	Saida	El khroub	Constantine
Dg12	2005	Saida	Touzeline	Oum El Bouaghi
Dg13	2005	Saida	Khenchela	Khenchela
Dg14	2005	Saida	Kais	Khenchela
Dg15	2005	Saida	Sétif	Sétif
Dg16	2005	Saida	El Eulma	Sétif
Dg17	2005	Saida	Mila	Mila
Dg18	2006	Saida	Oued Smar	Alger

Tableau VIII Désignation, années d'isolement et origines des isolats de *P. graminea*.

3.2. METHODES :

3.2.1. Purification et conservation des isolats :

Etant donné la grande variabilité du *P. graminea*, tous les isolements ont été effectués à partir de cultures monospores réalisées selon la méthode décrite par Babadoost et Johnston (1998) qui consiste à découper des limbes foliaires présentant les symptômes typiques de la strie foliaire en des fragments de 5 mm de long. Ceux-ci sont ensuite placés dans des tubes à essai contenant de l'eau distillée stérile. Après agitation du tube à l'aide d'un vortex, on prélève 0,1 ml d'eau que l'on étale sur une boîte de Pétri contenant de l'eau gélosée à 1,5%. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à l'obscurité pendant 24 heures et à une

température de 25°C. Les conidies germées sont ensuite repérées à l'aide d'une loupe binoculaire. Un explantât calibré de 5 mm abritant la conidie germée est prélevé puis déposé dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA ("Potato Dextrose Agar") dont la composition est indiquée ci-dessous :

Pomme de terre	200 g
Glucose (Dextrose)	20 g
Agar	20 g
Eau distillée q.sp.	1000 ml

Les différents isolats obtenus par culture monospore sont ensuite conservés à une température de 4°C dans des tubes à essai contenant le milieu de culture suivant :

Pomme de terre	200 g
Agar	20 g
Eau distillée q.sp.	1000 ml

3.2.2. Etude de la variabilité des isolats de *P. graminea* :

Pour étudier la variabilité des isolats de *P. graminea* nous avons tenu compte de leur sporulation *in vitro* sur deux milieux de culture différents V8JA ("V8 Juice Agar") et BSEA ("Barley Straw Extract Agar"), de leurs caractères cultureux (type de croissance des colonies, couleur du mycélium et du substrat), de leur croissance mycélienne sur milieu PDA et de la mensuration de leurs conidies obtenues à partir de fragments foliaires incubés en chambre humide.

3.2.2.1. Essai de sporulation *in vitro* de *P. graminea* :

La sporulation *in vitro* du *P. graminea* (production de conidies et de conidiophores) sur divers milieux de culture semble varier d'un isolat à l'autre (Sengupta et Singh, 1979 ; GRBAVAC, 1981 ; BABADOOST et JONHSTON, 1998). Afin de déceler une éventuelle variabilité des souches provenant de différentes régions algériennes, nous avons essayé de les faire sporuler sur les deux milieux de culture V8JA et BSEA selon la méthode décrite par BABADOOST et JONHSTON (1998).

Sporulation *in vitro* sur milieu V8JA : A partir de chaque isolat obtenu par culture monospore, on prélève à l'aide d'un emporte pièce et à la périphérie des colonies un disque de 6 mm de diamètre que l'on transfère au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu V8JA dont la composition est indiquée ci-dessous :

Ca CO ₃	3 g
V8	150 ml
Agar	20 g
Eau distillée stérile	1000 ml

Après incubation des cultures pendant 4 jours, à une température de 25°C et à l'obscurité, les boîtes de Pétri sont ensuite exposées à des radiations proches UV pendant 24 à 36 heures et à une température de 24 ± 1°C. Après quoi, les cultures sont mises encore

à incuber pendant 24 heures à une température comprise entre 10 à 20°C. L'absence ou la présence des conidies et des conidiophores sont ensuite notées. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque isolat.

Sporulation *in vitro* sur milieu BSEA : A partir de chaque isolat obtenu par culture monospore, on prélève à l'aide d'un emporte pièce et à la périphérie de la colonie un disque de 6 mm de diamètre que l'on transfère sous des conditions aseptiques dans des boîtes de Pétri contenant le milieu BSEA dont la composition est la suivante :

Bouillon de paille d'orge mature*	50 g
Dextrose	20 g
Agar	20 g
Eau distillée stérile	1000 ml

* La préparation du bouillon de paille d'orge est indiquée dans l'annexe I.

Les cultures sont ensuite incubées durant sept jours sous des radiations proches UV, à une température de 22°C et sous une photopériode de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Après cette incubation, on note l'absence ou la présence des conidies et des conidiophores. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque isolat.

3.2.2.2. Caractères culturaux :

Pour l'évaluation des caractères culturaux (type de croissance des colonies et couleur du mycélium et du substrat), nous avons prélevé, à l'aide d'un emporte pièce et à la périphérie des colonies de chaque isolat obtenu par culture monospore, un disque de 5 mm de diamètre que l'on transfère au centre d'une boîte de Pétri contenant un milieu de culture PDA. Après une incubation de sept jours à une température de 25°C et à l'obscurité, on note le type de croissance des colonies (cotonneux, pelucheux, compact, duveteux, spongieux et ras) ainsi que la couleur du mycélium (vert, blanc, jaune, rouge ou noir) et du substrat (rouge, noir, jaune, vert ou orange). Trois répétitions ont été effectuées pour chaque isolat.

3.2.2.3. Croissance mycélienne :

La croissance radiale de chaque isolat a été déterminée sur milieu PDA, à l'obscurité et sous différentes températures (5, 10, 15, 20, 25, 30 et 35°C). A partir de chaque isolat obtenu par culture monospore, nous avons prélevé à l'aide d'un emporte pièce et à la périphérie de chaque colonie un disque de 5 mm de diamètre que l'on place au centre d'une boîte de Pétri contenant un milieu de culture PDA. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque isolat. Des mesures quotidiennes de la croissance radiale des colonies exprimées en mm par jour sont ensuite effectuées durant une semaine, à l'aide d'une loupe binoculaire étalonnée. Les valeurs obtenues ont fait l'objet d'une analyse de la variance et un test LSD à 95% à l'aide du logiciel Statgraphics version 5.1, 2001, afin de déterminer les groupes d'isolats qui présentent les mêmes caractéristiques de croissance mycélienne.

3.2.2.4. Mensuration des conidies :

En raison de la difficulté du *P. graminea* à sporuler sur milieu de culture artificiel, nous avons cherché à produire des conidies "*in vivo*" pour la plupart des isolats dans des conditions aussi homogènes que possible. Pour cela, les mensurations ont été réalisées sur des

conidies qui se sont différenciées en chambre humide sur des fragments foliaires. Ceux-ci ont été préalablement découpés sur des limbes présentant les symptômes caractéristiques de la strie foliaire, désinfectés à l'hypochlorite de sodium à 2% pendant 5 minutes afin d'éliminer la microflore superficielle et rincés trois fois à l'eau distillée stérile. Les fragments foliaires ainsi obtenus sont déposés pendant 2 jours à l'obscurité et à une température de 25°C dans des boîtes de Pétri contenant du papier buvard humidifié. Après 48 heures d'incubation, les conidies qui se sont formées sont prélevées à l'aide d'une aiguille sous une loupe binoculaire puis déposées dans une goutte d'eau stérile sur une lame porte objet que l'on recouvre d'une lamelle. Les mensurations (longueur et largeur) des conidies sont ensuite effectuées à l'aide d'un microscope photonique étalonné. Les mesures de la longueur et de la largeur ont été effectuées sur un échantillon de 20 conidies pour chaque isolat ; les résultats obtenus ont été soumis à une analyse de la variance et à un test LSD à 95% à l'aide du logiciel Statgraphics.

3.2.3. Test du pouvoir pathogène:

Ce test a pour but d'étudier la variabilité pathologique des 18 isolats collectés dans les différentes régions céréalières et d'évaluer le niveau de résistance à l'égard du *P. graminea* de trois variétés d'orge : Saida 183, Rihane 03 et Minnesota 23.

3.2.3.1. Méthode d'inoculation artificielle des graines :

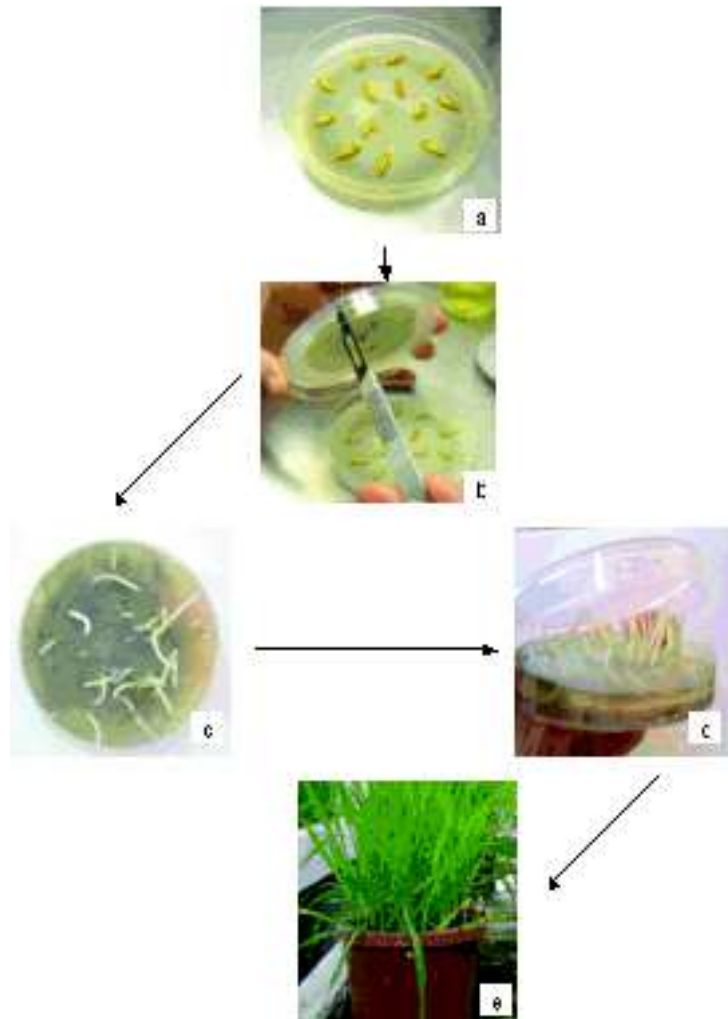
La technique d'inoculation que nous avons adoptée pour le test du comportement des variétés d'orge est celle préconisée par HOUSTON et OSWALD (1948) développée par MohaMmed et Mahmood (1973) et améliorée par Nilson (1975). Des graines de chaque variété d'orge ont été stérilisées superficiellement pendant 5 minutes à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 2% puis rincées trois fois à l'eau distillée stérile. Elles sont ensuite séchées entre deux feuilles de papier buvard préalablement stérilisées. L'inoculation proprement dite consiste à faire germer des graines d'orge entre deux couches de PDA colonisées par du mycélium en croissance active de *P. graminea* (technique d'inoculation dite en "sandwich"). Pour cela, on place dans chaque boîte de Pétri 12graines de chaque variété d'orge entre deux couches de PDA colonisées par le mycélium de *P. graminea* (Fig. 3). Après 13 jours d'incubation à l'obscurité et à une température de 4°C, les jeunes plantules d'orge sont prélevées avec soin des boîtes de Pétri et transplantées dans des pots en plastique de 27 cm de diamètre et de 30 cm de profondeur contenant un mélange de sable, de terreau et de terre végétale (1/3 pour chaque constituant) qui a été préalablement stérilisé pendant 2 heures à 120°C. Dix plantules sont transplantés dans chaque pot qui représente ainsi une unité expérimentale (= microparcelle). Des graines témoins de chaque variété d'orge ont été préparées de la même façon que celles qui ont été inoculées, sauf que leur germination s'est effectuée sur un milieu PDA ne contenant pas le mycélium de *P. graminea*.

3.2.3.2. Dispositif expérimental :

Le test du pouvoir pathogène a été réalisé selon un dispositif en bloc aléatoire complet avec trois répétitions. Les différentes combinaisons variétés-isolats sont affectées aléatoirement dans chaque bloc ce qui nous donne un total de 3 x 3 x 19 soit 171 pots. Un témoin non inoculé de chacune des trois variétés d'orge a été également disposé dans chacun des trois blocs (Figs. 4 et 5).

3.2.3.3. Evaluation de la réaction des plants d'orge :

Les réactions des différentes variétés à l'égard des 18 isolats collectés nous a permis également de réaliser un regroupement des isolats (dendrogramme) à l'aide du logiciel Statgraphics. Ce dendrogramme tient compte de la classification décrite par BENBELKACEM et *al.* (2000) qui considèrent qu'un isolat est virulent lorsque le pourcentage d'infection est supérieur à 15%, dans le cas où il est inférieur à ce pourcentage, l'isolat est considéré comme non virulent.



e des graines d'orge (technique d'inoculation dite en "sandwich"). (a) Graines d'orges déposées sur un milieu PDA colonisé par le mycélium de *P. graminea*. (b) Disposition des graines d'orge entre les deux couches de PDA colonisées par le mycélium de *P. graminea*. (c) et (d) Germination des graines d'orges à travers les deux couches de PDA. (e) Pot en plastique montrant les plants d'orge issus de graines inoculées artificiellement par la méthode dite en "sandwich".

Dg13v1	Dg17v1	Dg18v3
Dg14v3	Dg1v2	Tv3
Dg2v2	Dg12v1	Dg9v3
Dg5v2	Dg15v3	Dg9v1
Dg15v1	Dg8v1	Dg18v1
Tv2	Dg16v2	Dg14v2
Dg17v3	Dg2v1	Dg6v3
Dg15v2	Dg10v2	Dg8v2
Dg11v2	Dg3v1	Dg12v2
Dg8v3	Dg9v2	Dg4v3
Dg13v2	Dg4v1	Dg14v1
Dg7v3	Dg10v1	Dg6v2
Dg1v3	Dg11v2	Dg16v1
Dg3v2	Dg12v3	Dg7v1
Dg5v3	Tv1	Dg7v2
Dg18v2	Dg5v1	Dg1v1
Dg11v3	Dg4v2	Dg16v3
Dg10v3	Dg6v1	Dg2v3
Dg13v3	Dg17v2	Dg3v2
Tv1	Dg14v1	Dg15v1
Dg8v2	Dg11v1	Dg4v2
Dg2v1	Dg1v1	Dg1v2
Dg12v3	Dg2v2	Dg17v1
Dg12v1	Dg14v3	Dg9v2
Dg14v2	Dg16v3	Dg13v1
Dg11v2	Dg5v2	Dg8v1
Dg10v1	Dg7v1	Dg12v2
Dg3v2	Dg7v2	Tv3
Dg5v1	Dg10v2	Dg6v1
Dg17v3	Dg15v2	Dg3v3
Dg5v3	Dg4v1	Tv2
Dg6v3	Dg2v3	Dg13v2
Dg3v1	Dg7v3	Dg6v2
Dg16v1	Dg13v3	Dg11v1
Dg18v2	Dg9v1	Dg9v3
Dg10v3	Dg18v1	Dg1v3
Dg18v3	Dg16v2	Dg15v3
Dg4v3	Dg17v2	Dg8v3
Dg7v3	Dg9v2	Dg1v2
Dg8v1	Dg4v2	Dg13v3
Dg9v3	Dg14v3	Dg12v2
Dg6v3	Dg5v1	Dg3v2
Dg4v1	Dg11v2	Dg12v3
Dg6v1	Dg13v2	Dg3v3
Dg7v2	Dg2v1	Tv1
Dg17v1	Dg6v2	Dg17v3
Dg1v3	Dg3v1	Dg2v2
Dg7v1	Dg16v1	Tv3
Dg11v3	Dg18v1	Dg12v1
Dg10v2	Dg8v2	Dg18v2
Dg16v2	Dg4v3	Tv2
Dg5v2	Dg11v1	Dg15v3
Dg13v1	Dg10v3	Dg16v3
Dg14v1	Dg10v1	Dg9v1
Dg18v3	Dg1v1	Dg14v2
Dg5v3	Dg8v3	Dg2v3
Dg15v1	Dg17v2	Dg15v2

BLOC 1

BLOC2

BLOC3

Figure 4 Plan du dispositif expérimental (Dg = *Dreschlera graminea*, v1 = Saida, v2 = Rihane, v3= Minnesota 23, T : Témoin)



Figure 5 Dispositif expérimental sous serre. (a), vue générale. (b), vue d'un bloc.

3.2.4. Réaction de trois variétés d'orge à l'égard des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de trois isolats de *P. graminea* :

Les composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de *P. graminea* sont capables de reproduire les symptômes caractéristiques de la strie foliaire après leur infiltration dans des feuilles d'orge (ARAGONA et al., 1991 ; Haegi et al., 1994 ; Haegi et al., 1995 ; Haegi et al., 2002 ; Haegi et al., 2004). La production de ces composés toxiques semble être en relation avec la virulence de l'isolat (Haegi et al., 1998). C'est dans ce contexte que nous avons essayé de vérifier que l'effet des composés toxiques (comme par exemple la longueur des nécroses induites par ces composés après leur infiltration dans les limbes) est proportionnelle à la virulence de l'isolat.

3.2.4.1. Choix des isolats de *P. graminea* :

Les composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de trois isolats Dg10, Dg13 et Dg9 qui, lors du test du pouvoir pathogène, se sont respectivement montrés virulent, moyennement virulent et avirulent ont été testés sur les trois variétés d'orge : Saida 183, Rihane 03 et Minnesota 23 qui sont respectivement sensible, moyennement résistante et résistante (BENBELKACEM, 2003).

3.2.4.2. Conditions de culture des isolats de *P. graminea* :

Les isolats Dg10, Dg13 et Dg9 issus de culture monospore ont été d'abord incubés sur un milieu PDA pendant 7 jours à l'obscurité et à une température de 25°C. Après cette

incubation, on prélève à la périphérie de chaque colonie un explantât de 6 mm de diamètre que l'on ensemence, sous des conditions aseptiques, dans une fiole de 500 ml contenant 100 ml (1/5 du volume de la fiole) du milieu liquide de Tomas et Bockus (1987) modifié par Haegi et al. (1994) (Annexes III et IV). Ce milieu semble favoriser la production de composés toxiques. La composition de ce milieu est indiquée ci-dessous :

Saccharose	9 g
Tartrate d'ammonium	5 g
NH_4NO_3	1 g
K_2HPO_4	1 g
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 g
CaCl_2	0,13 g
NaCl	0,1 g
$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	18,3 mg
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	3,5 mg
$\text{Mn Cl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	2 mg
Eau distillée q.sp	1000 ml

Les cultures sur milieu liquide sont incubées pendant 25 jours à l'obscurité à une température de 25°C, sans agitation. Un témoin non ensemencé est incubé dans les mêmes conditions. Afin d'obtenir une quantité suffisante de filtrat de culture, nous avons préparé cinq fioles pour chaque isolat.

3.2.4.3. Filtration et concentration des filtrats de culture :

Le contenu des fioles contenant les cultures incubées durant 25 jours est agité manuellement, puis filtré, sous des conditions aseptiques d'abord sur du papier filtre ordinaire, ensuite sur du papier Whatman N°1. Les filtrats obtenus sont finalement passés à travers un filtre millipore de porosité 0,22 µm afin d'éliminer toute trace de mycélium, puis ils sont concentrés sous vide au 1/5 de leur volume initial à l'aide d'un "rotavapor" à une température de 50°C (Tomas et Bockus, 1987).

3.2.4.4. Précipitation et dialyse des composés toxiques :

Les filtrats de culture concentrés sont précipités pendant une nuit à une température de -18°C avec 4 volumes d'une solution d'acétone à 50% puis centrifugés à 10 000 g durant 20 minutes. Le culot est séché à l'air libre afin d'éliminer toute trace d'acétone, puis il est dilué dans 5 ml d'eau distillée stérile. La solution obtenue est dialysée pendant une nuit à l'aide de boudins de dialyse dont la préparation est indiquée dans l'Annexe II et dont le pouvoir de rétention est de 10 000 Da. Les dialysats obtenus sont conservés à 4°C dans des tubes coniques.

3.2.5. Vérification de l'activité phytotoxique des filtrats de culture partiellement purifiés :

La vérification de l'activité phytotoxique des filtrats de culture partiellement purifiés est réalisée par leur infiltration dans les limbes foliaires des trois variétés Saida 183, Rihane 03 et Minnesota 23. Pour la variété Saida, l'infiltration a été réalisée à chaque étape de la purification partielle (filtration, concentration et dialyse) des composés toxiques. Par contre, pour les variétés Rihane et Minnesota 23, elle a été effectuée après la dialyse des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture. L'infiltration des tissus a été réalisée au stade trois feuilles à l'aide de l'appareil mis au point par Hagbord (1970) (Fig. 6a) qui permet d'infiltrer les composés toxiques sans pour cela endommager l'épiderme de l'hôte. Vingt plants de chaque variété ont été infiltrés au niveau de la première feuille avec une quantité de 20 µl de filtrat (Fig. 6b). Un témoin comportant vingt plants de chaque variété a été infiltré avec 20 µl du milieu liquide non ensemencé. Les plants infiltrés sont ensuite placés dans un phytotron sous une photopériode de 8 heures lumière et 16 heures d'obscurité et à une température de 21 ± 1°C. Les symptômes sont observés chaque jour et ceci jusqu'au jaunissement totale des limbes foliaires.

3.2.6. Test de spécificité des composés toxiques contenus dans le filtrat de culture :

Afin de tester la sélectivité des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de l'isolat le



Figure 6 Technique de Hagbord utilisé pour l'infiltration des limbes foliaires par les composés toxiques contenus dans les filtrats de culture. (a) Appareil d'Hagbord. (b) Infiltration du limbe foliaire d'un plant d'orge au stade trois feuilles.

plus virulent (Dg10), nous avons utilisé les espèces suivantes : *Triticum durum* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Vicia faba* L. et *Pisum sativum* L. qui ne sont pas hôtes du *P. graminea*.

Dix plants de chaque espèce végétale, ont été infiltrés au stade trois feuilles avec 20 µl de filtrat brut. L'infiltration a été réalisée à l'aide de l'appareil d'Hagbord (1970) dans le cas du *T. durum*. En ce qui concerne *P. vulgaris*, *V. faba* et *P. sativum*, elle a été effectuée à l'aide d'une seringue, à raison de 2 ml de filtrat, au niveau de la nervure centrale de la première feuille. Un témoin comportant dix plants de chaque espèce a été infiltré par un

milieu liquide non ensemencé. Les plantes ainsi infiltrées sont ensuite déposées dans un micro phytotron réglé à une température de $21 \pm 1^\circ\text{C}$ et à une photopériode de 8 heures de lumière et 16 heures d'obscurité.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. ETUDE DE LA VARIABILITE DES ISOLATS DE *P. GRAMINEA* :

Pour l'étude de la variabilité des 18 isolats de *P. graminea* nous avons tenu compte des critères suivants : sporulation de l'anamorphe *D. graminea* sur les milieux de culture V8JA et BSEA, caractères cultureux (type de croissance des colonies, couleur du mycélium et du substrat), croissance mycélienne radiale sur milieu PDA et mensuration des conidies. Les caractères morphologiques comme la croissance des colonies, la couleur du mycélium et du substrat ainsi que la mensuration des conidies ont été traditionnellement utilisés pour estimer le degré de variabilité des isolats de *P. graminea* (Arabi et al., 2002).

4.1.1. Sporulation *in vitro* de *P. graminea* :

La sporulation *in vitro* de l'anamorphe *D. graminea* a été réalisée sur les deux milieux de culture V8JA et BSEA.

4.1.1.1. Sporulation *in vitro* sur milieu V8JA :

Après 8 jours d'incubation sur le milieu V8JA et sous une lumière proche UV, nous n'avons constaté aucune sporulation chez tous les isolats à l'exception de Dg6 où nous avons remarqué la présence de quelques conidies (Tableau IX). Ce milieu semble donc montrer certaines limitations. En effet, l'anamorphe *D. graminea* exhibe une croissance très faible sur ce milieu où presque tous les isolats n'ont pas du tout formé de conidies, même s'il y a eu différenciation de conidiophores. En outre, au niveau de l'isolat Dg6, le nombre de spores produites est relativement très faible. Ces observations sont conformes à ceux rapportés par BABADOOST et JOHNSTON (1998) qui ont également constaté que le milieu V8JA ne favorise ni la croissance mycélienne, ni la sporulation de l'anamorphe *D. graminea*.

4.1.1.2. Sporulation *in vitro* sur milieu BSEA :

En ce qui concerne le milieu BSEA et sous les conditions d'incubation suivantes : lumière proche UV, température = 22°C et alternance de lumière et d'obscurité (12/12 heures), nous avons remarqué au niveau des isolats Dg3, Dg6, Dg10, Dg16 et Dg18 la présence de conidiophores et de conidies en quantité relativement abondante (Tableau IX). Par contre, nous n'avons constaté sur les isolats Dg1, Dg2, Dg4, Dg5, Dg7, Dg8, Dg9, Dg11, Dg12, Dg13, Dg14, Dg15 et Dg17 que la présence de quelques conidiophores et une absence totale de conidies. La sporulation s'est montrée variable non seulement entre isolats issus de régions différentes mais également entre ceux qui proviennent d'une même localité. A

titre d'exemple, les isolats Dg3 et Dg4 originaires de la wilaya de Guelma ont montré des com-

ISOLATS	MILIEU V8JA		MILIEU BSEA	
	CONIDIOPHORES ¹	CONIDIES ¹	CONIDIOPHORES	CONIDIES
Dg1	+	-	+	-
Dg2	+	-	++	-
Dg3	+	-	+	++
Dg4	-	-	+	-
Dg5	-	-	+	-
Dg6	++	+	+++	+++
Dg7	+	-	+	-
Dg8	+	-	+	-
Dg9	-	-	++	-
D10	+	-	++	++
Dg11	+	-	++	-
Dg12	+	-	+	-
Dg13	-	-	++	-
Dg14	+	-	+++	-
Dg15	+	-	++	-
Dg16	+	-	+++	++
Dg17	-	-	++	-
Dg18	++	-	+++	+

TABLEAU IX Sporulation *in vitro* de l'anamorphe *D. graminea* sur les milieux de culture V8JA et BSEA.

¹ = La sporulation est appréciée par la présence de conidiophores et de conidies dans les deux milieux, - = absence de sporulation, + = très faible sporulation, ++ = faible sporulation, +++ = sporulation appréciable.

portements différents. En effet, l'isolat Dg3 a sporulé sur le milieu BSEA alors que Dg4 a exhibé un développement mycélien sans la formation de conidies. Ces résultats sont également conformes à ceux rapportés par BABADOOST et JONHSTON, (1998). Le bouillon de paille d'orge mature contenu dans le milieu BSEA ainsi que les conditions d'incubation (température et lumière) semblent induire une sporulation de l'anamorphe *D. graminea*. Ceci suggère que le bouillon de paille d'orge semble contenir certains composés qui stimulent la sporulation de ce champignon. La présence de ces composés a été également constatée dans le bouillon de paille de riz incorporé au milieu PDA où ce champignon a sporulé (SENGUPTA et SINGH, 1979).

4.1.2. Caractères cultureux :

Les caractères cultureux (type de croissance des colonies, couleur du mycélium et du substrat) sur milieu PDA sont indiqués dans le tableau X.

ISOLATS	TYPE DE CROISSANCE	COULEUR DU MYCELIUM	COULEUR DU SUBSTRAT
Dg1	cotonneux	vert clair	vert
Dg2	cotonneux	blanc	vert
Dg3	cotonneux	vert clair	vert
Dg4	cotonneux	orange	jaune
Dg5	cotonneux	rose	vert
Dg6	cotonneux	vert foncé	orange
Dg7	cotonneux	vert foncé	vert
Dg8	cotonneux	blanc	jaune
Dg9	cotonneux	orange	jaune
Dg10	cotonneux	vert	vert
Dg11	ras	vert	vert
Dg12	cotonneux	vert	vert
Dg13	cotonneux	rose	vert
Dg14	cotonneux	vert	vert
Dg15	cotonneux	orange	jaune
Dg16	ras	blanc	vert
Dg17	cotonneux	vert	vert
Dg18	ras	vert	vert

TABLEAU X Caractéristiques culturelles des 18 isolats de *P. graminea*.

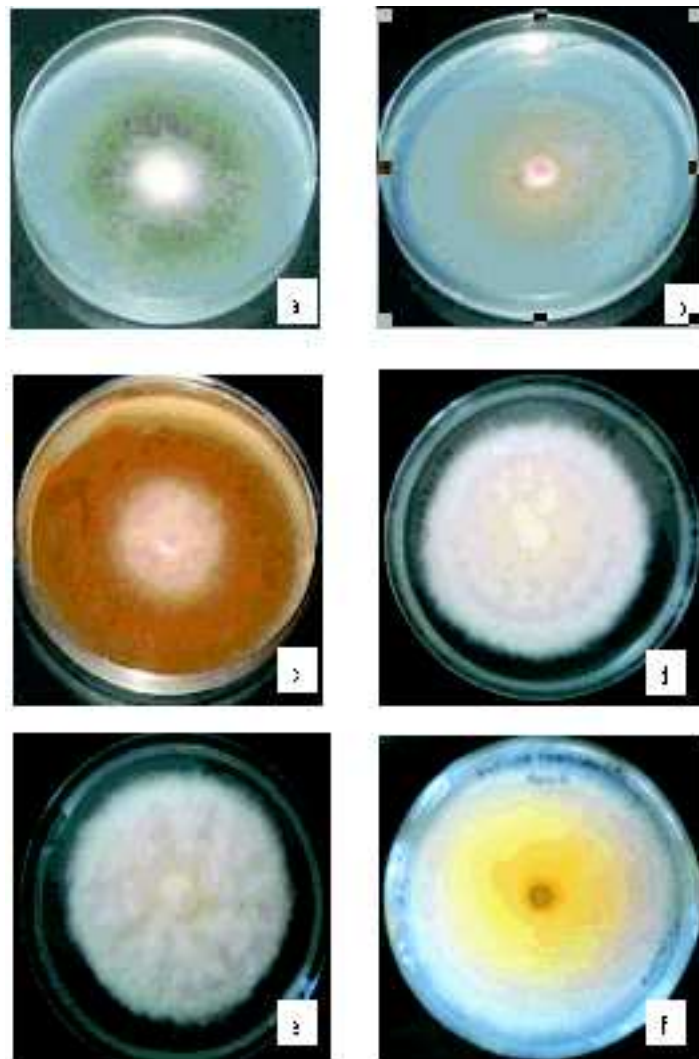


Figure 7 Variabilité des caractères culturels de quelques isolats de *P. graminea*. (a) Isolat Dg7 montrant une coloration vert foncé du mycélium. (b) Isolat Dg5 montrant une coloration rose du mycélium. (c) Isolat Dg4 montrant une coloration orange du mycélium. (d) Isolat Dg16 montrant une coloration blanchâtre du mycélium. (e) Isolat Dg2 montrant une croissance mycélienne du type cotonneux. (f) Isolat Dg8 montrant une coloration jaune du substrat.

Les 18 isolats ont exhibé deux types de croissance des colonies : ras (Dg11, Dg16, Dg18) et cotonneux (Dg1, Dg2, Dg3, Dg4, Dg5, Dg6, Dg7, Dg8, Dg9, Dg10, Dg12, Dg13, Dg14, Dg15 et Dg17). La couleur du mycélium s'est montré orange (Dg4, Dg9 et Dg15), rose (Dg5 et Dg13), verte (Dg1, Dg3, Dg6, Dg7, Dg10, Dg11, Dg12, Dg14, Dg17 et Dg18) et blanche (Dg2, Dg8 et Dg16) (Fig. 7). La coloration exhibée par le substrat est généralement verte pour tous les isolats à l'exception de Dg4, Dg8, Dg9 et Dg15 où elle est jaune et de Dg6 où elle est orange. Cette variabilité des caractères culturels a été constatée par plusieurs auteurs (Gatti *et al.*, 1992 ; Zriba et Harrabi, 1995 ; ARABI *et al.*, 2002 ; Benslimane, 2003). Elle semble être due soit à la nature du milieu de culture, soit à des différences génétiques entre les isolats provenant de régions différentes (ARABI *et al.*, 2002). LEUNG *et al.* (1993) ont attribué cette variabilité génétique à plusieurs facteurs comme les modifications

dues à des mutations ou à des recombinaisons parasexuées ou comme les migrations du pathogène vers d'autres régions géographiques.

4.1.3. Croissance mycélienne radiale :

Les moyennes de la croissance radiale journalière des 18 isolats à différentes températures sont indiquées dans le tableau XI.

ISOLATS	TEMPERATURES						
	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
Dg1	1,30	3,10	5,20	5,60	5,20	3,03	0,28
Dg2	1,25	2,30	3,70	4,47	4,77	3,83	0,44
Dg3	0,58	2,90	4,45	5,22	4,97	3,83	0,27
Dg4	1,19	1,30	1,62	5,44	5,77	2,41	0,44
Dg5	0,97	1,00	1,25	5,16	5,20	1,41	0,41
Dg6	0,86	2,10	4,60	4,70	4,80	2,55	0,30
Dg7	1,02	1,70	2,33	4,66	4,83	2,91	0,41
Dg8	0,86	3,50	5,00	5,30	4,75	1,86	0,50
Dg9	0,75	1,90	4,70	5,02	5,22	0,94	0,33
Dg10	2,25	3,30	4,66	5,44	5,83	5,55	1,16
Dg11	2,05	3,10	4,45	5,16	5,83	5,44	1,08
Dg12	1,72	3,10	4,41	5,25	5,61	6,16	1,70
Dg13	1,50	2,90	4,37	5,00	5,38	5,37	1,58
Dg14	0,91	2,20	4,33	5,27	5,55	5,49	1,41
Dg15	0,66	1,50	3,25	3,27	4,55	5,27	1,41
Dg16	1,36	2,50	4,66	5,19	5,72	5,98	1,91
Dg17	1,08	3,10	4,50	4,83	5,63	5,41	0,45
Dg18	0,80	2,10	4,75	5,47	5,88	5,63	1,00

TABLEAU XI Moyennes de la croissance radiale en mm/j des isolats à différentes températures

La température optimale de croissance radiale se situe à 20°C pour les isolats Dg1, Dg3 et Dg8, à 25°C pour Dg2, Dg4, Dg5, Dg6, Dg7, Dg9, Dg10, Dg11, Dg13, Dg14, Dg17 et Dg18 et à 30°C pour Dg12, Dg15 et Dg16. Pour tous les isolats, la croissance mycélienne est inhibée à 35°C (Figs. 8a, b, c). La croissance radiale maximale (6,16 mm/j) est exhibée par l'isolat Dg12 à 30°C alors que celle minimale (0,27 mm/j) est donnée par Dg3 à 35°C (Tableau XI). L'interaction isolat – température s'est montrée extrêmement variable ; à titre d'exemple, la croissance mycélienne de Dg7 est lente jusqu'à 15°C alors que celle de Dg12 est presque linéaire (Fig. 8b).

L'analyse de la variance pour le paramètre croissance radiale journalière montre une différence très hautement significative pour les deux facteurs température et isolat (Tableau

XII). Cette différence de la croissance radiale journalière pour le facteur isolat reflète la variabilité qui existe entre les différentes souches originaires de différentes régions de culture d'orge, alors que celle du facteur température indique l'effet de celle-ci sur la croissance mycélienne du pathogène.

SOURCE DE VARIANCE	SCE	DDL	CAREE MOYEN	TEST F	PRO	S
TOTAL VAR	443,345	124				
VAR FACTEUR A	7,4316	17	2,20186	3,53	0,000	THS
VAR FACTEUR B	44,006	6	57,3343	91,93	0,000	THS
VAR RESIDUELLE	62,9906	101	0,623669			

Tableau XII Analyse de la variance pour les deux facteurs (isolat et température)

Facteurs : A = Isolats, B = Température

Le test LSD à 95% réalisé sur la base de la croissance radiale journalière exprimée en mm/j des isolats, nous a permis de les classer en 12 groupes homogènes chevauchants (Tableau XIII). D'après ce test, il ne semble pas y avoir une relation entre la croissance mycélienne des isolats et leurs origines géographiques. En effet, le groupe A comporte un seul isolat Dg5 qui est originaire de la wilaya de Bouira et qui se caractérise par une croissance mycélienne très lente alors que le groupe G limité au seul isolat Dg10 et ayant la même origine montre une croissance mycélienne très rapide. Le groupe CDEFG renferme des isolats qui proviennent des régions sublittorales (Dg14 et Dg17) et littorales (Dg18).

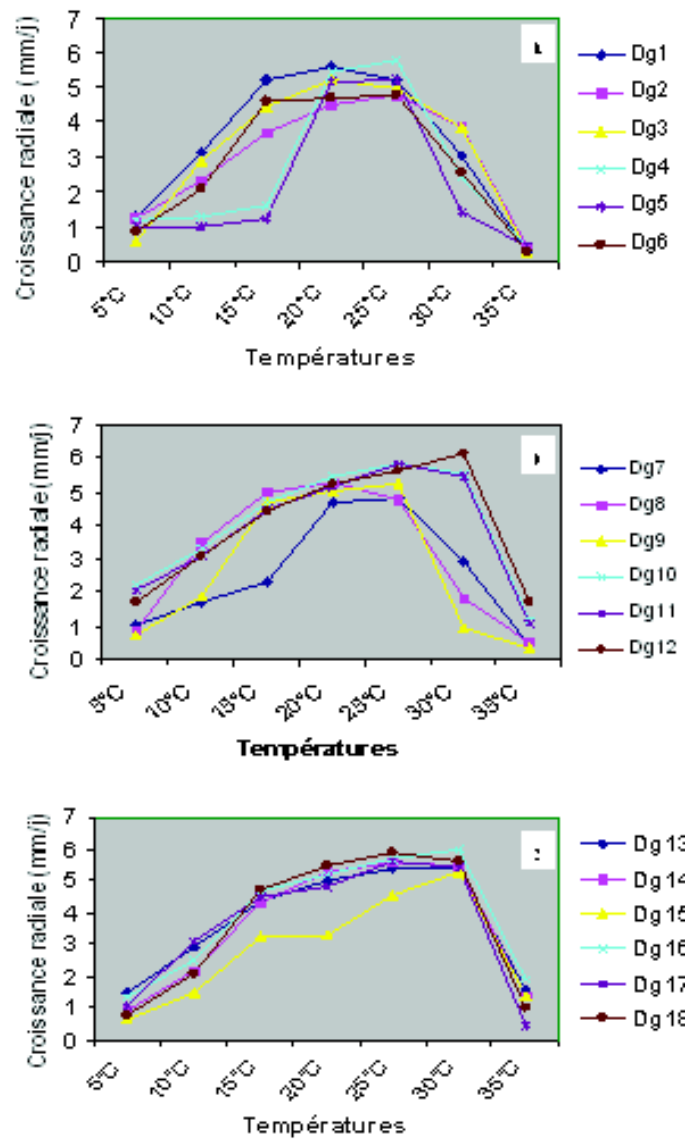


Figure 8 Moyennes de la croissance radiale journalière (mm/j) à différentes températures des 18 isolats de *P. graminea*. (a) isolats Dg1, Dg2, Dg3, Dg4, Dg5, Dg6. (b) isolats Dg7, Dg8, Dg9, Dg10, Dg11, Dg12. (c) isolats Dg13, Dg14, Dg15, Dg16, Dg17 et Dg18.

ISOLATS	GROUPES HOMOGENES
Dg 5	A
Dg7	A B
Dg4	A B
Dg9	A B
Dg15	A B C
Dg6	A B C
Dg2	A B C D
Dg8	B C D E
Dg3	B C D E F
Dg1	B C D E F G
Dg17	C D E F G
Dg14	C D E F G
Dg18	C D E F G
Dg13	D E F G
Dg11	E F G
Dg16	E F G
Dg12	F G
Dg10	G

Tableau XIII Classement selon le test LSD à 95% des moyennes de la croissance radiale journalière exprimées en mm/jour des isolats

Le test LSD à 95% réalisé sur la base de la croissance radiale journalière pour les différentes températures (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35°C) permet de classer celles-ci en quatre groupes homogènes (Tableau XIV) :

□ Groupe A : Températures 35°C et 5°C où la croissance mycélienne de tous les isolats est inhibée.

□ Groupe B : Température 10°C où la croissance mycélienne est lente pour l'ensemble des isolats.

□ Groupe C : Températures 30°C et 15°C où la croissance mycélienne est relativement rapide.

□ Groupe D : Températures 20°C et 25°C où la croissance mycélienne est optimale pour la plupart des isolats.

TEMPERATURES	GROUPES HOMOGENES
35	A
5	A
10	B
30	C
15	C
20	D
25	D

Tableau XIV Classement selon le test LSD à 95% des températures par rapport à la croissance radiale journalière exprimée en mm/jour des isolats.

Les isolats de *P. graminea* collectés à travers différentes régions algériennes de culture d'orge présentent une grande variabilité dans leur croissance radiale journalière. Cette variabilité dans la croissance mycélienne des isolats a été également constatée par plusieurs auteurs (Gatti et al. 1992 ; ZRIBA et HARRABI, 1995 ; ARABI et al., 2002 ; BENSLIMANE, 2003). Selon Gatti et al. (1992), la croissance mycélienne d'un isolat donné semble avoir une relation avec le degré de virulence. En effet, les isolats qui se caractérisent par une croissance mycélienne lente semblent posséder un degré de virulence moyen ou faible.

4.1.4. Mensuration des conidies de *D. graminea* :

Les mensurations des conidies (longueur et largeur) des isolats de *D. graminea* collectés à travers les différentes régions algériennes sont indiquées dans le tableau XV. Pour l'ensemble des isolats étudiés, les mensurations maximales et minimales de la longueur et de la largeur sont respectivement de 49,2 μm (Dg11) \square 104 μm (Dg1 et Dg5) et 10,4 μm (Dg7 et Dg9) \square 20,8 μm (Dg1, Dg13 et Dg16).

L'analyse de la variance des mensurations des conidies montre une différence très hautement significative pour le facteur longueur des conidies et non significative pour le facteur largeur. Ceci indique que les 18 isolats montrent une certaine variabilité au niveau de la longueur des spores (Tableau XVI).

ISOLATS	MENSURATIONS DES CONIDIES (μm)
Dg1	62,40 – 104,00 × 13,00 – 20,80
Dg2	52,00 – 67,60 × 13,00 – 18,20
Dg3	52,00 – 67,60 × 13,00 – 15,60
Dg4	70,20 – 98,80 × 13,00 – 18,20
Dg5	75,40 – 104,00 × 13,00 – 15,60
Dg6	65,00 – 93,60 × 13,00 – 18,20
Dg7	67,60 – 91,00 × 10,40 – 15,60
Dg8	59,80 – 80,60 × 13,00 – 18,20
Dg9	52,00 – 98,80 × 10,40 – 15,60
Dg10	52,00 – 91,00 × 13,00 – 18,20
Dg11	49,20 – 96,20 × 13,00 – 15,60
Dg12	67,60 – 96,20 × 13,00 – 15,60
Dg13	62,40 – 78,00 × 13,00 – 20,80
Dg14	67,60 – 88,40 × 13,00 – 15,60
Dg15	62,40 – 91,00 × 13,00 – 15,60
Dg16	67,60 – 91,00 × 13,00 – 20,80
Dg17	65,00 – 85,80 × 13,00 – 15,60
Dg18	57,20 – 83,20 × 13,00 – 15,60

Tableau XV Mesurations des conidies de *D. graminea* (en μm).

TEMPERATURES	GROUPES HOMOGENES
35	A
5	A
10	B
30	C
15	C
20	D
25	D

Tableau XVI Analyse de la variance des mensurations des conidies de *D. graminea* pour les facteurs : longueur et largeur.

Facteurs : A = longueur des spores, B = largeur des spores.

Le test LSD à 95% basé sur le facteur longueur des spores permet de classer les isolats de *P. graminea* en 12 groupes homogènes chevauchants (Tableau XVII). Le groupe A comporte un seul isolat Dg3 (Guelma) qui a exhibé la plus petite longueur moyenne alors que le groupe H qui comporte également un seul isolat Dg5 (Bouira) montre la plus grande longueur moyenne des spores.

ISOLATS	MENSURATIONS DES CONIDIES (μm)
Dg1	62,40 – 104,00 × 13,00 – 20,80
Dg2	52,00 – 67,60 × 13,00 – 18,20
Dg3	52,00 – 67,60 × 13,00 – 15,60
Dg4	70,20 – 98,80 × 13,00 – 18,20
Dg5	75,40 – 104,00 × 13,00 – 15,60
Dg6	65,00 – 93,60 × 13,00 – 18,20
Dg7	67,60 – 91,00 × 10,40 – 15,60
Dg8	59,80 – 80,60 × 13,00 – 18,20
Dg9	52,00 – 98,80 × 10,40 – 15,60
Dg10	52,00 – 91,00 × 13,00 – 18,20
Dg11	49,20 – 96,20 × 13,00 – 15,60
Dg12	67,60 – 96,20 × 13,00 – 15,60
Dg13	62,40 – 78,00 × 13,00 – 20,80
Dg14	67,60 – 88,40 × 13,00 – 15,60
Dg15	62,40 – 91,00 × 13,00 – 15,60
Dg16	67,60 – 91,00 × 13,00 – 20,80
Dg17	65,00 – 85,80 × 13,00 – 15,60
Dg18	57,20 – 83,20 × 13,00 – 15,60

Tableau XVII Classement selon le test LSD à 95% des longueurs moyennes des spores (en μm) des 18 isolats de *P. graminea*.

La variabilité des mesures biométriques des conidies des isolats étudiés indique une certaine diversité dans les populations de ce pathogène. La comparaison des mensurations des conidies des isolats avec celles données par d'autres auteurs (ZILLINSKY, 1983 ; MATHRE, 1997) indiquent également une variabilité de la longueur par rapport à la largeur qui est presque constante. Ces mensurations permettent certainement de distinguer *D.*

graminea des autres espèces du genre *Drechslera*, mais ce critère demeure insuffisant pour faire une discrimination entre les différents isolats (RAPILLY et PONCHET, 1962).

4.2. Etude du pouvoir pathogène des isolats et du comportement variétal :

L'étude du pouvoir pathogène et du comportement variétal a été respectivement réalisée sur 18 isolats de *P. graminea* et sur les trois variétés d'orge : Saida, Rihane et Minnesota 23.

4.2.1. Pouvoir pathogène des isolats :

L'incidence moyenne (exprimée en %) de la strie foliaire provoquée par les 18 isolats de *P. graminea* sur les trois variétés d'orge est indiquée dans le tableau XVIII. Les pourcentages d'infection (moyens) provoqués par chaque isolat sur les variétés d'orge sont représentés par la figure 9.

ISOLATS	VARIETES		
	MINNESOTA 23	RIHANE	SAIDA
Dg1	01,92	37,01	38,86
Dg2	12,65	27,71	31,76
Dg3	00,00	32,90	33,53
Dg4	00,00	00,00	26,01
Dg5	00,00	00,00	20,33
Dg6	00,00	40,97	52,51
Dg7	00,00	10,52	28,12
Dg8	00,00	44,23	51,10
Dg9	00,00	00,00	17,42
Dg10	24,83	60,02	100,00
Dg11	06,81	40,96	41,08
Dg12	16,32	57,90	87,30
Dg13	00,00	14,28	36,60
Dg14	00,00	00,00	25,22
Dg15	00,00	01,72	04,90
Dg16	00,00	07,34	28,82
Dg17	00,00	48,93	52,52
Dg18	00,00	16,66	31,46
Témoïn	00,00	00,00	00,00

Tableau XVIII Incidence moyenne (exprimée en %) de la strie foliaire sur les trois variétés d'orge inocu-lées artificiellement par les 18 isolats de *P. graminea*.

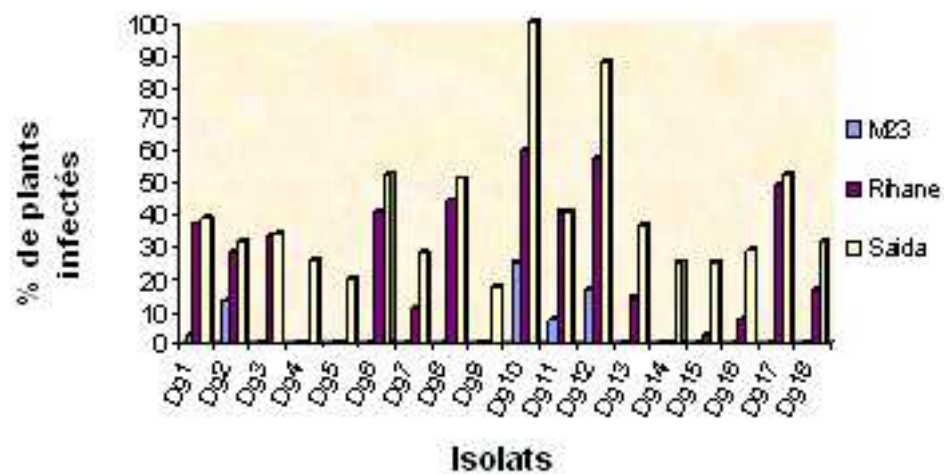


Figure 9 Incidence moyenne provoquée par chaque isolat de *P. graminea* sur les trois variétés d'orge (Saida, Rihane et Minnesota 23).

Les pourcentages moyens d'infection causés par les différents isolats sur les trois variétés varient de 0% à 100%. L'isolat Dg10 montre des pourcentages moyen d'infection assez élevés qui sont de 24,83% pour Minnesota 23, 60,02% pour Rihane et 100% pour Saida. Par contre, l'isolat Dg9 a exhibé des pourcentages moyens d'infection relativement faibles qui sont de 0% pour Minnesota 23, 0% pour Rihane et 17,42% pour Saida.

L'analyse de la variance des pourcentages d'infection transformés en arc sin montre une différence très hautement significative pour les deux facteurs isolats et variétés (Tableau XIX). Cette différence reflète d'une part une variation dans l'agressivité des isolats et d'autre part une différence dans leur virulence à l'égard des trois variétés d'orge.

SOURCE DE VARIANCE	SCE	DDL	CAREE MOYEN	TEST F	PRO	S
TOTAL VAR	20,8589	161				
VAR FACTEUR A	7,92513	17	0,466184	24,46	0,000	THS
VAR FACTEUR B	10,0276	2	5,01381	263,09	0,000	THS
VAR RESIDUELLE	2,70619	142	0,019057			

Tableau XIX Analyse de la variance des pourcentages d'infection transformés en arc sin provoqués par les isolats sur les trois variétés d'orge

Facteurs : A = Isolats, B = Variétés

Le test LSD à 95% réalisé sur la base de l'incidence moyenne a permis de répartir les isolats en 13 groupes homogènes chevauchants (Tableau XX) qui laissent supposer l'existence d'une grande variabilité du pouvoir pathogène des isolats qu'ils soient issus d'une même ou de différentes régions comme, par exemple, Dg5 et Dg10 qui sont originaires de la wilaya de Bouira et qui montrent respectivement des niveaux de virulence faibles et élevés.

ISOLATS	GROUPES HOMOGENES
Dg9	A
Dg5	A B
Dg14	A B C
Dg4	A B C
Dg15	A B C D
Dg16	B C D E
Dg7	C D E
Dg18	D E
Dg13	E
Dg3	E F
Dg1	F G
Dg6	F G
Dg2	F G
Dg8	F G
Dg17	F G
Dg11	G
Dg12	H
Dg10	I

Tableau XX Classement des isolats de *P. graminea* par rapport à leur incidence moyenne (exprimée en %) selon le test LSD à 95%.

La virulence des isolats à l'égard des trois variétés d'orge a été également évaluée en considérant qu'un isolat est virulent (= V) lorsque le pourcentage d'infection est supérieur à 15%, dans le cas où il est inférieur à ce seuil d'incidence limite, il est considéré comme avirulent (= AV) (BENBELKACEM et al., 2000) (Tableau XXI)

ISOLATS	VARIETES		
	MINNESOTA 23	RIHANE	SAIDA
Dg1	AV ¹	V ²	V
Dg2	AV	V	V
Dg3	AV	V	V
Dg4	AV	AV	V
Dg5	AV	AV	V
Dg6	AV	V	V
Dg7	AV	AV	V
Dg8	AV	V	V
Dg9	AV	AV	V
Dg10	V	V	V
Dg11	AV	V	V
Dg12	V	V	V
Dg13	AV	AV	V
Dg14	AV	AV	V
Dg15	AV	AV	V
Dg16	AV	AV	V
Dg17	AV	V	V
Dg18	AV	V	V

Tableau XXI Evaluation de la virulence des 18 isolats de *P. graminea* à l'égard des trois variétés d'orge.

AV¹ = avirulent, V² = virulent

Tous les isolats se sont montrés virulents à l'égard de la variété Saida (Tableau XXI). Dix isolats (Dg1, Dg2, Dg3, Dg6, Dg8, Dg10, Dg11, Dg12, Dg17 et Dg18) se sont avérés virulents à l'encontre de la variété Rihane. Les isolats (Dg10 et Dg12) se sont montrés virulents à l'égard des trois variétés d'orge. Il est à noter également que si l'on se réfère à la croissance radiale journalière des isolats (voir Tableau XI), on constate que ceux qui ont une croissance mycélienne rapide montrent un degré de virulence élevé. C'est ainsi que l'isolat Dg10 qui a exhibé une croissance mycélienne rapide s'est révélé le plus virulent. Par contre, les isolats Dg5 et Dg9 qui ont montré une croissance mycélienne lente ont montré des degrés de virulence relativement bas. Ces résultats confirment ceux de GATTI et *al.* (1992) qui suggèrent que les isolats qui ont une croissance mycélienne lente ont montré un niveau de virulence faible.

Le dendrogramme établi sur la base des carrés des distances euclidiennes de la virulence des isolats fait ressortir trois ensembles (Fig. 10) :

□ Ensemble 1: constitué par les isolats Dg1, Dg2, Dg3, Dg6, Dg8, Dg11, Dg17 et Dg18 qui se sont montrés virulents à l'égard des variétés Saida et Rihane.

□ Ensemble 2 : comportant les isolats Dg4, Dg5, Dg7, Dg9, Dg13, Dg14, Dg15 et Dg16 qui se sont avérés les moins virulents puisqu'ils se sont attaqués uniquement à la variété Saida.

□ Ensemble 3 : renfermant les isolats Dg10 et Dg12 qui se sont montrés virulents à l'égard des trois variétés.

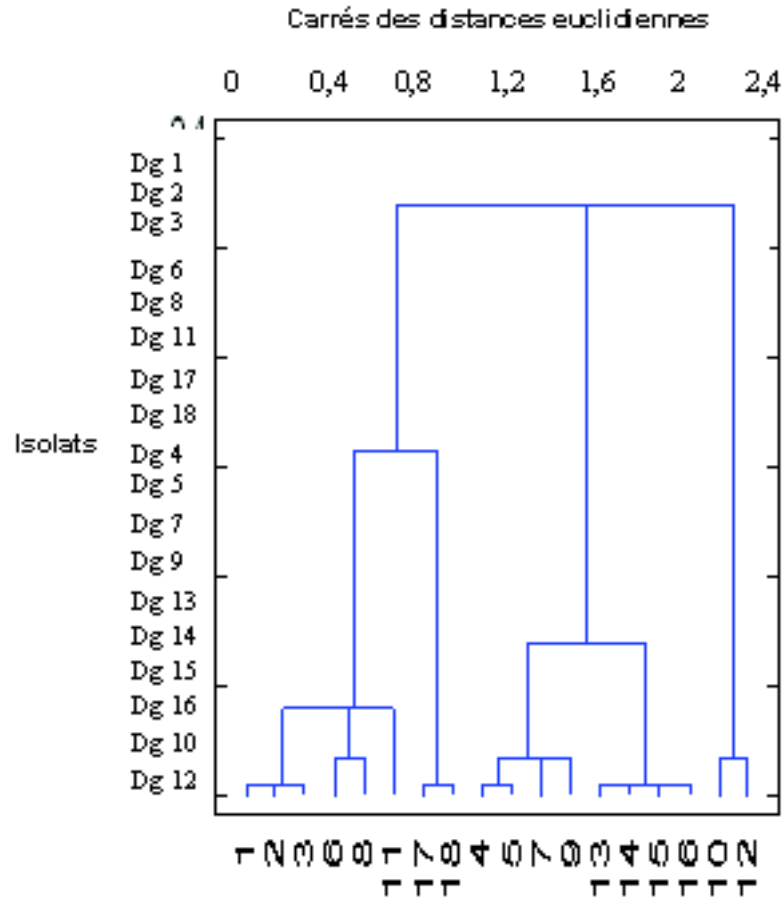


Figure 10 Dendrogramme de la virulence des 18 isolats inoculés sur les trois variétés d'orge.

Le dendrogramme ci-dessus montre que les isolats qui proviennent d'une même région géographique peuvent montrer des réactions différentes vis-à-vis des trois variétés d'orge. L'isolat Dg6, par exemple, qui est originaire de Beni Mestina (Constantine) s'est montré virulent sur les variétés Saida et Rihane, alors que l'isolat Dg7 qui provient d'une localité très proche [Ain Abid (Constantine)] de la précédente ne s'est avéré virulent que sur la variété Saida. Cet exemple montre qu'il existe une certaine diversité dans les populations de *P. graminea* et ceci au sein d'une même localité mais également au niveau de régions différentes.

Le test du pouvoir pathogène met en évidence une variabilité de la virulence et de l'agressivité des isolats de *P. graminea* collectés à travers différentes régions algériennes. Cette variabilité qui a été constatée par plusieurs chercheurs (CHRISTENSEN et GRAHAM, 1934 ; MOHAMMED et MAHMOOD, 1973 ; GATTI et al, 1992 ; TUNALI, 1995 ; ARABI et JAWHAR, 2003, BENBELKACEM, 2003 ; BENSILIMANE, 2003) a conduit certains auteurs (Christensen et Graham, 1934 ; MohammEd et Mahmoud, 1973 ; Singh et Saksena, 1973 ; MohammEd et Mahmoud 1976 ; Tekauz, 1983 ; NØrgaad-Knudsen, 1986 ; Gatti et al.

1992 ; Delogu et al 1995 ; Cetinsoy, 1995 ; Benbelkacem, 2000) a suggéré l'existence de races physiologiques chez ce champignon alors que d'autres (HAEGI et al., 1998) pensent que les isolats sont seulement variables dans leur virulence et dans leur réaction vis-à-vis des variétés d'orge. C'est ainsi que VADERPLANK (1984) pense que la variabilité dans le pouvoir pathogène des isolats pourrait être attribuée à l'existence de plusieurs gènes de virulence qui opèrent dans le pathogène.

4.2.2. Comportement des variétés d'orge à l'égard des isolats :

Les premiers symptômes de la strie foliaire se sont manifestés au stade trois feuilles d'abord sur la variété Saida puis sur Rihane au niveau des isolats Dg10, Dg12, Dg11 et Dg17. Ces symptômes se sont traduits par l'apparition de stries jaunâtres internervaires de 2 cm de long. Celles-ci s'étendent ensuite sur toute la longueur du limbe foliaire (Fig. 11a). Au stade fin tallage, les stries prennent une coloration marron foncé au niveau des limbes foliaires des variétés Saida et Rihane qui ont manifesté également un nanisme et un nombre de talles réduit par rapport aux plants témoins non inoculés. En outre, les limbes foliaires de la variété Saida se sont desséchés complètement juste avant le stade épiaison au niveau des plants inoculés par les isolats Dg10, Dg12, Dg11 et Dg17 (Fig 11b). En ce qui concerne la variété Minnesota 23, l'apparition des symptômes ne s'est manifestée que tardivement (au stade montaison) et uniquement sur les plants inoculés par les isolats Dg1, Dg2, Dg10, Dg11 et Dg12 (Fig. 11c). Tous les plants de la variété Minnesota 23 inoculés par les différents isolats n'ont pas montré une réduction de la taille et du nombre de talles comparativement aux témoins. Les plants témoins non inoculés n'ont manifesté aucun symptôme (Fig. 11d).

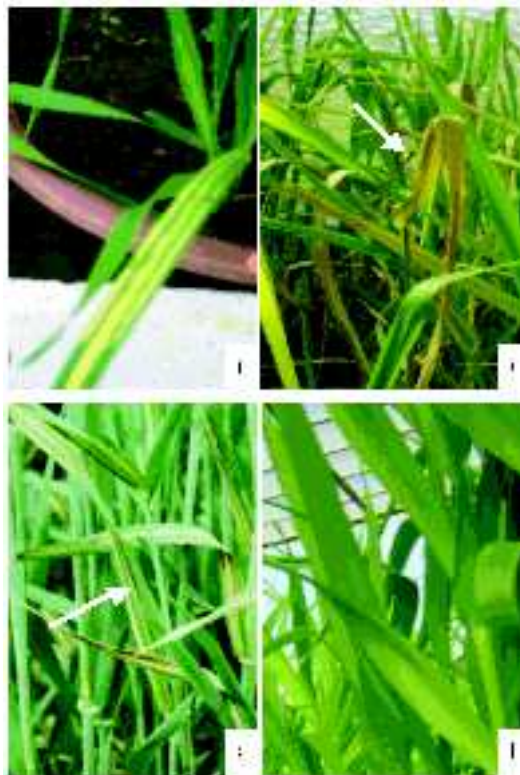


Figure 11 Symptômes de la strie foliaire sur les plants d'orge inoculés artificiellement par les isolats. (a) Stries jaunâtres sur les limbes foliaires

de la variété Saida. (b) Dessèchement des limbes foliaires de la variété Saida juste avant l'épiaison (c) Stries apparues au stade montaison sur les limbes foliaires de la variété Minnesota 23 (d) Témoin non inoculé.

Les incidences moyennes (exprimées en %) de la strie foliaire provoquées par les isolats sur les trois variétés d'orge, qui sont indiquées dans le Tableau XVIII, montrent que la variété Saida s'est montrée la plus sensible et a exhibé des pourcentages d'infection qui varient entre 17,42% à 100%. La variété Rihane qui s'est avérée moins sensible que la variété Saida s'est caractérisée par des pourcentages d'infection variant entre 0 % et 60,02%. Enfin, la variété Minnesota 23 qui a montré une certaine résistance à l'égard des différentes souches a exhibé des pourcentages d'infection variant de 0% à 24,83%.

Les réactions des trois variétés (résistante ou sensible) à l'égard des 18 isolats de *P. graminea* sont indiquées dans le Tableau XXII. Une variété est dite résistante lorsque le pourcentage d'infection par pot est inférieur à 15%, si par contre il est supérieur à ce seuil, elle est dite sen-

ISOLATS	VARIETES		
	MINNESOTA 23	RIHANE	SAIDA
Dg1	R	S	S
Dg2	R	S	S
Dg3	R	S	S
Dg4	R	R	S
Dg5	R	R	S
Dg6	R	S	S
Dg7	R	R	S
Dg8	R	S	S
Dg9	R	R	S
Dg10	S	S	S
Dg11	R	S	S
Dg12	S	S	S
Dg13	R	R	S
Dg14	R	R	S
Dg15	R	R	S
Dg16	R	R	S
Dg17	R	S	S
Dg18	R	S	S

Tableau XXII Réaction (R = résistant, S = sensible) des trois variétés d'orge à l'égard des 18 isolats de *P. graminea*.

sible (BENBELKACEM et al., 2000). La variété Saida s'est montrée sensible à tous les isolats testés. Elle a exhibé une grande sensibilité vis-à-vis de l'isolat Dg10 où le pourcentage d'infection par pot est de 100% et où les limbes foliaires se sont desséchés

complètement au stade fin tallage. La variété Rihane qui a montré un comportement intermédiaire s'est révélée résistante à huit isolats (8R/10S). La variété Minnesota 23 s'est avérée la plus résistante à tous les isolats testés à l'exception de Dg10 et Dg12. Ce caractère de résistance de la variété Minnesota 23 a été signalé par plusieurs auteurs (BOULIF et WILCOXSON, 1988; BENBELKACEM, 2003). Selon BOULIF et WILCOXSON, (1988) la résistance de la variété Minnesota 23 semble être conditionnée par un seul gène dominant et de ce fait elle pourrait être utilisée comme parent dans les croisements visant à améliorer la résistance des génotypes d'orge notamment les variétés Saida et Tichedrett qui sont largement cultivées en Algérie et qui sont en même temps très sensibles à la strie foliaire.

Le comportement des trois variétés indiqué par les pourcentages d'infection est corroboré par la durée de temps comprise entre l'inoculation et l'apparition des premiers symptômes de la maladie. Cette durée ou période de latence semble avoir une relation d'une part avec la virulence de l'isolat et d'autre part avec la résistance de la variété (ZADOKS et SCHEIN, 1979 ; LEPOIVRE, 2003). Dans notre essai, la période de latence a différé d'une variété à l'autre et d'un isolat à l'autre. En effet, l'apparition des premiers symptômes s'est manifestée au stade trois feuilles d'abord sur les plants de la variété Saida puis ceux de Rihane inoculés par les isolats Dg10, Dg12, Dg11 et Dg17. Par contre chez la variété Minnesota 23 qui a montré un certain degré de résistance à l'égard des isolats, les symptômes se sont manifestés beaucoup plus tardivement, au stade montaison.

4.3. Réactions des variétés d'orge à l'égard des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture :

Les composés toxiques contenus dans les filtrats de culture des isolats Dg10, Dg13 et Dg9, qui se sont respectivement montrés virulent, moyennement virulent et non virulent lors du test du pouvoir pathogène ont été infiltrés au niveau du limbe foliaire des variétés Saida, Rihane et Minnesota 23, qui se sont respectivement révélées sensible, moyennement résistante et résistante. L'infiltration des composés toxiques a été réalisée au stade trois feuilles où les plantules sont extrêmement réceptives.

Les composés toxiques contenus dans les filtrats de culture des isolats Dg10, Dg13 et Dg9 gardent leurs caractéristiques après leur filtration, leur concentration, leur précipitation et leur dialyse, confirmant ainsi les résultats obtenus par Haegi et Porta-Puglia (1995) qui indiquent que ces composés sont précipitables par l'acétone et ont un poids moléculaire supérieur à 10 000 Da.

Les dialysats des filtrats de culture des isolats Dg10, Dg13 et Dg9 induisent, après infiltration dans les limbes foliaires des trois variétés Saida, Rihane et Minnesota 23, l'apparition de symptômes typiques de la strie foliaire confirmant ainsi l'effet phytotoxique de ces composés (HAEGI et *al.*, 1994 ; HAEGI et PORTA-PUGLIA, 1995 ; HAEGI et *al.*, 1998 ; HAEGI et *al.*, 2002 ; BENSLIMANE, 2003 ; HAEGI et *al.*, 2004).

4.3.1. Réaction de la variété sensible Saida à l'égard des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture :

Les filtrats de culture bruts et concentrés de l'isolat Dg10 (virulent) induisent au bout de cinq jours après leur infiltration la formation de stries jaunâtres qui s'étalent sur toute longueur du limbe de part et d'autre de la zone d'infiltration (Figs.12, 1a et 1b). Les dialysats de ce même isolat entraînent la formation de stries au bout de 48 heures seulement après leur infiltration. Ces stries d'abord jaune clair s'étendent parallèlement aux nervures puis elles prennent une coloration marron foncé (Fig.12, 1c).

En ce qui concerne l'isolat Dg13 dont la virulence est intermédiaire, les filtrats brut et concentré induisent, au bout de sept jours après leur infiltration, la formation de stries jaunâtres de 3 cm de long, parallèles aux nervures (Figs.12, 2a et 2b). Les dialysats de cette isolat entraînent, au bout de trois jours après leur infiltration, l'apparition de stries de 2,5 cm de long, de couleur jaune foncé, parallèles aux nervures. Ces stries se nécrosent par la suite (Fig.12, 2c).

Les filtrats de culture bruts et concentrés de l'isolat Dg9 qui s'est montré le moins virulent induisent, au bout de huit jours après leur infiltration, la formation de petites stries jaunâtres d'environ 1 cm de long (Figs. 12, 3a, 3b). Les dialysats de cet isolat ont provoqué l'apparition de petites stries de 1,5 cm de long, jaune foncé, parallèles aux nervures au bout de quatre jours. Ces stries deviennent nécrotiques par la suite (Fig.12, 3c). Les plants témoins de la variété Saida infiltrés par des filtrats de culture provenant d'un milieu de culture nonensemencé n'ont manifesté aucun symptôme (Figs.12, 1d, 2d et 3d).

Les dialysats induisent la formation des stries foliaires beaucoup plus rapidement que les filtrats de culture bruts et concentrés. En effet, les stries induites sur les limbes foliaires de la variété Saida par les filtrats de culture bruts et concentrés de l'isolat Dg10 se manifestent au bout de cinq jours, alors que ceux provoqués par les dialysats de cette même souche apparaissent au bout de 48 heures. Ceci indique que la précipitation et la dialyse concentrent davantage les composés toxiques, et par conséquent, la manifestation des symptômes est plus rapide.



Figure 12 Réactions des limbes foliaires de la variété Saida à l'égard des filtrats de culture des isolats Dg10, Dg13 et Dg9. (1) Réactions des limbes au filtrat brut (a) concentré (b) dialysé (c) et témoin (d) de l'isolat Dg10. (2) Réactions des limbes au filtrat brut (a) concentré (b) dialysé (c) et témoin (d) de l'isolat Dg13 (3) Réactions des limbes au filtrat brut (a) concentré (b) dialysé (c) et témoin (d) de l'isolat Dg9.

Ce test nous a permis également de constater que la longueur des stries induites par les filtrats de culture des trois isolats est variable d'un isolat à l'autre. En effet, les stries induites par les filtrats de culture de l'isolat Dg10 qui s'est caractérisé par une virulence élevée s'étalent sur toute la longueur du limbe foliaire de la variété Saida, celles provoquées par les filtrats de l'isolat Dg13 dont la virulence est intermédiaire ont une longueur de 3 cm environ, enfin celles engendrées par l'isolat Dg9 qui s'est montré le moins virulent n'ont pas dépassé une longueur de 1 cm. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par HAEGI et *al.* (1998) qui indiquent que la longueur des stries provoquées, après infiltration, des filtrats de culture d'un isolat donné est proportionnelle au degré de virulence de l'isolat en question.

4.3.2. Réaction de la variété moyennement résistante Rihane à l'égard des composés toxiques contenus dans les dialysats des filtrats de culture :

Les filtrats de culture dialysés de l'isolat Dg10 induisent trois jours après leur infiltration, la formation sur les limbes foliaires des stries d'environ 3 cm de long, parallèles aux nervures et de couleur jaune foncé (Fig 13, 1a). Ces dernières prennent par la suite une coloration marron foncé et deviennent nécrotiques.

Les dialysats de l'isolat Dg13 ont engendré au bout de cinq jours après l'infiltration, la formation de petites stries jaunâtres, de 0,7 cm de long, parallèles aux nervures (Fig 13, 1b).

Les filtrats de culture dialysés de l'isolat Dg9 n'ont induit aucun symptôme après leur infiltration sur les limbes foliaires (Fig.13, 1c). Les témoins infiltrés par des filtrats de culture provenant d'un milieu de culture non ensemencé n'ont manifestés aucun symptôme. Il est à noter également que lors du test du pouvoir pathogène, le pourcentage d'infection provoqué par cet isolat sur cette variété était égal à 0%. La variété Rihane n'a donc manifesté aucun symptôme à l'égard des composés toxiques contenus dans les dialysats de l'isolat Dg9 qui ont pourtant induit la formation de stries sur les limbes foliaires de la variété sensible Saïda. La non apparition de symptômes sur la variété Rihane pourrait s'expliquer par son degré de résistance vis-à-vis de l'isolat Dg9.

4.3.3. Réaction de la variété résistante Minnesota 23 à l'égard des composés toxiques contenus dans les dialysats des filtrats de culture :

Les filtrats de culture dialysés de l'isolat Dg10 induisent, au bout de cinq jours après leur infiltration, la formation sur les limbes foliaires de stries de 1,5 cm de long, parallèles aux nervures, qui prennent d'abord une coloration jaune foncé et qui deviennent nécrotiques par la suite (Fig.13, 2a).

Les dialysats des isolats Dg13 et Dg9 n'induisent, après leur infiltration, sur les limbes foliaires de la variété Minnesota 23 aucun symptôme (Fig.13, 2b et 2c). Cette variété a également montré lors du test du pouvoir pathogène un pourcentage d'infection égal à 0%. Ceci rappelle le comport-

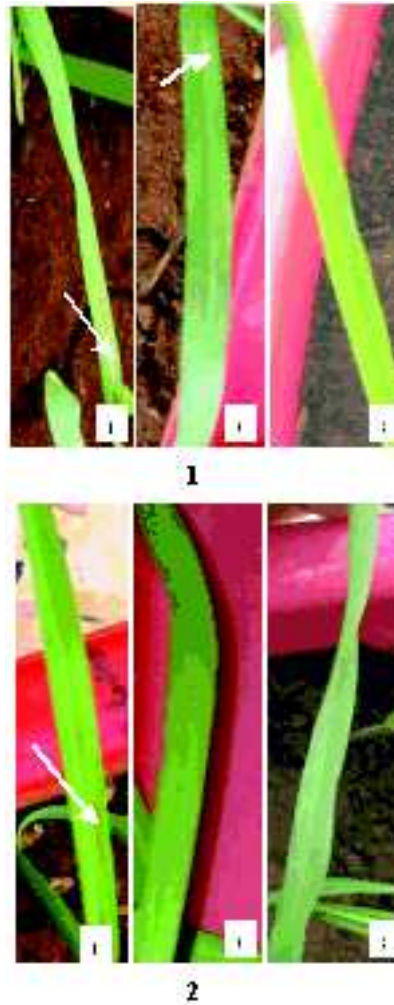


Figure 13 Réactions des limbes foliaires des variétés Rihane et Minnesota 23 infiltrées par les dialysats des filtrats de culture des isolats Dg10, Dg13 et Dg9. (1) Réactions des limbes foliaires de la variété Rihane aux isolats Dg10 (1a), Dg13 (1b) et Dg9 (1c). (2) Réactions des limbes foliaires de la variété Minnesota 23 aux isolats Dg10 (2a), Dg13 (2b) et Dg9 (2c).

ement de la variété Rihane à l'égard des dialysats de l'isolat Dg9. Les témoins n'ont manifesté aucun symptôme, après leur infiltration par des filtrats de culture issus d'un milieu de culture non ensemencé. Les variétés qui n'ont montré aucun symptôme après l'infiltration des limbes par les composés toxiques contenus dans les dialysats de certains isolats semblent être résistantes à la strie foliaire. L'existence d'un mécanisme de défense de la plante par lequel les tissus de l'hôte peuvent échapper à l'exposition des composés toxiques présents dans les filtrats de culture de *P. graminea* pourrait expliquer le phénomène de résistance.

La longueur des stries induites par les composés toxiques des trois isolats sur les limbes foliaires des trois variétés Saida, Rihane et Minnesota 23 ainsi que la durée de la période de latence varient en fonction de l'isolat et de la variété (Tableau XXIII).

ISOLATS	LONGUEUR DES STRIES			PERIODE DE LATENCE		
	V ₁	V ₂	V ₃	V ₁	V ₂	V ₃
Dg9	0	0	1,5	-	-	4
Dg10	1,5	3	tout le limbe	5	3	2
Dg13	0	0,7	2,5	-	5	3

Tableau XXIII Longueur des stries (en cm) et durée de la période de latence (en jours) induites par les dialysats des filtrats de culture des isolats Dg10, Dg13 et Dg9 après leur infiltration au niveau des limbes foliaires des trois variétés Saida, Rihane et Minnesota 23.

V₁ = variété Minnesota 23, V₂ = variété Rihane, V₃ = variété Saida, - = pas de symptômes.

D'après le tableau (XXIII), la longueur des stries foliaires induites par les composés toxiques contenus dans les dialysats des isolats est proportionnelle non seulement à leur degré de virulence mais aussi au niveau de résistance de la variété. Selon HAEGI et *al.* (1994), la variation de la longueur des stries d'un isolat à un autre semble être due à des différences dans la quantité et/ou la qualité de la toxine Pg produite par les isolats ou encore à l'interaction de cette dernière avec les autres substances produites par le pathogène et contenus dans les dialysats. Par contre, la variation de la longueur des stries d'une variété à l'autre semble être due à des différences du niveau de résistance des variétés, car selon HAEGI et *al.* (1998) la quantité de la toxine Pg accumulée dans un cultivar sensible est beaucoup plus importante que celle d'un cultivar résistant.

La durée d'apparition des symptômes après infiltration des composés toxiques varie avec le niveau de résistance de la variété et le niveau de virulence de l'isolat. C'est ainsi que les dialysats de l'isolat Dg10 (le plus virulent) ont induit la formation de stries jaunâtres au bout de trois jours seulement sur les limbes foliaires de la variété Rihane, par contre ceux de l'isolat Dg13 n'ont manifesté les symptômes caractéristiques de la strie foliaire qu'au bout de cinq jours sur les limbes foliaires de la même variété.

Les réactions des variétés Saida, Rihane et Minnesota 23 à l'égard des composés toxiques contenus dans les dialysats des filtrats de culture des trois isolats Dg10, Dg13 et Dg9 sont identiques à celles observées lors du test du pouvoir pathogène. En effet, une variété qui s'est montrée résistante à l'égard d'un isolat donné, lors du test du pouvoir pathogène, a également exhibée une résistance à l'égard des composés toxiques de ce même isolat. Les dialysats des filtrats de culture des divers isolats pourraient donc être utilisés en plein champ dans un programme d'amélioration pour le "screening" des génotypes résistants à la strie foliaire.

4.4. Test de spécificité des filtrats de culture :

Des espèces végétales non hôtes (*Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris*, *Vicia faba*, et *Triticum durum*) ont été choisies aléatoirement pour tester la spécificité des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture bruts d'un isolat virulent de *P. graminea*. Quarante huit heures après l'injection ou l'infiltration (dans le cas du *T. durum*) des filtrats de

culture de l'isolat Dg10 à ces espèces végétales, on a observé l'apparition de symptômes qui sont totalement différents de ceux induits sur les feuilles d'orge par ce même isolat (Figs. 14a, b, c, d).



Figure 14 Réactions des limbes foliaires appartenant à des espèces végétales non hôtes aux filtrats de culture bruts de *P. graminea*. (a) *Pisum sativum*. (b) *Phaseolus vulgaris*. (c) *Vicia faba*. (d) *Triticum durum*.

Sur le pois, l'haricot et la fève les composés toxiques contenus dans les filtrats de culture bruts de l'isolat Dg10 ont entraîné l'apparition d'une nécrose localisée autour du point d'injection au niveau de la nervure centrale (Figs. 14a, b et c). Sur le blé, ces mêmes composés ont provoqué la formation d'une nécrose localisée autour du point d'infiltration (Figs. 14d). Les symptômes induits par les filtrats de culture bruts ne sont donc pas identiques à ceux provoqués sur les feuilles d'orge qui se traduisent par des stries jaunâtres parallèles à la nervure centrale. Ces résultats sont conformes à ceux constatés par d'autres auteurs qui ont utilisés d'autres plantes non hôtes (avoine, blé tendre, maïs, tabac, aubergine, poirier) (HAEGI et PORTA-PUGLIA, 1995 ; BENSLIMANE, 2003).

Les composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de *P. graminea* montrent donc une certaine spécificité. La réaction de ces plantes (taches nécrotiques) semble être due selon certains auteurs à l'action de la fraction PI de la toxine Pg qui provoque l'apparition de taches nécrotiques ou chlorotiques sur des plantes non hôtes.

5. CONCLUSION

La strie foliaire est une maladie systémique très largement répandue à travers les différentes zones de culture d'orge en Algérie. L'étude de la variabilité de *P. graminea*, agent causal de la strie foliaire et de la réaction de trois variétés d'orge à l'égard des souches de ce pathogène nous ont paru intéressante à étudier. C'est pour cela que, dans une première étape, nous sommes intéressés à l'étude de la variabilité de quelques isolats de *P. graminea* en tenant compte de leur sporulation *in vitro* sur deux milieux de culture, de leurs caractères cultureux (type de croissance des colonies, couleur du mycélium et du substrat), de leur croissance mycélienne et de la mensuration de leurs conidies. Dans une seconde étape, nous avons étudié le comportement de trois variétés d'orge à l'égard de 18 isolats de *P. graminea*. Enfin, dans une troisième étape, nous nous sommes intéressés aux réactions de ces mêmes variétés aux composés toxiques présents dans les filtrats de culture de *P. graminea*.

L'essai de sporulation *in vitro* a montré des différences entre les deux milieux de culture testés. Au niveau du milieu V8JA, nous avons constaté sur un seul isolat Dg6 une faible production de conidies alors que sur le milieu BSEA cinq isolats (Dg3, Dg6, Dg10, Dg16 et Dg18) ont différencié des conidiophores et des conidies en quantité relativement abondante.

Les caractères cultureux (type de croissance des colonies, couleur du mycélium et du substrat) ont permis de distinguer deux types de croissance mycélienne des colonies (cotonneux et ras), quatre couleurs de mycélium (vert, blanc, orange et rose) et trois pigmentations du substrat (vert, jaune et orange). Cette variabilité dans la pigmentation du substrat laisse suggérer l'existence de "races culturelles". En effet, selon CHRISTENSEN et GRAHAM (1934), la pigmentation du substrat induite par un isolat donné est un critère qui peut caractériser une "race culturelle". L'optimum de la croissance mycélienne semble variable d'un isolat à un autre.

L'étude biométrique de la mensuration des conidies a montré qu'il existe des différences très hautement significatives au niveau de la longueur des spores alors que la largeur est presque constante pour tous les isolats. La variabilité des mesures biométriques dans la longueur des conidies des isolats étudiés semble indiquer une certaine diversité dans les populations de *P. graminea*.

Le test du pouvoir pathogène a montré une grande variabilité dans l'agressivité et la virulence non seulement entre les isolats issus de régions différentes mais également entre les isolats issus de la même région. Cette variabilité du pouvoir pathogène entre les isolats de *P. graminea* pourrait être attribuée à l'existence de plusieurs gènes de virulence dans le pathogène.

Le comportement des trois variétés indique qu'il existe une grande variabilité dans la réaction de celles-ci à l'égard des isolats. Aucune variété n'a cependant montré une résistance complète à ce pathogène. La variété Saida a confirmé sa grande sensibilité au *P. graminea*, Rihane s'est montrée moyennement résistante et Minnesota 23 s'est avérée résistante à tous les isolats à l'exception de deux seulement (Dg10 et Dg12). La résistance de cette variété semble être due à l'action d'un seul gène dominant (BOULIF et WILCOXSON, 1988). Les trois variétés testées ont permis de différencier la plupart des

isolats. Ces variétés pourraient faire partie d'une gamme d'hôtes différentielle pouvant être utilisée en Algérie dans les tests du comportement variétal.

L'infiltration des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de trois isolats Dg10, Dg13 et Dg9 qui se sont montrés respectivement virulent, moyennement virulent et avirulent sur les trois variétés Saida, Rihane et Minnesota 23 respectivement sensible, moyennement résistante et résistante a reproduit les symptômes typiques de la strie foliaire. Ceci indique que les composés toxiques contenus dans les filtrats de culture sont impliqués dans la symptomatologie de la maladie. La longueur des stries induites par les dialysats des filtrats de culture varie d'un isolat à un autre et d'une variété à une autre. Cette longueur des stries induites est proportionnelle au degré de virulence de l'isolat et au niveau de résistance des variétés infiltrées par les composés toxiques. L'infiltration de ces derniers à des espèces non hôtes du *P. graminea* a confirmé leur spécificité.

Au terme de ce travail, il serait intéressant de poursuivre la purification des composés toxiques produits par *P. graminea* et la séparation de leurs constituants afin de les caractériser chimiquement, de voir quelle est la fraction toxique pour une meilleure compréhension des mécanismes infectieux du *P. graminea*. En outre, il serait également intéressant de compléter la caractérisation des isolats par l'utilisation de marqueurs moléculaires (RAPD, RFLP, ... etc.) afin d'estimer leur variabilité génétique. Finalement, il serait utile de localiser les gènes de résistance des variétés qui ont montré un certain niveau de résistance comme Minnesota 23 et Rihane et essayer de les incorporer dans d'autres variétés sensibles comme Saida et Tichedrett qui sont localement bien adaptés aux conditions algériennes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANONYME, 2005. Bulletin statistique de la F. A. O. Vol.11. 140pp.
- ANONYME, 2007. Bulletin statistique de la F.A.O. Vol.2. 114pp.
- ARABI, M.I.E., 2005. Diallelanalysis of barley for resistance to leaf stripe and impact of the disease on genetic variability for yield components. *Euphytica* **145** : 161-170.
- ARABI, M.I.E., N. MIRALI., M. JAWHAR et B. AL-SAFADI. 2002. Differentiation of *Drechslera.graminea* isolates by cultural characteristics and SDS-PAGE. *J. Plant Pathol* . **84** : 153-156.
- ARABI, M.I.E, M. JAWHAR, B. AL-SAFADI et N. MIRALI. 2004. Yield responses of barley to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) under experimental condition in southern Syria. *J. Phytopathol.* **4** : 519-523.
- ARABI, M.I.E, M. JAWHAR et N. MIRALI. 2005. Storage protein (hordein) patterns of barley *Pyrenophora graminea* interaction. *Seed Sci. & Technol.* **33** : 409-418.
- ARAGONA, M., A. PORTA-PUGLIA, A. GATTI. et G. VANNACCI. 1991. Toxic metabolites of *Pyrenophora graminea*. Pp. 249-250. In : *Proceedings of the symposium on « Chemical and physiological aspects of phytotoxins »*. Viterbo, 13-14 September 1990. (Abstract). Rendiconti dell' Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL. Vol. 109, II.
- ARAGONA, M., et A. PORTA-PUGLIA. 1999. Identification of resistance to barley leaf stripe using a *Pyrenophora graminea* transformant expressing B-glucuronidase. *Eur. J. Plant Pathol* . **105** : 831-834.
- ARNY, D.C., 1945. Physiologic specialization in *Helminthosporium gramineum* Rabh. *Phytopathology* . **35** : 571-572.
- ARRU, L., R.E. NIKS, P. LINDHOUT, G. VALE, E. FRANZIA et N. PECCHIONI. 2002. Genomic regions determining resistance to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) in barley. *Genome* **45** : 460-466.
- BABADOOST, M. et M. R. JOHNSTON. 1998. Sporulation of *Drechslera graminea* on barley straw extract agar. *Mycologia* **90** : 63-68.
- BABADOOST, M. et E. TORABY. 1991. Barley stripe disease (*Pyrenophora graminea*) in east Azarbaijan, Iran : incidence and yield loss. *Rachis* **10** : 19-22.
- BACH, E., S. CHRISTENSEN, L. DALGAARD, P.O. LARSEN, C.E. OLSEN et V. SMEDEGARD-PETERSEN. 1979. Structures properties and relationship to the aspergillomarasmine of toxins produced by *Pyrenophora teres*. *Physiol. Plant Pathol.* **14** : 41-46.
- BEHAR, D.S. et K.S. AULAKH.1988. Incidence of stripe disease of barley in Punjab. *Plant Dis. Rep.* **3** : 82-83.
- BENBELKACEM, A. 1991. Résultats d'enquête sur les maladies des céréales en Algérie. Séminaire régional sur les grandes cultures. Pp 2-4.

- BENBELKACEM, A., M. BOULIF, A. AMRI et S. CECCARELLI. 2000. Variation in the pathogenicity of 20 Algerian isolates of *Pyrenophora graminea* Ito & Kur. on nine barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties. *Phytopathol. Mediterr.* **39** : 389-395.
- BENBELKACEM, K. 2003. Etude de la virulence de la strie foliaire causée par *Pyrenophora graminea*, de son incidence sur le rendement et de son héritabilité sur quelques génotypes d'orge (*Hordeum vulgare*). Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences Agronomiques. INA. El-Harrach, 120pp.
- BENDIF, N. 1994. La situation actuelle des maladies des céréales en Algérie : Résultats d'enquête. *Céréaliculture* **27** : 8-12.
- BENSLIMANE, H. 2003. Caractérisation de quelques isolats de *Pyrenophora graminea* et leurs comportements à l'égard de cinq génotypes d'orge. Thèse de Magister en Sciences Agronomiques. INA. El-Harrach, 77pp.
- BONARDI, V., A. HAEGI, G. VALE, E. DALLAGLIO, A. PORTA-PUGLIA, M. DELLEDONNE. 2003. Identification of differentially expressed genes involved in *Hordeum vulgare*-*Pyrenophora graminea* interaction. *Proceedings of the XLVII Italian society of agricultural genetics- SIGA Annual Congress Verona, Italie- 24/27 Septembre*. 230-237.
- BOULIF, M. et R. D. WILCOXSON. 1988. Inheritance of resistance to *Pyrenophora graminea* in barley. *Plant Dis.* **72** : 233-238.
- CHRISTENSEN, J.J et T.W. GRAHAM. 1934. Physiologic specialization and variation in *Helminthosporium gramineum*. Rab. University Farm, St. Paul, *Technical Bulletin* **95** : 3-40.
- COCKRELL, V., W. J. RENNIE et M. JACKS. 1995. Incidence and control of barley leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) in scottish barley during the period 1987-1992. *Plant Pathol.* **44** : 655-661.
- COVAL, S. J., C. M. HRADIL, H. S. M. LU, J. CLARDY, S. SATOURI et G. A. STROBEL. 1990. Pyrenoline A and B, two new phytotoxins from *Pyrenophora teres*. *Tetrahedron Letters* **31** : 2117-2120.
- DELOGU, G., N. FACCINI, R. ALBERICI et G. P. VALE. 2003. Two rowed and six rowed varieties resistant to barley leaf stripe developed using conventional and non conventional (MAS) selection methods. *Proceedings of the XLVII Italian Society of Agricultural Genetics- SIGA Annual Congress Verona, Italie 24-27 Septembre 2003*. 81-82.
- DELOGU, G., A. PORTA-PUGLIA et G. VANNACCI. 1989. Resistance of winter barley varieties subjected to natural inoculum of *Pyrenophora graminea*. *J. Genet. & Breed.* **43** : 61-66.
- DELOGU, G., A. PORTA-PUGLIA, A. M. STANCA et G. VANNACCI. 1995. Interaction between barley and *Pyrenophora graminea* : An overview of Research in Italy. *Rachis* **14** : 29-34.
- DRECHSLER, C. 1923. Some graminicolous species of *Helminthosporium*. *J. Agric. Res.* **24** : 641-749.
- EFFERTZ, R.J., S.W., MEINHARDT, J.A. ANDERSON, J.G. JORDAHL et L.J. FRANCL. 1998. Identification of a chlorosis inducing toxin from *Pyrenophora tritici-*

- repentis* and chromosomal location of a gene conditioning insensitivity in wheat (Abstract). *Phytopathology* **88** : 25.
- ERIKSSON, OE. 2006 ; Outline of Ascomycota 2006. *Myconet* **12** : 1-82
- ERIKSSON, OE. et K. WINKA. 1997. Supraordinal taxa of Ascomycota. *Myconet* **1** : 1-16.
- EZZAHIRI, B., A. FARIH et M. TAOUFIQ. 1996. Surveillance des maladies du blé et d'orge, au Maroc. *Proceedings du symposium régional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires*. 11-14 Novembre 1996, Rabat, Maroc. 72-75.
- GATTI, A., F. PIZZA, G. DELOGU, V. TERZI, A. PORTA-PUGLIA et G. NANNACCI. 1992. Physiological and biochemical variability in a population of *Drechslera graminea*. *J. Genet. & Breed.* **46** : 179-186.
- GAUNT, R. E. et A. C. WRIGHT. 1992. Disease yield relationship in barley : II. Contribution of stored stem reserves to grain filling. *Plant Pathol.* **41** : 688-701.
- GOODMAN, R. N., Z. KIRALY et K.R. WOOD. 1986. *The biochemistry and physiology of plant disease*, University of Missouri Press. Columbia. USA. 120pp.
- GRANITI, A. et A. PORTA-PUGLIA. 1984. Osservazioni sulla sensibilità di cultivar di avena alle tossine di *Pyrenophora avenae* Ito et Kurib. *Phytopathol. Mediterr.* **23** : 39-42.
- GRBAVAC, N. 1981. A simple technique for inducing sporulation in *Drechslera graminea* in culture. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **77** : 218-219.
- HAEGI, A., P.A. LAZZERI, A. PORTA-PUGLIA. 2002. Detoxification of the toxin produced by *Pyrenophora graminea* in GUSA lines of barley. *J. Plant Pathol.* **84** : 171-200.
- HAEGI, A., D. LUISSON, A. INFANTINO. 2004. Functional analysis of Pg toxin of *Pyrenophora graminea*, causal agent of barley stripe. (Abstract). *J. Plant Pathol.* **86** : 321.
- HAEGI, A. et A. PORTA-PUGLIA. 1995. Purification and partial characterisation of toxic compound produced by *Pyrenophora graminea*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **46** : 429-444.
- HAEGI, A., G. P. VALE, A. M. STANCA et A. PORTA-PUGLIA. 1998. Molecular « conversation » between host plants and fungi a case of study : Barley- *Pyrenophora graminea*. *Recent Res. Dev. Plant Pathol.* **2** : 111-128.
- HAEGI, A., M. ARAGONA, G. VANNACCI et A. PORTA-PUGLIA. 1994. Phytotoxic compounds in culture filtrates of *Pyrenophora graminea*. *Petria* **4** : 181-192.
- Hagbord, W. A. F. 1970. A device for injecting solutions and suspensions into thin leaves of plants. *Can. J. Bot.* **48** : 1135-1136.
- HAMMOUDA, A.M. 1988. Variability of *Drechslera graminea*, the causal fungus of leaf stripe of barley. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* **23** : 73-80.
- HARLAN, J. R. et D. ZOHARY. 1966. Distribution of wild wheats and barley. *Science* **153** : 1074-1080.
- HOUSTON, B. R. et J. W. OSWALD. 1948. Methods of inoculation of barley with the stripe disease, *Helminthosporium gramineum* (Abstract). *Phytopathology* **38** : 915.

- ISENBECK, K. 1930. Untersuchungen über *Helminthosporium gramineum* Rabh, im Rahmen der Immunitätszuchtung. *Phytopathologische Z.* **11** : 503-555.
- Jackson, L. F. et R. K. Webster. 1988. Influence of environment on spread of barley stripe disease in California. *Plant Dis.* **72** : 406-408.
- JAWHAR, M. SANGWAN, R.S. et M.I.E. ARABI. 2000. Identification of *Drechslera graminea* isolates by cultural characters and RAPD analysis. *Cereal Res. Commun.* **28** : 87-93.
- JAWHAR, M., B. TOTH et M.I.E. ARABI. 2004. Heterogeneity in the intergenic spacer region (IGS) of the ribosomal RNA gene cluster among syrian *Pyrenophora graminea* isolates. *Cereal Res. Commun.* **32** : 459-463.
- JOHNSON, T. 1925. Studies on the pathogenicity and physiology of *Helminthosporium gramineum*. *Rab. Phytopathology* **15** : 798-804.
- JOHNSTON, R.H., S.G. METZ, J.H. RIESSELMAN. 1982. Seed treatment for control of *Pyrenophora* leaf stripe of barley. *Plant Dis.* **66** : 1122-1124.
- KAVAK, H. 2004. *Pyrenophora graminea* in fields sown-spring barley angora in arid district of Turkey. *Pakistan Journal. of Biological Sciences* **7** : 1225-1228.
- KEEN, N. T. 1992. The molecular biology of disease resistance. *Plant Molecular Biology* **19** : 109-122.
- KLINE, D. M. 1971. Resistance to *Helminthosporium* stripe in winter barley cultivars. *Plant Dis. Rep.* **55** : 858-859.
- KLINE, D. M. 1972. *Helminthosporium* stripe resistance in spring barley cultivars. *Plant Dis.* **56** : 891-893.
- KNUDSEN, J.C.N. 1980. Resistance to *Pyrenophora graminea* in 145 barley entries subjected to uniform natural inoculum. *Royal veterinary and agricultural university yearbook.* 85-95.
- KNUDSEN, J.C.N. 1986. Resistance to barley leaf stripe. *Zeitschrift für Pflanzenzuchtung*, **96** : 161-168.
- KONAK, C. 1983. The inheritance of resistance of barley (*Hordeum vulgare* L.) to *Pyrenophora graminea* Ito et Kurib. M. S. Thesis. Montana Sta-Univ. Bozeman, 55pp
- KONO, Y., H. W. KNOCHE, J. M. DALY. 1981. Structure : fungal host specific. Pp 221-257. In : *Toxins in plant disease*; Durbin RD Ed. New York : Academic Press.
- LAMARI, L et C.C. BRENIER. 1989. Toxin of *Pyrenophora tritici-repentis*: Host-specificity, significance in disease, and inheritance of host reaction. *Phytopathology* **79** : 740-744.
- LEPOIVRE, P. 2003. Phytopathologie : Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes. Ed. Dc Boeck Université- Paris, 415pp.
- LUMUMBA, I. 1985. Relation entre la contamination des semences d'orges par l'organisme de la maladie striée *Drechslera graminea* (RAB Shoem) et l'incidence de cette maladie au champ. Mémoire de fin d'étude. Ecole nationale d'agriculture de Meknès. 44pp
- LUTTRELL, E.S. 1955. The Ascstromatic Ascomycetes. *Mycologia* **47** : 511-532.

- MAGNUS, H. A. 1979. Relationship between barley-stripe disease and yield decrease in seed dressing trails. *Norwegian Plant Protection Institute* **90** :59-67.
- MARTENS, J.W., W.L. SEAMAN et T.G. ATKINSON. 1988. *Diseases of Field Crops in Canada*. The Canadian Phytopathological Society. 160pp
- MATHRE, D.E. 1997. *Compendium of barley diseases*. American Phytopathological Society, 120pp.
- MATHUR, R.S., S.C. MATHUR et A.G. BEJPAI. 1964. An attempt to estimate loss caused by the stripe disease of barley. *Plant Dis* . **48** : 708-710.
- Mohammed, A et M. Mahmood 1973. Resistance to Helminthosporium stripe in barley cultivars in India. *Plant Dis. Rep.* **57**: 495-498.
- MOHAMMED, A. et M. MAHMOOD. 1976. Physiologic specialization in *Helminthosporium gramineum*. *Plant Dis. Rep* . **60** : 711-712.
- MUELLER, K.J., G. VALE, D. ENNEKING. 2003. Selection of resistant spring barley accessions after natural infection with leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) under organic farming conditions in Germany and by sandwich test. *J. Plant Pathol* . **85** : 9-14.
- NEERGARD, P. 1979. *Seed pathology*. Tome1. Ed. Macmillan Press, London, 1191pp.
- NIELSEN, B. J. et C. S. SCHEEL. 1997. Production of quality cereal seed in Denmark. *Proceedings of the ISTA Pre-Congress seminar on seed pathology*, ISTA, Zurich, 11 – 17.
- Nilsen, B. J. 2002. Screening for resistance to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) in barley. *Proceedings of the second International Workshop on barley leaf blights*, 7 – 11 April 2002, ICARDA, Aleppo, Syria. Eds. YAHIAOUI, A., BRADER, L., TEKAUZ, WALLWORK, II., STEFFENSON, B. ICARDA, Aleppo, 277-280.
- Nilson, B. 1975. Resistance to stripe (*Helminthosporium gramineum*) in barley. Pp: 470 – 475. *Barley Genetics III. Proc 3rd Inter. Barley Genet. Symp.* Garching, July 7 – 12.
- OBST, A. 1993. *Krankheiten und Schädlinge des Getreides*. Mann, Gelsenkirchen.
- OROLAZA, N. P., L. LAMARI et G. M. BALLANCE. 1995. Evidence of a host-specific chlorosis toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*, the causal agent of tan spot of wheat. *Phytopathology* **85** : 1282-1287.
- PECCHIA, S., E. MERCATELLI et G. VANNACCI. 1998. PCR amplification and characterization of the intergenic spacer region of ribosomal DNA in *Pyrenophora graminea*. *FEMS Microbiology letters* **166** : 21-27.
- PECCHIONI, N., P. FACCIOLI, H. TOUBIA-RAHAME, G. VALE et V. TERZI. 1996. Quantitative resistance to barley leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) is dominated by one major locus. *Theor. Appl. Genet.* **93** : 97-101.
- PECCHIONI, N., G. VALE, H. TOUBIA-RAHME, V. FACCIOLI, V. TERZI et G. DELOGU. 1999. Barley-*Pyrenophora graminea* interaction : QTL analysis and gene mapping. *Plant Breed.* **118** : 29-35.
- PLATENKAMP, R. 1976. Investigations on the infection pathway of *Drechslera graminea* in germinating barley (Abstract). *Rev. Plant Pathol.* **56** :319.

- POEHLAMN, J. M. 1985. Adaptation and distribution. Pp. 211-212. In : Rasmusson D. C. (ed.), Barley. American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Publishers, Wisconsin, USA.
- PORTA-PUGLIA, A., G. DELOGU, G. VANNACI. 1985. *Pyrenophora graminea* on winter barley seed : effect on disease incidence and yield losses. *J. Phytopathol.* **117** : 26-33.
- PRINGLE, R. B. et R. P. SCHEFFER. 1964. Host-specific toxins. *Annu. Rev. Phytopathol.* **2** : 133-156.
- PUTTERILL, K.M. 1954. Some graminicolous species of *Helminthosporium* and *Curvularia* occurring in South Africa. *Bothalia* **6**: 347-378.
- RAPILLY, F. 1971. Les principales maladies cryptogamiques des céréales. Ed. I.N.R.A., Paris, 187pp.
- RAPILLY, F. et J. PONCHET. 1962. Etude de quelques critères taxonomiques du genre *Helminthosporium* Link. *Ann. Epiphyties* **13** : 293-300.
- RICHARDSON, M.J., A.M. WHITTLE, et M. JACKS. 1976. Yield loss relationships in cereals. *Plant Pathol.* **25** : 21-30.
- ROBESON, D. J. et G. A. STROBEL. 1982. Monocerin, a phytotoxin from *Exserohilum turcicum* (*Drechslera turcica*). *Agricultural and Biological Chemistry* **46** : 2681-2683.
- RUDOLPH, K. 1976. Non-specific toxins. Pp. 190-192. In : Heitefuss R et Williams P. H. (eds.), *Physiological plant pathology*, Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- SAYOUD, R. et K. BENBELKACEM. 1996. Situation des maladies des céréales en Algérie. Pp. 69-70. In : *Proceedings du symposium régional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires*. 11-14 Novembre 1996, Rabat.
- SAYOUD, R. et N. BENDIF. 1995. Barley leaf blight in Algeria. *Rachis* **14** : 61-63.
- SAYOUD, R., B. EZZAHIRI et Z. BOUZNAD. 1999. *Les maladies des céréales et les légumineuses alimentaires au Maghreb*. Ed. ITGC. Alger, 64pp.
- SCHEFFER, R. P. et S. P. BRIGGS. 1981. Introduction : A perspective of toxin studies in plant pathology. Pp. 220-223. In : Durbin R. D. (ed.), *Toxins in plant disease*, Academic Press, Inc, New York, USA.
- SCHEFFER, R.P. 1976. Host-specific toxins in relation to pathogenesis and disease resistance. Pp. 110-115. In : Heitefuss R. et Williams P.H. (eds.). *Physiological Plant Pathology*, Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- SCHOCH, C.L., R.A. SHOEMAKER, K.A. SEIFERT, S. HAMBLETON, J.W. SPATAFORA et PW. CROUS. 2006. A multigene phylogeny of the Dothideomycetes using four nuclear loci. *Mycologia* **98** : 10043-10054.
- SENGUPTA, P. K. et S. A. SINGH. 1979. Inducing sporulation in *Helminthosporium gramineum* in culture. *Curr. Sci.* **48** : 871-872.
- SKOROPAD, W.R. et D.C. ARNY. 1956. Histologic expression of susceptibility and resistance in barley to strains of *Helminthosporium gramineum*. *Phytopathology* **46** : 289-292.
- SKOU, J.P. et V. HAAHR. 1987. *Screening for and inheritance of resistance to barley leaf stripe (Drechslera graminea)*. RisØ Report 554, RisØ National Laboratory, Roskilde, Denmark, 96pp.

- SKOU, J.P., B.J. NIELSON et V. HAAHR. 1994. Evaluation and importance of genetic resistance to leaf stripe in Western European Barleys. *Acta. Agric. Scan., Sect.B, Soil and Plant sci.* **44** : 98-106.
- SMEDEGARD-PETERSEN, V. et J. JORGENSEN. 1982. Resistance to barley leaf stripe caused by *Pyrenophora graminea*. *Phytopathol. Z.* **105** : 183-191.
- SMEDEGARD-PETERSEN, V. 1977. Isolation of two toxins by *Pyrenophora teres* and their significance in disease development of net-spot blotch of barley. *Physiol. Plant Pathol.* **10** : 203-211.
- SOKAL, R. R. et F. J. ROHLF. 1981. *Biometry : The principles and practice of statistics in biological research*. Ed. W.H. FREEMAN and company. New York, 859pp.
- STEVENS, E. A., E. J. A. BLAKEMORE et J. C. REEVES. 1997. Development of PCR-based test to detect and identify *Pyrenophora* sp. Pp. 139-145. In : *Seed health testing*. Ed. D. Hutchins and J. C. Reeves, Cambridge.
- STOESSL, A. 1981. Structure and biogenetic relations: Fungal non host-specific. Pp 110-219. In : *Toxins in plant disease*.(R.D Durbin. Ed.) Academic PRESS, New York.
- STROBEL, G., D. KENFIELD et F. SUGAWARA. 1988. The incredible fungal genus – *Drechslera* - and its phytotoxic ophiobolins. *Phytoparasitica* **16** : 145-152.
- SUNESON, C.A., 1946. Effect of barley stripe, *Helminthosporium gramineum* Rab., on yield. *J. Am. Soc. Agron.* **38** : 54-55.
- SUNESON, C.A., 1950. Physiological and genetic studies with the stripe disease in barley. *Hilgardia* **20** : 29-36.
- Suty-Heinze, A., I. HAUSER-HAHN et K. KEMPER. 2004. Prothioconazole and Fluoxastrobin : two new molecules for the use as seed treatment in cereals. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* **57** : 451-472.
- TACCONI, G., L. CATTIVELLI, N. FACCINI, N. PECCHIONI, A. M. STANCA et G. VALE. 2001. Identification and mapping of a new leaf stripe resistance gene in barley (*Hordeum vulgare*). *Theor. Appl. Genet.* **102** : 1286-1291.
- TEKAUZ, A. et A. W. CHICO. 1980. Leaf stripe of barley caused by *Pyrenophora graminea* : Occurrence in Canada and comparisons with barley stripe mosaic. *Can. J. Plant Pathol.* **2** : 152-158.
- TEKAUZ, A. 1983. Reaction of canadian barley cultivars of *Pyrenophora graminea* the incitant of leaf stripe. *Can. J. Plant Pathol.* **5** : 294-301.
- TEKAUZ, A. 1985. Effect of date of seeding and seed treatment fungicides on infection of barley by *Pyrenophora graminea*. *Can. J. Plant Pathol.* **7** : 408-416.
- TEVIODALE, B. et HALL. D.L. 1976. Factors affecting inoculum development and seed transmission of *Helminthosporium gramineum*. *Phytopathology* **66** : 295-301.
- TOMAS, A. et W. W. BOCKUS. 1987. Cultivar-specific toxicity of culture filtrates of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology* **77** : 1337-1340.
- TOUBIA-RAHAME, H., N. PECCHIONI, G. VALE, L. CATTIVELLI et M. STANCA. 1996. Mapping a Quantitative Trait Loci (QTL) for *Pyrenophora graminea* resistance in

- barley. Pp. 289-297 In : *Proceedings du symposium régional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires*, Rabat.
- TUNALI, B. 1995. Reaction of Turkish barley cultivars to *Pyrenophora graminea* isolates. *Rachis* **14** : 72-75.
- VADERPLANK, J.K., 1984. Pathogenic races, host resistance, and an analysis of pathogenicity. *J. Plant Pathol.* **75**: 45-52.
- VALE, G. P., E. TORRIGIAN, A. GATTI, G. DELOGU, A. PORTA-PUGLIA, G. VANNACCI et L. CATTIVELLI. 1994. Activation of genes in barley roots in response to infection by two *Drechslera graminea* isolates. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **44** : 207-215.
- VIDHYASEKARAN, P., E. S. BORROMEO et T. W. MEW. 1986. Host-specific toxin production by *Helminthosporium oryzae*. *Phytopathology* **76** : 261-266.
- VIVEK KUMAR, INDRA HOODA, et G.S. SINDHAN. 1998. Estimation of yield losses in barley due to *Drechslera graminea* the causal agent of stripe disease. *Indian Phytopathol.* **51** : 365-366.
- VON ARX, J.A. 1987. *Plant Pathogenic Fungi*. J. Cramer Berlin Stuttgart. 288pp
- WALLWORK, H. 1995. Barley leaf blights in Australia and New Zealand : Historical perspective and current situation. *Rachis* **14** : 74 – 81.
- YAHIAOUI, A. H., M. CHERIF et M. HARRABI. 1995. Barley disease incidence in Tunisie. *Rachis* **14** : 82-83.
- ZILLINSKY, F.J. 1983. Maladies communes des céréales à paille : Guide d'identification. Ed. CIMMYT, Londres, 141pp.
- ZOHARY, D. 1969. The progenitors of wheat and barley in relation to domestication and agriculture dispersal in the Old World. Pp. 213-214. In : Ucko P.J. and Dimbleby G.W. (eds.). *The domestication and exploitation of plants and animals*, Duckworth, London, UK.
- ZOHARY, D. 1973. The origins of cultivated cereals and pulses. *Chromosome Today.* **4** :307-320.
- ZOHARY, D. et M. HOPF. 1988. *Domestication of plants in the Old World*, Oxford University Press, Oxford, UK.. 230pp.
- ZRIBA, N. et M. HARRABI. 1995. Cultural and pathogenic variability in *Pyrenophora graminea* isolates. *Rachis* **14** : 99.

ANNEXES

ANNEXE I préparation du bouillon de paille d'orge

- Couper la paille d'orge en fragments de 5 cm de long.
 - Tremper les fragments dans de l'eau distillée pendant 16 à 20 heures.
 - Faire bouillir l'eau distillée contenant les fragments pendant 15 minutes.
 - Conserver le bouillon à 4°C.

ANNEXE II préparation des boudins de dialyse

- Découper les membranes de dialyse en fragments de 10 à 20 cm de long.
- Faire bouillir les membranes découpées pendant 10 minutes dans une solution de bicarbonate de sodium et d'EDTA 1 mM à 2% (pH = 8).
- Rincer les membranes avec l'eau distillée.
- Faire bouillir les membranes pendant 10mn dans l'EDTA 1 mM à 2% (pH = 8).
- Laisser la solution d'EDTA contenant les membranes se refroidir.
- Retirer les membranes de la solution d'EDTA et les conserver à 4°C jusqu'au moment de leur utilisation.

Annexe III préparation de la solution FeSO_4 pour le milieu liquide de tomas et bockus (1987) modifié par haegi et *al.* (1994).

- 183 mg de FeSO_4 sont dilués dans 100 ml d'eau distillée (1,83 mg/ml)
 - On prélève 1 ml de la solution précédente qu'on dilue dans 100 ml d'eau distillée (0,0183 mg/ml)
 - 10 ml de la solution de FeSO_4 à 0,0183 mg/ml sont ajoutés à 1 litre du milieu liquide de TOMAS et BOCKUS (1987) modifié par HAEGI et *al.* (1994).

Annexe IV préparation de la solution $ZnSO_4$ pour le milieu liquide de tomas et bockus (1987) modifié par haegi et *al.* (1994).

- 35 mg de $ZnSO_4$ sont dilués dans 100 ml d'eau distillée (0,35 mg/ml)
 - On prélève 1 ml de la solution précédente qu'on dilue dans 100 ml d'eau distillée (0,0035 mg/ml)
 - 10 ml de la solution de $ZnSO_4$ à 0,0035 mg/ml sont ajoutés à 1 litre du milieu liquide de TOMAS et BOCKUS (1987) modifié par HAEGI et *al.* (1994).