



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP. Agro/2021

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences agronomiques

Spécialité : Phytopathologie

Présenté par :

HARMALI Katia & MENICHE Souhila

Thème

**Contribution à l'étude de la résistance des champignons
de blé aux fongicides (cas des triazoles et des
strobilurines).**

Soutenu le: 16 /09/2021

Devant le jury composé de :

Nom et Prénoms

Grade

Mme MAHDI Khadidja

MCA

Univ. de Bouira

Président

Mme MEBDOUA Samira

MCB

Univ. de Bouira

Promotrice

Mme Bachouche Nassima

MCB

Univ. de Bouira

Examinatrice

Mme SAIDI Amel

Doctorante

Univ. de Bouira

Co-promotrice

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

Tout d'abord je tiens à remercier ALLAH, le tout puissant, qui m'a donné la force, l'intelligence et la patience d'accomplir ce modeste travail.

*Je remercier sincèrement Madame **MEBDOULA Samira**, Encadreur de ce travail Et mon professeur ; Pour sa disponibilité tout en long de la réalisation de ce Mémoire, Ainsi pour son inspiration, aide et son suivi, je dis merci.*

*Nos remerciements s'adressent également aux membres de jury la présidente Mme **Mahdi Khadidja** et l'examinatrice Mme **BACHOUCHE Nassima** est qui ont accepté d'évaluer notre travail et de nous avoir honorés pour leur présence.*

*Aussi, nous présentons notre reconnaissance à tous les enseignants de **SNVST Bouira** qui nous a conseillé et soutenu le long parcours dans la faculté*

Dédicace

Je dédie ce travail à mes parents que je tiens à remercier affectueusement pour m' avoir accordé toute leur confiance, leur soutien et permis de faire de longues études. Aussi pour leur grande compréhension dans les moments difficiles, pour m' avoir supporté, aidée et encouragée ces quelques lignes je vous exprime ma profonde reconnaissance « que dieu vous garde pour moi ».

De même façon je remercie mes trois sœurs Wassila et Widad et Lamia et mon frère Houssam pour toute l' aide et la patience dont ils ont fait preuve.

Je remercie également mon mari Nabil pour leurs sacrifices.

Et toute ma famille proche ou éloignée pour leur soutien moral.

Katia

Dédicace

C'est avec une profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce modeste travail de fin d'étude à :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, pour sa sacrifice tous les jours et les nuits de mes études. Puisse dieu vous accorder santé, bonheur et longue vie.

L'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude. Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices.

Mon chère frère Tarik et ma sœur Amina en leurs souhaitant beaucoup de succès dans la vie.

A mon Binôme Katia.

Mon fidèle marie Yazid pour leur soutien moral.

Souhila

Résumé

Ce travail vise à étudier la résistance des champignons associés au blé vis-à-vis quelque classe de fongicides (Difénoconazole, Azoxystrobine, Tebuconazole, Triadimenol). Dans la première partie de notre travail, nous avons isolé des champignons résistants en utilisant le milieu DCPA supplémentés de quatre fongicides. Cette partie du travail a permis de sélectionner deux souches de *F culmorum*, une souche de *F graminearum* et une souche de *F lateritium* qui ont montré un développement satisfaisant sur le milieu DCPA +fongicide.

Dans la deuxième partie de travail, nous avons évalué la résistance sensibilité de ces 4 souches vis à vis de deux fongicides (triadimenol et difenoconazole), les résultats ont montré que ces souches sont plus résistantes au difenoconazole qu'au triadimenol.

Mots clés : Fongicide, blé, Fusarium résistance, Azoxystrobine, Triadimenol, Difenoconazole, Tebuconazole.

Abstract

The aim of this work is to study the resistance of wheat-associated fungi to some class of fungicides (Difenoconazole, Azoxystrobin, Tebuconazole, Triadimenol). In the first part of our work, we isolated resistant fungi using DCPA medium supplemented with four fungicides. This part of the work allowed us to select two strains of *F culmorum*, one strain of *F graminearum* and one strain of *F lateritium* which showed a satisfactory development on the DCPA medium + fungicide.

In the second part of the work, we evaluated the resistance sensitivity of these 4 strains to two fungicides (triadimenol and difenoconazole), the results showed that these strains are more resistant to difenoconazole than to triadimenol.

Key words: Fungicide, wheat, Fusarium resistance, Azoxystrobin, Triadimenol, Difenoconazole, Tebuconazole .

الملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة مقاومة الفطريات المصاحبة للقمح لبعض أنواع مبيدات الفطريات (ديفينوكونازول ، أزوكسيستروبيين ، تيبوكونازول ، ترياديمينول). في الجزء الأول من عملنا ، قمنا بعزل الفطريات المقاومة باستخدام وسيط DCPA مدعومًا بأربعة مبيدات فطريات. سمح لنا هذا الجزء من العمل باختيار سلالتين من *F. culmorum* ، وسلالة واحدة من *F. graminearum* وسلالة واحدة من *F. lateritium* والتي أظهرت تطورًا مرضيًا على وسط DCPA + مبيد فطري.

في الجزء الثاني من العمل ، قمنا بتقييم حساسية المقاومة لهذه السلالات الأربعة لمبيدات للفطريات (ترياديمينول وديفينوكونازول) ، وأظهرت النتائج أن هذه السلالات أكثر مقاومة للديفينوكونازول من ترياديمينول.

الكلمات المفتاحية: مبيدات الفطريات ، القمح ، مقاومة الفيوزاريوم ، أزوكسيستروبيين ، ترياديمينول ، ديفينوكونازول ، تيبوكونازول

Sommaire

Introduction	01
PARTIE I : Revue bibliographique	
Chapitre I : présentation de blé	
1-Origines des blés cultivés.	03
2-Description de blé	04
3-Classification	06
4-Importance économique de blé	07
Chapitre II : maladies fongiques de blé	
1-Généralités sur les maladies fongiques de blé	08
2-Principaux maladies fongiques de blé	09
2-1. Caries	09
2-2. Charbon nu	10
2-3. Septorioses	10
2-4. Fusarioses	11
2-5.Oïdium	11
2-6.Rouille	12
2-7. Piétin-verse	14
2-8. Tache helminthosporienne	14
2-9. Piétin échaudage	15
Chapitre III : fongicides utilisés sur le blé) et phénomène de résistance	
1- Définition des fongicides	16
2- Action des fongicides au niveau des plantes	16
3- Les Triazoles	17
4-Les Sulobutrines	18
5-Les triazoles et les sulobutrines utilisé en Algérie	19
6-Définition de la résistance	21
7-Mécanismes de résistance	22
7-1.Résistance aux fongicides à site unique	23
PARTIE II : Partie expérimentale	
Chapitre IV : Matériels et méthodes	
1-Prospections sur terrain et prélèvement des échantillons	25

2- Matériels végétatifs	26
3-Fongicides testés	26
3-1.Triademenol	26
3-2.Difenoconazole	27
3-3.Tebuconazole	28
3-4.Azoxystrobine	28
4-Méthodologie	29
4-1- Essais d'isolement des souches fongiques résistantes aux fongicides	29
4-1-1.Préparation du milieu de culture DCPA à base de fongicides	29
4-1-2.Préparation des échantillons	30
4-1-3.Mise en culture sur le milieu de culture DCPA et incubation	31
4-1-4.Purification des colonies fongiques isolées Après 6 jours d'incubation	31
4-1-5.lecture des boites SNA et PDA	32
4-1-6.Identification d'agent responsable étudié	33
4-2.Essais d'évaluation de la résistance /sensibilité de quelques souches fongiques	33
4-2-1-Préparation du milieu PDA supplémenté de fongicides	33
4-2 -2 Inoculation de milieux de culture et incubation	34

Chapitre V : résultats et discussion

1- Essais d'isolement des souches fongiques résistantes aux fongicides	37
1-1- Effet de fongicides sur le pourcentage d'infection fongique	37
1-2 Identification des isolats fongiques	38
1-3 -Description des isolats de <i>Fusarium</i> isolés sur milieu DCPA supplémenté de fongicides	40
1-3-1 <i>Fusarium graminearum</i> (souche 1)	40
1-3-2 <i>Fusarium culmorum</i> (souche 2)	41
1-3-3 <i>Fusarium culmorum</i> (souche 3)	43
1-3-4 <i>Fusarium lateritium</i> (souche 4)	44
2- Résultats des Essais d'évaluation de la résistance /sensibilité de quelques souches fongiques	45

2-1 Résultats de la souche 1	46
2-2 Résultats de la souche 2	47
2-3 Résultats de la souche 3	48
2-4 Résultats de la souche 4	48

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Le croissant fertile.	03
Figure 02	Morphologie des graminées (exemple du blé)	05
Figure 03	Top dix pays les plus importateurs du Blé durant l'année 2019.	08
Figure 04	Evolution de la production et les superficies récoltées du blé en Algérie	08
Figure 05	Top dix pays les plus producteurs du Blé durant l'année 2019	09
Figure 06	Les parties de la plante sur lesquelles les maladies sont visibles.	10
Figure 07	Graines caries.	11
Figure 08	Symptôme de Charbon nu sur blé.	12
Figure 09	Septoriose des feuilles.	12
Figure 10	Maladie de la fusariose.	13
Figure 11	Symptômes de l'Oïdium sur blé.	14
Figure 12	Rouille brune.	14
Figure 13	Rouille noir.	15
Figure 14	Symptômes de rouille jaune sur blé.	15
Figure 15	Symptôme de Piétin-verse sur blé.	16
Figure 16	Helminthosporiose.	17
Figure 17	Piétin échaudage.	17
Figure 18	Déplacement des fongicides au niveau de la plante.	19
Figure 19	Mécanismes de résistance aux fongicides à site unique.	25
Figure 20	Structure chimique du Triademenol.	29
Figure 21	Structure chimique du Difeconazole.	29
Figure 22	Structure chimique du Tebuconazole.	30
Figure 23	Structure chimique du Azoxystrobine.	31
Figure 24	Plants du blé après rinçage.	32
Figure 25	Désinfection des échantillons.	32
Figure 26	Séchage des fragments des organes des plantes.	33
Figure 27	Mise en culture des fragments végétaux sur milieu DCPA	33
Figure 28	Observation microscopique de <i>Alternaria sp</i> et <i>Cladosporium sp</i> isolés à partir de la partie aérienne du blé	40
Figure 29	Macroconidies de <i>Fusarium graminearum</i> observés en microscope optique	41

	(X40) et (X100)	
Figure 30	Observation macroscopique de <i>Fusarium graminearum</i> sur milieu PDA (face et reverse)	41
Figure 31	Macroconidies de <i>Fusarium culmorum</i>	42
Figure 32	Aspect de la Souche 2 sur milieu PDA après 9jours d'incubation	42
Figure 33	Observation microscopique et macroscopique de la souche 3	43
Figure 34	Observation microscopique et macroscopique de souche 4	44
Figure 35	Effet de la concentration en triadimenol et en difenoconazole sur la croissance radiale de souche 1	46
Figure 36	Effet de la concentration en triadimenol et en difenoconazole sur la croissance radiale de souche 2	47
Figure 37	Effet de la concentration en triadimenol et en difenocnazole sur la croissance radiale de souche	48
Figure 38	Effet de la concentration en triadimenol et en Difenocnazole sur la croissance radiale de souche 4	49

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
AMO	Akli Mohand Oulhadj
C°	Degré Celsius
DMIs	Sterol demethylation inhibitors
DPCA	Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar
DPVCT	Direction de la protection végétaux et des contrôles techniques
DSA	Direction des Services Agricole
EW	Emulsion, oil in Water
FAO	Food and Agriculture Organization
MI	Millilitre
PDA	Potato Dextrose Agar SC : Suspension Concentrée
Qol	Inhibiteurs extérieurs de quinone
SC	Suspension concentrée
SDHI	Est un sigle qui désigne les inhibiteurs de la succinate déshydrogénase

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau N°01	Modes de conservation des principaux agents pathogènes responsables des maladies cryptogamiques du blé.	11
Tableau N°02	Liste des produits pesticides à base de triazole autorisés sur blé en Algérie	21
Tableau N°03	Liste des associations à base de triazole /strobilurins autorisées sur blé en Algérie	23
Tableau N°04	Liste des produits pesticides à base de strobilurine autorisés sur blé en Algérie	23
Tableau N°05	Caractéristiques des parcelles choisies pour les prélèvements	27
Tableau N°06	Etat phytosanitaire des parcelles prélevées	28
Tableau N°07	Les formulations de fongicides utilisées	32
Tableau N°08	Pourcentage de développement des colonies fongiques pour les différents milieux	37
Tableau N°09	Aspect des colonies fongiques développées à partir des fragments végétaux de blé sur le milieu DCPA	39

Introduction générale

Introduction

Le blé est une plante annuelle de la famille des Poacées. Cette culture est produite dans de nombreuses régions du monde et représente la troisième plus grosse céréale au monde après le riz et le maïs en termes de tonnes produites annuellement (Feillet, 2000). C'est la principale source de nourriture pour l'homme, le bétail et les matières premières industrielles. L'amidon et les protéines sont les deux principaux composés de stockage dans le grain de blé et déterminent les principales caractéristiques du rendement en grain et de la qualité de la farine. Outre les aléas climatiques, la culture du blé est confrontée à un certain nombre de contraintes, dont les maladies fongiques, qui sont les plus nocives et causent des problèmes de récolte et de qualité dans le monde. (Walker et al. 2009).

La lutte chimique par l'utilisation de fongicides est la méthode la plus courante de gestion des maladies fongiques. Cependant, cette stratégie n'est pas toujours efficace. L'utilisation répétée et confinée de fongicides partageants le même mode d'action (p. ex., biosynthèse de stéroïdes inhibiteurs) peut induire une pression sélective sur les populations d'agents pathogènes fongiques, entraînant une instabilité et des épidémies (Couvreur. 2002).

La résistance des champignons phytopathogènes aux fongicides est un phénomène naturel inévitable lié aux lois d'évolution des organismes vivants soumis à une pression de sélection (Brent et Hollomon, 2007). La connaissance du risque de résistance permettra de déterminer si le produit fongicide fait l'objet d'un développement rapide ou lent de résistance et quelles actions de surveillance doivent être mises en place pour prévenir ou retarder le développement de ce phénomène (Brent et Hollomon, 2007).

Dans ce mémoire, notre objectif c'est l'étude de la résistance des champignons associés au blé vis à vis quelques deux classes des fongicides utilisés en céréaliculture dans la région de Bouira (les triazoles et les strobilurines).

Ce document est composé de cinq chapitres dont les trois premiers chapitres regroupent des données théoriques culture du blé ; Les maladies fongiques de blé ; Les fongicides et le phénomène de la résistance des souches fongiques

Le quatrième chapitre rassemble le matériel et les méthodes utilisés dans notre travail, le dernier regroupe les résultats obtenus et la discussion.

Le document est clôturé par une conclusion et des perspectives pour la continuité de nos travaux.

Partie I :Synthèse bibliographique

Chapitre01:Présentation du blé

Chapitre 01 : Présentation du blé

1-Origine des blés cultivés

Vers 9000-8500 avant J.-C., les premières étapes de la domestication des céréales à paille que sont les orges et les blés sont franchies dans le croissant fertile d'Asie Occidentale qui s'étend en arc de cercle de la Palestine et de l'Ouest de la Jordanie au Sud-ouest de l'Iran en passant par le Liban, l'Ouest et le Nord de la Syrie, le Sud-est de la Turquie et le Nord-est de l'Iraq (figure 01) (Albertini, 2013).

Les primo-agriculteurs sélectionnent, en vue d'une culture plus productive, des blés et orges à grains plus gros, à épis plus riches en grains, moins égrenables et à tallage plus intense et mieux synchronisé, ce qui conduit à la formation d'épis plus nombreux et mieux groupés dans le temps, donc aisément récoltables (Albertini, 2013).

Actuellement, les deux espèces les plus cultivées sont le blé tendre (*Triticum aestivum L*) et le blé dur (*Triticum durum Desf*) qui semble être l'espèce la plus ancienne (Feillet, 2000).

En Algérie, Hazmoune (2000) rapporte que selon Laumont et Erroux (1961), la culture de blé dur a commencé et s'est développée au lendemain de la conquête arabe et que la plupart des auteurs s'accordent pour considérer que la céréaliculture algérienne est depuis cette date et jusqu'à la colonisation, très largement dominée par le blé dur.

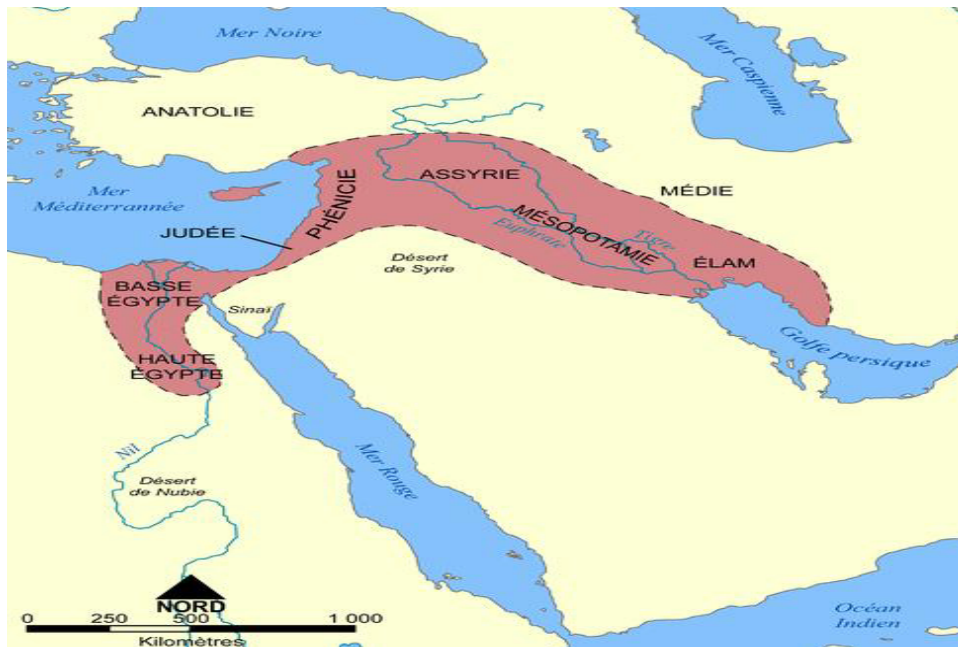


Figure 01 : Le croissant fertile
(http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Croissant_fertile_carte.png)

2-Description de blé

Le blé est une plante monocotylédone de la famille des Poacées. C'est une céréale à paille annuelle haute de 0,5 à 1,5m ; cultivée pour ses grains et pour sa paille, à inflorescence en épi terminal dense (figure 02). L'appareil végétatif du blé comprend en partie souterraine un système racinaire fasciculé assez développé et en partie aérienne un certain nombre d'unités biologiques appelés talles partantes toutes d'une zone située à la base de la plante, le plateau de tallage (Soltner, 2005).

Chaque talle est formée d'une tige creuse (chaume) constituée des nœuds et des entre-nœuds. Chaque nœud est le point d'attache d'une feuille. La feuille comprend une portion inférieure appelée gaine, enveloppant l'entre-nœud correspondant, et une portion supérieure appelée limbe. Les gaines, attachées au niveau des nœuds, sont emboîtées les unes dans les autres et forment un tube cylindrique entourant la tige qui se déboîte au fur et à mesure de la croissance des entre-nœuds. A la jonction du limbe et de la gaine, se trouve une petite membrane non vasculaire, plus ou moins longue et dentelée, la ligule. De chaque côté de cette dernière, à la base du limbe se trouvent deux stipules plus ou moins embarrassantes et velues : les oreillettes (Soltner, 2005).

L'inflorescence chez le blé est de type épi, avec une unité morphologique de base qui est l'épillet. Le rachis, ou axe de l'épi, porte de 15 à 25 épillets, organisés en deux rangées situées de part et d'autre de l'axe. L'épillet se compose d'un ensemble de 3 ou 4 fleurs à l'intérieur de deux glumes.

Chapitre 01 : Présentation du blé

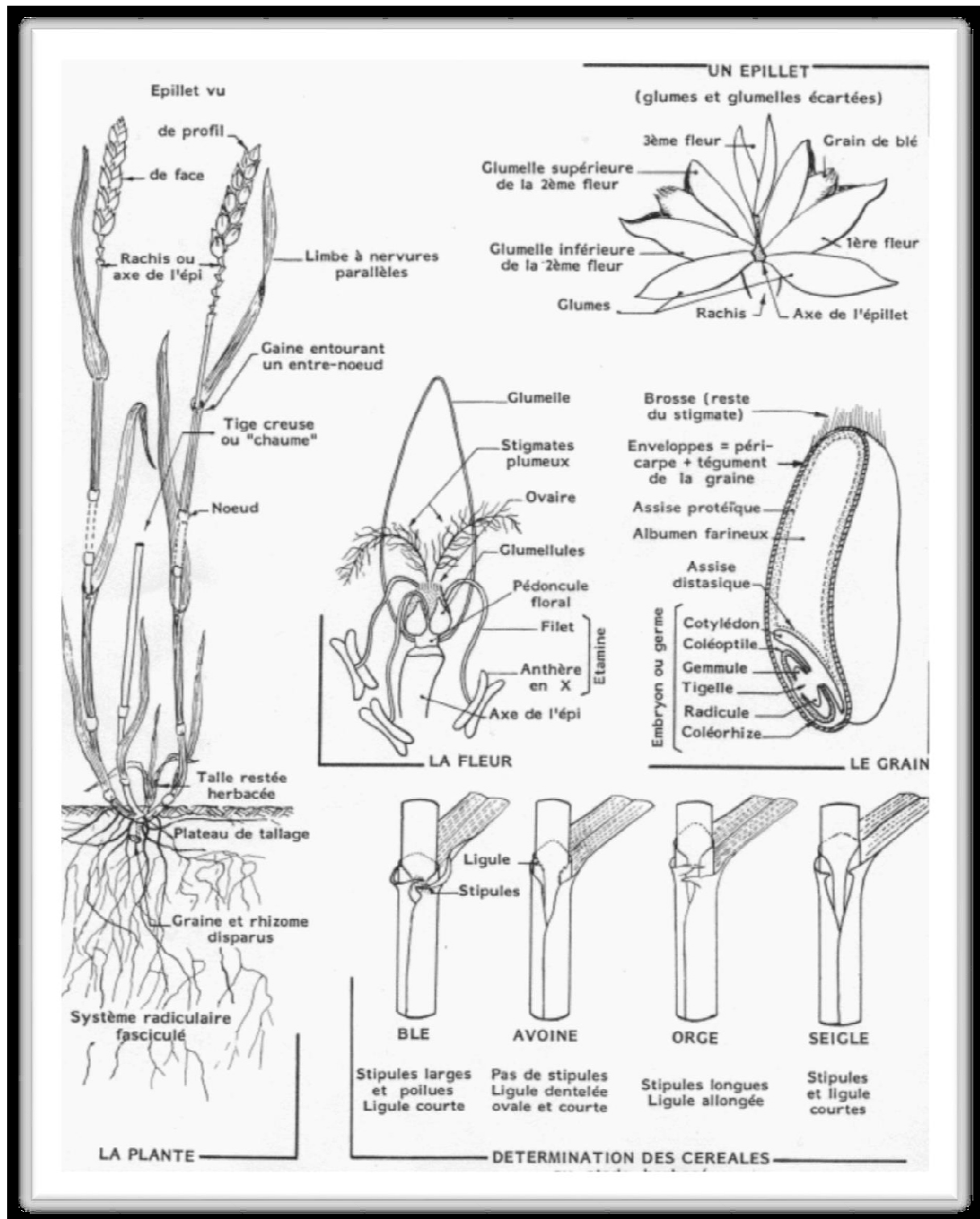


Figure 02 : Morphologie des graminées (exemple du blé) (Soltner, 2005)

Chaque fleur est dépourvue de pétales et est entourée de deux glumelles (inférieure et supérieure). Elle contient trois étamines et un ovaire surmonté de deux styles plumeux. La fleur du blé est dite cléistogame, c'est-à-dire que, le plus souvent, la fécondation a lieu à

Chapitre 01 : Présentation du blé

l'intérieur des glumelles, avant que les étamines n'apparaissent à l'extérieur. De ce fait, le blé est une plante autogame. Après fécondation, l'ovaire donnera le grain de blé. Ce grain est à la fois le fruit et la graine. Les enveloppes du fruit sont soudées à celles de la graine, on appelle ce type de fruit un caryopse.

Le grain de blé comporte trois parties qui sont : l'albumen (80 à 85% du grain), constitué essentiellement d'amidon (70 à 75%) et de protéines, les enveloppes de la graine et du fruit (13 à 17% du grain), et le germe (3% du grain), composé d'un embryon (lui-même formé du coléoptile, de la gemmule, de la radicule, du coléorhize et de la coiffe) et du scutellum (cotylédon) (Feillet, 2000).

Le cycle de développement du blé présente trois phases distinctes marquées par des stades repères (Gate et, Giban . 2003.)

-Période végétative, correspondant à la mise en place de la plante. Elle s'étend de la germination en passant par le tallage jusqu'à l'ébauche de l'épi.

-Période reproductrice, comprenant la formation et la croissance de l'épi. Elle s'étend du stade montaison au stade floraison.

-Période de maturation, marquée par l'arrêt de la croissance des feuilles et des tiges. Les produits de l'activité photosynthétique sont dirigés par remobilisation, vers le grain. Ce dernier grossit, met en place ses enveloppes et accumule des éléments nutritifs.

3-Classification

Le blé (*Triticum L*) est un genre de plantes monocotylédones de l'ordre de Poales, la famille des *Poaceae* (graminées). Le genre *Triticum L* comprend selon ITIS (2021) vingt et une espèces . Ce sont des plantes herbacées annuelles aux tiges (chaumes) dressées et aux inflorescences en épis linéaires.

Ce genre comprend les diverses espèces de blé cultivées, notamment le blé tendre (*Triticum aestivum L*) qui est le blé hexaploïde le plus cultivé, et le blé dur (*Triticum durum desf*) qui est actuellement le blé tétraploïde le plus cultivé

La classification la plus crédible du blé selon ITIS (2021) est la suivante:

Règne	<u>Plantae</u>
Embranchement	<u>Tracheophyta</u>
Sous-embranchement	<u>Spermatophytina</u>
Classe	<u>Magnoliopsida</u>
Super ordre	<u>Liliana</u>

Chapitre 01 : Présentation du blé

Ordre	<u>Poales</u>
Famille	<u>Poaceae</u>
Genre	<i>Triticum L</i>

D'après Soltner (1990), le blé peut être classé selon le milieu leur tolérance au froid en trois groupes :

- **Les blés d'hiver** : Cultivés en automne caractérisant les régions méditerranéennes et tempérées ;
- **Les blés de printemps** : Sensibles aux basses températures, cultivés fin hiver ;
- **Les blés alternatifs** : Intermédiaires entre les blés d'hiver et de printemps, quant à leur tolérance au froid.

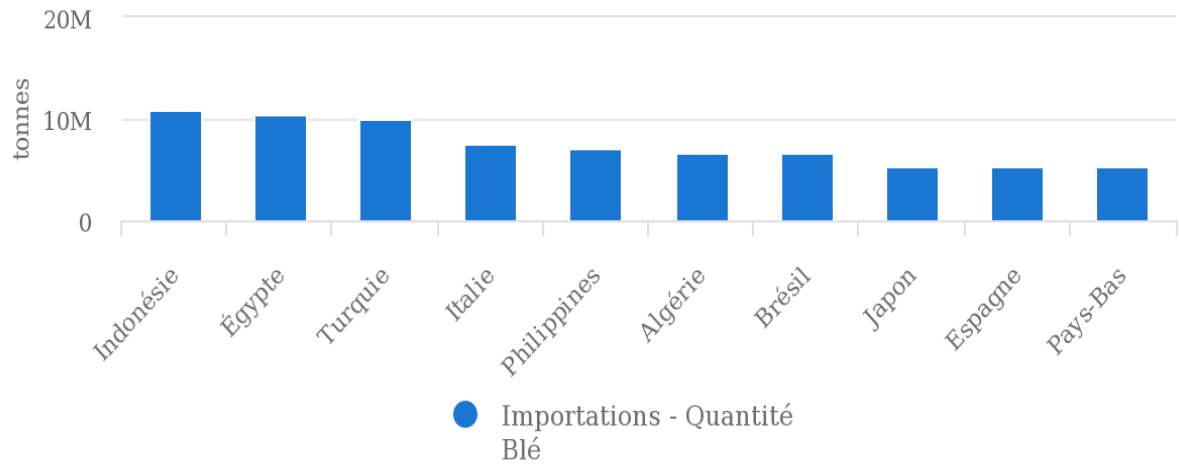
4-Importance économique du blé

4.1. En Algérie

En Algérie, l'agriculture occupe la troisième place en matière de contribution Elle emploie près de 23 % de la population totale active (Chabane, 2010). La consommation céréalière dont le blé représente 88 % est l'une des plus importantes au monde (Benbelkacem et Kellou, 2001), elle a été estimée à 223 kg /ans par personne (Chabane, 2010). Les céréales fournissent plus de 60 % de l'apport calorifique et 75-80 % de l'apport protéique de la ration alimentaire (Djermoun, 2009).

Un demi-siècle après l'indépendance, l'Algérie dépend encore des importations pour nourrir sa population. En effet, 68 % des besoins de l'Algérie en céréales, estimés à environ 8 millions de tonnes par an, sont assurés par les importations, faisant ainsi de l'Algérie l'un des premiers importateurs de blé au monde (Figure 04); à titre d'exemple, l'Algérie a importé 6775910 Tonnes du blé pour l'année 2019 (FAOSTAT, 2021).

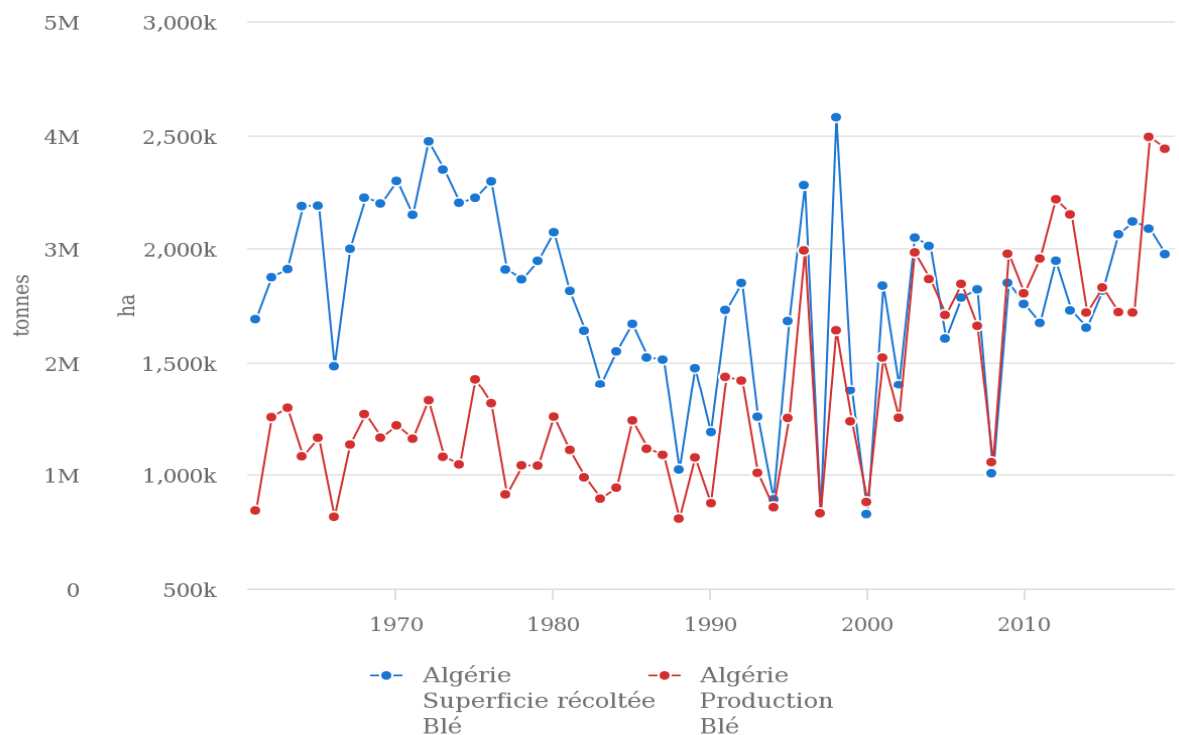
Chapitre 01 : Présentation du blé



Source: FAOSTAT (juin 17, 2021)

Figure 03 : Les dix pays les plus importateurs du Blé durant l'année 2019 (FAOSTAT, 2021)

La production du blé en Algérie a connu une amélioration grâce à la stratégie du « Renouveau agricole et rural » lancée en 2010 (Figure 05) qui vise une augmentation de la production de blé de 85%, avec, à l'horizon 2020, une quasi-autosuffisance en blé dur. Pour l'année 2019, la production du blé était 3876876 tonnes pour une superficie de 1974987 ha (FAOSTAT, 2021).



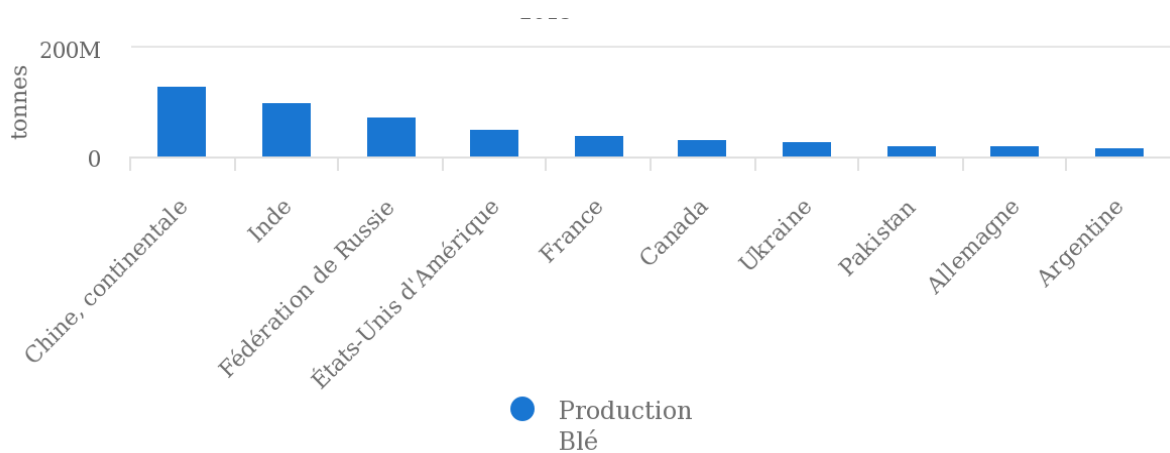
Source: FAOSTAT (juin 18, 2021)

Figure 04 : Evolution de la production et les superficies récoltées du blé en Algérie durant la période 1961-2019 (FAOSTAT, 2021)

4.2. Dans le monde :

Le blé fait partie des trois grandes céréales avec le maïs et le riz qui constituent la base de la nutrition humaine. C'est la deuxième par l'importance de la récolte mondiale, et la plus consommée par l'homme après le riz. En effet, selon les dernières estimations de la FAO de l'année 2019 concernant la production mondiale des céréales, la quantité récoltée de blé est estimée à 765,7 millions de tonnes précédé du maïs (1148 millions de tonnes) et suivi par le riz (504 millions de tonnes) (FAOSTAT, 2021)

Selon FAOSTAT (2021), les pays les plus producteurs du blé sont par ordre décroissant la Chine, l'Inde, la Russie, l'USA, la France, le Canada, l'Ukraine, le Pakistan, l'Allemagne et l'Argentine (figure 06). L'Algérie est classée parmi les vingt pays les plus producteurs du blé pour l'année 2019 (FAOSTAT, 2021)



Source: FAOSTAT (juin 17, 2021)

Figure05 : Les dix pays les plus producteurs du Blé durant l'année 2019 (FAOSTAT, 2021)

Chapitre 02 :
Maladies fongiques
du Blé

1- Généralités sur les maladies fongiques du blé

Le blé peut être attaqué par de nombreuses maladies fongiques à différents stades de son développement. Ces maladies sont à caractère explosif et peuvent se propager très rapidement sur les variétés sensibles, lorsque les conditions climatiques leur sont favorables. Les agents pathogènes responsables des maladies fongiques du blé provoquent des symptômes qui leur sont spécifiques (Ezzahiri, 2001).

On distingue les maladies des feuilles, les maladies de l'épi, de la base des tiges et des racines (figure 06).

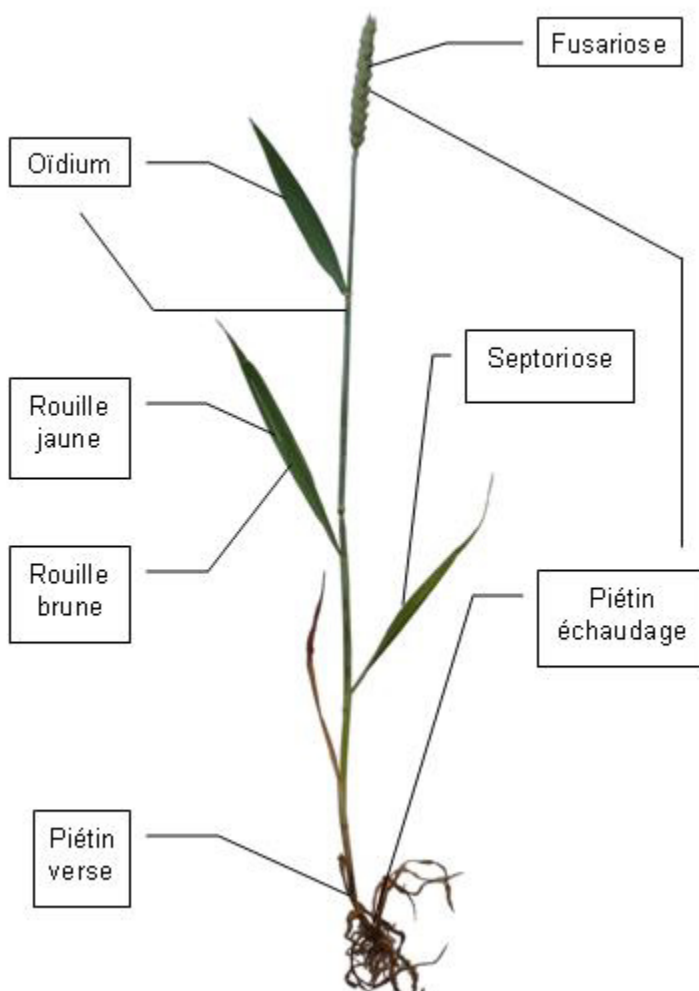


Figure 06 : Les parties de la plante sur lesquelles les maladies sont visibles (<http://www.manche.chambagri.fr>)

En absence de la plante-hôte, les champignons responsables des maladies du blé se conservent dans différents supports comme la semence, les débris et le sol (Tableau n°01). Le mode de conservation est important à connaître, puisqu'il détermine, en partie la stratégie de lutte à adopter (Ezzahiri, 2001).

Chapitre 02 : Maladies fongiques du blé

Tableau n°01: Modes de conservation des principaux agents pathogènes responsables des maladies cryptogamiques du blé (Ezzahiri, 2001).

Mode de conservation	Agents pathogènes	Maladies
Sol	<i>Fusariumculmorum</i> <i>Fusariumgraminearum</i>	Pourritures racinaires
	<i>Cochliobolussativus</i>	Charbon foliaire
Semence	<i>Ustilagonuda</i>	Charbon nu
	<i>Tilletia caries</i>	Carie
	<i>Septorianodorum</i>	Septoriose des épis (glume blotch)
Chaumes	<i>Erysiphegraminis f. sp. tritici</i>	Oidium des feuilles (leafblotch)
	<i>Septorianodorum</i>	Septoriose des épis (glume blotch)
	<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	Tache bronzée
Chaumes + hôtesalternatifs	<i>Puccinia triticina</i>	Rouille brune
Repousses des plantes hôtes	<i>Puccinia graminis f. sp. tritici</i>	Rouille noire
	<i>Puccinia striiformis</i>	Rouille jaune

2- Principaux maladies fongiques du blé

2-1. Caries

On retrouve cette maladie engendrée par les champignons *Tilletia tritici* (*T. caries*) et *Tilletia foetida* (Boulif, 2011) dans les zones de production extensive. Les symptômes de cette maladie n'apparaissent qu'au moment du remplissage des grains, sous forme d'une poussière noire à la place de l'amidon, associée à une odeur désagréable d'où l'appellation en anglais « Stinking smut » qui veut dire littéralement charbon puant (Champion, 1997 ; Ezzahiri, 2001; Boulif, 2011).

Les dommages de carie du blé peuvent atteindre 40% de perte de rendement ainsi qu'un parasitisme estimé à 80% en fonction des conditions climatiques (Nagy et Moldovane, 2007).



Figure 07 : Graines caries (Ponts, 2005).

2-2. Charbon nu

L'infection est provoquée par le champignon *Ustilago tritici* (*U. nuda*). Les symptômes du charbon sont visibles dès la floraison. L'agent pathogène germe dans les fleurs où les grains sont remplacés par des spores apparentes (Ezzahiri, 2001 ; Majumder *et al.* ,2013).



Figure 08: Symptôme de Charbon nu sur blé (Iriis phytoprotection, 2020)

2-3. Septorioses

Cette maladie foliaire est présente dans toutes les régions de production du blé et est responsable de pertes annuelles de millions de tonnes de grains à l'échelle mondiale (Eyal, 1999). La septoriose est provoquée par les champignons *Septoria nodorum*, *Septoria tritici* (Boulif, 2011). Cette dernière, attaque principalement les feuilles et provoque des taches brunes avec des ponctuations noires, tandis que *Septoria nodorum* est présente dans le sol et sur les semences et est responsable en particulier des fontes de semis (Fadili et Elhous, 2011). Actuellement, l'espèce *Septoria tritici* est largement dominante (Hennouni, 2012).



Figure09: Septoriose des feuilles (Attab, 2014).

2- 4. Fusarioses

Cette maladie est destructive du blé, elle peut être associée à la fois à de fortes pertes de rendements et une réduction de la qualité germinative et qualitative par la présence des toxines dans les grains (Siou, 2013). La fusariose est associée à un complexe d'espèces regroupant deux genres de champignons phytopathogènes *Fusarium* et *Microdochium* (Arseniuk *et al.*, 1999). La fonte de semis est le symptôme principal des fusarioses qui provoque une absence de levée des plantules avec une coléoptile et des racines altérés (Fadili et Elhous, 2011). Des altérations sur les propriétés organoleptiques et la qualité des grains en réduisant leurs transformations industrielles ont été aussi observées (Ponts, 2005 ; Majumder *et al.*, 2013). Chez les grains stockés, des accumulations de toxines ont été mises en évidence, ce qui déprécie aussi la qualité (Ezzahiri, 2001; Rajput *et al.*, 2005 ; Majumder *et al.*, 2013).



(a) Symptômes sur épi



(b) Macroconidies de *Fusarium*

Figure 10 : Maladie de la fusariose (Abdi, 2015)

2-5.Oïdium

Blumeria graminis f. sp. *tritici* (syn. *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*) est l'agent causal de l'oïdium du blé (Reignault, 2002). Il s'agit d'un ascomycète biotrophique qui infeste les espèces de cultures pertinentes telles que le blé et l'orge. Il provoque une maladie foliaire destructrice (figure11) qui inflige de graves pertes économiques. Par conséquent, cet organisme est considéré comme le sixième phytopathogène fongique le plus important au monde (Dean et al., 2012).

Chapitre 02 : Maladies fongiques du blé

Les premiers symptômes d'*Erysiphe graminis f. sp. tritici* apparaissent sous forme d'un duvet blanchâtre ou gris pâle sur les limbes des feuilles basales, puis se développent sur les feuilles des étages supérieurs (Ezzahiri, 2001 ; Anonyme, 2008 ; Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

En cas d'attaque sévère les taches apparaissent aussi sur les gaines des feuilles et les glumes des épis (Ezzahiri, 2001 ; Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

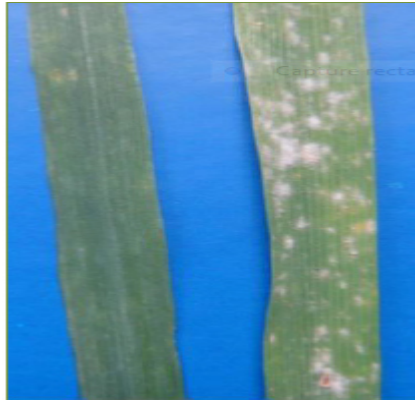


Figure11 : Symptômes de l'Oïdium sur blé (Attab, 2014).

2-6.Rouille

2.6.1. Rouille brune (*Puccinia recondita*).

Elle s'exprime sous forme de pustules de petite taille circulaires ou ovales, oranges ou brunâtres. Elles apparaissent de préférence sur la face supérieure des feuilles, et peuvent être visible à partir du stade montaison (Ezzahiri, 2010). Les urédospores germent en présence de l'eau libre. Elles se développent à des températures de 10 à 30°C (Ezzahiri, 2010).



Figure12 : Rouille brune (Attab, 2014)

2.6.2. Rouille noire (*Puccinia graminis f. sp. tritici*).

Les pustules de couleur rouge-brune à marron foncé sont ovales ou allongées et entourées de lambeaux de tissus épidermiques (Ezzahiri, 2010). Elles sont plus grandes que celles de la

Chapitre 02 : Maladies fongiques du blé

rouille brune et de la rouille jaune, et peuvent se produire sur les deux faces foliaires (Zillinsky, 1983), sur les tiges et sur les épis (Ezzahiri, 2008). La rouille noire est favorisée par des conditions humides et des températures élevées (15 à 35°C) (Ezzahiri, 2001).



Figure 13 : Rouille noir (Attab, 2014)

2.6.3. Rouille jaune (*Puccinia striiformis*).

Elle se manifeste sous forme de pustules jaunâtres, alignées le long des nervures des feuilles, sous forme de stries. Les pustules se développent aussi sur la face inférieure des feuilles et sur les épis (Ezzahiri, 2001). Les conditions favorisant le développement de la rouille Jaune sont des températures nocturnes entre 1 et 15°C et des humidités relatives supérieures à 80% pendant 18 heures. (Ezzahiri, 2010).

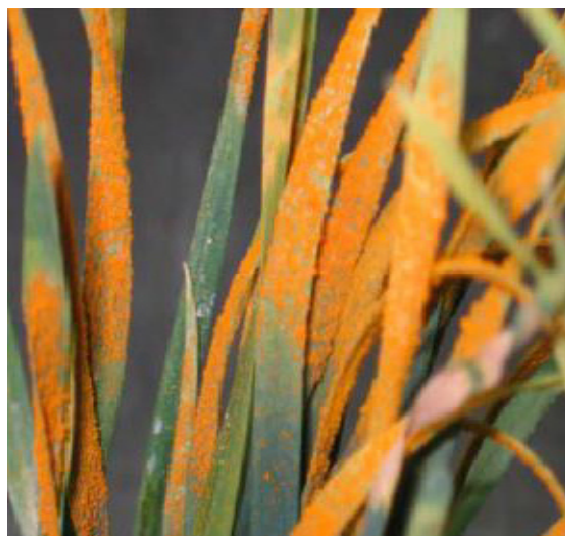


Figure 14 : Symptômes de rouille jaune sur blé (Figueroa et al, 2017).

2.6.4. Piétin-verse (*Pseudocercospora herpotrichoides*)

Les symptômes sont observables à partir du tallage jusqu'à la maturation. Pendant le tallage, les gaines présentent des taches ovales brunes à bord diffus dites « taches ocellées », au niveau des deux entre-noeuds les plus bas au milieu desquelles adhèrent les stromas du champignon. Cette maladie est mondialement répandue dans les régions aux hivers doux et humides (Cavelier et *al.*, 1992; Laffont, 1985).



Figure15: symptôme de Piétin-verse sur blé (Bayer 2020)

2.6.5. Tache helminthosporienne (*Pyrenophora tritici-repentis*)

La maladie se manifeste d'abord sur les feuilles du bas. Les taches sont elliptiques, brun foncé, de 2 à 10 mm de longueur et pouvant être bordées d'un halo Jaune. Les taches peuvent s'étirer longitudinalement. Elles sont délimitées par les nervures foliaires. La présence de petites nécroses de couleur brun foncé au centre des taches chlorotiques est un critère distinctif des lésions de *Pyrenophora tritici-repentis* (Ezzahiri, 2001; Lacroix, 2008).

La germination des conidies et l'infection des tissus sont favorisées par une durée d'humectation du feuillage de 24 à 48 heures. Les températures optimales pour l'infection se

situent entre 18 et 28°C. La sporulation au niveau des taches foliaires est favorisée par des conditions humides (Ezzahiri, 2001).



Figure 16: Helminthosporiose (Attab, 2014)

2.6.6. Piétin échaudage (*Ophiobolus graminis*)

Le symptôme le plus caractéristique de cette maladie est la coloration noire luisante présente à la base de la tige sous la gaine (Lacroix, 2008). Les plantes atteintes sont plus courtes que les plantes saines ; elles se plient et se brisent juste au-dessus du niveau du sol, et les feuilles deviennent d'un vert pâle. Les épis mûrissent prématurément et deviennent blancs et stériles ou produisent des grains peu nombreux et ridés (Zillinsky, 1983).

L'humidité et l'absence de rotation sont les facteurs les plus importants dans le développement de cette maladie (Laffont, 1985).



Figure17: Piétin échaudage (Attab, 2014)

Chapitre 03 :Les fongicides

1-Définition des fongicides

Les fongicides représentent l'ensemble des substances chimiques qui tuent ou inhibent la croissance des champignons pathogènes susceptibles de provoquer des dégâts sur les plantes cultivées et les récoltes (Rocher, 2004).

L'utilisation des fongicides en agriculture remonte à l'antiquité. Avec le progrès de la chimie minérale et la découverte de la bouillie bordelaise (fongicide à base de sulfate de cuivre et de chaux), la protection des cultures est rentrée dans un nouvel air (Anonyme, 1999). Aujourd'hui, les traitements fongicides offrent aux utilisateurs une gamme variée de produits ainsi que de nouvelles substances actives qui présentent une protection prolongée, un large spectre d'activité et un contrôle systémique des maladies (Calvet *et al.* 2005).

2.-Actions des fongicides au niveau des plantes

Selon Couvreur (2002), en fonction de leur comportement (Figure 18), les fongicides peuvent être répartis en trois catégories principales: de contact, pénétrants et systémiques.

2.1. Les fongicides systémiques

Les produits se déplacent dans la plante uniquement par le système vasculaire du xylème et/ou de phloème. Ils sont absorbés par les feuilles, les tiges ou les racines et sont ensuite répandus au niveau de toute la plante ce qui permet la protection des parties non traitées et celles émergées après l'application du fongicide (Couvreur, 2002).

2.2 Les fongicides de contact ou de surface

Ils demeurent au niveau du point d'application (Rocher, 2004), présentant ainsi une activité antifongique de surface (au niveau de la cuticule) et ne subissent pas de transfert interne (Couvreur, 2002).

2.3 Les fongicides pénétrants

Le transfert se fait sans translocation par le xylème ou le phloème, ils sont absorbés par la feuille ou la partie racinaire sur laquelle ils ont été appliqués sans atteindre les autres feuilles ou organes (Couvreur, 2002). Les parties qui ne reçoivent pas des traitements et celles nouvellement émergées, ne sont pas protégées (Regnault-Roger, 2005).

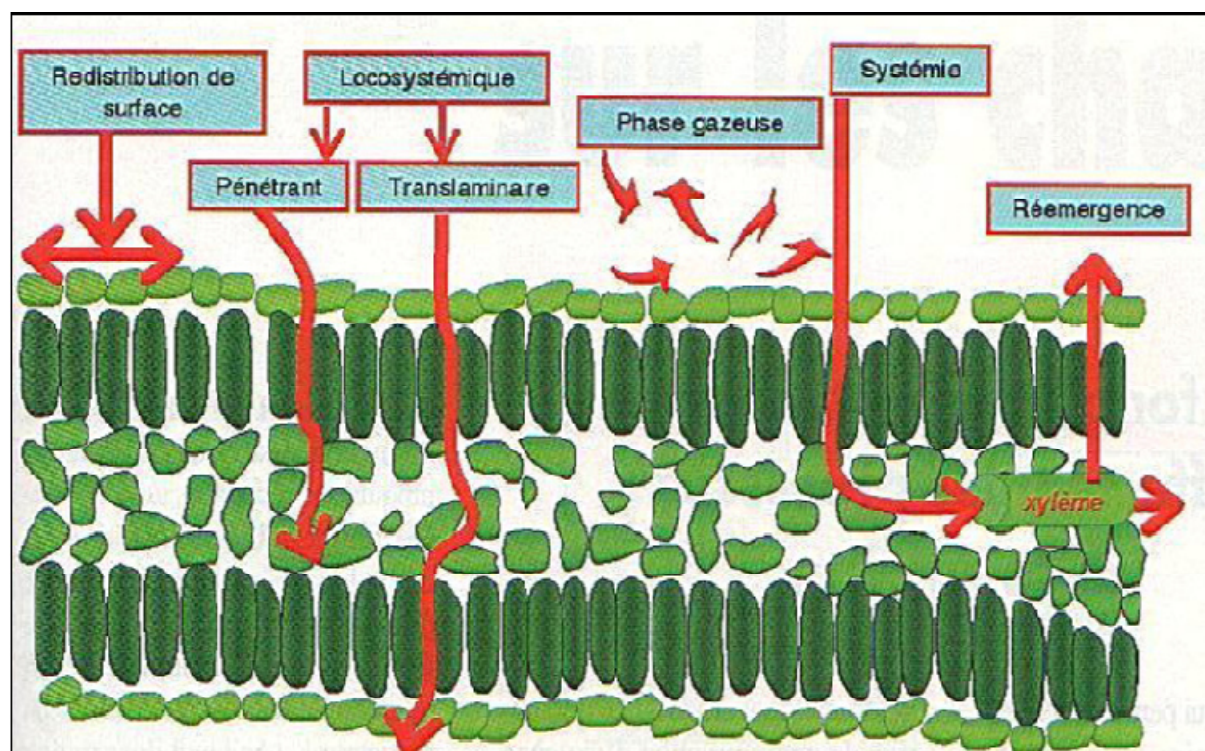


Figure. 18 : Déplacement des fongicides au niveau de la plante (Couvreur, 2002).

3-Les Triazoles

Les triazoles sont des composés organiques cycliques contenant un cycle de 5 atomes, contenant deux doubles liaisons et trois atomes d'azote, ils ont donc la formule brute $C_2H_3N_3$. Ils sont aromatiques et font partie du cycle des électrons en excès. Selon la position de l'atome d'azote, on distingue le 1,2,3-triazole (appelé V-triazole) et le 1,2,4-triazole (appelé S-triazole). (Bettiche, 2016)

les triazoles font partie d'un groupe de molécules fongicides appelé IDM (inhibiteurs de la déméthylation). Ils agissent en perturbant la biosynthèse des membranes cellulaires du champignon. Ils agissent sur une enzyme appelée la 14 alpha-déméthylase ou CYP51. Ils empêchent ainsi la synthèse de l'ergostérol, un des principaux constituants des membranes cellulaires, spécifique des champignons. Le résultat de leur effet est l'augmentation de la perméabilité des membranes, et donc les cellules se désagrègent, provoquant la mort prématurée de l'agent pathogène (Maumené, 2008 ; Mebdoua, 2017). Plusieurs matières active de cette famille sont autorisés en Algérie il s'agit de : Bitertanol, bromuconazole, difenoconazole, epoxiconazole, flutriafol, hexaconazole, myclobutanil, penconazole,

propiconazole, prothioconazole, tebuconazole, tetraconazole, triadimenol, triticonazole, fluzilazole, cyproconazole (DPVCT, 2015 ; Mebdoua, 2017).

4-Les Strobilurines

Les strobilurines sont un groupe de composés chimiques utilisés en agriculture comme fongicides. En termes de structure, les strobilurines sont des dérivés benzéniques ou pyrimidiques contenant du méthoxyacrylate ou ses dérivés. Ils font partie du plus grand groupe des inhibiteurs externes de la quinone (QoI) qui agissent en inhibant la chaîne respiratoire au niveau de complexe III, ils inhibent la respiration des cellules (Wang et al, 2021 ; Du et al, 2019) . Parmi les strobilurines figurent l'azoxystrobine, le krésoxim-méthyle, la picoxystrobine, la fluoxastrobine, l'oryzastrobine, la dimoxystrobine, la pyraclostrobine et la trifloxystrobine (Zhang et al., 2020, Mao et al., 2020)

Les strobilurines ont été extraites d'un champignon de l'ordre des *Agaricales*, *Strobilurus tenacellus*. Elles ont un effet suppressif sur d'autres champignons, en réduisant la compétition pour les nutriments ; elle inhibent le transfert d'électrons dans les mitochondries, ce qui perturbe le métabolisme et empêche la croissance des champignons cibles. Les strobilurines agissent principalement sur la germination des spores par inhibition de la respiration cellulaire (Wang et al, 2021).

Les strobilurines sont de plus en plus utilisées en agriculture pour lutter contre les agents pathogènes fongiques pendant la production agricole. Ces molécules ont été enregistrées pour une utilisation dans le soja, le riz, les céréales, les légumes et les arbres fruitiers, et d'autres plantes partout dans le monde (Casida et Durkin, 2016) . Ces produits chimiques représentent une nouvelle étape après le développement des fongicides triazoles et continuent de figurer parmi les fongicides les plus vendus sur le marché mondial. Ainsi en 2016 les strobilurines ont présenté une part de marché de 20 % dans le monde (Wang et al., 2020). Les strobilurines sont principalement des fongicides de contact avec une longue demi-vie dans la mesure où elles sont absorbées dans la cuticule et pas transportées plus loin.

Chapitre 03 : Les fongicides

5-Les triazoles et les strobilurine utilisé en Algérie

Les triazoles et les strobilurines sont des produits fongicides largement utilisés en Algérie comme dans le monde entier sur plusieurs. Ces produits permettent la protection de plusieurs plantes cultivées contre une large gamme de maladies fongiques.

Selon l'index des produits phytosanitaires algérien (DPVCT, 2017), les spécialités commerciales homologuées sur le blé contenant au moins une matière active triazole sont en nombre de 36 (tableau 2), dont 25 spécialités commerciales à base d'une seule matière active triazole, et 06 spécialités à base d'une association de deux matières actives triazoles.

Les produits fongicides à base d'une association entre une matière active triazole et une autre strobilurine autorisés sur blé sont en nombre de 3, ils sont homologués contre les rouilles, la fusariose, l'helminthosporiose, l'oidium, le piétin verse et la septoriose (tableau 3).

Tableau N°02 : Liste des produits pesticides à base de triazole autorisés sur blé en Algérie (Tableau élaboré à partir de l'index des produits phytosanitaires 2017)

Matière active	Nom commercial	Maladies
Difenoconazole	-DIVIDEND -AGRICONAZOLE 25 EC	Caries, charbon nus, fusariose, septoriose, helminthosporiose, rhynchosporiose, Rouille brune,
Difenoconazole+ Cyproconazole	DIVIDEND STAR	Caries, charbon couvert, fusariose
Difenoconazole+ propiconazole	-DUO PLUS, -EL WAKI	Rouille, septoriose, oïdium.
Tebuconazole	-ACILE 060 FS -AKORUS -BUNAZOLE 250 -HORIZON 250 EW -HORIZEEL 25 EC -RAXIL 060 FS -SARGHO60FS -SEMICONAZOLE 60 FS	Caries, charbon, septoriose, Helminthosporiose, fusariose, oidium, Rouille jaune, brune et noire,

Chapitre 03 : Les fongicides

	-TEBIZOLE 25 WP -TEBUCONATE -TALENT 25 EC -TOLEDO 250 EC	
Propiconazole+ cyproconazole	-ARTEA 330 EC	Rouille, septoriose, oïdium, heminthosporiose, rhynchosporiose.
Prothioconazole+ tebuconazole	-LAMARDOR 400 FS -PROSARO 250 EC	Carie, charbon nu, septoriose, fusariose, Rouille brune, oïdium
Epoxiconazole	-OPUS 125 SC	Septoriose, rouille, rhynchosporiose.
Propiconazole	-PROPIVAP -SANAZOLE 250 EC -TELEMAC 25 RC -TILT	Rouilles, rhynchosporiose, oïdium, helminthosporiose, septoriose,
Triticonazole	-REAL 200 FS	Rouille, carie , charbon, septoriose
Triadimenol	-CONTRAMINOL 25 EC -DREIER 25 EC -RELIVE -VIDAN 25	Rouille, oïdium
Spiroxamine + tebuconazole + triadimenol	FALCON	Rouille, septoriose, fusariose, oïdium
Flutriafol	IMPACT	Oïdium, rouilles, septoriose
Cyprodinil+ propiconazole	STEREO ECO	Septoriose , rouille brune

Chapitre 03 : Les fongicides

Tableau 3 : liste des associations à base de triazole /strobilurins autorisées sur blé en Algérie (Tableau élaboré à partir de l'index des produits phytosanitaires 2017)

Matière active	Nom commercial	Maladies
Cyproconazole+ picoxystrobine	-ACANTO PLUS	Oidium, septoriose, rouille jaune, rouille brune, fusariose, piétin verse, helminthosporiose.
Cyproconazole+ azoxystrobine	-AMISTAR XTRA	Rouille jaune, rouille brune, septoriose, oïdium.
Epoxyconazole+ pyraclostrobine	-OPERA	Septoriose, rouille

Les spécialités commerciales à base de strobilurine homologuées sur blé en Algérie sont en nombre de 06 dont deux spécialités à base de une seul matière active strobilurine et 04 spécialités à base d'une association d'une matière active strobilurine avec une matière active triazole ou avec le chlorothalonil (tableau 3 et 4).

Tableau N°04 : Liste des produits pesticides à base de strobilurine autorisés sur blé en Algérie (Tableau élaboré à partir de l'index des produits phytosanitaires 2017)

Matière active	Nom commercial	Maladies
Trifloxytrobine	-PINK	Fusariose, rouille, helminthosporiose.
Kresoxim methyl	ROSIM	Rouille, septoriose
Azoystrobine +chlorothalonil	-PRIORI OPTI	Septoriose, rynchosporiose, rouille

6-Définition de la résistance

La résistance est définie comme un changement génétique qui se prodit dans un organisme en réponse à une sélection induite par une substance toxique. Le développement d'une résistance ne signifie pas automatiquement un affaiblissement de la lutte antiparasitaire. Par exemple, une petite résistance peut être observée en laboratoire, mais aucun problème ne se produira sur le terrain. Cependant, la prévention doit être encouragée : l'émergence de résistances doit

être détectée et résolue le plus tôt possible avant que l'échec de la lutte antiparasitaire ne se manifeste sur le terrain (FAO, 2012).

Lorsque la lutte antiparasitaire sur le terrain échoue en raison de la résistance aux pesticides, on parle de « résistance réelle ». Il s'agit d'un changement transmissible de la sensibilité de la population d'organismes nuisibles, faisant en sorte que le produit ne parvient pas à plusieurs reprises (plus d'une fois) à atteindre le niveau de contrôle attendu lorsque le produit est utilisé. Suivez les recommandations de l'étiquette et les problèmes de stockage et d'application, ainsi que les conditions météorologiques et environnementales anormales qui peuvent être exclues comme cause de la défaillance. Par conséquent, la deuxième définition est plus étroite que la première. Bien que les problèmes économiques causés par la pharmaco-résistance ne puissent survenir qu'à ce stade, il est peut-être trop tard pour mettre en œuvre des mesures de gestion de la pharmaco-résistance (FAO, 2012).

7-Mécanismes de résistance

De nombreux types de mécanismes de résistance sont connus. Ceux-ci incluent : la modification biochimique du site cible pour le rendre plus sensible ; l'augmentation de la production de la protéine cible ; le développement d'une voie métabolique alternative qui contourne la cible, c'est-à-dire la dégradation métabolique du fongicide ; repousser le fongicide. De loin, le mécanisme le plus courant semble être la modification biochimique du site cible du fongicide. Cela peut expliquer pourquoi de nombreux produits plus anciens n'ont pas rencontré de problèmes de résistance. Une fois qu'ils pénètrent dans la cellule fongique, les fongicides plus anciens agissent comme des inhibiteurs d'enzymes universels, affectant de nombreux sites cibles. Ils agissent sélectivement sur les champignons plutôt que sur les plantes et les animaux, car ils sont plus susceptibles de s'infiltrer et de s'accumuler dans les champignons. De nombreux sites du champignon doivent changer en même temps pour empêcher le fongicide d'agir. La possibilité de nombreux changements génétiques nécessaires est négligeable. Dans tous les cas, un organisme avec autant de changements est peu susceptible d'être pathogène, ou même réalisable. Les cas accidentels de résistance aux fongicides multi-sites peuvent être causés par d'autres types de mécanismes qui n'impliquent pas le site d'action. En revanche, les fongicides modernes agissent principalement sur un seul site cible et sont souvent appelés fongicides « à site unique » ou « site spécifique ». Par conséquent, une seule mutation génétique peut entraîner une modification du site cible, le rendant moins sensible aux fongicides. (Brent et Hollomon, 2007).

7-1-Mécanismes de résistance aux fongicides à site unique

Quatre mécanismes principaux sont liés au développement d'une résistance acquise aux fongicides (Figure 19). De nombreux fongicides à point unique (y compris triazoles et les strobilurines) ont confirmé que des mutations dans les gènes codants provoquent des changements dans la protéine cible. En raison de l'action du transporteur membranaire ABC (ATP binding cassette transporter) ou d'autres transporteurs, la sortie des fongicides est signalé dans plusieurs agents pathogènes des plantes et est un mécanisme courant pour les champignons tels que *Candida* (Hiller et al., 2006; Rajendran et al., 2011). Dans certains cas, la surexpression des cibles due à la régulation à la hausse des gènes codants a été confirmée (Cools et al., 2012), mais cela ne semble pas être un mécanisme courant chez les agents pathogènes des plantes. La dégradation des pesticides due à la détoxification des enzymes métaboliques telles que le cytochrome P450 ou la glutathion transférase est la résistance des mauvaises herbes et des insectes aux herbicides (Cummins et al. 2013 ; Powles et Yu, 2010) et aux insecticides (Puinean et al. 2010). Il semble que ce ne soit pas courant dans le cas de la résistance aux fongicides. Il n'y a qu'un seul rapport sur l'activité estérase qui dégrade le fongicide QoI kresoxim-méthyl (Jabs, et al, 2001)

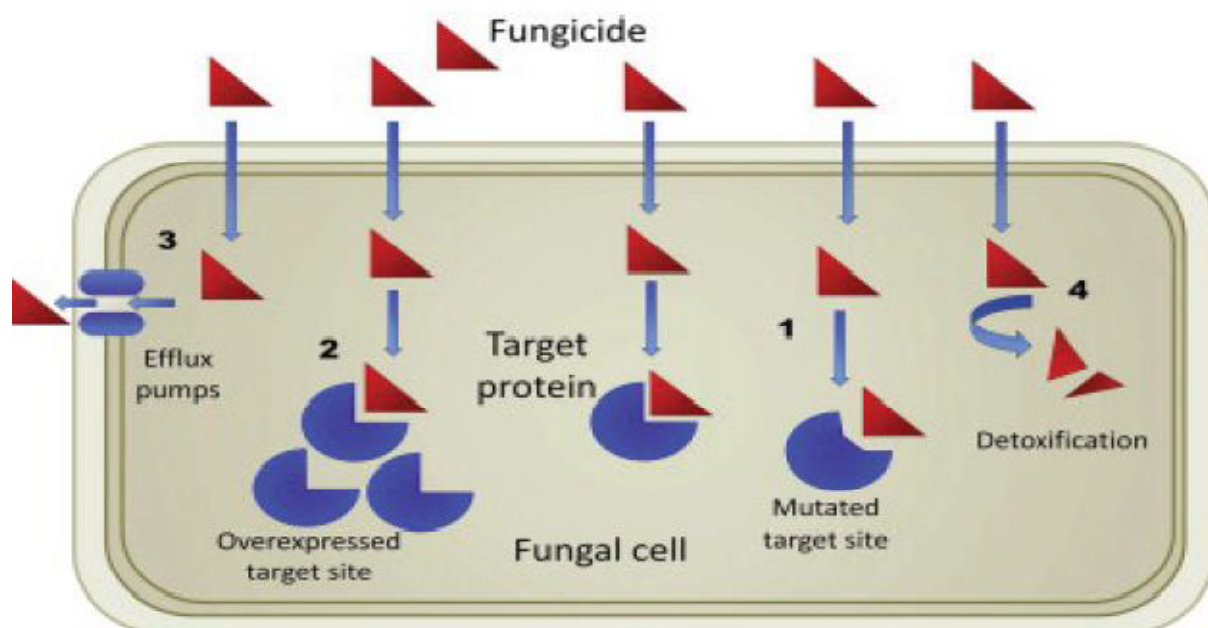


Figure 19 : Mécanismes de résistance aux fongicides à site unique (Lucas et al. 2015).

Chapitre 03 : Les fongicides

(1) L'altération de la protéine cible empêche la liaison au fongicide (résistance au site cible).
(2). La surexpression de la protéine cible augmente la concentration de fongicide nécessaire à l'inhibition **(3)**. Les pompes d'efflux expulsent le fongicide de la cellule. **(4)**. Dégradation du fongicide par les enzymes métaboliques.

Partie II:

Partie Pratique

Chapitre 04 :

Matériels et méthodes

1 -Prospections sur terrain et prélèvement des échantillons

Notre travail sur terrain consistait à faire des prospections sur des parcelles du blé tendre et du blé dur afin de localiser des parcelles traitées auparavant par des fongicides, et par la suite faire des prélèvements et les acheminer au laboratoire pour essayer d'isoler des souches d'agents pathogènes résistantes aux fongicides.

Les prospections ont été effectuées au niveau de la commune de l'El Asnam dans la wilaya de Bouira durant la période allant de 15 Avril au 15 Mai. Ces prospections ont été faites avec l'assistance des cadres formés de la subdivision phytosanitaire de l'El Asnam. Les caractéristiques des parcelles choisies pour les prélèvements sont résumées dans le tableau n 05

Tableau N° 05 : Caractéristiques des parcelles choisies pour les prélèvements

Cultures	Superficie	Date de semis	Stade végétatif	Variété	Culture précédente	Irrigation
Blé dur Tiglizine	1 ha	25/12/2020	Patteux laiteux	Sumito	Laitue	Non
Blé tendre Ferme pilote El Asnam	25 ha	10/01/2021	Patteux laiteux	Maouma	Jachères travaillé	Oui

L'état phytosanitaire des deux parcelles prélevées était en générale bon malgré la présence de quelques foyers traités de septoriose, piètin échaudage et de rouille jaune. On a noté également la présence de faible population de criocère. Les traitements phytosanitaires effectués sont mentionnés dans le tableau n 6.

Les produits fongicides utilisés sont ACANTO PLUS (Cyproconazole+ picoxystrobine) , AMISTAR XTRA (Cyproconazole+ azoxystrobine) qui sont à base d'une association triazole/ strobilurine ; et ARTEA 330 EC (Propiconazole+ cyproconazole) qui est à base d'une association de deux matière active triazole.

Chapitre 04 : Matériel et méthodes

Tableau N°06 : Etat phytosanitaire des parcelles prélevées

Cultures	Maladies	Insectes	Fertilisants	pesticides utilisés	Fongicides utilisés
Blé dur	Septoriose Piétin échaudage	Criocère	Engrais de fond et de couverture	Herbicide FLORAMIX	-ACANTO PLUS
Blé tendre	Rouille jaune	Criocère	Engrais de fond et de couverture	Herbicide	-AMISTAR XTRA -ARTEA 33 EC

Le prélèvement des échantillons à analyser au laboratoire a été effectué de façon aléatoires et a concerné une quinzaine de plants par parcelle. Les plants sont déterrés délicatement pour ne pas endommager la partie racinaire.

2- Matériel végétatif

Notre matériel végétal est constitué des plants complets du blé tendre et du blé dur prélevés des deux parcelles décrites précédemment.

3-Fongicides testés

Il s'agit de trois matières actives triazoles qui sont le triadimenol, le difenoconazole et le tebuconazole et une matière active strobilurine qui est l'azoxystrobine. Ces matières actives sont à base de plusieurs spécialités commerciales homologuées sur blé en Algérie

3-1-Triadiminol

C'est un fongicide appartenant à la famille des triazoles, très soluble dans l'eau (95 à 20°C), synthétisé la première fois par la firme allemande Bayer CropScience. Il agit par inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol. Inhibant également la synthèse des gibbérellines, et possède des effets physiologique sur les plantes, en stimulants la végétation, doté de propriétés systémiques, il agit par contact sur de nombreuses champignons dont l'oïdium, possède une triple action préventive, curative et éradicante.

Formule moléculaire : $C_{14}H_{18}ClN_3O_2$

Structure chimique

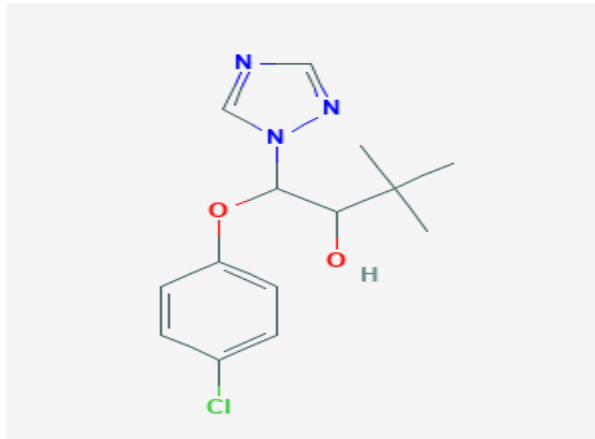


Figure 20 : Structure chimique du triademenol (www.pubchem.com)

3-2- Difénoconazole.

C'est un fongicide systémique aux effets préventifs et curatifs. Il appartient à la famille des triazoles, synthétisé la première fois par la firme suisse Syngenta Agro SAS. Il a un large éventail d'effets. Le mode d'action est d'inhiber l'enzyme C-14 α déméthylase, entraînant une carence en ergostérol et l'accumulation d'acides gras libres et de stérols. Ces deux effets conduisent à des modifications des membranes cellulaires. Champignons, impliquant des cellules mortes (Giraud, 2018). Le difénoconazole, comme tous les fongicides triazolés, est un principe actif systémique à diffusion ascendante (mouvement dans le xylème : diffusion par le haut). Par conséquent, le difénoconazole est absorbé par les feuilles ou les racines, puis remonte la plante (sommets, point de croissance) avec la sève qui monte. Par conséquent, les feuilles qui poussent après l'application sont protégées.

-Formules moléculaires : $C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$

-Structure chimique

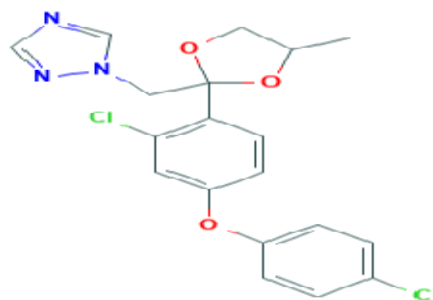


Figure 21 : Structure chimique du difénoconazole (www.pubchem.com)

3-3- Tebuconazole

Ce fongicide appartient à la famille des triazoles, synthétisé la première fois par la firme allemande Bayer CropScience. Il possède une bonne stabilité à l'hydrolyse en milieu acide, neutre et alcalin. Il est rapidement absorbé par le végétal, doté de propriétés systémiques, il migre lentement dans la plante. Il en résulte une répartition très régulière de la substance active dans les organes végétaux traités. Il est très efficace sur un grand nombre de champignons des plantes cultivées dont les céréales.

Formules moléculaires : $C_{16}H_{22}ClN_3O$

Structure chimique :

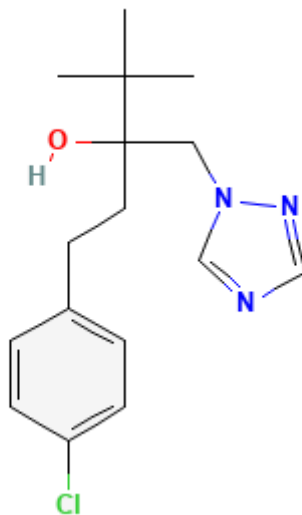


Figure 22 : Structure chimique du tebuconazole (www.pubchem.com)

3- 4- Azoxystrobine

L'azoxystrobine fait partie de la famille des strobilurines. Il a été synthétisé la première fois par la firme suisse Syngenta Agro SAS. Son action se situe au niveau des mitochondries du champignon par blocage de la respiration et arrêt de la production d'énergie. Il fait partie des inhibiteurs externes de la quinone (QoI pour *Quinone Outside Inhibitors*) (Giraud, 2018). Il est actif sur la germination, la croissance mycélienne et sur la sporulation. Il est doté d'un large spectre, avec une efficacité contre les quatre groupes de champignons pathogènes (deutéromycètes, ascomycètes, basidiomycètes et oomycètes).

Formules moléculaires : C₂₂H₁₇N₃O₅.

Structure chimique

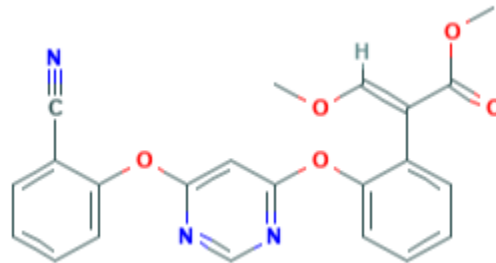


Figure 23: Structure chimique de l’Azoxystrobine (www.pubchem.com)

4- Méthodologie

4-1 Essais d’isolement des souches fongiques résistantes aux fongicides

4-1-1 Préparation du milieu de culture DCPA à base de fongicides

Le milieu choisi pour l’isolement des souches fongiques résistantes au fongicides est le milieu DCPA (Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar). Il s’agit d’un milieu inventé dans les années 1980 d’abord considéré comme un milieu sélectif au genre *Fusarium* (Andrews et Pitt, 1986), mais peut être utilisé également pour isoler plusieurs autres champignons tels qu’*Alternaria*, *Phoma*, *Pleospora*, *Helminthosporium*, *Drehslera*, *Curvularia*...ect (Ali et al, 1991). On a utilisé ce milieu modifié pour isoler des souches fongiques résistantes au fongicides à partir des échantillons du blé. La composition de ce milieu est présentée dans le L’Annexe n 02

Une quantité de 1500 mg de chacun des quatre fongicides (Difénoconazole 25% EC, Triadimenol 25% EC, Tébuconazole 25% EW, Azoxystrobine 25% SC) (Tableau n 6) est pesée séparément puis ajusté à 10ml avec de l’eau distillée. Chaque solution de fongicide est par la suite homogénéisée puis un volume de 1ml est prélevé puis additionné à 300ml de milieu DCPA ; le mélange DCPA +fongicide est bien agité avec un agitateur magnétique, puis le tous est autoclavé puis réparti dans des boites de Pétri stérile sous hôte microbiologique. Les milieux ainsi préparés sont :

- ✓ DCPA seul ; sans fongicides (Milieu 1)
- ✓ DCPA-difénoconazole : contient 0.135 mg de difénoconazole /ml de milieu (Milieu 2)

Chapitre 04 : Matériel et méthodes

- ✓ DCPA-Tebuconazole contient 0.121mg de Tebuconazole /ml de milieu (Milieu 3)
- ✓ DCPA-Triadimenol : contient 0.136 mg de Triadimenol /ml de milieu (Milieu 4)
- ✓ DCPA-Azoxystrobine : contient 0.136 mg d'Azoxystrobine /ml de milieu (Milieu 5)

Tableau n 7 : Les formulations de fongicides utilisées (prélevé sur l'étiquette du fongicide)

Fongicide	Concentration	Formulation	Densité
Difénoconazole	25%	EC	1.08
Tébuconazole	25%	EW	0,97
Triadiménol	25%	EC	1.09
Azoxystrobine	25%	SC	1.09

4-1 -2- Préparation des échantillons

Les parties souterraines des plants complets de blé dur et tendre sont lavées avec l'eau de robinet courante pour éliminer la terre, puis les différentes parties de ces plants sont découpés en petits fragments tout en séparant les parties aériennes (feuilles+ tiges) des parties souterraines (racines). Ces fragments sont ensuite désinfectés par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium 5% pendant 3 minutes, cette opération est suivie par deux rinçages consécutifs à l'eau distillée stérile pendant 3 minutes afin d'éliminer les traces de l'hypochlorite de sodium (Rubini et al, 2005 ; Larran et al, 2007) Enfin ces fragments sont mis à sécher sur un papier wattman stérile sous l'hotte à flux laminaire (Figure 24 à 26).



Figure 24 : Plants du blé après rinçage.

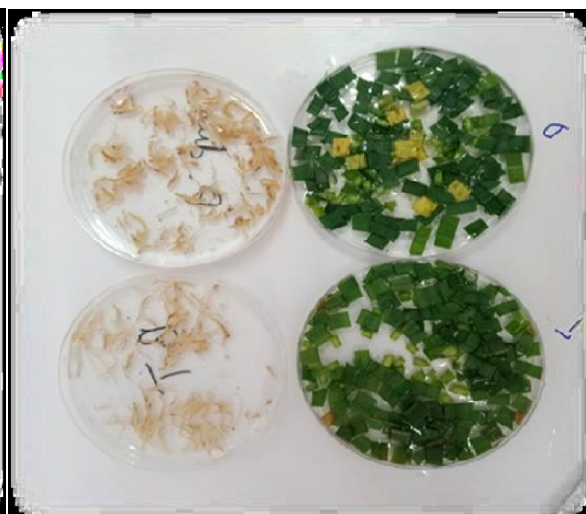


Figure 25: Désinfection des échantillons.



Figure 26 : Séchage des fragments des organes des plantes.

4-1-3- Mise en culture sur le milieu DCPA et incubation

Les différents fragments du végétal désinfectés (blé tendre partie aérienne, blé tendre racine, blé dur partie aérienne, blé dur racine) sont transférés aseptiquement sur des boîtes de Pétri contenant un milieu de culture DCPA avec fongicide et chaque échantillon est mis dans les cinq milieux de culture (Milieu 1, Milieu 2, Milieu 3, Milieu 4, Milieu 5) à raison de 4 boîtes par milieu et misent en incubation dans l'étuve à température de 26°C pendant 10 à 15 jours pour permettre le développement des structure de fructification du champignon (figure28).

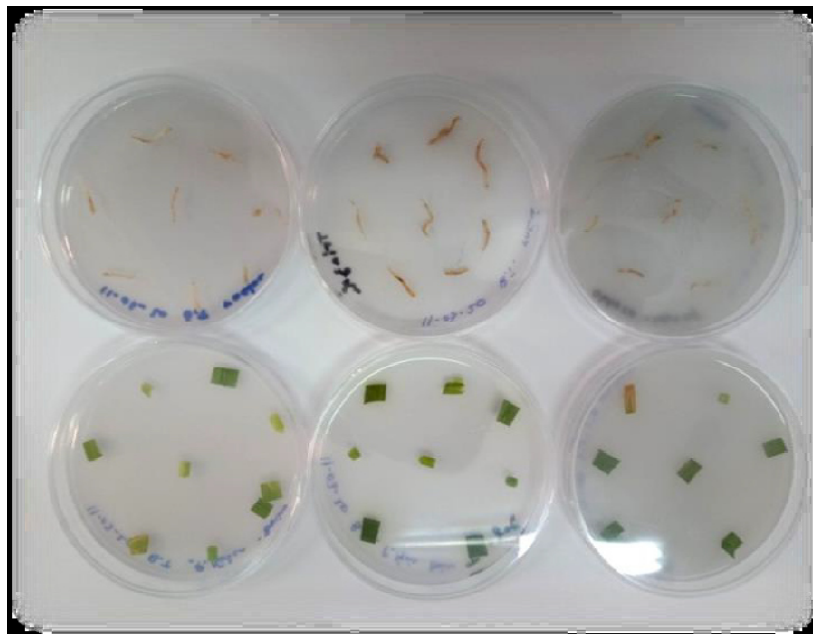


Figure 27 : Mise en culture des fragments végétaux sur milieu DCPA.

Après les 15j d'incubation, le pourcentage d'infection fongique sur les cinq milieux est calculé selon cette formule :

$$P = (n/N) \times 100$$

Avec P : pourcentage d'infection fongique pour un milieu

n : nombre des fragments végétaux colonisés par des champignons

N : nombre totale de fragments végétaux

4-1-4 Purification et repiquages des isolats fongiques sur le milieu PDA et SNA

La purification est assurée par repiquage des colonies isolées sur de nouvelles boîtes de Pétri, contenant un milieu nutritive PDA. Les boîtes issues d'isolement comprennent plusieurs colonies d'aspects, de couleurs, et de textures différentes. La technique de purification consiste à prélever une petite bouture mycélienne à la marge du thalle et à repiquer sous forme d'un disque à l'aide d'une pipette de pasteur stérile et misent en incubation dans l'étuve à température de 26°C pendant cinq à dix jours pour permettre le développement des structure de fructification du champignon .

Le repiquage les isolats fongiques pures sur le milieu PDA et SNA est également effectué dans le but de caractériser et identifier ces isolats.

4-1-5 Lecture des boîtes SNA et PDA

L'identification des champignons fait essentiellement appel aux caractères cultureux (Identification macroscopique) et à la morphologie des spores et du mycélium (identification microscopique).

4-1-5 -1. Etude des caractères cultureux macroscopiques

Les caractères morphologiques et cultureux sont déterminés après ensemencement des souches sur le milieu de cultures PDA à 26°C pendant 7 jours. L'identification se fait à l'œil nue et elle se base essentiellement sur les caractères suivant. D'après Tabuc (2017)

- La vitesse de croissance (rapide, moyenne, lente)
- La texture des colonies.
- La couleur des colonies.
- La couleur du revers de la culture.
- L'aspect du mycélium.

4-1-5 -2 .Etude des caractères morphologiques microscopiques

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame, scotch et coloration avec le bleu de coton. Pour le genre *Fusarium*, un second prélèvement sur le milieu SNA est nécessaire afin de pouvoir identifier les espèces, ce prélèvement consiste à recueillir des *sporodochia* à l'aide d'une fine pointe stérile. Dans la majorité des cas, les *sporodochia* se situent à proximité du morceau de gélose qui a servi au transfert de la culture. Ensuite un montage entre lame et lamelle en présence d'une goutte de bleu de coton est réalisé.

Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart et des éléments importants (Chabasse, 2002). L'observation microscopique permet de détecter la présence du thalle, la présence ou l'absence de septum, la nature e la reproduction et les caractéristiques des fructifications et des spores.

4-1-6. Identification des souches isolées

La détermination microbiologique de l'espèce et ou de genre d'un isolat repose sur l'observation de nombreuses caractéristiques morphologiques sur des milieux de culture bien définis. Lorsque toutes les informations sont recueillies, l'identification pourra être réalisée en utilisant les clés de références spécifiques ou générales tels que clés de Nelson *et al*,(1983)t Leslie et Summerell (2006) pour le genre *Fusarium* , clés d'identification de Lanier *et al* (1976) qui sont des clés générales , on a utilisé également les clé de Pitt. et Hoking (1997) et Botton *et al* (1990).

4-2 Essais d'évaluation de la résistance /sensibilité de quelques souches fongiques

Le milieu de culture utilisé pour les essais de sensibilité –résistance des souches fongiques vis-à-vis des fongicides est le milieu PDA. Les fongicides testés sont le Difénocnazole et la triadimenol. Les souches fongiques utilisées dans cette partie du travail sont celles isolées dans la première partie de ce travail, il s'agit de quatre souches de *Fusarium* qui ont montré une croissance satisfaisante sur le milieu DCPA additionnés de fongicides

4-2 -1-Préparation du milieu PDA supplémenté de fongicides

Une quantité de 1500 mg de chacun des deux fongicides (Difénoconazole 25% EC, Triadimenol 25% EC,) est pesée séparément puis ajusté à 10ml avec de l'eau distillée. Chaque solution de fongicide est par la suite homogénéisée puis un volume de 0,5 ml, 1ml et

Chapitre 04 : Matériel et méthodes

2ml est prélevé puis additionné à des trois volumes de 200ml de milieu PDA ; le mélange PDA +fongicide est bien agité avec un agitateur magnétique, puis le tous est autoclavé puis réparti dans des boites de Petri stérile sous hôte microbiologique. Les milieux obtenus sont :

- ✓ PDA-difenoconazole 0,5ml : contient 0.101 mg de difenoconazole /ml de milieu
- ✓ PDA-Triadimenol 0,5ml : contient 0.102 mg de Triadimenol /ml de milieu
- ✓ PDA-difenoconazole 1ml : contient 0.202 mg de difenoconazole /ml de milieu
- ✓ PDA-Triadimenol 1ml : contient 0.204 mg de Triadimenol /ml de milieu
- ✓ PDA-difenoconazole 2ml : contient 0.404 mg de difenoconazole /ml de milieu
- ✓ PDA-Triadimenol 2ml : contient 0.408 mg de Triadimenol /ml de milieu

4-2 -2 Inoculation de milieux de culture et incubation

L'inoculum est constitué d'une culture fongique âgée de 7 jours sur un milieu PDA contenu dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre. Sur cette culture, on délimite des disques de taille identique 5mm. On dispose ensuite chaque disque au centre d'une boîte de Pétri contenant un des milieux de culture PDA supplémenté de fongicides. Les boîtes ainsi inoculées sont incubées dans l'étuve à 26°C. Les mesures sont enregistrées à partir de 2eme jour et jusqu'au 10eme jour. Pour chaque souche et pour chaque milieu, l'opération est répétée trois fois.

4-2-3 Calcul de taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Evaluation de la sensibilité –résistance des souches est estimée à partir de calcul de taux d'inhibition de la croissance mycelienne. Le diamètre de colonie fongique est mesurée quotidiennement suivant deux axes perpendiculaires tracé préalablement sur le dessous de la boites de Pétri.

A partir des diamètres moyens des colonies, on a calculé le pourcentage d'inhibition de chaque fongicide en utilisant la formule suivante :

$$T = (D_t - D_f) / D_t \times 100$$

D_t: Diamètre de la colonie fongique du témoin (en mm).

D_f: Diamètre de la colonie fongique en présence de fongicide (en mm).

T: Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage (%).

Chapitre 05 :

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1- Essais d'isolement des souches fongiques résistantes aux fongicides

1-1- Effet de fongicides sur le pourcentage d'infection fongique

Le pourcentage de l'infection fongique de la partie aérienne et la partie racinaire du blé dur et du blé tendre en absence et en présence de quatre fongicides est présenté dans le tableau n ...

Sur le milieu DCPA seul, les fragments racinaires issus de blé dur et de blé tendre sont tous colonisés par des champignons (un pourcentage de 100%), alors que le pourcentage de l'infection des parties aériennes est plus faible, ainsi ce pourcentage est de 83.33% pour le blé tendre et de 79.16% pour le blé dur.

En présence de fongicides, le pourcentage d'infection fongique a diminué. La plus grande diminution a été enregistrée dans le milieu DCPA+ tebuconazole suivi par le milieu DCPA + azoxystrobine. Le pourcentage d'infection très faible enregistré dans le cas de tebuconazole est dû à la grande efficacité de ce fongicide et à la sensibilité de la plus parts des germes fongiques rencontrés sur le blé vis à vis de ce fongicide. La moyenne de l'infection fongique dans le cas de milieu DCPA + triadimenol est de 62.5% et elle est de 69.53% dans le cas de milieu DCPA+ difenoconazole. Ces pourcentages de d'infection élevés laissent supposer l'existence de germes fongiques résistants à ces deux fongicides.

Tableau n 08 : Pourcentage de développement des colonies fongiques pour les différents milieux

	Blé tendre		Blé dur		Moyenne
	Racine	Partie aérienne	Racine	Partie aérienne	
DCPA seul	100%	83.33%	100%	79.16%	90.62%
DCPA + tebuconazole	00%	25%	4.16%	29.16%	14.58%
DCPA + triadimenol	62.5%	62.5%	87.5%	37.5%	62.5%
DCPA + azoxystrobine	37.5%	43.75%	75%	56.25%	53.12%

Chapitre 05 : Résultats et discussion

DCPA + difenoconazole	58.33%	54.16%	100%	65.63%	69.53%
-----------------------	--------	--------	------	--------	--------

Concernant l'azoxystrobine, la résistance aux strobilurines a été observée chez de nombreux pathogènes (Zhan et al, 2014) et est généralement attribuée à des mutations ponctuelles du gène Cytb, (Bauske et al, 2018; Watanabe et al, 2017; Klosowski et al, 2016; Sierotzki et al, 2007). La résistance aux strobilurines a été observée chez près de 55 souches de *F. graminearum* dans six pays différents (Dubos, 2011)

1-2 Identification des isolats fongiques

L'identification d'une espèce fongique repose sur l'analyse des critères culturels et morphologiques. Ces derniers sont constitués par des paramètres macroscopiques (aspect des colonies, de leur revers) et microscopiques tel que l'aspect du mycélium, des spores, des phialides, des conidiophores (Tabuc, 2007).

Rappelant que le milieu DCPA est un milieu sélectif au genre *Fusarium* mais peut être utilisé également pour isoler plusieurs autres champignons tels qu'*Alternaria*, *Phoma*, *Pleospora*, *Helminthosporium*, *Drehslera*, *Curvularia*...ect (Ali et al, 1991).

Les colonies fongiques développées sur la partie racinaire de blé tendre et de blé dur sont blanchâtres à rosâtres avec présence de mycélium abondant, alors que les colonies développées sur la parties aérienne sont en majorité noirâtre avec un très faible développement du mycélium aérienne (Tableau n 09)

L'analyse microscopique de ces isolats directement à partir de milieu DCPA a permis de déceler sur la partie racinaire du blé dur et du blé tendre la présence majoritaire du genre *Fusarium* et en faible fréquence le genre *Microdochium*. Sur la partie aérienne, l'observation microscopique a montré la présence majoritaire de champignons du genre *Alternaria*; un autre genre a été décelé en faible fréquence, il s'agit de *Cladosporium* (figure 28)

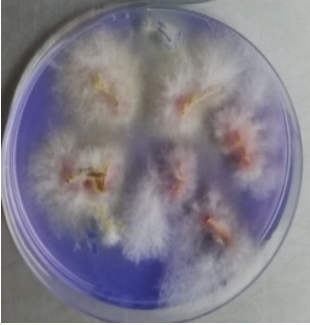
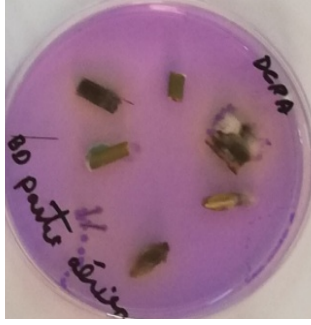
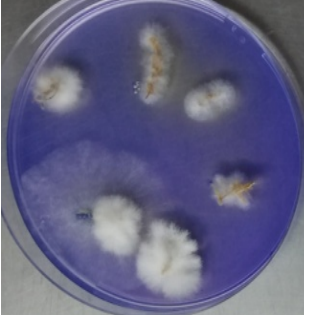

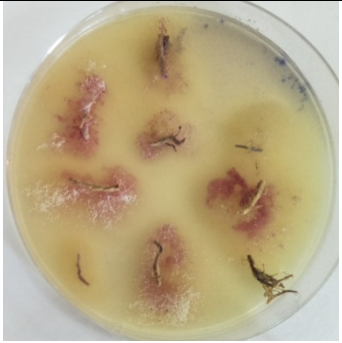
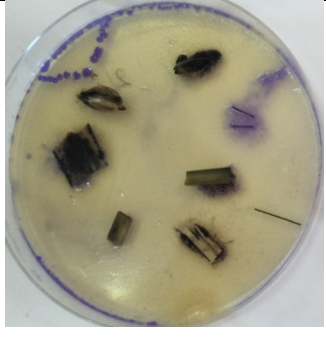
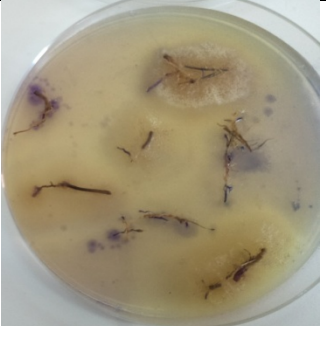
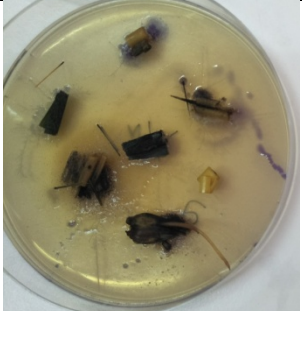
Les colonies fongiques développées sur le milieu DCPA supplémentés de fongicides à partir de la partie racinaire et aérienne de blé présentent le même aspect que celles développées sur le milieu DCPA seul mais avec une taille de colonies plus faible. La seule grande différence c'est la présence de colonies blanchâtre avec mycélium abondant dans les fragments végétaux

Chapitre 05 : Résultats et discussion

des partie aérienne du blé sur le milieu DCPA + difenoconazole et le milieu DCPA + triadimenol (annexe)

L'observation microscopique directe de ces colonies blanchâtres sur le milieu DCPA + fongicide a permis de démontrer qu'il s'agit de champignons de genre *Fusarium*.

Tableau 09 : Aspect des colonies fongiques développées à partir des fragments végétaux de blé sur le milieu DCPA

Racine BD	Partie aérienne BD	Racine BT	Partie aérienne BT
			
Après 6 j d'incubation			
			
Après 21 jours d'incubation			

Le repiquage des colonies de *Fusarium* sur le milieu SNA après purification sur milieu PDA a permis d'identifier les espèces de *Fusarium* présentes, il s'agit de *Fusarium culmorum*, *Fusarium lateritium* et *Microdochium navale* (anciennement appelé *F. navale*) qui sont présent dans la partie racinaire du blé. dans la partie aérienne, deux espèces ont été identifiées, il s'agit du *Fusarium graminearum* isolé à partir de la partie aérienne de blé dur cultivé sur DCPA supplémenté du difenoconazole et du *F. culmorum* isolé à partir de la partie aérienne du blé tendre supplémenté de triadimenol

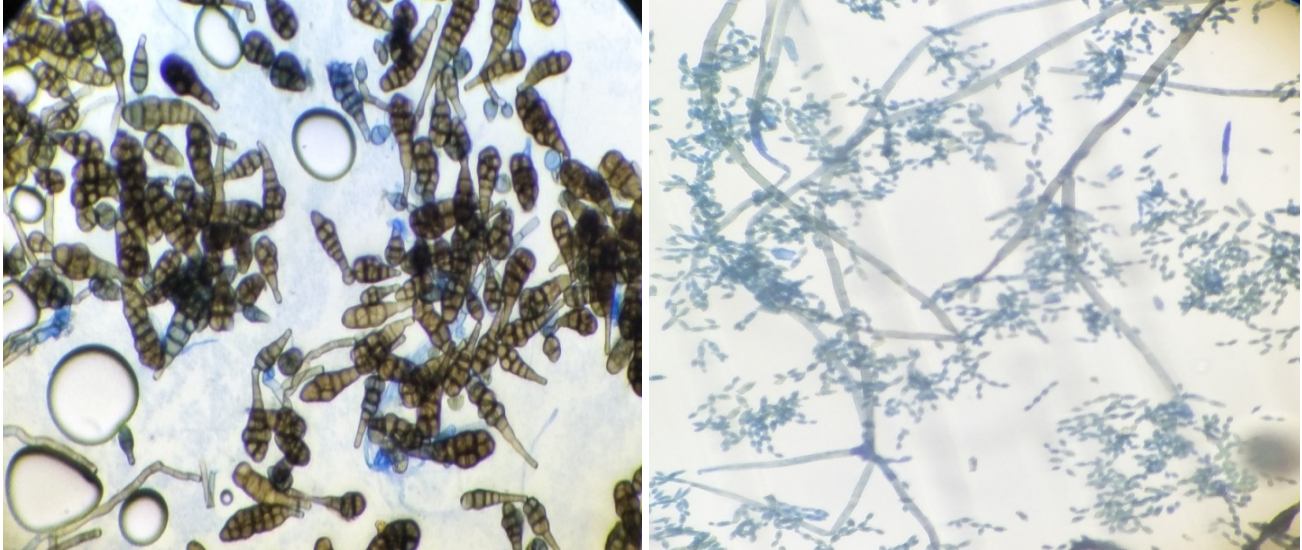
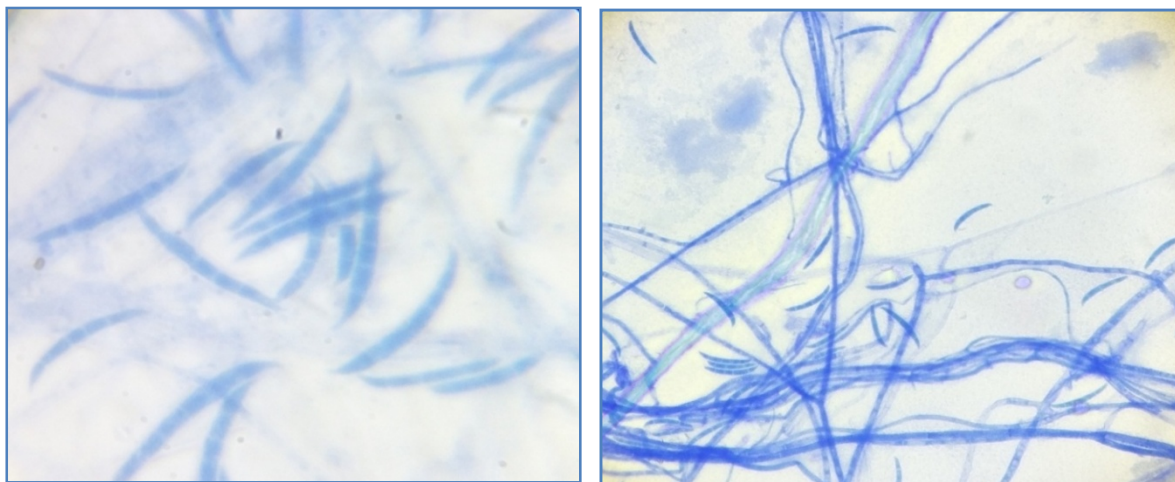


Figure 28 : Observation microscopique de *Alternaria sp* (à gauche) et *Cladosporium sp* (à droite) isolés à partir de la partie aérienne du blé

1-3 -Description des isolats de *Fusarium* isolés sur milieu DCPA supplémenté de fongicides

1-3-1 *Fusarium graminearum* (souche 1)

F. graminearum a été isolé à partir de la partie aérienne de blé dur cultivé sur DCPA supplémenté du difenoconazole.



Chapitre 05 : Résultats et discussion

Figure 29 : Macroconidies de *Fusarium graminearum* observés en microscope optique (X40) et (X100)

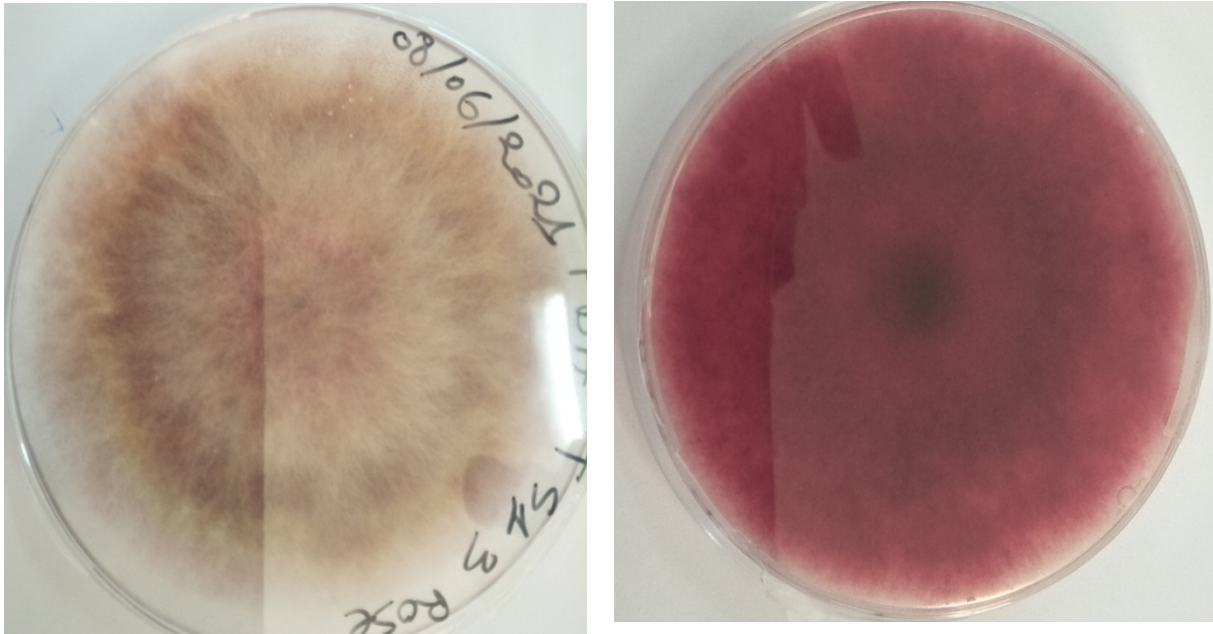


Figure 30 : Observation macroscopique de *Fusarium graminearum* sur milieu PDA (face et reverse)

Les microconidies sont absentes sur les trois milieux PDA, DCPA et SNA. Les macroconidies sur SNA sont distinctement cloisonnées, à parois épaisses, droites à modérément en forme de faucille, inégalement courbées avec la surface ventrale presque droite et une surface dorsale légèrement arquée. La cellule basale est nettement en forme de pied. La cellule apicale est en forme de cône ou resserrée comme un museau. Sur PDA, la croissance est rapide, avec un mycélium aérien dense qui peut presque remplir la boîte de Petri et qui est souvent jaune à brun avec les bords blancs à rouge carmin, cette description est en accord avec celles citées par Nelson et al (1983) et Leslie et summerell (2006), cette espèce est rencontrée principalement sur le maïs, le blé et l'orge, mais également connu d'autres plantes annuelles et vivaces (Leslie et summerell, 2006)

1-3-2 *Fusarium culmorum* (souche 2)

Cette souche de *Fusarium culmorum* a été isolé à partir de la partie aérienne du blé tendre supplémenté de triadimenol . Les microconidies sont absentes sur les 3 milieux. Les macroconidies observés sur le milieu SNA sont robustes, relativement court, distinctement

Chapitre 05 : Résultats et discussion

cloisonnées, à parois épaisses. La face dorsale est quelque peu incurvée, mais la face ventrale est presque droite. La cellule basale est en forme de pied peu développée.

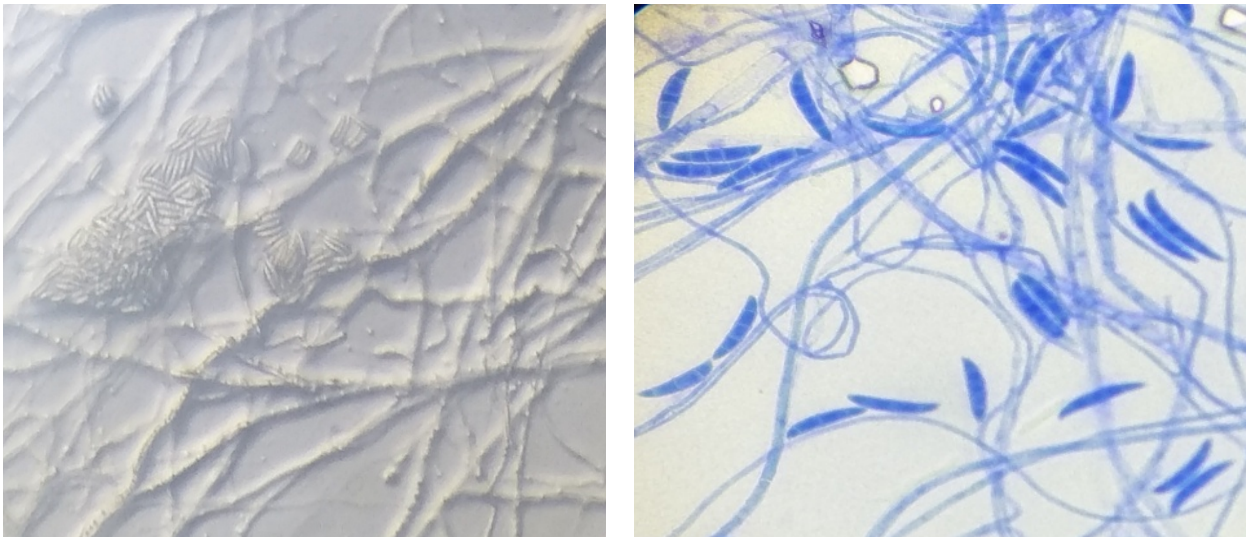


Figure 31 : Macroconidies de *Fusarium culmorum* (à **gauche** observation microscopique directe sur la culture ; à **droite** : observation microscopique après montage sur lame et coloration)

Sur le milieu PDA, la croissance est rapide (Colonie de 8cm de diamètre après 5jours d'incubations), avec un mycélium aérien dense, généralement blanc rosé. Cette description est en accord avec celle rapportée par Leslie et summerell (2006)

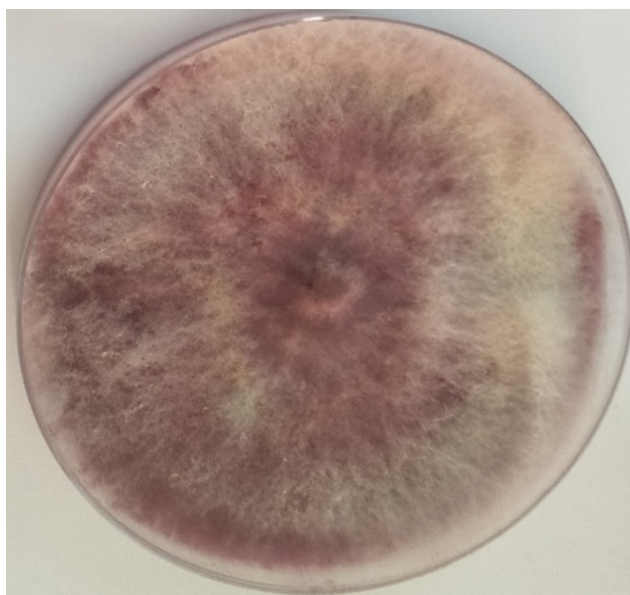


Figure 32 :Aspect de la Souche 2 sur milieu PDA après 9jours d'incubation

1-3-3 *Fusarium culmorum* (souche 3)

Cette souche a été isolée à partir de racine de blé dur cultivé sur le milieu DCPA en présence du triadimenol

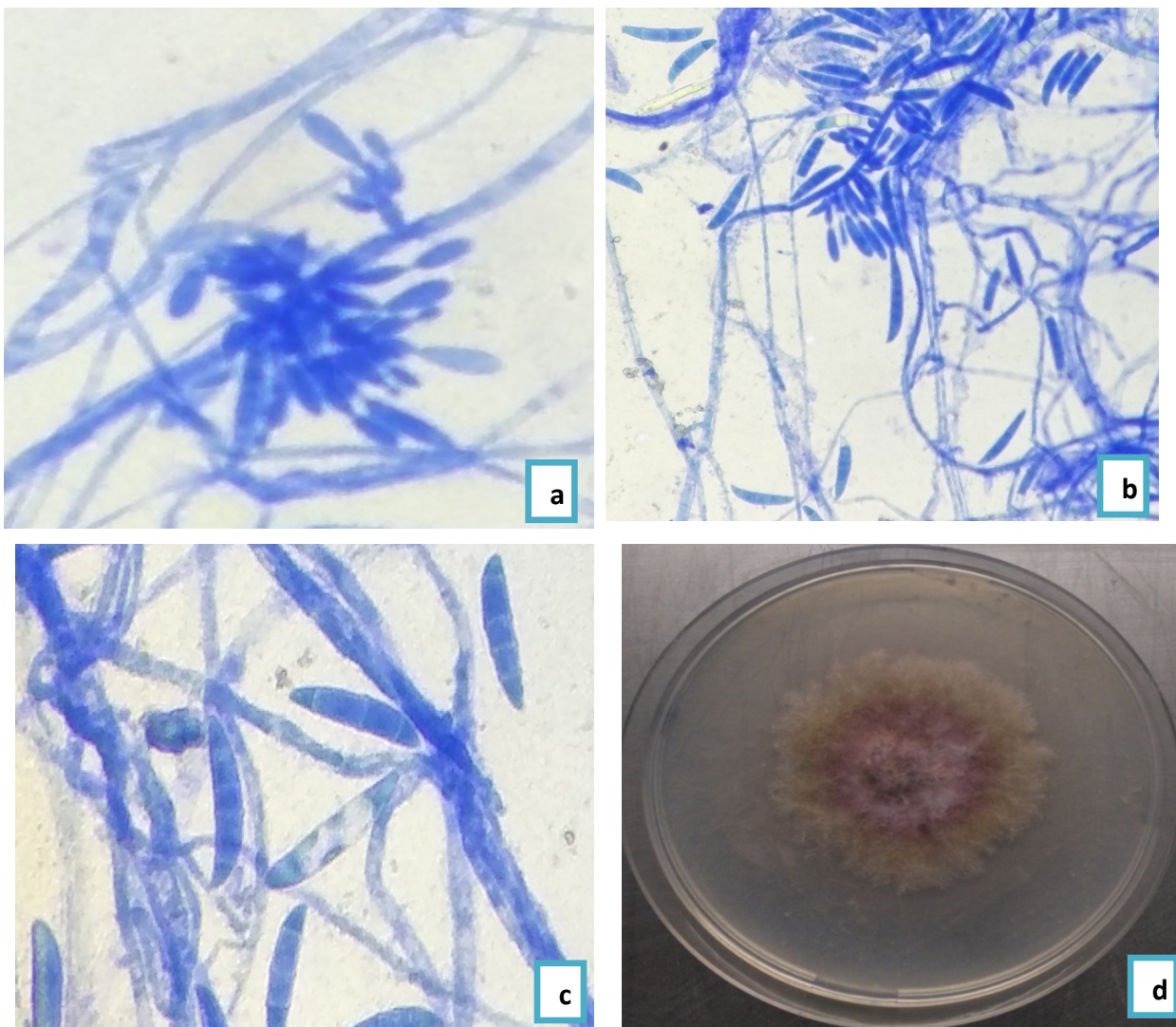


Figure 33 : Observation microscopique (a,b,c) et macroscopique(d) de la souche 3

Cette souche est à croissance rapide su PDA (8.4 cm après 5jours d'incubation), le mycélium aérien est dense, de couleur blanche à jaune rosé au centre. Sur milieu SNA, Les microconidies sont absentes alors que les macroconidies sont cloisonnées, relativement courte , à parois épaisses. La face dorsale est quelque peu incurvée, mais la face ventrale est

Chapitre 05 : Résultats et discussion

presque droite, elles se forment sur des monophialides à conidiophore simple. Cette description est en accord avec celles citées par Nelson et al (1983) et Leslie et Summerell (2006), ces auteurs ont rapportés également que cette espèce est couramment associée aux céréales.

1-3-4 *Fusarium lateritium* (souche 4)

Cette souche a été isolée à partir de la racine du blé tendre cultivée sur le milieu DCPA en présence de difenoconazole

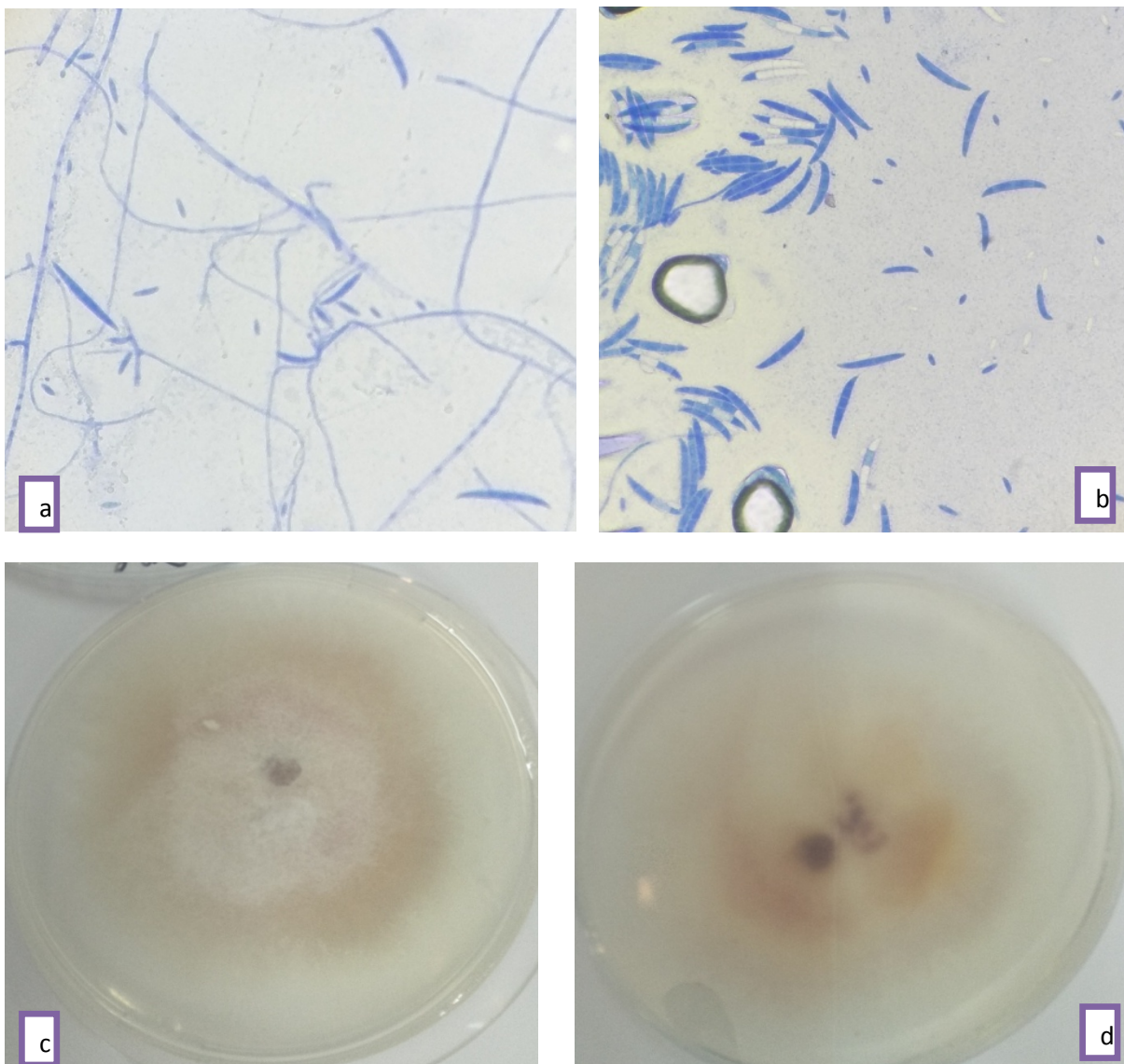


Figure 34 : Observation microscopique et macroscopique de souche 4 (a, b : macroconidies et microconidies de *Fusarium lateritium* ; c, d : Aspect sur le milieu PDA face et reverse)

Chapitre 05 : Résultats et discussion

Cette souche est à une croissance relativement lente sur PDA. (2.5 cm de diamètre de colonie après 5 jours d'incubation). Le mycélium n'est pas abondant et il est de couleur blanc avec les bordures de couleur orange pâle. Les macroconidies sont abondantes et peuvent s'étendre sur toute la surface de la colonie. Elles sont cloisonnées et de longueur moyenne, mince et relativement droite à légèrement incurvée avec des parois parallèles sur la majeure partie de la longueur des spores, la cellule apicale est en forme de crochet ou bec caractéristique et la cellule basale est en forme de pied. Les microconidies sont présentes. Elles sont ellipsoïdaux, fusiformes ou en forme de massue, avec de 0-3 cloisons. Cette description est en accord avec celles citées par Nelson et al (1983) et Leslie et Summerell (2006), ces auteurs ont rapportés également que cette espèce se rencontre fréquemment sur les plantes ligneuses et sur le sol. D'autres auteurs ont signalé cette espèce sur céréales, mais elle est peu fréquente (LNPV, 2008)

2- Résultats des Essais d'évaluation de la résistance /sensibilité de quelques souches fongiques

Les souches fongiques utilisés dans cette partie du travail sont les souches de *Fusarium* 1 et 2 isolées à partir de la partie aérienne du blé et les souches 3 et 4 isolées à partir de la partie racinaire du blé ; Rappelant que :

- La Souche 1 est une souche de *Fusarium graminearum* isolée à partir de la partie aérienne de blé dur cultivé sur le milieu DCPA supplémenté du difenoconazole
- La Souche 2 est une souche de *Fusarium culmorum* isolée à partir de la partie aérienne du blé tendre supplémenté du triadiménol.
- La Souche 3 est une souche de *Fusarium culmorum* isolée à partir de la racine du blé dur cultivé sur le milieu DCPA supplémenté du triadiménol.
- La Souche 4 est une souche de *Fusarium lateritium* isolée à partir de racine de blé tendre cultivé sur DCPA supplémenté du difenoconazole

Les fongicides testés sont le difenoconazole et le triadiménol à trois concentrations différentes:

- 0,5 ml qui correspond à une concentration de 0,1 mg de fongicide /ml de milieu ;
- 1 ml qui correspond à une concentration de 0,2 mg de fongicide /ml de milieu ;
- et 2 ml qui correspond à une concentration de 0,4 mg de fongicide /ml de milieu.

2-1 Résultats de la souche 1

les résultats obtenues des essais sensibilité résistance de la souche 1 de *F. graminearum* vis-à-vis de deux fongicides sont présentés Figure n 35 .

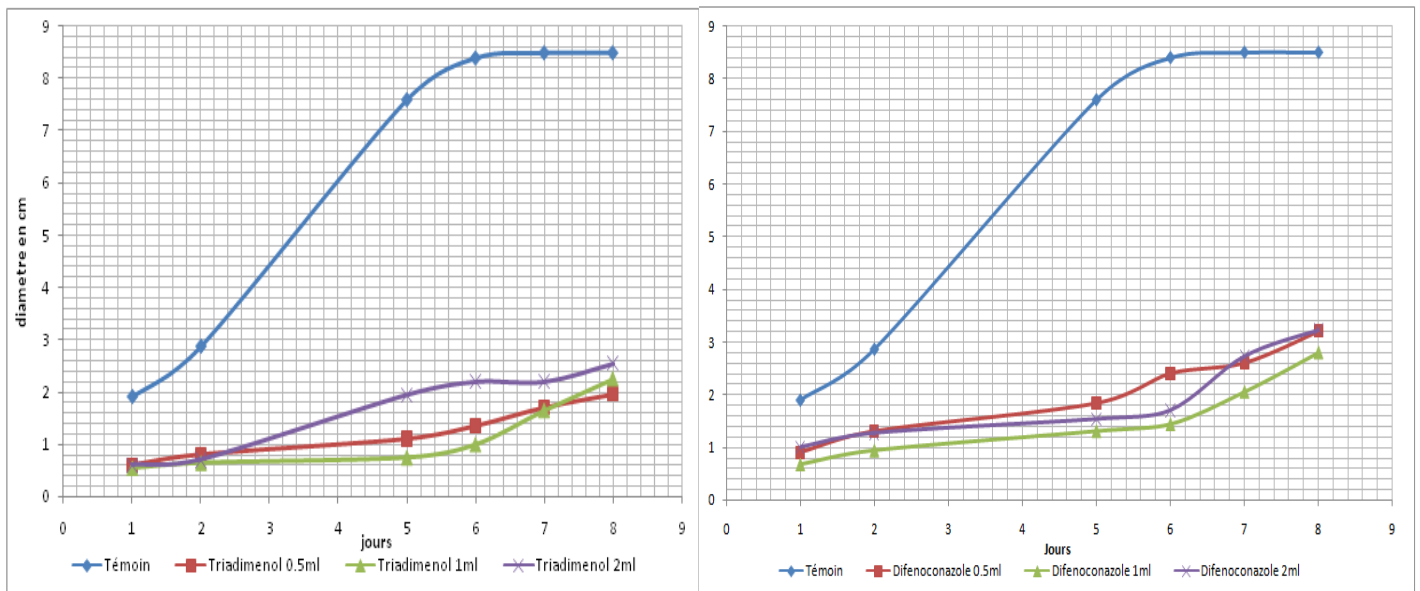


Figure 35 : Effet de la concentration en triadiménil et en difénoconazole sur la croissance radiale de souche 1

En absence de fongicide, le diamètre des colonies de la souche 1 passe de 2cm après une incubation d'une journée à 8.4 cm au 6^{ème} jour. En présence de Triadiménil, on remarque une inhibition de croissance après deux jours d'incubation pour toutes les doses testées (les colonies n'ont pas dépassées le diamètre de 0.8 cm), puis la croissance démarre timidement pour atteindre des diamètres allant de 1.95 à 2.5cm après 8jours. Les taux d'inhibition enregistrés au 8eme jour sont de l'ordre de 70%, 73,5% et 77% pour les doses 2ml, 1ml et 0,5ml respectivement (annexe).

En présence de difénoconazole dans le milieu, la croissance radiale de la souche 1 n'a pas dépassé le diamètre de 2.5 cm pour les trois doses testées après 6 jours d'incubation, le diamètre maximum atteint en présence de difénoconazole est de l'ordre de 5.3cm après 15 jours d'incubation. Pour les doses testées, le taux d'inhibition enregistrés au 8eme jour varie entre 62% et 67% (annexe). Pour ce fongicide, une autre étude a rapporté des taux d'inhibition de l'ordre de 73% de *F. graminearum* vis-à-vis de difénoconazole pour une

Chapitre 05 : Résultats et discussion

concentration proche de 0.1 mg /ml de milieu PDA (Kermia, 2020). La souche 1 a un comportement comparable pour les deux fongicides.

2-2 Résultats de la souche 2

les résultats obtenues des essais sensibilité résistance de la souche 2 de *F. culmorum* vis-à-vis de deux fongicides sont présentés Figure n .

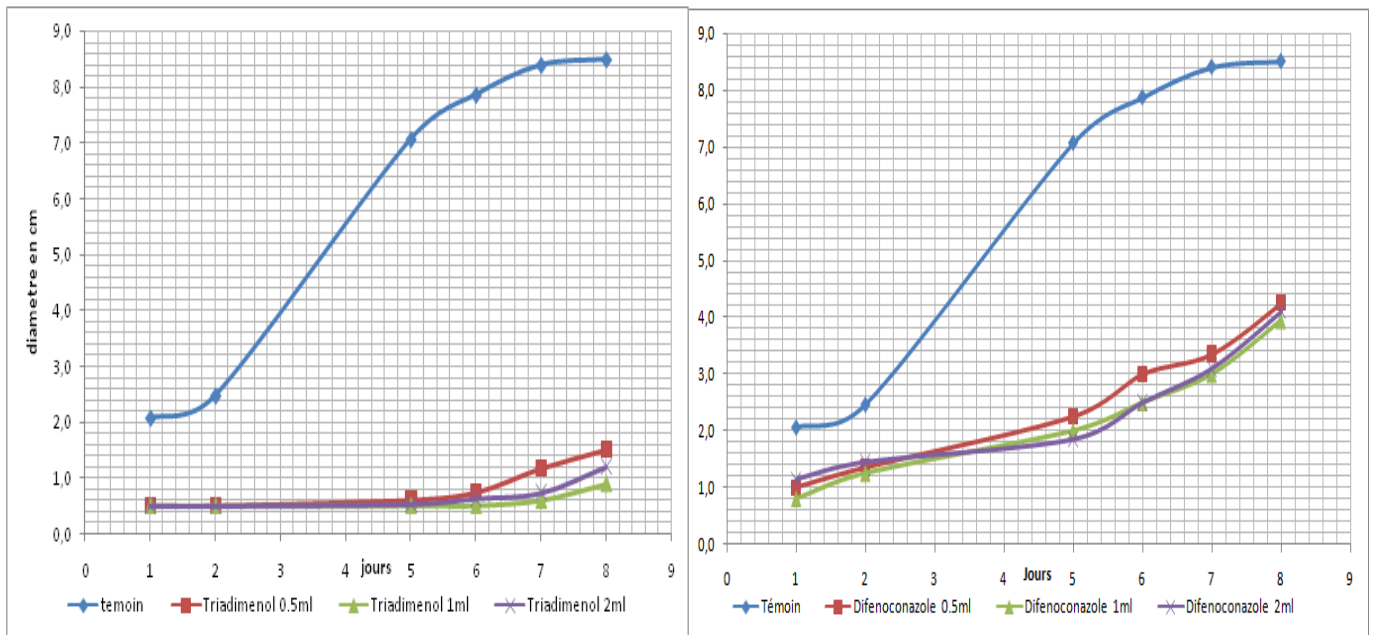


Figure 36 : Effet de la concentration en triadimenol et en difenoconazole sur la croissance radiale de souche 2

En absence de tout fongicide, la souche 2 de *F. culmorum* atteint un diamètre de 8.5 cm au bout de 8eme jours d'incubation. En présence de triadimenol, la croissance radiale est presque nulle pour les trois doses et ceci pendant les 5 premiers jours d'incubation, au delà de cette période, la croissance démarre faiblement pour atteindre un maximum au bout de la 8jour d'incubation avec un diamètre de 1.5 cm pour la dose la plus faible (0.5ml). Les taux d'inhibition varient entre 82 et 89% au 8eme jour.

Dans le cas de difenoconazole, la croissance radiale de la souche 2 atteint des diamètres ente 3.9 et 4.2 cm au bout de 8 jours d'incubation pour les trois doses testées. Ce ci se traduit par des taux d'inhibition de l'ordre de 50 à 53%. Pour les doses de 0,5ml et 1ml respectivement (annexe). On peut conclure que la souche 2 est plus résistante au difenoconazole qu'au triadimenol.

2-3 Résultats de la souche 3

Les résultats obtenus des essais de sensibilité à la résistance de la souche 3 de *F. culmorum* vis-à-vis de deux fongicides sont présentés Figure n 37

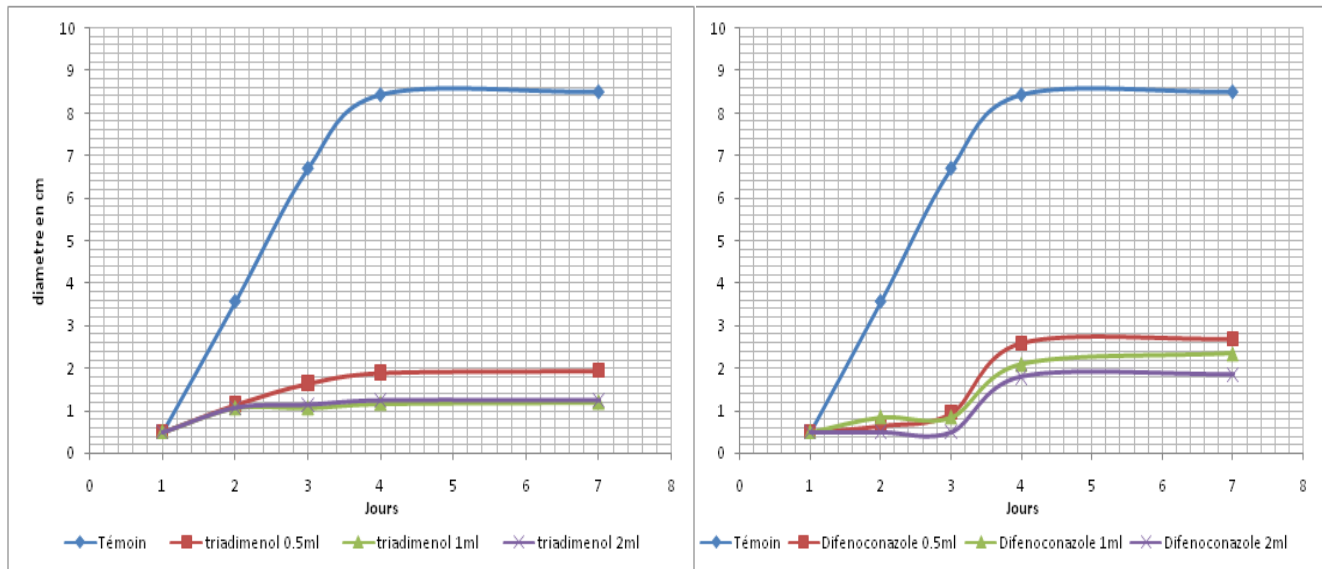


Figure 37 : Effet de la concentration en triadimenol et en difenoconazole sur la croissance radiale de souche

Sur le milieu PDA seul, la souche 3 croît rapidement ainsi au bout de 5ème jours, le diamètre des colonies atteint 8.5 cm. En présence de triadimenol, cette croissance est fortement réduite, ainsi le maximum de croissance est seulement de 2.1 cm de diamètre atteint au 8ème jours d'incubation pour la dose 0.5ml. Les taux d'inhibition calculés sont compris entre 75% pour la dose 0,5ml et 85% pour la dose 2ml.

Dans le cas de difenoconazole, le diamètre des colonies maximum atteint est compris entre 2 et 2,85 cm pour la dose 2ml et 0.5ml respectivement, ce qui correspond à des taux d'inhibition de 76% et de 66%. Malgré que ces taux d'inhibition sont relativement élevés mais restent inférieurs à ceux enregistrés dans le cas de triadimenol.

2-4 Résultats de la souche 4

Les résultats obtenus des essais de sensibilité à la résistance de la souche 4 de *F. lateritium* vis-à-vis de deux fongicides sont présentés Figure 38

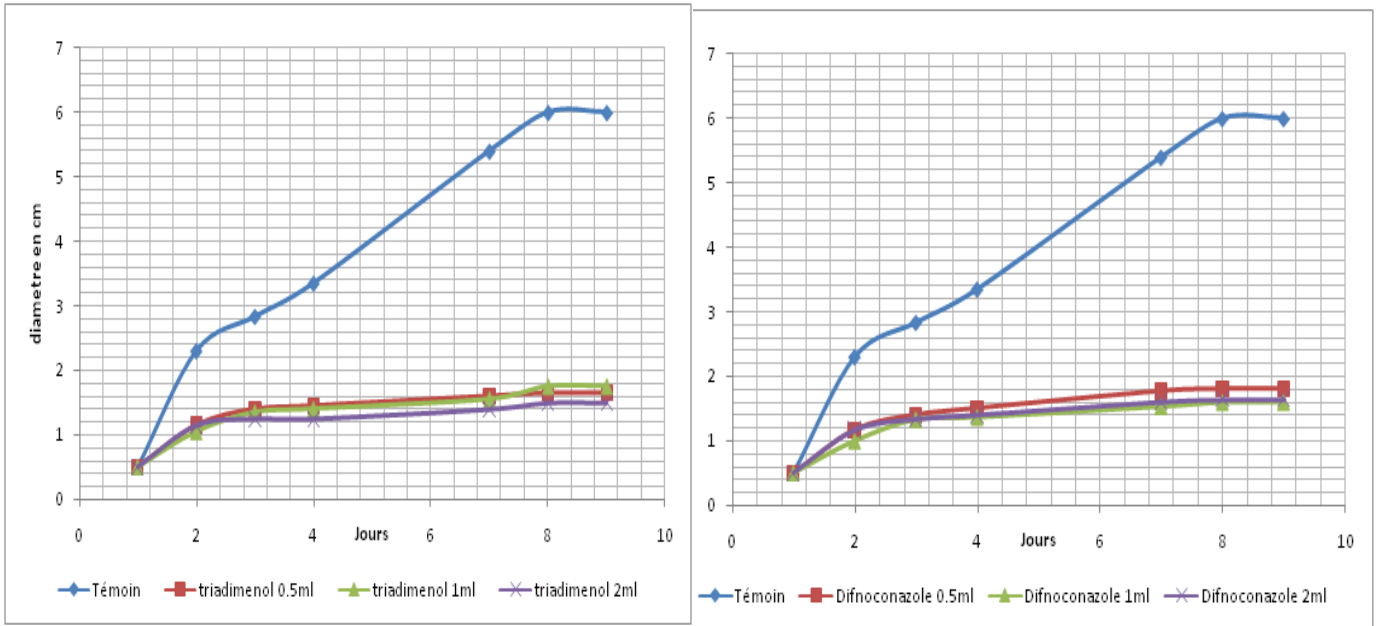


Figure 38 : Effet de la concentration en triadimenol et en Difenoconazole sur la croissance radiale de souche 4

A l'inverse des souches précédentes, la souche 4 de *F. lateritium* a une vitesse de croissance plus lente, ainsi elle atteint le maximum de croissance qui correspond à un diamètre de 6 cm au bout de 8ème jours. En présence de triadimenol et de difenoconazole, le diamètre maximum de la souche 4 ne dépasse pas le 1,8cm pour les trois doses. Cette réduction de croissance correspondant à des taux d'inhibition allant de 71 à 75% pour les trois doses de triadimenol et allant de 70 à 73% pour les trois doses de difenoconazole. Donc on peut conclure que cette souche est faiblement résistante aux deux fongicides.

Dans la présente étude, la comparaison de la sensibilité / résistance des quatre souches fongiques du *Fusarium* (*Fusarium graminearum* : souche 1, *Fusarium culmorum* : souche 2 et souche 3, *F. lateritium* : souche 4) vis à vis de 02 fongicides de la famille des triazoles (triadimenol et difenoconazole) a indiqué clairement une différence dans la réponse. Si on compare le comportement des souches vis-à-vis de deux fongicides, on remarque que les taux d'inhibition varient entre 50 et 77% pour les trois doses de difenoconazole. Alors que ces taux varient entre 70 et 89% pour les trois doses de triadimenol. Ce résultat indique que les quatre souches fongiques sont plus résistantes au difenoconazole qu'au triadimenol.

On remarque également que la souche 2 est la souche la plus résistante au difenoconazole (taux s'inhibition entre 50 et 53%) suivie de souche 1 puis par la souche 3 et 4. Alors que les souches 1 et 4 sont les souches les plus résistantes au triadimenol suivies de souches 2 et 3.

Chapitre 05 : Résultats et discussion

Les fongicides triazoles ont été utilisés pour le contrôle d'un large éventail d'agents pathogènes des plantes au cours des 4 dernières décennies et conservent encore l'essentiel de leur efficacité malgré leur mode d'action spécifique qui favorise généralement le développement de la résistance.

L'ergostérol est un composant important de la membrane cellulaire qui joue un rôle dans le maintien de la stabilité de la membrane. La synthèse de l'ergostérol est liée au rôle de nombreux types de fongicides dont les triazoles (Bhattacharya et al, 2020). Le CYP51, en tant qu'enzyme clé dans cette voie, est la cible centrale des triazoles. Ces fongicides peuvent se combiner avec le CYP51, inhiber la déméthylation du lanostérol catalysée par le CYP51, bloquant ainsi la synthèse de l'ergostérol et conduisant finalement à la mort cellulaire [Odds et al , 2003]. Il a été constaté que le CYP51 est étroitement impliqué dans la résistance aux triazoles dans de nombreux types de champignons en plus de *Fusarium*, tels que *Aspergillus fumigatus* (Chowdhary et al 2014). La résistance a évolué dans la plupart des combinaisons hôte-pathogène d'une manière progressive indiquant un contrôle polygénique de la résistance (Nikou et al, 2009). Des mécanismes possibles de résistance ont été proposés et incluent des modifications du site cible dans la C-14 alpha-déméthylase (CYP51) qui affectent l'affinité de liaison ou les niveaux d'expression du gène cible pendant la formation d'ergostérol (Albertini et al, 2003) ou une augmentation de l'efflux impliquant une augmentation activité des transporteurs membranaires ABC (De Waard et al, 2006).

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Dans la présente étude, notre objectif était en premier lieu d'étudier la résistance des champignons associés au blé vis-à-vis quelque classe de fongicides (Difénoconazole, Azoxystrobine, Tebuconazole, Triadimenol) afin de pouvoir sélectionner des souches résistance vis à vis de l'un de ces fongicides ; en deuxième lieu, on a essayé d'évaluer la résistance/ sensibilité de souches sélectionnées vis-à-vis de trois concentration de fongicides (triadimenol et difeconazole)

Pour satisfaire le premier objectif, nous avons utilisé le milieu DCPA supplémentés de quatre fongicides. Cette partie du travail à permis de sélectionnés deux souches de *F culmorum* , une souche de *F graminearum* et une souche de *F lateritium* qui ont montré un développement satisfaisant sur le milieu DCPA +fongicide.

Pour satisfaire le deuxième objectif, nous avons utilisé le milieu PDA supplementé de trois concentrations (0.1mg ; 0.2mg, et 0,4mg /ml de milieu) des deux fongicides retenus (triadimenol et difenoconazole), dans cette partie du travail, nous avons évalué la résistance sensibilité de ces 4 souches vis à vis de deux fongicides par le calcul de taux d'inhibition. les résultats indiquent que les quatre souches fongiques sont plus résistantes au difenoconazole qu'au triadimenol. Les résultats montrent également que la souche 2 est la souche la plus résistante au difenoconazole (taux s'inhibition entre 50 et 53%) suivie de souche 1 puis par la souche 3 et 4. Alors que les souches 1 et 4 sont les souches les plus résistantes au triadimenol suivies de souches 2 et 3.

En perspectives, il sera utile de vérifier la présence de la résistance sur terrain *in vivo* par des enquêtes (questionnaires) ciblées qui visent les fongicides testés dans cette étude sur la culture de blé à Bouira et par des essais de traitement sur champs.

Bibliographie

Bibliographie

Abdi Y., (2015). Distribution spatiale des maladies fongiques due blé dur (*Triticum durum* Desf.) et effet de la fusariose sur le rendement en zones semiarides de Sétif. Magister en AGRONOMIE : Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.112p.

Albertini C, Gredt M, Leroux P., (2003): Polymorphism of the 14a-demethylase gene (CYP51) in the cereal eyespot fungi *Tapesia acuformis* and *Tapesia yallundae*, Eur. J. Plant Pathol. 109, 117–128.

Albertini L., (2013). Essor de l'agriculture en al-Andalus (Ibérie arabe): Xe-XIVe siècle - Performances des agronomes arabo-andalous. Editions L'Harmattan, 358 p.

Andrews S, Pitt JL., (1986) . Selective medium for isolation of *Fusarium* species and dematiaceous Hyphomycetes from cereals. *Microbiology*.1235-1238.

Anonyme., (2008). Maladies et insectes des céréales en Algérie. Syngenta. Guide de champ.

Aouali S., Douici-Khalfi A., (2009). Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie : symptômes, développement et moyens de lutte ; ITGC, ELHarrach, Alger. 56p 4èmeEd. Collection et Techniques Agricoles. 248p.

Arsenic E., Foreniska E., Goral T., Chelkowski J., (1999). *Fusarium* head blight reactions and accumulation of deoxynivalenol (DON) and some of its derivative in kernels of Wheat, triticum and rye. *Journal of phytopathology*.147: 577-590p.

Attab S., (2014). Etude de quelques altérations physiologiques et biochimiques chez le blé causées par une maladie cryptogamique (l'oidium). Thèse de doctorat : Université Badji Mokhtar – Annaba, 104p.

Bibliographie

Bauske M.J, Mallik I, Yellareddygar S.K.R, Gudmestad N.C., (2018). Spatial and temporal distribution of mutations conferring QoI and SDHI resistance in *Alternaria solani* across the United States. *Plant Dis.* 102, 349.

Benbelkacem A. & Kellou K.,(2001). Évaluation du progrès génétique chez quelques variétés de blé dur (*Triticum turgidum* L. var. durum) cultivées en Algérie. *Options méditerranéennes*, 6, 105-10.

Bettiche F., (2016). Usages des produits phytosanitaires dans les cultures sous serres des Ziban (Algérie) et évaluation des conséquences environnementales possibles. Thèse de doctorat : Université Mohamed Khider-Biskra, 327p.

Bhattacharya S, Sae-Tia Sutthichai, Fries Bettina C., (2020). Candidiasis and mechanisms of antifungal resistance. *Antibiotics (Basel)* ;9: E321.

Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpen J.P., Raymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y and Veau P.,(1990). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. p :34-428..

Botton.B et al ., (1990). Moisissures utiles et nuisibles: importance industrielle, 2ème éd. Masson éd, Paris.

Boulif M., (2011). Gestion intégrée des maladies du blé. Documentation d'appui. ENA de Meknès, 12p.

Brent, K.J, Hollomon D.W., (2007); Fungicide resistance: The assessment of risk FRAC Monograph No 2, second revised edition, FRAC, 52p.

Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M.P., Coquet Y., (2005). Les pesticides dans le sol : conséquence agronomique et environnementale. Edition France Agricole, 637p.

Bibliographie

Casida J.E., Durkin K.A.,(2016). Pesticide chemical research in toxicology: lessons from nature. Chem. Res. Toxicol. 30, 94-104.

Cavelier M., Maroquin C., & Steyer S., (1992). Les maladies des céréales. Fiches signalétiques. Centre de Recherches Agronomiques de l'Etat, Gembloux, 34 p.

Chabane M.,(2010). L'Agriculture de Conservation: Voie de sécurité alimentaire dans les pays du Maghreb. Options Méditerranéennes, A(96), 189-208p.

Chabasse.D ., (2002). Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologiemedicale, pp. 25-27.

Champion R., (1997). Identifier les champignons transmis par les semences. Edition INRA, Paris, 401p.

Chowdhary A, Sharma C, Hagen F, Meis J F 2014 . Exploring azole antifungal drug resistance in *Aspergillus fumigatus* with special reference to resistance mechanisms. Future Microbiol ;9:697–711

Cools H.J, Bayon C, Atkins S, Lucas J.A, Fraaije B.A.,(2012). Overexpression of the sterol 14 alpha-demethylase gene (MgCYP51) in *Mycosphaerella graminicola* isolates confers a novel azole fungicide sensitivity phenotype. Pest Management Science, 68(7), 1034–1040.

Couvreur., (2002). Fongicides des céréales et des protéagineuse. Edition ITCF, PP 216.

Cummins I, Wortley D.J, Sabbadin F, He Z, Coxon C.R, Straker H.E et al., (2013). Key role for a glutathione transferase in multiple-herbicide resistance in grass weeds. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 110(15), 5812–5817.

Bibliographie

Dean R, Van Kan J.A.L, Pretorius Z.A, Hammond-Kosack K.E, Di Pietro A, Spanu P.D, Rudd J.J, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, Foster G.D., (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 13, 414-430.

De Waard M.A, Andrade A.C, Hayashi K, Schoonbeek H.J, Stergiopoulos I, Zwieters L.H., (2006): Impact of fungal drug transporters on fungicide sensitivity, multidrug resistance and virulence, *Pest Manag. Sci.* 62 195–207.

Djermoun A.,(2009). La production céréalière en Algérie: les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie*, 1, 45-53.

[DPVCT] Direction de la Protection des Végétaux et Contrôles Techniques. (2015) Index des produits phytosanitaires à usage agricole. Alger : Ministère de l'agriculture et du développement rural. [Internet]. Available from: http://www.inpv.edu.dz/institut/wp-content/uploads/2016/03/Index_Produits_Phyto_2015.pdf .Consulté le 20 janvier 2018.

[DPVCT] Direction de la Protection des Végétaux et Contrôles Techniques. (2017) Index des produits phytosanitaires à usage agricole. Alger : Ministère de l'agriculture et du développement rural et de la pêche.232p

Du B., Zhang Z., Liu W., Ye Y., Lu T., Zhou Z., Li Y., Fu Z., Qian H.,(2019). Acute toxicity of the fungicide azoxystrobin on the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 168, 72–79.

Dubos T, Pasquali M, Pogoda F, Hoffmann L, Beyer M., (2011) : Evidence for natural resistance towards trifloxystrobin in *Fusarium graminearum*. *European Journal of Plant Pathology*, 130(2), 239–248

Eyal Z.,(1999). Septoria and Stagonospora diseases of cereals: A comparative perspective. - *Proc. 15th Long Ashton Int. Symp. - Understanding pathosystems. A Focus on Septoria*, 15-17.

Bibliographie

Ezzahiri B.,(2001). Les maladies du blé. Identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. Transfert de Technologie en Agriculture, n°77, 4p.

Ezzahiri B.,(2010). Maladies fongiques foliaires du blé. Agriculture du Maghreb n°41, 66-74.

Fadili J., El-house A., (2011). Principaux problèmes phytosanitaire des céréales dans la région de Meknèse-Tafilalet. Phyto-info Meknèse-Tafilalet n°9,4p.

FAO., (2012). Code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides Directives pour la prévention et la gestion de la résistance aux pesticides. FAO Rome, 60p

FAO., (2013). Perspectives de récoltes et situation alimentaire, N°4. (<http://www.manche.chambagri.fr>)

Feillet.,(2000). Le grain du blé composition et utilisation. Edition INRA, 47p.

Figuroa M, Hammond-Kosack K.E, Solomon P.S., (2017). A review of wheat diseases - a field perspective. Article in Molecular Plant Pathology .1-11p.

Gate P., Giban M.,(2003). Les stades du blé. Edition ITCF, 23p.

Giraud R., (2018). Difénoconazole : matière active du Ascernity®et Instrata Elite®. <http://cliniquedugazon.fr/index.php/2018/09/26/difenoconazole-matiere-active-du-ascernity/>

Guiraud J.P., (2003). Microbiologie alimentaires. (edn) Dunod. Paris. 651p.

Hazmoune T.,(2000). Erosion des variétés de blé du r cultivées en Algérie : perspectives. In : Royo C. (ed.), Nachit M. (ed.), D i Fonzo N. (ed.), Araus J.L. (ed.). Durum wheat improvement in the Mediterranean region: New challenges. Zaragoza: CIHEAM, p. 291 -294 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n.40).

Hennouni N.,(2012à. Evaluation du métabolisme respiratoire et enzymatique des racines de blé dur (*Triticum durum*) issues de plantes infectées par les maladies cryptogamiques et de plantes traitées avec un fongicide (ARTEA EC 330). Thèse de doctorat en Toxicologie Cellulaire. Université Badji Mokhtar Annaba, 107p.

Bibliographie

Hiller D, Sanglard D, Morschhauser J., (2006) : Overexpression of the MDR1 gene is sufficient to confer increased resistance to toxic compounds in *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(4), 1365–1371.

-http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Croissant_fertile_carte.png consulter le 01/06/2021

-<http://www.manche.chambagri.fr> consulter le 12/06/2021

Iriisphytoprotection (2020)

<https://www.iriisphytoprotection.qc.ca/Fiche/Champignon?imageId=1391>
Consulter le 01/06/2021.

[ITIS] Integrated Taxonomic Information System, 2021: Classification du *Triticum* L .
<https://www.itis.gov/> consulté le 16 /07/2021

Jabs T, Cronshaw K, Freund A., (2001). New strobilurin resistance mechanism in apple scab (*Venturia inaequalis*). *Phytopathology*, 31, 15–16.

Klosowski A.C, De Mio L.L.M, Miessner S, Rodrigues R, Stammer G., (2016): Detection of the F129L mutation in the cytochrome *b* gene in *Phakopsora pachyrhizi*. *Pest Manag. Sci.* 72, 1211

Lacroix M., (2008). Maladies des céréales et de la luzerne. Guide agronomique des grandes cultures, publication 811F, MAAARO, 47-49.

Laffont J.M.,(1985). Les maladies des céréales et du maïs. Les connaître pour mieux les combattre. Ed. La nouvelle librairie, 96 p.

Lanier. L., Joly .P., Bondoux P. et Bellemère .A.,(1976). Mycologie et Pathologie Forestière, Volume II: Pathologie forestière. Edition Masson. 478 p

Bibliographie

Larran S. Perelló A. Simón M.R. and Moreno V.,(2007). The endophytic fungi from wheat (*Triticum aestivum* L.). World J. Microbiol. Biotech. **23**: 565-572.

Leslie. J.F., Summerell B.A.,(2006). The *Fusarium* laboratory Manual. Blackwell publishing, Ames, USA.388 p.

Lucas J.A, Hawkins N.J, Fraaije B.A., (2015) : Chapitre deux - L'évolution de la résistance aux fongicides. Advances in Applied Microbiology Volume 90, Pages 29 à 92.

LNPV [Laboratoire national de la protection des végétaux], (2008). Toutes céréales, detection et identification des especes de *Fusarium*spp. Et *Microdochium*nivale sur grains de céréales par isolement mycologique semi-selectif et etude microbiologique. Réf. MH-03.16 : version B, 28 p.

Majumder.D., Rajesh D., Suting E.G., Debbarma A.,(2013). Detection of seed borne pathogens in Wheat: Recent trends Australian Journal of crop Science, 4: 500-507.

Mao L.G., Jia W., Zhang L., Zhang Y.N., Zhu L.Z., Sial M.U., Jiang H.Y.,(2020). Embryonic development and oxidative stress effects in the larvae and adult fish livers of Zebrafish (*Danio rerio*) exposed to the strobilurin fungicides, kresoxim-methyl andpyraclostrobin. Sci. Total Environ. 729, 139031.

Mebdoua S.,(2019). Pesticide Residues in Fruits and Vegetables. In: Mérillon JM., Ramawat K. (eds) Bioactive Molecules in Food. Reference Series in Phytochemistry. Springer, Cham. 1715-1753.

Nagy E., Moldovan V.,(2007). The effect of fungicide treatment on wheat common Bunt (*Tilletia* spp) in Transylvania. Romania Agriculture Research. 24: 34-37.

Bibliographie

Nelson.P.E., Toussoun.T.A., Marasas.W.F.O.,(1983).*Fusarium* species - An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania, USA, 193 p

Nikou D, Malandrakis A, Konstantakaki M, Vontas J, Markoglou A, Ziogas B ., (2009) : Molecular characterization and detection of overexpressed C-14 alpha-demethylase-based DMI resistance in *Cercospora beticola* field isolates . *Pesticide Biochemistry and Physiology* 95, 18–27

Odds C, Brown Alistair JP, Gow Neil AR., (2003). Antifungal agents: mechanisms of action. *Trends Microbiol* ;11:272–9.

Pitt.J.I., Hoking.A.D.,(1997). *Fungi and Food Spoilage.* Blackie Academic & Profesional, London- Weinheim- NewYork- Tokyo-Melbourne- Madras. 593p.

-Pubchem www.pubchem.com , Consulter le 01/06/2021

Ponts N.,(2005). Influence du stress oxydatif sur la biosynthèse de Mycotoxines de *Fusarium* spp. Contamination de l'épi de Maïs. Thèse de Doctorat en Biologie. L'université de Bordeaux 1, 409p.

Powles S.B, Yu Q., (2010). Evolution in action: plants resistant to herbicides. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 317–347.

Rajendran R, Mowat E, McCulloch E, Lappin D.F, Jones B, Lang S, et al., (2011). Azole resistance of *Aspergillus fumigatus* biofilms is partly associated with efflux pump activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(5), 2092–2097.

Reignault P., (2002). Mécanismes liés aux interactions entre plantes et agents pathogènes : pouvoir pathogène et dégradation de la pectine. Résistance innée et résistance acquise chez les plantes. Thèse d'habilitation, Univ. Littoral Côte d'Opale, France, volume I, 163 p.

Bibliographie

Rocher F.,(2004). Lutte chimique contre les champignons pathogènes des plantes : Evaluation de la systémie phloémienne de nouvelles molécules à effet fongicide et d'activateurs de réaction de défense. Thèse de Doctorat de l'Université de Poitiers,163p.

Rubini M.R., Silva-Ribeiro R.T., Pomella A.W.V., Maki C.S., Araujo W.L., Santos D.R. and Azevedo J.L., (2005). Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicioso*, causal agent of Witches' Broom Disease. *Int. J Biol Sci.* 1: 24-33

Sierotzki H., Frey R., Wullschlegel J, Palermo S, Karlin S, Godwin J, Gisi U., (2007) : Cytochrome *b* gene sequence and structure of *Pyrenophora teres* and *P-tritici-repentis* and implications for QoI resistance. *Pest Manag. Sci.* 63, 225–233

Siou D.,(2013). Developpement épidémique de la Fusariose des épis de blé et conséquence des interactions entre espèces du complexe fusarien. Thèse de doctorat en Biologie. Université Paris Sud,182p.

Soltner D.,(1990). Les grandes productions végétales : céréales, plantes sarclées, prairies. Coll. Sciences et Techniques agricoles. 17ième Ed, 464p.

Soltner D.,(2005). La base de la production végétale Tom I. Le sol et son amélioration. 24eme Edi. collection science et technique agricole, 472P.

Soltner D.,(2007). Les bases de la production végétales : la plante et son amélioration III. 7eme Edition, collection science et technique agricole, 362p.

Tabuc.,(2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines, Thèse de docteur : Université Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Laboratoire Biologie Animale, IBNA Balotesti.190 p.

Bibliographie

Wang K., Sun Z.H., Yang L.D., He L., Li X.H., Wang G., (2020). Respiratory toxicity of azoxystrobin, pyraclostrobin and coumoxystrobin on *Chlorella vulgaris*. *B. Environ. Contam. Toxicol.* 104, 799–803

Wang X, Li X, Wang Y, Qin Y, Yan B, Martyniuk C J., (2021). A comprehensive review of strobilurin fungicide toxicity in aquatic species: Emphasis on mode of action from the zebrafish model. *Environmental Pollution*, 275, 116671 : 1-12

Walker A.S., Bouguennec A., Masson E. & Du Cheyron P., (2009). Comment retrouver des triticales résistants à l'oïdium ?. *Perspectives Agricoles* , N°357, 78-84.

Watanabe H, Horinouchi H, Muramoto Y, Ishii H., (2017). Occurrence of azoxystrobin resistant isolates in *Passalora fulva*, the pathogen of tomato leaf mould disease. *Plant Pathol.* 66, 1472f toma

Zhang C, Zhou T, Xu Y, Du Z, Li B, Wang J, Wang J, Zhu L ., (2020). Ecotoxicology of strobilurin fungicides. *Science of the Total Environment* 742, 1-8

Zhan J, Wu E, L.X, Chen F., (2014) : Molecular basis of resistance of phytopathogenic fungi to several site-specific fungicides. *Zhongguo Nong Ye Ke Xue Scientia Agricultura Sinica*, Vol. 47 (17): 3392-3404.

Zillinsky F.J.,(1983). Maladies Communes des céréales à paille. Guide d'identification. Centre international pour l'amélioration du maïs et du blé, 141 p.

Annexe

Annexe 01

Matériels utilisés au laboratoire

Equipement scientifique	Verrerie	Consommable
-Autoclave -Balance de précision -hotte microbiologique - Enceinte climatique - Bec Bunsen -Agitateur Plaque chauffante -Spatule métallique - Barreau magnétique	- Flacons autoclavables en verre borosilicaté de 500 ml. - Bêchers de 500 ml -Pipettes graduées de 1ml et 10 ml - Erlenmeyer - Eprouvettes graduées - Verres de montre	- Boîtes de Petri stériles -Parafilm -Règle 20 cm -Stylo

Annexe 02

Constituants du milieu DCPA 1L

Eau distillé.....	1L
Peptone bactériologique	15g
K ₂ HPO ₄	1g
Agar	15g
Crystal Violet	1ml
Chloramphenicol	2ml
MgSO ₄	0,5g

Annexe 03

Préparation de milieu PDA

Eau distillé	1 L
Pomme de terre coupé fine morceau	200 g
Glucose.....	20g
Agar.....	18g

Annexe 04

Constituants du milieu SNA 1L

K ₂ HPO ₄	1.0g
KNO ₃	1.0g
MgSO ₄	0.5g
KCl.....	0.5g
Glucose.....	0.2g
Saccharose.....	0.2g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1L

Annexe 05

Coulage des milieux d'culture

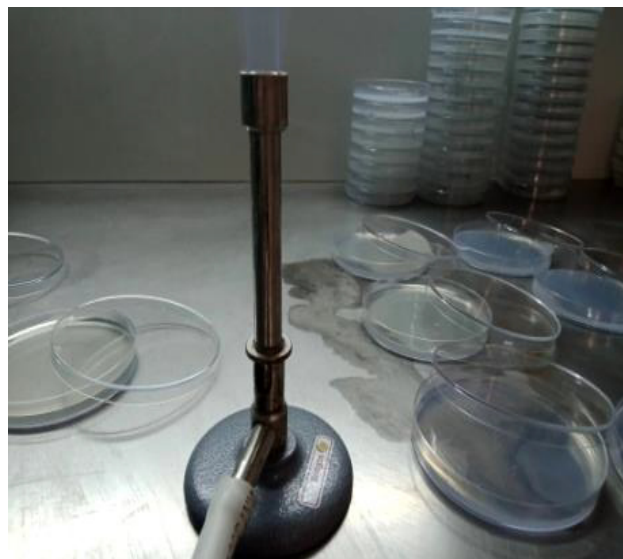
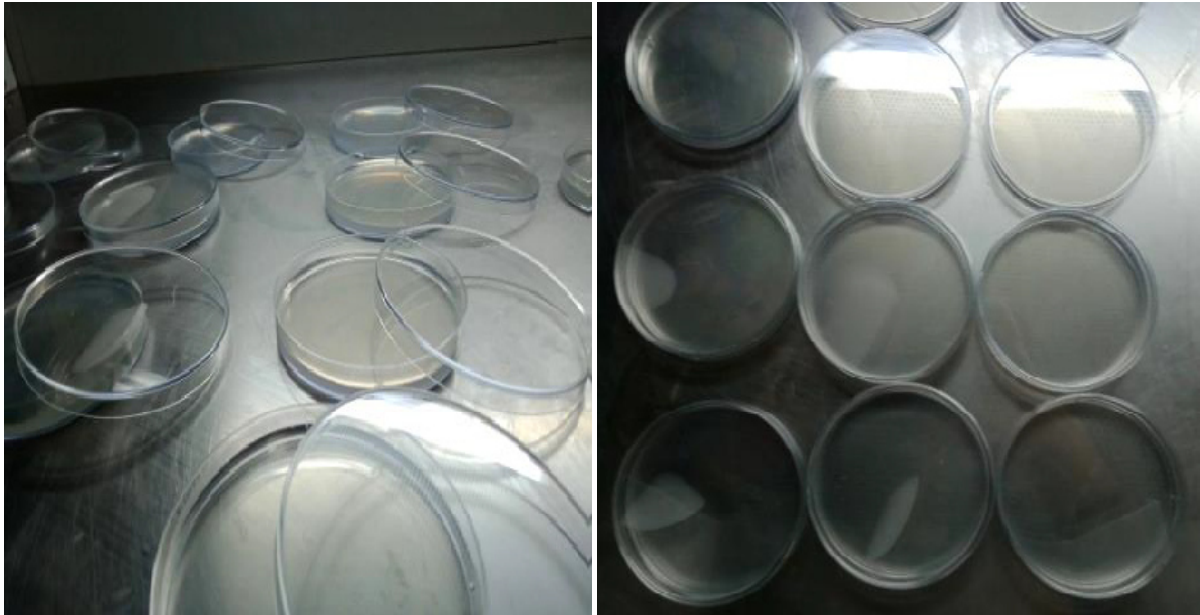


Figure : coulage des milieux dans les boites de Pétri.

Annexe 06

Tableau N° 07 : Aspect des colonies fongiques développées à partir des fragments végétaux de blé dur sur le milieu DCPA +fongicides après 6 jours d'incubation

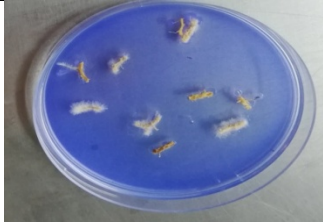
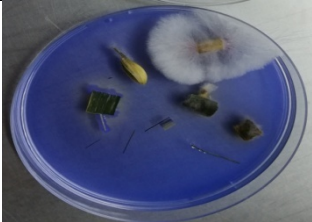

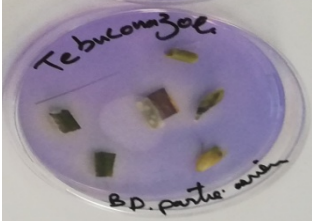

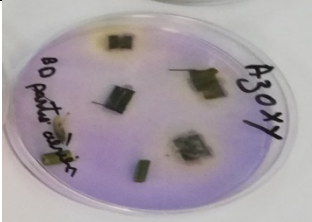





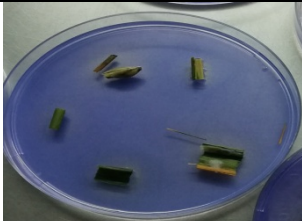
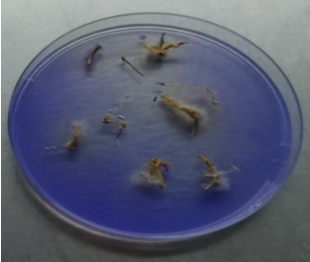



	Partie racinaire	Partie aérienne
DCPA + Difenoconazole		
DCPA + Tebuconazole		
DCPA + Azoxystrobine		
DCPA + Triadimenol		

Tableau N°08 : Aspect des colonies fongiques développées à partir des fragments végétaux de blé tendre sur le milieu DCPA +fongicides après 6 jours d'incubation

	Partie racinaire	Partie aérienne
DCPA + Difenoconazole		
DCPA + Tebuconazole		
DCPA + Azoxystrobine		
DCPA + Triadimenol		

Annexe 07

Taux d'inhibition de la croissance radiale des quatre souches en présence de deux fongicides

Souche 4

Jours	1	2	3	4	7	8	9
Difenoconazole 0.5ml	0	49.27	50.58	55.22	67.28	70	70
Difenoconazole 1ml	0	56.52	52.94	59.20	71.60	73.33	73.33
Difenoconazole 2ml	0	49.27	52.94	58.20	70.37	72.77	72.78

Jours	1	2	3	4	7	8	9
triadimenol 0.5ml	0	50	50.58	56.716	70.37	72.5	72.5
triadimenol 1ml	0	54.34	52.35	58.20	71.29	70.83	70.83
triadimenol 2ml	0	50	55.88	62.68	74.07	75	75

Souche 3

Jours	1	2	3	4	7	8
triadimenol 0.5ml	0	67.75	75.37	77.47	77.05	75.296
triadimenol 1ml	0	70.09	84.07	86.16	85.88	84.70
triadimenol 2ml	0	70.09	83.081	85.37	85.49	85.491

Jours	1	2	3	4	7	8
Difenoconazole 0.5ml	0	81.77	85.82	69.16	68.23	66.47
Difenoconazole 1ml	0	76.16	87.31	75.092	72.352	69.41
Difenoconazole 2ml	0	85.98	92.53	78.65	78.23	76.47

Souche 2

Jours	1	2	5	6	7	8
Triadimenol 0.5ml	75.80	79.72	91.50	90.67	86.11	82.35
Triadimenol 1ml	75.806	79.72	92.924	93.64	92.85	89.41
Triadimenol 2ml	75.80	79.72	92.45	91.94	91.26	85.88

Jours	1	2	5	6	7	8
Difenoconazole 0.5ml	51.61	45.273	68.16	61.868	60.11	50
Difenoconazole 1ml	61.29	49.323	71.6	68.22	64.28	53.52
Difenoconazole 2ml	44.35	41.21	73.82	68.22	63.09	51.76

Souche 1

Jours	1	2	5	6	7	8
Triadimenol 0.5ml	68.42	72.09	85.52	83.92	80	77.05
Triadimenol 1ml	71.05	77.32	90.13	88.09	80.58	73.52
Triadimenol 2ml	68.42	75.58	74.34	73.80	74.11	70

Jours	1	2	5	6	7	8
Difenoconazole 0.5ml	52.63	54.65	75.88	71.43	69.41	62.35
Difenoconazole 1ml	64.91	67.44	82.89	82.94	75.88	67.06
Difenoconazole 2ml	47.37	55.81	79.82	79.76	67.84	61.96