

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université AKLI MOHAND OULHADJ-BOUIRA



Faculté : Sciences de la nature et de la Vie et Sciences de la Terre
Département : Sciences Agronomiques
Laboratoire de recherche de rattachement : LGVRNAQ Bouira

THÈSE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTORAT

Domaine : SNV Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Phytopathologie

Présentée par
SAIDI Amal

Thème

**Isolement et caractérisation de la mycoflore nuisible et bénéfique
associée au blé**

Soutenue le : 17/04/2024

Devant le Jury composé de :

Mme MOUHOUB SAYAH Chafika	Pr	Univ. de Bouira	Présidente
Mme MECELLEM Dalila	Pr	Univ. de Bouira	Rapporteur
Mme MEBDOUA Samira	MCB	Univ. de Bouira	Co-Rapporteur
Mme OULBSIR MOHAND KACI Hakima	Pr	Univ. de Boumerdes	Examinatrice
Mme BENZINA Farida	Pr	Univ. de Boumerdes	Examinatrice
Mme MESSAD Sara	MCA	Univ. de Bouira	Examinatrice

Année Universitaire : 2023/2024

Dédicace

A mes très chers parents, sans eux je n'aurai pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études et mes recherches.

A l'homme qui me redonne confiance en moi et me soutient dans toutes les épreuves, Mon mari Mounir.

A ma chère Ma Rbiha

À mon frère Aymen, ma belle sœur Yassmine et mon petit neveu Youssef

À mes sœurs Lamia et Rania

À mes frères Younesse et Mouhamed

À toute ma famille

A tous mes amis

Remerciements

En tout premier lieu, je remercie le bon Dieu, tout puissant, de m'avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Ensuite, mes remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Je m'adresse particulièrement :

- **À mon directeur de Thèse Mme. MECELLEME Dalila** (Professeur à l'université de Bouira) : Je vous remercie énormément d'avoir accepté de diriger ce travail. Je tiens à vous exprimer toute ma reconnaissance pour votre encadrement, vos précieux conseils qui m'ont permis de surmonter les difficultés, ainsi que pour la confiance et l'autonomie que vous m'avez accordée. Que vous trouvez dans ce travail mes sincères considérations.

- **À mon co-encadreur de Thèse Mme. MEBDOUA Samira** (Maitre de conférences classe B à l'université de Bouira) : Je vous remercie d'avoir accepté de suivre la direction de cette thèse, Je vous adresse toute ma gratitude pour votre patience et votre disponibilité, car vous n'avez épargné aucun effort pour me diriger, me conseiller et me suivre. Vous m'avez donné aussi l'opportunité de découvrir vos qualités humaines et professionnelles à travers ce co-encadrement. Que vous trouvez dans ce mémoire tous les signes de ma profonde affection et mes sincères reconnaissances et considérations.

- Mes plus vifs remerciements vont au **M. BENDIF Hamdi** (Professeur à l'université de M'sila), qui a été pour moi un interlocuteur précieux, tant dans l'avancement de la thèse mais aussi pour avoir su m'apaiser à des moments importants.

- Un grand MERCI à **M. SEDRATI Nouari** (Maitre de conférences classe A à l'université de Bordj Bou Arreridj), pour son aide et ses conseils au cours de la réalisation de ce travail. Sa rigueur scientifique était pour moi un socle important tout au long du chemin sinueux de la thèse.

- Je tiens à adresser des remerciements particuliers au **M. DAHOU Moutassem** (Maitre de conférences classe A à l'université de Bordj Bou Arreridj) m'a fait bénéficier de son expérience, leur aide technique et leurs précieuses orientations.

-Mes plus sincères remerciements vont aussi à l'adresse de **M^{me} MOUHOUB-SAYAH Chafika** (Professeur à l'Université de Bouira), pour l'honneur qu'elle me fait en présidant le jury de ma soutenance.

-Je remercie les personnes qui m'ont fait l'honneur de participer au jury de ma thèse. Merci pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail : **M^{me} OULEBSIR MOHAND KACI Hakima** (Professeur à l'Université de Boumerdes) et **M^{me} BENZINA Farida** (Professeur à l'Université de Boumerdes) ainsi que **M^{me} MESSAD Sara** (Maitre de conférences classe A à l'Université de Bouira), qui m'ont fait l'honneur de participer à l'examen de mon travail.

-Mes vifs remerciements vont à tous mes chères collègues du travail (les ingénieures des laboratoires pédagogiques de l'université de Bordj Bou Arréridj) pour leurs aides, leurs soutiens et leurs présences, spécialement **M^{me} GAHFIF Ouahiba** pour le soutien moral et les encouragements qu'elle m'a donnés.

-Je tiens aussi à exprimer ma profonde gratitude à tous les enseignants, les doctorants, les ingénieurs des laboratoires et le personnel et de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Université de Bouira.

-Enfin, j'exprime toute mon affection et ma gratitude à ma famille (mes parents, mes frères, mon mari, ...) pour leurs patiences et leurs soutiens indéfectible. Un énorme merci pour mes amis qui ont su me supporter.

Publications et Communications

Publications

1. **Saidi, A.**, Mebdoua, S., Mecerlem, D., Al-Hoshani, N., Sadrati, N., Boufahja, F., & Bendif, H. (2023). Dual biocontrol potential of the entomopathogenic fungus *Akanthomyces muscarius* against *Thaumetopoea pityocampa* and plant pathogenic fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(8), 103719. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103719>.
2. D. Mecerlem, S. Mebdoua, **A. Saidi**, G. Chakali, Faouzi Didi, Moustafa Sahnoune Chaouche (2023). Monitoring and Controlling *Lymantria Dispar* populations Using Two Fungi, *Akanthomyces Muscarius* and *Purpureocillium Lilacinum*. *Tobacco Regulatory Science (TRS)*, 1988-2001.

Communications Nationales

1. **SAIDI Amal**, ALIAT Toufik & BEN MEKDECH Keltoum. 2019. Effet des extraits bruts d'une plante halophile *Limonium delicatilum* sur quelques champignons phytopathogènes ; *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* et *Aspergillus niger* », "1^{er} séminaire national sur les parasites des plantes et des animaux", Belida 1 Université ; 18-19, Décembre, 2019. Blida.Algerie.
2. **SAIDI Amal**, MEBDOUA Samira & MECELLEM Dalila.2020. Diversité de la mycoflore associée aux grains de blé dans la wilaya de Setif et Bouira. La 1ere journée national sur « Analyse de cycle de vie, Eco conception, Eco éducation, Eco innovation au service du développement durable, 11 Fevrier 2020, CNFE, Boumerdes, Algérie.
3. **SAIDI Amal**, MEBDOUA Samira, MECELLEM Dalila, AOUDIA M & BENAROUS K., 2022. Diversité de la mycoflore associée aux grains de blé et l'utilisation d'une souche entomopathogène dans la lutte biologique. Séminaire National sur la Biodiversité Végétale et Animale, Environnement et Santé., LE 20 Mai 2022, CU Mila, Algérie.
4. **SAIDI Amal**, MEBDOUA Samira, MECELLEM Dalila & KERMIA A. 2021. Etude de la sensibilité résistance de la flore fongique associée au blé vis-à-vis quelques traitement fongicides, LCVRN, 1-2 Décembre 2021. Université de Bordj Bou Arreridj, Algerie.
5. **Abdelmalek MERIBAI**, GAHFIF W, SAIDI A, DIAFAT A & BAHLOUL A. 2022. Infant Nutrition in Algeria: Microbial and Hygienic Aspects of Some Marketed Infant Formula Milk Powder Brands. Journée Nationale de la SAN JN-SAN 2022, le 15 octobre 2022, Alger. Algérie.
6. **Abdelmalek MERIBAI**, GAHFIF Wahiba, BOUGUERRA Asma, SAIDI Amal, DIAFAT Abdelouahab & BAHLOUL Ahmed. 2022. « Essais Préliminaires (In Vitro) De Lutte Biologiques Contre Champignons/ Bacteries Phytopathogenes Via Des Bacteries Lactiques Isolées Des Différentes Variétés D'olives Noirs En Fermentation : Mise En

Evidence Des Effets Bacteriocinogènes D'ordre Bacteriocide Et Bacteriostatique ». 2^{ème} Colloque National de Lutte Biologique et Développement Durable dans les Ecosystèmes Naturels et Anthropisés, le 10 Décembre 2022, Université de Tissemsilt, Tissemsilt, Algérie.

Communications Internationales

- 1. SAIDI Amal**, MEBDOUA Samira & MECELLEM Dalila. 2021. Prévalence des espèces du genre *Fusarium* dans les grains du blé et test de sensibilité/résistance aux fongicides. Biodiversity, Valorization and Conservation of Urban and Forest Ecosystems: (In support of sustainable development), Le 28-29 Avril 2021. Université Med Boudhiaf, M'sila, Algérie.
- 2. SAIDI Amal**, MEBDOUA Samira, MECELLEM Dalila & MERIBAI A. 2022. Essais d'utilisation d'une souche d'*Akanthomyces lecanii* pour la lutte biologique vis-à-vis des champignons phytopathogènes de blé, 1st International Webinar of Animal Biodiversity, Protection and Environment " WIBAPE2022, Le 26-27 Mai 2022, ENSA, Algier, Algérie.
- 3. SAIDI Amal**, MEBDOUA Samira, MECELLEM Dalila, MERIBAI Abd el malek & GAHFIF Ouahiba. 2023. Essais d'utilisation de deux souches endophytes de ble ; *Trichoderma* sp. Pour la lutte biologique vis-à-vis des champignons phytopathogènes de ble. The First International Webinar on: Promotion and Exploitation of Plants of Ecological and Economic Interest, le 15-16 Mai 2023, Université de Khenchla, khanchla, Algérie.
- 4. MERIBAI Abl el malek**, BOUGUERRA Asma, HIMA Belkisse, GAHFIF Wahiba, DIAFET Abd elwahab, **SAIDI Amal** & BAHLOUL Ahmed. 2022. Pollution biologique des eaux sous terraines dans la région aride bibans nords-ouest Algérie. 8^{ème} Maghreb conférence en désaliénation and water traitement (CMTDE 2022), 19-29 Décembre 2022, Hammamet-Tunis.

Sommaire

Résumé	i
Liste des abréviations.....	ii
Liste des Figures	iv
Liste des tableaux	vii
Introduction	1

Données bibliographiques

1. Données bibliographiques sur le blé	4
1.1. Description agro morphologie de la plante	4
1.1.1. Système racinaire	4
1.1.2. Système aérien.....	4
1.1.3. Grain du blé.....	6
1.1.3.1. Structure et composition des grains	6
1.1.3.2. Composition chimique des grains	7
1.2. Importance économique de la culture du blé	8
1.2.1. Production du blé dans le monde	8
1.2.2. Production du blé dans l'Algérie.....	10
2. La flore fongique des céréales.....	13
2.1. Flore de champ.....	13
2.2. Flore intermédiaire	13
2.3. Flore de stockage	14
2.4. Principaux genres fongiques rencontrés sur les grains de blé.....	14
2.4.1. Genres phytopathogènes et mycotoxinogènes	14
2.4.1.1. Le genre <i>Fusarium</i>	14
- <i>Fusarium graminearum</i>	16
- <i>Fusarium verticillioides</i>	18
2.4.1.2. Le genre <i>Alternaria</i>	19
2.4.2. Espèces phytopathogènes	21
2.4.2.1. <i>Tilletia tritici</i> (<i>T. laevis</i>) agent de carie du blé.....	21
2.4.2.2. <i>Neovossia indica</i> (<i>Tilletia indica</i>) agent de carie de Karnal	22
2.4.2.3. <i>Ustilago segetum</i> var. <i>tritici</i> agent du charbon nu de blé	23

2.4.3. Genres toxinogènes	24
2.4.3.1. Le genre <i>Aspergillus</i>	24
□ <i>Aspergillus flavus</i>	25
□ <i>Aspergillus niger</i>	26
□ <i>Aspergillus fumigatus</i>	27
2.4.3.2. Le genre <i>Penicillium</i>	27
2.4.3.3. Autre genres sur les grains de blé	30
2.5. Les champignons rencontrés sur la plante de blé.....	32
2.5.1. Champignons phytopathogènes.....	32
2.5.1.1. <i>Puccinia striiformis</i> sp. <i>Tritici</i>	33
2.5.1.2. <i>Zymoseptoria tritici</i>	35
2.5.1.3. <i>Pyrenophora tritici</i> (<i>Drechslera tritici-repentis</i>).....	37
2.5.2. Champignons non phytopathogènes.....	39
2.5.2.1. Le genre <i>Trichoderma</i>	40
2.5.2.2. Le genre <i>Akanthomyces</i>	40
3. Conditions de développement des champignons sur les grains	41
3.1. Activité en eau (Aw)	42
3.2. Température	42
3.3. pH.....	43
3.4. Présence d'oxygène.....	43
3.5. Composition du substrat.....	43
3.6. Présence des insectes	43
3.7. Interactions microbiennes	44

Données expérimentales

1^{ère} partie : Etude de la biodiversité de la mycoflore associée au blé dur et tendre (plants et grains) dans trois régions d'Algérie.

1. Introduction	45
2. Matériel et méthodes	46
2.1. Description de la zone d'étude	46
2.2. Échantillonnage des grains de blé.....	46

2.3.	Echantillonnage des plants de blé	48
2.4.	Isolement de la mycoflore des grains de blé	48
2.5.	Isolement de la mycoflore des plants du blé	49
2.6.	Observation macro-microscopique	50
2.7.	Caractérisation des champignons isolés.....	50
2.7.1.	Repiquage sur milieu PDA et SNA.....	50
2.7.2.	Lecture des boîtes SNA et PDA.....	50
2.8.	Préparation des cultures monosporiques.....	51
2.9.	Conservation des souches	51
2.9.1.	Sur gélose incliné	51
2.9.2.	Par cryoconservation	51
2.10.	Expression des résultats	52
3.	Résultats	52
3.1.	Taux de germination	52
3.2.	La mycoflore associée aux grains de blé	53
3.2.1.	Etat général de contamination des grains de blé	53
3.2.2.	Fréquence générale des genres fongiques trouvés	54
3.2.2.1.	Blé dur.....	54
3.2.2.2.	Blé tendre	54
3.2.3.	Pourcentage de contamination relative par genre fongique	55
3.2.4.	Genres fongiques rencontrés sur les grains de blé	57
3.2.4.1.	<i>Alternaria</i> et sa diversité	57
3.2.4.2.	<i>Aspergillus</i> et sa diversité	58
3.2.4.3.	<i>Penicillium</i> et sa diversité	61
3.2.4.4.	<i>Fusarium</i> et sa diversité	62
3.2.4.5.	<i>Cladosporium</i> et sa diversité.....	63
3.2.4.6.	Autres genres fongiques.....	64
3.3.	Mycoflore associée aux Plants du blé.....	68
3.3.1.	État général de contamination.....	68
3.3.2.	Fréquence générale des genres fongiques trouvés	68
3.3.2.1.	Blé dur.....	68
3.3.2.2.	Blé tendre	69

3.3.3. Les genres fongiques rencontrés sur les plants de blé.....	70
3.3.3.1. <i>Fusarium</i> et sa diversité	70
3.3.3.2. <i>Curvularia lunata</i>	72
3.3.3.3. <i>Drechslera</i>	73
3.3.3.4. <i>Trichoderma</i>	74
3.3.4. Mycoflore associée au blé dans les trois wilayas d'étude	74
3.3.4.1. Comparaison entre les trois wilayas.....	74
3.3.4.2. Fréquence des genres fongiques trouvés.....	75
3.3.4.3. La mycoflore associée au variétés de blé de la wilaya de Bouira.....	76
3.3.4.4. La mycoflore associée au variétés de blé de la wilaya de Bordj Bou Arreridj. .	77
3.3.4.5. La mycoflore associée au variétés de blé de la wilaya de Sétif.	78
4. Discussion	80

2^{ème} partie : Etude de la résistance/sensibilité des souches fongiques nuisibles isolées de blé vis-à-vis de quelques fongicides, et des tests de pathogénicité sur le blé

1. Introduction	84
2. Matériel et méthodes	85
2.1. Isolement des souches fongiques résistants aux fongicides.....	85
2.2. Identification des isolats fongiques.....	86
2.3. Evaluation de la résistance /sensibilité de quelques souches fongiques	86
2.4. Calcul de taux d'inhibition de la croissance mycélienne	87
2.5. Evaluation de la pathogénicité des souches de <i>Fusarium</i> sur le blé	88
2.5.1. Effet des souches sur la germination.....	88
2.5.2. Effet des souches sur la levée et la croissance des plantules	88
3. Résultats	89
3.1. Effet de fongicides sur le pourcentage de colonisation fongique	89
3.2. Identification des isolats fongiques.....	90
3.3. Evaluation de la résistance /sensibilité de quelques souches fongiques	91
3.3.1. Résultat de <i>Fusarium graminearum</i>	92
3.3.2. Résultats de <i>F.culmorum</i> souche 1	93
3.3.3. Résultats de <i>F.culmorum</i> Souche 2	94

3.3.4. Résultats de <i>F. lateritium</i>	95
3.4. Evaluation de la pathogénicité des souches de <i>Fusarium</i>	96
3.4.1. Pathogénicité des souches sur les grains	96
3.4.2. Pathogénicité des souches sur les plantules	97
4. Discussion	98

3^{ème} partie : Caractérisation morphologique et moléculaire d'une souche entomopathogène ; *Akanthomyces muscarius* isolée de blé et leur effet sur *Thaumetopoea pityocampa* et quelques champignons phytopathogènes du blé

1. Introduction	101
2. Matériel et méthodes	102
2.1. Isolement et identification morphologique d' <i>Akanthomyces muscarius</i>	102
2.2. Identification moléculaire de la souche	103
2.2.1. Extraction d'ADN, amplification PCR et séquençage.....	103
2.2.2. Analyse phylogénétique	103
2.3. Evaluation de la croissance et la sporulation d' <i>A.muscarius</i>	104
2.4. Essais de lutte biologique contre les larves de <i>Thaumetopoea pityocampa</i>	104
2.5. Essais d'antagonisme contre les champignons phytopathogènes	105
3. Résultats	106
3.1. Identification morphologique et moléculaire	106
3.2. Croissance et sporulation d' <i>A.muscarius</i>	108
3.3. Mortalité des larves de <i>T. pityocampa</i>	108
3.4. Taux d'inhibition des champignons phytopathogènes	112
4. Discussion	114
Conclusion.....	117
References bibliographiques	120

Annexes

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتعريف الفطريات المرتبطة بالقمح

تم في الجزء الأول دراسة التنوع البيولوجي للفطريات المعزولة من حبوب ونباتات القمح. تم أخذ إجمالي 26 عينة من حبوب القمح الصلب واللين من مختلف الأصناف وبعض من نباتات القمح الصلب واللين خلال الموسم الفلاحي لسنة 2019/2018 من ثلاث ولايات داخلية في الجزائر: البويرة، سطيف وبرج بوعرييج، تم اخذ الحبوب من طرف المخازن المتواجدة في كل ولاية في حين تم اخذ النباتات من حقول القمح بطريقة عشوائية. بعد عزل وتوصيف هذه الفطريات. بلغت معدلات عدوى الحبوب بالفطريات نسبة 93.17% لحبوب القمح الصلب، 88.88% لحبوب القمح اللين و100% لنباتات القمح. سمحت هذه الدراسة بتحديد وتعريف 33 جنسا فطريا. وهذا ما يوضح التنوع البيولوجي للفطريات المرتبطة بنبات القمح مع صدارة جنس *Alternaria* في جميع عينات حبوب القمح الصلب واللين وصدارة جنس *Fusarium* في كل النباتات.

في الجزء الثاني ركزت دراستنا على الفطريات الضارة في القمح، والسلالات المستخدمة هي أنواع من جنس *Fusarium* (*F. lateritium, F. culmorum, F. graminearum*) والتي تم عزلها على وسط DCPA مضاف إليه مبيدات الفطريات، وهذه السلالات تم اختبارها بهدف تقييم حساسيتها ومقاومتها لمبيدات الفطريات من نوع Triazoles من ناحية ومن ناحية أخرى لتقييم قدرتها المرضية على القمح. أظهرت الأنواع *F. culmorum* و *F. graminearum* مقاومة معينة للمبيدات الفطرية difenoconazole و triadimenol كما أظهرت هذه الفطريات قدرة مرضية كبيرة اتجاه القمح حيث أثرت على قدرة الإنتاج وعلى نمو النباتات

وفي الجزء الثالث ركزنا على الفطريات النافعة حيث تم عزل نوع من فطر *Akanthomyces muscarius* من حبوب القمح وتم تشخيصها بالاختبارات المورفولوجية والجزيئية. تمت بعد ذلك دراسة هذا النوع من ناحية لقدرته على مكافحة يرقات *Thaumetopoea pityocampa* من خلال اختبارات الموت بالجرعة، ومن ناحية أخرى لقدرته على مكافحة الفطريات المسببة لأمراض القمح من خلال اختبارات المواجهة المباشرة. اختبارات الوفيات بالجرعة من ثلاثة تراكيز من فطر *A. muscarius* أظهرت نسبة نفوق 88.23% بعد 10 أيام للتركيز $10^6 \times 2.3 \text{ conidia ml}^{-1}$ ، كذلك أظهرت نشاطاً مضاداً للفطريات المسببة للأمراض النباتية بمعدلات تثبيط تتراوح بين 39.61% إلى 52.94%. نستنتج من هذه الدراسة أن هذا النوع من الفطر المعزول من القمح لديه قدرة مزدوجة على مكافحة الحويبة ضد الآفات والأمراض النباتية

الكلمات المفتاحية: القمح، الفطريات، التنوع البيولوجي، الفطريات الضارة، *Akanthomyces*، مكافحة البيولوجية، المقاومة، التريازول

Abstract

This work concerned the isolation and characterization of mycoflora associated with wheat. In the first part, a study of the biodiversity of fungi isolated from wheat grains and plants was carried out. A total of 26 samples of hard and soft wheat grains of different varieties and wheat plants are taken during the 2018-2019 agricultural season from the three wilayas Bouira, Setif and Bordj Bou Arreridj. After isolation and characterization of these fungi. The colonization rates of grains by fungi are 93.17% for durum wheat grains, 88.88% for soft wheat grains and 100% for wheat plants. This study enabled the identification of 33 fungal genera. This shows the biodiversity of the mycoflora associated with wheat, with a dominance of the *Alternaria* genus in wheat kernels and the *Fusarium* genus on seedlings.

In the second part of our study, we focused on the harmful mycoflora of wheat. The strains used were species of the genus *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. culmorum* and *F. lateritium*), isolated on DCPA medium supplemented with fungicides. Strains of *F. graminearum* and *F. culmorum* showed some resistance to difenoconazole and triadimenol, and were also highly aggressive to wheat.

In the third part, we focused on beneficial mycoflora. A strain of *Akanthomyces muscarius* was isolated from wheat grains and identified by morphological and molecular tests. The strain was then tested for its ability to control *Thaumetopoea pityocampa* larvae using dose-mortality tests, and for its ability to control certain phytopathogenic fungi using direct confrontation tests. Dose-mortality tests at three concentrations of *A. muscarius* revealed a mortality of 88.23% after 10 days for the concentration of 2.3×10^6 conidia ml⁻¹. Our isolate also showed antifungal activity against phytopathogenic fungi, with inhibition rates ranging from 39.61% to 52.94%. The *A. muscarius* strain has a dual biocontrol potential against plant pests and diseases.

Key words: Wheat, Mycoflora, biodiversity, phytopathogenicity, *Akanthomyces*, biological control, resistance, triazol.

Résumé

Ce travail a concerné l'isolement et la caractérisation de la mycoflore associée au blé. Dans la première partie, une étude sur la biodiversité des champignons isolés à partir des grains et des plantes de blé est effectuée. Un total de 26 échantillons de grains de blé dur et tendre de différentes variétés sont prélevés durant la campagne agricole 2018-2019 à partir de trois wilayas Bouira, Setif et Bordj Bou Arreridj. Après l'isolement et la caractérisation de ces champignons, les taux de colonisation des grains par les champignons ont été de 93,17% pour les grains de blé dur, 88,88% pour les grains de blé tendre et 100% pour les plants de blé. Cette étude a permis l'identification des 33 genres fongiques. Ceci montre la biodiversité de la mycoflore associée au blé avec une dominance du genre *Alternaria* dans les grains de blé et le genre *Fusarium* sur les plants .

Dans la deuxième partie, notre étude s'est orientée vers la mycoflore nuisible de blé. Les souches utilisées sont des espèces du genre *Fusarium* (*F.graminearum*, *F.culmorum* et *F.lateritium*) qui ont été isolées sur un milieu DCPA supplémenté du fongicides, Ces souches ont été testés afin d'évaluer leurs sensibilité-résistance vis-à-vis des fongicides de type triazole d'une part et d'autre part pour évaluer leur pathogénicité sur le blé. Les souches de *F.graminearum*, *F.culmorum* ont montré une certaine résistance vis-à-vis de difenoconazole et le triadimenol et ont montré également une grande agressivité vis-à-vis du blé.

Dans la troisième partie, on s'est intéressé à la mycoflore bénéfique. Une souche d'*Akanthomyces muscarius* a été isolée à partir de grains de blé et identifiée par des tests morphologiques et moléculaires. La souche a ensuite été étudiée d'une part pour sa capacité à contrôler les larves de *Thaumetopoea pityocampa* par des tests de dose-mortalité, et d'autre part pour sa capacité à contrôler certains champignons phytopathogènes à travers des tests de confrontation directe. Les tests de dose-mortalité à trois concentrations d'*A. muscarius* ont révélé une mortalité de 88,23% après 10 jours pour la concentration de $2,3 \times 10^6$ conidies ml⁻¹. Notre isolat a également montré une activité antifongique contre les champignons phytopathogènes avec des taux d'inhibition allant de 39,61% à 52,94%. La souche d'*A.muscarius* a un double potentiel de biocontrôle contre les ravageurs et les maladies des plantes.

Mots clé: Blé, Mycoflore, biodiversité, phytopathogénicité, *Akanthomyces*, lutte biologique, résistance, Triazoles

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
AF	Aflatoxines (B1, B2, G1, G2, M1, M2)
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
ANOVA	Analyse de la Variance
ARN	Acide Ribonucléique
Aw	Activity of water = Activité en eau
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
CCLS	Coopérative des Céréales et des Légumes Secs
CNCC	Centre National de Contrôle et Certification des Semences et des Plants
DCPA	Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar
DMI	Inhibiteurs de la Déméthylation
DON	Déoxynivalénol
DRBC	Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol
DSASI	Direction de Statistiques Agricoles et des Systèmes d'Information
EC	Concentré émulsionnable
EF-1α	Elongation Factor Alpha Subunit
EW	Emulsion aqueuse
FAO	Organisation des Nations Unis pour l'alimentation et l'agriculture
FHB	<i>Fusarium</i> Head Blight = Fusariose de l'épi
FUS-X	4-acetylnivalenol ou fusarenone-X
G4	Quatrième génération
GPDH	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase
HD 1220	Variété el Hidhab
ITS	Internal Transcribed Spacer regions
LC50	Concentration Médiane Létale
LT 50	Temps Létal Médian
MA	Malt Agar
MBB	Variété Mouhamed Ben Bachir
ML	Maximum likelihood= maximum de vraisemblance
NA	Nutrient Agar
NIV	Nivalénol
OTA	Ochratoxine A

PCR	Polymerase Chain Reaction
PDA	Potato Dextrose Agar
PDB	Bouillon Potato Dextrose
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLPs	Restriction Fragment Length Polymorphisms
RPB1	RNA polymerase I subunit
RPB2	RNA polymerase II subunit
SAU	Surface Agricole Utilisée
SC	Suspension concentrée
SDA	Saboureaud Dextrose Agar
SNA	Synthetisher Nährstoffärmer Agar
TCT	Trichothecène
TEF-1α	Translation Elongation Factor- 1 alpha gene
ZEA	Zéaralénone

Liste des Figures

Figure 1. Schéma simplifié de la feuille (a) et de la tige (b) du blé.	5
Figure 2. Structure de l'épillet du blé : (a) vue d'ensemble (b) en coupe longitudinale (c) détail d'une fleur.....	6
Figure 3. Schéma d'une coupe d'un grain de blé	7
Figure 4. Caractères morphologiques des <i>Fusarium</i>	15
Figure 5. Aspect macroscopique et aspect des macroconides de <i>F. graminearum</i>	16
Figure 6. Cycle de vie de <i>Fusarium graminearum</i>	17
Figure 7. <i>Fusarium verticillioides</i> Sin. <i>F. moniliforme</i> (culture de 8 jours sur milieu SDA et aspect microscopique).	18
Figure 8. Cycle biologique de <i>Fusarium verticillioides</i>	19
Figure 9. Aspect macroscopique et microscopique d' <i>Alternaria alternata</i>	21
Figure 10. A : Spore typiques d'un <i>Tellitia</i> ; B : des graines de blé cariés.	22
Figure 11. Carie de Karnal sur grain de blé ; B : Spores noires de <i>Neovossia. indica</i> (10 x 40).	23
Figure 12. A : Spores d' <i>U. tritici</i> (10 x 40), B : un épi attaqué par <i>U. tritici</i>	24
Figure 13. Morphologie d' <i>Aspergillus</i> (a) uniserée, (b) bisériée.	25
Figure 14. Aspect macro et microscopique d' <i>Aspergillus flavus</i>	26
Figure 15. Culture et morphologie microscopique d' <i>Aspergillus niger</i>	26
Figure 16. Aspect macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus fumigatus</i>	27
Figure 17. Structures morphologiques et types de ramification des conidiophores chez <i>Penicillium</i> . (a) Monoverticillate ; (b) Biverticillate ; (c) Terverticillate ; (d) Quaterverticillate.	28
Figure 18. <i>Penicillium spp.</i>	29
Figure 19. Aspect macroscopique et microscopique de <i>Cladosporium</i>	31
Figure 20. Appareil reproducteur des mucorales.	32
Figure 21. L'aspect des lésions du blé causées par les principaux champignons phytopathogènes foliaires.....	33
Figure 22. A : Urédospores de <i>P. striiformis</i> (G : 10x40); B : symptômes de la maladie	34
Figure 23. Cycle de vie de <i>Puccinia striiformis</i> sf. <i>sp. tritici</i>	35
Figure 24. A : Pycnidiospores de <i>Z. tritici</i> , cultivée dans un milieu liquide d'extrait de levure/saccharose à 18 C° ; B : Hyphes de <i>Z. tritici</i> . La barre d'échelle représente 10 lm.	36
Figure 25. Cycle de vie de <i>Zymoseptoria tritici</i>	37
Figure 26. A : Conidies de <i>P. tritici-repentis</i> (G : 10x40); B : symptômes.	38
Figure 27. Cycle biologique du <i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	38

Figure 28. Aspect macroscopique et microscopique de <i>Trichoderma sp.</i>	40
Figure 29. Aspect macroscopique et microscopique d' <i>Akanthomyces sp.</i>	41
Figure 30. Wilayas de prélèvement des grains de blé dur et tendre dans l'Algérie ; Bouira, Setif et Bordj Bou-Arréridj.	46
Figure 31. Méthode d'isolement de la mycoflore à partir des grains de blé	49
Figure 32. Isolement de la mycoflore associée aux plants de blé dur et tendre	49
Figure 33. A, B : Observation macroscopique des champignons des grains et des fragments des plants ; C : Préparation des lames par la méthode de scotch pour l'observation microscopique des champignons.....	50
Figure 34. Diversité du genre <i>Alternaria</i> : A(1,2,3,4,5,6) : <i>Alternaria alternata</i> ; B(1,2,3) : <i>Alternaria sp1</i> ;C(1,2,3,4,5) : <i>Alternaria tenuissima</i> ;D(1, 2, 3,4) : <i>Alternaria sp2</i>	58
Figure 35. Diversité du genre <i>Aspergillus</i> : A (1,2,3) : <i>Aspergillus flavus</i> ; B (1,2,3) : <i>Aspergillus niger</i> ; C (1,2,3) : <i>Aspergillus fumigatus</i> ; D (1,2,3) : <i>Aspergillus terreus</i> ; E (1,2,3) : <i>Aspergillus candidus</i> ; F (1,2,3) : <i>Aspergillus nidulans</i>	60
Figure 36. Diversité du genre <i>Penicillium</i> : A, B, C : aspect macroscopique de différentes espèces ; D, E : <i>Penicillium monoverticillé</i> ; F : <i>Penicillium biverticillé</i> ; J, H, : <i>Penicillium triverticillé</i>	61
Figure 37. Espèces du genre <i>Fusarium</i> rencontrées sur les grains de blé	63
Figure 38. Aspect macro et microscopique des espèces du genre <i>Cladosporium</i>	64
Figure 39. Pourcentage de contamination relatif des plants de blé dur et tendre	69
Figure 40. Espèces du genre <i>Fusarium</i> détectées dans les plants de blé.....	72
Figure 41. Aspect macro et microscopique de <i>Curvularia lunata</i>	73
Figure 42. A, B : conidies de <i>Drechslera</i> ; C : élongation d'un conidiophore et la formation des conidies.....	73
Figure 43. Aspect macro et microscopique d'une souche isolée de <i>Trichoderma sp</i>	74
Figure 44. Pourcentages de contamination relative des variétés de blé de la wilaya de Bouira : A : grains de blé dur ; B : grains de blé tendre	77
Figure 45. Pourcentage de contamination relative des variétés de blé de la wilaya de BBA : A : grains de blé dur ; B : grains de blé tendre ; C : plants de blé.....	78
Figure 46. Pourcentage de contamination relative des variétés de blé de Setif : A : grains de blé dur ; B : grains de blé tendre ; C : Plants de blé	79
Figure 47. Souches de <i>Fusarium</i> résistantes aux fongicides isolées de blé	91
Figure 48. Effet de la concentration en triadimenol et en difenoconazole sur la croissance radiale	

de <i>F. graminearum</i>	92
Figure 49. Effet de la concentration en triadimenol et en difenoconazole sur la croissance radiale de <i>F. culmorum 1</i>	93
Figure 50. Effet de la concentration en triadimenol et en difenocnazole sur la croissance radiale de <i>F. culmorum 2</i>	94
Figure 51. Effet de la concentration en Triadimenol et en Difenocnazole sur la croissance radiale de <i>F. lateritium</i>	95
Figure 52. Coléoptiles saines (à gauche témoin) et coléoptile nécrosé (à droite. <i>F. graminearum</i>).....	97
Figure 53. Résultats de test de pathogénicité sur les pots (A : <i>F. graminearum</i> ; B : <i>F. culmorum</i> ; C : <i>F. lateritium</i> ; D : Témoin).....	98
Figure 54. A-B : Aspect macroscopique d' <i>A. muscarius</i> sur milieu PDA, C : aspect microscopique d' <i>A. muscarius</i> (scale=15µm).....	106
Figure 55. Arbre phylogénétique du maximum de vraisemblance (ML) de la souche isolée <i>TA01</i> et des espèces de Cordycypitaceae apparentées, basé sur un ensemble de données combinées de deux séquences de loci (espaceur transcrit interne (ITS) + facteur d'elongation EF1.....	107
Figure 56. Aspect morphologique des larves de <i>T. pityocampa</i> traitées avec <i>A. muscarius</i> (10 jours après le traitement à la concentration C3).....	110
Figure 57. Inhibition de la croissance des agents phytopathogènes par <i>A. muscarius</i> par la technique de confrontation directe ; A : <i>Fusarium oxysporum</i> ; B : <i>Curvularia lunata</i>	112
Figure 58. Effet de l'antagoniste <i>A. muscarius</i> sur la croissance radiale des champignons phytopatogènes : -a- <i>F. verticilloides</i> , -b- <i>F. solani</i> , -c- <i>F. oxysporum</i> , -d- <i>F. sp</i> , -e- <i>Curvularia lunata</i>	113

Liste des tableaux

Tableau 1. Evolution du marché mondial du blé 2013-2022	9
Tableau 2. Evolution de la production du blé en Algérie (2009-2021)	11
Tableau 3. Evolution des importations du blé en Algérie (2013-2020).....	12
Tableau 4. Variétés de grains de blé de la wilaya de Bordj Bou Arréridj.....	47
Tableau 5. Variétés des grains de blé de la wilaya de Setif	47
Tableau 6. Les variétés des grains de blé de la wilaya de Bouira.....	48
Tableau 7. Taux de germination et d'infection des grains de blé dur et tendre	53
Tableau 8. L'état général de contamination des grains de blé dur et tendre	53
Tableau 9. Fréquence de détection des genres fongiques dans les grains de blé dur.....	54
Tableau 10. Fréquence de détection des genres fongiques dans les grains de blé tendre	55
Tableau 11. Pourcentage de contamination relatif dans les grains de blé dur et tendre.	56
Tableau 12. L'aspect macro et microscopique de quelques champignons isolés	65
Tableau 13. L'état général de contamination des plants de blé dur et tendre	68
Tableau 14. Pourcentage de détection des champignons sur les plants de blé dur	68
Tableau 15. Pourcentage de détection des champignons sur les plants de blé tendre	69
Tableau 16. État général de contamination des échantillons des grains de blé dans les trois wilayas.....	75
Tableau 17. Pourcentage de détection des genres les plus abondants dans les échantillons de grains de blé dur et tendre par dans les trois wilayas.	76
Tableau 18. Les formulations des fongicides utilisés	86
Tableau 19. Pourcentage de développement des colonies fongiques pour les différents milieux.....	90
Tableau 20. Résultats de test de pathogénicité des souches de <i>Fusarium</i> chez le blé dur.....	96
Tableau 21. Résultats de test de pathogénicité des souches de <i>Fusarium</i> chez le blé dur (essai sur pots).....	97
Tableau 22. Concentration des conidies et diamètre des colonies d' <i>A.muscarius</i> cultivées dans six milieux de culture après 10 jours d'incubation.	108
Tableau 23. Mortalité corrigée de <i>T.pityocampa</i> avec les différentes concentrations sporales d' <i>A.muscarius</i>	109
Tableau 24. Les valeurs de CL ₅₀ et CL ₉₀ d' <i>A.muscarius</i> contre les larves de 1 ^{er} et 2 ^{ème} stade larvaire de <i>T.pityocampa</i>	111
Tableau 25. Les valeurs de LT ₅₀ et LT ₉₀ d' <i>A.muscarius</i> contre les larves de 1 ^{er} et 2 ^{ème} stade larvaire <i>T. pityocampa</i>	112

Introduction

Introduction

Le blé (*Triticum spp. L.*) et ses produits dérivés sont les principaux aliments de la plupart des communautés dans le monde, ils représentent une source importante d'énergie, de fibres, de protéines et de lipides. Le monde produit actuellement environ 770 millions de tonnes de blé par an. L'une des principales raisons de cette ascension est la capacité du blé à être utilisé comme ingrédient principal dans une pléthore de produits alimentaires (Kiszonas et Morris, 2018) et aussi son aptitude et sa supériorité dans la fabrication du pain a été bien connue et documentée (Tayyar, 2010).

La culture du blé est exposée aux risques d'attaques par une large game de bioagresseurs particulièrement les insectes et les micro-organismes qui sont le plus souvent des champignons. La contamination fongique du blé est peut-être nuisible, si elle est due à des champignons phytopathogènes et toxigènes, qui provoquent des maladies et entraînent des pertes massives en termes de rendement et de qualité des grains, ainsi que l'apparition potentielle de métabolites fongiques toxiques qui peuvent rester actifs tout au long de la chaîne de production, jusqu'aux produits finis. Ces métabolites toxiques, appelés mycotoxines, constituent un danger critique en raison de leur impact préjudiciable sur la santé humaine et animale (Avelar, 2021).

D'autre part, la contamination fongique du blé est peut-être bénéfique, si elle est due à des champignons, désignés sous le nom d'endophytes, et qui ont été identifiés comme une source potentiellement inexplorée de nouvelles ressources biologiques dans les domaines pharmaceutique, industriel et agricole (Zheng et al., 2016). Ces endosymbiotes résident au sein de tissus végétaux sains à divers stades de leur cycle de vie sans causer des maladies visibles (Yu et al., 2014). On les retrouve dans toutes les espèces végétales étudiées, colonisant les parties internes des racines, des tiges, des feuilles, des fleurs, des fruits et des graines (Tanapichatsakul et al., 2018). Ils établissent une relation mutualiste avec leurs hôtes en recevant un abri et des nutriments, tout en offrant une protection contre les herbivores, les insectes et les microorganismes phytopathogènes (Ibrahim et al., 2018). En vertu de cette symbiose, les endophytes produisent une diversité considérable de métabolites secondaires bioactifs capables d'influencer la physiologie, la défense et la tolérance de la plante hôte face aux stress d'origine biotique et abiotique, ainsi que d'améliorer la croissance de

leur hôte (Malhadas et al., 2017).

La lutte chimique par l'utilisation de fongicides est la méthode la plus courante de gestion des maladies fongiques de blé. Cependant, cette stratégie n'est pas toujours efficace. L'utilisation répétée et ciblée de fongicides qui agissent de la même manière (par exemple, en inhibant la biosynthèse des stérols) peut exercer une pression sélective sur les populations des champignons pathogènes, ce qui peut conduire à une instabilité et à des épidémies (Nicholson et al., 2003; Savary et al., 2019). La résistance des champignons phytopathogènes aux fongicides est un phénomène naturel inévitable, résultant des lois de l'évolution qui s'appliquent aux organismes vivants soumis à des pressions de sélection (Corio-Costet et al., 2012). En plus du phénomène de la résistance, les pesticides possèdent des effets négatifs (directs ou indirects) sur la santé humaine et animale (Arcury et al., 2007 ; Michalakis et al., 2014) et également constituent une source de la pollution de l'environnement.

Face à cette problématique, il est nécessaire de chercher d'autres alternatives comme la lutte biologique basée sur l'association de facteurs visant à réduire les effets indésirables des organismes nuisibles et à favoriser la croissance des organismes bénéfiques (Avelar, 2021), elle se réfère à la fois aux macros et microorganismes eux-mêmes et aux substances naturelles obtenues à partir de ces derniers (Syed Ab Rahman et al., 2018). L'utilisation de champignons et de bactéries contre les pathogènes des plantes offre une alternative plus écologique aux pesticides chimiques, car ils sont naturellement associés aux plantes, ce qui implique un impact mineur sur l'environnement, et sur l'équilibre microbien indigène (Knudsen et Dandurand, 2014). En outre, ils sont capables d'inhiber le développement fongique et, dans certains cas, améliorer la défense et la résistance des plantes contre les maladies fongiques (Pal et McSpadden Gardener, 2006).

La plante du blé abrite une diversité importante de champignons, certains agissant comme agents pathogènes préjudiciables, tandis que d'autres jouent un rôle bénéfique crucial. Parmi les champignons nuisibles, les espèces du genre *Fusarium* se distinguent tant qu'agents de la fusariose du blé (FHB), une maladie débilante. À l'inverse, les champignons bénéfiques adoptent un mode de vie endophytique au sein de la plante, n'occasionnant ni altération ni dommage. Au contraire, ils offrent une panoplie d'avantages, agissant comme des alliés dans la défense et la résistance de la plante. Leur utilisation peut même s'étendre à des stratégies de lutte biologique,

constituant ainsi une force naturelle contre les espèces nuisibles du blé et contre les ravageurs de plusieurs autres cultures comme la processionnaire de pin [*Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera: Thaumetopoeidae)].

La processionnaire de pin est l'un des facteurs biologiques les plus importants qui menacent la durabilité des forêts de pins dans la région méditerranéenne (Battisti et al., 2015). La coupe des feuilles et l'alimentation par la chenille processionnaire du pin causent 60 % de pertes aux pins (Kanat et al., 2005). En outre, les substances sécrétées par les poils larvaires de la chenille du pin augmentent son importance en tant que parasite, car elles provoquent des réactions allergiques chez l'homme et l'animal (Vega et al., 2003).

Dans ce contexte, notre travail a pour objectifs :

- L'étude de la biodiversité de la mycoflore associée au blé dur et tendre (plants et grains) dans trois wilayas d'Algérie suite à l'identification morphologique de différentes espèces isolées par des clés d'identification morphologique.
- La caractérisation des souches nuisibles isolées à partir des plants de blé par des tests de résistance/sensibilité vis-à-vis de quelques fongicides .
- La caractérisation des souches bénéfiques isolées à partir de blé et l'étude de leur virulence sur des espèces de bioagresseurs.

Données bibliographiques

1. Données bibliographiques sur le blé

1.1. Description agro morphologie de la plante

Le plant du blé est un système vivant qui peut être divisé en deux parties : la partie souterraine c'est le système racinaire qui assure la communication sol/plante, et une partie aérienne qui permet les échanges plante-atmosphère (processus de photosynthèse et de transpiration) (Hadria, 2006). Les plantes adultes ont une branche principale et une ou deux talles. Chaque tige se termine par des épis blancs, parfois roux, de 12 à 15 épillets contenant chacun 2 ou 3 fleurs fertiles qui s'autofécondent pour former un grain (Zahid, 2010).

1.1.1. Système racinaire

Le blé possède un système racinaire largement développé face à celui du maïs ou des graminées prairiales. (Toumi, 2018). Toutes les céréales disposent, au cours de son évolution, de deux systèmes racinaires successifs (Belaid, 1996).

a) - Le système racinaire primaire

Fonctionnel dès la germination, ce système est constitué d'une racine principale ne restant pas longtemps fonctionnelle et il est remplacé par un système de racines adventices (prenant naissance sur la tige) qui assureront la nutrition de la plante.

b) - Le système racinaire secondaire

Ce système apparaît au moment où la plante émet des talles et se substitue progressivement au précédent ; il est de type fasciculé et assez développé.

1.1.2. Système aérien

La partie aérienne est composée de plusieurs organes

a) -Tige

La tige de la plante du blé est érigée, pleine et cylindrique, elle a une structure métamérique constituée d'une unité de construction appelée phytomère. Elle comprend un nœud au niveau duquel se trouve le méristème, un bourgeon lié au nœud et un entrenœud assurant l'essentiel de la croissance en hauteur. (Fig. 1.b) (Toumi, 2018).

b) - Feuilles

Les feuilles sont en forme de gaine avec des nervures parallèles (Soltner, 1990). Elles sont attachées aux tiges à travers des nœuds, Une feuille est composée de deux parties : le limbe et la gaine (Fig.1.a). Le col est attaché à la feuille et la gaine entourant la tige pour y fixer la feuille (Toumi, 2018). La partie supérieure des feuilles est riche en chlorophylle, qui assure la photosynthèse ; utilisée pour la synthèse de substances organiques (glucides). Le développement de la taille des feuilles dépend de sa position sur la tige, les feuilles étendard ou étendard étant généralement les plus grandes, autour de 30 cm² (Toumi, 2018).

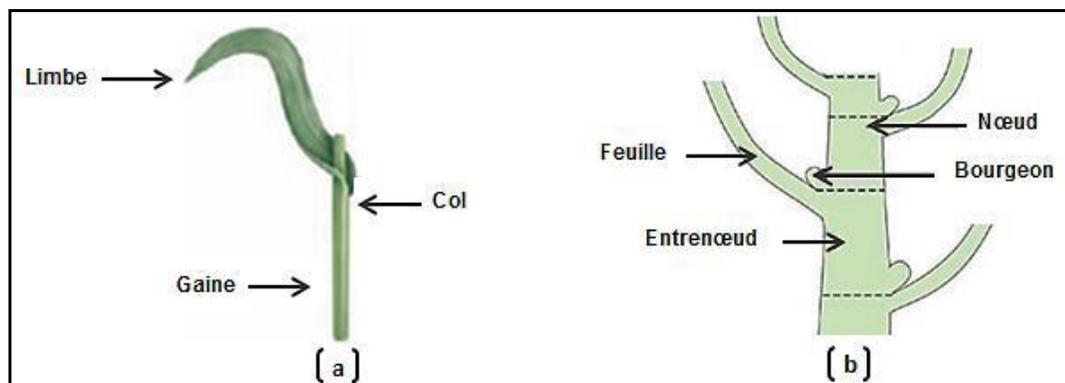


Figure 1. Schéma simplifié de la feuille (a) et de la tige (b) du blé (Toumi, 2018).

c) -Epi

Les épis des graminées en général, et du blé en particulier, sont constitués de nombreuses inflorescences basiques appelées épillets. Ce dernier est constitué d'un rachis très court avec un nombre variable de fleurs. Deux bractées latérales stériles, glumes, de taille inégale, insérées à la base de cet axe, à des niveaux légèrement différents. Au niveau du pédicelle, les fleurs sont recouvertes de bractées appelées lemmes. En face se trouve la paléole supérieure ou paléa. Les fleurs ont un pistil, généralement trois étamines, entouré de deux à trois glumes ou sacs (Fig. 2).

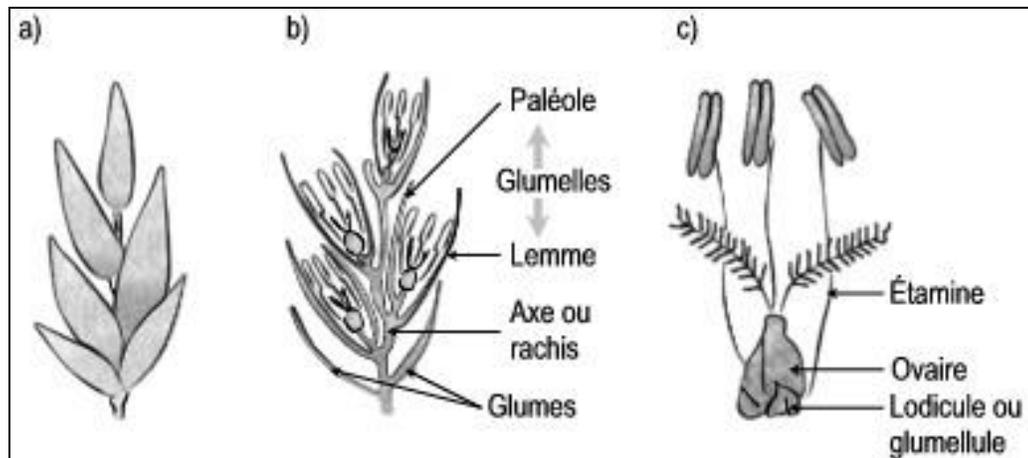


Figure 2. Structure de l'épillet du blé : (a) vue d'ensemble (b) en coupe longitudinale (c) détail d'une fleur (<https://floranet.pagesperso-orange.fr/gene/botagen/gen5.htm>)

1.1.3. Grain du blé

1.1.3.1. Structure et composition des grains

Le grain du blé est un fruit nommé caryopse. Il a une forme ovoïde, possède sur l'une de leur face une cavité longitudinale (le sillon) et à l'extrémité opposée de l'embryon des touffes de poils (la brosse) (Nedjah, 2015).

Un grain du blé est défini comme une matière première riche en calories qui est transportable et conservable (Toumi, 2018). Le grain se compose de 3 parties principales (Fig.3).

a) - Le péricarpe ou enveloppe : composées de six tissus différents (épiderme du nucelle, tégument séminal ou testa (enveloppe de la graine), cellules tubulaires, cellules croisées, mésocarpe et épicarpe) (Armand et Germain, 1992). Son rôle est la protection de grain pendant sa formation et au cours des a conservation (Berhaut et al., 2003). Ils représentent 13 à 17 % du poids du grain de blé (Amendola et Rees, 2003).

b) - L'albumen ou l'endosperme : Il est appelé aussi tissu nourricier car il comprend les réserves de grain pour assurer le développement de l'embryon, il est composé d'amidon (Gwimer et al., 1996). Il représente 80% du poids du grain (Fredot, 2012).

c) - Le germe ou embryon : Il donne la naissance à une nouvelle plante. Il se compose de la coléoptile, de la gemmule, de la radicule, du coléorhize, de la coiffe et du scutellum (Armand et Germain, 1992). Il est principalement riche en huile et en albumine (Gwimer et al., 1996).

Il représente 3% du poids du grain et il est riche en vitamines et en minéraux (Fredot, 2012).

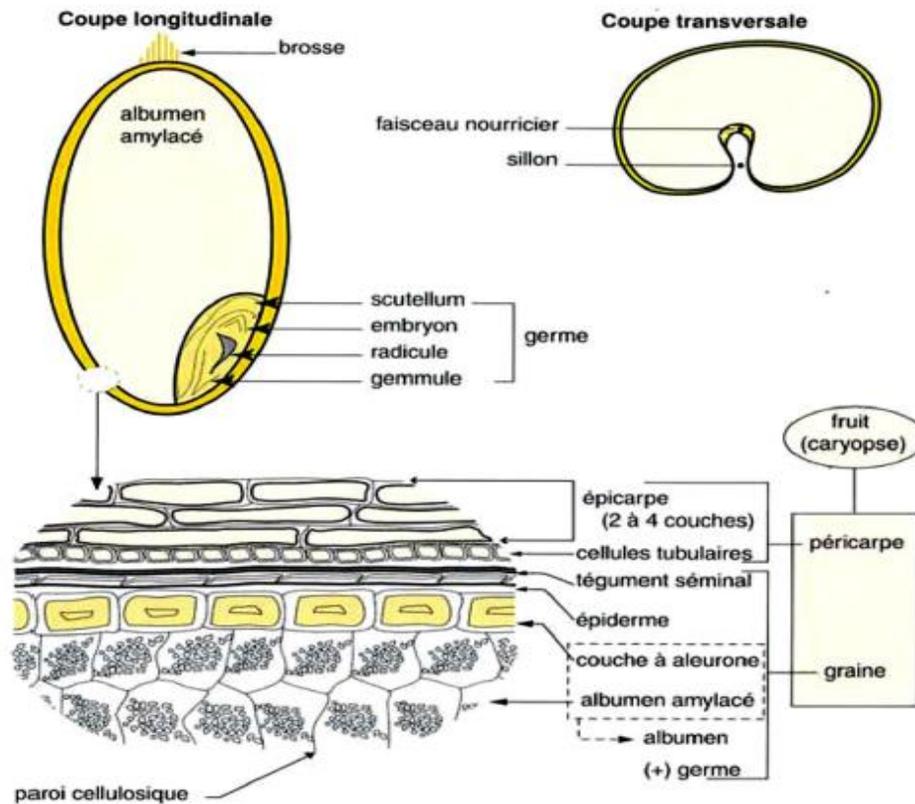


Figure 3. Schéma d'une coupe d'un grain de blé (D'après Feillet, 2000)

1.1.3.2. Composition chimique des grains

Le grain de blé est composé de matières minérales et de matières organiques (Nadiaye, 1999), on retrouve :

- a) - **Les glucides** : Ils sont constitués principalement d'amidon environ 70%, qui est un glucide complexe (Feillet, 2000), et d'autres glucides simples comme le glucose, le fructose, le saccharose et le raffinose (Fredot, 2009).
- b) - **Les protéines** : le grain possède entre 10 et 15% de protéines selon la variété, elles sont divisées en deux types, protéines de structure et de fonction (Battais et al., 2007).
- c) - **Les lipides** : Les grains du blé sont pauvres en lipides : Ils en contiennent uniquement 2 %, essentiellement trouvés dans le germe et l'assise protéique (Fredot, 2009).

d) - L'eau : Le grain du blé est constitué de 13.5% d'eau, cette faible teneur en eau permet leur stockage a une longue période et d'éviter le développement des micro-organismes en particulier les moisissures (Feillet, 2000).

e) - Les minéraux : Ils sont présents dans les grains en faible quantité. Les principaux minéraux sont le phosphore, le potassium, le manganèse et le cuivre, ils sont essentiellement associés ou présents sous forme de sels tels que les phosphates, chlorures ou sulfates (Berhaut et al., 2003).

f) - Les vitamines : Ce sont des éléments cliniques complexes, ils ont un rôle important dans la nutrition. Dans le grain, elles sont localisées au niveau du germe et des enveloppes (Nadiaye, 1999).

1.2. Importance économique de la culture du blé

1.2.1. Production du blé dans le monde

Historiquement, le blé est l'une des trois céréales les plus cultivées au monde, les deux autres étant le maïs et le riz (Shewry et al., 2009), Le blé (*Triticum spp. L.*) est devenu un leader mondial du soutien direct aux humains en termes de calories et de nutrition (Kiszonas et Morris, 2018). C'est la variété de céréales la plus consommée en Europe. La farine du blé est un ingrédient majeur dans de nombreux produits de base tels que les céréales pour petit-déjeuner, les crêpes, les pâtes, les nouilles, le pain et d'autres produits de boulangerie (Goesaert et al., 2005). La production mondiale du blé en 2022 a atteint un record de 787,2 millions de tonnes (FAO, 2022). Ce record peut s'expliquer par la récolte meilleure dans l'Union européenne principalement en raison des rendements plus élevés du blé tendre, la récolte élevée dans la Fédération de Russie en raison de conditions météorologiques favorables, et la bonne humidité du sol au moment de la plantation et de précipitations favorables en 'Australie.

Les stocks mondiaux du blé ont atteint des niveaux significatifs en 2017, estimés à 266 millions de tonnes, et ont continué à augmenter pour atteindre en 2022 un chiffre de 303 millions de tonnes, Les prévisions pour le commerce mondial du blé sont presque les mêmes que le mois dernier, avec 2022-2023 (juillet-juin) qui devrait baisser de 1,9 % par rapport au niveau record de 192 millions de tonnes établi en 2021-2022. La baisse des exportations de blé de l'Argentine, de l'Inde et surtout de l'Ukraine devrait chuter par rapport au niveau de la saison précédente. Depuis

l'invasion de l'Ukraine par la Russie en Février 2022, Les flottes russes ont bloqué les ports de la mer Noire ne permet plus la livraison des produits agricoles dans des quantités similaires à ceux de la période d'avant-guerre. En conséquence, les exportations de blé ont fortement diminué en 2022 (-42,8%) (Savchuk, 2023). En raison de la guerre, la campagne de semis de 2022 a été entravée et devenue complexe. En conséquence, il y a eu une réduction significative de 25 % de la superficie ensemencée (Source Ministry of agricultural policy and food of Ukraine). Cette réduction aura inévitablement un effet néfaste sur l'exportation des produits cultivés (Savchuk, 2023). Ce qui compenser a probablement la hausse des expéditions prévues vers le Canada, l'Union européenne, l'Europe et la Fédération de Russie, où les approvisionnements devraient augmenter (FAO, 2022).

Tableau 1. Evolution du marché mondial du blé 2013-2022

Compagne agricole	Production (Mt)	Disponibilité (Mt)	Utilisation (Mt)	Commerce (Mt)	Stock finale (Mt)	Stocks/ Utilisation (%)
2013/14	715,3	900,5	692,2	159,1	199,7	28,2
2014/15	735,6	935,3	708,4	156,2	228,5	31,8
2015/16	737,3	965,7	716,9	167,3	242,9	33,0
2016/17	763,4	1006,4	736,7	177,0	266,2	36,0
2017/18	761,6	10027,8	738,5	177,7	289,5	38,6
2018/19	731,4	1 021,0	749,7	168,8	274,1	36,7
2019/20	759,7	1 033,8	746,7	184,0	283,8	37,3
2020/21	774,9	1 058,8	761,9	189,2	291,2	37,6
2021/22	779,3	1 070,5	774,6	195,6	293,4	37,9
2022/23	787,2	1 080,6	774,2	191,8	302,7	38,4

Source : (FAO, 2022)

1.2.2. Production du blé dans l'Algérie

Le blé et ses dérivés sont l'aliment de base des populations du sud de la Méditerranée, leur conférant un rôle stratégique dans la politique nationale (Bekkis et al., 2022). Dans tout le Maghreb, le principal régime céréalier reste le blé dur, un produit traditionnel ancré dans la tradition (contenant de la semoule) mais de plus en plus concurrencé par le blé tendre (pain) (Bekkis et al., 2022). Cela n'est pas sans poser problème, le blé dur étant mieux adapté aux milieux agro climatiques méditerranéens que le blé tendre (Abecassis et Bergez, 2009 ; Rastoin et Benabderrazik, 2014 ; Abis, 2015 ; Charmet et al., 2017).

Le secteur des céréales, en particulier la filière du blé, est une filière stratégique qui représente un poids considérable dans l'économie algérienne. C'est l'un des maillons les plus importants du système alimentaire du pays. Il représentait la première industrie agro-alimentaire en Algérie. Cependant, compter sur les pays étrangers pour répondre à la demande intérieure de céréales, principalement du blé, met en péril la sécurité alimentaire et la souveraineté nationale. Les moyennes décennales des surfaces cérésières de l'époque coloniale à nos jours indiquent entre 2,4 et 3,2 millions d'hectares par an, soit 28 à 40 % de la SAU (surface agricole utile). La plus grande superficie plantée est le blé dur, qui s'élevait en moyenne à 1,39 million d'hectares au cours de la période 1965/2019 (DSASI, 2020).

Le blé tendre occupe la troisième place après l'orge. Sa superficie moyenne est restée stable et faible sur la même période 1965-2019. En fait, la superficie moyenne ensemencée en blé tendre de 1965 à 2019 était d'environ 624 700 hectares. Elle représentait 33% de la superficie moyenne en blé durant la période 1965/2019 et 23,51% de la superficie moyenne en céréales durant la même période (1965-2019) (DSASI, 2020).

La production, malgré les fluctuations, n'a pas cessé de croître, démontrant ainsi la capacité productive potentielle et les réserves existantes pour réduire la dépendance du pays vis-à-vis du monde extérieur. En conséquence, selon DSASI (2020), le rendement moyen du blé sur dix ans 2009-2019 s'est amélioré pour atteindre une moyenne de 3,04 millions de tonnes sur 17 000 hectares de terres, où un rendement moyen du blé de 1,73 tonne/ha a été enregistré. Pour la période 1998-2008, le rendement moyen enregistré en blé a été estimé à 2,02 millions de tonnes couvrant une superficie de 1,6 million d'hectares, avec un rendement moyen décennal en blé enregistré de 1,21

tonne/ha.

Tableau 2. Evolution de la production du blé en Algérie (2009-2021)

Compagne agricole	Superficie récoltée (ha)	Production (tonnes)	Rendement (hg/ha)
2009/10	1848575	2953117	15975
2010/11	1755728	2605178	14838
2011/12	1672431	2910890	17405
2012/13	1945776	3432231	17639
2013/14	1727242	3299049	19100
2014/15	1651131	2436197	14753
2015/16	1814722	2656731	14640
2016/17	1442846	2440097	11833
2017/18	2118469	2436503	11501
2018/19	1948402	3981219	20433
2019/20	1974987	3876876	19630
2020/21	1848083	3106754	16811

Source : (FAO, 2020)

La demande nationale croissante de céréales, notamment du blé, est due à la croissance démographique, de 12,09 millions d'habitants en 1966 à 43,42 millions en 2019 (ONS, 2019). Cette croissance démographique s'accompagne d'une très forte urbanisation. Selon le produit, les céréales occupent la première place dans le budget alimentaire des ménages algériens (17,5% des dépenses alimentaires totales) (Bekkis et al., 2022).

Tableau 3. Evolution des importations du blé en Algérie (2013-2020)

Campagne agricole	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17	2017/18	2018/19	2019/20	2020/21
Importation (Tonne)	6304734	7417000	8504848	8225654	8079164	8422057	6775912	7053568
Valeur importation (1000USD)	2120883	2372542	2400320	1790473	1788702	2071961	1636591	1828931

Source : (FAO, 2022)

L'Algérie demeure toujours un présent importateur du blé tendre dans le monde. Durant les campagnes 2013/14 à 2018/19, on remarque une augmentation des importations de blé mais dans les deux dernières années il y a une petite réduction des valeurs d'importations. Cette situation d'insuffisance est inquiétante demandant de consacrer d'énormes efforts humains tant que techniques pour promouvoir la politique de l'autosuffisance en matière de production nationale et alléger la facture des importations (Mouhamed, 2019).

2. Flore fongique des céréales

Plus de 150 espèces de moisissures filamenteuses ont été découvertes sur les grains de céréales sous forme de contaminants externes. Avant, pendant et après la récolte et durant le stockage, les grains sont couramment en contact avec des spores fongiques. Plusieurs paramètres physico-chimiques ont influencé le développement des champignons, notamment la quantité d'eau libre (A_w), la température, l'aération, la nature du substrat et le pH (Jouany et Yiannikouris, 2002). Les moisissures des champs nécessitent une forte humidité pour leur croissance (20 à 25%), Alors les moisissures de stockage nécessitent 10 à 18 % d'humidité pour leur développement (Molinie et al., 2005). La flore fongique qui colonise les grains de blé a été subdivisée en trois groupes, flore de champ, de stockage et la flore intermédiaire (Magan et Lacey, 1988).

2.1. Flore de champ

Les champignons de champ envahissent les grains et se développent dans le champ ou attendent le battage. Les genres les plus rencontrés sont : *Alternaria* (le plus fréquent), *Fusarium*, *Cladosporium*, *Epicoccum* et *Helminthosporium* (moins fréquents), *Chaetomium*, *Curvularia*, *Rhizopus*, *Trichoderma* et *Stemphylium*. Beaucoup de ces champignons sont fortement cellulolytiques, qui provoquent certaines maladies telles que la fusariose du au *Fusarium* (Akinsanmi et al., 2002).

Cette flore est bien adaptée à des changements rapides des conditions climatiques au champ. Pour obtenir une croissance optimale, elle exige des activités en eau relativement élevées. Selon les conditions, ces champignons peuvent mourir lentement au cours du stockage ou peuvent survivre pendant de longues périodes. La survie est plus longue à faibles niveaux d'humidité et à basse température (Roberts, 2005).

2.2. Flore intermédiaire

Elle correspond à une catégorie à comportement plus diversifié et comprend des germes capables d'un développement limité, mais elle peut largement prédominer en conditions particulières, comme ; *Cladosporium*, *Trichoderma* et les mucorales comme *Rhizopus*, *Absidia*, *Mucor* (Godon et Loisel, 1997).

2.3. Flore de stockage

Les facteurs environnementaux peuvent exercer une pression sélective qui influence sur la structure de la communauté et la prédominance de certaines espèces mycotoxigéniques (Magan et al., 2003). Les moisissures des grains de blé entreposés sont présentes sous forme d'un mycélium en dormance sous le péricarpe ou des spores dormantes sur la surface du grain. Cependant, certaines moisissures sont associées superficiellement aux grains stockés. Les principaux genres rencontrés sont : *Aspergillus* et *Penicillium* en raison de leur pouvoir de développement sur tous substrats possibles et dans une large gamme de température et d'humidité (Mathew et al., 2011).

2.4. Principaux genres fongiques rencontrés sur les grains de blé

2.4.1. Genres phytopathogènes et mycotoxinogènes

2.4.1.1. Le genre *Fusarium*

Le genre *Fusarium* a été introduit par Link en 1809, il porte son nom du latin *Fusus*, car ses spores sont en forme de fuseau. Parmi les champignons phytopathogènes qui produisent les mycotoxines, le genre *Fusarium* est l'un des principaux groupes qui contaminent plusieurs cultures dans diverses zones climatiques dans le monde, en plus d'affecter leur rendement (Summerell, 2019). Provoquant des maladies nommées fusarioses chez de nombreuses plantes et qui provoquent la pourriture des racines et des tiges, le flétrissement vasculaire et la pourriture des fruits (Kidd et al., 2022), De plus, beaucoup d'espèces saprophytes sont capables de se développer en tant que pathogènes secondaires sur des tissus végétaux sénescents. Les *Fusarium spp* sont adaptés à un large éventail d'habitats, ce qui leur permettent de proliférer et de produire des mycotoxines sur des grains humides stockés dans des conditions de stockage inadéquates (Samapundo et al., 2007).

Ce genre inclue des champignons imparfaits de la classe des *Deutéromycètes*. Les formes parfaites ou téléomorphes de quelques espèces de *Fusarium* sont connues, et appartiennent à la classe des *Ascomycètes* (genres *Gibberella*, *Calonectria* et *Nectria*). Le genre contient près de 40 espèces largement répandues (Nelson et al., 1983).

- **Description morphologique**

Les colonies sont généralement à croissance rapide, de couleur claire ou vive (selon l'espèce) avec ou sans mycélium aérien cotonneux. La couleur du thalle varie de blanchâtre à des nuances jaunes, roses, rouges ou violettes. Les espèces de *Fusarium* produisent généralement des macroconidies et des microconidies à partir de phialides minces. Les macroconidies sont hyalines, bicellulaires ou pluricellulaires, fusiformes ou en forme de faucille, avec le plus souvent une cellule apicale allongée et une cellule basale pédicellée. Les microconidies sont unicellulaires ou bicellulaires (Kidd et al., 2022).

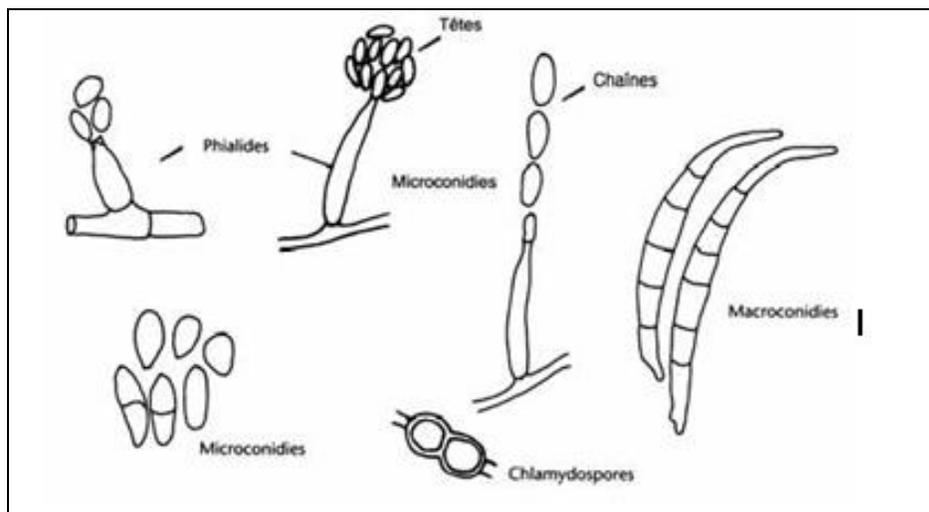


Figure 4. Caractères morphologiques des *Fusarium* (Tabuc, 2006)

- **Caractérisation moléculaire**

L'identification actuelle des espèces se fait sur la base de données de séquences multilocus (Guarro, 2013 ; O'Donnell et al., 2015 ; Van Diepeningen et al., 2015). Des bases de données validées accessibles sur Internet et dédiées à l'identification des fusarioses via des requêtes BLAST sur les nucléotides sont disponibles sur FUSARIUM-ID à la Pennsylvania State University (<http://www.fusariumdb.org>) et *Fusarium* MLST au CB S-KNAW Fungal Biodiversity Centre (<http://www.cbs.knaw.nl/Fusarium/>). Pour l'identification des espèces de *Fusarium*, les séquences EF-1 α , RPB1 et/ou RPB2 sont les plus utilisées (O'Donnell et al., 2015). L'utilisation d'au moins deux loci indépendants augmentera la précision de l'identification. *Fusarium* MLST ou FUSARIUM-ID sont les bases de données de séquences ADN les plus recommandées.

2.4.1.1.1. Principales espèces de *Fusarium* rencontrée sur le blé

- *Fusarium graminearum* (forme parfaite : *Gibberella zeae*)

La maladie de la brûlure de l'épi principalement causée par ce champignon qui provoque la sénescence prématurée des épis de blé, ce qui entraîne une diminution du rendement et de la qualité du grain, compromettant la récolte et la commercialisation. Cette maladie accompagne de la présence de mycotoxines appelées trichothécènes, comme le déoxynivalénol (DON), qui représente un risque primaire pour la sécurité alimentaire (Avelar, 2021).

- **Caractéristiques morphologiques**

Le thalle est rose grisâtre ou rouge à pourpre devenant brun vineux, floconneux. Il dépourvue des microconidies. Les phialides peuvent s'agréger en sporodochies. Les macroconidies sont fusiformes, courbes et septées, à cellule terminale longue et pointue (Fig.5). Les chlamydospores sont intercalaires, globuleuses, hyalines à brun pâle. Les périthèces se forment dans la nature sur un grand nombre de graminées. Les asques sont clavés. Les ascospores sont très claires hyalines ou brunes, (Botton et al., 1985).

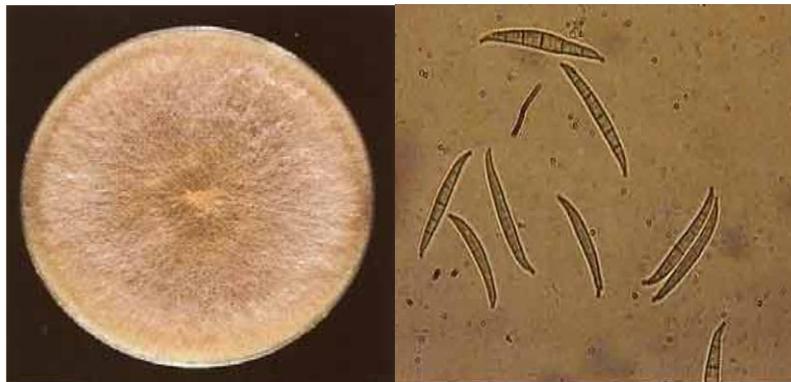


Figure 5. Aspect macroscopique et aspect des macroconidies de *F. graminearum*

(Zillinsky, 1983 ; Tabuc et al., 2007)

- **Cycle biologique**

F. graminearum peut rester en tant que saprophyte sur les résidus de culture. Il produit alors des ascospores qui se dispersent dans l'air et constituent la principale source d'inoculum pendant la floraison (anthèse). Les macroconidies, produites pendant la phase asexuée, peuvent être projetées par l'eau sur les épis des plantes adjacentes (Haile et al., 2019).

L'ensemble du processus de colonisation et de blanchiment des épis de blé prend environ 14 jours (Figuerola et al., 2018). Si le temps est humide, *F. graminearum* peut infecter toute la tête et produire un mycélium rosâtre. Cette croûte rosée à la surface du grain est la raison pour laquelle cette maladie a été nommée "gale" (CAST, 2003). Le blé fusarié se caractérise généralement par des grains minces. Les grains infectés sont mal remplis et ont donc un faible poids. L'infection par *F. graminearum* commence comme un biotrophe par l'entrée directe dans les fleurons ouverts par deux voies, la première est l'atterrissage des spores sur les soies émergées qui infectent ensuite l'épi par le canal des soies, et la seconde est la voie des blessures causées par des oiseaux, des insectes ou des conditions climatiques extrêmes. Au fur et à mesure que l'infection progresse dans le xylème et la moelle, aucun symptôme de la maladie n'est observé (Figuerola et al., 2018). Cependant, au cours de cette étape, divers gènes responsables de la production de trichothécènes, sont activés, ce qui s'est avéré favoriser l'infection des plantes. En effet, le DON est la seule mycotoxine qui s'est avérée être un facteur de virulence pour le blé (Trail, 2009). Les symptômes commencent à apparaître lorsque les hyphes fongiques pénètrent dans les cellules du blé et commencent à provoquer la mort des tissus végétaux, ce qui conduit à la phase nécrotrophe de l'infection. Les symptômes à ce stade comprennent l'imbibition d'eau, principalement du chlorenchyme, suivie du blanchiment des tissus colonisés (Trail, 2009).

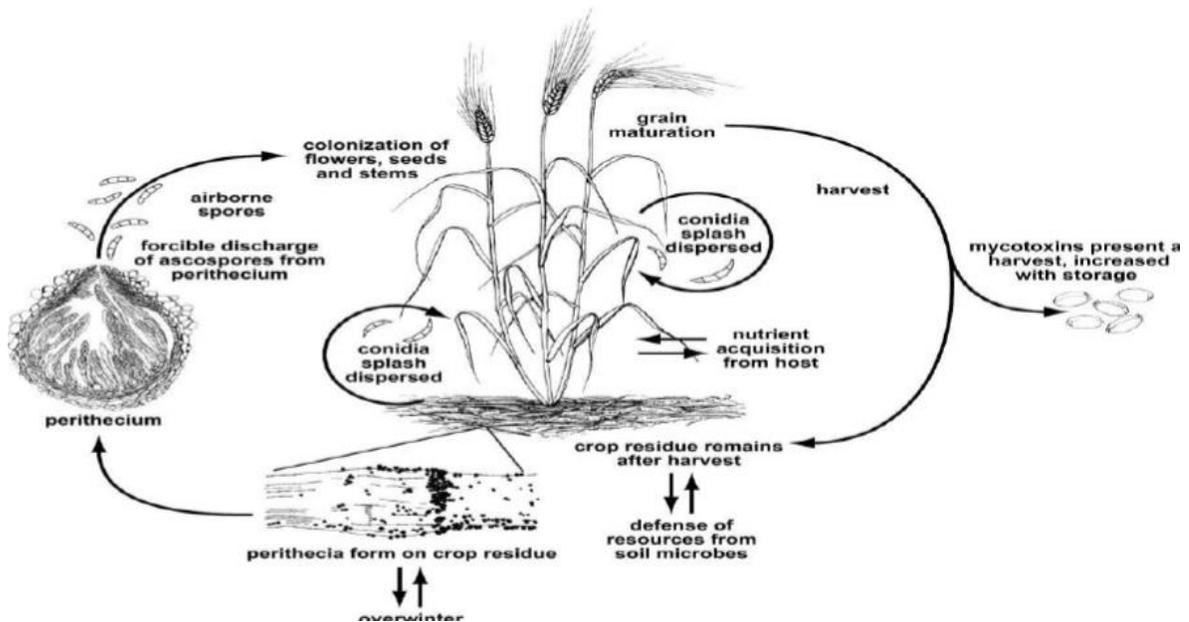


Figure 6. Cycle de vie de *Fusarium graminearum* (Trail, 2009).

- *Fusarium verticillioides* (*F. moniliforme*) (forme parfaite : *Gibberella fujikuroi*)

Le *Fusarium verticillioides* est principalement un pathogène du Maïs, mais son émergence en tant que contaminant du blé a été évaluée, ainsi que la présence de fumonisines (Deepa et Sreenivasa, 2017). En effet, des résultats récemment publiés ont révélé la présence de *F. verticillioides* sur le blé d'hiver en Finlande (Gagkaeva et Yli-Mattila, 2020).

- **Caractéristiques morphologiques**

Les colonies ont un aspect cotonneux, duveteux et parfois poudreux, blanches au début, puis rose à violettes. Le verso est pourpre foncé. Les conidiophores sont simples ou verticillés, courts, les phialides sont longues et fines, les macroconidies sont rares, allongées et comprennent 3 à 5 cellules (31 à 58 um de long, 2,7 à 3,7 um de large). Les microconidies sont nombreuses, ovoïdes ou claviformes, disposées en pseudo-têtes ou constituant de longues chaînes au sommet des phialides (Chabasse et al., 2002).

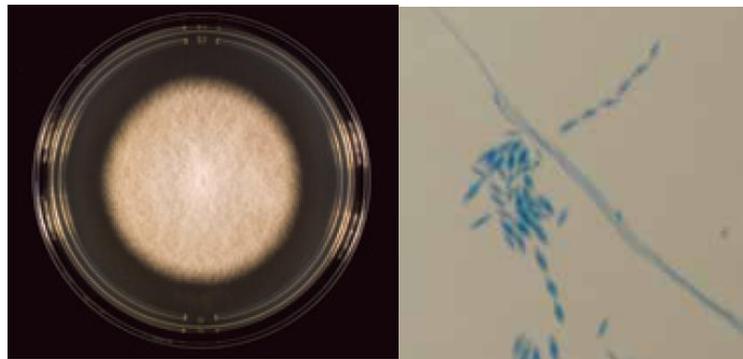


Figure 7. *Fusarium verticillioides* Sin. *F. moniliforme* (culture de 8 jours sur milieu SDA et aspect microscopique) (chabasse, 2002).

- **Cycle de vie**

Le champignon *F. verticillioides* colonise les résidus dans le sol, il peut être trouvé dans les graines de maïs et peut infecter les plantules. Cependant, la voie d'infection la plus courante est l'entrée de microconidies en suspension dans l'air par les soies ou par des blessures existantes (Cast, 2003). Les graines qui germent dans des sols contaminés peuvent développer une pourriture et une brûlure des semis. La colonisation endophytique commence comme asymptomatique. Les blessures des tiges dues à des dommages mécaniques ou à des insectes deviennent des entrées de champignons et peuvent entraîner la pourriture des tiges. Au cours du stade de la soie, le

champignon peut coloniser les grains par le canal stylistique, générant le motif en étoile sur les grains. Les insectes qui se nourrissent des grains constituent un point d'entrée pour les pourritures de la tige et de l'épi dues à *F. verticillioides*. Après la récolte, le champignon pathogène est capable de survivre et de sporuler sur les résidus de culture, générant un inoculum pour les infections ultérieures (Fig.8) (Blacutt et al., 2018).

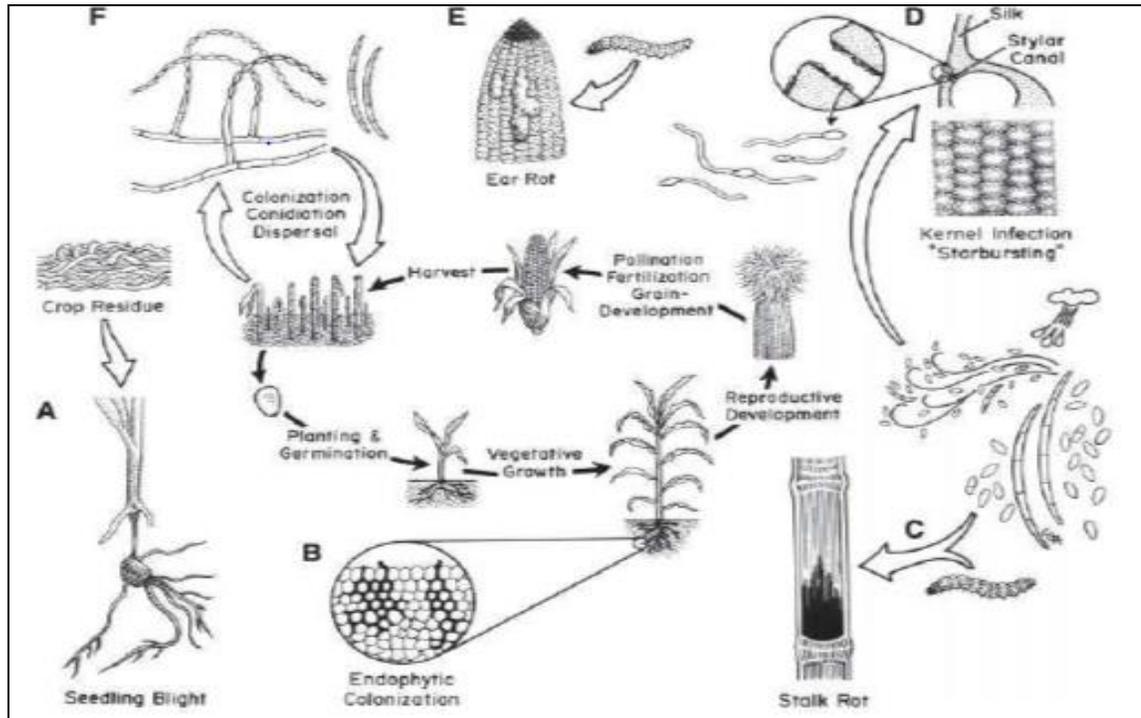


Figure 8. Cycle biologique de *Fusarium verticillioides* (Blacutt et al., 2018).

2.4.1.2. Le genre *Alternaria*

Les *Alternaria* sont des champignons abondants dans notre environnement. Ils appartiennent aux moisissures atmosphériques. Ils peuvent être isolés à partir des divers végétaux. *Alternaria* comprend près de 275 espèces (Simmons, 2007) avec des modes de vie saprophyte et phytopathogène susceptibles d'affecter les cultures sur champ ou les produits végétaux pendant et après la récolte (Logrieco et al., 2009). Le stockage des graines contaminées peut favoriser l'accumulation de toxines surtout de l'espèce *A. alternata*. Les *Alternaria* peuvent se trouver sur des divers substrats (plantes, sols, textiles et grains) (Linnas et al., 1999). Les spores produisent des protéines allergènes qui peuvent causer des maladies immunotoxiques, comme l'asthme (D'Amato et Spieksma, 1995 ; Dutkiewicz, 1997 ; Bush et Portnoy, 2001).

- **Description morphologique**

Les champignons *Alternaria* sont des deutéromycètes avec un mycélium septé et une reproduction asexuée et ont des conidies septées avec des septa transversaux et longitudinaux, les cellules sont ovoïdes et produites de manière sympodiale à partir de conidiophores simples, parfois ramifiés, courts ou allongés et de couleur sombre noires à noires olivacées ou grisâtres et de taille variable selon les espèces (Kidd et al., 2022). Le pigment de mélanine qu'il contient sert à la protection contre les conditions environnementales défavorables (Rotem, 1994). Et sa couleur sombre de leurs conidies et de leur mycélium les classe dans la famille des dématiacées.

- **Identification moléculaire**

Des études de génotype multilocus ont montré que le complexe *Alternaria* comprend actuellement neuf genres et huit sections *Alternaria* (Woudenberg et al., 2013). Le séquençage ITS est suffisant pour l'identification au niveau du genre et généralement de l'espèce et peut clairement différencier *A. alternata* et *A. infectoria* (Pastor et Guarro, 2008). Cependant, il est estimé que >14% des séquences GenBank des espèces *Alternaria* sont mal classées, de sorte que les séquences inconnues doivent être comparées à celles de souches de référence bien caractérisées (Woudenberg et al., 2013).

2.4.1.2.1. Principales espèces d'*Alternaria* sur le blé

La contamination des grains de blé par des espèces d'*Alternaria* et des toxines apparentées a été signalée dans différents pays du monde (Logrieco et al., 2009). *Alternaria alternata* pathogène ubiquitaire sur plusieurs produits alimentaires, et *A. triticina*, connue pour être l'un des agents responsables de la brûlure des feuilles et des épis du blé dans différentes zones géographiques (Mercado Vergnes et al., 2006), ces deux espèces sont dominantes sur les espèces associées aux céréales, bien que d'autres espèces des sections *Alternaria* et *Infectoriae* ont été occasionnellement isolées (Rathod et Chavan, 2010 ; Vučković et al., 2012; Gargouri-Kammoun et al., 2014). Selon Somma et al, (2019), la section *Alternaria*, qui comprend les espèces *A. alternata*, *A. tenuissima* et *A. arborescens*, et la section *Infectoriae* ont été connues comme des agents responsables de la maladie des points noirs des grains de blé. De plus, en raison de la présence d'espèces toxigènes parmi celles appartenant à la section *Alternaria*, une identification correcte des espèces les plus

présentes sur le blé est non seulement utile pour définir leur identité, basée sur le nouveau système taxonomique proposé par Woudenberg et al, (2015), mais elle est également d'une importance capitale pour évaluer le risque toxicologique causé par les espèces d'*Alternaria* associées au blé. En effet, *A. alternata* produit un certain nombre de mycotoxines dans le blé, y compris l'alternariol, l'alternariol monométhyl éther et l'acide tenuazonique (Bessadat, 2013).



Figure 9. Aspect macroscopique et microscopique d'*Alternaria alternata* (Kidd et al., 2022)

2.4.2. Espèces phytopathogènes et non mycotoxynogènes

2.4.2.1. *Tilletia tritici* (*T. laevis*) agent de carie du blé

T. tritici appartient au phylum des *Basidiomycota* (champignons qui produisent des basidiospores) à la classe des *Ustilaginomycètes* (champignons passent par un stade téliosporé). Les téliosporés qu'ils sont produits par *T. tritici* ont une couleur brun pâle, avec une forme sphérique ou le plus souvent ovale, parfois anguleuses et entourées d'une paroi lisse. Le diamètre des téliosporés est de 14-24 μm (Fig.10). (Nasraoui et al., 1994).

La maladie de carie a été observée sur le blé (surtout sur le blé tendre), Au stade de la maturité, l'épi carié du blé, devient plus claires avec des épillets dispersés qui montrent souvent des extrémités brun foncé à noir. Ces grains sont remplis par une poussière noire formée des téliosporés du champignon dégageant une odeur de poisson pourri, et elles sont faciles à écraser (Nasraoui, 2008).

- **Cycle de vie**

Au moment de la germination des graines du blé, les téliosporés du champignon qui se trouvent dans le sol ou qui adhèrent à l'extérieur de ces graines, germent et produisent des basides qui libèrent des basidiosporés. Celles-ci fusionnent et produisent des conidies qui germent et

infectent la plantule du blé immédiatement après la germination (Nasraoui, 2008), Si les conditions du milieu sont favorables à la plante, les graines germent et les plantules se développent plus vite que le champignon. Mais, si les conditions du milieu sont défavorables à la plante, l'infection avec la carie devient plus importante. Quand les grains du blé commencent à se former, le champignon envahit l'intérieur et y forme ses téliospores. Ainsi, la maladie ne peut pas se transmettre d'une plante à une autre pendant la végétation. Au moment de la moisson et du battage, les grains cassés libèrent les téliospores sous forme d'une poussière noire qui infectent les grains sains et le sol ce qui permet au champignon de se transmettre aux cultures de blé de l'année suivante (Nasraoui, 2008).



Figure 10. A : Spore typiques d'un *Tellitia* ; B : des graines de blé cariées (Zillinsky, 1983).

2.4.2.2. *Neovossia indica* (*Tellitia indica*) agent de carie de Karnal

Les granules sont partiellement ou complètement transformés en masses sporales noires. La contamination des fleurs est causée par des sporidies (basidiospores) produits par des kystes de basidiogènes qui germent près de la surface du sol. Les spores sont grosses, globuleux, noirs, la surface est rugueuse, leur diamètre mesure 25-30 pm, et elles libèrent une odeur de poisson (Fig.11). A la germination, les spores forment des promycéliums qui produisent un grand nombre de spores. Les principales sources d'inoculum sont les grains cariés et le sol contaminé par des spores de la culture précédente. Les spores germent à la surface du sol, où ils produisent un grand nombre de spores qui sont propagées par le vent et les insectes. Les sporidies contaminent l'ovaire pendant la floraison. Le résultat est une transformation partielle ou complète du grain en kystes massifs (Zillinsky, 1983).

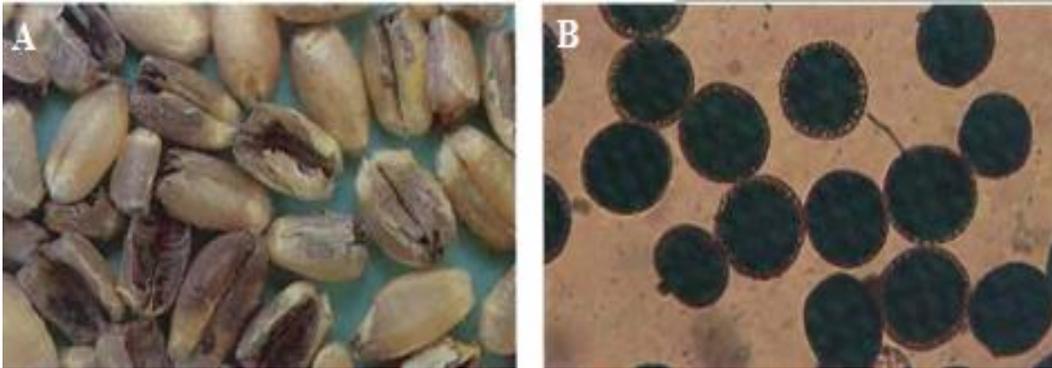


Figure 11. Carie de Karnal sur grain de blé ; B : Spores noires de *Neovossia. indica* (10 x 40)
(Zillinsky, 1983).

2.4.2.3. *Ustilago segetum* var. *tritici* agent du charbon nu de blé

L'espèce *U. segetum* appartient au phylum Basidiomycota et à la classe des Ustilaginycètes. Les téliospores sont monocellulaires, rond, plus clair d'un côté que de l'autre, avec des parois fines, rugueuses et épaisses de couleur brun clair. Leur taille est de 5 à 10 µm de diamètre (Nasraoui, 2008). La maladie envahit complètement l'épi de la céréale. Les épillets sont ensuite détruits et transformés en une substance poudreuse noire constituée des téliospores du champignon (Fig .12). Lorsque le vent souffle et emporte la masse de spores, il ne reste généralement que l'épi (Nasraoui, 2008).

- **Cycle de vie**

Au printemps, les téliospores des épis charbonnés sont emportées par le vent et déposées sur les stigmates des inflorescences saines. Chaque téliospore germe alors sans produire de basidiospores, pénètre comme un tube pollinique, infecte partiellement l'embryon et le conserve sous forme de mycélium (infection florale). Les particules formées ont conservé leur aspect normal. Dès l'automne, lorsque les graines infectées germent, le champignon reprend son activité, attaque les plantules, atteint le point végétatif et envahit le début de l'épi qui est alors charbonné. Au cours du même printemps, des épis moisissés infectent des inflorescences saines. Une humidité élevée et des températures de 15 à 20°C favorisent cette maladie qui est transmise par les semences. (Nasraoui, 2008).

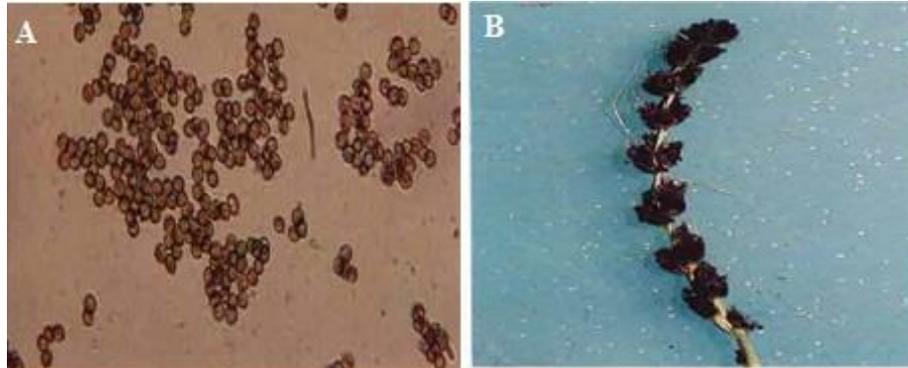


Figure 12. A : Spores d'*U. tritici* (10 x 40), B : un épi attaqué par *U. tritici* (Zillinsky, 1983).

2.4.3. Genres toxigènes non phytopathogènes

2.4.3.1. Le genre *Aspergillus*

Aspergillus est un champignon cosmopolite très répandu dans le milieu extérieur. Ce sont des champignons ubiquistes : on les trouve en milieu rural (grenier, foin, paille en balles et humide, grains ou fruits moisissés, décomposition des matières organiques) et en milieu urbain, ainsi qu'en extérieur et en intérieur (s'accumulant sur les meubles, charpente poussiéreuse derrière), faux plafonds, conduits d'aération, plantes en pot, etc.) (Chabasse et al., 2002). Ils sont fréquemment signalés comme pathogènes humains et animaux (Samson et al., 2014). Ils sont en effet à l'origine de diverses infections fongiques, mais principalement de maladies respiratoires (sinusite, surinfection bronchique, etc.) (Chabasse et al., 2002). Concernant la toxicité du genre, la section *Flavi* comprend principalement les espèces productrices d'aflatoxine d'*A. flavus* (producteur d'Aflatoxine B1 et d'Aflatoxine B2) et d'*A. parasiticus* (productrice d'Aflatoxine B1, Aflatoxine B2, Aflatoxine G1 et Aflatoxine G2) (Bennett et Klich, 2003). Cependant, plusieurs espèces sont utilisées en biotechnologie pour la production de divers métabolites comme les antibiotiques, les acides organiques, les médicaments ou les enzymes, ou comme agents des fermentations alimentaires (Samson et al., 2014).

Le nom *Aspergillus* est donné à un genre de champignons anamorphiques qui comprend environ 180 espèces, réparties en 6 groupes (*Aspergillus*, *Fumigati*, *Ornati*, *Clavati*, *Circumdati* et *Nidulantes*) et en 18 sections (tel que *Flavi*, *Nigri*, *Circumdati*, ...) (Gams et al., 1985). Les formes parfaites (téléomorphes) de certaines d'entre elles sont connues, et appartiennent à l'embranchement des Ascomycota. Au total, 9 genres téléomorphes ont été liés aux *Aspergillus*, parmi lesquels on

peut citer le genre *Eurotium* (Pitt et al., 2000 ; Samson et al., 2014).

- **Description morphologique**

Les colonies sont généralement à croissance rapide, de couleur blanche, jaune, jaune-brun, marron à noire ou en nuances de vert, et se composent principalement d'un feutre dense de conidiophores dressés. Les conidiophores se terminent par une vésicule couverte soit d'une couche unique de phialides en forme de palissade (uniseriate), soit d'une couche de cellules sous-jacentes (metule) qui portent de petits verticilles de phialides (structure biseriée). La vésicule, les phialides, les métules (si elles sont présentes) et les conidies forment la tête conidienne. Les conidies sont unicellulaires, à parois lisses ou rugueuses, hyalines ou pigmentées, produites en longues chaînes qui peuvent être divergentes (radiées) ou agrégées en colonnes compactes (colonnaires). Certaines espèces peuvent produire des cellules de Hülle ou des sclérotés (Kidd et al., 2022).

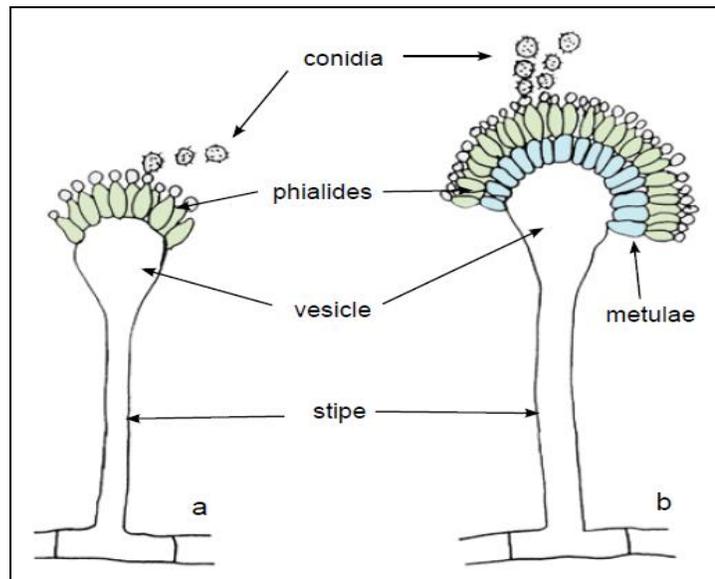


Figure 13. Morphologie d'*Aspergillus*(a) uniseriée, (b) biseriée (Kidd et al., 2022).

2.4.3.1.1. Principales espèces d'*Aspergillus*

- *Aspergillus flavus*

Les colonies sont granuleuses, plates, souvent avec des rainures radiales, jaunes au début mais devenant rapidement jaune-vert clair à foncé avec l'âge. Les têtes conidiennes sont typiquement radiées, se séparant plus tard pour former des colonnes lâches (le plus souvent 300-400 µm de diamètre), bisériées mais ayant certaines têtes avec des phialides portées directement sur la

vésicule (uniseriées). Les stipes des conidiophores sont hyalins et grossièrement rugueux, souvent plus visibles près de la vésicule. Les conidies sont globuleuses à subglobuleuses (3-6 μm de diamètre), vert pâle. Certaines souches produisent des sclérotés brunâtres (Kidd et al., 2022).

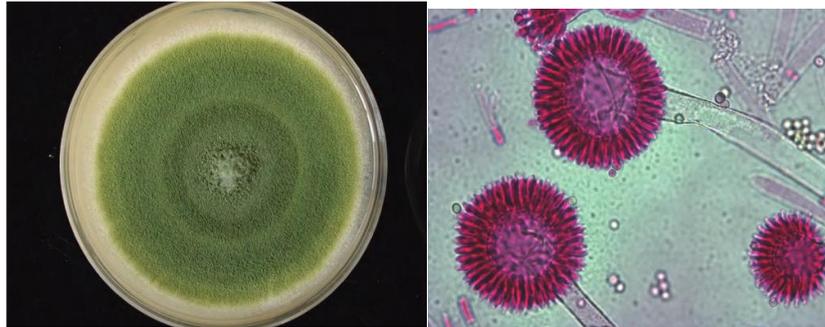


Figure 14. Aspect macro et microscopique d'*Aspergillus flavus* (Campbell et al., 2013)

Pour l'identification moléculaire, l'analyse de la séquence ITS est suffisante pour identifier jusqu'au niveau complexe de l'espèce seulement. L'identification définitive nécessite l'analyse des gènes : la β -tubuline, la calmoduline et l'actine (Balajee et al., 2005 ; Samson et al., 2007).

- *Aspergillus niger*

Les colonies consistent en un feutre basal compact blanc ou jaune recouvert d'une couche dense de têtes conidiennes brun foncé à noires. Les têtes conidiennes sont grandes (jusqu'à 3 mm sur 15 à 20 μm de diamètre), globuleuses, brun foncé, devenant rayonnantes et tendant à se diviser en plusieurs colonnes lâches avec l'âge. Les conidiophores sont à paroi lisse, hyalins ou devenant foncés vers la vésicule. Les têtes conidiennes sont bisériées, les phialides étant portées par des métules brunes, souvent septées. Les conidies sont globuleuses à subglobuleuses (3,5-5 μm de diamètre), brun foncé à noir et à parois rugueuses (Kidd et al., 2022).



Figure 15. Culture et morphologie microscopique d'*Aspergillus niger* (kidd et al., 2022)

Concernant l'identification moléculaire, dans la section *Nigri d'Aspergillus*, toutes les espèces peuvent être distinguées les unes des autres à l'aide des données de séquence de calmoduline, et toutes sauf une peuvent être distinguées à l'aide des données de séquence de β -tubuline. Le séquençage ITS ne peut être utilisé que pour une classification approximative des espèces uni- et biseriates (Samson et al., 2007).

- *Aspergillus fumigatus*

Les colonies sont typiquement bleu-vert avec une surface d'aspect suédé constituée d'un feutre dense de conidiophores. Les têtes conidiennes sont typiquement colonnaires (jusqu'à 400 x 50 μm mais souvent beaucoup plus courtes et plus petites) et unisériées. Les conidiophores sont courts, à paroi lisse et possèdent des vésicules terminales de forme conique qui supportent une seule rangée de phialides sur les deux tiers supérieurs de la vésicule. Les conidies sont produites en succession basipétale formant de longues chaînes et sont globuleuses à subglobuleuses (2,5-3,0 μm de diamètre), vertes et finement rugueuses. (Kidd et al., 2022).

Pour l'identification moléculaire, l'analyse de la séquence de l'ITS est suffisante pour identifier l'espèce au niveau complexe uniquement. Pour une identification définitive, une analyse des gènes de la β -tubuline, de la calmoduline et de l'actine est nécessaire (Balajee et al., 2005 ; Samson et al., 2007).



Figure 16. Aspect macroscopique et microscopique d'*Aspergillus fumigatus* (Campbell et al., 2013).

2.4.3.2. Le genre *Penicillium*

Penicillium rassemble des champignons filamenteux, appartenant au phylum des *Ascomycètes*. Ce genre comprend environ 227 espèces (Pitt, 1988). Ce genre est diversifié survenant

dans le monde entier. Il joue un rôle important dans la décomposition des matériaux organiques et cause des pourritures destructrices dans l'industrie alimentaire où ils produisent une large gamme de mycotoxines. D'autres espèces de *Penicillium* sont considérées comme des usines d'enzymes ou sont des allergènes communs de l'air intérieur (Visagie et al., 2014).

Les colonies ont une croissance rapide, dans des teintes de vert, parfois blanches, constituées principalement d'un feutre dense de conidiophores. Microscopiquement, des chaînes de conidies unicellulaires sont produites en succession basipétale à partir d'une cellule conidiogène spécialisée appelée phialide. Les phialides peuvent être produites individuellement, en groupes ou à partir de métules ramifiées, ce qui donnant une apparence de brosse (un pénicillus). Le pénicillus peut contenir à la fois des branches et des métules (avant-dernières branches qui portent un verticille de phialides). Le schéma de ramification peut être simple (non ramifié ou monoverticillé), ramifié à un étage (biverticillé symétrique), ramifié à deux étages (biverticillé asymétrique) ou ramifié à trois ou plusieurs étages. Les conidiophores sont hyalins, à parois lisses ou rugueuses. Les phialides sont généralement en forme de flacon, consistant en une partie basale cylindrique et un col distinct, ou en forme de lancette (avec une partie basale étroite s'effilant en un sommet quelque peu pointu).

Les conidies sont en longues chaînes sont globuleuses, ellipsoïdales, cylindriques ou fusiformes, hyalines ou verdâtres, à parois lisses ou rugueuses. Des sclérotés sont produits par certaines espèces (Kidd et al., 2022).

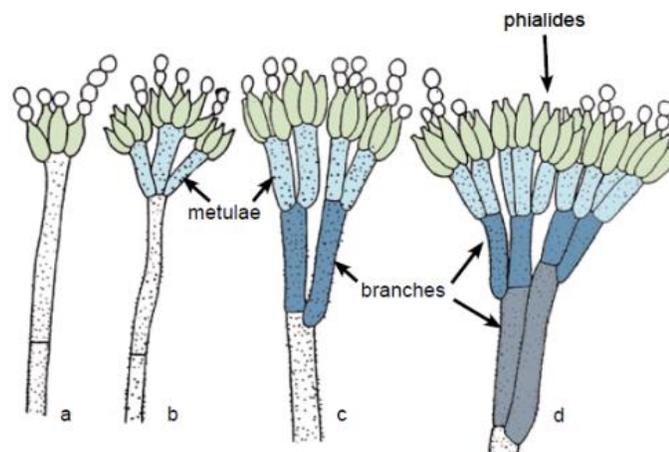


Figure 17. Structures morphologiques et types de ramification des conidiophores chez *Penicillium*.
(a) Monoverticillate ; (b) Biverticillate ; (c) Terverticillate ; (d) Quaterverticillate (Visagie et al., 2014).

2.4.3.3.1. Identification des espèces de *Penicillium*

- Description morphologique

La description morphologique des espèces de *Penicillium* repose sur l'aspect, la couleur et le diamètre des colonies, et sur la morphologie microscopique :

- La texture et la couleur de mycélium
- Le mode d'insertion des phialides (monoverticillées, biverticillées ou triverticillées)
- Le degré de sporulation
- La forme, l'aspect et la taille des conidies (Chabasse et al., 2002)

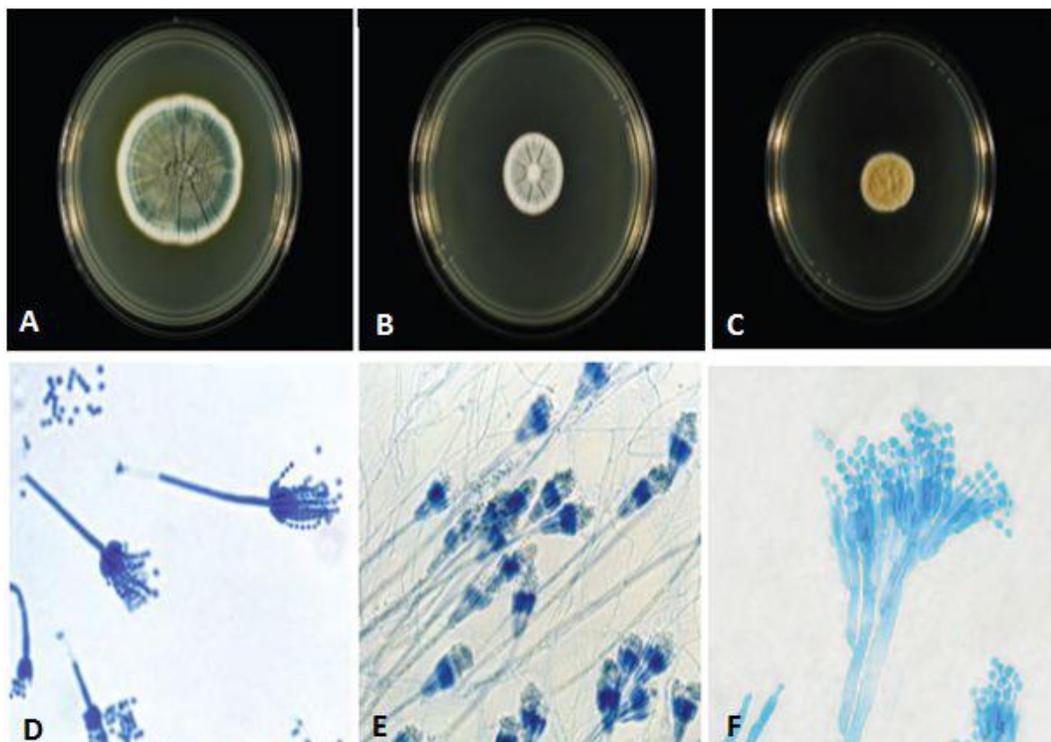


Figure 18. *Penicillium* spp. (Chabasse et al., 2002)

Culture sur gélose de Sabouraud âgées de 8 jours : A : *Penicillium chrysogenum* ; B : *Penicillium expansum* ; C : *Penicillium piccum* ; D : Aspect microscopique des pinceaux, ou pénicilles, chez différents *Penicillium* : *Penicillium* monoverticillé ; E : *Penicillium* biverticillé ; F : *Penicillium* triverticillé.

- **Caractérisation moléculaire**

Pendant les années 1990, le séquençage de l'ADN est devenu l'un des outils les plus utilisés par les taxonomistes, permettant d'identifier les espèces de *Penicillium* et de déduire leurs relations phylogénétiques (Visagie et al., 2014). Récemment, la région ITS (Internal Transcribed Spacer) de l'ADN ribosomal, qui a été acceptée comme un code à barre officiel pour les champignons, est le marqueur le plus largement séquencé (Schoch et al., 2012). Malheureusement, pour ce genre comme pour plusieurs autres genres d'ascomycètes, la région ITS n'est pas assez variable pour distinguer toutes les espèces étroitement liées (Skouboe et al., 1999 ; Seifert et al., 2007 ; Schoch et al., 2012). Un marqueur secondaire d'identification est nécessaire pour une identification spécifique des isolats. Ce marqueur secondaire devrait être facile à amplifier, permettant la distinction entre les espèces étroitement liées. Le gène de β -tubuline (*Ben A*) a été proposé comme la meilleure option pour un marqueur d'identification secondaire pour *Penicillium*. Cependant, bien qu'il n'ait pas d'influence sur l'identification par BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), des problèmes d'alignement lui sont associés. En effet, l'alignement, à travers des genres diversifiés comme le *Penicillium*, des séquences de ce gène est difficile et contient souvent une grande proportion des sites ambiguës, ce qui peut rendre les études phylogénétiques des espèces de *Penicillium*, difficiles. L'utilisation de deux autres options de marqueurs secondaires, le gène de la calmoduline (*CaM*) ou le gène de la deuxième sous-unité de l'ARN polymérase II (*RPB2*), est possibles (Visagie et al., 2014).

2.4.3.4. Autre genres sur les grains de blé

Plusieurs études sont prouvées l'existence de plusieurs champignons sur les graines de blé appart les genres les plus rencontrées (*Aspergillus*, *penicillium* et *Alternaria*), (Larran et al., 2007 ; Gonzalez et al., 2008 ; Belkacem-Hanfi et al., 2013) et ces espèces peuvent dominer la flore fongique dans des conditions particulières comme : les mucorales (*Rhizopus*, *Absedia*, *Mucor*), *Cladosporium*, *Phoma*, *Auerobasidium*, *Curvularia*, *Stemphylium*, *Peacylomyces*, *Epicoccum*, *Verticillium*, *Trichoderma*, *Acremonium* ...etc. Certains de ces champignons sont asymptomatiques, ils ne causent aucune maladie, se connus sous le nom endophytes et d'autres sont des champignons phytopathogènes.

- **Le genre *Cladosporium***

Ce champignon est un parasite de faiblesse des plantes qui ne se développe que sur un tissu affaibli. *Cladosporium* sp appartient aux champignons anamorphiques et au groupe des Hyphomycètes. Les observations microscopiques ont montré des conidies de diverses formes et tailles chez la même espèce. Leurs dimensions sont 5-18 x 3-7 µm. Elles ont des formes allant de monocellulaires quasi-arrondies jusqu'à tricellulaires minces et allongées. (Nasraoui, 2006). Ce champignon est signalé comme un agent phytopathogène sur le blé la première fois au Tunisie par Nasraoui, (2006), cette maladie touche principalement les épis mûrs. Elle se caractérise par la formation d'une moisissure noire, superficielle, en petites touffes, qui couvre extérieurement les épis de la céréale.

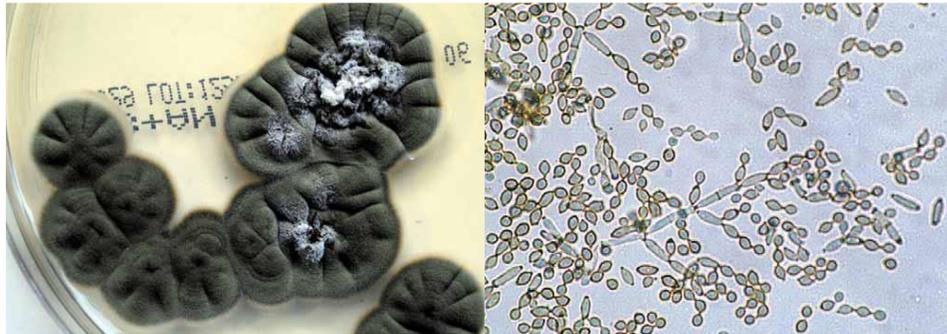


Figure 19. Aspect macroscopique et microscopique de *Cladosporium* (Kidd et al., 2022)

- **Les mucorales**

Cette famille regroupant les genres *Rhizopus*, *Absidia*, *Mucor* et *Rhizomucor* (Reboux et al., 2010). Les mucorales sont des champignons cosmopolites, saprophytes du sol où ils s'alimentent à partir de végétaux, ils contaminent fréquemment les denrées alimentaires comme les céréales, les fruits et légumes, certaines espèces sont phytopathogènes. Le champignon émet habituellement des stolons qui s'écoulent à la surface du substrat gélosée et adhèrent au substrat par une sorte de racines dénommées rhizoïdes, le thalle est constitué de filaments siphonnés non septés, à partir des stolons, se forment des filaments dressés appelés sporocystophore porteurs de sporocystes où sont produites les spores (Chabasse et al., 2002).

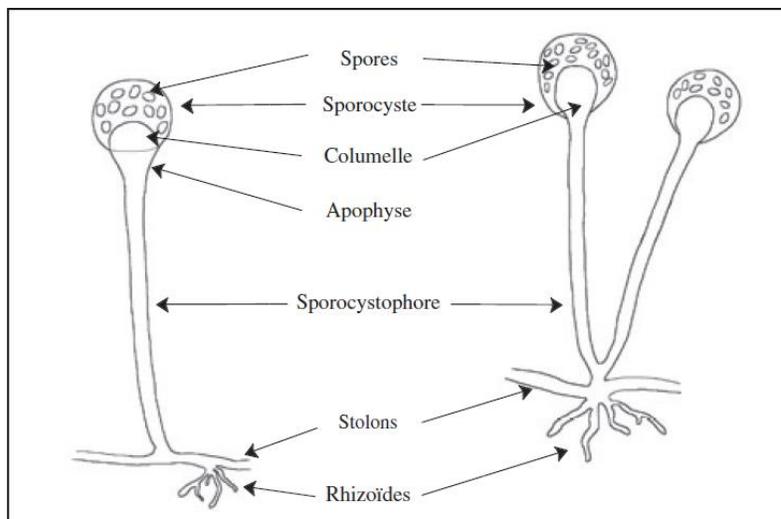


Figure 20. Appareil reproducteur des mucorales (Chabasse et al., 2002).

2.5. Les champignons rencontrés sur la plante de blé

2.5.1. Champignons phytopathogènes

Le blé est affecté par une variété de maladies qui causent d'importantes pertes de rendement chaque année. Les principales maladies sont les rouilles, les taches et la brûlure de l'épi, les oïdiums. L'aspect des lésions qu'elles provoquent est illustré dans la figure 21 Il existe trois maladies de la rouille du blé : la rouille des tiges, la rouille striée et la rouille des feuilles, causées par le genre *Puccinia*, à savoir *P. graminis*, *P. striiformis* et *P. triticina*, respectivement (Kolmer et al., 2009). Les taches sont causées par *Zymoseptoria tritici*, *Parastagonospora nodorum* et *Pyrenophora tritici-repentis*(Avelar, 2021).

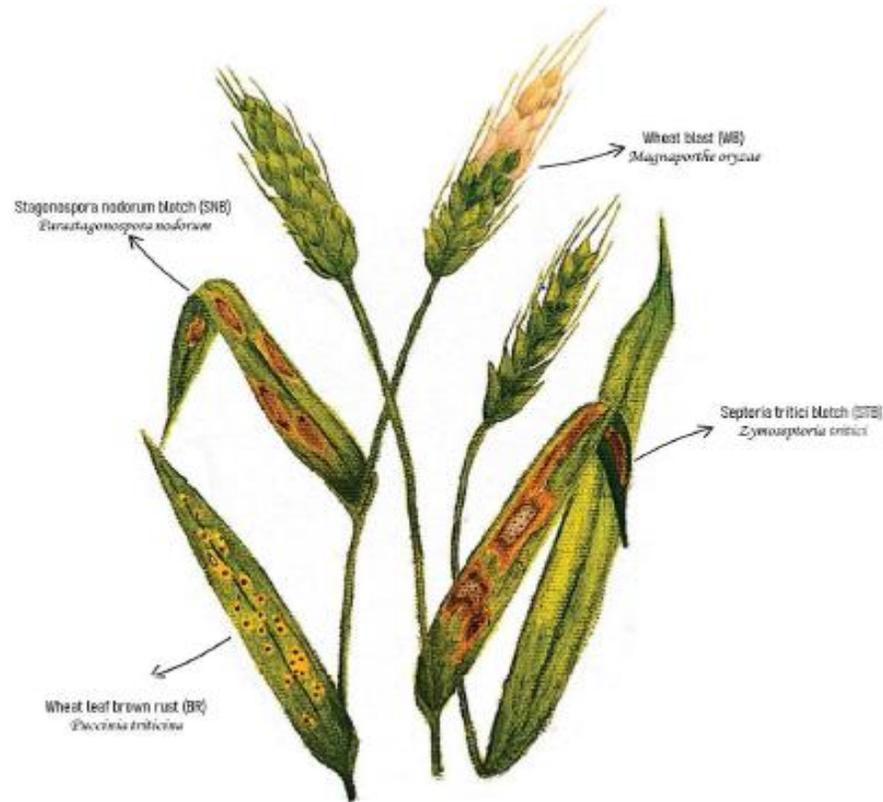


Figure 21. L'aspect des lésions du blé causées par les principaux champignons phytopathogènes foliaires (Avelar, 2021).

2.5.1.1. *Puccinia striiformis*.sp. *Triticum*

Puccinia striiformis.sp. *tritici* est l'agent causal de la rouille jaune chez le blé. Selon les conditions climatiques particulières, il peut causer des dommages très importants au blé. Cette rouille apparaît lors de la montaison, généralement du premier nœud à la dernière feuille. Des pustules de couleur orange apparaissent sur les feuilles et les tiges, disposées en bandes le long des nervures. Ils sont généralement de petite taille (Masson, 2012). Le champignon *Puccinia striiformis* appartient au phylum des *Basidiomycota* et à la classe des *Urédinomyètes*. Les urédospores de *P. striiformis* sont unicellulaires, sphériques, rarement ellipsoïdales, à parois épaisses finement rugueuses. Ils mesurent 20-30 x 10-18 µm. Les téliospores sont bicellulaires et allongées, la cellule apicale ayant une pointe unique, arrondie ou complètement aplatie, et la cellule basale, généralement plus allongée, prolongée par un court pédicelle. Ces téliospores sont

de couleur marron clair avec des parois épaisses et lisses ; leurs dimensions sont de 25-65 x 15-25 μm (Nasraoui, 2008) (Fig. 22).



Figure 22. A : Urédospores de *P. striiformis* (G : 10x40); B : symptômes de la maladie (Zillinsky, 1983).

- **Cycle de vie**

L'infection à *P. striiformis* débute au stade urédinale avec l'apparition de petites pustules rondes brunes à orange à la surface des feuilles. Ces urédinies sont capables de produire chaque jour des milliers de spores, qui peuvent être transportées sur des centaines de kilomètres par le vent. Les urédospores germent ensuite pour produire des structures infectieuses, notamment des appendices, des tubes germinatifs et des pointes pénétrantes qui facilitent la pénétration des stomates de la plante hôte (Fig.23). L'absorption des nutriments des cellules végétales sans les tuer est obtenue grâce à la création de structures spécialisées : vésicules basales et haustoriums. Au fur et à mesure que l'urédinie mûrit, les téliosporés commencent à se former. La production de microsporés et de spores associées à la reproduction sexuée ne se produit que chez des hôtes alternatifs et non chez le blé (Kolmer et al., 2009).

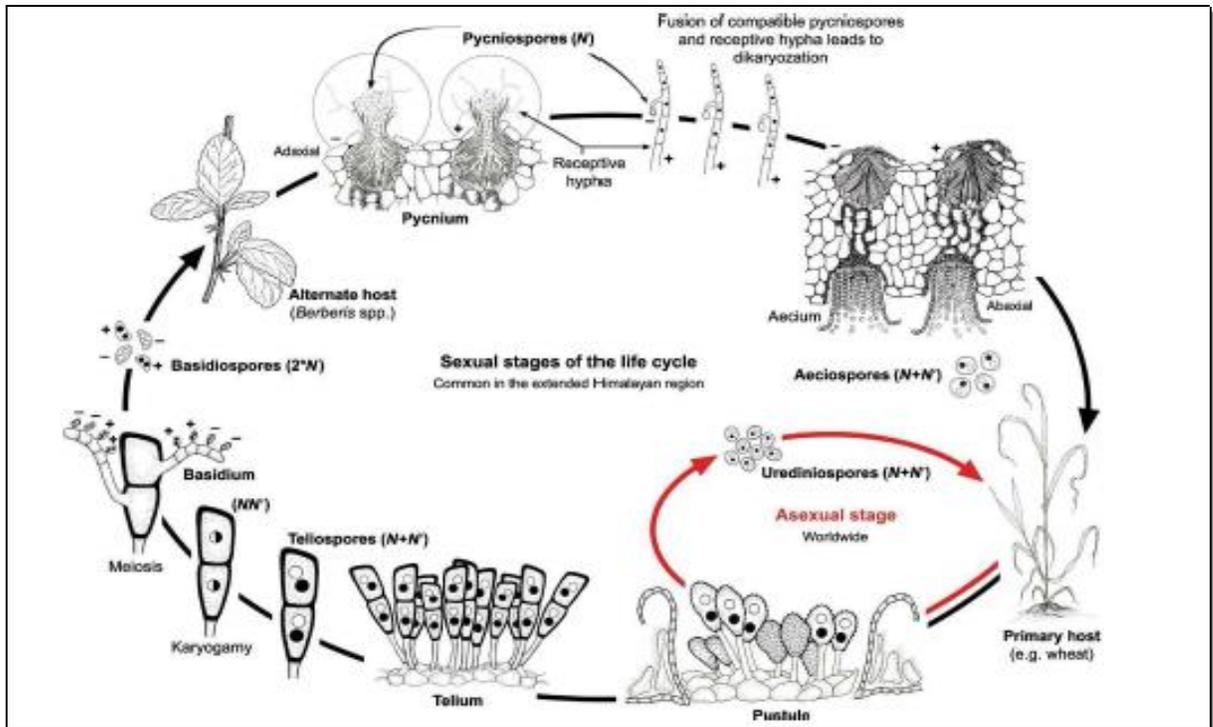


Figure 23. Cycle de vie de *Puccinia striiformis* *sf. sp. tritici* (Schwessinger, 2017).

2.5.1.2. *Zymoseptoria tritici*

C'est l'agent causal de l'une des principales maladies fongiques du blé dans le monde (Shipton et al., 1971 ; Eyal et al., 1987). La maladie est causée par l'attaque d'un champignon présent au champ sous deux formes : la forme sexuée « *Mycosphaerella graminicola* » et la forme asexuée « *Zymoseptoria tritici* » (Brunner et al., 2013). Dans les climats favorables au développement des maladies (régions humides), les rendements en grains des variétés de blé sensibles peuvent être réduits de 30 à 50 % (Eyal, 1981). Les conidies de *Z. tritici* sont des brins filamenteux, droits ou flexibles qui se rétrécissent d'un côté de l'apex, généralement constitués de 1 à 4 cellules séparées par des septa. Leurs dimensions sont de 28-70 x 1-1,5 µm (Nasraoui, 2008). Le téléomorphe *M. graminicola* appartient au phylum Ascomycota et au groupe des Loculo ascomycètes (champignons "dont les asques sont contenus dans des pseudothèques") (Nasraoui, 2008). Le téléomorphe a été identifié en Algérie la première fois par Harrat et al, (2017).

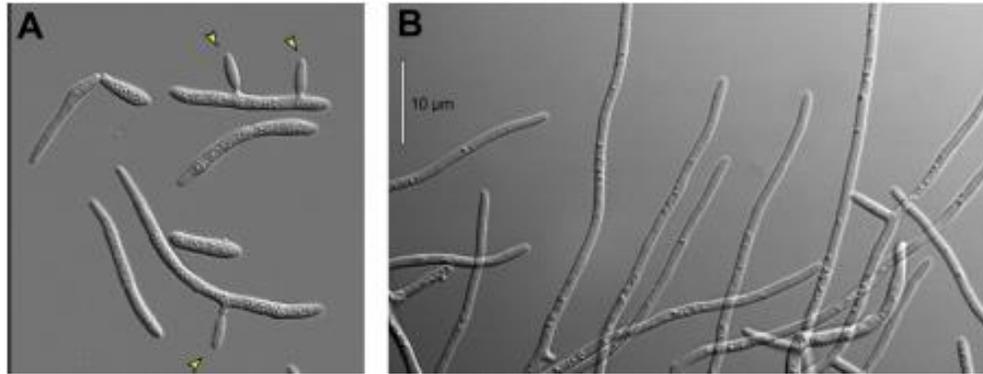


Figure 24. A : Pycnidiospores de *Z. tritici*, cultivée dans un milieu liquide d'extrait de levure/saccharose à 18 C° ; B : Hyphes de *Z. tritici*. La barre d'échelle représente 10 μm. (Steinberg, 2015).

- **Cycle de vie**

Le cycle de la maladie est illustré à la figure 25. L'infection est provoquée par les ascospores et la dispersion des conidies par la pluie et se déroule en cinq phases (Ponomarenko et al., 2011) :

1. Croissance initiale des hyphes à la surface des feuilles (0 à 24 heures).
2. Pénétration de l'hôte par les stomates (24 à 48 heures).
3. Prolifération des hyphes dans les tissus mésophylliques, absorption de nutriments par l'apoplaste (2-12 jours).
4. Changement de la croissance nécrophile, apparition de lésions à la surface des feuilles (12-14 jours).
5. Colonisation plus poussée des tissus mésophylles, formation de pycnidies avec des conidies (14-28 jours).

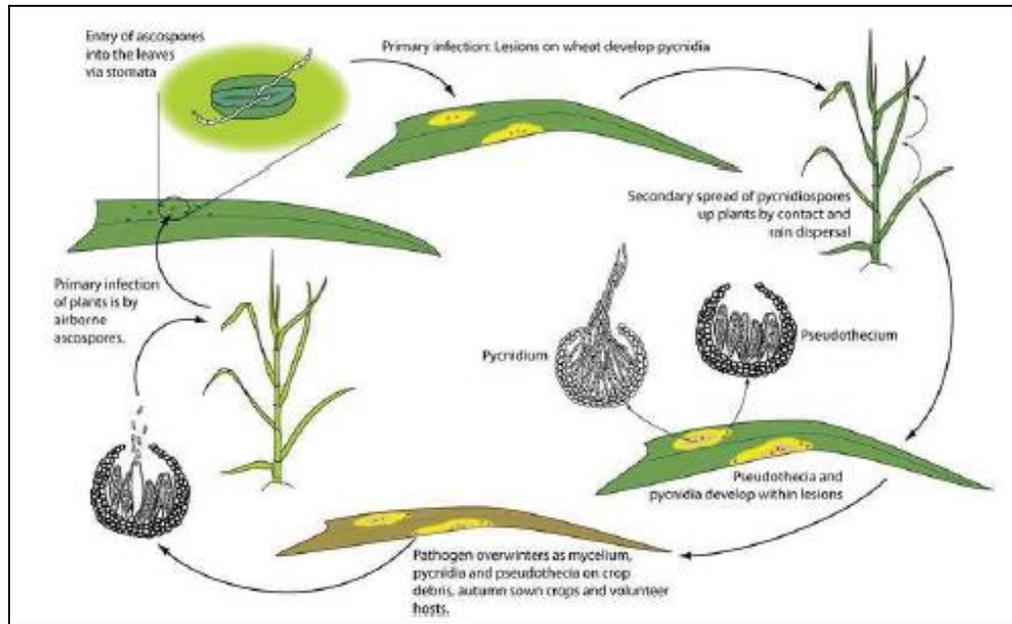


Figure 25. Cycle de vie de *Zymoseptoria tritici* (Ponomarenko et al., 2011).

2.5.1.3. *Pyrenophora tritici* (*Drechslera tritici-repentis*)

C'est un champignon ascomycète agent causal de la maladie de tache bronzée, il s'agit d'un pathogène foliaire important du blé. Ce champignon est présent dans toutes les principales régions productrices de blé du monde (Hosford, 1982). La maladie peut entraîner des pertes de rendement allant de 3 % à 50 %, selon les conditions climatiques et la sensibilité de l'espèce hôte (Shabeer et Bockus, 1988 ; Sykes et Bernier, 1991). L'anamorphe *D. tritici-repentis* appartient aux champignons anamorphiques et au groupe des Hyphomycètes (champignons à conidies libres). Les conidies sont multicellulaires, allongées, droites ou légèrement incurvées, avec un sommet arrondi et une base pointue. Les parois sont épaisses, avec des cellules séparées par 1 à 10 pseudosepta. Leurs dimensions sont de 100-240 x 10-16 µm. Le téléomorphe *P. tritici-repentis* appartient au phylum des Ascomycota.

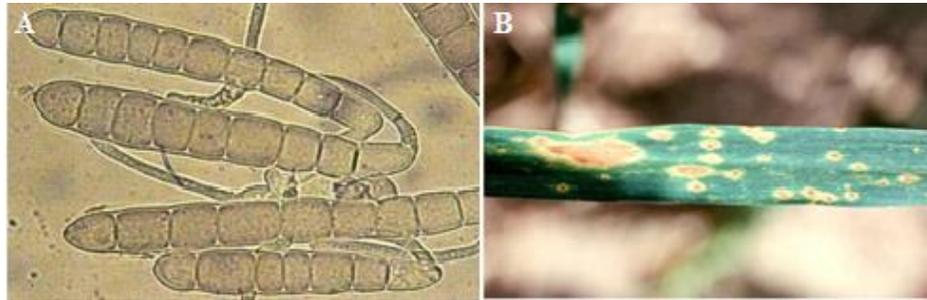


Figure 26. A : Conidies de *P. tritici-repentis* (G : 10x40); B : symptômes (Zillinsky, 1983).

- **Cycle de développements de la Tache bronzée**

Les symptômes apparaissent de la montaison à la maturité. L'agent pathogène est conservé sur les résidus de blé sous forme de spores et de mycélium (Yahaoui, 2003), et en présence d'humidité, les périthèces libèrent des ascospores et le mycélium produit des conidies. Durant cette saison, l'infection secondaire est assurée par les conidies, qui se propagent facilement par le vent (Fig.27). Des conditions humides et une température optimale entre 18 et 28°C avec une période de mouillage des feuilles de 24 à 48 heures favorisent la germination des spores et l'infection des tissus (Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

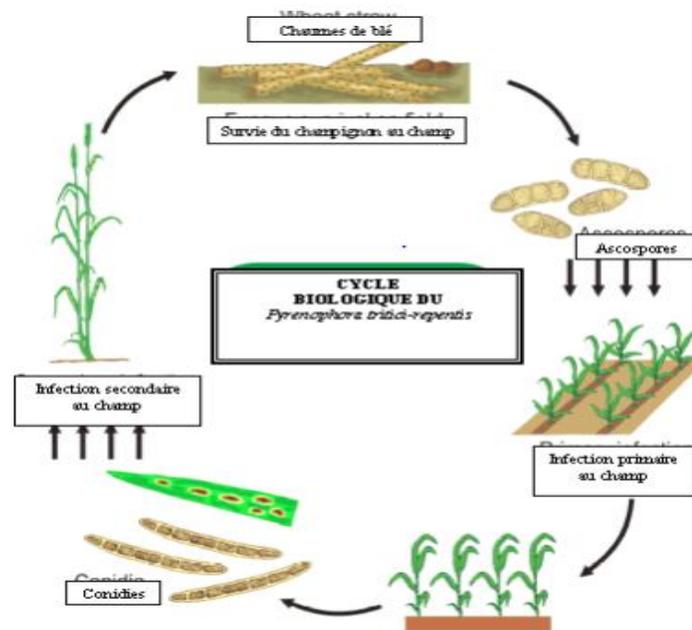


Figure 27. Cycle biologique du *Pyrenophora tritici-repentis* (Santana et Friesen, 2007).

2.5.2. Champignons non phytopathogènes

Les graminées sont associées avec les champignons d'une façon symbiotiques. On rencontre des champignons qui existent sur ou dans les racines dénommée les mycorhizes, et celle qui colonisent les parties aériennes et souterraines d'une façon systémique se sont des champignons endophytes. Ces espèces passent généralement leur cycle de vie dans les différentes parties des plantes dans les espaces intercellulaires. Ils sont non pathogènes et asymptomatiques en infectant leur hôte (Mansouri, 2011).

Chez les graminées, notamment le blé tendre (*Triticum aestivum*), plus de 50 taxons de champignons endophytes ont été isolés à partir de quatre cultivars (Crous et al., 1995). Larran et al, (2007) ont identifié 30 taxons fongiques au sein d'une même espèce. Mansouri et al, (2011) ont démontré que le pourcentage d'infection des champignons endophytes sur des grains sains de 17 génotypes de blé dur peut atteindre les 80%. Les plus représentés des mycontaxons sont le groupe du genre *Alternaria* (*Alternaria* sp et *Alternaria alternata*), *Fusarium*, *Cladosporium cladoisporoides* et *Ulocladium*. Les champignons endophytes présentent un intérêt biotechnologique pour leur utilisation potentielle comme des vecteurs génétiques (Murray et al., 1992), comme des sources de métabolites secondaires (Fisher et al.,1986 ; Stierle et al., 1993 ; Strobel et al., 1996 ; Schulz et al., 1999), et comme un moyen de lutte biologique contre les agents phytopathogènes (Clay, 1989 ; Bacon, 1990 ; Scharl et al., 1991 ; Dorworth et Callan, 1996). Carroll (1988) a démontré une survie accrue de l'hôte contre les pathogènes fongiques dans certaines associations plantes-endophytes. De même, les champignons endophytes favorisent la croissance des plantes et accélèrent leur développement (Pillay et Nowak, 1997).

Parmi les champignons endophytes du blé utilisés dans la lutte biologique contre les champignons phytopathogènes le genre : *Trichoderma*, il a démontré son efficacité contre plusieurs agent pathogènes du blé tel que *Fusarium graminearum* l'agent causal de la fusariose (Pedrero-Méndez, 2021; Matar, 2022), *Gaeumannomyces graminis* (Ghahfarokhi et Goltapeh, 2010), et contre *Pyrenophora tritici-repentis* l'agent de la tache bronzée (Larran et al., 2016), et il a le pouvoir également de réduire le stress oxydatifs chez le blé (Ikram, 2019).

Les endophytes fongiques sont assez courants dans la nature et certains d'entre eux se sont avérés avoir des effets néfastes sur les insectes (entomopathogènes) comme les espèces d'*Akanthomyces*, *Acremonium*, *Beauveria* et *Peacylomyces*...etc. (Vega, 2008 ; Nicoletti et al., 2020).

2.5.2.1. Le genre *Trichoderma*

Les colonies sont à croissance rapide, d'abord blanches et duveteuses puis développant des touffes compactes vert jaunâtre à vert foncé. Les conidiophores sont ramifiés à plusieurs reprises, irrégulièrement verticillés, portant des grappes de phialides divergentes, souvent irrégulièrement courbées, les phialides sont en forme de flacon. Les conidies sont généralement vertes, parfois hyalines, avec des parois lisses ou rugueuses, et sont formées dans des têtes conidiennes gluantes regroupées à l'extrémité des phialides (Kidd et al., 2022).

L'identification moléculaire de l'espèce est basée sur des données de séquence multilocus utilisant les gènes ITS, EF-1 α , Chi18-5 et actine (Sandoval-Denis et al., 2014).



Figure 28. Aspect macroscopique et microscopique de *Trichoderma sp* (Kidd et al., 2022).

2.5.2.2. Le genre *Akanthomyces*

Les espèces d'*Akanthomyces*, largement connues autant que genre *Lecanicillium* et étroitement apparentées au genre *Verticillium* (Kepler et al., 2017), sont des champignons entomopathogènes qui ont une large gamme d'hôtes, les insectes, les nématodes, les champignons phytopathogènes. La découverte que de nombreux champignons entomopathogènes sont hébergés dans les tissus végétaux et possèdent des propriétés bioactives allant au-delà d'un simple effet anti-insectes a récemment suscité une vaste activité de recherche concernant leur présence et leurs

fonctions dans les cultures, dans le but d'une exploitation applicative conforme au paradigme de l'agriculture durable (Nicoletti et Becchimanzi, 2020).

Les colonies se sont duveteuses, de couleur blanche à jaune pâle. Les conidiophores sont généralement bien différenciés et érigés, ramifiés verticalement sur la plus grande partie de leur longueur, portant des verticilles de phialides divergents en forme d'alène. Les conidies sont hyalines ou de couleur vive, le plus souvent unicellulaires, et sont généralement portées par des têtes gluantes (glioconidies). Concernant l'identification moléculaire, les gènes ITS, actine, EF-1 α , GPDH et tryptophane synthase ont été utilisés pour identifier toutes les espèces reconnues de *Akanthomyces* (Inderbitzin et al., 2013).

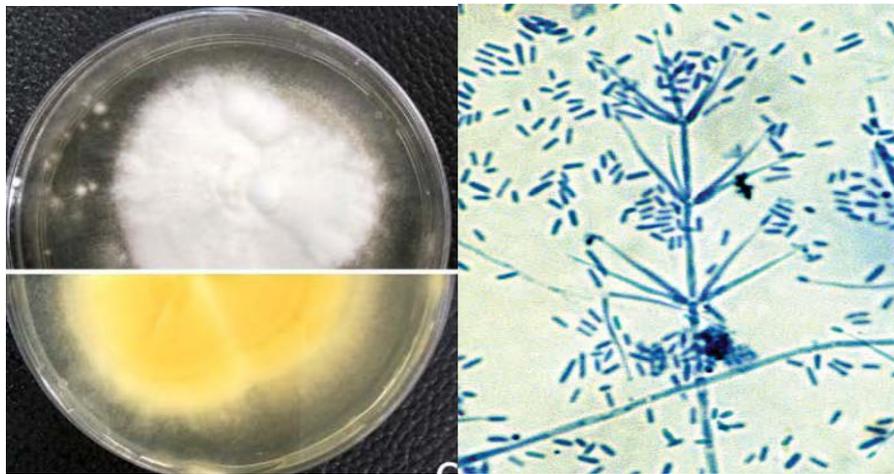


Figure 29. Aspect macroscopique et microscopique d'*Akanthomyces sp* (Vinit et al., 2018).

3. Conditions de développement des champignons sur les grains

Les céréales sont sans aucun doute les aliments les plus contaminés par les moisissures. La contamination peut se produire avant la récolte, au champ, pendant le séchage, le stockage et après le traitement des semences. Bien qu'il existe de nombreuses études sur la contamination mycotoxique des grains, les investigations sur la contamination fongique de ces matières premières sont rares. Schématiquement, ils mettent en évidence la relation entre la flore fongique et conditions climatiques et certains paramètres physiques, chimiques et biologiques pendant le développement et/ou le stockage du grain (Tabuc, 2007).

3.1. Activité en eau (Aw)

L'Aw d'un aliment repose sur sa composition chimique, c'est-à-dire sur la quantité d'eau retenue par les sels, les sucres et les protéines, mais aussi ses caractéristiques physiques (porosité, polarité). Ce paramètre peut aller de 0 (pour tous les supports où toute l'eau est retenue) à 1 (pour l'eau pure). Schématiquement, les moisissures sont plus résistantes à la sécheresse que les autres microorganismes (bactéries, levures). La plupart des moisissures poussent bien à une activité de l'eau proche de 0,85. Par conséquent, l'activité d'eau de nombreux produits ne permet pas aux bactéries de se développer et les moisissures peuvent se multiplier. Les moisissures appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont généralement capables de développées à Aw proche de 0,7 à 25°C ; ainsi, elles peuvent se développer sur les aliments pauvres en eau tels que les céréales, les fruits secs, les produits pendant le stockage où l'activité de l'eau est réduite (produits secs, confitures, etc.) (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002). Par comparaison, les *Fusarium* ne se développent que sur des supports dont l'Aw supérieurs à 0,9. Il s'agit des espèces du champ sur les plantes cultivées (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002).

3.2. Température

Les moisissures sont généralement mésophiles : les hyphes se développent à 20- 25°C. En dehors de cette gamme de température, les mycéliums se développent plus lentement. Les spores de moisissures mésophiles ne peuvent pas germer à des températures inférieures 5°C, mais ils peuvent supporter des températures aussi basses que -20°C pendant de longues périodes (Pfohl-Leszkowicz, 2001). Il existe également des espèces psychrophiles telles que *Penicillium expansum*, *P. verrucosum*, *P. viridicatum*. Ils peuvent se développer lentement à une certaine température faible, en dessous de 4°C. Ces espèces sont responsables de la détérioration des aliments en conservés (Pfohl-Leszkowicz, 2001). Les espèces thermophiles sont moins fréquentes. C'est le cas d'*Aspergillus flavus*. La température optimale pour sa croissance est de 25 à 35°C, mais cette moisissure peut se développer bien sur une plage plus large (15-45°C), parfois jusqu'à 50°C (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002). Ces caractéristiques physiologiques (nécessité une faible teneur en eau et développement possible dans une large gamme de température) rendent cette espèce très souvent impliquée dans l'endommagement des matières premières (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002).

3.3. pH

En général, la croissance fongique est fortement influencée par le pH, et l'effet du pH sur le développement microbien se situe principalement au niveau de la cinétique des réactions enzymatiques. Mais les moisissures sont assez tolérantes à ce facteur : en effet, elles sont capables de se développer dans une large gamme de pH entre 3 et 8, et leur croissance est généralement optimale entre 5 et 6. Cette tolérance reste variable selon les espèces. Par exemple, la croissance de *F. proliferatum* est maximale à pH=5,6 (Keller et al., 1997).

3.4. Présence d'oxygène

La plupart des champignons sont des micro-organismes aérobies ; Cependant, certains types de moisissures peuvent se développer sur les aliments stockés dans un environnement pauvre en oxygène. Par exemple, *A. flavus* tolère de faibles niveaux d'oxygène (O₂) (Pfohl-Leszkowicz, 2001), contrairement à *F. proliferatum*, qui présente une croissance considérablement réduite dans des conditions limitées en O₂ (Keller et al., 1997). Quelques espèces peuvent se développer en absence d'O₂ : c'est le cas du *Byssochlamys* qui infecte les jus de fruits conservés par pasteurisation (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

3.5. Composition du substrat

La composition chimique des différents aliments joue un rôle très important dans la croissance des champignons (Chapeland-Leclerc et al., 2005). Dans le cas des céréales par exemple, c'est presque toujours au niveau du germe du grain, riche en nutriments et dépourvu d'amidon, mais contenant beaucoup plus de sucres simples assimilables, que se manifeste l'attaque des moisissures. Les insectes sont les principaux vecteurs de spores de moisissures dans les champs et les aires de stockage (Chapeland-Leclerc et al., 2005).

3.6. Présence des insectes

Ces insectes contribuent à leur contamination par les moisissures en dégradant les parois des grains. De nombreux insectes qui attaquent les plantes provoquent des infestations de moisissures avant même que les épis ne se forment. Les insectes interviennent aussi dans les lieux de stockage (Pfohl-Leszkowicz, 2001). Les acariens sont d'importants vecteurs de spores. Ils se nourrissent de grains moisissés, collectant et transportant les spores sur leurs surfaces corporelles et dans leurs voies digestives. (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002). Il faut noter que, durant le

stockage de céréales, les oiseaux et les rongeurs peuvent être des vecteurs de spores fongiques (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

3.7. Interactions microbiennes

La concurrence des éléments nutritifs et l'espace est un phénomène souvent rencontré dans le monde vivant. La présence simultanée de plusieurs microorganismes dans le même espace détermine des interactions entre eux. Les conditions environnementales sont favorables à certaines espèces et défavorables à d'autres. Par exemple, les *Mucoraceae*, caractérisés par un taux de croissance élevée envahissent rapidement l'espace en inhibant la croissance des espèces qui se développent lentement. La synthèse des substances toxiques (mycotoxines) ainsi que leur accumulation dans le milieu peut aussi avoir un effet inhibiteur sur la croissance d'autres espèces (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

Données expérimentales

1^{ère} partie

Etude de la biodiversité de la mycoflore associée
au blé dur et tendre (plants et grains) dans trois
régions d'Algérie.

1. Introduction

Les interactions complexes entre le blé et divers champignons constituent un domaine d'étude crucial, s'étendant des grains aux différentes parties de la plante, telles que la tige, les racines et les feuilles. Les grains sont naturellement en contact avec les spores fongiques avant, pendant, et après la récolte, pendant le transport et le stockage. La croissance fongique est régie par de nombreux paramètres physico-chimiques, notamment la quantité d'eau libre (activité de l'eau), la température, la présence d'oxygène, la nature du substrat et le pH. Ces champignons peuvent causer non seulement de grandes pertes économiques, mais aussi une intoxication et des dommages aigus ou chroniques pour la santé humaine et animale, en particulier par la synthèse de mycotoxines (Moss, 1996).

Les principaux genres fongiques toxigènes, tels qu'*Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* sont responsables de ces complications (Pittet, 1998 ; Osweiler, 2000). *Alternaria* et *Fusarium* sont souvent liés aux champignons du champ, tandis qu'*Aspergillus* et *Penicillium* sont associés aux champignons de stockage. Par ailleurs, certains champignons, notamment *Fusarium graminearum* et *Helminthosporium*, sont connus pour causer des maladies spécifiques du blé, entraînant des dommages considérables. D'un autre côté, les champignons endophytes jouent un rôle fascinant en colonisant les parties de la plante sans provoquer de symptômes apparents ni altérer la plante. Présents dans toutes les espèces végétales étudiées, ces endophytes résident dans les tissus internes des racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits ou graines (Tanapichatsakul et al., 2018). Ils établissent une relation symbiotique en recevant un habitat et des nutriments de leurs hôtes, tout en fournissant une protection chimique contre les herbivores, les insectes et les microorganismes phytopathogènes (Ibrahim et al., 2018).

Nous visons dans cette première partie du travail à déterminer la flore fongique des grains et des plants de blé dur et tendre, et à identifier les genres et les espèces isolés par une étude morphologique basée sur des clés d'identification spécifique.

2. Matériel et méthodes

2.1. Description de la zone d'étude

Trois wilayas caractérisées par un climat semi-aride (Bouira, Setif et Bordj Bou Arréridj) productrices de blé et disposant des lieux de stockages ont été choisies pour l'étude. Des prélèvements de blé dur et tendre sont réalisés dans plusieurs régions de chaque wilaya. La figure 35 représente la carte géographique du nord d'Algérie contenant les trois wilayas concernées par les prélèvements des échantillons des grains de blé dur et tendre.

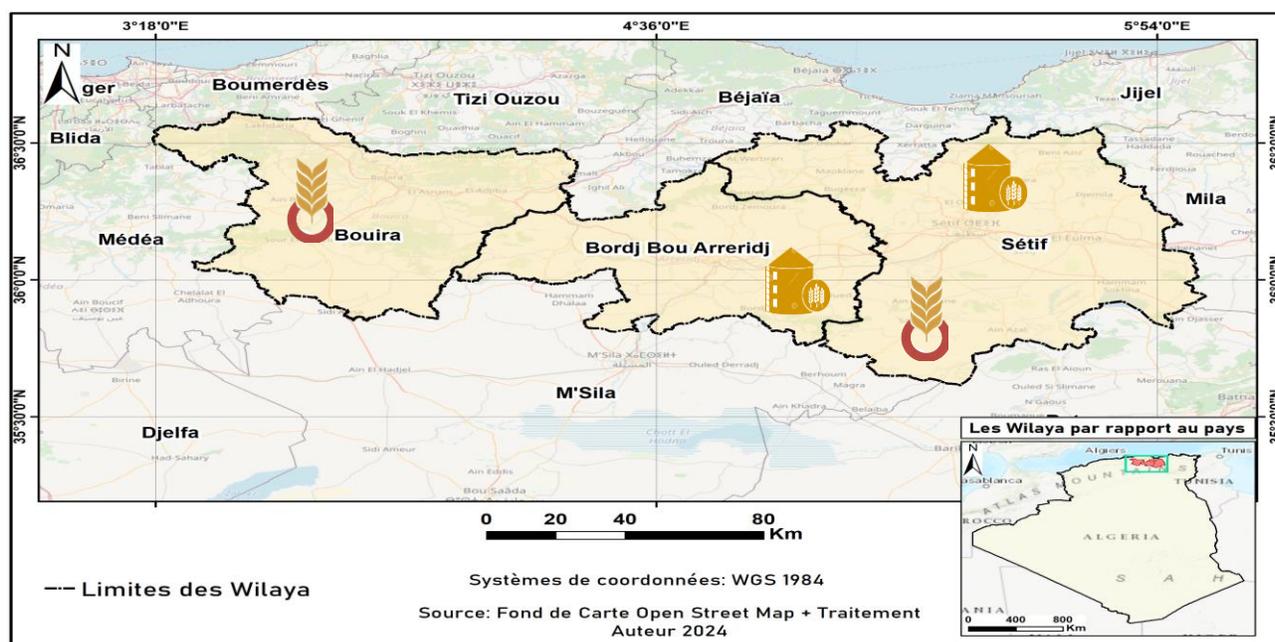


Figure 30. Wilayas de prélèvement des grains de blé dur et tendre dans l'Algérie ; Bouira, Setif et Bordj Bou-Arréridj.

2.2. Échantillonnage des grains de blé

Les échantillons des grains de blé étudiés dans ce travail de recherche sont des variétés largement utilisées en l'Algérie. Il s'agit de 7 variétés du blé dur (Boussalem, Oued Elbared, MBB, GTA, Simeto, Chan's et Waha) et 4 variétés de blé tendre (HD, Wifak, Ain abid et ARZ). Ils ont été prélevés durant la campagne agricole 2018-2019 de trois provenances différentes à savoir Bouira, Setif et Bordj Bou Arréridj. Les grains de blé sont fournis par le CCLS de wilaya de Bouira, le CCLS de la wilaya de BBA et CNCC de la wilaya de Setif. Les informations détaillées de chaque

échantillon sont présentées dans les tableaux (4, 5, 6). Une quantité de 200 g de grains de blé par échantillon a été mise dans des sacs polythélenes pour des analyses mycologiques au laboratoire.

Tableau 4. Variétés de grains de blé de la wilaya de Bordj Bou Arréridj

Nom de l'espèce	Nom de la variété	Région	Nom de l'agriculteur
<i>Triticum durum</i>	Boussalem R1	Ras loued	LAIB Mourad
	Boussalem R3	Tikster	HAROUNE Nabil
	Boussalem R4	Birkad ali	FP : FATMI Ali
	Boussalm ORD	Khemis Meliana	/
	Oued Ibared G4	Sidi mebarek	EAC : LOUCIF Layachi
	Oued Ibared R2	Sidi mebarek	FP : ABASSI Larbi
	Oued Ibared R2	BBA	BOUALLEM A.nour
	Waha	Birkasd Ali	BAYTICH Mourad
	GTA R1	Sidi mebarek	EAC : Bouzid Boudhiaf
	Simeto	Tiaret	/
	MBB R2	Tixter	Ben Aiouch
	Semences traités	Bordj Bou Arreridj	CCLS
	MBB ORD	Ras louad	Plusieurs agriculteurs
<i>Triticum aestivum</i>	HD 1220 R1	BBA	/
	HD 1220 R2	BBA	/

Tableau 5. Variétés des grains de blé de la wilaya de Setif

Nom de l'espèce	Nom de la variété	La région	Nom de l'agriculteur
<i>Triticum durum</i>	GTA(290)	Ain abbessa	EAC : HIOUANI Cherif
	MBB(231)	Amoucha	EAC : RAHMOUN Layachi
	Oued elbared	Beni fouda	SP :BEN KHELIF Rachid
	Boussalem(720)	Ain arnet	SP : LAOUAMER Tayb
<i>Triticum aestivum</i>	Wifak(816)	El eulma	ITGC
	HD 1220	El eulma	ITGC

Tableau 6. Les variétés des grains de blé de la wilaya de Bouira

Nom de l'espèce	Nom de la variété	La région	Nom de l'agriculteur
<i>Triticum durum</i>	Boussalem	Ain belalaoui	FP : MALEK Ommar
	Chan's	Station Bouira	BELTOUT
	Simeto	Station Bouira	HIMOUM mecf
<i>Triticum aestivum</i>	ARZ	Station Bouira	D. Hocine A. Aziz
	Ain abid	Asnam	FP BOUCHARAIN

2.3. Echantillonnage des plants de blé

L'échantillonnage des plants de blé dur et tendre a été réalisé au mois d'Avril de l'année 2021/2022 d'une façon aléatoire à partir de deux champs situés dans : la commune de Khelil de la wilaya de Bordj Bou Arreridj, la commune de Ain Ouelmen de la wilaya de Setif et la commune de El Asnam de la wilaya de Bouira, les plants de chaque espèce de blé sont récoltés radicalement et portés directement au laboratoire pour éviter leur détérioration.

2.4. Isolement de la mycoflore des grains de blé

La méthode utilisée pour l'isolement de la mycoflore des grains de blé est la méthode directe décrite par Pitt et Hoking, (2009). En effet, les grains sont désinfectés dans une solution d'hypochlorite de sodium 2% pendant 3 min, après ils ont été rincés deux fois dans l'eau distillée stérile pendant 3 min. Enfin ces grains sont séchés dans un papier wattman stérile et ensemencés directement dans des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture (DCPA) (Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar). Il s'agit d'un milieu sélectif du genre *Fusarium* (Andrews et Pitt, 1986), mais peut être utilisé également pour isoler plusieurs autres champignons tels qu'*Alternaria*, *Phoma*, *Pleospora*, *Helminthosporium*, *Drechslera*, *Curvularia*...ect (Ali et al, 1991). Un nombre de 6 grains a été utilisé pour chaque boîte de Petri, et pour chaque échantillon 6 répétitions ont été effectuées. Les boîtes ont été incubées à 25°C dans un phytotron pendant 12 jours (Fig.36).

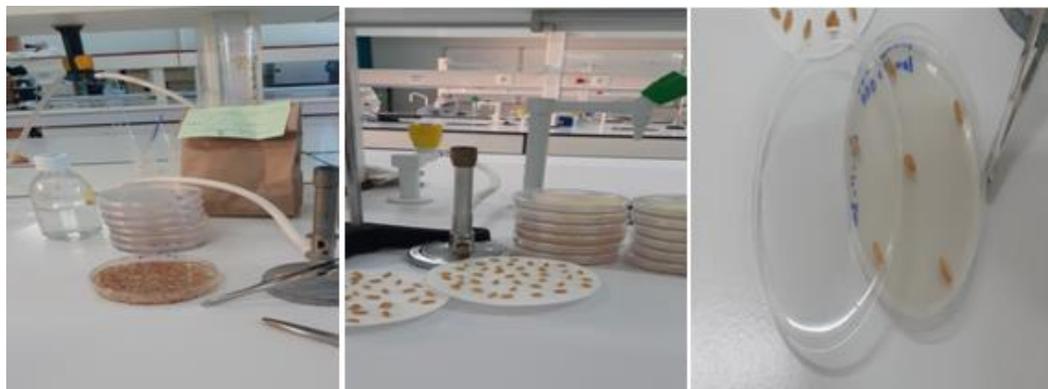


Figure 31. Méthode d'isolement de la mycoflore à partir des grains de blé

2.5. Isolement de la mycoflore des plants du blé

Les parties souterraines (racines) des plants intacts de blé dur et de blé tendre sont lavées à l'eau courante pour enlever le sol, tandis que les parties aériennes (feuilles + tiges) sont séparées des parties souterraines. Les différentes parties de ces plants sont coupées en petits morceaux, Les fragments sont ensuite stérilisés par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium à 2 % pendant 3 minutes, suivi de deux rinçages consécutifs de 3 minutes avec de l'eau distillée stérile pour éliminer les traces d'hypochlorite de sodium (Rubini et al., 2005 ; Larran et al., 2007). Enfin, les morceaux sont séchés sur du papier Wattman stérile sous une hotte à flux laminaire (Fig.37).

Enfin, les différents fragments des plantes stérilisées sont transférés aseptiquement dans les boîtes contenant le milieu DCPA à raison de six fragments par boîte et six répétitions par échantillon. Les boîtes sont mises en incubation dans une étuve sous une température de 26°C pendant 10 à 15 jours.

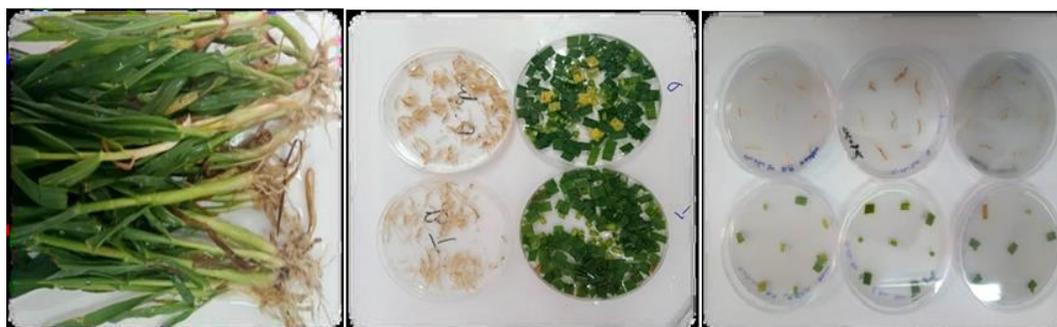


Figure 32. Isolement de la mycoflore associée aux plants de blé dur et tendre

2.6. Observation macro-microscopique

Après la période d'incubation, une croissance importante des moisissures est observée sur les graines et les morceaux de plantes, donnant lieu à l'apparition de plusieurs colonies présentant divers aspects (Fig.38). Pour examiner d'une manière détaillée les colonies obtenues, une analyse macroscopique et microscopique est effectuée. Pour l'examen microscopique, la méthode de Scotch est utilisée, il s'agit de prélever une portion de mycélium à partir d'une culture jeune, en utilisant un morceau de scotch, et de la déposer sur une lame de microscope contenant une goutte de colorant bleu de coton (Chabasse et al., 2002). Les observations microscopiques sont ensuite réalisées à des agrandissements de $\times 10$ et $\times 40$ à l'aide d'un microscope optique.



Figure 33. A, B : Observation macroscopique des champignons des grains et des fragments des plants ; C : Préparation des lames par la méthode de scotch pour l'observation microscopique des champignons

2.7. Caractérisation des champignons isolés

2.7.1. Repiquage sur milieu PDA et SNA

Les colonies avec un mycélium développé sont transférées au milieu PDA neuf. Pour le genre *Fusarium*, le champignon est égalementensemencé dans le milieu SNA. Ces boîtes de culture PDA et SNA sont ensuite placées dans une étuve dont la température est maintenue à 25°C (+-3°C) pendant une période allant de 7 à 12 jours pour favoriser la croissance des champignons.

2.7.2. Lecture des boîtes SNA et PDA

L'identification des différents genres fongiques dans cette étude est basée sur des critères morphologiques, notamment ceux qui sont déterminés par les structures reproductrices (Lanier et al.,

1976, 1978 ; Nelson et al., 1983, Taylor et al., 2004 ; Deacon, 2006 ; Woudenberg, 2013). Ainsi que sur l'analyse de leur morphologie (identification microscopique), avec une utilisation occasionnelle de propriétés biochimiques (Botton et al., 1999). L'identification de la majorité des isolats est faite directement à partir de milieu d'isolement sans nécessité de passer par le milieu SNA et PDA. Dans le cas où les colonies ne présentent pas des spores sur ces milieux, la colonie est repiquée sur SNA, ce dernier étant pauvre provoque la sporulation des champignons et le milieu PDA est utilisé pour la caractérisation macroscopique.

2.8. Préparation des cultures monosporiques

Pour générer une culture monospore, une suspension de spores provenant d'une culture fongique a été diluée dans de l'eau distillée stérile, afin d'atteindre une concentration de 20 conidies/ml, en utilisant un hémocytomètre pour la mesure. Cinq gouttes de cette suspension ont été soigneusement appliquées et étalées en lignes sur la surface d'une boîte de Petri contenant le milieu PDA. Cette boîte est placée pour l'incubation dans une étuve (25°). Après 24 heures d'incubation, des germinations provenant d'une seule spore ont été observées au microscope optique avec un grossissement de x4. Ces germinations ont été aseptiquement prélevées et déposées individuellement sur des boîtes de Petri contenant le milieu PDA. Pour chaque souche, cinq jeunes thalles issus de cinq conidies distinctes ont été transférés pour une culture ultérieure (Leslie et Summerell, 2006).

2.9. Conservation des souches

2.9.1. Sur gélose incliné

La méthode consiste à repiquer les souches fongiques purifiées en tube sur gélose PDA inclinée et les incubées à 25°C pendant 7 jours puis stockées à 4°C (Takahashi et al., 2008 ; Patidar et al., 2005), Cette méthode favorise leur viabilité et limite les possibilités de variations (Botton et al., 1990).

2.9.2. Par cryoconservation

La méthode de congélation a été mise en œuvre en transférant aseptiquement de 2 à 3 disques (d'un diamètre de 6 mm découpés à partir de la gélose d'une culture en croissance) dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml contenant 1 ml d'un mélange à 20% de glycérol et de PDB (Bouillon Pomme de Terre-Dextrose) ; le glycérol agit ici comme un agent de cryoprotection (Nagai et al.,

2005). Ces suspensions de spores sont ensuite stockées au congélateur pour préserver leur viabilité et minimiser les risques de mutation en attendant leur utilisation ultérieure (Botton et al., 1990).

2.10. Expression des résultats

a. Calcul de pourcentage de germination des grains

Le nombre de grains germés est noté pour chaque boîte de Petri après 7 à 8 j d'incubation pour le milieu semi-sélectif (DCPA). A la fin, le nombre total des grains obtenus par échantillon permet de calculer le taux de germination.

$$\text{Taux de germination en \%} = \frac{\text{Nombre de grains germés}}{\text{Nombre de grains ensemencés}} \times 100$$

b. Calcul de pourcentage des grains infectés

Le pourcentage des grains infectés est calculé après 7-12 jours d'incubation des boîtes

$$\% \text{ d'infection} = \frac{\text{Nombre de grains infectés}}{\text{Nombre de grains ensemencé}} \times 100$$

c. Calcul de pourcentage de contamination relatif

Pour chaque échantillon, le pourcentage de contamination relatif est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ de contamination relatif} = \frac{\text{Fréquence de colonisation d'un groupe fongique}}{\text{Fréquence de la colonisation totale}} \times 100$$

d. Calcul de fréquence de détection d'un genre fongique

Pour chaque genre fongique détecté, on calcule la fréquence de détection selon la formule suivante :

$$\text{La fréquence d'un genre fongique} = \frac{\text{Nombre de détection d'un genre fongique donné} \times 100}{\text{Nombre de détections de tous les genres fongiques}}$$

3. Résultats

3.1. Taux de germination

Les résultats de détermination de taux de germination dans le milieu DCPA sont résumés dans le tableau 7. Bien que le taux de germination soit élevé, il est néanmoins influencé par le taux

de contamination des grains. Dans le cas du blé dur de la wilaya de Bouira, le taux de contamination atteint son niveau le plus élevé (100%), tandis que le taux de germination est de 62,03%. En revanche, pour le blé tendre de la wilaya de BBA, bien que le taux de contamination soit estimé à 66%, le taux de germination atteint 97,22%.

Tableau 7. Taux de germination et d'infection des grains de blé dur et tendre

Wilaya	<i>Triticum durum</i>		<i>Triticum aestivum</i>	
	Contamination (%)	Germination (%)	Contamination (%)	Germination (%)
BBA	89,50	92,94	66	97,22
Setif	93,33	87,03	100	87,50
Bouira	100	62,03	100	83,33

3.2. La mycoflore associée aux grains de blé

3.2.1. Etat général de contamination des grains de blé

Un total de 1111 souches de champignons a été isolé, représentant la mycoflore de 26 échantillons de blé prélevés des lieux de stockage. L'état général de la contamination des grains de blé est résumé dans le tableau 8. Il est à noter que le taux de contamination est élevé, avec tous les échantillons de blé contaminés par les champignons. Les résultats obtenus montrent que la moyenne des grains de blé dur contaminés est plus élevée que celle des grains de blé tendre. Et le nombre d'isolats dans le blé dur est supérieur à celui enregistré dans le blé tendre.

Tableau 8. L'état général de contamination des grains de blé dur et tendre.

Type de grain	% des Echantillons contenant aux moins un champignon	% moyenne des grains contaminés	Nombre des isolats fongiques / Nombre des genres identifiés
Blé dur	100	93.17	873/27 genres
Blé tendre	100	88.88	238/17 genres
Total blé	100	91.02	1111/30 genres

3.2.2. Fréquence générale des genres fongiques détectés

3.2.2.1. Blé dur

Les échantillons étudiés sont considérés représentatifs des principales variétés de blé dur cultivées en Algérie. Les résultats obtenus montrent une différence de niveaux de contamination par les champignons isolés. Parmi les genres fongiques les plus fréquemment détectés dans les échantillons de blé dur, *Alternaria* et *Penicillium* se démarquent avec des taux de détection respectivement 17,64% et 17,06%. Le genre *Cladosporium* les suit de près avec un taux de 16,83%. La colonne « autres genres » regroupe divers champignons non spécifiquement mentionnés, mais présentant des pourcentages faibles. Cependant, il est important à noter que le genre *Penicillium* est présent dans 95% des échantillons analysés, alors que le genre *Alternaria* est présent dans 90% des échantillons. (Tableau 9).

Tableau 9. Fréquence de détection des genres fongiques dans les grains de blé dur

	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Rhizopus</i>	Autres genres	Genre non déterminés
Fréquence moyenne de détection	17,64	11,34	17,06	4,32	16,83	2,74	15,90	7,04
% des Echantillons	90	85	95	70	85	45	ND	ND

ND : Non déterminé

3.2.2.2. Blé tendre

Les conclusions concernant la répartition globale des champignons au sein des échantillons de grains de blé tendre sont synthétisées dans le Tableau 10. Les résultats révèlent que l'ensemble des échantillons de blé sont affectés par une contamination fongique, et que des distinctions notables existent quant aux niveaux de contamination observés pour chaque genre fongique rencontré. Le genre *Alternaria* se distingue avec la fréquence de détection la plus élevée, atteignant un taux de 28,57%. Néanmoins, il convient de noter que le pourcentage des échantillons de blé tendre contaminés par chacun des trois champignons suivants : *Alternaria*, *Aspergillus* et *Penicillium* est le même, et il est de l'ordre de 83,33%.

Tableau 10. Fréquence de détection des genres fongiques dans les grains de blé tendre

Genres fongiques	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Rhizopus</i>	Autres genres	Genre non déterminés
Fréquence moyenne de détection	28,57	8,82	17,06	2,11	12,60	2,94	14,39	8,01
% des Echantillons	83,33	83,33	83,33	33,33	50	33,33	ND	ND

3.2.3. Pourcentage de contamination relative par genre fongique

Le Tableau 11 présente une distribution des genres fongiques détectés ainsi que leur pourcentage relatif de contamination au sein des deux espèces de blé. Les résultats révèlent une vaste diversité de champignons isolés dans les grains de blé, avec un total de 30 genres fongiques identifiés au moyen de clés d'identification morphologiques (Lanier et al., 1976, 1978 ; Nelson et al., 1983 ; Taylor et al., 2004 ; Deacon, 2006 ; Woudenberg, 2013).

Les échantillons de blé dur ont manifesté une plus grande variété de genres fongiques que leurs homologues de blé tendre, affichant respectivement la présence de 27 et 17 genres distincts. Quelques genres ne se sont manifestés que dans les échantillons de blé dur, à savoir : *Trichophyton*, *Acremonium*, *Beauveria*, *Chaetomium*, *Arthrographis*, *Microsporium*, *Mucor*, *Gliocladium*, *Exserohilum*, *Botrytis*, *Stachybotrys*, *Immonsia* et *Trichoderma*. À l'inverse, les genres fongiques *Absidia* et *Torula* n'ont été observés que dans les échantillons de blé tendre (Tableau 11), tandis que d'autres champignons sont communs aux deux variétés de blé.

Dans les échantillons de grains de blé, les genres les plus répandus se sont révélés être *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus* et *Cladosporium*. Bien qu'*Alternaria* domine dans les grains de blé tendre avec un pourcentage de (28,08%), son abondance est plus marquée dans les grains de blé tendre, où il représente un pourcentage plus élevé par rapport à celui des grains de blé dur (15,96%) . Tandis que le genre *Penicillium* domine dans les grains de blé dur avec un pourcentage de (17,28%) par rapport les autres genres fongiques détectés. Le genre *Cladosporium* occupe la troisième position avec un pourcentage de 16,52% dans les échantillons de blé dur, tandis qu'il atteint 11,33% dans les échantillons de blé tendre. En ce qui concerne le taux de contamination par *Aspergillus*, celui-ci s'est avéré plus élevé dans les échantillons de blé dur (11,73%) par rapport à ceux de blé

tendre (9,61%). Les autres genres affichent des pourcentages de présence plus faibles, inférieurs à 5%. On signale pour la première fois la présence d'un champignon entomopathogène dans les grains de blé, il s'agit d'*Akanthomyces muscarius*, une étude détaillée sur ce champignon est relatée dans la 3eme partie de notre document.

Tableau 11. Pourcentage de contamination relatif dans les grains de blé dur et tendre.

Genres	Blé dur	Blé tendre
	% des champignons	% des champignons
<i>Alternaria</i>	15,96	23,08
<i>Penicillium</i>	17,28	16,10
<i>Aspergillus</i>	11,73	9,61
<i>Fusarium</i>	3,87	3,77
<i>Cladosporium</i>	16,52	11,33
<i>Rhizopus</i>	3,14	3,30
<i>Scopulariopsis</i>	3,51	0,88
<i>Aureobasidium</i>	3,75	0,00
<i>Ulocladium</i>	1,70	1,89
<i>Stemphilium</i>	0,28	1,45
<i>Trychophyton</i>	0,39	0,00
<i>Phoma</i>	4,41	0,37
<i>Acremonium</i>	1,42	0,00
<i>Beauveria</i>	0,03	0,00
<i>Basipetospora</i>	0,01	0,00
<i>Akanthomyces</i>	0,32	0,88
<i>Chaetomium</i>	0,09	0,27
<i>Arthographis</i>	0,09	0,00
<i>Microsporium</i>	0,11	0,00
<i>Mucor</i>	0,08	0,00
<i>Gliocladium</i>	0,12	0,00
<i>Exserohilum</i>	0,17	0,00
<i>Botrytis</i>	0,56	0,00
<i>Stachybotrys</i>	0,33	0,00
<i>Immonisa</i>	2,87	0,00
<i>Cladophialophora</i>	1,29	5,26
<i>Trichoderma</i>	0,22	0,00
<i>Peacylomyces</i>	1,84	0,72
<i>Abseidia</i>	0,00	0,37
<i>Torula</i>	0,00	5,16
<i>Autres Zygomycetes</i>	0,00	0,45
<i>Non identifiés</i>	7,04	8,01

3.2.4. Espèces fongiques rencontrés sur les grains de blé

L'analyse directe des isolats obtenus à partir des grains de blé dur et tendre sur le milieu de culture DCPA a permis l'identification de 30 genres fongiques.

La plupart des champignons isolés sont des deutéromycètes. Les genres fongiques isolés et identifiés à partir des milieux DCPA, PDA et SNA sont : *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Scopulariopsis*, *Aureobasidium*, *Stemphileium*, *Ulocladium*, *Epicoccum*, *Phoma*, *Acremonium*, *Trichophyton*, *Exserohilum*, *Akanthomyces*, *Cheatomium*, *Torula*, *Arthrographis*, *Microsporium*, *Peacylomyces*, *Mucor*, *Cladophialophora*, *Abeidia*, *Botrytis*, *Stachybotrys*, *Immonsia*, *Gliocladium*, *Basipetospora*, *Beauveria*, *Trichoderma* et autres zygomyètes.

En isolant et en identifiant les isolats, nous avons trouvé qu'*Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* et *Fusarium* sont les genres les plus abondants. Chacun de ces genres comprend plusieurs espèces. Grâce aux guides d'identification, il est possible d'identifier ces genres ainsi que leurs espèces respectives.

3.2.4.1. Genre *Alternaria* et sa diversité

Le genre *Alternaria* appartient au phylum d'Ascomycota. Ce phylum est le plus représenté dans cette étude.

L'identification est principalement basée sur la formation, le regroupement, la couleur et la forme des spores (conidies). *Alternaria* est facilement reconnaissable par ses conidies, qui sont multicellulaires, avec des septas qui se croisent (dictyospores), et ont une forme caractéristique.

Le genre *Alternaria* a été détecté sur la majorité des échantillons des grains de blé dur et tendre analysés. La prédominance du genre *Alternaria* est due peut-être à sa croissance rapide et à sa diffusion épiphytique (Sieber, 1985 ; Crous et al., 1995). Différentes espèces d'*Alternaria* sont observées sur les échantillons de blé, elles sont identifiées et différenciées par leur aspect macroscopique (la couleur de thalle) et microscopique (la forme des conidies).

Sur le milieu DCPA et PDA, les colonies sont gris-vert foncé. Le revers est brun ou bien gris. Sous microscope optique, les hyphes se divisent en branches. Les dictyospores sont en forme de chaîne, lisses, piriformes à allongées, caractérisées par la présence d'un bec plus ou moins prononcé (Fig.39).

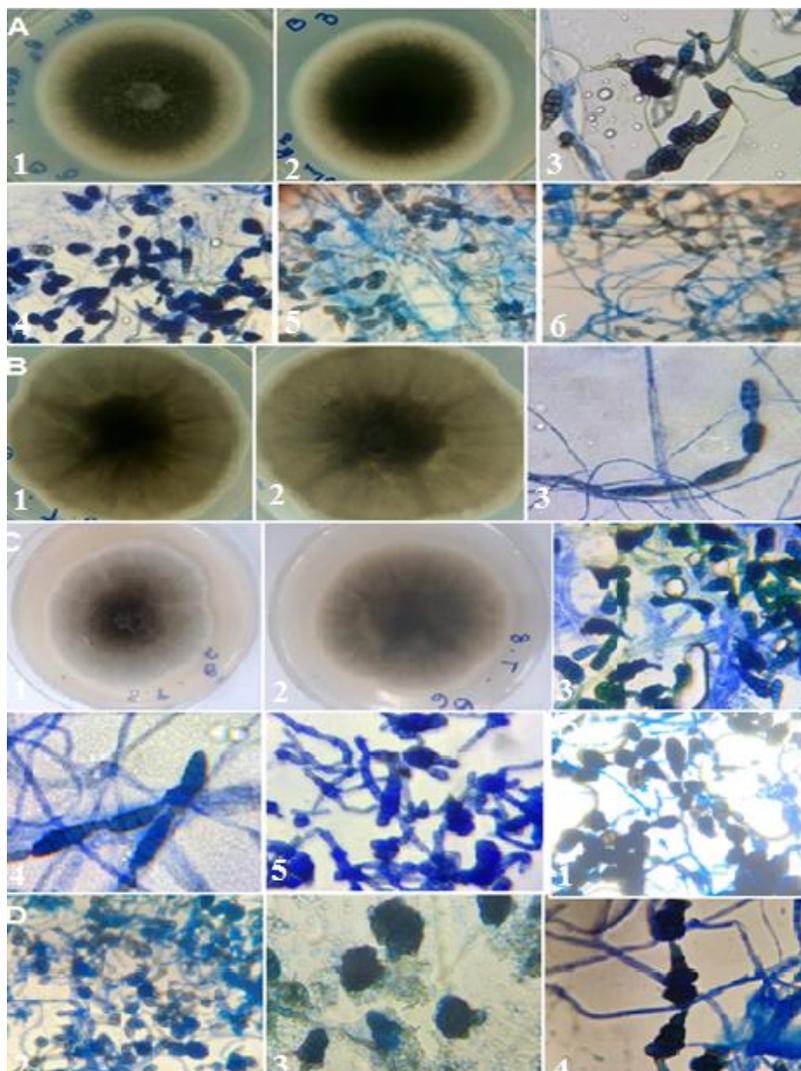


Figure 34. Diversité du genre *Alternaria* : A(1,2,3,4,5,6) : *Alternaria alternata* ; B(1,2,3) : *Alternaria sp1* ; C(1,2,3,4,5) : *Alternaria tenuissima* ; D(1, 2, 3,4) : *Alternaria sp2*

3.2.4.2. *Aspergillus* et sa diversité

Les *Aspergillus* sont considérés comme des champignons de stockage, ils n'exigent pas une forte humidité pour leurs croissances, ils ont une forme particulière et des couleurs vives qui les rendent assez aisément identifiables. Ils sont caractérisés par un mycélium cloisonné et un conidiophore non cloisonné, de longueur variable, présentant un gonflement à son extrémité (la tête aspergillaire). Ce genre renferme plusieurs espèces. Dans cette étude 6 espèces ont été isolées : *A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. candidus*, *A. nidulans* (Fig.40).

- *Aspergillus flavus*

Sur PDA, les colonies sont duveteuses, ils ont une couleur vert olive à bord légèrement jaune, Leur croissance est rapide.

Au microscope, Le conidiophore est longue, les conidies sont lisses, globuleuses à ellipsoïdes. La tête conidienne est unie à bisériée.

- *Aspergillus niger*

Sur PDA, les colonies ont un aspect poudreux blanc au départ et entièrement noir (d'où niger) après sporulation. Le revers est de couleur jaune pâle, leur croissance est rapide.

Au microscope, le conidiophore est de longueur variable, non septé et lisse, la tête aspergillaire à une organisation unisériée avec seulement des phialides ou bisériée avec en plus les métules déposées sur tout le pourtour de la vésicule. Les conidies sont en chaînette, de couleur brune.

- *Aspergillus fumigatus*

Sur PDA, les colonies sont de couleur bleu-vert puis vert foncé présentant un aspect velouté avec des bordures blanches. Le revers est incolore à gris pâle. Leur croissance est rapide. Au microscope, la tête conidienne est piriforme allongée (en forme de massue, le conidiophore lisse s'élargit au niveau de la tête) unisériée et les phialides se trouvent sur la moitié supérieure. Les conidies sont sphériques à sub-sphériques, et regroupées en chaînes.

- *Aspergillus terreus*

Sur milieu PDA, les colonies duveteuses à poudreuses, de teinte beige à brune noisette ou cannelle, le verso est jaune à brun orange, la croissance est rapide.

Sous microscope optique, le conidiophore est lisse, la vésicule est globuleuse, les phialides sont portées par des métules insérées surtout sur la partie supérieure de la vésicule, les spores sont de petites taille et globuleuses, la tête conidienne est bisériée et a un aspect d'éventail.

- *Aspergillus nidulans*

Sur milieu PDA, les colonies sont typiquement vertes avec des cleistothèces rouge-brun foncé se développant à l'intérieur et sur la couche de conidies. Le revers peut être de couleur olive à gris terne ou brun pourpre. Les têtes conidiennes sont courtes, et bisériées. Les conidies sont globuleuses et à parois rugueuses. la forme sexuée de ce champignon est *Emericella nidulans* ; il est caractérisé par la présence des cléistothèces globuleux et la présence de « Hullecells ».

- *Aspergillus candidus*

Sur milieu PDA, les colonies sont poudreuses blanches à crèmes, le verso est incolore ou jaune pâle, sa croissance est lente. Sous microscope optique, le conidiophore est lisse et incolore, la vésicule est globuleuse, les phialides sont insérées sur la vésicule par l'intermédiaire de larges métules, la tête aspergillaire est bisériée et unisériée pour les têtes jeunes.

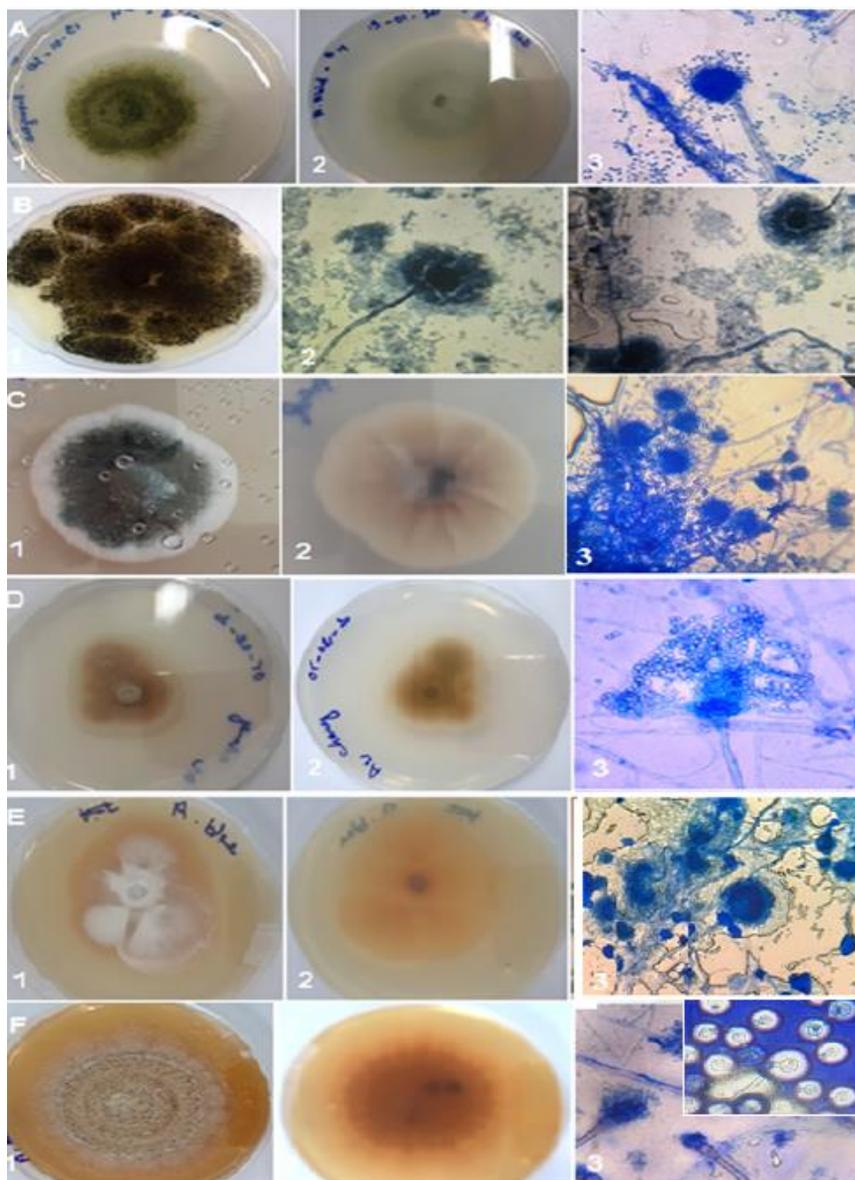


Figure 35. Diversité du genre *Aspergillus* : A (1,2,3) : *Aspergillus flavus* ; B (1,2,3) : *Aspergillus niger* ; C (1,2,3) : *Aspergillus fumigatus* ; D (1,2,3) : *Aspergillus terreus* ; E (1,2,3) : *Aspergillus candidus* ; F (1,2,3) : *Aspergillus nidulans*

3.2.4.3. *Penicillium* et sa diversité

Sur PDA, les colonies se caractérisent par une croissance rapide, avec un aspect velouté, bleu-vert ou jaune-vert. Sur élevée au centre de culture. Le revers de la colonie est de couleur grise ou parfois incolore (Fig.41).

Sous microscope optique : le mycélium est cloisonné. Le conidiophore est également cloisonné et porte des phialides déposés en verticilles, elles sont insérées directement au conidiophore (*Penicillium* monoverticillé), ou bien à travers des métules (*Penicillium* biverticillé ou triverticillé). Les conidies sont directement attachées aux phialides, elles sont globuleuses, lisses, formant de longues chaînes irrégulières (Fig.41).

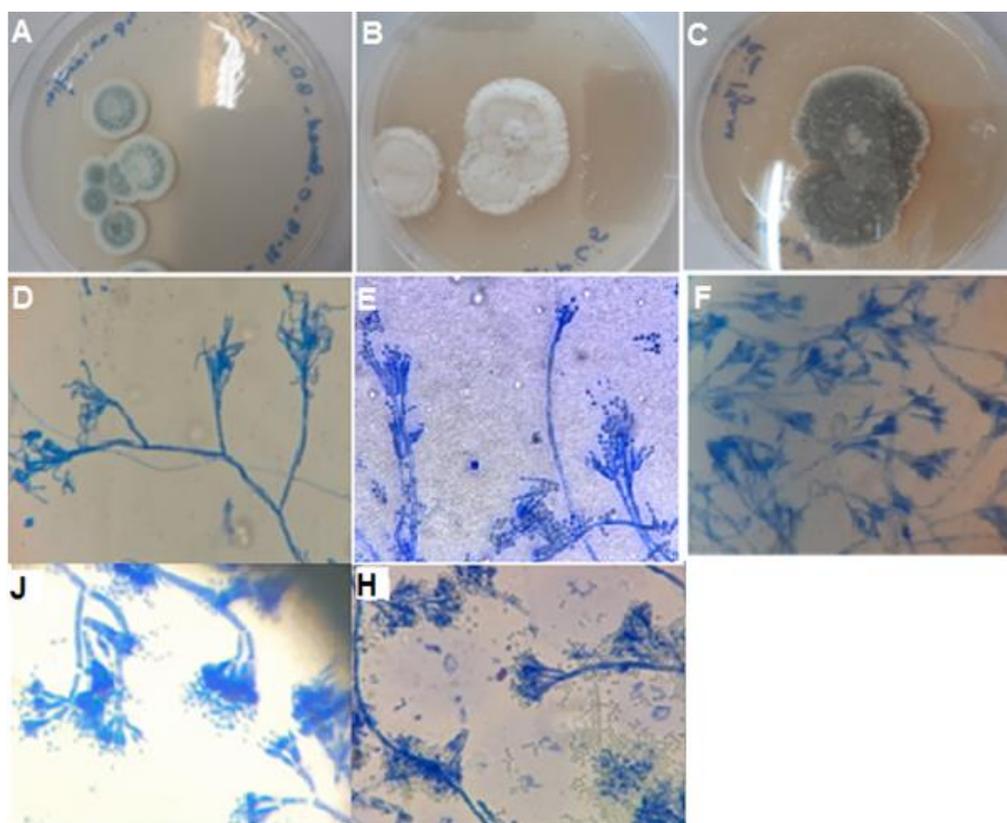


Figure 36. Diversité du genre *Penicillium* : A, B, C : aspect macroscopique de différentes espèces ; D, E : *Penicillium* monoverticillé ; F : *Penicillium* biverticillé ; J, H : *Penicillium* triverticillé.

3.2.4.4. *Fusarium* et sa diversité

Dans notre étude, Le genre *Fusarium* est faiblement isolé à partir les grains de blé, probablement car il exige un taux d'humidité élevé pour sa croissance, la plupart des espèces du ce genre sont pathogène au blé. Dans les grains, 4 espèces ont été isolées sur le milieu DCPA et SNA : *F.graminearum*, *F.oxysporum*, *F.solani*, et *F.verticillioides* (Fig.42).

- ***Fusarium graminearum***

Sur le milieu PDA, les colonies sont cotonneuses présentant une couleur rose ou rouge à pourpre devenant brun vineux.

Au microscope, on note l'absence de microconidies. Les macroconidies sont fusiformes, courbes, septées, à cellule terminale longue et pointue. Les chlamydospores sont intercalaires, globuleuses, formées par le mycélium.

- ***Fusarium oxysporum***

Sur PDA, les colonies ont une couleur pêche, rose saumon à violet. Le revers est pourpre. Le thalle est à croissance modérée.

Au microscope, les microphialides sont isolées ou sur de courts conidiophores ramifiés. Les microconidies sont nombreuses, ovoïdes. Les macroconidies sont dispersées ou groupées en sporodochies. Les macroconidies sont fusiformes, septées, plus ou moins courbes, pointues aux deux extrémités,

- ***Fusarium verticillioides***

Sur PDA, le thalle est de couleur pêche ou rose saumon devenant violet, a un aspect poudreux. Le revers est violet foncé.

Au microscope, les microphialides sont tubulaires et elles sont formées sur le mycélium. Les microconidies sont fusiformes, unicellulaires se disposent en chaînes. Les macroconidies sont en fuseau allongé, septées, rares chez certains isolats.

- ***Fusarium solani***

Sur PDA, les colonies sont à croissance rapide, 4,5 cm en quatre jours, le mycélium aérien blanc à crème, devenant brun, le revers est crème à brun.

Au microscope, les macroconidies se forment à partir de conidiophores courts et ramifiés qui peuvent former des sporodochies, fusiformes, cylindriques, souvent modérément incurvées. Les microconidies sont généralement abondantes, cylindriques à ovales, formées par un à deux cellules

et sur des longues phialides latérales. Les chlamydo-spores sont hyalines, globuleuses, formées seules ou par paires sur de courtes branches hyphales latérales.

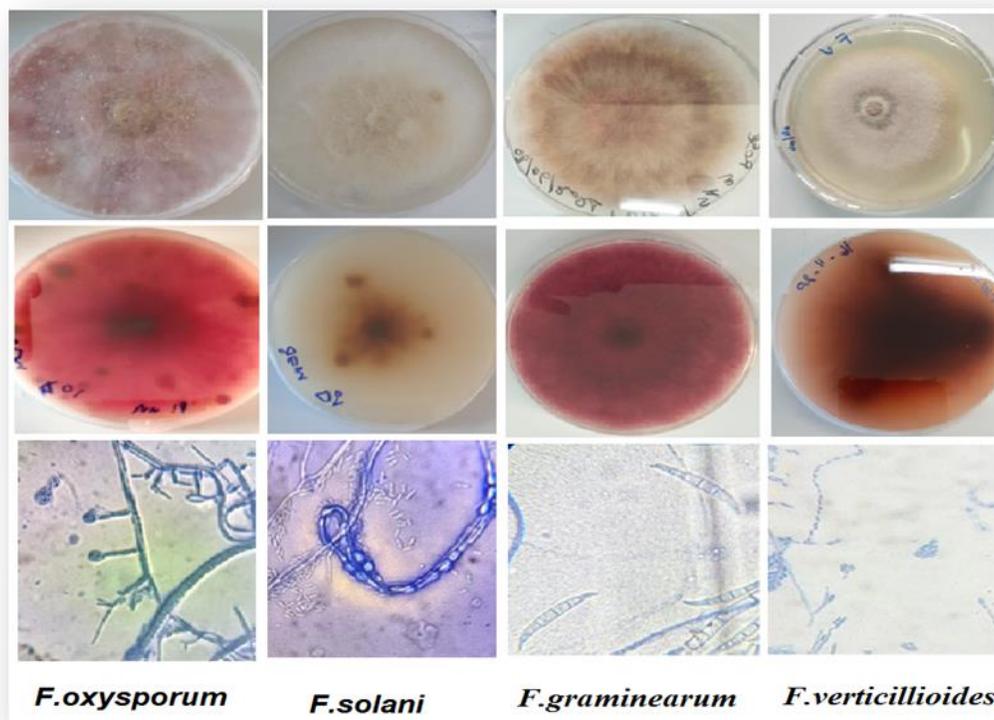


Figure 37. Espèces du genre *Fusarium* rencontrées sur les grains de blé

3.2.4.5. *Cladosporium* et sa diversité

Ce genre a été parmi les genres les plus abondants dans notre étude. Les espèces de *Cladosporium* ont une distribution cosmopolite. Quelques espèces de ce genre sont pathogènes pour les plantes et d'autres espèces de *Cladosporium* sont également connues pour être des endophytes communs (Riesen et Sieber 1985, Brown et al., 1998, El-Morsy, 2000).

Sur PDA, les colonies ont une croissance lente, principalement de couleur brun olivâtre à brun noirâtre, mais aussi parfois de couleur grise, chamois ou brune, souvent poudreuses en raison de la production d'abondantes conidies. Le revers est olivacé-noir (Fig.43).

Au microscope, les hyphes végétatifs, les conidiophores et les conidies sont également pigmentés. Les conidies sont produites en chaînes acropétales, elles sont de diverses formes et tailles d'une même espèce, elle se compose d'une à quatre cellules.

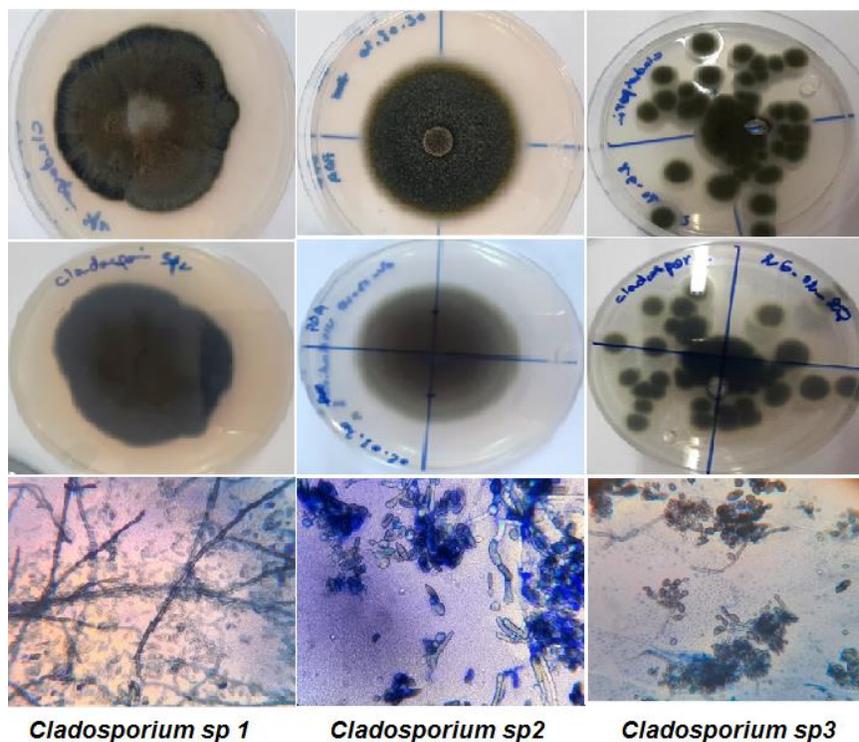
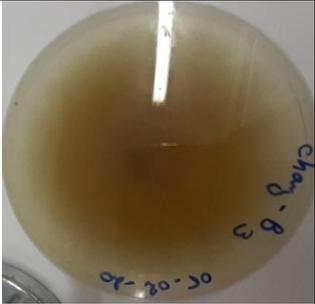
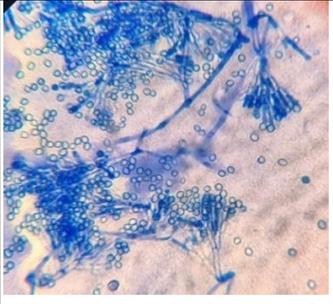
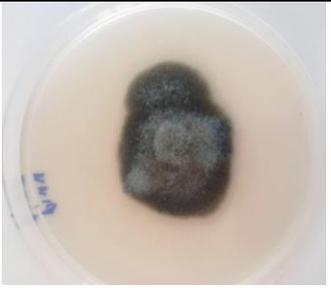
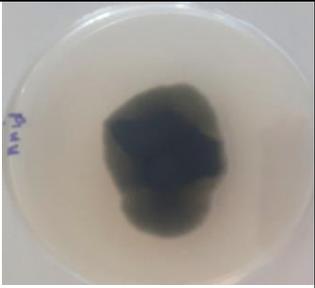
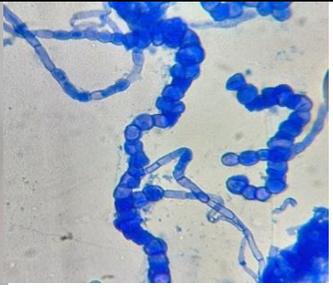
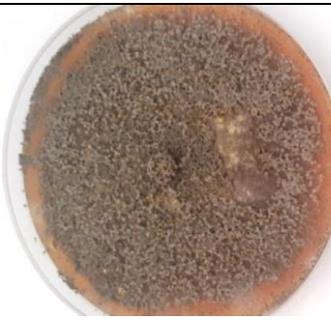
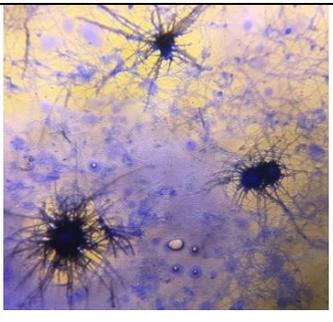
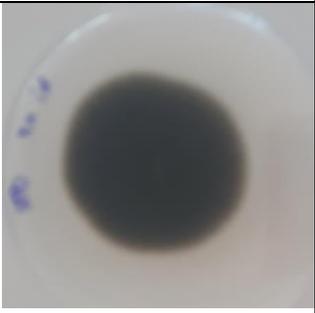
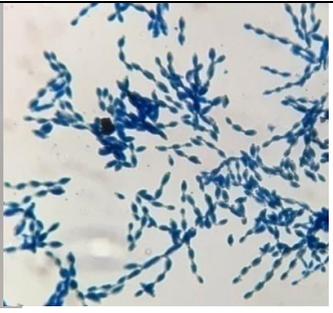


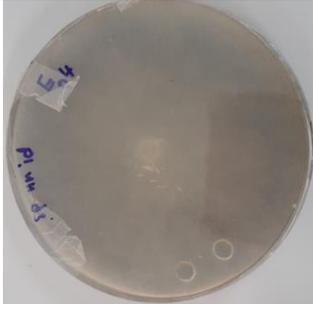
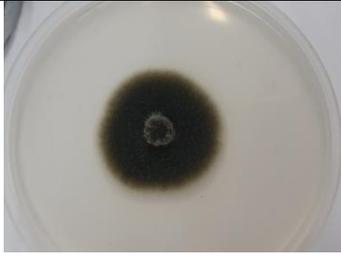
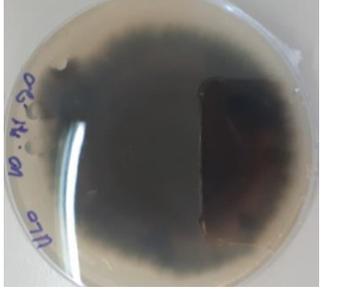
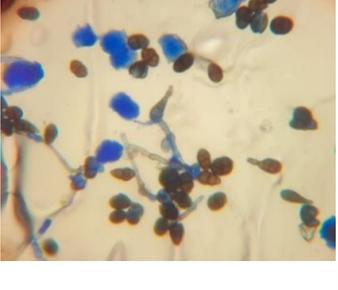
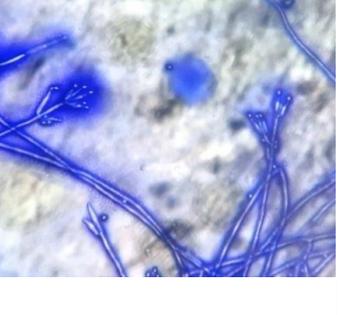
Figure 38. Aspect macro et microscopique des espèces du genre *Cladosporium*

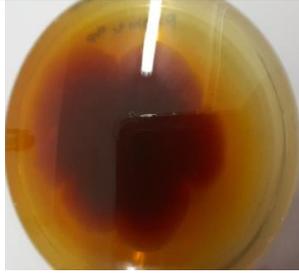
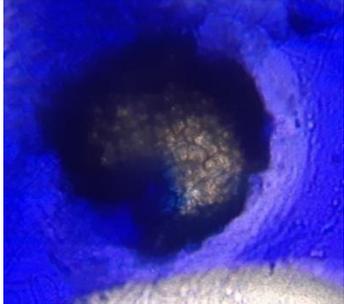
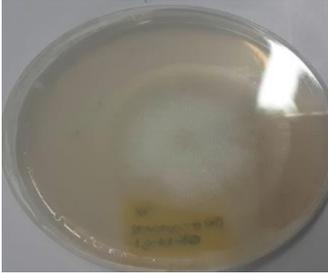
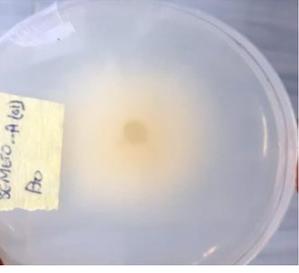
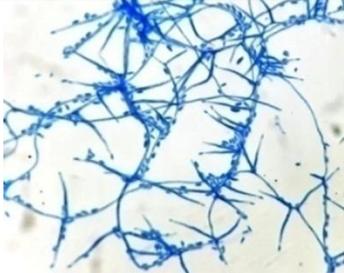
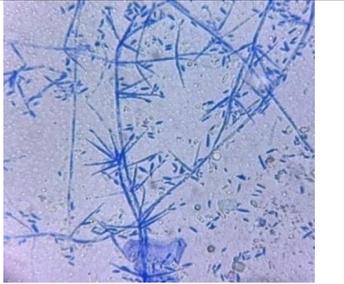
3.2.4.6. Autres genres fongiques

Divers autres genres fongiques appartenant au phylum Ascomycota, ils ont été isolés à partir des grains de blé en utilisant le milieu DCPA. La majorité de ces genres se révèlent être des dématiés, en raison de la sélection spécifique du milieu d'isolement, se distinguant par des hyphes mélanisés montrant une teinte brun foncé à noire. Parmi les champignons dématiés isolés, on peut citer : *Ulocladium*, *Stemphylium*, *Aureobasidium*, *Cladophialophora* et *Exserohilum*. Les autres champignons appartiennent au même phylum et présentent des hyphes hyalins ou incolores, à l'instar de : *Scopulariopsis*, *Peacylomyces*, *Acremonium*, *Akanthomyces*, *Beauveria* et *Trichoderma*. En outre, des espèces du phylum zygomycota ont été identifiées, telles que *Rhizopus*, *Mucor* et *Absidia* (voir tableau 12). L'identification de ces genres fongiques a été réalisée à l'aide d'approches morphologiques spécifiques de détermination. (Lanier et al., 1976, 1978; Nelson et al., 1986 ; Taylor et al., 2004; Deacon, 2006 ;Woudenberg, 2013).

Tableau 12. L'aspect macro et microscopique de quelques champignons isolés

Le genre fongique	Aspect macroscopique (recto)	Aspect macroscopique (verso)	Aspect microscopique
<i>Scopulariopsis</i>			
<i>Aureobasidium</i>			
<i>Chaetomium</i>			
<i>Cladophialophora</i>			

<i>Rhizopus</i>			
<i>Ulocladium</i>			
<i>Stachybotrys</i>			
<i>Stemphylium</i>			
<i>Peecilomyces</i>			

<p><i>Phoma</i></p>			
<p><i>Acremonium</i></p>			
<p><i>Akanthomyces muscarius</i></p>			

3.3. Mycoflore associée aux Plants du blé

3.3.1. État général de contamination

Les résultats de l'évaluation globale de la contamination des plants de blé révèlent une observation intéressante, tous les plants analysés abritent des champignons, y compris les parties aériennes et racinaires, ayant une apparence saine. Un total de 285 isolats fongiques a été recensé au sein des plants de blé. Il est à noter que le nombre d'isolats présents dans les plants de blé tendre dépasse celui relevé dans les plants de blé dur. De plus, la diversité des genres fongiques identifiés diffère entre les deux espèces du blé, avec 10 genres identifiés dans les échantillons de blé dur, tandis que le nombre des genres dans les échantillons de blé tendre se limite à 8.

Tableau 13. L'état général de contamination des plants de blé dur et tendre

Les plants de blé	% des Plants contenant au moins un champignon	% moyenne Des parties des plants contaminés	Nombre moyen des isolats/genres fongiques identifiés
Blé dur	100%	100%	126/10
Blé tendre	100%	100%	159/8
Total blé	100%	100%	285

3.3.2. Fréquence générale des genres fongiques trouvés

3.3.2.1. Blé dur

Tableau 14. Pourcentage de détection des champignons sur les plants de blé dur

Genre fongiques	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Rhizopus</i>	Levures	Autres genres	Genre et /ou espèces non déterminés
Fréquence moyenne de détection	7,94	18,25	13,49	29,12	4,76	23,81	11,10	4,76
% des Echantillons	50	100	50	75	25	25	ND	ND

3.3.2.2. Blé tendre

Tableau 15. Pourcentage de détection des champignons sur les plants de blé tendre

Genre fongiques	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Acremonium</i>	Levures	Autres genres	Genre et /ou espèces non déterminés
Fréquence moyenne de détection	13,71	16,07	1,33	39,92	3,57	11,35	1,85	6,31
% des Echantillons	100	100	25	100	50	25	ND	ND

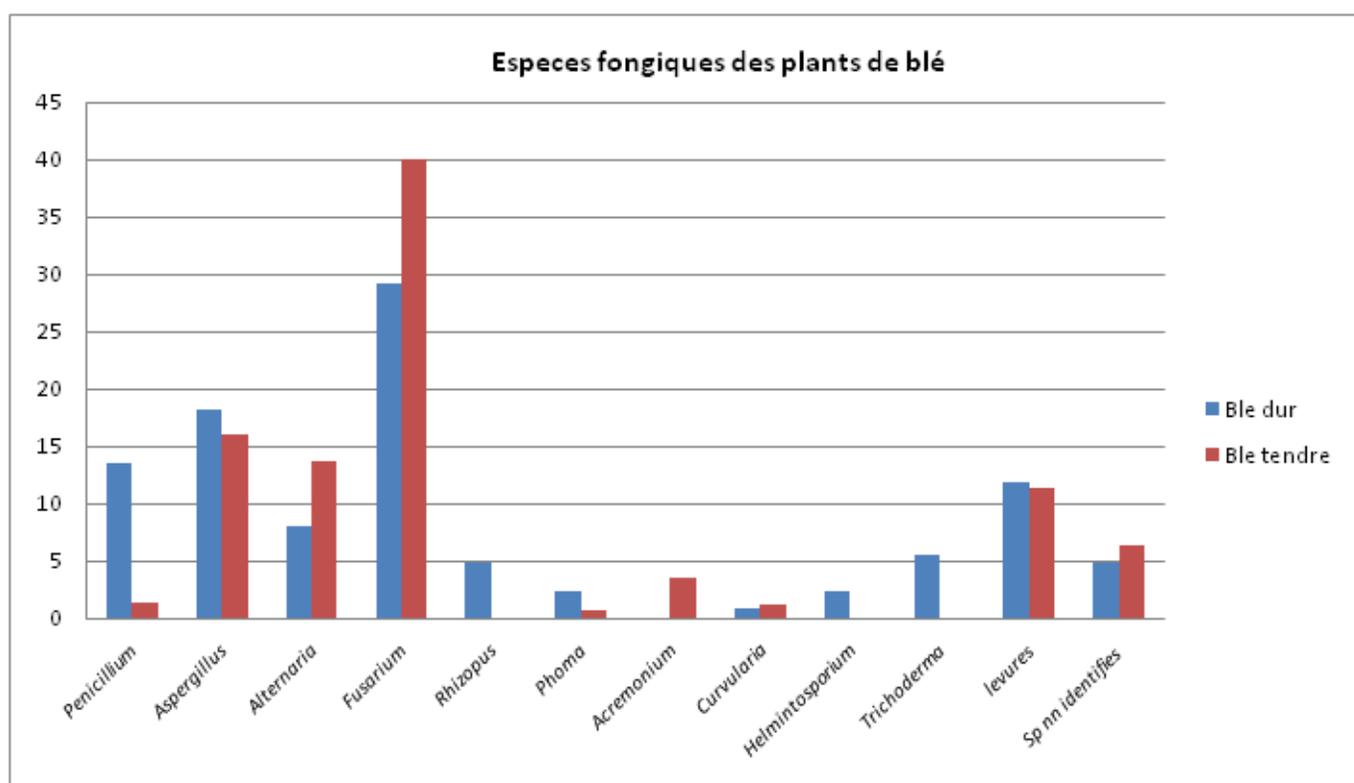


Figure 39. Pourcentage de contamination relatif des plants de blé dur et tendre

Selon les résultats de l'isolement de la mycoflore associée aux plants de blé (voir Fig.44), des différences significatives ont été observées dans les niveaux de contamination entre les champignons isolés. Parmi les genres fongiques détectés, *Fusarium* prédomine avec un taux de détection de 40% sur les plants de blé tendre et de 29% sur les plants de blé dur. Les genres *Aspergillus* et *Alternaria* sont également détectés sur les deux espèces de blé, présentant des proportions similaires. Cependant, le genre *Penicillium* a montré une présence plus marquée sur les plants de blé dur par rapport au blé tendre. De plus, des champignons phytopathogènes tels que *Drechslera* (*Helminthosporium*) et *Curvularia lunata* ont été détectés, d'autre part, des champignons bénéfiques ont été isolés comme le champignon *Trichoderma sp.* L'isolement des levures a été réalisé à l'aide du milieu SDA (Sabouraud Dextrose Agar).

3.3.3. Genres fongiques rencontrés sur les plants de blé

Pour rappel, le milieu DCPA est un milieu sélectif pour *Fusarium spp.*, mais peut également être utilisé pour isoler plusieurs autres champignons tels que *Alternaria*, *Phoma*, *Pleospora*, *Helminthosporium*, *Drechslera*, *Curvularia*, etc. (Ali et al., 1991). Les colonies fongiques développées sur les racines du blé tendre et du blé dur étaient blanches à roses avec des hyphes abondants, tandis que les colonies développées sur la partie aérienne étaient majoritairement noires et le mycélium aérien était faiblement développé.

L'analyse microscopique directe de ces isolats à partir de milieu DCPA a permis de déceler sur la partie racinaire du blé la présence majoritaire du genre *Fusarium* et en faible fréquence sur le milieu SDA, la présence d'autres espèces comme *Aspergillus* et *Penicillium*, sur ce milieu, on a remarqué aussi la présence des levures. Sur la partie aérienne, on remarque qu'il y a une diversité des souches fongiques isolées sur les deux milieux par rapport à la partie racinaire, les souches isolées sont : *Fusarium*, *Alternaria*, *Curvularia*, *Helminthosporium*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Phoma*, *Acremonium* et des levures.

3.3.3.1. *Fusarium* et sa diversité

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* qui sont présents dans la partie racinaire du blé. Dans la partie aérienne, trois espèces ont été identifiées, il s'agit du *Fusarium graminearum* isolé à partir de la partie aérienne de blé dur cultivé

sur DCPA et du *F. dimerum* et *F. chlamydosporum* sont isolés à partir de la partie aérienne du blé tendre (Fig.45).

- ***Fusarium culmorum***

Sur PDA, la croissance est rapide (le diamètre de la colonie est 8cm après 5jours d'incubations), avec un mycélium aérien dense, sa couleur est généralement blanc rosé.

Au microscope optique, on remarque l'absence des microconidies sur les 3 milieux. Les macroconidies observés sur le milieu SNA sont robustes, courtes, distinctement cloisonnées, à parois épaisses. La face ventrale est presque droite, mais la face dorsale est quelque peu incurvée, La forme de la cellule basale est comme un pied peu développé.

- ***Fusarium lateritium***

Sur PDA, cette souche est caractérisée par une croissance lente. (Le diamètre de colonie est 2.5 cm après 5 jours d'incubation). Le mycélium n'est pas dense et sa couleur est blanche avec des bords orange pâle.

Au microscope, les macroconidies sont nombreuses et peuvent s'étendre sur toute la surface de la colonie. Elles ont une longueur moyenne, cloisonnées, 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 d'un bec caractéristique et la forme de la cellule basale est comme un pied. Les microconidies sont présentes. Elles sont ellipsoïdales, fusiformes ou en forme de massue, avec de 0-3 cloisons.

- ***Fusarium chlamydosporum***

Sur le milieu PDA, les colonies ont une croissance rapide, avec un mycélium aérien abondant, rose foncé ou rouge, le centre a une couleur jaune, le revers est rouge carmin à brun.

Au microscope, les conidiophores sont dispersés sur le mycélium aérien. Les macroconidies sont rarement produites et apparaissant uniquement sur les phialides sporodochiques, généralement septés, légèrement courbés, sans cellule distincte en forme de pied. Les microconidies sont fusiformes, arrondies apicalement et arrondies vers la base, unicellulaires à un à trois septas. Les chlamydospores sont abondantes et intercalaires.

- ***Fusarium dimerum***

Sur PDA, les colonies sont à croissance lente ; de surface généralement orange à abricot foncé, le mycélium aérien est parfois floclulé et blanchâtre.

Au microscope, les macroconidies sont fortement incurvées et pointues à l'apex, le plus souvent composée d'un à trois septas. Les microconidies sont absentes. Les chlamydo-spores sont pour la plupart intercalaires, et rarement terminales, sphériques à ovoïdes, simples ou en chaînes.

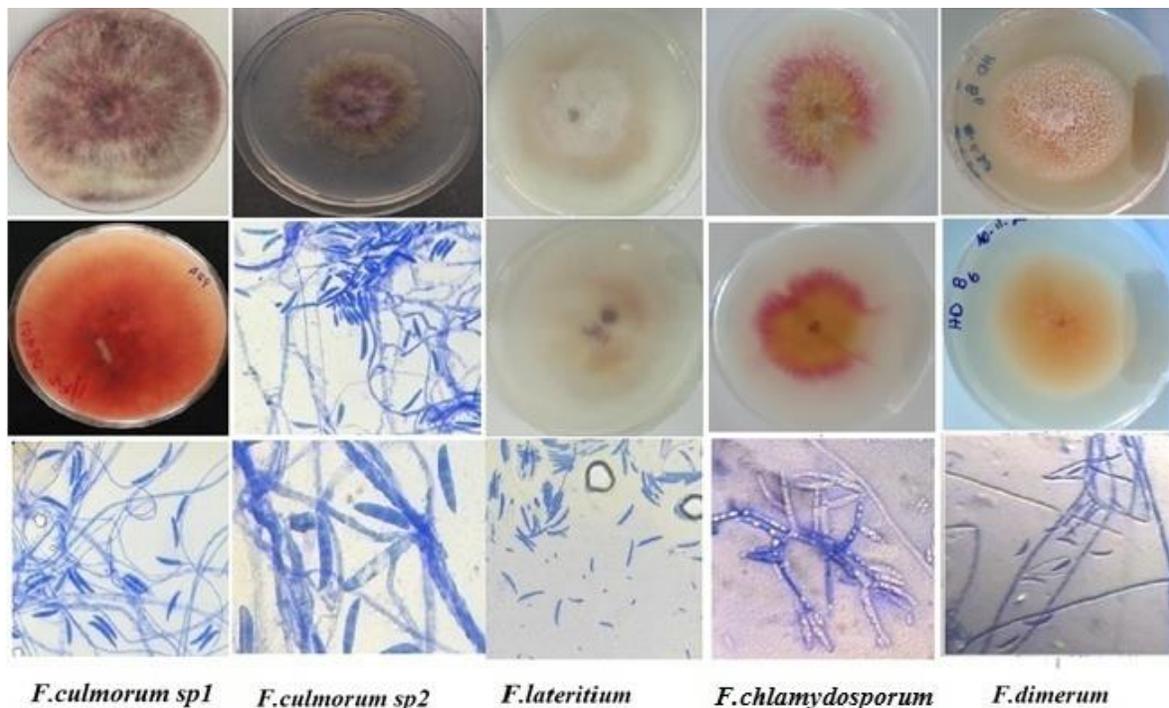


Figure 40. Espèces du genre *Fusarium* détectées dans les plants de blé

3.3.3.2. *Curvularia lunata*

C'est espèce appartient au Deutéromycète, et à la famille des dématiaceae, elle est une espèce phytopathogène des graminées, et elle peut infecter les céréales.

Sur le milieu PDA, les colonies sont noires, duveteuses. Le revers est noir, la croissance est rapide. Sous microscope optique, les conidiophores sont dressés, non ramifiés, septés, brun foncé. Les conidies sont à parois lisses, brun olivâtre, pluricellulaire avec la cellule terminale un peu plus pâles ; elles sont de forme ovoïde à largement clavée, courbées au niveau de la cellule subterminale, possédant 3 à 4-septa, la cellule subterminale est renflée et nettement plus grande que les autres (Fig.46).

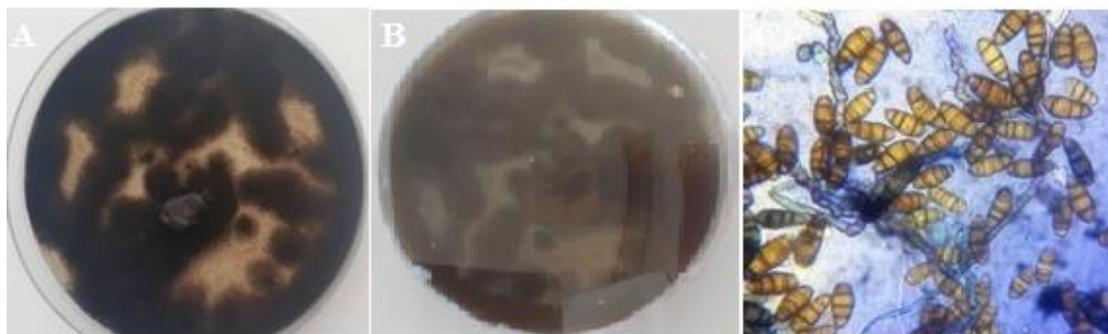


Figure 41. Aspect macro et microscopique de *Curvularia lunata*

3.3.3.3. *Drechslera*

Ce genre comprend plusieurs espèces phytopathogènes de blé.

Sur le milieu PDA, les colonies ont une croissance rapide, de type suédé à duveteux, de couleur brune à brun noirâtre avec un revers noir.

Sous microscope, les conidies sont brun pâle à brun foncé, généralement cylindriques ou subcylindriques, droites, à parois lisses, et se forment à travers un pore (poroconidies) dans un conidiophore géniculé à elongation sympodiale. Les conidies sont transversalement septées (phragmoconidies). (Fig.47).



Figure 42. A, B : conidies de *Drechslera* ; C : élongation d'un conidiophore et la formation des conidies

3.3.3.4. *Trichoderma*

Les espèces de ce genre ayant une activité d'antagoniste et hyper-parasite contre d'autres champignons et sont utilisées comme des agents de biocontrôle ou lutte contre plusieurs maladies.

Sur le milieu PDA, la croissance est très rapide et extensive (8cm de diamètre au 2-3 jours), les colonies sont initialement blanches puis on observe l'apparition des anneaux verdâtres, le revers est incolore. Sous microscope optique, sur les hyphes septés hyalins des conidiophores apparaissent et ils portent des phialides de petite taille de forme d'une quille, les conidies sont globuleuses, elles sont rassemblées en amas au sommet des phialides. (Fig.48).

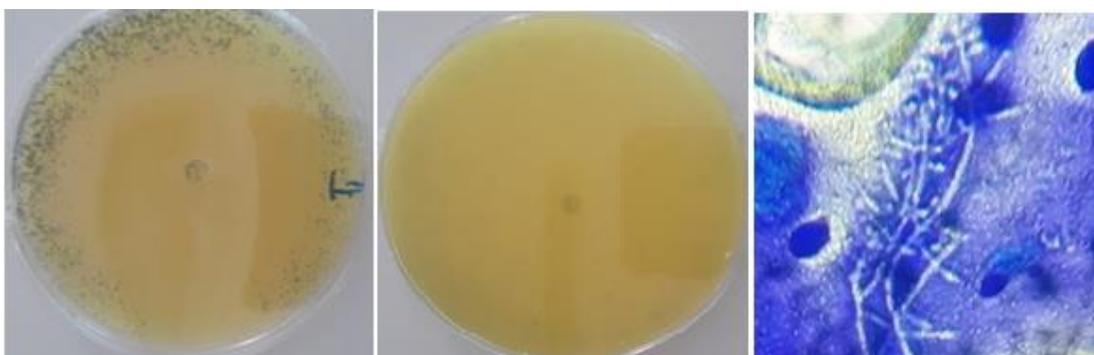


Figure 43. Aspect macro et microscopique d'une souche isolée de *Trichoderma sp*

3.3.4. La mycoflore associée au blé dans les trois wilayas d'étude

3.3.4.1. Comparaison entre les trois wilayas

Le tableau 16 résume l'état générale de la contamination des grains de blé dans les trois wilayas, on remarque que tous les échantillons de blé dur et tendre sont infectés par les champignons alors que le pourcentage d'infection des échantillons est estimé par 100% dans les trois wilayas, toutefois la moyenne des grains infectés dans la wilaya de Bouira est supérieure à celles de la wilaya de Setif et BBA, elle est de l'ordre de 100%, 96,66% et 77,7% respectivement. Cependant, le nombre des genres identifiés dans la wilaya de BBA est supérieur à celui rencontré dans les wilayas de Bouira et Setif.

Tableau 16. État général de contamination des échantillons des grains de blé dans les trois wilayas

Wilaya	% des échantillons contenant aux moins un champignon	% Moyenne des grains contaminés	Nombre des isolats fongiques/genres rencontrés
Bouira	100	100	274/17genres
Bordj Bou Arreridj	100	77,7	544/22genres
Setif	100	96,66	297/15 genres

3.3.4.2. Fréquence des genres fongiques trouvés

Le tableau 17 synthétise les pourcentages de détection des genres fongiques les plus prédominants. Les résultats obtenus de l'analyse de la mycoflore présente dans les grains de blé dur et tendre dans les trois wilayas révèlent une remarquable diversité des espèces fongiques. Parmi cette diversité, les genres les plus abondants sont *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Cladosporium*.

En analysant les spécificités de chaque wilaya, il en ressort que dans la wilaya de Bouira, le genre *Alternaria* prédomine avec un pourcentage de détection de 30,95% dans les grains de blé dur et 47,16% dans ceux de blé tendre. Tandis que, dans la wilaya de Sétif, le genre *Cladosporium* occupe la position de dominance dans les grains de blé dur, affichant une fréquence de détection de 30,96%. Toutefois, dans le blé tendre de la même wilaya, c'est le genre *Alternaria* qui prévaut en termes d'abondance, avec un taux de 19,51%.

La wilaya de BBA se distingue par une prédominance du genre *Penicillium* dans les deux espèces de blé étudiées. Ce genre occupe une position de supériorité dans la région, marquant une particularité notable par rapport aux deux autres wilayas.

En conclusion, ces résultats mettent en évidence la diversité et la variation des genres fongiques les plus abondants dans les différentes régions étudiées.

Tableau 17. Pourcentage de détection des genres les plus abondants dans les échantillons de grains de blé dur et tendre par dans les trois wilayas.

Genre	Type de blé					
	<i>Triticum durum</i>			<i>Triticum aestivum</i>		
	Wilaya			Wilaya		
	BBA	Setif	Bouira	BBA	Setif	Bouira
	Moyenne	Moyenne	Moyenne	Moyenne	Moyenne	Moyenne
<i>Alternaria</i>	15,82	10,66	30,95	4,76	19,51	47,16
<i>Penicillium</i>	20,5	16,75	6,54	19,04	15	17,92
<i>Aspergillus</i>	10,35	20,3	5,35	14,28	3,65	11,32
<i>Fusarium</i>	4,1	3,55	5,35	11,9	0	0
<i>Cladosporium</i>	12,3	30,96	13,69	11,9	11,9	15,09
<i>Rhizopus</i>	3,9	2,03	0	4,35	4,76	4,71
Autres champignons	28,15	3,06	28,53	23,8	47,53	2,82
Non identifiés	4,88	12,18	9,52	23,8	0	0

3.3.4.3. Mycoflore associée aux variétés blé de la wilaya de Bouira

Les échantillons étudiés proviennent de différentes variétés de blé dur dans la wilaya de Bouira, notamment Bousselem, Chen's et Simeto et les variétés de blé tendre Ain Abid et ARZ. Les résultats mettent en évidence des variations significatives dans les niveaux de contamination par les champignons isolés entre ces variétés. Parmi les genres identifiés, *Alternaria* se distingue en tant que le plus fréquemment détecté dans les variétés testées, suivi par les genres *Cladosporium*, *Penicillium* et *Aspergillus*, respectivement. Notablement, ces quatre genres sont présents dans toutes les variétés examinées.

En ce qui concerne l'infection par le genre *Alternaria*, la variété la plus touchée s'avère être Simeto, affichant un pourcentage d'atteinte de 54%.

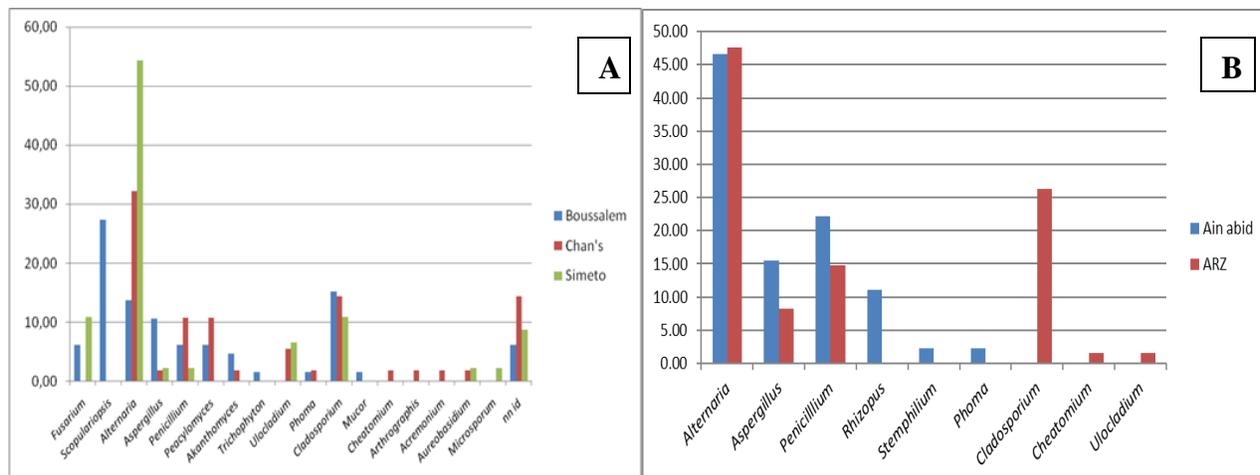


Figure 44. Pourcentages de contamination relative des variétés de blé de la wilaya de Bouira : A : grains de blé dur ; B : grains de blé tendre

3.3.4.4. Mycoflore associée aux variétés de blé de la wilaya de Bordj Bou Arreridj

Les échantillons étudiés comprennent diverses variétés de blé dur provenant des silos de stockages de Bordj Bou Arreridj. Les résultats mettent en évidence des disparités notables dans les taux de contamination parmi les champignons isolés au sein de ces variétés. Les genres *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* et *Cladophialophora* sont détectés dans l'ensemble des échantillons analysés, mais c'est le genre *Penicillium* qui domine, avec le taux d'infection le plus élevé. Parmi les spécificités relevées, le pourcentage d'infection le plus élevé est attribué au champignon *Cladosporium*, avec un taux estimé à 54% sur la variété GTA. Par ailleurs, la variété HD R2 se distingue par le plus grand pourcentage d'infection par le genre *Penicillium*, atteignant 43%. Dans le cas du blé tendre de BBA (variété HD), une observation importante est à souligner, le taux de contamination relative par le genre *Alternaria* est le plus bas à celui rencontré dans les autres variétés provenant des autres wilayas et même dans la même wilaya. Ce qui suggère l'existence d'une relation variété -genre fongique.

Dans le cadre de l'étude de la mycoflore associée aux plants de blé dur et tendre, les résultats des isollements ont mis en évidence des variations significatives dans les pourcentages d'infection. Particulièrement notable, le genre *Fusarium* se distingue par une prévalence élevée par rapport aux autres genres fongiques, avec des pourcentages de contamination de 45% pour le blé tendre et 26% pour le blé dur.

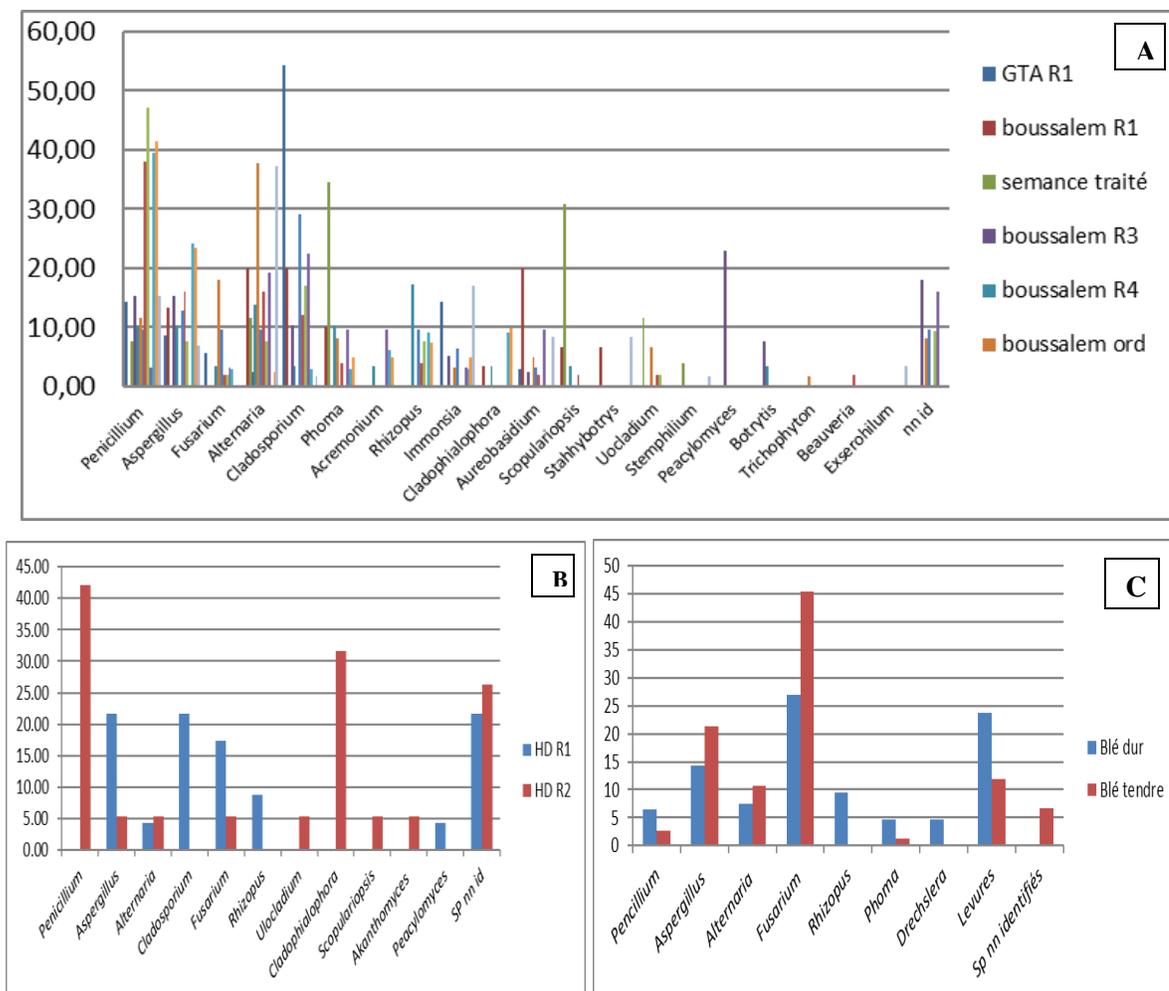


Figure 45. Pourcentage de contamination relative des variétés de blé de la wilaya de BBA : A : grains de blé dur ; B : grains de blé tendre ; C : plants de blé

3.3.4.5. Mycoflore associée aux variétés de blé de la wilaya de Sétif

La Figure 54 illustre les taux de contamination engendrés par les espèces isolées au sein des variétés de blé dur et tendre. Une analyse approfondie des données présentées dans le diagramme permet de constater que les mêmes genres fongiques reviennent avec une fréquence notable. Les genres *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Alternaria* se démarquent en tant que les plus fréquemment détectés.

Particulièrement remarquable, le genre *Cladosporium* occupe une place de prédominance en affichant les pourcentages les plus élevés de contamination sur les variétés MBB et GTA. Sa présence est observée dans l'ensemble des variétés analysées. En revanche, *Alternaria* est moins

fréquent dans les variétés de la wilaya de Setif en comparaison avec les autres Wilayas. Les champignons de stockage, à savoir *Aspergillus* et *Penicillium*, présentent des fréquences moins marquées à ce que l'on pourrait s'attendre habituellement. Notamment, une situation exceptionnelle se démarque dans ces échantillons : la détection d'un champignon de teinte marron. Ce champignon a été identifié comme appartenant au genre *Torula*, se positionnant comme le plus prédominant. Sa présence est confinée exclusivement à la variété El Wifak, atteignant un taux de contamination de 86%.

À partir des résultats affichés sur les plants, une tendance notable se dégage : le genre *Fusarium* domine sur les deux espèces de blé, présentant des taux de contamination de 35% et 29% respectivement. Il est à noter l'absence du genre *Penicillium* et la présence de nouveaux genres tels que *Trichoderma*, *Curvularia* et *Acremonium*, ces derniers affichent des pourcentages de contamination relativement bas.

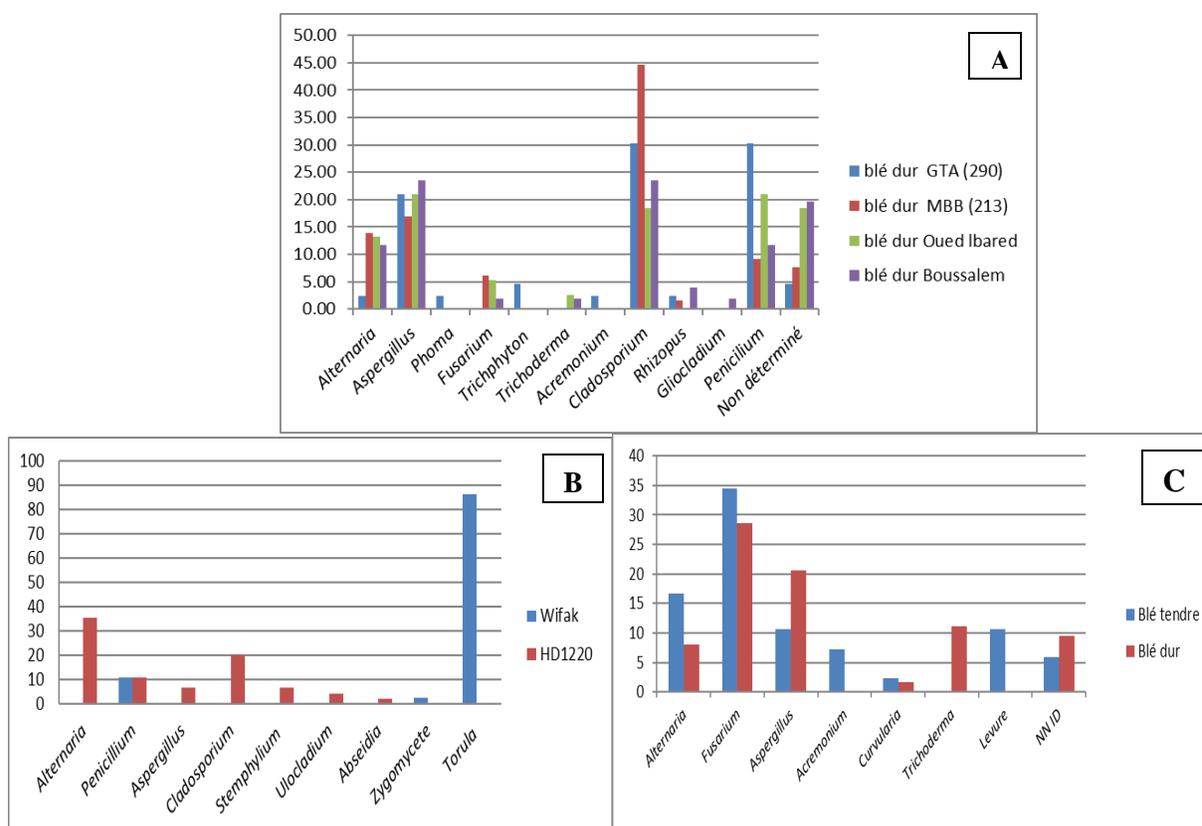


Figure 46. Pourcentage de contamination relative des variétés de blé de Setif : A : grains de blé dur ; B : grains de blé tendre ; C : Plants de blé

4. Discussion

Les céréales, riches en amidon et en protéines, fournissent un environnement propice au développement des moisissures en raison de leur contenu nutritionnel (Magan et Aldred, 2007). Cette étude vise à caractériser la biodiversité fongique associée au blé dans des régions semi-arides en Algérie (Bouira, Bordj Bou Arreridj et Setif). L'isolement des champignons à partir d'échantillons de grains de blé dur et tendre a révélé un taux de contamination des grains élevé : environ 93,17% pour le blé dur et 88,88% pour le blé tendre. Ceci est en accord avec les résultats antérieurs (Larran et al., 2007) soulignant que les graines présentent le taux d'infection le plus élevé parmi les parties de la plante.

Dans notre étude, 1111 isolats fongiques ont été obtenus à partir des grains de blé dur et tendre, Tandis que dans les travaux de Jedidi et al, (2018), un nombre de 1064 isolats fongiques est obtenu à partir de blé récolté contre un chiffre de 368 isolats à partir de blé stocké. Nous avons identifié 30 mycotaxons, dont 27 genres sur les grains de blé dur et 17 genres sur les grains de blé tendre. Dans le même volet de recherche, Mansouri (2011) avait d'identifier dix-neuf mycotaxons dans les grains de blé dur. Aussi, Larran et al, (2007) avaient identifié 13 taxons dans les grains de blé tendre.

Les résultats ont montré la dominance de cinq genres fongiques majeurs appartenant à deux groupes distincts, ceux dits "de champ" tels que *Alternaria*, *Fusarium* et *Cladosporium* et ceux appartenant au groupe dit "de stockage" tels que *Aspergillus* et *Penicillium*. La présence de ces genres de champignons dans les céréales a été signalée par plusieurs études en Algérie (Aoues et al., 2017 ; Riba et al., 2010) et dans nombreux pays, notamment en Europe (Gregori et al., 2013 ; Magan et al., 2003 ; Medina et al., 2006 ; Tabuc et al., 2009), Afrique du Sud (Rabie et al., 1997), dans des pays proches de l'Algérie tels que la Tunisie (Belkacem-Hanfi et al., 2013 ; Jedidi et al., 2017) et le Maroc (Moghtet et al., 2012).

Le genre *Alternaria* était le plus dominant parmi les isolats fongiques, suivi de près par le genre *Penicillium*. Ce résultat est cohérent avec des études précédentes signalant la prévalence élevée d'*Alternaria* dans les grains de blé (Belkacem-Hanfi et al., 2013; Jedidi et al., 2018; Mansouri, 2011). Nos résultats diffèrent à ceux obtenus dans autres études, où *Aspergillus* était le

genre dominant dans les produits stockés (Hajjaji et al., 2006 ; Houssou, 2009 ; Aoues et al., 2017). L'occurrence du genre *Fusarium* chez les grains de ces deux espèces est moins prononcée contrairement à aux résultats de recherche de Belkacem-Hanfi et al, (2013) et Mansouri (2011). En effet, les niveaux élevés de contamination dans les silos peuvent être dus au niveau initial élevé de moisissures avant la récolte dans les grains de blé (Belkacem-Hanfi et al., 2013).

La phase suivante de l'étude s'est concentrée sur l'isolement à partir d'échantillons de plants de blé récoltés sur le terrain. Les résultats ont montré un taux de contamination de 100% chez les plants de blé, ce qui indique que tous les plants étaient porteurs de champignons, même si certains semblaient sains. Il est plausible que ces champignons soient non pathogènes, ou que les plantes aient élaboré des mécanismes de résistance contre leur action. Ces observations corroborent les conclusions de Petrini (1992) et de Larran et al, (2007), où les isolats peuvent demeurer avirulents, hypovirulents ou virulents à un stade latent. Leur détection revêt une importance majeure pour identifier les maladies en progression dans les champs de blé.

Au total, 285 isolats fongiques ont été obtenus à partir des plants de blé, révélant 10 genres sur les plants de blé dur et 8 genres sur les plants de blé tendre. Cependant, Larran et al, (2007) avaient isolé 722 isolats à partir de 1750 plants de blé tendre, identifiant 33 genres fongiques. Dans la partie aérienne de nos échantillons, *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus* et *Penicillium* se sont avérés être les champignons prédominants. Le genre *Fusarium* est notoirement considéré comme un champignon pathogène du blé, affichant le taux de contamination le plus élevé. D'autres champignons phytopathogènes ont également été détectés, notamment *Drecheslera* et *Curvularia lunata*, ainsi que des isolats de levures.

Les études consacrées à l'isolement des endophytes à partir des différentes parties de la plante de blé, menées par Larran et al, (2002, 2007, 2016), ont mis en évidence des taux élevés d'isolement pour *Alternaria alternata*, *Cladosporium hebarum* et *Epicocum nigrum*. Ces derniers sont reconnus comme des saprophytes primaires et des pathogènes secondaires. En revanche, les champignons phytopathogènes isolés comprennent *Bipolaris sorokiniana*, *F. graminearum* et *Curvularia lunata*.

Le taux élevé de colonisation du genre *Fusarium* chez les plants de blé peut s'expliquer par ses exigences en humidité pour sa croissance. En effet, ce champignon, souvent associé à des

conditions de champ, trouve un environnement favorable à son développement. Cinq espèces pathogènes de *Fusarium* ont été isolées et identifiées, tant sur les grains que sur les plants de blé, incluant *Fusarium graminearum* et *F. verticillioides*. Ces deux dernières ont été signalées comme les espèces les plus pathogènes responsables de la fusariose de l'épi (FHB) du blé dur dans les régions subhumides et semi-arides du nord de la Tunisie dès 2004 (Jedidi et al., 2018). D'autres espèces de *Fusarium* à l'origine de la maladie ont également été détectées, présentant des niveaux d'agressivité variables selon les espèces, dont *F. avenaceum*, *F. equiseti*, *F. pseudograminearum*, *F. acuminatum* et *F. sporotrichum* (Fakhfakh et al., 2011 ; Gargouri-Kammoun et al., 2009). Ces espèces ont été isolées à partir des plants de blé.

Parmi les espèces de *Fusarium* isolées à partir des plants de blé, on compte *F. culmorum*, *F. lateritium* et *F. graminearum*. Des rapports antérieurs de Nelson et al, (1983) ainsi que de Leslie et Summerell (2006) corroborent également l'association courante de ces espèces avec les céréales. L'espèce, *F. lateritium* se retrouve fréquemment sur les plantes ligneuses et dans le sol.

En parallèle, des champignons non pathogènes, également connus sous le nom d'endophytes, ont été isolés. Les endophytes fongiques, une catégorie variée de champignons ascomycètes, se caractérisent par leur présence dans les tissus asymptomatiques des plantes. Leur distribution englobe toutes les familles de plantes (Arnold, 2007). Les implications de la communauté endophytique dans les interactions plante-endophyte ont suscité des débats intenses (Porrás-Alfaro et Bayman, 2011; Sturz et al., 2000). Ces endophytes interagissent avec d'autres micro-organismes et partagent des fonctions complémentaires. Leur capacité à assurer un biocontrôle et à combattre les ennemis des cultures, comme *Trichoderma*., *Akanthomyces muscarius*, *Acremonium* et *Peacylomyces*, est bien établie. *Trichoderma*. a été mis en lumière dans plusieurs études comme un endophyte bénéfique pour le blé, utilisé pour contrôler des champignons phytopathogènes tels que *F. graminearum* (FHB) (Pedrero-Méndez, 2021; Baroncelli et al., 2016; Xue et al., 2017). L'étude de Larran et al, (2016) a notamment identifié *Trichoderma hamatum* comme l'endophyte le plus efficace contre *Pyrenophora tritici-repentis*. Par ailleurs, des recherches antérieures ont démontré que l'isolement de *Chaetomium sp.* à partir de feuilles de blé saines avait pour effet de réduire le nombre et le développement des pustules de la rouille des feuilles *Puccinia recondita f.sp. tritici* (Dingle et McGee, 2003). De plus, différentes espèces de *Chaetomium* ont inhibé la croissance de *P.*

tritici-repentis in vitro (Istifadah et McGee, 2006; Istifadah et al., 2006).

En conclusion, cette étude met en évidence la diversité fongique associée au blé dans les régions semi-arides en Algérie. Certains champignons sont pathogènes et causent des pertes économiques, tandis que d'autres, en tant qu'endophytes, pourraient être exploités pour la lutte biologique. Ces résultats enrichissent notre compréhension de la dynamique fongique dans les cultures de blé et ouvrent des perspectives pour des approches de gestion durable.

2^{ème} partie

Etude de la résistance/sensibilité des souches fongiques nuisibles isolées de blé vis-à-vis de quelques fongicides, et des tests de pathogénicité sur le blé

1. Introduction

Les maladies fongiques représentent les principales menaces pour la production de blé. Parmi ces affections, un cas particulier se démarque : la fusariose. Cette maladie engendre des pertes de rendement potentiellement significatives lors d'attaques sévères. De plus, elle entraîne la contamination des grains par des mycotoxines, ce qui peut altérer la qualité de la récolte, comme l'ont souligné Saur et Moralais, (1991). La fusariose, maladie endémique, résulte d'un complexe d'espèces de champignons phytopathogènes, connu sous le nom de « complexe fusarien », qui possède un large spectre d'hôtes. L'espèce principale à l'origine de la fusariose des épis est affiliée au genre *Fusarium*, dont fait partie *Fusarium graminearum*, (Brown et al., 2010).

L'examen de la manière dont les souches impliquées dans la fusariose du blé causent des maladies et manifestent leur agressivité joue un rôle crucial dans l'amélioration de notre compréhension de l'épidémiologie du complexe fongique associé à cette affection. Ceci est essentiel pour élaborer des stratégies de lutte appropriées. Plusieurs investigations ont été menées afin d'étudier la pathogénicité et l'agressivité des diverses espèces de *Fusarium* qui affectent le blé. Parmi ces recherches, citons les travaux de Brennan et al, (2003), Mishra et al (2003), Smiley et al, (2005), Wu et al, (2005), Akinsanmi et al, (2006), et Qu et al, (2008).

L'application des fongicides jouent un rôle important dans la gestion intégrée de la fusariose. Les fongicides sont appliqués à l'anthèse pour réduire les pertes de rendement et la contamination par les mycotoxines (Mesterházy et al., 2003). En général, les DMI (inhibiteurs de la déméthylation), en particulier les triazoles (tébuconazole, métconazole et prothioconazole), ont été utilisés pour lutter contre la fusariose au stade de la floraison du blé et ont eu un bon effet préventif (Sun et al., 2020). Ils peuvent non seulement réduire l'apparition de la fusariose, mais aussi réduire la teneur en toxine dans les grains de blé (Xu, Ping, et al., 2018). Malheureusement, l'effet global des fongicides dans la lutte contre la fusariose a été limité et les résultats sont variables. La plupart des études ont fait état d'une lutte insuffisante ou irrégulière contre la fusariose (Mesterházy et al., 2003). Au fil des ans, en raison de l'application constante des triazoles, des souches ayant acquis une résistance sont apparues dans les champs de blé (Chen et al., 2021).

La connaissance du risque de résistance aidera à déterminer si le produit fongicide est un sujet de développement rapide ou lent de résistance et quelle mesure de surveillance doit être effectuée pour éviter ou retarder le développement de ce phénomène.

Dans cette partie du travail, Nous visons comme objectif :

- L'étude de phénomène de la résistance/sensibilité des souches de *Fusarium* associées au blé vis-à-vis des fongicides de types triazoles,
- La réalisation des tests de pathogénicité de ces souches vis-à-vis de la culture du blé.

2. Matériel et méthodes

2.1. Isolement des souches fongiques résistants aux fongicides

L'isolement des souches fongiques résistants aux fongicides a été réalisé à partir des plants complets de blé dur et blé tendre prélevés des deux parcelles traitées fréquemment avec des triazoles pendant les cinq dernières années. Ces parcelles sont situées au niveau de la commune de l'El Asnam dans la wilaya de Bouira. Le prélèvement des échantillons a été effectué de façon aléatoire. Ces plants de blé ont été importés directement au laboratoire pour éviter leur détérioration. Les parties souterraines des plants sont lavées avec l'eau de robinet, puis on a découpé les différentes parties de ces plants en petits morceaux et on a séparé la partie aérienne de la partie souterraine. Ensuite, ces fragments sont désinfectés par un trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium pendant 3 minutes, cette opération est suivie par deux rinçages successifs à l'eau distillée stérile pendant 3 minutes pour éliminer les traces de l'hypochlorite de sodium (Rubini et al., 2005 ; Larran et al., 2007). Ensuite, ces fragments sont mis à sécher sur un papier wattman stérile sous la hotte à flux laminaire.

Les différents fragments sont déplacés aseptiquement sur des boîtes de Pétri contenant un milieu de culture DCPA supplémenté de fongicide (Milieu 1, Milieu 2, Milieu 3, Milieu 4, Milieu 5). 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. Les fongicides utilisés dans ce travail sont des fongicides à base de trois matières actives triazoles qui sont le triadimenol, le difenoconazole et le tebuconazole et une matière active strobilurine qui est l'azoxystrobine.

Pour préparer les milieux à base de fongicide, on a pris une quantité de 1500 mg de chacun des quatre fongicides (Difénoconazole 25% EC, Triadimenol 25% EC, Tébuconazole 25% EW, Azoxystrobine 25% SC) (Tableau 22) puis on a ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Ensuite, chaque solution de fongicide est homogénéisée puis un volume de 1ml est prélevé puis ajoutée à 300 ml de milieu DCPA ; le milieu DCPA + fongicide est bien agité puis le tous sont autoclavés.

Les milieux ainsi préparés sont :

- ✓ DCPA seul ; sans fongicides (Milieu 1)
- ✓ DCPA-difénoconazole : contient 0.135 mg de difénoconazole /ml de milieu (Milieu 2)
- ✓ DCPA-Tébuconazole : contient 0.121mg de Tébuconazole /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 18. Les formulations des fongicides utilisés

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

2.2. Identification des isolats fongiques

La détermination microbiologique de l'espèce et/ou du genre d'un isolat repose sur l'observation de nombreux caractères morphologiques sur des milieux définis (les milieux utilisés pour identifier les isolats sont les milieux PDA et SNA, (ce dernier pour *Fusarium*). Lorsque toutes les informations ont été recueillies, l'identification peut se faire à l'aide de clés de référence spécifiques ou générales, telles que la clé *Fusarium* de Nelson et al, (1983) et Leslie et Summerell, (2006), la clé d'identification de Lanier et al, (1976) qui est une clé d'identification générale.

2.3. Evaluation de la résistance /sensibilité de quelques souches fongiques

Les souches fongiques utilisées étaient celles isolées dans le premier essai de ce travail, il s'agit de quatre souches de *Fusarium* qui ont montré une croissance satisfaisante sur

milieu DCPA additionné de fongicides, l'inoculum a été préparé à partir des cultures fongiques âgées de 7 jours sur milieu PDA. Sur cette culture, des disques de 5 mm de même taille ont été délimités. Chaque disque a ensuite été placé au centre d'une boîte de Pétri contenant un milieu PDA additionné d'un fongicide. Pour chaque fongicide, on a utilisé trois concentrations et pour chaque concentration, on a utilisé trois répétitions.

Pour la préparation des trois concentrations de fongicides, une pesée de 1500 mg de chacun des deux fongicides (difénoconazole 25% EC, triaconazole 25% EC), est diluée à 10 ml avec de l'eau distillée. Après, homogénéisation des volumes de 0,5 ml, 1 ml et 2 ml ont été prélevés de chaque solution de fongicide, puis dilués chacun dans un volume de 200 ml de milieu PDA ; le mélange PDA + fongicide a été agité vigoureusement avec un agitateur magnétique, puis autoclavé et distribué dans des boîtes de Petri stériles. Les milieux ainsi préparés sont :

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

Les boîtes ainsi inoculées sont incubées dans l'étuve à 26°C. Les mesures sont notées à partir de 2^{ème} jour jusqu'au 10^{ème} jour.

2.3.1.1.1. Calcul de taux d'inhibition de la croissance mycélienne

L'évaluation de la réaction des souches aux fongicides est réalisée en déterminant le taux d'inhibition de la croissance du mycélium. Chaque jour, le diamètre des colonies fongiques est mesuré le long de deux axes perpendiculaires tracés au préalable sous les boîtes de Pétri. À partir des diamètres moyens des colonies, le pourcentage d'inhibition provoqué par chaque fongicide est calculé en utilisant la formule suivante :

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

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

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

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

2.4. Evaluation de la pathogénicité des souches de *Fusarium* sur le blé

2.4.1. Effet des souches sur la germination et la croissance de la coléoptile (sur les boîtes de Pétri)

L'évaluation de la pathogénicité des souches de *Fusarium* résistantes aux fongicides isolés à partir des plants de blé dur et tendre dans la partie précédente (*F. graminearum*, *F. culmorum* et *F. lateritium*) a été effectuée en utilisant la semence de la variété de blé dur (Semito). 100 graines ont été désinfectées en surface par trempage dans une solution d'eau de Javel à 2 % pendant 8 min, suivi de deux rinçages à l'eau distillée stérile. Les graines ainsi traitées ont été placées dans des boîtes de Pétri tapissées de papier absorbant stérile à raison de 25 graines par boîte.

Pour la préparation de l'inoculum, le protocole de Bouanaka et al, (2021). Chaque souche de *Fusarium* a été cultivée sur milieu PDA à 26°C pendant 15 jours. Ensuite, 10 ml d'eau distillée stérile contenant 0,01 % (v/v) de Tween-80 ont été ajoutés aux parties aériennes des champignons, et la surface de la boîte de Pétri a été soigneusement grattée jusqu'à ce que toutes les parties superficielles des champignons soient enlevées. La suspension ainsi obtenue contenant le mycélium, les spores et les portions du milieu a été ajusté à 25 ml avec de l'eau distillée stérile additionnée de 0,01 % (v/v) de Tween-80, puis filtrée sur doubles couches de gaze médicale stérile. Ensuite un volume de 5 ml de la suspension d'inoculum est pulvérisé sur chaque boîte de Pétri contenant 25 grains de blé. Les boîtes ont ensuite été incubées à 26°C dans l'obscurité totale (Bouanaka et al., 2021), et des boîtes témoins ont été pulvérisées par l'eau distillée stérile contenant 0,01 % (v/v) de suspension de Tween-80. Les taux de germination des graines, la longueur et le poids des coléoptiles ont été calculés 5 jours après l'inoculation.

2.4.2. Effet des souches sur la levée et la croissance des plantules de blé

Le substrat utilisé pour la culture des graines de blé se compose à parts égales de terre et de sable. Le substrat a été stérilisé dans une étuve à 120°C pendant 4 heures puis distribué dans des pots de 8 cm de diamètre pré-perforés pour le drainage de l'excès d'eau d'irrigation. Dans cette expérience, la même variété du blé et la même méthode de désinfection des graines utilisées dans la section précédente ont été utilisées dans cette section. Les grains ont été distribués uniformément dans des pots à raison de 7 grains par pot. La suspension d'inoculum a été préparée de la même manière que dans les expériences précédentes, à l'aide d'une micropipette, 200 µl de cette suspension ont été pulvérisés sur

chaque graine puis recouverts de la matrice. Un total de 5 pots et 35 graines ont été utilisés par traitement. Les pots sont installés dans un endroit bien éclairé et arrosez-le régulièrement.

Après 15 jours, les mesures de taux de levée, la longueur de la tige, le poids de la partie aérienne, ont été effectuées, ainsi que l'observation des symptômes.

3. Résultats

3.1. Effet de fongicides sur le pourcentage de colonisation fongique

Le pourcentage de la colonisation 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 23.

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 la colonisation 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 de la colonisation fongique a diminué. La plus grande diminution a été enregistrée dans le milieu DCPA+ tebuconazole suivi par le milieu DCPA + azoxystrobine. Le pourcentage de la colonisation 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 la colonisation 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 colonisation élevés laissent supposer l'existence de germes fongiques résistants à ces deux fongicides.

Tableau 19. Pourcentage de développement des colonies fongiques pour les différents milieux.

Milieu de culture	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%
DCPA + difenoconazole	58.33%	54.16%	100%	65.63%	69.53%

3.2. Identification des isolats fongiques

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*.

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 des parties aériennes du blé sur le milieu DCPA + difenoconazole et le milieu DCPA + triadimenol.

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*.

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 le milieu DCPA supplémenté du difenoconazole et du *F. culmorum* isolé à partir de la partie aérienne du blé tendre supplémenté de triadimenol (Fig.62).

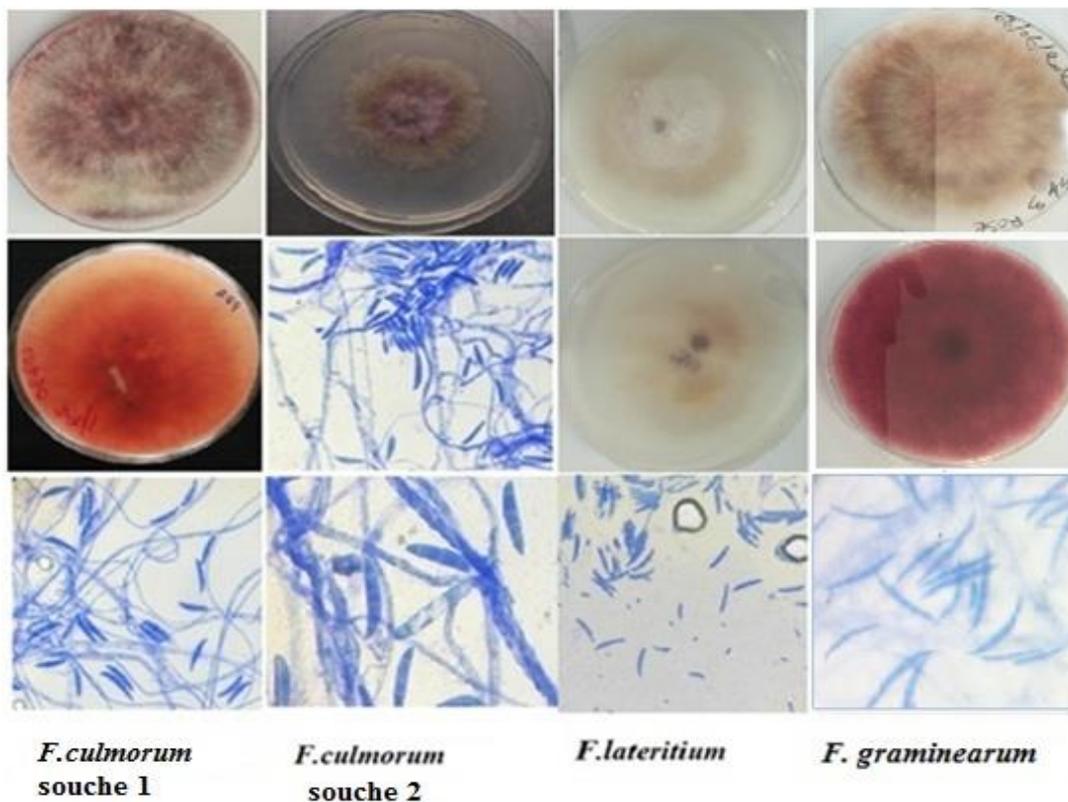


Figure 47. Souches de *Fusarium* résistantes aux fongicides isolées de blé

3.3. Evaluation de la résistance /sensibilité de quelques souches fongiques

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

- La Souche *Fusarium graminearum* isolée à partir de la partie aérienne de blé dur cultivé sur le milieu DCPA supplémenté du difenoconazole
- La Souche *Fusarium culmorum* souche1 isolée à partir de la partie aérienne du blé tendre supplémenté du triadiménol.
- La Souche *Fusarium culmorum* souche 2 isolée à partir de la racine du blé dur cultivé sur le milieu DCPA supplémenté du triadimenol.
- La 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 triadimenol à trois concentrations

différentes :

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

3.3.1. Résultat de *Fusarium graminearum*

Les résultats obtenus des essais sensibilité résistance de la souche de *F. graminearum* vis-à-vis de deux fongicides sont présentés (Fig.63).

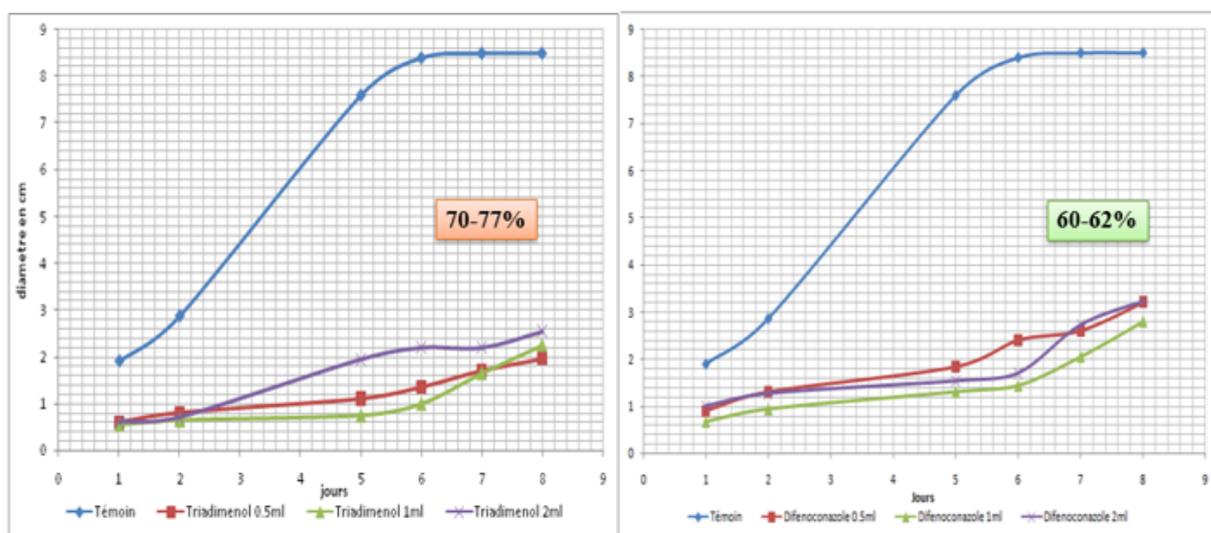


Figure 48. Effet de la concentration en triadimenol et en difenoconazole sur la croissance radiale de *F. graminearum*.

En absence de fongicide, le diamètre des colonies de la souche passe de 2cm après une incubation d'une journée à 8.4 cm au 6^{ème} jour. En présence de Triadimenol, on remarque une inhibition de croissance après deux jours d'incubation pour toutes les doses testées (les colonies n'ont pas dépassé 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.

En présence de difenoconazole dans le milieu, la croissance radiale de la souche 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 difenoconazole 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%.

3.3.2. Résultats de *F.culmorum* souche 1

Les résultats obtenus des essais sensibilité- résistance de la souche 1 de *F. culmorum* vis-à-vis de deux fongicides sont présentés dans la Figure 64.

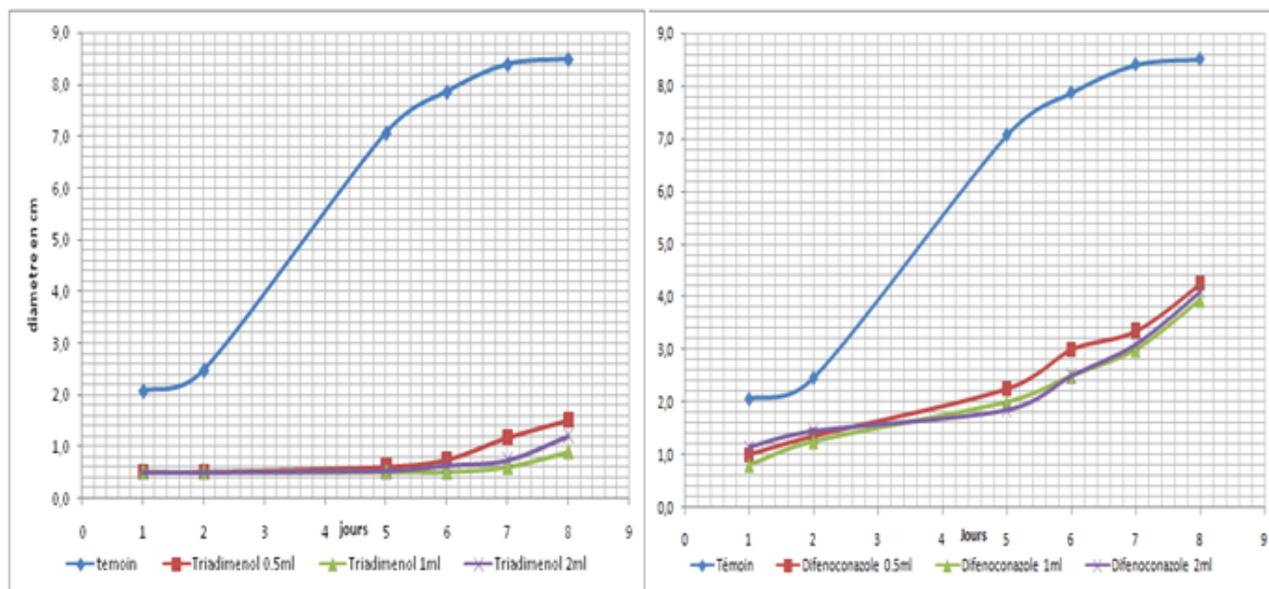


Figure 49. Effet de la concentration en triadimenol et en difenoconazole sur la croissance radiale de *F. culmorum* 1.

En absence de tout fongicide, la souche 1 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 atteint des diamètres ente 3.9 et 4.2 cm au bout de 8 jours d'incubation pour les trois doses testées. Ceci se traduit par des taux d'inhibition de l'ordre de 50 à 53%. Pour les doses de 0,5ml et 1ml respectivement. On peut conclure que cette souche est plus résistante au difenoconazole qu'au triadimenol.

3.3.3. Résultats de *F.culmorum* Souche 2

Les résultats obtenus des essais sensibilité résistance de la souche 2 de *F. culmorum* vis-à-vis de deux fongicides sont présenté (Fig.65).

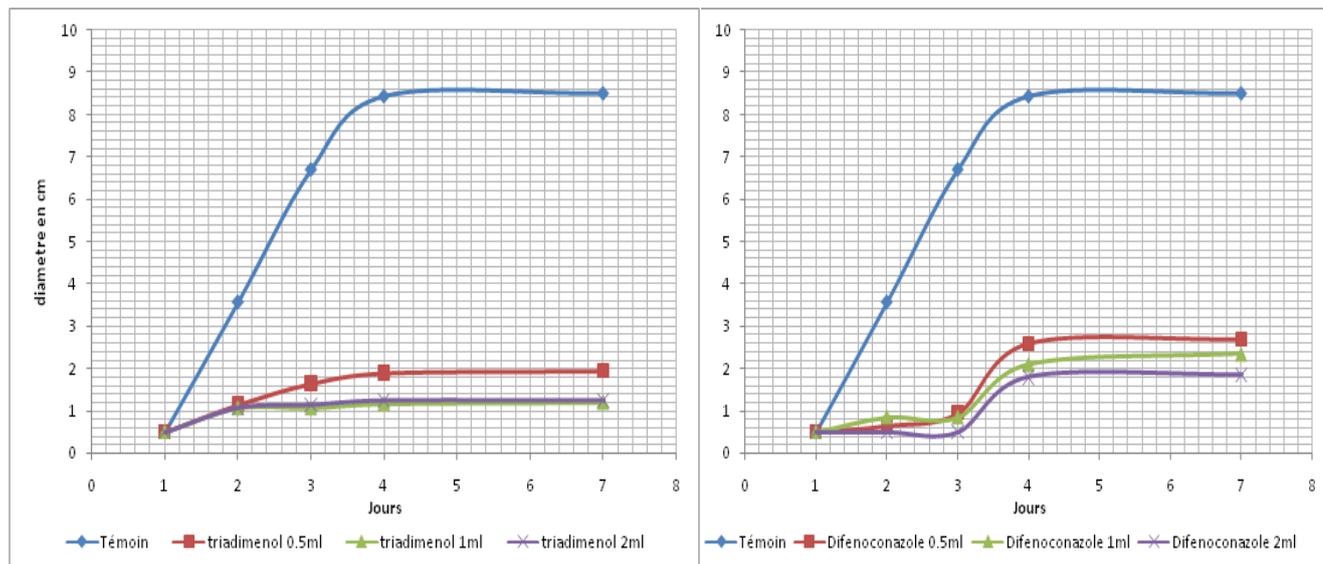


Figure 50. Effet de la concentration en triadimenol et en difenoconazole sur la croissance radiale de *F. culmorum* 2

Sur le milieu PDA seul, la souche 2 de *F. culmorum* croit rapidement ainsi au bout de 5eme 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 8eme jour 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 soient relativement élevés mais restent inférieurs à ceux enregistrés dans le cas de triadimenol.

3.3.4. Résultats de *F. lateritium*

Les résultats obtenus des essais sensibilité résistance de la souche de *F. lateritium* vis-à-vis de deux fongicides sont présentés (Fig.66).

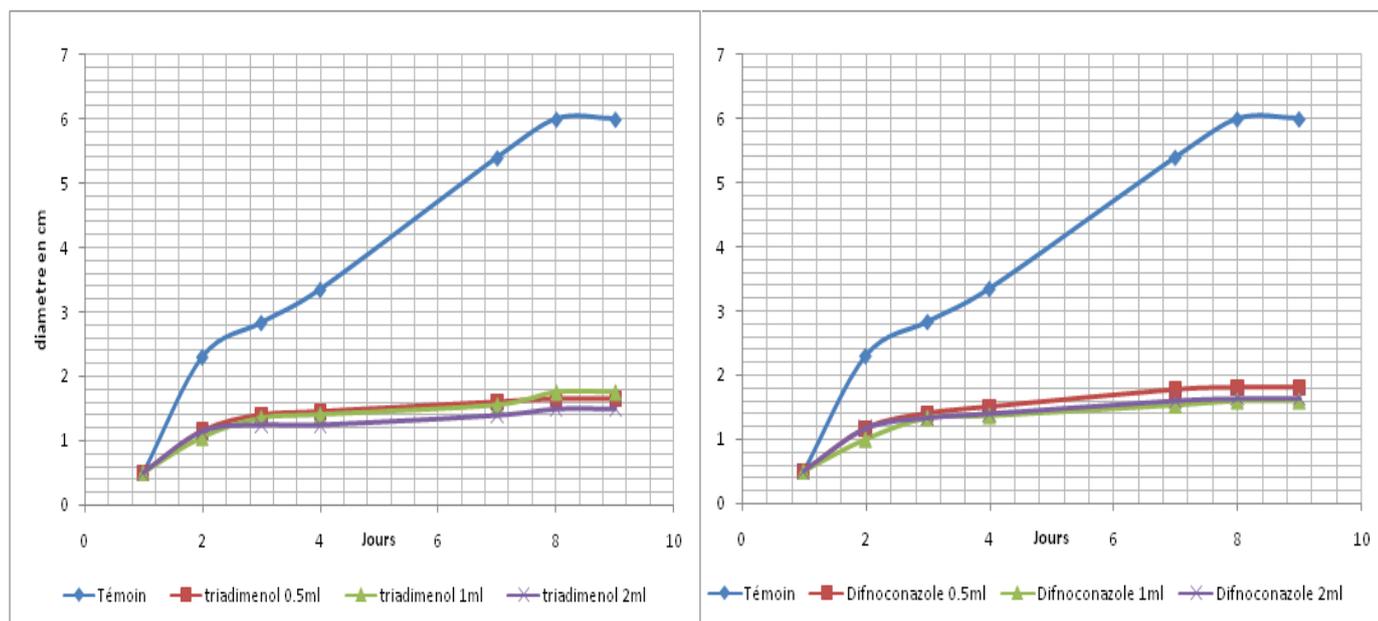


Figure 51. Effet de la concentration en Triadimenol et en Difenoconazole sur la croissance radiale de *F. lateritium*

A l'inverse des souches précédentes, la souche 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 8^{ème} jours. En présence de triadimenol et de difenoconazole, le diamètre maximum de cette souche 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*, *Fusarium culmorum* : souche 1 et souche 2, *F. lateritium*) 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 1 de *F. culmorum* est la souche la plus résistante au difenoconazole (taux s'inhibition entre 50 et 53%) suivie de souche *F. graminearum* puis par la souche 2 de *F. culmorum* et *F. lateritium*. Alors que les souches *F. graminearum* et *F. lateritium* sont les souches les plus résistantes au triadimenol suivies de deux souches *F. culmorum*

3.4. Evaluation de la pathogénicité des souches de *Fusarium*

3.4.1. Pathogénicité des souches sur les grains

Le tableau 24 résume le pourcentage de germination, la longueur et le poids moyens de la coléoptile obtenus 4 jours après l'inoculation des grains de blé dur (variété Simeto) avec les souches de *F. culmorum*, *F. graminearum* et *F. lateritium*.

Dans les grains de blé témoin (non inoculé avec le *Fusarium*), Le pourcentage de germination est de 53%, la longueur et poids moyen de la coléoptile sont de 0.73 cm et 8.1 mg respectivement. Dans le cas des grains inoculés avec *F. culmorum*, seulement 17% des grains arrive à germer, et on constate une diminution dans la longueur et le poids moyens de la coléoptile. La même constatation a été faite pour les grains inoculés avec *F. graminearum* mais avec un taux de germination plus élevé (37%). Enfin la souche *F. lateritium* cause également une diminution du taux de germination des grains mais elle est moins agressive vis à vis de la coléoptile.

Tableau 20. Résultats de test de pathogénicité des souches de *Fusarium* chez le blé dur (essai sur boîtes de Pétri)

Les espèces fongiques	Pourcentage de germination (%)	Poids moyen de coléoptile (mg)	Longueur moyenne de coléoptile (cm)
Témoin	53	8.1	0,73
<i>F. graminearum</i>	37	2.6	0,41
<i>F. culmorum</i>	17	2.2	0,47
<i>F. lateritium</i>	32	4.1	0,48

L'effet de 3 souches sur les grains de blé s'accompagne avec le développement de mycélium et la présence des nécroses au niveau de la coléoptile (Fig.67).



Figure 52. Coléoptiles saines (à gauche témoin) et coléoptile nécrosé (à droite. *F. graminearum*)

3.4.2. Pathogénicité des souches sur les plantules

Les résultats de tests de pathogénicité des souches de *Fusarium* obtenus après 15 jours de la date de semis des grains de blé dur variété Simeto sont regroupés dans le tableau 25.

Tableau 21. Résultats de test de pathogénicité des souches de *Fusarium* chez le blé dur (essai sur pots)

Les espèces du <i>Fusarium</i>	Pourcentage de levée (%)	Longueur moyenne de des plantules (cm)	Poids moyen plantules (mg)
Témoin	60	16,46	165.7
<i>F. graminearum</i>	2	0,3	0
<i>F. culmorum</i>	5,7	1,34	5
<i>F. lateritium</i>	22,8	5,95	66.2

Le pourcentage de levée chez le témoin est de 60%, alors que la longueur et le poids moyen sont de 16.46 cm et 165.7mg respectivement. L'inoculation des grains avec les souches de *F. culmorum* et *F. graminearum* a conduit à une diminution catastrophique des pourcentages de germination ainsi que les autres paramètres étudiés. La souche la moins

agressive est celle de *F. lateritium* avec un taux de levée de 22.8% et une longueur et poids moyen de plantules de 5.95cm et 66 mg respectivement (Fig.68).

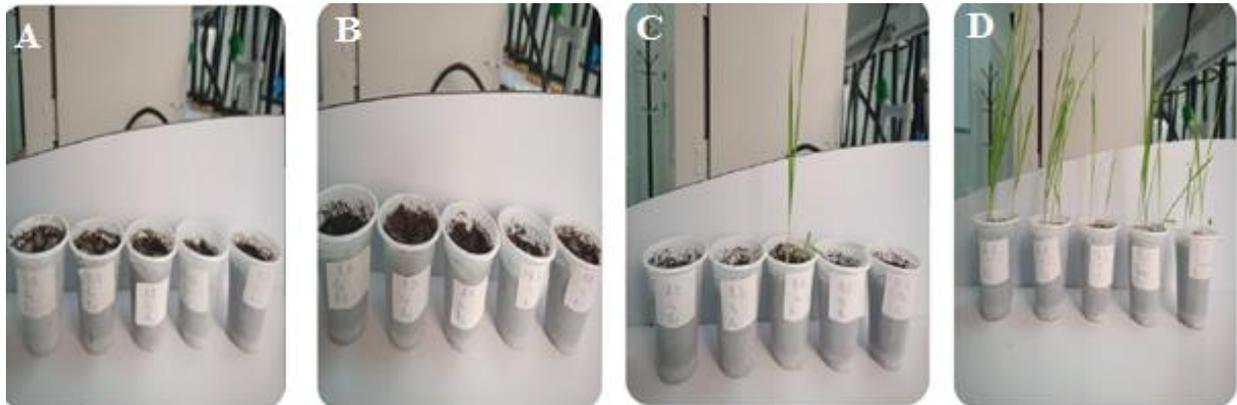


Figure 53. Résultats de test de pathogénicité sur les pots (A : *F. graminearum* ; B : *F. culmorum* ; C : *F. lateritium* ; D : Témoin)

4. Discussion

Dans notre étude, le pourcentage de colonisation des plants de blé par les champignons est de l'ordre de 100% en utilisant le milieu DCPA comme milieu de culture. En présence de fongicides de la famille des triazoles et des strobilurines (Difénoconazole, Triadimenol, Tébuconazole, Azoxystrobine) dans le milieu de culture, ce pourcentage diminue, l'isolement des champignons sur le milieu supplémenté de fongicides a permis l'obtention de quatre souches du genre *Fusarium* (deux souches de *F. culmorum*, *F. graminearum* et *F. lateritium*). Ces souches sont obtenues exclusivement sur les milieux à base de Difénoconazole et Triadimenol. Ce qui traduit leurs résistances vis-à-vis de ces fongicides. Plusieurs études ont signalé la résistance des champignons vis-à-vis de ces fongicides ; on peut citer la recherche de Chen et al, (2021) qui ont étudié la résistance – sensibilité de 1118 des souches de *F. graminearum* vis-à-vis le Tebuconazole, ils ont trouvé parmi les quelles 362 souches résistantes. En outre, ces décennies, la résistance de *F. graminearum* aux fongicides DMI, a été fréquemment signalée (Liu et al., 2010 ; Yin et al., 2009 ; Spolti et al., 2014).

Les fongicides triazoles ont été employés pour contrôler une vaste gamme d'agents pathogènes végétaux au cours des quatre dernières décennies, et ils conservent encore leur efficacité majeure malgré leur mode d'action spécifique qui tend à encourager le développement de la résistance.

L'action des triazole réside au niveau de la synthèse de l'ergostérol, un composant crucial de la membrane cellulaire des champignons et qui contribue à maintenir sa stabilité, il est codé et traduit par la famille de gènes CYP51 (Rehfus et al., 2019). La synthèse de l'ergostérol est intrinsèquement liée à divers types de fongicides, notamment les triazoles (Bhattacharya et al., 2020). Le CYP51, en tant qu'enzyme clé de cette voie, se positionne comme la cible principale des triazoles. Ces fongicides ont la capacité de se lier au CYP51, ce qui entrave la déméthylation du lanostérol catalysée par cet enzyme. Par conséquent, la synthèse de l'ergostérol est interrompue, conduisant en fin de compte à la mort cellulaire (Odds et al., 2003). Des constatations ont révélé que le CYP51 joue un rôle crucial dans la résistance aux triazoles dans divers types de champignons, incluant non seulement *Fusarium*, mais également des exemples tels qu'*Aspergillus fumigatus* (Chowdhary et al., 2014 ; Siopi et al., 2020), *Mycosphaerella graminicola* (Leroux et al., 2007), et *Erysiphe graminis* (Yan et al., 2009).

La résistance s'est développée progressivement dans la plupart des interactions hôte-pathogène, suggérant une régulation polygénique de cette résistance (Nikou et al., 2009). Divers mécanismes potentiels de résistance ont été avancés, parmi lesquels figurent des modifications au niveau du site cible de la C-14 alpha-déméthylase (CYP51), entraînant des transmutations de l'affinité de liaison ou des niveaux d'expression du gène cible au cours de la synthèse d'ergostérol (Albertini et al., 2003). Une autre possibilité est une augmentation de l'efflux, impliquant une intensification de l'activité des transporteurs membranaires de type ABC (De Waard et al., 2006).

En ce qui concerne l'azoxystrobine, des cas de résistance ont été documentés chez divers pathogènes (Zhang et al., 2014), et ces résistances sont généralement attribuées 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 identifiée chez près de 55 souches de *F. graminearum* dans six pays distincts (Dubos et al., 2011).

Concernant les tests de pathogénicité, on a utilisé trois souches de *Fusarium* isolées, qui sont toutes phytopathogène pour la culture de blé, leurs effets sur la germination et sur la croissance de la coléoptile montrent qu'il existe une variabilité dans l'agressivité. Le taux de germination chez la variété Simeto est inférieur à celui rapporté par d'autres auteurs. Benmounah et Brinis, (2018) et Nour et Brinis, (2016) ont trouvé des taux de germination pour cette variété supérieure à 85%. On a trouvé que les espèces les plus agressives sont *F.*

culmorum., *F. graminearum*. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Brennan et al, (2003) qui ont montré que *F. culmorum* et *F. graminearum* ont presque le même degré de pathogénicité vis-à-vis de coléoptile, causant ainsi plus de 89,3 % de réduction de la croissance de la coléoptile par rapport au témoin non inoculé. Ces auteurs précisent que *F. graminearum* est l'espèce la plus agressive, provoquant une réduction de 96 % du taux de croissance de coléoptile. Para rapport aux travaux déjà réalisés en Algérie, ces résultats obtenus par Abdellah –Nekache et al, (2019) montrent que *F. culmorum* est le plus agressive dans les essais sur les grains de blé *in vitro*.

Pour les tests de pathogénicité sur les pots, nos résultats montrent que les souches de *F. graminearum* et *F. culmorum* sont les plus agresses sur le blé dur, ces résultats sont accord avec ceux obtenus par Lemmouchi (2012) qui trouve que ces deux souches sont les plus agresses sur le blé dur lors des essais de pathogénicité sur les pots.

3^{ème} partie

Caractérisation morphologique et moléculaire d'une souche entomopathogène ; *Akanthomyces muscarius* isolée de blé et leur effet sur *Thaumetopoea pityocampa* et quelques champignons phytopathogènes du blé

1. Introduction

La recherche de nouveaux composés utiles pour protéger les plantes contre les ravageurs et les maladies est devenue un besoin primordial afin d'assurer une production végétale et alimentaire durable (Kumar et al., 2008). L'utilisation des champignons entomopathogènes comme biopesticides a suscité de l'intérêt dans certaines parties du monde ces dernières années, principalement en raison de l'efficacité limitée des insecticides contre certains ravageurs (thrips, aleurodes, moustiques) et de la découverte de populations tolérantes aux insecticides (Avery et al., 2013). Il existe également d'autres raisons importantes pour l'incorporation plus large des champignons entomopathogènes en tant que pesticides biologiques dans les stratégies de la lutte intégrée contre les ennemies des cultures (Ondráčková et al., 2019). En outre, l'utilisation inconsidérée des pesticides de synthèses crée de nombreux problèmes, les pesticides possèdent des effets négatifs (directs ou indirects) sur la santé humaine et animale dans plusieurs cas (Arcury et al., 2007 ; Michalakis et al., 2014), ils causent la pollution des eaux de surface et souterraines (Gilliom et al., 2007) et ils diminuent la biodiversité dans le sol (Johnston, 1986).

Les champignons entomopathogènes sont couramment présents dans les sols, mais sont principalement isolés à partir des insectes. Certains d'entre eux peuvent coloniser de manière endophytique les plantes ou agir comme mycoparasites sur des champignons phytopathogènes (Ownley et al., 2010), ils peuvent aussi coloniser les grains de plusieurs cultures comme le maïs (Błaszczuk et al., 2021). Les entomopathogènes endophytes constituent une catégorie importante du microbiome végétal, qui est de plus en plus considéré comme un élément essentiel de l'agriculture durable (Nicoletti et Becchimanzi, 2020).

Pour lutter contre les insectes, de nombreux isolats de champignons entomopathogènes ont été vendus dans le monde entier dans une variété de formulations (de Faria et Wraight, 2007). Certains champignons entomopathogènes sont capables de supprimer directement les infections des plantes, de promouvoir la résistance systémique et de stimuler le développement des plantes (Jaber et Ownley, 2018).

Il est important de noter que certains endophytes végétaux à potentiel entomopathogène, tels que les espèces de *Lecanicillum*, *Beauveria* et *Metarhizium*, ont la capacité de lutter contre les maladies des plantes (Ownley et al., 2010 ; Sasan et Bidochka, 2013 ; Jaber et Ownley, 2018).

Les espèces d'*Akanthomyces*, largement connues autant que genre *Lecanicillium* et étroitement apparentées au genre *Verticillium* (Kepler et al., 2017), sont des champignons entomopathogènes qui ont une large gamme d'hôtes, comprenant des insectes (principalement les aleurodes et les pucerons), des champignons phytopathogènes causant l'oïdium (exemple *Sphaerotheca fuliginea*) et les rouilles (exemple *Hemileia vastatrix*) et des nématodes phytoparasites comme exemple *Heterodera glycines* (Askary et Yarmand, 2007 ; Ramanujam et al., 2011). *Akanthomyces muscarius* (Petch) et *A. lecanii* (Zimm) sont les plus souvent étudiés et partiellement utilisés dans la lutte biologique contre les insectes nuisibles (Koubová, 2009 ; Grent, 2011 ; Upadhyay et al., 2014).

Akanthomyces muscarius (Petch) (anciennement *Lecanicillium muscarium*) est un agent de lutte biologique prometteur. Il a été commercialisé sous les noms de *Verticillium* et *Mycotal* pour le biocontrôle des pucerons et des aleurodes (Güçlü et al., 2010 ; Cuthbertson et Walters, 2005). *A. muscarius* peut former une matrice mucilagineuse contenant des enzymes extracellulaires qui facilitent la pénétration de la cuticule sur ses hôtes (Askary et Yarmand, 2007). Ce champignon a un effet nocif sur divers insectes nuisibles tels que l'aleurode du coton *Bemisia tabaci* (Cuthbertson et Walters, 2005 ; Broumandnia et al., 2021), le puceron *Myzus persicae* (Erdos et al., 2021), la mouche des fruits *Anastrepha fraterculus* (Danilovich et al., 2020), et l'insecte ravageur du riz *Chilo suppressalis* (Shahriari et al., 2021).

La présente étude fournit d'une part, une caractérisation morphologique et moléculaire d'une souche d'*Akanthomyces muscarius* isolée à partir des grains de blé en Algérie, et d'autre part, une évaluation de la capacité de cette souche de contrôler les larves de *Taumatococcus ptyocampa* et certaines souches de champignons phytopathogènes du blé.

2. Matériel et méthodes

2.1. Isolement et identification morphologique d'*Akanthomyces muscarius*

La souche *TA01* a été obtenue à partir de grains de blé tendre *Triticum aestivum* provenant de la wilaya Bouira (Algérie) durant la saison agricole 2018/2019. L'isolement de la souche a été réalisé lors de la première partie de notre étude. Des sous-cultures des colonies marginales ressemblant à *A. muscarius* ont été transférées sur un milieu gélosé au malt. La purification a été effectuée selon la méthode de la culture monosporique. L'identification morphologique a été réalisée selon certains guides d'identification généraux et spécifiques (Zare et Gams 2001, 2003 ; Kepler et al., 2017).

2.2. Identification moléculaire de la souche

2.2.1. Extraction d'ADN, amplification PCR et séquençage

L'extraction de l'ADN d'*A. muscarius* a été effectuée à partir d'une culture sur milieu PDA agée de 10 jours, à l'aide d'un kit commercial d'extraction d'ADN génomique fongique NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel Germany), en suivant les protocoles du fabricant. La partie de l'ADN ITS (ADN de la région de l'espaceur interne transcrit) et de la région du gène EF1- α (facteur d'élongation de traduction) des champignons ont été amplifiés avec les paires d'amorces ITS1 (5'CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A3') / ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3')(Gardes et Bruns,1993) et EF1-728F (5' CAT CGA GAA GTT CGA GAA GG)/EF2 (5' TAC TTG AAG GAA CCC TTA) (Carbon et Kohn, 1999), L'amplification a été réalisée avec un volume total de 25 μ L, qui contient 2 μ L d'ADN génomique, 1 μ L de 10 μ M d'amorces (sens et antisens), 5 μ L de tampon 5X Taq Promega, 1.5 μ L de 25 mM, MgCl₂, 0.2 μ L de mélange d'NTP 25 mM, 0.2 de 5U/ μ L Taq ADN polymérase Promega et 14.10 μ L d'eau stérilisée bidistillée. Les conditions de cycle PCR de la région ITS : dénaturation initiale à 95°C pendant 5 min, 35 cycles de dénaturation à 95°C pendant 30 s, la température d'hybridation est de 55°C pendant 30 s, extension à 72°C pendant 45s, suivie d'une extension finale à 72°C pendant 7 min. Les mêmes conditions de cycle PCR ont été utilisées pour la région EF1- α en modifiant la température d'hybridation à 52°C. La pureté des produits PCR a été confirmée par une électrophorèse sur gel d'agarose suivie d'une coloration. Les produits PCR isolés et purifiés ont été séquencés par la technique de Sanger (Sanger et al., 1977) en utilisant le kit BigDye v3.1 d'Applied Biosystems et les amorces PCR utilisées pour l'amplification des fragments d'intérêt. Les séquences obtenues sont analysées et nettoyées par l'utilisation du logiciel CHROMAS PRO. Les séquences finales sont alors comparées avec celles de la banque de données Gene Bank par l'utilisation du Programme BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> Blast).

2.2.2. Analyse phylogénétique

Une fois les séquences finales obtenues, elles ont été déposées à la NCBI GeneBank, et comparées à celles trouvées sur NCBI à l'aide de BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> Blast), et toutes les séquences présentant un degré élevé d'affinité avec nos séquences, ont été extraites. (Sadrati et al., 2023). L'alignement des séquences multiples a été lancé pour l'analyse phylogénétique à l'aide de l'option muscle du logiciel MEGA7, suivi d'ajustements manuels. Les régions alignées ont été combinées à l'aide du logiciel Mesquite

3.6 pour créer une séquence unique. L'analyse du maximum de vraisemblance a ensuite été appliquée aux alignements individuels et à la séquence concaténée à l'aide de la méthode "Tamurai concaténée en utilisant le modèle "Tamurai-Nei" dans MEGA7. Pour évaluer la force des branches internes de l'arbre construit, la méthode bootstrap a été utilisée avec mille répliques. (Visagie et al., 2013 ; Houbraken et al., 2014 ; Siqueira et al., 2017).

2.3. Evaluation de la croissance et la sporulation d'*A.muscarius*

Des disques mycéliens de 5 mm de diamètre d'*A.muscarius* ont été ensemencés sur des boîtes de Petri de 90 mm contenant six milieux de cultures : PDA (potato dextrose agar), SDA (Sabouraud Dextrose Agar), NA (Nutrient Agar), SNA (Synthetischer Nährstoff-Agar), MA (malt agar), and DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol), puis ont été laissés à incuber à 27 °C. Le diamètre moyen des colonies formées (mm) est mesuré après dix jours d'incubation. En plus, la concentration en spores (spores ml⁻¹) de cette souche cultivée dans les différents milieux a été déterminée. La méthode adoptée est la suivante : un volume de 10 ml de l'eau distillée stérile avec 0.01% de Tween 80 a été versé dans les boîtes contenant la culture. Après l'agitation, la suspension obtenue est filtrée à travers six couches d'étamine stérile pour éliminer les fragments de mycélium, puis diluée. La concentration en spores a été ensuite déterminée à l'aide d'un hémocytomètre. Trois répétitions de chaque traitement ont été effectuées.

2.4. Essais de lutte biologique contre les larves de *Thaumetopoea pityocampa*

Les larves de 1^{er} et 2^{ème} stade larvaire de *Thaumetopoea pityocampa* sont collectées en mois d'octobre 2021 dans deux localités (forêt de mariwet et forêt de sidi mebarek), de l'ouest de la wilaya de Bordj Bou Arreridj, elles sont caractérisées par un climat semi-aride, les larves sur les rameaux coupés sont portées au laboratoire. 20 larves sont déposées dans des boîtes de Pétri dont le fond est tapissé par un papier filtre humide, des aiguilles de pin sont déposées pour alimenter les larves (Abou-Jawdah et al., 2008).

Pour le traitement avec *A. muscarius*, un volume de 10 ml de l'eau distillée stérile avec 0.01% de Tween 80 a été versé sur les colonies sporulantes d'une culture de 15 jours. Après l'agitation, la suspension obtenue est filtrée à travers six couches d'étamine stérile pour éliminer les fragments de mycélium (Abou-Jawdah et al., 2008). La suspension de spores obtenue est utilisée comme solution mère à partir de laquelle trois solutions filles ont été préparées avec les concentrations suivantes 2.3 10⁴ spores/ml, 2.3 10⁵ spores /ml et 2.3 10⁶ spores/ml, le contrôle négatif utilisé a été l'eau distillée tweenée. Les essais ont été conduits

dans des conditions de température 27°C et une humidité relative 100%. Concernant la méthode de traitement, on a pulvérisé 1ml de chaque solution par boîte de Petri (à raison de 50ul de la suspension de spores /individu). Un suivi journalier de nombre d'individus morts est effectué jusqu'à la mort de tous les individus.

Le pourcentage de mortalité observée chez les larves témoins et traités a été estimé par la formule suivante.

$$\text{Mortalité observée} = (\text{Nombre d'individus morts} / \text{Nombre total des individus}) \times 100$$

La mortalité observée a été ensuite corrigée par la formule d'Abbot (1925) :

$$MC = ((M2-M1) / (100-M1)) \times 100$$

Où M1 est le pourcentage de mortalité dans le témoin ; M2 est le pourcentage de mortalité dans le lot traité et MC est Pourcentage de mortalité corrigé.

2.5. Essais d'antagonisme contre les champignons phytopathogènes

L'étude de l'effet antagoniste d'*Akanthomyces muscarius* sur la croissance de cinq souches fongiques a été réalisée par la technique de la confrontation directe décrite par Sivan et Chet, (1989), elle consiste à co-ensemencer, dans la même boîte de Pétri contenant un milieu PDA, deux pastilles gélosées prélevées à partir de cultures de l'antagoniste et de souche fongique cible. Les champignons cibles testés dans cette étude sont *F. verticillioides*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Fusarium sp* et *Curvularia lunata*. Les témoins représentent la souche fongique cible seule ou l'antagoniste seul repiqué au centre de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Les boîtes sont par la suite incubées à 26°C. Les mesures de la croissance radiale des champignons cibles et antagoniste sont effectuées chaque jour.

Le pourcentage d'inhibition de la croissance radiale du pathogène est calculé selon la formule de Datta et al, (2004).

$$\text{Taux d'inhibition} = (D \text{ témoin} - D \text{ test}) / D \text{ témoin} \times 100$$

Où D témoin est le diamètre de la croissance radiale de champignon cible dans la boîte témoin, D test est le diamètre de la croissance radiale de champignon cible dans la boîte test d'*Akanthomyces muscarius*

2.6. Analyses statistiques

Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide de logiciel R version 2022 et XLSTAT version 2000. Les données de mortalité ont été transformées en pourcentage et soumises à une analyse probit pour calculer la concentration létale (LC50) et le temps létal médian (LT50)

(Finney et al., 1971). Tous les tests effectués dans cette étude ont été soumis à une analyse de la variance (ANOVA) avec un traitement Tukey (HSD) et une Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95%.

3. Résultats

3.1. Identification morphologique et moléculaire

Les colonies de la souche *TA01* sur le milieu PDA sont rondes, compactes, surélevés au centre, duveteuses avec une couleur blanche en face et une couleur jaune pâle au revers (Fig.57 A-B). Sous microscope photonique, ce champignon présente des hyphes septées, hyalines et lisses, les conidiophores dressés portant des phalides solitaire ou surtout verticillés. Les phialides sont érigés, généralement en forme de poinçon mesurant 25 à 45 μ m et les conidies sont à paroi lisse, hyalines et unicellulaires. de forme cylindriques et ellipsoïdales, de taille variable qui s'étale entre 2.5 et 6 μ m, Les conidies sont produites en en fausse têtes (Fig.57 C). Nos résultats sont comparables à ceux rapportés par Vinit et al, (2018) pour une souche d'*Akanthomyces muscarius* isolé à partir du *Nypa fruticans*.

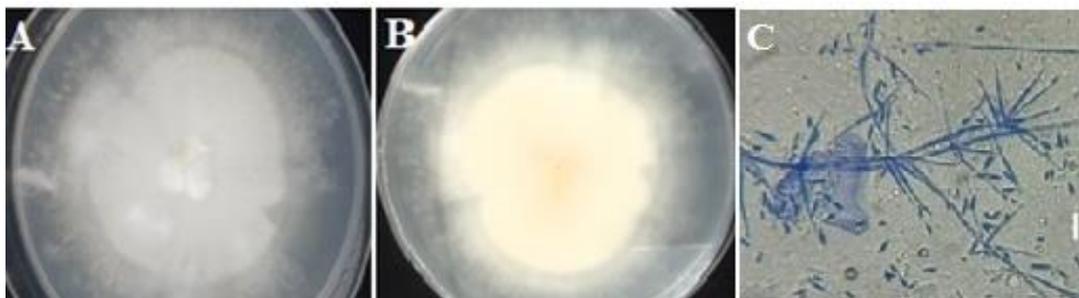


Figure 54. A-B : Aspect macroscopique d'*A. muscarius* sur milieu PDA, C : aspect microscopique d'*A.muscarius* (scale=15 μ m)

Selon les résultats du mégablast sur la base de données nucléotidiques GenBank du NCBI, l'espèce la plus proche de *TA01* était *Akanthomyces muscarius* CBS 143.62, avec un pourcentage de similarité très élevé de 99.63% pour l'ITS. Cependant, pour TEF1, l'espèce la plus proche était *Beauveria malawiensis* IMI 228343 avec un pourcentage de similarité de 85.90%. L'ensemble des données alignées des séquences de l'ITS et TEF1 de 39 taxa, comprenant l'isolat *TA01*, les souches de référence des espèces apparentées ; 10 souches de *Beauveria*, 2 *Lecanicillium*, 3 *Samsoniella*, 22 *Akanthomyces* et deux souches de *Hevansia novoguineensis* CBS 610.80 et *Hevansia novoguineensis* BCC36270 en tant que hors groupe, ont été utilisés pour l'analyse phylogénétique. L'analyse du Maximum likelihood a montré

que *TA01* était étroitement apparenté à l'espèce *Akanthomyces muscarius* CBS 143.62 soutenu par une valeur du bootstrap très élevée (ML=97%) (Fig.58). Sur la base de l'identification morphologique et les résultats des analyses phylogénétiques de l'ensemble de données concaténées des séquences ITS et TEF1. L'isolat *TA01* a été donc identifié comme étant *Akanthomyces muscarius* appartenant à la famille des Cordycypitaceae.

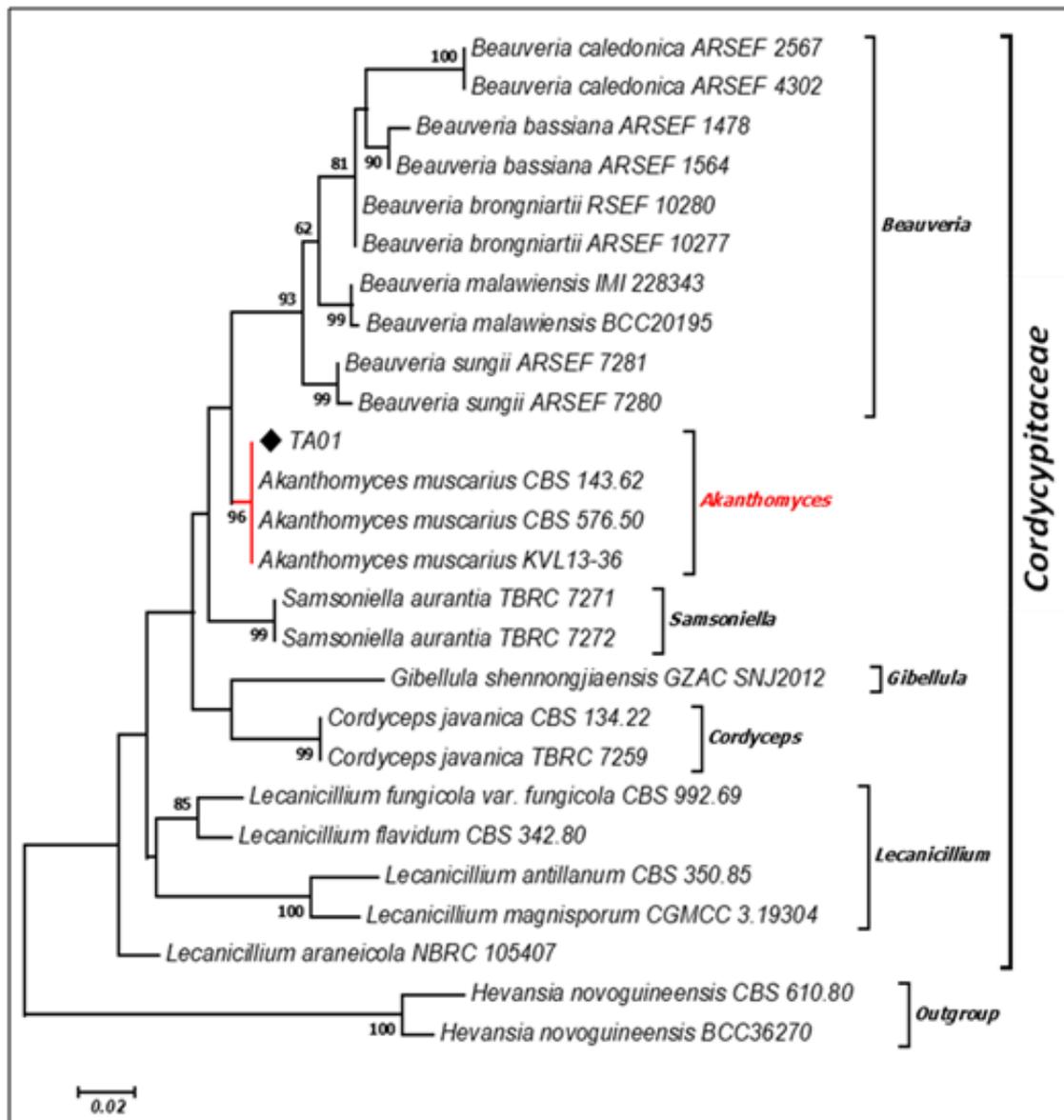


Figure 55. Arbre phylogénétique du maximum de vraisemblance (ML) de la souche isolée *TA01* et des espèces de Cordycypitaceae apparentées, basé sur un ensemble de données combinées de deux séquences de loci (espaceur transcrit interne (ITS) + facteur d'élongation EF1). Seuls les bootstraps supérieurs à 60 % sont indiqués dans les nœuds. *Hevansia novoguineensis* CBS 610.80 et *Hevansia novoguineensis* BCC36270 ont été utilisées comme outgroup.

3.2. Croissance et sporulation d'*A.muscarius*

Les résultats de l'effet des différents milieux de culture sur la croissance mycélienne et la production de spores chez *Akanthomyces muscarius* sont résumés dans le tableau 18. Après 10 jours d'incubation, Il y a un effet très hautement significatif du milieu sur les concentrations conidiennes La plus forte concentration conidienne d'*A. muscarius* a été obtenue pour le milieu GN. Pour la croissance radiale, cinq milieux sur les six testés ont le même effet avec des diamètres moyens entre 21.6 et 25.3mm. La plus faible valeur du diamètre des colonies d'*A.muscarius* a été observée sur le milieu SNA.

Tableau 22. Concentration des conidies et diamètre des colonies d'*A.muscarius* cultivées dans six milieux de culture après 10 jours d'incubation.

	Milieu de culture	Concentrations (conidie ml ⁻¹) Mean± SE (n = 3)	Diamètre de la colonie (mm) Mean± SE (n = 3)
1	GN	2,1 10 ⁶ ± 1 10 ⁶ a	25,3±2,6a
2	PDA	1,3 10 ⁶ ±3,3 10 ⁴ b	23,6±2,02a
3	MA	1,3 10 ⁶ ±3,3 10 ⁴ b	23,6±1,4a
4	SDA	1,0 10 ⁶ ±5,7 10 ⁴ c	23,3±0,3a
5	RB	6,3 10 ⁴ ± 6,3 10 ³ d	21,6±0,3a
6	SNA	6,0 10 ⁴ ±1,7 10 ⁴ d	11±1,1b

Les mêmes lettres dans chaque colonne indiquent une différence non significative.

3.3. Mortalité des larves de *T. pityocampa*

Les résultats des pourcentages de mortalité corrigée des larves de *T. pityocampa* traitées avec trois concentrations de la souche *A. muscarius* (C₁=2.3 10⁴, C₂=2.3 10⁵ et C₃=2.3 10⁶) calculés durant la période allant du 6^{ème} au 11^{ème} jour sont résumés dans le tableau n19. Il a été noté que la mortalité corrigée des larves pour les trois concentrations étudiées était dépendante du temps et augmentait avec le temps. En effet, la mortalité corrigée passe de 16% au jour 6 à 63% au jour 11 pour la plus faible concentration d'*A. muscarius* (C₁), et de 46% à 92% pour la même période à la plus forte concentration (C₃). Après leur mort, les larves traitées avec le champignon sont recouvertes d'un mycélium blanchâtre (Fig.59). L'analyse de variance a montré un effet très significatif du temps et de la dose (P<0,001). La mortalité de 100% des larves a été observée après 14 jours dans le cas de la plus forte concentration de spores (C₃), et après 18 et 19 jours pour les concentrations C₂ et C₁,

respectivement. La comparaison des moyennes par le test de Turkey n'a pas révélé de différence significative dans la mortalité corrigée entre les concentrations C2 ; 2.3×10^5 et C1 ; 2.3×10^4 conidies.ml⁻¹.

Tableau 23. Mortalité corrigée de *T. pityocampa* avec les différentes concentrations sporales d'*A.muscarius*.

Temps (jours)	Traitement (conidie ml ⁻¹)	Mortalité corrigée (%)	F value	P-value
6	C ₁ = 2.3×10^4	16.29±13.59 ^b	8.948	< 0.01
	C ₂ = 2.3×10^5	21.95±8.85 ^b		
	C ₃ = 2.3×10^6	46.19±6.91 ^a		
7	C ₁ = 2.3×10^4	16.88±9.43 ^b	31.41	< 0.001
	C ₂ = 2.3×10^5	26.25±7.95 ^b		
	C ₃ = 2.3×10^6	58.49±2.79 ^a		
8	C ₁ = 2.3×10^4	20.69±11.42 ^b	33.75	< 0.001
	C ₂ = 2.3×10^5	30.06±7.93 ^b		
	C ₃ = 2.3×10^6	67.86±3.89 ^a		
9	C ₁ = 2.3×10^4	37.90±13.64 ^b	41.92	< 0.001
	C ₂ = 2.3×10^5	41.39±5.28 ^b		
	C ₃ = 2.3×10^6	83.11±5.23 ^a		
10	C ₁ = 2.3×10^4	54.90±12.24 ^b	33.9	< 0.001
	C ₂ = 2.3×10^5	66.66± 6.79 ^{ab}		
	C ₃ = 2.3×10^6	88.23±11.76 ^a		
11	C ₁ = 2.3×10^4	62.74±12.24 ^b	47.28	< 0.001
	C ₂ = 2.3×10^5	74.50±8.98 ^{ab}		
	C ₃ = 2.3×10^6	92.15±6.79 ^a		

‘**’ < 0.05 ‘***’ < 0.01 ‘****’<0.001; les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions ± SE ; les valeurs suivies par des lettres différents dans une colonne indiquent une différence significative à P < 0.05



Figure 56. Aspect morphologique des larves de *T. pityocampa* traitées avec *A. muscarius* (10 jours après le traitement à la concentration C3).

Les valeurs de LC_{50} et LC_{90} d'*A. muscarius* contre *T. pityocampa* calculées depuis le 6^{ème} jour après traitement et jusqu'au 11^{ème} jour sont résumées dans le tableau 20. Ces valeurs diminuent avec le temps, ainsi le LC_{50} a diminué de $2.5 \cdot 10^6$ spores/ml pendant le 5^{ème} jour jusqu'à $3.5 \cdot 10^3$ pendant le 11^{ème} jour après le traitement. De même, LC_{90} a diminué de $1.06 \cdot 10^{10}$ à $1.4 \cdot 10^6$ spores /ml pendant la même période.

Tableau 24. Les valeurs de CL_{50} et CL_{90} d'*A.muscarius* contre les larves de 1^{er} et 2^{ème} stade larvaire de *T. pityocampa*

Time (Days)	LC (Spores /ml)		Confidence Intervals	χ^2 Df = 14	Intercept	Slope
6	LC ₅₀	2.5 10 ⁶	-1.9 10 ⁶ - 6,9 10 ⁶	12	5.2 ±0.5	2.2 ±0.4
	LC ₉₀	1.06 10 ¹⁰	-6.06 10 ¹⁰ -8,2 10 ¹⁰			
7	LC ₅₀	6.7 10 ⁵	-2.9 10 ⁵ -1,3 10 ⁶	15	5.7±0.4	3.02 ± 0.3
	LC ₉₀	3.9 10 ⁸	-1.05 10 ⁸ -1,8 10 ⁹			
8	LC ₅₀	3.4 10 ⁵	6.2 10 ⁴ - 6,1 10 ⁵	18	6.3±0.5	3.4±0.4
	LC ₉₀	9.9 10 ⁷	-1.7 10 ⁸ -3,7 10 ⁸			
9	LC ₅₀	7.4 10 ⁴	6.6 10 ³ -1,4 10 ⁵	14	8.8±0.6	3.5±0.5
	LC ₉₀	2.3 10 ⁷	-3.07 10 ⁷ - 7,6 10 ⁷			
10	LC ₅₀	7.6 10 ³	-6.8 10 ³ - 2,2 10 ⁴	15	13.02±0.7	2.1±0.5
	LC ₉₀	4.5 10 ⁶	-5.7 10 ⁶ - 1,4 10 ⁷			
11	LC ₅₀	3.5 10 ³	-4.4 10 ³ - 1,1 10 ⁴	15	14.3±0.7	1.8±0.5
	LC ₉₀	1.4 10 ⁶	-1.2 10 ⁶ - 4,08 10 ⁶			

Les valeurs de TL_{50} , TL_{90} ont été également calculées (tableau 21). Le temps léthal 50 et 90 les plus faibles (6.1 jours et 10.4 jours respectivement) sont observés pour la concentration en spores d'*A.muscarius* la plus forte (C_3). Pour les concentrations C_1 et C_2 , les valeurs de ces deux paramètres sont plus élevées que celles enregistrées dans le cas de C_3 . Cependant, il est à noter qu'il n'y a pas de différences significatives entre les valeurs de TL_{50} et TL_{90} calculées pour ces deux concentrations.

Tableau 25. Les valeurs de LT₅₀ et LT₉₀ d'*A.muscarius* contre les larves de 1^{er} et 2^{ème} stade larvaire *T. pityocampa*

Dose	LT ₅₀ (jours)	LT ₉₀ (jours)	χ^2	df	Intercept	Slope
C1	9,6	16.5	24	21	1.7±0.03	-0.14±0.004
C2	9.5	13.7	20	18	1.3 ±0.05	-0.12±0.006
C3	6.1	10.4	20	18	0.8±0.17	-0.08±0.020

3.4. Taux d'inhibition des champignons phytopathogènes par *A. muscarius*

Afin d'évaluer la capacité d'antagonisme de la souche *TA01* d'*A. muscarius* vis-à-vis des champignons phytopathogènes, des essais de confrontation directe contre 5 souches de champignons phytopathogènes (*F. verticillioides*, *F.oxysporium*, *F.solani*, *Fusarium sp* et *Curvularia lunata*) ont été conduit (Fig.60).

Les mesures journalières de la croissance radiale de chacune des cinq souches de champignons phytopathogènes en absence et en présence de la souche antagoniste *TA01*, ainsi que les mesures journalières de la croissance radiale de la souche antagoniste en absence et en présence de chacune des souches fongiques phytopathogènes sont illustrées dans la figure 61. La souche *TA01* d'*Akanthomyces muscarius* a provoqué une diminution significative de la croissance radiale de toutes les souches fongiques testées. Le taux d'inhibition maximum observé pour chaque souche est par ordre 52.94% au 5^{ème} jour pour *Curvularia lunata*, 52.90% au 7^{ème} jour pour *Fusarium sp*, 45.83% au 9^{ème} jour pour la souche de *F. oxysporum*, 43.92% au 6^{ème} jour pour *F.solani* et 39.61% au 7^{ème} jour pour *F.verticillioides*. Il est à noter que la croissance radiale de la souche *TA01* ne semble pas être affectée par la présence des souches fongiques phytopathogènes .

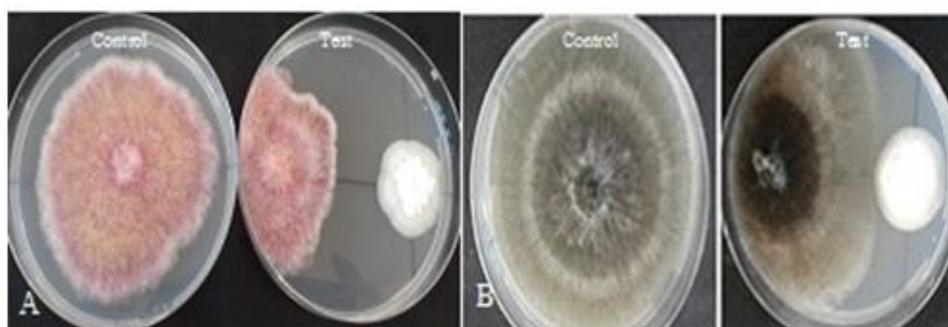


Figure 57. Inhibition de la croissance des agents phytopathogènes par *A. muscarius* par la technique de confrontation directe ; A : *Fusarium oxysporum* ; B : *Curvularia lunata*

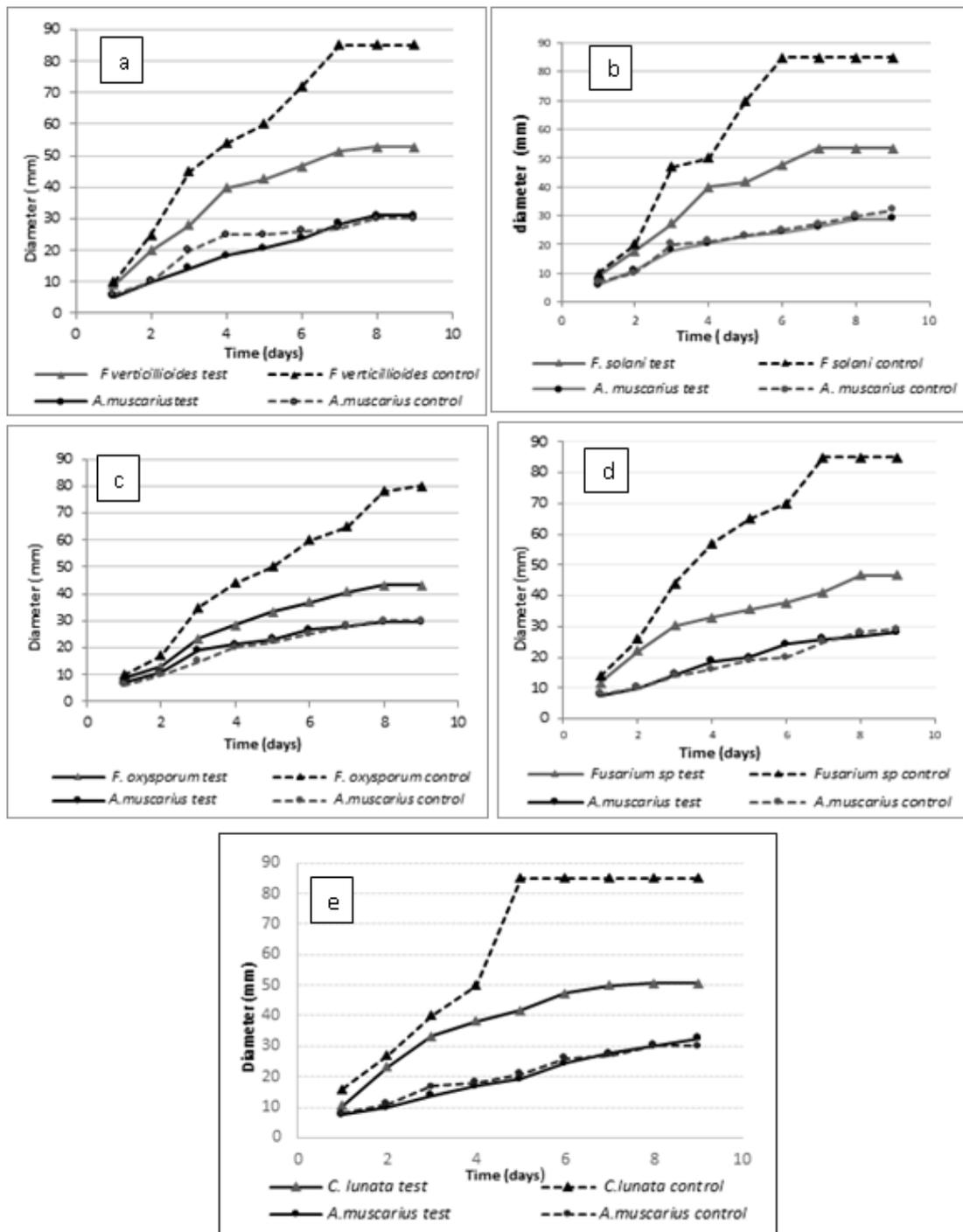


Figure 58. Effet de l'antagoniste *A. muscarius* sur la croissance radiale des champignons phytopatogènes : -a-*F. verticilloides*, -b-*F. solani*, -c-*F. oxysporum*, -d-*F. sp.*, -e-*Curvularia lunata*

4. Discussion

La souche d'*Akanthomyces muscarius* étudiée dans ce travail a été isolé à partir des grains de blé tendre algérienne, ce qui est intéressant car dans la plupart des études publiées auparavant, cette espèce a été isolée à partir des insectes, ou bien à partir d'autres parties de végétaux tel que les tissus foliaires de *Nypa fruticans* (Vinit et al., 2018) et dans les pommes stockées en Roumanie (Roxana et al., 2019). Les caractéristiques macros et microscopiques de notre souche se sont avérées similaires avec celles rapportés par Vinit et al, (2018) et Roxana et al, (2019).

Notre souche a été soumise à une analyse phylogénétique complète et a été regroupé en clade distinct avec d'autre *Akanthomyces* dans l'arbre phylogénétique. Le pourcentage de similarité avec l'espèce *Akanthomyces muscarius* est très élevé (99.63%). Rappelant que l'analyse phylogénétique basée sur la région ITS a été largement appliquée comme marqueur moléculaire pour classer les champignons. (Hillis et Dixon, 1991 ; Salazar et al., 1999 ; Arenal et al., 2000).

D'après nos résultats, les milieux PDA, MA, SDA, GN, et DRBC favorisent de la même façon la croissance végétative d'*A. muscarius*. En ce qui concerne la production des spores, le milieu GN semble être le milieu optimal. D'autres auteurs comme Broumandnia et al, (2021) ont trouvé que le milieu PDA est le milieu qui favorise le mieux la croissance radiale, alors que le milieu SDA est le milieu optimal pour la production des conidies d'*A. muscarius*.

Les résultats de l'essai biologique *in vitro* obtenu sont indiqués que l'isolat TA01 d'*Akanthomyces* est efficace dans la lutte contre les larves de *Thaumetopoea pityocampa*. A notre connaissance, aucune étude sur l'efficacité d'*Akanthomyces muscarius* contre *T. pityocampa* n'a été publiée. Les études menées jusqu'à maintenant pour la lutte biologique contre *T. pityocampa* ont concerné certaines bactéries, virus et champignons entomopathogènes. L'étude de Latifa et al, (2012) a montré que *Bacillus thuringiensis* peut provoquer une mortalité de 100% des larves de *T. pityocampa*. D'après Martin (2001), l'espèce *Beauveria bassiana* possède une efficacité dans la lutte de cette chenille, des pourcentages de mortalité de 82 à 86 % ont été enregistrés, Des résultats similaires ont été rapportés par Bonnet et al, (2020). Cependant, il a été signalé que les chrysalides et les larves de la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* sont trouvées naturellement infectées par *B. bassiana* dans le nord de l'Italie (Battisti et al., 2000) et en Andalousie dans l'Espagne

(Vargas-Osuna et al., 1994). Plusieurs autres études ont testé d'autres champignons entomopathogènes tels que *Metarhizium anisopliae*, *Isaria farinosa* et *Lecanicillium lecanii* et ont rapporté des résultats optimistes contre les larves de *T. pityocampa*. (Er et al., 2007 ; Akinici et al., 2017 ; Sönmez et al., 2017 ; Ozdemir et al., 2019).

Plusieurs recherches publiées ont montré l'efficacité d'*A.muscarius* sur plusieurs insectes ravageurs tels que l'aleurode du coton ; *Bemisia tabaci* (Osborne et Landa, 1992 ; Faria et Wraight, 2001; Cuthbertson et Walters, 2005 ; Park et Kim, 2005; Ren et al., 2010 ;Broumandnia et al ; 2021), le perçon *Myzus persicae* (Erdos et al., 2021), la mouche des fruits *Anastrepha fraterculus* (Danilovich et al., 2020) et l'insecte ravageur de riz *Chilo suppressalis* (Shahriari et al.,2021). Dans d'autres études, les espèces d'*Akanthomyces* ont présenté une virulence inhérente supérieure à celle des espèces de *Beauveria* et de *Cordyceps* (*Isaria*) pour les pucerons (Hayden et al.,1992 ; Kim et al., 2007).

Les valeurs de LC₅₀ trouvées dans la présente étude (CL₅₀=1,9 10⁶ - 7,610³ spores/ml) sont relativement inférieures aux valeurs rapportées dans l'étude de Ren et al., (2010). Ces auteurs ont testé quatre isolats de *A. muscarius* (V20, V26, V07 et V17) contre les nymphes de *B. tabaci*, et ont trouvé des valeurs de LC₅₀ entre 1,07 × 10⁶ et 5,08 × 10⁸ spores/ ml.

Les valeurs de LT₅₀ de notre étude étaient de 8.25, 6.7 et 5.2 jours aux concentrations de 2.3 10⁴, 2.3 10⁵ et 2.3 10⁶ spores ml⁻¹ respectivement. Ces valeurs sont relativement plus élevées que celles rapportées pour un isolat iranien d'*A. muscarius*, isolé à partir de *Zeuzera pyrina* L. (Tabadkani et al., 2010). Ces isolats ont été testés contre *Trialeurodes vaporariorum* à des concentrations de 10⁵, 10⁶, 10⁷, et 10⁸ spores ml⁻¹ et ont montré des valeurs de TL₅₀ de 8, 6, 6, et 4 jours, respectivement.

Dans les essais de pouvoir antifongique de notre souche TA01, cette dernière a provoqué une diminution significative de la croissance radiale de toutes les souches fongiques testées (quatre souches de *Fusarium* et une de *Curvularia*) avec des taux d'inhibition qui varient entre 39,61% et 52,94%. Selon la bibliographie, Le champignon entomopathogène *Akanthomyces muscarius*, est l'un des parasites naturels les plus prometteurs, car il présente un énorme potentiel en tant qu'agent de lutte biologique contre de nombreux champignons phytopathogènes, dont *Sphaerotheca macularis*, *Puccinia coronata*, *Penicillium digitatum*, *Pythium ultimum* et *Fusarium moniliforme* (Benhamou et Brodeur, 2001 ; Benhamou, 2004; Miller et al., 2004; Yu et al., 2012). Concernant le mode d'action de *Verticillium lecanii*, Yu et al, (2015) ont réussi à extraire et purifier la chitinase de ce champignon, cet enzyme a

montré in vitro une activité inhibitrice de la germination des spores contre plusieurs pathogènes végétaux, en particulier *Fusarium moniliforme*. D'autres auteurs ont prouvé le phénomène de parasitisme de *Verticillium lecanii* vis-à-vis des champignons phytopathogènes biotrophe tel que *Sphaerotheca fuliginea* l'agent de l'oïdium de concombre (Askary et al., 1997).

Cette recherche a montré que la souche TA01 d'*A. muscarius* avait un double potentiel de biocontrôle contre *T. pityocampa* et les champignons phytopathogènes. L'étude de Kim et al, (2007) a également démontré que 3 taxons de *Lecanicillium spp.* (*Akanthomyces spp.*) : *Lecanicillium sp.* (Souche DAOM198499), *L. attenuatum* (souche CS625), et *L. longisporum* (Vertalec), possèdent une double efficacité contre l'oïdium et les pucerons. De même, le champignon entomopathogène *Isaria javanica* possède un double potentiel de biocontrôle contre les pucerons et les maladies de la flore (Kang et al., 2018).

L'isolat entophytique TA01 (*A. muscarius*) a une double activité de biocontrôle contre les insectes nuisibles et les champignons phytopathogènes ; notre étude a montré un effet insecticide élevé contre le premier et le deuxième stade larvaire de *T. pityocampa* et un effet fongicide significatif contre certains champignons phytopathogènes du blé dans des conditions de laboratoire.

En conclusion, les endophytes fongiques émergent rapidement comme une classe distincte d'agents microbiens de biocontrôle. Outre leur efficacité contre les insectes nuisibles, les entomopathogènes fongiques peuvent offrir une protection contre les maladies des plantes en tant qu'endophytes. Dans les recherches futures, il est intéressant d'utiliser les métabolites extracellulaires de cette souche afin d'évaluer leur activité antifongique et insecticide. Des travaux supplémentaires sont nécessaires pour confirmer l'efficacité de cette souche dans des circonstances in situ et pour développer des formulations optimales pour l'application sur le terrain.

Conclusion et perspectives

Conclusion

L'objectif de notre travail était l'isolement et l'identification de la flore fongique nuisible et bénéfique associée au blé en Algérie.

La première partie de ce travail, a mis en évidence une biodiversité des champignons associés aux grains de blé dans des régions semi-arides de l'Algérie (Bouira, Bordj Bou Arreridj et Setif). L'isolement des champignons à partir des grains de blé dur et tendre a révélé un taux de contamination élevé, environ 93,17% des grains pour le blé dur et 88,88% des grains de blé tendre étaient colonisés par des champignons. Ces taux sont traduits par l'obtention d'un total de 1111 isolats fongiques. L'identification de ces isolats a permis de les classer dans 30 mycotaxons, dont 27 genres obtenus à partir des grains de blé dur et 17 genres obtenus à partir des grains de blé tendre.

Les champignons identifiés sont : *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Scopulariopsis*, *Aureobasidium*, *Stemphylium*, *Ulocladium*, *Epicoccum*, *Phoma*, *Acremonium*, *Trichophyton*, *Exserohilum*, *Akanthomyces*, *Chaetomium*, *Torula*, *Arthrographis*, *Microsporium*, *Peacilomyces*, *Mucor*, *Cladophialophora*, *Absidia*, *Botrytis*, *Stachybotrys*, *Immonsia*, *Gliocladium*, *Basipetospora*, *Beauveria*, *Trichoderma* et autres zygomycètes.

Cette mycoflore a été dominée par cinq genres fongiques, et qui sont *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus* et *Fusarium* avec des pourcentages de (17,64%, 28, 57%), (17,06%, 17,64%), (16,83%, 12,06%), (11,34%, 8,82%) et (4,32%, 2,11%) respectivement dans les grains de blé dur et tendre, avec une prédominance du genre *Alternaria* dans les grains des deux types de blé.

De même une étude sur la mycoflore associée aux plants de blé a été effectuée. L'isolement des champignons à partir des échantillons de plants fraîchement prélevés a révélé des taux de contamination estimés à 100%, ce qui indique que tous les plants sont porteurs de champignons, même si certains semblent sains. Un total de 285 isolats fongiques a été obtenu, révélant 10 genres sur les plants de blé dur et 8 genres sur les plants de blé tendre. Le genre *Fusarium* est le plus abondant avec un pourcentage de 29,12% sur le blé dur et 39,92% sur le blé tendre.

Dans la deuxième partie de notre travail, on s'est intéressé à l'étude de résistance – sensibilité des champignons phytopathogènes de genre *Fusarium* vis-à-vis des fongicides couramment utilisés en Algérie de la famille des triazoles et strobilurine. Pour cela on a ajouté dans le milieu d'isolement (DCPA) quatre fongicides et qui sont le Difénoconazole, le Triadimenol, le Tébuconazole, l'Azoxytrobine. Cette méthode a permis d'isoler quatre souches fongiques de *Fusarium* résistantes aux triazoles (triadimenol et difénoconazole). Il s'agit d'une souche de *F. graminearum*, deux souches de *F. culmorum* et une souche de *F. lateritium*. Les essais d'évaluation de la résistance au triadimenol et au difénoconazole réalisés sur le milieu PDA supplémentés de trois doses différentes de chaque fongicide ont montré qu'il y a une différence dans la réponse de ces souches aux fongicides, on remarque que les taux d'inhibition varient entre 50 et 77% pour les trois doses de difénoconazole, tandis que ces taux sont entre 70 et 89% pour les trois doses de triadimenol. Ce résultat indique que les quatre souches fongiques sont plus résistantes au difénoconazole qu'au triadimenol, ce qui montre que les deux souches de *F. culmorum* sont les plus résistantes au difénoconazole et les souches de *F. graminearum* et *F. lateritium* sont les plus résistantes au triadimenol. Il est à noter que la souche de *F. graminearum* est la plus résistante aux deux fongicides testés.

Après l'isolement des souches de *Fusarium* résistantes aux triadimenol et au difénoconazole sur le milieu DCPA et en parallèle avec les essais d'évaluation de la résistance, des essais de pathogénicité de ces espèces sur blé ont été effectués. Les résultats obtenus montrent que les trois espèces ; *F. graminearum*, *F. culmorum* et *F. lateritium* sont toutes phytopathogènes sur le blé, leurs effets sur la germination et sur la croissance de la coléoptile montrent qu'il existe une variabilité dans leur virulence, les résultats obtenus montrent que les espèces les plus agressives sont *F. culmorum* et *F. graminearum*.

La troisième partie du travail, a été consacrée à l'étude de l'isolat endophytique *Akanthomyces muscarius*. Cette espèce a été isolée à partir des grains de blé tendre dans la région de Bouira, puis identifiée par des tests morphologiques et moléculaires. La capacité à contrôler les larves de *Thaumetopoya pityocampa* par *A. muscarius* a été mise en évidence avec des essais dose-mortalité. En outre, la capacité de cette espèce à contrôler quelques souches de champignons phytopathogènes a été également évaluée par des essais de confrontation directe. Par ailleurs, des essais de dose- mortalité effectués sur le premier stade larvaire de *T. pityocampa* pour trois concentrations différentes de cet isolat ont révélé une mortalité de 88.23% après 10 jours pour la concentration de 2.3×10^6 spores/ml. La concentration médiane létale (CL50) d'A.

muscarius après 10 jours de traitement est de $7.6 \cdot 10^3$ spores/ml, tandis que le temps létal médian (LT50) observé pour la dose $2.3 \cdot 10^6$ spores/mL d'*A.muscarius* est de 5.2 jours. L'isolat testé a montré aussi une activité antifongique contre certains champignons phytopathogènes de blé avec des taux d'inhibition qui varient entre 39.61% et 52.94%. Cette souche possède une double activité de biocontrôle contre les insectes nuisibles et les champignons phytopathogènes.

En résumé, l'étude approfondie de la flore fongique associée à la plante de blé révèle une diversité remarquable, où certains champignons agissent en tant qu'agents pathogènes préjudiciables. Tandis que d'autres, adoptent un mode de vie endophytique au sein de la plante émergent rapidement comme une classe distincte d'agents microbiens de biocontrôle. Outre leur efficacité contre les insectes nuisibles, les entomopathogènes fongiques peuvent offrir une protection contre les maladies des plantes en tant qu'endophytes.

En perspectives, il serait utile de compléter ce travail par d'autres études telles que :

- Une étude visant l'identification moléculaire des espèces fongiques isolées dans ce travail
- Une étude visant le screening moléculaire des espèces fongiques existantes sur les plants et grains de blé (l'identification sans passer par l'isolement sur milieu de culture) afin de donner un aperçu global sur la diversité réelle de la mycoflore associée au blé.
- Une étude visant la vérification de la présence de la résistance sur terrain *in vivo* par des enquêtes (questionnaires) ciblées concernant le triadimenol et le difénoconazole sur la culture de blé et par des essais de traitement sur champs
- Une étude visant l'identification des mycotoxines produites par les champignons toxigènes sur les grains
- Exploration des effets indirects d'*A.muscarius* sur le blé pour voir leur effet inducteur sur la germination et la croissance de la plante d'une part et déterminer leur impact indirect sur la protection de blé contre les ravageurs et les agents pathogènes d'autre part.
- En fin, une étude visant l'extraction des métabolites secondaires d'*Akanthomyces muscarius* et l'utilisation de ces derniers comme des biopesticides contre les ennemis de culture pour minimiser l'utilisation répétitifs des pesticides chimiques.

Références bibliographiques

References bibliographiques

A

- Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Eco. Entomol.* 18, 265-267.
- Abdallah-Nekache, N., Laraba, I., Ducos, C., Barreau, C., Bouznad, Z., Boureghda, H., 2019. Occurrence of *Fusarium* head blight and *Fusarium* crown rot in Algerian wheat: identification of associated species and assessment of aggressiveness. *Eur. J. Plant Pathol.* 154, 499-512.
- Abecassis J., Bergez J.É., 2009. Les filières céréalières : organisation et nouveaux défis. Versailles. Edition Quae, Paris. pp, 165.
- Abis, S., 2015. Géopolitique du blé : Un produit vital pour la sécurité mondiale. Editions IRIS, Paris.
- Abou-Jawdah, Y., Atamian, H., Nemer, G., Kfoury, L., Choukrallah, N., Hanna, L., Nemer, N., 2008. Efficacy and molecular studies of a Lebanese isolate of *Beauveria* for control of *Thaumetopoea wilkinsoni* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). *Biocontrol. Sci. Technol.* 18,573-581.
- Akinci, H. A., Ozman- Sullivan, S. K., Diler, H., Celik, N., Sullivan, G. T., Karaca, G., 2017. Entomopathogenic fungi isolated from *Thaumetopoea pityocampa* and their efficacies against its larvae. *Fresen. Environ. Bull.* 26, 5251-5257.
- Akinsanmi, O.A., Backhouse, D., Simpfendorfer, S., Chakraborty, S., 2006. Pathogenic variation of *Fusarium* isolates associated with head blight of wheat in Australia. *J. Phytopathol.* 154, 513-521.
- Akinsanmi, O. A., Mitter, V., Simpfendorfer, S., Backhouse, D., Andersen, B., Kroger, E., Roberts, R. G., 2002. Chemical and morphological segregation of *Alternaria Arborescens*, *Alternaria Infectoria* and *Alternaria Tenuissima* species-groups. *Mycol. Res.* 16,170-180.

- Albertini, C., Gredt, M., Leroux, P., 2003. Polymorphism of 14 α -demethylase gene (CYP51) in the cereal eyespot fungi *Tapesia acuformis* and *Tapesia yallundae*. *Eur.J. Plant Pathol.* 109, 117-128.
- Ali, H., Summerell, B. A., Burgess, L. W., 1991. An evaluation of three media for the isolation of *Fusarium*, *Alternaria* and other fungi from sorghum grain. Australas. *Plant Pathol.* 20, 134-138.
- Amendola, J., Rees, N., 2003. Understanding baking: The Art and Science of Baking. third edition. Wiley.Hoboken. pp, 288.
- Andrews, S., Pitt, J. I., 1986. Selective medium for isolation of *Fusarium* species and dematiaceous hyphomycetes from cereals. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 1235-1238.
- Aouali, S., Douici-Khalfi, A., 2009. Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie : symptômes, développement et moyens de lutte. ITGC, EL Harrach, Alger. 56p.
- Aoues, K., Boutoumi, H., Benrima, A., 2017. État phytosanitaire du blé dur local stocké en Algérie. *Agrobiologia.* 7, 286-296.
- Arcury, T. A., Grzywacz, J. G., Barr, D. B., Tapia, J., Chen, H., Quandt, S.A., 2007. Pesticide urinary metabolite levels of children in eastern North Carolina farm worker households. *Environ. Health. Perspect.* 115, 1254-1260.
- Arenal, F., Platas, G., Monte, E., Peláez, F., 2000. ITS sequencing support for *Epicoccum nigrum* and *Phoma epicoccina* being the same biological species. *Mycol. Res.* 104, 301-303
- Armand B., Germain M., 1992. Le Blé : éléments fondamentaux et transformation, Presses Université Laval, pp : 9-188.
- Arnold, A. E., 2007. Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers. *Fungal Biol. Rev.* 21, 51-66.
- Askary, H., Benhamou, N., Brodeur, J., 1997. Ultrastructural and cytochemical investigations of the antagonistic effect of *Verticillium lecanii* on cucumber powdery mildew. *Phytopathology.* 87, 359-368.

Askary, H., Yarmand, H., 2007. Development of the entomopathogenic hyphomycete *Lecanicillium muscarium* (Hyphomycetes: Moniliales) on various hosts. *Eur. J. Entomol.* 104, 67.

Avelar, I. C., 2021. Actinobacteria for the control of phytopathogenic and/or mycotoxinogenic fungi of cereals (Doc. Diss, Université Montpellier).

Avery, P. B., Pick, D. A., Aristizábal, L. F., Kerrigan, J., Powell, C. A., Rogers, M. E., Arthurs, S.P., 2013. Compatibility of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) blastospores with agricultural chemicals used for management of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Insects.* 4, 694-711.

B

Bacon, C. W., 1990. Isolation, culture and maintenance of endophytic fungi on grasses. Isolation, culture and maintenance of endophytic fungi on grasses. 259-282.

Balajee, S. A., Gribskov, J., Brandt, M., Ito, J., Fothergill, A., Marr, K. A., 2005. Mistaken identity: *Neosartorya pseudofischeri* and its anamorph masquerading as *Aspergillus fumigatus*. *J. Clin. Microbiol.* 43, 5996-5999.

Baroncelli, R., Zapparata, A., Piaggieschi, G., Sarrocco, S., Vannacci, G., 2016. Draft whole-genome sequence of *Trichoderma gamsii* T6085, a promising biocontrol agent of *Fusarium* head blight on wheat. *Genome Announc.* 4, 10-1128.

Battais F., Richard C., Leduc V., 2007. Les Allergènes du grain du blé, Département recherche, laboratoire ALLERBIO, Groupe ALK- Abello, 51140 Van deuil, France Rev. Française. *D allergol. D immunol. Clin.* 47,171-174.

Battisti, A., Avci, M., Avtzis, D.N., Jamaa, M.L., Berardi, B., Berretima, L., Branco, W., Chakali, M.G., El Fels, M., Frerot, B., Hodar, J.A., 2015. Natural history of the processionary moths (*Thaumetopoea spp.*): new insights in relation to climate change. In Roques A, editor. Processionary moths and climate change: An update. Netherlands: Springer; p. 15–79.

- Battisti, A., Bernardi, M., Ghirardo, C., 2000. Predation by the hoopoe (*Upupa epops*) on pupae of *Thaumetopoea pityocampa* and the likely influence on other natural enemies. *BioControl*. 45, 311-323.
- Bauske, M. J., Yellareddygar, S. K. R., Gudmestad, N. C., 2018. Potential impact of fluopyram on the frequency of the D123E mutation in *Alternaria solani*. *Plant. Dis.* 102, 656-665.
- Bekkis, S., Benmehaia, M. A., Kaci, A., 2022. Les enjeux de la dépendance de la filière de blé en Algérie : Analyse par asymétries de réponses de l'offre dans la chaîne de valeur. *New medit : Mediterranean J. Econom, Agri and Environ.* 21, 133-147.
- Belaid, 1996. Aspects de la céréaliculture algérienne. Offices de publication universitaires. 203P.
- Belkacem-Hanfi, N., Semmar, N., Perraud-Gaime, I., Guesmi, A., Cherni, M., Cherif, I., Roussos, S., 2013. Spatio- temporal analysis of post-harvest moulds genera distribution on stored durum wheat cultivated in Tunisia. *J. Stored. Prod. Res.* 55, 116-123.
- Benhamou, N., 2004. Potential of the mycoparasite, *Verticillium lecanii*, to protect citrus fruit against *Penicillium digitatum*, the causal agent of green mold. a comparison with the effect of chitosan. *Phytopathology*. 94, 693-705.
- Benhamou, N., Brodeur, J., 2001. Pre-inoculation of Ri T-DNA transformed cucumber roots with the mycoparasite, *Verticillium lecanii*, induces host defence reactions against *Pythium ultimum* infection. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 8, 133-146.
- Benmounah, H., Brinis, L., 2018. Etude de quelques expressions morpho-physiologiques chez trois génotypes de blé dur pour la sélection à la tolérance au déficit hydrique. Synthèse : *Rev.Sci. Technol.*37, 78-86.
- Bennett, J. W., Klich, M., 2003. Mycotoxins. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, 497-516
- Berhaut P., Le Bras A., Niquet, G., Griaud, P., 2003. Stockage et conservation des grains à la ferme, ARVALIS, Institut du végétale, Ed. Tec et Doc, Paris, 108 P.
- Bessadat, N., 2013. Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria* sp responsable de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. (Doc. Diss. Université d'Oran).

- Bhattacharya, S., Sae-Tia, S., Fries, B.C., 2020. Candidiasis and mechanisms of antifungal resistance. *Antibiotics*. 312.
- Blacutt, A. A., Scott, E., Gold. K. A., Voss, M.G., Anthony, E. G., 2018. “*Fusarium Verticillioides*: Advancements in Understanding the Toxicity, Virulence, and Niche Adaptations of a Model Mycotoxigenic Pathogen of Maize.” *Phytopathology*. 108, 312-26.
- Błaszczyk, L., Waśkiewicz, A., Gromadzka, K., Mikołajczak, K., Chełkowski, J., 2021. *Sarocladium* and *Lecanicillium* associated with maize seeds and their potential to form selected secondary metabolites. *Biomolecules*. 11, 98.
- Bocquet, j., 1993. Généralités sur les microorganismes, in biotechnologie, 4eme édition. Lavoisier, Tec et doc, Paris.pp,15-58.
- Boiron, P., 1997. A one step *Candida albicans* DNA extraction method using ‘Chelex® 100 Resin’ suitable for DNA amplification (PCR). *J. Mycol. Méd.*7, 53-54.
- Bonnet, C., Martin, J. C., Mazet, R., Correard, M., Besse, S., 2013. *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv) Vuillemin : un agent entomopathogène pour réduire l’extension de la processionnaire du pin par les plants transportés en conteneur. 3. AFPP. Conférence sur l’Entretien des Espaces Verts, Jardins, Gazons, Forêts, Zones Aquatiques et Autres Zones Non Agricoles, Toulouse, France. HAL Id: hal-02749656 <https://hal.inrae.fr/hal-02749656>.
- Botton, B., Breton, A., Feve, M., Guy, P., Larpent, J. P., Veau, P., 1985. Moisissures nuisibles. Moisissures utiles et nuisibles-Importance industrielle.
- Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J.P., Reymond, P., Sanglier, J.J., Vayssier, Y., Veau, P., 1999. Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Edition Masson, Paris.pp, 12-426.
- Botton, B., Breton, A., Fèvre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J.P., Reymond, P., Sanglier, J.J., Vayssier Y., Veau, P., 1990. Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle. Second Edition. Edition Masson, Paris.pp, 41-220.

- Bouanaka, H., Bellil, I., Khelifi, D., 2021. Multiple methods for varietal resistance assessment of *durum wheat* cultivars against *Fusarium culmorum* the causal agent of Fusarium Head Blight and Crown Rot in Algeria. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 115,101683.
- Brennan, J. M., Fagan, B., Van Maanen, A., Cooke, B. M., Doohan, F. M., 2003. Studies on in vitro growth and pathogenicity of European *Fusarium* fungi. *Eur. J. Plant Pathol.* 109, 577-587.
- Broumandnia, F., Rajabpour, A., Parizipour, M. H. G., Yarahmadi, F., 2021. Morphological and molecular identification of four isolates of the entomopathogenic fungal genus *Akanthomyces* and their effects against *Bemisia tabaci* on cucumber. *Bull. Entomol. Res.* 111, 628-636.
- Brown, K.B., Hyde, K.D., Guest, D.I., 1998. Preliminary studies on endophytic fungal communities of *Musa acuminata* species complex in Hong Kong and Australia. *Fungal. Divers.* 1, 27-51.
- Brown, N. A., Urban, M., Van de Meene, A. M., Hammond-Kosack, K. E., 2010. The infection biology of *Fusarium graminearum*: defining the pathways of spikelet to spikelet colonisation in wheat ears. *Fungal. boil.* 114, 555-571.
- Brunner, P. C., Torriani, S. F., Croll, D., Stukenbrock, E. H., McDonald, B. A., 2013. Coevolution and life cycle specialization of plant cell wall degrading enzymes in a hemibiotrophic pathogen. *Mol. Biol. Evol.* 30, 1337-1347.
- Bush, R. K., Portnoy, J. M., 2001. The role and abatement of fungal allergens in allergic diseases. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 107, 430-440.

C

- Campbell, C. K., Johnson, E. M., 2013. Identification of pathogenic fungi. Second edition John Wiley & Sons. USA. pp,334.
- Carbone, I., Kohn, L. M., 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia.* 91, 553-556.

- Carroll, G., 1988. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology*. 69, 2-9.
- Cast, A., 2003. Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems (council for Agricultural science and technology). Task Force Report, Ames.pp, 45-60.
- Castegnaro, M., Pfohl-Leszkowicz, A., 2002. Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans La sécurité alimentaire du consommateur, moll & moll(eds) Lavoisier, Tec & Doc. 5 p.
- Chabasse, D., Bouchara, J.P., de Gentile, L., Brun, S., Cimon, B., Penn, P., 2002. Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation en biologie médicale. BIOFORMA N° 25 Mars 2002. Paris. pp,157.
- Chapeland-Leclerc, F., Papon, N., Noël, T., Villard, J., 2005. Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicooses). *Rev. Francoph. Des Lab.* 2005, 61-66.
- Charmet, G., Abécassis, J., Bonny, S., Fardet, A., Forget, F., Lullien-Pellerin, V., 2017. Agriculture et alimentation durables : Trois en jeux dans la filière céréales. Edition Quae.Paris.
- Chen, J., Wei, J., Fu, L., Wang, S., Liu, J., Guo, Q., Liu, S., 2021. Tebuconazole resistance of *Fusarium graminearum* field populations from wheat in Henan Province. *J. Phytopathol.* 169, 525-532.
- Chowdhary, A., Sharma, C., van den Boom, M., Yntema, J. B., Hagen, F., Verweij, P. E., Meis, J. F., 2014. Multi-azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in the environment in Tanzania. *J. Antimicrob. Chemother.* 69, 2979-2983.
- Clay, K., 1989. Clavicipitaceous endophytes of grasses: their potential as biocontrol agents. *Mycol. Res.* 92, 1-12.
- Cooney, D. G., Emerson, R., 1964. Thermophilic Fungi. Freeman: San Francisco, USA.
- Corio-Costet, M. F., 2012. Fungicide resistance in *Plasmopara viticola* in France and anti-resistance measures. In Fungicide resistance in crop protection: risk and management. Edition Thind TS, CABI, Wallingford, UK. pp, 157-171.

Crous, P. W., Petrini, O., Marais, G. F., Pretorius, Z. A., Rehder, F., 1995. Occurrence of fungal endophytes in cultivars of *Triticum aestivum* in South Africa. *Myco.Sci.* 36, 105-111.

Cuthbertson, A. G., Walters, K. F., Northing, P., 2005. The susceptibility of immature stages of *Bemisia tabaci* to the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* on tomato and verbena foliage. *Mycopathologia.* 159, 23-29.

D

D'amato, G., Spieksma, F. T. M., 1995. Aerobiologic and clinical aspects of mould allergy in Europe. *Allergy.* 50, 870-877.

Danilovich, M. E., Ovruski, S. M., Fariña, J. I., Delgado, O. D., 2020. First report on the entomopathogenicity and virulence of *Akanthomyces muscarius* LY 72.14, a Yungas native fungal isolate, for *Anastrepha fraterculus* control. *Biocontrol. Sci. Technol.* 30, 1212-1227.

Datta, B. S., Das, A. K., Ghosh, S. N., 2004. Fungal antagonists of some plant pathogens. *Mycopathologia.* 1, 15-17.

De Faria, M. R., Wraight, S. P., 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol. Control.* 43, 237-256.

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

Deacon, J., 2006. Fungal biology. 4ème edition. Blackwell Publishing. London. 371p.

Deepa, N., Sreenivasa, M. Y., 2017. *Fusarium verticillioides*, a globally important pathogen of agriculture and livestock: *a review.* *J. Vet. Med. Res.*4.

Dingle, J., Mcgee, P. A., 2003. Some endophytic fungi reduce the density of pustules of *Puccinia recondita f. sp. tritici* in wheat. *Mycol. Res.* 107, 310-316.

Dorworth, D. E. Callan, B. E., 1996. Manipulation of endophytic fungi to promote their utility as vegetation biocontrol agents. Endophytic fungi in grasses and woody plants: *Annu.Rev. Ecol. Evol. Sys.* 209- 216.

DSASI (Direction de Statistiques Agricoles et des Systèmes d'Information). 2020. statistiques de Série B : Rapport annuel. MADR (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural), Algérie.

Dubos, T., Pasquali, M., Pogoda, F., Hoffmann, L., Beyer, M., 2011. Evidence for natural resistance towards trifloxystrobin in *Fusarium graminearum*. *Eur. J. Plant. Pathol.* 130, 239-248.

Dutkiewicz, J., 1997. Bacteria and fungi in organic dust as potential health hazard. *Ann. Agric. Environ. Med*, 4.

E

El-Morsy, E. M., 2000. Fungi isolated from the endorhizosphere of halophytic plants from the Red Sea Coast of Egypt. In: Aquatic Mycology across the Millennium. *Fungal. Divers.* 5, 43-54.

Er, M. K., Tunaz, H., Gökçe, A., 2007. Pathogenicity of entomopathogenic fungi to *Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) larvae in laboratory conditions. *J. Pest. Sci.* 80, 235-239.

Erdos, Z., Chandler, D., Bass, C., Raymond, B., 2021. Controlling insecticide resistant clones of the aphid, *Myzus persicae*, using the entomopathogenic fungus *Akanthomyces muscarius*: fitness cost of resistance under pathogen challenge. *Pest. Manag. Sci.* 77, 5286-5293

Eyal, Z., 1981. Integrated control of Septoria diseases of wheat. *Plant. Dis.* 65, 763-768.

Eyal, Z., 1987. The Septoria diseases of wheat: concepts and methods of disease management. Cimmyt, Mexico.

F

Fakhfakh, M. M., Yahyaoui, A., Rezgui, S., Elias, E. M., Daaloul, A., 2011. Identification and pathogenicity assessment of *Fusarium spp.* sampled from durum wheat fields in Tunisia. *Afri.J. Biotechnol.* 10, 6529-6539.

FAO, 2020. Statistics Division, FAO. Disponible sur l'adresse : <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC> . Consulté le 18/10/2022.

- FAO, 2020. Statistics Division, FAO. Disponible sur l'adresse : <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/TP>. Consulté le site le 12/11/2022
- FAO, 2022. Statistics Division, FAO. Disponible sur l'adresse : <https://www.planetoscope.com/cereales/191-production-mondiale-de-ble.html>. Consulté le 10/10/2022.
- FAO, 2022. Statistics Division, FAO. Disponible sur l'adresse: <https://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/>. Consulté le 10/10/2022.
- Faria, M., Wraight, S. P., 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Prot.* 20, 767-778.
- Feillet, P., 2000. Le grain de blé, composition et utilisation. Edition INRA, Paris, 308p
- Figuerola, M. K. E., Hammond-Kosack., Peter, S., Solomon., 2018. "A Review of Wheat Diseases—a Field Perspective." *Mol. Plant. Pathol.* 19, 1523-36.
- Finney, J. C., Smith, D. F., Skeeters, D. E., Auvenshine, C. D., 1971. MMPI alcoholism scales; factor structure and content analysis. *Q. J. Stud. Alcohol.* 32, 1055-1060.
- Fisher, P.J., Anson, A.E., Petrini, O., 1986. Fungal endophytes in *Ulex europaeus* and *Ulex gallii*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 86, 153-156.
- Fredot, E., 2009. Connaissance des aliments « Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique ». 2eme édition. Lavoisier, Paris. pp, 210-215.
- Fredot, E., 2012. Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. 3ème édition, Lavoisier, Tec & Doc, Paris : pp, 613.

G

- Gagkaeva, T. Y., T. Yli-Mattila., 2020. "Emergence of *Fusarium verticillioides* in from *Sophor flavescens* and structure identification of its active constituent. *Biotechnol. Equip.* 28, 327-32.
- Gams, W., Christensen, M., Onions, A. H., Pitt, J. I., Samson, R. A., 1985. Infrageneric taxa of *Aspergillus*. In *Advances in Penicillium and Aspergillus systematic*. Edition Springer US, Boston, MA. pp, 55-62.

- Gardes, M., Bruns, T. D., 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.* 2, 113-118.
- Gargouri-Kammoun, L., Bensassi, F., Mnari-Hattab, M., Rhouma, A., Bacha, H., Hajlaoui, M. R., 2014. Identification of *Alternaria* species recovered from stored durum wheat kernels in Tunisia. *Tunis. J. Plant. Prot.* 9, 119-129.
- Gargouri-Kammoun, L., Gargouri, S., Hajlaoui, M.R., Marrakchi, M., 2009. Occurrence and distribution of *Microdochium* and *Fusarium* species isolated from durum wheat in northern Tunisia and detection of mycotoxins in naturally infested grain. *J. Phytopathol.* 157, 546–551.
- Gerlach, W., Nirenberg, H., Eckart, I., Rummel, I., Schwarz, R., 1982. The genus *Fusarium*: a pictorial atlas. Edition Kommissionsverlag, Berlin, pp. 1-406.
- Ghahfarokhi, R. M., Goltapeh, M. E., 2010. Potential of the root endophytic fungus *Piriformospora indica*; *Sebacina vermifera* and *Trichoderma* species in biocontrol of take-all disease of wheat *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in vitro. *J. Agric. Technol.* 6, 11-18.
- Gilliom, R. J., Barbash, J.E., Crawford, G.G., Hamilton, P.A., Martin, J.D., Nakagaki, N., Nowell, L.H., Scott, J.C., Stackelberg, P.E., Thelin, G.P., Wolock, D.M., 2007. The quality of our nation's waters: Pesticides in the nation's streams and ground water, 1992–2001. US Geological Survey.
- Godon, B., Loisel, W., 1997. Guide pratique d'analyses dans les industries des céréales. Edition Lavoisier, Tech & Doc, Paris.
- Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K., Delcour, J. A., 2005. Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends. Food. Sci. Technol.* 16, 12-30.
- Gonzalez-Guerrero, M., Melville, L. H., Ferrol, N., Lott, J. N., Azcon-Aguilar, C., Peterson, R. L., 2008. Ultrastructural localization of heavy metals in the extraradical mycelium and spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Can. J. Microbiol.* 54,

103-110.

- Gregori, R., Meriggi, P., Pietri, A., Formenti, S., Baccharini, G., Battilani, P., 2013. Dynamics of fungi and related mycotoxins during cereal storage in silo bags. *Food Control*. 30, 280-287.
- Grent, T. N. H., 2011. Plant. Edition Prot–New Style. Hoofddorp: Bio-Collection.
- Guarro, J., 2013. Fusariosis, a complex infection caused by a high diversity of fungal species refractory to treatment. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 32, 1491-1500.
- Güçlü, Ş., Ak C, Eken H, Akyol R, Sekban B, Beytutand R, Yildirim, R., 2010. Pathogenicity of *Lecanicillium muscarium* against *Ricania simulans*. *Bull. Insectology*. 63, 243-246.
- Gwimer J., Harnisach R., Mück O., 1996. Manuel sur la manutention et la conservation des graines après récolte, Edition Eschborn.pp, 368.

H

- Hadria, R., 2006. Adaptation et spatialisation du modèle STICS pour la gestion d'un périmètre céréalier irrigué en milieu semi-aride. (Doc. Diss, Université Cadi Ayyad Semlalia-Marrakech). 216pp.
- Haile, J.K., Amidou, N., Sean, W., Kirby, T., Nilsen, J. M., Clarke, H. R., Kutcher, B. S., Hermann, B., Curtis, J. P., 2019. "Fusarium Head Blight in Durumwheat: Recent Status, Breeding Directions, and Future Research Prospects." *Phytopathology*. 109, 1664 –75.
- Hajjaji, A., El Otmani, M., Bouya, D., Bouseta, A., Mathieu, F., Collin, S., Lebrihi, A., 2006. Occurrence of mycotoxins (ochratoxin A, deoxynivalenol) and toxigenic fungi in Moroccan wheat grains: impact of ecological factors on the growth and ochratoxin A production. *Mol. Nutr. Food. Res.* 50, 494-499.
- Harrat, W., Meamiche Neddaf, H., Keddad, A., Bouznad, Z., 2017. First report of the *Zymoseptoria tritici* teleomorph stage causing septoria leaf blotch of wheat in Algeria. *New Dis. Rep.* 35, 2044-0588.

- Hassouni, H., 2007. Physiologie de la sporulation des champignons filamenteux pour la production de spores et d'enzymes en fermentation en milieu solide. (Doc. Diss, Institut Agronomique et Vétérinaire, Maroc). 165 p.
- Hayden, T.P., Bidochka, M.J., Khachatourians, G.G., 1992. Entomopathogenicity of several fungi toward the English grain aphid (Homoptera, Aphididae) and enhancement of virulence with host passage of *Paecilomyces farinosus*. *J. Econ. Entomol.* 85, 58-64.
- Hillis, D. M., Dixon, M.T., 1991. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *Q. Rev. Biol.* 66, 411-453.
- Hosford, J.r., R. M., 1982. White blotch incited in wheat by *Bacillus megaterium* pv. *cerealis*. *Phytopathology.* 72, 1453-1459.
- Houbraken, J., Visagie, C. M., Meijer, M., Frisvad, J. C., Busby, P. E., Pitt, J., Samson, R. A., 2014. A taxonomic and phylogenetic revision of *Penicillium* section *Aspergilloides*. *Stud. Mycol.* 78, 373-451.
- Houssou, P.A., 2009. Natural infection of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) by toxigenic fungi and mycotoxin contamination in Benin, West Africa. *J. Stored. Prod. Res.* 45, 40-44.
- I**
- Ibrahim, S.R.M., Mohamed, G.A., Al Haidari, R.A., Zayed, M.F., El- Kholy, A.A., Elkhayat, E.S., Ross, S.A., Fusarithioamide, B., 2018. A new benzamide derivative from the endophytic fungus *Fusarium chlamydosporium* with potent cytotoxic and antimicrobial activities. *Bioorg. Med. Chem.* 26, 786-90.
- Ikram, M., Ali, N., Jan, G., Iqbal, A., Hamayun, M., Jan, F. G. Lee, I. J., 2019. *Trichoderma reesei* improved the nutrition status of wheat crop under salt stress. *J. Plant. Interact.* 14, 590-602.
- Inderbitzin, P., R.M. Davis, R.M. Bostock, K.V. Subbarao., 2013. Identification and differentiation of *Verticillium* species and *V. longisporum* lineages by simplex and multiplex PCR assays. *PLoS. ONE.* 8,65990.

Ioos, R., Belhadj, A., Menez, M., 2004. Occurrence and distribution of *Microdochium nivale* and *Fusarium* species isolated from barley, durum and soft wheat grains in France from 2000 to 2002. *Mycopathologia*, 158, 351-362.

Istifadah, N., McGee, P. A., 2006. Endophytic *Chaetomium globosum* reduces development of tan spot in wheat caused by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Australas. Plant. Pathol.* 35, 411-418.

Istifadah, N., Saleeba, J. A., McGee, P. A., 2006. Isolates of endophytic *Chaetomium spp.* inhibit the fungal pathogen *Pyrenophora tritici-repentis* in vitro. *Botany*, 84, 1148-1155.

J

Jaber, L. R., Ownley B. H., 2018. Can we use entomopathogenic fungi as endophytes for dual biological control of insect pests and plant pathogens? *Biol. Control.* 116, 36-45.

Jedidi, I., Soldevilla, C., Lahouar, A., Marín, P., González-Jaén, M. T., Said, S., 2018. Mycoflora isolation and molecular characterization of *Aspergillus* and *Fusarium* species in Tunisian cereals. *Saudi.J. Biol. Sci.* 25, 868-874.

Johnston, J. J., Corbett, M. D., 1986. The effects of salinity and temperature on the in vitro metabolism of the organophosphorus insecticide fenitrothion by the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 26, 193-201.

Jouany, J. P., Yiannikouris, A., 2002. Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal. INRA. Production.Animal. pp, 3-16.

K

Kanat, M., Alma, M.H., Sivrikaya, F., 2005. Effect of defoliation by *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lepidoptera: Thaumetopoidae) on annual diameter increment of *Pinus brutia* Ten. *Ann. Forest. Sci.* 62,1- 4.

Kang, B. R., Han, J. H., Kim, J. J., Kim, Y. C., 2018. Dual biocontrol potential of the entomopathogenic fungus, *Isaria javanica*, for both aphids and plant fungal pathogens. *Mycobiol.* 46, 440-447.

Keller, S.E., Sullivan, T.M., Chirtel, S., 1997. Factors affecting the growth of *Fusarium*

- proliferatum* and the production of fumonisin B1: oxygen and Ph. *Indust. Microbiol, Biotechnology*, 19, 305-309.
- Kepler, R. M., Luangsa-Ard, J. J., Hywel-Jones, N. L., Quandt, C.A., Sung, G. H., Rehner, S. A., Shrestha, B., 2017. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). *IMA. fungus*. 8, 335-353.
- Kidd, S., Halliday, C., Ellis, D., 2022. Descriptions of medical fungi. Newstyle Printing. South Astralia.
- Kim, J. J., Goettel, M. S., Gillespie, D. R., 2007. Potential of *Lecanicillium* species for dual microbial control of aphids and the cucumber powdery mildew fungus, *Sphaerotheca fuliginea*. *Biol. Control*. 40, 327–332.
- Kiszonas, A. M., Morris, C. F., 2018. Wheat breeding for quality: A historical review. *Cereal. Chem.* 95,17-34.
- Klich, M. A., Cary, J. W., Beltz, S. B., & Bennett, C. A., 2003. Phylogenetic and morphological analysis of *Aspergillus ochraceoroseus*. *Mycologia*. 95, 1252-1260.
- Klosowski, A. C., May De Mio, L. L., Miessner, S., Rodrigues, R., & Stammler, G., 2016. Detection of the F129L mutation in the cytochrome b gene in *Phakopsora pachyrhizi*. *Pest. Manag. Sci.* 72, 1211-1215.
- Knudsen, G. R., Dandurand, L. M. C., 2014. Ecological complexity and the success of fungal biological control agents. *Adv. Agric.* 2014.
- Kolmer, J. A., Chen, X., Jin, Y., 2009. Diseases which challenge global wheat production—the cereal rusts. In: Carver, B.F., (ed) *Wheat: Science and trade*. Wiley Press Hoboken, USA. pp. 89-124.
- Koubová, J., Samková, E., Hasonová, L., 2018. Food fraud detection by Czech Agricultural and Food Inspection Authority in retail market. *B. Food. J.* 120, 930-938.
- Kumar, S., Kaushik, N., Edrada-Ebel, R., Ebel, R., Proksch, P., 2008. Endophytic fungi for pest and disease management. In: Ciancio A, Mukerji KG, et Becchimanzi (ed). *Integrated management of diseases caused by fungi, phytoplasma and bacteria*. Springer, Berlin, pp 365-387. ISBN : 978-1402085703.

L

- Lamrani, K., 2009. Etude de la biodiversité des moisissures nuisibles et utiles isolées à partir des Maâsra du Maroc. (Doc. Diss, Marakch-Maroc)
- Lanier, L., Joly, P., Bondoux, P., Bellemere, A., 1976. Mycologie et Pathologie Forestière, Volume II: Pathologie forestière. Edition Masson.pp, 478.
- Lanier, L., Joly, P., Bondoux, P., Bellemere, A., 1978. Mycologie et Pathologie Forestière, Volume I : Mycologie forestière. *Edition Masson*. pp, 487.
- Larrán, S., Perello, A., Simón, M. R., Moreno, V., 2002. Isolation and analysis of endophytic microorganisms in wheat (*Triticum aestivum L.*) leaves. *World. J. Microbiol. Biotechnol.* 18, 683-686.
- Larran, S., Perelló, A., Simón, M. R., Moreno, V., 2007. The endophytic fungi from wheat (*Triticum aestivum L.*). *World. J. Microbiol. Biotechnol.* 23, 565-572.
- Larran, S., Simon, M. R., Moreno, M. V., Siurana, M. S., Perelló, A., 2016. Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease. *Biol. Control.* 92, 17-23.
- Latifa, L., Bouziane, A., 2012. Isolement et identification de *Bacillus thuringiensis* à effet insecticide contre la processionnaire des pins *Thaumetopoea pityocampa*.(Magister. diss).
- Lemmouchi, N., 2012. *Fusarium* Link responsable des pourritures racinaires des céréales dans la région de Batna : isolement, identification et pathogénie des espèces (Magister. Diss, ENSA, Elharrech). pp, 80.
- Leroux, P., Albertini, C., Gautier, A., Gredt, M., Walker, A. S., 2007. Mutations in the CYP51 gene correlated with changes in sensitivity to sterol 14 α -demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest. Manag. Sci.* 63, 688-698.
- Leslie, J. F., Summerell, B. A., 2006. *Fusarium* laboratory workshops—A recent history. *Mycotoxin. Res.* 22, 73-74.
- Linnas, M.D., Morassin, P., R., 1999. Actualité sur *Alternaria*, écologie, *Rev. Fr. Allergol.* 349-355.

Liu, X., Jiang, J., Shao, J., Yin, Y., Ma, Z., 2010. Gene transcription profiling of *Fusarium graminearum* treated with an azole fungicide tebuconazole. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85, 1105–1114. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2273-4>

Logrieco, A., Moretti, A., Solfrizzo, M., 2009. *Alternaria* toxins and plant diseases: an overview of origin, occurrence and risks. *World. Mycotoxin. J.* 2, 129-140.

M

Magan, N., Aldred, D., 2007. Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. *Int. J. Food. Microbiol.* 119, 131-139.

Magan, N., Hope, C.V., Aldred, D., 2003. Post-harvest fungal ecology: Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. *Euro. J. Plant. Pathol.* 109, 723- 730.

Magan, N., Lacey, J., 1988. Ecological determination of mould growth in stored grain. *Int. J. Food. Microbiol.* 245- 256.

Malhadas, C., Malheiro, R., Pereira, J.A., Guedes de Pinho, P., Baptista, P., 2017. Antimicrobial activity of endophytic fungi from olive tree leaves. *World. J. Microbiol. Biotechnol.* 33-46.

Mansouri, A., 2011. Les champignons endophytes chez le blé dur (*Triticum durum. Desf*): Occurrence et rôle dans la tolérance au stress hydrique (Doc .Diss, Batna).

Martin, S. J., 2001. The role of Varroa and viral pathogens in the collapse of honey bee colonies: a modelling approach. *J. Appl. Ecol.* 38,1082-1093.

Masson, E., 2012. Diagnostic des accidents du blé tendre. ARVALIS-Institut du végétal. 36- 40.

Matar, N., Macadre, C., Ammar, G. A., Peres, A., Collet, B., Boustany, N. E., Ratet, P., 2022. Identification of beneficial Lebanese *Trichoderma spp.* wheat endophytes. *Front. Plant. Sci.* 13, 1017890.

Mathew, S., Thomas, G., Tufail, A., 2011. An Evaluation of the fungi isolated from sub-epidermal region of post-harvested stored wheat grains. *Nepal. J. Biotechnol.* 1, 9-13.

- Medina, A., Valle-Algarra, F.M., Mateo, R., Gimeno-Adelntado, J.V., Mateo, F., Jimenez, M., 2006. Survey of the mycobiota of Spanish malting barley and evaluation of the mycotoxin producing potential of species of *Alternaria*, *Aspergillus* and *Fusarium*. *Int. J. Food. Microbiol.* 108, 196-203.
- Mercado Vergnes, D., Renard, M. E., Duveiller, E., Maraite, H., 2006. Identification of *Alternaria spp.* on wheat by pathogenicity assays and sequencing. *Plant. Pathol.* 55, 85-493.
- Mesterházy, Á., 2003. Control of *Fusarium* head blight of wheat fungicides. Fusarium head blight of wheat and barley, 363-380.
- Michalakis, M., Tzatzarakis, M.N., Kovatsi, L., Alegakis, A.K., Tsakalof, A.K., Heretis I., Tsatsakis, A., 2014. Hypospadias in offspring is associated with chronic exposure of parents to organophosphate and organochlorine pesticides. *Toxicol. Lett.* 230, 139-145.
- Miller, T. C., Gubler, W. D., Laemmlen, F. F., Geng, S., Rizzo, D. M., 2004. Potential for using *Lecanicillium lecanii* for suppression of strawberry powdery mildew. *Biocontrol. Sci. Technol.* 14, 215-220.
- Ministry of agricultural policy and food of Ukraine, site web: <https://minagro.gov.ua>
- Mishra, P. K., Fox, R. T., Culham, A., 2003. Inter-simple sequence repeat and aggressiveness analyses revealed high genetic diversity, recombination and long-range dispersal in *Fusarium culmorum*. *Annals. Appl. Biol.* 143, 291-301.
- Moghtet, S., Kadi, H., Nahal, B., Nora-Moussaoui, A., Amrouche, A., Lazouni, A.H., 2012. Physicochemical factors' effect on fungal and mycotoxical contamination of French soft wheat marketed in Algeria. In: Sciences du Vivant, Biologie, vol. 4. Science Lib Ed (Mersenne). pp, 120802. ISSN: 2111-4706.
- Mohamed, R., 2019. Etude de l'effet de l'irrigation d'appoint sur l'amélioration de la production du blé tendre (*Triticum aestivum L.*) dans la région de Sétif (Doc. Diss, Université de Setif).
- Molinie, A., Faucet, V., Castegnaro, M., Pfohl-leszkowicz, A., 2005. Analysis of some breakfast cereals collected on the French market for their content in OTA, Citrinin and Fumonisin

B1. Development of a new method for simultaneous extraction of OTA and Citrinin. *Food. Chem.* 391-400.

Moss, M. O., 1996. Centenary review: mycotoxins. *Mycol. Res.* 100, 513-523.

Murray, F.R., Latch, G.C.M., Scott, D.B., 1992. Surrogate transformation of perennial ryegrass, *Lolium perenne*, using genetically modified *Acremonium* endophyte. *Mol. Gen. Genet.* 233,1-9.

N

Nadiaye, D.S.B., 1999. Manuel de stockage et de conservation des céréales et des oléagineux, Coopérative Autrichienne pour le développement, 61p.

Nagai, T., Tomioka, K., Takeuchi, K., Iida, M., Kawada, M., Sato, T., 2005. Evaluation of preservation techniques of microorganism resources in the MAFF Genebank. *Jpn. Agric. Res. Q.* 39,19-27.

Nasraoui, B., 2006. Les champignons parasites des plantes cultivées. Collection M/Science de l'ingénieur. *Cen. Pub. Univ.* Tunisie, 456.

Nasraoui, B., 2008. Principales maladies fongiques des céréales et des légumineuses en Tunisie. Kef : *Cen.Pub. Univ.*186.

Nasraoui, B., Yahyaoui, A., Fnayou, Khabouchi, H., Ben Harrath, B., 1994. La carie du blé en Tunisie : Identification des espèces fongiques responsables et essais de lutte chimique. *Revue de l'INAT*, 9, 19-45.

Nedjah, I., 2015. Changements physiologiques chez des plantes (Blé dur *Triticum durum Desf.*) exposées à une pollution par un métal lourd (plomb). (Doc. Diss. UBMA. Annaba).

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, pp, 193.

Nicholson, P., Chandler, E., Draeger, R. C., Gosman, N. E., Simpson, D. R., Thomsett, M., Wilson, A. H., 2003. Molecular tools to study epidemiology and toxicology of

Fusarium head blight of cereals. **Eur. J. Plant. Pathol.** 109, 691-703.

Nicoletti, R., Becchimanzi, A., 2020. Endophytism of *Lecanicillium* and *Akanthomyces*. **Agriculture**. 10, 205.

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. **Pestic. Biochem. Physiol.** 95, 18-27.

Nour, A., Brinis, L., 2016. Effet du stockage sur la vigueur et la viabilité des semences de deux variétés de blé dur (*Triticum durum*, Desf). Synthèse : **Rev.Sci. Tech.** 32, 22-29.

Q

O'Donnell, K., Ward, T. J., Robert, V. A., Crous, P. W., Geiser, D. M., Kang, S., 2015. DNA sequence-based identification of *Fusarium*: current status and future directions. **Phytoparasitica**, 43, 583-595.

Odds, F. C., Brown, A. J., Gow, N. A., 2003. Antifungal agents: mechanisms of action. **Trends. Microbiol.** 11, 272-279.

Ondráčková, E., Seidenglanz, M., Šafář, J., 2019. Effect of seventeen pesticides on mycelial growth of *Akanthomyces*, *Beauveria*, *Cordyceps* and *Purpureocillium* strains. **Czech. Mycol.** 7, 2.

ONS (Office National de Statistiques), 2019. Statistiques sur l'activité industrielle. Annuaire statistique. Série E : Statistiques économiques, N°105. Office National de Statistiques, Algérie.

Osborne, L. S., Landa, Z., 1992. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. **Florida entomologist**. 456-471.

Osweiler, G.D., 2000. Mycotoxins. Contemporary issues of food animal health and productivity. **Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.** 16,511- 530.

Ownley, B. H., Gwinn, K. D., Vega, F. E., 2010. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. **BioControl**. 55, 113-128.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9241-x>.

Ozdemir, I. O., Kushiyeve, R., Erper. I., Tuncer, C., 2019. Efficacy of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against *Thaumetopoea pityocampa* Shiff. (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). *Arch. Phytopathol. Plant. Prot.* 52, 470-480.

P

Pal, K. K., Brian M.G., 2006. "Biological Control of Plant Pathogens." *The Plant Health Instructor*.

Park, H., Kim, K., 2010. Selection of *Lecanicillium* strains with high virulence against developmental stages of *Bemisia tabaci*. *Mycobiology*. 38, 210-214.

Pastor, F. J., Guarro, J., 2008. *Alternaria* infections: laboratory diagnosis and relevant clinical features. *Clin. Microbiol, Infect.* 14, 734-746.

Paterson, P.J., Seaton, S., McLaughlin, J., Kibbler, C.C., 2003. Development of molecular methods for the identification of *Aspergillus* and emerging moulds in paraffin wax embedded tissue sections, *J. Clin. Pathol.* 56, 368-370

Patidar, P., Agrawal, D., Banerjee, T., & Patil, S., 2005. Optimisation of process parameters for chitinase production by soil isolates of *Penicillium chrysogenum* under solid substrate fermentation. *Process. Biochem*, 40, 2962-2967.

PE, N., 1986. Isolating, identifying, and producing inoculum of pathogenic species of *Fusarium*. Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens.

Pedrero-Méndez, A., Insuasti, H. C., Neagu, T., Illescas, M., Rubio, M. B., Monte, E., Hermosa, R., 2021. Why is the correct selection of *Trichoderma* strains important? The case of wheat endophytic strains of *T. harzianum* and *T. simmonsii*. *J. Fungi*. 7, 1087.

Petrini, O., Sieber, T.N., Toti, L., Viret, O., 1992. Ecology, metabolite production and substrate utilization in endophytic fungi. *Nat.Toxins*. 1,185-196.

Pfohl-Leszkowicz, A., 2001. Définition et origines des mycotoxines in Les mycotoxines dans L'alimentation : évaluation et gestion du risque, Edition Tec & Doc,pp, 3-1.

Pillay, V. K., Nowak, J., 1997. Inoculum density, temperature, and genotype effects on in vitro

growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings inoculated with a *pseudomonad* bacterium. *Can. J. Microbiol.* 43, 354-361.

Pitt, J. I., 1988. A laboratory guide to common *Penicillium* species. *CSI. Res. Org. Div. Food. Processing.*

Pitt, J. I., Basilico, J. C., Abarca, M. L., Lopez, C., 2000. Mycotoxins and toxigenic fungi. *Med. Mycol.* 38, 41-46.

Pitt, J. I., Hocking, A. D., 2009. Fungi and food spoilage .Ed Springer, New York. pp, 519- 388.

Pittet, A., 1998. Natural occurrence of mycotoxins in food and feeds - an updated review. *Vet. Med.* 49, 479-492.

Ponomarenko, A., Goodwin, S. B., Kema, G. H., 2011. Septoria tritici blotch (STB) of wheat. *Plant Health Instructor.*

Porras-Alfaro, A., Bayman, P., 2011. Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 49, 291-315.

Q

Qu, B., Li, H. P., Zhang, J. B., Huang, T., Carter, J., Liao, Y. C., Nicholson, P., 2008. Comparison of genetic diversity and pathogenicity of Fusarium head blight pathogens from China and Europe by SSCP and seedling assays on wheat. *Plant. Pathol.* 57, 642-651.

R

Rabie, C.J., Lübben, A., Marais, G.J., Jansen van Vuuren, H., 1997. Enumeration of fungi in barley. *Int. J. Food. Microbiol.* 35, 117-127.

Ramanujam, B., Balachander, M., Roopa, G., Rangeshwaran, R., Pritam, K., 2011. Chitinase activity and virulence of different isolates of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Lecanicillium* spp. *Biol. Control.* 25, 223-228.

- Rastoin, J.L., Benabderrazik, E.H., 2014. Céréales et oléagineux au Maghreb : Pour un co-développement de filières territorialisées. Paris : Institut de Prospective Economique du monde Méditerranéen - IPEMED (Construire la Méditerranée), pp. 3-25.
- Rathod, S. R., Chavan, A. M., (2010). Incidence of *Alternaria* species on different cereals, pulses and oil seeds. *J. Ecobiotechnol.* 2, 63-65.
- Reboux, G., Bellanger, A. P., Roussel, S., Grenouillet, F., Millon, L., 2010. Moulds in dwellings: health risks and involved species. *Rev. Mal. Respir.* 27, 169-179.
- Rehfus, A., Matusinsky, P., Strobel, D., Bryson, R., Stammler, G., 2019. Mutations in target genes of succinate dehydrogenase inhibitors and demethylation inhibitors in *Ramularia collo-cygni* in Europe. *J. Plant. Dis. Prot.* 126, 447- 459.
- Ren, S.X., Ali, S., Huang, Z., Wu, J.H., 2010. *Lecanicillium muscarium* as microbial insecticide against whitefly and its interaction with other natural enemies. *Microbiol. Biotechnol.* 27, 339-348.
- Riba, A., Bouras, N., Mokrane, S., Mathieu, F., Lebrihi, A., Sabaou, N., 2010. *Aspergillus section Flavi* and aflatoxins in Algerian wheat and derived products. *Food. Chem. Toxicol.* 48, 2772 - 2777.
- Riesen, T., Sieber, T., 1985. Endophytic fungi in winter wheat (*Triticum aestivum L.*) (No. 633.11 RIE. CIMMYT.).
- Roberts, T.A., 2005. Microorganisms in foods. Microbial Ecology of food Commodities. Second Edition. Springer, 776p.
- Rotem, J., 1994. The genus *Alternaria*: biology, epidemiology, and pathogenicity. *American Phytopathological Society*.p, 326.
- Roxana, C., Mihaela, Z. M., Beatrice, I., 2019. First report of entomopatogenic fungus *Akanthomyces muscarius* on stored apples in Romania. *J. Hortic. Forest Biotechnol.* 23, 14-17.
- Rubini, M.R., Silva-Ribeiro, R.T., Pomella, A.W.V., Maki, C.S., Araujo, W.L., Santos, D.R. 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

S

Sadrati, N., Zerroug, A., Demirel, R., Harzallah, D. 2023. Anti-multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* and anti-dermatophyte activities of secondary metabolites of the endophytic fungus *Penicillium brevicompactum* ANT13 associated with the Algerian endemic plant *Abies numidica*. *Arch. Microbiol.* 205, 110.

Salazar, O., Schneider, J. H., Julian, M. C., Keijer, J., Rubio, V., 1999. Phylogenetic subgrouping of *Rhizoctonia solani* AG 2 isolates based on ribosomal ITS sequences. *Mycologia.* 91, 459-467.

Samapundo, S., De Meulenaer, B., Atukwase, A., Debevere, J., Devlieghere, F., 2007. The influence of modified atmospheres and their interaction with water activity on the radial growth and fumonisin B1 production of *Fusarium verticillioides* and *F. proliferatum* on corn. Part I: The effect of initial headspace carbon dioxide concentration. *Inter.J. food. Microbiol.* 114, 160-167.

Samson, R. A., Hong, S., Peterson, S. W., Frisvad, J. C., Varga, J., 2007. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section Fumigati and its teleomorph Neosartorya. *Stud. Mycol.* 59, 147-203.

Samson, R. A., Visagie, C. M., Houbraken, J., Hong, S. B., Hubka, V., Klaassen, C. H., Frisvad, J., 2014. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Stud. Mycol.* 78, 141-173.

Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C., 1996. Introduction to food borne fungi. 4e édition, Centra al bureau voor Schimmelcultures, *Netherlands*. pp, 1-232.

Sandoval-Denis, M., Sutton, D. A., Cano-Lira, J. F., Gené, J., Fothergill, A. W., Wiederhold, N. P., Guarro, J., 2014. Phylogeny of the clinically relevant species of the emerging fungus *Trichoderma* and their antifungal susceptibilities. *J. Clin. Microbiol.* 52, 2112-2125.

Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A. R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74, 5463-5467.

- Santana, F. M., Friesen, T. L., 2007. Tan spot disease of wheat: *race characterization*.
- Sasan, R. K., Bidochka, M.J., 2013. Antagonism of the endophytic insect pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* against the bean plant pathogen *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. *Canad. J. Plant. Pathol.* 35, 288-293.
- Saur, L., Morlais, J. Y., 1991. Recherche de géniteurs de résistance à la fusariose de l'épi causée par *Fusarium culmorum* chez le blé et les espèces voisines. *Agronomie*, 11, 535-541.
- Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S.J., Esker, P., McRoberts, N., Nelson, A., 2019. The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nat. Ecol. Evol.* 3, 430-439.
- Savchuk, I. S. I., 2023. L'économie ukrainienne en temps de guerre. Hal-04129611f
- Schardl, C. L., Liu, J. S., White, J. F., Finkel, R. A., An, Z., Siegel, M. R., 1991. Molecular phylogenetic relationships of nonpathogenic grass mycosymbionts and clavicipitaceous plant pathogens. *Plant. Syst. Evol.* 178, 27-41.
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., White, M. M., 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 6241-6246.
- Schulz, B., Römmert, A. K., Dammann, U., Aust, H. J., Strack, D., 1999. The endophyte-host interaction: a balanced antagonism? *Mycol. Res.* 103, 1275-1283.
- Schwessinger, B., 2017. Fundamental wheat stripe rust research in the 21st century. *New Phytol.* 213, 1625-1631.
- Seifert, K. A., Samson, R. A., Dewaard, J. R., Houbraken, J., Lévesque, C. A., Moncalvo, J. M., Hebert, P. D., 2007. Prospects for fungus identification using CO1 DNA barcodes, with *Penicillium* as a test case. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 3901-3906.
- Shabeer, A., & Bockus, W. W., 1988. Tan spot effects on yield and yield components relative to growth stage in winter wheat. *Plant. Dis.* 72, 599-602.
- Shahriari, M., Zibae, A., Khodaparast, S. A., Fazeli-Dinan, M., 2021. Screening and virulence of the entomopathogenic fungi associated with *Chilo suppressalis* walker. *J. Fungi* 7, 34.

- Shewry, P. R., Underwood, C., Wan, Y., Lovegrove, A., Bhandari, D., Toole, G., Mitchell, R. A., 2009. Storage product synthesis and accumulation in developing grains of wheat. *J. Cereal. Sci.* 50, 106-112.
- Shipton, W. A., Boyd, W. R. J., Rosielle, A. A., Shearer, B. I., 1971. The common Septoria diseases of wheat. *Bot. Rev.* 37, 231-262.
- Sieber, T. N., 1985. Endophytische Pilze von Winterweizen (*Triticum vulgare* Vill.): ein Vergleich zwischen Weizen aus gebeiztem und solchem aus ungebeiztem Saatgut (Doc.Diss, ETH Zurich).
- Sierotzki, H., Frey, R., Wullschleger, 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.
- Simmons, E.G., 2007. *Alternaria*. An identification manual. CBS Biodiversity Series 6. **CBS Fungal Biodiversity Centre**, Utrecht, The Netherlands.
- Siopi, M., Rivero-Menendez, O., Gkotsis, G., Panara, A., Thomaidis, N. S., Alastruey-Izquierdo, A., Meletiadis, J., 2020. Nationwide surveillance of azole-resistant *Aspergillus fumigatus* environmental isolates in Greece: detection of pan-azole resistance associated with the TR46/Y121F/T289A cyp51A mutation. *J. Antimicrob. Chemother.* 75, 3181-3188.
- Siqueira, J.P., Sutton, D.A., Gené, J., García, D., Wiederhold, N., Peterson, S.W., Guarro, J., 2017. Multilocus phylogeny and antifungal susceptibility of *Aspergillus section Circumdati* from clinical samples and description of *A. pseudo sclerotiorum* sp. nov. *J. Clin. Microbiol.* 55, 947-958.
- Sivan, A., Chet, I., 1989. Degradation of fungal cell walls by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. *Microbiology.* 135, 675-682.
- Skouboe, P., Frisvad, J. C., Taylor, J. W., Lauritsen, D., Boysen, M., Rossen, L., 1999. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences from the ITS region of terverticillate *Penicillium* species. *Mycol. Res.* 103, 873-881.

- Smiley, R.W., Gourlie, J.A., Easley, S.A., Patterson, L.M., 2005. Pathogenicity of fungi associated with the wheat crown rot complex in Oregon and Washington. *Plant. Dis.* 89, 949-957.
- Soltner, D., 1990. Les bases de la production végétale. Tom I. Le sol 18 e édition. Collection Sciences et Techniques Agricoles, Le Clos Lorelle, Sainte-Gemmes-sur-Loire. pp,467.
- Somma, S., Amatulli, M. T., Masiello, M., Moretti, A., Logrieco, A. F., 2019. *Alternaria* species associated to wheat black point identified through a multilocus sequence approach. *Int.J. Food Microbiol.* 293, 34-43.
- Sönmez, E., Demir, İ., Bull, J. C., Butt, T.M., Demirbağ, Z., 2017. Pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa*, Lepidoptera: Thaumetopoeidae) larvae are highly susceptible to the entomopathogenic fungi *Metarhizium brunneum* and *Beauveria bassiana*. *Biocontrol. Sci. Technol.* 27, 1168-1179.
- Spolti, P., Del Ponte, E. M., Dong, Y., Cummings, J. A., Bergstrom, G. C., 2014. Triazole sensitivity in a contemporary population of *Fusarium graminearum* from New York wheat and competitiveness of a tebuconazole-resistant isolate. *Plant. Dis.* 98, 607-613.
- Steinberg, G., 2015. Cell biology of *Zymoseptoria tritici*: Pathogen cell organization and wheat infection. *Fungal. Genet. Biol.* 79, 17-23.
- Stierle, A., Strobel, G., Stierle, D., 1993. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science.* 260, 214-216.
- Strobel, G. A., Hess, W. M., Ford, E., Sidhu, R. S., Yang, X., 1996. Taxol from fungal endophytes and the issue of biodiversity. *J. Ind.Microbiol.* 17, 417-423.
- Sturz, A. V., Christie, B. R., Nowak, J., 2000. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. *Crit. Rev. Plant. Sci.* 19, 1-30.
- Summerell, B. A., 2019. Resolving *Fusarium*: Current status of the genus. *Annu. Rev. phytopathol.* 57, 323-339.
- Sun, H. Y., Cui, J. H., Tian, B. H., Cao, S. L., Zhang, X. X., Chen, H. G., 2020. Resistance risk assessment for *Fusarium graminearum* to pydiflumetofen, a new succinate

dehydrogenase inhibitor. *Pest. Manag.Sci.*76, 1549-1559.

Syed, A.b., Rahman, S. F., Eugenie, S., Corné, M. J., Pieterse, Peer, M. S., 2018. “Emerging Microbial Biocontrol Strategies for Plant Pathogens.” *Plant. Sci.*

Sykes, E. F., Bernier, C. C., 1991. Qualitative inheritance of tan spot resistance in hexaploid, tetraploid, and diploid wheat. *Can.J. Plant. Pathol.*13, 38-44.

T

Tabadkani, S. M., Askary, H., Mehrasa, A., Ashouri, A., 2010. Study on pathogenicity effects of the entomophagous fungi *Lecanicillium muscarium* on the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. In Iranian Plant Protection Congress, 19th, Tehran, Iran. *Plant. Prot. Res. Inst.*

Tabuc, C., 2007. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines (Doc. Diss, Toulouse).

Tabuc, C., Marin, D., Guerre, P., Sesan, T., Bailly, J., 2009. Molds and mycotoxin content of cereals in Southeastern Romania. *J. Food Prot.* 72, 662-665.

Tabuc, C., Taranu, I., Calin, L., 2011. Survey of mould and mycotoxin contamination of cereals in South-Eastern Romania in 2008–2010. *ArchivaZootechnica.* 14, 25-38.

Takahashi, J. A., de Castro, M. M., Souza, G. G., Lucas, E. M., Bracarense, A. A., Abreu, L. M., Oliveira, T. S., 2008. Isolation and screening of fungal species isolated from Brazilian cerrado soil for antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus pyogenes* and *Listeria monocytogenes*. *J.Mycol. Med.*18, 198-204.

Tanapichatsakul, C., Monggoot, S., Gentekaki, E., Pripdeevech, P., 2018. Antibacterial and antioxidant metabolites of *Diaporthe* spp. Isolated from flowers of *Melodorum fruticosum*. *Curr Microbiol.* 75,476- 83.

Taylor, J. W., Spatafora, J., O'donnell, K., Lutzoni, F., James, T., Hibbett, D. S., Geiser, D., Bruns, T. D., Blackwell, M., 2004. The fungi. In Cracraft J. et Donoghue, M. J. (Eds.) *Assembling the Tree of Life*. Oxford University Press, 171-194p.

Tayyar, Ş., 2010. Variation in grain yield and quality of Romanian bread wheat varieties compared to local varieties in northwestern Turkey. *Rom. Biotechnol. Lett.* 15, 5189-5196.

Toumi, J., 2018. Modélisation du rendement et des besoins en eau du blé en zone semi-aride : Apport de la télédétection spatiale (Doc. Diss, Morocco).

Trail, Frances., 2009. “For Blighted Waves of Grain: *Fusarium graminearum* in the Postgenomics Era.” *Plant. Physiol.* 149,103 -10.

U

Upadhyay, V., Rai, D., Rana, M., Mehra, P., Pandey, A. K., 2014. *Verticillium lecani* (Zimm.): A potential entomopathogenic fungus. *Int. J. Agri. Environ. Biotechnol.* 7, 719-727.

V

Van Diepeningen, A. D., Brankovics, B., Iltes, J., Van der Lee, T. A., Waalwijk, C., 2015. Diagnosis of *Fusarium* infections: approaches to identification by the clinical mycology laboratory. *Curr.Fungal. Infect. Rep.* 9, 135-143.

Vargas-Osuna, E., Muñoz Ledesma, J., Aldebis, H. K., Santiago-Alvarez, C., 1994 Pathogens and Parasitoids for the Control of *Thaumetopoea pityocampa* (D. y Schiff.) (Lep. Notodontidae). *Bol. San. Veg. Plagas.* 20, 511-515.

Vega, F. E., Posada, F., Aime, M. C., Pava-Ripoll, M., Infante, F., Rehner, S. A., 2008. Entomopathogenic fungal endophytes. *Biol. Control.* 46, 72-82.

Vega, M.L., Vega, J., Vega, J.M., Moneo, I., Sanchez, E., Miranda, A., 2003. Cutaneous reactions to pine processionary caterpillar (*Thaumetopoea pityocampa*) in pediatric population. *Pediat.r Allergy. Immunol.* 14, 482-486.

Vinit, K., Doilom, M., Wanasinghe, D. N., Bhat, D. J., Brahmanage, R. S., Jeewon, R., Hyde, K. D., 2018. Phylogenetic placement of *Akanthomyces muscarius*, a new endophyte record from *Nypa fruticans* in Thailand. *Curr. Rese. Environ. Appl. Mycol.* 8, 404-417.

Visagie, C. M., Houbraken, J., Frisvad, J. C., Hong, S. B., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., Samson, R. A., 2014. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Stud.*

*Mycol.*78, 343-371.

Visagie, C. M., Houbraeken, J., Rodriques, C., Pereira, C. S., Dijksterhuis, J., Seifert, K. A., Samson, R. A., 2013. Five new *Penicillium* species in section *Sclerotiora*: a tribute to the Dutch Royal family. *Persoonia-Mol. Phylogeny. Evol. Fungi.* 31, 42-62.

Vučković, J., Bagi, F., Bodroža-Solarov, M., Stojšin, V., Budakov, D., Ugrenović, V., Aćimović, M., 2012. Intenzitet zaraze zrna spelte gljivama roda *Alternaria*. *Biljni. Lekar*, 40, 50-55.

W

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, 1472-1479.

Woudenberg, J. H. C., Groenewald, J. Z., Binder, M., Crous, P. W., 2013. *Alternaria* redefined. *Stud. Mycol.*75, 171-212.

Woudenberg, J. H. C., Seidl, M. F., Groenewald, J. Z., De Vries, M., Stielow, J. B., Thomma, B. P. H. J., Crous, P. W., 2015. *Alternaria* section *Alternaria*: Species, formae speciales or pathotypes? *Stud. Mycol.* 82, 1-21.

Wu, A.B., Li, H.P., Zhaco, C.S. Liao, Y.C., 2005. Comparative pathogenicity of *Fusarium graminearum* isolates from China revealed by wheat coleoptile and floret inoculations. *Mycopathologia.* 160, 75-83.

X

Xu, F., Song, Y. L., Yang, G. Q., Wang, J. M., Zhou, K., Han, Z. H., Li, L.J., Liu, L. L., Li, Y. H., Zhang, J. J., 2018. Effect of tebuconazole application time on *Fusarium* head blight and the accumulation of deoxynivalenol in winter wheat. *Plant. Prot.*44, 179-185.

Xue, A. G., Guo, W., Chen, Y., Siddiqui, I., Marchand, G., Liu, J., Ren, C., 2017. Effect of seed treatment with novel strains of *Trichoderma spp.* on establishment and yield of spring wheat. *Crop. Prot.* 96, 97-102.

Y

- Yahaoui, A., 2003. Management of yellow rust in Central, Western Asia and Caucasus countries. Newsletter. CIMMYT, 2, 113-116.
- Yan, L., Yang, Q., Zhou, Y., Duan, X., Ma, Z., 2009. A real-time PCR assay for quantification of the Y136F allele in the CYP51 gene associated with *Blumeria graminis f. sp. tritici* resistance to sterol demethylase inhibitors. *Crop. Prot.* 28, 376-380.
- Yin, Y., Liu, X., Li, B., Ma, Z., 2009. Characterization of sterol demethylation inhibitor-resistant isolates of *Fusarium asiaticum* and *F. graminearum* collected from wheat in China. *Phytopathology*, 99, 487-497.
- Yu, G., Liu, J. L., Xie, L. Q., Wang, X. L., Zhang, S. H., Pan, H. Y., 2012. Characterization, cloning, and heterologous expression of a subtilisin-like serine protease gene VIPr1 from *Verticillium lecanii*. *J. Microbiol.* 50, 939-946.
- Yu, G., Xie, L. Q., Li, J. T., Sun, X. H., Zhang, H., Du, Q., Pan, H. Y., 2015. Isolation, partial characterization, and cloning of an extracellular chitinase from the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. *Genet. Mol. Res.* 14, 2275-2289.
- Yu, N., He, L., Liu, N., Wang, Y., Xu, H., Liu, D., 2014. Antimicrobial action of an endophytic fungi from *Sophor flavescens* and structure identification of its active constituent. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 28, 327-332.

Z

- Zahid, A., 2010. Mécanismes cellulaires et moléculaires régissant le métabolisme des semences des semences de céréales: Rôle du réseau rédoxines-système antioxydant dans la prédiction de la qualité germinative (Doc .Diss).
- Zare, R., Gams, W., 2003. *Lecanicillium muscarium*. *IMI Descr. fungi. bact.* Doi:[10.1079/DFB/20056401567](https://doi.org/10.1079/DFB/20056401567).
- Zare, R., Gams, W., Evans, H. C., 2001. A revision of *Verticillium* section *Prostrata*. V. The genus *Pochonia*, with notes on *Rotiferophthora*. *Nova Hedwig.* 73, 51-86.
- Zhang, X., Wu, D., Duan, Y., Ge, C., Wang, J., Zhou, M., Chen, C., 2014. Biological characteristics and resistance analysis of the novel fungicide SYP-1620 against *Botrytis*

cinerea. ***Pest. Biochem. Physiol.*** 114, 72-78.

Zheng, Y.K., Qiao, X.G., Miao, C.P., Liu, K., Chen, Y.W., Xu, L.H., Zhao, L.X., 2016. Diversity, distribution and biotechnological potential of endophytic fungi. ***Ann Microbiol.*** 66,529–542.

Zillinsky, F. J., Pelletier Macdonald, R., 1983. Maladies communes des céréales à paille: guide d'identification. CIMMYT.

Site web: (<https://floranet.pagesperso-orange.fr/gene/botagen/gen5.htm>)

Annexes

Annexe I

1-Milieus de culture utilisés

1.1- Milieu d'isolement :

DCPA (Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar)

(Andrews and Pitt 1986 ; Ioos et al. 2004).

Pour un litre de milieu :

- Peptone bactériologique : 15g
- K₂HPO₄ : 1g
- MgSO₄.7H₂O : 0.5 g
- Chloramphénicol¹: 2.01 ml d'une solution éthanolique*
- Ddichloran² (2-6-dichloro-4-nitroaniline) en solution éthanolique** : 1ml
- Crystal violet en solution aqueuse*** : 1ml
- Agar : 15g
- H₂O distillée ou osmosée : 1000 ml

* : 10.0±0.1 g de chloramphenicol dans 100±2 ml d'éthanol.

** : 0.20±0.01 g de dichloran dans 100±2 ml d'éthanol.

*** : 0.05±0.01 g de crystal violet dans 100±2 ml d'eau distillée ou osmosée

Milieu SDA (Sabauroud Dextrose Agar)

Pour un litre de milieu :

- Dextrose: 40g
- Peptone: 10g
- Agar: 15g
- H₂O distillée ou osmosée : 1000 ml

1.2- Milieu de caractérisation

Milieu PDA ((Potato Dextrose Agar)

Pour un litre de milieu :

- Pomme de terre coupée en morceau : 200g
- Glucose : 20g
- Agar : 20g
- H₂O distillée ou osmosée : 1000 ml

Milieu SNA (Spezieller Nährstoffärmer Agar) (Gerlach and Nirenberg 1982)

Pour un litre de milieu :

- K₂HPO₄ : 1g
- KNO₃ : 1g
- MgSO₄.7H₂O : 0.5g
- KCl : 0.5g
- Glucose : 0,20g

- Saccharose : 0,20g
- Agar : 20g
- H₂O distillée ou osmosée : 1000 ml

Milieu NA (Nutrient Agar)

Pour un litre de milieu

- H₂O distillée ou osmosée : 1000 ml
- Poudre de Nutrient Agar : 23,5g

Milieu MA (Malt Agar)

Pour un litre de milieu

- Extrait de malt : 20g
- Dextrose: 20g
- Peptone: 6g
- Agar:15g
- H₂O distillée ou osmosée : 1000ml

Milieu DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol)

Pour un litre de milieu

- Proteose peptone : 5g
- Glucose : 10g
- Sulfate de magnésium : 7H₂O 0,50g
- Phosphate monopotassique : 1,00g
- Dichloran (dichloro-2,6-nitro-aniline): 0,002g
- Chloramphénicol: 0,10g
- Rose bengale : 0,025g
- Agar : 15g
- H₂O distillée ou osmosée : 1000 ml

2-Réactifs utilisées

2.1- Bleu coton au lactophénol :

- Phénol en cristaux : 20g
- Acide lactique (commercial concentré) : 20g
- Glycérine : 40g
- Eau bidistillée : 20g
- Bleu de méthyle : 0,5g

Annexe II

Tableau 1. Aspect des colonies fongiques développées à partir des fragments végétaux de blé dur sur le milieu DCPA +fongicides après 6 jours d'incubation

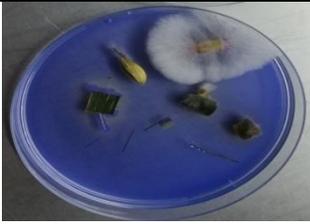
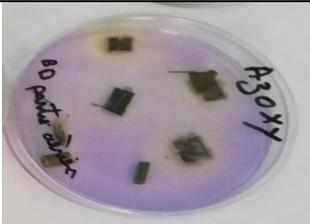
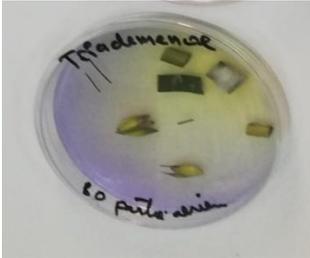
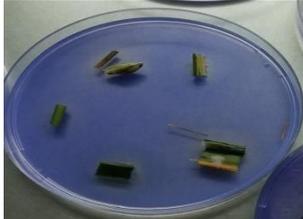
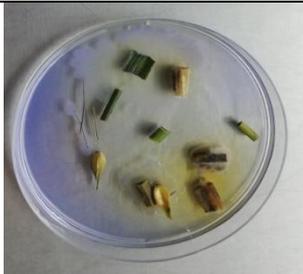
	Partie racinaire	Partie aérienne
DCPA + Difenconazole		
DCPA + Tebuconazole		
DCPA + Azoxystrobine		
DCPA + Triadimenol		

Tableau 2. 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 III

Le séquençage ITS de la souche *Akanthomyces muscarius*

TGGGTTCCCTACCTGATCCGAGGTCAACGTTTCAGAAGTTGGGTGTTTTACGGCGTG
GCCACGTCGGGGTTCCGGTGCAGATTGGATTACTACGCAGAGGTTCGCCGCGGACG
GGCCGCCACTCCATTTTCGGGGCCGGCGGTATGCTGCCGTTCCCCAACGCCGATTT
CCCCAAAGGGAAGTCGAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCGCCAGA
ATGCTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAA
TTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGAT
CCGTTGTTGAAAGTTTTGATTCATTTGTTTTGCCTTGCGGCGGATTCAGAAAATGC
TGATAATACAGAGTTTAGAGGTCTCCGGCGGCCGCCTGGGTCCGGGGCCGCGGGCG
GCGCGAGGCCGTCCGGACGCCGGGGCGAGTCCGCCGAAGCAACAGTAGGTATGT
TCACATAAGGGTTTTGGGAGTTGTAAACTCGATAATGATCCCTCCGCAGGTCACCC
TACCGAACCCCTTATGTGAACATACCTACTGTTGCTTCGGCGGTCTCGCCCCGGCGT
CCGGACGGCCTCGCGCCGCCCGGGCCCGGGCCCGGGCGGCCCGCCGGTGCCCTCT

Le séquençage EF (1) de la souche *Akanthomyces muscarius*

CCCAACTTTCGTCTTTTTTTTTTCGCTCTTTCCAAAAGTCTTGCTTGCTTCGCA
CGTTATCCTGCTTAGCACCGATCGCCTCATCACTCTGGCCACTGGCCGCTACCCCT
CCTTGCTGCGGCAAAATTTTCCAAAGTGCCTTATCATTTTGGTGGGGCTGCTTTGA
AAAATACCCCGCCACCTGTCGCAAGCTCCCCCTCATTCTCTACTCCCTGAAAG
GCAAACACCAAATCTCGCGTCCGTTTTGTCAACATTTTGCTAACCATGATCTTCTA
CAGGAAGCCGCCAAACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATGCCTGGGTCTTGACA
AGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGATATCGCCCTCTGGAAGTT
CGAGACTCCCAAGTTCATGGTCACTGTCATTGATGCTCCCGGTCACCGTGATTTCA
TCAAAAACATGATCATGGGTACCTCCAGGGGGGGATATCAAGGGGGGATACCGGG
CTCAGGCTGGGCCTTGGGCTTGTCAGGAACCCGGGCATACTTGAGGGAACCCTTG
CGGGGTTGGGGGGCTTCCGGTAGAAGATCATGGTTAGCAAAATGTTGACAAAAG
GGACGCGAGATTTGGTGTCCGCCTCTCGGGGGGTAGAGGAATGAGGGGGGAGCT
TGCGAAAGGTGGCGGGGAAATATTGTAGGGAGGAGAGCGCGGGGTGTAGGGCA
GAAGCCAAAAGTAATTCAATAAAGAGACGCCAAGTATCAGGGAGTCCATCCTCT
TCTGTACGCAGTTACCCATT

Annexe III

1-Test insecticide de la souche *Akanthomyces muscarius* contre les larves de*T. pityocampa*

Analyse de la variance

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Time	1	1.181	1.181	65.38	3.5.10 ⁻¹¹ ***
Dose	1	3.703	3.703	205.03	<2.10 ⁻¹⁶ ***
Residuals	60	1.084	0.018	/	/

‘*’ < 0.05 ‘**’ < 0.01 ‘***’ < 0.001

Including interaction:

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Time	1	1.181	1.181	65.38	3.5.10 ⁻¹¹ ***
Dose	1	3.703	3.703	205.03	<2.10 ⁻¹⁶ ***
Dose * Time	1	0.175	0.175	11.35	0.00133 **
Residuals	60	0.909	0.015	/	/

‘*’ < 0.05 ‘**’ < 0.01 ‘***’ < 0.001

Tukey multiple comparisons of means with 95% family-wise confidence level using survival probability:

Doses	Diff	Confidence Interval		p adj
		Lower	Upper	
C2-C1	-0.1228306	-0.20647991	-0.03918132	0.0013390
C3-C1	0.0217259	-0.06192340	0.10537519	0.9035454
Control-C1	0.1976643	0.11401496	0.28131355	0.0000002
C3-C2	0.1445565	0.06090722	0.22820581	0.0001205
Control-C2	0.3204949	0.23684558	0.40414417	0.0000000
Control-C3	0.1759384	0.09228907	0.25958765	0.0000026

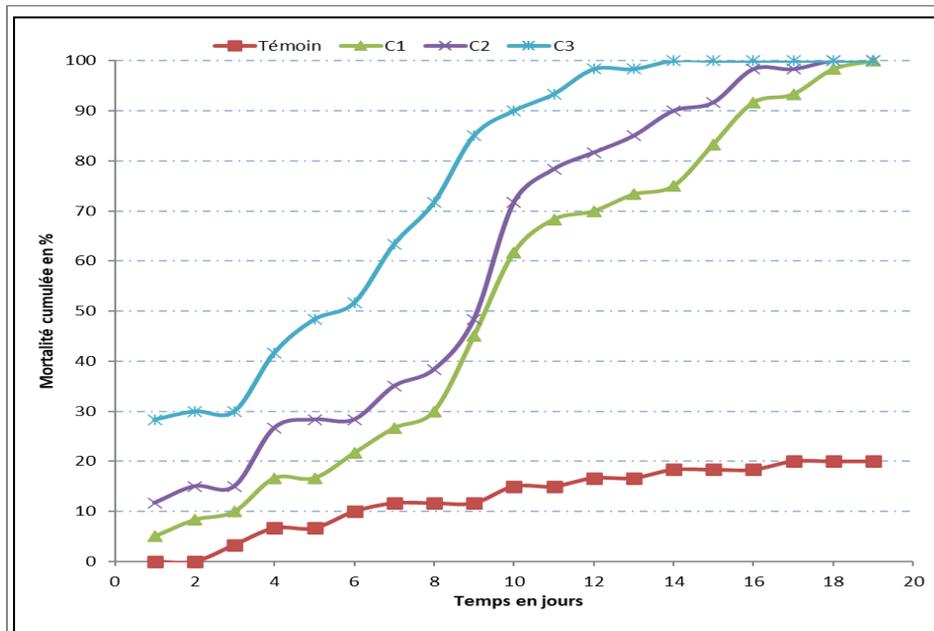
Tukey Comparison test with homogenous groups:

Treatment	Mean of survival probability	Std	Group
Control	0.6683474	0.3314649	<i>a</i>
C1	0.5052839	0.2839758	<i>ab</i>
C2	0.3478525	0.1997837	<i>bc</i>
C3	0.1464013	0.1868783	<i>c</i>

$\alpha = 0.05$, $df_{error} = 80$, minimum significant difference :0.208557, $MSE = 0.06633706$

Tableau 3. Mortalité corrigée des larves

JOUR	C1	C2	C3
1	5.0	11.7	28.3
2	8.3	15.0	30.0
3	6.9	12.1	27.6
4	10.7	21.4	37.5
5	10.7	23.2	44.6
6	13.0	20.4	46.3
7	17.0	26.4	58.5
8	20.8	30.2	67.9
9	37.7	41.5	83.0
10	54.9	66.7	88.2
11	62.7	74.5	92.2
12	64.0	78.0	98.0
13	68.0	82.0	98.0
14	69.4	87.8	100.0
15	79.6	89.8	100.0
16	89.8	98.0	100.0
17	91.7	97.9	100.0
18	97.9	100.0	100.0
19	100.0	100.0	100.0

**Fig 1.** Evolution de la mortalité cumulée dans le temps

3-Test antagoniste de la souche *Akanthomyces muscarius* vis-à-vis des champignons phytopathogènes

Analysis of Variance

1- *Fusarium verticilliodes*

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
TEMPS	22082.481	8	2760.310	302.961	0.000
TRAITEMENT	5300.463	1	5300.463	581.758	0.000
TEMPS*TRAITEMENT	1730.037	8	216.255	23.735	0.000
Error	328.000	36	9.111		

2- *Fusarium solani*

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
TEMPS	25082.037	8	3135.255	252.316	0.000
TRAITEMENT	6229.630	1	6229.630	501.341	0.000
TEMPS*TRAITEMENT	2316.704	8	289.588	23.305	0.000
Error	447.333	36	12.426		

3-*Fusarium oxysporum*

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
TEMPS	16986.000	8	2123.250	409.484	0.000
TRAITEMENT	4704.000	1	4704.000	907.200	0.000
TEMPS*TRAITEMENT	1812.667	8	226.583	43.698	0.000
Error	186.667	36	5.185		

4-*Fusarium sp*

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
TEMPS	16903.704	8	2112.963	63.707	0.000
TRAITEMENT	8537.796	1	8537.796	257.421	0.000
TEMPS*TRAITEMENT	2809.704	8	351.213	10.589	0.000
Error	1194.000	36	33.167		

5-*Curvularia lunata*

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
TEMPS	21323.667	8	2665.458	358.940	0.000
TRAITEMENT	7490.667	1	7490.667	1008.718	0.000
TEMPS*TRAITEMENT	3161.667	8	395.208	53.220	0.000
Error	267.333	36	7.426		



Original article

Dual biocontrol potential of the entomopathogenic fungus *Akanthomyces muscarius* against *Thaumetopoea pityocampa* and plant pathogenic fungiAmal Saidi ^a, Samira Mebdoua ^b, Dalila Mecelem ^b, Nawal Al-Hoshani ^c, Nouari Sadrati ^d, Fehmi Boufahja ^{e,†}, Hamdi Bendif ^{f,†}^a Laboratory de Gestion et Valorisation des Ressources Naturelles et Assurance Qualité, Faculty of Natural and Life Sciences and Earth Sciences, University of Bouira, 10000 Bouira, Algeria^b Department of Agronomic Sciences, Faculty of Natural and Life Sciences and Earth Sciences, University of Bouira, 10000 Bouira, Algeria^c Department of Biology, College of Science, Princess Nourah bint Abdulrahman University, P.O. Box 84428, Riyadh 11671, Saudi Arabia^d Laboratory of Characterization and Valorization of Natural Resources, University Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou-Arredj 34000, Algeria^e Biology Department, College of Science, Imam Mohammad Ibn Saud Islamic University (IMSIU), Riyadh 11623, Saudi Arabia^f Natural and Life Sciences Department, Faculty of Sciences, Mohamed Boudiaf University, BP 166 Msila, 28000 Msila, Algeria

article info

Article history:

Received 22 May 2023

Revised 15 June 2023

Accepted 23 June 2023

Available online 28 June 2023

Keywords:

Entomopathogenic fungus
Akanthomyces muscarius
Thaumetopoea pityocampa
Phytopathogenic fungi
Dual Biocontrol

abstract

Akanthomyces spp. species are known for their capacity to biocontrol of certain insects and plant pathogens; however, their ability to biocontrol the pine processionary (*Thaumetopoea pityocampa*) and certain phytopathogenic fungi belonging to the genera *Fusarium* and *Curvularia* have not been studied before. In this study, a strain from *Akanthomyces muscarius* was isolated from wheat grains and then identified by morphological and molecular tests. The strain was further studied for its capacity to control *Thaumetopoea pityocampa* larvae through dose-mortality tests, and its ability to control some phytopathogenic fungi strains of the genera *Fusarium* and *Curvularia* was studied through direct confrontation tests. Dose-mortality tests at three concentrations of *Akanthomyces muscarius* against the first instar larvae revealed a mortality of 92.15% after 11 days for the concentration of 2.3×10^6 conidia.ml⁻¹, with a median lethal concentration of 7.6×10^3 conidia.ml⁻¹. Our isolate also showed antifungal activity against these phytopathogenic fungi with inhibition rates ranging from 39.61% to 52.94%. *Akanthomyces muscarius* proved to be a promising biocontrol agent for plant pests and diseases.

© 2023 The Author(s). Published by Elsevier B.V. on behalf of King Saud University. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introduction

The search for new efficient compounds to protect plants against pests and diseases became a primary need to ensure sustainable plant and food production (Kumar et al., 2008). However, the interest in employing entomopathogenic fungi as mycopesticides has increased in numerous regions of the world due to the resurgence of insecticide-resistant populations and the fact that

insecticides are ineffective against certain pests (Avery et al., 2013). Furthermore, extensive use of conventional pesticides leads to adverse effects, including harmful consequences on human and animal health (Arcury et al., 2007; Michalakakis et al., 2014), contamination of surface and groundwater, and soil biodiversity loss (Ondráčková et al., 2019).

Entomopathogenic fungi are mostly isolated from insects, but they can be found in soils (Ondráčková et al., 2019). Among them can colonize plants as endophytic fungi, or phytopathogenic fungi as mycoparasites (Ownley et al., 2010). They can also colonize grains of several crops such as corn (Błaszczuk et al., 2021). The microbiome of plants is a crucial side of sustainable agriculture, and endophytic entomopathogens play a significant role in it (Nicoletti et al., 2020).

For insects' control, numerous entomopathogenic fungal isolates have been sold globally in a variety of formulations (de Faria and Wraight, 2007). While some entomopathogenic fungi are able directly to suppress plant infections, promote systemic resistance, and stimulate plant development (Jaber and Ownley, 2018).

† Corresponding authors.

E-mail addresses: amal.saidi@univ-bouira.dz (A. Saidi), s.mebdoua@univ-bouira.dz (S. Mebdoua), d.mecellem@univ-bouira.dz (D. Mecelem), nialhoshani@pnu.edu.sa (N. Al-Hoshani), n.sadrati@univ-bba.dz (N. Sadrati), faboufahja@imamu.edu.sa (F. Boufahja), hamdi.bendif@univ-msila.dz (H. Bendif).

Peer review under responsibility of King Saud University.



Production and hosting by Elsevier

<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103719>

1319-562X/© 2023 The Author(s). Published by Elsevier B.V. on behalf of King Saud University.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

It's important to note that some plant endophytes with entomopathogenic potentials, such as species of *Lecanicillium*, *Beauveria*, and *Metarhizium*, have the capacity to control plant diseases (Ownley et al., 2010; Sasan and Bidochka, 2013; Jaber and Ownley, 2018).

Akanthomyces species are closely linked to the genus *Verticillium* and are known as *Lecanicillium* (Kepler et al., 2017). These species are entomopathogenic fungi that infect a range of insects (mostly whiteflies and aphids), plant pathogenic fungi that cause powdery mildew (for example *Sphaerotheca fuliginea*), and rusts (for example *Hemileia vastatrix*), and they can also infect plant-parasitic nematodes such as *Heterodera glycines* (Askary and Yarmand 2007). The species most investigated and employed in the pests' management for insects are *Akanthomyces muscarius* (Petch) and *A. lecanii* (Zimm) (Upadhyay et al., 2014).

Akanthomyces muscarius (Petch) (formerly *Lecanicillium muscarium*) is a promising biological control agent. It has been commercialized as *Verticillium* and *Mycotal* for the biocontrol of aphids and whiteflies (Güçlü et al., 2010; Cuthbertson and Walters 2005). *A. muscarius* can form a mucilaginous matrix containing extracellular enzymes that facilitates cuticle penetration on its hosts (Askary and Yarmand 2007). It has already been documented that this fungus has a harmful effect on various insect pests such as cotton whitefly *Bemisia tabaci* (Cuthbertson and Walters 2005; Broumandnia et al., 2021), Aphids *Myzus persicae* (Erdos et al., 2021), the fruit fly; *Anastrepha fraterculus* (Danilovich et al., 2020), and the rice insect pest *Chilo suppressalis* (Shahriari et al., 2021).

Accordingly, our objective was to assess, under lab conditions, the ability of a strain of *A. muscarius* endophyte of wheat grain to control the larvae of one of the most destructive pine pests (*T. pityocampa*), and its ability to inhibit the growth of some strains of wheat phytopathogenic fungi. Whether this isolate has dual biocontrol activity. Moreover, this study presents morphological and molecular identification of this isolate.

2. Materials and methods

2.1. Isolation and identification of *A. muscarius*

The strain TA01 was obtained from soft wheat grains *Triticum aestivum* in Bouira province (Algeria) during the 2018/2019 agricultural season. Freshly harvested grains samples were collected from 10 fields (1 kg for each sample) situated in three localities El Hachimia (36°14'00"N, 3°50'00"E; 3 fields), El Asnam (36°19'16"N, 4°00'50"E; 4 fields) and Sour EL Ghozlane (36°08'50"N, 3°41'26"E; 3fields). Isolation of the strain was done according to Tabuc et al (2011): Twenty grams were added to 180 ml of a 0.05% Tween 80, and the solution obtained was stirred for 30 min. Subsequently, 1 ml of all 1/10 dilutions was placed on malt agar (2% agar + 50 ppm chloramphenicol + 2% malt). Subcultures from the margin colonies resembling *A. muscarius* were transferred on malt agar medium. Purification was performed following the method of monospore culture. The morphological identification was performed according to some general and specific identification guides (Zare and Gams 2001, 2003; Kepler et al., 2017). The strain TA01 isolated from a field located in El Hachimia is the only one that presented the morphological characteristics of the genus *Akanthomyces*.

2.2. Molecular identification

2.2.1. DNA extraction, amplification, and sequencing

DNA extraction of the strain TA01 was performed from 10-day-old PDA medium culture utilizing a commercial NucleoSpin Plant II

fungal genomic DNA extraction kit (Macherey-Nagel, Germany), according to the manufacturer's instructions. The ITS (Internal Transcribed Spacer) and EF1- α (Elongation factor 1- α) region were amplified with primer pairs ITS1 (5' CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A3')/ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC3') (Gardes and Bruns, 1993) and EF1-728F (5' CAT CGA GAA GTT CGA GAA GG)/EF2 (5' TAC TTG AAG GAA CCC TTA) (Carbone and Kohn, 1999). 25 μ L were used for the amplification, which included 2 μ L of genomic DNA, 1 μ L of 10 μ M primers (sense and antisense), 5 μ L of 5X Taq buffer (Promega Corporation, USA), 1.5 μ L of 25 mM MgCl₂, 0.2 μ L of dNTP mixture (25 mM), 0.2 μ L of 5U/ μ L of Taq DNA polymerase (Promega Corporation, USA), and 14.10 μ L of double-distilled sterile water. The following PCR conditions were used for the ITS region: Initial denaturation at 95 °C for 5 min, followed by 35 cycles of denaturation at this temperature for 30 s each, hybridization at 55 °C for 30 s, extension at 72 °C for 45 s, and finally, a final extension at 72 °C for 7 min. The EF1- α region was subjected to the same conditions, but with a 52 °C hybridization temperature. The PCR result had been separated into a 1.5% agarose gel (Sigma-Aldrich, USA) following the PCR reaction, and it was then stained with 0.5 g ml⁻¹ ethidium bromide. A molecular weight marker of 100 bp (PCR 100 bp low Ladder, Sigma-Aldrich) was utilizing DNA fingerprints that were visualized following exposure to UV light using the Gel Documentation System (Bio-Rad, USA). The PCR results were then purified using the NucleoSpin Gel and PCR Clean-up kit from Macherey-Nagel (Germany), and sequenced using the Sanger approach (Sanger et al., 1977) using the BigDye v3.1 kit from Applied Biosystems and the identical primers used in PCR. The obtained sequences were analyzed and corrected using the CHROMAS PRO software.

2.2.2. Phylogenetic analysis

Once the final sequences are obtained, they were deposited at the NCBI GeneBank, and compared to those found on NCBI using BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> Blast), and all sequences that displayed a high degree of affinity with our sequences were retrieved. (Sedrati et al., 2023). Multiple sequence alignment was started for the phylogenetic analysis using MEGA7 software's muscle option, followed by manual adjustments. The aligned regions were combined using Mesquite 3.6 software to create a single sequence. Maximum likelihood analysis was then applied to both individual alignments and the concatenated sequence using the "Tamurai-Nei" model in MEGA7. To assess the strength of the internal branches of the built tree, the bootstrap method was used with one thousand replications. (Visagie et al., 2013; Houbraken et al., 2014; Siqueira et al., 2017).

2.3. Evaluation of the growth and sporulation of *A. muscarius*

Mycelial discs of 5 mm diameter of *A. muscarius* were inoculated into 90 mm Petri dishes containing six different culture media: PDA (potato dextrose agar), SDA (Sabouraud Dextrose Agar), NA (Nutrient Agar), SNA (Synthetischer Nährstoffärmer Agar), MA (malt agar), and DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol). After ten days of incubation at 27 °C, the colonies' average diameter (mm) and spore concentration (conidia ml⁻¹) of the isolates was measured. For this purpose, 10 ml of sterilized distilled water with 0.01% Tween 80 was poured into the dishes containing the culture. After shaking, filtration of the suspension was performed through six layers made with sterile cheesecloth to eliminate mycelium fragments, and the outcome was then diluted. The concentration of conidia per ml was finally evaluated with the aid of a hemocytometer. Three copies of each treatment were performed.

2.4. Bioassay tests against *Thaumetopoea pityocampa*

The first instar larvae of *T. pityocampa* were obtained on October 2021 from two Mariwet and Sidi Mebarek forests located in the west of Bordj Bou Arreridj province (Algeria) characterized by a semi-arid climate. Each, twenty larvae were deposited in Petri dishes whose bottom was lined by a wet filter paper, and pine needles were deposited to feed the larvae (Abou-Jawdah et al., 2008).

The *A. muscarius* spore suspension used for the treatment of *T. pityocampa* larvae was made by mixing 10 ml of sterilized distilled water and Tween 80 (0.01%) to sporulating colonies from 15 days of culture. After shaking, the obtained suspension was filtered through six layers of sterile cheesecloth to eliminate any mycelial fragments. (Abou-Jawdah et al., 2008). The obtained spore suspension (stock solution) was used to make diluted solutions with the following concentrations: 2.3×10^4 conidia.ml⁻¹, 2.3×10^5 conidia.ml⁻¹, and 2.3×10^6 conidia.ml⁻¹. For the treatment, 1 ml of each solution was sprayed per Petri dish (at a rate of 50 µL of the spore suspension/larva) at 27 °C and 100% relative humidity. Each treatment was replicated three times. For the negative control, 1 ml of sterile water with Tween 80 (0.01%) was sprayed instead of spore suspension. A daily follow-up of the number of dead individuals is carried out until the death of all the individuals. The mortality rate was calculated using the following formula:

Observed mortality = (Number of dead individuals/total number of individuals) × 100.

The noticed mortality was then modified as proposed by Abbot (1925):

$$\frac{M_2 - M_1}{M_1} \times 100$$

MC = $\frac{M_2 - M_1}{M_1} \times 100$

In the formula above, M1 is the mortality proportion in controls; M2 is the relative mortality in the treated group and MC is the corrected mortality percentage.

2.5. Antagonistic potential of *A. muscarius* at odds with phytopathogenic fungi

The antagonistic effect of *A. muscarius* on the growth of five fungal strains was carried out by the direct confrontation technique described by Sivan and Chet (1989). *A. muscarius* and the cultures of the target fungal strain were grown for 7 days, and 6 mm-diameter discs from these cultures were placed 4 cm apart on PDA Petri dishes with a 9 cm diameter. The target fungi tested in this study were *Fusarium verticillioides*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Fusarium* sp., and *Curvularia lunata*. The controls consist of the antagonist or the target fungal strain plated into the center of a PDA Petri dish with a 9 cm diameter. After then, the plates were incubated at 26 ± 2 °C. Radial growth measurements of the target and antagonist fungi are performed daily. The percentage inhibition of the pathogen's radial growth is determined using the formula established by Datta et al. (2004).

$$\text{Inhibition rate} = \frac{D_{\text{control}} - D_{\text{test}}}{D_{\text{control}}} \times 100$$

Here D control represents the diameter of the radial growth for the target fungus in the control box, and D test is the diameter of the radial growth for the target fungus in the test box of *A. muscarius*.

2.6. Statistical analyses

The R software version 2022 and XLSTAT version 2000 were employed to conduct all of the analyses. Mortality data were converted to percentages, and probit analysis was started to determine

the median lethal concentration and time (LC50 and LT50, respectively) (Finney et al., 1971). Analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's HSD test (95% confidence interval) was applied to all numerical series collected from this study.

3. Results

3.1. Morphological and molecular identification

On PDA medium (10 days, 26 °C), colonies of strain TA01 were round with a 21 to 25 mm diameter, compact, raised in the center, fluffy with a white color on the front and a pale-yellow color on the reverse (Fig. 1 A-B). Under the microscope, this fungus has smooth, hyaline, septate hyphae with erect conidiophores bearing solitary or mostly whorled phialides. The phialides are erect, usually, punch-shaped measuring 25 to 45 µm and the conidia are smooth-walled, hyaline, and unicellular, subcylindrical to cylindrical and ellipsoidal in shape, varying in size from 2.5 to 6 µm. The conidia are produced in false heads: Fig. 1C.

According to the megablast results on the NCBI GenBank nucleotide sequence database, the closest species to the TA01 isolate was *A. muscarius* strain CBS 143.62, with a very high similarity percentage (99.63%) for ITS. However, for TEF1 the closest species was *Beauveria malawiensis* strain IMI 228343 with a percentage similarity of 85.90% (Fig. 2). The aligned sequence data of ITS and TEF1 from 39 taxa, including TA01 isolate, reference strains of related species; 10 *Beauveria*, 2 *Lecanicillium*, 3 *Samsoniella*, 22 *Akanthomyces* strains, 2 strains of *Hevansia novoguineensis* CBS 610.80, and *Hevansia novoguineensis* BCC36270 as an out-group were utilized for phylogenetic analysis. Maximum likelihood analysis showed that TA01 isolate was closely related to *Akanthomyces muscarius* strain CBS 143.62 supported by a very high bootstrap value (ML = 97%) (Fig. 2). Based on morphological identification and the results of the phylogenetic analyses of the concatenated data set of ITS and TEF1 sequences, TA01 isolate was therefore identified as *A. muscarius* belonging to the Cordycyptaceae family.

3.2. Growth and sporulation of *A. muscarius*

The results of adopting different media of culture on mycelial growth and spore production of *A. muscarius* are summarized in Table 1. After 10 days of incubation, a very highly discernible impact of the medium on conidial concentrations. The highest conidial concentration of *A. muscarius* was obtained for the NA medium. For radial growth, five of the six media tested had the same effect with mean diameters between 21.6 and 25.3 mm. The lowest value of colony diameter of *A. muscarius* was observed on the SNA medium.

3.3. Biocontrol assay against *Thaumetopoea pityocampa* larvae

The results of the corrected mortality percentages of *T. pityocampa* larvae treated with three concentrations of *A. muscarius* strain ($C_1 = 2.3 \times 10^4$, $C_2 = 2.3 \times 10^5$ and $C_3 = 2.3 \times 10^6$ conidia.ml⁻¹) calculated during the period from day 6 to day 11 are summarized in Table 2. It was noted that the corrected mortality of larvae for the three concentrations studied was time-dependent and increased with time. Indeed, corrected mortality increased from 16% on day 6 to 63% on day 11 for the lowest *A. muscarius* concentration (C_1), and from 46% to 92% for the same period at the highest concentration (C_3). After death, larvae treated with the fungus are covered with a whitish mycelium (Fig. 3). Analysis of variance showed a very highly significant effect of time and dose ($P < 0.001$). The 100% mortality of the larvae was observed after

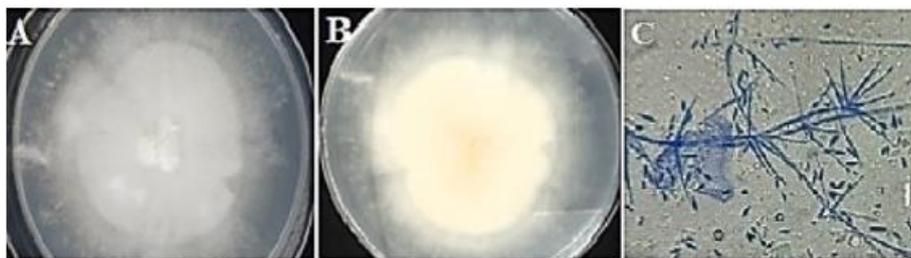


Fig. 1. (A-B) Macroscopic aspect of the strain TA01 on PDA medium, (C) microscopic aspect of the strain TA01 (scale = 15 μ m).

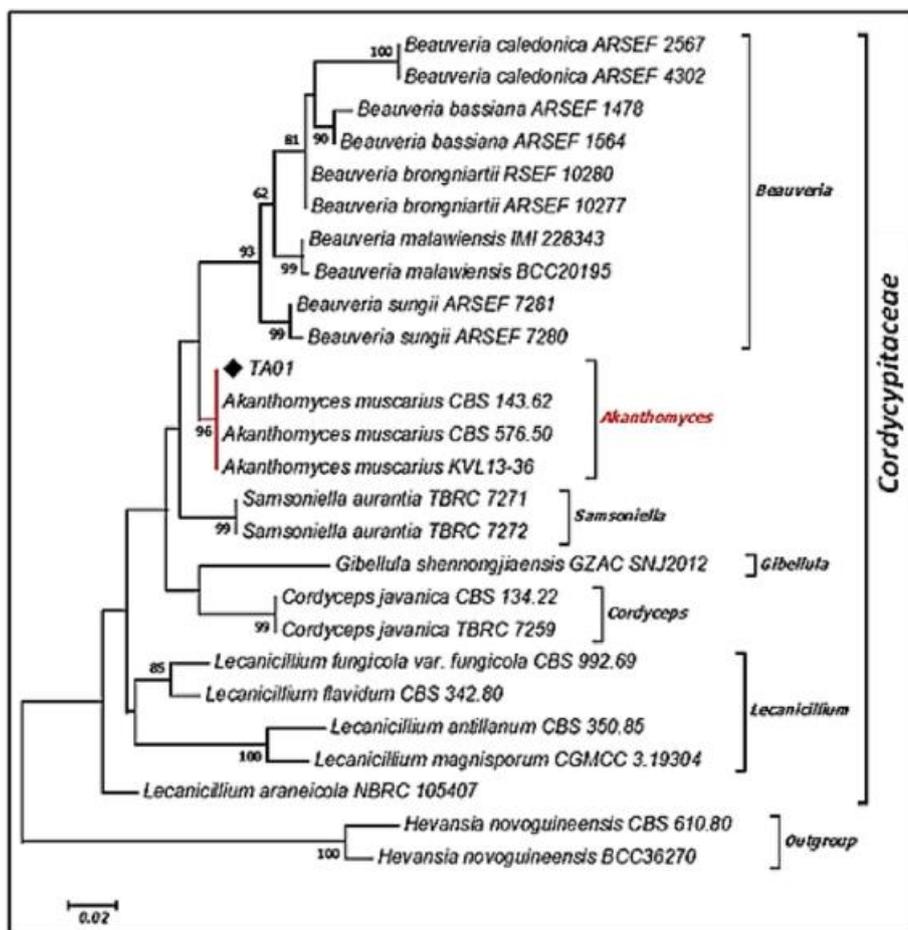


Fig. 2. Maximum likelihood (ML) phylogenetic tree of isolated strain TA01 and related Cordycypitaceae species based on a combined dataset of two loci sequences (internal transcribed spacer (ITS) + translation elongation factor-1a (TEF)). Only bootstraps over 60% are shown at nodes.

Table 1
Conidial concentrations and colony diameter of *Akanthomyces muscarius* grown in six media after 10 days incubation.

Media	Concentrations (conidia.ml ⁻¹) Mean \pm SE (n = 3)	Colony diameter (mm) Mean \pm SE (n = 3)
1 NA	2.1 \hat{A} 10 ⁶ \pm 10 ^{6a}	24.6 \pm 1.3 _a
2 PDA	1.3 \hat{A} 10 ⁶ \pm 3.3 \hat{A} 10 ^{4b}	25.3 \pm 2.6 _a
3 MA	1.3 \hat{A} 10 ⁶ \pm 3.3 \hat{A} 10 ^{4b}	23.6 \pm 1.4 _a
4 SDA	1.0 \hat{A} 10 ⁶ \pm 5.7 \hat{A} 10 ^{4c}	23.3 \pm 0.3 _a
5 DRBC	6.3 \hat{A} 10 ⁴ \pm 6.3 \hat{A} 10 ^{3d}	21.6 \pm 0.3 _a
6 SNA	6.0 \hat{A} 10 ⁴ \pm 1.7 \hat{A} 10 ^{4d}	11 \pm 1.1 _b

The same letters in each column indicate a non-significant difference.

14 days in the case of the highest spore concentration (C₃), and after 18 and 19 days for concentrations C₂ and C₁, respectively. Comparison of means by Turkey test revealed no significant differ-

ence in corrected mortality between concentrations C₂; 2.3x 10⁵ and C₁; 2.3x10⁴conidia.ml⁻¹.

The LC₅₀ and LC₉₀ values of *A. muscarius* against *T. pityocampa* were calculated from the 6th day after treatment to the 11th day and are summarized in Table 3. These values decreased with time, this LC₅₀ decreased from 2.5x10⁶ conidia.ml⁻¹ on the 6th day to 3.5x10³ on the 11th day after treatment. Similarly, LC₉₀ decreased from 1.06x 10¹⁰ to 1.4x10⁶ conidia.ml⁻¹ during the same period.

The values of LT₅₀, and LT₉₀ were also calculated as shown in Table 4. The lowest lethal times 50 and 90 (6.1 days and 10.4 days respectively) were observed for the highest *A. muscarius* spore concentration (C₃). For concentrations C₁ and C₂, the values of these two parameters were higher than those recorded in the case of C₃. However, it should be noted that there were no significant differences between the LT₅₀ and LT₉₀ values for these two concentrations.

Table 2
Corrected mortality of *Thaumetopoea pityocampa* with different conidial concentrations of the *Akanthomyces muscarius* isolate.

Time (days)	Traitement (conidia.ml ⁻¹)	Corrected mortality (%)	F value	P-value
6	C ₁ = 2.3 × 10 ⁴	6.29 ± 13.59 _b	8.948	< 0.01
	C ₂ = 2.3 × 10 ⁵	21.95 ± 8.85 _b		
	C ₃ = 2.3 × 10 ⁶	46.19 ± 6.91 _a		
7	C ₁ = 2.3 × 10 ⁴	16.88 ± 9.43 _b	31.41	< 0.001
	C ₂ = 2.3 × 10 ⁵	26.25 ± 7.95 _b		
	C ₃ = 2.3 × 10 ⁶	58.49 ± 2.79 _a		
8	C ₁ = 2.3 × 10 ⁴	20.69 ± 11.42 _b	33.75	< 0.001
	C ₂ = 2.3 × 10 ⁵	30.06 ± 7.93 _b		
	C ₃ = 2.3 × 10 ⁶	67.86 ± 3.89 _a		
9	C ₁ = 2.3 × 10 ⁴	37.90 ± 13.64 _b	41.92	< 0.001
	C ₂ = 2.3 × 10 ⁵	41.39 ± 5.28 _b		
	C ₃ = 2.3 × 10 ⁶	83.11 ± 5.23 _a		
10	C ₁ = 2.3 × 10 ⁴	54.90 ± 12.24 _b	33.9	< 0.001
	C ₂ = 2.3 × 10 ⁵	66.66 ± 6.79 _{ab}		
	C ₃ = 2.3 × 10 ⁶	88.23 ± 11.76 _a		
11	C ₁ = 2.3 × 10 ⁴	62.74 ± 12.24 _b	47.28	< 0.001
	C ₂ = 2.3 × 10 ⁵	74.50 ± 8.98 _{ab}		
	C ₃ = 2.3 × 10 ⁶	92.15 ± 6.79 _a		

Results are expressed as means of triplicates ± standard deviation; values in the same column with different superscript letters are significantly different at P < 0.05.



fig. 3. Morphological aspect of *Thaumetopoea pityocampa* larvae treated with *Akanthomyces muscarius* (10 days after treatment at the concentration C₃).

Table 3
LC50 and LC90 values of *Akanthomyces muscarius* against 1st instar larvae of *Thaumetopoea pityocampa*.

T (Days)	LC (conidia.ml ⁻¹)	Confidence intervals	v, Df ¼ 14	Intercept	Slope
6	LC50	2.5 × 10 ⁶	12	5.2 ± 0.5	2.2 ± 0.4
	LC90	1.06 × 10 ¹⁰			
7	LC50	6.7 × 10 ⁵	15	5.7 ± 0.4	3.02 ± 0.3
	LC90	3.9 × 10 ⁸			
8	LC50	3.4 × 10 ⁵	18	6.3 ± 0.5	3.4 ± 0.4
	LC90	9.9 × 10 ⁷			
9	LC50	7.4 × 10 ⁴	14	8.8 ± 0.6	3.5 ± 0.5
	LC90	2.3 × 10 ⁷			
10	LC50	7.6 × 10 ³	15	13.02 ± 0.7	2.1 ± 0.5
	LC90	4.5 × 10 ⁶			
11	LC50	3.5 × 10 ³	15	14.3 ± 0.7	1.8 ± 0.5
	LC90	1.4 × 10 ⁶			

Table 4
LT50 and LT90 values of *Akanthomyces muscarius* against 1st instar larvae of *Thaumetopoea pityocampa*.

Dose	LT50 (Days)	LT90 (days)	V ₂	df	Intercept	Slope
C ₁ = 2.3 × 10 ⁴	9.7	16.5	24	21	1.7 ± 0.03	À0.14 ± 0.004
C ₂ = 2.3 × 10 ⁵	9.5	13.7	20	18	1.3 ± 0.05	À0.12 ± 0.006
C ₃ = 2.3 × 10 ⁶	6.1	10.4	20	18	0.8 ± 0.17	À0.08 ± 0.020

3.4. Antagonist test against phytopathogenic fungi

In order to evaluate the antagonistic capacity of *A. muscarius* (strain TA01) towards phytopathogenic fungi, direct confrontation tests against 5 strains of phytopathogenic fungi (*F. verticillioides*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Fusarium* sp., and *Curvularia lunata*) were conducted (Fig. 4).

Daily measurements of the radial growth of each of the five phytopathogenic fungal strains in the absence and presence of the antagonistic strain *A. muscarius*, as well as daily measurements of the radial growth of the antagonistic strain in the absence and presence of each of the plant pathogenic fungal strains, are shown in Fig. 5.

A. muscarius caused a discernible decrease in the radial growth of all fungal strains tested. The maximum inhibition rate observed for each strain was 52.94% on the 5th day for *C. lunata*, 52.90% on the 7th day for *Fusarium* sp., 45.83% on the 9th day for *F. oxysporum*, 43.92% on the 6th day for *F. solani* and 39.61% on 7th day for *F. verticillioides*. At the same time, the radial growth of *A. muscarius* was not affected by the presence of phytopathogenic fungal strains.

4. Discussion

The strain of *A. muscarius* studied in this work was isolated from Algerian soft wheat grains, it is worth noting that the species has only been previously obtained from insects or other plant parts such as *Nypa fruticans* leaves (Vinit et al., 2018), and stored apples in Romania (Roxana et al., 2019). The macro and microscopic characteristics of our strain were assembled to those found by Vinit et al (2018) and Roxana et al (2019). Morphologically, *Akanthomyces* is similar to *Lecanicillium*. However, the conidia of *Lecanicillium* have an ellipsoidal to oblong-oval and oval shape, while the majority of conidia in *Akanthomyces* are ellipsoidal to cylindrical in shape (Chiriví-Salomón et al., 2015).

As reported by Hillis and Dixon (1991); Salazar et al (1999); Arenal et al (2000), the utilization of the ITS region as a molecular marker for the purpose of fungi classification is commonly practiced in phylogenetic analysis. Thus, our strain was subjected to a complete phylogenetic analysis and was grouped in a different clade from other *Akanthomyces* in the phylogenetic tree. The per-

centage of similarity with the species *A. muscarius* was very high (99.63%).

According to our results, PDA, MA, SDA, NA, and DRBC media promoted the vegetative growth of *A. muscarius* in the same way. Regarding spore production, the NA medium was the optimal medium. However, Broumandnia et al. (2021) found that the PDA medium was the medium that best promotes radial growth, while the SDA medium was the optimal medium for conidial production of *A. muscarius*.

The results of the biological control assay against *T. pityocampa* larvae indicated that the *Akanthomyces* isolate TA01 is an effective controlling agent for these larvae. As far as we are aware, this is the first investigation into the efficacy of *A. muscarius* versus *T. pityocampa*. This strain is extremely pathogenic to the first instar larvae of *T. pityocampa*. The susceptibility of pine processionary moth larvae at different instars varied, as noted by Sonmez et al. (2017). Due to their thicker cuticles, the older instar larvae were undoubtedly more able to fend off infections.

The studies conducted so far for the biocontrol of *T. pityocampa* tested by some bacteria, viruses, and entomopathogenic fungi. The study of Latifa et al (2012) showed that *Bacillus thuringiensis* can cause 100% mortality of *T. pityocampa* larvae. Bonnet et al., 2013 found that the species *Beauveria bassiana* was efficient in the control of this pest insect, with mortality rates of 82 to 86%. However, it has been reported that chrysalids and larvae of *T. pityocampa* were naturally found infected by *B. bassiana* in Italy (Battisti et al., 2000) and in the Andulacia region in Spain (Vargas-Osuna et al., 1994). Several other studies have tested other entomopathogenic fungi including *Metarhizium anisopliae*, *Isaria farinose*, and *Lecanicillium lecanii*, and reported optimistic results against *T. pityocampa* larvae (Er et al., 2007; Sönmez et al., 2017; Ozdemir et al., 2019). Furthermore, using three separate approaches, Akinci et al., 2017 put in *B. bassiana* (strain TP-153) at 10⁸ conidia.ml⁻¹ against the pest insect's fourth instar larvae. The most successful technique was immersion, with a mortality rate of 13% to 31%. In our investigation, ten days after the treatment of 2.3 × 10⁶ conidia.ml⁻¹ of *A. muscarius*, a mortality rate of 88.23% was observed using the spraying approach.

The LC₅₀ values found in the present study (LC₅₀ = 3.5 × 10³ × 2.5 × 10⁶ conidia.ml⁻¹) were relatively lower than the values reported in the study by Ren et al (2010). These authors tested isolates of *A. muscarius* (V20, V26, V07, and V17) against *B. tabaci*

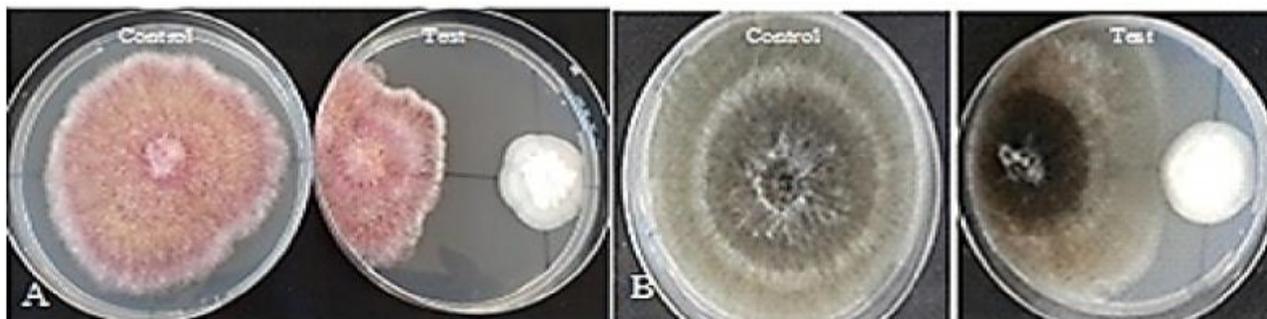


Fig. 4. Growth inhibition of plant pathogens caused by *Akanthomyces muscarius* when grown in dual cultures on potato dextrose agar. (A) *Fusarium oxysporum*; (B) *Curvularia lunata*.

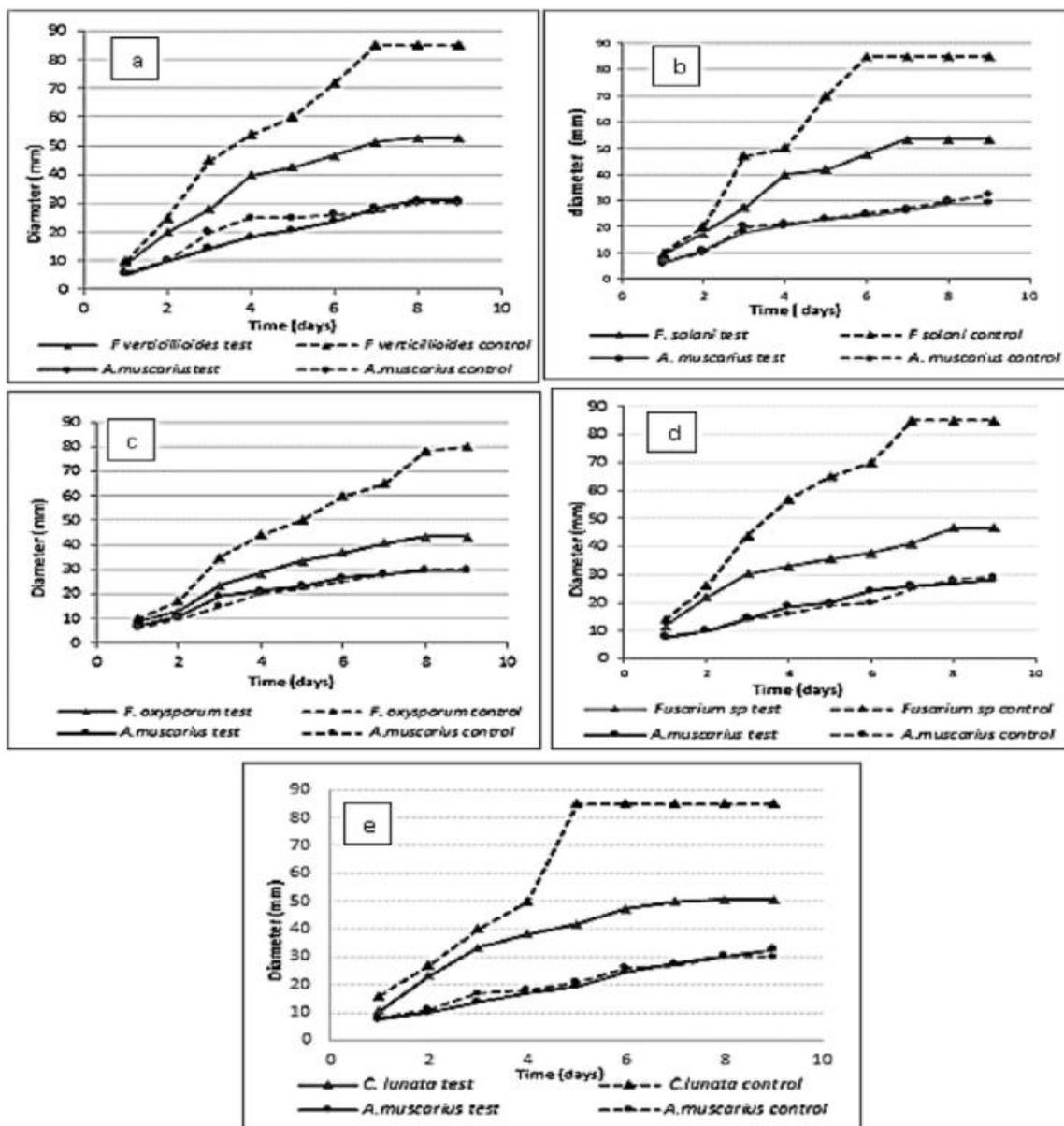


Fig. 5. Effect of the antagonist *Akanthomyces muscarius* on the radial growth of phytopathogenic fungi: (a) *Fusarium verticillioides*, (b) *F. solani*, (c) *F. oxysporum*, (d) *Fusarium sp.*, (e) *Curvularia lunata*.

nymphs, and found LC50 values between 1.07×10^6 and 5.08×10^8 conidia/ml air.

The LT50 values in our study were 9.6, 9.5, and 6.1 days at concentrations of 2.3×10^4 , 2.3×10^5 , and 2.3×10^6 conidia/ml air, respectively. These values are relatively higher than those reported for an Iranian strain of *A. muscarius* obtained from *Zeuzera pyrina* L. (Tabadkani et al., 2010). This strain was tested against *Trialeurodes vaporariorum* at these concentrations 10^5 , 10^6 , 10^7 , and 10^8 conidia/ml air and showed TL50 values of 8, 6, 6, and 4 days, respectively.

The strain TA01 caused a significant reduction in the radial growth of all the fungal strains tested (four strains of *Fusarium* and one of *Curvularia*) with inhibition rates varying between 39.61% and 52.94%. According to the bibliography, the entomopathogenic fungus *A. muscarius* (*L. muscarius*), is one of the most hopeful natural parasites and is considered to have enormous potential as a biological control agent for an extensive variety of phytopathogenic fungi, such as *Sphaerotheca macularis*, *Puccinia coronata*, *Penicillium digitatum*, *Pythium ultimum* and *Fusarium*

moniliforme (Benhamou and Brodeur, 2001; Benhamou, 2004; Miller et al., 2004; Yu et al., 2012). As *Akanthomyces* species are closely related to the genus *Verticillium*, they may also share a similar mode of action. In this context, the mode of action of *Verticillium lecanii*, may be related to a chitinase. Yu et al. (2015) succeeded in extracting and purifying a chitinase from this fungus, this enzyme has in vitro spore germination inhibitory action against various plant diseases, in particular *Fusarium moniliforme*. Other authors proved the phenomenon of parasitism of *Verticillium lecanii* towards biotrophic phytopathogenic fungi such as *Sphaerotheca fuliginea* (Askary et al., 1997).

In this research, it was found that the strain TA01 of *A. muscarius* had a dual biocontrol potential against both *T. pityocampa* and plant pathogenic fungi. The study of Kim et al. (2007) demonstrated also that 3 taxa of *Lecanicillium* spp. (*Akanthomyces* spp.): *Lecanicillium* sp. (strain DAOM198499), *L. attenuatum* (strain CS625), and *L. longisporum* (Vertalec), possess dual effectiveness versus powdery mildew and aphids. Also, entomopathogenic

fungus, *Isaria javanica* had a dual biocontrol potential versus aphids and flora diseases (Kang et al., 2018).

5. Conclusions

The entomopathogenic isolate TA01 (*A. muscarius*) has a dual biocontrol activity versus insect pests and plant pathogenic fungi; our study showed a high insecticidal effect against the first instar *T. pityocampa* and a significant fungicidal effect against some phytopathogenic fungi of wheat under laboratory conditions. In conclusion, fungal endophytes are rapidly emerging as a distinctive class of microbial biocontrol agents. Besides their effectiveness against insect pests; fungal entomopathogens may provide protection against plant diseases such as endophytes. In future research, it is interesting to use the extracellular metabolites of this strain in order to evaluate their antifungal and insecticidal activity, more work is needed to confirm the efficacy of this strain for in situ circumstances and to develop optimal formulations for field application.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

The authors extend their appreciation to the Princess Nourah bint Abdulrahman University Researchers Supporting Project number (PNURSP2023R437), Princess Nourah bint Abdulrahman University, Riyadh, Saudi Arabia.

References

- Abou-Jawdah, Y., Atamian, H., Nemer, G., Kfoury, L., Choukrallah, N., Hanna, L., Nemer, N., 2008. Efficacy and molecular studies of a Lebanese isolate of *Beauveria* for control of *Thaumetopoea wilkinsoni* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). *Biocontrol. Sci. Technol.* 18, 573–581.
- Akinci, H.A., Ozman, S.K., Diler, H., Celik, N., Sullivan, G.T., Karaca, G., 2017. Entomopathogenic fungi isolated from *Thaumetopoea pityocampa* and their efficacies against its larvae. *Fresen. Environ. Bull.* 26, 5251–5257.
- Arcury, T.A., Grzywacz, J.G., Barr, D.B., Tapia, J., Chen, H., Quandt, S.A., 2007. Pesticide urinary metabolite levels of children in eastern North Carolina farm worker households. *Environ. Health Perspect.* 115, 1254–1260.
- Arenal, F., Platas, G., Monte, E., Peláez, F., 2000. ITS sequencing support for *Epicoccum nigrum* and *Phoma epicoccina* being the same biological species. *Mycol. Res.* 104, 301–303.
- Askary, H., Yarmand, H., 2007. Development of the entomopathogenic hyphomycete *Lecanicillium muscarium* (Hyphomycetes: Moniliales) on various hosts. *Eur. J. Entomol.* 104, 67.
- Askary, H., Benhamou, N., Brodeur, J., 1997. Ultrastructural and cytochemical investigations of the antagonistic effect of *Verticillium lecanii* on cucumber powdery mildew. *Phytopathology* 87, 359–368.
- Avery, P.B., Pick, D.A., Aristizábal, L.F., Kerrigan, J., Powell, C.A., Rogers, M.E., Arthurs, S.P., 2013. Compatibility of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) blastospores with agricultural chemicals used for management of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Insects* 4, 694–711.
- Battisti, A., Bernardi, M., Ghirardo, C., 2000. Predation by the hopper (Upupa epops) on pupae of *Thaumetopoea pityocampa* and the likely influence on other natural enemies. *BioControl* 45, 311–323.
- Benhamou, N., 2004. Potential of the mycoparasite, *Verticillium lecanii*, to protect citrus fruit against *Penicillium digitatum*, the causal agent of green mold: a comparison with the effect of chitosan. *Phytopathology* 94, 693–705.
- Benhamou, N., Brodeur, J., 2001. Pre-inoculation of Ri T-DNA transformed cucumber roots with the mycoparasite, *Verticillium lecanii*, induces host defence reactions against *Pythium ultimum* infection. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 8, 133–146.
- Błaszczak, L., Was'kiewicz, A., Gromadzka, K., Mikołajczak, K., Chelkowski, J., 2021. *Sarocladium* and *Lecanicillium* associated with maize seeds and their potential to form selected secondary metabolites. *Biomolecules* 11, 98.
- Bonnet, C., Martin, J. C., Mazet, R., Correard, M., Besse, S., 2013. *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv) Vuillemin : un agent entomopathogène pour réduire l'extension de la processionnaire du pin par les plants transportés en conteneur. 3. AFPP. Conférence sur l'Entretien des Espaces Verts, Jardins, Gazons, Forêts, Zones Aquatiques et Autres Zones Non Agricoles, Toulouse, France. HAL Id: hal-02749656 <https://hal.inrae.fr/hal-02749656>.
- Broumandnia, F., Rajabpour, A., Parizipour, M. H. G., Yarahmadi, F., 2021. Morphological and molecular identification of four isolates of the entomopathogenic fungal genus *Akanthomyces* and their effects against *Bemisia tabaci* on cucumber. *Bull. Entomol. Res.* 111, 628–636.
- Carbone, I., Kohn, L.M., 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91, 553–556.
- Chiriví-Salomón, J.S., Cordies, G., Restrepo, S., Sanjuan, T., 2015. *Lecanicillium sabanense* sp. nov. (Cordycipitaceae) a new fungal entomopathogen of coccids. *Phytotaxa* 234, 63–74.
- Cuthbertson, A.G., Walters, K.F., Northing, P., 2005. The susceptibility of immature stages of *Bemisia tabaci* to the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* on tomato and verbena foliage. *Mycopathologia* 159, 23–29.
- Danilovich, M.E., Ovruski, S.M., Fariña, J.I., Delgado, O.D., 2020. First report on the entomopathogenicity and virulence of *Akanthomyces muscarius* LY 72.14, a Yungas native fungal isolate, for *Anastrepha fraterculus* control. *Biocontrol. Sci. Technol.* 30, 1212–1227.
- Datta, B.S., Das, A.K., Ghosh, S.N., 2004. Fungal antagonists of some plant pathogens. *Mycopathologia* 1, 15–17.
- De Faria, M.R., Wraight, S.P., 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol. Control.* 43, 237–256.
- Er, M.K., Tunaz, H., Gökçe, A., 2007. Pathogenicity of entomopathogenic fungi to *Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) larvae in laboratory conditions. *J. Pest. Sci.* 80, 235–239.
- Erdos, Z., Chandler, D., Bass, C., Raymond, B., 2021. Controlling insecticide resistant clones of the aphid, *Myzus persicae*, using the entomopathogenic fungus *Akanthomyces muscarius*: fitness cost of resistance under pathogen challenge. *Pest. Manag. Sci.* 77, 5286–5293.
- Finney, J.C., Smith, D.F., Skeeters, D.E., Auvenshine, C.D., 1971. MMPI alcoholism scales; factor structure and content analysis. *Q. J. Stud. Alcohol.* 32, 1055–1060.
- Gardes, M., Bruns, T.D., 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.* 2, 113–118.
- Güçlü, S.B., Ak, C., Eken, H., Akyol, R., Sekban, B., Beytutand, R., Yildirim, R., 2010. Pathogenicity of *Lecanicillium muscarium* against *Ricania simulans*. *Bull. Insectol.* 63, 243–246.
- Hillis, D.M., Dixon, M.T., 1991. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *Q. Rev. Biol.* 66, 411–453.
- Houbraken, J., Visagie, C.M., Meijer, M., Frisvad, J.C., Busby, P.E., Pitt, J., Samson, R.A., 2014. A taxonomic and phylogenetic revision of *Penicillium* section *Aspergilloides*. *Stud. Mycol.* 78, 373–451.
- Jaber, L.R., Ownley, B.H., 2018. Can we use entomopathogenic fungi as endophytes for dual biological control of insect pests and plant pathogens? *Biol. Control.* 116, 36–45.
- Kang, B.R., Han, J.H., Kim, J.J., Kim, Y.C., 2018. Dual biocontrol potential of the entomopathogenic fungus, *Isaria javanica*, for both aphids and plant fungal pathogens. *Mycobiol.* 46, 440–447.
- Kepler, R.M., Luangsa-Ard, J.J., Hywel-Jones, N.L., Quandt, C.A., Sung, G.H., Rehner, S. A., Shrestha, B., 2017. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). *IMA Fungus* 8, 335–353.
- Kim, J.J., Goettel, M.S., Gillespie, D.R., 2007. Potential of *Lecanicillium* species for dual microbial control of aphids and the cucumber powdery mildew fungus, *Sphaerotheca fuliginea*. *Biol. Control.* 40, 327–332.
- Kumar, S., Kaushik, N., Edrada-Ebel, R., Ebel, R., Proksh, P., 2008. Endophytic fungi for pest and disease management. In: Ciancio A, Mukerji KG, (ed). *Integrated management of diseases caused by fungi, phytoplasma and bacteria*. Springer, Berlin, pp 365–387. ISBN:978-1402085703.
- Latifa, L., Bouziane, A., 2012. Isolement et identification de *Bacillus thuringiensis* à effet insecticide contre la processionnaire des pins *Thaumetopoea pityocampa*. *Magister diss.*
- Michalakos, M., Tzatzarakis, M. N., Kovatsi, L., Alegakis, A. K., Tsakalof, A. K., Heretis, I., Tsatsakis, A., 2014. Hypospadias in offspring is associated with chronic exposure of parents to organophosphate and organochlorine pesticides. *Toxicol. Lett.* 230, 139–145.
- Miller, T.C., Gubler, W.D., Laemmlen, F.F., Geng, S., Rizzo, D.M., 2004. Potential for using *Lecanicillium lecanii* for suppression of strawberry powdery mildew. *Biocontrol. Sci. Technol.* 14, 215–220.
- Nicoletti, R., Becchimanzi, A., 2020. Endophytism of *Lecanicillium* and *Akanthomyces*. *Agriculture* 10, 205.
- Ondráčková, E., Seidenglanz, M., Šafář, J., 2019. Effect of seventeen pesticides on mycelial growth of *Akanthomyces*, *Beauveria*, *Cordyceps* and *Purpureocillium* strains. *Czech. Mycol.* 7, 2.
- Ownley, B.H., Gwinn, K.D., Vega, F.E., 2010. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. *BioControl* 55, 113–128. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9241-x>.
- Ozdemir, I.O., Kushiyev, R., Erper, I., Tuncer, C., 2019. Efficacy of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). *Arch. Phytopathol. Plant. Prot.* 52, 470–480.
- Roxana, C., Mihaela, Z.M., Beatrice, I., 2019. First report of entomopathogenic fungus *Akanthomyces muscarius* on stored apples in Romania. *J. Hort. Forest Biotechnol.* 23, 14–17.

- Salazar, O., Schneider, J.H., Julian, M.C., Keijer, J., Rubio, V., 1999. Phylogenetic subgrouping of *Rhizoctonia solani* AG 2 isolates based on ribosomal ITS sequences. *Mycologia* 91, 459–467.
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74, 5463–5467.
- Sasan, R.K., Bidochka, M.J., 2013. Antagonism of the endophytic insect pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* against the bean plant pathogen *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. *Canad. J. Plant. Pathol.* 35, 288–293.
- Shahriari, M., Zibae, A., Khodaparast, S.A., Fazeli-Dinan, M., 2021. Screening and virulence of the entomopathogenic fungi associated with *Chilo suppressalis* walker. *J. Fungi* 7, 34.
- Siqueira, J.P., Sutton, D.A., Gené, J., García, D., Wiederhold, N., Peterson, S.W., Guarro, J., 2017. Multilocus phylogeny and antifungal susceptibility of *Aspergillus* section *Circumdati* from clinical samples and description of *A. pseudo sclerotiorum* sp. nov. *J. Clin. Microbiol.* 55, 947–958.
- Sivan, A., Chet, I., 1989. Degradation of fungal cell walls by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. *Microbiol.* 135, 675–682.
- Sönmez, E., Demir, I., Bull, J.C., Butt, T.M., Demirbag, Z., 2017. Pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa*, Lepidoptera: Thaumetopoeidae) larvae are highly susceptible to the entomopathogenic fungi *Metarhizium brunneum* and *Beauveria bassiana*. *Biocontrol. Sci. Technol.* 27, 1168–1179. <https://doi.org/10.1080/09583157.2017.1387643>.
- Tabadkani, S.M., Askary, H., Mehra, A., Ashouri, A., 2010. Study on pathogenicity effects of the entomophagous fungi *Lecanicillium muscarium* on the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. Iranian Plant Protection Congress, 19th. Plant. Prot. Res. Inst, Tehran, Iran.
- Tabuc, C., Taranu, I., Calin, L., 2011. Survey of mould and mycotoxin contamination of cereals in South-Eastern Romania in 2008–2010. *ArchivaZootechnica* 14, 25–38.
- Upadhyay, V., Rai, D., Rana, M., Mehra, P., Pandey, A.K., 2014. *Verticillium lecanii* (Zimm.): A potential entomopathogenic fungus. *Int. J. Agri. Environ. Biotechnol.* 7, 719–727.
- Vargas-Osuna, E., Munoz, L., Ledesma, J., Aldebis, H. K., Santiago-Alvarez, C., 1994. Pathogens and Parasitoids for the Control of *Thaumetopoea pityocampa* (D. y Schiff.) (Lep. Notodontidae). *Bol. San. Veg. Plagas.* 20, 511–515.
- Vinit, K., Doilom, M., Wanasinghe, D.N., Bhat, D.J., Brahmanage, R.S., Jeewon, R., Hyde, K.D., 2018. Phylogenetic placement of *Akanthomyces muscarius*, a new endophyte record from *Nypa fruticans* in Thailand. *Curr. Res. Environ. Appl. Mycol.* 8, 404–417.
- Visagie, C.M., Houbraken, J., Rodrigues, C., Pereira, C.S., Dijksterhuis, J., Seifert, K.A., Samson, R.A., 2013. Five new *Penicillium* species in section *Sclerotiora*: a tribute to the Dutch Royal family. *Persoonia-Mol. Phylogeny. Evol. Fungi* 31, 42–62.
- Yu, G., Liu, J.L., Xie, L.Q., Wang, X.L., Zhang, S.H., Pan, H.Y., 2012. Characterization, cloning, and heterologous expression of a subtilisin-like serine protease gene *VIPr1* from *Verticillium lecanii*. *J. Microbiol.* 50, 939–946.
- Yu, G., Xie, L.Q., Li, J.T., Sun, X.H., Zhang, H., Du, Q., Pan, H.Y., 2015. Isolation, partial characterization, and cloning of an extracellular chitinase from the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. *Genet. Mol. Res.* 14, 2275–2289.
- Zare, R., Gams, W., Evans, H.C., 2001. A revision of *Verticillium* section *Prostrata*. V. The genus *Pochonia*, with notes on *Rotiferophthora*. *Nova Hedwig* 73, 51–86.
- Zare, R., Gams, W., 2003. *Lecanicillium muscarium*. *IMI Descr. Fungi Bact.* <https://doi.org/10.1079/DFB/20056401567>.

تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتعريف الفطريات المرتبطة بالقمح. تم في الجزء الأول دراسة التنوع البيولوجي للفطريات المعزولة من حبوب ونباتات القمح. تم أخذ إجمالي 26 عينة من حبوب القمح الصلب واللين من مختلف الأصناف وبعض من نباتات القمح الصلب واللين خلال الموسم الفلاحي لسنة 2019/2018 من ثلاث ولايات داخلية في الجزائر: البويرة، سطيف وبرج بوعرييج، تم اخذ الحبوب من طرف المخازن المتواجدة في كل ولاية في حين تم اخذ النباتات من حقول القمح بطريقة عشوائية. بعد عزل وتوصيف هذه الفطريات. بلغت معدلات عدوى الحبوب بالفطريات نسبة 93,17% لحبوب القمح الصلب، 88,88% لحبوب القمح اللين و100% لنباتات القمح. سمحت هذه الدراسة بتحديد وتعريف 33 جنسا فطريا. وهذا ما يوضح التنوع البيولوجي للفطريات المرتبطة بنبات القمح مع صدارة جنس *Alternaria* في جميع عينات حبوب القمح الصلب و اللين وصدارة جنس *Fusarium* في كل النباتات.

في الجزء الثاني ركزت دراستنا على الفطريات الضارة في القمح، والسلالات المستخدمة هي أنواع من جنس (*Fusarium (F. lateritium, F. culmorum F. graminearum)* والتي تم عزلها على وسط DCPA مضاف إليه مبيدات الفطريات، وهذه السلالات تم اختبارها بهدف تقييم حساسيتها ومقاومتها لمبيدات الفطريات من نوع Triazoles من ناحية ومن ناحية أخرى لتقييم قدرتها المرضية على القمح. أظهرت الأنواع *F. graminearum* و *F. culmorum* مقاومة معينة للمبيدات الفطرية difenoconazole و triadimenol كما أظهرت هذه الفطريات قدرة مرضية كبيرة اتجاه القمح حيث أثرت على قدرة الإنتاش وعلى نمو النباتات.

وفي الجزء الثالث ركزنا على الفطريات النافعة حيث تم عزل نوع من فطر *Akanthomyces muscarius* من حبوب القمح وتم تشخيصها بالاختبارات المورفولوجية والجزئية. تمت بعد ذلك دراسة هذا النوع من ناحية لقدرته على مكافحة يرقات *Thaumetopoea pityocampa* من خلال اختبارات الموت بالجرعة، ومن ناحية أخرى لقدرته على مكافحة الفطريات لمسببة لأمراض القمح من خلال اختبارات المواجهة المباشرة. اختبارات الوفيات بالجرعة من ثلاثة تراكيز من فطر *A. muscarius* أظهرت نسبة تفوق 88,23% بعد 10 أيام للتراكيز $10^6 \times 2,3 \text{ conidia ml}^{-1}$. كذلك أظهرت نشاطا مضادا للفطريات المسببة للأمراض النباتية بمعدلات تثبيط تتراوح بين 39,61% إلى 52,94%. نستنتج من هذه الدراسة أن هذا النوع من الفطر المعزول من القمح لديه قدرة مزدوجة على مكافحة الحويوية ضد الآفات والأمراض النباتية.

الكلمات المفتاحية: القمح، الفطريات، التنوع البيولوجي، الفطريات الضارة، *Akanthomyces*، مكافحة البيولوجية، المقاومة، التريازول

Résumé

Ce travail a concerné l'isolement et la caractérisation de la mycoflore associée au blé. Dans la première partie, une étude sur la biodiversité des champignons isolés à partir des grains et des plantes de blé est effectuée. Un total de 26 échantillons de grains de blé dur et tendre de différentes variétés et des plants de blé sont prélevés durant la campagne agricole 2018-2019 à partir des trois wilayas Bouira, Setif et Bordj Bou Arreridj. Après l'isolement et la caractérisation de ces champignons, les taux de colonisation des grains par les champignons ont été de 93,17% pour les grains de blé dur, 88,88% pour les grains de blé tendre et 100% pour les plants de blé. Cette étude a permis l'identification des 33 genres fongiques. Ceci montre la biodiversité de la mycoflore associée au blé avec une dominance du genre *Alternaria* dans les grains de blé et le genre *Fusarium* sur les plants.

Dans la deuxième partie, notre étude s'est orientée vers la mycoflore nuisible de blé. Les souches utilisées sont des espèces du genre *Fusarium (F. graminearum, F. culmorum et F. lateritium)* qui ont été isolées sur un milieu DCPA supplémenté de fongicides. Ces souches ont été testées afin d'évaluer leurs sensibilité-résistance vis-à-vis des fongicides de type triazole d'une part et d'autre part pour évaluer leur pathogénicité sur le blé. Les souches de *F. graminearum, F. culmorum* ont montré une certaine résistance vis-à-vis de difenoconazole et le triadimenol et ont montré également une grande agressivité vis-à-vis du blé.

Dans la troisième partie, on s'est intéressé à la mycoflore bénéfique. Une souche d'*Akanthomyces muscarius* a été isolée à partir de grains de blé et identifiée par des tests morphologiques et moléculaires. La souche a ensuite été étudiée d'une part pour sa capacité à contrôler les larves de *Thaumetopoea pityocampa* par des tests de dose-mortalité, et d'autre part pour sa capacité à contrôler certains champignons phytopathogènes à travers des tests de confrontation directe. Les tests de dose-mortalité à trois concentrations d'*A. muscarius* ont révélé une mortalité de 88,23% après 10 jours pour la concentration de $2,3 \times 10^6$ conidies ml⁻¹. Notre isolat a également montré une activité antifongique contre les champignons phytopathogènes avec des taux d'inhibition allant de 39,61% à 52,94%. La souche d'*A. muscarius* a un double potentiel de biocontrôle contre les ravageurs et les maladies des plantes.

Mots clé : Blé, Mycoflore, biodiversité, phytopathogénicité, *Akanthomyces*, lutte biologique, résistance, Triazoles

Abstract

This work concerned the isolation and characterization of mycoflora associated with wheat. In the first part, a study of the biodiversity of fungi isolated from wheat grains and plants was carried out. A total of 26 samples of hard and soft wheat grains of different varieties and wheat plants, are taken during the 2018-2019 agricultural season from the three wilayas Bouira, Setif and Bordj Bou Arreridj. After isolation and characterization of these fungi. The colonization rates of grains by fungi are 93.17% for durum wheat grains, 88.88% for soft wheat grains and 100% for wheat plants. This study enabled the identification of 33 fungal genera. This shows the biodiversity of the mycoflora associated with wheat, with a dominance of the *Alternaria* genus in wheat kernels and the *Fusarium* genus on seedlings. In the second part of our study, we focused on the harmful mycoflora of wheat. The strains used were species of the genus *Fusarium (F. graminearum, F. culmorum and F. lateritium)*, isolated on DCPA medium supplemented with fungicides. Strains of *F. graminearum* and *F. culmorum* showed some resistance to difenoconazole and triadimenol, and were also highly aggressive to wheat.

In the third part, we focused on beneficial mycoflora. A strain of *Akanthomyces muscarius* was isolated from wheat grains and identified by morphological and molecular tests. The strain was then tested for its ability to control *Thaumetopoea pityocampa* larvae using dose-mortality tests, and for its ability to control certain phytopathogenic fungi using direct confrontation tests. Dose-mortality tests at three concentrations of *A. muscarius* revealed a mortality of 88.23% after 10 days for the concentration of 2.3×10^6 conidia ml⁻¹. Our isolate also showed antifungal activity against phytopathogenic fungi, with inhibition rates ranging from 39.61% to 52.94%. The *A. muscarius* strain has a dual biocontrol potential against plant pests and diseases.

Key words: Wheat, Mycoflora, biodiversity, phytopathogenicity, *Akanthomyces*, biological control, resistance, triazoles.

