

*A cœur vaillant rien d'impossible  
A conscience tranquille tout est accessible  
Quand il y a la soif d'apprendre  
Tout vient à point à qui sait attendre  
Quand il y a le souci de réaliser un dessein  
Tout devient facile pour arriver à nos fins  
Malgré les obstacles qui s'opposent  
En dépit des difficultés qui s'interposent  
Les études sont avant tout  
Notre unique et seul atout  
Ils représentent la lumière de notre existence  
L'étoile brillante de notre réjouissance  
Comme un vol de gerfauts hors du charnier natal  
Nous partons ivres d'un rêve héroïque et brutal  
Espérant des lendemains épiques  
Un avenir glorieux et magique  
Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis  
Jour et nuit, nous mènera vers le bonheur fleuri  
Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys,  
Nous prions dieu que cette soutenance  
Fera signe de persévérance  
Et que nous serions enchantés  
Par notre travail honoré  
MC*



*Je remercie à travers ce  
travail... ✍*

## *REMERCIEMENTS*

Au terme de ce travail, je remercie avant tout, ALLAH qui m'a donné le courage, la volonté, la patience, la force (physique et morale) et l'énergie afin de parvenir à terminer ce modeste travail.

Cette étude a été réalisée au Laboratoire de Phytopathologie de l'Ecole National de l'agriculture de Meknès. Alors que je m'attelle à la rédaction de ces dernières pages, de nombreuses personnes me viennent à l'esprit. Certains noms seront cités, mais pas tous. Je m'excuse d'avance pour les personnes que je n'aurais pas eues la délicatesse de citer.

J'exprime mes sincères remerciements à mon Directeur de thèse, Mr. El GHADRAOUI Lahsen., Professeur et Directeur du laboratoire Ecologie Fonctionnel et Environnement à la Faculté des sciences et Technique de Fès, qui a suivi ce travail avec beaucoup d'intérêt. Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance et mon profond respect pour ses précieux conseils, surtout pour son entière disponibilité et ainsi que pour la marque de confiance qu'il m'a donnée pour accomplir cette étude.

Je souhaite exprimer ma sincère reconnaissance à mon Encadrant de thèse Mr. AMIRI Said Professeur à l'Ecole nationale d'Agriculture de Meknès pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire de phytopathologie à l'ENAM. Je lui adresse également mes remerciements pour sa gentillesse, ses nombreux conseils scientifiques et techniques, et pour la confiance qu'il m'a accordée.

Je tiens à remercier vivement mon Encadrante Mme. EL GHACHTOULI Naima Professeur à la Faculté des sciences et Technique de Fès, pour son soutien et encouragement.

Je remercie Mr. TAHIRI Professeur à l'Ecole nationale d'Agriculture de Meknès, pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail

Un grand merci à Mme. BENJELLOUN Meryem Professeur à la Faculté des sciences et Technique de Fès, d'avoir accepté d'examiner ce travail, je vous remercie également pour votre disponibilité et ainsi que pour la marque de confiance que vous m'avez donnée pour finaliser ce travail.

Je remercie également Mr. FILALI-ZEGZOUTI Younes, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques Er-Rachidia et Mr. BOUR Abdellatif, Professeur à la Faculté des Sciences de

Kenitra, Mr. LAZRAQ Abderrahim., Professeur à la Faculté des sciences et Technique de Fès, et Mr. ERRACHIDI Faouzi Professeur à la Faculté des sciences et Technique de Fès, pour avoir accepté d'être membre de mon jury et consacrer un temps précieux à examiner et juger le contenu de mon document de thèse.

C'est à ceux qui m'ont donné le jour que je veux adresser mes premiers remerciements personnels : mes chers parents, vous m'avez donné votre amour et tout ce qui était en votre pouvoir durant si longtemps, et des conditions de rêve pour faire mes études universitaires. Si aujourd'hui j'ai écrit une thèse sur la Fusariose de blé c'est aussi parce que vous avez su me transmettre votre soif de ALLAH; votre fidélité dans votre engagement reste pour moi un modèle et un socle de ma vie.

Merci à mes frères Mehdi et Hammad, vous avez cru en moi, votre profond attachement m'a permis de réussir mes études.

A mon très cher mari Dr. KOTBI Mostafa, merci pour tes sacrifices, ton soutien moral, et ta gentillesse.

Merci à ma chère grand-mère dans les yeux de laquelle j'ai toujours pu me voir comme la première merveille du monde, en toi j'ai perçu quelque chose de l'amour inconditionnel d'ALLAH.

## **Publications et communications scientifiques**

### **Publications à comité de lecture**

Soudi, G., El ghadraoui, L., Amiri, S. Evaluation de l'état phytosanitaire des semences de Blé tendre et dur collectés de six régions céréalières du Maroc Chaouia, Doukkala, Gharb, Haouz, Saïs et Tadla". Revue de l'Association Française de Protection des Plantes AMPP. Novembre 2014.

Soudi, G., El ghadraoui, L., El ghachtouli, N., Loukili, M., Amiri, S. Propagation of wheat Fusarium wilt in Morocco. *Journal of Science and Research (IJSR)*. Volume 8 Issue 3 Mars, 2019. 221-232

Soudi, G., El ghadraoui, L., El ghachtouli, N., Amiri, S. Geographical distribution of wheat Fusarium wilt in Morocco in the Tadla-Azilal and Marrakech-Tensift-Al Haouz regions. *Journal of Science and Research (IJSR)*. Volume 8 Issue 3 Mars, 2019. 1131-1139

### **Communications**

Soudi, G., El Ghadraoui L., & Amiri, S. Évaluation de l'état phytosanitaire des semences de blé tendre et blé dur collectées de six régions céréalières du Maroc: Chaouia, Doukkala, Gharb, Haouz, Saïs et Tadla. Le – 9<sup>ème</sup> Congrès sur l'Evolution des méthodes de lutte : Vers les méthodes alternatives Rabat – 25 et 26 Novembre 2014.

Soudi, G., Amiri, S., El Ghadraoui, L., & El Ghachtouli, N. Caractérisation et cartographie de la fusariose du blé au Maroc et étude de nouveaux paramètres de lutte. 1<sup>er</sup> Forum du pôle de biotechnologie, à la Faculté des sciences Dahr el mahraz- Fès 2015, 13 Novembre.

Soudi, G., Amiri, S., El Ghadraoui, L., & El Ghachtouli, N. L'étude de l'activité antifongique de quelques huiles essentielles sur des espèces responsables de la fusariose du blé. Forum international des plantes aromatiques et médicinales: Valorisation et innovation, à la FST de Fès 2015, 26 Novembre.

Soudi, G., Amiri, S., El Ghadraoui, L., & El Ghachtouli, N. Evaluation de l'importance de la fusariose du blé dans les régions Tadla-Azilal et Marrakech-Tansift- Al Haouz à partir des échantillons collectés au stade épiaison. Journée nationale: Impact des changements climatiques sur le fonctionnement des écosystèmes, à la FST de Fès 2016, 23 Novembre.

Soudi, G., Amiri, S., El Ghadraoui, L., & El Ghachtouli, N. Isolement et caractérisation morphologique de l'agent pathogène causant la fusariose du blé. 1<sup>er</sup> Workshop national de biodiversité, à la FST de Fès 2016, 17 Décembre.

Soudi, G., Amiri, S., El Ghadraoui, L., & El Ghachtouli, N. Etude comparative du pourcentage de contamination du blé tendre et blé dur par la fusariose dans différentes régions du Maroc. 1<sup>er</sup> Workshop national de biodiversité, à la FST de Fès 2016, 17 Décembre.

Soudi, G., Amiri, S., El Ghadraoui, L., & El Ghachtouli, N. Caractérisation et cartographie de la fusariose du blé au Maroc et étude de nouvelles méthodes de lutte. 2<sup>ème</sup> Forum du pôle de biotechnologie, à la Faculté des sciences Dahr el mahraz- Fès 2016, 20 Décembre.

## Résumé

Le présent travail est une contribution à la connaissance de la fusariose de blé au Maroc. Les échantillons étudiés sont issus de différentes zones céréalières de notre pays à savoir, Doukkala, Chaouia, Haouz, Tadla, Gharb, Saïs, Meknès et Marrakech. Nous avons mené une étude de l'état phytosanitaire de l'ensemble des échantillons collectés sur terrain, à savoir des échantillons de semences et d'autre à l'état frais pour analyser les quatre parties de la plantes: Racines, collets, glumes et les graines. Les cartes illustrant la distribution de la fusariose ainsi que la caractérisation macroscopique, microscopique, moléculaire, et la virulence des espèces responsables de la fusariose de blé isolées des zones prospectés pendant cette étude, de plus le comportement variétale de quatre variétés de blé tendre et dur, ainsi que l'évaluation d'un nouveau traitement des semences ont été réalisées.

Les résultats obtenus nous ont permis de souligner que l'ensemble des régions prospectées sont infectées par la maladie, l'infection varie selon le type de blé cultivé et selon la région. Pour les échantillons de semences, les niveaux d'infections enregistrés par le blé dur étaient plus élevés que ceux du blé tendre. Pour le blé dur, les régions Gharb et Tadla sont les plus attaquées par la maladie, le pourcentage d'infection est de 45,6% pour le Gharb et 40,6% pour Tadla, alors que pour le blé tendre, les niveaux de contamination les plus élevés sont dans les régions Gharb et Saïs de l'ordre de 39,20% et 37,60% respectivement. Pour les échantillons de blé collectés à l'état frais la région de Marrakech est la plus infectée.

La caractérisation macroscopique, microscopique et moléculaire des isolats du champignon responsable de la fusariose isolées de l'ensemble des échantillons de blé analysés, révèle une diversité des espèces fongiques. Les espèces identifiées sont: *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenacem*, *Fusarium graminearum* et la sous espèce *Microdochium nivale majus*.

En outre, nous avons montré que *F. culmorum*, *F. avenaceum* et la sous espèce *M. nivale majus*, responsables de la fusariose du blé au Maroc, causent une forte inhibition de la germination des graines inoculées par des suspensions de spores de ces espèces même à faible concentration, et cela pour le blé tendre, blé dur et l'orge, traité (Tébuconazole) et non traité.

L'inoculation des semences de quatre variétés de blé dur et quatre variétés de blé tendre (traitées Tébuconazole) par des suspensions fongiques de concentration de  $10^3$  spores/ml des espèces *F. culmorum*, *F. avenaceum* et la sous espèce *M. nivale majus* indique la sensibilité des variétés de blé étudiées vis à vis la pénétration du champignon pathogène à la semence. Cela est traduit par l'obtention des racines et des collets contaminés par les champignons en question ce qui va entraîner l'extension des symptômes de la maladie (la fusariose).

Les traitements des semences C (Difénoconazole, Fludioxonil et Thiamethoxam) et S (Tébuconazole) évalués sur les paramètres de rendements et de croissance du blé illustrent que le traitement C a montré un effet significatif sur les paramètres de croissance et sur le rendement par rapport au traitement S dans les deux zones d'études (Meknès et HadKourt).

Cette étude nous a permis de ressortir des données très importantes et alarmantes, pouvant servir d'outils de base pour des recherches scientifiques plus approfondies sur des méthodes de lutte, en utilisant des substances efficaces et non toxiques.

**Mots clés:** Fusariose, Blé, Maroc, Cartes, Caractérisation, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. graminearum*, *Microdochium nivale majus*, Comportement, Variétale et Traitement des semences.

## Abstract

This set of work provides the recognition of the Fusarium wilt of wheat in Morocco. The samples studied come from different cereal areas of our country namely; Doukkala, Chaouia, Haouz, Tadla, Gharb, Saïs, Meknes, and Marrakech. We carried on the study of the phytosanitary state of all the samples collected in the field, namely samples of seeds and others in the fresh state to analyze the four parts of the plant: roots, crowns, glumes, and seeds. The Maps illustrate the distribution of Fusarium wilt as well as the macroscopic, microscopic, molecular characterization, and the virulence of species responsible for wheat Fusarium wilt isolated from the prospected areas during this study, also the varietal behavior of four varieties of soft and durum wheat, and finally the evaluation of a new seed treatment, was carried out.

The results obtained allowed us to emphasize that all the regions examined are infected by the disease; the infection varies according to the type of wheat grown, and to the region. For the seed samples, the infection levels recorded with tough wheat were higher than those with soft wheat. For durum wheat, Gharb and Tadla regions are the most attacked by the disease, the percentage of infection is 45.6% for Gharb and 40.6% for Tadla, while for soft wheat, and the levels of the highest contamination are in the Gharb and Saïs regions of the order of 39.20% and 37.60% respectively. For the wheat samples collected in the fresh state, the Marrakech region is the most infected.

The macroscopic, microscopic, and molecular characterization of isolates of the fungus responsible for *Fusarium* isolated from all the samples of wheat analyzed reveals a diversity of fungal species. The identified species are *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium graminearum*, and the subspecies *Microdochium nivale majus*.

In addition, we have proved that *F. culmorum*, *F. avenaceum* and the subspecies *M. nivale majus* responsible for Fusarium wilt of wheat in Morocco, that cause a strong inhibition of the germination of seeds inoculated by suspensions of spores of these species even at a low concentration, and this for soft wheat, durum wheat, and barley, treated (Tebuconazole) and untreated.

The inoculation of the seeds of four varieties of durum wheat and four varieties of soft wheat (treated with tebuconazole) with fungal suspensions with a concentration of  $10^3$  spores/ml of the species *F. culmorum*, *F. avenaceum* and the subspecies *M. nivale majus* indicates the sensitivity of the varieties of wheat studied with respect to the penetration of the pathogenic fungus into the seed.

These results in the obtaining of roots and crowns contaminated by the fungi in question which will cause the spread the disease (Fusarium wilt).

The seed treatments C (Difenoconazole, Fludioxonil and Thiamethoxam) and S (Tebuconazole) evaluated on the yield and growth parameters of wheat illustrate that the treatment C showed a significant effect on the growth parameters and on the yield compared to S treatment in the two study areas (Meknes and HadKourt).

This study has allowed us to show up very important and alarming data, which can serve as basic tools for more in-depth scientific research on struggle methods, using effective and non-toxic substances.

**Keywords:** Fusarium wilt, Wheat, Morocco, Maps, Characterization, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. graminearum*, *Microdochium nivale majus*, Behavior, Varietal and Seed treatment.

## Liste des abréviations

- ADN : Acide Désoxyribonucléique
- ADNr : Acide Désoxyribonucléique ribosomique
- ANOVA : Analyse de la variance
- B.D. T : Blé dur traité
- B.D. N.T : Blé dur non traité
- BET : Bromure d’Ethidium
- Bp : Paire de bases
- B.T. T : Blé tendre traité
- B.T. N.T : Blé tendre non traité
- DCA : Dispositif Complètement Aléatoire
- DON : Deoxynivalenol
- DPA : Direction Provinciale Agricole
- ENAM : Ecole Nationale d’Agriculture de Meknès
- FS : Flowable concentrate for Seed treatment
- GPS : Global Positioning System
- ITS : Internal Transcribed Spacer
- LS : Soluble liquid
- NIV : Nivalénol
- N. T : Non traité
- PCR : Réaction de polymérisation en chaîne
- PDA : Potato Dextrose Agar
- PIB : Produit Intérieur Brut
- PMG : Poids de Mille Grains
- Qx : Quintaux
- SNA : Synthetic Nutrient- poor Agar
- SNK : Student-Newman-Keuls
- T : Traité
- TBE : Tris Borate EDTA



- TE : Tampon d'extraction
- Tr : Tours
- U : Unité
- WP : Wettable powder
- ZEA : Zéaralénone

## Liste des figures et tableaux

### Figures

---

#### [Introduction générale et contexte bibliographique](#)

<b>Figure 1:</b> Schéma illustrant le cycle de développement du blé .....	6
<b>Figure 2:</b> Evolution de la production mondiale de blé .....	7
<b>Figure 3:</b> Evolution de la surface et des rendements du blé à l'échelle mondiale .....	8
<b>Figure 4:</b> Evolution de la surface cultivée en blé tendre au Maroc .....	9
<b>Figure 5:</b> Evolution annuelle des productions des principales céréales au Maroc .....	9
<b>Figure 6:</b> Septoriose (A), rouille jaune (B), carie (C), fusariose (D) .....	10
<b>Figure 7:</b> Spores de <i>F. avenaceum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. poae</i> Peck .....	12
<b>Figure 1:</b> Types de fusariose .....	13
<b>Figure 2:</b> Epis de blé fusariés présentant des nécroses (a, b, c) .....	13
<b>Figure 3:</b> A, Semence infectée et mal germée. B, Symptômes sur collet .....	14
<b>Figure 4:</b> Grains de blé sains (à gauche) et fusariés (à droite) .....	14
<b>Figure 12:</b> Morphologie recto-verso d'espèces de <i>Fusarium</i> sur PDA .....	20
<b>Figure 13:</b> Microconidies en chaînette .....	20
<b>Figure 14:</b> Chlamydospores surface rugueuse de <i>F. equiseti</i> .....	21
<b>Figure 15:</b> Conidiophore simple et ramifié .....	21
<b>Figure 16:</b> Microconidies en fausse-tête .....	21
<b>Figure 17:</b> Macroconidie produite en sporodochium de <i>F. graminearum</i> .....	22
<b>Figure 18:</b> Structure chimique des trichothécènes groupes A et B .....	27

## Chapitre 1

**Figure 1:** Pourcentage de contamination du blé dur des différentes régions étudiées .....40

**Figure 2:** Pourcentage de contamination du blé tendre des différentes régions étudiées .....40

## Chapitre 2

**Figure 1:** Carte de localisation des foyers de la fusariose touchant le blé dur dans les régions Doukkala, Haouz, Chaouia et Tadla .....54

**Figure 2:** Répartition des pourcentages d'infection des échantillons du blé dur en fonction du niveau d'infection .....55

**Figure 3:** Carte de localisation des foyers de la fusariose touchant le blé tendre dans les régions Doukkala, Haouz, Chaouia et Tadla .....56

**Figure 4:** Répartition des pourcentages d'infection des échantillons du blé tendre en fonction du niveau d'infection .....57

**Figure 5:** Carte de localisation des foyers de la fusariose pour les échantillons du blé frais dans les régions Gharb-Chrarda-Bni-Hssen, Meknès-Tafilalet, et Fès-Boulemane .....58

**Figure 6:** Répartition des pourcentages d'infection des échantillons des régions Gharb, Fès et Meknès selon leur niveau d'infection par la fusariose .....60

**Figure 5:** Correspondance entre le niveau d'infection et l'organe infecté. R : Racines, C: Collets, G : Glumes, Gr : Graines .....60

**Figure 8:** Carte de localisation des foyers de la fusariose infectant le blé dans les communes enquêtées de la région Marrakech-Tensift-Al Haouz .....62

**Figure 9:** Carte de localisation des foyers de la fusariose infectant le blé dans les communes enquêtées de la région Tadla-Azilal .....63

**Figure 10:** Répartition des pourcentages d'infection des échantillons du blé en fonction du niveau d'infection dans les régions: Tadla –Azilal (A) et Marrakech-Tensift-Al Haouz (B) .64

**Figure 11:** Pourcentages d'infection des différents organes dans les régions Tadla-Azilal (A) et Marrakech-Tensift-Al Haouz (B) .....65

<b>Figure 12:</b> A- Aspect macroscopique de <i>F. culmorum</i> / B-profil d'amplification de <i>F. culmorum</i> .....	66
<b>Figure 13:</b> A- Aspect macroscopique de <i>F. avenaceum</i> / B-profil d'amplification de <i>F. avenaceum</i> .....	67
<b>Figure 14:</b> A- Aspect macroscopique de <i>M. nivale majus</i> / B-profil d'amplification de <i>M. nivale majus</i> .....	67
<b>Figure 15:</b> A-Aspect macroscopique du . <i>F. gramineraum</i> / B-profil d'amplification du. <i>F. gramineraum</i> .....	68

### Chapitre 3

<b>Figure 1:</b> Effet de différentes concentrations des suspensions de spores de <i>F. culmorum</i> sur le pourcentage d'inhibition de germination des graines du blé dur, blé tendre et orge traitée et non traitée .....	78
<b>Figure 2:</b> Effet de différentes concentrations des suspensions de spores de <i>F. avenaceum</i> sur le pourcentage d'inhibition de germination des graines du blé dur, blé tendre et orge traitée et non traitée .....	80
<b>Figure 3:</b> Effet de différentes concentrations des suspensions de spores de <i>Microdochium nivale majus</i> sur le pourcentage d'inhibition de germination des graines du blé dur, blé tendre et orge traitée et non traitée .....	81

### Chapitre 4

<b>Figure 1:</b> Dispositif expérimental adopté dans l'essai .....	89
<b>Figure 2:</b> Stades de développement analysés. La levée (A), Stade 3 feuilles (B) .....	90
<b>Figure 3:</b> La contamination fongique de la variété « Radia » .....	91
<b>Figure 4:</b> La contamination fongique de la variété « Salama » .....	92
<b>Figure 5:</b> La contamination fongique de la variété « Amal » .....	93
<b>Figure 6:</b> La contamination fongique de la variété « Fadila » .....	94
<b>Figure 7:</b> La contamination fongique de la variété « Karim » .....	95

<b>Figure 8:</b> La contamination fongique de la variété « Tarek » .....	96
<b>Figure 9:</b> La contamination fongique de la variété « Kanakis » .....	97
<b>Figure 10:</b> La contamination fongique de la variété « Grecale » .....	98

## Chapitre 5

<b>Figure 1:</b> Conditions climatiques de la zone de Meknès durant la campagne 2013/2014 .....	107
<b>Figure 2:</b> Conditions climatiques de la zone de HadKourt durant la campagne 2013/2014 .....	107
<b>Figure 3:</b> Variétés Carioca (à gauche) et Amal (à droite) .....	109
<b>Figure 4:</b> Dispositif 1 conduit dans la région de Meknès .....	110
<b>Figure 5:</b> Dispositif 2 conduit à Meknès et à HadKourt .....	111
<b>Figure 6:</b> L'opération du semis du blé .....	112
<b>Figure 7:</b> Comparaison de l'effet des différents traitements sur le système racinaire et le nombre de talles .....	116
<b>Figure 8:</b> Comparaison entre les deux traitements C et S .....	117
<b>Figure 9:</b> Comparaison de l'efficacité des traitements C et S aux stades "levée (A)" et "maturité (B)" .....	119
<b>Figure 10:</b> Comparaison de l'efficacité des traitements C et S sur les paramètres étudiés à Meknès et à HadKourt .....	120
<b>Figure 11:</b> Attaque d'insecte coléoptère observé sur plante traité par le fongicide S et sur les parcelles non traitées .....	122
<b>Figure 12:</b> Rendements estimés par la méthode des placettes pour les essais conduits à Meknès.....	123
<b>Figure 13:</b> Rendements estimés à lamoissonneuse batteuse pour les deux essais conduits à Meknès .....	124
<b>Figure 14:</b> Rendement estimé à Meknès et à HadKourt pour les deux traitements .....	125

## Tableaux

---

### [Introduction générale et contexte bibliographique](#)

<b>Tableau 1:</b> Espèces de <i>Fusarium</i> capables d'induire la fusariose sur blé .....	11
<b>Tableau 2:</b> Eléments caractéristiques de quelques espèces de <i>Fusarium</i> et <i>Microdochium nivale</i> isolés .....	19
<b>Tableau 3:</b> Description microscopique des principales espèces de <i>Fusarium</i> .....	23
<b>Tableau 4:</b> Les différentes mycotoxines produites par <i>Fusarium</i> spp. et leurs activités biologiques .....	24
<b>Tableau 5:</b> Quelques espèces mycotoxigènes isolées de la fusariose de l'épi de blé .....	25
<b>Tableau 6:</b> Matières actives homologuées au Maroc contre la fusariose du blé .....	33
<b>Tableau 7:</b> Matières actives homologuées au Maroc pour le traitement des semences contre la fusariose du blé .....	33

### [Chapitre 2](#)

<b>Tableau 1:</b> Les amorces utilisées pour la technique PCR .....	50
<b>Tableau 2:</b> Composition du mélange réactionnel .....	51
<b>Tableau 3:</b> Description macroscopique et microscopique des aspects isolés .....	52
<b>Tableau 4:</b> Fréquence de présence des champignons isolés à partir des échantillons semences.....	69
<b>Tableau 5:</b> Fréquence de présence des champignons isolés à partir des échantillons frais ...	70

### [Chapitre 4](#)

<b>Tableau 1:</b> Principales caractéristiques des variétés de blé étudiées .....	86
<b>Tableau 2:</b> Caractéristiques de la tourbe utilisée .....	88
<b>Tableau 3:</b> Résultats de la variance univariée de la variance à trois facteurs pour la levée ...	99
<b>Tableau 4:</b> Résultats de la variance uni variée de la variance à trois facteurs pour le stade 3 feuilles .....	99

## Chapitre 5

**Tableau 1:** Caractéristique des traitements des semences C et S .....108

**Tableau 22:** Caractéristiques des variétés utilisées .....109

**Tableau 3:** Paramètres de croissance et du rendement du blé analysés.....113

**Tableau 4:** Résultats de l'analyse multivariée de la variance à un facteur (Traitement) .....115

**Tableau 5:** Résultats du test Dunnet .....115

**Tableau 6:** Résultats de l'analyse multivariée de la variance à deux facteurs (traitement et sol).....118

## Liste des annexes

<b>Annexe 1:</b> Préparation du milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA) .....	154
<b>Annexe 2:</b> Préparation du Tampon TE .....	154
<b>Annexe 3:</b> Préparation du gel d'agarose de 2% .....	155
<b>Annexe 4:</b> Test de Student-Newman-Keuls appliqué sur les variables étudiées .....	155



## Sommaire

<b>Introduction générale et contexte bibliographique.....</b>	<b>1</b>
<b>Introduction Générale .....</b>	<b>2</b>
<b>Contexte bibliographique .....</b>	<b>4</b>
<b>I. Le blé.....</b>	<b>4</b>
1. Caractéristiques génétiques du blé .....	4
2. Caractéristiques botaniques du blé.....	4
3. Cycle végétatif du blé.....	5
4. Importance à l'échelle mondiale .....	7
5. Importance du blé à l'échelle nationale.....	8
<b>II. Généralités sur les maladies du blé .....</b>	<b>10</b>
<b>III. Fusariose du blé .....</b>	<b>11</b>
1. Complexe fusarien.....	11
a. Genre Fusarium .....	11
b. Genre Microdochium.....	12
2. Symptômes de la maladie de fusariose .....	12
3. Distribution géographique.....	14
4. Importance économique .....	15
c. Effet sur le rendement.....	15
a. Effet sur la qualité des semences .....	15
b. Effet sur la qualité des grains récoltés .....	15
5. Etude épidémiologique de la maladie .....	15
a. Impact du climat sur le complexe d'espèces .....	15
b. Sources d'inoculum.....	16
c. Production et maturation de l'inoculum.....	16
d. Dispersion de l'inoculum .....	17
e. Incubation et sporulation .....	18
6. Morphologie macroscopique et microscopique .....	18
a. Morphologie macroscopique .....	18
b. Morphologie microscopique.....	20
<b>IV. Mycotoxines.....</b>	<b>23</b>
1. Définition, étymologie et principes généraux .....	23

2.	Mycotoxines produites par les espèces de <i>Fusarium</i> .....	24
3.	Structure chimique et voies de biosynthèse des trichothécènes .....	26
a.	Structure chimique des trichothécènes .....	26
b.	Voies de biosynthèse des trichothécènes .....	27
c.	Méthodes d'analyse des trichothécènes .....	27
d.	Toxicité des trichothécènes .....	28
4.	Aspects réglementaires .....	28
<b>V.</b>	<b>Effets de diverses pratiques culturelles sur la fusariose.....</b>	<b>30</b>
1.	Rotation de culture .....	30
2.	Effets du travail du sol .....	30
3.	Effets de l'irrigation .....	30
4.	Effet de la date de semis .....	31
<b>VI.</b>	<b>Lutte contre la fusariose.....</b>	<b>31</b>
1.	Techniques culturales .....	31
2.	Lutte biologique .....	31
3.	Lutte chimique.....	32
4.	Traitements des semences .....	33
<b>VII.</b>	<b>Techniques de détection / identification du champignon.....</b>	<b>34</b>
1.	Isolement du <i>Fusarium</i> spp. à partir des plants .....	34
2.	Isolement du <i>Fusarium</i> spp. à partir du sol .....	34
3.	Isolement du <i>Fusarium</i> spp. à partir de l'air .....	35
4.	Caractérisation moléculaire.....	35
<b>Chapitre 1: Évaluation de l'état phytosanitaire des semences de blé tendre</b>		
<b>et blé dur collectées de six régions céréalières du Maroc Chaouia,</b>		
<b>Doukkala, Gharb, Haouz, Saïs et Tadla.....</b>		
		<b>36</b>
	<b>Résumé .....</b>	<b>37</b>
	<b>Introduction .....</b>	<b>37</b>
	<b>Matériel et méthodes .....</b>	<b>38</b>
1.	Echantillonnage .....	38
2.	Mise en culture des échantillons .....	39
3.	Lecture des boîtes et isolement de l'agent pathogène .....	39
	<b>Résultats et discussion .....</b>	<b>39</b>
1.	Blé dur .....	40

2. Blé tendre .....	40
<b>Conclusion.....</b>	<b>41</b>
<b>Chapitre 2: Évaluation et cartographie dynamique de la fusariose du blé au Maroc .....</b>	<b>42</b>
<b>Résumé .....</b>	<b>43</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>44</b>
<b>Matériel et méthodes .....</b>	<b>45</b>
1. Cartographie dynamique de la fusariose du blé .....	45
2. Prospection sur terrain.....	45
3. Préparation des échantillons.....	46
4. Milieu de culture .....	47
5. Isolement du champignon .....	47
6. Caractérisation morphologique de l'agent pathogène de la fusariose du blé .....	47
a. Caractérisation macroscopique.....	47
b. Caractérisation microscopique .....	48
7. Calcul du pourcentage d'infection .....	48
8. Caractérisation moléculaire des espèces isolées responsables de la fusariose par la réaction de polymérisation en chaîne PCR.....	48
a. Extraction de l'ADN.....	48
b. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR).....	49
c. Révélation de l'ADN amplifié.....	51
<b>Résultats.....</b>	<b>52</b>
1. Aspects macroscopique et microscopique du champignon.....	52
2. Cartographie dynamique de l'épidémie .....	53
a. Cartographie de la fusariose affectant les semences de blé dur.....	54
b. Cartographie de la fusariose affectant les semences de blé tendre .....	56
c. Cartographie de la fusariose affectant les échantillons frais des régions Gharb-Chrarda-Bni-Hssen, Meknès-Tafilalet, et Fès-Boulemane. ....	58
d. Cartographie de la diffusion de la fusariose dans les régions Marrakech-Tensift-Al Haouz et Tadla-Azilal .....	61
3. Caractérisation moléculaire des principales espèces de <i>Fusarium</i> et <i>Microdochium</i> par la PCR.....	66
a. Confirmation moléculaire du <i>F. culmorum</i> .....	66
b. Confirmation moléculaire du <i>F. avenaceum</i> .....	66

c. Confirmation moléculaire du <i>Microdochium nivale majus</i> .....	67
d. Confirmation moléculaire du <i>F. graminearum</i> .....	68
Discussion.....	68

**Chapitre 3: Etude de l'effet virulent de certaines espèces fongiques responsables de la fusariose au Maroc sur la germination des graines du blé tendre, blé dur et l'orge.....73**

<b>Résumé .....</b>	<b>74</b>
---------------------	-----------

<b>Introduction .....</b>	<b>74</b>
---------------------------	-----------

<b>Matériel et méthodes .....</b>	<b>76</b>
-----------------------------------	-----------

1. Matériel fongique .....	76
2. Matériel végétal.....	76
3. Test de virulence .....	77
a. Préparation de l'inoculum .....	77
b. Inoculation des graines .....	77
4. Calcul du pourcentage d'inhibition de la germination .....	78

<b>Résultats et Discussion.....</b>	<b>78</b>
-------------------------------------	-----------

1. Virulence de <i>Fusarium culmorum</i> .....	78
2. Virulence de <i>Fusarium avenaceum</i> .....	79
3. Virulence de <i>Microdochium nivale majus</i> .....	81

<b>Conclusion.....</b>	<b>82</b>
------------------------	-----------

**Chapitre 4: Etude du comportement de quatre variétés de blé dur et quatre variétés de blé tendre à l'inoculation artificielle du *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum* et *M. nivale majus* .....83**

<b>Résumé .....</b>	<b>84</b>
---------------------	-----------

<b>Introduction .....</b>	<b>84</b>
---------------------------	-----------

<b>Matériel et méthodes .....</b>	<b>86</b>
-----------------------------------	-----------

1. Matériel végétal.....	86
2. Matériel fongique .....	87
a. Espèces fongiques.....	87
b. Préparation de l'inoculum .....	87
c. Inoculation des graines .....	88
3. Matériel inerte .....	88

4. Dispositif expérimental .....	88
5. Irrigation et fertilisation .....	89
6. Stades de développement analysés.....	89
7. Analyses morphologiques .....	90
<b>Résultats.....</b>	<b>90</b>
1. Variétés de blé tendre .....	91
2. Variétés de blé dur.....	94
3. Analyses statistiques .....	98
<b>Discussion et conclusion.....</b>	<b>100</b>
<b>Chapitre 5: Evaluation d'un nouveau traitement des semences sur les paramètres de croissance et du rendement du blé.....</b>	<b>103</b>
<b>Résumé .....</b>	<b>104</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>104</b>
<b>Matériel et méthodes .....</b>	<b>106</b>
1. Lieu d'essai .....	106
2. Pesticides testés .....	108
3. Présentation des variétés .....	109
4. Protocole expérimental.....	110
a. Dispositif 1 .....	110
b. Dispositif 2 .....	110
5. Techniques culturales .....	111
a. Travail du sol.....	111
b. Semis .....	111
c. Fertilisation.....	112
d. Traitements chimiques.....	112
6. Paramètres de croissance analysés .....	113
7. Estimation du rendement.....	113
a. Méthodes des placettes .....	113
b. Estimation à la moissonneuse batteuse.....	114
8. Analyse statistique.....	114
<b>Résultats et Discussion.....</b>	<b>114</b>
1. Effet du traitement sur les paramètres de croissance du blé .....	114

2. Effet de l'interaction entre le traitement et le sol sur les paramètres de croissance du blé	117
a. Effet sur les paramètres de croissance étudiés.....	118
3. Effet du traitement sur le rendement en blé .....	122
b. Rendement estimé par la méthode des placettes .....	123
a. Rendement estimé à la moissonneuse batteuse .....	123
c. Comparaison du rendement dans les deux régions étudiées.....	124
<b>Conclusion.....</b>	<b>125</b>
<b>Conclusion générale et perspectives .....</b>	<b>127</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>132</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>153</b>



---

*Introduction générale et contexte  
bibliographique*

---



## Introduction Générale

---

En agriculture, les maladies fongiques sont l'une des contraintes les plus importantes pour la production de blé. Parmi ces maladies, la fusariose, qui est la plus dévastatrice, redoutée affecte les rendements mais aussi la qualité sanitaire de la récolte par la présence de toxines dans les graines.

Cette maladie, est provoquée par un complexe d'espèces de champignons phytopathogènes, le « complexe fusarien », à large spectre d'hôtes (Miedaner, 1996). Actuellement, la fusariose du blé est l'une des maladies les plus communes à travers le monde dans toutes les régions céréalières des zones tempérées (Turkington *et al.*, 2014). Elle regroupe les genres *Fusarium* et *Microdochium*, le genre *Fusarium* compte une vingtaine d'espèces, alors que le genre *Microdochium* n'enserme qu'une seule espèce. Certaines sont responsables de la fusariose du blé, telles que *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, et *F. avenaceum*, alors que d'autres sont citées comme des parasites secondaires ou de simples saprophytes comme *F. solani* ou *F. oxysporum* (Yli-Mattila, 2010; Pancaldi *et al.*, 2010; Stroi *et al.*, 2010; Trottet *et al.*, 2014; Ferrigo *et al.*, 2016).

Les espèces du genre *Fusarium* et *Microdochium* sont généralement des espèces saprophytes qui vivent normalement sur les débris organiques dans le sol mais quelques espèces peuvent être parasites de plusieurs plantes cultivées ou sauvages, dont les céréales comme le blé, l'orge, le maïs ou d'autres (Landschoot *et al.*, 2011; Turkington *et al.*, 2014). Cet inoculum primaire qui se trouve dans le sol peut être une source d'infection des semis en pré ou en post émergence.

Les plantules de blé infectées par ce champignon, présentent des pourritures racinaires qui peuvent donner la fonte des semis en cas d'une forte attaque. Alors que les plantes de blé infectées présentent des racines qui portent des lésions brunes plus ou moins importantes et le développement des espèces fusariennes se fait au niveau du système vasculaire (Lepoivre, 2003). Leurs épis sont blancs et leurs graines, sont chétives et de petite taille (Scherm *et al.*, 2013).

Au moment de la floraison des céréales, les spores des espèces fusariennes peuvent infecter les fleurs pour se développer dans les enveloppes externes, internes ou au niveau de l'embryon. Leur développement se fait au détriment des tissus de la fleur, qui évoluera par la suite en une graine infectée qui pourrait constituer un inoculum primaire. Les épis à maturité présentent le

symptôme de brûlure ou échaudage de l'épi (appelé aussi fusariose de l'épi) qui résulte d'une infection des tissus et du rachis de l'épi (Scherm *et al.*, 2013).

L'humidité relative de l'air et du sol, la température, la lumière et le précédent cultural sont des facteurs qui jouent un rôle important dans l'apparition et le développement de la fusariose (Champeil *et al.*, 2004; Leplat *et al.*, 2013). La presque totalité des espèces du genre *Fusarium* ont un potentiel toxigène dont la production des toxines constitue un risque pour la santé humaine et animale (EFSA, 2014). En effet, il existe des espèces dont la ou les mycotoxines jouent un rôle dans l'infection et l'établissement du pathogène sur le blé comme le cas de *F. graminearum* et *F. culmorum* mais d'autres espèces possèdent des spectres mycotoxinogènes qui leur sont propres et ne jouent aucun rôle dans la pathogénicité vis-à-vis de la plante (Lemmens *et al.*, 2004; Covarelli *et al.*, 2012; Trottet *et al.*, 2014; Ferrigo *et al.*, 2016). Les souches du genre *Microdochium* ne sont pas toxigènes (Nakajima et Naito 1995).

Au Maroc, la fusariose n'est pas considérée comme une maladie très importante pour les céréales, seule la maladie des pourritures racinaires est considérée comme maladie commune mais là encore, du point de vue importance, elle vient après d'autres maladies et ravageurs (El-Yousfi, 2015).

Dans ce contexte, notre présente étude a pour objectif, caractériser l'ensemble de la microflore responsable de la fusariose associée à la culture du blé dans notre territoire national, et aussi d'apprécier l'effet des espèces isolées sur les variétés de blé cultivées au Maroc. Pour cela cette thèse s'articule sur six objectifs clés autour de l'épidémiologie de cette maladie et qui feront l'objet de trois chapitres:

- ✚ Étudier l'état phytosanitaire des semences de blé et du blé collecté à l'état frais au Maroc.
- ✚ Isolement et identification microscopique des espèces de champignons responsables de la fusariose du blé au Maroc.
- ✚ Conception de cartes représentant les foyers de la fusariose au Maroc.
- ✚ Mise en place d'un programme PCR pour l'identification moléculaire des espèces de *Fusarium* et *Microdochium* isolées.
- ✚ Etudier la résistance des différentes variétés de blé aux espèces de *Fusarium* et *Microdochium* isolées.
- ✚ Evaluation de l'effet d'un nouveau traitement des semences sur les paramètres de croissance et du rendement du blé.

### I. Le blé

Le blé (genre *Triticum*, famille des Poacées), originaire de Mésopotamie, c'est une des plus anciennes cultures. Il y a 10 000 ans, le blé poussait à l'état sauvage et il fait partie aujourd'hui des trois céréales les plus importantes au monde avec le maïs et le riz. Les surfaces cultivées de blé dans le monde couvraient 221 millions d'hectares en 2011 (Boussac et *al.*, 2012) et, actuellement, près de 700 millions de tonnes de blé sont produites chaque année dans le monde qui font de lui la céréale la plus consommée par l'homme avec le riz.

#### 1. Caractéristiques génétiques du blé

Sur le plan génétique, le blé est un complexe de polyploïdie formé par plusieurs espèces de niveau de ploïdie différent, une conséquence de la fusion de génomes provenant de différentes espèces de la tribu des Triticeae. Ainsi, on peut trouver des espèces de blé diploïde ( $2n = 2 \times = 14$ , AA), tétraploïde ( $2n = 4 \times = 28$ , AABB) et hexaploïde ( $2n = 6 \times = 42$ , AABBDD) (Giménez et *al.*, 2015). Les cultivars de blé modernes appartiennent principalement à deux espèces: (1) blé panaché hexaploïde, *Triticum aestivum* ( $2n = 42$  chromosomes) et (2) tétraploïde, blé dur, *T.turgidum* ( $2n = 28$ ) (Nevo et *al.*, 2002). Le blé dur est donc un allotétraploïde (deux génomes: AABB) avec un total de 28 chromosomes ( $2n = 4x = 28$ ), contenant le complément diploïde complet des chromosomes de chacune de ses espèces progénitrices (Ranieri, 2015).

le blé présente une énorme variabilité génétique qui a permis le développement d'environ 25.000 cultivars différents (Giménez et *al.*, 2015; Nevo et *al.*, 2002). Le blé tendre hexaploïde (AABBDD) représente environ 95 % du blé cultivé d'aujourd'hui, alors que le blé dur représente presque les 5 % restants. La culture des blés diploïdes a été réduite à des terres marginales (Giménez et *al.*, 2015).

#### 2. Caractéristiques botaniques du blé

Le blé est une plante herbacée annuelle, monocotylédone, à feuilles alternes, formée d'un chaume portant un épi constitué de deux rangées d'épillets sessiles et aplatis. Les fleurs de cette plante sont nombreuses, petites et peu visibles. Elles sont groupées en épis situés à l'extrémité des chaumes. La fleur est cléistogame, c'est-à-dire qu'elle reste fermée, la pollinisation s'effectuant par autogamie qui est le mode de reproduction le plus fréquent chez les blés. C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscent (qui ne s'ouvre pas), appelé caryopse, constitué d'une graine (composée d'un embryon et d'un tissu de réserve constitué de 70%

d'amidon et 15% de gluten) et de téguments. Les principaux caractères des espèces de blé que l'homme a cherché à sélectionner sont : la robustesse de l'axe de l'épi (qui ne doit pas se casser lors de la récolte), la séparation facile des enveloppes du grain, la grande taille des grains et la compacité des épis (plus maniable que l'épi lâche), mais également la productivité et la résistance au froid ou aux maladies. (Dorothee Siou, 2013)

### **3. Cycle végétatif du blé**

Le cycle du blé (Figure 1) débute par la germination d'une graine après humidification. L'embryon n'a qu'un cotylédon (le blé est une monocotylédone) et la plantule comporte un coléorhize, qui donnera la racine, et un coléoptile, qui donnera l'axe feuillé. La levée commence quand la plantule sort de terre, le coléoptile forme un étui protégeant les premières feuilles. Il apparaît un renflement dans la partie supérieure du rhizome qui grossit et forme le plateau de tallage. Ensuite, le stade 3 feuilles est une phase repère pour le développement du blé ; c'est à partir de ce stade qu'il entre en vernalisation, mimée en conditions contrôlées par un passage en chambre climatique à 6°C pendant 6 à 8 semaines. Des bourgeons se forment à l'aisselle des feuilles et donnent des pousses appelées talles. Le tallage commence au début de l'hiver et se poursuit jusqu'à la reprise du printemps. Il est marqué par l'apparition d'une ou plusieurs tiges secondaires qui donneront chacune un nouvel épi. L'épi se développe au sommet du bourgeon terminal puis commence le stade de montaison correspondant à la montée de l'épi et à l'allongement des entre-nœuds. Enfin l'épiaison en mai, a lieu lorsque la gaine éclatée laisse entrevoir l'épi qui va s'en dégager peu à peu. À ce stade, le nombre total d'épis est défini, de même que le nombre total de fleurs par épi. La reproduction se fait par cléistogamie, ou autopollinisation automatique puisque les fleurs ne s'ouvrent pas. Chaque fleur peut potentiellement donner un grain, mais il est possible que certaines fleurs n'en donnent jamais, en raison d'un déficit de fécondation par exemple ou lorsque la fleur est colonisée précocement par des pathogènes qui vont empêcher la formation des grains et donc altérer le rendement. La floraison s'observe à partir du moment où quelques anthères sont visibles dans le tiers moyen de l'épi, elles entraînent l'ouverture des épillets et sortent en dehors des glumelles, laissant l'entrée possible aux agents pathogènes comme ceux responsables de la fusariose des épis. A leur sortie les anthères sont jaunes puis deviennent blanches après exposition au soleil. En conditions de culture au champ, le stade floraison correspond à 50% des épis fleuris.

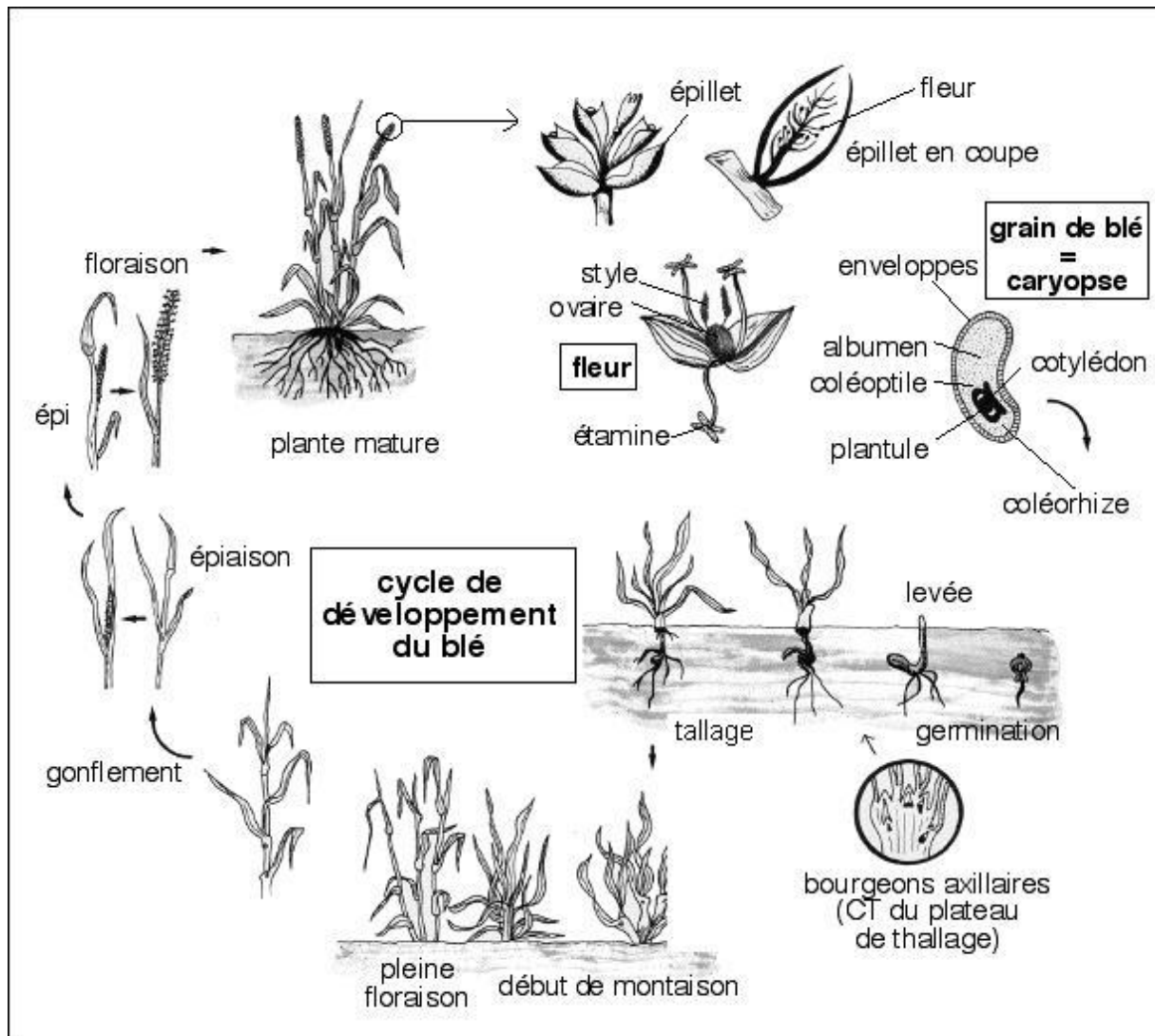


Figure 1: Schéma illustrant le cycle de développement du blé ([www.univ-lehavre.fr](http://www.univ-lehavre.fr)).

Environ 15 jours après la floraison, le blé commence à changer de couleur : il perd sa couleur verte pour tourner au jaune - doré. Le cycle s'achève par la maturation qui dure en moyenne 45 jours. Les grains vont progressivement se remplir et passer par différents stades tels que les stades laiteux, puis pâteux, au cours desquels la teneur en amidon augmente et le taux d'humidité diminue. Durant cette phase, les réserves migrent depuis les parties vertes jusqu'aux grains (Dorothee Siou, 2013).

#### 4. Importance à l'échelle mondiale

Le blé constitue la première ressource alimentaire pour l'humanité, en étant la principale source d'énergie et de protéines (Bonjean et Picard, 1990). La production mondiale du blé a connu une croissance notable durant les cinquante dernières années et s'élève pour la campagne 2010-2011 à 691,5 millions de tonnes soit trois fois plus que celle de la campagne 1960-1961 (Figure 2).

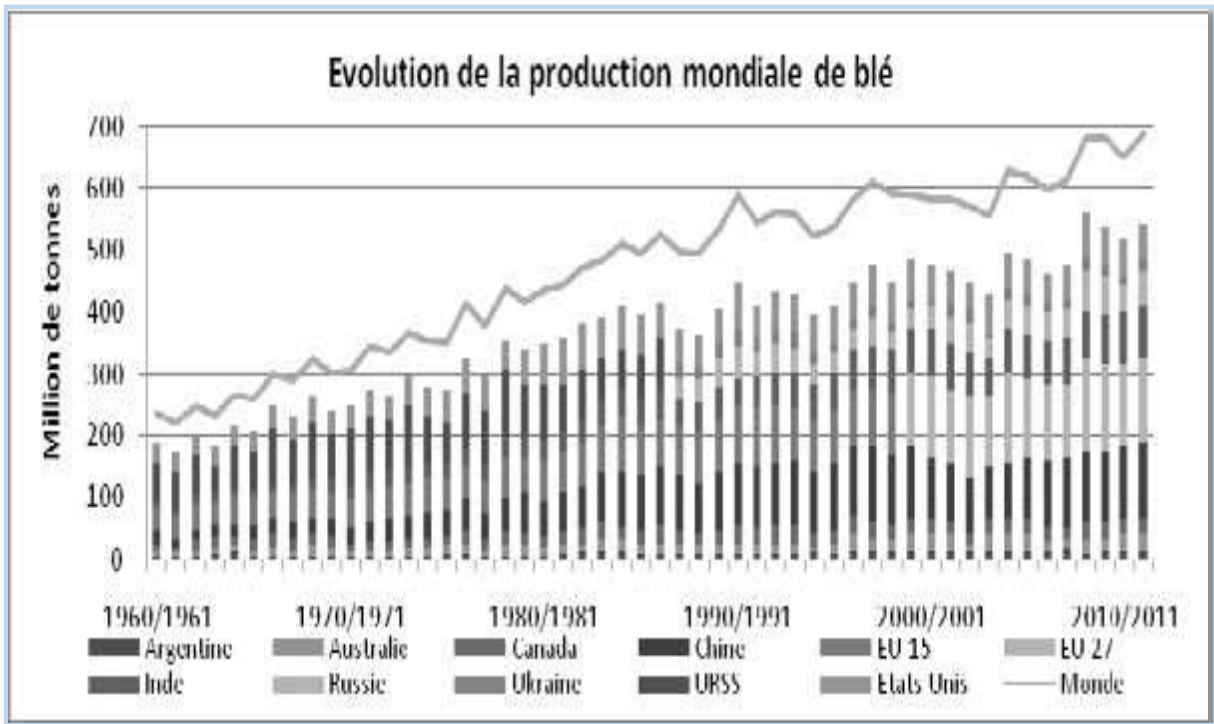


Figure 2: Evolution de la production mondiale de blé (Anonyme, 2012).

Cette hausse de la production de blé est principalement due à une augmentation constante des rendements à l'hectare (multiplié par 2,8 sur les cinquante dernières années) plutôt qu'à une augmentation des surfaces mondiales cultivées en blé.

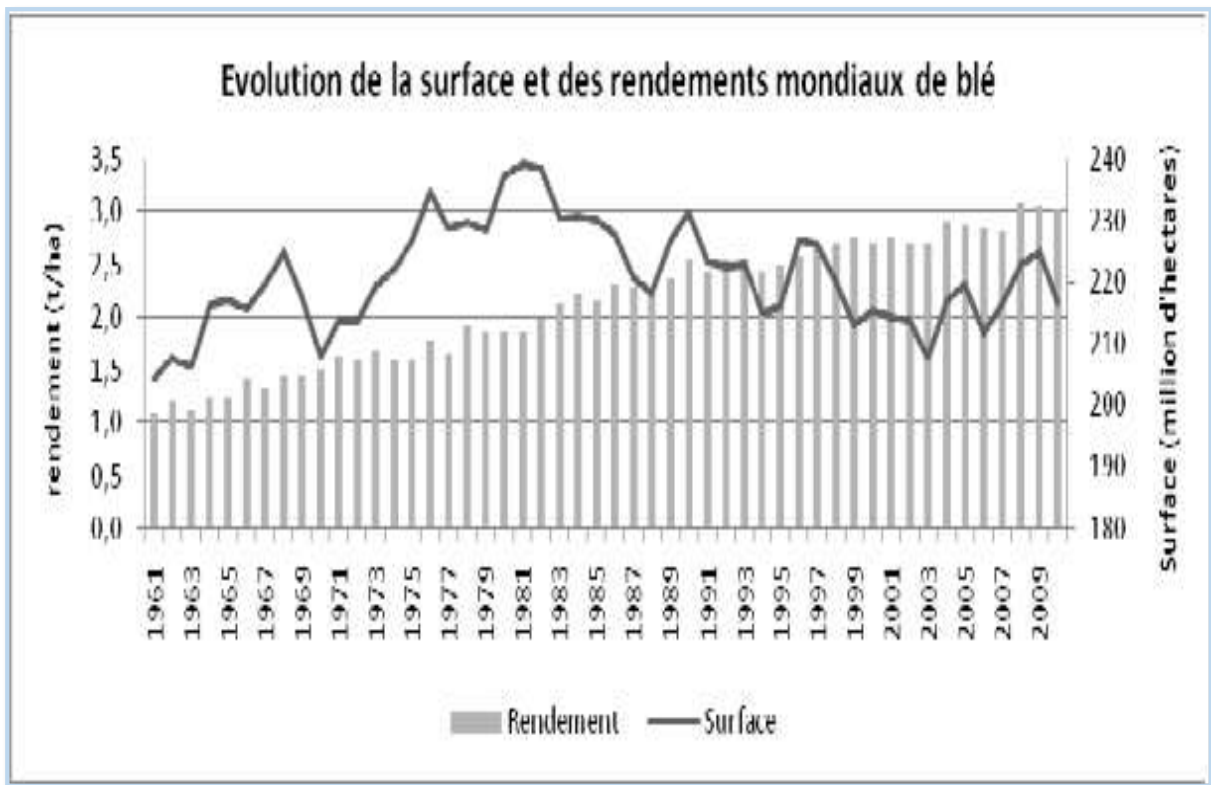


Figure 3: Evolution de la surface et des rendements du blé à l'échelle mondiale (Anonyme, 2012).

En effet, cette surface, après avoir connu une augmentation jusqu'en 1981 (239,2 millions d'hectares de blé), n'a pas cessé de diminuer pour atteindre 216,8 millions d'hectares en 2010 (Figure 2) (Terrones et Burny, 2012).

### 5. Importance du blé à l'échelle nationale

La filière céréalière constitue une des principales filières de la production agricole au Maroc. Elle joue un rôle multiple en ce qui concerne les emblavements annuels cultivables, la formation du Produit Intérieur Brut agricole (PIB), l'emploi dans le milieu rural et l'utilisation des capacités de transformation industrielles (Aït el mekki, 2006).

Le blé représente la première spéculation au Maroc. Cette place est révélée par l'importance des superficies qu'il couvre (Figure 4).

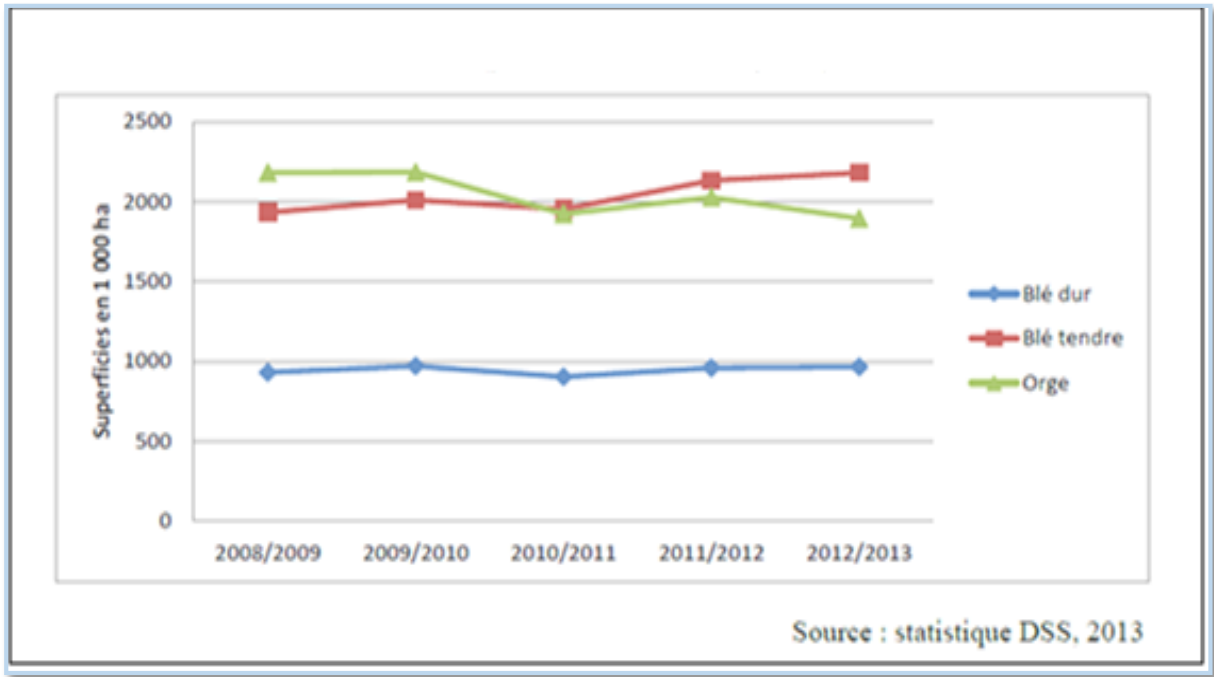


Figure 4: Evolution de la surface cultivée en blé tendre au Maroc (Anonyme, 2013).

La production céréalière atteint un peu plus de 58 millions de quintaux avec une prédominance du blé tendre qui occupe 42% de la production totale (figure 5).

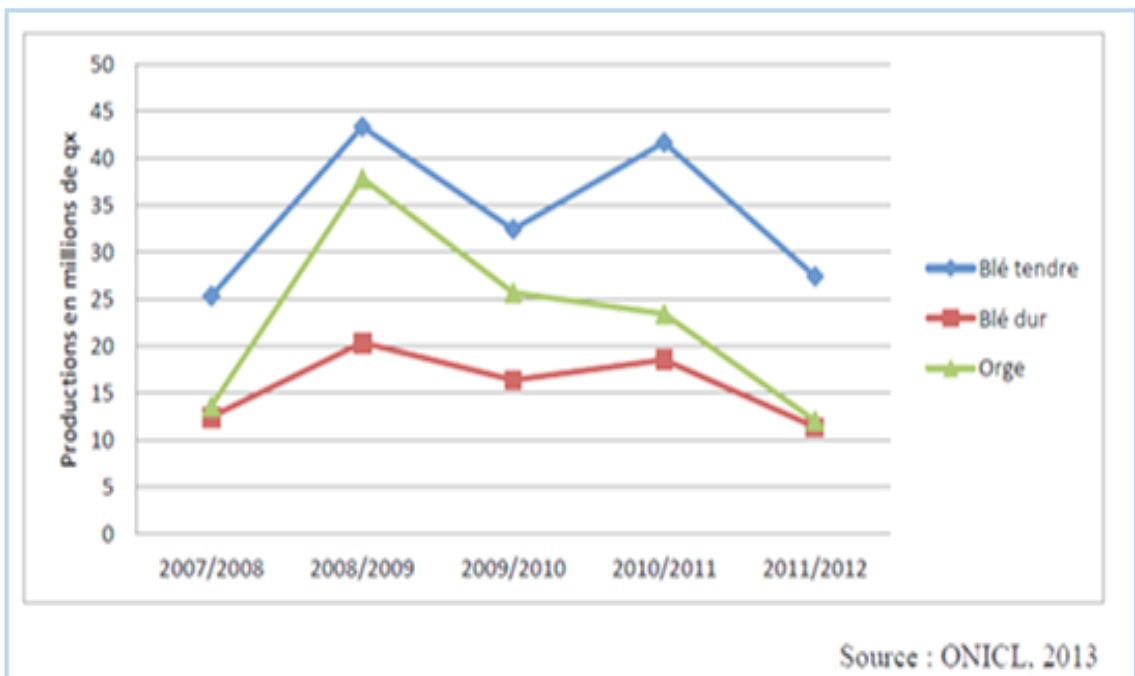


Figure 5: Evolution annuelle des productions des principales céréales au Maroc (Anonyme, 2013).



## II. Généralités sur les maladies du blé

Les maladies cryptogamiques constituent une contrainte majeure à la production du blé (Eriksson, 1914). Les maladies les plus importantes au Maroc sont :

- La septoriose : c'est une maladie qui attaque principalement le blé depuis le stade de la germination jusqu'à celui de la maturité. Dans certaines circonstances, elle cause des dégâts non seulement au niveau des feuilles (*Septoriatritici* Robbins) mais aussi sur les épis (*Septorianodorum* Berk.). Selon Eyal (1981) les deux espèces peuvent réduire le rendement de 31 à 53 %.
- La rouille : 3 espèces de rouilles s'attaquent au blé à savoir la rouille noire (*Puccinia graminis* Persoon), la rouille brune (*Puccinia recondita* Roberge) et la rouille jaune (*Puccinia striiformis* Westendorp). Concernant leurs importances relatives, la rouille brune est la plus répandue dans sa distribution, alors que la rouille noire est la plus dévastatrice, mais la rouille jaune est limitée au climat tempéré froid et aux zones d'altitudes (Ezzahiri, 2001). La perte de rendement peut atteindre 25%.
- La carie : cette maladie dont l'agent causal est *Telletiatritici* (Bjerk.) G. Winter. attaque les grains au moment du remplissage en les transformant en une masse poudreuse noirâtre (Eriksson, 1914). Les incidences peuvent atteindre 50% d'épis cariés (Sayoud et al., 1999).
- La fusariose : La fusariose de blé est une maladie qui peut être associée à la fois à de fortes pertes de rendement, une réduction de leur qualité germinative ou encore une diminution de leur qualité par la présence de toxines dans les grains (Horsfall et dimond, 1960).
- Par rapport aux maladies citées précédemment, la fusariose est une maladie responsable d'importants dégâts, mais malheureusement les études qui ont été réalisées au Maroc ne sont pas suffisantes pour limiter les pertes causées par le champignon.

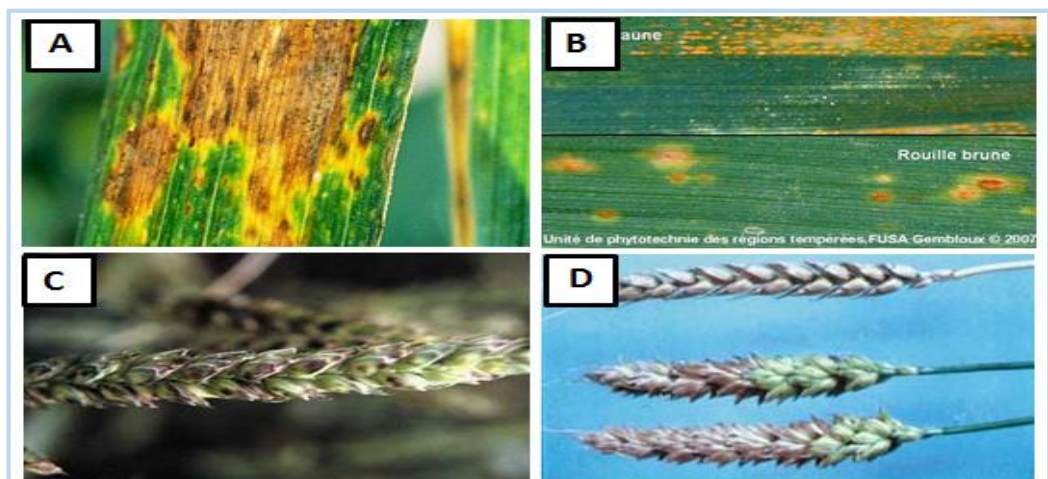


Figure 6: Septoriose (A), rouille jaune (B), carie (C), fusariose (D) (Martin, 2004).

### III. Fusariose du blé

La fusariose a été décrite pour la première fois par Smith en 1884 et nommée « gale du blé » « wheatscab », terme modifié en 1920 par ATANASOFF en « maladie de *Fusarium* », « *Fusarium* blight », puis « fusariose » par Douin en 1926 (Leonard et Bushnell, 2003). L'importance économique de la fusariose est attribuée aux pertes de rendements considérables (avortement des fleurs, diminution du nombre et du poids des grains) et à l'altération de la qualité des grains (Pirgozliev *et al.*, 2003) ce qui a des conséquences néfastes, lors des processus des transformations industrielles des grains.

#### 1. Complexe fusarien

La fusariose est associée à un complexe d'espèces regroupant deux genres de champignons phytopathogènes, *Fusarium* et *Microdochium* (Arseniuk *et al.*, 1999). Ces deux genres regroupent des espèces capables d'induire la fusariose du blé (Liddell, 2003).

##### a. Genre *Fusarium*

La première et véritable description du genre *Fusarium* a été réalisée par LINK en 1809 (Leslie et Summerell, 2006). Il appartient à la division des Ascomycètes et à la famille des Nectriacées. Il doit son nom du latin *fusus* (fuseau) en rapport à la forme de ses macroconidies fusiformes et cloisonnée. D'après Nelson *et al.* (1983), de nombreuses espèces appartenant à ce genre ont été identifiées dans la nature et capables d'induire la fusariose sur blé.

Tableau 3: Espèces de *Fusarium* capables d'induire la fusariose sur blé (Nelson *et al.*, 1983).

Espèces de <i>Fusarium</i>	
<i>Fusarium graminearum</i> Schwabe ;	<i>Fusarium tricinctum</i> (Corda) Saccardo;
<i>Fusarium culmorum</i> (W. G. Smith) Saccardo ;	<i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherbakoff ;
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fries) Saccardo ;	<i>Fusarium sambucinum</i> Fückelsensu strict ;
<i>Fusarium poae</i> (Peck) Wollenweber;	<i>Fusarium verticillioides</i> (Saccardo) Nirenberg ;
<i>Fusarium pseudo graminearum</i> Aoki&O'Donnell ;	<i>Fusarium hétérosporum</i> Nees ex Fries ;
<i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Saccardo ;	<i>Fusarium subglutinans</i> Wollenweber & Reinking ;
<i>Fusarium crookwellense</i> Nelson & Toussoun ;	<i>Fusarium oxysporum</i> Snyder & Hansen.

Parmi les espèces de ce genre, on compte principalement quatre espèces qui sont les plus pathogènes et les plus communes induisant des sérieux dégâts sur la culture du blé. Il s'agit de *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* et *F. poae* (Parry et al., 1995).

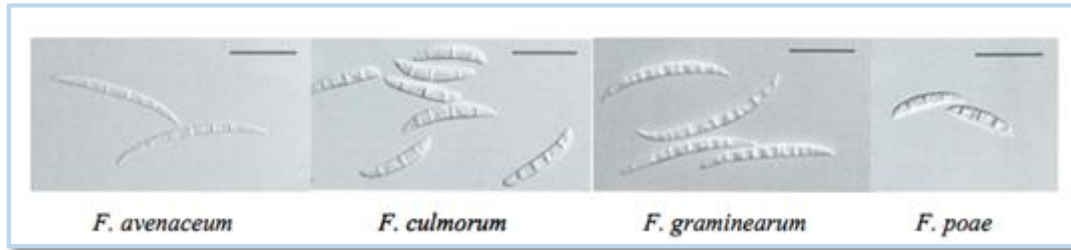


Figure 7: Spores de *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae* Peck (Leslie et Summerell, 2006). (Échelle: 25 µm)

Les champignons du genre *Fusarium* sont capables de produire des métabolites secondaires toxiques, les mycotoxines, dont la présence augmente l'incidence de la maladie sur les productions agricoles (Leslie et Summerell, 2006).

#### **b. Genre *Microdochium***

Il appartient à la famille des Tuberculariacées et regroupe une seule espèce, *Microdochium nivale*. Cette espèce se compose de deux sous espèces : *Microdochium nivale nivale* et *Microdochium nivale majus* (Glynn et al., 2005). Elles provoquent les mêmes symptômes sur épi que *Fusarium* ainsi que des symptômes sur feuilles, elles sont aussi responsable de fonte de semis, fréquemment identifiés dans les céréales à petits grains et, si les semences sont infectées de manière significative, ils provoquent une mauvaise germination et une mauvaise installation des cultures, entraînant des pertes de rendement importantes (Parry et al., 1995) Les sous espèces de ce genre sont jugées incapables de produire des mycotoxines (Logrieco et al., 1991).

### **2. Symptômes de la maladie de fusariose**

La fusariose est imputée à différents types de maladies qui sont : la pourriture racinaire, la pourriture du collet, et la fusariose de l'épi. Lorsque les conditions climatiques sont favorables, la fusariose peut attaquer à tous les stades de développement et tous les organes de la plante, depuis les racines jusqu'aux épis. Le terme "fusariose" des céréales regroupe trois types de symptômes (Parry et al., 1995) :

- "Seed ling Blight" : Fusariose des semences, provoquent des manques à la levée et des fontes des semis ;
- "Foot Rot" : Fusariose du collet, entraînant la nécrose de ces tissus ;
- "Head Blight" : Fusariose de l'épi.

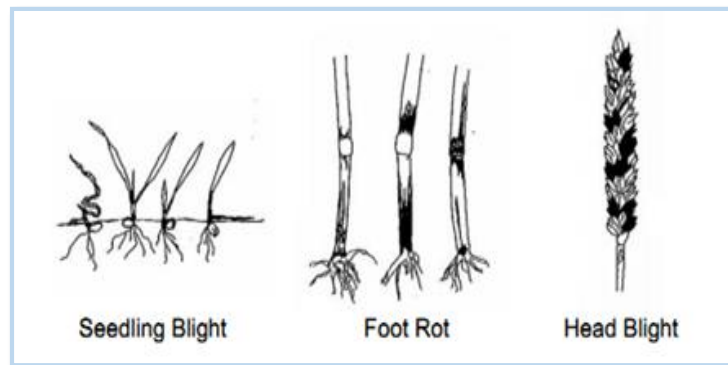


Figure 6: Types de fusariose (PARRY et *al.*, 1995)

Les symptômes des fusarioses des épis sont diversifiés: dessèchement des glumes avec un liseré brun, épillets échaudés, dans le champ ils se manifestent par un blanchiment prématuré d'une partie ou de la totalité de l'épi Les premiers symptômes apparaissent souvent au centre de l'épi d'où ils progressent ensuite vers le haut et vers le bas. La maladie se développe et se propage parfois très rapidement et peut affecter la totalité de l'épi. Une coloration allant de rose à orange saumoné peut apparaître sur les épillets infectés, surtout lors de périodes d'humidité prolongées. De petits organes de fructification noirs produits par le champignon peuvent apparaître tard dans la (Figure 9).

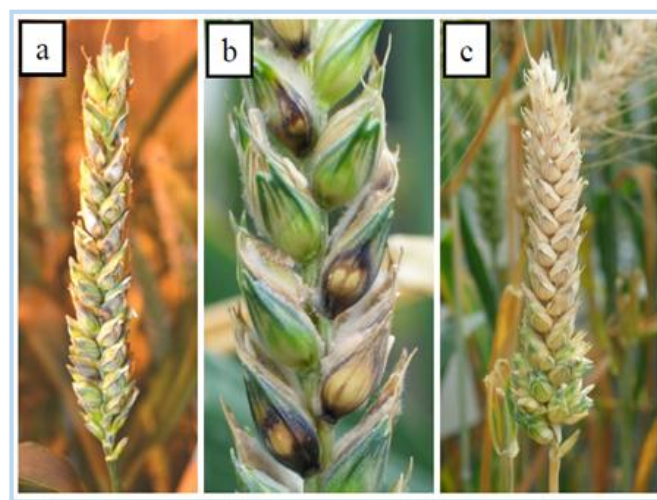


Figure 7: Epis de blé fusariés présentant des nécroses (a, b, c) (Caron, 1993).

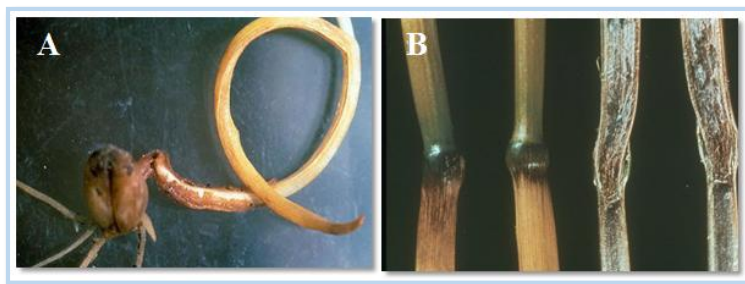


Figure 8: A, Semence infectée et mal germée. B, Symptômes sur collet (Martin, 2004).

Les racines se nécrosent et meurent. Le coléoptile porteur de lésions s'enroule sur lui-même (Figure 10). Le système racinaire se réduit, le collet prend une couleur brune et la plante s'affaiblit.



Figure 9: Grains de blé sains (à gauche) et fusariés (à droite) (Caron, 1993).

Les grains fusariés du blé sont petits, légers, ridés et parfois couverts d'un duvet blanc ou rose (Figure 11). Si l'infection est plus tardive, les grains peuvent être de taille normale mais ils se décolorent en rose (Champeil et *al.*, 2004).

### 3. Distribution géographique

La fusariose est une maladie des céréales dites "à petits grains" que l'on retrouve partout dans le monde (Parry et *al.*, 1995). C'est une maladie dévastatrice affectant toutes les catégories ou espèces de blé (*Triticum* spp.) et d'autres céréales à petits grains comme l'orge (*Hordeum vulgare*), l'avoine (*Avena sativa*), le seigle (*Secale cereale*) et le triticale (x *Triticosecale*) (McMullen et *al.*, 1997). La distribution et la prédominance de ces espèces pathogènes sont, pour une grande part, déterminées par l'espèce céréalière, la région et les conditions

climatiques. Aux Etats-Unis, *F.graminearum* est l'espèce prédominante responsable de l'épidémie, de même qu'en Chine et en Nouvelle Zélande (Waalwijk et al., 2003).

#### **4. Importance économique**

##### **c. Effet sur le rendement**

La fusariose a suscité de l'intérêt à cause de ses répercussions sur les plantes cultivées. Elle peut entraîner jusqu'à 50 % de perte du rendement (Parry et al., 1995). Après inoculation d'épis du blé par *F. culmorum*, Häni (1981) a observé des pertes de rendement de 60%. Des études menées au champ par ARSENIUK et al. (1999) avec du blé artificiellement infecté, ont montré que le poids de 1000 grains (PMG), le nombre de grains par épi et le poids moyen des épis ont été réduits de 15%, 18% et 22% respectivement pour quatre variétés. Par ailleurs, Surma et al., (2000) ont observé des réductions significatives du nombre de grains par épi (4 à 31 %) ainsi que le PMG (14 à 31 %) après inoculation de l'orge par *F. culmorum*.

##### **a. Effet sur la qualité des semences**

La fusariose provoque une dislocation des particules d'amidon, des protéines ainsi que la paroi cellulaire des semences infectées par le champignon (Parry et al., 1995). L'altération des semences engendre une baisse de la germination et les rend plus chétives (Bechtel et al., 1985).

##### **b. Effet sur la qualité des grains récoltés**

Les grains fusariés sont déclassés sur la base de leur teneur en mycotoxines. Ces dernières entraînent une dégradation de la qualité sanitaire des grains provoquant ainsi une altération de la production d'enzymes nécessaires à leur transformation. Les niveaux de mycotoxines produites par *Fusarium* spp. ne changent pas après la récolte par les procédés de transformation. Elles restent chimiquement et thermiquement stables, et peuvent être trouvées dans les produits transformés (farine, pain) voire dans les viandes, lait ou œufs des animaux nourris avec des grains contaminés (Bakan, 1998).

#### **5. Etude épidémiologique de la maladie**

##### **a. Impact du climat sur le complexe d'espèces**

Les espèces responsables de la fusariose constituent le complexe pathogène responsable de plusieurs dégâts sur la culture du blé. Cette maladie peut varier d'une année à l'autre et d'une région à l'autre, notamment en fonction du climat et de la variété de blé (Scott, 1998). En effet, le climat contrôle partiellement la concurrence entre les différentes espèces. Ainsi, à la floraison, le développement de *Microdochium* est favorisé par les basses températures et les

précipitations, alors que celle de *Fusarium* est favorisée par les températures élevées et les tempêtes (Caron, 2000). *F. graminearum* est généralement le *Fusarium* prédominant dans les régions plus chaudes, alors que les espèces prédominantes dans les régions plus froides sont *F. culmorum*, *F. avenaceum* et *M. nivale* (Cromey, 2002). De plus, au printemps (avant l'épiaison), la sécheresse favorise l'apparition de symptômes d'infection à *F. graminearum* et *F. culmorum* à la base de la plante, aux dépens des autres espèces de *Fusarium* (Caron, 2000).

### **b. Sources d'inoculum**

Plusieurs réservoirs du complexe parasite responsable de la fusariose sont connus. Le principal réservoir d'inoculum est les débris de la récolte précédente (Bai, et *al.*, 1994). Toutes les espèces de *Fusarium* et *Microdochium* peuvent survivre sous forme de saprophytes. Cependant, ces derniers survivent plus longtemps sur les résidus qui ne se dégradent pas facilement, tels que les nœuds de la tige, aussi que sur des plantes cultivées et / ou des mauvaises herbes. (Sutton, 1982).

Les graines sont l'autre source majeure d'inoculum, qui permettent à la maladie de débiter à l'automne dans le cas des graines contaminés par du mycélium (Cassini, 1970).

Le sol contaminé peut aussi être une source d'inoculum. Les infections transmises par le sol se développent moins rapidement que les infections transmises par les semences infectées, résultant des attaques touchant essentiellement le collet, les parties supérieures des racines. L'humidité du sol, en particulier en hiver, diminue le taux de survie des agents pathogènes (Sutton, 1982).

La feuille de drapeau est le principal site de production de spores et source d'infection de l'oreille dans la plante (Ahrens, et *al.*, 1984).

### **c. Production et maturation de l'inoculum**

En hiver, les champignons survivent sous forme de chlamydospores, mycélium ou propagules (Sutton, 1982). La sporulation, qui implique la production de divers types de spores, se produit au cours de deux périodes (Cassini, 1967).

Quatre types d'inoculum asexué peuvent être produits, selon l'espèce concernée: les macroconidies, microconidies, chlamydospores et fragments hyphaux, la taille et la forme dépendent de l'espèce de l'agent pathogène (Messiaen, et *al.*, 1968). Les macroconidies de *F. graminearum* peuvent contenir un jusqu'à sept septa, le plus souvent trois à sept, et mesure 20–

105 µm de long (la plupart du temps 35–62 µm) et 2–56 µm en largeur (Sutton, 1982), et peuvent être disponible pendant tout le cycle de culture (Caron, 1993).

D'après (Caron, 1993) les spores sexuelles, connues sous le nom des ascospores, peuvent également être produites par les organes reproducteurs appelés périthèces. Seulement trois espèces semblent être capables de produire ascospores à l'état naturel: *M. nivale*, *F. graminearum* et *F. avenaceum*. Ces trois espèces produisent des ascospores de taille et de forme similaires. Ils ont généralement trois septa, leur maturation est longue et la contamination ne peut donc pas se produire avant l'apparition des oreilles.

#### **d. Dispersion de l'inoculum**

L'inoculum est dispersé par divers vecteurs. Les acariens transportent les spores de *F. poae*. Les insectes notamment *Musca domestica* (mouche domestique), *Hypera punctata* (charançon du trèfle) et *Melanoplus bivittatus* qui parasitent certaines espèces de *Fusarium*, *F. avenaceum*, *F. culmorum* et *F. poae*. (Gordon, 1959).

La possibilité de dispersion d'inoculum par la voie foliaire a longtemps été débattue, après avoir coupé le pédoncule d'un épi de blé en segments, Atanasoff 1920 a observé *F. graminearum* dans les segments proches de l'oreille mais pas dans ceux près de la feuille de drapeau. Après inoculation de la base de la tige de blé, seulement 3% des plantes présentent une colonisation au-delà du deuxième nœud et aucun champignon n'est détecté au-delà le cinquième nœud (Clement, et al., 1998). Dans une autre étude le dessus des plantes produit à partir de graines inoculées avec *M. nivale* présenté un nombre similaire de périthèces à celui de plantes issues de graines saines, même si les plantes issues de graines contaminées avaient plus de périthèces à la base de la tige (Millar, et al., 1969).

La dispersion par contact de feuille à feuille semble également probable, car l'agent pathogène (*Microdochium* et *Fusarium*) se trouve sur les feuilles (Daamen, et al., 1991).

La contamination aérienne par les ascospores et les conidies peut être la principale source de contamination des oreilles (Atanasoff, 1920). Ce type de contamination a été étudié par de nombreux groupes et implique deux modes de dispersion possibles: les éclaboussures et le vent (Mullen, et al., 1997). L'importance relative de ces deux modes de dispersion dépend du climat, de l'espèce constituant le complexe pathogène dans l'année, la région étudiées et la capacité de ces espèces à produire des ascospores. Les éclaboussures transportent les spores, les



macroconidies en particulier, ces derniers sont trop lourdes pour être transportés par le vent (Gilbert, et *al.*, 2000).

Millar et Colhoun en 1969 ont réussi à piéger des conidies que lors de conditions de pluie simulées, alors que Fernando et *al.* en 2000 ont observé un pic de libération de macroconidies *F. graminearum* dans l'air 1 à 2 jours après les précipitations consécutives à une longue période de sécheresse. Ces deux études démontrent le rôle majeur joué par les précipitations dans la dispersion des spores.

Malgré l'importance de l'humidité, des études sur *Fusarium moniliforme* (Bandyopadhyay, 1991) et *F. graminearum* (Fernando et *al.*, 2000) ont montré que la libération d'ascospores n'est pas directement liée aux précipitations. En effet, la libération des ascospores atteint son maximum 1 à 4 jours après précipitations d'au moins 5 mm ou humidité relative supérieure à 80% (Paulitz, 1996).

#### **e. Incubation et sporulation**



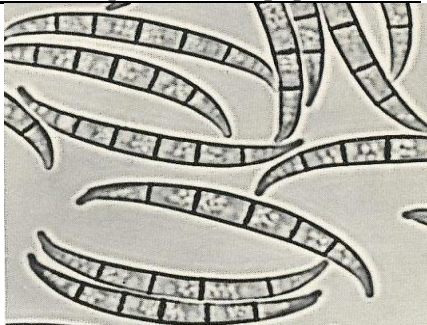





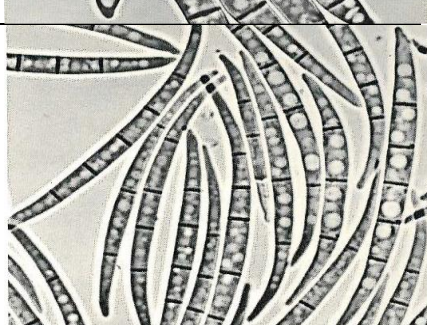


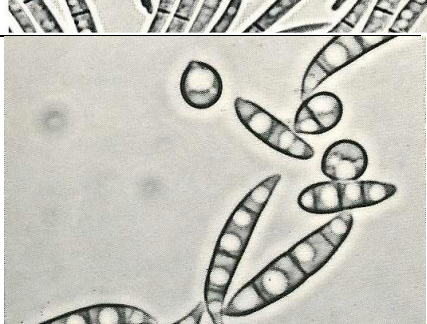


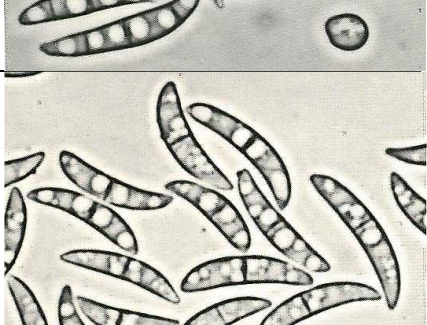
Les conidies se développent à la surface des épillets et du rachis dans des conditions climatiques humides. La durée de la période d'incubation requise diminue avec l'augmentation de l'humidité. Dans des conditions d'humidité saturante, la durée d'incubation requise pour l'apparition macroconidies de *F. culmorum* et *F. graminearum* sur le l'oreille était de 12 jours à 14 ° C, moins de 5 jours à 20 ° C et moins de 3 jours entre 25 et 30 C. Plus de spores sont formé après une longue période d'humidité élevée. Cela peut alors entraîner l'infection de cultures ultérieures, telles que le maïs (Sutton, 1982 et Caron, 1993).

### **6. Morphologie macroscopique et microscopique**

#### **a. Morphologie macroscopique**

Sur gélose à 25 °C, *Fusarium* spp. se développe rapidement et produit des colonies plates de texture laineuse à cotonneuse; ces colonies ont tendance à s'étaler. En surface, la colonie peut être blanche, crème, brun clair, saumon, cannelle, jaune, rouge, violette, rose, ou pourpre. Le revers de la colonie peut être incolore, brun clair, rouge foncé, pourpre ou brun (Tableau 2 et Figure 12).

Tableau 2: Eléments caractéristiques de quelques espèces de *Fusarium* et *Microdochium nivale* isolés (Nelson et al., 1983).

Espèces de <i>Fusarium</i>	Aspect sur SNA		Aspect microscopique
<i>F. graminearum</i>			
<i>F. culmorum</i>			
<i>F. avenaceum</i>			
<i>F. poae</i>			
<i>M. nivale</i>			

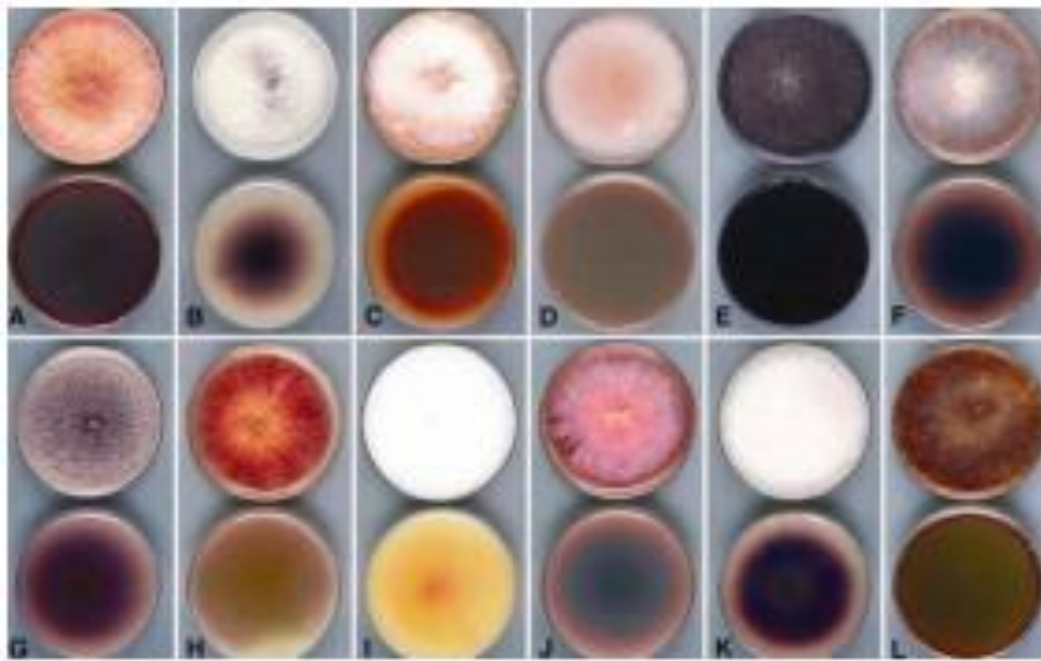


Figure 12: Morphologie recto-verso d'espèces de *Fusarium* sur PDA (Summerell et al., 2003)

A, *F. poae*. B, *F. oxysporum*. C, *F. acuminatum*. D, *F. nelsonii*. E, *F. subglutinans*. F, *F. nygamai*. G, *F. pseudonygamai*. H, *F. lateritium*. I, *F. thapsinum*. J, *F. decemcellulare*. K, *F. verticillioides*. L, *F. culmorum*

### b. Morphologie microscopique

Sous microscope les espèces responsables de la fusariose se présentent sous différentes formes (Leslie et al., 2003):

- Chaînette (microconidies en -) : se dit du regroupement en chaîne de microconidies (conidies les unes sous les autres) produites de façon basifuge par une phialide et provenant d'un même pore.

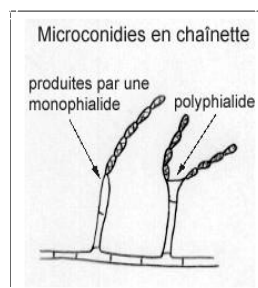


Figure 13: Microconidies en chaînette.



- Chlamydospore : forme de repos, de résistance, très fréquente chez les champignons, constituée de portions d'hyphes où le cytoplasme s'est condensé et généralement entouré d'une paroi épaisse et mélanisée.

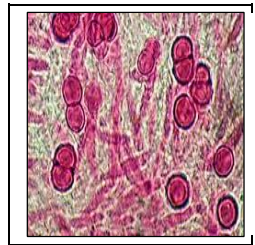


Figure 14: Chlamydospores surface rugueuse. De *F. equiseti*.

- Conidiophore : structure, simple ou ramifiée, située entre l'hyphes végétative et les conidies, formée par la (les) cellule(s)-mère(s) (phialides), l'hyphes fertile et ses ramifications éventuelles.



Figure 15: Conidiophore simple et ramifié.

- Fausse tête (microconidies en -) : se dit du regroupement en amas de microconidies produites par une phialide et provenant d'un même pore. Les microconidies en fausse tête peuvent ou non être incluses dans une gouttelette.

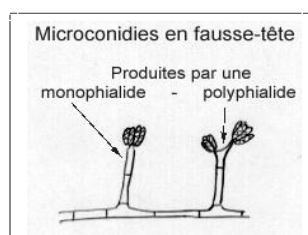


Figure 16: Microconidies en fausse-tête.

- Macroconidie : dans le cas où deux formes conidiennes coexistent chez un deutéromycète, les conidies les plus grosses (souvent cloisonnées) sont les macroconidies. On distinguera les macroconidies produites dans le mycélium aérien, de forme et de taille hétérogènes des macroconidies produites en sporodochium, de taille et de forme homogènes, et souvent de forme typique de l'espèce de *Fusarium* spp..

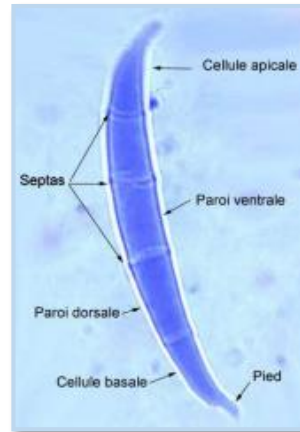


Figure 17: Macroconidie produite en sporodochium de *F. graminearum*

- Microconidie : dans le cas où deux formes conidiennes coexistent chez un deutéromycète, les conidies les plus petites sont les microconidies. Certains auteurs donnent le nom de microconidies aux conidies produites dans le mycélium aérien, quelles que soient leur taille et leur cloisonnement.
- Napiforme : en forme de goutte d'eau, globuleux à papille (*F. poae*)
- Phialide : cellule-mère produisant des conidies de façon entéroblastique (par bourgeonnement avec continuité entre la couche interne de la cellule-mère et la paroi conidienne) sans allongement lors des conidiogénèses successives. On distingue : monophialide, phialide ne présentant qu'un unique pore par lequel est produite la ou les conidies et Polyphialide : phialide présentant plusieurs pores par lesquels sont produites une ou plusieurs conidies. A ne pas confondre avec un conidiophore ramifié à monophialide.

Le tableau ci-dessous donne un aperçu des caractéristiques microscopiques de cinq principales espèces responsable de la fusariose du blé dans le monde.

Tableau 3: Description microscopique des principales espèces de Fusarium (Nelson *et al.*, 1983).

7.

<i>Espèces</i>	<i>Descriptions</i>
<i>F. graminearum</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microconidies absentes et macroconidies nettement cloisonnées ; à parois épaisses, droites à modérément en forme de faucille ; Mycélium aérien dense, jaune à bronzé ; forme parfaite : <i>Gibberellazeae</i>Schw.</li> </ul>
<i>F. culmorum</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microconidies absentes ; Macroconidies sont robustes, nettement cloisonnées, à parois épaisses ; Chlamydospores abondantes en chaînes ou en touffes ; Mycélium aérien dense, généralement de couleur blanche, mais souvent jaune à bronzé vers la base de la pente ; la surface inférieure est de couleur rouge ; forme parfaite : non connue.</li> </ul>
<i>F. avenaceum</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microconidies généralement rares, très long, mince et à paroi mince, avec une cellule apicale qui est allongé et peut être plié ; Mycélium aérien est dense blanc mais varie souvent en couleur de l'ocre au brun rougeâtre ; forme parfaite : <i>Gibberellaavenacea</i> Cook</li> </ul>
<i>F. poae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microconidies abondantes, globuleuses ou ovales ; Macroconidies sont rares, généralement en forme de faucille ; Chlamydospores sont rares et peuvent être en bouquets ou en chaînes ; Mycélium aérien dense qui est blanc à rose ; forme parfaite : non connue.</li> </ul>
<i>M. nivale nivale</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microconidies absentes et macroconidies petites avec 1 à 3 septes, de forme courbée ; La cellule basale peut être entaillée mais n'est jamais en forme de pied ; conidiophores à monophialides ramifiés ; Croissance mycélienne relativement lente ; mycélium aérien feutré ; la colonie est blanc au début et devient rose à orange par la suite ; forme parfaite : <i>Monographellanivalis</i>(Schaffnit) Müller.</li> </ul>

## IV. Mycotoxines

### 1. Définition, étymologie et principes généraux

Les intoxications dues à la consommation d'aliments contaminés sont un problème récurrent dans le monde entier. Le principal facteur contribuant à la contamination sont les micro-organismes, en particulier les champignons, qui produisent des composés de faible poids moléculaire en tant que métabolites secondaires, avec des propriétés toxiques confirmées appelées mycotoxines. Le mot mycotoxine est dérivé de 2 mots: "mukes" se référant à "champignons" (grec) et "toxicum" se référant à "poison" (latin). Plusieurs mycotoxines

signalées à ce jour sont cosmopolites et comportent de graves risques pour la santé, y compris le cancer et les troubles neurologiques (Bhat *et al.*, 2010).

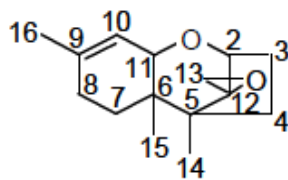
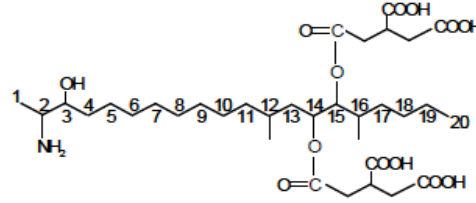
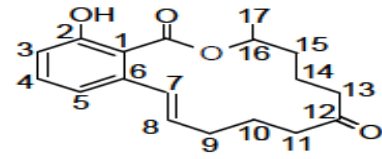
Les mycotoxines sont des métabolites secondaires synthétisés par des champignons filamenteux parmi lesquels les genres principaux sont *Aspergillus*, *Penicilium*, *Fusarium*, *Alternaria* et *Claviceps* (Steyn, 1995 et prandini *et al.*, 2007). Les mycotoxines peuvent être produites avant la récolte dans les épis et donc retrouvées dans les grains, pendant le transport et le stockage des céréales. Elles diffusent dans le substrat qu'elles contaminent même après la destruction du champignon responsable de leur production.

Elles sont souvent actives à très faibles doses, thermostables, stables dans le temps et résistantes aux traitements biologiques et aux processus de transformation. Ainsi, lorsqu'elles sont présentes dans le grain, on les retrouve tout au long de la chaîne alimentaire.

## 2. Mycotoxines produites par les espèces de *Fusarium*

Les espèces de *Fusarium* produisent différents types de mycotoxines à savoir les trichothécènes, les fumonisines et la zéaralénone (Placinta *et al.*, 1999). Le tableau 4 montre les différentes mycotoxines produites par le complexe fusarien et leurs activités biologiques.

Tableau 4: Les différentes mycotoxines produites par *Fusarium* spp. et leurs activités biologiques.

Mycotoxine	Structure chimique	Activité biologique	Références
Trichothécènes		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Immunosuppresseur</li> <li>• L'inhibition de la biosynthèse des protéines</li> <li>• Cytotoxicité</li> <li>• Vomissements</li> </ul>	Bennett et klich 2003. Marasas <i>et al.</i> , 1984. Tag <i>et al.</i> , 2001.
Fumonisinés		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Neuro-hépatotoxique et néphrotoxique</li> <li>• Cancer du foie chez les rats</li> <li>• Œdème pulmonaire chez les porcs</li> </ul>	Gelderblom <i>et al.</i> , 1988. Harrison <i>et al.</i> , 1990. Haschek <i>et al.</i> , 2001. Kellerman <i>et al.</i> , 1990.
Zéaralénones		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Effet oestrogénique: Troubles de la reproduction, des agrandissements pathogènes de l'utérus et de la vulve, ainsi que la mort de fœtus chez les porcs</li> </ul>	Hagler <i>et al.</i> , 2001. Marasas <i>et al.</i> , 1984. Chang <i>et al.</i> , 1979. Diekman et green 1992.

Les principales fusariotoxines (produites par les *Fusarium*) sont des Trichothécènes qui constituent un groupe de métabolites secondaires produits par de nombreuses espèces du genre *Fusarium*, en particulier *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae* et *F. sporotrichioides*. Plus de 160 trichothécènes ont été identifiés, notamment le désoxynivalénol (DON), le nivalénol (NIV), la toxine T-2, la toxine HT-2, le diacétoxyscirpénol (DAS) et la fusarénone X (FX). Le trichothécène le plus fréquemment retrouvé est le DON (Afssa, 2006). Le tableau 5 résume la production des mycotoxines les plus significatifs associés à la contamination des céréales par les espèces de *Fusarium* (Bottalico et Perrone, 2002).

Tableau 5: Quelques espèces mycotoxigènes isolées de la fusariose de l'épi de blé (Bottalico et Perrone, 2002).

Principales espèces de <i>Fusarium</i>	Mycotoxines
<i>F. graminearum</i>	DON NIV, ZEA, AcDON, FUS
<i>F. avenaceum</i>	MON, BEA, ENS
<i>F. culmorum</i>	DON, ZEA, ZOH, NIV
<i>F. poae</i>	NIV, BEA, DAS, FUS, ENS
<i>F. equiseti</i>	DAS, ZEA, ZOH
<i>F. tricinctum</i>	MON
<i>F. cerealis</i>	NIV, FUS, ZEA, ZOH
<i>F. sporotrichioides</i>	T2, HT2, T2ol, NEO
<i>F. acuminatum</i>	T2, NEO
<i>F. subglutinans</i>	MON

AcDON = Monoacétyl-désoxynivalénols (3-AcDON, 15-AcDON); BEA = Beauvéricine; DAS = Diacétoxyscirpénol; DON = Désoxynivalénol (Vomitoxine); ENS = Enniatines; FUS = Fusarénone-X (4-Acétyl-NIV); HT2 = toxine HT-2; MON = Moniliformine; NEO = Néosolaniol; NIV = Nivalénol; T2 = toxine T-2; T2ol = T-2 tétraol; ZEA = Zéaralénone; ZOH = Zéaralénoles (isomères a et f).



### 3. Structure chimique et voies de biosynthèse des trichothécènes

#### a. Structure chimique des trichothécènes

Les trichothécènes appartiennent au groupe des sesquiterpénoïdes qui possèdent un squelette tricyclique formé par un cyclopentane, un cyclohexane, un cycle à six chaînons oxygénés et quatre groupements méthyles. Ce squelette est appelé trichothécane (Fig. 17).

Les trichothécènes peuvent être divisés en quatre types (A-D) en fonction des groupes fonctionnels caractéristiques. Les trichothécènes de type A ont une fonction oxygène différente de celle du carbonyle en C-8. Les trichothécènes de type B ont une fonctionnalité carbonyle à cette position. Les trichothécènes de type C sont caractérisés par une seconde fonction époxyde en C-7,8 ou C-9,10, alors que le type D comprend des trichothécènes contenant un cycle macrocyclique entre C-4 et C-15, avec deux liaisons ester (Krska *et al.*, 2001).

Les trichothécènes constituent le groupe le plus important de mycotoxines produites par *Fusarium* spp., dans les céréales; ceux-ci peuvent être divisés en deux groupes: le groupe A (TCTA) et le groupe B (TCTB) (Moss et Thrane, 2004).

Les TCTB comprennent le désoxynivalénol (DON) et ses dérivés, le nivalénol (NIV) et ses dérivés (Moss et Thrane, 2004; Trottet et Pradel, 2008). Les dérivés du DON et du NIV sont représentés par leurs formes acétylées, le 15-acétyl-4-désoxynivalénol et le 3-acétyl-4-désoxynivalénol (15-ADON et 3-ADON) ainsi que la fusarénone X (FX) (Gauthier *et al.*, 2015). Le DON est produit par *F. graminearum* et *F. culmorum*; le NIV est produit par certains isolats de ces deux espèces ainsi que par *F. poae* et *F. equiseti* (Moss et Thrane, 2004). Les TCTA comprennent la mycotoxine T-2, la mycotoxine HT-2 et le diacétoxyscirpénol (DAS) (Krska *et al.*, 2001) mais comprennent également le néosolaniol (NEO) (Juan *et al.*, 2012) et sont considérés comme plus toxiques pour les humains et les animaux que les TCTB (Krska *et al.*, 2001). Les mycotoxines T-2 et HT-2 sont produites principalement par *F. langsethiae* et *F. sporotrichioides*. De plus, quelques isolats de *F. poae* ont été signalés en tant que producteurs de HT-2 et de T-2. Le DAS est produit par *F. poae* et *F. equiseti*, tandis que *F. avenaceum* et *F. tricinctum* produisent d'autres métabolites, parmi les mycotoxines produites: la moniliformine, la beauvericin et les enniatines (Thrane *et al.*, 2004).

Toxine	R1	R2	R3	R4	R5
DON	-OH	-H	-OH	-OH	=O
3-ADON	-OAc	-H	-OH	-OH	=O
15-ADON	-OH	-H	-OAc	-OH	=O
NIV	-OH	-OH	-OH	-OH	=O
T-2	-OH	-OAc	-OAc	-H	-OIsoval
HT-2	-OH	-OH	-OAc	-H	-OIsoval
4,15-DAS	-OH	-OAc	-OAc	-H	-H

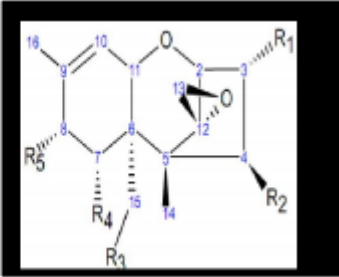


Figure 18: Structure chimique des trichothécènes groupes A et B (Foroud et Eudes, 2009).

OAc = fonction acétyle; OIsoval = fonction isovalérate

### b. Voies de biosynthèse des trichothécènes

Les trichothécènes sont des oxydes sesquiterpènes, dérivés de la voie de biosynthèse des isoprénoïdes (Alexander *et al.*, 1997). La biosynthèse des trichothécènes est un processus complexe impliquant de nombreuses étapes d'oxygénation, d'isomérisation et d'estérification (Jenning *et al.*, 2004).

La biosynthèse des trichothécènes provient du trichodiène, un produit naturel isolé à l'origine de *Trichothecium roseum* (Machida et Nozoe, 1972), initiée par une cyclisation de sesquiterpène catalysée par l'enzyme trichodiène synthase, suivie d'une étape d'oxygénation (jusqu'à huit oxygénations) et enfin par quatre estérifications. Elle nécessite également l'expression d'une protéine de transport et d'un réseau de gènes régulateurs (Desjardins et Proctor, 2007). Quinze gènes désignés sous le terme gène Tri ont été caractérisés dont douze d'entre eux sont regroupés en un cluster -le cluster Tri-, les trois autres étant présents sur deux autres loci (zones du génome) (Richard Forget et Oswald, 2012).

### c. Méthodes d'analyse des trichothécènes

Pour répondre aux exigences de la législation récente, le développement de méthodes fiables et sensibles pour l'analyse des trichothécènes est devenu un sujet de recherche prioritaire. Des méthodes analytiques pour une détermination précise de ces mycotoxines dans les céréales et les produits à base de céréales sont nécessaires afin de protéger les consommateurs du risque d'exposition, de permettre des programmes de surveillance (criblage rapide des matériaux dans la chaîne de production alimentaire) et de veiller à ce que les niveaux réglementaires fixés par l'UE ou d'autres organisations internationales soient respectés (Lattanzio *et al.*, 2009). Habituellement, l'analyse a employé quatre étapes de base: l'extraction; le nettoyage par extraction en phase solide (SPE) et une étape de séparation et de détection combinée (Scott, 1993; Langseth et Rundberget, 1998). Le choix du solvant ou du mélange solvant / eau utilisé

dépend des caractéristiques chimiques de la mycotoxine analysée, du type d'échantillon, des problèmes de santé et de sécurité ainsi que de la technique d'analyse utilisée (Juan *et al.*, 2012). Les méthodes d'analyse des trichothécènes doivent être rapides, fiables et économiques.

Les méthodes connues peuvent être divisées en deux catégories: les «méthodes instrumentales» telles que la chromatographie en phase gazeuse (GC, Gas Chromatography) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC, High Performance Liquid Chromatography) et les «méthodes rapides» telles que la chromatographie sur couche mince (TLC, Thin Layer Chromatography), les analyses immuno-enzymatiques (ELISA, Enzyme-Linked ImmunoSorbant Analyses) qui utilisent le principe de l'immunoanalyse (Koch, 2004). Néanmoins, les méthodes varient selon le type chimique de trichothécène : TCTA ou TCTB.

#### **d. Toxicité des trichothécènes**

Les trichothécènes sont toxiques pour tous les organismes (Champeil *et al.*, 2004), mais la sensibilité varie considérablement entre les espèces et entre les différents trichothécènes (Eriksen, 2003). Les trichothécènes du groupe A sont très préoccupants car ils sont plus toxiques que les trichothécènes de type B (Bhat *et al.*, 2010). La toxine T-2 est le trichothécène le plus toxique produit par les *Fusarium* spp. (Eriksen, 2003; Rocha *et al.*, 2005).

Ce sont des inhibiteurs de synthèse protéique des cellules eucaryotes (Cumagun *et al.*, 2004) et de l'activation des gènes de défense de la plante (Wagacha et Muthomi, 2007). Par ce fait, les trichothécènes sont responsables d'effets indésirables sur la santé humaine ou animale en cas de consommation d'aliments contaminés et peuvent ainsi provoquer une grande variabilité de symptômes comme des altérations du foie, des reins, du système nerveux central, des dérèglements hormonaux ou encore une réduction des défenses immunitaires (Prandini *et al.*, 2007).

#### **4. Aspects réglementaires**

Plusieurs pays ont établi ou proposé des limites réglementaires concernant les mycotoxines dans les aliments. Depuis 1974, certains pays de l'UE ont arrêté des taux limites d'aflatoxines. En mars 1999, en collaboration avec l'OMS, La FAO a parrainé la 3ème conférence mondiale sur les mycotoxines. La conférence a été organisée pour sensibiliser les décideurs aux risques sanitaires et aux effets économiques potentiels de la contamination des denrées alimentaires et des produits d'alimentation animale, et de promouvoir l'harmonisation des réglementations et les procédures de contrôle et pour recommander des stratégies permettant d'évaluer, de prévenir

et de lutter contre la contamination par les mycotoxines. En revanche, des réglementations sur les mycotoxines ont été établies dans plus de 100 pays (FAO, 2003; Van Egmond *et al.*, 2007), et les limites maximales acceptables varient considérablement d'un pays à l'autre (Pinotti *et al.*, 2016).

En particulier, certains pays de l'Union Européenne ont fixé des doses maximales d'aflatoxines dès 1974, les limites maximales de mycotoxines dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (règlement CE 98). Cette réglementation a été modifiée et améliorée à plusieurs reprises (Zinedine et Idrissi, 2007). Le dernier règlement de la Commission Européenne CE N° 1881/2006 (révisé, CE N° 1126/2007 le 28/09/2007), en application depuis le premier octobre 2007, fixe les teneurs maximales en certaines mycotoxines dans les céréales et produits céréaliers destinés à l'alimentation humaine (Atanasova-Pénichon et Richard-Forget, 2014 ; Savoie *et al.*, 2015).

D'un point de vue économique, seules quelques mycotoxines sont considérées comme importantes, à savoir les aflatoxines (AF), l'ochratoxine A (OTA), le zéaralénone (ZEA), le DON et les fumonisines (FB). Les normes concernant les concentrations maximales de mycotoxines dans les aliments destinés à la consommation humaine entre ses pays membres sont données dans le tableau d'Annexe 1 (Cheli *et al.*, 2013; Cheli *et al.*, 2014).

Actuellement au Maroc, il n'y a pas des normes ou des limites réglementaires fixant les teneurs maximales des mycotoxines dans l'alimentation humaine et animale. Cependant, un projet de réglementation de ces toxines a été préparé vers la fin des années 90 par le comité interministériel pour le contrôle alimentaire et la répression des fraudes (CIPCARF) mais il n'a pas encore été adopté (FAO, 2004). Ce projet prévoit la normalisation des contaminants minéraux et organiques dans les aliments et fixe les concentrations maximales admissibles des mycotoxines dans certaines denrées destinées à l'alimentation humaine et animales. Même si d'après les documents de la FAO, ce projet est complet, mais certaines limites proposées restent élevées et nécessitent une révision, d'autres limites sont encore absentes et nécessitent d'être ajoutées avant l'adoption définitive de ce projet.

## V. Effets de diverses pratiques culturelles sur la fusariose

Diverses études ont identifié différents éléments concernant les effets des pratiques agricoles (rotation des cultures, gestion des cultures) sur les attaques par la fusariose.

### 1. Rotation de culture

La contamination par la fusariose est plus grave si la culture précédente est le maïs, le blé dur ou l'avoine, plutôt que l'orge (Teich et *al.*, 1985), et encore moins de contamination s'observe après d'autres cultures (Cassini, 1967). Par exemple, la fréquence (% oreilles nécrotiques) et la sévérité (% nécrotiques épillets) de la maladie sur le blé est plus faibles après le soja qu'après une autre récolte de blé, ou pire encore, maïs (Dill-macky et *al.*, 2000). Cela peut être expliqué de deux manières. tout d'abord, les cultures de soja laissent moins de résidus que les cultures de blé, à leur tour, laissent moins de résidus que les cultures de maïs (Teich et *al.*, 1985).

### 2. Effets du travail du sol

Les effets du travail du sol sont également bien connus, du moins d'un point de vue qualitatif. Un travail du sol limité augmente la fréquence de la fusariose, alors que le labour profond la diminue (Krebs et *al.*, 2000). De même, les systèmes de travail du sol limités augmente le nombre de propagules de *Fusarium* dans le sol (Cassini, 1970) tandis que le labour diminue les niveaux d'inoculum, car il a plusieurs effets directs et indirects sur la structure (Coulomb et *al.*, 1993) et le microclimat du sol et donc sur le développement des champignons (Guerif et *al.*, 2001), notamment ceux du genre *Fusarium*.

### 3. Effets de l'irrigation

L'irrigation d'un champ influence son microclimat et peut encourager le développement de l'agent pathogène. Indépendamment de savoir si le climat est favorable à la maladie dans un année donnée, l'irrigation augmente la fréquence (% de nécroses oreilles) et la gravité (% d'épillets nécrotiques) de la maladie que sur celle des parcelles non irriguées (Dill-macky et *al.*, 2000 et Teich, 1989). Incertitudes concernant la survie du champignon dans le sol et sa capacité à sporuler dans le sol en fonction de l'aération du sol, de la porosité et de la luminosité, ainsi que rôle joué par le taux de dégradation des résidus et celui des composés générés par ce processus et leur composition minérale (azote, silicium), limitent notre capacité à produire des prévisions quantitatives sur les effets de la culture précédente, travail du sol ou irrigation.

#### **4. Effet de la date de semis**

La date de semis est un autre élément de la gestion des cultures qui a un effet indirect sur la production et l'infection par spores, car elle détermine en partie la date de floraison, aussi que la variété semée et le climat. Si la date de semis est de sorte que la floraison coïncide avec la libération des spores, plus des attaques fréquentes et graves sont probables. Cette hypothèse est sur le fait que l'anthèse est le stade chez le blé où les attaques d'agents pathogènes sont censés être le plus grave (Lacey *et al.*, 1999). L'effet de la date de semis doit donc être considéré en ce qui concerne le niveau d'attaque en fonction de la précocité de la variété. Les cultivars de blé précoces ont tendance à être plus résistant à la fusariose que les cultivars tardifs plus (Arthur, 1891). La durée et de la période de croissance du blé ont un effet positif significatif: plus le cycle de la variété est long, plus le degré de contamination observé est faible (Couture, 1982).

## **VI. Lutte contre la fusariose**

### **1. Techniques culturales**

L'inoculum principal étant conservé dans les résidus de culture, un travail du sol permet l'enfouissement des résidus et donc limite les risques d'apparition de la maladie (Champeil *et al.*, 2004). Certaines cultures céréalières, comme le maïs et le blé, sont plus sensibles aux attaques de la fusariose ; les résidus issus de ces cultures sont des sources d'inoculum pour l'année suivante. Il est donc nécessaire d'intégrer cette sensibilité dans la rotation des cultures, en évitant la succession de cultures sensibles (Parry *et al.*, 1995).

La rotation des cultures n'empêchera pas l'apparition de la maladie, mais peut en réduire la gravité. L'année qui précède les semis de petites céréales, il faudrait inclure, dans la rotation, des cultures qui ne sont pas un hôte du champignon. Les travaux de Cassini (1973) montrent que les successions maïs-blé et surtout maïs-blé dur en monoculture favorisent l'accroissement du taux d'inoculum.

Récolter sans tarder peut limiter le risque de développement du champignon. Du grain laissé au champ plus longtemps que nécessaire risque d'être touché par le pathogène, ce qui entraînera une baisse du rendement et une augmentation des concentrations des mycotoxines (Martin, 2004).

### **2. Lutte biologique**

Plus récemment, les recherches ont été orientées vers le développement des méthodes de lutte biologiques contre cette maladie. Des expériences ont été faites sous serre, les plants de blé ont

été protégés contre les maladies des racines par un traitement des semences avec des antagonistes fongiques des genres *Trichoderma*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Nigrospora*, *Penicillium* et *Chaetomium*.

Les Souches de *Bacillus subtilis*, de *Pseudomonas fluorescens* et *Streptomyces* sp. ont été évaluées comme agents potentiels de lutte biologique contre *F.graminearum*. La croissance mycélienne du pathogène a été réduite après le traitement par ces trois bactéries (Nourozian et al., 2006).

La souche ACM941 de *Clonostachys rosea* (une bactérie mycoparasite d'un certain nombre de champignons pathogènes), assure une répression modérée de l'infection à la fusariose, des grains fusariés et du contenu des grains endéoxynivalénol (DON) lors de conditions épidémiques (Xue et Nicholson, 2009).

### **3. Lutte chimique**

Une fois la culture installée, le recours à la lutte chimique est toujours possible mais avec une efficacité limitée. Toutefois, appliqué à la bonne dose et au bon stade, un traitement à l'aide d'un produit spécifique est un levier supplémentaire pour lutter contre la fusariose. La diversité des agents pathogènes ainsi que les différences d'efficacité des matières actives complexifient cette lutte.

En effet, les travaux de Simpson et al. (2001) soulignent la sensibilité des champignons du genre *Fusarium* aux triazoles et ceux du genre *Microdochium* aux strobilurines. Depuis, des résistances sont apparues limitant l'intérêt des strobilurines dans cette lutte. De nouvelles solutions ont été récemment développées couplant par exemple plusieurs familles chimiques comme les triazolinthiones et triazoles pouvant réduire jusqu'à 70% de la maladie au champ.

Le tableau ci-dessous représente les matières actives homologuées au Maroc contre la fusariose du blé.

Tableau 6: Matières actives homologuées au Maroc contre la fusariose du blé (Ezzahiri et *al.*, 2013).

<b>Matière active</b>	<b>Formulation</b>	<b>Dose (L/ha)</b>	<b>DAR (jours)</b>
<b>Spiroxamine + Tébuconazole</b>	EC	0,8	35
<b>Epoxiconazole</b>	SC	1	35
<b>Trifloxistrobine + Tébuconazole</b>	SC	1	35
<b>Bixafen + Tébuconazole</b>	EC	1,2	45

#### 4. Traitements des semences

Le traitement des semences est considéré comme une technique efficace concourant au contrôle des maladies fongiques induisant ainsi une augmentation du rendement de 11 à 15 % pour le blé et l'orge (Fadili et Hous, 2011). Plusieurs matières actives ont été homologuées au Maroc comme traitement des semences du blé contre la fusariose du blé (Tableau 6).

Tableau 7: Matières actives homologuées au Maroc pour le traitement des semences contre la fusariose du blé (Ezzahiri et *al.*, 2013).

<b>Matière active</b>	<b>Formulation</b>	<b>Dose</b>	<b>Toxicité</b>
<b>Mancozèbe</b>	WP	200 g / ql	C
<b>Thirame</b>	WP	200 g / ql	C
<b>Difénoconazole</b>	FS	100 cc / ql	C
<b>Guazatine-acétate</b>	LS	200 g / ql	C
<b>Tébuconazole</b>	FS	15 cc / ql	C

Schaafsma et *al.* (2005) ont étudié l'effet des traitements des semences sur le développement des symptômes de la fusariose de l'épi du blé et sur les paramètres du rendement. Les résultats de cette étude ont montré un effet significatif de ces traitements sur l'ensemble des variables étudiées.

Le traitement des semences réduit la quantité de *Fusarium*spp. dans les semences et augmente leur vigueur (McMullen et *al.*, 1997). Il contribue à la diminution de la charge d'inoculum dans le sol et par conséquent réduit la fonte de semis (Parry et *al.*, 1995).



La meilleure approche permettant de lutter efficacement contre la fusariose serait donc une approche intégrée combinant de bonnes pratiques culturales, l'utilisation de variétés tolérantes ainsi qu'une application fongicide à la bonne dose et au bon stade de développement de la plante (Wagacha et muthomi, 2007). Toutefois, l'amélioration des pratiques culturales reste le levier de lutte le plus efficace contre la fusariose de l'épi.

## **VII. Techniques de détection / identification du champignon**

### **1. Isolement du *Fusarium* spp. à partir des plants**

Les protocoles d'isolement ont un impact significatif sur la récupération des espèces de *Fusarium* spp. des plantes malades. Il est courant d'isoler plus d'une espèce de *Fusarium*spp. de morceaux individuels de matériau de plantes malades, mais certaines espèces peuvent être pathogènes, tandis que d'autres sont saprophytes ou endophytes qui ne peuvent avoir aucun rôle dans le processus de la maladie. La matière végétale fraîchement malade a généralement un nombre réduit de pathogènes et saprophytes secondaires qui sont récupérées à partir d'un échantillon.

L'isolement des espèces de *Fusarium* spp. des tissus de la plante malade sur des milieux à base de l'agar est une des méthodes les plus couramment utilisées. Les échantillons du matériel végétal doivent être traités avec un désinfectant de surface pour réduire le nombre d'organismes secondaires. L'hypochlorite de sodium (Clorox) est un désinfectant chimique approprié à utiliser sur la plupart des tissus végétaux. La concentration d'hypochlorite de sodium utilisée doit être comprise entre 1 et 5% et le temps de désinfection varie avec la nature du tissu. Le tissu traité doit être rincé à l'eau distillée stérile et séché sur du papier absorbant avant d'être placé sur le milieu de culture afin de réduire la quantité de contamination bactérienne (Nelson et al., 1983).

### **2. Isolement du *Fusarium* spp. à partir du sol**

Les espèces de *Fusarium* spp. peuvent être isolées directement à partir du sol soit à l'aide de la méthode « suspension-dilution » ou par culture de débris organiques sur des milieux sélectifs.

- Suspension-dilution : consiste à broyer l'échantillon de sol et réaliser une série de dilution allant de 1:1000 à 1:10000 dans de l'eau gélosé à 0,1%. Un échantillon de 1 ml de chaque dilution est uniformément dispersé sur la surface d'un milieu sélectif Synthetic Nutrient-ou Potato Dextrose Agar (SNA ou PDA) dans une boîte de Pétri. Les propagules germent habituellement en quelques jours et produisent de petites colonies en une semaine. Il est

important que le sol soit séché à l'air libre avant que la suspension ne soit effectuée, pour réduire la contamination bactérienne (Nelson et *al.*, 1983)

- Technique d'isolement des débris : cette méthode a été développée pour l'isolement des espèces de *Fusarium* spp. à partir de petits morceaux de débris du sol. L'échantillon du sol est lavé à travers trois tamis, respectivement 2,8 mm, 0,85 mm et 0,5 mm. Le premier tamis contient des parties identifiables de la plante, comme les racines qui sont désinfectées et misent sur un milieu sélectif (PDA ou SNA). Les petits morceaux de débris retenus sur les deux autres tamis sont également mis en culture sur un milieu sélectif. Cependant, les petits morceaux de débris sont poreux et ne peuvent pas être stérilisés en surface facilement. Afin d'enlever autant de contaminants que possible sur les débris retenus, les tamis sont placés sous une fine pulvérisation d'eau du robinet filtrée pendant 2 heures jusqu'à ce que la terre adhérant aux débris soit enlevée. Les débris sont séchés à l'air avant leur mise en culture afin de minimiser davantage les contaminants bactériens (Alexander et *al.*, 1966).

### **3. Isolement du *Fusarium* spp. à partir de l'air**

La méthode la plus couramment utilisée est la technique de boîte de Pétri exposée. Les boîtes de Pétri contenant un milieu sélectif (SNA ou PDA) sont exposées pendant 10 à 60 minutes, selon la concentration et les conditions de vent de spores. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées dans des conditions standard (Nelson et *al.*, 1983).

### **4. Caractérisation moléculaire**

Les méthodes moléculaires permettent d'explorer le polymorphisme à différents niveaux. Elles permettent de comparer entre des souches, des espèces, des genres, etc. Elles sont basées sur l'étude d'un gène (locus), d'un fragment d'ADN défini, de plusieurs gènes ou encore de l'ADN total, dépendant du but recherché (Kano et *al.*, 2000).

Les méthodes basées sur l'étude d'un ou plusieurs gènes utilisent la technique de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR). Cette technique permet l'amplification de séquences spécifiques d'ADN via sa synthèse *in vitro* et l'obtention rapide et simple de microgrammes de l'ADN ciblé (Mullis et *al.*, 1986).

La cible génomique la plus utilisée est le gène codant la région ITS *Internal transcribed spacer* (Diepeningen et *al.*, 2015). Ce gène possède plusieurs avantages : il présente des 38 régions hautement conservées, permettant le design d'amorces universelles, et des régions variables, permettant l'identification du champignon.

---

## **CHAPITRE 1**

### ***Évaluation de l'état phytosanitaire des semences de blé tendre et blé dur collectées de six régions céréalières du Maroc Chaouia, Doukkala, Gharb, Haouz, Saïs et Tadla***

---

(Fait l'objet d'un article publié dans la revue de l'Association Marocaine de Protection des  
Plantes)

## Résumé

La fusariose du blé est une maladie qui peut être associée à la fois à de fortes pertes du rendement, une réduction de la qualité germinative des graines ou encore une diminution de leurs qualités par la présence de toxines dans ces dernières. En absence d'études montrant les dégâts causés par cette maladie au Maroc, cette étude nous a pour objectif d'estimer le pourcentage d'infection dans six régions céréalières du Maroc : Chaouia, Doukkala, Gharb, Haouz, Saïs et Tadla. Les résultats obtenus ont fait preuve de la manifestation de la fusariose dans notre territoire national pour les échantillons de blé dur et tendre. Pour le blé dur la région du Gharb est celle qui a enregistré le pourcentage d'infection le plus élevé 45,60%, suivi par Tadla avec 40,60% d'infection, puis Chaouia, Haouz, Doukkala et Saïs avec des pourcentages d'infection de l'ordre de : 36,67% 30,25%, 28,80% et 20,40% respectivement. Alors que le blé tendre enregistré des niveaux de contamination les plus élevés dans les régions Gharb et Saïs de l'ordre de 39,20% et 37,60% respectivement, la contamination la plus faible est celle de Haouz 16,67%.

Mots clés : Fusariose, Blé, Pourcentage d'infection, Chaouia, Doukkala, Gharb, Haouz, Saïs et Tadla.

## Introduction

Le Maroc est un pays où l'agriculture joue un rôle important dans l'économie, parmi les principales productions on note les céréales, dont le blé tendre contribue en moyenne pour près de 47% de la valeur brute céréalière, suivi par le blé dur (27%) (Aït el mekki, 2006). Malgré les grandes surfaces emblavées à cette culture le Maroc est devenu un net importateur en cette denrée stratégique depuis les années 1970, en raison d'une démographie en pleine expansion (Boulif, 2013).

La culture du blé demeure soumise à de nombreuses contraintes telles que la non-maîtrise des techniques culturales, les adventices, les attaques d'insectes, ainsi que les maladies.

Parmi ces maladies on note la fusariose, dont les agents causaux sont les champignons du genre *Fusarium*. et *Microdochium* (Ezzahri, 2001). Considéré comme maladie tellurique et transmise par semences, en présence de conditions climatiques favorables, les champignons du genre *Fusarium*. et *Microdochium* peuvent attaquer, à tous les stades de développement et tous les organes de la plante, depuis les racines jusqu'aux épis.

Chapitre 1: Évaluation de l'état phytosanitaire des semences de blé tendre et blé dur collectées de six régions céréalières du Maroc Chaouia, Doukkala, Gharb, Haouz, Saïs et Tadla

L'importance économique de la fusariose est attribuée aux pertes de rendements considérables (avortement des fleurs, diminution du nombre et du poids des grains), de 1998 à 2000, les pertes dues à la fusariose ont pu être estimées à 2,7 milliards de dollars dans les états du centre et du nord des Etats-Unis (Gautam, 2011). La maladie cause également l'altération de la qualité des grains (Pirgozliev *et al.*, 2003), ce qui a des conséquences néfastes lors des processus de transformations industrielles des grains.

En plus des pertes de production, certaines espèces du genre *Fusarium* présentes sur blé peuvent conduire à la contamination des grains par diverses mycotoxines. Ces métabolites secondaires présentent une toxicité avérée vis-à-vis de nombreux organismes (Béatrice, 2012).

Dans ce contexte, il est souvent difficile de faire face à d'importantes pertes de rendements et la problématique de la réduction des dégâts de la fusariose est donc associée à des enjeux économiques importants pour le pays, de même pour le consommateur. Cela est dû aux mycotoxines produites par le champignon.

On se propose dans ce travail d'évaluer l'état phytosanitaire des semences de blé tendre et blé dur collectées de 6 régions céréalières du Maroc : Chaouia, Doukkala, Gharb, Haouz, Saïs et Tadla.

## **Matériel et méthodes**

Les semences de blé tendre et dur ont été collecté de six régions céréalières « Tadla, Doukkala Chaouia, Haouz Gharb et Saïs, » dans le but d'évaluer l'état phytosanitaire des semences de blé au Maroc.

Afin de garantir une analyse traduisant au mieux l'état phytosanitaire des graines, les recommandations suivantes sont respectées:

### **1. Echantillonnage**

Le prélèvement des graines de céréales pour analyse mycologique s'effectue de façon à être représentatif du lot global dont il est issu (parcelle, parcelle élémentaire, silo, etc.).

L'unité d'analyse est la graine de céréale. Un échantillon correspond à un lot de graines de céréales reçu au laboratoire pour analyse.

Après le prélèvement des semences sur le terrain, les échantillons seront conditionnés dans des sachets en papier. L'emploi du sac plastique est à proscrire. Ils doivent être conservés à 5°C ( $\pm 3^\circ\text{C}$ ) avant envoi au laboratoire.

Chapitre 1: Évaluation de l'état phytosanitaire des semences de blé tendre et blé dur collectées de six régions céréalières du Maroc Chaouia, Doukkala, Gharb, Haouz, Saïs et Tadla

Avant analyse, les échantillons reçus au laboratoire peuvent être conservés dans leurs sachets en papier jusqu'à 6 mois à une température de 5°C ( $\pm 3^\circ\text{C}$ ).

Les 50 grains à analyser sont prélevés aléatoirement dans l'échantillon reçu en le mélangeant vigoureusement.

## **2. Mise en culture des échantillons**

Afin d'éliminer les pollutions externes d'origine fongique ou bactérienne dues aux manipulations ou provenant des sachets en papier, nous immergeons les 50 graines de blé analysées dans une solution d'Hypochlorite de Sodium 4° (un mélange de 1/3 de l'hypochlorite de sodium et 2/3 d'eau distillée stérile), pendant 1 à 2 minutes puis rincés 2 fois à l'eau distillée stérile pendant 1 minute.

Les graines de blé désinfectées sont étalées pour sécher sur du papier filtre stérile pendant 20 à 30 minutes sous un flux stérile.

Les grains parfaitement séchés sont placés directement sur le milieu de culture PDA (annexe 1) à raison de 10 graines par boîte de Pétri. Les boîtes sont ensuite parafilmées et placées dans un incubateur à 23°C et à l'obscurité pendant une semaine à 10 jours.

Toutes les étapes de désinfections séchage et incubation ont été exécutées en conditions stériles sous une hotte à flux laminaire afin d'éviter toute contamination extérieure.

## **3. Lecture des boîtes et isolement de l'agent pathogène**

Après 7 à 10 jours d'incubation l'ensemble des boîtes est examiné. Chaque graine est observée pour constater la présence ou l'absence de *Fusarium* spp. Le pourcentage de graines infectées est ainsi directement déterminé pour l'échantillon analysé.

## **Résultats et discussion**

L'analyse mycologique des différents échantillons collectés des six régions céréalières du Maroc (Chaouia, Haouz, Doukkala, Tadla, Gharb et Saïs) a permis d'isoler un nombre important de champignons du genre *Fusarium* spp. Les résultats sont répartis en fonction de la région et selon qu'il s'agit de blé dur ou de blé tendre.

Les résultats des incubations des différentes régions sont représentés ci-dessous

#### 4. Blé dur

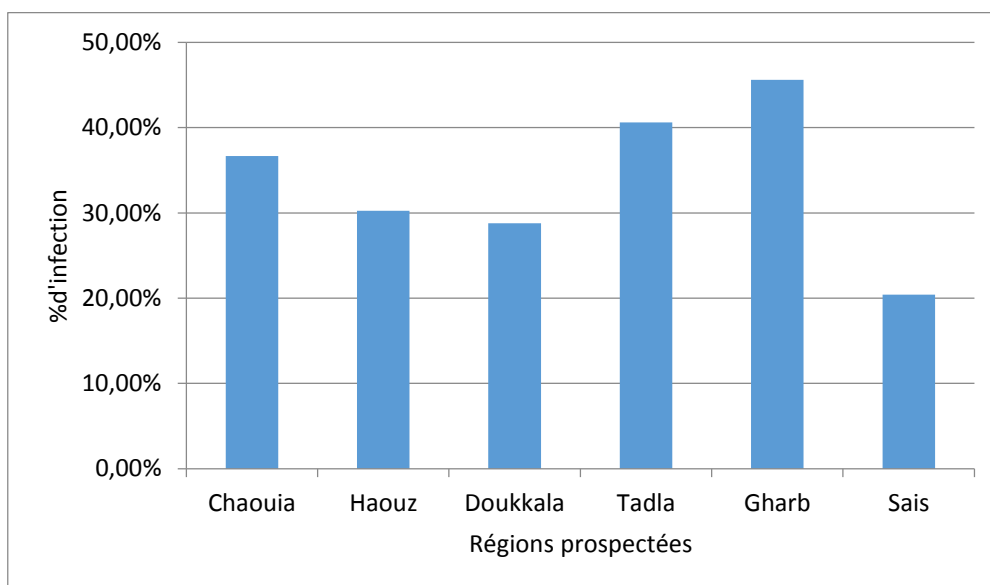


Figure 1: Pourcentage de contamination du blé dur des différentes régions étudiées.

D'après la figure 1 nous pouvons conclure que la région Gharb est celle qui a enregistré le pourcentage infection le plus élevé 45,60% , suivi par Tadla avec 40,60% d'infection, puis Chaouia, Haouz, Doukkala et saïs avec des pourcentages d'infection de l'ordre de : 36,67% 30,25%, 28,80% et 20,40% respectivement

#### 5. Blé tendre

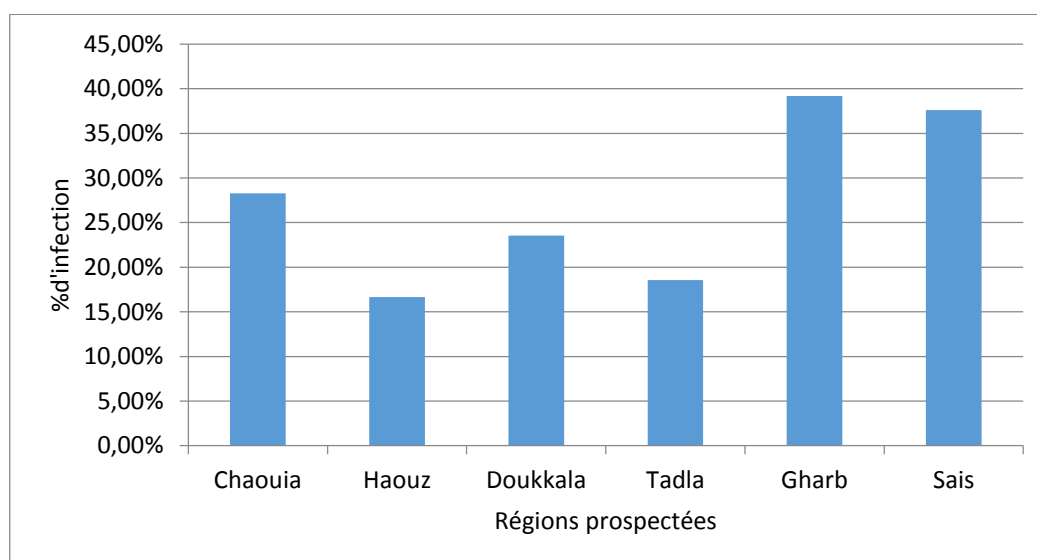


Figure 2: Pourcentage de contamination du blé tendre des différentes régions étudiées.

Chapitre 1: Évaluation de l'état phytosanitaire des semences de blé tendre et blé dur collectées de six régions céréalières du Maroc Chaouia, Doukkala, Gharb, Haouz, Saïs et Tadla

Comme le montre la figure 2 le blé tendre provenant du Gharb est le plus contaminé avec un pourcentage de contamination de l'ordre de 39,20%, puis celui de la région saïs où nous avons observés un pourcentage de contamination de 37,60%, pour les autres régions la contamination du blé et de 28,29% à Chaouia, 23,55% à Doukkala, 18,57% à Tadla et 16,67% à Haouz.

#### *Conclusion*

Au Maroc, peu d'investigations ont été réalisées pour étudier l'importance des dégâts causés par la fusariose. En effet, la présente étude nous a permis d'estimer le pourcentage d'infection des semences de blé tendre et blé dur collectées de 6 régions céréalières du Maroc Chaouia, Doukkala, Gharb, Haouz, Saïs et Tadla.

D'après les résultats obtenus du calcul du pourcentage de contamination nous pouvons conclure que pour le blé dur la région la plus contaminé est celle du Gharb avec 45,60% d'infection, alors que celle qui a enregistré le plus faible niveau d'infection et la région Saïs 20,40%. Alors que le blé tendre a enregistré des niveaux de contamination les plus élevés dans les régions Gharb et Saïs de l'ordre de 39,20% et 37,60% respectivement, la contamination la plus faible est celle de Haouz 16,67%.



---

## ***CHAPITRE 2***

### ***Évaluation et cartographie dynamique de la fusariose du blé au Maroc***

---

(Fait l'objet de deux articles publiés dans: International Journal Of Science and Research)

## Résumé

La filière céréalière constitue une des principales filières de la production agricole au Maroc, dont le blé qui représente la première spéculation, vue l'importance des superficies qu'il couvre. Cette culture est confrontée à de nombreuses contraintes qui affectent négativement sa productivité. Parmi ces contraintes, nous trouvons les maladies fongiques dont la fusariose, causée par des champignons de genres *Fusarium* et *Microdochium*. Dans le but de la valorisation, la protection et l'étude de l'état phytosanitaire du blé face à la fusariose, les régions Doukkala, Chaouia, Haouz et Tadla sont prospectés pour collecter des échantillons de semences, aussi les régions Gharb-Chrarda-Bni-Hssen, Meknès-Tafilalet, Fès-Boulemane, Tadla-Azilal et Marrakech-Tensift-Al Haouz étaient ciblées pour collecter des échantillons frais au stade épiaison. Et cela au cours des années 2013/2014 et 2014/2015. Ainsi le calcul des niveaux d'infestation, l'identification macro, microscopique et moléculaire par « PCR » a été effectuée.

Les résultats obtenus montrent que l'ensemble des régions prospectées est contaminé. Pour les échantillons de semences, les niveaux d'infections enregistrés par le blé dur étaient plus élevés que ceux du blé tendre, sans que ces derniers soient négligeables. Pour le blé dur des régions de Doukkala, Haouz et Tadla, plus de la moitié des échantillons présentaient des taux moyens d'infection par la fusariose, alors que 50% des semences de blé tendre étaient à faibles niveaux d'infection. À Chaouia, 50% des échantillons du blé dur étaient fortement infectés contre 31% seulement pour le blé tendre. Pour les échantillons frais, les résultats affirmaient que le pourcentage d'infestation est plus élevé dans la région de Marrakech-Tensift-Al Haouz, avec un taux d'infection de l'ordre de 37% des parcelles qui étaient très fortement infectées contre 26% dans la région de Tadla-Azilal suivie par la région du Gharb, dont 40% des parcelles étudiées étaient à fort niveaux d'infection, alors que les régions Meknès et Fès ont enregistrées les taux d'infection les plus bas.

En outre le pourcentage d'infestation est différent en fonction de la partie de la plante, il est plus important au niveau du collet, racine et la graine respectivement. L'identification moléculaire par PCR des isolats provenant des échantillons semences a révélé la présence de deux espèces responsables de la fusariose, *Microdochium nivale majus* et *Fusarium avenaceum*, avec une dominance de *Microdochium nivale majus* de plus de 90%. Concernant les échantillons frais, les espèces détectées par PCR sont: *M. nivale majus*, *F. culmorum*, *F. Avenaceum* et *Fusarium graminearum* avec des pourcentages qui diffèrent d'une région à l'autre.

Nous concluons de ces résultats que le rendement et la qualité sanitaire de la récolte court un risque important à cause de la fusariose qui endommage la culture du blé par la présence de mycotoxines produites par les espèces de *Fusarium* dans les graines.

Mots clés : Fusariose, Semences, Blé dur, Blé tendre, Echantillons frais, Stade épiaison, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*, *Microdochium nivale majus*.

## Introduction

De nombreuses espèces fongiques, notamment celles à anamorphe *Fusarium*, sont responsables de diverses maladies de blé à différents stades de son développement végétatif. En effet, ces agents pathogènes peuvent causer la fonte de semis, la pourriture du collet ou l'échaudage de l'épi (Wiese, 1987; Agrios, 1997, Bailey *et al.* 2004).

L'échaudage de l'épi a lieu dans les régions humides, la contamination se fait par les spores aériennes ou par celles éjectées par l'eau qui se déposent directement sur les épillets au moment de la floraison (Bergstrom, 1993; Ireta et Gilchrist, 1994; McMullen *et al.*, 1997). La fusariose de l'épi (FHB) peut être causée par diverses espèces de *Fusarium* et *Microdochium* (Parry *et al.*, 1995). En Europe du Nord-Ouest, les principaux agents pathogènes du FHB sont : *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. avenaceum* et *F. poae*, (Bottalico et Perrone, 2002 ; Ioos *et al.*, 2004). Cette maladie se manifeste par le dessèchement précoce de certains épillets. Les grains issus des épillets contaminés sont envahis par le parasite et prennent une coloration blanche ou rose. Les infections provoquent des baisses de rendement très importantes. (Cook, 1981 ; Martin et Johnson, 1982). En France, de fortes attaques sont signalées lorsqu'une période pluvieuse intervient à la floraison et durant la période de remplissage du grain.

La fonte de semis manifesté par la pourriture des racines (aussi appelée la pourriture commune) est due à des semences contaminés ou des débris végétaux contenant l'inoculum et a lieu généralement dans les régions où la maladie de l'épi prédomine (Cook, 1980). Cette maladie peut être causée par un complexe de champignons incluant des espèces *Fusarium* ou *Microdochium*. (Wiese, 1987; Tinline, 1988; Windels et Holen, 1989; Smiley et Patterson, 1996).

La pourriture du pied (ou pourriture du collet) est due principalement aux champignons à anamorphe *Fusarium* présents dans le sol et sur les chaumes des céréales (Cook, 1968, 1980; Smiley et Patterson, 1996). Selon Wiese 1987 les espèces *F. culmorum* et *F. avenaceum* sont responsable de la pourriture de collet.

En plus des pertes de rendements causés par la fusariose, les *Fusarium* spp. contaminent les graines par les mycotoxines qui sont des métabolites secondaires produits par certains champignons microscopiques (Prandini *et al.*, 2007). Ils sont aussi responsable de réduire la valeur économique des céréales en affectant défavorablement la qualité de la graine (Beacham 2013).

On trouve parmi les principales fusariotoxines (produites par les *Fusarium*), les Trichothécènes qui sont des inhibiteurs de la synthèse protéique des cellules eucaryotes (Cumagun *et al.*, 2004) et de l'activation des gènes de défense de la plante (Wagacha et Muthomi, 2007). Par ce fait, les Trichothécènes sont responsables d'effets indésirables sur la santé humaine ou animale en cas de consommation d'aliments contaminés et peuvent ainsi provoquer une grande variabilité de symptômes comme des altérations du foie, des reins, du système nerveux central, des dérèglements hormonaux ou encore une réduction des défenses immunitaires (Prandini *et al.*, 2007).

Les sous espèces du genre *Microdochium* sont jugées incapables de produire des mycotoxines (Logrieco *et al.*, 1991),

La fusariose du blé est une maladie grave dans les régions arides et semi arides, pouvant occasionner des pertes élevées de rendement (Cook, 1980). Les conditions climatiques du Maroc favorisent le développement de cette maladie. Selon les travaux menés par Ghodbane *et al.* (1974), les pertes de rendement du blé dues à la fusariose étaient de l'ordre de 44% en 1974. Cependant peu de travaux ont été effectués sur l'évolution de cette maladie et sur l'identification et la répartition géographique des espèces de champignons responsables de la maladie au Maroc.

L'objectif de cette étude est l'évaluation des niveaux de contamination des échantillons récoltés et d'identifier les agents pathogènes responsables de la fusariose du blé au Maroc.

## **Matériel et méthodes**

### **1. Cartographie dynamique de la fusariose du blé**

La cartographie est le moyen le plus simple qui permet de représenter la répartition des niveaux d'infestations dans un espace donné. Cette répartition nous permet d'avoir une vision globale sur l'épidémie et d'identifier les structures spatiales infestées, en exploitant la capacité innée de l'œil et du cerveau humain à repérer des motifs. (Gosme, 2007).

### **2. Prospection sur terrain**

Il s'agit d'une analyse spatiale d'une épidémie naturelle de la fusariose du blé. Le but visé par prospection sur terrain est d'obtenir une image représentative des foyers de la maladie dans les huit régions prospectées: Doukkala, Haouz, Chaouia, Tadla -Azilal, Gharb-Chrarda-Bni-Hssen,

Meknès-Tafilalet et Fès-Boulemane, au cours la campagne agricole 2013/2014. Tadla-Azilal et Marrakech-Tensift-Al Haouz au cours la campagne agricole 2014/2015.

Au cours de cette étude deux types d'échantillons de blé ont été analysés, les échantillons semences et les échantillons à l'état frais. La collecte des échantillons semences du blé tendre et dur a été réalisée auprès des agriculteurs et des souks de vente de la semence selon la disponibilité de ces derniers, dans les régions Doukkala, Haouz, Chaouia et Tadla. Pour les échantillons frais, le stade épiaison était le stade ciblé pour la prise d'échantillon dans l'ensemble des régions Gharb-Chrarda-Bni-Hssen, Meknès-Tafilalet, Fès-Boulemane Tadla-Azilal et Marrakech-Tensift-Al Haouz, afin que les quatre organes, racine, collet, glume et graine soient analysés.

Les parcelles et les souks faisant l'objet de la prospection ont été déterminés selon une approche systématique en choisissant le premier arrêt au hasard et en fixant une distance de 10 à 20 Km entre deux arrêts successifs. Cette unité n'a pas été modifiée pendant la collecte des échantillons frais afin de préserver le caractère aléatoire de l'échantillonnage. Tandis que pour les échantillons semences la distance entre les arrêts était relative à la disponibilité des échantillons. A chaque arrêt, les coordonnées de la parcelle ont été notées par un GPS (GARMIN, GPSmap 60CSx).

Les arrêts ont été effectués dans les superficies emblavées en céréales représentées par des cartes de vocation agricole fournies par les DPA (Directions Provinciales de l'agriculture) de chaque région. Le nombre d'arrêt par région a été déterminé en fonction des surfaces céréalières de celle-ci.

### **3. Préparation des échantillons**

Les échantillons frais collectés ont été préparés de façon à ce que les quatre organes de la plante (racines, collets, glumes et graines) soient séparés. Ensuite ces organes ont été rincés pendant 5 min à l'eau. Les racines et les collets des plantes ont été coupés en petits morceaux. Par la suite les racines, collets, glumes et les graines ont été placés séparément dans des béciers pour être désinfectés et mis sur milieu de culture.

Alors que l'analyse des échantillons semences a été effectuée par un choix aléatoire des graines de chaque échantillon.

#### **4. Milieu de culture**

Pour la mise en culture du champignon responsable de la fusariose nous avons utilisé le milieu PDA "Potato, Dextrose, Agar", auquel nous avons ajouté du chloramphénicol et la streptomycine pour éviter toute prolifération bactérienne (Mathur et Kongsdal 2003).

#### **5. Isolement du champignon**

Les différentes parties de la plante étudiées ont été désinfectées à l'hypochlorite de sodium dilué 4° (un mélange de 1/3 de l'hypochlorite de sodium et 2/3 d'eau distillée stérile) pendant 2 minutes, puis rincés 2 fois à l'eau distillée stérile pendant 1 minute. Les échantillons ont été ensuite séchés sur papier filtre stérile sous la hotte.

Pour les échantillons semences, 50 graines ont été déposés aléatoirement sur des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA à raison de 10 éléments par boîte. Contre 20 unités de chaque organe (racine, collet, glume et grain) issu de l'ensemble des échantillons frais qui ont été déposées sur des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA, à raison de 5 éléments par boîte, avec 4 répétitions. Les boîtes de Pétri contenant tous les échantillons ont été incubées à 23 °C, à l'obscurité, pendant une durée variant de 7 à 10 jours.

L'identification du champignon nécessite la purification des isolats de ce dernier. Pour cela, à l'aide d'un emporte-pièce, une partie homogène du mycélium du champignon provenant de la boîte d'origine a été déposée sur une nouvelle boîte, pour mieux observer son développement.

#### **6. Caractérisation morphologique de l'agent pathogène de la fusariose du blé**

Après incubation (7 à 10 Jours), la détection de l'agent pathogène a été effectuée en se basant sur les critères morphologiques et en utilisant les clés d'identifications: [*Fusarium* species, an illustrated manual for identification (Nelson et al 1983) et The *Fusarium* laboratory manual (Leslie et Summerell, 2006)] qui consistent à décrire les caractères morphologiques (macro et microscopiques) des champignons étudiés.

##### **a. Caractérisation macroscopique**

Les critères macroscopiques d'identification sont:

- Vitesse de croissance de la souche;
- Aspect du mycélium;
- Couleur de la partie aérienne de la colonie;

- Couleur de la partie de la colonie en contact avec le milieu et éventuellement la coloration du milieu de culture;
- Présence et couleur des sporodochies (structures de production des macroconidies).

### **b. Caractérisation microscopique**

Le milieu de référence utilisé pour la description microscopique est le milieu PDA. Il permet une production importante de conidies de forme homogène, facilitant l'identification du champignon.

L'observation du champignon a été effectuée sous microscope (G x 100). Les critères d'identification microscopique utilisés sont :

- Présence des macroconidies typiques multicellulaires, hyalines, fusiformes qui comprennent une cellule pied située à la base des conidiophores;
- Présence ou absence de microconidies globuleuses ou ovales;
- Présence ou absence de chlamydospores.

### **7. Calcul du pourcentage d'infection**

Les pourcentages d'infection de l'ensemble des échantillons étudiés ont été calculés selon la formule suivante (Mayo et *al.*, 2015):

$$\% \text{ d'infection} = \frac{\text{Nombre de fragments infectés}}{\text{Nombre total de fragments testés}} * 100$$

### **8. Caractérisation moléculaire des espèces isolées responsables de la fusariose par la réaction de polymérisation en chaîne PCR**

La détection moléculaire a été effectuée sur l'ensemble des isolats obtenus à partir des échantillons traités.

#### **c. Extraction de l'ADN**

Afin d'extraire l'ADN génomique de chacune des populations étudiées, les mycéliums des colonies ont été isolés pour une confirmation de l'identité des espèces fusariennes.

Le protocole d'extraction adopté est celui préconisé par Doyle et Doyle (2007), dont les étapes sont :

- ✓ Prélever 1 cm<sup>2</sup> du mycélium repiqué agé de sept à dix jours et le déposer dans un tube Eppendorf ;
- ✓ Y ajouter 500 µl de tampon d'extraction, broyer et vortexer ;
- ✓ Incuber pendant 30 min à 65 ° C dans un bain-marie;
- ✓ Centrifuger brièvement à 13 000 tr / min pendant 5 min ;
- ✓ Récupérer le surnageant (400 µl) ;
- ✓ Ajouter au surnageant une quantité équivalente (i.e. 400 µl) de chloroforme / alcool isoamylique (24 :1) ;
- ✓ Agiter doucement pendant 5 min puis centrifuger 5 min à 14 000 tr / min;
- ✓ Récupérer 350 µl du surnageant et le précipiter avec 350 µl d'isopropanol, centrifuger pendant 10 min à 14 000 tr / min;
- ✓ Jeter le surnageant, ajouter 500 µl d'éthanol 70°, vortexer puis centrifuger pendant 5 min à 14 000 tr / min;
- ✓ Sécher le culot dans une étuve à 60 ° C pour une durée de 30 à 45 min ;
- ✓ Immerger le culot par 50 µl du tampon TE (annexe 2);
- ✓ Conserver l'ADN à -20°C;
- ✓ Contrôler la qualité de l'ADN extraite par électrophorèse sur gel d'agarose.

#### **d. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)**

##### **➤ Amorces utilisées**

Pour l'amplification de l'ADN<sub>r</sub>, nous avons utilisé les amorces spécifiques décrites dans le tableau ci-dessous.



Tableau 1: Les amorces utilisées pour la technique PCR.

Espèce	Amorce	Séquence	PM (bp)	Référence
<i>F. graminearum</i>	FgrMGB-F FgrMGB-R	GGCGCTTCTCGTGAACACA TGGCTAAACAGCACGAATGC	94	(Ghahderijani, 2008)
<i>F. avenaceum</i>	AV-F AV-R	CAAGCATTGTCGCCACTCTC GTTTGGCTCTACCGGGACTG	920	(Stoyan et al., 2003)
<i>F. culmorum</i>	C51-F C51-R	ATGGTGAACCTCGTCGTGGC CCCTTCTTACGCCAATCTCG	570	(Görtz, 2009)
<i>F. poae</i>	F poae-F F poae-R	AAATCGGCGTATAGGGTTGAGATA GCTCACACAGAGTAACCGAAACCT	220	(Maria, 2011)
<i>M. nivale nmajus</i>	15M-F 15M-R	TGCAACGTGCCAGAAGCT AATCGGCGCTGTCTACTAAAGC	750	(Stoyan et al., 2003)
<i>M. nivale nivale</i>	J2-F JNIV-R	GGTGTTC AAGTATAATGGGCTTCC GGTCACGAGGCAGAGTTCG	310	(Stoyan et al., 2003)

➤ **Mélange réactionnel**

La composition du mélange réactionnel utilisé pour confirmer les espèces de *Fusarium* spp. est détaillée dans le tableau suivant :

Tableau 2: Composition du mélange réactionnel.

	Mix*1 (µl)	Concentration initiale	Concentration finale
ADN	1	-	-
Amorce Forward	0,25	10 µM	0,2 µM
Amorce Reverse	0,25	10 µM	0,2 µM
TP 10x	2	10×	10×
MgCl <sub>2</sub>	0,6	50 mM	1,5 mM
DNTP	0,2	10 mM	0,1 mM
H <sub>2</sub> O	16,45	-	-
Taq polymérase	0,25	5U/µl	1,25U/µl
Volume à distribuer	20	-	-
Volume réactionnel	21	-	-

Un volume de 1 µl d'ADN de chacun des échantillons a été ajouté à 20 µl du mélange dans des tubes PCR d'un volume de 200 µl.

#### ➤ Programme PCR

La réaction de l'amplification a été effectuée au niveau du thermocycleur selon le programme suivant :

- Un premier cycle à 94 ° C pendant 5 min pour dénaturer l'ADN ;
- Une série de 35 cycles dont chacun se déroule comme suit :
  - 94 ° C pendant 30 s ;
  - 60 ° C pendant 45 s ;
  - 72 ° C pendant 1 min.
- Un dernier cycle à 72 ° C pendant 10 min pour réaliser l'élongation et achever la réaction.

#### e. Révélation de l'ADN amplifié

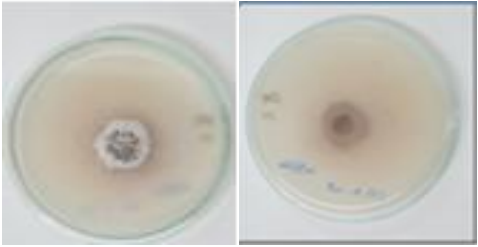


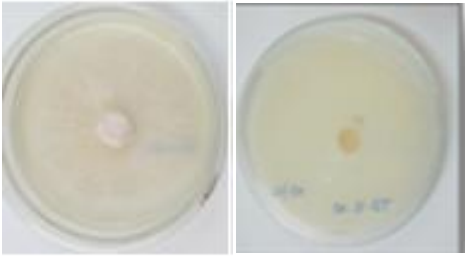


L'ADN amplifié a été visualisé sur un gel d'agarose 2 % (Annexe 3) par électrophorèse dans un tampon Tris Borate EDTA (0,5x) (TBE). Les puits du gel ont été chargés avec 10 µl de l'amplificateur mélangé avec 2 µl du tampon de charge 6x (ADN amplifié).

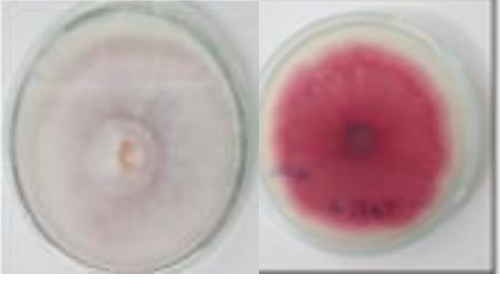

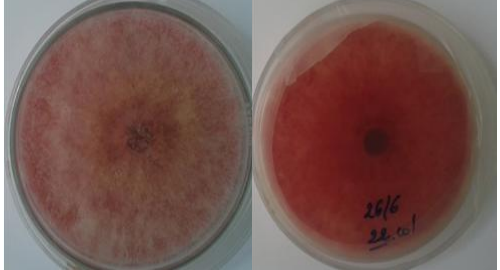
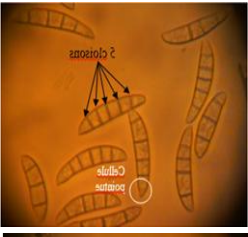




## Résultats

### 1. Aspects macroscopique et microscopique du champignon

La mise en culture des semences et des échantillons frais du blé dans le milieu PDA nous a permis de révéler la présence de 5 aspects du champignon responsable de la fusariose qui sont l'aspect saumon, blanc, rose, rouge et rose jaunâtre. (Tableau 3)

Tableau 3: Description macroscopique et microscopique des aspects isolés.

Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Commentaires
	 	<p>- Colonie de couleur saumon, la croissance mycélienne est relativement lente, le mycélium aérien est de faible densité.</p> <p>- Sous microscope, les macroconidies sont petites, avec 1 à 3 septes, de forme courbée. Des chlamidospores ont été observés.</p>
	 	<p>- Colonie de couleur blanche, le mycélium aérien est de densité moyenne.</p> <p>- Sous microscope, les macroconidies sont petites, avec 1 à 3 septes, de forme courbée. Des chlamidospores ont été observés.</p>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mycélium aérien dense, les colonies sont duveteuses, d'abord blanches à jaunâtres ou roses puis rouges-brunâtres.</li> <li>- Macroconidies très longues, minces, avec des cellules apicale allongée et pliée.</li> </ul>
	 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mycélium aérien dense, rose Jaunâtre et bordé de rouge.</li> <li>- Macroconidies grosses, courtes, fusiformes, courbées et septées (5 cloisons en moyenne), avec cellule apicale courtes et pointues.</li> <li>- Chlamydospores intercalaires ou terminales sub-globuleuses, formées par le mycélium.</li> </ul>
	 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mycélium aérien dense de couleur rouge pourpre.</li> <li>- Macroconidies nettement cloisonnées, fusiformes, courbées, de forme légèrement incurvées au niveau des cellules basale et apicale.</li> <li>- Présence de phyalides</li> </ul>

## 2. Cartographie dynamique de l'épidémie

Les cartes montrant la distribution de l'épidémie ont été réalisées en se basant sur les résultats de l'isolement, les coordonnées géographiques de chaque parcelle et selon les niveaux d'infection de l'ensemble des échantillons. Ces cartes illustrent les communes gravement infectées par la maladie, présentant donc une source importante d'inoculum et ainsi, un risque de contamination majeur pour les autres zones où l'infection est faible ou absente.

**a. Cartographie de la fusariose affectant les semences de blé dur**

La carte représentant les foyers de la maladie a permis de mieux localiser les zones où l'infection est très forte, forte, moyenne ou faible.

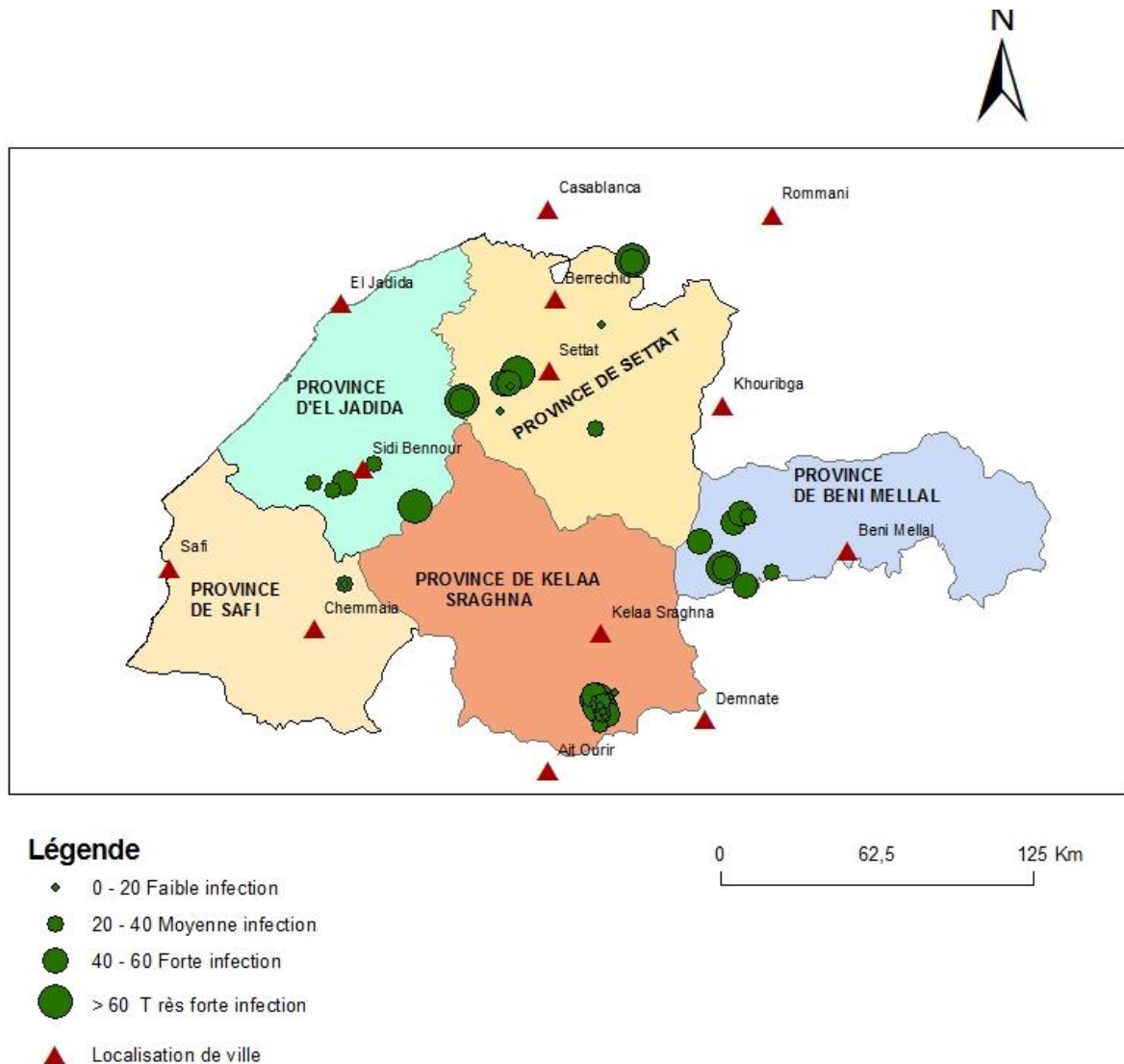


Figure 1: Carte de localisation des foyers de la fusariose touchant le blé dur dans les régions Doukkala, Haouz, Chaouia et Tadla.

❖ Groupement des échantillons du blé dur selon le niveau d'infection

Le graphe ci-dessous représente la répartition des échantillons infectés dans les quatre régions étudiées selon le niveau d'infection.

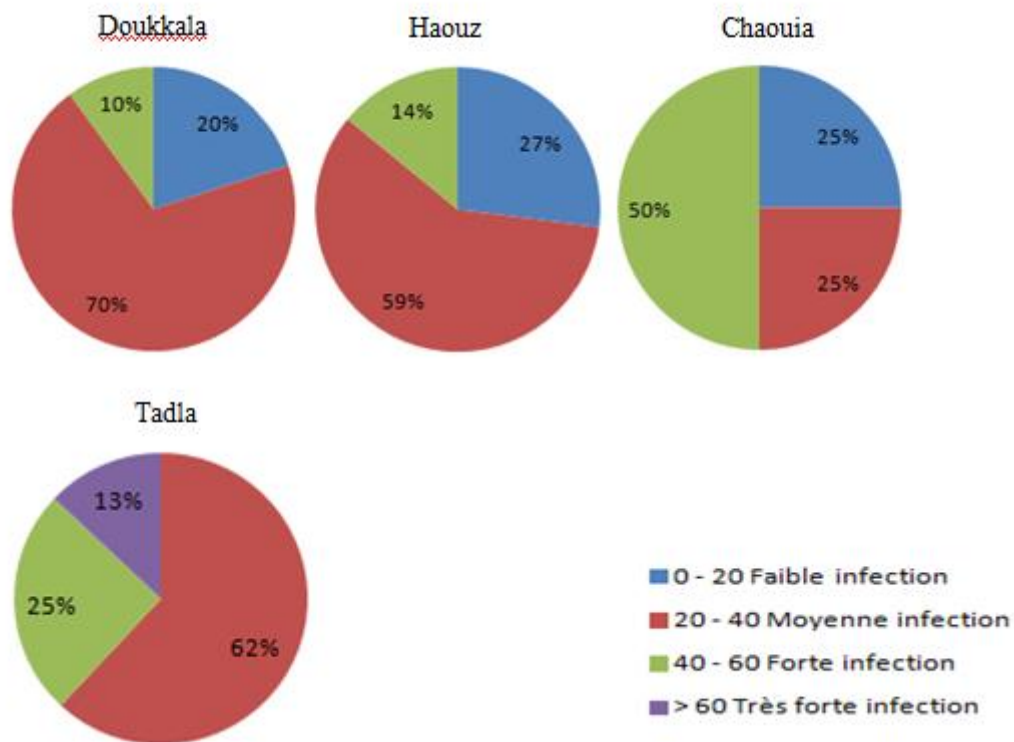


Figure 2: Répartition des pourcentages d'infection des échantillons du blé dur en fonction du niveau d'infection.

Dans la région Doukkala 70% des semences étaient moyennement infectées, 20% des échantillons présentaient un faible niveau d'infection, alors que les 10% restantes étaient fortement infectées.

Au niveau de la région Haouz, plus de la moitié des échantillons étaient moyennement infectés, 27% étaient faiblement infectés, tandis qu'une forte infection était visible sur les 14% des échantillons restants.

A Chaouia, les pourcentages des niveaux d'infection forte, moyenne et faible étaient respectivement de 50%, 25% et 25%.

Tadla était la seule région où une très forte infection a été notée, inscrivant un pourcentage de 13%, les pourcentages des niveaux d'infection moyenne et forte étaient de 62% et 25%.

**b. Cartographie de la fusariose affectant les semences de blé tendre**

La carte de localisation de l'épidémie a montré la présence d'une forte infection variant entre 40% et 60% dans l'ensemble des régions. Ceci est figuré par les cercles de diamètres important dans la carte ci-dessous :

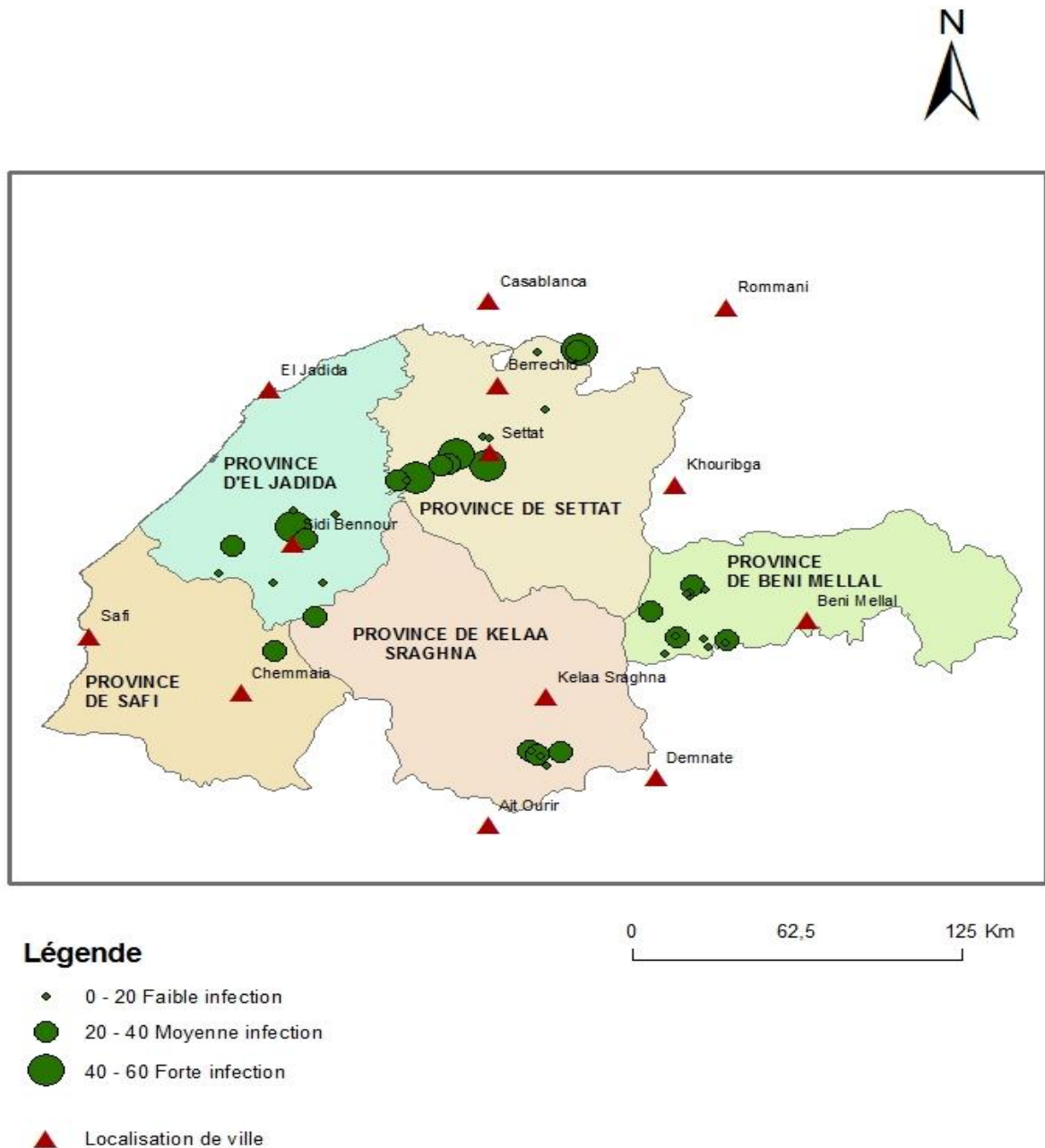


Figure 3: Carte de localisation des foyers de la fusariose touchant le blé tendre dans les régions Doukkala, Haouz, Chaouia et Tadla.

❖ Groupement des échantillons du blé tendre selon le niveau d'infection

Le graphe ci-dessous représente la répartition des échantillons infectés dans les quatre régions étudiées selon le niveau d'infection.

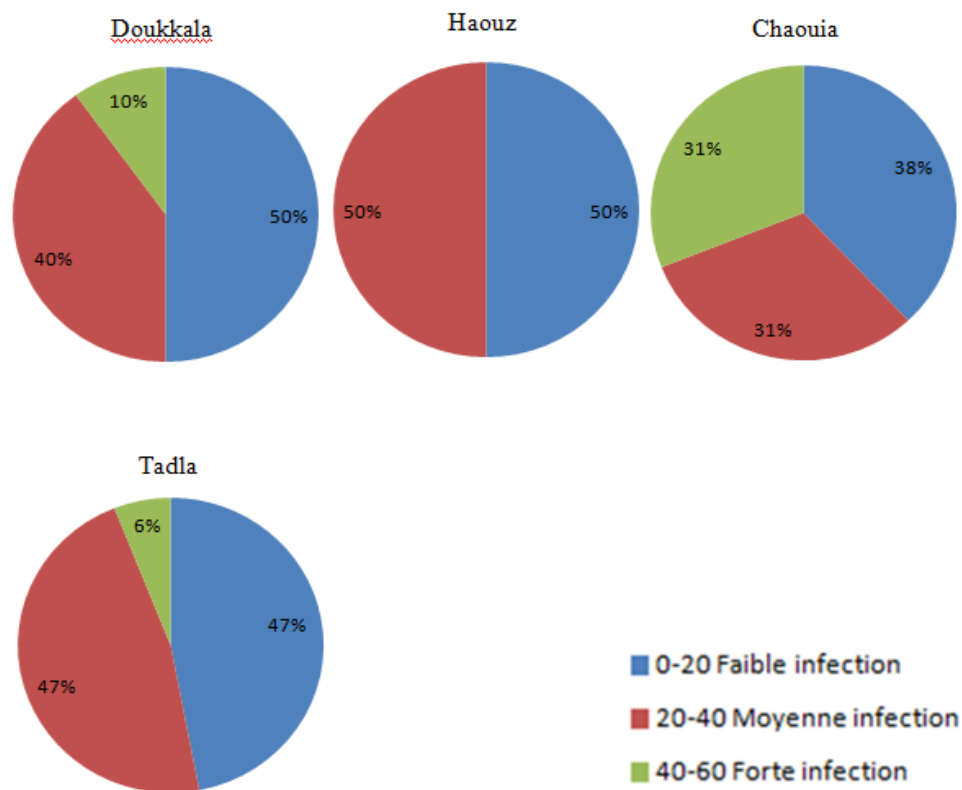


Figure 4: Répartition des pourcentages d'infection des échantillons du blé tendre en fonction du niveau d'infection.

Pour les régions Doukkala et Haouz 50% des échantillons étudiés représentaient un faible niveau d'infection, tandis qu'à Chaouia et Tadla, les pourcentages de faible infection étaient respectivement de 38% et 47%.

Les pourcentages correspondant à une moyenne infection étaient respectivement de 40%, 50%, 31% et 47% pour les régions Doukkala, Haouz, Chaouia et Tadla.

Par contre, une forte infection a été enregistrée dans trois régions seulement ; Doukkala Tadla et Chaouia, inscrivant les pourcentages respectifs de 10 %, 6 % et 31 %.



**c. Cartographie de la fusariose affectant les échantillons frais des régions Gharb-Chrarda-Bni-Hssen, Meknès-Tafilalet, et Fès-Boulemane.**

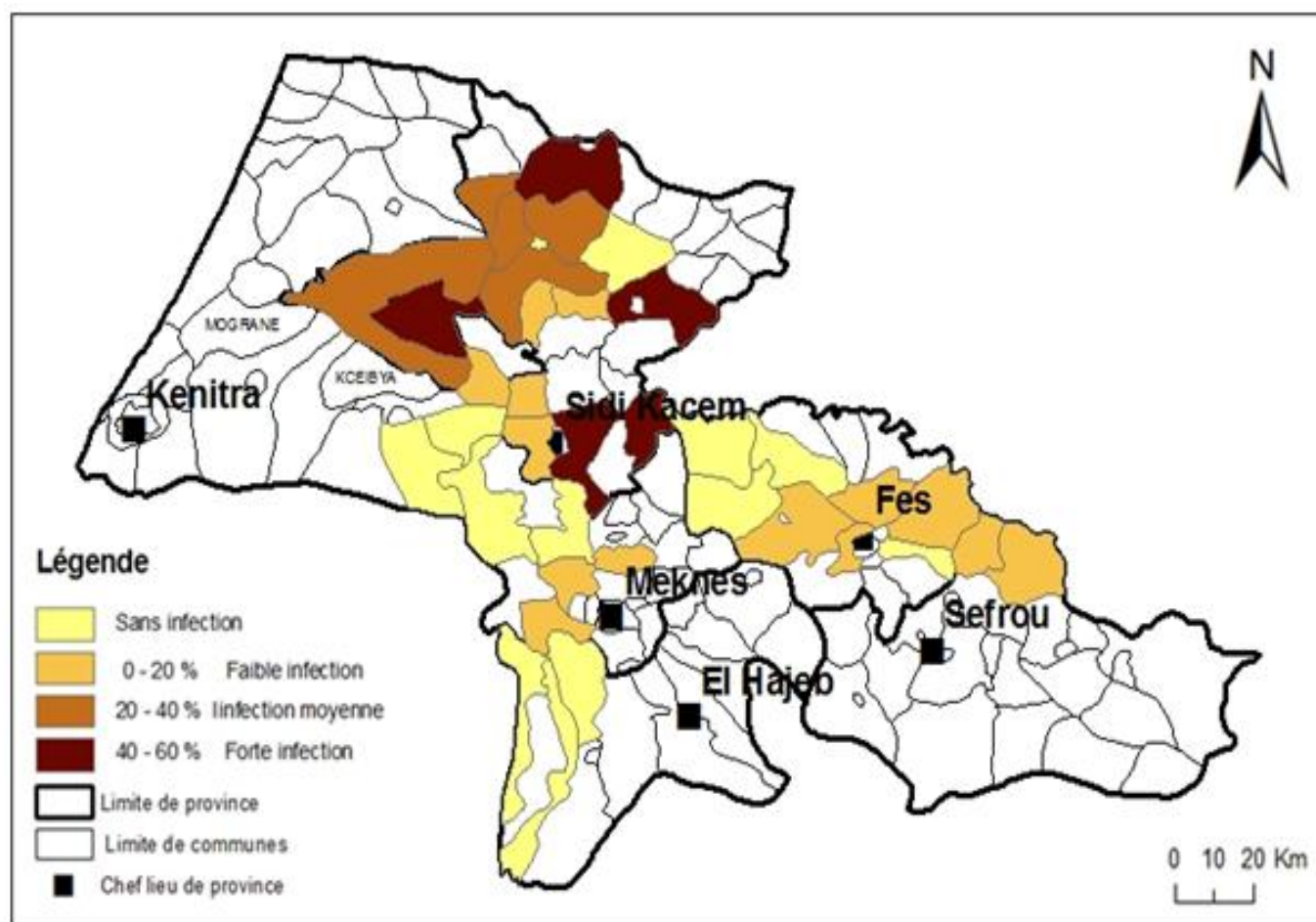


Figure 5: Carte de localisation des foyers de la fusariose pour les échantillons du blé frais dans les régions Gharb-Chrarda-Bni-Hssen, Meknès-Tafilalet, et Fès-Boulemane.

Cette carte illustre les communes ayant signalé une infection élevée par la maladie, présentant ainsi une source importante d'inoculum et un risque de contamination majeur pour les autres communes.

L'infection estimée dans ces communes est comprise entre 40 à 60 %. Sur la carte, ces communes sont représentées en marron foncé. En effet, il s'agit de Masmouda, Lamrabih (Jorf el melha), Al haouafate, Selfat et Bab tiouka.

La carte représente également les communes à infection moyenne dont les pourcentages d'infection sont compris entre 20 à 40 %. Sur la carte, ces communes sont colorées en marron.

Il s'agit de Sidi ahmed ben aissa, Moulay abdelkader, Bni oual, Sidi azouz, Nourate, Sefsaf, Sidi al kamel, Dar elgueddari, Dar laaslouji.

Les communes ayant enregistré un niveau d'infection faible sont représentées sur la carte en marron clair. Le pourcentage d'infection de ces communes est compris entre 0 à 20 %. Il s'agit de Sidi m'hamed chelh, Ouled nouel, Ait ouallal, Dar oum soltane, Mghassiyine, Oulad h'cine, Zirara, Chbanate.

Cette étude dévoile également que les échantillons collectés de certaines communes n'ont pas montré de symptômes de la maladie. Par conséquent, le pourcentage d'infection au niveau de ces communes correspond à 0 %. Elles sont illustrées sur la carte par la coloration jaune. Il s'agit de Ain dfali, Oulad ben hammadi, Azghar, Sebt jahjouh, Ras Jerri, Ait yaazem, Ain jemâa, Ain karma, Sidi hrazem, Mikkes, Laajajra, Sebt loudaya.

#### ❖ Groupement des échantillons frais selon le niveau d'infection

Dans la région du Gharb, 40 % des parcelles étaient fortement infectées par la fusariose. 26 %, 20 % étaient respectivement moyennement et faiblement infectées, alors que seulement 13 % des parcelles ne présentaient aucun signe d'infection.

Concernant la région de Meknès, 61 % des parcelles signalaient une faible infection par la maladie et 13 % des parcelles étaient moyennement infecté tandis que 26 % étaient saines.

Au niveau de la région de Fès, la grande majorité des parcelles étaient saines, soit 60 %, les parcelles faiblement et moyennement infectées étaient de l'ordre de 33 et 7 %.

Il est à noter qu'aucune parcelle n'avait enregistré une forte infection par la maladie dans les deux dernières régions (figure 6).

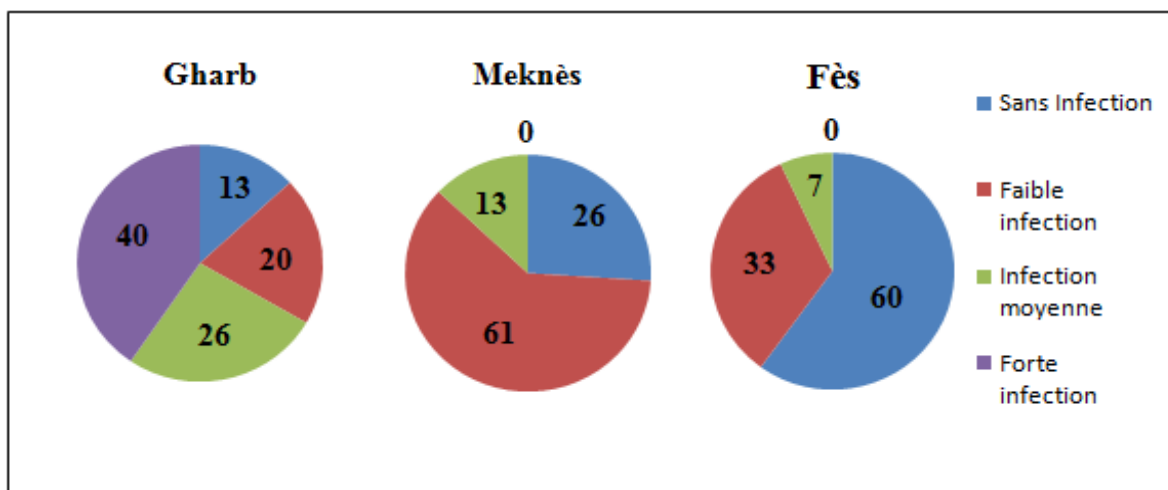


Figure 6: Répartition des pourcentages d'infection des échantillons frais des régions Gharb, Fès et Meknès en fonction du niveau d'infection par la fusariose.

❖ Correspondance entre niveau d'infection et organes infectés

Le graphe suivant décrit la correspondance entre le niveau d'infection des parcelles et les organes végétatifs infectés. Pour les parcelles faiblement et moyennement infectées, les racines et les collets étaient les parties les plus attaqués par le champignon. Au niveau des parcelles à forte infection, nous avons noté des taux d'infection considérables dans les glumes et les graines.

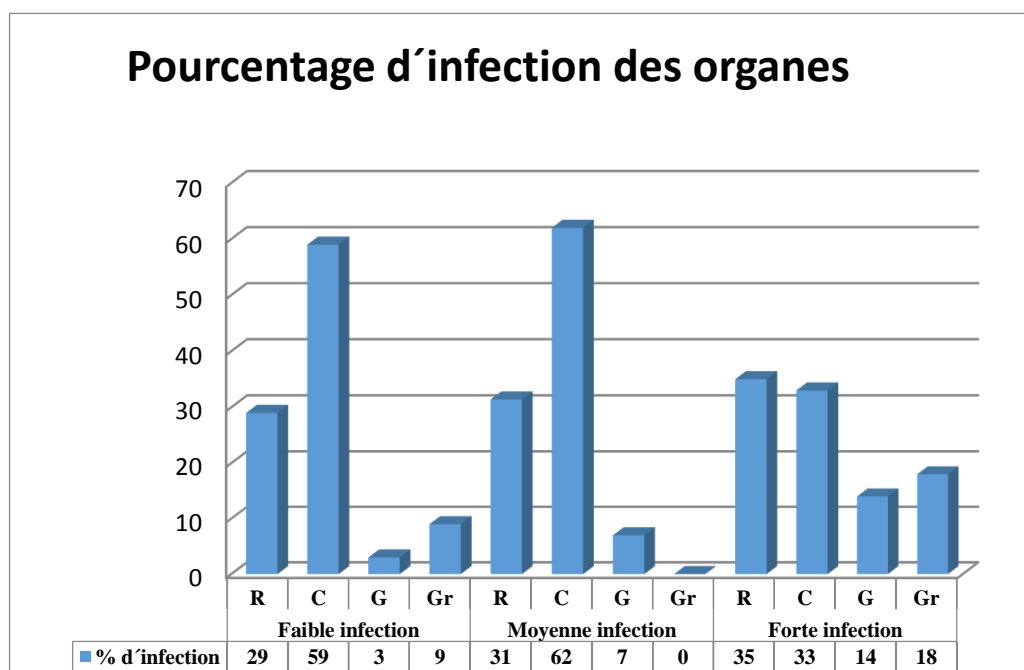


Figure 7: Correspondance entre le niveau d'infection et l'organe infecté. R : Racines, C : Collets, G : Glumes, Gr : Graines.

**d. Cartographie de la diffusion de la fusariose dans les régions Marrakech-Tensift-Al Haouz et Tadla-Azilal**

Les cartes de localisation géographique de l'épidémie dans les deux régions étudiées (figure 8 et 9) montrent une très forte infection par la maladie dépassant les 60% dans les communes de Skoura lhadra, Sidi bou othmane, Bourrous et Oulad hassoune hamri de la région de Marrakech-Tensift-Al Haouz et la commune Sidi Aissa Ben Ali à Tadla-Azilal. Il s'agit des zones colorées en orange foncé sur les cartes.

Les communes fortement infectées, dont les pourcentages d'infection sont compris entre 40 et 60% sont colorées en orange clair sur les cartes. Dans la région de Marrakech-Tensift-Al Haouz, ces communes sont Tahanaout, Alouidane et Skhour Rhamna. Alors qu'à Tadla-Azilal, il s'agit de Hel merbaa, Oulad zmam, Al khalfia et Ouled gnaou.

Une infection moyenne de 20 à 40% marquée par une couleur jaune-clair sur les cartes géographiques est enregistrée dans la commune de Jaarfa dans la région Marrakech-Tensift-Al Haouz, tandis que dans la région Tadla-Azilal, la moyenne infection est enregistrée dans les communes de Bnioukil, Krifate, Bradia et Sidi jaber.

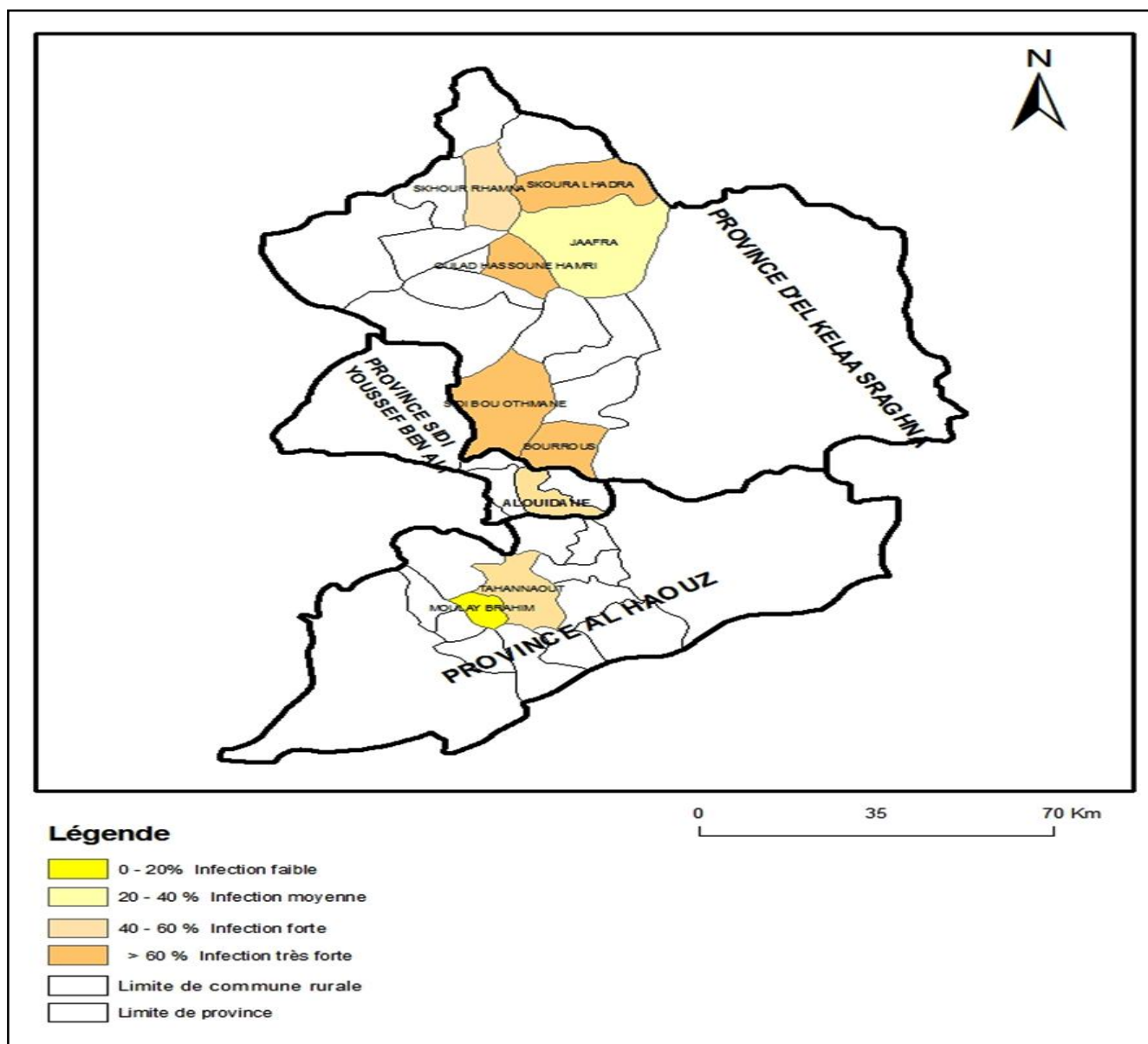


Figure 8: Carte de localisation des foyers de la fusariose infectant le blé dans les communes enquêtées de la région Marrakech-Tensift-Al Haouz.

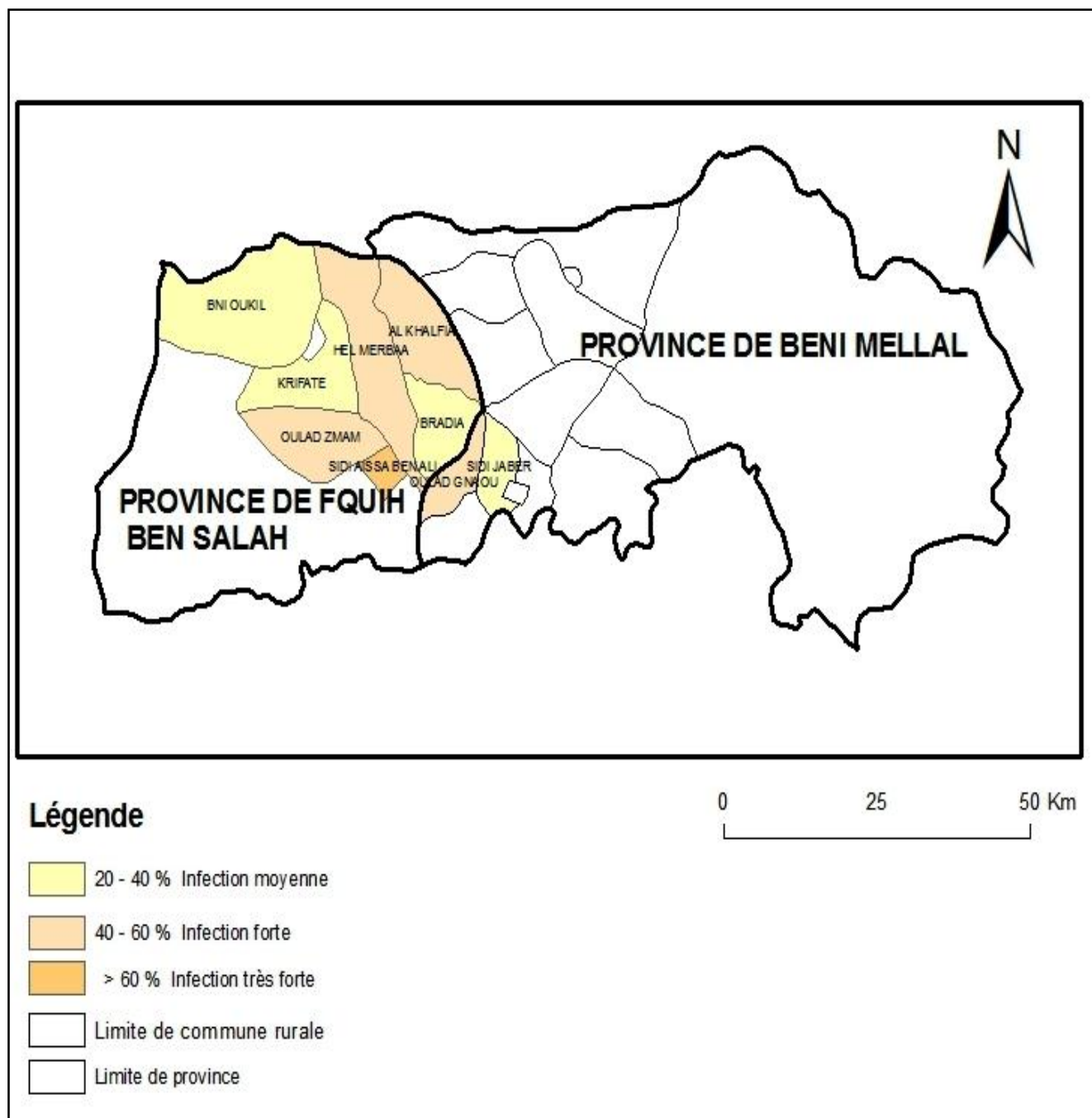


Figure 9: Carte de localisation des foyers de la fusariose infectant le blé dans les communes enquêtées de la région Tadla-Azilal.

❖ Groupement des échantillons du blé selon le niveau d'infection

Dans la région de Tadla-Azilal, 26 % et 10% des parcelles étaient respectivement très fortement et fortement infectées par la fusariose, 54% des parcelles étaient moyennement infectées et 10 % l'étaient faiblement. Concernant la région de Marrakech-Tensift-Al Haouz, 3 % des parcelles présentaient un faible taux d'infection par la maladie et 12 % des parcelles étaient moyennement infectées, tandis que la majorité des parcelles (85%) était fortement infectées (figure 10).

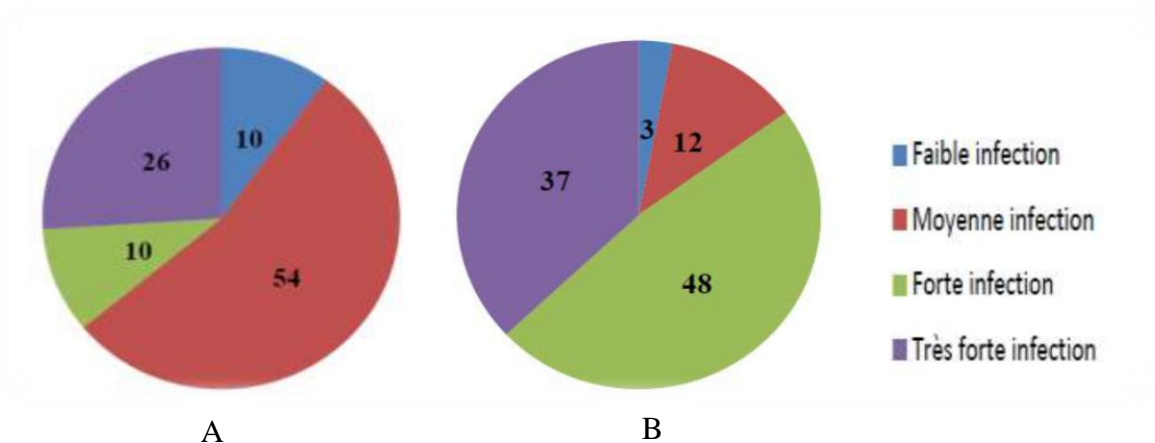
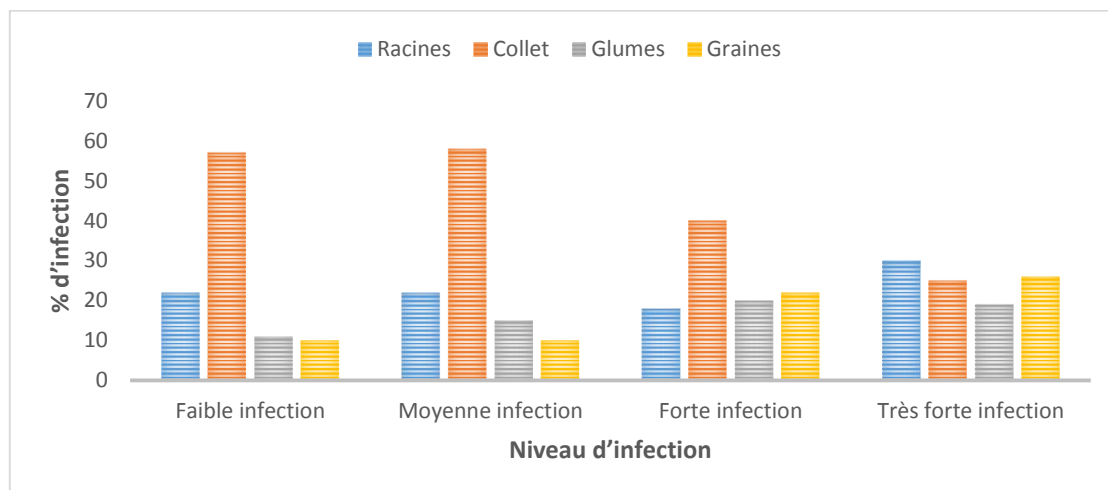


Figure 10: Répartition des pourcentages d'infection des échantillons du blé en fonction du niveau d'infection dans les régions: Tadla –Azilal (A) et Marrakech-Tensift-Al Haouz (B).

❖ Correspondance entre le niveau d'infection et organes infectés

La représentation graphique des taux d'infestations des différentes parties de la plante (figure 11) montre que le collet est l'organe le plus attaqué par le champignon. Et ceci, dans toutes les parcelles infectées.

**A**



**B**

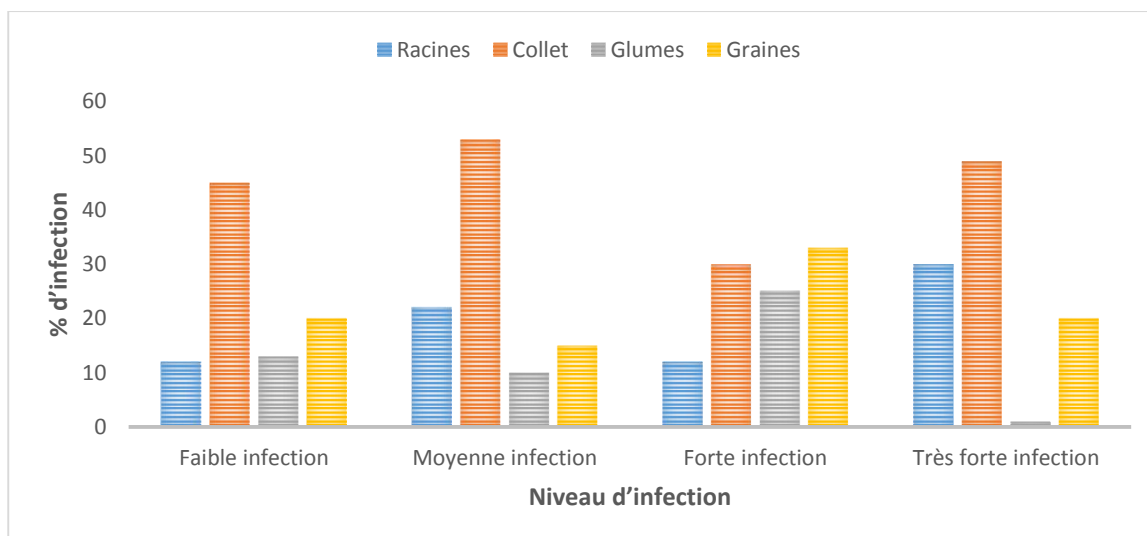


Figure 11: Pourcentages d'infection des différents organes dans les régions Tadla-Azilal (A) et Marrakech-Tensift-Al Haouaz (B).

Aux niveaux des parcelles à très forte et forte infection, des taux élevés d'infection ont été soulignés dans les deux régions d'études dans l'organe graine. Le même résultat a été démontré pour les échantillons à faibles niveaux d'infections provenant de la région de Marrakech-Tensift-Al Haouaz. Sachant que la graine est l'organe le plus consommable, sa contamination par les champignons pathogènes et donc par les mycotoxines est d'un effet néfaste sur la santé humaine.



### 3. Caractérisation moléculaire des principales espèces de *Fusarium* et *Microdochium* par la PCR

Pour confirmer les résultats obtenus par l'identification microscopique, la PCR a été réalisée. Quatre espèces de champignons responsables de la fusariose ont été déterminées. Il s'agit de, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. graminearum* et *Microdochium nivale* majus.

#### a. Confirmation moléculaire du *F. culmorum*

Pour la confirmation de présence de l'espèce *F. culmorum*, le couple d'amorces C51-F/C51-R a été utilisé sur l'ensemble des échantillons. Nous cherchons alors à trouver un fragment d'ADN mesurant 570 paires de bases (bp), correspondant à l'espèce *F. culmorum* comme indiqué dans le tableau 1 du chapitre 'Matériel et méthodes'.

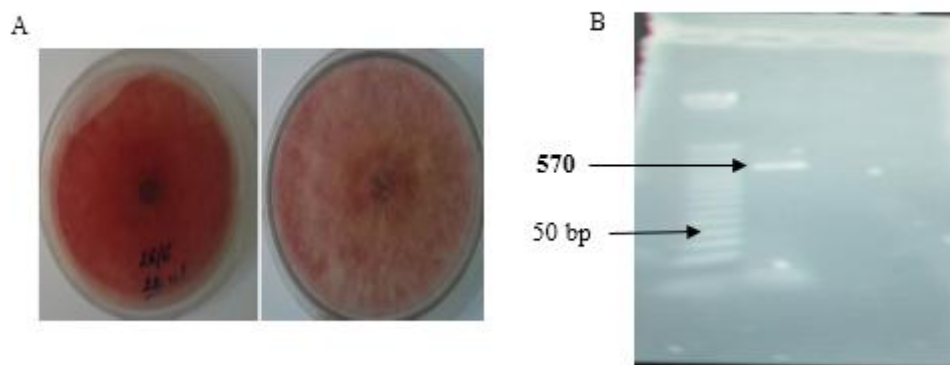


Figure 12: A- Aspect macroscopique de *F. culmorum* / B-profil d'amplification de *F. culmorum*.

La figure 8 indique la présence du fragment ADN recherché et par la suite la confirmation de l'espèce *F. culmorum*.

#### b. Confirmation moléculaire du *F. avenaceum*

La figure ci-dessous (figure 13) présente le profil d'amplification d'un extrait d'ADN d'un échantillon positif correspondant au *F. avenaceum*, amplifié en utilisant les amorces AV-F/AV-R.

La dimension du fragment d'ADN du *F. avenaceum* est de 920 (bp)

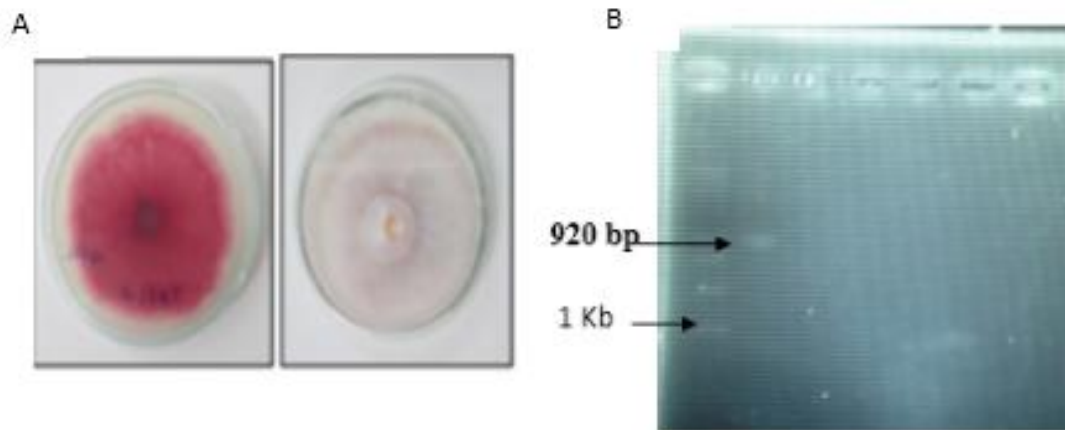


Figure 13: A- Aspect macroscopique de *F. avenaceum* / B-profil d'amplification de *F. avenaceum*.

**c. Confirmation moléculaire du *Microdochium nivale majus***

Pour *Microdochium nivale majus*, le couple d'amorce 15M-F/15M-R a été utilisé pour l'ensemble des échantillons. La dimension du fragment d'ADN de *Microdochium nivale majus* est de 750 (bp).

Le profil d'amplification d'ADN ci-dessous illustre le fragment positif mesurant 750 bp correspondant à la sous-espèce *Microdochium nivale majus*. (Figure 14).

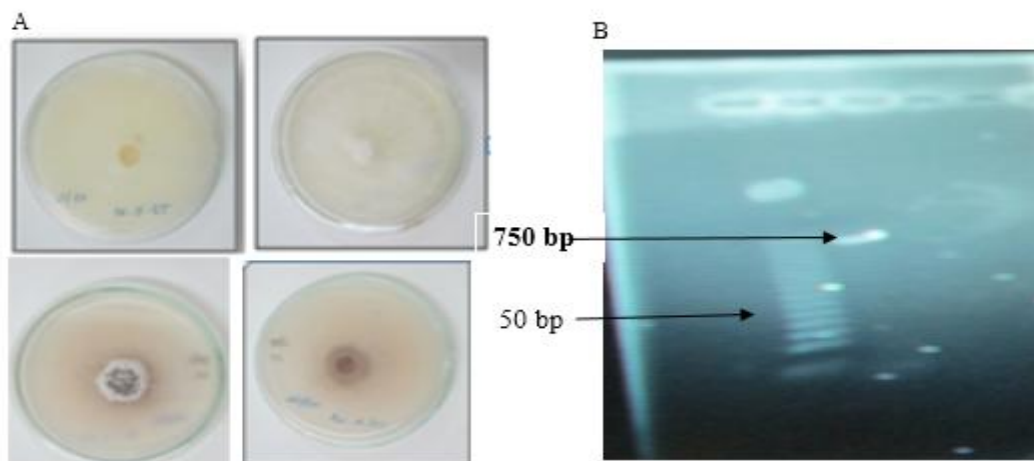


Figure 14: A- Aspect macroscopique de *M. nivale majus* / B-profil d'amplification de *M. nivale majus*.

#### d. Confirmation moléculaire du *F. graminearum*

La figure ci-dessous (figure 15) présente le profil d'amplification d'un extrait d'ADN d'un échantillon positif correspondant à l'espèce *F. graminearum*, amplifié en utilisant les amorces FgrMGB-F/ FgrMGB-R.

La dimension du fragment d'ADN de *F. graminearum* est de 94 (bp).

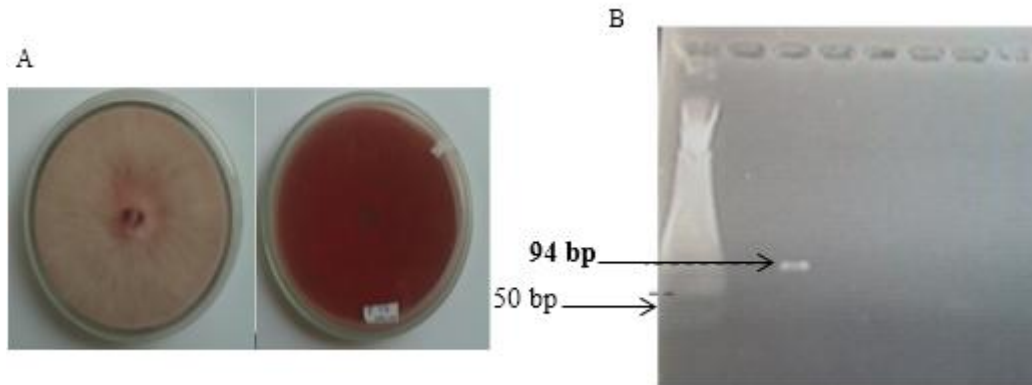


Figure 15: A-Aspect macroscopique de *F. graminearum* / B-profil d'amplification de *F. graminearum*.

## Discussion

Quatre espèces fongiques responsables de la fusariose de blé ont été isolées de l'ensemble des échantillons analysés, l'infection par la maladie varie selon le type de blé cultivé et selon la région.

- Les semences de blé dur ont enregistré des pourcentages d'infection plus élevés que celles du blé tendre. L'infestation des semences du blé dur a montré que 13% des échantillons était très fortement infectés à Tadla, 50% fortement infectés à Chaouia 14% à Haouz et 10% à Doukkala. Pour les semences du blé tendre, les résultats ont montré que de 31% des échantillons étaient fortement infecté à Chaouia, 10% à Doukkala et 6% à Tadla.

Ces résultats sont en accord avec des travaux antérieurs menés sur le blé tendre (inoculé par *Fusarium culmorum*) qui ont montrés moins d'accumulation des mycotoxines dans les grains du blé tendre, et cela par inhibition de leur biosynthèse grâce à des composés biochimiques antioxydants comme les composés phénoliques (Ponts et *al.*, 2006 ; Ponts et *al.*, 2007) dont la composition évolue quantitativement et qualitativement au cours du développement du grain

en réponse à l'installation de *Fusarium* spp. (Boutigny, 2007). Par ailleurs, les grains de blé dur sont moins résistants à la fusariose.

Les champignons isolés de l'ensemble des échantillons semences et induisant une infection par la fusariose de blé sont: *M. nivale majus* et *F. avenaceum*. Il est à noter aussi que la présence de *M. nivale majus* est dominante (présent dans plus de 90% de la totalité des régions).

Tableau4: Fréquence de présence des champignons isolés à partir des échantillons semences.

Régions	<i>F. culmorum</i>	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>M. nivale majus</i>
Doukkala	0%	0%	0%	100%
Haouz	0%	8%	0%	92%
Chaouia	0%	5%	0%	95%
Tadla	0%	5%	0%	95%

Ces résultats confirment ceux publiés par Glynn et al. en 2005, qui considèrent *M. nivale* comme l'espèce majeure prédominante responsable de la fusariose en Europe. Cette dernière cause la pourriture racinaire, la fonte de semis (Smiley et Patterson 1996) et l'échaudage des épis, et ainsi une infection significative des semences, provoquant une mauvaise germination, causant donc des pertes importantes de rendement (Humphreys et al., 1995; Parry et al., 1995).

Il est aussi important de noter que *M. nivale majus* est incapable de produire le mycotoxines (Logrieco et al., 1991), donc cette sous-espèce ne présente aucuns dangers pour le consommateur qu'il soit animal ou humain.

L'espèce *F. avenaceum* (présente avec de faibles pourcentages, ne dépassant pas 8% dans toutes les régions) est jugé responsable de la pourriture du collet et de la fusariose de l'épi (Ioos et al., 2004). De plus, elle est capable de synthétiser des molécules ionophores inhibitrices d'enzymes comme la cholestérol-acétyl transférase chez l'Homme (Meca et al., 2010).

Les échantillons frais de la région résultats obtenus ont montré que la région de Marrakech-Tensift-Al Haouz était plus infectée par la maladie par rapport à celle de Tadla-Azilal. Cela, peut être expliqué par différents facteurs, dont les conditions climatiques, l'antécédent cultural, le taux de dispersion des spores responsable de la maladie, les pratiques culturales des agriculteurs de chacune des régions et la situation géographique des parcelles de blé.

La forte infestation par la maladie inscrite dans les deux régions étudiées peut causer d'énorme pertes de rendement pouvant atteindre les 60%. En effet Häni (1981) confirme que les

conséquences économiques soulignées au niveau de la production céréalière sont dues à la fusariose. Après inoculation d'épis de blé par *Fusarium* spp. les pertes de rendement sont de 60%.

- Les échantillons frais de la région Marrakech-Tensift-Al Haouz ont présenté le niveau d'infection le plus élevé par la fusariose pour cette classe d'échantillons suivie par les régions Tadla-Azilal et Gharb-Chrarda-Bni-Hssen. En effet, le pourcentage des parcelles très fortement infectées est de 37% à Marrakech. Nous avons constatés aussi la présence du champignon dans tous les organes des plantes analysés (racines, collets, glumes et graines).

Les régions Fès-Boulemane et Meknès-Tafilalet ont inscrit les pourcentages d'infection les plus bas. La majorité des parcelles de ces régions ne présentent aucuns symptômes de la maladie. Les racines et les collets sont les principales parties végétatives au niveau desquelles l'infection a été enregistrée.

La diffusion de la maladie à la région Marrakech-Tensift-Al peut être expliqué par les conditions climatique de la zone, le climat autour de la floraison, le précédent cultural, le travail du sol ainsi que la sensibilité variétale. Tous ces facteurs jouent un rôle dans la propagation de la maladie (Obst et Bechtel, 2000 ; Schaafsma et *al.*, 2001 ; Barrier-Guillot et *al.*, 2006 ; Lemmens, 2007 ; Gourdain et *al.*, 2009).

Les espèces fongiques isolés des échantillons frais sont: *M. nivale majus*, *F. culmorum*, *F. avenaceum* et *F. graminearum*.

Tableau 5: Fréquence de présence des champignons isolés à partir des échantillons frais.

Régions	<i>F. culmorum</i>	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>M. nivale majus</i>
Marrakech-Tensift-Al Haouz	50%	30%	0%	20%
Tadla-Azilal	25%	10%	0%	65%
Gharb-Chrarda-Bni-Hssen	40%	0%	18%	42%
Fès-Boulemane	0%	100%	0%	0%
Meknès-Tafilalet	0%	100%	0%	0%

Pour la région Marrakech-Tensift-Al Haouz 50% d'infection présente dans cette région est causée par *F. culmorum* suivi par *F. avenaceum* avec une fréquence de 30%, tandis que *M. nivale majus* a été présente avec un taux de 20%. Il ressort de ces résultats que *F. culmorum* et *F. avenaceum* sont responsables de l'infection dans la région Marrakech-Tensift-Al Haouz.

La grande infection au niveau du collet dans cette région peut être expliquée par la dominance de *F. culmorum* et *F. avenaceum*, qui sont les agents pathogènes responsables de la pourriture du collet (Wiese 1987). L'espèce *F. avenaceum* cause aussi la fusariose de l'épi (Ioos et al., 2004).

Pour la région Tadla-Azilal l'infection est causée principalement par *M. nivale majus* avec une fréquence de 65%. Cette sous espèce est considérée l'une des principales agents responsables des fontes de semis sur les céréales d'hiver et de printemps (Smiley et Patterson, 1996), elle cause aussi la fusariose de l'épi (Parry et al., 1995). *M. nivale majus* attaque surtout les graines à la base des tiges du blé.

L'espèce *F. culmorum* est présente avec un pourcentage de 25% tandis que *F. avenaceum* est présente avec une fréquence de 10%, dans l'ensemble des échantillons infectés. *F. culmorum* et *F. avenaceum* sont les espèces causant la fusariose de l'épi en Europe du Nord-Ouest (Bottalico et Perrone, 2002), aussi que la pourriture du collet (Wiese 1987).

La combinaison entre ces trois espèces dans la région de Tadla-Azilal justifie la forte infection au niveau des racines et des collets aussi que la contamination des graines.

Alors que la région Gharb-Chrarda-Bni-Hssen *M. nivale majus* (isolé des racines, des collets, des glumes et des graines) et *F. culmorum* (isolé surtout des racines et des collets) sont responsable de 82% de l'infection à la région, tandis que *F. graminearum* (isolé des glumes et grains du blé) est présente avec une fréquence de 18%. Ces résultats sont en accord avec ceux démontrés dans le nord de la Tunisie en 2006, où les espèces de *Fusarium* associées à la pourriture du collet et à l'échaudage des épis de blé sont *Microdochium nivale Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum* (Boughalleb et al., 2006).

Pour Fès-Boulemane et Meknès-Tafilalet, la faible infestation par la maladie est causée par *F. avenaceum*, responsable de la pourriture du collet.

De ces résultats, on conclue que la zone de Tadla-Azilal où la sous espèces *M. nivale majus* est la plus fréquente (avec un pourcentage de 65%) cour moins de risque pour la présence de mycotoxine. D'après Nakajima et Naito (1995), qui ont étudié la production des mycotoxines de *M. nivale* au Japon, ces derniers n'ont détecté aucune mycotoxine dans aucun des isolats de *M. nivale majus*. Par contre, les régions Marrakech-Tensift-Al Haouz Gharb-Chrarda-Bni-Hssen, Fès-Boulemane et Meknès-Tafilalet où de l'infection est causée par les espèces *F.*

*culmorum*, *F. avenaceum* et *F. graminearum*, présentent un risque toxigène causé par ces espèces

La détection de ces espèces de *Fusarium* dans notre territoire national constitue un risque pour la culture du blé (baisse de rendements et synthèse de mycotoxines produites par *F. graminearum*, *F. culmorum* et *F. avenaceum*).

*F. culmorum* représente l'espèce majoritaire isolées du blé en Allemagne alors qu'elle est quatrième en France en 2002 causant l'épidémie (Ioos et al., 2004). elle est considérée toxigène vue qu'elle produit des mycotoxines comme la zéaralénone (ZEA) qui a un effet oestrogénique (Hagler et al., 2001).

*F. avenaceum* synthétise des enniantines qui sont des molécules ionophores inhibitrices d'enzymes comme la cholestérol-acétyltransférase chez l'Homme (Meca et al., 2010).

*F. graminearum* est classée quatrième champignon phytopathogène majeur dans le monde. Ce résultat s'explique par le potentiel mycotoxinogène de *F. graminearum* qui provoque outre des baisses de rendement, des baisses de la qualité du grain et des produits transformés issus de ce grain. En effet, les grains sont rabougris et contaminés par des mycotoxines (Osborne et Stein, 2007). Cette espèce est aujourd'hui majoritaire sur le blé et l'orge dans la plupart des pays européens et en Amérique du Nord (Parikka et al., 2012). Les principales mycotoxines produites par *F. graminearum* sont les trichothécènes B, notamment le déoxynivalénol (DON), le nivalénol (NIV) et leurs dérivés acétylés (O'donnell et al., 2008). Ces derniers sont considérés comme immunosuppresseur (Bennett et Klich 2003).

Même si le pourcentage d'infestation causé par *F. graminearum* est faible en comparaison avec celui de *F. avenaceum* et *F. culmorum* pour l'année 2013/2014, cela peut varier avec le changement du climat. Et vue que les études climatiques s'accordent sur une augmentation de la température moyenne mondiale (Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC, 2007), cela accroîtrait l'importance de *F. graminearum* au détriment d'espèces comme *F. culmorum* ou *F. avenaceum* qui se développent préférentiellement en zones tempérées froides (Parikka et al., 2012)

---

## **CHAPITRE 3**

***Etude de l'effet virulent de certaines espèces  
fongiques responsables de la fusariose au  
Maroc sur la germination des graines du blé  
tendre, blé dur et l'orge***

---



## Résumé

Les champignons phytopathogènes du genre *Fusarium* et *Microdochium* isolés des semences de blé collectées des régions du Maroc pendant l'année 2013-2014 ont été manipulés pour étudier la résistance des semences de céréale disponible dans le marché marocain face à ces pathogènes. Ces espèces pathogènes se révèlent virulentes pour les graines du blé tendre, blé dur et l'orge inoculées par ces derniers. Pour l'espèce *F. culmorum*, une faible concentration de  $10^2$  spores/ml de la suspension de spores de cette espèce a marqué un effet très virulent sur les graines du blé tendre non traitées, le PIG est égale à 56% vis-à-vis un PIG de 94% pour la concentration de  $10^7$  spores/ml de cette espèce. Alors que l'espèce *F. avenaceum* s'est montrée virulente sur les graines du blé dur. *F. avenaceum* a causé une inhibition de germination de l'ordre de 29% pour les graines du blé dur traitées, et cela pour la faible concentration  $10^1$  spores/ml de la suspension de spores de cette espèce, alors qu'une concentration de  $10^7$  spores/ml a causé une inhibition totale de la germination des graines du blé dur non traitées le PIG est égale à 100%. Finalement la sous espèce *M. nivale majus* qui c'est montrée la plus virulente pour l'ensemble de céréales étudiés, les graines du blé dur non traitées sont montrées les plus fragiles, le PIG était de 60% après inoculation des graines du blé dur non traitées par une suspension de spores de concentration de  $10^1$  spores/ml. A la lumière de ces résultats les espèces causant la fusariose isolées de notre territoire national sont très virulentes, vis-à-vis les céréales étudiés, aussi que les traitements des semences utilisés semble être insuffisant pour faire face aux pertes majeurs des rendements que peut entraîner la contamination des graines des céréales par la fusariose.

Mots clés: *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *M. nivale majus*, Suspension de spores, Graines inoculées, Virulent et PIG.

## Introduction

La semence est l'intrant le plus important en agriculture, avoir des semences de qualité garantit une meilleure production lorsque les conditions sont favorables. L'une des qualités importantes d'une semence est sa condition sanitaire, en effet la présence d'un agent pathogène au niveau des semences peut être désastreuse pour diverses raisons. A savoir, des semences contaminées peuvent servir de source d'inoculum d'une maladie et provoquer des rendements faibles et une récolte de pauvre qualité.

Chapitre 3: Etude de l'effet virulent de certaines espèces fongiques responsables de la fusariose au Maroc sur la germination des graines du blé tendre, blé dur et l'orge

Le blé est parmi les céréales les plus importantes au monde, au Maroc cette culture occupe une place importante dans la production agricole avec une surface moyenne de 6,5 millions d'hectares (Aït el mekki, 2006).

L'intensification de cette culture entraîne parallèlement une augmentation des maladies qui l'affectent. La maladie de la fusariose de blé est associée à un complexe d'espèces regroupant deux genres de champignons phytopathogènes, *Fusarium* et *Microdochium* (Arseniuk et al., 1999), cette dernière est responsable des pertes considérables sur le rendement du blé (Sutton 1982), dues à la pourriture racinaire qui est la plus fréquente au niveau des céréales (Zillensky, 1983). Le principal préjudice de cette maladie et la présence dans les graines infectées des substances toxiques et dangereuses pour les humains et les animaux, appelées mycotoxines (Parry et al., 1995).

Les principales espèces responsable de la fusariose du blé, isolé de notre territoire national durant les années 2013, 2014 et 2015 sont *F. culmorum*, *F. avenaceum* et *Microdochium nivale* (Soudi et al., 2019)

*Fusarium culmorum* est un agent pathogène important du blé responsable de la pourriture du collet et de la brûlure de l'épi (fusariose de l'épi). L'agent pathogène est dominant dans les zones les plus froides telles que l'Europe du Nord, centrale et occidentale. L'importance de *F. culmorum* dans la production de blé est attribuée à la fois au mildiou et à la contamination par les mycotoxines du grain récolté dans des épis infectés. Les principales mycotoxines produites par *F. culmorum* sont le désoxynivalénol, le nivalénol et la zéaralénone, qui constituent un danger potentiel pour la santé, tant pour l'homme que pour les animaux. (Wagacha, et Muthomi, 2007)

*Fusarium avenaceum* est souvent isolé des graines malades dans les régions tempérées, mais une prévalence accrue a également été rapportée dans les régions plus chaudes du monde (Uhlig et al., 2007; Kulik et al., 2011). Le plus gros impact économique de *F. avenaceum* est lié à la pourriture du collet, ainsi qu'à la contamination des graines par les mycotoxines (Uhlig et al., 2007). Il a déjà été démontré que *F. avenaceum* produisait plusieurs métabolites secondaires, notamment la moniliformin, les enniatines, la fusarine C, l'antibiotique Y, le 2-amino-14,16-diméthyl-octadécane-3-ol (2-AOD-3-ol), le chlamydosporol, aurofusarin (Uhlig et al., 2007), (Sorensen et Giese, 2013) et récemment également fusaristatine A (Sorensen et al., 2014).

Chapitre 3: Etude de l'effet virulent de certaines espèces fongiques responsables de la fusariose au Maroc sur la germination des graines du blé tendre, blé dur et l'orge

*Microdochium nivale* est décrite dans la littérature comme agent de fusariose des épis (Parry et al., 1995), cette espèce se compose de deux sous espèces : *Microdochium nivale nivale* et *Microdochium nivale majus* (Glynn et al., 2005). Elles provoquent les mêmes symptômes sur les épis que *Fusarium* ainsi que des symptômes sur les feuilles. Les sous espèces de ce genre sont jugées incapables de produire des mycotoxines (Logrieco et al., 1991).

Dans le but d'affirmer les pertes de rendement que peut causer les espèces responsable de la fusariose sur céréales, cette présente étude a pour objectif de tester la virulence des espèces *F. culmorum*, *F. avenaceum* et la sous espèces *Microdochium nivale majus*. vis-à-vis du blé tendre, blé dur et l'orge. Ainsi le pourcentage d'inhibition de germination ou la virulence a été calculée pour chaque espèce.

## **Matériel et méthodes**

### **1. Matériel fongique**

Deux espèces du genre *Fusarium* (*F. culmorum*, *F. avenaceum*) et une sous espèce du genre *Microdochium* (*M. nivale majus*) faisant l'objet de cette étude ont été isolées à partir des semences de blé collectées des régions Doukkala, Chaouia, Haouz, Gharb et Tadla, au cours de la campagne agricole 2013/2014, par la mise en culture de ces semences sur des boites de Pétri contenant le milieu de culture PDA.

Les souches de *Fusarium* spp. et *Microdochium* isolées à partir des semences du blé ont été conservées à 4°C, après repiquages successifs sur milieu PDA. L'identification des souches fongiques purifiées a été faite à partir de l'étude de leurs caractéristiques morphologiques. *Fusarium* species, an illustrated manual for identification (Nelson et al., 1983) et The *Fusarium* laboratory manual (Leslie et Summerell, 2006) ont été les clés d'identification utilisées pour cette caractérisation. Aussi que l'identification moléculaire par PCR.

### **2. Matériel végétal**

Les semences de céréale (blé tendre, blé dur et orge) traitées (Tébuconazole) et non traitées faisant l'objet de cette étude, ont été obtenus de la SONACOS. Nous avons choisies une seule variété pour chaque céréale. Les graines d'apparence saines des trois variétés ont été désinfectées à l'hypochlorite de sodium 4° (un mélange de 1/3 de l'hypochlorite de sodium et 2/3 d'eau

Chapitre 3: Etude de l'effet virulent de certaines espèces fongiques responsables de la fusariose au Maroc sur la germination des graines du blé tendre, blé dur et l'orge

distillée stérile), pendant 1 à 2 minutes puis rincés 2 fois à l'eau distillée stérile pendant 1 minute, puis mis à sécher sur du papier filtre pendant 24 heures.

### 3. Test de virulence

La virulence du pathogène se manifeste par l'inhibition de la germination des graines. Afin d'examiner la résistance des graines du blé et orge traitées et non traitées obtenu de la SONACOS, auprès des espèces *Fusarium* et *Microdochium* la méthode adoptée est:

- Etudier la virulence des pathogènes (*F. culmorum* *F. avenaceum* et *M. nivale majus*) par rapport à des graines de céréale inoculées par des suspensions de spores du pathogène étudié, et cela pour différentes concentrations.

#### a. Préparation de l'inoculum

Pour la préparation de l'inoculum, les espèces *F. culmorum* et *F. avenaceum* et la sous espèce *M. nivale majus* sont cultivées sur le milieu PDA. Les cultures sont incubées à 23°C à l'obscurité pendant une durée variant de 7 à 10 jours. Après la durée d'incubation, la suspension de spores de chaque espèce est obtenue par raclage de la surface de culture chargée de conidies dans des conditions stériles, à l'aide d'une spatule métallique et de l'eau distillée stérile. La suspension résultante est filtrée sur de la mousseline pour séparer les conidies des fragments mycéliens. La suspension de spores ainsi obtenue, est ajustée avec de l'eau distillée stérile de façon à avoir une série de concentration allons de  $10^1$  jusqu'à  $10^7$  spores/ml calculé à l'aide de la cellule de malassez amendée avec 0.025% de Tween 20.

#### b. Inoculation des graines

La méthode adoptée est la méthode générale de Mesterhazy, 1978, elle consiste à tremper les graines désinfectées et séchés dans l'inoculum pendant 24 heures, les graines témoins sont trempées dans de l'eau distillée stérile. Les graines sont séchées à nouveau sur du papier filtre puis déposés par 10 dans des boîtes de Pétri contenant du coton imbibé d'eau distillée stérile, avec 10 répétions pour chaque concentration de suspension de spores. Les boîtes sont incubées pendant une semaine à l'obscurité et à 28°C. Le nombre de graines ayant germées est noté et le pourcentage d'inhibition de germination est ainsi calculé.

#### 4. Calcul du pourcentage d'inhibition de la germination

La virulence du champignon phytopathogène a été estimée par le pourcentage d'inhibition de la germination selon l'équation (Dorrance et *al.*, 2004):

$$\text{PIG} = [(\text{PGTe} - \text{PGTr}) / (\text{PGTe})] \times 100$$

PG Te : pourcentage de germination des graines témoins

PG Tr : pourcentage de germination des graines traitées

PIG : pourcentage d'inhibition de la germination

### Résultats et Discussion

#### 1. Virulence de *Fusarium culmorum*

Les pourcentages d'inhibition de germination des graines inoculées par *F. culmorum* pour les variétés de céréales étudiées varient de 0 à 94 % par rapport à différentes concentrations de suspension de spores de cette espèce (figure 1).

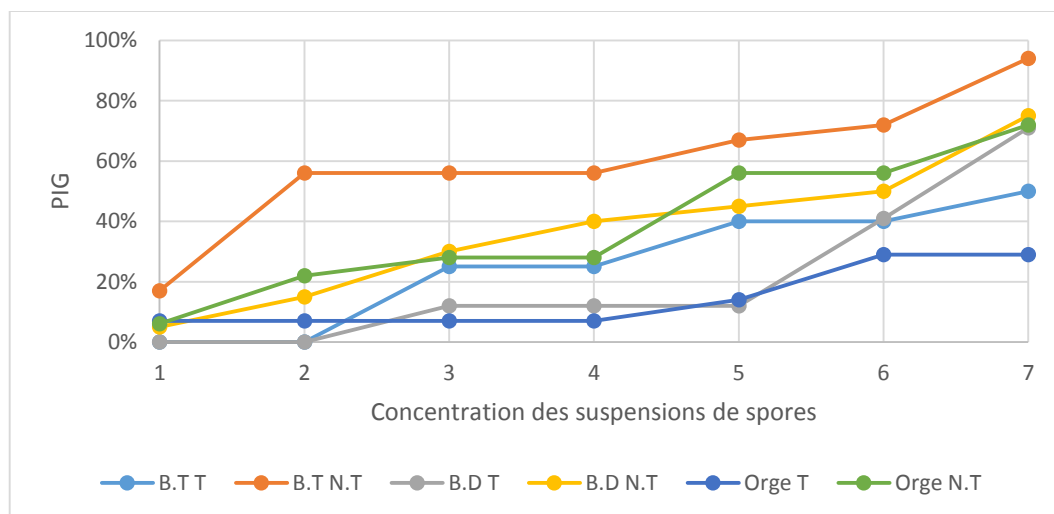


Figure 1 : Effet de différentes concentrations des suspensions de spores de *F. culmorum* sur le pourcentage d'inhibition de germination des graines du blé dur, blé tendre et orge traitée et non traitée.

Les résultats montrent que pour les graines des céréales non traitées, l'espèce *F. culmorum* a affecté fortement la germination des graines du blé tendre dès la faible concentration  $10^2$  spores/ml, où le PIG est égale à 56% vis-à-vis un PIG de 94% pour la concentration de  $10^7$  spores/ml de cette espèce. Tandis que pour les graines du blé dur et de l'orge, le PIG était supérieur ou égale à 50% jusqu'à la concentration  $10^6$  spores/ml de cette espèce.

Chapitre 3: Etude de l'effet virulent de certaines espèces fongiques responsables de la fusariose au Maroc sur la germination des graines du blé tendre, blé dur et l'orge

Pour les graines traitées, le blé tendre est moins tolérant aux suspensions de spores de *F. culmorum* où l'inhibition de la germination a été observée à partir de la concentration  $10^3$  spores/ml, avec un PIG de 25% contre seulement 12% pour le blé dur et 7% pour l'orge. Pour la forte concentration  $10^7$  spores/ml, le blé dur c'est montré plus fragile que les autres variétés des céréales étudiées, le PIG du blé dur à cette concentration est de 71%, contre 50% pour le blé tendre et 29% pour l'orge.

De ces résultats il est à noter que l'inoculation des graines des céréales étudiées (traitées et non traitées) avec des suspensions de spores de l'espèce *F. culmorum* à différentes concentrations, a affaibli la germination de ces dernières, les graines du blé tendre étaient plus contaminées. Malgré la sensibilité du blé tendre vis-à-vis à l'espèce *F. culmorum* il a montré moins d'accumulation des mycotoxines dans les graines du blé tendre inoculées par *Fusarium culmorum* (Ponts et al., 2006 ; Ponts et al., 2007)

L'espèce *F. culmorum* a montré ainsi un pouvoir pathogène sur le blé tendre blé dur et orge. Cela est en accord avec les résultats obtenus par Boughalleb et al en 2006 qui confirme que *F. culmorum* est responsable de la pourriture du collet aussi que l'échaudage des épis des céréales en Tunisie.

## **2. Virulence de *Fusarium avenaceum***

Les pourcentages d'inhibition de germination des graines inoculées par *F. avenaceum* pour les variétés de céréales étudiées varient de 0 à 100 % par rapport à différentes concentration de suspension de spores de cette espèce (figure 2).

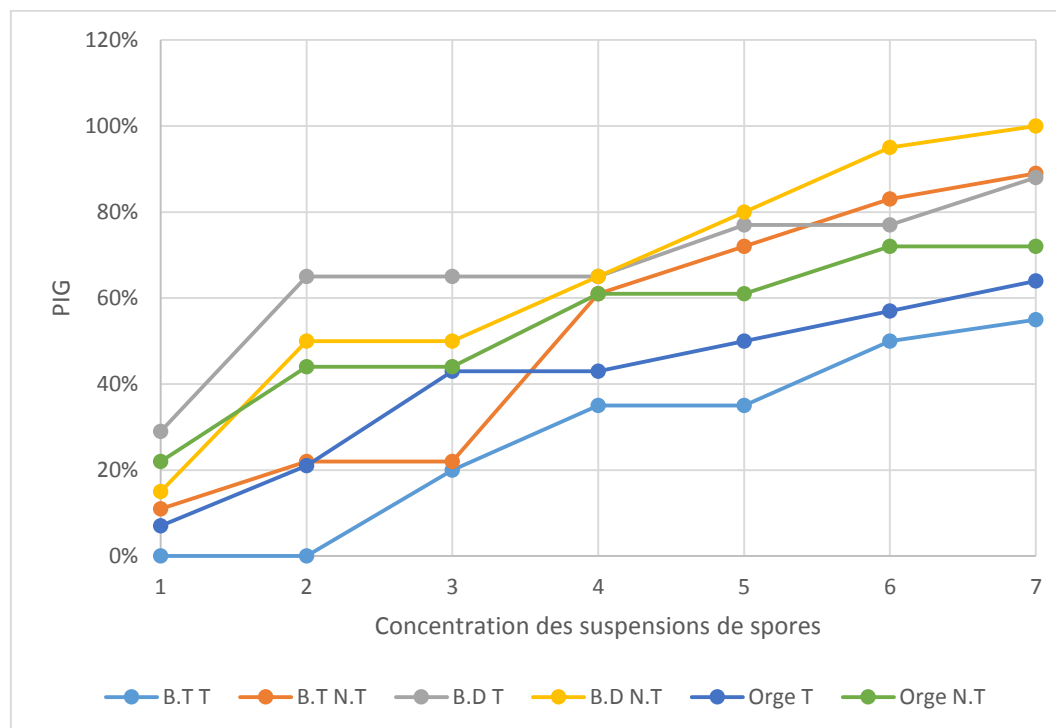


Figure 2: Effet de différentes concentrations des suspensions de spores de *F. avenaceum* sur le pourcentage d'inhibition de germination des graines du blé dur, blé tendre et orge traitée et non traitée.

L'inoculation des graines du blé dur avec une faible concentration de suspension de spores ( $10^1$ ) de l'espèce *F. avenaceum* a causé une inhibition de germination de l'ordre de 29% pour les graines traitées, contre 15% pour celles non traitées. Tandis qu'une concentration de  $10^7$  spores/ml de cette espèce a causé une inhibition totale de la germination des graines du blé dur non traitées, le PIG est égal à 100% contre à 88% pour les graines traitées.

Pour le blé tendre, les graines traitées ont montré une résistance face aux suspensions de spores de concentration  $10^1$  et  $10^2$  de cette espèce (PIG = 0%). À une concentration de  $10^7$  spores/ml le PIG était de 55%. Tandis que pour les graines non traitées le PIG a dépassé 60% lors de l'inoculation des graines avec une suspension de spores de  $10^4$ .

De même pour l'orge les graines traitées étaient plus résistantes que celles non traitées. À une concentration de l'ordre de  $10^1$  des spores de *F. avenaceum* le PIG était de 7%, il a atteint 64% pour la concentration  $10^7$ . Par contre les graines non traitées à une concentration de  $10^1$  spores/ml de cette espèce le PIG était de 22%, tandis que pour la concentration  $10^7$  spores/ml le PIG était de 72%.

De ces résultats on peut conclure que *F. avenaceum* affecte la germination des graines avec ou sans traitement. Les graines du blé dur inoculées par les suspensions de spores de *F. avenaceum* étaient les plus sensibles par rapport à celles du blé tendre et d'orge. D'après Ioos et al en 2004 l'espèce *F. avenaceum* est responsable de la pourriture du collet et de la fusariose de l'épi.

### 3. Virulence de *Microdochium nivale majus*

Les pourcentages d'inhibition de germination des graines inoculées par *Microdochium nivale majus* pour les variétés de céréales étudiées sont très élevés, variant de 22 à 100 % suivant les différentes concentrations de suspension de spores de cette espèce (figure 3).

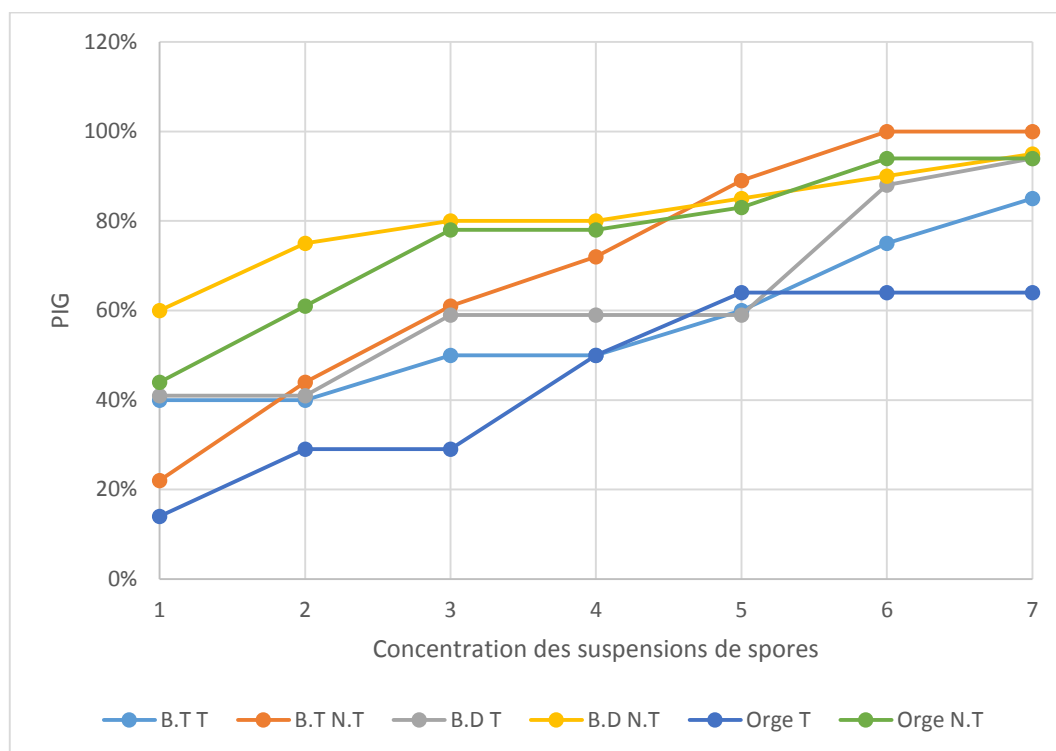


Figure 3: Effet de différentes concentrations des suspensions de spores de *Microdochium nivale majus* sur le pourcentage d'inhibition de germination des graines du blé dur, blé tendre et orge traitée et non traitée.

Les suspensions de spores de *Microdochium nivale majus* affaiblissent fortement la germination des graines du blé tendre, blé dur et orge, traitées et non traitées, et cela à partir de faible concentration de cette sous espèce.

Les graines du blé dur non traitées sont montrées les plus fragiles, le PIG était de 60% après inoculation des graines par une suspension de spores de concentration de  $10^1$ . Cependant depuis



Chapitre 3: Etude de l'effet virulent de certaines espèces fongiques responsables de la fusariose au Maroc sur la germination des graines du blé tendre, blé dur et l'orge

la concentration  $10^3$  de spores de *Microdochium nivale majus*, le PIG de la quasi-totalité des graines de céréales étudiées était supérieur à 50%.

Ces résultats obtenus sont en accord avec ceux de Smiley et Patterson en 1996, qui considèrent *Microdochium nivale* comme espèce responsable de la fonte de semis et l'échaudage des épis, et ainsi une infection significative des semences, provoquant une mauvaise germination.

## **Conclusion**

À partir de ces résultats, nous pouvons conclure que les espèces *F. culmorum*, *F. avenaceum* et la sous espèce *M. nivale majus* responsables de la fusariose du blé au Maroc, causent une forte inhibition de la germination des graines inoculées par des suspensions de spores de ces espèces même à faible concentration. Cela a été observé pour le blé tendre, blé dur et orge, traité (Tébuconazole) et non traité. La forte inhibition de la germination des céréales due à ces espèces fongiques a été enregistrée même pour les graines traitées.

Ces résultats sont alarmants et traduisent le risque que cour les céréales quand les spores du pathogène sont présentes dans la graine, ces derniers peuvent causer d'énorme perte de rendement. D'où l'intérêt d'établir des traitements de semences efficace contre la fusariose.

---

## **CHAPITRE 4**

***Etude du comportement de quatre variétés  
de blé dur et quatre variétés de blé tendre à  
l'inoculation artificielle du *Fusarium  
culmorum*, *Fusarium avenaceum* et *M.  
nivale majus****

---

## Résumé

Quatre variétés de blé tendre (Salama, Amal, Fadila et Radia) et quatre variétés de blé dur (Karim, Tarek, Kanakis et Grecale) de sensibilité inconnue vis-à-vis de la fusariose ont été soumises à une infection artificielle, par inoculation des semences dans des suspensions de spores de *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum* et *Microdochium nivale majus*, de concentration  $10^3$  spores/ml. L'inoculation des semences par les différentes suspensions fongiques montre la sensibilité des variétés pour la résistance à la pénétration du pathogène et la résistance à l'extension des symptômes de la maladie. La sous espèce *M. nivale majus*, a causé une fonte des semis des graines pour l'ensemble des variétés étudiés, tandis que les espèces *F. culmorum* et *F. avenaceum* ont provoqué des pourcentages d'infection des racines et du collet par le champignon qui ont dépassé 30% (pourriture des racine et du collet), pour les variétés Radia, Fadila, Salama pour le blé tendre, alors que pour le blé dur l'ensemble des variétés étudiés ont signalé un pourcentage d'infection soit des racines ou du collet, qui est supérieur à 30%.

Mots clés: Blé tendre; Blé dur, *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum*, *Microdochium nivale majus*, Racines, Collet, Fonte des semis, Pourriture des racines et Pourriture du collet.

## Introduction

Le blé (*Triticum*) est l'une des plus importantes céréales produites dans le monde. Comme d'autres plantes, le blé est une communauté complexe étroitement associée à divers microorganismes qui colonisent les tissus internes ou externes (Comby et al., 2016, Porras-Alfaro et Bayman, 2011). Plusieurs auteurs ont démontré que les plants de blé hébergent diverses communautés d'endophytes, principalement des espèces fongiques (Larran et al., 2007). Les endophytes sont des composants importants des microbiomes végétaux. Ils ont été définis comme des microorganismes qui vivent dans les tissus végétaux au moins une partie de leur cycle de vie sans causer de symptômes de maladie (Pimentel et al., 2011). Cette définition large inclut non seulement les symbiotes mutualistes et commensalistes, mais également les saprotrophes latents et les pathogènes fongiques potentiels qui présentent une période d'infection latente pendant tout ou partie de leur vie sans montrer de symptômes (Porras-Alfaro et Bayman, 2011)

Au cours des dernières années, de nombreux chercheurs ont signalé la présence d'endophytes présents dans les graines de différentes plantes, y compris les plantes graminées. Cependant, le

Chapitre 4: Etude du comportement de quatre variétés de blé dur et quatre variétés de blé tendre à l'inoculation artificielle du *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum* et *M. nivale* majus

rôle des endophytes associés aux semences dans la croissance et la santé des plantes est toujours sous-estimé (Ruiz et al., 2011).

Plusieurs espèces endophytes appartenant au genre *Fusarium* ont été isolées des feuilles, des tiges et des graines de blé, telles que *F. culmorum*, *F. graminearum* *F. oxysporum* et *F. avenaceum*. (Comby et al., 2016, Larran et al., 2007)

En outre, les cultures de blé sont affectées par différentes espèces fongiques de ce genre associées à la pourriture du collet, des racines et l'échaudage des épis, provoquant des symptômes tels que: perte de rendement en grain, réduction du peuplement et pourriture des graines, plants, racines, et des tiges, et brûlure des plantules. Cela est principalement causée par *F. culmorum*, *F. pseudograminearum*, *F. graminearum*, *F. avenaceum* et *Microdochium nivale*, dont certains ont déjà été identifiés comme endophytes, comme indiqué ci-dessus. Fait intéressant, il a été signalé que toutes les espèces de ce complexe peuvent causer la fusariose, la maladie des céréales majeure dans le monde (Moya-Elizondo, 2013).

En outre, différentes espèces du genre *Fusarium* sont connues pour produire divers métabolites secondaires, dont certains peuvent avoir des effets défavorables sur la santé humaine et animale (mycotoxines) (Leslie et Summerell, 2006). En ce sens, le genre *Fusarium* et sa mycotoxicologie ont été largement documentés (Desjardins, 2006).

On sait que, selon les conditions environnementales, les plantes infectées par *Fusarium* spp. et *Microdochium* peuvent soit présenter des symptômes de la maladie, soit rester asymptomatique (Wilke et al., 2007). De plus, les conditions environnementales telles que la température et la disponibilité en eau affectent la capacité des espèces de *Fusarium* et *Microdochium* à germer, à coloniser les substrats et les niches écologiques et à produire des mycotoxines (Lacey et Magan, 1991).

Lors des enquêtes de détection de l'agent pathogène responsable de la fusariose du blé au Maroc effectuées à l'Ecole nationale d'agriculture au cours des années 2013/2014 et 2014/2015, plusieurs espèces ont été isolées. Dans le but de prouver la sensibilité des variétés de blé cultivées au Maroc vis-à-vis les espèces du genre *Fusarium*, et *Microdochium*, une étude sur le comportement de quatre variétés de blé dur et quatre variétés blé tendre face à l'inoculation artificielle de *Fusarium culmorum* *Fusarium avenaceum* et *Microdochium nivale* majus a été mené.

## Matériel et méthodes

L'étude a été réalisée à l'unité de phytopathologie de l'Ecole Nationale d'Agriculture de Meknès (ENAM), au sein d'une serre ombrière.

### 1. Matériel végétal

L'expérience a été menée sur plusieurs variétés de blé dur et de blé tendre traitées (Tébuconazole), récupérées directement de chez la SONACOS et dont les caractéristiques sont présentées ci-dessous (Tableau 1).

Tableau 1 : Principales caractéristiques des variétés de blé étudiées (Anonyme b, 2013).

	Blé tendre				Blé dur			
	Radia	Salama	Amal	Fadila	Karim	Kanakis	Tarek	Grecale
Zones d'adaptation	Large	Large	Bour favorable, irrigué.	Bour et irrigué	Large	Bour et irrigué	Large	Bour et irrigué
Taille de la plante	Moyenne	Moyenne	Haute	Assez haute	Moyenne	Moyenne à haute	Moyenne	Moyenne
Couleur des graines	Rousse	Rousse	Blanche	Rousse	Blanche ambrée	Blanche	Blanche ambrée	Dorée
Précocité à l'épiaison	Demi-précoce	Demi-précoce	Demi-tardive	Demi-précoce	Précoce	Demi-précoce	Demi-précoce	Demi-précoce
Productivité	Très élevée	Très élevée	Elevée	Elevée	Elevée	Elevée	Elevée	Elevée
Teneur en protéines	12,71%	13,32%	12,92%	14,63%	13,50%	14%	15%	12,5%
PMG (g)	40-42g	42-44g	29-31g	28-31g	37-39g	45-50g	36-38g	36-38g
Poids spécifique	Très bon	Bon	Bon	Bon	Bon	Bon	Bon	Bon
Résistance aux maladies	Assez bonne	Moyenne	Assez bonne	Assez bonne	Assez bonne	Bonne	Assez bonne	Bonne

Chapitre 4: Etude du comportement de quatre variétés de blé dur et quatre variétés de blé tendre à l'inoculation artificielle du *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum* et *M. nivale majus*

Afin d'évaluer la contamination des semences par la fusariose, un sous-échantillon des semences de chaque variété composé de 100 graines a été sélectionné pour les essais. Les semences utilisées sont exemptes des sources possibles de contamination fongique.

Les graines de blé de chaque variété sélectionnée ont été divisées en deux lots de semences. Le premier lot a été inoculé par l'agent pathogène *Fusarium* et *Microdochium*, alors que le deuxième a été considéré un lot sain qui a été représenté comme témoin.

Le processus de préparation des semences comprend la désinfection des graines de blé par :

- Trempage des semences dans une solution d'hypochlorite de sodium 4° (un mélange de 1/3 de l'hypochlorite de sodium et 2/3 d'eau distillée stérile) pendant une minute ;
- Rinçage des graines deux fois dans de l'eau distillée stérile ;
- Séchage des semences sur papier filtre stérile sous la flamme du bec benzène.

## **2. Matériel fongique**

### **a. Espèces fongiques**

Les espèces *F. culmorum*, *F. avenaceum* et la sous espèce *M. nivale majus* sélectionnées pour l'inoculation, ont été isolées à partir des semences de blé collectées des régions Doukkala, Chaouia, Haouz, Gharb et Tadla, au cours de la campagne agricole 2013/2014, par la mise en culture de ces semences sur des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture PDA.

### **b. Préparation de l'inoculum**

La suspension fongique a été préparée à partir de cultures de champignon (inoculum) âgées de 10 jours, cultivées sur un milieu de culture PDA, et incubées dans l'obscurité à 23°C. Par addition de 10 ml d'eau distillée stérile, les spores ont été récupérées en grattant légèrement la surface de l'agar avec une anse stérile.

La suspension de spores ainsi obtenue, est ajustée avec de l'eau distillée stérile de façon à avoir une concentration de  $10^3$  spores/ml, calculée à l'aide d'une cellule de Malassez amendée avec 0.025% de Tween 20, cette concentration de l'agent fongique a été déterminée comme permettant une bonne expression des champignons.

### c. Inoculation des graines

La méthode adoptée est la méthode générale de Mesterhazy, 1978, elle consiste à tremper les graines désinfectées et séchées dans l'inoculum pendant 24 heures, les graines témoins sont trempées dans de l'eau distillée stérile. Les graines sont séchées à nouveau sur du papier filtre.

### 3. Matériel inerte

Les semences du blé immergées par l'inoculum ont été déposés dans des pots en plastique de 150 ml, contenant un mélange de tourbe noire (Tableau 2), sable stérile et le sol, aux proportions respectives de 1/3 chacun. Le sable utilisé a été précédemment analysé pour la contamination au *Fusarium* et jugé indemne.

Avant son utilisation pour la plantation, le sable et le sol ont été stérilisés par un double autoclavage à la température de 120 °C pendant 2 heures avec un intervalle de 24 heures entre les 2 autoclavages puis laissé pendant 10 jours avant d'être utilisé.

Tableau 2: Caractéristiques de la tourbe utilisée.

Matière sèche : en % de masse de produit brut	25
Matière organique : en % de masse de produit sec	90
pH (eau)	6
Conductivité en ms/m	40
Capacité de rétention pour l'eau en %	80
Engrais NFU	1,5
Masse en kg	20
Volume en litres	70

### 4. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental adopté pour l'essai est un DCA (Dispositif Complètement Aléatoire), avec comme facteurs : la variété du blé, l'espèce (*F. culmorum*, *F. avenaceum*, *M. nivale majus*) et le traitement fongique.

Chapitre 4: Etude du comportement de quatre variétés de blé dur et quatre variétés de blé tendre à l'inoculation artificielle du *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum* et *M. nivale* majus

Le dispositif expérimental a été réalisé en effectuant un nombre de répétitions de 4. La moitié du total des répétitions a été utilisée pour chacun des stades de développement analysés (la levée en 3 et 5 cm et le stade 3 feuilles).

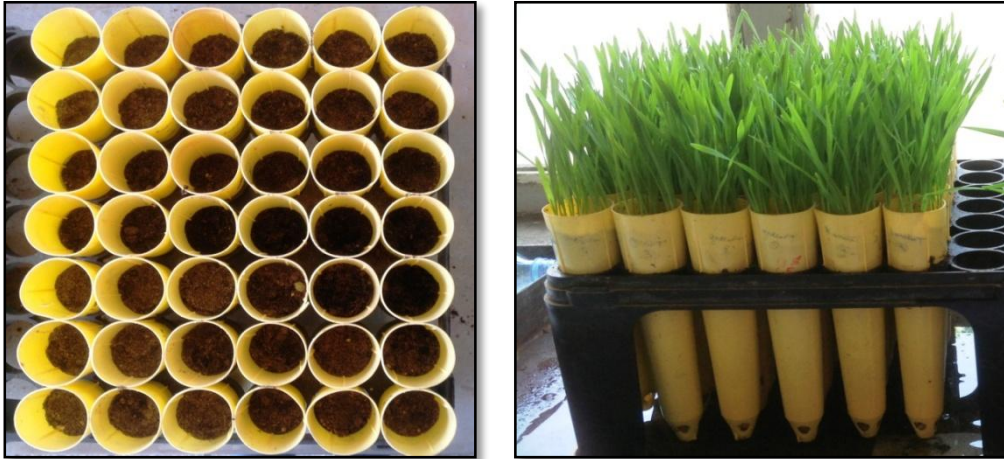


Figure 1: Dispositif expérimental adopté dans l'essai.

### **5. Irrigation et fertilisation**

Les plants ont été irrigués une fois par jour le matin afin de s'assurer que le substrat reste humide sans le saturer. Une vérification quotidienne a été effectuée pour éviter les carences.

La fertilisation n'a pas été nécessaire puisque le substrat était suffisamment riche en éléments nutritifs pour maintenir une bonne nutrition pour le développement de la plante jusqu'au stade désiré pour l'analyse.

### **6. Stades de développement analysés**

L'analyse a été réalisée pour les stades de développement suivants :

- a. La levée en 3 et 5 cm ;
- b. Le stade « 3 feuilles ».





Figure 2: Stades de développement analysés. La levée (A), Stade 3 feuilles (B).

### 7. Analyses morphologiques

Pour chaque stade de développement, les racines et collets ont été préparés à partir de chaque plant de blé. Les fragments ainsi obtenus, ont été rincés à l'eau courante du robinet pendant 15 minutes. Le matériel végétal a été désinfecté par une solution d'hypochlorite de sodium (4°) pendant 1 min puis rincés à l'eau distillée stérile 2 fois pendant 2 minutes, et séchées sur du papier filtre stérile sous la flamme du bec benzène.

Les fragments ainsi traités ont été déposés aléatoirement à raison de 5 éléments par boîte de Pétri (par 4 répétitions). Les parties ont été incubées sur un milieu de culture nutritif PDA à 23 °C et à l'obscurité pendant 10 jours.

## Résultats

Les résultats du comportement variétal des semences de blé tendre et dur vis-à-vis les espèces fongiques *F. culmorum*, *F. avenaceum* et la sous espèce *M. nivale majus*, pour les 2 stades de développement de l'étude (la levée en 3 et 5 cm ; le stade 3 feuilles) sont résumés dans les figures suivantes.

Les 2 parties analysées à savoir la racine et le collet provenant des semences inoculées par les espèces *F. culmorum* et *F. avenaceum* montrent que l'ensemble des colonies isolées à partir des 2 parties analysées à savoir la racine et le collet ont été identifiées comme étant *F. culmorum* ou *F. avenaceum*.

Les semences inoculées par la sous espèce *M. nivale majus*, n'ont pas germées.

Les figures suivantes présentent l'évaluation des contaminations fongiques par *F. culmorum* et *F. avenaceum* pour les différentes variétés de semences utilisées lors de l'essai.

### 1. Variétés de blé tendre

#### ➤ Variété Radia

Les résultats de la contamination des semences par *F. culmorum* pour les deux stades d'études ont enregistré que le pourcentage d'infection des racines et collets analysés, accroît avec la croissance de la plante. A la levée le pourcentage d'infection des racines analysées était de l'ordre de 24% vis-à-vis 14% pour le collet, alors qu'au stade 3 feuilles cette infection c'est accentuée pour atteindre 44% pour les racines et 29% pour les collets.

Pour le témoin, au début du cycle de la plante l'infection était quasiment très faible pour les deux parties de la plante analysées (ne dépasse pas 5%), au stade 3 feuilles une augmentation brusque de l'infection par le pathogène de l'ordre de 10% a été signalé.

Pour l'espèce *F. avenaceum*, les mesures relevées chez le témoin ont été inférieures à celles relevées sur les plantes contaminées pour les deux stades de développement. *F. avenaceum* a enregistré une infection des racines au stade 3 feuille de 36%, tandis que l'infection des collets et de 27%. (Figure 3)

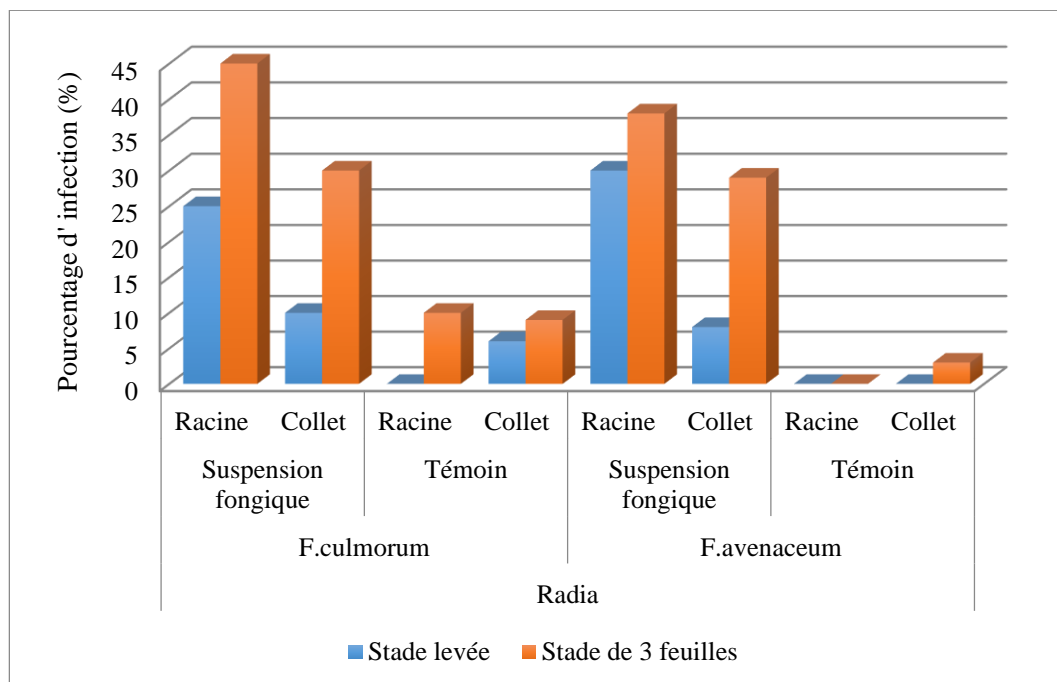


Figure 3: La contamination fongique de la variété « Radia ».

➤ Variété Salama

Les résultats obtenus concernant la variété Salama montrent que les mesures des plantes infectées par *F. culmorum* ont été inférieures par rapport aux mesures de *F. avenaceum*. Le pourcentage de contamination démontré pour *F. avenaceum* au niveau des racines était de 29% à la levée et 31% au stade 3 feuilles, pour le collet à la levée l'infection était de 19% opposée à 28% pour le stade de 3 feuilles.

Du stade « levée » au stade de « 3 feuilles », la suspension fongique a enregistré une augmentation de l'infection des plantes infectées par le pathogène par rapport au témoin. (Figure 4)

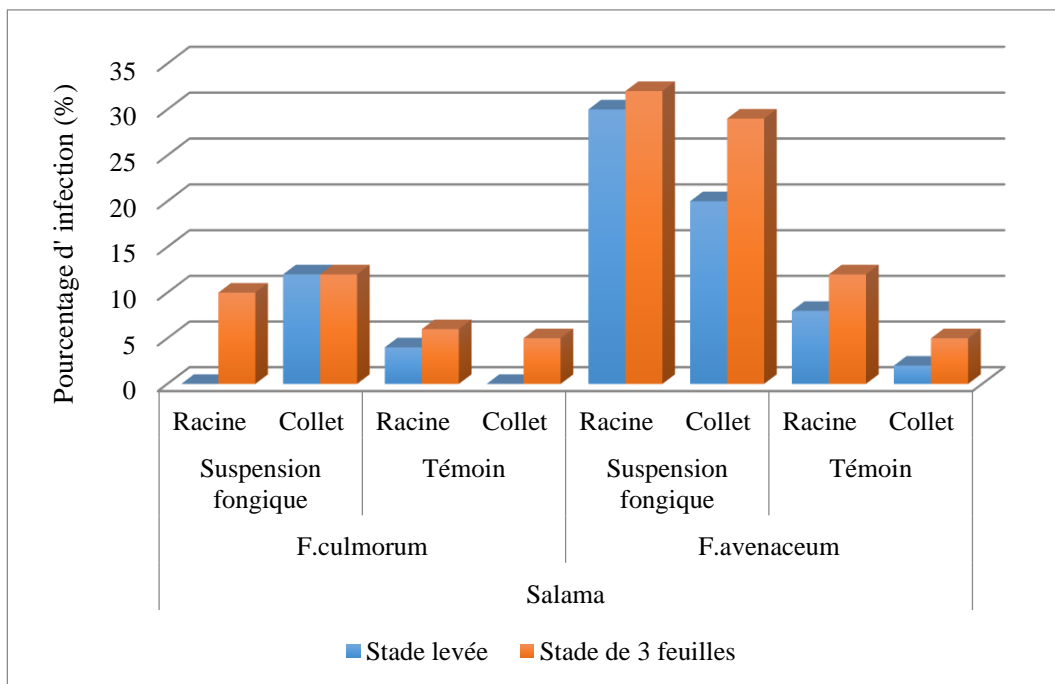


Figure 4: La contamination fongique de la variété « Salama ».

➤ Variété Amal

Le témoin a montré une infection par le champignon pour les deux stades de développement.

A la levée, les résultats montrent que *F. culmorum* a entraîné une contamination plus élevée par rapport à *F. avenaceum* (les semences inoculées par *F. culmorum* cause l'infection de 19% des

Chapitre 4: Etude du comportement de quatre variétés de blé dur et quatre variétés de blé tendre à l'inoculation artificielle du *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum* et *M. nivale* majus

racines analysées, par contre *F. avenaceum* induit à une faible infection des racines 4%) l'infection

Au stade 3 feuilles, en comparant les résultats obtenus avec le premier stade, il ressort que les niveaux d'infection par *F. culmorum* et *F. avenaceum* ont été considérablement élevés pour le témoin de même pour les semences inoculées par les suspensions fongique. (Figure 5)

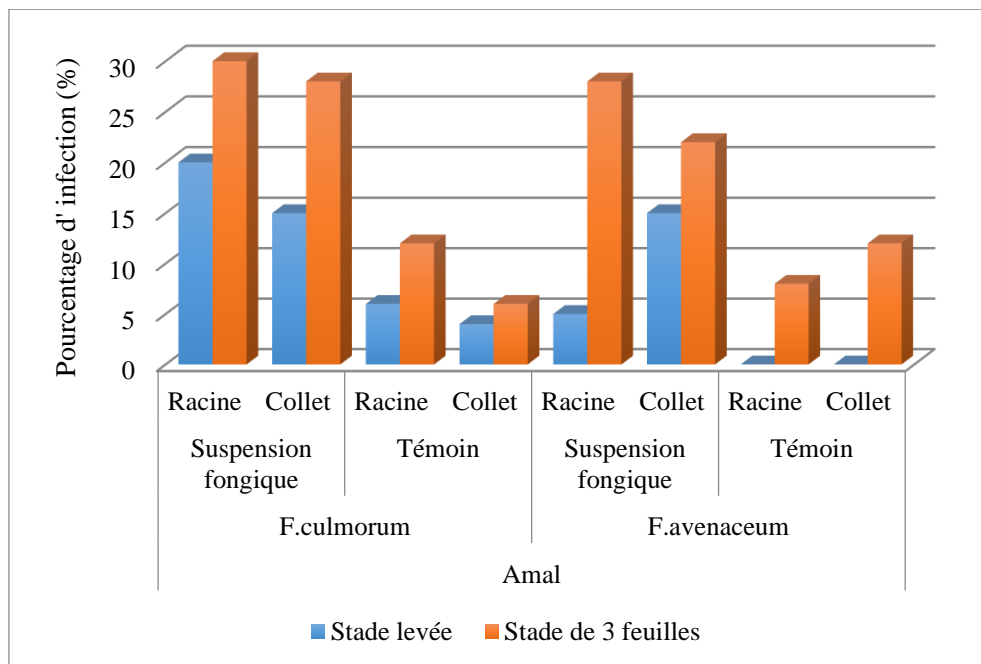


Figure 5: La contamination fongique de la variété « Amal ».

➤ Variété Fadila :

En se basant sur la figure 6, ces résultats confirment que l'infection fongique de cette variété varie selon les stades ;

- Stade « levée » : les plantes inoculées par *F. culmorum* ont enregistré une infection plus élevée en comparaison avec *F. avenaceum*. Le témoin a montré une contamination inférieure par ces espèces fongiques.
- Stade « 3 feuilles » : les résultats enregistrés dans ce stade ont montré une augmentation significative de l'infection par *F. culmorum* et *F. avenaceum* pour les parties des plantes isolées (racine et collet).

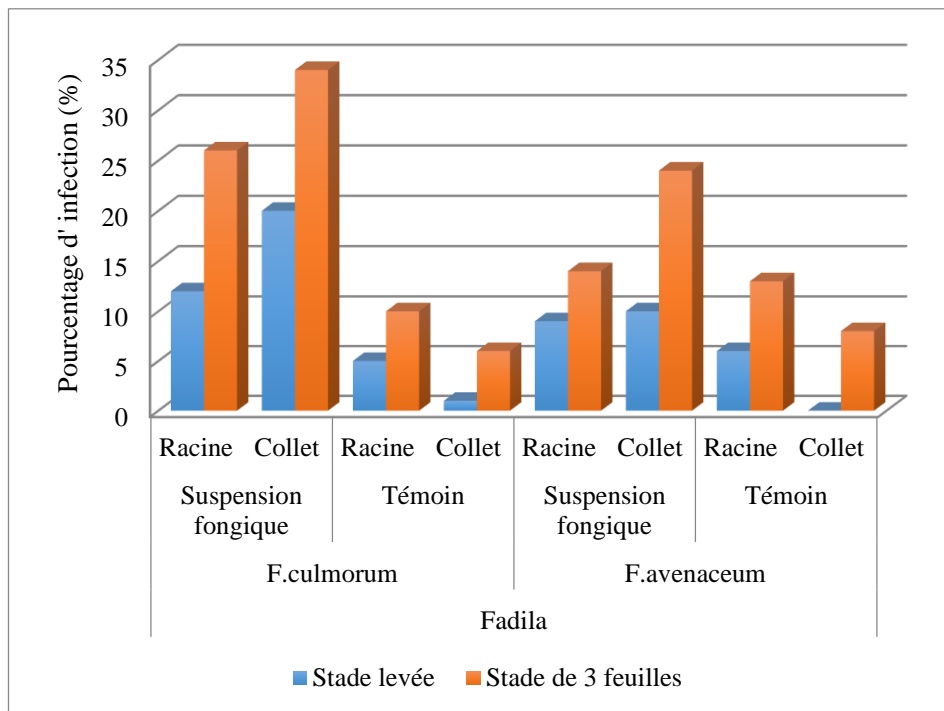


Figure 6: La contamination fongique de la variété « Fadila ».

## 2. Variétés de blé dur

### ➤ Variété Karim :

A la levée la contamination des racines par les 2 espèces *F. culmorum* et *F. avenaceum* était à peu près similaire de l'ordre de 20%, au niveau du collet l'espèce *F. culmorum* été plus agressive (infection de 15%) que *F. avenaceum* (infection de 8%).

Au stade 3 feuilles, pour *F. culmorum* le pourcentage d'infection des racines et collet était ascendant (25% pour les racines et 29% pour les collets), tandis que pour *F. avenaceum* le pourcentage d'infection des racines et collets était descendant (31% pour les racines et 17% pour les collets).

Le témoin a enregistré une infection non négligeable par rapport aux plantes inoculées par la suspension fongique.

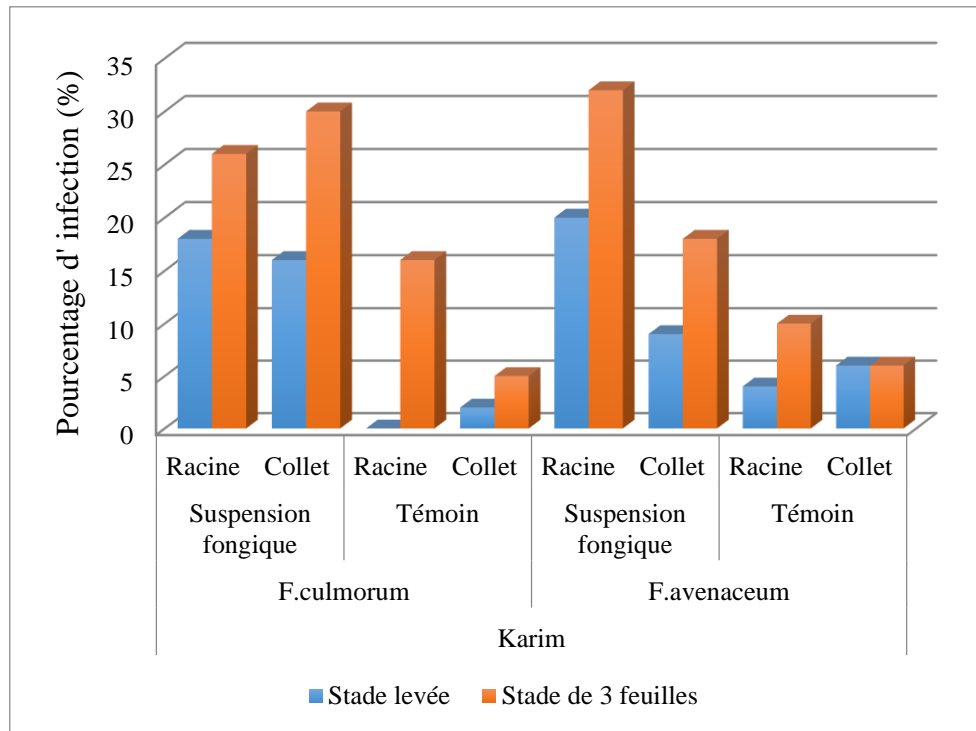


Figure 7: La contamination fongique de la variété « Karim ».

➤ Variété Tarek:

La figure 8 montre que sur le lot des semences inoculées, *F. culmorum* a causé une contamination élevée au niveau de la racine (23%), et *F. avenaceum* au niveau du collet (21%), et cela pour le stade de levé.

Pour le stade de « 3 feuilles », nous avons noté une augmentation des mesures au niveau des deux espèces, les racines et collet de la suspension fongique ont enregistré une infection plus élevée par rapport au témoin.

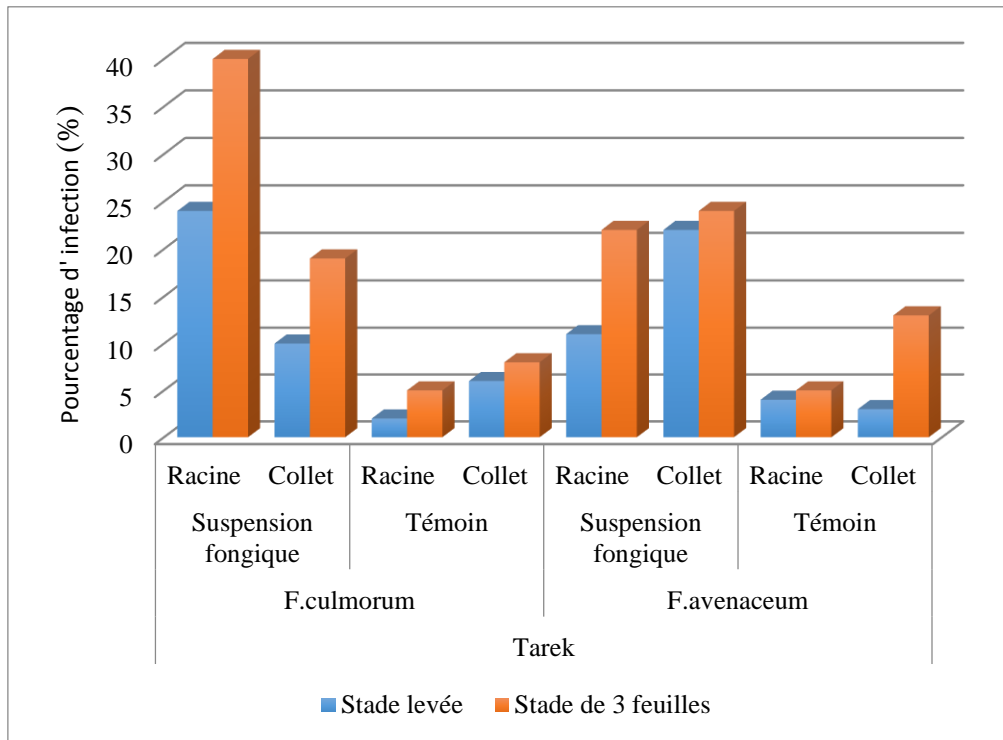


Figure 8: La contamination fongique de la variété « Tarek ».

➤ Variété Kanakis:

D'après la figure 9, les résultats d'infection des racines et collet étaient presque similaires pour les deux espèces (ne dépasse pas 21%), sauf que les racines provenant des semences inoculées par *F. avenaceum* ont enregistré des mesures plus élevées au stade 3 (infection de 31%).

Le témoin a été contaminé à un niveau inférieur par rapport à la suspension fongique, mais cette infection est non négligeable.

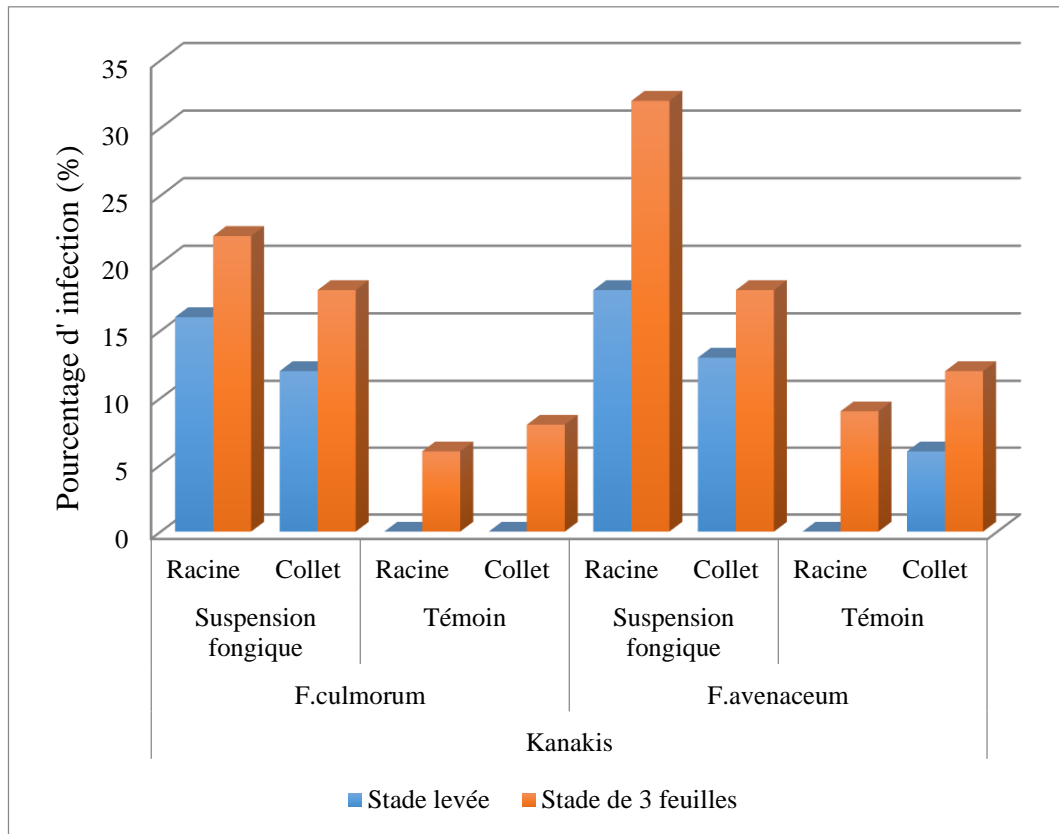


Figure 9: La contamination fongique de la variété « Kanakis ».

➤ Variété Grecale:

La figure 10 montre que l'inoculation des semences de cette variété de blé par l'espèce *F. culmorum* a causé une forte infection au niveau des racines pour les deux stades d'études, l'infection était de 25% à la levée vis-à-vis 49% au stade 3 feuilles. Cette infection a diminué aux niveaux des collets.

*F. avenaceum* a enregistré des mesures inférieures par rapport à *F. culmorum* (au niveau des racines et collets).

Pour les semences inoculées par *F. avenaceum*, aucune différence n'a été observée entre le niveau d'infection des plantes infectées et celui du témoin.



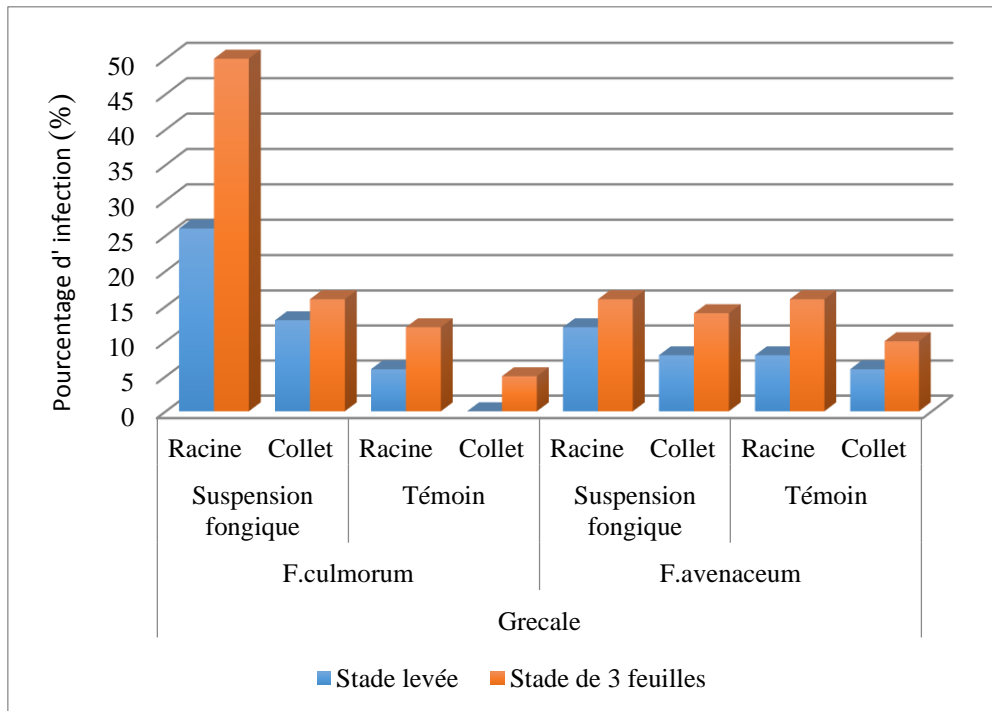


Figure 10 : La contamination fongique de la variété « Grecal ».

### 3. Analyses statistiques

Les dispositifs présentés dans cet essai ont pour objectif de tester l'effet probable de la variété, l'espèce et le traitement fongique, sur l'incidence des plants.

L'analyse univariée de la variance à trois facteurs des données obtenues dans la levée (tableau 3) et le stade 3 feuilles (tableau 4), montre que les différences observées entre les traitements fongiques sont statistiquement significatives au seuil de 5 %. En effet, le seuil de signification calculé est inférieur à 0.05 comme le montre les tableaux ci-dessous, on rejette donc l'hypothèse nulle d'absence d'effet daitement fongique sur le taux d'incidence des plantes.

Tableau 3 : Résultats de la variance univariée de la variance à trois facteurs pour le stade levé.

Source	Somme des carrés de type III	Ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Modèle corrigé	,319 <sup>a</sup>	31	,010	3,204	,001
Ordonnée à l'origine	,533	1	,533	165,883	,000
Variété	,005	7	,001	,219	,978
<u>Espèce_fongique</u>	6,250E-006	1	,006	,002	,965
<u>Tr_fong</u>	,243	1	,243	75,504	,000
Variété *					
<u>Espèce_fongique</u>	,037	7	,005	1,642	,159
<u>Variété * Tr_fong</u>	,007	7	,001	,317	,941
<u>Espèce_fongique *</u>					
<u>Tr_fong</u>	,001	1	,001	,195	,662
Variété *					
<u>Espèce_fongique *</u>	,027	7	,004	1,198	,332
<u>Tr_fong</u>					
Erreur	,103	32	,003		
Total	,955	64			
Total corrigé	,422	63			

a. R deux = ,756 (R deux ajusté = ,520)

Tableau 4 : Résultats de la variance uni variée de la variance à trois facteurs pour le stade 3 feuilles.

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Modèle corrigé	,653 <sup>a</sup>	31	,021	4,476	,000
Ordonnée à l'origine	1,887	1	1,887	400,863	,000
variété	,021	7	,003	,635	,724
<u>esp_fong</u>	,002	1	,002	,319	,576
<u>tr_fong</u>	,485	1	,485	102,970	,000
variété * <u>esp_fong</u>	,050	7	,007	1,521	,196
variété * <u>tr_fong</u>	,042	7	,006	1,265	,298
<u>esp_fong * tr_fong</u>	,005	1	,005	1,078	,307
variété * <u>esp_fong *</u>					
<u>tr_fong</u>	,049	7	,007	1,493	,205
Erreur	,151	32	,005		
Total	2,691	64			
Total corrigé	,804	63			

a. R deux = ,813 (R deux ajusté = ,631)

## Discussion et conclusion

La notation de symptômes a été réalisée à la même date pour les 8 variétés. Il aurait été souhaitable de faire une notation supplémentaire pour les épis. Cette dernière notation s'est avérée impossible, les pots en plastique de 150 ml ne permettait pas le développement du blé jusqu'à le stade épiaison.

L'inoculation des semences de blé tendre et dur pour les 8 variétés, par une concentration de spores de  $10^3$  de la sous espèce *M. nivale majus*, a causé une fonte des semis, et cela a été démontré par Parry et *al.* en 1995.

Le comportement des 8 variétés de du blé tendre et dur vis-à-vis l'inoculation des semences par une suspension fongique de *F. culmorum* et *F. avenaceum* de concentration de  $10^3$  spores/ml, confirme que le développement de la maladie a été satisfaisant pour toutes les variétés de blé tendre et dur étudiées. Les résultats montrent que la différence entre les témoins et les semences inoculées par le champignon se manifeste de façon nette.

Cela nous a permis de conclure que ces deux espèces peuvent être responsables d'énormes dégâts sur la plante de blé, les racines et les collets analysés ont fait preuves de la sensibilité de ces variétés face à ces espèces. Ces résultats viennent confirmer des travaux antérieures qui considèrent *F. culmorum* et *F. avenaceum* comme agents responsable de la pourriture des racines et du collet (Smiley et Patterson, 1996) aussi que L'échaudage de l'épi (Ioos et *al.*, 2004).

Le stade de 3 feuilles était le stade où les spores du champignon ont envahis plus la plante induisant ainsi une augmentation du pourcentage d'infection des racines et collets.

- *F.culmorum* : cette espèce a réalisé une infection importante au niveau des variétés Radia, Amal, Fadila, Tarek et Grecale
- *F.avenaceum* : cette espèce a réalisé une infection importante au niveau des variétés Radia, Salama et Kanakis
- La variété Karim a démontré des taux d'infection plus au moins similaires pour les deux types de suspensions fongiques.

Il en ressort des résultats obtenus que la méthode d'inoculation artificielle des semences par le champignon fongique, a permis de montrer que les semences contaminées par les espèces, *F.culmorum* et *F.avenaceum* dans les plantations peuvent être transmises vers les tissus de la

Chapitre 4: Etude du comportement de quatre variétés de blé dur et quatre variétés de blé tendre à l'inoculation artificielle du *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum* et *M. nivale majus*

plante et migrer à différents stades de son développement et colonisé ainsi les épis. D'après Argyris et *al.* en 2005 les champignons induisant la fusariose de blé peuvent migré jusqu'aux épis, en infectant l'épi ces champignons sont connus pour avoir une croissance préférentielle vers les épillets inférieurs de l'épi où les tissus sont plus riches en eau.

La détection de la fusariose chez le témoin sain relève que les agents pathogènes présents au niveau des plantes contaminées ont été capables de se transférer aux plants sains dans les plantations. Ceci peut être expliqué par une contamination croisée causée par divers moyens de dispersion tels que le vent, l'eau ou autre comme il a été signalé par Fernando et *al.* en 2000. Cette croissance des agents pathogènes peut être considérée comme une source d'inoculation et peut causer une dispersion de la fusariose en présence des conditions favorables.

A la lumière de ces résultats, ou l'inoculation des semences par une concentration de  $10^3$  de spores de *M. nivale majus* a causé la fonte de semis des semences, ainsi l'inoculation des semences par les espèces *F. culmorum* et *F. avenaceum* a entraîné des pourcentages d'infection des racines et du collet par le champignon qui ont dépassé 30%, pour les variétés: Radia, Salama, Fadila, du blé tendre et les variétés: Karim, Tarek, Kanakis et Grecale, pour le blé dur. Nous pouvons conclure que les variétés étudiées se heurtent fragiles a ces champignons, et la présence de ces derniers dans les semences et même dans les résidus de culture aux champs peut causer ainsi d'énorme perte de rendement et l'altération de la graine par les mycotoxines.

D'après des études antérieures, la pourriture des racines et du collet causent des pertes économiquement importantes dans plusieurs régions céréalières du monde (Agrios 1997), spécialement dans les zones à pluviométrie faible à moyenne, cas de l'Afrique du Nord (Gargouri et *al.*, 2001 et Mergoum et *al.* 2000). L'infection des racines pendant la période de sècheresse peut provoquer des pertes de rendement avec une diminution de la qualité des grains (Tunali et *al.*, 2008).

Au champ, les symptômes les plus apparents des pourritures racinaires et du collet sont la fonte de semis, le symptôme d'épi blanc (Nyvall 1989), et le dessèchement des jeunes plants (Tinline, 1994). Quand les semences de blé sont fortement infestées, on a toujours des problèmes en pré- ou post-émergence entraînant une mort précoce des plantules (Duthie et *al.*, 1987)

La contamination de la récolte par *F. culmorum* et *F. avenaceum* signifie la contamination des graines par les mycotoxines produites par ces espèces, la présence des mycotoxines dans les

Chapitre 4: Etude du comportement de quatre variétés de blé dur et quatre variétés de blé tendre à l'inoculation artificielle du *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum* et *M. nivale* majus

graines peut se produire même si le niveau d'attaque par le parasite est faible et ne se traduit pas par une baisse de rendement importante (Snijders 1990).

Dans une situation où les exigences de qualité prennent de plus en plus d'importance, des variétés présentant un très haut niveau de résistance, aussi qu'un traitement de semence efficace seront nécessaires. L'utilisation de géniteurs d'origines diverses pourrait contribuer, si les systèmes de résistance sont différents, à l'élévation du niveau de résistance chez le blé. La résistance peut être décomposée en au moins 2 facteurs indépendants : résistance à la contamination et résistance à l'extension des symptômes (Schroeder et Christensen, 1963; Saur, 1984). Une connaissance plus précise des géniteurs permettrait de choisir des combinaisons complémentaires pour ces 2 facteurs pour essayer d'obtenir des génotypes transgressifs, et par la suite garantir une alimentation plus saine pour les humains et les animaux.

---

## ***CHAPITRE 5***

***Evaluation d'un nouveau traitement des  
semences sur les paramètres de  
croissance et du rendement du blé***

---

## Résumé

Pour lutter contre les insectes et les maladies, le choix du cultivar et de ses caractéristiques génétiques est la première étape dans un programme de phytoprotection. Par la suite, les traitements de semences deviennent la première intervention possible pour contrôler les ravageurs et les maladies fongiques. Dans le but d'évaluer l'efficacité de deux pesticides, traitement C, composé de Fludioxonil, Thiamethoxam et Difénoconazole et le traitement S (Tébuconazole) sur les paramètres de croissance et sur le rendement du blé, deux sites ont été ciblés afin d'avoir deux facteurs qui sont le traitement et le sol. Le premier est situé à la ferme pédagogique de l'ENA Meknès et le deuxième à HadKourt. Au premier site, 2 types de blé ont été semés selon des dispositifs différents, le blé dur (variété Carioca) et le blé tendre (variété Amal). Tandis qu'à HadKourt, seul la variété Amal a été semée. D'après les résultats obtenus le traitement C a montré un effet significatif sur les paramètres de croissance et sur le rendement par rapport au traitement S dans les deux zones d'études (Meknès et HadKourt). En effet, les rendements moyens obtenus en comparant le blé tendre et le blé dur pour le traitement C dans la région de Meknès sont de 25 et 21 q x/ha respectivement. Aussi, les rendements du blé tendre obtenus en comparant HadKourt avec Meknès sont de 29 et 25 q x/ha respectivement pour le même traitement. L'analyse multivariée de la variance à deux facteurs (Traitement et sol) montre qu'ils n'ont pas d'effet combiné mais agissent indépendamment sur les paramètres étudiés.

Mots clés: Traitement des semences, Paramètres de croissance et Rendement.

## Introduction

En production céréalière, l'utilisation d'une semence de qualité est un gage de succès. Certains agents pathogènes qui infectent les épis pendant la saison de croissance peuvent se retrouver dans la semence et en réduire la qualité sanitaire, comme la fusariose dont les mycéliums se conservent à la surface des grains (parfois à l'intérieur pour *Fusarium roseum*), et la septoriose. Ces champignons causent la fonte des semis ainsi que des maladies qui affectent la levée et le rendement. Le recours à un traitement des semences devient alors quasi nécessaire pour maîtriser ces agents pathogènes. De plus il permet aussi de lutter contre de nombreuses autres agressions telles que, les larves d'insectes (essentiellement celles du taupin et de la mouche grise), les oiseaux principalement les corbeaux et les insectes (pucerons).

Chapitre 5: Evaluation d'un nouveau traitement des semences sur les paramètres de croissance et du rendement du blé

Au Maroc une seule substance active est utilisée pour le traitement des semences commercialisées. C'est le tébuconazole (nom ISO) appartenant à la famille des triazoles, est utilisé comme substance active de produits phytopharmaceutiques en tant que fongicide et régulateur de croissance de plantes. Il se présente sous forme de cristaux incolores. En tant que substance active de produits phytopharmaceutiques, le tébuconazole doit avoir une pureté égale ou supérieure à 970 g/kg (annexe du règlement CE 1107/2009). Il est non volatil, très peu soluble dans l'eau (32 – 36 mg/L à 20 °C) et soluble dans les solvants organiques. C'est une substance stable à température ambiante, quel que soit le milieu (acide, neutre ou alcalin) (Echa, 2013).

Le tébuconazole est inscrit jusqu'au 31 août 2019 sur la liste des matières actives autorisées au niveau de l'Union européenne (règlement UE 485/2013 de la Commission du 24 mai 2013 (JO L139/12) (Danemark, 2008).

En France, les produits utilisés pour le traitement des semences de blé sont composés de plusieurs substances actives, et cela pour pouvoir maîtriser les agents pathogènes qui affectent la culture du blé pendant son cycle végétatif, tel que les champignons du genre *Fusarium* et les insectes comme les pucerons. Exemple des substances actives utilisées pour le traitement de semence en France: Difénoconazole, Fludioxonil et le Thiamethoxam. (Anonyme a, 2019).

Difénoconazole est une substance active de produit phytosanitaire, il présente un effet fongicide, et qui appartient à la famille chimique des triazoles. Pour l'Union européenne : cette substance active est inscrite à l'annexe I de la directive 91/414/CEE par la directive 2008/69/CE, et pour la France : cette substance active est autorisée dans la composition de préparations bénéficiant d'une autorisation de mise sur le marché (Anonyme b, 2019).

Fludioxonil est un fongicide de formule brute utilisé pour le contrôle des champignons des champignons foliaires dans les cultures de riz et des fourrages. Son action inhibe une protéine kinase impliquée dans la régulation du métabolisme cellulaire<sup>3</sup>. En poussant les plantes intègrent la substance et la restituent dans les graines, mais une quantité non mesurable est assimilée par le sol lors des pluies (Tommlin, 2006).

Thiamethoxam (ISO) est une molécule chimique de la famille des néonicotinoïdes (une famille d'insecticides neurotoxique pour les invertébrés, tout comme la clothianidine et l'imidaclopride). Il est utilisé comme pesticide en agriculture (Anonyme b, 2019).



Chapitre 5: Evaluation d'un nouveau traitement des semences sur les paramètres de croissance et du rendement du blé

Les maladies cryptogamiques comme la rouille, entraîne des pertes de rendement qui peuvent atteindre 25% (Ezzahiri, 2001), tandis que la fusariose, est responsable les fontes des semis, l'échaudage des épis, la contamination des graines par les perte mycotoxines produites par quelques espèces du genre *Fusarium* et des pertes des rendements qui peuvent aller jusqu'à 50% (Parry et al., 1995). Dans le but de réduire les pertes de rendement dues aux maladies cryptogamiques et aux inserts à long terme, le présent travail a pour but, l'évaluation de deux traitements des semences « traitement C et Traitement S » sur les paramètres de croissance ainsi que le rendement de la culture du blé.

## **Matériel et méthodes**

### **1. Lieu d'essai**

Le traitement des semences a été réalisé dans deux sites différents. Le premier était la ferme pédagogique de l'ENAM dans lequel deux dispositifs expérimentaux ont été adoptés. Le premier dispositif a concerné le blé dur, alors que dans le deuxième dispositif nous avons semé le blé tendre. Dans le deuxième site (Had Kourt) seulement le deuxième dispositif, a été installé. Le choix de ce dispositif a été basé sur la simplicité de sa conduite chez l'agriculteur par rapport au premier dispositif qui nécessite la conduite par des personnes qualifiées.

Les conditions de pluviométrie et de température durant cette campagne pour les deux sites sont présentées dans les figures suivantes :

- La ferme pédagogique de l'ENA

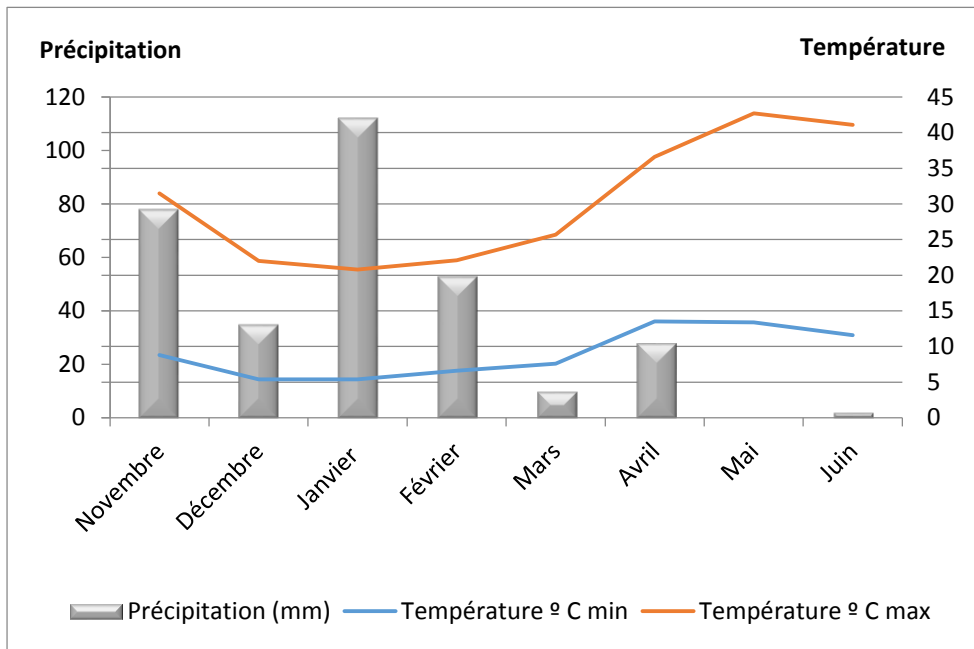


Figure 1: Conditions climatiques de la zone de Meknès durant la campagne 2013/2014 (Anonyme a, 2014).

- La parcelle agricole de HAD KOURT

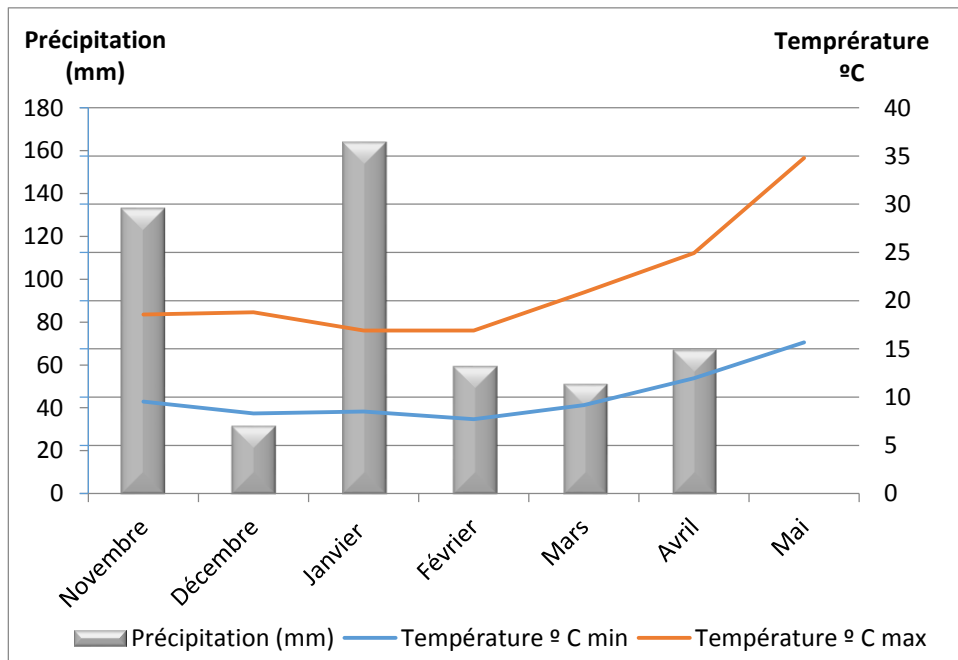


Figure 2: Conditions climatiques de la zone de HadKourt durant la campagne 2013/2014 (Anonyme b, 2014).

## 2. Pesticides testés

Dans le cadre d'une collaboration entre le Département de Protection des Plantes et de l'Environnement et la Société Syngenta-Maroc, nous avons mené cet essai afin d'évaluer de nouvelles formulations efficaces contre les maladies transmises par les semences.

En effet, le produit testé (traitement C) est un traitement de semences nouvellement introduit. C'est un insecticide-fongicide des céréales qui assure la protection contre les maladies fongiques (fusarioses, carie, charbon, septoriose), les insectes du sol (taupins, vers blancs) et ceux du stockage (charançon, sylvain, capucin, tribolium rouge de la farine). Ce produit est un mélange de trois matières actives, un insecticide (Thiamethoxam) et deux fongicides (Fludioxonil et Difénoconazole).

Cette association originale assure toutes les qualités que l'on peut exiger d'une protection des semences (dose de semis optimisée, meilleure taux de levée, racines fortes et meilleure vigueur) et qui sont la base du potentiel de rendement des céréales.

Ce traitement a été comparé à un autre traitement des semences (traitement S) dont la matière active est le Tébuconazole. Cette matière active est systémique à action préventive, curative et éradiquante. Elle est rapidement absorbée dans les parties végétatives de la plante. Le fongicide à base de Tébuconazole est appliqué dans le traitement des semences et agit efficacement contre les maladies fongiques des céréales. Les caractéristiques des deux traitements sont illustrées par le tableau ci-dessous.

Tableau 1: Caractéristique des traitements des semences C et S (Ezzahiri et *al.*, 2013).

	<b>Traitement C</b>	<b>Traitement S</b>
<b>Matières actives</b>	25 g/L Difénoconazole + 25 g/L Fludioxonil + 262.5 g/L Thiamethoxam	Tébuconazole
<b>Formulation</b>	SC : Suspension concentrée	EW : Emulsion dans l'eau
<b>Dose d'application</b>	150 cc/ql	50 cc/ql
<b>Semences</b>	Céréales	Céréales

### 3. Présentation des variétés

Les variétés utilisées pour cette étude ont été fournies par la SONACOS. Pour le premier dispositif expérimental, nous avons traité les semences du blé dur de la variété Carioca. Dans le deuxième dispositif, nous avons utilisé les semences du blé tendre de la variété Amal, traitées de la même manière (figure 3).

Les caractéristiques des deux variétés sont données par le tableau ci-après.

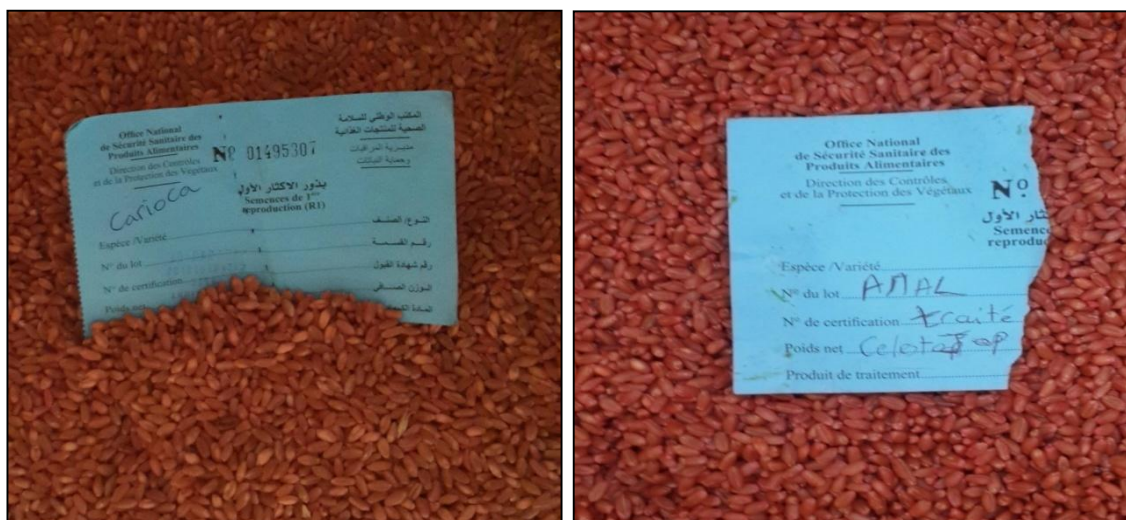


Figure 3: Variétés utilisées pour le premier dispositif Carioca (à gauche) et Amal (à droite).

Tableau 24: Caractéristiques des variétés utilisées (Anonyme c, 2014)

Principales caractéristiques	Variété	
	Carioca (blé dur)	Amal (blé tendre)
Taille de la plante	Moyenne à haute	Haute
Couleur des grains	Blanche ambrée	Blanche
Précocité à l'épiaison	précoce	Demi tardive
Productivité	Elevée	Elevée
Poids de mille grains	45 à 50 g	29 à 31 g
Poids spécifique	Bon	Bon

#### 4. Protocole expérimental

Le protocole expérimental adopté pour cette étude est un dispositif complètement aléatoire (DCA). Ce protocole expérimental est composé de deux dispositifs.

##### a. Dispositif 1

Le premier dispositif est un dispositif composé de 12 bloques avec comme facteur les traitements des semences étudiés (figure 4).

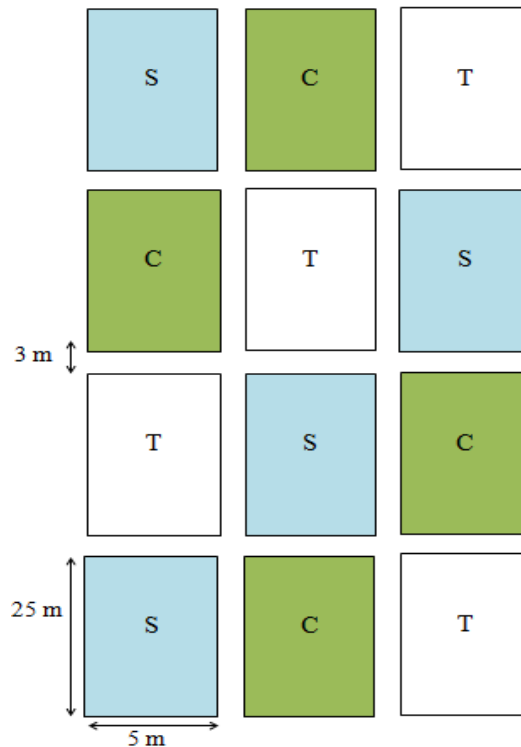


Figure 4: Dispositif 1 conduit dans la région de Meknès.

Ce dispositif est réalisé sur une superficie de 125 m<sup>2</sup> dans laquelle les semences de blé dur (variété Carioca) traitées ont été semées de manière aléatoire. Les traitements concernés pour ce dispositif sont : C, S et le témoin (semences non traitées). Le nombre de répétitions est de l'ordre de 4.

##### b. Dispositif 2

Le deuxième dispositif est composé de quatre blocs semés par du blé tendre (variété Amal) avec une surface de 1200 m<sup>2</sup> chacun. L'espacement entre ces blocs est de 3 m. Ce dispositif a été conduit à la ferme pédagogique de l'ENAM et à Had Kourt. Nous avons considéré les facteurs : traitement des semences et sol, puisqu'il s'agit de deux zones différentes. Dans ce dispositif,

les semences traitées par le fongicide S s'alternent avec celles ayant reçu le traitement C (figure5).

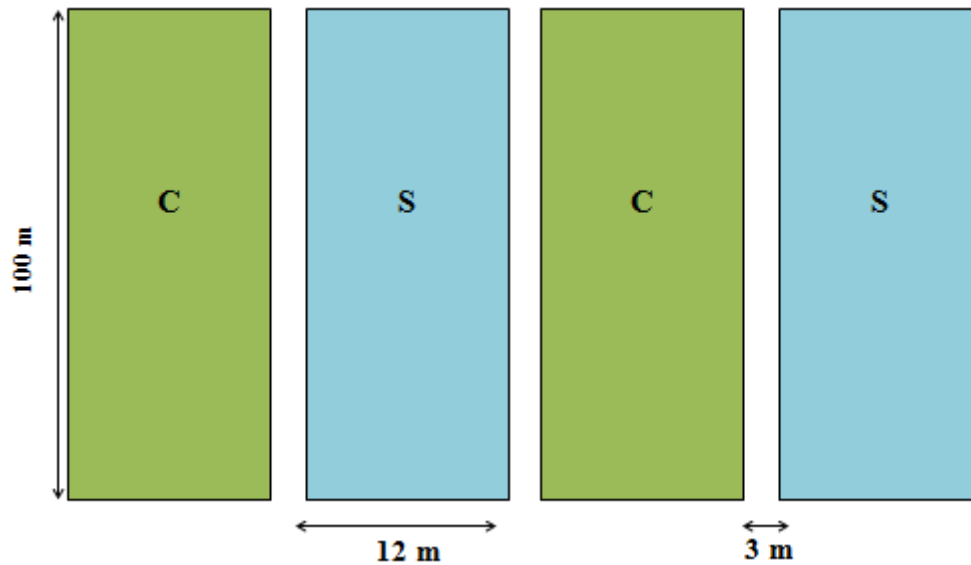


Figure 5: Dispositif 2 conduit à Meknès et à HadKourt.

## 5. Techniques culturales

Certaines techniques permettent de limiter le développement des ennemis des cultures en supprimant ou en diminuant au maximum la pression d'infestation de départ (limitation des formes de conservation des bio-agresseurs). Plusieurs pratiques ont été suivies pour ces essais.

### a. Travail du sol

Les parcelles des essais ont reçu un premier passage avec le stubbleplow en août 2013 à une profondeur de 20 cm. En octobre, deux passages avec le covercrop ont été réalisés ; un premier en sec et un deuxième croisé afin d'obtenir une taille de mottes comprise entre 3 à 5 cm.

### b. Semis

Le semis a été réalisé le 30 Novembre 2014 à une dose de 140 kg/ha à l'aide d'un semoir classique, à une profondeur de 5 cm et avec un écartement de 12 cm entre les lignes.

La figure 6 représente l'opération du semis réalisée à la ferme pédagogique de l'ENAM.



Figure 6: L'opération du semis du blé.

#### **c. Fertilisation**

Avant le semis, une dose de 2 qx /ha de N-P-Ks (17-16-12) a été appliquée aux parcelles comme engrais de fond.

#### **d. Traitements chimiques**

Le non contrôle des adventices ou leur contrôle inadéquat cause chaque année des pertes de rendements importantes. Il est donc recommandé d'adopter des moyens de lutte pour les maîtriser. Pour ce faire, deux traitements (2,4-D et Florasulam) ont été appliqués comme herbicide contre les monocotylédones et les dicotylédones à une dose de 0,7 L/ha.

Les maladies cryptogamiques et les attaques d'insectes du blé constituent l'une des contraintes majeures qui empêchent l'amélioration des rendements. Les traitements Azoxystrobine et Cyproconazole ont été utilisés contre la rouille et la septoriose à une dose de 0,5 L/ha.

## 6. Paramètres de croissance analysés

Le tableau suivant présente l'ensemble des variables étudiées pour cet essai.

Tableau 3: Paramètres de croissance et du rendement du blé analysés.

<b>Paramètres</b>	<b>Informations</b>
<b>Nombre de talles</b>	Le comptage du nombre de talles a été réalisé au stade tallage à l'aide d'un carré de 1 m <sup>2</sup> en vue de comparer entre les parcelles traitées et celles non traitées.
<b>Nombre de pieds par m<sup>2</sup></b>	Le comptage des pieds par m <sup>2</sup> a été réalisé au moment de l'épiaison à l'intérieur d'un m <sup>2</sup> .
<b>Nombre d'épi par m<sup>2</sup></b>	Tous les épis présents dans le carré ont été ramenés au laboratoire afin de les calculer et d'estimer d'autres paramètres.
<b>Longueur de l'épi</b>	A l'aide d'une règle graduée, la longueur de tous les épis ramenés a été mesurée.
<b>Poids de l'épi</b>	Ensuite, les épis ont été placés sur une balance un par un afin de mesurer leurs poids.
<b>Nombre de grains par épi</b>	Le nombre de grains par épis a été calculé pour 20 épis. La moyenne du nombre de grains de ces vingt épis a été calculée.

## 7. Estimation du rendement

Pour cette étude, deux méthodes d'estimation du rendement des parcelles en blé ont été comparées entre elles. Il s'agit de la méthode des placettes et celle permettant d'estimer le rendement après la récolte moyennant la moissonneuse batteuse.

### a. Méthodes des placettes

Cette méthode a été appliquée en déposant une placette d'une dimension de ½ m<sup>2</sup> aléatoirement sur chacune des parcelles étudiées. Au vu de la faible surface des parcelles dans lesquelles le protocole expérimental a été installé, le nombre de répétitions a été fixé arbitrairement à six dans le premier dispositif et à huit dans le deuxième pour chaque traitement.

Tous les plants présents à l'intérieur de la placette ont été prélevés pour calculer les paramètres du rendement (nombre d'épis / m<sup>2</sup>, nombre de grains / épis et le poids et longueur de l'épi) au



Chapitre 5: Evaluation d'un nouveau traitement des semences sur les paramètres de croissance et du rendement du blé

laboratoire. La moyenne de chaque paramètre a été calculée afin d'obtenir des résultats représentatifs.

Le rendement de chaque parcelle a été estimé en appliquant la formule suivante :

$$\text{Rendement} = \text{Nombre d'épi / m}^2 * \text{Nombre de grains / épi} * \text{Poids de 1000 grains / 1000}$$

Les rendements issus de cette formule ont été par la suite convertis du g / m<sup>2</sup> aux qx / ha.

#### **b. Estimation à la moissonneuse batteuse**

La récolte a été réalisée de façon à ce que les lots de grains récoltés de chaque bloc soient séparés. La moissonneuse batteuse a été intelligemment réglée de manière à réduire au maximum les pertes engendrées par la machine. Les grains récupérés de chaque bloc ont été emballés dans des sachets en plastique sur lesquels le code du bloc a été noté. Par la suite, tous les sachets ont été pesés à la ferme pédagogique de l'ENAM. Les rendements obtenus ont été convertis du Kg / m<sup>2</sup> aux qx / ha.

### **8. Analyse statistique**

L'analyse statistique des données a été effectuée moyennant les logiciels EXCEL et IBM SPSS statistics 19. L'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur (traitement des semences, S et C) a été appliquée sur l'ensemble des variables étudiées pour le premier dispositif. Le test Student-Newman-Keuls (SNK) a été réalisé également afin de pouvoir former des groupes homogènes. Pour le deuxième dispositif, nous avons réalisé l'analyse de la variance à deux facteurs (le traitement des semences et le sol) pour l'ensemble des variables. Les tests de l'ANOVA ont été appliqués à un seuil de confiance de 5 %.

## **Résultats et Discussion**

### **1. Effet du traitement sur les paramètres de croissance du blé**

L'analyse multivariée de la variance des données obtenues du premier dispositif (tableau 4), montre que les différences observées entre les traitements sont statistiquement significatives au seuil de 5%. Les deux traitements réagissent donc différemment sur les paramètres de croissance de la plante.

Tableau 4: Résultats de l'analyse multivariée de la variance à un facteur (Traitement).

Effect	Value	F	Hypothesisdf	Sig.	
traitements	Pillai's Trace	1,291	5,163	12,000	,000
	Wilks' Lambda	,015	19,061 <sup>b</sup>	12,000	,000
	Hotelling's Trace	45,047	56,308	12,000	,000
	Roy's Largest Root	44,590	126,339 <sup>c</sup>	6,000	,000

En effet, pour les quatre types de test réalisés : Pillai's Trace, Wilks' Lambda, Hotelling's Trace et Roy's Largest Root, les seuils de signification calculés sont tous inférieurs à 0,05 comme le montre le tableau ci-dessus, on rejette donc l'hypothèse nulle d'absence d'effet du traitement sur les paramètres de croissance du blé.

Afin de déterminer l'efficacité des deux traitements, ils ont été comparés à un témoin (semences non traitées). Le test ayant permis de réaliser cette comparaison est celui de Dunnett dont les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5: Résultats du test Dunnett.

Dependent Variable	(I) traitements	(J) traitements	Mean Difference (I-J)	Sig.	
nbretalle	Dunnett t (2-sided) <sup>a</sup>	C	T	2,62 <sup>*</sup>	,000
		S	T	1,50 <sup>*</sup>	,000
nbreplant	Dunnett t (2-sided) <sup>a</sup>	C	T	26,13 <sup>*</sup>	,000
		S	T	3,25	,796
nbreepis	Dunnett t (2-sided) <sup>a</sup>	C	T	175,13 <sup>*</sup>	,000
		S	T	77,50 <sup>*</sup>	,000
Longueur/épiss	Dunnett t (2-sided) <sup>a</sup>	C	T	4,50 <sup>*</sup>	,000
		S	T	1,70 <sup>*</sup>	,009
poidsepis	Dunnett t (2-sided) <sup>a</sup>	C	T	1,35 <sup>*</sup>	,000
		S	T	,65 <sup>*</sup>	,000
nbregrain	Dunnett t (2-sided) <sup>a</sup>	C	T	38,63 <sup>*</sup>	,000
		S	T	10,88	,194

En comparant les traitements avec le témoin (traitement T), nous constatons une différence significative entre le traitement C (sig= ,000) et le témoin pour l'ensemble des variables étudiées. Tandis que pour le traitement S, la différence significative (sig= ,000) par rapport au témoin n'a été observée que pour les variables : nombre de talles, nombre d'épis, longueur d'épi et le poids de l'épi.

Chapitre 5: Evaluation d'un nouveau traitement des semences sur les paramètres de croissance et du rendement du blé

Les variables nombre de plant et nombre de grains ne présentent pas de différence significative par rapport au témoin, ce qui voudrait dire que ce traitement n'améliore pas les deux composantes principales du rendement du blé. Ce qui voudrait dire que le traitement C est plus efficace que le traitement S car il permettrait d'améliorer le rendement.

Le test Student-Newman-Keuls appliqué à chaque variable vient confirmer les résultats du test Dunnett. En effet, pour les variables nombre de talles, nombre d'épis, longueurs d'épis et le poids d'épis, trois groupes statistiquement distincts ont été obtenus où le traitement C s'est montré plus efficace que le traitement S et le témoin. Ce résultat s'explique car il forme un groupe dont l'effectif pour chacune de ces variables est le plus grand comparativement aux groupes formés par les deux autres traitements.

Concernant les variables nombre de plants et nombre de grains, le test SNK nous a permis de distinguer deux groupes ; l'un formé par le traitement S et le témoin et l'autre formé par le traitement C. Ici encore, le groupe formé par le traitement C montre un effectif plus élevé pour ces deux variables. Cela confirme son efficacité par rapport aux traitements S et T (voir annexe 4).

La figure ci-après compare le système racinaire et le nombre de talles de trois plants du blé (le premier traité par C, le deuxième traité par S et le témoin).

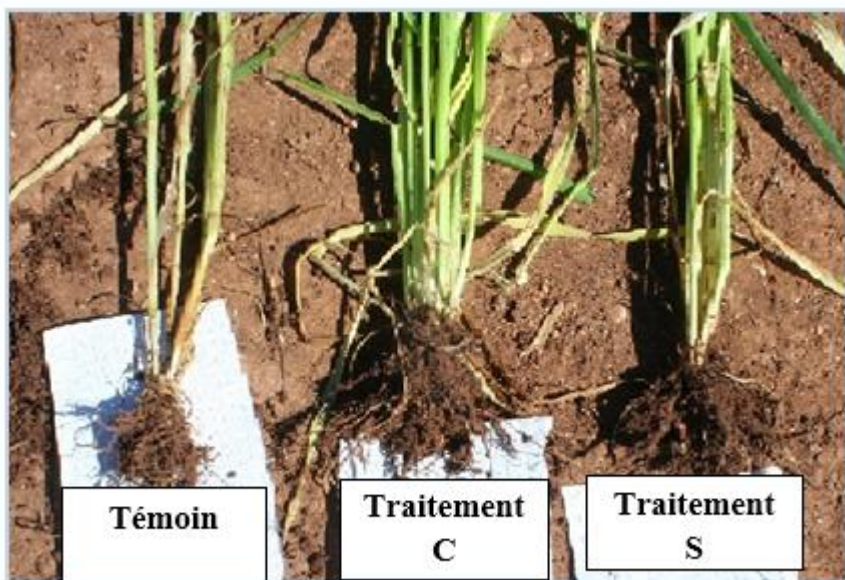


Figure7: Comparaison de l'effet des différents traitements sur le système racinaire et le nombre de talles.

Nous remarquons d'après cette figure que le traitement C a donné des plantes avec un système racinaire plus développé comparativement au traitement S et au témoin. De plus, il a permis d'obtenir un nombre de talles plus élevé. La figure ci-dessous donne un exemple concret de l'efficacité du traitement C par rapport au traitement S.



Figure 8: Comparaison entre les deux traitements C et S.

Comme le montre la figure 8, les épis du blé dont les semences ont été soumises au traitement S présentent des symptômes de plusieurs maladies fongiques dont on cite la septoriose. Par contre, ceux dont les semences ont reçu le traitement C ne présentent aucun symptôme de maladies fongiques. De plus, nous notons sur la figure que le traitement C permet d'obtenir des épis bien pleins par rapport au traitement S.

## **2. Effet de l'interaction entre le traitement et le sol sur les paramètres de croissance du blé**

Le premier dispositif n'a pas pris en compte la zone agro climatologique dans laquelle les traitements ont été appliqués. C'est pour cette raison que le deuxième dispositif a été conduit dans deux zones céréalières différentes : Meknès et HadKourt. Ce deuxième dispositif a pour objectif de tester l'effet probable de la zone de culture et de l'interaction entre cette zone et le traitement, sur les paramètres de croissance et du rendement du blé.

L'analyse multivariée à deux facteurs (traitement et sol) a été réalisée. Les résultats de cette analyse sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6: Résultats de l'analyse multivariée de la variance à deux facteurs (traitement et sol).

Effect		Value	F	Hypothesisdf	Sig.
Traitements	Pillai's Trace	,972	85,306 <sup>b</sup>	6,000	,000
	Wilks' Lambda	,028	85,306 <sup>b</sup>	6,000	,000
	Hotelling's Trace	34,122	85,306 <sup>b</sup>	6,000	,000
	Roy'sLargestRoot	34,122	85,306 <sup>b</sup>	6,000	,000
Sols	Pillai's Trace	,878	17,980 <sup>b</sup>	6,000	,000
	Wilks' Lambda	,122	17,980 <sup>b</sup>	6,000	,000
	Hotelling's Trace	7,192	17,980 <sup>b</sup>	6,000	,000
	Roy'sLargestRoot	7,192	17,980 <sup>b</sup>	6,000	,000
Traitements * Sols	Pillai's Trace	,425	1,844 <sup>b</sup>	6,000	,157
	Wilks' Lambda	,575	1,844 <sup>b</sup>	6,000	,157
	Hotelling's Trace	,738	1,844 <sup>b</sup>	6,000	,157
	Roy'sLargestRoot	,738	1,844 <sup>b</sup>	6,000	,157

D'après ce tableau, les deux facteurs n'interagissent pas entre eux car le seuil de signification de leur interaction (0,157) est supérieur au seuil critique (0,05). Le sol et le traitement n'ont pas d'effet combiné sur les paramètres de croissance du blé. Cependant, ils agissent indépendamment sur ces paramètres. En effet, le seuil de signification pour chacun de ces facteurs est inférieur au seuil critique, on rejette donc l'hypothèse d'absence d'effet de chacun de ces facteurs pour l'ensemble des variables étudiées.

#### a. Effet sur les paramètres de croissance étudiés

L'effet de chacun de ces facteurs sur les paramètres de croissance du blé est mis en évidence dans les graphes de la figure 10.

Pour toutes les variables étudiées : nombre de pieds, nombre de talles, nombre d'épis, nombre de grains, longueur de l'épis et poids de l'épis, les chiffres obtenus sont plus élevés à HadKourt qu'à Meknès quel que soit le traitement appliqué (traitement C ou traitement S). Cela voudrait dire que la zone de HadKourt présente des conditions agro climatologique favorables à la culture du blé. En effet, dans la région de HadKourt les précipitations au mois de Novembre arrivent à 140 mm et la température est comprise entre 10 et 20 °C (figure 2) alors que dans la région de Meknès les précipitations ne sont que de 80 mm et la température est comprise entre 10 et 30 °C (figure 1).

Ce mois correspondant à la période du semis du blé, la région de HadKourt offre donc des meilleures conditions de germination des semences du blé que la région de Meknès. En effet, la germination du blé est favorisée par des températures faibles (14 à 16 °C) et des pluies (40 mm) (Anonyme c, 2014).

A partir du mois d'Avril jusqu'à Juin, ce qui correspond aux stades épiaison-maturité, les précipitations sont plus importantes dans la région de HadKourt qu'à Meknès. A l'inverse, les températures sont plus hautes dans la région de Meknès que HadKourt. Cela témoigne de signe d'aridité et de sécheresse dans la région de Meknès comparativement à la région de HadKourt qui fournit plus de réserves en eau à la plante permettant ainsi d'éviter le stress hydrique. La région de HadKourt présente également des conditions climatologiques favorables à la culture du blé pendant la période d'épiaison et de maturité.

Dans la région du HadKourt, nous avons comparé les deux traitements aux stades « levée » et « maturité ». Ainsi, nous pouvons déduire que le traitement C a permis d'assurer une bonne croissance des plantes du blé depuis la levée jusqu'à la maturité par rapport au traitement S.



Figure 9: Comparaison de l'efficacité des traitements C et S aux stades "levée (A)" et "maturité (B)".

La figure suivante permet de quantifier l'effet des traitements étudiés sur l'ensemble des variables à Meknès et à HadKourt.

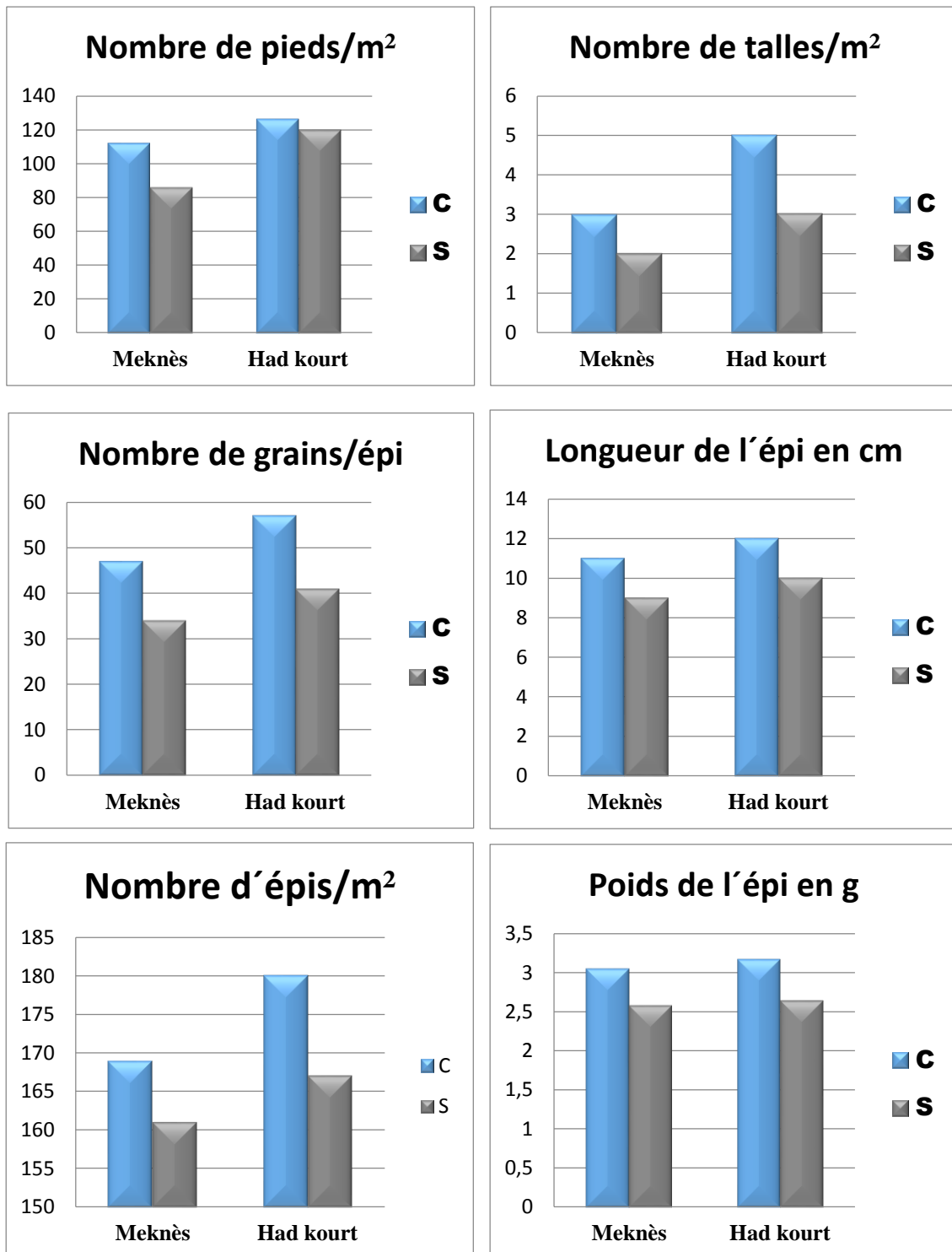


Figure 10: Comparaison de l'efficacité des traitements C et S sur les paramètres étudiés à Meknès et à HadKourt.

Lorsque nous nous intéressons à l'efficacité de chaque traitement sur les paramètres de croissance du blé au niveau de chaque zone, nous notons que le traitement C donne de meilleurs résultats comparativement au traitement S pour l'ensemble des variables. Cela confirme les résultats des tests de l'analyse multi variée de la variance et de Dunnet précédemment réalisés.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons dire que le traitement C est plus efficace que le traitement S sur les paramètres de croissance du blé. Cette différence d'efficacité pourrait être expliquée par la composition de chacun des traitements.

En effet, le traitement C est composé de trois matières actives (insecticide : Thiamethoxam ; fongicides : Fludioxonil et Difénoconazole) ce qui lui confère une triple action, alors que le traitement S n'est composé que d'une seule matière active (fongicide : Tebuconazole). Il a par conséquent, une plus grande capacité à protéger les semences du blé contre les attaques des champignons et d'insectes pouvant causer des dégâts ultérieurs sur les paramètres de croissance et du rendement. Le fait qu'il soit composé de deux matières actives qui luttent contre les champignons accroît son efficacité dans la protection des semences du blé, car cette culture est touchée en grande majorité par les maladies fongiques au Maroc (Fusariose, Rouille, Septoriose etc..) (EZZAHRI, 2001).

Contrairement au traitement C, le traitement S ne possède qu'une seule matière active qui permet de lutter contre les maladies fongiques. Aussi, ne possédant pas de matière active pouvant agir comme insecticide, il ne peut donc protéger les semences du blé contre les éventuelles attaques des insectes (figure 11). Cela limite donc sa capacité à assurer une protection efficace des semences du blé, ce qui se répercute sur les paramètres de croissance et du rendement de cette culture.



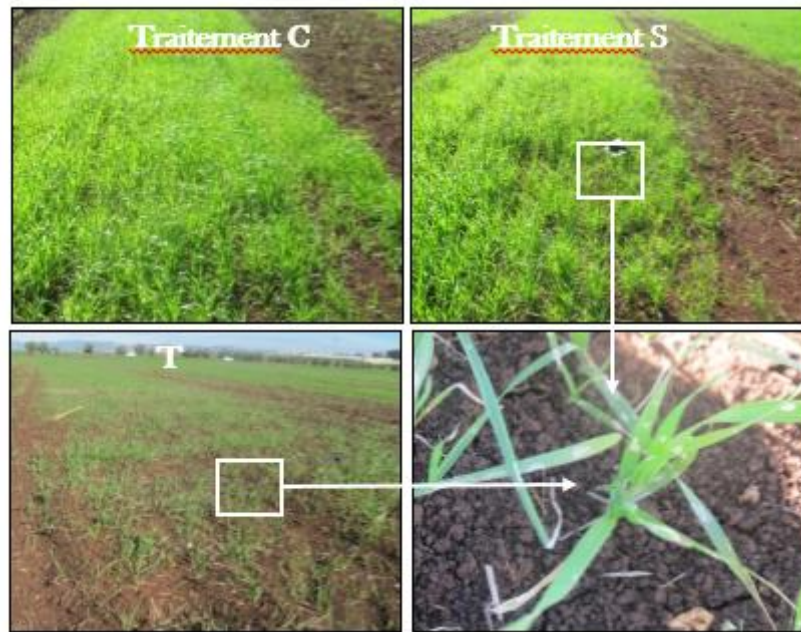


Figure 11: Attaque d'insecte coléoptère observé sur plante traitée par le fongicide S et sur les parcelles non traitées.

Aussi, les résultats ont révélé que la zone de Hadkout est favorable à la culture du blé car peu importe le traitement appliqué, on obtient une meilleure croissance (meilleurs chiffres pour les paramètres de croissance) du blé dans cette zone. Cela voudrait dire que l'application du traitement C dans cette zone pourrait garantir une meilleure croissance de la culture du blé.

Cependant, la zone de Hadkout est celle où nous avons relevé une grande infection par la fusariose du blé (SOUDI et al 2019), malgré le fait que celle-ci présente des conditions favorables à cette culture. Cette infection pourrait s'expliquer par les mauvaises conduites techniques pratiquées par les agriculteurs de la zone. En effet, ces derniers ne font pas de rotation culturale et cultivent le blé plusieurs années successives, ce qui favorise le développement du *Fusarium* spp. .Pour assurer une meilleure efficacité du traitement C, il faut donc combiner son utilisation à des pratiques culturales adéquates (rotation culturale par exemple).

### 3. Effet du traitement sur le rendement en blé

Pour estimer le rendement du blé, nous avons utilisé deux méthodes : la méthode des placettes et celle de la moissonneuse batteuse. La première surestime le rendement alors que la seconde le sous-estime. L'utilisation de ces deux méthodes permettra de déterminer l'intervalle dans

lequel se trouve le rendement exact de la culture du blé. Ces deux méthodes ont été appliquées sur les deux dispositifs (essai 1 et essai 2) de la région de Meknès. Le premier essai concerne le blé dur alors que le deuxième concerne le blé tendre.

#### b. Rendement estimé par la méthode des placettes

Les résultats de l'estimation du rendement du blé par cette méthode sont présentés par les deux graphes ci-dessous. Pour le premier essai (blé dur), le rendement obtenu est de 26 qx/ha pour traitement C et de 16 qx /ha pour le traitement S.

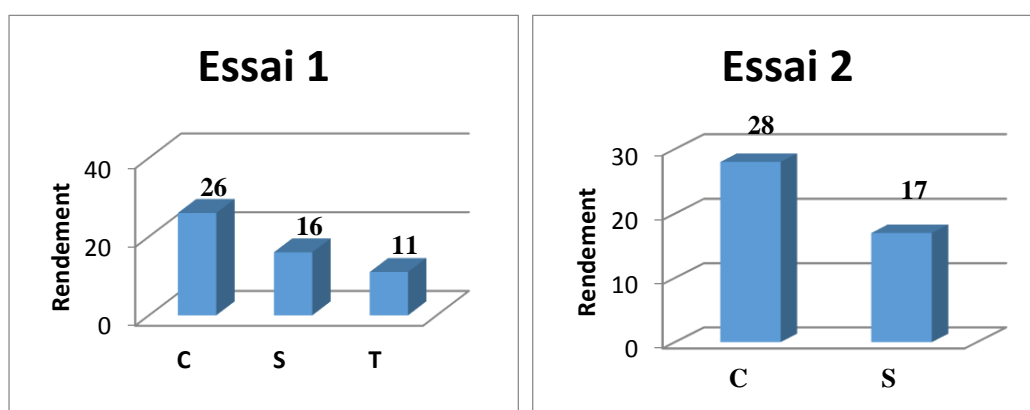


Figure 12: Rendements estimés par la méthode des placettes pour les essais conduits à Meknès.

Quant à l'essai 2 (blé tendre), le rendement enregistré est de 28 qx/ha pour le traitement C et de 16 qx/ha pour le traitement S.

Nous remarquons donc que le traitement C donne le plus grand rendement comparativement au traitement S, ce qui renforce les résultats précédemment obtenus par rapport à l'efficacité de ce traitement. Toutefois, ces deux traitements présentent des rendements plus élevés que le témoin, ce qui justifie l'efficacité des deux traitements même si le traitement C est plus efficace que le traitement S. Cependant, n'oubliant pas que cette méthode d'estimation surestime les rendements obtenus. Donc, pour une meilleure appréciation de l'efficacité de ces traitements par rapport au rendement, une autre estimation par la méthode de la moissonneuse a été réalisée.

#### a. Rendement estimé à la moissonneuse batteuse

Les graphes ci-dessous présentent les résultats d'estimation du rendement après récolte par la moissonneuse batteuse. Nous notons au niveau de ces figures que le blé dur (Essai 1) donne de meilleur rendement avec le traitement C (16 qx/ha) alors qu'il n'est que de 12 qx/ha avec le

traitement S soit 2 qx/ha de plus que les parcelles n'ayant pas subi de traitement. Cela confirme l'efficacité du traitement par rapport au traitement S.

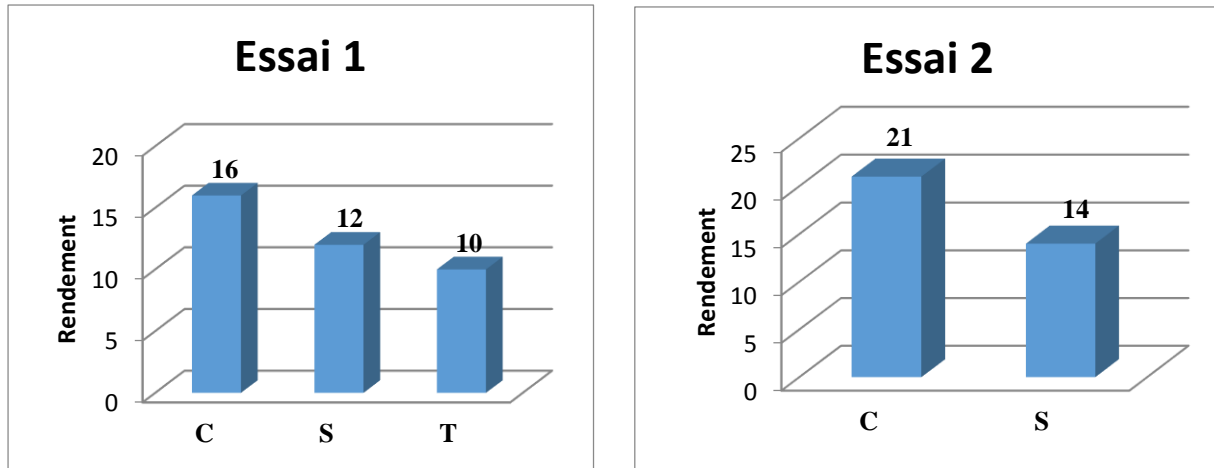


Figure 13: Rendements estimés à lamoissonneuse batteuse pour les deux essais conduits à Meknès.

Pour le blé tendre (Essai 2), le meilleur rendement est obtenu avec le traitement C (21qx/ha) alors qu'il n'a donné que 14 qx/ha soit une différence de 7 qx/ha. Cela confirme aussi que le traitement C est efficace pour le blé tendre.

L'utilisation de ces deux méthodes ont permis de définir un intervalle pour l'estimation du rendement du blé tendre et du blé dur avec les traitements C et S. Le traitement C permet d'obtenir un rendement du blé dur compris entre 16 et 26 qx/ha alors qu'avec le traitement S, le rendement obtenu est compris entre 12 et 16 qx/ha. Quant au blé tendre, les traitements C et S permettent d'obtenir respectivement des rendements compris entre 21-28 qx/ha et 14-17 qx/ha.

#### **b. Comparaison du rendement dans les deux régions étudiées**

Une comparaison des rendements du blé tendre entre la région de Meknès et celle de HadKourt pour les traitements C et S, révèle que le traitement C offre des rendements moyens élevés dans les deux régions (voir figure 13). Cependant, peu importe le traitement, la zone de HadKourt est celle où nous observons de plus grand rendement pour cette culture.

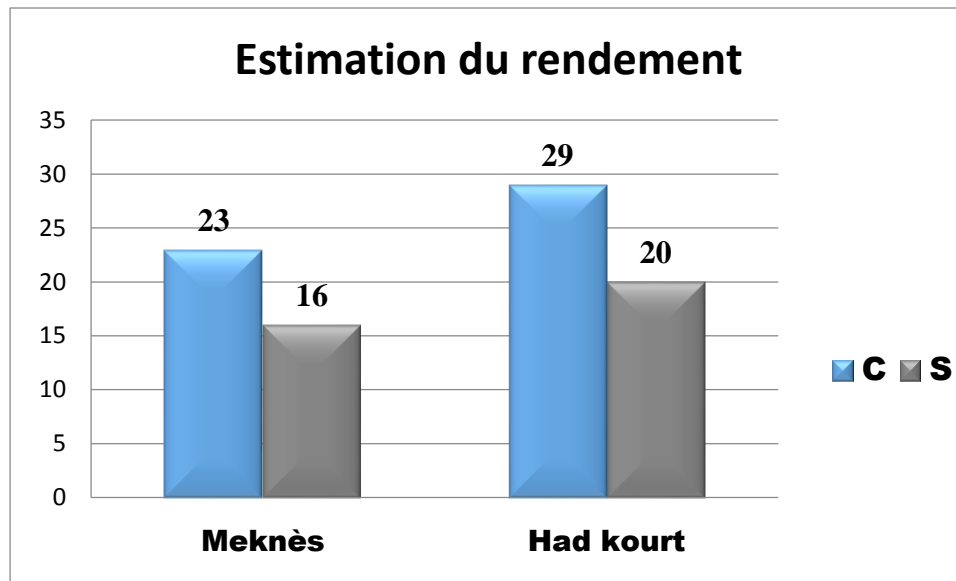


Figure 14: Rendement estimé à Meknès et à HadKourt pour les deux traitements.

Ces résultats viennent confirmer l'efficacité du traitement C par rapport au traitement S et du fait que la zone de HadKourt présente des conditions favorables à la croissance de la culture du blé.

## Conclusion

Sur la base des résultats de l'effet des traitements des semences sur les paramètres de croissance et du rendement du blé nous pouvons conclure la présence de deux facteurs qui influence la croissance et le rendement du blé, le traitement et le sol, et d'après les résultats obtenus de l'analyse multivariée de la variance à deux facteurs ces derniers n'ont pas d'effet combiné mais agissent indépendamment sur les paramètres étudiés.

Pour le facteur traitement de semence, le traitement C composé de 25 g/L Difénoconazole + 25 g/L Fludioxonil + 262.5 g/L Thiamethoxam, a un effet meilleur sur l'ensemble des paramètres de croissance étudiés, à savoir le nombre de pieds, le nombre de talles, le nombre d'épi, la longueur et le poids de l'épi et finalement le nombre de grains/épi, que le traitement S qui ne contient que de la Thiamethoxam, cela a été significativement observé d'après les résultats qu'on a obtenus. De même pour les rendements, à la zone de Meknès l'intervalle de rendement du blé dur du traitement C est compris entre 16 et 26 q x/ha alors qu'avec le traitement S, le rendement obtenu est compris entre 12 et 16 q x/ha. Quant au blé tendre, les traitements C et S permettent d'obtenir respectivement des rendements compris entre 21-28 qx/ha et 14-17 qx/ha. Le traitement C est plus efficace que le traitement S. En effet, il y a un effet significatif de ce

traitement sur l'ensemble des variables étudiées. Aussi, il donne des rendements meilleurs comparativement au traitement S.

Pour le facteur sol les paramètres de croissance ont des valeurs plus importantes à la zone de HadKourt qu'à la zone de Meknès quel que soit le traitement utilisé par exemple pour le traitement S le nombre d'épis/ m<sup>2</sup> à HadKourt est de l'ordre de 167 épis/ m<sup>2</sup> vis-à-vis 162 épis/ m<sup>2</sup> pour la zone de Meknès, pour le traitement C à la zone de HadKourt nombre d'épis/ m<sup>2</sup> est de 180 épis/ m<sup>2</sup> alors qu'il n'atteint pas les 170 d'épis/ m<sup>2</sup> à Meknès. La même chose pour le rendement, les rendements du blé tendre à HadKourt sont 29 q x/ha pour le traitement C et de 20 q x/ha pour le traitement S, alors qu'à Meknès les rendements sont de 23 q x/ha pour le traitement C et 16 q x/ha pour le traitement S. d'où on peut conclure que la zone de HadKourt est une région parfaitement favorable à la culture du blé. Les rendements estimés dans cette zone sont beaucoup plus élevés par rapport à la région de Meknès.

---

## *Conclusion générale et perspectives*

---

Conclusion générale et perspectives.

Ce travail de thèse a été réalisé dans le but de mieux comprendre l'épidémiologie du complexe fusarien. L'étude de l'état phytosanitaires des échantillons de blé, la cartographie dynamique de la maladie, la caractérisation ainsi que l'étude de la virulence des espèces isolées, et l'efficacité d'un nouveau traitement des semences sur les paramètres de croissances et de rendement du blé, ont permis de mettre en évidence l'importance des dégâts que peu causés la fusariose dans les champs de blé ainsi que sur les semences céréalières au Maroc. Ces éléments sont synthétisés de façon plus générale dans cette dernière partie.

L'ensemble de nos résultats mettent en évidence l'importance de considérer la grande variabilité des réponses observées lors de l'étude de cette maladie, notamment les différentes espèces impliquées dans la maladie, ainsi que les différences observées entre les régions et le types d'échantillon analysé.

L'analyse des semences de blé tendre et blé dur collectées de six régions céréalières du Maroc: Chaouia, Doukkala, Gharb, Haouz, Saïs et Tadla, de l'année 2013/2014, nous a permis de démontrer que pour le blé dur la région la plus contaminée était celle du Gharb, 45,60% des échantillons étaient infectés, alors que celle qui a enregistré le plus faible niveau d'infection était la région du Saïs 20,40%. Pour le blé tendre les niveaux de contamination les plus élevés étaient dans les régions Gharb et Saïs de l'ordre de 39,20% et 37,60% respectivement, la contamination la plus faible était celle de Haouz 16,67%. Les semences de blé dur étaient plus infectées par la maladie.

Les champignons isolés de l'ensemble des échantillons semences des régions Chaouia, Doukkala, Haouz et Tadla, et induisant une infection par la fusariose de blé sont: *M. nivale majus* et *F. avenaceum*. Il est à noter aussi que la présence de *M. nivale majus* est dominante (présente dans plus de 90% de la totalité des régions), alors il n'y a pas de risque de contamination par les mycotoxines.

Pour les échantillons frais des régions Gharb-Chrarda-Bni-Hssen, Fès-Boulemane et Meknès-Tafilalet (de l'année 2013/2014). Le pourcentage d'infection par la maladie dépasse 40% à la région Gharb-Chrarda-Bni-Hssen. Nous avons constatés aussi la présence du champignon dans tous les organes des plantes analysés (racines, collets, glumes et graines).

Les régions Fès-Boulemane et Meknès-Tafilalet, ont inscrit les pourcentages d'infection les plus bas. La majorité des parcelles de ces régions ne présentaient aucuns symptômes de la

Conclusion générale et perspectives.

maladie. Les racines et les collets sont les principales parties végétatives au niveau des quelles l'infection a été enregistrée.

Les espèces fongiques isolés de ces échantillons frais pour ces régions sont: *M. nivale majus*, *F. culmorum*, *F. avenaceum* et *F. graminearum*. *M. nivale majus* (isolé des racines, des collets, des glumes et des graines) et *F. culmorum* (isolé surtout des racines et des collets) sont responsable de 82% de l'infection à la région Gharb-Chrarda-Bni-Hssen, tandis que *F. graminearum* (isolé des glumes et grains du blé) est présente avec une fréquence de 18%.

Pour Fès-Boulemane et Meknès-Tafilalet, la faible infestation par la maladie est causée par *F. avenaceum*, responsable de la pourriture du collet.

Tandis que l'analyse des échantillons frais des régions, Marrakech-Tensift-Al Haouz et Tadla-Azilal (de l'année 2014/2015), montre que pour Marrakech-Tensift-Al Haouz le niveau d'infection a été estimé supérieur à 60% dans plusieurs communes de la région, causé principalement par *F. culmorum* qui est responsable de 50% d'infection présente dans la zone, puis *F. avenaceum* avec une fréquence de 30%. La détection de ces deux espèces de *Fusarium* explique la grande infection au niveau du collet dans cette région alors que *F. avenaceum* est aussi responsable de la fusariose de l'épi du blé, et par conséquent, la contamination au niveau des graines.

Pour Tadla-azilal le pourcentage de la forte infection était de 26%, *M. nivale majus* était présente avec une fréquence de 65% sur l'ensemble des échantillons infectés dans cette zone.

Pour les régions Gharb-Chrarda-Bni-Hssen, Fès-Boulemane, Meknès-Tafilalet et Marrakech-Tensift-Al Haouz, le blé cours une risque majeur de contamination par les mycotoxines produites par les espèces de *F. culmorum*, *F. avenaceum* et *F. graminearum*.

L'étude de la virulence des espèces responsable de la fusariose du blé au Maroc (*F. culmorum*, *F. avenaceum* et la sous espèce *M. nivale majus*) démontre que ces derniers causent une forte inhibition de la germination des graines inoculées par des suspensions de spores de ces espèces même à faible concentration, et cela a été observé pour le blé tendre dur et orge, traité (Tébuconazole) et non traité.

Tandis que le comportement variétale des quatre variétés de blé dur et quatre variétés de blé tendre traitées (Tébuconazole), à l'inoculation des semences de ces variétés par une suspension fongique de concentration  $10^3$  spores/ ml, de *M. nivale majus* a causé la fonte de semis des



Conclusion générale et perspectives.

semences, ainsi l'inoculation des semences par les espèces *F. culmorum* et *F. avenaceum* à la même concentration a entraîné l'infection des racines et du collet par le champignon avec des pourcentages qui ont dépassé 30%, pour les variétés: Radia, Salama, Fadila, du blé tendre et les variétés: Karim, Tarek, Kanakis et Grecale, pour le blé dur.

Pour le traitement de semence, le traitement C composé de 25 g/L Difénoconazole + 25 g/L Fludioxonil + 262.5 g/L Thiamethoxam, a prouvé un effet meilleur sur l'ensemble des paramètres de croissance étudiés, à savoir le nombre de pieds, le nombre de talles, le nombre d'épi, la longueur et le poids de l'épi et finalement le nombre de grains/épi, de même pour les rendements, que le traitement S qui ne contient que de la Thiamethoxam.

Cela a été significativement observé d'après les résultats qu'on a obtenus.

A la lumière de ces résultats, nous recommandons ce qui suit :

- Une étude de l'inoculum primaire de *Fusarium* / *Microdochium* disponible au stade de sensibilité de la plante permettrait d'évaluer un risque potentiel d'épidémie. Pour cela, l'analyse de bandes de piégeage de spores (à l'aide de pièges Burkard par exemple) pourrait être envisagée de manière à identifier au champ les sources et nature d'inoculum (ascospores ou microconidies), les proportions de chaque espèce ou encore la date et la durée des pics d'envol de spores.
- une étude de la période de sensibilité du blé ainsi que des interactions entre champignons responsable de la fusariose, il serait intéressant de coupler ces modalités avec différents programmes de protection.

Une première expérience pourrait comprendre une application du fongicide au stade épiaison, à floraison (sortie des premières anthères), ou encore au début de la formation des grains, au champ de manière à coupler la fenêtre de sensibilité de plante à l'efficacité de l'application.

Un deuxième programme fongicide pourrait croiser les résultats de pièges à spores à une protection fongicide ciblée sur ces dates de pic d'envol où le risque d'une épidémie semblerait maximal. Dans une étude préalable, Caron et al. (2007) ont identifié ces pics de libération des spores au cours d'un cycle cultural et l'observation de vols de spores après la floraison pourrait impliquer une application fongicide plus tardive qui pourrait optimiser la protection de la culture.

Conclusion générale et perspectives.

- Une étude des interactions et de la compétition entre les espèces responsables de la fusariose serait intéressante, les résultats de compétition entre espèces réalisées à différentes modalités de température et d'humidité, relativement aux optima de chaque espèce.

- Entamer des études concernant les mycotoxines produites par les espèces pathogènes et leur taux de toxicité.

- L'identification précise des espèces présentes au Maroc également permet de choisir la matière active optimale au contrôle de la maladie. En effet, les travaux de Simpson et al. (2001) soulignent les différences de sensibilité des champignons responsables de la fusariose aux deux matières actives principales, les triazoles et les strobilurines. D'où l'efficacité du traitement C, chose qui rend nécessaire de sensibiliser les gens vers des traitements efficaces vis-à-vis cette maladie.

- le choix variétal est très important, sélectionner des variétés de blé ayant un génotype résistant à la maladie accumulent moins de toxines que les génotypes sensibles. A partir de cela, il serait essentiel de sélectionner des variétés de blé plus ou moins sensibles à la fusariose.

Ces travaux apportent donc des éléments de discussion nouveaux et impliquent de nouvelles questions de recherche concernant la protection des plantes de blé.

---

## *Références bibliographiques*

---

## Références bibliographiques

- AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), 2006. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale, rapport synthétique, 82 p.
- AGRIOS, GN. 1997. Plant Pathology, 4th edn. Academic Press. New York (US). : Academic Press, 1997, 635 p.
- AHRENS, W., FEHRMANN, H. 1984. Attack of wheat by *Septoria nodorum* and *Fusarium* ear scab. I. Crop loss analysis, J. Plant Dis. Prot. 91 (1); 42–58.
- AÏT ELMEKKI, A. 2006. Les politiques céréalières au Maroc. Les notes d'analyse du *CIHEAM* n° 7. 194 pages.
- ALEXANDER, J.V., BOURRET J.A., GOLD A.H., SNYDER W.C. 1966. Induction of chlamydospore formation by *Fusarium solani* in sterile soil extracts. *Phytopathology* 56:353-354.
- ALEXANDER, N.J., PROCTOR, R.H., MCCORMICK, S.P., PLATTNER, R.D. 1997. Generic and molecular aspects of the biosynthesis of trichothecenes by *Fusarium*. *Cereal Research Communications*, 25, 315–320.
- ANONYME, 2012. United States Department of Agriculture (USDA).
- ANONYME a, 2013. Office National Interprofessionnel des Céréales et des Légumineuses (ONICL). Chiffres clés de la filière Céréales et Légumineuses
- ANONYME b, 2013. Sonacos Maroc
- ANONYME a, 2014. Direction Provinciale agricole (DPA). Meknès
- ANONYME b, 2014. Direction Provinciale agricole (DPA). Sidi Kassem
- ANONYME c, 2014. Actualités cultures. Chambre d'agriculture. *Info.plainen*° 523; 4 pages
- ANONYME a, 2019. Site chambagri France
- ANONYME b, 2019. Site syngenta
- ARGYRIS J, TEKRONY D, HERSHMAN D, VANSANFORD D, HALL M, KENNEDY B, RUCKER M, EDGE C, 2005. *Fusarium* head blight infection following point inoculation in

## Références bibliographiques

- the greenhouse compared with movement of *Fusarium graminearum* in seed and floral components. *Crop Science* **45**, 626–634.
- ARTHUR, J.C. 1891. Indiana Agric. Exp. Station Bull. 36; 129–132.
- ATANASOFF, D. 1920. *Fusarium* blight (scab) of wheat and other cereals, Journal Agric. Research. 20 (1); 1–32.
- ATANASOVA-PENICHON, V., RICHARD-FORGET, F. 2014. Les phytomicronutriments des céréales: un élément de résistance à la fusariose et à l'accumulation de mycotoxines. *Innovations Agronomiques* 42, 63-76.
- ARSENIUK, E., FOREMSKA, E., GORAL, T., CHELKOWSKI, J. 1999. *Fusarium* head blight reactions and accumulation of deoxynivalenol (DON) and some of its derivatives in kernels of wheat, triticale and rye. *Journal of Phytopathology* 147; 577 590.
- BAI, G., SHANER, G. 1994. Scab of wheat: prospects for control, *Plant Dis.* 78 (8); 760–766.
- AILEY, K.L., L. COUTURE, B.D. GOSSEN, R.K. GUGEL et R.A.A. MORRALL. 004. Maladies des grandes cultures au Canada. Société canadienne de phytopathologie, Winnipeg, Canada.
- BAKAN, B. 1998. Approche physiologique de la biosynthèse des trichothécènes par *Fusarium*. Thèse INA-PG, 150 pages.
- BANDYOPADHYAY, R., MUGHOGHO, L.K., SATYANARAYANA, M.V., KALISZ, M.E. 1991. Occurrence of airborne spores of fungi causing grain mould over a sorghum crop, *Mycol. Res.* 95 (11); 1315–1320.
- BARRIER-GUILLOT B., DELAMBRE M., MOREL A., MAUMENE C., GOUET H., GROSJEAN F., LEUILLET M., 2006. Identification of agronomic factors that influence the level of DON in wheat grown in France. *Mycotoxins and phycotoxins*. In H. Njapau, S. Truj H.P. van Egmond, D.L. Park (Eds.) *Advances in determination, toxicology and exposure management*, 239-247.
- BEACHAM, A. 2013. Pathogenicity determinants of *Fusarium graminearum* on wheat ears. Thesis for the degree of Doctor of Philosophy. The University of Exeter: Royaume-Uni, 2010, 367 P.

- BEATRICE O., 2012. « Mycotoxine plusieurs *Fusarium* responsables des contaminations en T-2 et HT-2. Perspectives agricoles n°391. Arvales Institut de Végétal.
- BECHTEL, D.B., KALEIKAU, L.A, GAINES, R.L., SEITZ, L.M. 1985.The effects of *Fusarium graminearum* infection on wheat kernels. *Cereal Chemistry* 62; 191-197.
- BENNETT J.W., KLICH M., 2003.Mycotoxins. *Clinical Microbiol Review*, Vol. 16; 497–516.
- BERGSTROM, GC. I 993. Scab (Fusarium head blight). In: Seed-Borne Diseases and Seed Health Testing of Wheat (eds SB Mathur & BM Cunniff), pp. 83-93. Jordbrugsforlaget Publisher, Frederiksberg (DK).
- BHAT, R., RAI, R.V., KARIM, A.A. 2010. Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. *Com. Rev. Food Sci. Food Saf.* 9, 57–81.
- BONJEAN, A., PICARD, E., 1990.Les céréales à paille : origine, histoire, économie, sélection Softword – Groupe ITM, Paris, 208 pages.
- BOTTALICO, A., PERRONE G. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 108 (7), 611-624.
- BOUGHALLEB, N., SOULI, M., KARBOUS, B., MAHJOUB, M. E. L. 2006. Identification et répartition géographique des fusarioses affectant l'épi et le pied du blé dans certaines régions du Nord de la Tunisie.
- BOULIF M., 2013. Gestion intégrée des maladies du blé. *Agriculture du maghreb* n° 65, 80-89.
- BOUSSAC N, LE LAMER O, BERTRAND R, ROUSSELIN X, 2012. Les marchés de France Agri Mer : Bilan céréalier & oléo-protéagineux / Campagne 2011-2012 - Perspectives 2012-2013. Montreuil-sous-Bois, France : France Agri Mer : Établissement national des produits de l'agriculture et de la mer.
- BOUTIGNY A., 2007. Identification dans les grains de blé dur de composés inhibiteurs de la biosynthèse des trichothécènes B par *Fusarium*. Thèse Université de Bordeaux 1, France.

## Références bibliographiques

- BOTTALICO A., PERRONE G., 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 108 (7), 611-624.
- CARON, D. 2000. Fusarioses des épis. Sait-on prévoir leur développement? *Perspect. Agricoles* 253 (2000) 56–62.
- CARON, D. 1993. Les Fusarioses. *In* Maladies des blés et orges: ITCF, édition 30-39.
- CARON D, MALAVERGNE D, DUPON DE DINECHIN L, 2007. Impact des facteurs agro-environnementaux sur le niveau d'inoculum et la cinétique de dissémination des ascospores de *Gibberella zeae*. Colloque Fusariotoxines des Céréales Arcachon, 11-13 september 2007.
- CASSINI, R. 1967. A propos des dégâts provoqués par *Fusarium roseum* dans les cultures de céréales du bassin parisien, *Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France*, pp. 858–867.
- CASSINI, R. 1970. Facteurs favorables ou défavorables au développement des fusarioses et septorioses du blé, in: *Proceedings of the Meeting of Sections Cereals and Physiology, Eucarpia, Dijon*, pp. 271–279.
- CASSINI, R. 1973. Influence des techniques de culture sur le développement des maladies des céréales. Versailles T1, 21 pages.
- CHAMPEIL, A., DORÉ, T., FOURBET, J.F. 2004. *Fusarium* head blight: epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by *Fusarium* in wheat grains. *Plant Science* 166; 1389-1415.
- CHAMPEIL, A., FOURBET, J.F., DORE, T., ROSSIGNOL, L. 2004. Influence of cropping system on *Fusarium* head blight and mycotoxin levels in winter wheat. *Crop Prot.*, 23:531–537.
- CHANG K., HURTZ J.H., MIROCHA C.J., 1979. Effects of the mycotoxin zéaralénone on swine reproduction. *American Journal of Veterinary Research*, 40, 1260-1267.
- CHELI, F., GALLO, R., BATTAGLIA, D., DELL'ORTO, V. 2013. EU legislation on feed related issues: An update. *Ital. J. Anim. Sci.* 12 (2), 295–312.

- CHELI, F., BATTAGLIA, D., GALLO, R., DELL'ORTO, V. 2014. EU legislation on cereal safety: An update with a focus on mycotoxins. *Food Control*, 37, 315–325.
- CLEMENT, J.A., PARRY, D. 1998. Stem-base disease and fungal colonization of winter wheat grown in compost inoculated with *Fusarium culmorum*, *F. Graminearum* and *Microdochium nivale*, *Eur. J. Plant Pathol.* 104; 323–330 (Abstract).
- COMBY, M., LACOSTE, S., BAILLIEUL, F., PROFIZI, C., DUPONT, J. 2016. Spatial and temporal variation of cultivable communities of co-occurring endophytes and pathogens in wheat *Front. Microbiol*, 7, p. 403.
- COOK, R.J. 1980. *Fusarium* fool rot of wheal and its control in the Pacific Northwest. *Plant Disease* 64, 1061-1066.
- COOK, R.J. 1981. *Fusarium* diseases in the people's republic of China. In: *Fusarium diseases, biology and taxonomy* (PE Nelson, TA Toussoun, RJ Cook, eds) Pennsylv State Universal Press, 53-55.
- COOK, R.J. 1968. *Fusarium* root and foot rot of cereals in the Pacific Northwest. *Phytopathology* 58. 127-131.
- COULOMB, I., CANEILL, J., MANICHON, H. 1993. Comportement du sol au labour: méthode d'analyse et évaluation des conséquences de l'état initial du sol sur l'état transformé par le labour, *Agronomie* 13; 45–56.
- COUTURE, L. 1982. Réceptivité de cultivars de céréales de printemps à la contamination des graines sur inflorescence par les *Fusarium* spp. *Can. J. Plant Sci.* 62; 29–34.
- COVARELLI L., BECCARI G., STEED A., NICHOLSON P. 2012. Colonization of soft wheat following infection of the stem base by *Fusarium culmorum* and translocation of deoxynivalenol to the head. *Plant Pathology*, 61: 1011-1188.
- CROMEY, M.G., SHORTER, S.C., LAUREN, D.R., SINCLAIR, K.I. 2002. Cultivar and crop management influences on *Fusarium* head blight and mycotoxins in spring wheat (*Triticum aestivum*) in New Zealand, *N. Z. J. Crop Horticultural Sci.* 30; 235–247.



## Références bibliographiques

- CUMAGUN CJR, BOWDEN RL, JURGENSON JE, LESLIE JF, MIEDANER T, 2004. Genetic mapping of pathogenicity and aggressiveness of *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) toward wheat. *Phytopathology* 94, 520-526.
- DAAMEN, R.A., LANGERAK, C.J., STOL, W. 1991. Surveys of cereal diseases and pests in The Netherlands. III. *Monographella nivalis* and *Fusarium* spp. in winter wheat fields and seed lots, *Neth. J. Plant Pathol.* 97; 105–114.
- DANEMARK, 2008. Addendum to Draft Assessment Report on the active substance tebuconazole Volume 3 – Annex B.6. Toxicology and Metabolism.
- DESJARDINS, A.E. 2006. *Fusarium* mycotoxins. Chemistry, Genetics and Biology, APS Press, Sta Paul, Minnesota, USA, p. 260.
- DESJARDINS, A.E., PROCTOR, R.H. 2007. *Molecular biology of Fusarium mycotoxins*. *Int. J. Food Microbiol.*, 119: 47–50.
- DIEKMAN, M.A., GREEN, M.L. 1992. Mycotoxins and reproduction in domestic livestock. *Journal of Animal Science* 70; 1615-1627.
- DIEPENINGEN, A., BRANKOVICS, B., ILTES, J., and WAALWIJK, C., “Diagnosis of *Fusarium* Infections: Approaches to Identification by the Clinical Mycology Laboratory,” *Curr. Fungal Infect. Rep.*, vol. 9, no. 3, pp. 135–143, Sep. 2015.
- DILL-MACKY, R., JONES, R.K. 2000. The effect of previous crop residues and tillage on *Fusarium* head blight of wheat, *Plant Dis.* 84; 71–76.
- DOROTHEE SIOU, 2013. Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien.
- DORRANCE, A.E., BERRY, S.A., BOWEN, P. et LIPPS, P.E. 2004. Characterization of *Pythium* spp. From three Ohio fields for pathogenicity on corn and soybean and metalaxyl sensitivity. *Plant Health Progress*.
- DOYLE, J.J., DOYLE J.L. 2007. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *FOCUS* 12; 13-15.
- DUTHIE, J.A., HALL, R. 1987. Transmission of *Fusarium graminearum* from seed to stems of winter wheat. - *Plant Pathol.* 1987, 36(1), 33-37.

## Références bibliographiques

- ECHA, 2013. Committee for Risk Assessment RAC Opinion proposing harmonised classification and labeling at EU level of tebuconazole CLH-O-0000002717-69-02/F.
- EL-YOUSFI B. 2015. Guide du diagnostic des principales maladies des céréales d'automne. *INRA, CRRA* Settat.
- ERIKSSON, J. 1914. Maladies cryptogamiques des plantes agricoles et leur traitement. Librairie Agricole de la Maison Rustique, 274 pages.
- ERIKSEN, G.S. 2003. Metabolism and toxicity of trichothecenes. PhD Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, 400:1–38.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). 2014. Scientific Opinion on the risks to human and animal health related to the presence of beauvericin and enniatins in food and feed. *EFSA J.*, 12: 3802.
- EYAL, Z. 1981. Integrated control of septoriadiseases of wheat. *Plant Disease*, 65 (9); 763-768.
- EZZAHIRI, B. 2001. Les maladies du blé, identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. *Transfert de technologie*, n°77 ; 16-20.
- EZZAHIRI, B., BOUHACHE, M., MIHI, M. 2013. Index phytosanitaire du Maroc. 10<sup>ème</sup> édition AMPP, 304 pages.
- FADILI, J., HOUS, A. 2011. Traitement des semences des céréales. *Phyto-info* Meknès Tafilalet, 09 ; 20-24.
- FAO-Food and Agriculture Organization. Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003. In FAO Food and Nutrition Paper 81; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 2004; Available online: <http://www.fao.org/docrep/007/y5499e/y5499e00.htm> (accessed on 13 November 2015).
- FAO 2004. Food and Agriculture Organization, Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003. FAO Food and Nutrition Paper N° 81. Rome, Italy.
- FERNANDO, W.G.D., MILLER, J.D., SEAMAN, W.L., SEIFERT, K., PAULITZ, T.C. 2000. Daily and seasonal dynamics of airborne spores of *Fusarium graminearum* and other *Fusarium* species sampled over wheat plots, *Can. J. Bot.* 78; 497–505.

## Références bibliographiques

- FERRIGO D., RAIOLA A., CAUSIN R. 2016. *Fusarium* toxins in cereals: occurrence, legislation, factors promoting the appearance and their management. *Molecules*, 21: 627.
- FORGET F. 2006. Accumulation deoxynivalenol and its 15-acetylatedform is significantly modulated by oxidative stress in liquid cultures of *Fusarium graminearum*. *FEMS Microbiology Letters* 258, 102-107.
- FOROUD, N.A., EUDES, F. 2009. Trichothecenes in cereal grains. *Int. J. Mol. Sci.*, 10: 147-173.
- GARGOURI, S., HAJLAOUI, M.R., GUERMECH, A., MARRAKCHI, M. 2001. Identification des espèces fongiques associées à la pourriture du pied du blé et leur répartition selon les étages bioclimatiques en Tunisie. – *EPPO Bull.*, 31(4), 499-503.
- GARGOURI- KAMMOUN, GARGOURI, BARREAU, RICHARD-FORGET, HAJLAOUI. 2010. Trichothecene chemotypes of *Fusarium culmorum* infecting wheat in Tunisia. *International Journal of Food Microbiology*, n° 140, p. 84- 89.
- GAUTAM, 2011. « Type I host resistance and Trichothecene Accumulation in *Fusarium*-infected Wheat Heads ». *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. Vol. 6, n°2, p. 231-241.
- GELDERBLUM, W.C.A., JASKIEWICZ, K., MARASAS, W.F.O., THIEL, P.G., HORAK,R.M., VLEGGAR, R., KRIEK, N.P.J. 1988.Fumonisin, novel mycotoxins withcancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology*, 54; 1806-1811.
- GHAHDERIJANI, M., MORADI A. 2008. Microbiological and molecular assessment of interactions among the major *Fusarium* head blight pathogens on wheat ears. Inaugural-Dissertation. P-19; pages 122.
- GHODBANE, A., MAHJOUR, M., DJERBI, M., MLAIKI, A., SHAREN, AL. 1974. Project on Septoria and Root rot. Montana State University, Bozeman (US).
- GILBERT, J., TEKAUZ, A. 2000. Recent developments in research on *Fusarium* head blight of wheat in Canada, *Can. J. Plant Pathol.* 22; 1–8 (Review).
- GIMENEZ, M.J., GIL-HUMANES, J., ALVAREZ, J.B., BARRO, F., 2015. Cereals Taxonomy: The Role of Domestication and Breeding on Gluten Intolerance. Doi:

- <http://dx.doi.org/10.3926/oms.263>. In: Arranz, E., Fernández-Bañares, F., Rosell, C.M., Rodrigo, L., Peña, A.S. editors. *Advances in the Understanding of Gluten Related Pathology and the Evolution of Gluten-Free Foods*. Barcelona, Spain: Omnia Science; 2015. p. 493-526.
- GLYNN N.C., HARE M.C., PARRY D.W., EDWARDS S.G. 2005. Phylogenetic analysis of EF-1 alpha gene sequences from isolates of *Microdochium nivale* leads to elevation of varieties majus and nivale to species status. *Mycological Research* 109, 872-880.
- GORDON, W.L. 1959. The occurrence of *Fusarium* species in Canada. VI. Taxonomy and geographic distribution of *Fusarium* species on plants, insects, and fungi. Cité par Parry et al., 1995, *Can. J. Bot.* 37; 257–290.
- GÖRTZ, A. 2009. Auftreten der *Fusarium*-Kolbenfäule im Maisanbau in Deutschland und Maßnahmen zur Vermeidung der Mykotoxinbelastung in Maiskörnern. P- 17 ; 114 pages.
- GOSME, M. 2007. Modélisation du développement spatio-temporel des maladies d'origine tellurique. Thèse de l'Ecole Supérieure Agronomique de Rennes. P-19; 200 pages.
- GOURDAIN E., PIRAUX F., BARRIER-GUILLOT B., 2009. Les outils pour gérer le risque déoxynivalénol sur blé tendre et blé dur. AFPP – 9ème Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes, Tours, 8 et 9 décembre 2009.
- GUERIF, J., RICHARD, G., DURR, C., MACHET, J.M., RECOUS, S., ROGER ESTRADE, J. A. 2001. Review of tillage effects on crop residue management, seedbed conditions and seedling establishment, *Soil Tillage Res.* 61; 13–32.
- HAGLER, W.M., TOWERS, N.R., MIROCHA, C.J., EPPLEY, R.M., BRYDEN, W.L. 2001. Zearalenone: Mycotoxin or mycoestrogen? Pages 321-331.
- HÄNI, F. 1981. On the biology and control of *Fusarium* diseases of wheat and rye. *Phytopathology* 100; 44-87.
- HARRISON, L.R., COLVIN, B.M., GREEN, J.T., NEWMAN, L.E., COLE, J.R. 1990. Pulmonary oedema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B<sub>1</sub>, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2; 217-221.

## Références bibliographiques

- HASCHEK, W.M., GUMPRECHT, L.A., SMITH, G., TUMBLESON, M.E., CONSTABLE, P.D. 2001. Fumonisin intoxicosis in swine: An overview of porcine pulmonary edema and current perspectives. *Environmental Health Perspectives*, 109; 251-257.
- HORSFALL, J. G., DIMOND, A. E. 1960. Plant pathology an advanced treatise, the diseased population epidemics and control, Volume 3. Academic press. 387 pages.
- HUMPHREYS, J., COOKE, B.M., STOREY, T., 1995. Effects of seed borne *Microdochium nivale* on establishment and grain yield of winter sown wheat. *Plant Var. Seeds* 8, 107- 117.
- 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 (3), 351-362.
- IRETA, MJ. , GILCHRIST, L. 1994. Fusarium Head Scab of Wheat. Wheat special report 21b. CYMMIT, Mexico, DF.
- JENNINGS P, COATES ME, TURNER JA, CHANDLER EA, NICHOLSON P, 2004. Determination of deoxynivalenol and nivalenol chemotypes of *Fusarium culmorum* isolates from England and Wales by PCR assay. *Plant Pathology* 53, 182–190.
- JUAN, C., RITIENI, A., MANES, J. 2012. Determination of trichothecenes and zearalenones in grain cereal, flour and bread by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 134: 2389-2397.
- KANO, R.O.K., NAKAMURA, Y., OOKA, S., KASHIMA, M., MIZOGUCHI, M., WATANABE, S., HASEGAWA, A. 2000. Differences among chitin synthase I gene sequences in *Trichophyton rubrum* and *violaceum*. *Med. Mycol.* 38; 47-50.
- KELLERMAN, T.S., MARASES, W.F.O., THIEL, P.G., GELDERBLOM, W.C.A., CAWOOD, M., COETZER, J.A.W. 1990. Leukoencephalomalacia in horses induced by oral dosing of fumonisin B1. *Onderstepoort Journal Veterinary Research*, 57; 269-275.
- KOCH, P. 2004. State of the art of trichothecenes analysis. *Toxicol. Lett.*, 153: 109-112.
- KREBS, H., DUBOIS, D., KULLING, C., FORRER, H.R. 2000. The effects of preceding crop and tillage on the incidence of *Fusarium* spp. And mycotoxin deoxynivalenol content in winter wheat grain, *Agrarforschung* 7; 264–268 (Abstract, in German).

- KRSKA, R., BAUMGARTNER, S., JOSEPHS, R. 2001. The state-of-the-art in the analysis of type-A and -B trichothecene mycotoxins in cereals. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 371: 285–299.
- KULIK, T., PSZCZOLKOWSKA, A., LOJKO, M. 2011. Multilocus phylogenetics show high intraspecific variability within *Fusarium avenaceum*. *Int J Mol Sci* 12: 5626–5640
- LACEY, J., MAGAN, N. 1991. Fungi in cereal grain: their occurrence and water and temperature relationship J. Chelkowsky (Ed.), *Cereal grain: Mycotoxins, fungi and quality in drying and storage*, Elsevier, Amsterdam, pp. 77-118.
- LACEY, J., BATEMAN, G.L., MIROCHA, C.J. 1999. Effects of infection time and moisture on development of ear blight and deoxynivalenol production by *Fusarium* spp. in wheat, *Ann. Appl. Biol.* 134; 277–283.
- LANDSCHOOT S., AUDENAERT K., WAEGEMAN W., PYCKE B., BEKAERT B., DE BAETS B., HAESAERT G. 2011. Connection between primary *Fusarium inoculum* on gramineous weeds, crop residues and soil samples and the final population on wheat ears in Flanders. *Crop Protection*, 30: 1297-1305.
- LANGSETH, W., RUNDBERGET, T. 1998. Instrumental methods for determination of nonmacrocytic trichothecenes in cereals, foodstuffs and cultures [Review]. *Journal of Chromatography A*, 815: 103–121.
- LATTANZIO, V.M.T., PASCALE, M., VISCONTI, A. 2009. Current analytical methods for trichothecene mycotoxins in cereals. *Trends in Analytical Chemistry*, (28), 6: 758–768.
- LARRAN, S., PERELLÓ, A., SIMÓN, M.R., MORENO, V. 2007. The endophytic fungi from wheat (*Triticum aestivum* L.) *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 23, pp. 565-572.
- LEMMENS M., BUERSTMAYR H., KRSKA R., SCHUHMACHER R., GRAUSGRUBER H., RUCKENBAUER P. 2004. The effect of inoculation treatment and long-term application of moisture on *Fusarium* head blight symptoms and deoxynivalenol contamination in wheat grains. *European Journal of Plant Pathology*, 110: 299-308.
- LEMMENS M., 2007. Genetical, ecophysiological and biochemical interactions modulating the biogenesis of *Fusarium* mycotoxins. In *Colloque scientifique RARE*, Arcachon, France, pp. 3-4.

## Références bibliographiques

- LEONARD KJ, BUSHNELL WR, 2003. *Fusarium* head blight of wheat and barley. St. Paul, U.S.A.: APS Press.
- LEPLAT J., FRIBERG H., ABID M., STEINBERG C. 2013. Survival of *Fusarium graminearum*, the causal agent of *Fusarium* head blight. *Agron. Sustain. Dev.*, 33: 97-111
- LEPOIVRE P. 2003. *Phytopathologie*. Edition De Boeck.
- LESLIE, J.F., SUMMERELL, B.A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*, Blackwell Publishing. 193 pages.
- LIDDELL, C.M. 2003. Systematics of *Fusarium* species and allies associated with *Fusarium* head blight *In* *Fusarium* head blight of wheat and barley. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN. Pages 35- 43.
- LOGRIECO, A., VESONDER, R.F., PETERSEN, S.W., BOTTAICO, A., 1991. Reexamination of the taxonomic disposition of and deoxynivalenol production by *Fusarium nivale* NRRL 3290. *Mycologia* 83, 367e370.
- MACHIDA, Y., NOZOE, S. 1972. Biosynthesis of trichothecin and related compounds. *Tetrahedron*, 28: 5113-5117.
- MARASAS, W.F.O., NELSON, P.E., TOUSSOUN, T.A. 1984. *Toxigenic Fusarium species, identification and mycotoxicology*. PennState University Press, Pa, 328 pages.
- MARIA, E. 2011. Mikroskaligevariabilität des *Fusarium*-Befalls und der Mykotoxin Belastung von weizenkörnern. P- 26, 147 pages.
- MARTIN, RA. , JOHNSTON, HW. 1982. Effects and control of *Fusarium* diseases of cereal grains in the Atlantic Provinces. *Can J Plant Pathol* 20; 210-216.
- MARTIN, L. 2004. La fusariose de l'épi chez le blé et l'orge.
- MATHUR, S.B., et O. KONGSDAL. 2003. Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.
- MAYO S., GUTIERREZ S., MALMIERCA M.G., LORENZANA A., CAMPELO M.P., HERMOSA R., CASQUERO P.A., 2015. Influence of *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma*

- spp. In 20 growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and in the induction of plant defense-related genes.
- MCCALLUM, J.A., WALKER, J.R.L. 1991. Phenolic biosynthesis during grain development in wheat (*Triticum aestivum* L.) III. Changes in hydroxycinnamic acids during grain development. *Journal of Cereal Science*, 13, 161-172.
- MCMULLEN, M., JONES, R., GALLENBERG, D, 1997. Scab of wheat and barley: a re-emerging disease of devastating impact. *Plant Disease*, 81; 1340-1348.
- MECA G., ZINEDINE A., BLESA J., FONT G., MANES J. 2010. Further data on the presence of *Fusarium* emerging mycotoxins enniatins, fusaproliferin and beauvericin in cereals available on the Spanish markets. *Food Chemical Toxicology*. Vol. 48, n°5, p. 1412-1416.
- MERGOUM, M., BRAUN, H.J., NICOL, J., BAGCI, S.A., EKIZ, H., AKTAS, H., DUSUNCELI, F., CETIN, L., KETATA, H., YAHYAOU, A., BOLAT, N., KESER, M. 2000. Screening wheat for root rot disease in WANA region. - Proc. 6th Int. Wheat Congre. Budapest, Hungary, p. 186.
- MESSIAEN, C.M., CASSINI, R.1968. Recherches sue les Fusarioses. IV. La systématique des *Fusarium*, *Ann. Epiphytes* 19 (3); 387–454.
- MESTERHAZY, Â. 1978. Compar a tive analysis of artificial inoculation methods with *Fusarium* spp. on winter wheat varieties. *Phytopathol.* 2. 93: 12-15.
- MIEDANER T. 1997. Breeding wheat and rye for resistance to *Fusarium* diseases. *Plant Breeding* 116, 201-220.
- MILLAR, C.S., COLHOUN, J. 1969. *Fusarium* diseases of cereals. IV. Observations on *Fusarium nivale* on wheat, *Trans. Br. Mycol. Soc.* 52; 57–66.
- MOSS, M.O., THRANE, U. 2004. *Fusarium* taxonomy with relation to trichothecene formation. *Toxicol. Lett.*, 153: 23–28.
- MOYA-ELIZONDO, E.A. 2013. *Fusarium* crown rot disease: biology, interactions, management and function as a possible sensor of global climate change *Cien. Invest. Agr.*, 40, pp. 235-252.



## Références bibliographiques

- MULLEN, M., JONES, R., GALLENBERG, D. 1997. Scab of wheat and barley: a re-emerging disease of devastating impact, *Plant Dis.* 81; 1340–1348.
- MULLIS, K., FALOONA, F., SCHARF, S., SAIKI, R., HORN, G., ERLICH, H. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 51 Pt 1; 263-273.
- NAKAJIMA, T., NAITO, S. 1995. Reassessment of Mycotoxin Productivity of *Microdochium nivale* in Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 61:357-361.
- NELSON, P.E., TOUSSOUN, T.A., MARASAS, W.F.O. 1983. *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, University Park, PA. 203 pages.
- NEVO, E., KOROL, A.B., BEILES, A., TZION, F. 2002. Evolution of wild emmer and wheat improvement: population genetics, genetic resources, and genome organization of wheat's progenitor, *Triticum dicoccoides*. xxii, 364 p. <http://www.springer.com/978-3-540-41750-7>.
- NOUROZIAN, J., H.R. ETEBARIAN, AND G. KHODAKARAMIAN. 2006. Biological control of *Fusarium graminearum* on wheat by antagonistic bacteria. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 28; 29-38.
- NYVALL, R.F. 1989. Field crop diseases handbook. 2nd edition. New York: Van Nostrand Reinhold, pp. 91-169 (xiii, 817 p.).
- OBST A., BECHTEL A., 2000. Conditions climatiques favorisant l'attaque des épis de blé par *Fusarium graminearum*. In Réunion Club Fusariose, Bayer agro.
- O'DONNELL, K., WARD, T.J., ABERRA, D., KISTLER, H.C., AOKI, T., ORWIG, N., KIMURA, M., BJØRNSTAD, A., KLEMSDAL, S.S. 2008. Multilocus genotyping and molecular phylogenetics resolve a novel head blight pathogen within the *Fusarium graminearum* species complex from Ethiopia. *Fungal Genetics and Biology* 45, 1514–1522.
- OSBORNE L. E., STEIN J. M. 2007. Epidemiology of *Fusarium* head blight on small-grain cereals ». *International journal of food microbiology*. Vol. 119, n°1-2, p. 103–108.

- OUESLATI S, MECA G, MLIKI A, GHORBEL A, MAÑES J, 2011. Determination of *Fusarium* mycotoxins enniatins, beauvericin and fusaproliferin in cereals and derived products from Tunisia. *Food Control*, n° 22, p. 1373- 1377.
- PANCALDI D., TONTI S., PRODI A., SALOMONI D., PRA M.D., NIPOTI P., ALBERTI I., PISI A. 2010. Survey of the main causal agents of *Fusarium* head blight of durum wheat around Bologna, northern Italy. *Phytopathol. Mediterr.* 49: 258-266.
- PARIKKA P., HAKALA K., TIILIKKALA K. 2012. Expected shifts in *Fusarium* species' composition on cereal grain in Northern Europe due to climatic change ». *Food Additives & Contaminants: Part A*. p. 1-13.
- PARRY, D.W., JENKINSON, P., MCLEOD, L. 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals - a review. *Plant Pathology* 44; 207–238.
- PAULITZ, T. 1996. Diurnal release of ascospores by *Gibberella zeae* in inoculated wheat plots, *Plant Dis*; 674–678.
- PIMENTEL, M.R., MOLINA, G., DIONÍSIO, A.P., MARÓSTICA JR., PASTORE, G.M. 2001. The use of endophytes to obtain bioactive compounds and their application in biotransformation process *Biotechnol. Res. Int.*, Article 576286.
- PINOTTI, L., OTTOBONI, M., GIROMINI, C., DELL'ORTO, V., CHELI, F. 2016. Mycotoxin contamination in the EU feed supply chain: A focus on cereal byproducts. *Toxins*, 8 (45), 1-24.
- PIRGOZLIEV S. R., EDWARDS S. G., HARE M. C., JENKINSON PETER, 2003. Strategies for the control of *Fusarium* head blight in cereals ». *European journal of plant pathology*. Workshop of the EU COST Action 835 Agriculturally Important Toxigenic Fungi. Springer., p. 731-742.
- PONTS N., PINSON-GADAIS N., VERDAL-BONIN M-N., BARREAU C., RICHARD-FORGET F. 2006. Accumulation deoxynivalenol and its 15-acetylated form is significantly modulated by oxidative stress in liquid cultures of *Fusarium graminearum*. *FEMS Microbiology Letters* 258, 102-107.

## Références bibliographiques

- PONTS N., PINSON-GADAIS L., BARREAU C., RICHARD-FORGET F. OUELLET T., 2007. Exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and catalase treatment interfere with Tri genes expression in liquid culture of *Fusarium graminearum*. *FEBS Letters* 581, 443-447.
- PORRAS-ALFARO, A., BAYMAN, P. 2011. Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes *Ann. Rev. Phytopathol.*, 40, pp. 291-315.
- PRANDINI A, SIGOLO S, FILIPPI L, BATTILANI P, PIVA G. 2007. Review of predictive models for *Fusarium* head blight and related mycotoxin contamination in wheat. *Food and Chemical Toxicology* 47(5), 927–931.
- PLACINTA, C.M., D'MELLO, J.P.F., MACDONALD, A.M.C.1999. A review of worldwide contamination of cereals grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Anim. Feed Sci. Technol.* 78; 21-37.
- RANIERI, R. 2015. Geography of the durum wheat crop. *Pastaria Int.* 6, 24–36.
- ROCHA, O., ANSARI, K., DOOHAN, F.M. 2005. Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: a review. *Food Addit. Contam.*, (22), 4: 369-378.
- RUIZ, D., AGARAS, B., WERRA, P., WALL, L.G., VALVERDE, C. 2011. Characterization and screening of plant probiotic traits of bacteria isolated from rice seeds cultivated in Argentina *J. Microbiol.*, 49, pp. 902-912.
- SAUR, L. 1984. Comportement de quatre variétés de blé tendre vis-à-vis de la fusariose de l'épi causée par *Fusarium roseum* var *culmorum* (Schwabe) Sn et H *Agronomie* 4, 939-943.
- SAVOIE J-M., MARTINEZ-TUPPIA, C., RICHARD-FORGET, F. 2015. Des microorganismes capables de dégrader les mycotoxines: de nouveaux levains pour garantir la qualité sanitaire d'aliments à base de céréales ? *Innovations Agronomiques*, 44, 35-44.
- SAYOUD, R., EZZAHIRI, B., BOUZNAD, Z. 1999. Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. ITGC, Alger, 64 pages.
- SCHAAFSMA A.W., TAMBURIC-ILINIC L., MILLER J.D., HOOKER D.C., 2001. Agronomic considerations for reducing deoxynivalenol in wheat grain. *Canadian Journal of Plant Pathology-Revue Canadienne De Phytopathologie* 23, 279-285.

## Références bibliographiques

- SCHAAFSMA, A.W., TAMBURIC-ILINIC, L. 2005. Effect of seeding rate and seed treatment fungicides on agronomic performance, *Fusarium* head blight symptoms, and DON accumulation in two winter wheat. *Plant Disease* 89, 1109- 1113.
- SCHERM B, BALMAS V., SPANU F., PANI G., DELOGU G., PASQUALI M., MIGHELI A.Q. 2013. *Fusarium culmorum*: causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. *Molecular Plant Pathology*, 14: 323-341.
- SCHROEDER, HW., CHRISTENSEN, JJ. 1963. Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae* (Schw) Petch. *Phytopathology* 53, 831- 838.
- SCOTT, P.M. 1993. Gas chromatography of mycotoxins. In: Betina, V. (Ed.), *Chromatography of mycotoxins: techniques and applications. Journal of Chromatography Library*, Vol. 54, pp. 373-425, Amsterdam, Elsevier.
- SCOTT, L., LEATH, S., HAGLER, W., MURPHY, J. 1998. Variation in *Fusarium graminearum* associated with wheat scab in North Carolina, in: National *Fusarium* Head Blight Forum. Chapter 1. Epidemiology and Disease Management, Michigan State University, USA, 15 pp.
- SIMPSON, D.R., WESTON, G.E., TURNER, J.A., JENNINGS, P., NICHOLSON, P. 2001. Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *European Journal of Plant Pathology* 107, 421-431.
- SMILEY, RW. , PATTERSON, LM. 1996. Pathogenic fungi associated with fusarium foot rot of winter wheat in the semiarid Pacific Northwest. *Plant Disease* 80, 944-949.
- SNIJDERS, CHA. 1990. Genetic variation for resistance to *Fusarium* head blight in bread wheat. *Euphytica* 50, 171-179.
- SORENSEN, JL., GIESE H .2013. Influence of carbohydrates on secondary metabolism in *Fusarium avenaceum*. *Toxins* 5: 1655–1663.
- SORENSEN, L., LYSØE, E., LARSEN, J., KHORSAND-JAMAL, P., NIELSEN, K., et al. 2014. Genetic transformation of *Fusarium avenaceum* by *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation and the development of a USER-Brick vector construction system. *BMC Mol Biol* 15: 15 10.1186/1471-2199-15-15.

- STEYN, P.S. 1995. Mycotoxins, general view, chemistry and structure. *Toxicology Letters*, 82; 843- 854.
- STOYAN, R., PIRGOZLIEV, S.R., SIMON, G., MARTIN, C. 2003. Strategies for the control of *Fusarium* head blight in cereals. Kluwer Academic Publishers. *European journal of plant pathology* 109: 731-741.
- STROIA C., TABUC C., NEACSU A. 2010. Incidence of *Fusarium* species and its mycotoxins in cereals from Western Romania. *Research Journal of Agricultural Science*, 42 (2).
- SUMMERELL, B., SALLEH, B., and LESLIE, j. 2003. "A utilitarian approach to *Fusarium* identification," *Plant Dis.*, vol. 87, no. 2, pp. 117–128.
- SURMA, M., KACZAREK, Z., ADAMSKI, T., CHELKOWSKI, J., WISNIEWSKA, H. 2000. The influence of *Fusarium* head blight on phenotype distribution of barley double haploid population in respect of yield-related traits. *Cereal Research Communication*, 28; 458-492.
- SUTTON, J.C. 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*, *Can. J. Plant Pathol.* 4, 195–209.
- TAG, A.G., GARIFULLMIA, G.F., PELOW, A.W., AKE, C.J.R., PHILLIPS, T.D., HOHN, T.M., BEREMAND, M.N. 2001. A novel regulatory gene, Tri10, Control strichothecene toxin production and gene expression. *Applied and Environmental Microbiology*, 67; 5294-5302.
- TEICH, A.H., HAMILTON, J.R. 1985. Effect of cultural practices, soil phosphorus, potassium, and pH on the incidence of *Fusarium* head blight and deoxynivalenol levels in wheat, *Appl. Environ. Microbiol.* 79 (6); 1429–1431.
- TEICH, A.H. 1989. Epidemiology of wheat (*Triticum aestivum* L.) scab caused by *Fusarium* spp., in: J. Chelkowski (Ed.), *Fusarium: Mycotoxins, Taxonomy and Pathogenicity*, vol. 2, Elsevier, Amsterdam (NLD, Chapter 16, pp. 269–282.
- TERRONES, F., BURNY, P. 2012. Evolution du marché mondial du blé au cours des cinquante dernières années *In livre blanc « céréales »*. Gembloux, pages 3-4.
- THRANE, U., ADLER, A., CLASEN, P.E., GALVANO, F., LANGSETH, W., LEW, H., LOGRIECO, A., NIELSEN, K.F., RITIENI, A. 2004. Diversity in metabolite production by

## Références bibliographiques

- Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae* and *Fusarium sporotrichioides*. *Int. J. Food Microbiol.*, 95: 257–266.
- TINLINE, RD. 1988. Multiple infections of subcrown internodes of wheat (*Triticum aestivum*) by common root rot fungi. *Canadian Journal of Botany* 55, 30-34.
- TINLINE, R.D. 1994. Etiology of prematurity blight of hard red spring wheat and durum wheat in Saskatchewan. - *Can. J. Plant. Pathol.* , 16(2), 87-92.
- TOMMLIN, C. D. S. 2006. *The Pesticide Manual*, Alton, British Crop Production Council, 14<sup>e</sup> éd., 1178 p.(ISBN 978-1-901396-14-0), p. 483.
- TROTTE, M., PRADEL, B. 2008. Sélection des céréales pour la résistance aux fusarioses et contre l'accumulation de mycotoxines dans les grains. "*Le Sélectionneur Français*" 2007 - 2008 (n° double 58 - 59), 55 – 68.
- TROTTE M., ATANOSOVA-PENICHON V., FERREYROLLE J., GERVAIS L., PINSON GADAIS L., ROUMET P. 2014. Caractérisation de sources de résistance à la fusariose chez le blé dur. *Innovations Agronomiques*, 35: 173-180.
- TUNALI B., NICOL, J.M., HODSON, D., UÇKUN, Z., BÜYÜK O., ERDURMUŞ, D., HEKIMHAN, H., AKTAŞ, H., AKBUDAK, M.A., BAĞCI, S.A. 2008. Root and crown rot fungi associated with spring, facultative, and winter wheat in Turkey. - *Plant Dis.*, 92(9), 1299-1306..
- TURKINGTON, T.K., PETRAN, A., YONOW, T., KRITICOS, D.J. 2014. *Fusarium graminearum*. *HarvestChoice Pest Geography*. St. Paul, MN: InSTePP, Harvest Choice.
- UHLIG, S., JESTOI, M., PARIKKA, P. 2007. *Fusarium avenaceum* - The North European situation. *Int J Food Microbiol* 119: 17–24.
- VAN EGMOND, H.P., SCHOTHORST, R.C., JONKER, M.A. 2007. Regulations relating to mycotoxins in food. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 389 (1), 147-157.
- WAALWIJK C., KASTELEIN P., DE VRIES I., VAN DER KERENYI Z., LEE T., HESSELINK T., KEMA G., 2003. Major changes in *Fusarium* spp. in wheat in the Netherlands. *European journal of plant pathology*, 109; 743-754.

## Références bibliographiques

- WAGACHA, J.M., MUTHOMI, J.W. 2007. *Fusariumculmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection* 26; 877-885.
- WIESE, MV. 1987. Compendium of Wheat Diseases, 2nd edn. APS Press, St Paul (US).
- WILKE, A.L., BRONSON, C.R., TOMAS, A., MUNKVOLD, G.P. 2007. Seed transmission of *Fusarium verticillioides* in maize plants grown under three different temperature regimes *Plant Dis.*, 91, pp. 1109-1115.
- WINDELS, CE. , HOLEN, C. 1989. Association of *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium graminearum* group 2. and *F. culmorum* on spring wheat differing in severity of common root rot. *Plant Disease* 73. 953- 956.
- XUE X.M., NICHOLSON P., 2009. Community ecology of fungal pathogens causing wheat head blight. *Annual Review of Phytopathology* 47; 83–103.
- Yli-Mattila T. 2010. Ecology and evolution of toxigenic *fusarium* species in cereals in Northern Europe and Asia. *Journal of Plant Pathology*, 92: 7-18.
- ZILLENKY, F.J. 1983. Common diseases of small grain cereals: a guide to identification. International maize and wheat improvement center. Londres 40, Apdo. Postal 6-641, 06600, Mexico, D.F; Mexico.
- ZINEDINE, A., IDRISSE, L. 2007. Présence et réglementation des mycotoxines dans les aliments au Maroc: Situation actuelle et perspectives. *Les technologies de laboratoire*, 7, 10-18.

---

## *Annexes*

---



## **Annexes**

### **Annexe 1. Préparation du milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA)**

Le milieu PDA est un milieu de culture microbiologique courant produit à base d'infusion de pomme de terre et de dextrose. Les ingrédients de ce milieu sont : 250 g de pommes de terre, 20 g d'Agar en poudre, 5 g de glucose et 1 litre d'eau distillée stérile. Les étapes de sa préparation se résument comme suit :

- Lavez et pesez les pommes de terre et coupez-les en petits morceaux ;
- Faites-les bouillir pendant 15 à 20 minutes jusqu'à ce qu'elles soient tendres ;
- Ecartez les pommes de terre, mais gardez l'eau de cuisson ;
- Ramenez le niveau de l'eau de cuisson à exactement 1 litre en ajoutant de l'eau distillée stérile;
- Ajoutez le dextrose de l'agar;
- Chauffez doucement en remuant jusqu'à ce que l'agar ait fondu ; - Stériliser le milieu par Autoclavage à 120°C pendant 20 min.

### **Annexe 2. Préparation du Tampon TE**

Pour préparer 50 ml du tampon d'extraction, il faut suivre les étapes suivantes :

- Mettre 5 ml de Tris-HCL (1 M, Ph 8) dans 35 ml d'eau distillée stérile ;
- Ajouter 4,09 g de de NaCL puis dissoudre le mélange au bain marie à 65 °C ;
- Ajouter 1 g de CTAB et dissoudre au bain marie à 65°C ;
- Ajouter 0,5 g de Polyvinilpyrrolidone PVP40 et dissoudre au bain marie à 65°C ;
- Ajouter 0,372 g de l'EDTA ; - Compléter le volume à 50 ml avec de l'eau distillée stérile ;
- Ajouter 0,4 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> avant l'utilisation finale.

Pour préparer 50 ml de TE : 78,82 mg de Tris-HCL + 18,6 mg de l'EDTA (dans l'eau distillée stérile).

## Annexes

### Annexe 3. Préparation du gel d'agarose de 2%

- Mélanger tampon TBE et agarose à raison de 2 g d'agarose pour 100 mL de tampon.
- Faire fondre l'agarose au four à micro-ondes en surveillant pour éviter les projections ou au bain marie. Agiter de temps à autre pour homogénéiser le mélange.
- Laisser refroidir jusqu'à ce qu'il devienne possible de saisir le flacon à main nue (environ 60 °C).
- Placer les joints fournis avec la cuve pour fermer le support de gel et positionner le peigne à 1 mm du fond et à environ 1 cm de l'extrémité du support. Régler le niveau pour que le support de gel soit horizontal.
- Couler lentement le gel sur 3 à 5 mm d'épaisseur en veillant à ce qu'il entoure bien les dents du peigne.
- Laisser refroidir, enlever le peigne et les joints. Le gel est prêt pour le dépôt des échantillons.

### Annexe 4. Test de Student-Newman-Keuls appliqué sur les variables étudiées

- Effet sur le nombre de pieds par m<sup>2</sup>

	traitements	N	Subset	
			1	2
Student-Newman-Keuls <sup>a,b,c</sup>	T	8	120,37	
	S	8	123,63	
	C	8		146,50
	Sig.		,577	1,000

## Annexes

- Effet sur le nombre de talles par pied

	traitements	N	Subset		
			1	2	3
Student-Newman-Keuls <sup>a,b,c</sup>	T	8	2,38		
	S	8		3,88	
	C	8			5,00
	Sig.		1,000	1,000	1,000

- Effet sur le nombre d'épis par m<sup>2</sup>

	traitements	N	Subset		
			1	2	3
Student-Newman-Keuls <sup>a,b,c</sup>	T	8	144,63		
	S	8		192,13	
	C	8			249,75
	Sig.		1,000	1,000	1,000

- Effet sur le nombre de grains par épis

	traitements	N	Subset	
			1	2
Student-Newman-Keuls <sup>a,b,c</sup>	T	8	33,13	
	S	8	44,00	
	C	8		71,75
	Sig.		,113	1,000

- Effet sur le poids d'épis

	traitements	N	Subset		
			1	2	3
Student-Newman-Keuls <sup>a,b,c</sup>	T	8	1,66		
	S	8		2,31	
	C	8			3,01
	Sig.		1,000	1,000	1,000

## Annexes

- Effet sur la longueur d'épis

	traitements	N	Subset		
			1	2	3
Student-Newman-Keuls <sup>a,b,c</sup>	T	8	6,81		
	S	8		8,51	
	C	8			11,31
	Sig.		1,000	1,000	1,000