

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Frères Mentouri Constantine 1**



جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
UNIVERSITÉ DES FRÈRES  
MENTOURI CONSTANTINE

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire et Cellulaire**

N° d'ordre.....

N° de série.....

## **Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biochimie  
Option : Biochimie de la Nutrition

**Caractérisation macroscopique et appréciation  
de la diversité des champignons du genre  
*Fusarium* isolés à partir du collet de plants de blé  
fusarié**

**Présenté par :**

- TALEHA Amina
- RAHMOUNI Dounia

**Devant le jury :**

- Président du jury : Prof. KHELIFI Douadi. (UFMC1)
- Examineur: Dr BECHKRI Sakina. (UFMC1)
- Encadreur : Dr BELLIL Inès. (UFMC1)

**Année universitaire 2019/2020**

## REMERCIEMENT

En premier lieu nous tenons à remercier ALLAH précieux pour nous avoir aidés, nous a donné la patience et le courage pour bien mener ce travail.

Nous remercions notre Encadreur Mme. **BELLIL Ines** pour l'honneur qu'il nous a fait en dirigeant ce travail, pour ses aides, ses conseils, tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.

Nous remercions Mr. BOUANAKA Hamza pour l'honneur qu'il nous a fait en dirigeant ce travail, pour ses aides.

Nous remercions également les membres du jury d'avoir accepté de jurer ce travail Prof. KHELIFI Douadi En tant que président et Dr BECHKRI Sakina. En tant qu'examinatrice. Nous remercions également l'ensemble du personnel du laboratoire de génétique biochimie et biotechnologies végétales.

Nous n'oublions pas tous nos cher(e)s enseignant(e)s, Enfin à tous ceux qui ont de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail et ont été soucieux de notre réussite.



## ***Dédicaces***

*Je dédie ce modeste travail à : A mes très chers parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

*MON PÈRE « **Saleh** ». Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse. Qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Sans toi, je n'en serai sûrement pas là, Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir*

*MA MÈRE « **Nadjoua** ». Pour ton amour, tes prières et pour tous les sacrifices inconditionnels que tu as fait pour moi, Je n'en serais pas là sans ton soutien constant, Quoi que je dise, je ne saurai te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Tu as été toujours une mère idéale.*

*A ma très chère grande sœur « **Maissa** », conseillère et amie fidèle, qui m'a prise  
Doucement par la main pour traverser ensemble des épreuves pénibles, merci  
D'être toujours à mes côtés*

*A mon adorable petite sœur « **Yousra** », qui sait toujours comment  
Procurer la joie le bonheur pour toute la famille, Je t'aime très fort*

*A ma grand-mère « **Mamie** », Qui m'a accompagné par ses prières,  
Sa douceur, que dieu lui prête longue vie et beaucoup de santé*

*A tous les membres de ma famille, petits et grands veuillez  
Trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affect  
A mes amies qui m'ont encouragé et soutenus, Sans oublier, bien sûr, mon binôme « **Dounia** »*

*A tous ceux que j'aime..... Merci infiniment*

***TALEHA AMINA***

## Dédicace

*Avec un énorme plaisir. Un cœur ouvert et une immense joie.  
Je remercie, tout d'abord, Dieu tout puissant De m'avoir  
donné la force et le courage pour accomplir ce modeste travail  
que je dédie :*

*A mes chers et magnifiques Parents en témoignage de mon  
affection illimitée qu'il me soit permis de leur exprimer toute  
ma gratitude et ma reconnaissance éternelle pour tout ce qui  
m'ont offert au cours de mes longues années d'études, si je suis  
arrivée là c'est bien grâce à eux que dieu les bénisse, et leur  
accorde longue vie et les protège*

*A mon très cher frère : RAMY*

*A ma charmante sœur : DJOUMANA*

*A ma grande mère : FATIMA*

*A mes cousines : FERIEL , CHOUBEILA*

*A toute ma famille sans exception.*

*En leurs souhaitant beaucoup de succès dans la vie.*

*A mon binôme : AMINA*

*A mes enseignants ainsi qu'à tous*

*Les étudiants de ma promotion*

**RAHMOUNI**

**DOUNIA**

# SOMMAIRE

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
--------------------------	----------

## **Partie I : Etude bibliographique**

### **Chapitre I Généralité sur le blé**

1. Importance du blé.....	4
2. Botanique.....	4
3. Classification du blé.....	5
4. Morphologie et la biologie du blé.....	6
4.1. Caractéristiques morphologiques.....	6
4.1.1. Description de la plante.....	6
4.2. Caractéristiques biologiques : cycle biologique du blé.....	7
4.2.1. Phase végétative.....	8
4.2.2. Phase reproductrice.....	9
4.2.3 Phase de maturation.....	9
5. la culture.....	10

### **Chapitre II les champignons du genre *fusarium***

1. Les champignons phytopatogène.....	12
2. Le genre <i>fusarium</i> .....	12
2.1 Aspect morphologique.....	13
2.2 Taxonomie et classification des <i>fusarium</i> .....	14
2.3 Identification du genre <i>fusarium</i> .....	14

2.3.1. Identification morphologique.....	14
2.3.1.1. Macroscopique.....	15
2.3.1.2. Microscopique.....	15
2.3.2. Identification biochimique.....	17
2.3.3. Méthode de biologie moléculaire.....	17
2.4 Potentiel toxigène.....	18
2.5 Habitat.....	19
2.6 Développement de la maladie.....	19
2.6.1 Cycle biologique de la maladie.....	20
2.7 Pouvoir pathogène.....	21
2.8 prévention du risque fusariose.....	22

## **Partie II : Etude Expérimentale**

### **Chapitre 1 : Matériel et méthodes**

1. Matériel biologique.....	25
1.1. Échantillonnage.....	25
2. Méthodologie.....	27
2.1 Isolements des pathogènes.....	27
2.2 Méthodes de purification.....	28
2.2.1 Purification par un repiquage des fragments.....	28
2.3 Identification des isolats fongiques.....	28
2.4 La conservation des isolats.....	29

### **Chapitre 2 : Résultats et discussion**

1. Résultat.....	31
1.1. Isolement de l'agent phytopathogène.....	31
1.1.1. Isolement et purification.....	31
1.2. Identification des isolats.....	32
1.2.1. Identification morphologique.....	32

1.2.1.1. Etude macroscopique.....	32
2.. Analyse des résultats.....	41
2.1. Répartition des isolats en fonction du lieu d'isolement (partie de la plante infectée).....	41
2.2. Répartition des isolats de Fusarium sp en fonction des caractéristiques macroscopique (espèces).....	41
2.3. Répartition des isolats de Fusarium en fonction de la présence de mycélium.....	44
2.4. Répartition des isolats de Fusarium en fonction de l'aspect de la colonie.....	45
2.5. Répartition des isolats de Fusarium en fonction de la couleur de la colonie et/ou le centre de la colonie.....	46
2.6. Répartition des isolats de Fusarium en fonction de la couleur de bordure de la colonie.....	47
2.7. Répartition des isolats de Fusarium en fonction de la couleur du revers.....	48
2.8. Répartition des isolats de Fusarium en fonction de la couleur de bordure du revers.....	49
<b>Conclusion.....</b>	<b>52</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>54</b>
<b>Résumés</b>	

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Anatomie d'un épillet d'un épi de blé.....	5
<b>Figure 02</b> : Structure anatomique de la paille et du son de blé.....	7
<b>Figure 03</b> : Les différents stades de développement du blé.....	8
<b>Figure 04</b> : Schéma illustrant le cycle de développement du blé.....	9
<b>Figure 05</b> : Terminologie pour décrire la morphologie du genre <i>Fusarium</i> .....	13
<b>Figure 06</b> : Caractères morphologiques primaires de deux espèces de <i>Fusarium</i> .....	16
<b>Figure 07</b> : Morphologie de colonies d'espèces de <i>Fusarium</i> sur milieu Potato Dextrose Agar. La boîte du haut de chaque paire correspond au mycélium aérien, celle du bas à la vue de dessous.....	17
<b>Figure 08</b> : Cycle de <i>Fusarium</i> spp. : Illustration des différents modes d'action.....	21
<b>Figure 09</b> : Parcelle de blé dur infectée par <i>Fusarium</i> sp.....	26
<b>Figure 10</b> : Symptômes de la fusariose de blé.....	26
<b>Figure 11</b> : Echantillons prélevés de la parcelle.....	27
<b>Figure 12</b> : Symptômes de la fusariose (brunissement des nœuds et des entre nœuds).....	27
<b>Figure 13</b> : Isolement des fragments du blé dur sur milieu PDA.....	31
<b>Figure 14</b> : Répartition des isolats du genre <i>Fusarium</i> en fonction du lieu d'isolement (partie de la plante infectée).....	41
<b>Figure 15</b> : Répartition des isolats du genre <i>Fusarium</i> en fonction des filaments mycéliens.....	45
<b>Figure 16</b> : Répartition des isolats du genre <i>Fusarium</i> en fonction de l'aspect de la colonie.....	46
<b>Figure 17</b> : Répartition des isolats du genre <i>Fusarium</i> en fonction de la couleur de la colonie et/ou le centre de la colonie.....	47
<b>Figure 18</b> : Répartition des isolats du genre <i>Fusarium</i> en fonction de la couleur de bordure de la colonie.....	48
<b>Figure 19</b> : Répartition des isolats du genre <i>Fusarium</i> en fonction de la couleur du revers.....	49
<b>Figure 20</b> : Répartition des isolats du genre <i>Fusarium</i> en fonction de la couleur de bordure du revers.....	50



## Liste des tableaux

<b>Tableau 01 :</b> Mycotoxines produites par les <i>Fusarium</i> .....	18
<b>Tableau 02 :</b> Observation macroscopique des <i>Fusarium</i> .....	32
<b>Tableau : 03</b> Répartition des isolats de <i>Fusarium sp</i> selon les caractéristiques macroscopique.....	42

## *Données Bibliographiques*

# *Introduction Générale*

## Introduction Générale

---

Il est reconnu que les céréales comme le blé, le riz et le maïs constituent l'alimentation de base de la majorité des populations.

Le blé est l'une des premières plantes introduites en culture, en raison de nombreuses qualités favorables à l'alimentation humaine (De Buyser, 2001). Il constitue une des céréales les plus cultivées dans le monde. C'est une source importante de protéine pour l'alimentation humaine (Molkhou, 2007).

Au cours des dernières années, la production mondiale des céréales a augmenté de façon considérable, cependant, devant une population toujours croissante, cette production doit accroître afin d'en satisfaire les besoins.

En Algérie, les produits céréaliers, dont le blé, occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (Djermoun, 2009). Cependant, la conservation post-récolte est le seul moyen d'assurer le lien entre la récolte intervenant une fois dans l'année et la consommation qui est permanente et obligatoire (Waongo et *al.*, 2013).

Les maladies parasitaires des plantes sont causées par l'action d'agents pathogènes (virus, bactéries, champignons, protozoaires, les phanérogames parasites, etc...). Ces parasites sont généralement infectieux car ils envahissent l'hôte et s'y multiplient et sont contagieux, par leur transmission d'une plante infectée à une plante saine. Les champignons phytopathogènes sont responsables de maladies cryptogamiques et sont responsables de près de la moitié des maladies connues à ce jour chez les plantes cultivées (Lepoivre, 2003).

les champignons représentent un des groupes d'organismes vivants les plus abondants mais dont il reste beaucoup à découvrir, autant du point de vue de la diversité que de leurs applications possibles pour la société et les écosystèmes. En effet, un peu plus de 99 000 espèces seulement sur 3,5 à 5,1 millions estimées en 2005 auraient été décrites (O'brien, 2005 ; Blackwell, 2011). Ce sont des eucaryotes possédant une paroi constituée de chitine. Ils sont en général aérobies même si certaines levures peuvent être aéro-anaérobies lors de processus fermentaire. Leur structure cellulaire varie et deux catégories principales sont distinguables : la forme unicellulaire,

## Introduction Générale

---

c'est le cas des levures, et la forme mycélienne pluricellulaire constituée d'hyphes (Carlile,1994 ; Vega,2012).

De plus, beaucoup d'espèces saprophytes sont capables de se développer en tant que pathogènes secondaires sur des tissus végétaux sénescents. Les espèces du genre *Fusarium* peuvent ainsi attaquer les céréales (maïs, blé, orge, avoine), les légumes, les plantes ornementales et beaucoup d'arbres fruitiers (Lounaci et Athmani, 2014).

Il existe de nombreuses espèces de *Fusarium*, dont certaines seulement sont pathogènes et/ou sont susceptibles d'émettre des mycotoxines (*Fusariotoxines* en l'occurrence), posant problèmes en agriculture ou en médecine humaine et pour l'industrie agroalimentaire. (Krska, 2009)

Au niveau de physiologie cellulaire, les *Fusarium* ont une croissance optimale à une température comprise entre 22 et 37 °C. La majorité des moisissures se développent bien dans un milieu humide ( $A_w = 0,85$ ), les *Fusarium* se développent dans un milieu très humide ( $A_w > 0,9$ ) (annexe 3), ce qui explique leur présence dans les champs et sur les plantes vivantes (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002).

Ces moisissures sont aérobies ; l'oxygène leur permet d'effectuer une croissance normale. Cependant, la plupart peuvent se développer même si l'oxygène est limité. Ils se développent normalement à un pH compris entre 3 et 8. Généralement, une croissance fongique est optimale à un pH compris entre 5 et 6 (Tabuc, 2007).

Historiquement, l'appartenance au genre *Fusarium* et l'identification d'espèces était établie sur des similitudes morphologiques et physiologiques. Cependant ce mode de répartition des espèces est artificiel et manque de robustesse pour en déduire des fonctions biologiques, telles que la synthèse de mycotoxines spécifiques (Zhang *et al.*, 2006).

Dans cette optique, nous initions ce travail qui a pour but d'isoler des souches du champignon phytopathogène du genre *Fusarium* responsable de la fusariose du blé à partir de plantes malades collectées dans des champs de blé infecté par la maladie et d'identifier les souches fongiques isolées en vue d'apprécier leur diversité et de les caractériser sur le plan biochimique et moléculaire dans le futur.

## *Chapitre I*

# *Généralité sur Le Blé*

---

## Chapitre I Généralité sur le blé

### 1. Importance du blé

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole. Elles sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale (Slama et al., 2005). Le blé est une des trois plus importantes céréales au niveau mondial, avec le riz et le maïs. Le blé est essentiellement utilisé pour l'alimentation humaine (panification, biscuits, ...) (58 % de la récolte), il assure 15% de ses besoins énergétiques (Bajji, 1999), et dans une moindre importance, pour l'alimentation d'animaux d'élevage comme fourrage (34 %), et pour l'industrie (8 %).

Le blé est cultivé principalement dans les pays du bassin méditerranéen à climat arides et semi-arides là où l'agriculture est dans la plus mauvaise passe. Ces régions se caractérisent par l'augmentation de la température couplée à l'abaisse des précipitations, en plus la désertification et la sécheresse (Abeledo et al., 2008).

Actuellement, l'Algérie est un grand importateur de blé et se trouve dépendante du marché international. Cette situation risque de se prolonger à plusieurs années, faute de rendements insuffisants et des besoins de consommation sans cesse croissants devant une forte évolution démographique (Chellali, 2007).

### 2. Botanique

Le blé appartient à la famille des *Gramineae* et au genre *Triticum*. C'est une plante annuelle, monocotylédone, à feuilles alternes, formée d'un chaume portant un épi. L'épi de blé est formé deux rangés d'« épillets » situés de part et d'autre du « rachis » émis par une base appelée le nœud. Chaque épillet est formé d'une paire de grandes glumes externes portant chacune trois ou quatre fleurs dont chacune est constituée de deux téguments extérieurs, appelés *lemma* et *paléa*, qui renferment les organes reproducteurs. L'organe reproducteur femelle est formé d'un stigmate attaché à l'ovaire par un stylet. L'organe reproducteur mâle ou les anthères en nombre de trois sont également portés par la même fleur (Figure 1). À la maturité, le pollen germe sur le stigmate et forme le tube pollinique renfermant deux gamètes mâles qui se développent le long du stylet lors de leur migration. Quand ils

atteignent l'ovule et les noyaux polaires, ils les fertilisent et forment respectivement, l'embryon et l'albumen du grain. C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscent (qui ne s'ouvre pas), appelé caryopse.

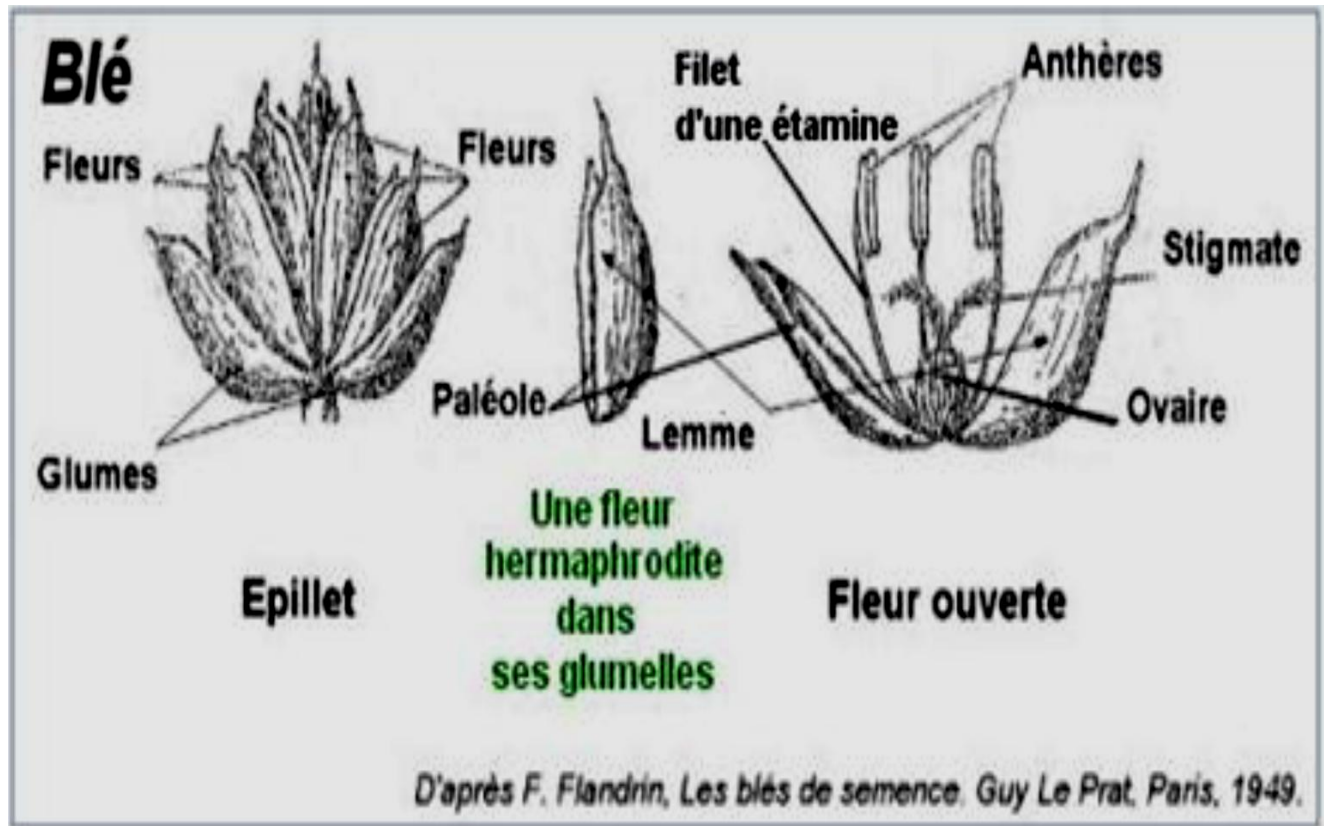


Figure 01 : Anatomie d'un épillet d'un épi de blé.

### 3. classification du blé

D'après la classification phylogénétique de (l'Angiosperm Phylogeny Group III,2009), le blé appartient au :

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Magnoliophyta*



Classe : *Liliopsida*

Sous classe : *Commelinidae*

Ordre : *Poales (Cyperales)*

Famille : *Poaceae*

Sous famille : *Pooideae (Festucoideae)*

Genre : *Triticum*L.

## 4. Morphologie et la biologie du blé

### 4.1. Caractéristiques morphologiques

#### 4.1.1. Description de la plante

- **Les racines** : le blé comme toutes les céréales dispose de deux systèmes racinaires successifs :
  - a. Le système racinaire primaire ou séminal, fonctionnel dès la germination.
  - b. Le système racinaire secondaire ou racines adventives de type fasciculé, qui apparaît au tallage et se substitue progressivement au précédent (figure 02)
- **La tige** : Sont des chaumes, cylindriques, souvent creux par résorption de la moelle centrale mais chez le blé dur est pleine. On distingue une tige principale appelée le maître brin et des tiges secondaires appelées talles.
- **La feuille** : elle se compose de 4 parties : la gaine, les stipules ou oreillettes, la ligule et le limbe qui possède des nervures parallèles.
- **L'inflorescence ou l'épi** : l'inflorescence est un épi constitué d'un ensemble d'unités appelées épillets, chaque épillet est une petite grappe d'une à cinq fleurs, le nombre de fleurs fertiles par épillet varie selon les espèces.
- **Le grain** : le grain est un caryopse, ovoïde, nu, constitué des téguments, (Boulal et *al.*, 2007). Le grain de blé est un germe ou embryon entouré d'une zone de réserves de nature protéoglycidiennes, appelée endosperme ou viscoélastique : le gluten. L'ensemble est recouvert par une enveloppe de structure pluri-lamellaire composée d'une grande diversité de tissus spécifiques.

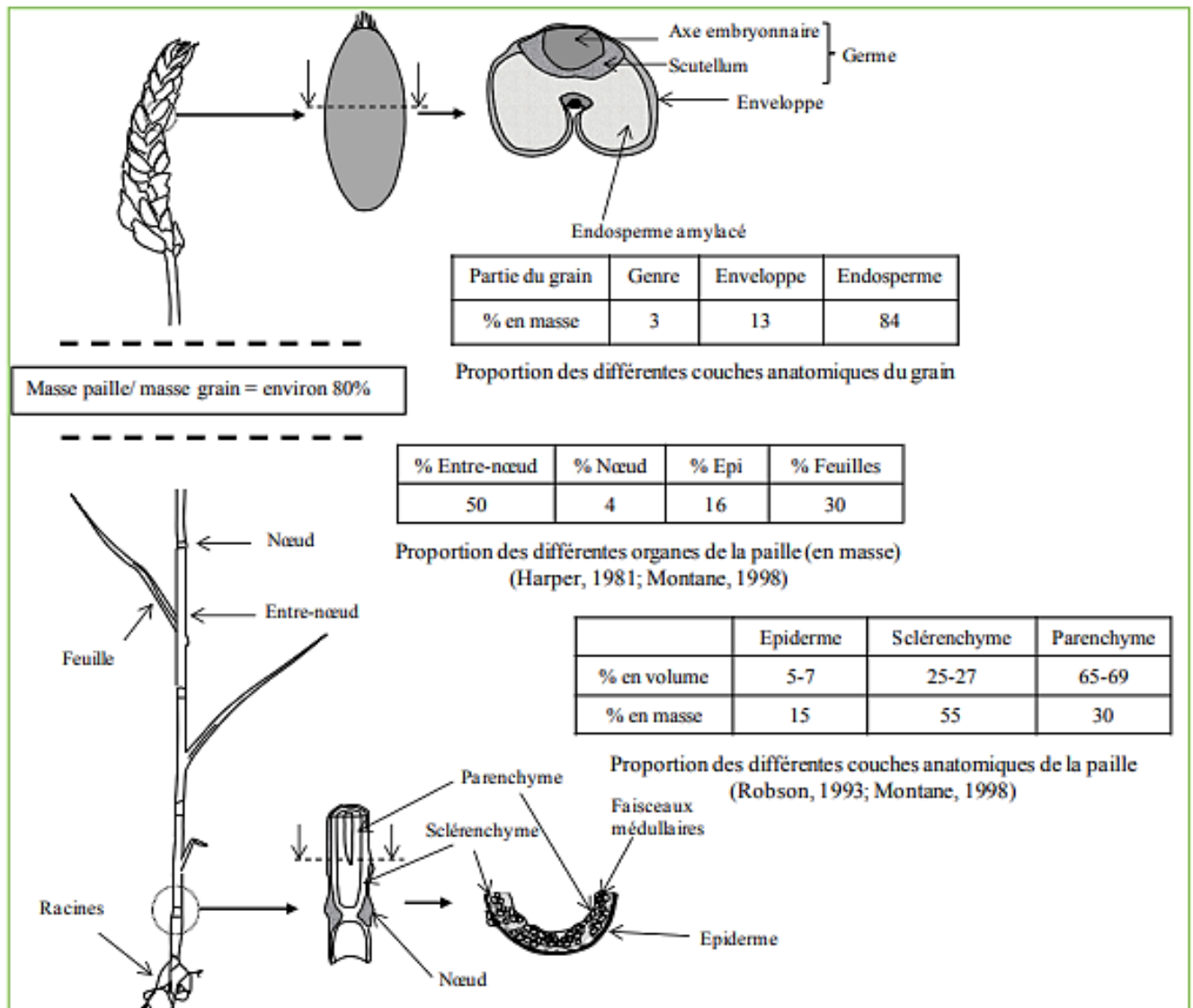


Figure 02 : Structure anatomique de la paille et du son de blé

#### 4.2. Caractéristiques biologiques : Le cycle biologique du blé

Le cycle évolutif du blé s'élabore en trois phases : végétative, reproductrice et maturation (Figure03). Ces phases sont marquées par des stades repères dont l'identification se fait essentiellement par repérage sur le maître brin. Selon Soltner (2005), différentes échelles de notation ont été développées,

celle de Feekes (1954), Zadocks (1974) et Jonard (1952). Elles sont basées sur l'évolution de l'aspect externe ou sur les modifications des organes producteurs

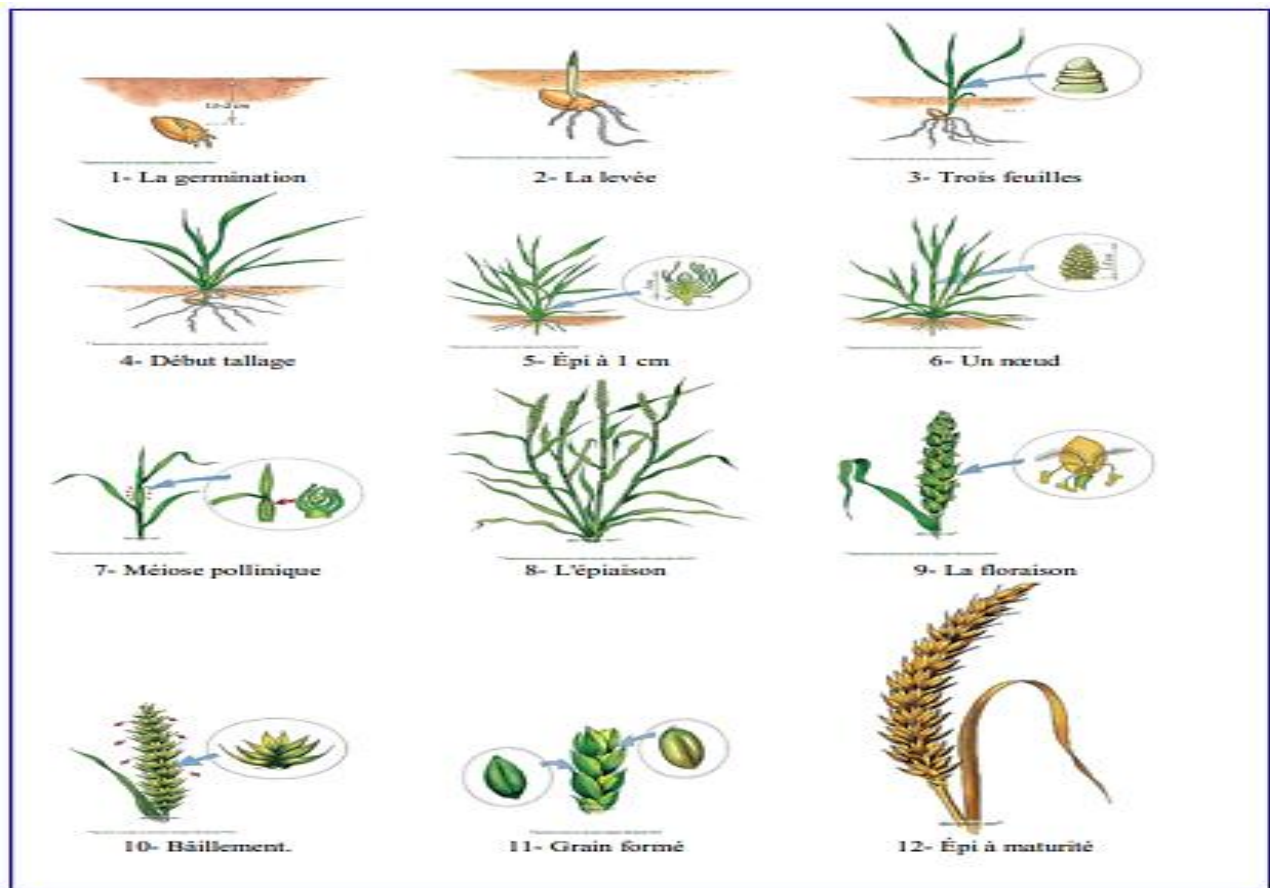


Figure 03 : Les différents stades de développement du blé

#### 4.2.1. Phase végétative

Où se fait la différenciation des racines et des feuilles. La semence de blé est sèche ; le grain commence par s'humidifier dans la terre. Au cours de la « germination », le germe contenu dans les semis développe une première partie s'ancrant dans le sol pour former les racines et une autre pointant vers la surface. La température minimale de germination des grains se situe entre 3 et 4°C.

Contrairement à d'autres plantes, les racines des céréales ne pénètrent pas profondément dans le sol, elles sont disposées horizontalement. Elle s'étend de la germination à l'ébauche de l'épi.

#### 4.2.2. Phase reproductrice

Caractérisée par l'apparition de l'épi et la formation des graines et bourgeon terminal de la période végétative à une ébauche d'inflorescence (ébauche épi). Elle débute au cours du tallage et compte trois stades : la formation de l'ébauche épi, l'initiation florale (montaison-gonflement) et la méiose – fécondation (Hubert, 1998 ; Soltner, 2005). Elle comprend la formation et la croissance de l'épi.

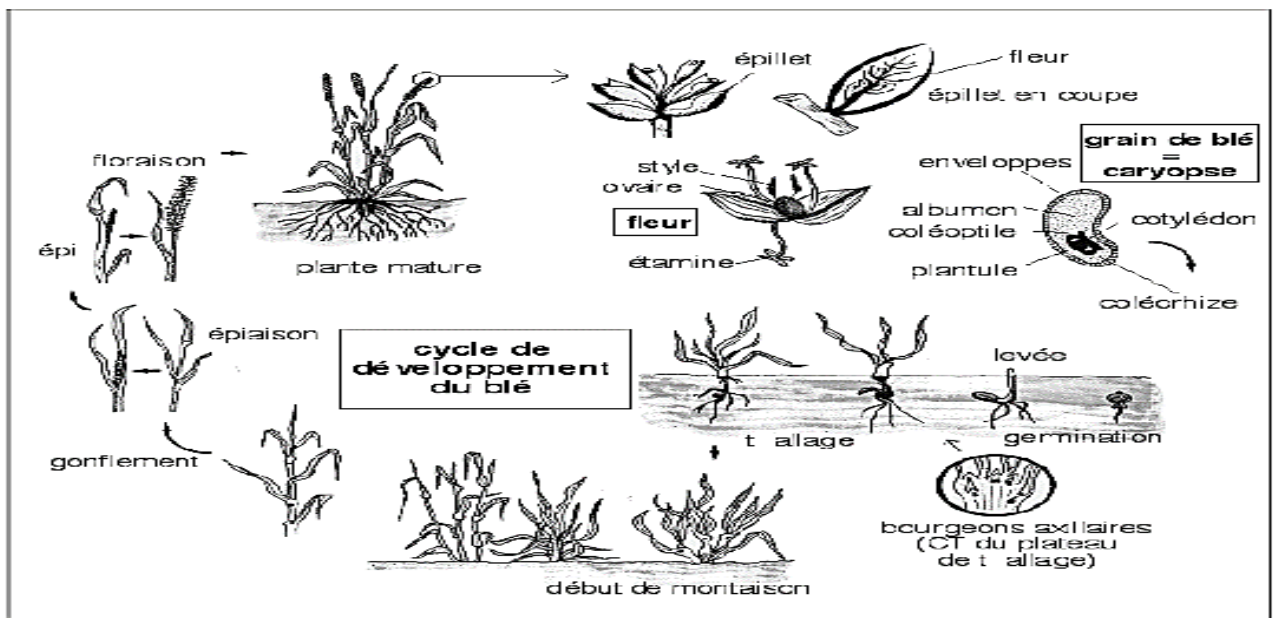


Figure 04 : Schéma illustrant le cycle de développement du blé

#### 4.2.3 Phase de maturation

C'est au cours de cette période que s'achève la formation des organes floraux et que va s'effectuer la fécondation (Clement et Prats, 1970), qui s'étend entre la fécondation et la maturation du grain. Elle est caractérisée par l'élongation du dernier entre-nœud qui élève l'épi au-dessus de la

dernière feuille par l'élaboration des substances de réserves (amidon, protéines) grâce à leur migration vers l'albumen du grain.

## 5. Culture

Le blé est une plante herbacée qui se développe dans des terres argileuses. Le choix des semis à planter ainsi que la date à laquelle ils doivent être mis en terre revêtent une grande importance. Les recherches scientifiques sur le génome du blé ont permis la mise au point de variétés adaptées au besoin du marché, en fonction de leur utilisation future et leurs résistances à certains virus. La culture de divers types de blé a ainsi été favorisée (Zeitoun ,2011) :

- Le blé d'hiver qui est semé à l'automne, il caractérise les régions méditerranéennes.
- Le blé de printemps qui est semé au printemps et caractérise les pays à hiver trop rude comme le Canada et la Sibérie.

Pour un bon développement du blé, quelques exigences sont importantes :

- La température : Elle doit être comprise entre - 6°C et +20°C. L'idéal étant un temps chaud avant la croissance et des conditions d'ensoleillement au cours des étapes ultimes.
- L'humidité : Les précipitations peuvent varier entre 300 millimètres et 1000 millimètres par an, répartis de manière à fournir beaucoup d'eau à la plante durant sa période de croissance et de fines pluies vers la fin de manière à faire gonfler les grains (Zeitoun ,2011).

## *Chapitre II*

# *Les Champignons du Genre Fusarium*

## Chapitre II Les Champignons du genre *Fusarium*

### 1. Les champignons phytopathogène

Les champignons phytopathogènes sont des espèces de champignons parasites qui provoquent des maladies cryptogamiques chez les plantes. Ces champignons appartiennent aux différents groupes du règne des eumycètes ou « champignons vrais » : ascomycètes, basidiomycètes, chytridiomycètes, zygomycètes et deutéromycètes (champignons imparfaits) (Deacon, 2005). Ils sont capables d'infecter n'importe quel tissu à n'importe quel stade de croissance de la plante, en suivant un cycle biologique complexe qui peut comporter des stades de reproduction sexuée ou asexuée (Garrido, 2012)

### 2. Le genre *Fusarium*

Le nom *Fusarium* est donné à un genre de champignons imparfaits (Deuteromycètes), qui comprend plus de 100 espèces. Les formes parfaites (téléomorphes) de quelques-unes d'entre elles sont connues, et appartiennent à la classe des *Ascomycètes* (ordre des *Hypocréales*, famille des *Nectriacées*, genres *Gibberella*, *Albonectria*, et *Haematonectria*). Pour plusieurs espèces de *Fusarium*, le stade parfait demeure encore inconnu.

Le genre *Fusarium* tire son nom du latin *fusus* car ses spores sont en forme de fuseau. La première et véritable description du genre *Fusarium* a été réalisée par Link en 1809, ce dernier a créé le genre pour des espèces présentant des spores cloisonnées, fusiformes, formées sur des stromas ; ses descriptions sont basées de l'observation d'un « *Fusarium roseum* », mais aujourd'hui l'espèce type est *F. sambucinum*.

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 (Submitted on 2 Aug 2013).

## 2.1. Aspects Morphologique

Les champignons du genre *Fusarium* appartiennent aux hyalo-hyphomycètes et présentent un mycélium septé et incolore. En culture, les colonies présentent souvent des nuances roses, jaunes, rouges ou violettes (Booth, 1985 ; Alves-Santos et al., 1999 ; Katan et Ortoneda et *al.*, 2003).

Les cellules conidiogènes se forment sur des hyphes aériens ou sur des conidiophores courts et densément branchés. Les conidies sont de trois types : macroconidies, microconidies et blastoconidies (figure 05).

- Les macroconidies falciformes, avec plusieurs septa transverses, une extrémité apicale crochue et une base pédicellée sont produites en basipétale (croissance à partir de la base) par les monophialides ou les sporodochia (agrégats de conidiophores) et sont accumulées en masse.
- Les microconidies sont ellipsoïdes, ovoïdes, subsphériques, pyriformes, claviformes ou allantoïdiennes, généralement unicellulaires et présentent une base arrondie ou tronquée. Elles sont produites en séries basipétales sur des mono ou polyphialides et accumulées en petites têtes ou en chaînes.
- Les blastoconidies sont produites séparément sur des cellules polyblastiques et présentent de 0 à 3 septa. Des chlamydo-spores, souvent présentes, sont hyalines ou pâles, intercalaires ou terminales et possèdent une paroi épaisse (de Hoog et *al.*, 2011).

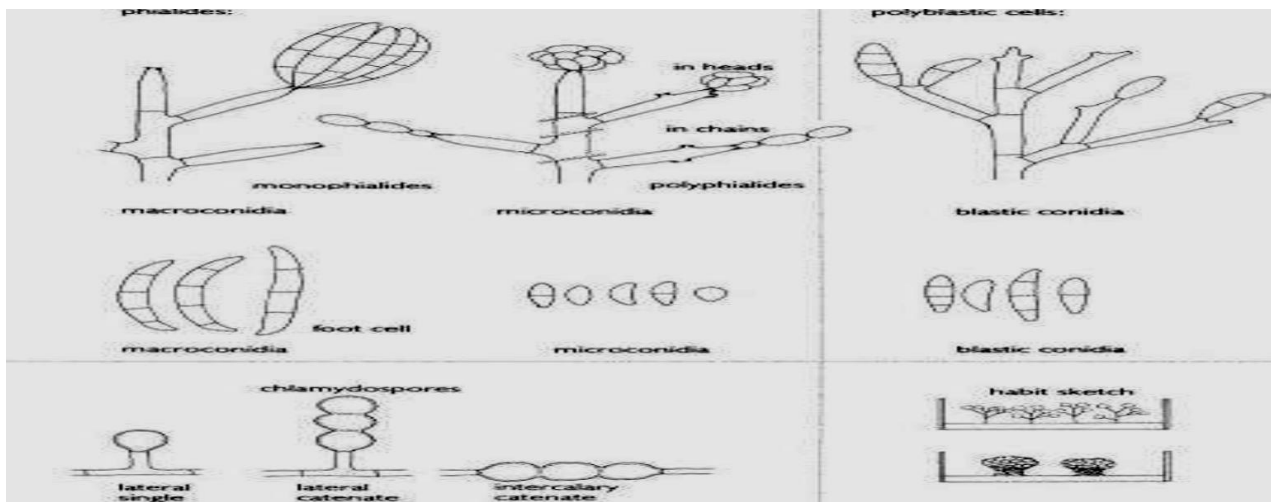


Figure 05 : Terminologie pour décrire la morphologie du genre *Fusarium*



## 2.2. Taxonomie et classification des *Fusarium*

La taxonomie du *Fusarium* a connu de nombreuses classifications controversées (Nelson et al., 1983). Tout d'abord, la détermination des espèces appartenant à ce genre, a été effectuée en référence à leurs caractères morphologiques, en se basant sur des observations macro- et microscopiques, puis cette classification a été revue plusieurs fois (Heit, 1989). C'est à partir de la seconde moitié du XXème siècle, qu'une nouvelle approche conceptuelle de classification est rendue possible (Ghorri, 2015). Actuellement, le plus utilisé est le classement dérivé de celui de Nelson et al. (1983) qui regroupent les *Fusarium* dans 15 sections. Ce classement a été amendé par Burgess et al. (1994), et d'autres chercheurs en s'appuyant sur des techniques de biologie moléculaire (Leslie et Summerell, 2006). Selon Leslie et Summerell (2006), les *Fusarium* sont classifiés par rapport à leur forme sexuée ou asexuée :

- Les anamorphes sont les espèces du genre *Fusarium* dont la forme asexuée est connue (forme imparfaite) (Heit, 1989) ; elles appartiennent aux champignons anamorphiques et au groupe des Hyphomycètes (champignons à conidies produites sur des sporodochies). Généralement, les conidies des espèces du *Fusarium* sont pluricellulaires et arquées en forme de croissant. Leurs tailles, formes et nombres varient avec l'espèce (Gargouri et al., 2006),
- Les téléomorphes sont les espèces dont la forme sexuée est connue (forme parfaite), cette forme n'est pas identifiée pour toutes les espèces (cas de *F. oxysporum*) (Heit, 1989). Ce sont des espèces qui appartiennent au genre *Gibberella* ou *Nectria*, au phylum des *Ascomycota* (champignons produisant des ascospores) et au groupe des *Pyrénomycètes* (champignons dont les asques sont enveloppés dans des périthèces) (Nesraoui, 2006).

## 2.3. Identification du genre *fusarium*

### 2.3.1- Identification morphologique

Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées. Mais, les champignons du genre *Fusarium* présentent une grande diversité et variabilité en culture, leur identification et leur classification sont donc assez délicates.

---

Il est important de préciser que la détermination d'une espèce se base sur de nombreux critères et non pas simplement sur la morphologie des macros et microconidies.

Les principaux caractères utilisables sont :

#### 2.3.1.1. Macroscopiquement :

- Aspect et couleur des colonies : Sur milieux usuels le thalle des *Fusarium* donne un mycélium plus ou moins aérien. De couleur rarement blanche ou crème, il peut être ochracé ou plus souvent de coloration vives : rose, rouge ou violet. Chez certaines espèces les conidiophores sont regroupés et forment des coussinets (sporodochies) sur le thalle. Les conidies peuvent former une masse d'aspect grasseux (pionnotes) sur les coussinets ou sur l'ensemble du thalle.
- Vitesse de croissance.
- Odeur.

#### 2.3.1.2. Microscopiquement :

Les espèces de *Fusarium* se différencient essentiellement sur la forme de leurs macroconidies. Ce caractère est complété par la présence ou l'absence de chlamydospores ainsi que par la présence, l'absence ou la forme des microconidies. L'étude des phialides peut s'avérer utile voire indispensable.

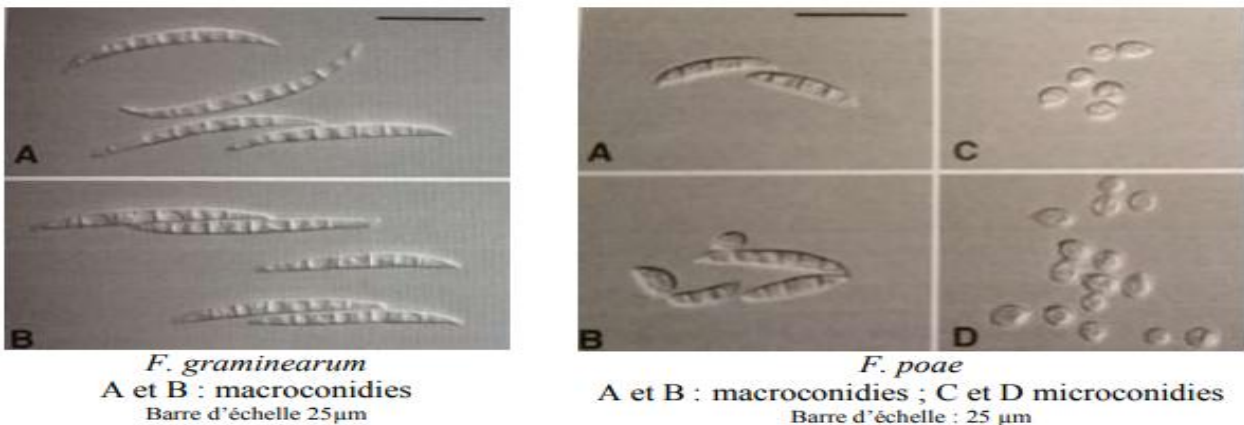
Macroconidies (nombre de loges, forme peu ou pas incurvée, forme de la cellule basale) : Ce sont des spores pluricellulaires fusiformes plus ou moins courbées. La cellule apicale est plus ou moins crochue

- Et la cellule basale est pédicellée. Elles peuvent être absentes et dans ce cas on risque de confondre le genre *Fusarium* avec le genre *Acremonium*.
- Microconidies (formes, abondance) : Les microconidies sont dispersées parmi le mycélium, elles sont de petite taille par rapport aux macroconidies et sont le plus souvent constituées d'une (parfois deux) cellule(s) de forme(s) variable(s) (fusiformes, piriformes, ellipsoïdes, ovoïdes ou subglobuleuses).

- Chlamydospores (présence ou absence et disposition) : Certaines espèces n'en produisent jamais. Les chlamydospores peuvent être terminales, ou intercalaires, isolées ou en groupes ou en chaînes.
- Phialides (monophialides, polyphialides) : Elles sont portées par l'extrémité du conidiophore ; elles sont étroites plus ou moins effilées.

A ces structures, on peut ajouter pour les espèces qui possèdent des téléomorphes (rarement observés) :

- Ascocarpe : C'est un périthèce, formation close, s'ouvrant par un ostiole, plus ou moins en forme de bouteille.
- Asques et ascospores : Les asques formés sur l'hyménium sont cylindriques, uni tuniqués à apex indifférencié. Les ascospores sont ellipsoïdes à fusiformes généralement tétras cellulaires dans le genre *Gibberella* ou naviculées et généralement bicellulaires dans le genre *Nectria*.



**Figure 06 : Caractères morphologiques primaires de deux espèces de *Fusarium* (Leslie and Summerell, 2006)**

Par ailleurs, des caractères secondaires ont été décrits et pouvant permettre de discriminer des espèces entre elles. Le caractère le plus notable est la pigmentation. Lors de leur croissance sur boîte de Pétri, les espèces du genre *Fusarium* forment des colonies cotonneuses, de couleur variable (blanc, rouge, pourpre...) selon les espèces (Figure 07). La vitesse de croissance ou les métabolites secondaires sont d'autres caractères secondaires pouvant être pris en considération.



**Figure 07 : Morphologie de colonies d'espèces de *Fusarium* sur milieu Potato Dextrose Agar. La boîte du haut de chaque paire correspond au mycélium aérien, celle du bas à la vue de dessous**

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*.

### 2.3.2. Identification biochimique

Les analyses biochimiques permettant l'identification des *Fusarium* sont : la détermination du contenu en acide gras, la composition de la paroi cellulaire, la composition en protéines ou encore des métabolites secondaires (Alves-Santos et al., 1999 ; Baayen, 2000 ; Haan et al., 2000).

### 2.3.3. Méthodes de biologie moléculaire

Le développement des techniques de biologie moléculaire ont permis de déterminer des liens phylogéniques entre les sections et les espèces du *Fusarium* qui étaient inconnues jusqu'alors (Leslie et al., 2001). Ces techniques très fiables sont majoritairement basées sur l'ADN (acide désoxyribonucléique) (Hsu et al., 2003). Elles reposent sur la disponibilité des séquences cibles spécifiques utilisées pour les identifications, entre autres, l'ADN ribosomique (ADNr), l'ADN mitochondrial et parfois des séquences répétées de type microsatellites, qui sont actuellement disponibles dans Genbank, (Guarro et al., 1999).

## 2.4. Potentiel toxigène

De nombreuses espèces du *Fusarium* ont montré leur capacité de produire une large gamme de métabolites secondaires biologiquement actifs « les mycotoxines » (Nelson *et al.*, 1983). Ces mycotoxines sont nuisibles pour les plantes (Moretti, 2009), et peuvent également avoir des effets néfastes sur les animaux. La quantité des mycotoxines présentes chez la plante infectée varie selon le moment de l'infection initiale, les conditions environnementales, les espèces de céréales et enfin de la résistance des cultivars (Richard, 2004).

Chez le blé, les fusariotoxines les plus rencontrées sont : les trichothécènes, les fumonisines et la zéaralénone (Tableau 01) (Ballois, 2012), la gravité de la maladie et de la contamination par ces mycotoxines est évaluée, en observant le degré d'expression des symptômes d'infection, mais tout de même, une analyse chimique est recommandée pour confirmer le niveau de contamination. Les symptômes et les concentrations des mycotoxines peuvent varier d'un champ à l'autre, dans un même lot de grains ou dans un même champ (Richard, 2004). Les mycotoxines diffusent dans le substrat qu'elles contaminent même après la destruction du champignon responsable de leur production, elles sont peu labiles, souvent actives à très faibles doses, thermostables, résistantes aux traitements biologiques et aux processus de transformation. Ce qui favorise leur persistance tout au long de la chaîne alimentaire (Siou, 2013).

**Tableau 01 : Mycotoxines produites par les Fusarium**

Blé	
Espèce	Toxine
<i>F. graminearum</i>	Trichothécène B, Zéaralénone
<i>F. avenaceum</i>	Beauvericine, Moniliformine, Enniantine
<i>F. poae</i>	Trichothécène B (NIV)
<i>F. culmorum</i>	Trichothécène B, Zéaralénone
<i>F. tricinctum</i>	Trichothécène A, Beauvericine, Moniliformine

<i>F. sambicum</i>	Trichothécène A, Zéaralénone, Beauvericine
<i>F. sporotrichioides</i>	Trichothécène A
<i>F. equiseti</i>	Trichothécène A et B, Zéaralénone
<i>F. acuminatum</i>	Trichothécène A
<i>F. crookwellense</i>	Trichothécène B, Zéaralénone
<i>F. pseudograminearum</i>	Trichothécène B
<i>F. heterosporum</i>	Zéaralénone
<i>F. oxysporum</i>	Fumonisine
<i>F. verticillioides</i>	Fumonisine

## 2.5. Habitat

Les *Fusarium* sont répandus dans tous les écosystèmes dans le monde (Leslie et Summerell, 2006), ils peuvent être isolés de la plupart des sols, des insectes, de l'eau courante, des racines, des graines et d'autres tissus de plantes herbacées et ligneuses sauvages ou cultivées. Ils sont également retrouvés, dans les climats tempérés et les climats sub-tropicaux. (Jeunot, 2005). Certaines espèces du *Fusarium* ne sont pas influencées et/ou limitées par les facteurs climatiques (Trabelsiet *al.*, 2017). Les *Fusarium* en général, sont divers en termes de nombre d'espèces, distribution, gamme d'hôtes et de la virulence (Gordon, 1960 ; Summerellet *al.* 2003 ; Leslie et Summerell, 2006).

## 2.6. Développement de la maladie

Environ 17 espèces de *Fusarium* ont été associées à la maladie. La plus importante est *Fusarium graminearum*. Les *Fusarium* qui infectent les fleurs et les grains des graminées se disséminent dans les tissus tels les enveloppes florales, le rachis des épis et les tiges à la sénescence de la plante. Les résidus végétaux des céréales à paille et du maïs qui restent aux champs sont une source de propagation du champignon. Les *Fusarium* hivernent aisément et survivent sur les débris végétaux. Lorsque les

---

conditions sont favorables pendant la saison de végétation, les spores qui proviennent de ces débris atteignent les épis (ou la panicule de l'avoine) et peuvent infecter les tissus floraux et les grains en développement. Les spores proviennent non seulement des résidus du champ cultivé, mais aussi, dans certaines conditions, de champs environnants d'où elles sont transportées par les vents. Les grandes quantités de résidus de culture augmentent la source de l'inoculum. La forte quantité des résidus d'une culture comme le maïs offre ainsi un potentiel important d'inoculum. Cette importante source d'inoculum a le potentiel de disperser des spores viables malgré la distance qui la sépare des champs voisins.

La période critique pour l'infection des épis débute à l'épiaison et s'étend sur les quelques jours suivants. Pendant cette période, la pluie et l'humidité, associées toutes deux à la chaleur, auront plus d'impact sur le niveau d'infection. L'infection chez le blé a lieu principalement pendant la sortie des étamines qui dure à peine quelques jours. Le risque d'infection au cours de la floraison est toutefois important et les conséquences de la maladie sont graves. À ce stade du développement, la fleur du blé est largement ouverte et sujette à l'invasion par le champignon. C'est l'infection à ce stade de développement qui a le plus d'impact sur le rendement en grains.

### 2.6.1. Cycle biologique de la maladie

Le *Fusarium* responsable d'importants dégâts durant tout le cycle vital de la plante hôte, est transmis essentiellement par les semences, mais peut aussi provenir du sol où il se conserve sous forme de spores durables. Parasitant les caryopses, le *Fusarium* peut être présent à la surface, soit à l'état de spores libres, soit sous forme de petites colonies mycéliennes. Plus fréquemment, il est interne et se localise dans le péricarpe ou plus profondément dans les téguments séminaux et l'embryon. Présent autour de ce dernier sous forme de mycélium, les caryopses germent et donnent des plantules qui présentent des faciès caractéristiques durant le cycle vital de la plante hôte (Champion, 1997). Les plantules détruites par le parasite, en pré-émergence comme en post-émergence, constituent une source de contamination par des plantes voisines, c'est le premier foyer infectieux. En effet, le parasite édifié sur la plantule détruit des coussinets sporifères qui sont les spores entraînées par le vent et par la pluie. Ces spores vont infecter les autres plantes ou contaminer le sol. Au cours des périodes successives de croissance jusqu'à celles de la reproduction de la plante puis la maturité des graines,

le *Fusarium*, d'abord localisé au niveau des parties souterraines, se développe et sporule abondamment (figure 08). Il constitue ainsi un deuxième foyer d'infection qui favorise la dissémination de la maladie aux plantes voisines. La maladie se perpétue, ainsi d'une année à une autre, soit par les caryopses infectés qui hébergent le parasite, soit par les spores formées sur la plante parasitée durant tout le cycle végétatif, soit enfin par contamination du sol (Mrabet,1998 ; Caron, 2000).

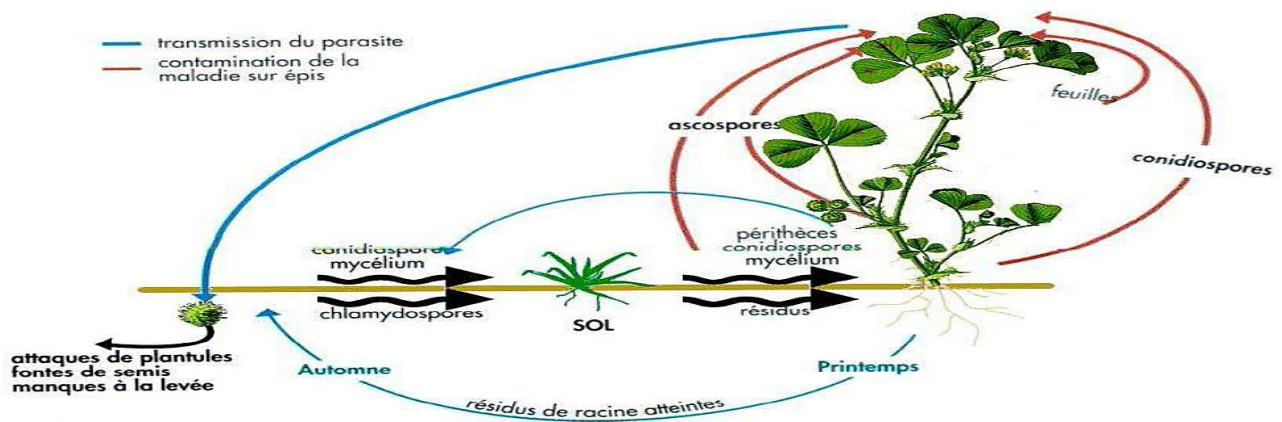


Figure 08 : Cycle de *Fusarium* spp : Illustration des différents modes d'action

## 2.7. Pouvoir pathogène

Les *Fusarium* sont, principalement, des phytopathogènes. Ces champignons contaminent les céréales, les légumes, les arbres fruitiers provoquant des maladies nommées fusarioses. Les *Fusarium* sont généralement impliqués dans la pourriture des racines, tiges et fruits ; dans la dégradation du système vasculaire (Trenholmetal., 1988). Le pouvoir pathogène chez l'homme et les animaux est varié. Certaines espèces sont à l'origine des kératites et endophtalmies. D'autres espèces (*F. solani*, *F. moniliforme*) sont impliquées dans des infections systémiques (Guarro et Gene, 1992).

- *Fusarium verticillioides* est un agent de fusarioses disséminées chez les patients infectés par le HIV (Duran *et al.*, 1989) ;



- *Fusarium oxysporum* est un agent d'onyxis, de kératites, d'endophtalmies, de péritonites et d'infections disséminées chez les patients atteints d'hémopathie maligne (Thomas et Geraldine, 1992) ;
- *Fusarium solani* est l'espèce la plus commune, impliquée dans les fusarioses rencontrées les patients diabétiques. Il peut également être responsable des ulcères cornéens (del Palacio et *al.*, 1985 ; Gari-Toussaint et *al.*, 1997).

## 2.9 prévention du risque fusariose

Lutter contre la fusariose ne signifie pas uniquement appliquer le bon produit au bon moment, c'est une démarche qui se raisonne avant l'implantation de la céréale et tout au long de l'itinéraire cultural. Les points clés à retenir pour prévenir le risque fusariose :

**Le précédent culturale** : Le risque est plus important lorsque le précédent du blé est une culture hôte des champignons responsables de la fusariose. Les précédents à risque sont principalement le maïs et les céréales à paille.

**Le choix variétale** : Toutes les variétés de blé ne présentent pas la même sensibilité ou la même réceptivité aux champignons responsables de la fusariose. Il existe des mécanismes de résistance « morphologiques » :

\* Les plantes hautes et dont le col d'épi est allongé sont moins touchées (stratégie d'évitement)

\* Les plantes qui ont une bonne extrusion d'anthères sont en général plus tolérantes.

**Le travail du sol** : Le travail du sol agit sur la quantité de résidus présents en surface. La profondeur de l'enfouissement des résidus de cultures diminue proportionnellement le risque.

**La date de semis** : La date de semis joue sur l'exposition des épis pendant la phase de développement de la fusariose. Un semis précoce accentue le risque, si la date de formation des épis coïncide avec la période humide de libération des spores. Une ouverture plus tardive des fleurs réduirait ce risque mais il ne faut pas non plus compromettre le bon remplissage des grains. Le juste milieu est à trouver.

**La densité de semis :** De fortes attaques de pied et d'épis de blés ont été observées avec des densités de plants supérieures à 350 pieds/m<sup>2</sup>. L'humidité augmenterait au niveau de la parcelle et stimulerait d'autant plus la maturation et l'expulsion des spores.

## *Matériel et Méthodes*

## Chapitre 1 Matériel et méthodes

### 1. Matériel Biologique

La présente étude porte sur l'isolement et la caractérisation d'isolats obtenus à partir du collet du blé ayant montré les symptômes typiques de la fusariose. Ces symptômes se manifestent à la présence de nécroses sur le collet avec un brunissement de la partie supérieure des racines.

#### 1.1. Échantillonnage

L'échantillonnage est aléatoire, réalisé durant la période janvier - février de l'année 2020. Il a été effectué au niveau des parcelles céréalières de blé dur et blé tendre.

- Le 1<sup>er</sup> échantillonnage est réalisé dans la Willaya de Constantine (commune de Ain smara, Beni Hmidane, Zighoud Youcef, Hamma Bouziane, Djabel el ouahch et EL khroub)
- Le 2<sup>eme</sup> échantillonnage est réalisé dans les Willayas Oum El Bouaghi, Sétif, (figures 9, 10).

Selon Moulinier & Brette (1999), un échantillonnage est l'ensemble des opérations qui consiste à passer du lot initial à un échantillon analysé au laboratoire. Il consiste à prélever une quantité représentative, c'est-à-dire ayant la même composition biochimique, physique et les mêmes propriétés du lot dont elle est issue (Berhaut et al., 2003). D'après Gwimer et *al.* (1996), un seul échantillon ne représente qu'une partie infime d'un lot, ce qui veut dire que le prélèvement d'échantillons doit être effectué selon certaines règles si l'on veut obtenir une moyenne qui soit représentative de l'ensemble du lot considéré, pour s'assurer de cela il faut :

- Prélever un nombre suffisant d'échantillons unitaires.
- Répartir régulièrement les endroits de prélèvement sur l'ensemble du lot.
- Rassembler les échantillons unitaires pour former un échantillon mixte.
- L'échantillon mixte sera transformé en sous échantillon, lequel fera l'objet d'un examen au laboratoire.



**Figure 09 : Parcelle de blé dur infectée par *Fusarium* sp.**



**Figure 10 : Symptômes de la fusariose de blé**

Les plants présentaient des symptômes typiques de la pourriture racinaire (pourriture des racines et brunissement du collet) sont représentés dans les figures 11 et 12.



**Figure 11 : Echantillons prélevés de la parcelle**



**Figure 12 : Symptômes de la fusariose (brunissement des nœuds et des entre nœuds)**

## **2. Méthodologie**

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de génétique biochimie et biotechnologies végétales au niveau de l'université Frères Mentouri Constantine 1.

### **2.1. Isolement des pathogènes**

Les isolements ont été réalisés à partir des fragments du collet et des racines de plants de blé. Les 120 échantillons sont pris au laboratoire, les parties présentant les symptômes de la maladie (collet, racines) ont été utilisés. La technique consiste d'abord à couper transversalement la tige en petits fragments d'environ 1 cm de longueur. Ces fragments ont été d'abord lavés à l'eau de robinet puis découpés en petits segments (5mm à 10 mm de longueur). Ces derniers sont désinfectés dans

---

l'hypochlorite de sodium dilué à 2 % pendant 5 mn puis rincés dans 3 baignoires successives d'eau distillée stérile pendant 5 mn chacun pour éliminer les traces d'eau de javel, ensuite séchés entre deux feuilles de papier wathmann stérile. Les fragments ainsi désinfectés sont déposés dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA (Potato Sucrose Agar) (Annexe n°1) additionné de 0,5 mg/l de chloramphénicol, antibiotique à large spectre permettant d'éliminer la croissance des bactéries. À raison de 5 fragments par boîtes. Les cultures ont été incubées pendant 7 jours à 28°C.

## **2.2. Méthodes de purification**

### **2.2.1. Purification par un repiquage des fragments**

Après une semaine d'incubation, à partir des colonies fongiques développées des petits fragments fongiques sont prélevés et transférés dans de nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu de culture PDA pour la purification et la caractérisation (Davet.P, 1997). Ces derniers sont repiqués dans des nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu PDA pour être identifiés.

Le repiquage se fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une anse de platine ou une pipette stérilisée tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes. Le fragment prélevé est reposé sur le milieu de culture PDA et incubé pendant 7 jours à température ambiante jusqu'à l'obtention des souches fongiques pures.

Dans notre travail et après isolement, les colonies appartenant au genre *Fusarium* ont été repérées et repiquées deux fois sur milieu PDA dans des conditions stériles ; dans le but d'obtenir des isolats complètement purs.

### **2.3. Identification des isolats fongiques**

L'identification des espèces de *Fusarium* spp., est basée principalement sur les critères morphologiques établis par Toussoun et Nelson (1976), Booth (1977) et en se basant aussi sur la description des espèces du genre *Fusarium* établie par Leslie et Summerell (2006).

Les principaux critères sont :

- L'aspect et la coloration du mycélium sur milieu PDA.
- La taille et la forme des macroconidies.
- La présence ou l'absence des microconidies.

□ La présence ou l'absence de chlamydozoaires.

Dans cette étude, l'identification des isolats obtenus de chaque pathogène est réalisée par l'observation macroscopique (aspect des colonies)

#### **2.4. La conservation des isolats**

Après purification et identification, les isolats sont conservés au froid à 4°C dans des tubes inclinés contenant le milieu PDA.



## *Résultats et Discussion*

## Chapitre 2 Résultats et discussion

### 1. Résultat

Le présent travail porte sur l'isolement et la caractérisation des souches fongiques du genre *Fusarium* à partir de plantes de blé infectées par la fusariose collectées dans des champs de blé.

#### 1.1. Isolement de l'agent phytopathogène

##### 1.1.1. Isolement et purification

L'isolement est effectué à partir des nœuds, entre nœuds et collet des plants de blé dur et blé tendre présentant les symptômes typiques de la fusariose du blé (figure 13).

Après purification, nous avons sélectionné quelques isolats d'apparence macromorphologique similaire aux caractères connus chez les *Fusarium* spp.

Les cultures réalisées à partir des différents échantillons à savoir : tige de blé tendre et dur, ont abouti à divers aspects, textures et couleurs de colonies. Sur la base des caractéristiques du *Fusarium* que nous recherchons, vingt-deux isolats ont été sélectionnés et purifiés.



Figure 13 : Isolement des fragments du blé dur sur milieu PDA

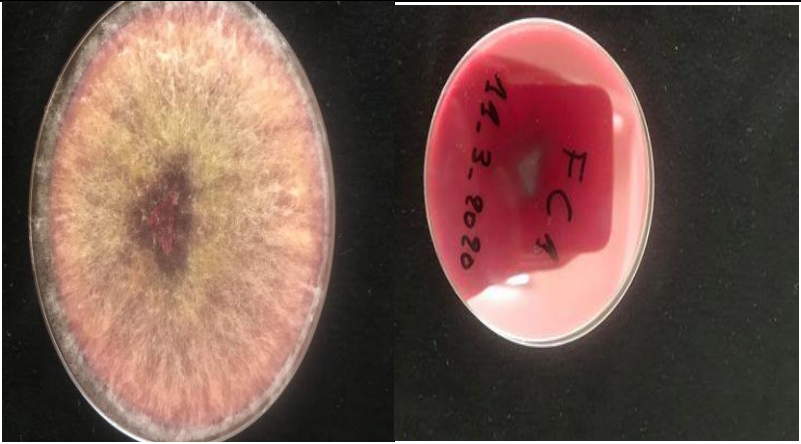
## 1.2. Identification des isolats

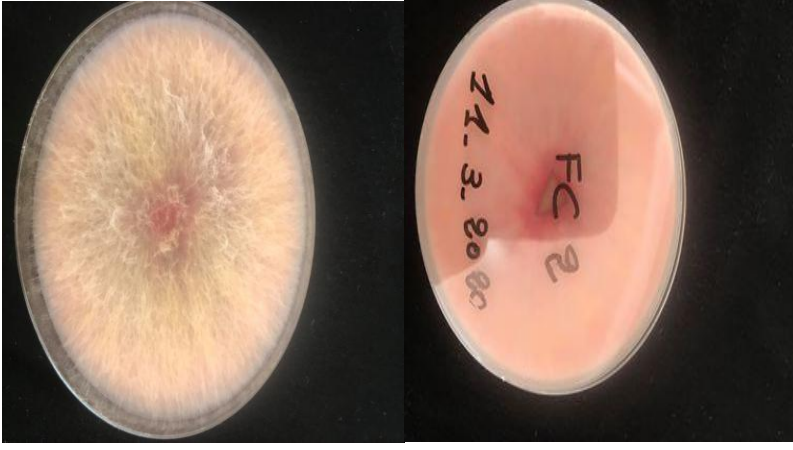
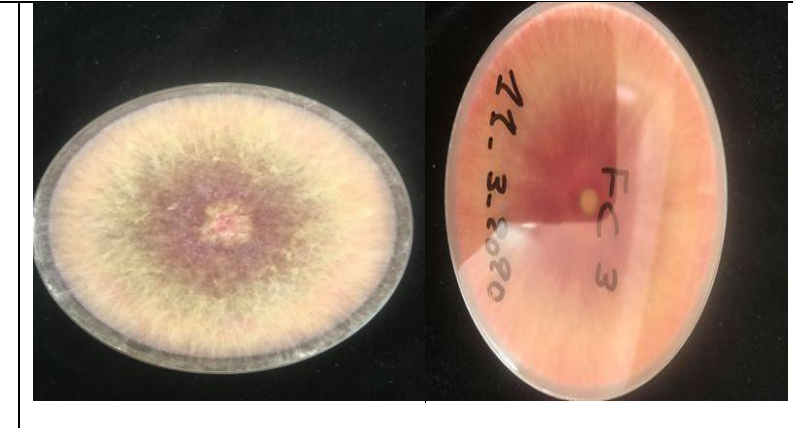

### 1.2.1. Identification morphologique

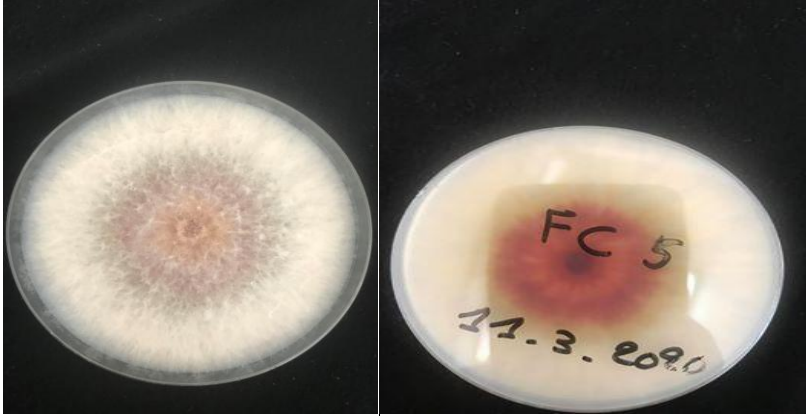
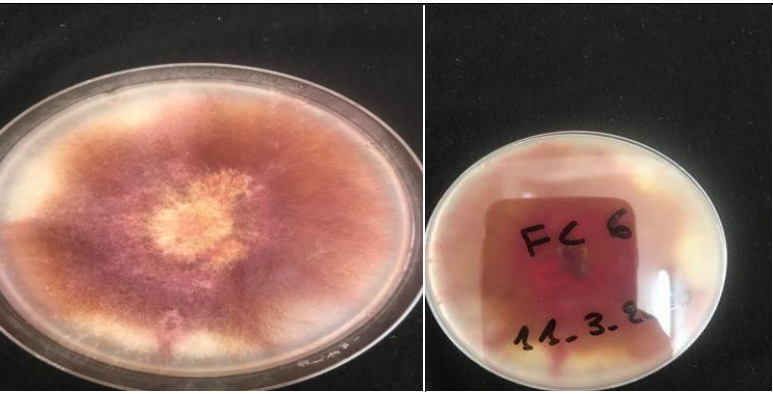
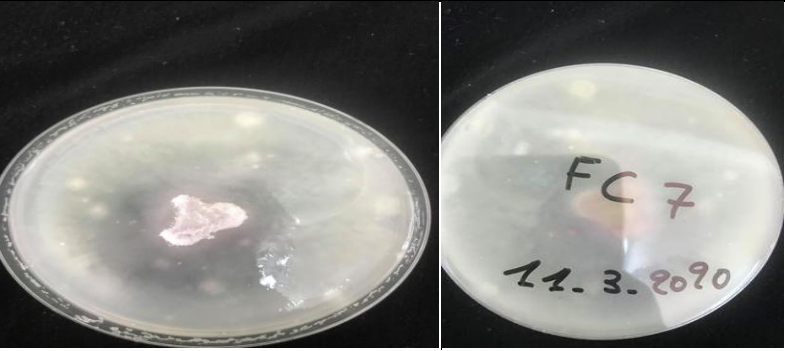
#### □1.2.1.1. Etude macroscopique

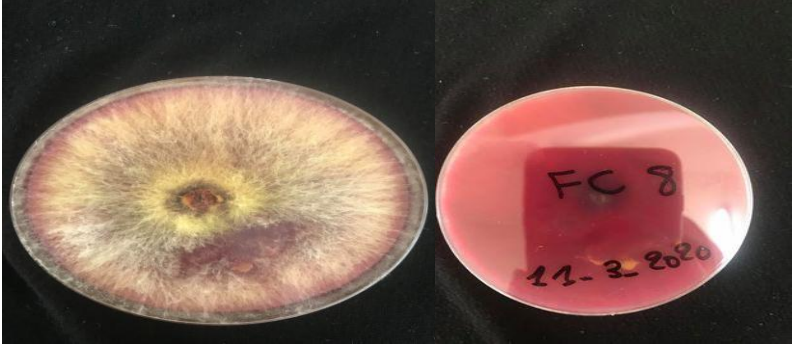
Les caractères macroscopiques des différents isolats sélectionnés ont été étudiés sur milieu PDA le plus communément utilisé à cet effet. Les 22 isolats sur le milieu PDA donnent des colonies de couleur qui varie entre le blanc et le rose. Le mycélium est aérien abondant, un pigment rouge se forme un contact de l'agar. Le tableau 02 récapitule l'aspect des colonies purifiées : surface et consistance des colonies, couleur du revers de la colonie ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque souche.

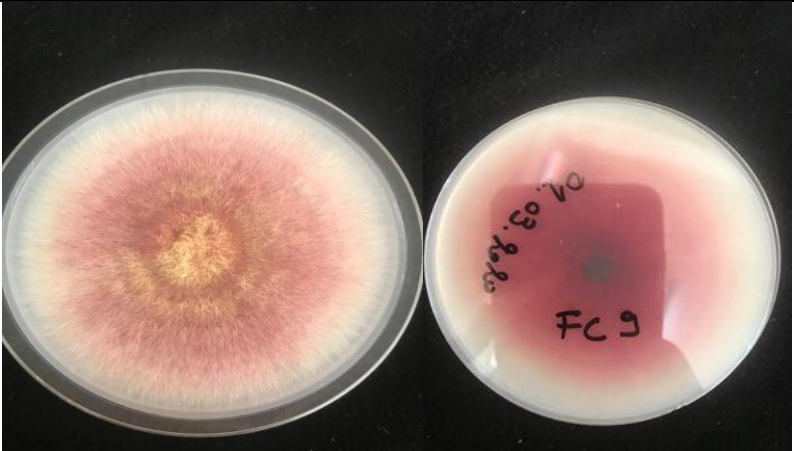
Tableau 02 : Observation macroscopique des *Fusarium*

Plante	Code isolats	Observation macroscopique	Caractères macroscopiques
Blé dur (Collet)	FC 01		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Filaments mycéliens peu denses</li> <li>-Colonie laineuse violette au centre, rose saumon à la bordure</li> <li>Revers rouge</li> </ul>

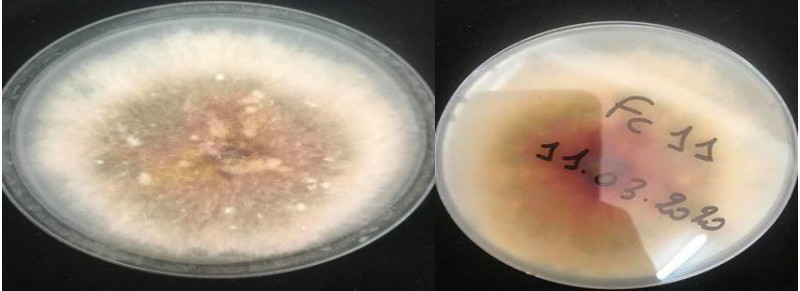

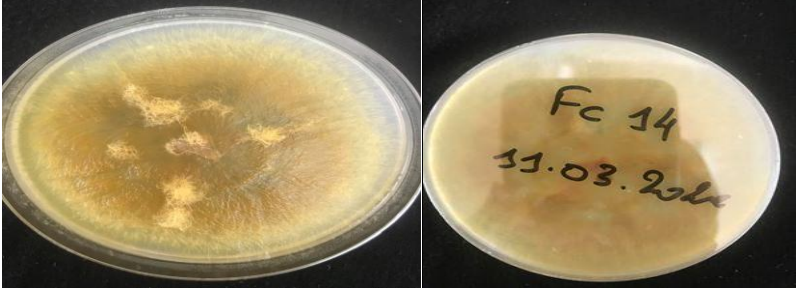

<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 02</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Filaments mycéliens</li> <li>-Colonie laineuse rouge au centre, rose à la bordure</li> <li>-Revers rouge au centre ; et rose à la bordure</li> </ul>
<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 03</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Filaments mycéliens</li> <li>-Colonie aplatie violette ; puis à bordure rose</li> <li>-Revers rouge au centre ; jaune à la bordure</li> </ul>
<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 04</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-filaments mycéliens denses</li> <li>-Colonie laineuse orange au centre ; avec bordure blanche</li> <li>-Revers rouge</li> </ul>

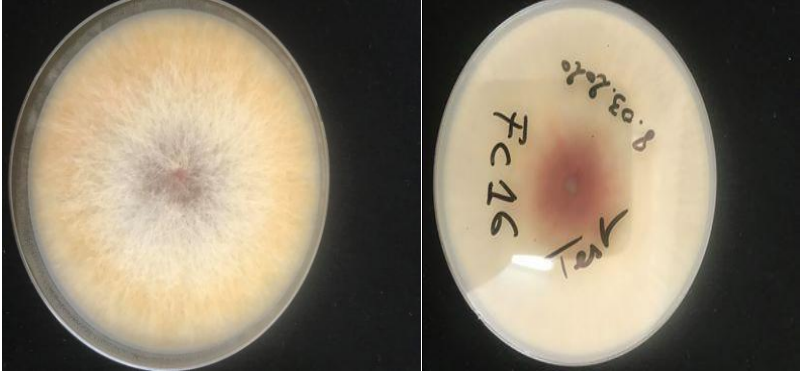
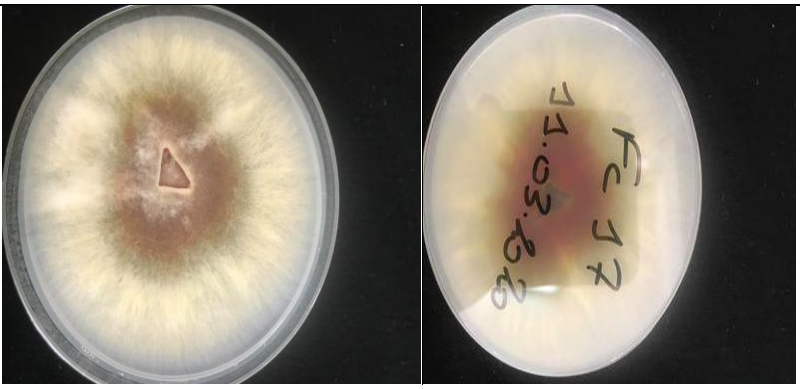
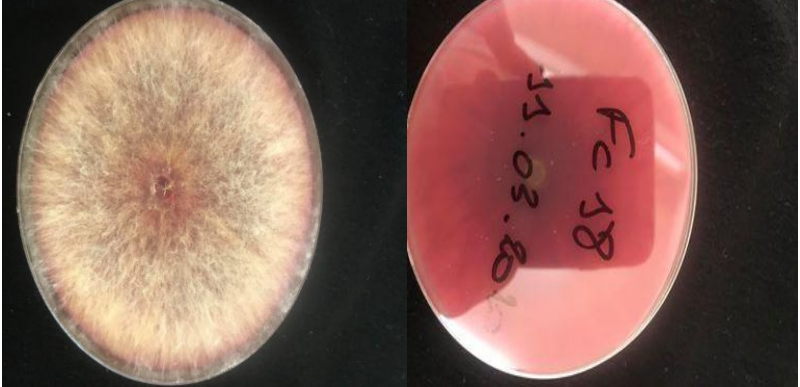
<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 05</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Filaments mycéliens denses</li> <li>-colonie laineuse blanchâtre, Violette au centre</li> <li>-Revers violet au centre, avec bordure blanche</li> </ul>
<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 06</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Colonie aplatie, rouge au milieu, jaune au centre, à bordures blanches</li> <li>-Revers rouge violet</li> </ul>
<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 07</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Colonie aplatie incolore, blanche au centre</li> <li>-Revers incolore</li> </ul>

<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 08</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Filaments mycéliens</li> <li>-Colonie laineuse violette au centre jaune à la bordure, (changement de couleur du Milieu)</li> <li>-Revers rouge</li> </ul>
--------------------------------	---------------------	--	---

<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 09</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Filaments mycéliens</li> <li>-Colonie laineuse rouge, au centre rouge ; avec bordure blanche</li> <li>-Revers rouge, blanche a bordure</li> </ul>
--------------------------------	---------------------	---	---

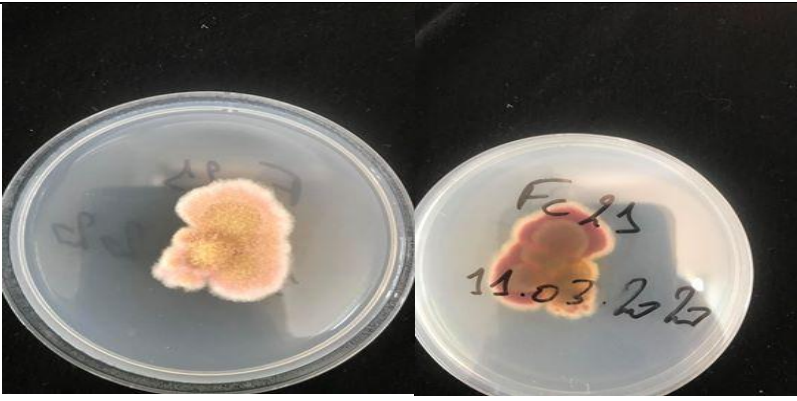
<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 10</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Filaments mycélien</li> <li>-Colonie laineuse verdâtre, avec bordure rose</li> <li>-Revers rouge</li> </ul>
--------------------------------	---------------------	--	---


<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 11</b></p>		<p>-Colonie aplatie incolore au centre, a bordure blanche -Revers rouge au centre, bordure blanche</p>
<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 12</b></p>		<p>-Filaments mycéliens -Colonie laineuse jaune au centre, rose à la bordure -Revers rouge</p>
<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 14</b></p>		<p>-Colonie aplatie verdâtre. Revers jaune</p>
<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 15</b></p>		<p>-Filaments mycéliens -Colonie laineuse violette au centre, avec bordure blanche -Revers rouge</p>

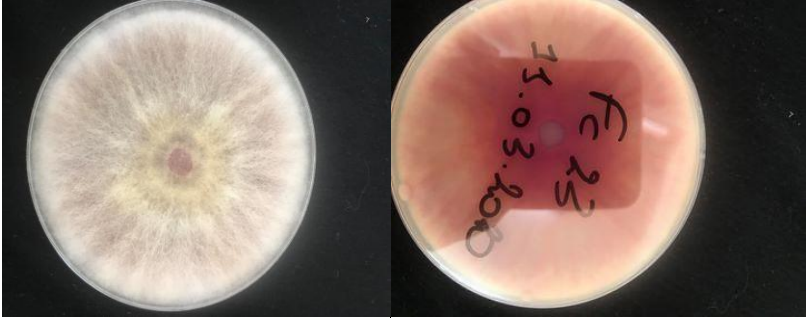
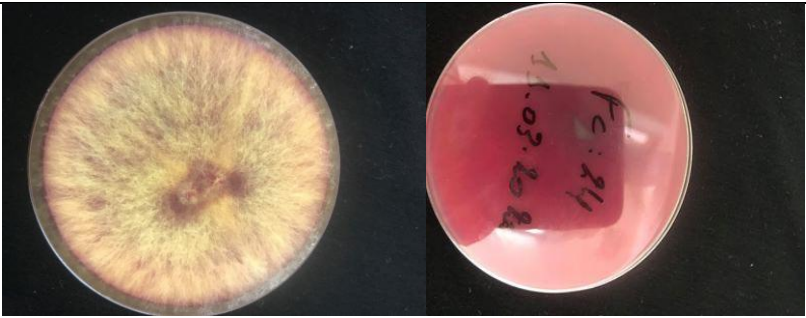
<p><b>Blé tendre</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 16</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Filaments mycéliens dense</li> <li>-Colonie laineuse violette au centre, avec bordure blanche puis jaune</li> <li>-Revers blanc avec bordure et rouge au centre</li> </ul>
<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 17</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Colonie aplatie brune au centre, avec bordure blanche</li> <li>-Revers brun au centre avec bordure blanche</li> </ul>
<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 18</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Filaments mycéliens</li> <li>Colonie laineuse violette, jaune au centre a bordure blanche</li> <li>Revers rouge, violet au centre</li> </ul>



<p><b>Blé tendre</b> (Collet+ racine)</p>	<p><b>FC 20</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Filaments mycéliens</li> <li>-colonie laineuse jaune, rouge au centre, avec bordure rose</li> <li>-revers rouge violet (Changement de couleur du milieu au violet foncé à cause des sécrétions de la souche).</li> </ul>
---	---------------------	--	--

<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 21</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-colonie laineuse rose, au centre jaune, avec bordure incolore</li> <li>-Revers violet</li> </ul>
--------------------------------	---------------------	---	--

<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 22</b></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Filaments mycéliens dense</li> <li>-Colonie laineuse violette au centre, avec bordure rose</li> <li>-Revers rouge</li> </ul>
--------------------------------	---------------------	--	--

<p><b>Blé</b> (Collet)</p>	<p><b>FC 23</b></p>		<p>-filaments mycélien dense Colonie laineuse jaune, Violet au centre, avec bordure blanche Revers rouge</p>
<p><b>Blé dur</b> (Collet+ racine)</p>	<p><b>FC 24</b></p>		<p>-Filaments mycélien dense -Colonie laineuse jaune, Violet au centre, à bordures jaune -Revers rouge</p>

Les constatations faites, à partir des aspects macroscopiques nous ont orienté vers le genre *Fusarium* et ce, pour les 22 isolats phytopathogènes obtenus.

Les observations macroscopiques et les caractères macroscopique des isolats nous permettent de classer les isolats comme suite :

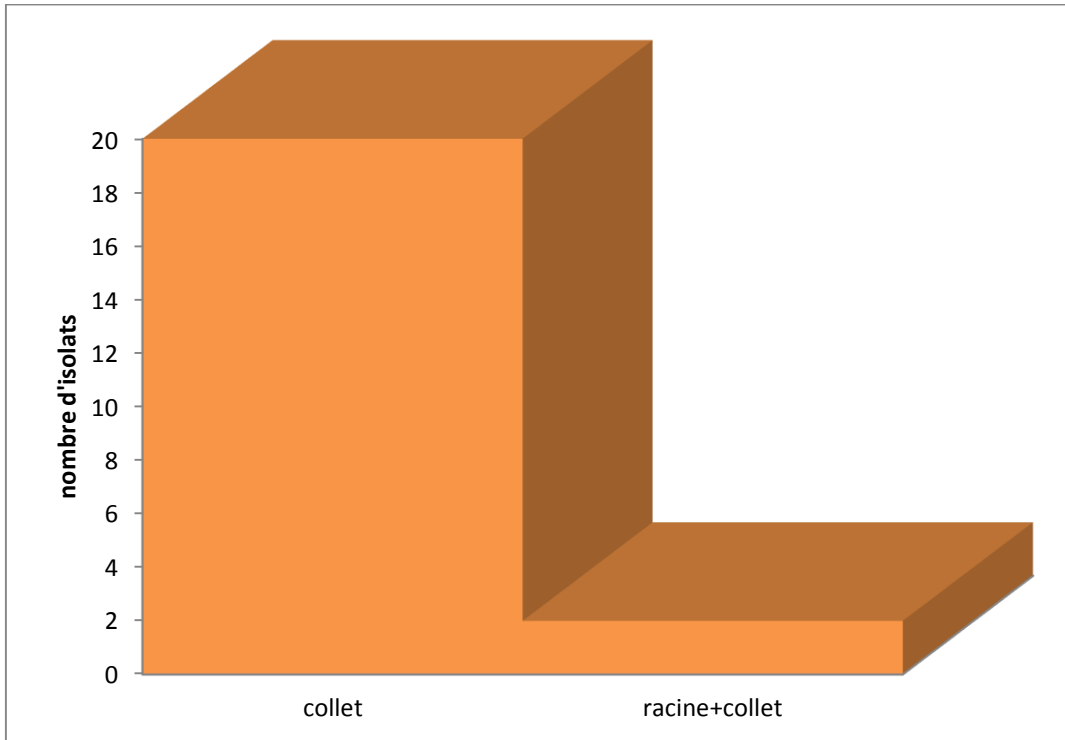
- **FC17** elle peut s'agir de l'espèce : *fusarium solani* du fait que cette espèce présente Sur PDA des colonies à croissance peu rapide. Mycélium aérien plus ou moins diffus ou dense et floconneux, parfois coriace. Thalle blanc grisâtre, présence fréquente de sporodochies crème ou bleu ou brun bleuâtre. Revers brun
- **FC1, FC3, FC5, FC16** peuvent être classés comme *Fusarium oxysporum* du fait que cette espèce présente sur PDA, thalle blanc, rose saumon à violet, mycélium aérien blanc coloré de violet, peu dense, floconneux. Revers pourpre, parfois jaunâtre, le plus souvent violet intense. Certaines souches présentent des sporodochies orange.
- **FC4, FC23** peuvent être classés comme : *fusarium culmorum* du fait que cette espèce présente Sur PDA, mycélium aérien floconneux d'abord blanc devenant ocré à rouge brunâtre. Revers rouge à pourpre ou brun
- **FC24, FC20, FC15, FC12** peuvent être classés comme *Fusarium graminearum* du fait que cette espèce présente sur PDA, thalle rose à pourpre devenant brun Mycélium aérien floconneux, blanchâtre virant au brun rose. Le revers est de couleur rouge à brun rouge. Croissance rapide sur PDA.

Les isolats de *F. graminearum* et *F. culmorum* sont parmi les isolats les plus pathogènes sur les variétés de blé, *F. graminearum* est facilement disséminé par le vent et les éclaboussures de pluie *Fusarium culmorum* est le plus espèces répandues et pathogènes parmi les autres espèces de *Fusarium* associées à la pourriture du collet du blé.

## 2. Analyse des résultats

### 2.1. Répartition des isolats en fonction du lieu d'isolement (partie de la plante infectée)

La répartition des isolats du genre *Fusarium* présents dans les plants de blé infecté par la fusariose en fonction du lieu d'isolement est représentée dans la figure 14.



**Figure 14 : Répartition des isolats du genre *Fusarium* en fonction du lieu d'isolement (partie de la plante infectée).**

Parmi les 120 échantillons de blé fusarié analysés, 22 isolats du genre *Fusarium* ont été trouvés. Nous remarquons que la plupart des souches de *Fusarium* sont isolées à partir du collet (20 isolats) suivi par deux isolats obtenus à partir des racines et du collet.

### 2.2. Répartition des isolats de *Fusarium sp* en fonction des caractéristiques macroscopiques (espèces)

La répartition des isolats du genre *Fusarium* présents dans les plants de blé fusarié en fonction de leurs caractéristiques macroscopiques est représentée dans le tableau 03.

**Tableau : 03 Répartition des isolats de *Fusarium sp* selon les caractéristiques macroscopiques.**

N°	Caractéristiques macroscopiques	Nombre d'isolats
1	- Filaments mycéliens peu denses -Colonie laineuse violette au centre, rose saumon à la bordure -Revers rouge	1
2	- Filaments mycéliens -Colonie laineuse rouge au centre, rose à la bordure -Revers rouge au centre ; et rose à la bordure	1
3	- Filaments mycéliens -Colonie aplatie violette ; puis à bordure rose -Revers rouge au centre ; jaune à la bordure	1
4	- filaments mycéliens denses -Colonie laineuse orange au centre ; avec bordure blanche -Revers rouge	1
5	- Filaments mycéliens denses -colonie laineuse blanchâtre, violette au centre -Revers violet au centre, avec bordure blanche	1
6	- Absence de filaments mycéliens - Colonie aplatie, rouge au milieu, jaune au centre, à bordures blanches -Revers rouge violet	1
7	- Absence de filaments mycéliens - Colonie aplatie incolore, blanche au centre -Revers incolore	1
8	- Filaments mycéliens -Colonie laineuse violette au centre jaune à la bordure, -Revers rouge	1
9	- Filaments mycéliens	1

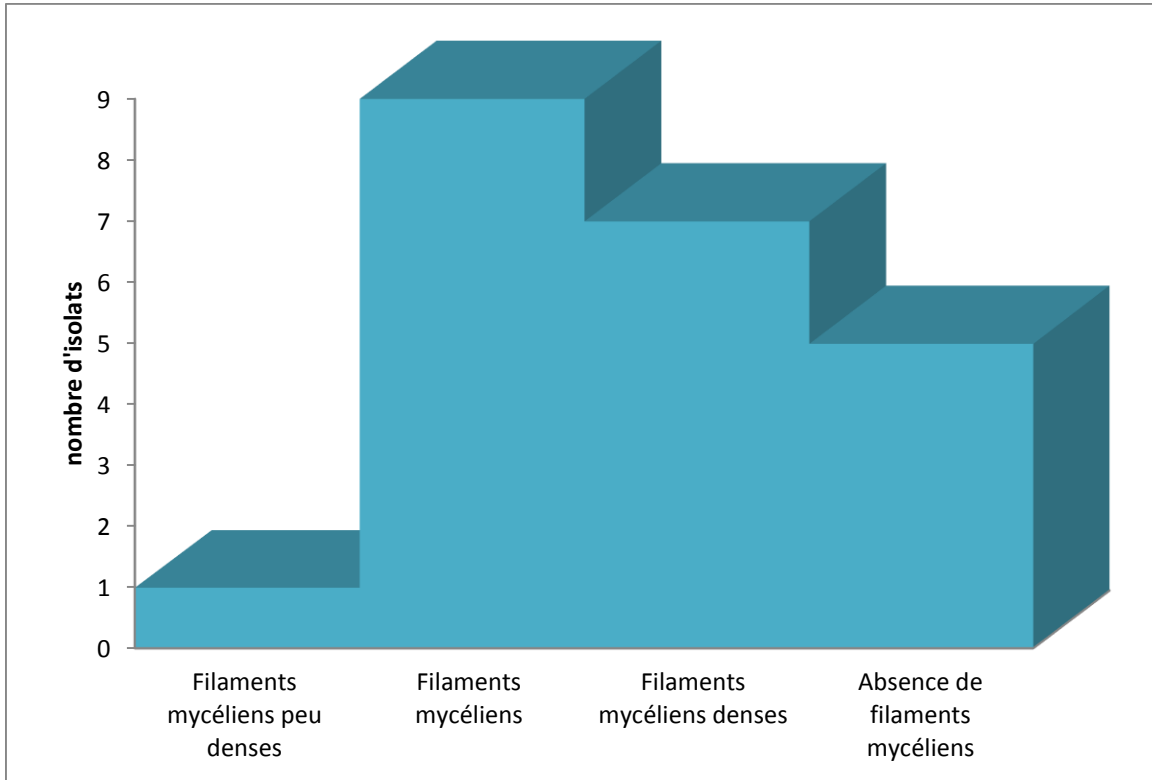
	-Colonie laineuse rouge au centre ; avec bordure blanche -Revers rouge avec bordure blanche	
<b>10</b>	- Filaments mycéliens -Colonie laineuse verdâtre, avec bordure rose -Revers rouge	1
<b>11</b>	-Absence de mycéliums -Colonie aplatie incolore au centre, avec bordure blanche -Revers rouge au centre avec bordure blanche	1
<b>12</b>	- Filaments mycéliens -Colonie laineuse jaune au centre, rose à la bordure -Revers rouge	1
<b>13</b>	-Absence de mycéliums -Colonie aplatie verdâtre. -Revers jaune	1
<b>14</b>	-Filaments mycéliens -Colonie laineuse violette au centre, avec bordure blanche -Revers rouge	1
<b>15</b>	- Filaments mycéliens dense -Colonie laineuse violette au centre, avec bordure blanche puis jaune. -Revers blanc avec bordure et rouge au centre	1
<b>16</b>	-Absence de mycélium -Colonie aplatie brune au centre, avec bordure blanche -Revers brun au centre avec bordure blanche	1
<b>17</b>	-Filaments mycéliens -Colonie laineuse violette, jaune au centre avec bordure blanche -Revers rouge, violet au centre	1
<b>18</b>	- Filaments mycéliens -colonie laineuse jaune, rouge au centre, avec bordure rose	1

	-revers rouge violet	
<b>19</b>	-Absence de mycélium -colonie laineuse rose, au centre jaune avec bordure incolore -Revers violet	1
<b>20</b>	-Filaments mycéliens denses -Colonie laineuse violette au centre, avec bordure rose -Revers rouge	1
<b>21</b>	-filaments mycéliens denses -Colonie laineuse jaune, violet au centre, avec bordure blanche -Revers rouge	1
<b>22</b>	-Filaments mycéliens denses -Colonie laineuse jaune, Violet au centre avec bordures jaune -Revers rouge	1

Dans cette étude, un total de 22 espèce de *Fusarium* sp ont été isolés à partir des différents échantillons analysés qui sont au nombre de 120. Ces 22 isolats sont divisés en 22 groupes selon leurs caractéristiques macroscopiques (tableau : 03). Une grande diversité génétique est observée dans ces isolats où chacun est morphologiquement différent de l'autre et nous pouvons dire que probablement ces isolats représentent 22 espèces différentes du genre *Fusarium*. Ces résultats montrent une diversité importante des espèces de *Fusarium* isolées à partir de blé infecté dans les différentes régions de collecte.

### **2.3. Répartition des isolats de *Fusarium* en fonction de la présence de mycélium**

La répartition des isolats du genre *Fusarium* en fonction de la présence du mycélium est représentée dans la figure suivante.



**Figure 15 : Répartition des isolats du genre *Fusarium* en fonction des filaments mycéliens.**

La répartition des 22 isolats obtenus en fonction du mycélium permet de les diviser en quatre groupes selon sa présence ou son absence. Le groupe 2 caractérisé par la présence de filaments mycéliens est le plus dominant renfermant 9 isolats suivi par le groupe 3 caractérisé par des filaments mycéliens denses tandis que l'absence de filaments est notée chez 5 isolats. Le groupe 1 est le moins dominant renfermant un seul isolat caractérisé par des filaments mycéliens peu denses.

#### **2.4. Répartition des isolats de *Fusarium* en fonction de l'aspect de la colonie**

La répartition des isolats du genre *Fusarium* en fonction de l'aspect de la colonie est représentée dans la figure suivante.



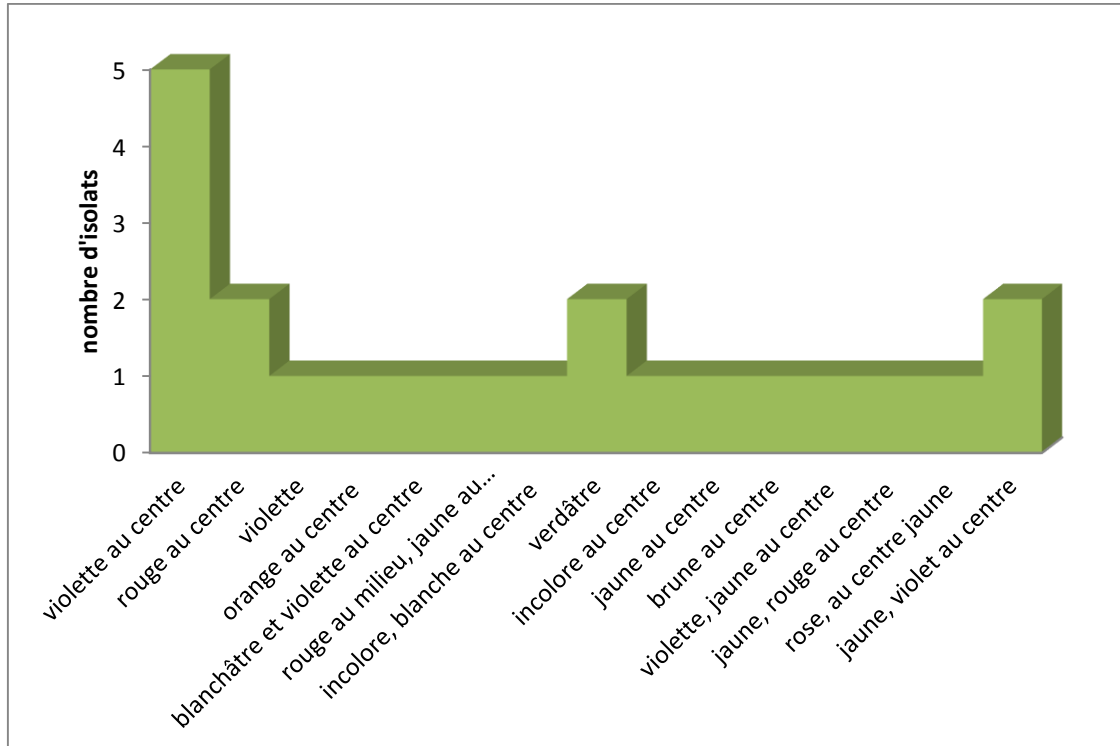


**Figure 16 : Répartition des isolats du genre *Fusarium* en fonction de l'aspect de la colonie**

La répartition des 22 isolats obtenus en fonction de l'aspect de la colonie permet de les diviser en deux groupes où le groupe 1 caractérisé par une colonie laineuse est le plus dominant renfermant 16 isolats suivi du groupe 2 caractérisé par une colonie aplatie qui renferme 6 isolats.

### **2.5. Répartition des isolats de *Fusarium* en fonction de la couleur de la colonie et/ou le centre de la colonie**

La répartition des isolats du genre *Fusarium* en fonction de la couleur de la colonie est représentée dans la figure suivante.



**Figure 17 : Répartition des isolats du genre *Fusarium* en fonction de la couleur de la colonie et/ou le centre de la colonie.**

La figure 17 montre que les 22 isolats sont divisés en 15 groupes selon la couleur de la colonie et le centre de la colonie. Une grande diversité est observée dans ces isolats où 11 groupes présentent des couleurs différentes et caractérisent un seul isolat chacun. Nous remarquons également le groupe 1 est le plus dominant, renfermant 5 isolats similaires caractérisés par une colonie violette au centre, suivi des groupes 2, 8 et 15 qui renferment 2 isolats chacun avec une couleur rouge du centre de la colonie, une colonie verdâtre et une colonie jaune avec un centre violet, respectivement. Par ailleurs, le reste des groupes sont peu fréquents et renferment un isolat uniquement.

## **2.6. Répartition des isolats de *Fusarium* en fonction de la couleur de bordure de la colonie**

La répartition des isolats du genre *Fusarium* en fonction de la couleur de bordure de la colonie est représentée dans la figure suivante.

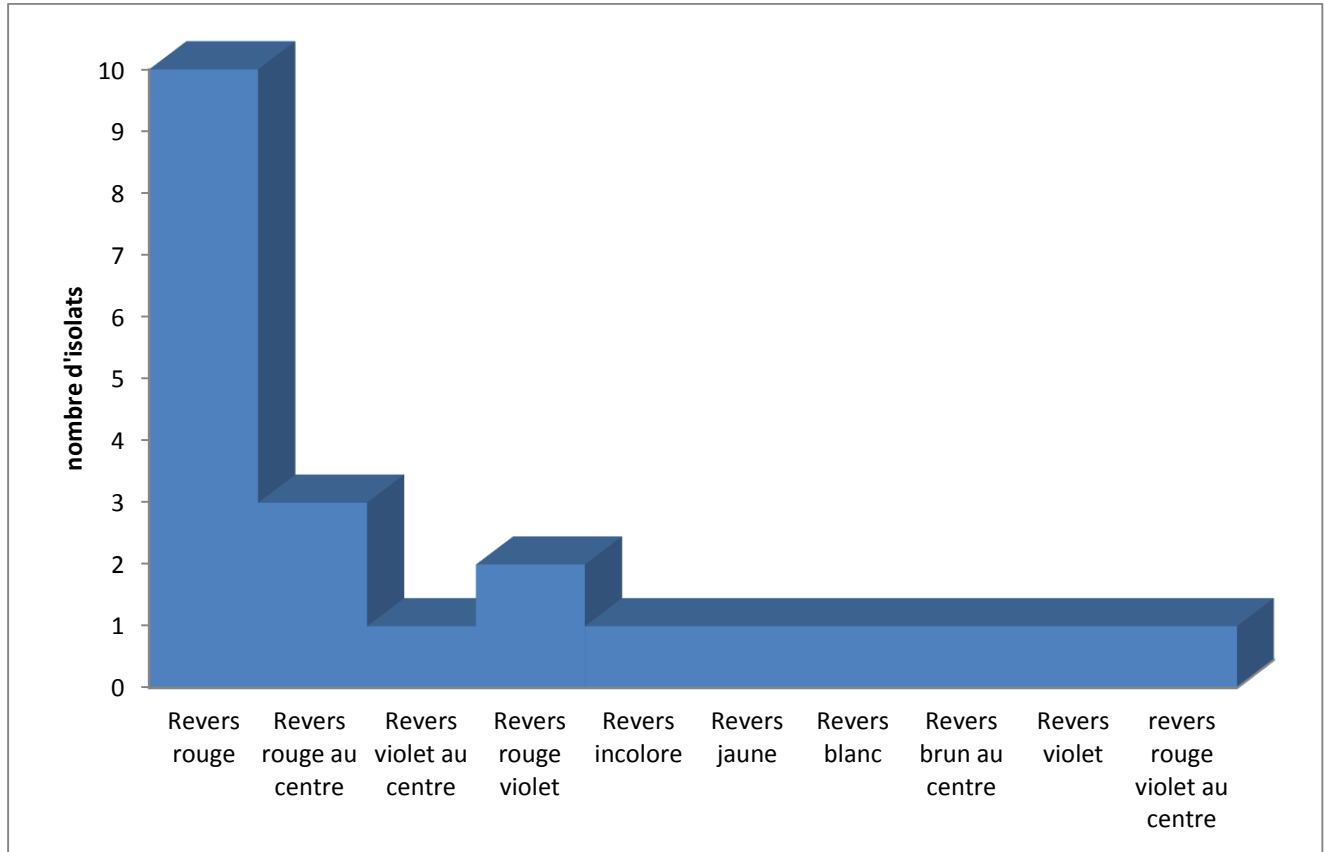


**Figure 18 : Répartition des isolats du genre *Fusarium* en fonction de la couleur de bordure de la colonie.**

La figure 18 montre que les 22 isolats sont divisés en 7 groupes selon la couleur de bordure de la colonie. Une grande diversité est observée dans ces isolats où 2 groupes présentent des couleurs différentes et caractérisent un seul isolat chacun. Nous remarquons également le groupe 3 est le plus dominant, renfermant 8 isolats similaires caractérisés par une bordure de colonie blanche, suivi du groupes 2 qui renferme 6 isolats avec une couleur rose de la bordure. Trois isolats présentent des colonies sans bordures caractérisant le groupe 4 et 2 isolats présentent une colonie jaune caractérisant le groupe 5. Par ailleurs, le reste des groupes sont peu fréquents et renferment un isolat uniquement avec une couleur de bordure spécifique.

### **2.7. Répartition des isolats de *Fusarium* en fonction de la couleur du revers**

La répartition des isolats du genre *Fusarium* en fonction de la couleur du revers est représentée dans la figure suivante.



**Figure 19 : Répartition des isolats du genre *Fusarium* en fonction de la couleur du revers.**

La figure 19 montre que les 22 isolats sont divisés en 10 groupes selon la couleur du revers. Une grande diversité est observée dans ces isolats où 7 groupes présentent des couleurs différentes et caractérisent un seul isolat chacun. Nous remarquons que le groupe 1 est le plus dominant, renfermant 10 isolats similaires caractérisés par un revers rouge, suivi du groupe 2 qui renferme 3 isolats seulement avec un revers rouge uniquement au centre. Deux isolats présentent des revers rouge violet caractérisant le groupe 4. Par ailleurs, le reste des groupes sont peu fréquents et renferment un isolat uniquement avec une couleur de revers spécifique.

### **2.8. Répartition des isolats de *Fusarium* en fonction de la couleur de bordure du revers**

La répartition des isolats du genre *Fusarium* en fonction de la couleur de bordure du revers est représentée dans la figure suivante.



**Figure 20 : Répartition des isolats du genre *Fusarium* en fonction de la couleur de bordure du revers.**

La figure 20 montre que les 22 isolats sont divisés en 4 groupes selon la couleur de bordure du revers.. Nous remarquons que le groupe 1 est le plus dominant, renfermant 10 isolats similaires caractérisés par l'absence de la bordure du revers, suivi du groupes 4 qui renferme 5 isolats avec une couleur blanche de la bordure du revers. Deux isolats présentent des revers avec une bordure rose caractérisant le groupe 2 et 1 seul isolat dans le groupe 3 caractérisé par une bordure jaune du revers.

## *Conclusion Générale*

Les champignons du genre *Fusarium* présentent une grande diversité et une grande variabilité en culture. Il inclut de nombreuses espèces que l'on peut retrouver partout dans le monde. Sont des agents pathogènes majeurs des cultures qui réduisent le rendement et la qualité des céréales

Au terme de cette étude, nous avons identifié et étudié la croissance in vitro de quelques isolats de *Fusarium* Spp. Obtenus à partir des plants de blé présentant les symptômes typiques de la fusariose. Ces plants ont été collectés. L'ensemble de nos résultats met 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 le complexe fusarien. Dans un premier lieu, nous avons pu identifier des agents pathogènes associés à la base de la tige (collet) qui est le *Fusarium* et à partir de nœud et entre nœud. L'identification de cet isolat a abouti à la détermination des espèces différentes. Comme tous les autres isolats sont identifiés uniquement en se basant sur les critères morphologiques. Ces espèces sont capables de provoquer des symptômes sévères qui peuvent aller jusqu'à la mort des plantules.

Nous avons testé 22 isolats sur 1milieux de culture pour étudier la croissance mycélienne de *Fusarium* spp. Ce dernier se développe rapidement sur milieu solide PDA

En perspectives, il serait intéressant de :

- La connaissance des espèces existantes, leur pouvoir pathogène, leurs fréquences selon les régions, les variétés et les étages bioclimatiques rend l'étude de lutte biologique plus orientée et plus efficace.

En outre, l'identification de ces espèces ne doit pas se limiter aux caractéristiques morphologiques qui restent dans certains cas insuffisants, mais elle doit être complétée et confirmée par les analyses moléculaires.

- Il est aussi recommandé d'évaluer les dégâts et les pertes de rendement causées par cet agent fongique en Algérie par des prospections sur plusieurs années prenant en considération la détermination du taux de contamination de nos produits céréaliers par les fusariotoxines.

## *Références Bibliographiques*



- Abeledo L. G., Savin R., Gustavo A. et Slafer. (2008).** Wheat productivity in the Mediterranean Ebro Valley: Analyzing the gap between attainable and potential yield with a simulation model. *European journal of Agronomy*. 28. 541-550p.
- Alves-Santos F.M., Benito E.P., Elsava A.P., Díaz-Mínguez J.M. (1999).** Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* strains from common beanfields in Spain. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:3335-3340.
- Anonyme, 2004.** Le blé. [www.le blé.html](http://www.leblé.html).
- Baayen R.P. (2000).** Diagnosis and detection of host-specific forms of *Fusarium oxysporum*. *EPPO Bull.* 30:489-491
- Bajji M. (1999).** Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants soma clonaux sélectionnés In vitro. Thèse de doctorat. Univ. Louvain.
- BLACKWELL, M. (2011).** "The Fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species?" *American Journal - of Botany*98(3), p. 426-438.
- Ballois N. (2012).** Caractérisation de la diversité des espèces de *fusarium* et de leur potentiel mycotoxinogène sur céréales françaises. Master en Biologie et Écologie pour la Forêt, l'Agronomie et l'Environnement. Spécialité BIPE. 36p.
- Booth C. 1985.**The genus *Fusarium*. Ed. Common weath Mycological Institute. p. 237
- Carlile M.J., Watkinson S.C. The Fungi. 1994.** (Academic Press eds). Caron D.2000.Fusarioses des épis, Sait-on prévoir leur développement. *Perspectives Agricoles* Janvier 2000, pp 56-62.
- Caron D.2000.** Fusarioses des épis, Sait-on prévoir leur développement. *Perspectives Agricoles* Janvier 2000, pp 56-62.
- Castegnaro M., Pfohl-Leszkowicz A., (2002).** Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans la sécurité alimentaire du consommateur, Lavoisier, Tec&Doc.
- Champion R.1997.** Identifier les champignons transmis par les semences. *Techniques et Pratiques*. INRA

## Références Bibliographiques

---

- Chellali B. (2007)**. Marché mondial des céréales : L'Algérie assure sa sécurité alimentaire. Editions p166 à 197.
- De Buyser et Henry Y. J. 2001**. L'origine des blés. In : Belin. Pour la science (Ed.). De la graine à la plante. Ed. Belin, Paris, pp. 69-72.
- Del Palacio H.A., Guttierrez A., Guttierrez E., 1985**. Ulcer acorneal pour *Fusarium solani*, Rev.Iber. Micol., 2, 29-35
- Desjardins, A.E. (2006)**. *Fusarium* mycotoxins: chemistry, genetics and biology (APS Press).
- Djermoun A., 2009**- La production céréalière n Algérie : les principales caractéristiques, Revue Nature et Technologie, N°1, 45-53.
- Duran J.A., Malvar A., Pereiro M., Pereiro Jr. M., (1989)**, *Fusarium monili form ekeratitis*, Acta ophthalmol., Scand. 67, 710-713
- Evaluation of Panicum maximum cv.** Tobiata pasture to milk production of under two level sofcon centrate supplementation in the Northeast of the State of Para. Document os – Embrapa Amazonia Oriental (39): 35 pp. 2005.
- Gallais. A et Bannerot. H (1992)** : Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et 'critères de sélection. INRA. Paris. 687 p.
- Guarro J., Gene J. 1992**. *Fusarium* infections, Criteria for the identification of the responsible species, Mycoses, 35, 109-114.
- Grignac, PH., 1965**- Contribution à l'étude de *Triticum durum* Desf. Thèse de Doctorat Université de Toulouse ,240p
- Haan L.A.M., Numansen A., Roebroek E.J.A., Van Doorn J. (2000)**. PCR detection of *Fusarium oxysporum* f.sp. gladiolirace 1, causal agent of Gladiolus yellows disease, from infected corms. Plant Pathol.49:89- 100.
- HAL Id:** tel-00849969. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00849969> Submitted on 2Aug 2013.
- Hawksworth D.L., Kirk P.M., Sutton B. and Pegler D.N.1995**. Dictionary of the fungi, 8<sup>th</sup> ed. CAB. International Walling Ford. United Kingdom.
- **Hsu M.C., Chen K.W., Lo H.J., Chen Y.C., Liao M.H., Lin Y.H., Li S.Y. (2003)**. Species identification of medically important fungi by use of real-time Light Cycler PCR. Journal of Medical Microbiololgy. 52 : 1071-1076.

## Références Bibliographiques

---

- **Hubert, P.,1998**- Recueil de fiches techniques d'Agriculture Spéciale 17 : 23-27.
- **Jeunot B. (2005)**. Les fusariotoxines sur céréales : détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse d'exercice. Université de Nancy I. UFR Sciences pharmaceutiques et biologiques.
- KANG Z., BUCHENAUER H.** « Studies on the infection process of *Fusarium culmorum* in wheat spikes: Degradation of host cellwall components and localization of tricho the cenetoxins in infected tissue ». European Journal of Plant Pathology. 2002.
- **Leslie J. F., Zeller K. A., Summerell B.A. (2001)**. Icebergs and species in populations of *Fusarium*. Physiological and Molecular Plant Pathology, 59: 107-17.
- Leslie, J.F., and Summerell, B.A. (2006)**. The Fusarium Laboratory Manual (Ames, Iowa: Wiley-Blackwell).
- Maréchal, P., 2001**. Analyse des principaux facteurs impliqués dans le fractionnement combiné de pailles et de sons de blé en extrudeur bi-vis – Obtention d'agro-matériaux. Thèse, INP Toulouse.
- Molkhou P., 2007**- Intolérance et allergie au blé, Journal de pédiatrie et de Puericulture, 20 : 228-232
- **Moretti A.N (2009)**. Taxonomy of *Fusarium* genus, a continuous fight between lumpers and splitters. Proc. Nat. Sci, Matica Srpska NoviSad, 117, 7-13.
- Mrabet, B. 1998**. Incidence de la fusariose au nord de la Tunisie. Identification de source de résistance chez le blé. École Supérieure Agronomique de Kef, Kef, Tunisie, 60 p.
- **Nelson P.E. et Toussoun T.A. (1983)**. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State Univ Pr. 226 p.
- Nelson, P.E., Dignani, M.C., and Anaissie, E.J. (1994)**. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. Clin MicrobiolRev7, 479–504.
- O'BRIEN, H. E., PARRENT, J. L., JACKSON, J. A., MONCALVO, J.M. ET R. VILGALYS (2005)**. "Fungal Community Analysis by Large-Scale Sequencing of Environmental Samples." Applied and Environmental Microbiology 71(9), p. 5544-5550.
- Pfohl-Leszowicks A, 1999**-les mycotoxines dans l'alimentation, évaluation et gestion du risque.
- **Richard M. 2004**. La Fusariose chez les céréales dans le Canada atlantique. Agriculture et Agroalimentaire Canada, Centre de recherches sur les cultures et les bestiaux, University Charlottetown. P3.

## Références Bibliographiques

---

- Samson R.A. and Hoekstra E.S. 1988.** Introductions to food-borne fungi, 3<sup>edn</sup>. Centraalbureau Voor. Schimmelcultures. Baarn. The Netherlands.
- Simon H., Codaccion P. et Lecoœur X., 1989.** Produire des céréales à paille
- **Siou D. (2013).** Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien. Thèse de doctorat en sciences du végétal : du gène à l'écosystème. Université Paris-sud XI. P 182.
- Slama A., Ben Salem M., Ben Naceur M. et Zid E. D. 2005.** Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. *Sécheresse* (16) 3 :225-9.
- Summerell, B.A., Salleh, B., and Leslie, J.F. (2003).** A Utilitarian Approach to *Fusarium* Identification. *Plant Disease* 87, 117–128.
- TABUC CRISTINA. (2007).** Flore fongique de différents substrats et condition optimales de production des mycotoxines. Thèse de Doctorat. Institut polytechnique de Toulouse
- Thomas P.A., Geraldine P. 1992.** Fungal keratitis due *Fusarium* and other fungi, *J. Mycol. Med.*, 2, 121-131.
- Trabelsi R., Sellami H., Gharbi Y., Krid S., Cheffi M., Kammoun S., Dammak M., Mseddi A., Gdoura R., Ali Triki M. (2017).** Morphological and molecular characterization of *Fusarium* spp. Associated with olive trees die back in Tunisia. *3 Biotech* 7: 28. DOI 10.1007/s13205-016-0587-3.
- Trinci, A.P.J., 1969.** A kinetic study of the growth of *Aspergillus nidulans* and other fungi. *Microbiology* 57, 11e24.
- VEGA, K. ETKALKUM, M. (2012).** "Chitin, Chitinase Responses, and Invasive –Fungal Infections." *International Journal of Microbiology* 2012
- Waongo A., Yamkoulga M., Dabir-Binso C.L., Ba M.N., Sanon A., 2013-** Conservation post-récolte des céréales en zone sud-saoudienne du Burkina Faso: Perception paysanne et évaluation des stocks, *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 7(3): 1157-1167.
- Zadoks, J.C., Chang, T.T. and Knzak, C. F. 1974.** A decimal code for the growth stage of cereals. *Weeds Research* 14 : 415-421.

## *Références Bibliographiques*

---

**-Zeitoun, R. 2011.** Procédé de fonctionnement de la matière végétale- application à la production des polysaccharides du son et de la paille de blé ; thèse de doctorat, université de Toulouse.264p

## *Annexes*

### **Annexe 01 : Petit matériel**

- Four Pasteur
- Étuve
- Autoclave
- Bain-marie
- Hotte à flux laminaire
- Balance
- Anse de platine
- Boîtes de Pétri
- Pincés
- Éprouvettes
- Spatule
- Barreaux magnétiques
- Bec bunsen
- Anses de platine

### **Annexe 02 : Milieux de culture**

La **gélose dextrosée à la pomme de terre** (en abrégé « PDA », pour Potato dextrose agar) est un milieu de culture microbiologique courant produit à base d'infusion de pomme de terre et de dextrose. Il est favorable pour la croissance des champignons phyto – pathogènes.

La composition de milieu de culture PDA :

Pomme de terre .....200g

Glucose .....10g

Agar .....20g

Eau distillée .....1000g, ph= 5.6

L'infusion de pomme de terre se prépare en faisant bouillir dans l'eau 200 g de pommes de terre tranchées (lavées mais non pelées) pendant 30 minutes à 1h puis en laissant décanter le bouillon obtenu ou en le filtrant à travers un coton à fromage. On dilue ensuite en ajoutant de l'eau distillée

## *Annexes*

---

pour un volume final d'un litre. Puis on ajoute 20 g de dextrose et autant d'agar-agar en poudre avant une stérilisation par autoclave à 100 kPa pendant 15 minutes.



### **Solutions**

#### **Eau physiologique**

- Eau distillée
- Chlorure de sodium (NaCl)



### **Annexe 03 : AW**

L'activité de l'eau ou **A<sub>w</sub>** représente l'eau libre contenue dans un produit, il ne s'agit pas d'une mesure de teneur en eau appelée aussi taux d'humidité, mais de la disponibilité de cette eau. Cette eau qui n'est pas liée fortement avec le produit d'un point de vue physico-chimique, influence directement la croissance et la toxigenèse de micro-organismes tels que bactéries, levures, moisissures... ainsi que le développement de réactions enzymatiques et d'oxydations...

## *Résumé*

### ملخص

تعتبر زراعة القمح في الجزائر من بين المحاصيل الرئيسية ذات الأهمية في السياسة الزراعية للبلاد. يمثل، في الواقع، حوالي 50 ٪ من محاصيل الحبوب.

ومع ذلك، خلال تطورها، تخضع زراعة القمح لظروف مناخية متفاوتة وهجمات مسببات الأمراض، والتي يمكن أن تؤثر سلباً على الإنتاج من حيث الكمية والنوعية. ركزت هذه الدراسة على العزل والتوصيف المجهرى لعزلات الفيوزاريوم المأخوذة من عنق 120 عينة قمح والتي أظهرت الأعراض النموذجية للذبول الفيوزاريوم الذي تم جمعه في مناطق زراعية مختلفة (قسنطينة وأم البواقي وسطيف)

تم عزل العينات وتنقيتها، ثم تحديدها بناءً على الصفات المورفولوجية المستخدمة لوصف فطريات جنس الفيوزاريوم (ظهور المستعمرات).

من بين 120 عينة قمح من بين 120 عينة قمح الفيوزاريوم التي تم تحليلها، تم العثور على ما مجموعه 22 عزلة من جنس الفيوزاريوم كانت هذه مختلفة عن بعضها البعض مع مراعاة الخصائص النموذجية المختلفة للمستعمرات والعكس (المظهر واللون والحدود).

في المنظور، سيكون من المثير للاهتمام معرفة الأنواع الموجودة ومدى إمراضها وتواترها وفقاً للمناطق والأصناف والمراحل المناخية الحيوية، مما يجعل دراسة المكافحة البيولوجية أكثر توجهاً وفعالية. بالإضافة إلى ذلك، يجب ألا يقتصر تحديد هذه الأنواع على الخصائص المورفولوجية التي تظل في بعض الحالات غير كافية، ولكن يجب استكمالها وتأكيدتها من خلال التحليلات الجزيئية.

**الكلمات المفتاحية:** القمح، الفيوزاريوم، العزلة، التعريف، الصفات المورفولوجية.

## Résumé

---

### Summary

In Algeria, the cultivation of wheat is among the major crops of importance in the country's agricultural policy. It represents, in fact, around 50% of cereal crops.

However, during its development, the cultivation of wheat is subject to the variation of climatic conditions and to the attacks of pathogens, which can negatively influence the production in quantity and quality. This study focused on the isolation and macroscopic characterization of *Fusarium* isolates obtained from the neck of 120 wheat samples that showed the typical symptoms of Fusarium wilt collected in different agricultural regions (Constantine, Oum El Bouaghi and Sétif).

The samples were isolated, purified and then identified based on the morphological characters used to describe the fungi of the genus *Fusarium* (appearance of colonies).

Among the 120 *Fusarium* wheat samples analyzed, a total of 22 isolates of the genus *Fusarium* were found. These were different from each other taking into account the different typical characteristics of the colonies and the reverse (appearance, color, border).

In perspective, it would be interesting to know the existing species, their pathogenicity, their frequencies according to regions, varieties and bioclimatic stages, which makes the study of biological control more oriented and more effective. In addition, the identification of these species should not be limited to morphological characteristics which in some cases remain insufficient, but should be supplemented and confirmed by molecular analyzes.

**Key words :** wheat, *Fusarium*, isolation, identification, morphological characters.

## Résumé

---

### Résumé

En Algérie, la culture du blé est parmi les grandes cultures ayant une importance dans la politique agricole du pays. Elle représente, en effet, environ 50 % des cultures céréalières.

Toutefois, au cours de son développement, la culture du blé est sujette à la variation des conditions climatiques et aux attaques de pathogènes, pouvant influencer négativement la production en quantité et en qualité. Cette étude a visé sur l'isolement et la caractérisation macroscopique d'isolats de *Fusarium* obtenus à partir du collet de 120 échantillons de blé ayant montré les symptômes typiques de la fusariose collectés dans différentes régions agricoles (Constantine, Oum El Bouaghi et Sétif).

Les échantillons ont été isolés, purifiés puis identifiés en se basant sur les caractères morphologiques utilisés pour décrire les champignons du genre *Fusarium* (aspect des colonies).

Parmi les 120 échantillons de blé fusarié analysés, un total de 22 isolats du genre *Fusarium* a été trouvé. Ces derniers ont été différents les uns des autres en tenant compte des différentes caractéristiques typiques des colonies et du revers (aspect, couleur, bordure).

En perspectives, il serait intéressant de connaître les espèces existantes, leur pouvoir pathogène, leurs fréquences selon les régions, les variétés et les étages bioclimatiques ce qui rend l'étude de lutte biologique plus orientée et plus efficace. En outre, l'identification de ces espèces ne doit pas se limiter aux caractéristiques morphologiques qui restent dans certains cas insuffisants, mais elle doit être complétée et confirmée par les analyses moléculaires.

**Mots clés :** blé, *Fusarium*, isolement, identification, caractères morphologiques.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie  
Option : Biochimie de la Nutrition

## Thème : **Caractérisation macroscopique et appréciation de la diversité des champignons du genre *Fusarium* isolés à partir du collet de plants de blé fusarié**

### Résumé

En Algérie, la culture du blé est parmi les grandes cultures ayant une importance dans la politique agricole du pays. Elle représente, en effet, environ 50 % des cultures céréalières.

Toutefois, au cours de son développement, la culture du blé est sujette à la variation des conditions climatiques et aux attaques de pathogènes, pouvant influencer négativement la production en quantité et en qualité. Cette étude a visé sur l'isolement et la caractérisation macroscopique d'isolats de *Fusarium* obtenus à partir du collet de 120 échantillons de blé ayant montré les symptômes typiques de la fusariose collectés dans différentes régions agricoles (Constantine, Oum El Bouaghi et Sétif). Les échantillons ont été isolés, purifiés puis identifiés en se basant sur les caractères morphologiques utilisés pour décrire les champignons du genre *Fusarium* (aspect des colonies). Parmi les 120 échantillons de blé fusarié analysés, un total de 22 isolats du genre *Fusarium* a été trouvé. Ces derniers ont été différents les uns des autres en tenant compte des différentes caractéristiques typiques des colonies et du revers (aspect, couleur, bordure).

En perspectives, il serait intéressant de connaître les espèces existantes, leur pouvoir pathogène, leurs fréquences selon les régions, les variétés et les étages bioclimatiques ce qui rend l'étude de lutte biologique plus orientée et plus efficace. En outre, l'identification de ces espèces ne doit pas se limiter aux caractéristiques morphologiques qui restent dans certains cas insuffisants, mais elle doit être complétée et confirmée par les analyses moléculaires.

Laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales, Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université Frères Mentouri Constantine 1.

**Mots clés** : blé, *Fusarium*, isolement, identification, caractères morphologiques.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Pr. KHELIFI Douadi (UFMC1)

Encadreur : Dr. BELLIL Ines (UFMC1)

Examineur: Dr. BECHKRI Sakina (UFMC1)