



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار - عنابة

UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THESE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLOME DE DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité: Biologie végétale

Intitulé

**Diversité génétique et structure de la population algérienne
de *Zymoseptoria tritici* / *Mycosphaerella graminicola*,
agent causal de la septoriose du blé**

Présentée par : ALLIOUI Noura

Membres de Jury:

- TAHAR Ali	(Professeur)	Président	Université d'Annaba
- BELKHODJA Moulay	(Professeur)	Examineur	Université El Sénia (Oran)
- BORDJIBA Ouahiba	(Professeur)	Examinatrice	Université d'Annaba
- BENBELKACEM A/Kader	(Docteur)	Examineur	I.N.R.A de Constantine
- BRINIS Louhichi	(Professeur)	Rapporteur	Université d'Annaba
- REIGNAULT Philippe	(Professeur)	Co-Rapporteur	Université de Calais (France)

Année universitaire 2014 / 2015

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail,

*- A la mémoire de mon cher papa **M'hamed**, qui a été mon binôme de terrain durant toutes les prospections réalisées dans le cadre de cette thèse ; mais qui, malheureusement ne pourra pas assister à la fin de ces travaux. Cher papa, tu as toujours été pour nous le bon père dont on est fiers d'être ses enfants, j'espère que cette thèse soit un simple témoignage de tes efforts et tes sacrifices pour faire de moi et de mes frères et sœurs, des personnes dignes d'être tes enfants.*

*- A ma chère maman **Aicha**, que Dieu la bénisse, et à qui je présente mes excuses pour ne pas lui avoir consacré plus de mon temps, à cause de mes déplacements répétés et mes occupations illimitées durant la préparation de cette thèse, qu'elle trouvera dans ces pages le fruit de mes longues années de stress et de ses longues années de sacrifices et de patience. Chère maman, quoique je dise et quoique je fasse, je ne pourrais jamais trouver les mots ou les gestes qui conviennent pour t'exprimer mes sentiments d'amour, de reconnaissance et de gratitude !!!....*

- A Mes frères et sœurs, et à leurs familles.

- A tous ceux qui liront cette thèse.

Noura

Remerciements

*Avant tout, je remercie **Dieu** le tout puissant pour m'avoir donné le courage et la volonté pour la réalisation de ce travail.*

Durant mes années de thèse, j'ai appris beaucoup, tant sur le plan professionnel que personnel, et nombreux sont ceux et celles qui m'ont aidé à réaliser ces travaux et que je dois remercier :

Je remercie profondément mon directeur de thèse, Professeur Louhichi BRINIS de m'avoir fait partager son expérience, ses compétences et sa passion pour la recherche pendant toutes les années de préparation de cette thèse. Vous m'avez toujours fait confiance et les nombreux échanges que l'on a pu avoir durant ce travail ont toujours porté leur fruit d'une manière ou d'une autre. Merci pour votre disponibilité et votre rigueur dans le travail que j'ai su apprécier.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent plus particulièrement à mon co-Directeur de thèse, Professeur Philippe REIGNAULT, de l'université du Littoral, Côte d'Opale (Calais, France). Son soutien moral et sa gentillesse m'ont permis de mieux avancer dans la réalisation de mes travaux de thèse ; et malgré ses occupations, il a toujours répondu présent quand j'avais besoin de son aide. Je vous en suis très reconnaissante Professeur REIGNAULT pour tout ce que vous avez fait pour mener à fin cette thèse.

Je tiens évidemment à remercier chaleureusement Docteur Ali SIAH qui m'a accompagnée quotidiennement dans la réalisation de ce travail. Je salue sa disponibilité permanente, sa générosité et ses qualités scientifiques et humaines. J'ai beaucoup appris à ses côtés, et si j'ai pu poursuivre cette thèse dans d'excellentes conditions, c'est en partie grâce à lui. Je vous en suis très reconnaissante Ali, et quoique je dise, je ne pourrais jamais trouver les mots qui conviennent pour vous remercier pour toute l'aide que vous m'avez donné pour achever les travaux de cette thèse.

Je remercie vivement Professeur TAHAR Ali, de l'université d'Annaba pour avoir accepté de présider le jury, ainsi que pour son aide dans le traitement statistique des résultats.

Mes vifs remerciements s'adressent également au Professeur Moulay BELKHOUDJA, de l'université d'Oran, et au Professeur Ouahiba BORDJIBA de l'université d'Annaba pour avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie Docteur Abdelkader BENBELKACEM, Directeur de la recherche à l'Institut National de Recherches Agronomiques (INRA, Algérie), pour son aide très précieuse dans la collecte des échantillons, pour ses conseils et ses orientations qui étaient pour moi d'une très grande importance, ainsi que pour avoir accepté de juger ce travail.

Le travail de thèse présenté dans ce mémoire a été réalisé, au sein du laboratoire de Biologie et Gestion des Agents pathogènes (BioGAP) de l'Institut Supérieur d'Agriculture de Lille (ISA Lille, France). Mes remerciements les plus sincères s'adressent plus particulièrement au Professeur Patrice HALAMA, directeur du laboratoire, pour m'avoir facilité l'accès au

laboratoire, ainsi que pour sa gentillesse et son aide très précieuse ; comme je remercie tous les membres de ce laboratoire qui ont veillé au bon déroulement des expérimentations.

Toute ma gratitude va au Docteur Rachid SAYOUD, expert en phytopathologie, Ex-Directeur de l'Institut Technique des Grandes cultures (ITGC de Guelma, Algérie), expert consultant, et représentant de la firme Syngenta, pour les précieux conseils prodigués aussi bien pour le choix du thème de cette thèse, que pour le traitement des différentes parties de ce travail. Qu'il trouve dans ces pages un témoignage de reconnaissance, et de gratitude ; et un grand merci à mon premier enseignant de phytopathologie.

Mes remerciements les plus sincères vont aussi au Docteur Ammar DJOUAK, enseignant à l'université catholique de Lille (France) et à son adorable épouse Souad pour leur accueil toujours chaleureux à Lille. Grand merci Ammar et Souad, vous étiez pour moi une véritable famille à Lille.

Je suis particulièrement reconnaissante à ma sœur et collègue Docteur Nadia OUCHTATI, enseignante à l'université de Guelma, qui a été toujours à mes côtés depuis la collecte des échantillons pour cette thèse jusqu'à la soutenance. Ses qualités humaines, ses encouragements et son aide très précieuse m'ont toujours donné le courage et la volonté pour avancer dans mes travaux de recherches. Qu'elle soit rassurée de ma grande gratitude et reconnaissance ; comme je remercie vivement ses frères Mourad et Sadoune pour l'accueil et l'aide qu'ils m'ont donné à Paris.

J'associe également à mes remerciements mon collègue Abdessalam SI MOHAMED, enseignant à l'université de Ghilizane pour son aide dans la collecte des échantillons, ainsi que mes amies Mme Saliha ATTAB, Docteur à l'université d'Annaba, Mme Smina AIT-HAMLAT maître de conférences à l'université d'Annaba et Mme Yasmina SAOUACHE, Docteur à l'université de Constantine, sans oublier mes collègues et amis, enseignants à l'université 8 Mai 1945 de Guelma, pour leurs encouragements et leur soutien moral.

Je suis particulièrement reconnaissante à Mme Souad NEFFAR, maître de conférences à l'université de Tebessa et Mme Sihem KECHIDA, Maître de conférences à l'université de Guelma pour leur aide très précieuse.

Et en fin, je ne pourrais pas finir, sans adresser mes remerciements les plus vifs et mes sentiments de reconnaissance à toute ma famille, pour leur aide, et leur soutien moral au quotidien, un soutien sans quoi je n'aurais pas pu tenir ces années ; une reconnaissance particulière, à ma chère maman, pour son amour éternel et ses sacrifices. Grand merci au défunt, mon cher papa, et à mes frères Salim et Kaddour pour leur aide dans les déplacements et la collecte des échantillons; et à mon frère Abdallah qui n'a épargné aucun effort pour rendre mon séjour à Lille et à Lyon des moments agréables.

Pour finir, Merci à toutes les personnes qui m'ont soutenu au cours de ces années de thèse, en contribuant de près ou de loin à la réalisation de ce travail dans les meilleures conditions.

Sommaire

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures intégrées au texte

Liste des tableaux intégrés au texte

Introduction	01
Chapitre 1. Données bibliographiques sur le pathosystème Blé-Septoriose	04
1.1. Les septorioses du blé	04
1.1.1. Historique	04
1.1.2. Présentation des différentes espèces des tâches septoriennes du blé.	04
1.1.2.1. La tache septorienne des glumes (des feuilles et des épis)	04
1.1.2.2. La tache septorienne des feuilles de l'avoine	07
1.1.2.3. La tache septorienne des feuilles du blé.....	08
1.2. Le pathosystème Blé-Tache septorienne des feuilles (STB).....	08
1.2.1. Importance de la maladie.....	08
1.2.2. Présentation de la maladie	10
1.2.3. Présentation de l'agent causal.....	11
1.2.3.1. Identification.....	11
1.2.3.2. Taxonomie	11
1.2.3.3. Cycle biologique	13
1.2.3.3.1. La phase asexuée	13
1.2.3.3.2. La phase sexuée	18
1.2.4. Plantes hôtes.....	20
1.2.5. Epidémiologie de la maladie.....	21
1.2.6. Facteurs favorisant le développement de la maladie.....	22
1.2.6.1. Les conditions climatiques.....	22
1.2.6.2. La structure et le stade végétatif de la plante	23
1.2.6.3. Les pratiques culturales.....	23
1.3. Impact de la septoriose sur le développement et le rendement du blé	24
1.3.1 Effets sur la physiologie de la plante	24
1.3.2. Effets sur les composantes du rendement	25
Chapitre 2. Caractéristiques génétiques et structure de la population de <i>M. graminicola</i>.....	27
2.1. Le génome de <i>M. graminicola</i>	27
2.1.1. Le génome nucléaire	27
2.1.2. Le génome mitochondrial	30

2.2. Spécialisation physiologique du pathogène.....	30
2.3. Génétique de la pathogénicité et la virulence chez <i>M. graminicola</i>.....	31
2.4. Hétérothallisme bipolaire de <i>M. graminicola</i>	32
2.4.1. Caractérisation des <i>Mating types</i>	35
2.4.1.1. Méthode génétique	35
2.4.1.2. Méthode moléculaire.....	35
2.4.2. Caractéristiques génétiques et moléculaires des idiomorphes <i>MAT</i> chez <i>M. graminicola</i>	35
2.4.3. Fonctions des idiomorphes <i>MAT</i>	37
2.4.4. Fréquences et distributions des <i>Mating-types</i>	39
2.5. Diversité génétique et structure des populations des champignons phytopathogènes.....	39
2.5.1. Définition.....	39
2.5.2. Mécanismes générateurs de la variabilité et la diversité génétique des agents pathogènes.....	40
2.5.3. Méthodes d'analyse de la diversité génétique des populations.....	42
2.5.3.1. Les marqueurs morphologiques.....	42
2.5.3.2. Les caractères de virulence.....	42
2.5.3.3. La compatibilité végétative.....	43
2.5.3.4. Les marqueurs moléculaires.....	43
2.6. La diversité au sein des populations de <i>M. graminicola</i>.....	46
Chapitre 3. Modalités de lutte utilisées contre la tache septoriène des feuilles du blé	49
3.1. La lutte culturale.....	49
3.1.1. Utilisation du mélange variétal.....	49
3.1.2. Utilisation de variétés résistantes.....	49
3.1.3. Bonne gestion de l'itinéraire technique.....	52
3.2. La lutte biologique.....	52
3.3. La lutte chimique.....	53
3.3.1. Les fongicides multi-sites.....	54
3.3.2. Les fongicides uni-sites	55
3.3.2.1. Les anti-mitotiques.....	55
3.3.2.2. Les inhibiteurs de la biosynthèse des stérols (IBS/IBE).....	56
3.3.2.3. Les inhibiteurs de l'oxydation des Quinones " <i>Quinone outside Inhibitors</i> ".....	59
3.3.2.3.1. Les strobilurines.....	60
3.3.2.3.2. Développement de la résistance des champignons aux QoIs.....	65

3.3.2.3.3. Dissémination de la résistance aux QoIs.....	68
Chapitre 4. Matériel et méthodes.....	70
4.1. Evaluation de l'incidence de la tache septoriène des feuilles du blé	70
4.2. Caractérisation phénologique des isolats de <i>M. graminicola</i>.....	71
4.2.1. Collecte des échantillons.....	71
4.2.2. Isolement et culture des souches.....	72
4.2.3. Bilan des isollements.....	74
4.2.4. Détermination des caractéristiques phénologiques des isolats.....	76
.....	
4.3. Evaluation du potentiel de la reproduction sexuée de <i>M. graminicola</i> dans les conditions de l'agrosystème algérien.....	76
4.3.1. Contexte et objectifs de l'étude	76
4.3.2. Détermination des <i>Mating-types</i>	79
4.3.2.1. Dosage de l'ADN fongique	79
4.3.2.2. Méthode de détermination des <i>Mating- types</i>	80
4.3.3. Traitement statistique des résultats.....	82
4.4. Analyse de la diversité génétique et la structure de la population.....	82
4.4.1. Contexte et objectif de l'étude.....	82
4.4.2. Analyse de la diversité génétique par la technique du polymorphisme de conformation du simple brin d'ADN (SSCP).....	85
4.4.2.1. Principe de la technique SSCP.....	85
4.4.2.2. Amplification de l'ADN des marqueurs microsatellites et des séquences analysées par PCR-SSCP.....	87
4.4.2.2.1. Les marqueurs microsatellites.....	87
4.4.2.2.2. Technique d'analyse de la diversité par PCR-SSCP.....	88
4.4.3. Analyse des résultats et évaluation de la diversité génétique et la structuration de la population	96
4.4.3.1. Paramètres estimés pour l'évaluation de la diversité génétique.....	98
4.4.3.2. Paramètres estimés pour l'étude de la structure de la population.....	99
4.5. Etude de la sensibilité et de la résistance des souches aux strobilurines.....	102
4.5.1. Contexte et objectifs de l'étude.....	102
4.5.2. Analyse moléculaire : Criblage de la substitution G143A.....	104
4.5.3. Évaluation phénotypique de la résistance aux strobilurines.....	105
4.5.3.1. Caractéristiques du fongicide utilisé.....	106
4.5.3.2. Mode opératoire.....	108
4.5.4. Caractérisation génétique des isolats résistants.....	109
4.5.5. Analyses statistiques des résultats	110

Chapitre 5 : Résultats et discussions.....	112
5.1. Incidence de la tache septorienne des feuilles du blé	112
5.2. Caractéristiques phénologiques des isolats.....	113
5.2.1. Résultats	113
5.2.1.1. La couleur des colonies.....	113
5.2.1.2. Les aspects culturels des isolats.....	116
5.2.2. Discussions	120
5.3. Evaluation du potentiel de la reproduction sexuée de <i>M. graminicola</i> dans les conditions de l'agrosystème algérien.....	122
5.3.1. Résultats	122
5.3.1.1. Présence et distribution des deux types sexuels (<i>Mating-types</i>) dans les différentes régions.....	122
5.3.1.2. Présence et distribution des deux types sexuels (<i>Mating-types</i>) sur les deux espèces de blé	125
5.3.2. Discussions.....	128
5.4. Diversité génétique et structure de la population algérienne de <i>M. graminicola</i>	135
5.4.1. Résultats.....	135
5.4.2. Discussions	148
5.5. Sensibilité et résistance des isolats aux strobilurines.....	160
5.5.1. Résultats.....	160
5.5.1.1. Tests de sensibilité et de résistance des isolats aux QoIs.....	160
5.5.1.1.1. Analyse moléculaire : Criblage de la substitution G143A.....	160
5.5.1.1.2. Confirmation phénotypique de la résistance.....	162
5.5.1.2. Fréquence et distribution de la résistance.....	167
5.5.2. Discussions.....	167
Conclusion	180
Références bibliographiques.....	185
Annexes	
- Annexe 1: Principes des méthodes moléculaires utilisées pour l'analyse du polymorphisme génomique	
- Annexe 2: Fongicides	

Résumé :

La septoriose du blé causée par *Mycosphaerella graminicola* est actuellement la maladie la plus fréquente et la plus dommageable sur les cultures de blé en Algérie et dans le monde entier. Au total, 120 isolats monospores de ce champignon (60 isolats issus de blé tendre et 60 isolats issus de blé dur) ont été obtenus en 2012 à partir de cinq localités géographiques en Algérie puis analysés pour étudier : la distribution des *Mating-types*, afin d'évaluer le potentiel de la reproduction sexuée du pathogène ; la diversité génétique de la population du pathogène ; et la sensibilité/résistance aux strobilurines. Les deux *Mating-types* ont été observés à fréquences égales selon le test de χ^2 à différentes échelles. Ils ont été identifiés à proportions égales à l'échelle du pays (46 % *MAT1-1* et 54 % *MAT1-2*) et à l'échelle de chaque localité d'échantillonnage. Les deux *Mating-types* ont également été mis en évidence en fréquences équilibrées sur les deux espèces de blé, à l'échelle du pays (47 % *MAT1-1* ; 53 % *MAT1-2* sur blé tendre et 45 % *MAT1-1* ; 55 % *MAT1-2* sur blé dur) ainsi que dans chacune des localités échantillonnées. La distribution équilibrée des deux *Mating-types* en fonction de la géographie et de l'espèce hôte suggère un potentiel élevé de la reproduction sexuée pour *M. graminicola* en Algérie et indique une absence de spécificité entre les *Mating-types* et l'espèce hôte dans le cas du pathosystème blé-*M. graminicola*.

Les résultats obtenus pour l'analyse de la diversité génétique et la structure de la population ont montré que la diversité génétique est de 78 % dans la population testée, et la diversité génique à l'échelle du pays est élevée (0.39). La différenciation est faible entre les populations des différentes régions ($G_{ST} = 0.10$), et elle est très faible entre les espèces de blé ($G_{ST} = 0.02$). La diversité génique de *Nei* était de 0.39, aussi bien pour les régions que pour les espèces de blé ; l'indice de Shannon est de 0.82 pour les régions et de 0.32 pour les espèces du blé. Le flux de gènes (*Nm*) a enregistré une valeur de 4.76 pour les régions, et 24.28 pour les espèces du blé.

Cette étude a également mis en évidence pour la première fois, la présence de la substitution G143A du cytochrome *b* conférant une résistance aux strobilurines (QoIs) pour ce pathogène dans les isolats algériens, avec une fréquence relativement faible (2,5 %).

Mots clés : reproduction sexuée, *Zymoseptoria tritici*, diversité génétique, structure de la population, substitution G143A.

Abstract:

Septoria tritici blotch caused by *Mycosphaerella graminicola* is currently the most frequently occurring and economically damaging disease on wheat crops worldwide, and it is the most important disease of wheat in Algeria. A total of 120 single-spore isolates of this fungus (60 from bread wheat and 60 from durum wheat), sampled in 2012 from five distinct geographical locations were analyzed for *Mating-type* distribution; genetic diversity, population structure and Strobilurin (QoIs) resistance. Both idiomorphs were scored at equal frequencies according to the χ^2 test at different scales. They were found to occur at equal proportions at the whole country level (46 % *MAT1-1* vs. 54 % *MAT1-2*) and at each sampled location. The two *Mating-types* were also found at equal frequencies on both host species at the country scale (47 % *MAT1-1* vs. 53 % *MAT1-2* on bread wheat and 45 % *MAT1-1* vs. 55 % *MAT1-2* on durum wheat) and also, in the sampled locations. This equal distribution of *Mating-type* at both geographic and host species levels suggests a large potential for sexual reproduction of *M. graminicola* in Algeria and indicates a lack of specificity between *Mating-types* and host species in the case of the wheat-*M. graminicola* pathosystem.

Results obtained for the genetic diversity and population structure of *Mycosphaerella graminicola* (*Zymoseptoria tritici*) in Algeria have shown that unique haplotypes comprised 78 % of the population, and gene diversity was high nationwide (0.39). Genetic differentiation is low among localities ($G_{ST} = 0.10$) and very low among wheat host species ($G_{ST} = 0.02$). Nei's gene diversity across loci has a same value (0.39) for localities and for wheat host species; the Shannon's index across loci was 0.82 for localities and 0.32 for wheat host species. Gene flow (Nm) has recorded the value of 4.76 for localities and 24.28 for wheat host species.

In this study we have also recorded for the first time, the presence of the G143A substitution responsible of QoIs fungicides resistance of this pathogen, in Algerian isolates, but in low frequency (2.5 %).

Key words: sexual reproduction, *Zymoseptoria tritici*, genetic diversity, population structure, G143A substitution.

المخلص:

يعتبر التبقع السببوري الذي يسببه فطر *Mycosphaerella graminicola* حالياً المرض الأكثر شيوعاً والأكثر ضرراً بمحاصيل القمح في الجزائر وكافة العالم . تمت الدراسة على مجموع 120 عينة للفطر، تم الحصول عليها في عام 2012 من خمس مواقع جغرافية في الجزائر. (60 عينة من القمح الصلب ، و60 عينة من القمح اللين) و تم تحليلها لدراسة تواجد و توزيع شكلي التزاوج للطور الجنسي للفطر (*Mating-types*) لأجل معرفة : مدى أهمية الطور الجنسي للفطر بالجزائر، التنوع الجيني في عشيرة الفطر ، و كذا مدى حساسية الفطر للمبيدات المستعملة لمكافحة المرض و بالأخص المبيدات التي تعرف باسم QoIs. بينت النتائج أن شكلي التزاوج للطور الجنسي للفطر (*Mating-types*) متواجدة بالجزائر وتتوزع بنسب متساوية سواء على المستوى الإجمالي لكل المناطق المدروسة (46 % *MAT1-1* مقابل 54 % *MAT1-2*)، بالنسبة لكل منطقة ، وكذا على نوعي القمح (47 % *MAT1-1* مقابل 53 % *MAT1-2* بالنسبة للقمح اللين و 45 % *MAT1-1* مقابل 55 % *MAT1-2* بالنسبة للقمح الصلب)، و هذا وفقاً لاختبار χ^2 . هذا التوزيع المتساوي لشكلي الطور الجنسي في مناطق جغرافية مختلفة، و على نوعي القمح، يدل على أهمية الطور الجنسي للفطر بالجزائر، ويشير إلى عدم وجود تخصص بين شكلي الطور الجنسي و نوع القمح عند فطر *M. graminicola*.

النتائج التي تم الحصول عليها لتحليل التنوع الجيني و هيكل العشيرة تبين أن نسبة الاختلاف في التركيب الجيني (*haplotypes*) قدرت ب 78 في المائة ونسبة التنوع الجيني في العشيرة قدرت ب 0.39 بالنسبة للوطن، و قدرت نسبة الاختلاف بين المناطق G_{ST} ب 0.10 وكانت منخفضة جداً بين أنواع القمح (0.02). وكان التنوع الجيني ل *Nei* 0.39 للمناطق وأنواع القمح؛ وسجل مؤشر شانون (*Indice de Shannon*) 0.82 بالنسبة للمناطق و 0.32 بالنسبة لأنواع القمح. تدفق الجينات (*Nm*) سجل قيمة 4.76 بالنسبة للمناطق، و 24.28 بالنسبة لأنواع القمح.

هذه الدراسة بينت للمرة الأولى، وجود طفرة G143A التي تمكن الفطر من المقاومة تجاه المبيدات من نوع (*Strobilurines*) بالجزائر و انتشارها بنسبة 2.5 %.

الكلمات المفتاح: التكاثر الجنسي، *Zymoseptoria tritici*، التنوع الجيني ، هيكل العشيرة ، طفرة G143A.

Liste des abréviations

- ABC** : ATP-Binding Cassette
- ACC** : 1-aminocyclopropane-1-carboxylate
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AFLP** : Amplified Fragment Length Polymorphism (Polymorphisme de la longueur du fragment amplifié)
- APC** : Anaphase-Promoting Complex
- ARN** : Acide ribonucléique
- ARNr**: ARN ribosomal
- ARNt** : ARN de transfert.
- CF** : Clonal Fraction : Fraction clonale
- CI₅₀** : Concentration inhibitrice de 50% de la population
- CoQ** : Coenzyme Q
- Cyt b** : Cytochrome b.
- dATP** : Désoxy-adénine tri-phosphate
- dCTP** : Desoxy-cytosine tri-phosphate
- DGD1** : Dialkylglycine decarboxylase
- dGTP** : Désoxy-guanine triphosphate
- DMSO** : Dimethyl sulfoxide
- DO** : Densité optique
- dTTP** : désoxy-thymine tri-phosphate
- EDTA** : Éthylène Diamine Tétra-Acétique, ou acide éthylène diamine tetra-acétique
- EST** : Expressed Sequence Tags.
- ESTP** : Expressed Sequence Tag Polymorphism
- FAO** : Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture).
- F**: Phénylalanine
- FRAC**: Fungicide Resistance Action Committee.
- G** : Glycine
- HR** : Réaction d'hypersensibilité
- HR°** : Humidité relative

HMG : High Mobility Group

HPPD : 4- hydroxyphenylpyruvate dioxygenase

IBS : Inhibiteurs de la Biosynthèse des Stérols

IDM : Inhibiteur de la 14 α -déméthylase

L : Leucine

MAT : Mating

Mb : Millions de base

MBC : Méthyle Benzimidazole Carbamates

MDE : Mutation Detection Enhancement

mL : Millilitre

mM : Millimolle

PAGE : PolyAcrylamide Gel Electrophoresis

pb : Paire de bases

PCR : Polymerase Chain Reaction

PDA : Potatoes Dextrose Agar

Pi : Pure pour injection (Eau pure pour injection).

rpm : Round / minute (Tours /minute)

qx/ha : Quintaux à l'hectare

OADs : Outils d'aide à la décision

Qo : Quinone outside

QoIs : Quinone outside Inhibitors

QTLs : Quantitative Traits Loci

ROS : Reactif Oxygen Species (Espèces Réactives de l'oxygène).

SDS : Sodium Dodécyl Sulfate C₁₂H₂₅SO₄⁻

SSR : Simple Sequence Repeats

SSCP : Single-Stranded Conformation Polymorphism

STB : Septoria Tritici Bloch (tache septorienne des feuilles du blé)

TBE : Tris-Borate-EDTA (EDTA: Ethylene Diamine Tetra Acetic acid): tampon de migration.

V : Valine

V8 : Vegetable juice agar

WLEA : Wheat Leaf Extract Agar

YMA : Yeast Malt Agar : Extrait de Malt et de levure

Liste des figures intégrées au texte

N°	Titre	Page
01	Symptômes de <i>Parastagonospora nodorum</i> (<i>Stagonospora nodorum</i>)	06
02	Caractéristiques des fructifications de <i>Parastagonospora nodorum</i> (CBS H-13909)	06
03	Symptômes de la tache septorienne des feuilles occasionnés par <i>S. avenae</i> f.sp. <i>avenae</i> sur feuilles d'avoine	07
04	Pycnides de <i>M. graminicola</i> sur feuilles de blé	08
05	Distribution géographique mondiale de <i>M. graminicola</i>	08
06	Tache foliaire causée par <i>S. tritici</i>	10
07	Tache foliaire causée par <i>S. nodorum</i>	10
08	<i>Zymoseptoria tritici</i> (isolat CBS 115943 ex. IPO 323)	12
09	Fructifications produites par <i>Zymoseptoria tritici</i> durant la phase asexuée	13
10	Cirrhés de <i>S. tritici</i>	16
11	Cirrhés de <i>S. nodorum</i>	16
12	Contamination via l'effet « splashing »	16
13	Chronologie de l'infection de tissus hôtes de blé par <i>M. graminicola</i> en conditions de laboratoire	17
14	Processus présumé de la reproduction sexuée de <i>M. graminicola</i>	19
15	Pseudothèce de <i>M. graminicola</i>	19
16	Ascospores de <i>M. graminicola</i>	19
17	Cycle biologique de <i>M. graminicola</i>	20
18	Gènes communs entre le chromosome 14 et les 13 chromosomes essentiels de <i>M. graminicola</i> (Isolat IPO323)	28
19	Structure générale du locus Mat chez les champignons loculoascomycètes hétérothalliques et chez certaines espèces loculoascomycètes homothalliques	33
20	Reproduction sexuée typique d'un champignon ascomycète à hétérothallisme bipolaire (exemple : <i>Neurospora crassa</i>)	34
21	Structure et organisation des loci <i>MAT1-1</i> et <i>MAT1-2</i> de <i>M. graminicola</i> .	36
22	Modes d'action des principaux fongicides utilisés pour le contrôle de <i>M. graminicola</i>	55
23	Inhibiteurs de la biosynthèse de l'Ergostérol	57
24	Représentation schématique de l'évolution progressive (quantitative) de la résistance aux fongicides inhibiteurs de la 14 α -déméthylation (IDMs) des stérols	59
25	Représentation schématique de la chaîne respiratoire mitochondriale, montrant les transferts d'électrons entre les complexes enzymatiques	64
26	Représentation schématique du développement des résistances aux strobilurines chez <i>M. graminicola</i> par la mutation G143A	66
27	Représentation schématique de l'évolution disruptive (qualitative) de la résistance aux fongicides QoIs	68
28	Carte du Nord de l'Algérie montrant les différentes régions d'échantillonnage	72

29	Feuilles de blé montrant les symptômes de la tache septorienne des feuilles mises en chambre humide pour l'émission des cirrhes	73
30	Cirrhes de <i>M. graminicola</i> sur feuille de blé, émises après une nuit dans la chambre humide, observées à la loupe binoculaire (x 5)	73
31	Principe de la technique SSCP	86
32	Schéma d'un marqueur microsatellite	87
33	Préparation des plaques d'analyse SSCP	92
34	Ecoulement du gel entre les plaques	92
35	Dépôt des échantillons sur le gel SSCP	94
36	Migration des échantillons par électrophorèse	94
37	Coloration des gels au nitrate d'argent	96
38	Structure chimique d'une molécule d'azoxystrobine	107
39	Plaques de microtitration utilisées pour le test d'évaluation phénotypique de la résistance à l'azoxystrobine	108
40	Champ de blé tendre infecté par la tache septorienne dans la région de Guelma (en 2012)	112
41	Couverture pycnidiennne de <i>Z. tritici</i> sur une feuille étandard de blé tendre dans la région de Guelma (en 2012)	113
42	Micro-colonies de <i>M. graminicola</i> après 6 jours de culture sur milieu PDA, observées à la loupe binoculaire (x 5)	114
43	Couleurs des colonies observées chez les souches étudiées de <i>M. graminicola</i>	115
44	Souche T05276 de <i>M. graminicola</i> cultivée sur milieu PDA (isolée sur du blé tendre, de la région de Skikda), observée à la loupe binoculaire	117
45	Souche T05278 de <i>M. graminicola</i> cultivée sur milieu PDA (isolée sur du blé tendre, de la région de Skikda), observée à la loupe binoculaire	117
46	Souche T05316 de <i>M. graminicola</i> cultivée sur milieu PDA (isolée sur du blé tendre, de la région d'Oran), observée à la loupe binoculaire	118
47	Souche T05298 de <i>M. graminicola</i> cultivée sur milieu PDA (isolée sur du blé dur, de la région d'Annaba), observée à la loupe binoculaire	118
48	Souche T05233 de <i>M. graminicola</i> cultivée sur milieu PDA (isolée sur du blé dur, de la région de Constantine), observée à la loupe binoculaire	119
49	Souche T05205 de <i>M. graminicola</i> cultivée sur milieu PDA (isolée sur du blé dur, de la région de Guelma), observée à la loupe binoculaire	119
50	Résultats de détermination des <i>Mating-types</i> par <i>Multiplex-PCR</i> des isolats de <i>M. graminicola</i> collectés de la région de Guelma sur blé tendre et sur blé dur	123
51	Carte du nord de l'Algérie montrant la distribution des types sexuels de <i>M. graminicola</i> (<i>MAT1-1/ MAT1-2</i>) dans les différentes régions de l'étude	124
52	Carte du nord de l'Algérie montrant la distribution des types sexuels de <i>M. graminicola</i> (<i>MAT1-1/ MAT1-2</i>) sur le blé dur dans les différentes régions de l'étude	127
53	Carte du nord de l'Algérie montrant la distribution des types sexuels de <i>M. graminicola</i> (<i>MAT1-1/ MAT1-2</i>) sur le blé tendre dans les différentes régions de l'étude	127

54	Dendrogramme montrant la distance génétique de Nei (1978), entre les populations de <i>M. graminicola</i> , des différentes régions de l'étude	138
55	Sources de diversité génétique et génique dans les populations d'agents pathogènes	151
56	Fréquences des races de l' <i>Erysiphe graminis</i> f. sp. <i>hordei</i> dans un champ d'orge expérimental en Allemagne sur le cultivar Golden Promise	159
57	Détermination de l'allèle G143 ou A143 dans six isolats de <i>M. graminicola</i>	161
58	Courbes de croissance des six isolats algériens de <i>M. graminicola</i> , ainsi que les deux isolats européens de référence (IPO323: sensible ; T01193 résistant), en fonction des différentes concentrations de l'azoxystrobine	163
59	Carte du nord de l'Algérie montrant les fréquences de l'allèle A143 dans les populations de <i>M. graminicola</i> dans les différentes régions échantillonnées	168

Liste des tableaux intégrés au texte

N°	Titre	Page
01	Historique de la systématique des champignons impliqués dans les différentes formes de septorioses du blé	05
02	Importance des pertes causées par la tache septorienne des feuilles du blé <i>Zymoseptoria tritici</i>	09
03	Taxonomie des deux formes de l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé	13
04	Caractéristiques morphologiques du stade sexué de <i>M. graminicola</i>	18
05	Nombre et dimensions des chromosomes de <i>Mycosphaerella graminicola</i> (Isolat IPO323)	27
06	Gènes majeurs et QTLs (Quantitative Traits Loci) conférant la résistance à la septoriose chez le blé	51
07	Nombre d'isolats de <i>M. graminicola</i> , collectés des différentes zones de l'étude	74
08	Origine des isolats de <i>M. graminicola</i> retenus pour l'étude	75
09	Tableau récapitulatif des amorces utilisées pour les 08 marqueurs microsatellites analysés	88
10	Composition du mélange utilisé pour l'amplification de l'ADN	90
11	Composition du gel MDE	91
12	Quelques logiciels utilisés pour l'évaluation de la diversité génétique et la structuration des populations	97
13	Propriétés physico-chimiques de l'azoxystrobine	106
14	Distribution des <i>Mating-types</i> de <i>M. graminicola</i> à l'échelle du pays et dans les différentes régions de l'étude	123
15	Résultats du test de χ^2 pour la distribution des types sexuels de <i>M. graminicola</i> , à l'échelle du pays et dans les différentes régions	124
16	Distribution des <i>Mating-types</i> de <i>M. graminicola</i> sur les deux espèces du blé, à l'échelle du pays et des régions	126
17	Résultats du test de χ^2 pour la distribution des types sexuels de <i>M. graminicola</i> , à l'échelle de l'espèce de blé hôte, dans tout le pays et dans les différentes régions	126
18	Diversité génétique de <i>M. graminicola</i> dans le pays et dans les différentes régions de l'étude	136
19	Diversité génétique de <i>M. graminicola</i> dans le pays et dans les différentes régions pour l'espèce de blé hôte (blé dur / blé tendre)	136
20	Moyennes de la diversité génique de <i>M. graminicola</i> , au sein des différentes régions pour tous les microsatellites	137
21	Diversité génique de <i>M. graminicola</i> , pour l'ensemble du pays	138
22	La distance génétique de Nei (1978), entre les populations des différentes régions	139
23	Diversité génique globale de <i>M. graminicola</i> , en fonction de l'espèce de blé hôte	140

24	Diversité génique de <i>M. graminicola</i> en fonction de l'espèce de blé hôte, (pour le blé tendre)	141
25	Diversité génique de de <i>M. graminicola</i> en fonction de l'espèce de blé hôte, (pour le blé dur)	142
26	Moyennes de la diversité génique de <i>M. graminicola</i> , au sein de l'espèce de blé hôte pour tous les loci microsatellites	142
27	Fréquence des gènes pour les différents loci, pour l'ensemble du pays	143
28	Fréquence des gènes pour les différents loci dans la région de Guelma	144
29	Fréquence des gènes pour les différents loci dans la région de Constantine	144
30	Fréquence des gènes pour les différents loci dans la région de Skikda	145
31	Fréquence des gènes pour les différents loci dans la région d'Annaba	145
32	Fréquence des gènes pour les différents loci dans la région d'Oran	146
33	Fréquence des gènes pour les différents loci, pour le blé tendre	147
34	Fréquence des gènes pour les différents loci, pour le blé dur	147
35	Empreintes génétiques des trois isolats de <i>M. graminicola</i> résistants au fongicide QoIs (Azoxystrobine), analysés par huit marqueurs microsatellites, ainsi que leurs <i>Mating-types</i>	162
36	Concentrations d'inhibition (IC₅₀) obtenues par le test de confirmation phénotypique de la résistance à l'azoxystrobine des six isolats algériens de <i>M. graminicola</i> et des deux isolats européens de référence	164
37	Résultats de l'analyse de la variance pour la croissance des différents isolats testés (Souches) de <i>M. graminicola</i> , en présence des différentes concentrations de l'azoxystrobine	165
38	Résultats du test de Tukey, affichant les groupes de moyennes des souches homogènes sur la base de la croissance en présence de l'azoxystrobine	165
39	Résultats du test de Dunnett montrant la différence de croissance des différentes souches dans les différentes concentrations en comparaison avec le témoin sans fongicide	166
40	Facteurs biologiques, génétiques et opérationnels dans le développement de la résistance	174
A	Les principaux marqueurs moléculaires	Annexe 1
B	Propriétés de redistribution des strobilurines dans la plante	Annexe 2

Introduction :

Introduction

En Algérie, le blé est l'aliment de base de la population et compte plus de 75 % des calories consommées. En 2013, la production nationale en céréales a été estimée à environ 3.2 millions de tonnes ; toutefois, la production en blés est très faible et ne satisfait pas les besoins de la population, de ce fait le pays s'appuie toujours sur les importations, avec une moyenne annuelle d'environ 6 millions de tonnes, ce qui représente environ 70 % des besoins de la population [1]. Les importations du blé (dur et tendre) augmentent progressivement d'une année à l'autre, et ont atteint 625.82 millions de dollars (2.06 millions de tonnes), pendant le premier trimestre de l'année 2015, contre 548.59 millions de dollars sur la même période de l'année 2014 (1.72 millions de tonnes), avec une augmentation de 19.52 % [2].

Plusieurs facteurs sont impliqués dans la limitation des rendements céréaliers en Algérie, notamment, les aléas climatiques (Rastoin et Benabderrazik, 2014), et les maladies, qui occasionnent chaque année des pertes considérables (Agrios, 2005). Les maladies foliaires, et plus particulièrement, les septorioses sont actuellement les maladies les plus fréquentes du blé en Algérie, et dans le monde entier. Des prospections réalisées en 2011 par Benbelkacem *et al.*, dans les régions côtières et sub-littorales, qui représentent les zones de culture céréalière les plus importantes en Algérie, ont montré que les deux types de septoriose sont présents mais la tache septorienne des feuilles causée par le champignon ascomycète *Mycosphaerella graminicola* (Fückel) J. Schröt. in Cohn (anamorphe : *Zymoseptoria tritici* Desm.) est la plus répandue (Benbelkacem *et al.*, 2011). L'extension de cette maladie, au cours de ces dernières années, peut être attribuée selon plusieurs auteurs au remplacement des variétés de blé hautes et à maturité tardive par des variétés courtes et à maturité précoce, cultivées sous des conditions de fertilisation azotée très élevée, ainsi qu'aux changements météorologiques (Bearchell *et al.*, 2005). Cette maladie s'attaque aussi bien au blé tendre (*Triticum aestivum* L.) qu'au blé dur (*Triticum durum* Desf.), et des épidémies graves peuvent réduire les rendements de 35 à 50 % (Ponomarenko *et al.*, 2011).

La tache septorienne des feuilles, causée par *Mycosphaerella graminicola* se caractérise par l'apparition de chloroses qui se transforment ensuite en nécroses contenant des pycnidiospores (forme asexuée). Les pycnidiospores sont adaptées à la dissémination à courte distance, principalement par les éclaboussures de pluie, et sont ainsi transportées d'une feuille vers une autre, de la même plante ou d'une plante voisine, et la maladie progresse par infections successives. Les

ascospores (spores sexuées) sont responsables de la dissémination de la maladie sur de longues distances, et jouent un rôle primordial dans l'initiation de l'infection, la propagation de la maladie et le développement des épidémies. Le stade sexué de ce pathogène a été décrit pour la première fois par Sanderson, en 1972 en Nouvelle Zélande (Sanderson, 1972), puis dans différentes régions à travers le monde : l'Australie en 1978, le Chili en 1986, l'Angleterre en 1988, le Brésil, les USA et la Hollande en 1989, la France en 1996, la Tunisie en 2015 (Halama, 1996 ; Ben Hassine et Hamada, 2014).

Les méthodes les plus couramment utilisées pour lutter contre les maladies cryptogamiques consistent à sélectionner des plantes résistantes ou à appliquer des produits fongicides. Cependant, les exemples de résistances génétiques contournées par les parasites ou d'apparition de souches résistantes aux fongicides sont innombrables. D'autre part, dans un contexte de protection de l'environnement, et de conservation des ressources naturelles, l'utilisation de pesticides devient de moins en moins socialement et écologiquement acceptable (Travadon, 2008 ; Andanson, 2010).

Plusieurs auteurs signalent que la faculté d'adaptation des microorganismes aux contraintes imposées par l'homme (résistance aux fongicides) et par le milieu, traduit leur importante flexibilité génétique ; et la rapidité de réaction des champignons aux pressions de sélection est le reflet d'un important polymorphisme des populations. De ce fait, la structure et la dynamique des populations peuvent avoir une grande influence sur le développement des maladies.

Face à ces contraintes, une lutte raisonnée doit être envisagée ; et dans une perspective de développement d'une agriculture durable et respectueuse des équilibres naturels, Gilligan (2008), suggère que de nouvelles stratégies doivent être élaborées de façon à limiter, autant que possible, la pression de sélection sur les parasites, et développer de nouvelles formes de résistance génétique chez les plantes. Le même auteur ajoute que, pour que celles-ci soient efficaces, il est indispensable de déterminer dans quelle mesure les populations parasites répondent aux contraintes agronomiques et quels sont les mécanismes qui sont générateurs de polymorphisme, et la connaissance de la structure des populations de parasites s'impose aussi bien pour la recherche de nouveaux facteurs de résistance que pour la mise en place de stratégies d'utilisation de ces résistances.

En Algérie, le contrôle de *M. graminicola* repose plus particulièrement sur l'utilisation des fongicides, dont les triazoles et les strobilurines. A ce jour, aucune donnée n'est réellement disponible sur l'existence de la forme sexué de ce pathogène, malgré la prévalence de cette

maladie. Les informations sur la biologie de ce pathogène, son développement dans les conditions des systèmes agricoles algériens et la structure de la population algérienne de ce parasite sont inexistantes. Il serait donc judicieux de comprendre l'évolution de la population et l'adaptation de ce pathogène aux conditions de l'agrosystème algérien, afin de développer des stratégies de protection efficaces, assurant le contrôle de l'émergence et de la propagation des gènes de résistance aux fongicides, et minimisant les aptitudes de détournement des résistances de l'hôte chez ce pathogène.

Cette étude vise pour objectif principal, la connaissance des caractéristiques génétiques et biologiques de la population algérienne de *Mycosphaerella graminicola*, agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé (STB). Elle s'articule sur quatre parties principales :

- **Partie I** : Détermination de l'incidence de la tache septorienne des feuilles du blé dans l'agrosystème algérien.

- **Partie II** : Vérification de la prépondérance de la reproduction sexuée de *M. graminicola* dans les conditions algériennes.

- **Partie III** : Détermination de l'état de la diversité génétique et la structure des populations algériennes de ce pathogène.

- **Partie IV** : Vérification de l'existence de mutations générant la résistance aux fongicides, notamment les QoIs (Strobilurines) dans la population algérienne de ce pathogène.

Cette thèse comporte : Une introduction, qui expose la problématique et indique les objectifs de la recherche, suivie du chapitre 1, faisant état des connaissances sur la maladie et l'agent causal, du chapitre 2, qui expose les caractéristiques génétiques de *M. graminicola* ainsi que la structure de la population, et le chapitre 3, qui décrit les modalités de lutte utilisées contre ce pathogène ainsi que les mécanismes d'apparition des résistances aux fongicides. Le chapitre 4, englobe le matériel et les méthodes adoptés pour traiter les différentes parties, et le chapitre 5, exposant les principaux résultats obtenus et leurs discussions, pour finir par une conclusion générale et des perspectives.

Chapitre I :

Données bibliographiques sur le pathosystème Blé-Septoriose

Chapitre 1 : Données bibliographiques sur le pathosystème Blé-Septoriose

1.1. Les septorioses du blé

1.1.1. Historique

Etymologiquement le terme « **Septoriose** » se compose de : « **Septo-** », du latin *septum* (cloison), en référence aux cloisons (les septations) séparant les cellules adjacentes des spores, et le suffixe « **-ose** » pour désigner une maladie (Gigot, 2013). Le terme « **Septoriose** » est communément utilisé pour désigner plus de 1000 espèces de champignons, dont la plupart sont des parasites des plantes cultivées et ornementales (Eyal *et al.*, 1987 ; Azimi-Motem et Osipyan, 2009), avec environ 100 espèces parasites des céréales et autres graminées (Eyal *et al.*, 1987).

Les champignons agents de septorioses se caractérisent par deux formes : la forme asexuée (imparfaite/anamorphe) et la forme sexuée (parfaite/téléomorphe). La position systématique des formes parfaites et imparfaites des agents impliqués dans les différents types de septorioses a connu plusieurs changements (Sivanesan, 1990 ; Boerema *et al.*, 1992 ; Cunfer et Ueng, 1999). Une étude récente, réalisée par Quaedvlieg *et al.* (2013), portant sur les caractéristiques moléculaires des espèces du genre *Septoria*, a fait ressortir 14 nouveaux genres et 36 nouvelles espèces. Le tableau 01 récapitule l'historique de la systématique des différentes espèces pathogènes du blé.

1.1.2. Présentation des différentes espèces des taches septoriennes du blé.

1.1.2.1. La tache septorienne des glumes (des feuilles et des épis) :

L'agent responsable de cette forme de tache septorienne, formellement appelé : *Septoria nodorum*/*Stagonospora nodorum* (Berk.) Castell. & Germ. téléomorphe, *Leptosphaeria nodorum* E.Müller/*Phaeosphaeria nodorum* (Müller) Hedj. a été décrit en 1845, sur les glumes du blé, par Berkeley, qui lui a donné le nom de *Depazea nodorum*, forme asexuée du pathogène (Blixt, 2009), et a connu actuellement une nouvelle nomination : ***Parastagonospora nodorum* (Berk.) Quaedvlieg, Verkley & Crous, comb.nov.** (Quaedvlieg *et al.*, 2013 ; Crous *et al.*, 2015).

La forme sexuée de ce pathogène est ***Phaeosphaeria nodorum* (Müller) Hedj.** (De Gruyter *et al.*, 2013). Originaire du Croissant fertile, cet agent pathogène est largement répandu à travers le monde (McDonald *et al.*, 2012), il parasite le blé, le triticales, le seigle, l'orge, l'avoine, ainsi que diverses graminées adventices (Caron, 1993 ; Gaurilcikiéné, 2001). Il provoque des

Tableau 01 : Historique de la systématique des champignons impliqués dans les différentes formes de septorioses du blé (Sivanesan, 1990 ; Boerema *et al.*, 1992 ; Quaedvlieg *et al.*, 2011 ; 2013)

Nom commun	Forme asexuée (Anamorphe)	Forme sexuée (Téléomorphe)
Tache septorienne des glumes / Septoriose des feuilles et des épis	- <i>Depazea nodorum</i> Berkeley (1845) - <i>Septoria nodorum</i> (Berk.) Berkeley apud Berkeley & Broome (1850)* - <i>Septoria glumarum</i> Passerini (1879) - <i>Stagonospora hennebergii</i> (Kuhn) Petrak & Sydow (1925) - <i>Hendersonia nodorum</i> (Berk.) Petrak (1947) - <i>Stagonospora nodorum</i> (Berk.) Castellani & Germano (1976)*. - <i>Parastagonospora nodorum</i> (Berk.) Quaedvlieg, Verkley & Crous, comb.nov. (2013)**	- <i>Leptosphaeria nodorum</i> E.Müller (1952)* - <i>Phaeosphaeria nodorum</i>** (E.Müller) Hedjaroude (1969)
Tache septorienne des feuilles de l'avoine	- <i>Pleospora tritici</i> Garov (1895). - <i>Septoria avenae</i> f. sp. <i>triticea</i> T. Johnson (1947) - <i>Stagonospora avenae</i> f.sp. <i>triticea</i> T. Johnson, Bissett (1982)* - <i>Parastagonospora avenae</i> (A.B. Frank) Quaedvlieg, Verkley & Crous, comb. nov. (2013)**	- <i>Leptosphaeria avenaria</i> f.sp. <i>triticea</i> T. Johnson (1947)* - <i>Phaeosphaeria avenaria</i> f. sp. <i>triticea</i> (T. Johnson) Shoemaker & Babcock (1989) **
Tache septorienne des feuilles / Septoriose des feuilles et des gaines	- <i>Septoria tritici</i> Roberge ex Desmazières (1842)* - <i>Zymoseptoria tritici</i> (Desm.) Quaedvlieg & Crous, comb (2011) **	- <i>Sphaeria graminicola</i> Fuckel (1865) - <i>Sphaerella graminicola</i> (Fuckel) (1870). - <i>Mycosphaerella graminicola</i> (Fuckel) Schröter (1894)* - <i>Mycosphaerella graminicola</i> (Fuckel) Sanderson (1972) **

* : Anciennes nominations

** : Nouvelles nominations

lésions de forme arrondie, nécrotiques, avec des pycnides au centre, entourées d'une bordure de couleur jaune verdâtre (Fig. 01) ; les lésions sont réparties au niveau des nœuds, chaumes, feuilles, glumes (Nyvall, 1989 ; Eyal, 1999), et même sur les grains [2].

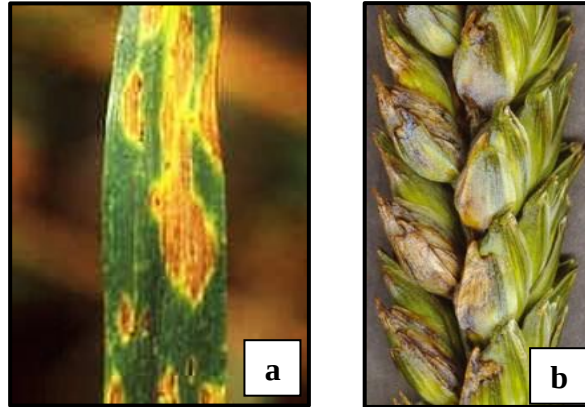


Figure 01 : Symptômes de *Parastagonospora nodorum* (*Stagonospora nodorum*) (a) sur feuille de blé, (b) sur épi de blé [2].

Les conidies de *S. nodorum* sont plus courtes, plus épaisses et plus droites que celles de toutes les autres espèces de *Septoria* (Fig. 02 E et G), et à maturité sont munies d'une à trois cloisons transversales bien distinctes et mesurent $15-24 \mu\text{m} \times 2.5-4 \mu\text{m}$ (Zillinsky, 1983). La comparaison entre des isolats différents montre que cet agent pathogène présente une grande variabilité dans les caractéristiques culturelles, la pathogénicité, le caryotype, et la compatibilité végétative (Caten et Newton, 2000). La figure 02 indique les caractéristiques des fructifications de *Parastagonospora nodorum*, agent causal de la tache septorienne des glumes du blé, selon Quaedvlieg *et al.* (2013).



Figure 02 : Caractéristiques des fructifications de *Parastagonospora nodorum* (CBS H-13909). (A) et (C) : « Ascomata and conidiomata » formés en culture. (B), (D) et (F) : Asque avec les ascospores. (E) et (G) : Conidies. Echelle = $10 \mu\text{m}$ (Quaedvlieg *et al.*, 2013).

1.1.2.2. La tache septorienne des feuilles de l'avoine

L'espèce responsable de ce type de septoriose chez le blé, *Septoria avenae* / *Stagonospora avenae* (Frank) f.sp. *triticea* (Johnson), téléomorphe *Leptosphaeria avenaria* Weber f.sp. *triticea* Johnson / *Phaeosphaeria avenae* (Weber) f.sp. *triticea* (Johnson), a également fait l'objet de plusieurs études de taxonomie ; la forme asexuée est actuellement nommée : ***Parastagonospora avenae*** (A.B. Frank) Quaedvlieg, Verkley & Crous, alors que la forme sexuée est ***Phaeosphaeria avenaria*** (G.F. Weber) O.E. Erikss (Quaedvlieg *et al.*, 2013). Ce pathogène parasite les céréales notamment, le blé, le triticale, l'orge, le seigle et l'avoine et peut causer des pertes supérieures à 40 % (Ueng *et al.*, 1998). Des formes spécialisées sont attachées aux différents hôtes, et le pathogène produit sur tous les hôtes des pycnides et des périthèces de forme semblable (Zillinsky, 1983). Les symptômes foliaires sont des petites taches brun chocolat, qui deviennent lenticulaires à mesure qu'elles s'agrandissent et se réunissent (Fig. 03). Les taches virent rapidement au gris brun pâle et sont alors difficiles à distinguer de celles provoquées par les autres agents de septorioses. Les pycnides libèrent des masses rosâtres de spores à profusion (plus que ne le fait *S. tritici*). Les conidies sont hyalines, droites ou un peu courbées, cylindriques, aux bouts arrondis, possédant trois à quatre cloisons, et leur taille est intermédiaire à celles des conidies de *S. tritici* et celles de *S. nodorum* ; les asques contiennent 8 ascospores fusiformes (Cunfer, 1997 ; Cunfer et Ueng, 1999 ; Delhey, 2007).

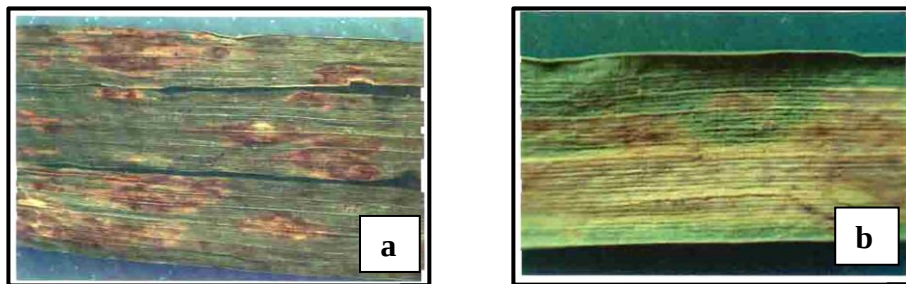


Figure 03 : Symptômes de la tache septorienne des feuilles occasionnés par *S. avenae* f.sp. *avenae* sur feuilles d'avoine (a) : Symptômes initiaux, (b) : Symptômes évolués. (Zillinsky, 1983)

1.1.2.3. La tache septorienne des feuilles du blé

L'espèce responsable de la tache septorienne des feuilles chez le blé (*Septoria tritici*) est actuellement connu par son anamorphe ***Zymoseptoria tritici*** (Desm.) Quaedvlieg & Crous, **Comb**, téléomorphe ***Mycosphaerella graminicola*** (Fuckel) Schröeter (Tab. 01). Cette maladie se caractérise par la présence de points noirs très visibles (pycnides) qui apparaissent au niveau

des nécroses (Fig. 04a). Les pycnides, globuleuses, présentent un diamètre de $160\ \mu\text{m}$, et sont surmontées par un col ostiolaire, plus différencié que celui de *S. nodorum* (Halama *et al.*, 1992). Elles prennent naissance dans la profondeur des tissus, et à maturité, elles percent l'épiderme et déchargent des masses (cirrhes) blanches à brun-clair (Fig. 04b), chargées de conidies (Zillinsky, 1983).

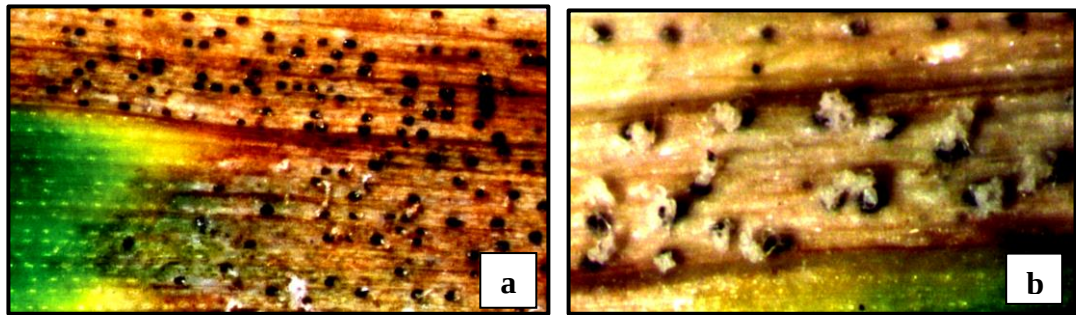


Figure 04 : Pycnides de *M. graminicola* sur feuilles de blé. **(a)** : Disposition des pycnides sur les taches nécrotiques et chlorotiques (x 5). Echelle : 1 mm. **(b)** : Emission du cirrhe par les pycnides matures (x 10). Echelle : $200\ \mu\text{m}$ (Siah, 2009)

1.2. Le pathosystème Blé-Tache septorienne des feuilles (STB)

1.2.1. Importance de la maladie

Les septorioses du blé, causées par *M. graminicola* et *P. nodorum* sont particulièrement fréquentes chez le blé et autres espèces du genre *Triticum* et se trouvent dans tous les continents, et dans toutes les zones de culture du blé à travers le monde (Fig. 05).

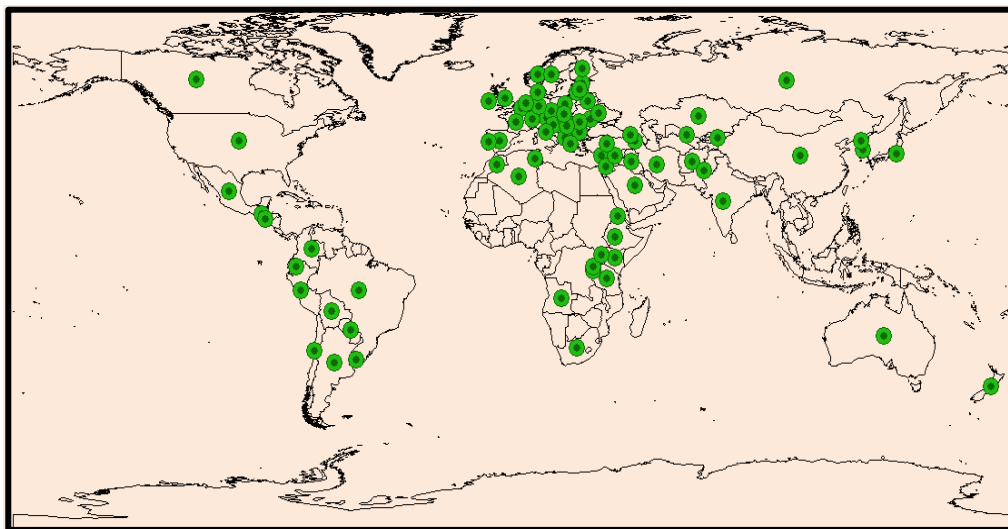


Figure 05 : Distribution géographique mondiale de *M. graminicola* [3]

Elles peuvent occasionner des pertes considérables du rendement (Tab. 02), pouvant atteindre plus de 50 % (Eyal, 1981 ; Van Beuningen et Kohli, 1990 ; Carmi *et al.*, 1994 ; Singh *et al.*, 2006), notamment, durant les années pluvieuses, et en particulier lorsque les pluies de printemps persistent après l'émergence de la feuille drapeau (Danon *et al.*, 1982).

Tableau 02 : Importance des pertes causées par la tache septorienne des feuilles du blé
Zymoseptoria tritici

Pays	Pertes	Références
USA	- En 1982, 09 Millions de tonnes (évaluées à 01 billion de dollars). - 275 Millions de dollars/an	Gilchrist (1994) Ponomarenko <i>et al.</i> (2011)
Amérique du sud - Brésil - Uruguay - Chili	- 50 % - 16 à 60 % - 02 à 10 % (1980), en conditions favorables	Jones (1985) Tavella (1978) Madariaga et Scharen (1985)
Europe - France - Royaume Uni	- 400 millions de dollars (70 % du volume des fongicides sont utilisé contre cette maladie) - 10 à 25 % en 1982 - 17 à 50 qx/ha (2000- 2012) - 60 %	Ponomarenko <i>et al.</i> (2011) Rouzet et Eyries (1982) Arvalis (2013) Cook (1999)
Bassin méditerranéen - Tunisie - Maroc - Algérie	- Pertes considérables, - 30 à 50 % - Pertes considérables - 30 qx/ha chez la variété Siete Cerros voire même la destruction totale de certaines emblavures. - 28 à 80 % selon les années - 85.4 % en 2013 - Maladie majeure du blé, pouvant réduire le rendement de plus de 60 %.	Steward <i>et al.</i> (1972) ; Brown <i>et al.</i> (1978). Carmi <i>et al.</i> (1985) Harrabi <i>et al.</i> (1993). Saari et Wilcoxson (1974) ; Saadaoui (1987) Jlibene <i>et al.</i> (1992) Zahri <i>et al.</i> (2013) Ayad <i>et al.</i> (2014).
Ukraine	- Pertes considérables	Kolomiets (1999).

1.2.2. Présentation de la maladie

- Symptomatologie

Caron (1993) signale que les taches de septorioses ont un caractère ovale et brunâtre qui est commun à beaucoup de maladies du feuillage, ceci rend la confusion possible. Cependant certaines caractéristiques sont spécifiques aux septorioses et permettent une reconnaissance plus assurée des espèces :

- Une différence évidente caractérise la tache septorienne des feuilles du blé causée par *Zymoseptoria tritici* (ex. *S. tritici*), est la présence de pycnides, qui apparaissent très rapidement dès le début de la formation de la nécrose, ceci la distingue de *S. nodorum* dont les pycnides n'apparaissent que plusieurs jours après l'apparition de la nécrose. Ces pycnides sont plus noires et plus grosses que celles de *S. nodorum* (Figs. 06 et 07).

- Très souvent, les taches de *Z. tritici* (ex. *S. tritici*) débutent par un palissement du limbe qui garde une couleur verdâtre imprégnée de brun. La franche coloration brune n'apparaît que plus tard après l'apparition des pycnides.

- L'aspect des taches de *Z. tritici* (ex. *S. tritici*) est assez diversifié. Elles restent localisées au niveau des bords du limbe où elles prennent des formes irrégulières, et dans les espaces internervaires où elles forment des motifs géométriques formés de triangles allongés.

- Après une pluie, de la rosée ou des brouillards, les pycnides noires exsudent une gelée incolore transparente sous forme de tortillons : les cirrhes, qui sont très importants pour l'identification, leur transparence s'oppose à la franche couleur rose de ceux de *S. nodorum*. Les cirrhes contiennent les spores qui assurent la progression de la maladie (Caron, 1993).

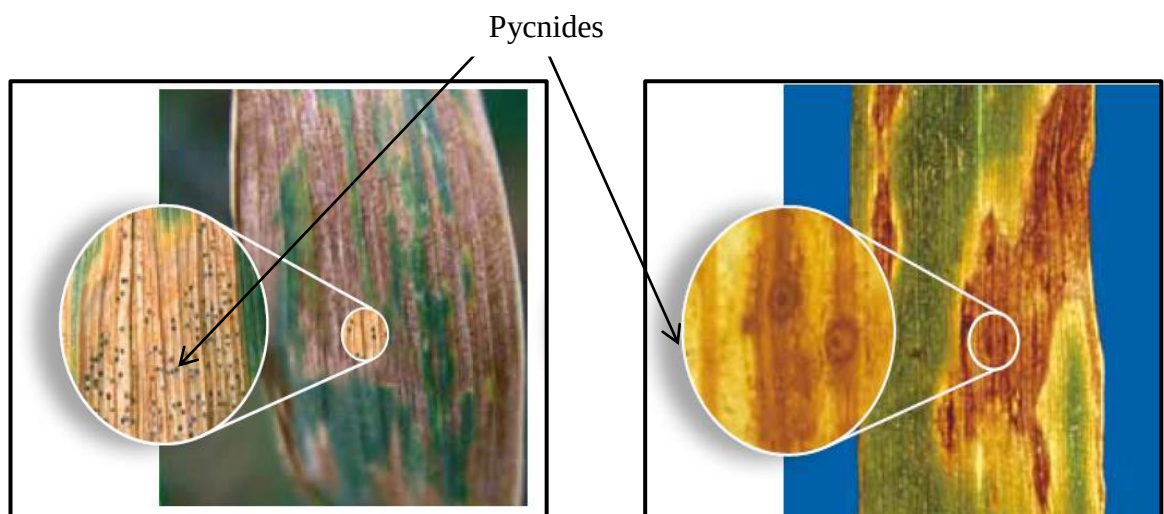


Figure 06 : Tache foliaire causée par *S. tritici* [4]

Figure 07 : Tache foliaire causée par *S. nodorum* [4]

Les symptômes de la tache septorienne des feuilles du blé varient selon les cultivars, les pratiques culturales, la localisation géographique et la forme du champignon. En effet, Eyal *et al.* (1987) ont signalé que c'est la forme asexuée qui est responsable des symptômes auxquelles sont associées les pertes de rendement les plus importants. Les réactions incompatibles se caractérisent par une colonisation limitée du mésophylle par le champignon, ou encore l'incapacité de produire des pycnides mûres sur les feuilles (Farsad *et al.*, 2013). La réponse par réaction d'hypersensibilité (HR) qui caractérise beaucoup d'interactions hôte-pathogène n'est pas évidente chez ce pathogène (Kema et Verstappen, 1999 ; Ray *et al.*, 2003).

1.2.3. Présentation de l'agent causal

1.2.3.1. Identification

Zymoseptoria tritici (Desm.) Quaedvlieg & Crous, *comb.* (*Septoria tritici* Rob. ex Desm.), téléomorphe *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schröeter est l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé connue par la terminologie abrégée : **STB** (de l'anglais : **S**eptoria **T**ritici **B**loch). Keon *et al.* (2005) et Diani (2009) rapportent que, « *Septoria tritici* » a été décrit pour la première fois par Roberge et rapporté par Desmazières en 1842. En 1843, Desmazières a signalé que « *Septoria tritici* » est le synonyme de *Septoria graminis* Desmaz. Ensuite, en 1847 « *Septoria tritici* » a été énumérée comme une variété de *S. graminis*. Plus tard, Beach en 1919 et Weber en 1922, ont défini « *Septoria tritici* » comme une espèce distincte de *S. graminis*, en se basant sur les caractéristiques des conidies, et ils ont signalé que « *Septoria tritici* » est caractérisée par des conidies filiformes de 40 à 75 μm de longueur avec 3 à 7 cloisons, alors que *S. graminis* se caractérise par des conidies de 24 à 45 μm avec 0 à 2 cloisons.

1.2.3.2. Taxonomie

La nature para- et polyphylétique du genre *Mycosphaerella*, à laquelle est attachée la forme parfaite de l'agent causal de la tache septorienne des feuilles, a fait l'objet de plusieurs études (Goodwin *et al.*, 2001 ; Verkley *et al.*, 2004 ; Crous *et al.*, 2006 ; 2007 ; Crous, 2009). En 2011, l'étude réalisée par Quaedvlieg *et al.*, a permis d'identifier un nouveau genre, recommandé pour désigner certaines espèces de septorioses qui s'attaquent aux graminées, c'est le genre : ***Zymoseptoria***, attribué aux formes imparfaites, du champignon responsable de la tache septorienne des feuilles chez le blé (*Septoria tritici*), renommé actuellement *Zymoseptoria tritici*, et de l'agent responsable de la tache septorienne de l'orge (*Septoria passerinii*), renommé *Zymoseptoria passerinii*, en plus de *Zymoseptoria halophila*, qui s'attaque à *Hordeum glaucum*

et *Zymoseptoria brevis*, qui s'attaque à *Phalaris minor*. De ce fait, les formes, parfaite (sexuée) et imparfaite (asexuée) de l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé se présentent comme suit :

- La forme asexuée (anamorphe) désignée par *Septoria tritici*, décrite pour la première fois en 1842 par Desmazière (Halama, 1996 ; Ponomarenko *et al.*, 2011), est désignée actuellement par *Zymoseptoria tritici* (Quaedvlieg *et al.*, 2011). Selon Gigot (2013), étymologiquement, *Zymo-*, provient du grec ancien ζύμη, qui signifie : levain, ferment, en référence à une croissance similaire à celle des levures, et dont les caractéristiques sont décrites dans la figure 08.

- La forme sexuée (téleomorphe) appelée *Mycosphaerella graminicola*, mise en évidence par Sanderson en 1972 en Nouvelle Zélande (Sanderson, 1976 ; 1976a), et dont la nomination est maintenue jusqu'à ce jour. La position systématique et la nomenclature des deux formes de ce pathogène est indiquée dans le tableau 03.

Des études moléculaires ont indiqué que cet agent n'est pas génétiquement relié à *S. nodorum* (Barry et Peter, 1999). Il a beaucoup de similarité, avec *Cladosporium fulvum*, agent causal de taches foliaires chez la tomate (Ueng *et al.*, 1998), avec *Z. passerinii*, agent causal de la septoriose de l'orge (Goodwin et Zismann, 1999 ; Quaedvlieg *et al.*, 2011), avec *Z. pseudotritici*, qui affecte le dactyle (Stukenbrock *et al.*, 2012), avec *Dothistroma septosporum*, qui affecte le pin de Monterey (*Pinus radiata*), et avec d'autres espèces de Dothidiomycètes telles que les espèces de *Mycosphaerella* isolées d'Eucalyptus (De Wit *et al.*, 2012).

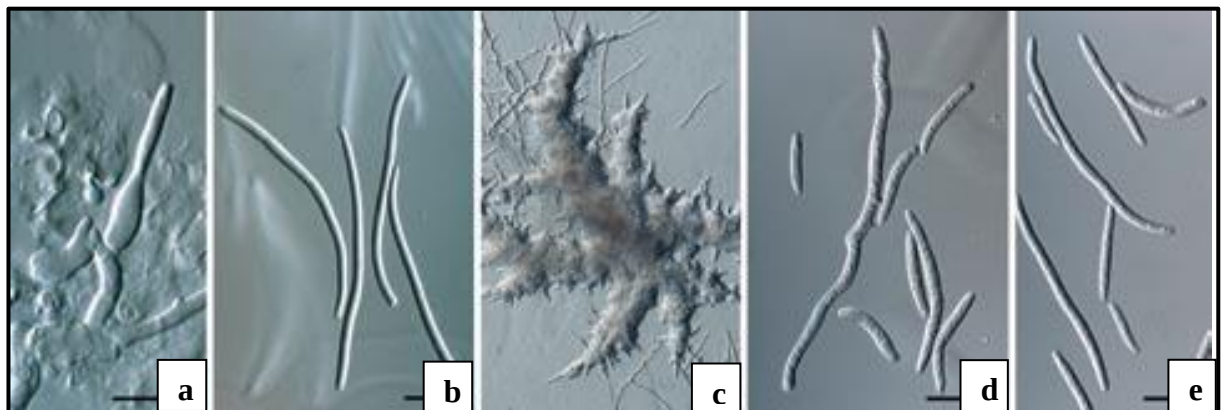


Figure 08 : *Zymoseptoria tritici* (isolat CBS 115943 ex. IPO 323). (a) : Cellules conidiogènes formées à l'intérieur d'une pycnide ; (b) : Conidies issues d'une pycnide (Type I) ; (c) : Colonie sporulant sur milieu nutritif (Agar) montrant une croissance levurienne ; (d) et (e) : Conidies formées via une conidiation microcyclique (Type III).
— Echelle = 10 μ m. (Quaedvlieg *et al.*, 2011)

Tableau 03 : Taxonomie des deux formes de l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé (Eyal *et al.*, 1987 ; Torriani, 2008 ; Torriani *et al.*, 2008 ; Schoch *et al.*, 2009)

Classification	Forme Asexuée (Anamorphe) <i>Zymoseptoria tritici</i>	Forme Sexuée (Téléomorphe) <i>Mycosphaerella graminicola</i>
Règne	Mycètes	Mycètes
Division	Eumycètes	Eumycètes
Embranchement	Ascomycètes	Ascomycètes
S/Embranchement	Pezizomycètes	Ascomycètes filamenteux
Classe	Dothideomycètes	Ascomycètes
S/Classe	Dothideomycetidae	Loculoascomycètes
Ordre	Capnodiales	Dothideales
Famille	Mycosphaerellaceae	Dothideaceae
Genre	<i>Zymoseptoria</i>	<i>Mycosphaerella</i>
Espèce	<i>Z. tritici</i>	<i>M. graminicola</i>

1.2.3.3. Cycle biologique

Le cycle biologique de l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé (STB) comporte deux phases distinctes : La phase asexuée qui correspond à la multiplication du champignon par la forme asexuée (Anamorphe), *Zymoseptoria tritici*, et la phase sexuée qui correspond à la multiplication du champignon par la forme sexuée (Téléomorphe), *Mycosphaerella graminicola*.

1.2.3.3.1. La phase asexuée

Cette phase est caractérisée par la production de fructifications du type pycnides, de forme globuleuse de couleur noirâtre et portant un ostiole au sommet (Fig. 09 a) d'où échappent les pycnidiospores (Fig. 09 b et c).

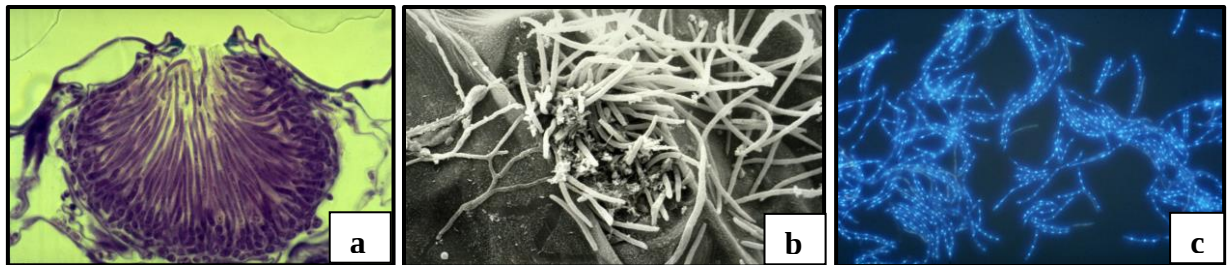


Figure 09 : Fructifications produites par *Zymoseptoria tritici* durant la phase asexuée : **(a)** : Pycnide remplie de milliers de conidies (pycnidiospores) ; **(b)** : Conidies (pycnidiospores) exsudées à travers le stomate ; **(c)** : Conidies formées de plusieurs cellules, chacune renfermant un seul noyau. (Ponomarenko *et al.*, 2011)

La phase asexuée peut être subdivisée en quatre stades (Gigot, 2013) :

➤ **L'infection**

Si les conditions environnementales sont favorables, une spore déposée sur une feuille, germe, le tube germinatif se développe en direction d'un stomate, une structure semblable à un appressorium se forme à son extrémité distale au niveau du site de contact avec les cellules de garde, et pénètre dans les tissus hôtes via les ostioles des stomates (Kema *et al.*, 1996 ; Cunfer, 1999 ; Rudd *et al.*, 2010 ; Dean *et al.*, 2012). Toutefois certains travaux ont signalé la pénétration directe à travers les cellules épidermiques (Duncan et Howard, 2000). Kema *et al.*, (1996), révèlent l'existence d'une co-infection, par formation de plusieurs tubes germinatifs au niveau d'un même stomate.

Plusieurs études portant sur l'histologie de l'infection (Cohen et Eyal, 1993 ; Duncan et Howard, 2000 ; Shetty *et al.*, 2007) ont montré que la pénétration de l'hyphe se fait à travers les stomates dans les 12-48 heures après inoculation aussi bien dans les interactions compatibles que les interactions incompatibles, et la croissance du pathogène est intercellulaire. Les interactions compatibles se caractérisent par une colonisation de l'apoplaste par le champignon accompagnée d'un changement de l'ultrastructure du mésophylle 8-10 jours après inoculation, alors que les interactions incompatibles se caractérisent par une colonisation limitée du mésophylle, ou l'incapacité du champignon à former des pycnides matures sur les feuilles (Ray *et al.*, 2003). La biomasse fongique augmente rapidement dans les interactions compatibles après 14 jours de l'inoculation (Kema *et al.*, 1996 ; Pnini-Cohen *et al.*, 2000).

➤ **La période de latence**

Durant cette phase asymptomatique, séparant l'infection initiale de la formation des premières structures sporulantes visibles, la progression des hyphes mycéliens s'effectue d'abord lentement et de façon peu destructrice dans les espaces intercellulaires (phase biotrophe) ; le champignon se nourrit sur les nutriments existant au niveau de cette espace, les hyphes sont ectotrophiques et sans haustoria (Palmer et Skinner, 2002). Néanmoins, lors de la mise en place des appareils reproducteurs (pycnides) au niveau des stomates, le développement du champignon s'intensifie et conduit à la destruction des parois cellulaires (phase nécrotrophe) au bout de 3 à 5 semaines de l'infection (Lovell *et al.*, 2004a). La durée de la période de latence est très dépendante des conditions de l'environnement, notamment la température, l'humidité et la lumière pendant les jours qui succèdent l'inoculation (Benedict, 1971 ; Madariaga, 1984), elle

est de l'ordre de 15 à 35 jours, selon Shaw (1990) ; de 11 à 42 jours, selon Lovell *et al.* (2004a), de 12 à 20 jours, selon Goodwin *et al.* (2011), et de 21 à 27 jours, selon Armour *et al.* (2004). Elle peut être influencée aussi par la variété du blé infectée, et peut être de l'ordre de 16 à 20 jours (Mojerlou *et al.*, 2009a), et parfois même plus longue, de 21 à 38 jours (Loughman *et al.*, 1996 ; Viljanen-Rollinson *et al.*, 2005), pour différentes variétés infectées soumises aux mêmes conditions.

➤ La sporulation

Elle correspond à l'émission de pycnidiospores (Fig. 09 b et c), des spores en forme de bâtonnets, hyalins, filiformes généralement courbées avec des extrémités arrondies ; leur taille est très variée (Halama, 1996 ; Boughalleb et Harrabi, 1997 ; Hoorme *et al.*, 2002 ; Baccar, 2011). Certains auteurs font la différence entre des macro-pycnidiospores ($35 \text{ à } 98 \times 1 \text{ à } 3 \mu\text{m}$) avec 3 à 5 septations et des micro-pycnidiospores ($8 \text{ à } 10,5 \times 0,8 \text{ à } 1 \mu\text{m}$) sans septation, mais qui peuvent tous les deux infecter le blé (Eyal *et al.*, 1987). Ces spores, produites dans les pycnides, sont couvertes d'une gelée protectrice (le cirrhe) constituée de sucres et de protéines hydrophiles (Cunfer, 1999). En conditions de forte humidité, ce mucilage sporifère est exsudé et se dissout dans le film d'eau tapissant la feuille, permettant ainsi la dissémination des spores sur la surface foliaire (Gigot, 2013). Le nombre de pycnidiospores produites par pycnide est de $5 \text{ à } 10 \times 10^3$ (Eyal, 1971), et il dépend des facteurs externes du milieu, notamment la température et la lumière (Guo et Verreet, 2008). Cunfer (1999), signale que le cirrhe, protège les spores de la dessiccation et empêche aussi leur germination précoce. Il a été démontré que les spores germent à des concentrations du cirrhe faibles ; en effet moins de 10 % de spores germent à des concentrations supérieures à 20 %. En plus, la longueur du tube germinatif est plus importante à une concentration de 15 %.

Pendant l'été, le champignon reste comme saprophyte sur les débris de récolte et ne peut plus réinitier de nouvelles pycnides. Seules les pycnides survivantes peuvent réexsuder des cirrhes bourrés de pycnidiospores à l'automne suivant, mais elles s'épuisent peu à peu. Une fois enterré, le champignon meurt progressivement (Caron, 1993).

➤ La dispersion

Une forte augmentation de l'humidité provoque un gonflement des pycnides, qui s'ouvrent et libèrent leurs pycnidiospores, à travers l'ostiole sous forme de tortillons gélifiés (les cirrhes) de couleur blanchâtre (Fig. 10), distincte de celle de *S. nodorum* (Fig. 11), et constituent

ensuite le moteur de l'épidémie (Morvan, 2006). Les pycnidiospores sont véhiculées de feuilles en feuilles par les éclaboussures lors de fortes pluies (Jellis *et al.*, 2008). La maladie progresse ainsi latéralement d'une feuille infectée vers les feuilles adjacentes sur le même étage foliaire d'autres plantes, ou verticalement sur les étages supérieurs de la même plante via les éclaboussures des gouttes de pluie ou par effet « Splashing » (Fig. 12) au contact des feuilles infectées. L'architecture de la plante, ainsi que les facteurs climatiques peuvent influencer le mouvement des éclaboussures des gouttes de pluie (McCartney *et al.*, 2006). Dans le cas général, la septoriose monte progressivement d'étage foliaire en étage foliaire d'où son appellation de maladie en gradient (Caron, 1993).

Le développement de la maladie est très dépendant des conditions de l'environnement, notamment la température et l'humidité (Hess et Shaner, 1987 et 1987a ; Shaw, 1991 ; Mojerlou *et al.*, 2010). De même, certains paramètres liés à la structure de la plante, notamment, la densité des feuilles, la distance entre les feuilles, ainsi que la vitesse d'émergence des feuilles peuvent influencer la propagation de la maladie, en favorisant ou en diminuant le contact entre les organes de la plante (Bahat *et al.*, 1980 ; Lovell *et al.*, 2004 ; Baccar, 2011 ; Calonnec *et al.*, 2012).



Figure 10 : Cirrhose de *S. tritici*
(de couleur grisâtre) [5]



Figure 11 : Cirrhose de *S. nodorum*
(de couleur rosâtre) [5]

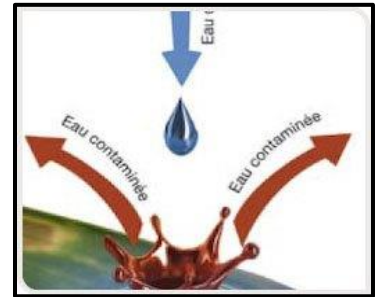


Figure 12 : Contamination
via l'effet « splashing » [6]

Les différentes étapes de la phase asexuée sont résumées dans la figure 13 (Duncan et Howard, 2000 ; Gigot, 2013 ; Steinberg, 2015).

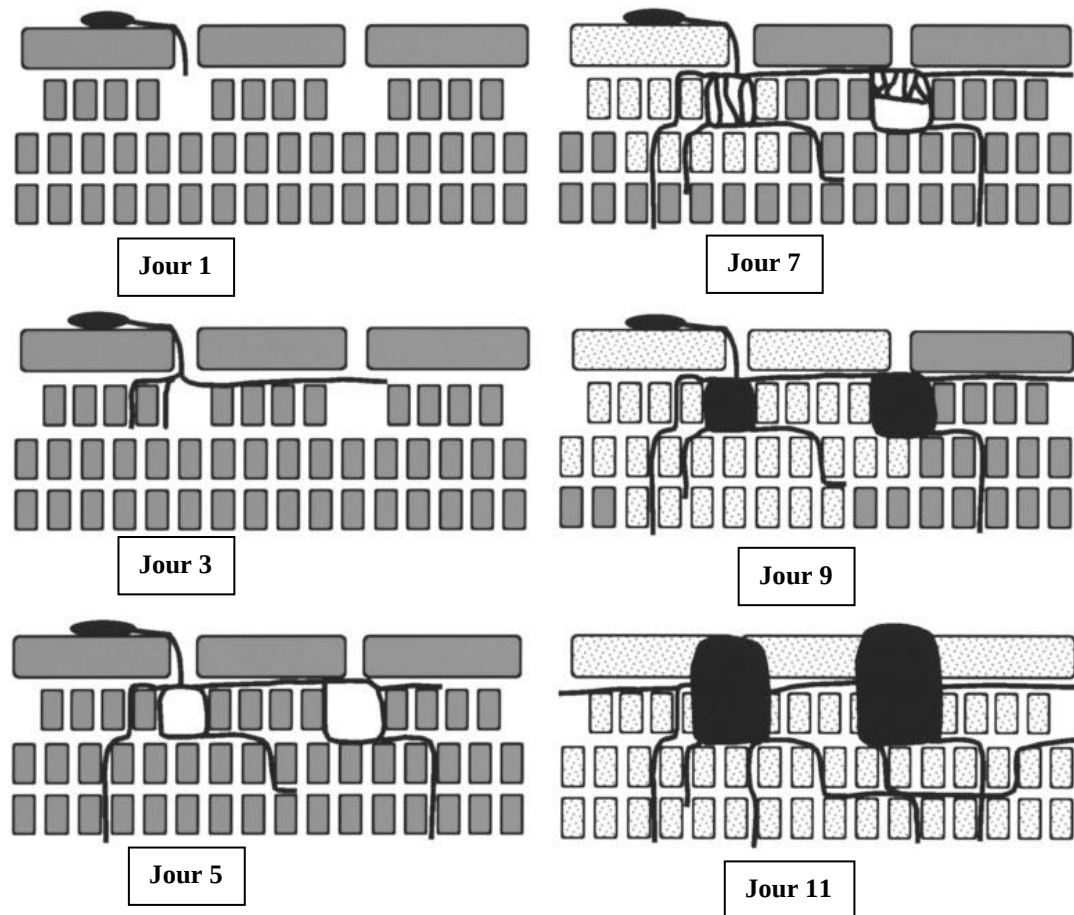


Figure 13 : Chronologie de l'infection de tissus hôtes de blé par *M. graminicola* en conditions de laboratoire (Duncan et Howard, 2000 ; Gigot, 2013).

Chaque vignette correspond à la coupe transversale d'une portion de feuille de blé où sont visibles, les cellules épidermiques, les cellules du mésophylle, les ostioles des stomates et les chambres sous stomatiques :

- **Jour 1.** Une pycnidiospore de *M. graminicola* germe, et le tube germinatif en croissance pénètre dans une chambre sous-stomatique en passant par l'ostiole. **Jour 3.** Les hyphes mycéliens débutent la colonisation de la chambre sous-stomatique en circonscrivant son périmètre, et se répandent dans les tissus adjacents par invasion intercellulaire. **Jour 5.** Les hyphes poursuivent leur croissance intercellulaire à la fois latéralement et en profondeur au sein des tissus foliaires. La contamination d'un seul site peut ainsi conduire à la colonisation de chambres sous-stomatiques adjacentes. **Jour 7.** La formation de ramifications densifie le réseau d'hyphes mycéliens sur le pourtour des chambres sous-stomatiques colonisées. La chlorose et la nécrose des premières cellules hôtes (remplies de points dans la figure) correspondent à la fois au début de la phase nécrotrophe du pathogène et à l'apparition des premiers symptômes macroscopiques. **Jour 9.** Les amas d'hyphes tapissant les chambres sous-stomatiques continuent de se densifier et les pynides commencent à se former. Les symptômes macroscopiques s'accroissent avec la poursuite de la chlorose et de la nécrose du tissu hôte. **Jour 11.** Entourées de cellules hôtes nécrosées et maintenant pleinement arrivées à maturité, les pynides sont visibles à l'œil nu, et peuvent exsuder du cirrhe lorsqu'elles sont placées dans un environnement humide. Les hyphes mycéliens continuent à se propager dans le tissu foliaire.

1.2.3.3.2. La phase sexuée

Après les moissons, le champignon survie dans les chaumes où il se développe sous la forme sexuée (*Mycosphaerella graminicola*). Cette phase comporte plusieurs étapes (Fig. 14) : la formation et la différenciation des organes mâles et femelles, la fécondation, le développement de l'organe femelle fécondé, la méiose, la formation des ascospores et leur éjection à l'extérieur de l'organe femelle mature. Elle se caractérise par la production de fructifications de type pseudothèces (Fig. 15), qui sont de couleur brin sombre, globulaires, généralement de forme circulaire, légèrement immergés dans la gaine des feuilles et mesurent environ 110 à 130 μm . Les pseudothèces contiennent des asques mesurant 42 μm de long et contenant chacun huit ascospores (Fig. 16). Ces dernières comportent deux cellules irrégulières, et ont une taille variable allant de 8 à 10 μm de long et de 2 à 2.5 μm de diamètre (Hoorme *et al.*, 2002).

Les ascospores, libérées en octobre, sont responsables des contaminations primaires, elles sont dispersées par le vent et peuvent infester à l'automne ou en hiver les jeunes semis de blé situés à des distances importantes. Les tissus infectés deviennent jaunes et meurent. Dans ces tissus nécrotiques se développent les pycnides, organes fructifères asexués. Plusieurs auteurs ont signalé que chez *M. graminicola*, la reproduction sexuée s'opère toute l'année, et joue un rôle important dans l'épidémie de la maladie (Sanderson et Hampton, 1978 ; Zhan *et al.*, 1998 ; Hunter *et al.*, 1999 ; Eriksen et Munk, 2003). Les fructifications produites par la forme sexuée de *M. graminicola* (Tab. 04) ont des caractéristiques morphologiques très diversifiées (Sanderson, 1972 ; Brown *et al.*, 1978 ; Scott *et al.*, 1988 ; Scharen, 1999).

Tableau 04 : Caractéristiques morphologiques du stade sexué de *M. graminicola* (Diamètre en μm) (Halama, 1996)

Ascocarpe	Asque	Ascospores	Référence
98-124 x 70.8-91	37-47 x 5.4-6.8	7.7-8.4 x 1.8-2.1	Dadreziaie, 1999*
76-80 x 77-100	34-41 x 11-13	10-15 x 2.5-3	Sanderson, 1972
68-114 x 92-130	30-40 x 11.5-14	9-16 x 2.5-3	Brown <i>et al.</i> , 1978
80-150	30-40 x 11-44	9-16 x 2.5-4.5	Sivanesan, 1990
90-140	30-55 x 10-20	10-18 x 3-4.5	Scott <i>et al.</i> , 1988
90-140	30-45 x 10-15	10-17 x 3-4	Verreet <i>et al.</i> , 1990*
-	-	11.7-18.5 x 2.9-5.2	Garcia et Marshall, 1992*
90-112	32-36 x 10-14	14-18 x 4-5	Halama, 1996

* Références citées in Halama (1996).

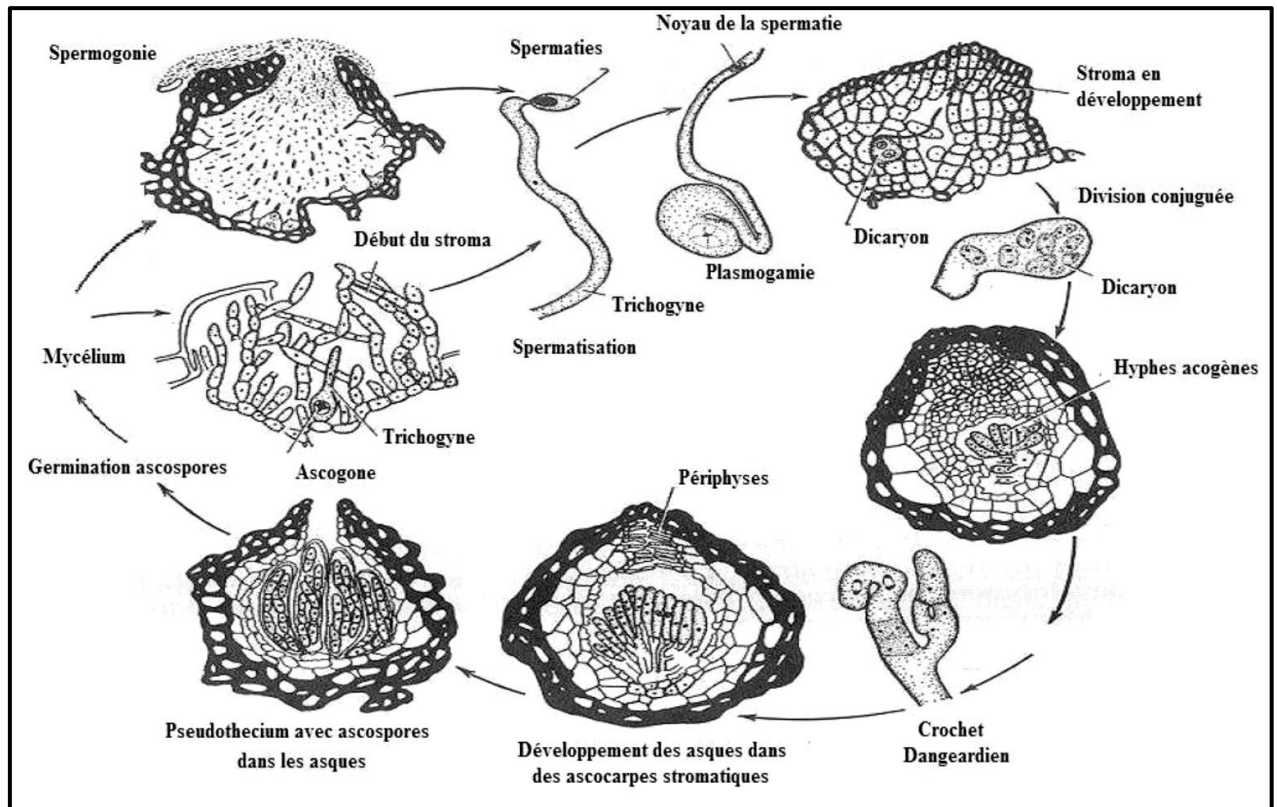


Figure 14 : Processus présumé de la reproduction sexuée de *M. graminicola* (El Chartouni, 2009).

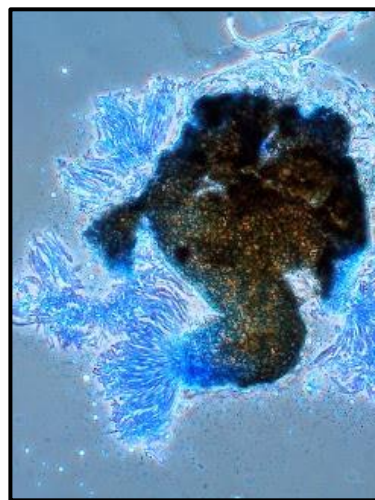


Figure 15 : Pseudothèque de *M. graminicola* (Brun) et les asques contenant les ascospores (Bleu), collectés sur les débris de blé (Suffert et sache, 2011)

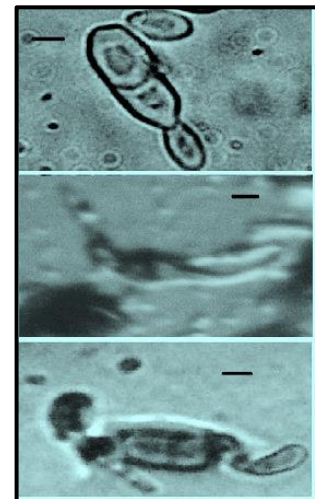


Figure 16 : Ascospores de *M. graminicola* (Ben Hassine et Hamada, 2014)

La figure 17 représente le cycle de vie complet de *M. graminicola*, comportant la phase asexuée et la phase sexuée.

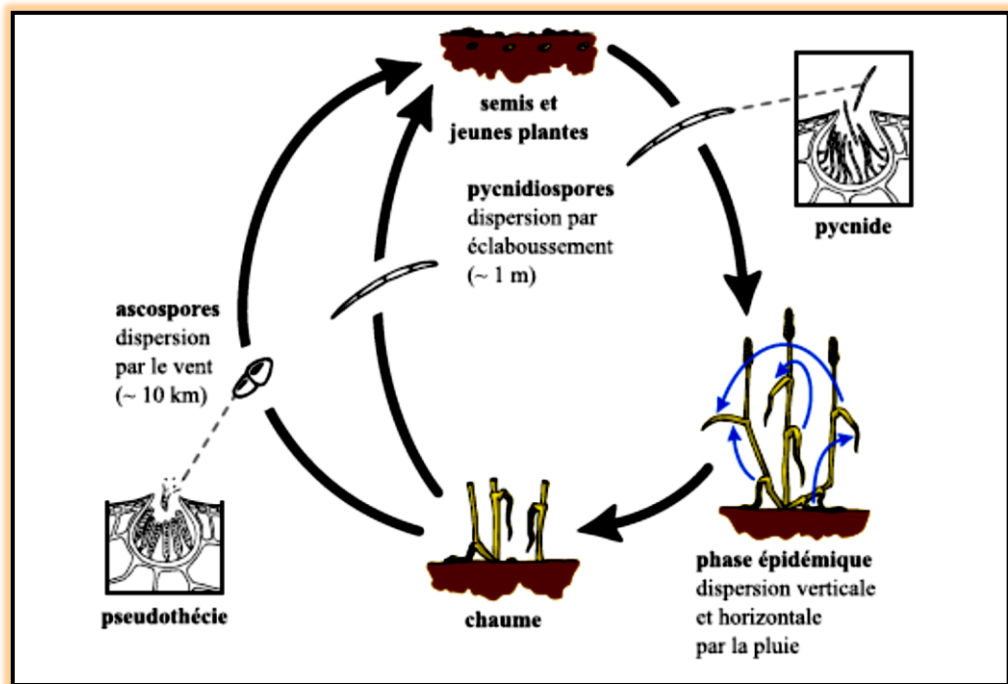


Figure 17 : Cycle biologique de *M. graminicola* (Gigot, 2013)

1.2.4. Plantes hôtes

En plus des céréales cultivées : le blé tendre (*Triticum aestivum* L.), le blé dur (*Triticum turgidum* L.), le seigle (*Secale cereale* L.) et le triticales, la gamme d'hôtes de *M. graminicola* s'étend à de nombreuses autres poacées tels que : *Agropyron* spp., *Agrostis* spp., *Brachypodium* spp., *Bromus* spp., *Dactylis* spp., *Festuca* spp., *Hordeum* spp., *Glyceria* spp. et *Poa* spp. Parmi lesquelles, se trouvent de nombreuses espèces, adventices courantes des cultures de blé, de seigle ou de triticales, qui peuvent jouer le rôle de réservoirs pour le champignon pathogène en maintenant un inoculum à proximité immédiate des céréales cultivées (Eyal, 1999). *Lolium rigidum* est également décrit comme hôte pour cet agent pathogène en Iran (Haghdel et Banihashemi, 2005). En vue d'étudier la gamme d'hôtes des espèces de *Septoria* s'attaquant aux céréales, Seifbarghi *et al.* (2009), ont inoculé 27 variétés /espèces de céréales et autres plantes par des souches de *Septoria* et ont trouvé que les isolats de *S. tritici* provenant du blé tendre (*T. aestivum*) infectent *T. aestivum*, *T. durum*, *T. dicoccum* et *T. compactum*, et ils ont conclu que ces espèces peuvent servir comme sources d'inoculum primaire de *S. tritici* pour les cultures de

blé. Les isolats de *Septoria* provenant d'*Aegilops tauschii*, *Lolium loliaceum*, *Lophochloa phleoides*, *Phalaris paradoxa* et *Hordeum glaucum* sont pathogènes seulement pour leurs hôtes d'origine. Les isolats de *S. passerinii* provenant de l'orge (*Hordeum vulgare*) et *H. distichon* sont pathogènes pour toutes les espèces et les variétés du genre *Hordeum* testés à l'exception de *H. glaucum*. De ce fait ces espèces du genre *Hordeum* peuvent avoir un rôle dans les épidémies de septoriose sur l'orge. Cependant, Boukef *et al.* (2013) signalent que jusqu'à ce jour, aucune information n'est disponible sur le rôle des espèces non cultivées en tant que sources de l'inoculum, ou de leurs effets sur la sévérité de la maladie.

1.2.5. Epidémiologie de la maladie

L'inoculum primaire de la tâche septorienne des feuilles du blé (STB) peut être constitué de pycnidiospores ou d'ascospores (Shaw et Royle, 1989 ; Scharen, 1999 ; Eriksen et Munk, 2003), et il peut avoir différentes origines, notamment, les résidus de récoltes infectées, les adventices contaminées, ou des plantes hôtes voisines infectées (Schuh, 1990). La quantité de débris infestés et laissés sur champs semble ne pas avoir un effet sur la sévérité de la maladie. La dissémination de la maladie des étages inférieurs aux étages supérieurs du couvert végétal se fait principalement par les gouttelettes de pluie (Schuh, 1990). Quant à la dissémination d'un champ à un autre, elle se fait par le transport des ascospores par le vent à travers des centaines de mètres et même une dizaine de kilomètres (Shaw et Royle, 1989 ; Schnieder *et al.*, 2001). Ces derniers jouent un rôle important dans l'épidémiologie de la maladie (Sanderson et Hampton, 1978 ; Kema, 1996 ; Chen et McDonald, 1996 ; Bathgate et Loughman, 2001).

Haghdel et Banihashemi (2005) signalent que la germination des pycnidiospores de *M. graminicola* à la surface du sol diminue fortement après une durée de huit mois, et les pycnidiospores enfouies dans le sol sont soumises à l'action d'agents saprophytes et seront détruites en une durée inférieure à deux mois.

Siah (2009) rapporte que, bien que les cycles asexués successifs semblent être le principal moteur de l'épidémie, les contaminations aériennes par les ascospores peuvent aussi jouer un rôle dans le développement de la maladie durant la culture. Contrairement à *S. nodorum*, où la reproduction sexuée ne s'opère qu'en automne et en hiver, quand les températures sont en dessous de 10° C, la recombinaison sexuée chez *M. graminicola* intervient durant toute l'année, et les pics de production des ascospores se situent principalement entre octobre et décembre,

après maturation des pseudothèques formés sur les débris de cultures ou sur les hôtes alternatifs, et durant les mois de juin et juillet correspondant à la période de fin du cycle végétatif du blé. Par ailleurs, le rôle des ascospores dans la progression de la maladie est relativement secondaire par rapport à celui des pycnidiospores.

1.2.6. Facteurs favorisant le développement de la maladie

1.2.6.1. Les conditions climatiques

○ L'humidité

L'humidité est un facteur indispensable pour la germination des spores, la pénétration et le développement du mycélium dans les tissus de l'hôte, et la formation et la libération des pycnidiospores et des ascospores (Shaw et Royle, 1993 ; Chungu *et al.*, 2001 ; Mahtour, 2010). Gough et Lee (1985) ont trouvé qu'à une humidité relative (HR) de 100 %, les pycnides déchargent deux fois plus de spores qu'à une HR de 98 % et 11 à 23 fois plus qu'à une HR de 86 %. De fortes infestations ont été enregistrées avec une période d'humectation de 35 heures suivie d'une humidité relative supérieure à 80 % pendant 48 heures (Caron, 1993). Shaw (1990 ; 1991) a mentionné que l'infection est à son maximum à 100 % d'humidité relative pendant une longue période. Elle est faiblement réduite quand cette humidité est de 75 % pendant une période supérieure à 48 heures, et elle diminue fortement lorsque l'humidité relative atteint 50 %.

○ La lumière

Benedict (1971) révèle que la lumière peut avoir un effet remarquable sur le développement de l'infection du blé par la septoriose. La pénétration est optimale à une intensité lumineuse de 8000 lux, alors que la croissance mycélienne et la production de pycnides est élevée à 2000 lux. Cependant cet effet est variable selon la variété du blé infectée.

○ La température

Sebei (2009) rapporte que les spores de *S. tritici* germent à une température minimale de 2 à 3°C et une température maximale de 33 à 37°C, avec un optimum de 20 à 25°C. Au champ, l'infection peut être retardée si la température baisse au dessous de 7°C pendant deux nuits successives. Magboul *et al.* (1992) ont observé une réduction remarquable du développement des lésions lorsque l'infection s'opère à des températures inférieures à 10°C. Hess et Shaner (1987a) révèlent qu'il existe une relation étroite entre le taux d'humidité relative

avant l'infection et la température après l'infection chez les blés sensibles. En effet, quand la période d'humidité est courte, une température supérieure à 25°C occasionne une attaque sévère ; et des niveaux d'attaque élevés ont été observés quand les températures basses sont accompagnées d'une longue période d'humidité.

- **La pluviométrie**

Shaw (1990) et Arvalis (2009) révèlent que la quantité de symptômes des septorioses du blé est fortement influencée par la température et les précipitations. La pluie est le facteur moteur des contaminations. A la faveur de pluies, les contaminations se font des feuilles inférieures vers les feuilles supérieures via les éclaboussures des gouttes d'eau. Simon *et al.* (2012), rapportent que la prédominance des phases, sexuée (production d'ascospores) et asexuée (production de conidiospores) est liée aux conditions de l'environnement, et les ascospores semblent moins dépendantes des précipitations que des conidiospores ; des infections des feuilles supérieures peuvent avoir lieu en absence des précipitations.

1.2.6.2. La structure et le stade végétatif de la plante

La résistance à ce champignon semble être conditionnée par la hauteur de la paille et la tardivité de la culture, étant donné que les gouttelettes de pluie portant des pycnidiospores mettent plus de temps à atteindre les feuilles supérieures chez les variétés à paille haute. Par ailleurs la proximité des feuilles chez les variétés naines facilite le contact entre les nouvelles feuilles émergentes et les feuilles infectées (Lovell *et al.*, 1997 ; 2004 ; Ben Mohamed *et al.*, 2000 ; Rodriguez-Contreras, 2008). Kebede et Payne (2000) signalent que les variétés hautes, à maturité tardive échappent aux infections par la septoriose des feuilles et sont considérées par défaut comme étant des variétés résistantes.

1.2.6.3. Les pratiques culturales

Les pratiques culturales peuvent avoir un effet remarquable sur le développement des épidémies des maladies foliaires, notamment les septorioses et les rouilles (Loyce *et al.*, 2008 ; Rezgui *et al.*, 2008). Ainsi, les semis tardifs échappent aux premières contaminations pendant l'hiver, et réduisent ainsi la nuisibilité de la septoriose, mais ils sont moins productifs (Arvalis, 2013). L'augmentation de la densité du semis et l'utilisation d'une interligne étroite, surtout pour les variétés semi-naines, aboutissent à la variation du microclimat de la culture, et favorisent le développement de la septoriose. Les semis plus clairs présentent moins de maladie par rapport à

des densités plus élevées (Arvalis, 2013). Un apport élevé d'azote favorise le développement de la septoriose (Simon *et al.*, 2002). Une moindre nuisibilité de cette maladie s'observe avec des doses d'azote faibles (50 kg N/ha) mais la pénalité de rendement est trop élevée. A l'optimum de fertilisation azotée, on n'observe pas de modification de la pression septoriose (Arvalis, 2013).

Aussi, Bannon et Cooke (1998) signalent que l'utilisation de *Trifolium repens* dans les parcelles de blé réduit de 33 % la dispersion horizontale (à 15 Cm de la source d'inoculum), et de 63% la dispersion verticale des spores de la septoriose.

1.3. Impact de la septoriose sur le développement et le rendement du blé

M. graminicola, est un champignon parasite de type hemibiotrophe (Gautier *et al.*, 2014), bien que dans un premier temps, l'infection se déroule sans détérioration des tissus hôtes, ces derniers commencent à mourir juste avant la phase reproductive de l'agent pathogène. L'effet parasitaire se concrétise par l'altération des différents processus vitaux de la plante, induisant ainsi une détérioration quantitative et qualitative du rendement.

1.3.1 Effets sur la physiologie de la plante

Ce pathogène foliaire affecte l'activité photosynthétique à travers la réduction de la surface foliaire photosynthétiquement active (Zuckerman *et al.*, 1997 ; Robert *et al.*, 2004 ; Schalamuk *et al.*, 2014), ainsi que la transpiration (Shtienberg, 1990 ; Metcalfe *et al.*, 2000), la respiration (Robert *et al.*, 2006), l'absorption de l'eau et des éléments minéraux (Bancal *et al.*, 2008), et la translocation des photosynthétats chez les plantes malades (Cornish *et al.*, 1990 ; Bancal *et al.*, 2007 ; Rudd *et al.*, 2015). Une étroite corrélation entre l'attaque des deux dernières feuilles et le taux de translocation et d'accumulation des hydrates de carbone dans le grain a été signalée par Shaw et Royle (1992). El Jarroudi (2005) rapporte que la baisse de transpiration est proportionnelle à la surface malade.

D'autre part *S. tritici* entraîne une destruction des cellules, qui perdent alors toute capacité à photosynthétiser ou à transpirer (Shtienberg, 1992). Shetty *et al.* (2007) ont noté une diminution de la teneur en chlorophylles chez les plantes de blé infectées par *S. tritici*, comparativement aux témoins, au cours de la phase nécrotrophe de la croissance du champignon, et ont signalé que cette diminution est attribuée à la dégénérescence des chloroplastes. Les mêmes auteurs ont également noté une augmentation remarquable du taux de sucres solubles, notamment le glucose, le saccharose et le fructose chez les plantes infectées après 11 à 15 jours

de l'inoculation. L'augmentation de la teneur en sucres solubles dans les tissus de plantes infectées laisse suggérer que : les hydrates de carbones seront utilisés par le champignon, notamment pendant la sporulation et la formation des pycnides. D'autre part, ces composés peuvent jouer le rôle de signal pour la plante, indiquant une altération de l'activité photosynthétique, et induisant ainsi l'activation des mécanismes de défense, notamment les espèces réactives de l'oxygène (ROS) chez les plantes résistantes, car il a été démontré que l'accumulation des hydrates de carbone a lieu avant l'expression des gènes liés à la défense chez les plantes. D'autre part, l'augmentation du taux d'hydrates de carbones peut être la conséquence de toxines libérées par le pathogène (Shetty *et al.*, 2003).

Shtienberg (1992) signale que l'infection du blé par *M. graminicola* affecte la croissance des racines chez les plantes infectées, et le traitement de semences par des thiabendazoles augmente le nombre de racines par plante de 32.5 % en comparaison avec le témoin non traité dans des essais réalisés au champ. Robert *et al.* (2004) ont noté une réduction de 70 % de la croissance des plantes de blé infectées par *M. graminicola*. Bousquet *et al.* (1991) révèlent que le taux d'acide abscissique au niveau des épis des plantes attaquées par *S. tritici* est proportionnel à la sévérité d'attaque observée sur les feuilles. La corrélation entre ce taux et la réduction du rendement dépend du stade d'infection de la plante.

1.3.2. Effets sur les composantes du rendement

La tache septorienne des feuilles (STB) peut causer des pertes significatives du rendement du blé (Mann *et al.*, 2004 ; Mojerlou *et al.*, 2009 ; Marano *et al.*, 2012). Ces pertes sont corrélées d'une part avec le degré d'attaque des dernières feuilles qui sont les plus concernées dans l'activité photosynthétique durant la période de remplissage des grains, et d'autre part avec la sénescence prématurée de la plante réduisant ainsi la mobilisation des assimilats (Magboul *et al.*, 1992 ; Shetty *et al.*, 2007). En effet, les assimilats et les composés azotés sont retenus dans les feuilles, ce qui affecte le remplissage du grain et donc le poids de 1000 grains (Morvan, 2006). Plusieurs auteurs révèlent que les composantes du rendement sont très affectées chez les plantes attaquées par *M. graminicola*. (Shtienberg, 1991 ; 1992 ; Diaz de Ackermann, 1993 ; Simon *et al.*, 2002). Ahmed (1994) rapporte que les pertes de rendement peuvent atteindre 60% dans des infections naturelles. Kebede et Payne (2000) signalent que des pertes de rendement en grain de l'ordre de 82% ont été enregistrées pour des infections naturelles du blé par cette maladie. Danon *et al.* (1982) ont attribué une perte de rendement de l'ordre de 30% à

une attaque des dernières feuilles par *S. tritici*, et ils ont déduit que ces pertes sont dues à une activité toxique du pathogène qui affecte principalement la translocation des métabolites vers le grain. Rodriguez-Contreras (2008) et Rodriguez-Contreras *et al.* (2008) ont noté des pertes de rendement dépassant 40 % sur la variété Siete Cerros et une réduction de 13 % du poids de 1000 grains. Simon *et al.* (2002) ont enregistré des pertes de l'ordre de : 4 à 14.6 % dans le nombre d'épis / m², de 10.9 à 15.6 % dans le nombre de grains / épi, de 6.1 à 9.5% dans le poids de 1000 grains, et de 26 à 27.7 % dans le rendement des plantes infectées. Ltifi et Sakkouhi (2008) signalent que les pertes de rendement du blé causées par *S. tritici* évaluées en Tunisie en 2008, ont varié de 12,5 % à 35 % et celles du poids de 1000 grains de 17,1 % à 26 % chez les variétés sensibles. Les réductions du rendement d'une variété partiellement résistante (Nasr) ont été de 7,5 % à 7,9 % et celles du poids de 1000 grains de 6,1 % à 10,2 %. Berraies *et al.* (2014), ont noté des pertes de rendement de l'ordre de 325 à 389 Kg/ha. McKendry *et al.* (1995), signalent que des sévérités élevées de la septoriose affectent la qualité du grain, d'où une diminution du poids, de la qualité de mouture, et du rendement en farine ont été notées pour les graines issues de plantes infectées ; cependant, une augmentation des capacités d'absorption de l'eau des farines, ainsi qu'une diminution de la qualité boulangère des farines, ont été notées. Arabi *et al.* (2007) ont noté une réduction de la teneur en protéines du grain pouvant atteindre 45 % chez le blé infecté par *M. graminicola*.

Chapitre II :

Caractéristiques génétiques et structure de la population de *M.* *graminicola*

Chapitre 2. Caractéristiques génétiques et structure de la population de *M. graminicola*

2.1. Le génome de *M. graminicola*

2.1.1. Le génome nucléaire

Les études concernant le génome de *M. graminicola* ont débuté depuis les années 1990, avec les travaux de McDonald et Martinez (1990 ; 1990a ; 1991 ; 1991a), qui ont démontré qu'il existe une grande diversité dans le nombre et la taille des chromosomes du génome nucléaire, entre les isolats de ce pathogène. Depuis, plusieurs travaux ont été menés sur le sujet (Kema *et al.*, 2002 ; 2008 ; Goodwin *et al.*, 2003a ; Mehrabi *et al.*, 2007 ; Goodwin, 2008 ; Wittenberg *et al.*, 2009 ; Stukenbrock *et al.*, 2010). Goodwin (2008) révèle que, le génome nucléaire de *M. graminicola* présente le nombre de chromosomes le plus élevé (21 chromosomes) et la taille des chromosomes la plus faible au sein des champignons ascomycètes. La composition finale et la structure du génome de *M. graminicola* a été déterminée par Goodwin *et al.* (2011). Les auteurs ont démontré que le génome de ce pathogène (souche IPO323) a une longueur totale de 39 686 251 pb (39,7 Mb, pour Millions de bases), se compose de 21 chromosomes, nommés et classés par ordre décroissant en fonction de leur taille (Tab. 05), et il encode près de 10933 gènes. Plusieurs travaux ont montré que le génome de *M. graminicola* se caractérise par une grande plasticité, il peut aléatoirement perdre les huit chromosomes ayant les tailles les plus petites (nombres 14-21), communément appelés, chromosomes accessoires ou « *Dispensable chromosomes* » (Wittenberg, 2007 ; Ben M'Barek *et al.*, 2009 ; Dhillon *et al.*, 2014 ; Kellner *et al.*, 2014 ; McDonald *et al.*, 2015).

Tableau 05 : Nombre et dimensions des chromosomes de *Mycosphaerella graminicola* (Isolat IPO323 : Chromosomes essentiels 1- 13, Chromosomes accessoires 14-21)
(Goodwin *et al.*, 2011)

Séquence (Chromosome)	Longueur (pb)	Séquence (Chromosome)	Longueur (pb)	Séquence (Chromosome)	Longueur (pb)
1	6088797	8	2443572	15	639501
2	3860111	9	2142475	16	607044
3	3505381	10	1682575	17	584099
4	2880011	11	1624292	18	573698
5	2861803	12	1462624	19	549847
6	2674951	13	1185774	20	472105
7	2665280	14	773098	21	409213

Wittenberg (2007) et Goodwin *et al.* (2011) signalent que chez *M. graminicola*, la taille des chromosomes accessoires représente 11.6 % de la taille totale du génome, et ils comportent 654 gènes (6 % du nombre total de gènes) ; la perte de ces chromosomes est très fréquente (dans 15 à 20 % des progénitures), elle s'opère lors de la reproduction sexuée durant la méiose, et ce phénomène n'affecte ni la viabilité ni la pathogénicité des individus. Selon Goodwin (2008) et Goodwin *et al.*, (2011), chez *M. graminicola*, les chromosomes, aussi bien essentiels, que secondaires peuvent être présents en deux copies ou plus. Les chromosomes essentiels sont toujours présents et ils sont indispensables à la vitalité du champignon ; les chromosomes accessoires contiennent des gènes, dont la plus part d'entre eux sont des copies de gènes présents dans les chromosomes essentiels ; chaque chromosome accessoire contient des gènes ou des séquences répétées de tous, ou de la majorité des chromosomes essentiels, en plus de gènes uniques supplémentaires dont l'origine reste inconnue. Ceci suggère un niveau élevé de recombinaison, induisant ainsi un transfert de matériel génétique entre les deux types de chromosomes, mais le sens de ce transfert (des chromosomes essentiels vers les chromosomes accessoires, ou l'inverse) reste à vérifier. La figure 18 représente une comparaison de la structure génétique d'un chromosome accessoire (chromosome 14) avec les 13 chromosomes essentiels et montre que ce chromosome contient des gènes ou des séquences présents dans tous les chromosomes essentiels.

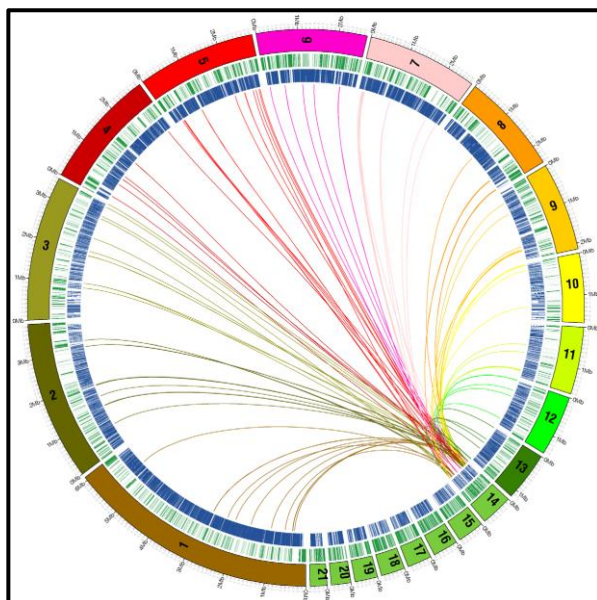


Figure 18 : Gènes communs entre le chromosome 14 et les 13 chromosomes essentiels de *M. graminicola* (Isolat IPO323) (Goodwin *et al.*, 2011)

La présence des chromosomes accessoires a été également signalé chez beaucoup d'autres champignons phytopathogènes (Goodwin, 2008), et il a été démontré que pour les autres champignons, le nombre de ces chromosomes est faible, mais ayant des tailles plus importantes que ceux de *M. graminicola*, et que les gènes de ces chromosomes sont généralement des facteurs de pathogénicité. Une analogie a été récemment décrite entre certaines espèces du genre *Fusarium*, et *M. graminicola*, du point de vue structure de ces chromosomes, mais pour ces espèces, ces chromosomes interviennent surtout dans l'adaptation des champignons aux conditions écologiques, et ne recombinent pas avec les chromosomes essentiels, ce qui n'est pas le cas pour *M. graminicola*, chez lequel aucun gène impliqué dans le *fitness* ou dans la pathogénicité n'a été cartographié dans le dispensome. Ceci laisse supposer que ce dispensome facilite la recombinaison entre les chromosomes sous certaines conditions de l'environnement ; cependant plusieurs auteurs révèlent que les fonctions exactes de ces chromosomes dans le cycle de vie de ce champignon restent inconnues (Goodwin *et al.*, 2011 ; Ben M'Barek, 2011).

Un effet remarquable, dans le génome de ce pathogène est la présence d'un nombre réduit de gènes impliqués dans la synthèse d'enzymes de dégradation des parois cellulaires, ce qui n'est pas le cas des autres champignons phytopathogènes (Goodwin *et al.*, 2011 ; De Wit *et al.*, 2012 ; Goodwin et Kema, 2014), et il semble qu'il dégrade plus de protéines, que des hydrates de carbone durant la phase biotrophe de son cycle de développement (Goodwin *et al.*, 2011 ; Goodwin et Kema, 2014). Cependant, De Wit *et al.* (2012) ont noté une croissance importante de *M. graminicola* en présence de pectine, malgré qu'il possède un nombre faible de gènes codant pour des pectinases, et ils suggèrent que la régulation de l'expression est un facteur qui prédomine dans la dégradation de la pectine, par rapport au nombre de gènes codant pour des pectinases présents dans le génome de cet agent pathogène. Les mêmes auteurs révèlent que, *M. graminicola* possède peu de gènes codant pour la dégradation des hydrates de carbone par rapport à d'autres champignons de la même classe : 235 gènes qui codent pour des enzymes actives sur les hydrates de carbone (CAZymes) dont 191 codent pour des Glycosides hydrolases (GH) ; *Magnaporthe oryzae* et *Dothistroma septosporum* (Hemibiotrophes) possèdent respectivement, 440 et 251 gènes ; *S. nodorum* (Nécrotrophe) en possède 420 gènes dont 289 codent pour des Glycosides hydrolases ; et il possède 20 gènes qui codent pour des métabolites secondaires, nombre inférieur à celui d'autres ascomycètes (38 gènes pour *S. nodorum*, 46 gènes pour *Magnaporthe oryzae* et 23 gènes pour *Cladosporium fulvum*).

2.1.2. Le génome mitochondrial

Outre le génome nucléaire, le génome mitochondrial de *M. graminicola* a également été séquencé. Il est constitué de 43960 pb et contient 44 gènes, dont 14 codant pour des protéines reliées à la phosphorylation oxydative, un gène codant pour l'ARN polymérase, deux gènes codant pour des ARNr et 27 gènes codant pour les ARNt. A la différence de l'ADN nucléaire, l'ADN mitochondrial présente une faible variabilité entre les isolats (Torriani, 2008 ; Torriani *et al.*, 2008).

2.2. Spécialisation physiologique du pathogène

Ahmed (1994) rapporte que, *S. tritici* a été rencontrée sur des espèces hôtes n'appartenant pas au groupe de céréales ; *S. nodorum* et *S. tritici* peuvent coloniser d'autres espèces de plantes, et *S. tritici* est plus spécialisé que *S. nodorum* en terme de gamme d'hôtes. Selon le même auteur, trois formes spécialisées ont été recensées pour *S. tritici*, en plus de la forme qui s'attaque au blé ; ces formes sont : *S. tritici* f.sp. *avenae*, *S. tritici* f. sp. *holci* et *S. tritici* f.sp. *lolicola*, qui sont probablement spécifiques aux espèces et aux sous-espèces de : *Avena* ; *Holcus* ; et *Lolium* (*L. multiflorum* et *L. perenne*), respectivement. D'autres études réalisées sur ce pathogène ont signalé l'existence de spécialisation physiologique au vrai sens du terme (Eyal *et al.*, 1973 ; Danon et Eyal, 1990 ; Ahmed *et al.*, 1995 ; 1996 ; Sayoud, 1995 ; Poppe, 2015). Van Ginkel et Scharen (1988a) et Kema *et al.* (1996a), signalent que les isolats de *Septoria tritici* sont plus ou moins spécialisés sur leurs hôtes blé tendre ou blé dur. Toutefois, des interactions significatives entre cultivars et isolats indiquent aussi la présence de virulence et de résistance spécifique. D'où, une relation *gène pour gène*, pour la résistance chez l'hôte et la virulence chez le pathogène a été suggérée chez le blé dur et le blé tendre (Eyal *et al.*, 1985 ; Eyal et Levy, 1987 ; Kema et Van silfhout, 1997 ; Vechet et Sychrová, 2005 ; Singh *et al.*, 2006). Gieco *et al.* (2004), ont étudié l'agressivité et la spécialisation physiologique des isolats de *S. tritici* provenant de l'Argentine et des USA, en analysant leur pathogénicité sur des cultivars de blé tendre, ils ont démontré qu'il existe une grande variabilité de la virulence et de l'agressivité entre les isolats, et ils ont conclu qu'une résistance de type verticale et horizontale existe chez les cultivars de blé face à *M. graminicola*. Cependant, Perello *et al.* (1991) révèlent que l'interaction souche/variété varie selon le paramètre d'évaluation considéré. En analysant la virulence d'isolats de *M. graminicola* sur des variétés de blé, par le biais de deux paramètres : Pourcentage de couverture pycnidiène des feuilles (PC) et pourcentage de lésions nécrotiques (NL), ils ont noté, une valeur significative pour PC, qui peut être considérée comme un indice de spécialisation physiologique

de l'agent pathogène mais, une interaction significative pour NL qui n'a montré que des différences dans le degré d'agressivité des isolats. Pour cela, les auteurs suggèrent la standardisation des conditions d'inoculation et d'évaluation des études d'interactions *M. graminicola* / *Triticum sp.*, afin d'assurer la reproductibilité des résultats au niveau mondial et d'éviter les différences d'interprétation de réaction des variétés qui surgissent par l'emploi de méthodologies variables.

2.3. Génétique de la pathogénicité et la virulence chez *M. graminicola*

Kema *et al.* (2000), ont analysé la virulence de *M. graminicola*, chez des individus de 03 populations : F₁, BC₁ et F₂ par inoculation sur cinq cultivars de blé et en procédant par une analyse moléculaire (AFLP, RFLP), F₁ est issue de croisement entre un isolat avirulent (IPO323, MAT1-1) et un isolat virulent (IPO94269), tous les isolats des populations F₁, BC₁ et F₂ sont virulents sur les cultivars de blé sensibles et avirulents sur les cultivars de blé résistants. Ce qui permet de conclure que l'avirulence de l'isolat IPO323 est contrôlée par un seul locus, qui a été ultérieurement identifié et cartographié. Depuis ces travaux, plusieurs gènes impliqués dans la virulence et la pathogénicité ont été identifiés, parmi lesquels se trouvent les gènes codant pour les transporteurs de cassettes de fixation d'ATP (ABC : ATP-Binding Cassette) qui sont des protéines membranaires présentes chez tous les microorganismes et sont responsables de l'absorption et/ou de l'excrétion de différents composés par l'hydrolyse de l'ATP (Driessen *et al.*, 2000). Ces protéines peuvent protéger les cellules contre l'effet des substances toxiques et conférer à l'organisme une certaine résistance, ainsi les transporteurs ABC peuvent fonctionner comme un facteur de pathogénicité en assurant la protection du pathogène contre les mécanismes de défense biochimique de la plante, ou en régularisant l'efflux des toxiques tels que les fongicides (Zwiers et De Waard, 2001 ; Stergiopoulos *et al.*, 2003 ; De Waard *et al.*, 2006 ; Roohparvar *et al.*, 2004 ; 2007 ; 2007a ; Roohparvar, 2007), en sécrétant des substances liées aux facteurs de pathogénicité comme les toxines spécifiques de l'hôte, ou en contrôlant certaines activités métaboliques dans la cellule fongique (Zwiers *et al.*, 2007).

Plusieurs gènes codant pour des transporteurs ABC ont été identifiés chez *M. graminicola* (*MgMfs1*, *MgHog1*, *MgSlt2*, *MgAtr1*- *MgAtr5*, *MgAtr7*,...), ainsi que des gènes codant pour d'autres protéines tels que les protéines G (pour, « Guanine nucleotide-binding proteins »), qui régularisent la transduction des signaux reçus par les récepteurs membranaires et sont impliquées dans la formation des hyphes fongiques, et autres gènes dont des travaux réalisés ont prouvé leur

implication directe dans la virulence et la pathogénicité, la régulation du processus d'infection et le développement des fructifications de ce champignon (Mehrabi, 2006 ; Mehrabi et Kema, 2006 ; Mehrabi *et al.*, 2006 ; 2006a ; 2009 ; Marshall *et al.*, 2011). Un gène codant pour l'enzyme 4- hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD) a été isolé et séquencé à partir de *S. tritici*. L'HPPD est probablement impliqué dans le processus pathologique et son inhibition pourrait être intégrée dans une stratégie de lutte contre la septoriose (Keon et Hargreave, 1998).

Récemment, Poppe (2015), en étudiant la spécialisation physiologique de *Z. tritici* a démontré que la virulence de ce pathogène est contrôlée par quatre gènes : *Zt80707*, *Zt89160*, *Zt103264* et *Zt110804*, et il a signalé que le gène *Zt89160* se caractérise par une hyper-virulence sur le blé par rapport aux autres gènes.

2.4. Hétérothallisme bipolaire de *M. graminicola*

Parmi les champignons se reproduisant par voie sexuée, on distingue des espèces homothalliques et hétérothalliques (Billiard *et al.*, 2012). Un champignon est défini comme « homothallique » quand un individu clonal peut s'engager dans la reproduction sexuée sans modification structurelle de son génome. Un champignon « hétérothallique » a besoin d'un partenaire pour faire la reproduction sexuée. Ce partenaire peut être un individu bien distinct, mais certains champignons peuvent former des mycéliums homogènes englobant plusieurs individus. Dans cette situation, un mycélium contenant des partenaires sexuellement compatibles peut s'engager dans la reproduction sexuée, donnant l'illusion d'être homothallique : on parle alors « d'homothallisme secondaire ». Chez les espèces « hétérothalliques », l'existence de deux types d'individus sexuellement compatibles et morphologiquement identiques, désignés (+) et (-) a permis d'introduire les notions « d'hétérothallisme » et de « types sexuels ». L'hétérothallisme a été découvert chez plusieurs champignons, en particulier les basidiomycètes (Bakkeren et Kronstad, 1993 ; 1994), et les champignons filamenteux ascomycètes (Barve *et al.*, 2003 ; Debuchy et Turgeon, 2006 ; Ait Benkhali, 2012 ; Samils *et al.*, 2013).

Des études réalisées sur plusieurs espèces de *Neurospora* et *Ascobolus*, ont montré que les types sexuels sont déterminés par des allèles présents au locus *MAT* (Abréviation de la terminologie Anglo-saxonne : MATING). Les ascomycètes filamenteux possèdent un seul locus *MAT* avec deux « allèles », désignés par *MAT1-1* et *MAT1-2* (Turgeon et Yoder, 2000 ; Saupe, 2000 ; Lee *et al.*, 2003 ; Arzanlou *et al.*, 2010).

L'analyse moléculaire de ces « allèles » a montré qu'ils correspondaient à des séquences différentes contenant plusieurs gènes non homologues, mais occupant le même endroit sur un chromosome. Ces séquences ont été appelées « idiomorphes », « Types sexuels » ou « *Mating-types* » (Metzenberg et Glass, 1990 ; Arnaise *et al.*, 1993 ; Arie *et al.*, 2000 ; Pöggler, 2001 ; Nolting et Pöggler, 2006 ; Lee *et al.*, 2010). Le terme « allèle » n'est pas approprié pour désigner les types sexuels ou « *Mating-types* », car elles correspondent à des séquences d'ADN distinctes, occupant le même locus ; chaque idiomorphe correspond à un gène de régulation codant pour des protéines spécifiques (Waalwijk *et al.*, 2002 ; Butler, 2010).

Chez les champignons ascomycètes homothalliques, les loci *MAT* n'occupent pas la même position au niveau du chromosome, les deux types sexuels *MAT1-1* et *MAT1-2* sont présents au sein du même individu, soit sur le même chromosome, soit sur des chromosomes différents (Fig. 19) et de ce fait, chaque individu peut s'engager dans la reproduction sexuée sans partenaire. Le terme idiomorphe n'est donc pas approprié, et c'est plutôt le terme *Mating-type* qui est retenu et semble mieux adapté chez ce groupe de champignons. Par contre, chez les ascomycètes hétérothalliques, pour lesquels les deux idiomorphes occupent la même position sur le même chromosome, chaque individu présente, soit le locus *MAT1-1*, soit le locus *MAT1-2*, et la reproduction sexuée exige la présence côte à côte de deux partenaires compatibles (Debuchy et Turgeon, 2006 ; Arzanlou *et al.*, 2010).

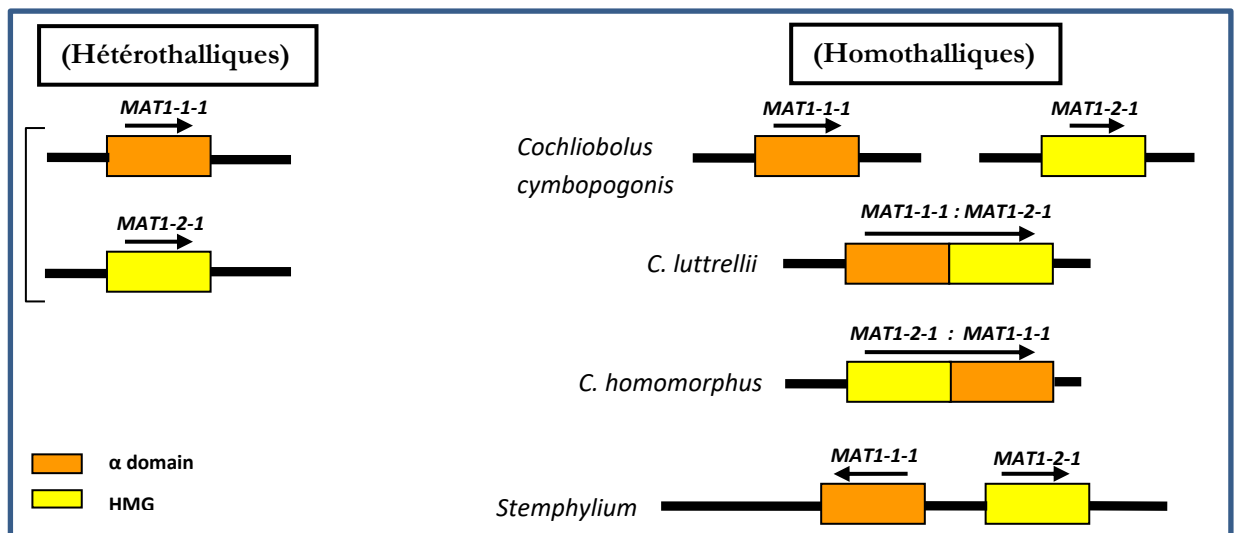


Figure 19 : Structure générale du locus *Mat* chez les champignons loculoascomycètes hétérothalliques et chez certaines espèces loculoascomycètes homothalliques. Les flèches indiquent la position et l'orientation des gènes (Debuchy et Turgeon, 2006)

Depuis la découverte de la forme parfaite (sexuée), *M. graminicola* en 1972, plusieurs études ont été consacrées à la reproduction sexuée de ce pathogène, aux caractéristiques génétiques de la forme parfaite, et au rôle de la reproduction sexuée dans l'épidémie de la maladie et la structure de la population de ce champignon (Kema *et al.*, 1996b ; 2003 ; Chen et McDonald, 1996 ; Cowger *et al.*, 2000 ; Zhan *et al.*, 2003).

Les travaux réalisés ont montré que *M. graminicola* est un champignon haploïde ayant un cycle de vie qui fait intervenir aussi bien la reproduction asexuée, que la reproduction sexuée, et il a un croisement de type hétérothallique bipolaire (Fig. 20) ; où la fécondation exige la présence de deux individus ayant des types sexuels différents et sexuellement compatibles (Cowger *et al.*, 2002 ; Kema *et al.*, 1996c ; Zhan *et al.*, 2007a). Ce phénomène d'autostérilité ou d'incompatibilité végétative est dit : bipolaire, car il fait intervenir deux gènes de type conjuguant (mat) [7].

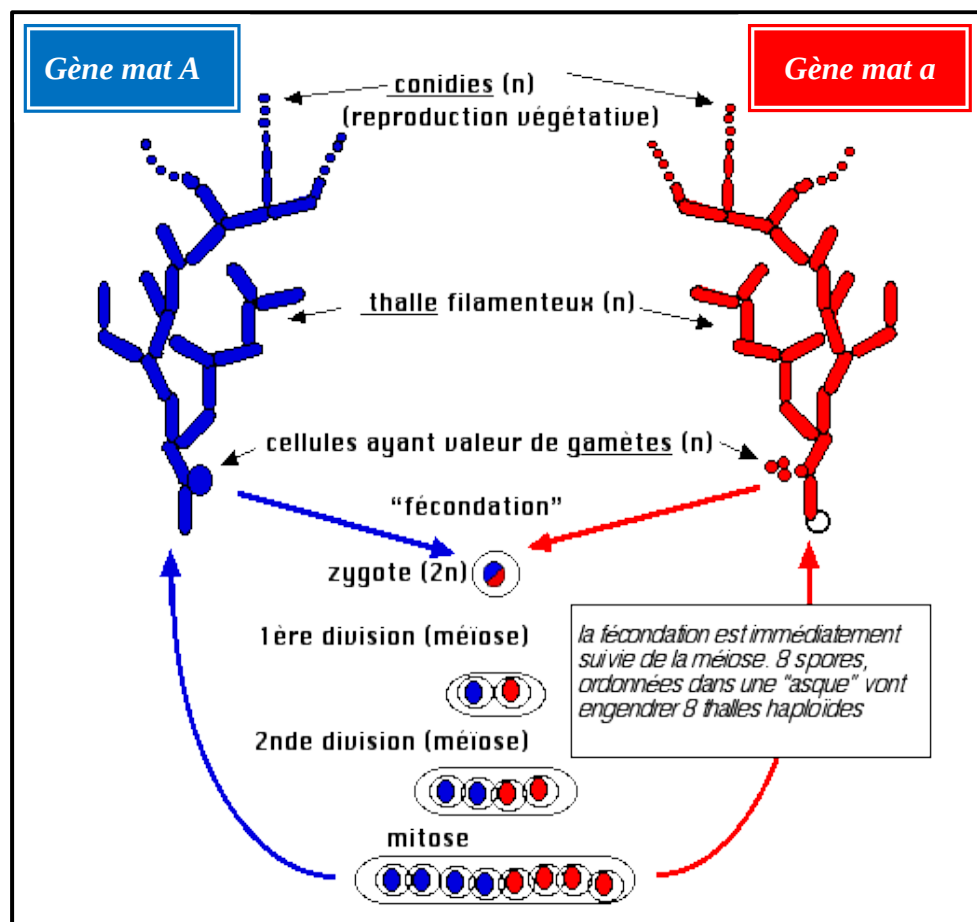


Figure 20 : Reproduction sexuée typique d'un champignon ascomycète à hétérothallisme bipolaire (exemple : *Neurospora crassa*) [7].

2.4.1. Caractérisation des *Mating types*

2.4.1.1. Méthode génétique

Siah (2009) rapporte que, avant le développement des outils moléculaires, la détermination des *Mating-types* chez les champignons hétérothalliques reposait uniquement sur des tests de croisements. Ces méthodes classiques consistent à croiser un individu dont on ignore le type hétérothallique avec un individu standard de *Mating-type* connu. Ainsi, le *Mating-type* serait déterminé selon l'obtention ou pas de périthèces après un certain temps d'incubation. Des croisements fertiles en conditions *in vitro* ont été obtenus pour plusieurs champignons hétérothalliques comme *Cochliobolus carbonum*, *Magnaporthe grisea* et *Phaeosphaeria nodorum*.

2.4.1.2. Méthode moléculaire

Malgré que les premières analyses moléculaires des *Mating-types* chez les champignons ascomycètes filamenteux ont commencé en 1988, par le clonage des loci *MAT* de *Neurospora crassa* (Siah, 2009), le clonage des loci *MAT* des agents de septorioses ont commencé un peu plus tard ; en 2002 pour *M. graminicola* (Waalwijk *et al.*, 2002), en 2003 pour *P. nodorum* (Bennet *et al.*, 2003), *P. avenaria* (Ueng *et al.*, 2003a) et *Septoria passerinii* (Goodwin *et al.*, 2003), et en 2007 pour *Mycosphaerella fijiensis* (Conde-Ferráez *et al.*, 2007).

2.4.2. Caractéristiques génétiques et moléculaires des idiomorphes *MAT* chez *M. graminicola*.

Les travaux de Waalwijk *et al.* (2002), réalisés sur 367 isolats de *M. graminicola*, collectés de 7 pays différents, et en utilisant deux isolats de référence dont les *Mating-types* ont préalablement été déterminés à l'aide de tests de croisements sur plantules, réalisés en 1996 par Kema *et al.* : IPO323 (*MAT1-1*) et IPO94269 (*MAT1-2*), ont démontré que le type sexuel de *M. graminicola* est déterminé par un seul gène composé de deux idiomorphes génétiquement non homogènes *MAT1-1* et *MAT1-2*. Les auteurs ont pu cloner et séquencer les deux types sexuels, et développer des amorces spécifiques pour les deux idiomorphes ; ce qui a permis de développer la recherche sur l'identification et la structure des types sexuels de ce pathogène. Cette étude a pu démontrer que l'idiomorphe *MAT1-2* ayant une taille de 2772 pb, contient un seul gène qui code pour une protéine de 394 acides aminés (facteur de transcription), de forte mobilité (High Mobility Group, HMG), alors que l'idiomorphe *MAT1-1*, mesure environ 2639 pb, et code pour une protéine de 297 acides aminés, contenant un domaine alpha (α). Ces protéines présentent des

similarités avec des protéines présentes dans les *Mating-types* de certains isolats de *Fusarium oxysporum* et *Gibberella fujikuroi*. Chez *M. graminicola*, l'idiomorphe *MAT1-1* se localise à proximité d'un gène codant pour une enzyme de type ADN-lyase, et il est constitué de 3 exons et de 2 introns : l'un des deux introns est constitué de 55 pb et il est également présent chez d'autres ascomycètes à la même position, l'autre intron, formé de 49 pb, n'est présent que chez *M. graminicola*. Par ailleurs, l'idiomorphe *MAT1-2* occupe la même région sur le même locus que celle occupée par l'idiomorphe *MAT1-1*, il contient un seul gène présentant 2 exons et un seul intron de 48 pb (Fig. 21), il se trouve à proximité de 3 autres gènes : Un gène codant pour des protéines semblables à des ADN-lyases, présentes chez *Saccharomyces pombe*, et situé à 5 kb du gène *MAT1-2*, un gène codant pour des protéines semblables à des promoteurs de l'anaphase (APC, pour Anaphase-Promoting Complex), présentes chez *Schizosaccharomyces pombe* et *Saccharomyces pombe*, et situé à 7 kb du gène *MAT1-2*, et un gène codant pour des protéines semblables à des phénylalanine ammonia lyases I (Pall), présentes chez *Aspergillus nidulans* impliquées dans la régulation du pH, et situé à 9 kb du gène *MAT1-2* (Waalwijk *et al.*, 2002).

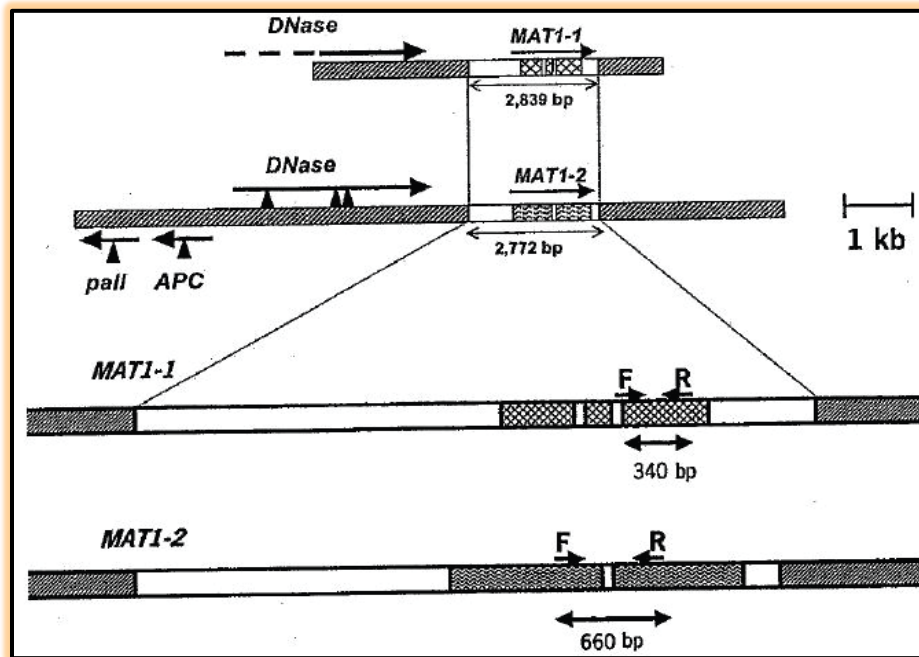


Figure 21 : Structure et organisation des loci *MAT1-1* et *MAT1-2* de *M. graminicola*. Les flèches horizontales indiquent les sens de la transcription. Les triangles présentent la position des introns au niveau des gènes ressemblant aux gènes *pall* (phénylalanine ammonia lyases I), *APC* (promoteurs de l'anaphase) et *DNAase* (ADN lyases). Les flèches avec F et R indiquent la position des amorces utilisées pour l'amplification des fragments *MAT1-1* (340 pb) et *MAT1-2* (660 pb) (Waalwijk *et al.*, 2002)

Debuchy et Turgeon (2006) révèlent que, pour *M. graminicola*, *MAT1-1*, a une taille de 2839 pb et *MAT1-2* a une taille de 2772 pb ; et leurs gènes correspondants sont : *MAT1-1-1* pour le *MAT1-1* et *MAT1-2-1* pour le *MAT1-2*. *Phaeosphaeria nodorum* (forme parfaite de *Parastagonospora nodorum*) a également deux idiomorphes, mais qui ont des tailles plus importantes : 4284 pb pour *MAT1-1* et 4505 pb pour le *MAT1-2*.

2.4.3. Fonctions des idiomorphes MAT

Bien que les rôles des gènes *MAT* soient établis pour un certain nombre de champignons, les difficultés liées à l'obtention du cycle sexué de *M. graminicola* en conditions *in vitro* sont vraisemblablement parmi les principales causes du manque d'informations sur le sujet. Toutefois, l'identification des différents rôles de ces gènes chez les autres champignons Ascomycètes étudiés laisse suggérer par extrapolation leur implication dans les mêmes fonctions au cours du processus de la reproduction sexuée de *M. graminicola* (Siah, 2009). Les rôles et les fonctions des *Mating-types* peuvent être résumés dans les points suivants :

a- Contrôle de la reconnaissance cellulaire : compatibilité

La principale fonction des gènes *MAT* repose sur le contrôle du mécanisme de reconnaissance de la compatibilité par le biais de phéromones lors de la fertilisation, les cellules d'un type sexuel ne répondent positivement qu'à des phéromones du type sexuel opposé (Turgeon, 1998 ; Paoletti *et al.*, 2007 ; Madhani, 2009). Les récepteurs des phéromones sont des protéines transmembranaires ; la détection de phéromones par les récepteurs du type sexuel opposé induit la transcription des gènes permettant la croissance et la différenciation des hyphes mycéliens et leur contact physique, permettant ainsi une interaction des deux *Mating-types* compatibles grâce à des agglutinines spécifiques (Kronstad et Staben, 1997).

b- Contrôle de la formation des dicaryons

Les changements induits dans les thalles compatibles par les hormones sexuelles, lors de la reconnaissance cellulaire (compatibilité), induisent la plasmogamie puis la caryogamie lors du processus de la reproduction sexuée (Kronstad et Staben, 1997 ; Turgeon, 1998). Il a été démontré que des mutants des gènes *MAT* chez certains champignons sont incapables de produire des dicaryons, ce qui démontre l'importance de ces gènes dans la reconnaissance des noyaux et le développement des dicaryons pour ces espèces (Siah, 2009).

c- Contrôle de l'ontogenèse des fructifications sexuées

Plusieurs travaux ont montré le rôle des types sexuels dans la formation des fructifications sexuées chez les champignons (Wirsel *et al.*, 1996 ; 1998 ; Pöggler *et al.*, 1997 ; Arnais *et al.*, 2001 ; Reedy *et al.*, 2009). Wirsel *et al.* (1998) ont pu détecter la présence d'une séquence de 160 pb dans les types sexuels de *Cochliobolus heterostrophus*, indispensable à la formation des périthèces et des ascospores. La délétion de cette séquence, présente chez les deux idiomorphes, chez certains champignons entraîne soit une inhibition complète de la production des périthèces comme est le cas de *Cochliobolus heterostrophus* ou une production très faible des périthèces, comme est le cas de *Podospora anserina*, ce qui permet de déduire que les gènes *MAT* sont impliqués dans la formation et la différenciation des fructifications chez ces champignons. Arnais *et al.* (1993) et Debuchy et Turgeon (2006), révèlent que les gènes des types sexuels des ascomycètes hétérothalliques assurent différentes fonctions, notamment le contrôle de l'étape de la fécondation et les étapes du développement de la fructification.

d- Autres fonctions

Les gènes des types sexuels peuvent accomplir d'autres fonctions, telles que les processus cellulaires (activités métaboliques), la maintenance de l'intégrité des parois cellulaires, et la pathogénicité ou encore la virulence (Lee *et al.*, 1999 ; Aronstein *et al.*, 2007). Zhan *et al.* (2007a) ont mis en évidence la présence de phéromones sexuels chez *M. graminicola* et ils ont signalé que, l'analyse biochimique de la phéromone du *MAT1-1* a révélé qu'il s'agit d'un petit peptide, auquel peut être attribuée la pathogénicité élevée de ce type sexuel (de 14 à 22 % plus élevée que celle de *MAT 1-2*), car il a été rapporté que des phéromones dépourvues de ce peptide inhibent la formation des appressoria chez certains champignons phytopathogènes. Samils *et al.* (2013) ont démontré que les gènes du locus *MAT* sont impliqués dans l'expression des gènes liés au sexe, et ils assurent la régulation des voies permettant la détermination de l'identité cellulaire (formation de cellule mâle ou cellule femelle) chez le champignon ascomycète filamenteux *Neurospora tetrasperma*, et ils ont conclu que ces gènes sont responsables de l'élaboration du phénotype des individus (phénotype des types sexuels), et donc des valeurs de leur *fitness*, et par conséquent, ils ont déduit que, le dimorphisme sexuel qui caractérise les animaux et les plantes, existe également chez les champignons. Aussi, les gènes *MAT* peuvent intervenir dans le contrôle de la senescence (Coppin *et al.*, 1997), et la fertilité des individus (Lee *et al.*, 2003).

La connaissance des caractéristiques des idiomorphes *MAT* a été largement exploitée dans le domaine de la phylogénie des champignons et l'évolution des espèces (Coppin *et al.*, 1997 ; Kronstad et Staben, 1997 ; Turgeon, 1998 ; Debuchy et Turgeon, 2006).

2.4.4. Fréquences et distributions des *Mating-types*.

Outre leur implication dans la reproduction sexuée à l'échelle de l'individu, les idiomorphes *MAT* jouent aussi un rôle crucial à l'échelle de la population. Zhan *et al.* (2002) révèlent que, l'évolution et la biologie des populations des champignons hétérothalliques sont fortement liées à la distribution géographique des *Mating-types*. Depuis la caractérisation des idiomorphes *MAT* de *M. graminicola*, un certain nombre de travaux ont été consacrés à la distribution des types sexuels de ce pathogène, et ce à différentes échelles (Mondiale, Continent, pays, région, champ, feuille, lésion et pycnide).

Les travaux réalisés (Zhan *et al.*, 2003 ; Komijani *et al.*, 2009 ; Siah, 2009 ; Siah *et al.*, 2010a) ont noté une distribution plus ou moins égales des deux idiomorphes *MAT*, et ce aux différentes échelles testées, ce qui confirme l'hypothèse nulle du rapport 1:1, avec quelques exceptions dans certains travaux, qui ont attribué l'inégalité de la distribution des deux idiomorphes soit à un échantillonnage insuffisant, soit à d'autres facteurs liés à l'expérimentation ou à l'analyse des résultats. La distribution égale des *Mating-types* a été également notée chez d'autres champignons, notamment, *Mycosphaerella fijiensis* (Queiroz *et al.*, 2010), *Pyrenophora teres* (Rau *et al.*, 2005) et *Ascochyta rabei* (Barve *et al.*, 2003).

2.5. Diversité génétique et structure des populations des champignons phytopathogènes

2.5.1. Définition

La diversité génétique ou « diversité au sein des espèces » correspond à la diversité des gènes au sein d'une espèce d'êtres vivants. Il s'agit de la variabilité qui existe entre les populations de chaque espèce, et à l'intérieur de chaque population, entre les individus qui la composent (Glowka *et al.*, 1996). Cette variabilité est l'une des sources de la réponse des populations et espèces aux variations de l'environnement. C'est pourquoi, pour une espèce donnée, une forte variabilité intra spécifique est assimilée à une grande probabilité de présenter

les potentialités génétiques indispensables pour répondre à une variation de l'environnement. En d'autres termes, il ne peut y avoir évolution s'il n'y a pas de variabilité. La description de la variation génétique dans une population est une donnée fondamentale des études de biologie évolutive et elle est nécessaire pour expliquer l'origine et le maintien de cette variation et pour en prédire les conséquences évolutives (Le Guyader, 2008).

2.5.2. Mécanismes générateurs de la variabilité et la diversité génétique des agents pathogènes

Le milieu de vie de la plupart des êtres vivants constitue un environnement variable, auquel les organismes doivent s'adapter pour survivre. Abadie (2007) rapporte que, le succès reproductif d'un individu face à l'ensemble des pressions sélectives qui s'appliquent est désigné par : *Le fitness*. Dans le cas de pressions sélectives biotiques et abiotiques variables, les êtres vivants peuvent acquérir de nouveaux caractères génotypiques et/ou phénotypiques leur conférant ou pas un avantage sélectif. Le *fitness* est un trait adaptatif héritable puisque basé sur un déterminisme génétique. Sa transmission au cours des générations conditionne l'évolution de la résistance au sein des populations. En épidémiologie, le *fitness* est assimilé à la « *compétitivité* », capacité de survivre et à se multiplier. La dérive génétique, l'apparition de nouvelles mutations, et la variation des pressions de sélection biotiques ou abiotiques conduisent à l'obtention d'individus de *fitness* différents au sein d'une même espèce de champignons, et peut entraîner même l'apparition de nouvelles espèces. La faculté d'adaptation des microorganismes aux contraintes imposées par l'homme et par le milieu traduit leur importante flexibilité génétique, et la rapidité de réaction des champignons aux pressions de sélection est le reflet d'un important polymorphisme des populations. De ce fait, la structure des populations et leur dynamique peuvent avoir une grande influence sur le développement des maladies. La variabilité existant au sein des populations de champignons parasites peut être générée, maintenue ou modifiée par différents mécanismes (Lourd, 1995) :

- Les mécanismes biologiques propres à ces microorganismes, tels que la reproduction sexuée, la parasexualité et la mutation, qui sont à l'origine de recombinaisons génétiques.
- Les pressions de sélection extérieures, induites par la plante-hôte, par le milieu, ou résultant de flux de gènes entre populations parasites, qui modifient la structure des populations en sélectionnant les caractères selon leurs aptitudes à se maintenir dans des conditions déterminées.

a- La sexualité

Chez les champignons pathogènes, la sexualité, lorsqu'elle existe, peut présenter des caractéristiques extrêmement variées, et ses conséquences sur la structure des populations sont difficiles à évaluer, en particulier chez les champignons qui possèdent également une reproduction asexuée. La reproduction sexuée peut intervenir de façon extrêmement variable selon les microorganismes et les conditions dans lesquelles se développe la maladie (Lourd, 1995). La méiose qui s'opère au cours de la reproduction sexuée peut être à l'origine de la diversité génétique de la progéniture chez les champignons pathogènes (Reedy *et al.*, 2009).

b- La parasexualité

Elle constitue un mécanisme de recombinaison privilégié chez les champignons pathogènes dépourvus de reproduction sexuée connue (champignons imparfaits), et favorise l'apparition de nouvelles sources de virulence chez ces champignons (McDonald *et al.*, 1989).

c- Les mutations

La mutation est la modification spontanée d'un état allélique en un autre, par différents mécanismes : substitutions nucléotidiques, délétions, insertion, inversions chromosomiques et translocations chromosomiques (Leblois, 2009). Elle constitue la source fondamentale de la variation génétique au sein des populations des pathogènes (McDonald *et al.*, 1989).

d- La pression de sélection due à l'hôte

La présence ou l'absence de gènes de résistance chez l'hôte affecte le *fitness* des pathogènes et peut être à l'origine de changements de virulence dans les populations parasites (McDonald *et al.*, 1989 ; Brown, 2006).

e- Les flux géniques liés aux migrations

Les flux géniques sont extrêmement importants chez les champignons pathogènes, soit du fait de la migration des propagules emportées par le vent, ou par tout autre véhicule naturel, soit du fait de migrations provoquées par l'homme. Ils conditionnent la dispersion de nouveaux facteurs de virulence ou de caractères de résistance aux fongicides entre les populations parasites. Les flux de gènes jouent un rôle très important dans la structure et l'évolution des populations, bien que les échanges de matériel génétique ne soient pas une règle entre individus des anciennes et des nouvelles populations (Lourd, 1995).

f- La dérive génétique

Selon McDonald *et al.* (1989), parmi les facteurs qui interviennent dans la diversité des populations, figure la dérive génétique, qui reflète les fluctuations des fréquences des gamètes et des gènes dans les populations. La dérive génétique est inversement proportionnelle à la taille de la population, elle est exprimée par : $1/2N$ (N = taille de la population), elle est donc importante dans les populations de petite taille et faible dans les populations de grande taille, et elle dépend également du taux des recombinaisons.

2.5.3. Méthodes d'analyse de la diversité génétique des populations

Un grand nombre de marqueurs phénotypiques et génotypiques permettent de caractériser les champignons pathogènes et d'évaluer la diversité génétique au sein des populations :

2.5.3.1. Les marqueurs morphologiques

Leur analyse présente plusieurs inconvénients majeurs dont le premier est qu'elle est limitée aux microorganismes qui peuvent être cultivés sur milieu synthétique. D'autre part, ces caractères sont extrêmement variables chez de nombreux champignons, ce qui limite la portée de leur signification dans la détermination des structures de populations ; et d'une manière générale, ces caractères ne peuvent pas faire l'objet d'une analyse génétique précise, les gènes impliqués dans leur expression étant beaucoup trop nombreux (Lourd, 1995).

2.5.3.2. Les caractères de virulence

La virulence est le marqueur le plus largement utilisé pour caractériser les champignons pathogènes, la méthode la plus simple étant l'inoculation sur une gamme d'hôtes portant différents facteurs de résistance. Plus le nombre de gènes de résistance identifiés est important, plus le potentiel de caractérisation des facteurs de virulence est grand et plus l'analyse de la structure pathogénique de la population étudiée sera précise. Toutefois, un des inconvénients majeurs de ces marqueurs est qu'il ne peut être utilisé que dans le cas de relations hôte/parasite de type gène-pour-gène, connues et identifiées, et même dans ces cas, il n'est pas toujours possible de disposer d'hôtes différentiels permettant de caractériser tous les facteurs d'avirulence. L'analyse se trouve donc être restreinte à quelques gènes qui ne donneront pas nécessairement une bonne évaluation du niveau de polymorphisme au sein de la population étudiée (Lourd, 1995). Selon McDonald *et al.* (1989), ce paramètre, utilisé seul, pour l'identification des isolats, n'apporte pas des informations précises sur la diversité de la

population, du fait, d'une part, des difficultés de l'expérimentation qui limitent le nombre d'isolats testés, et d'autre part, ce paramètre n'est pas nécessairement corrélé à la variabilité génétique du génome complet.

2.5.3.3. La compatibilité végétative

La compatibilité végétative représente l'aptitude de deux thalles d'origine différente à former un hétérocaryon stable, en dehors de toute compatibilité sexuelle. La compatibilité est dite allélique, lorsque deux individus compatibles possèdent les mêmes allèles à tous les loci de compatibilité. Ceux-ci peuvent être plus ou moins nombreux, selon les espèces. La compatibilité végétative est un marqueur intéressant pour déterminer le niveau de polymorphisme des populations (Lourd, 1995).

2.5.3.4. Les marqueurs moléculaires

Les marqueurs moléculaires utilisés pour étudier le polymorphisme sont des loci présentant plusieurs allèles (de 2 à beaucoup), qui vont servir de balises le long des chromosomes. Ce sont rarement des gènes, mais tous se transmettent entre générations comme des gènes (Camus, 2008). Deux types de marqueurs peuvent être utilisés pour l'étude du polymorphisme : les marqueurs enzymatiques et les marqueurs génomiques (Lourd, 1995) :

A- Analyse du polymorphisme enzymatique

L'étude du polymorphisme enzymatique par électrophorèse a été très largement employée pour un grand nombre d'organismes vivants, mais ce n'est que depuis les années 70 que cette méthode a été généralisée aux champignons phytopathogènes. La molécule protéique présente une charge globale qui lui permet de migrer dans un champ électrique. La migration conduit à séparer les molécules en fonction de leur charge et de leur taille. Toute modification dans la séquence des acides aminés qui altère l'une de ces deux caractéristiques doit donc être identifiable par électrophorèse. L'analyse du polymorphisme des protéines s'est surtout orientée vers les enzymes plus faciles à identifier du fait de leur activité spécifique. Pour une activité enzymatique donnée, il est possible de déterminer le nombre d'allèles présents au locus considéré, donc d'identifier dans une population, les différents individus selon les allèles qu'ils possèdent (Lourd, 1995).

a- Types de polymorphismes génétiques

* **Translocation** : Echange de matériel chromosomique entre des chromosomes différents.

* **Fission** : Fission d'un chromosome pour donner deux.

- Transversion : **A** $\rightarrow$ **C** ou **T** et **G** $\rightarrow$ **C** ou **T**

b- Méthodes moléculaires d'analyse du polymorphisme génomique

➤ **La Technique RFLP** (**R**estriction **F**ragment **L**ength **P**olymorphism = Polymorphisme de longueur des Fragments de restriction). Plusieurs auteurs ont utilisé cette technique pour étudier la diversité de *M. graminicola*. Le principe de cette méthode est détaillé en Annexe 1. Les RFLP sont les marqueurs qui ont été le plus utilisé pour l'étude des populations de *M. graminicola* (McDonald et Martinez, 1991a ; McDonald *et al.*, 1995 ; 1996 ; Zhan *et al.*, 2001 ; 2004 ; 2005 ; 2006).

➤ **Les marqueurs RAPD** (**R**andomly **A**mplified **P**olymorphic **D**NA : ADN Polymorphe Amplifié au hasard). La technique RAPD (Annexe 1), utilise le principe de la PCR (Polymerase Chain Reaction) pour amplifier au hasard des séquences de l'ADN. Plusieurs auteurs ont utilisé ces marqueurs pour étudier les populations de *M. graminicola* (Razavi, 2003 ; Razavi et Hughes, 2004).

➤ **Les marqueurs AFLP** (**A**mplified **F**ragment **L**ength **P**olymorphism = Polymorphisme de la longueur du fragment amplifié). Ces marqueurs (Annexe 1) ont été utilisé par plusieurs auteurs (Schnieder *et al.*, 2001; Kabbage, 2007 ; Kabbage *et al.*, 2008 ; 2009).

➤ Les EST et SNP

La séquence d'un locus est la plus informative dans la mesure où elle permet de révéler l'ensemble des mutations sur une zone donnée. Depuis quelques années, le séquençage systématique de marqueurs de séquences exprimées (**EST**, *Expressed Sequence Tags*), correspondant aux gènes exprimés d'une espèce donnée est de plus en plus fréquent. La présence de polymorphisme au sein de ces marqueurs, majoritairement due à la présence de mutations ponctuelles ou **SNP** (*Single Nucleotide Polymorphism*), est appelée *Expressed Sequence Tag Polymorphism* (**ESTP**). Ce type de marqueur (Annexe 1) a été utilisé par Keon *et al.* (2005) pour étudier les caractéristiques génétiques de *M. graminicola*.

➤ Les microsatellites

Sur le génome des êtres vivants, il existe des séquences constituées d'unités répétées, le plus souvent, de 1 à 4 nucléotides. Ces séquences répétées en tandem ou SSR (**S**imple **S**equences **R**epeats) portent le nom de microsatellites, et leur intérêt réside dans leur polymorphisme qui peut être relié à la variation du nombre d'unités de répétition, constituant le microsatellite. Les

microsatellites ont tendance à être hautement polymorphes et sont faciles à marquer comparés aux autres, qui prennent plus de temps (Selkoe et Toonen, 2006). Ces marqueurs ont été utilisés dans plusieurs études épidémiologiques des champignons phytopathogènes, tels que *Venturia inaequalis* (Guérin *et al.*, 2007), *Ustilago scitaminea* (Raboin *et al.*, 2007), *Mycosphaerella fijiensis* (Robert *et al.*, 2012), *Pyrenophora tritici-repentis* (Gurung *et al.*, 2013), *Puccinia striiformis* (Liu *et al.*, 2007). Les marqueurs microsatellites, ont été utilisés dans cette étude, et seront détaillés dans le chapitre 4 de cette thèse.

➤ La technique SSCP

Le polymorphisme de conformation du simple brin d'ADN (SSCP : Single-Stranded Conformation Polymorphism) est une technique de séparation par électrophorèse de molécules d'ADN simples brins dans un gel d'acrylamide non dénaturant de l'ADN. Elle a été mise au point par Orita *et al.* (1989) et a été décrite pour la première fois par Hayashi (1991). Le SSCP peut distinguer deux séquences d'ADN très similaires, uniquement sur la base de la forme particulière de leurs structures simple brin. En principe, même deux allèles du même gène peuvent alors être discriminés (Hayashi, 1992). Il est capable d'identifier la majorité des variations de séquence du simple brin d'ADN de longueur typique, de 150 à 250 nucléotides (Humphries *et al.*, 1997), au-delà de cette taille la méthode devient insensible à certaines mutations. Le SSCP semble mieux fonctionner pour de petites insertions et/ou délétions (Hayashi, 1992). Camus (2008) signale que, pour être informatifs, il faut que les marqueurs polymorphes soient poly-alléliques et que chaque allèle soit bien représenté : Si sur 6 allèles, un allèle représente 98 %, la majorité de la population sera homozygote pour cet allèle. La technique SSCP est la technique utilisée dans cette étude, et elle sera détaillée dans le chapitre 4 de la thèse.

2.6. La diversité au sein des populations de *M. graminicola*

La diversité génétique des populations des agents pathogènes reflète leurs capacités d'adaptation aux fluctuations de l'environnement, généralement, une population plus diversifiée s'adapte mieux, qu'une population à faible diversité (McDonald *et al.*, 1989). La diversité de *M. graminicola* a été étudiée à différentes échelles : à l'échelle de la lésion, celle du champ, celle de la région et celle du continent (Chen et McDonald, 1996 ; Zhan *et al.*, 1998 ; 2003 ; Linde *et al.*, 2002). L'analyse de la diversité au sein d'une lésion permet de déduire les interactions génétiques pouvant se produire entre les isolats d'une même lésion, alors que l'étude de la

diversité à l'échelle d'un champ, d'une région ou d'un continent permet de connaître, la différenciation entre les populations, le flux de gènes et la diversité génétique des populations (Linde *et al.*, 2002).

- Au niveau de la lésion

Plusieurs travaux ont traité la diversité de *M. graminicola* à l'échelle de la lésion et même de la pycnide. La majorité de ces travaux ont mis en évidence la diversité génétique de ce pathogène au niveau d'une même lésion. Linde *et al.* (2002) ont noté la présence de 2 à 6 génotypes différents par lésion et ils signalent, qu'une importante diversité génétique, au niveau d'une lésion, peut être expliquée par un inoculum primaire génétiquement diversifié, ou par plusieurs inoculations successives avant l'apparition des premiers symptômes. Cependant, une importante diversité génétique au sein d'une même lésion peut être à l'origine de l'apparition de souches plus virulentes suite aux phénomènes de compétitions (Linde *et al.*, 2002).

- Au niveau de la parcelle et du champ

Kabbage *et al.* (2008), ont étudié la diversité de *M. graminicola* à différentes échelles dans la région du Kansas, en analysant par AFLP 476 isolats : 126 isolats provenant de petites parcelles de 1 m² ; 195 isolats provenant de champs situés dans différentes régions et ayant une superficie >10 ha (distance entre les isolats collectés étant, environ 10 m), et 155 isolats provenant de différentes régions. Les résultats obtenus ont montré que la diversité génétique existe aux différentes échelles. La diversité génotypique était de l'ordre de 75 % dans les micro-parcelles (1 m²), et de 80 % dans les macro-parcelles (superficie > 10 ha). Les auteurs expliquent la diversité élevée au sein des micro-parcelles de 1 m², malgré la dispersion à faible distance des conidiospores, par le fait que l'échantillonnage a été effectué au début de la saison et l'inoculum primaire est constitué d'ascospores, ce qui confirme le rôle de la reproduction sexuée dans la diversité génétique de la population. Linde *et al.* (2002) ont noté que 89 à 98 % de la diversité génétique de *M. graminicola* est présente dans les parcelles de 1 m² et les parcelles de grandes tailles sont moins diversifiées, et 77 % de la diversité se trouvent à l'intérieur des parcelles (de 1 à 36 m²), et 17 % seulement de la diversité se trouve entre les parcelles du même champ. Razavi et Hughes (2004) ont trouvé une diversité de 88 % dans des parcelles de 1 m².

- Au niveau de la région

Kabbage *et al.* (2008), ont trouvé une diversité de 81 % au niveau de la région de Kansas, et Kabbage *et al.* (2009), en analysant la diversité génétique de deux populations de *M. graminicola*, provenant du Kansas et de la Californie, ils ont noté une diversité génétique de 100 % pour la région du Kansas et 68,25 % de diversité génétique dans la Californie. Zhan *et al.* (2003) ont analysé par RFLP, 1673 isolats de *M. graminicola* provenant de 17 champs de blé répartis dans 11 pays dans les cinq continents, ils ont trouvé 1327 génotypes différents, représentant une diversité génétique totale d'environ 80 % ; cependant 80% de cette diversité est trouvé dans des parcelles de 1 à 9 m², environ 12 % de la diversité est notée au niveau des champs, alors qu'une diversité d'environ 5 % seulement est notée entre les champs d'une même région.

- Au niveau des continents

La diversité génétique de *M. graminicola* entre les continents a fait également l'objet de quelques travaux (Linde *et al.*, 2002 ; Zhan *et al.*, 2003), les résultats obtenus s'accordent sur le fait que le flux de gènes qui s'opère entre les différents continents, par échanges de graines ou de paille contaminés, est à l'origine de cette diversité. Cependant, cette diversité est faible, ce qui reflète bien l'importance du flux de gènes à l'intérieur du même continent, par rapport à celui entre les continents. Zhan *et al.* (2003) ont trouvé une diversité d'environ 3 % seulement entre les continents.

Chapitre III :

Modalités de lutte utilisées contre la tache septorienne des feuilles du blé

Chapitre 3. Modalités de lutte utilisées contre la tache septorienne des feuilles du blé

Si on considère la grande diversité des pathogènes, un programme de lutte où seront combinées des méthodes complémentaires, capables de mener la maladie à un seuil négligeable ou acceptable serait nécessaire. Par ailleurs, l'intégration des divers moyens de lutte dans des proportions respectives dépendra du système hôte pathogène en question. Dans un programme de lutte intégrée contre les maladies cryptogamiques, trois composantes essentielles doivent être combinées : la résistance de l'hôte, l'utilisation des fongicides et les pratiques culturales (Sebei, 2009).

3.1. La lutte culturale

Les techniques culturales influencent de façon considérable le degré d'infestation par les maladies. La réussite d'un programme de contrôle exige une bonne gestion de toutes les phases de la production d'une culture et consiste en la sélection et l'utilisation de techniques appropriées pour ramener la maladie à un seuil tolérable. Plusieurs pratiques sont recommandées, pour lutter contre la septoriose du blé :

3.1.1. Utilisation du mélange variétal

L'utilisation de mélanges de variétés dans la gestion des maladies peut être une étape clef de la lutte intégrée (Wolfe, 1985 ; Jackson et Wennig, 1997 ; Mundt *et al.*, 2002 ; Wolfe *et al.*, 2008 ; Mikaberidze *et al.*, 2014). Cependant, dans le cas de *M. graminicola*, le mélange variétal peut augmenter, diminuer ou ne pas avoir d'effets sur l'incidence de la maladie, et il est souvent inefficace sur la réduction de la maladie pour deux raisons : d'une part, à cause de son faible effet sur les champignons qui se propagent par éclaboussure de pluie, et pour lesquels les propagules secondaires tombent dans la majorité des cas sur l'hôte d'origine, et d'autre part, le mélange de variétés est inefficace si l'inoculum primaire est très abondant et bien réparti dans l'espace (Cowger et Mundt, 2002a).

3.1.2. Utilisation de variétés résistantes

L'utilisation des variétés résistantes est l'une des approches fondamentales pour réduire l'impact des maladies (Selim *et al.*, 2010), cependant, la recherche de cultivars résistants est une procédure plus ou moins délicate et doit prendre en considération tout les facteurs impliqués dans l'installation et le développement de la maladie, car, la réponse de l'hôte peut être

hautelement influencée par le génotype, le phénotype et le stade végétatif (Martinek *et al.*, 2013), et elle est trop affectée par l'environnement. Le blé dur semble être plus résistant à la septoriose par rapport au blé tendre (Rosielle, 1972). Plusieurs auteurs ont démontré qu'il existe une relation étroite entre la phénologie de l'hôte et sa résistance à la septoriose, et ils ont signalé que les gènes qui contrôlent les caractères phénotypiques (hauteur des plantes), et les caractères physiologiques de croissance (vernalisation, photopériode et tardivité) sont entremêlés avec les facteurs génétiques qui contrôlent la résistance à la septoriose (*Z. tritici*). Les cultivars les plus tardifs et à paille haute sont les plus résistants (Rosielle et Brown, 1979 ; Giego *et al.*, 2004a ; Simon *et al.*, 2004a ; Kollers *et al.*, 2013).

La résistance du blé à la septoriose peut être à la fois Race-spécifique ou non Race-spécifique (Brown *et al.*, 2001 ; 2015 ; Jing *et al.*, 2008). La résistance Race-spécifique (différentielle, verticale) est détectée au stade plantule et persiste durant tous les stades de développement de la plante ; elle est presque complète, monogénique et fait intervenir la relation gène-pour-gène (Van der Plank, 1963 ; Somasco *et al.*, 1996 ; Brading *et al.*, 2002 ; Hysing, 2007), et elle assure une protection contre les isolats avirulents du pathogène (Arraiano *et al.*, 2001 ; McCartney *et al.*, 2002). Par contre, la résistance non Race-spécifique (horizontale, non différentielle) est détectée sur des plantes adultes, elle est partielle, polygénique et fait intervenir plusieurs « gènes mineurs » qui s'expriment quantitativement : elle est contrôlée par des QTLs : **Quantitative Traits Loci** (Zhang *et al.*, 2001 ; Chartrain *et al.*, 2004a ; Simon *et al.*, 2004). Plusieurs travaux ont été entrepris afin d'identifier les sources de résistance du blé à la septoriose (Arraiano *et al.*, 2001a ; 2005 ; 2007 ; 2009 ; Mazouz *et al.*, 2002 ; McCartney *et al.*, 2003 ; Chartrain *et al.*, 2004 ; Adhikari *et al.*, 2005 ; Jing *et al.*, 2007 ; Simon *et al.*, 2007 ; Ali *et al.*, 2008 ; Ghaffary *et al.*, 2008 ; 2009 ; Ghaffary, 2011 ; Goodwin, 2012 ; Kelm *et al.*, 2012 ; Liu *et al.*, 2012 ; Deihimi *et al.*, 2013), 18 gènes conférant la résistance à cette maladie ont été identifiés, en plus d'un certain nombre de QTLs (Tab. 06). Castro *et al.* (2008) ont pu identifier 09 QTLs, localisés au niveau du chromosome 6A (6AS), impliqués dans la résistance du blé aux stress biotiques et abiotiques. Parmi les gènes *Stb* identifiés, le gène *Stb6* semble être le plus répandu à travers le monde (Chartrain *et al.*, 2005b ; Arraiano et Brown, 2006). Cependant, même avec l'identification de plusieurs sources de résistance, les mécanismes de la résistance à la septoriose ne sont pas encore bien maîtrisés (Shetty *et al.*, 2003), en plus, la variabilité pathogénique de ce pathogène, lui conférant l'adaptation, et les capacités élevées à détourner la résistance de l'hôte, sont des aspects, qui représentent les difficultés rencontrées dans un

programme d'amélioration visant la résistance à la septoriose (Cowger *et al.*, 2000). Altpeter *et al.* (2005), révèlent que, des promoteurs épidermiques de la résistance aux maladies foliaires chez les céréales ont été développés pour limiter la pénétration des agents pathogènes.

Tableau 06 : Gènes majeurs et QTLs (Quantitative Traits Loci) conférant la résistance à la septoriose chez le blé

Les gènes			Les QTLs		
Locus	Localisation chromosomique	Références	Locus	Localisation chromosomique	Références
<i>Stb1</i>	5BL	Adhikari <i>et al.</i> (2004)	<i>QStb.ipk-1D</i>	1DS (plantules)	Simon <i>et al.</i> (2004)
<i>Stb2</i>	3BS	Adhikari <i>et al.</i> (2004b)	<i>QStb.ipk-2D</i>	2DS (plantules)	Simon <i>et al.</i> (2004)
<i>Stb3</i>	6DS	Adhikari <i>et al.</i> (2004b)	<i>QStb.ipk-3D</i>	3DL (plantes adultes)	Simon <i>et al.</i> (2004)
<i>Stb4</i>	7DS	Adhikari <i>et al.</i> (2004a)	<i>QStb.ipk-6B</i>	6BS (plantules)	Simon <i>et al.</i> (2004)
<i>Stb5</i>	7DS	Arraiano <i>et al.</i> (2001)	<i>QStb.ipk-7B</i>	7BL (plantes adultes)	Simon <i>et al.</i> (2004)
<i>Stb6</i>	3AS	Brading <i>et al.</i> (2002)	<i>QStb.risø-2B</i>	2BL	Eriksen <i>et al.</i> (2003)
<i>Stb7</i>	4AL	McCartney <i>et al.</i> (2002)	<i>QStb.risø-3A.1</i>	3AS	Eriksen <i>et al.</i> (2003)
<i>Stb8</i>	7BL	Adhikari <i>et al.</i> (2003)	<i>QStb.risø-3A.2</i>	3AS	Eriksen <i>et al.</i> (2003)
<i>Stb9</i>	2BL	Chartrain <i>et al.</i> (2009)	<i>QStb.risø-3B</i>	3BL	Eriksen <i>et al.</i> (2003)
<i>Stb10</i>	1D	Chartrain <i>et al.</i> (2005a)	<i>QStb.risø-6B.1</i>	6B	Eriksen <i>et al.</i> (2003)
<i>Stb11</i>	1BS	Chartrain <i>et al.</i> (2005)	<i>QStb.risø-6B.2</i>	6B	Eriksen <i>et al.</i> (2003)
<i>Stb12</i>	4AL	Chartrain <i>et al.</i> (2005a)	<i>QStb.psr-6B-1</i>	6B	Chartrain <i>et al.</i> (2004a)
<i>Stb13</i>	7BL	Cowling <i>et al.</i> (2006)	<i>QStb.risø-7B</i>	7B	Eriksen <i>et al.</i> (2003)
<i>Stb14</i>	3BS	Cowling <i>et al.</i> (2006)	<i>QStb.ipk-7D1</i>	7D (plantules)	Simon <i>et al.</i> (2010)
<i>Stb15</i>	6AS	Arraiano <i>et al.</i> (2007a)	<i>QStb.ipk-7D2</i>	7DS (plantes adultes)	Simon <i>et al.</i> (2010)
<i>Stb16</i>	3DL	Ghaffary <i>et al.</i> (2012)			
<i>Stb17</i>	5AL	Ghaffary <i>et al.</i> (2012)			
<i>Stb18</i>	6DS	Ghaffary <i>et al.</i> (2011)			

3.1.3. Bonne gestion de l'itinéraire technique

La dose de semis, la fertilisation adéquate, la propreté de la parcelle ou du champ, et la rotation prolongée, sont également des facteurs qui doivent être maîtrisés afin de réussir un programme de lutte contre la septoriose (Mann *et al.*, 2004 ; Ansar *et al.*, 2010).

3.2. La lutte biologique

Des bactéries du genre *Pseudomonas*, et *Bacillus* sont reconnues comme étant antagonistes de quelques pathogènes des plantes (Levy *et al.*, 1989; Blum, 2000 ; Ganeshan et Kumar, 2005 ; Gautam, 2010). Deux isolats de *Pseudomonas spp.* LEC1 et LEC2, isolés à partir du sol cultivé en blé, se sont montrés capables d'inhiber le développement de *M. graminicola* (97.4 % et 92.3 % respectivement) et *Puccinia recondita* (85 à 98 %) sur les feuilles de blé, et de supprimer *in vitro* le développement de plusieurs champignons phytopathogènes, notamment, « *Septoria tritici* », *Geotrichum candidum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* (Levy *et al.*, 1988). *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* et *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, ont montré également des effets antagonistes contre « *S. tritici* » mais à des degrés faibles (Levy *et al.*, 1988). Kildea *et al.* (2008) ont testé *Bacillus megaterium* pour contrôler la septoriose du blé et ont rapporté que cette bactérie est capable de retarder dans 80% des cas le développement de la septoriose. Levy *et al.* (1988) rapportent que, le phénomène d'inhibition de la septoriose par les bactéries, peut être lié en partie à la capacité de ces agents de produire des composés inhibiteurs du développement des champignons pathogènes. La souche LEC 1 de *Pseudomonas sp.*, produit des substances antibiotiques telles que la chlororaphine et le 1-hydroxyphenazine (phOH), ce dernier, appliqué à la dose de 160 mg/L sur des plantules de blé a diminué l'infection par la septoriose (*S. tritici*) de 61 % et celle de la rouille brune (*Puccinia recondita*) de 75 % (Levy *et al.*, 1989). La bactérie *Pseudomonas fluorescens* PFM2 produit des composés ayant des activités antibiotiques contre « *S. tritici* » et autres champignons et bactéries phytopathogènes (Levy *et al.*, 1992 ; Carmi *et al.*, 1994).

De même, une souche de *Pseudomonas putida*, BK8661, isolée des feuilles de blé, ainsi qu'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* LEC1, inhibent le développement de *M. graminicola*, en produisant des antibiotiques, des sidérophores, et des cyanides d'hydrogène (Flaishman et Eyal, 1990 ; Flaishman *et al.*, 1990 ; 1996).

Certaines levures ont montré également des effets d'antagonisme contre les champignons pathogènes foliaires des céréales, c'est le cas de : *Aureobasidium* sp., *Sporobolomyces* sp. et *Cryptococcus* sp.. Il a été démontré que ces agents ont diminué de 50 % l'infection du blé par *Septoria nodorum* (Gautam, 2010). Fokkema et Van Der Meulen (1976) ont signalé que la présence de certaines levures saprophytes (*Aureobasidium pullulans*, *Sporobolomyces roseus* et *Cryptococcus laurentii*) dans la phyllosphère de *S. nodorum* exerce une forte compétition entre ces organismes, et la croissance de *S. nodorum* se trouve fortement affectée, la croissance du mycélium et le pourcentage des surfaces nécrosées sont très faibles.

L'interaction *M. graminicola*-autres champignons a été également étudiée. Kandula *et al.*, (2015) signalent que les champignons du genre *Trichoderma*, ont montré une bonne efficacité contre plusieurs agents phytopathogènes telluriques. Perello *et al.* (2006), ont testé l'efficacité de *Trichoderma harzianum* et *T. koningii*, contre *M. graminicola*, et ils ont noté une réduction de l'incidence de ce pathogène, allant de 12 à 53 % suivant les cultivars. Cordo *et al.* (2007) révèlent que *Trichoderma* sp. stimulent la résistance du blé contre *M. graminicola*. Nolan et Cooke (2000), ont noté des résultats similaires en utilisant le champignon *Drechslera teres*, agent pathogène de l'orge. Ces auteurs ont suggéré que *M. graminicola* est sensible à la présence d'autres microorganismes, particulièrement sur des cultivars sensibles. La compétition a été observée, non seulement entre *M. graminicola* et autres espèces de champignons, mais aussi entre des isolats différents de ce même pathogène (Zelikovitch et Eyal, 1991 ; Eyal, 1992 ; Halperin *et al.*, 1996). Zelikovitch et Eyal (1991) et Eyal (1992) ont noté que l'inoculation des plantules de blé avec un mélange d'isolats de « *S. tritici* » réduit la couverture pycnidiennne des feuilles en comparaison à des plantules inoculées par des isolats séparés. Les mêmes résultats ont été obtenus par Schürch et Roy (2004), qui ont signalé que la compétition entre différents génotypes de *M. graminicola* réduit la virulence et l'agressivité de ce pathogène. D'autre part il a été démontré que la présence de *M. graminicola* sur feuilles de blé réduit considérablement le développement de l'oïdium, *B. graminis* (Orton *et al.*, 2011).

3.3. La lutte chimique

L'absence de résistance durable chez la majorité des variétés de blé (Fraaije *et al.*, 2005), la variabilité pathogénique et les capacités élevées d'adaptation et de détournement des résistances de l'hôte, de *M. graminicola* (Cowger *et al.*, 2000), ainsi que les difficultés associées à la mise en place d'un programme de lutte biologique en pathologie végétale (Leadbeater et

Gisi, 2009), ces facteurs font que, le contrôle de *M. graminicola*, repose essentiellement sur la lutte chimique (De Wolf, 2008 ; Knight et Turner, 2009). Les fongicides utilisés, appartiennent à différentes familles chimiques ; ils peuvent avoir une action préventive ou curative, de contact ou systémiques. Cependant, la dose et le nombre d'application ainsi que les périodes des traitements fongiques sont les étapes clefs de la réussite de tout programme de lutte, visant la protection adéquate de la culture, et la réduction du développement de souches résistantes (Paveley *et al.*, 2000 ; 2003 ; Metcalfe *et al.*, 2000a).

L'usage raisonné des fongicides est basée sur une bonne connaissance des bioagresseurs, grâce à des réseaux de surveillance spécifiques, et la conception d'outils d'aide à la décision (OADs). Selon Mackels (2009) et Penaud *et al.* (2011), pour la septoriose du blé, ces OADs reposent, sur plusieurs paramètres, notamment : (i) les tests précoces de diagnostic moléculaire, qui permettent une prédiction du développement ultérieur des symptômes, (ii) la conception de modèle épidémiologique, permettant de se rapprocher du positionnement idéal du premier traitement fongicide, et (iii) la modélisation des interactions Hôte X agents pathogènes du blé décrivant l'évolution de la plante et permettant d'évaluer l'impact d'une maladie sur le couvert végétal.

3.3.1. Les fongicides multi-sites

Les multi-sites sont les molécules les plus anciennes, utilisées pour le contrôle de *M. graminicola*. Ils interagissent avec de nombreux systèmes enzymatiques (enzymes de la glycolyse, du cycle de Krebs et de la chaîne respiratoire), et altèrent les mécanismes impliqués dans la production d'énergie, la consommation d'oxygène et le catabolisme des substances de réserve des spores. Leur action par contact, ne permet que l'inhibition de la germination des spores et du développement superficiel des hyphes fongiques (Fig. 22) ; parmi les molécules utilisées contre la septoriose figurent, le Chlorothalonil et le Mancozébe (Leroux *et al.*, 2007). Toutefois, la forte réactivité de ces molécules avec de nombreux constituants cellulaires les expose à de nombreux effets secondaires ; d'autre part, ces fongicides, agissant par contact, doivent être appliqués à de fortes doses, et de manière systématique, ce qui fait d'eux des agents de pollution pour l'environnement. Ces effets, sont à l'origine des multiples retraits d'utilisation de ces fongicides, malgré que leur propriété multi-site les met mieux à l'abri des phénomènes de résistance que les fongicides uni-sites (Otto, 2014). Aucune résistance n'a été détectée pour le Chlorothalonil et le Mancozébe utilisés contre *M. graminicola* (FRAG-UK, 2013).

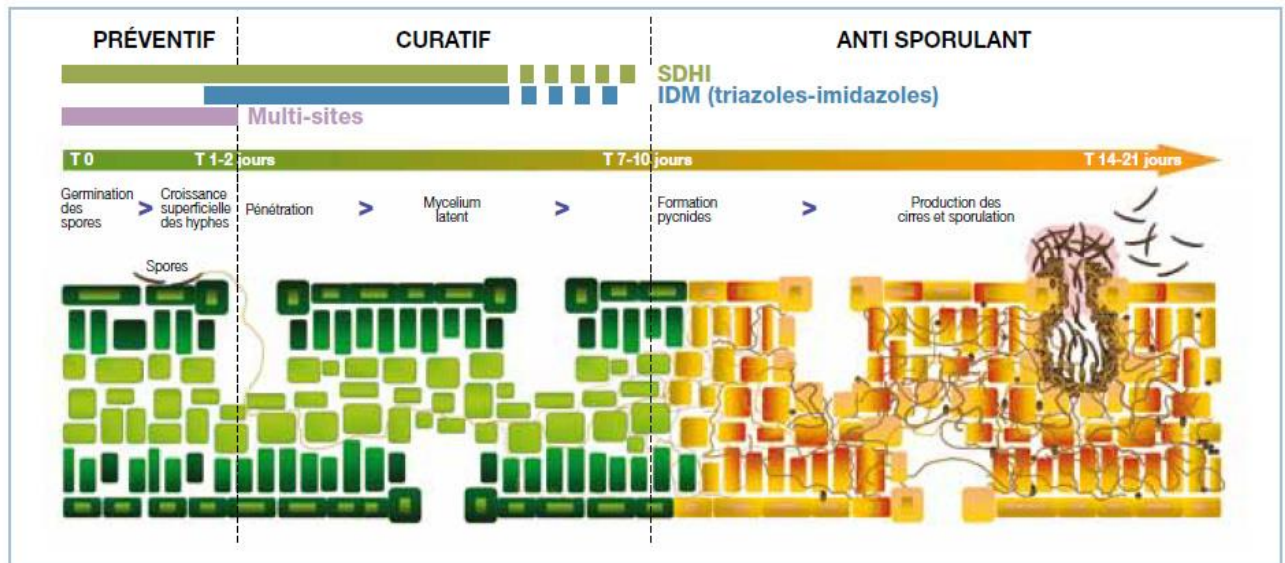


Figure 22 : Modes d'action des principaux fongicides utilisés pour le contrôle de *M. graminicola* (BASF, 2007).

3.3.2. Les fongicides uni-sites

Ces fongicides, introduits pendant les années 1960-1970, agissent spécifiquement sur les processus de biosynthèse de composants majeurs tels que les glucides, les lipides, les mélanines, les acides aminés, les acides nucléiques et les protéines (Otto, 2014). Ils sont capables de véhiculer à l'intérieur des plantes et contrôler une infection installée, même à des stades tardifs. En fonction de leurs cibles et leurs modes d'action, les uni-sites peuvent être classés en plusieurs groupes, dont les plus utilisés pour le contrôle de *M. graminicola* sont :

3.3.2.1. Les anti-mitotiques

- Caractéristiques et mode d'action

La matière active de ces fongicides, est une substance susceptible d'interférer avec la formation et/ou le fonctionnement des microtubules, constituant majeur du cytosquelette et du fuseau achromatique, et bloquant ainsi, les divisions cellulaires et l'élongation des hyphes mycéliens. Selon FRAC (2013), cette famille de fongicides comprend : **(a)** les Méthyle Benzimidazole Carbamates (MBC), qui associent les benzimidazoles (bénomyl, carbendazime, fuberidazole et thiabendazole) et les thiophanates (thiophanate et thiophanate-méthyle), **(b)** les N-phényl carbamates (diéthofencarbe), **(c)** les benzamides (zoxamide), **(d)** le thiazole carboxamide, **(e)** les phénylurés et **(f)** les benzamides. Le carbendazime, le benomyl et le thiophanate-méthyle sont les principaux fongicides antimitotiques utilisés avec succès dans la lutte contre *M. graminicola* (Leroux *et al.*, 2007). Cependant, Brent et Hollomon (2007) révèlent

que beaucoup de pathogènes s'adaptent rapidement aux benzimidazoles. Les premières résistances aux benzimidazoles de *M. graminicola* ont été détectées sur des isolats anglais en 1984 où il a été démontré que 39 % des isolats testés étaient résistants au bénomyl et présentaient une résistance croisée positive avec le carbendazime, le thiabendazole et le thiophanate-méthyle. Plus tard, des analyses conduites en France entre 1997 et 2005 ont montré que la résistance aux benzimidazoles est fortement implantée dans ce pays (Siah, 2009).

- Mécanisme de résistance de *M. graminicola* aux benzimidazoles

La résistance de *M. graminicola* aux benzimidazoles est conférée par une mutation due au remplacement d'un glutamate par une alanine sur la position 198 (E198A) du gène codant pour la β -tubuline, la protéine cible de ces fongicides (Payne *et al.*, 1998 ; Fraaije *et al.*, 2005 ; 2007 ; Leroux *et al.*, 2006). Un nombre considérable d'autres mutations ponctuelles a été mis en évidence sur la β -tubuline d'autres parasites fongiques. Cependant, seules les mutations situées sur les positions 50, 198, 200 et 240 de la β -tubuline semblent conférer la résistance au champ. Les mutations les plus répandues au sein des populations fongiques sont celles positionnées sur les codons 198 et 200 (Siah, 2009).

3.3.2.2. Les inhibiteurs de la biosynthèse des stérols (IBS/IBE)

Depuis leur introduction en 1960 (Mavroeidi et Shaw, 2005), ces molécules, uni-sites, constituent une famille importante des fongicides utilisés pour combattre les champignons, aussi bien dans le domaine d'agriculture, que dans le domaine médical (Cools *et al.*, 2006 ; 2010). Leur mode d'action repose sur l'inhibition de certaines enzymes impliquées dans la biosynthèse des stérols et plus particulièrement, de l'ergostérol, constituant majeur, des membranes cellulaires fongiques. Ce qui se traduit par une inhibition de la formation des membranes cellulaires, et donc de la germination des spores et la croissance mycélienne (Cools *et al.*, 2007).

- Différentes classes des fongicides IBS

En fonction de leurs cibles enzymatiques dans la voie de synthèse des stérols (Fig. 23), les IBS se repartissent en 04 classes (Siah, 2009) :

- les inhibiteurs de la 14 α -déméthylation inhibant la 14 α -déméthylase (IDM).
- les amines inhibant la Δ 14-réductase et la Δ 8 $\rightarrow$ Δ 7-isomérase.
- les hydroxyanilides inhibant la 3-keto-réductase.
- les thiocarbamates et les allylamines inhibant la squalène époxidase.

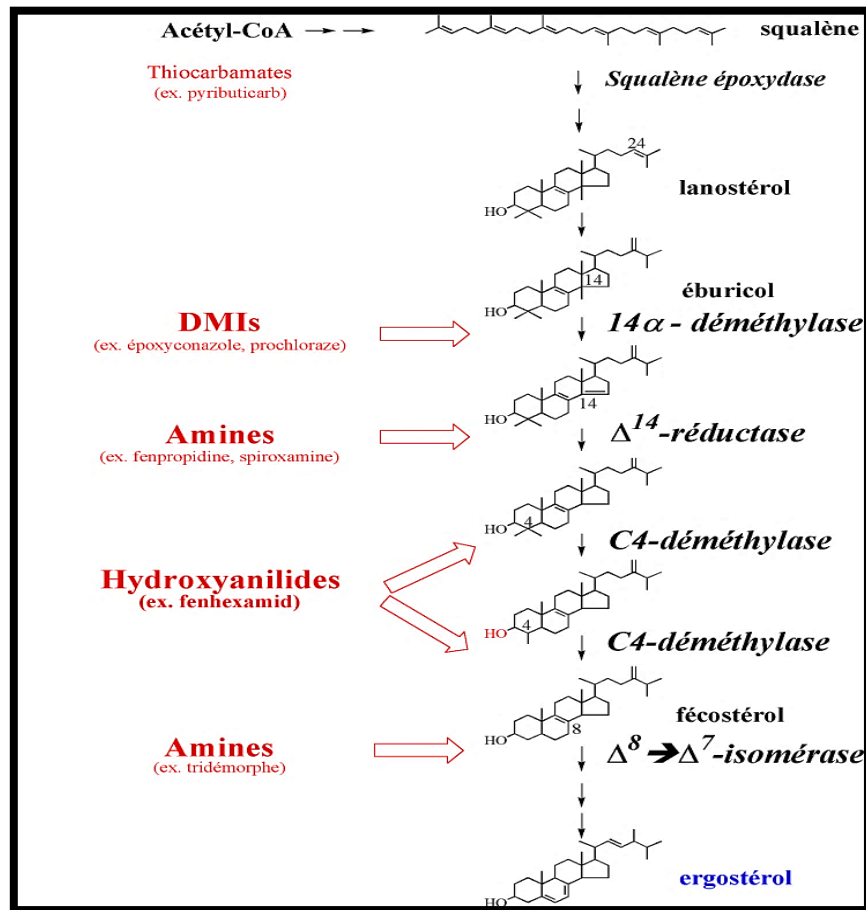


Figure 23 : Inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol
(Leroux *et al.*, 2003)

Les inhibiteurs de la 14 α -déméthylation (IDM) des stéroïdes, plus particulièrement les imidazoles (prochloraze, triflumizole,...) et les triazoles (époxiconazole, propiconazole,...), sont parmi les fongicides les plus utilisés et les plus efficaces dans la lutte contre *M. graminicola* (Paveley *et al.*, 2000 ; Leroux et Walker, 2009 ; Cools *et al.*, 2011 ; Sanssené *et al.*, 2011).

- Mécanismes de résistance des champignons aux fongicides IBS

L'utilisation massive des azoles dans le contrôle des maladies cryptogamiques des cultures, a conduit à l'émergence de souches résistantes à ce groupe de fongicides (Brunner *et al.*, 2008). L'année 1982 a enregistré l'apparition des premiers isolats de l'oïdium de l'orge, montrant une résistance aux IDMs en Angleterre (Knight et Turner, 2009). En ce qui concerne *M. graminicola*, ces fongicides ont montré une bonne efficacité contre ce pathogène pendant plus de 30 ans, depuis leur introduction jusqu'à 2007 (Bean, 2008 ; Bean *et al.*, 2009). Cependant, ces dernières années, l'utilisation de ces fongicides a augmenté considérablement, après l'apparition des résistances aux QoIs, et une émergence de la résistance aux IBS a été détectée chez des

isolats de *M. graminicola* dans différentes régions du monde, notamment en Europe (Cools et Fraaije, 2008 ; Stammler *et al.*, 2008 ; Cools *et al.*, 2010).

La recherche des mécanismes impliqués dans cette résistance a débuté par les travaux de Stergiopoulos *et al.* (2003a), qui ont noté une variabilité dans la sensibilité des isolats de *M. graminicola* aux azoles, et ils ont signalé que cette variabilité est un mécanisme polygénique. Des travaux ultérieurs, ont démontré que la résistance de *M. graminicola* aux IDMs peut avoir différentes origines (Cools et Fraaije, 2012) : (i) mutations sur le gène *cyp51* : *cyp*, est le gène codant pour l'enzyme à cytochrome P450 cible des IDMs, la 14 α -déméthylase ; *cyp51* : mutation au niveau du site de fixation *cyp51* (Fraaije *et al.*, 2007 ; Schürch *et al.*, 2009a) ; (ii) surexpression du gène *cyp51* permettant l'augmentation de l'activité 14 α -déméthylase (Stergiopoulos *et al.*, 2003a ; Schürch *et al.*, 2009a) et (iii) détoxification par exclusion des fongicides à l'extérieur des cellules fongiques par les transporteurs membranaires ABC (Zwiers et De Waard, 2000 ; Zwiers *et al.*, 2002 ; 2003 ; Kumar et Rani, 2013).

L'altération du gène *cyp51* semble être le processus majeur conférant la résistance au champ (Cools *et al.*, 2007 ; Leroux *et al.*, 2007). Environ, une vingtaine de mutations ont été détectées sur le gène *cyp51* de *M. graminicola* (Cools *et al.*, 2005 ; Zhan *et al.*, 2006 ; Cools et Fraaije, 2012 ; Fraaije *et al.*, 2012). Toutefois, quelques mutations seulement sont à l'origine de la résistance aux IDMs ; les mutations qui s'opèrent au niveau des codons 459, 460 et 461 confèrent une résistance faible, alors que la mutation I381V, qui consiste en un changement d'un Isoleucine par une Valine, au niveau du codon 381, confère un niveau de résistance élevé pour un grand nombre d'IDMs (Cools *et al.*, 2006 ; Leroux *et al.*, 2007). En fonction des niveaux de résistance et de résistances croisées notées chez les isolats de *M. graminicola* à différentes matières actives, 08 phénotypes différents (Tri R1 – Tri R8) ont été identifiés (Leroux *et al.*, 2007 ; Arvalis, 2008 ; Stammler *et al.*, 2008), et ont été classés en 02 groupes : les génotypes à faible résistance, Tri LR (Tri R1- Tri R5) et les génotypes à résistance modérée, Tri MR (Tri R6, Tri R7 et Tri R8). Toutefois, chez les champignons phytopathogènes, la résistance aux azoles est moins fréquente (Cools *et al.*, 2010), et malgré l'apparition des résistances, ce groupe de fongicides demeure encore efficace contre *M. graminicola* (Stammler *et al.*, 2008). Brent et Hollomon (2007) et Cools et Fraaije (2008) signalent que la résistance de *M. graminicola* aux IDMs est poly-allélique, elle présente un continuum de phénotypes plus ou moins résistants, et

se traduit en pratique par une résistance quantitative et progressive au sein des populations du parasite (Fig. 24).

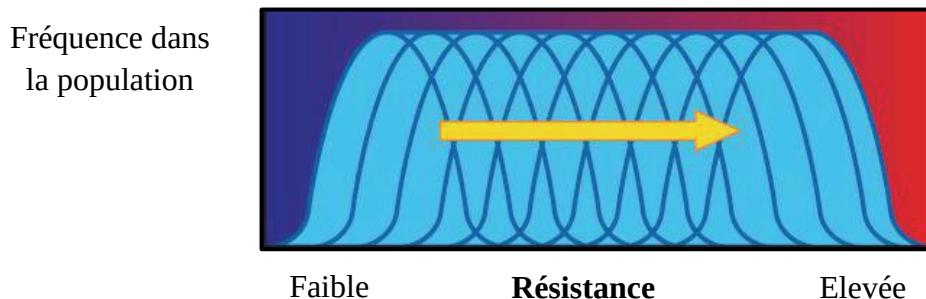


Figure 24 : Représentation schématique de l'évolution progressive (quantitative) de la résistance aux fongicides inhibiteurs de la 14 α -déméthylation (IDMs) des stérols. Le bleu foncé indique la population originale sensible et le rouge indique la population résistante résultante (Brent et Hollomon, 2007).

Des travaux réalisés par Mavroeidi et Shaw (2006) ont montré que la diminution de la dose, de 1/4 à 1/8 de toutes les doses recommandées des fongicides IDMs, a réduit le développement des résistances chez *M. graminicola*. Zlof et Sunley (2011) et Hollaway (2014) recommandent l'utilisation de mélanges d'azoles pour gérer la résistance de *M. graminicola* aux azoles ; cependant, Schürch *et al.* (2009a) signalent que l'utilisation des IDMs en *Solo* est possible, et il faut seulement respecter la dose recommandée.

3.3.2.3. Les inhibiteurs de l'oxydation des Quinones "*Quinone outside Inhibitors*"

Les inhibiteurs du Qo (*Quinone outside*), ou *Quinone outside Inhibitors* (QoIs), constituent une famille de fongicides uni-sites, à large spectre d'action, ayant montré beaucoup de succès dans le contrôle d'Oomycètes, d'Ascomycètes et de Basidiomycètes (Bartlett *et al.*, 2002). Selon FRAC (2013), la famille des fongicides QoIs comprend les groupes suivants :

- les methoxy-acrylates (azoxystrobine, coumoxystrobine, enoxastrobine, flufenoxystrobine, picoxystrobine, pyraoxystrobine),
- les methoxy-carbamates (pyraclostrobine, pyrametostrobine, triclopyricarbe),
- les oximino acetates (kresoxim-methyl et trifloxystrobine),
- les oximino-acetamides (dimoxystrobine, fenaminstrobine, metominostrobine, orysastrobine),

- les oxazolidine-diones (famoxadone),
- dihydro-dioxazines (luoxastrobine),
- les Imidazolinones (fenamidone) et,
- les benzyl-carbamates (pyribencarbe).

Les strobilurines forment donc la majorité des molécules QoIs. Le famoxadone, le fenamidone et le pyribencarbe diffèrent des strobilurines par leur structure chimique, mais partagent avec ces dernières le même mode d'action (Fernández-Ortuño *et al.*, 2008). Les strobilurines, plus particulièrement l'azoxystrobine et le krésoxim-méthyle, sont les fongicides QoIs les plus utilisés aussi bien dans la lutte contre *M. graminicola* que contre beaucoup d'autres pathogènes fongiques (Bartlett *et al.*, 2002).

3.3.2.3.1. Les strobilurines

Les strobilurines sont des fongicides apparus sur marché en 1996. Leur découverte a été inspirée d'un groupe de composés naturels : β -methoxyacrylates, dérivants de l'acide β -methoxyacrylique, et dont les plus simples sont la strobilurine A et l'oudemansine A. L'azoxystrobine, la trifloxystrobine, la pyraclostrobine et la fluoxastrobine sont produits par le champignon basidiomycète *Strobilurus tenacellus*, qui produit également l'acide methoxyacrylique (Bartlett *et al.*, 2001 ; 2002). Des propriétés physico-chimiques et biologiques intéressantes ont été décrites pour les strobilurines (Annexe 2, Tab. B) ; ce ci a fait que, les ventes de ces fongicides ont augmenté considérablement, et ont atteints environ 600 millions de dollars en 1999, soit un peu plus de 10 % du marché mondial de fongicides (Bartlett *et al.*, 2001). En 2005, ils représentaient 15.3 % des ventes mondiales en fongicides (Torriani, 2008). À partir de 2009, les strobilurines représentent plus de 2,6 milliards de dollars en ventes mondiales chaque année, ce qui représente 22 % du marché fongicide (Kramer *et al.*, 2012). En 2010, les ventes mondiales en QoIs ont représenté 24.1 % de l'ensemble des fongicides évalués à 11475 millions de dollars (Palomar, 2014).

- Caractéristiques des strobilurines

Les strobilurines pénètrent tous à travers la surface de la feuille ; mais leur distribution dans la plante est variable (Annexe 2, Tab. B). Les principales caractéristiques des strobilurines sont résumées par Bartlett *et al.* (2001 ; 2002) et Gloria (2002) dans les points suivants :

- Elles montrent une action très puissante dès la germination des spores de champignon. Cela se traduit par un effet préventif qui fait le point fort de toutes les strobilurines.
- Le transfert translaminaire : Appliquée sur une face de la feuille traitée, la molécule traverse cette feuille pour agir sur l'autre face et y empêcher le développement du champignon pathogène de façon préventive.
- La migration dans la plante : diffère selon la molécule de strobilurine (Annexe 2, Tab. B).
« L'effet vapeur » : cette propriété a été mise en évidence pour certaines strobilurines : la molécule se transfère de plante à plante et de feuille à feuille sous forme de vapeur, et une plante traitée peut transmettre la strobilurine (picoxystrobine, krésoxim-méthyl et trifloxy-strobine) à une plante non traitée à proximité et contribuer à sa protection contre les maladies.
- L'endothérapie ou plus ou moins la curativité est observée chez la pyraclostrobine et l'azoxystrobine qui bloquent le développement des champignons à l'intérieur de la feuille.

- Modes d'action des strobilurines

Le succès des strobilurines est dû d'une part à leurs effets positifs sur les processus physiologiques et biochimiques des plantes traitées, et d'autre part à leur large spectre d'action contre les champignons phytopathogènes.

➤ Effets physiologiques et biochimiques des strobilurines sur les plantes traitées

Plusieurs auteurs, révèlent que l'application des strobilurines améliore certains processus physiologiques et biochimiques des plantes traitées, et induit ainsi, non seulement, une protection, mais aussi, une amélioration du rendement (Köhle *et al.*, 1997 ; Jabs *et al.*, 2002 ; Wu et Tiedmann, 2002). Ces effets peuvent être résumés dans les points suivants :

- Les strobilurines affectent la respiration, aussi bien chez la plante que chez le champignon par altération du transfert d'électrons ; cependant, l'inhibition partielle ou transitoire des voies du cytochrome respiratoire chez les plantes déclenche la voie alternative de l'oxydase (AOX) qui permet le transport d'électrons loin de l'ubiquinone, et peut faciliter chez la plante, plusieurs réponses liées aux stress. Zhang *et al.* (2010) signalent que, chez les plantes, la production excessive des ROS, espèces réactives de l'oxygène (O_2^- , $\cdot OH$, O_2 et H_2O_2) est nuisible, car elle altère la capacité de la plante à résister au stress oxydatif ; cette production est réduite lorsque la voie AOX est activée par rapport à la voie primaire du cytochrome (Jabs *et al.*, 2002). Il a été démontré que les strobilurines réduisent les taches foliaires sur l'orge (*Hordeum*

vulgare L.), exposé à des concentrations élevées de l'ozone, en induisant une augmentation de la production d'anti-oxydants (catalases, peroxydases....) dans les plantes d'orge, favorisant une chute rapide des ROS, de plus de 50 % (Jabs *et al.*, 2002).

- Les strobilurines peuvent améliorer l'assimilation de l'azote et du carbone chez les plantes (Venancio *et al.*, 2003 ; Kanungo et Joshi, 2014). L'inhibition partielle ou temporaire de la voie du cytochrome, active la nitrate réductase (enzyme responsable de l'assimilation des nitrates et leur réduction en nitrites), ce qui entraîne une accumulation des nitrites dans les tissus des plantes, induisant la production de l'oxyde d'azote (NO), molécule impliquée dans plusieurs réactions de défense des plantes contre les agents pathogènes. En plus, l'accumulation de l'oxyde d'azote (NO) chez les plantes peut causer l'inhibition de l'enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) synthase, qui catalyse la première étape de la synthèse de l'éthylène (Grossmann *et al.* 1999).

- Les strobilurines, en provoquant une inhibition partielle de la production de l'éthylène, peuvent provoquer un effet de « greening » dans certaines cultures (la production d'éthylène peut déclencher une accumulation rapide des ROS). Grossmann et Retzlaff (1997) ont démontré que des plants de blé (*T. aestivum* L.) traités par une strobilurine avaient une réduction de 50 % dans la formation de l'éthylène par rapport aux plants de blé non traités. Les auteurs ont conclu que, c'était cette réduction de l'éthylène, couplée à une augmentation de cytokinines qui a entraîné une réponse de « greening ». Ce phénomène entraînant un retard dans la sénescence des feuilles peut prolonger la période de remplissage des grains de plusieurs cultures dont le maïs et le blé (Ammermann *et al.*, 2000 ; Godwin *et al.*, 2000), induisant ainsi une augmentation du rendement, à cause du prolongement de la capacité photosynthétique des feuilles, à la suite de la sénescence tardive (Grossmann *et al.*, 1999 ; Ijaz, 2012 ; Byamukama *et al.*, 2013).

➤ Action anti-fongique des strobilurines

Comme tous les fongicides QoIs, le mode d'action des strobilurines repose sur l'inhibition de la respiration mitochondriale par blocage du transfert d'électrons entre le cytochrome *b* et le cytochrome *c*₁ (Von Jagow *et al.*, 1986 ; Gisi *et al.*, 2002 ; Fernández-Ortuño *et al.*, 2010).

Chez la plupart des eucaryotes, la fonction principale des mitochondries est la synthèse d'énergie sous forme chimique directement utilisable par la cellule (ATP). La voie majeure est le cycle de Krebs qui permet la synthèse de molécules à haut pouvoir réducteur, le NADH et le FADH₂, à partir d'acétyl-CoA qui provient notamment de la glycolyse *via* le pyruvate et le coenzyme A. Ce cycle permet également la synthèse d'un GTP qui pourra être transformé en ATP. Le NADH et le FADH₂ seront ensuite utilisées pour le fonctionnement de la chaîne respiratoire, voie principale de la synthèse d'ATP (Alberts *et al.*, 1995 ; Raisonnier, 2005). Une autre voie utilisée pour produire de l'énergie est la β -oxydation, qui consiste en une dégradation des acides gras conduisant à la synthèse d'acétyl-CoA, qui peut aussi alimenter le cycle de Krebs. La chaîne respiratoire mitochondriale (Fig. 25), est un ensemble de complexes protéiques insérés dans la membrane interne de la mitochondrie (dans les crêtes). Cette chaîne est composée de 5 complexes protéiques, et contient également, l'ubiquinone (Coenzyme Q, localisée dans l'épaisseur de la membrane interne et dépasse largement sur les deux faces), qui transporte les électrons (et protons) du complexe II au complexe III, et le cytochrome c, qui se trouve dans l'espace inter membranaire et qui établit une navette d'électrons entre les complexes III et IV (Hagenmuller, 2008 ; Douala, 2009 ; Dudkina *et al.*, 2010 ; Dujeancourt, 2012). Les rôles des différents complexes dans la chaîne de transfert d'électrons et la synthèse de l'ATP, sont résumés ci-dessous (Brandt, 1996 ; Raisonnier, 2005) :

- **Le complexe I** (NADH-ubiquinone oxydoréductase) : reçoit des électrons, du NADH, produit par le cycle de Krebs, qui sont ensuite transférés vers les quinones (Ubiquinone, Q). Ce transfert s'accompagne de la translocation de protons (H⁺) de la matrice vers l'espace inter-membranaire.

- **Le complexe II** (succinate-ubiquinone oxydoréductase) : enzyme membranaire du cycle de Krebs, qui oxyde du FADH₂, ce qui va permettre la réduction des quinones, comme pour le complexe I, mais sans transfert de protons.

- **Le Complexe III** (ubiquinone-cytochrome C oxydoréductase) : les quinones réduites par le complexe I ou le complexe II vont à leur tour transférer leurs électrons au complexe III. Ce dernier va réoxyder les quinones réduites et transférer leurs électrons vers le cytochrome c. Ce transfert d'électrons s'accompagne toujours de la translocation de protons de la matrice vers l'espace inter-membranaire.

- **Le complexe IV** (cytochrome oxydase) : reçoit les électrons du cytochrome c et les transfère vers l'accepteur final qui est l'oxygène moléculaire, pour former de l'eau. Là encore

des protons sont transférés de la matrice vers l'espace inter-membranaire. L'ensemble des translocations de protons associées aux transferts d'électrons conduit à la formation d'un gradient de protons de part et d'autre de la membrane interne mitochondriale. Ce gradient électrochimique ou potentiel de membrane, induit une polarité de la membrane due à la différence de concentration de protons de part et d'autre de cette membrane.

- **Le complexe V (ATP synthase) :** permet la synthèse d'ATP à partir d'ADP et de phosphate inorganique. La synthèse de l'ATP dépend donc du potentiel de membrane créé par les complexes I, III et IV lors du transfert des électrons, et toute altération de ce transfert inhibe la synthèse de l'ATP, et bloque la respiration.

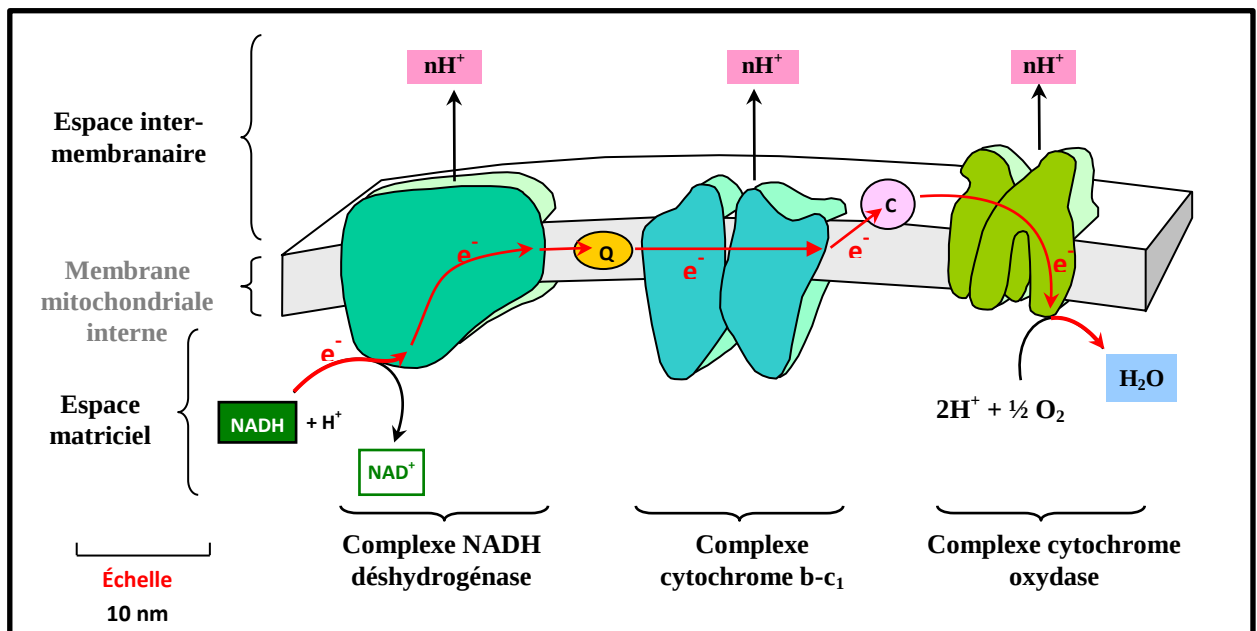


Figure 25 : Représentation schématique de la chaîne respiratoire mitochondriale, montrant les transferts d'électrons entre les complexes enzymatiques : (Q) : Coenzyme Q, (C) : Cytochrome c (Alberts *et al.*, 1995).

La toxicité des strobilurines résulte d'une interaction avec le centre d'oxydation Q_o situé sur la face externe du cytochrome b (protéine membranaire formant le corps du complexe *bc1* (complexe III ou Coenzyme Q réductase), ce qui empêche l'oxydation de l'ubiquinole en ubiquinone (Leroux et Delorme, 1997). Ce ci induit un blocage de la synthèse de l'ATP et se traduit, en pratique par l'inhibition de la germination des spores et de la croissance mycélienne des champignons (Bartlett *et al.*, 2002 ; Gisi *et al.*, 2002). L'ubiquinone ou coenzyme Q (CoQ)

est une coenzyme libre située entre les deux couches lipidiques de la membrane mitochondriale interne ; son absence, entraîne des changements dans le transfert d'électrons similaires à ceux existants en absence d'oxygène chez les souches mutantes de la bactérie *Escherichia coli* (Soballe et Poole, 1999). Les QoIs, sont donc des inhibiteurs de l'oxydation de la Coenzyme Q, au niveau de la face externe du cytochrome b. Le gène cible des strobilurines est le gène codant pour le cytochrome *b* autour du codon 143 (Grasso, 2005 ; Batina *et al.*, 2015). Ce gène nommé *cytb* (1160-1180 pb) est situé dans le génome mitochondrial (Grasso *et al.*, 2006 ; 2006a).

Pendant, les deux premières années de leur commercialisation, les strobilurines ont montré une efficacité élevée contre un grand nombre de maladies fongiques, notamment les maladies foliaires des céréales (Bayles, 1999). Cependant, leur utilisation a connu des fluctuations, les années après, à cause de l'apparition d'isolats résistants à ce type de fongicides uni-sites, chez beaucoup d'espèces pathogènes. A l'opposé des multi-sites, pour les uni-sites, une simple mutation chez le parasite, induisant une modification du site de fixation de la molécule toxique, peut entraîner une résistance de ce parasite à cette molécule (Gisi *et al.*, 2002).

3.3.2.3.2. Développement de la résistance des champignons aux QoIs.

Les premières souches de champignons résistantes aux strobilurines, pour les céréales, datent de 1998, chez l'oïdium du blé *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* ; puis en 2000, chez l'agent causal de l'oïdium de l'orge *B. graminis* f.sp. *hordei* (Sierotzki *et al.*, 2000 ; Fraaije *et al.*, 2002). Plus tard, cette résistance a été observée chez beaucoup d'autres agents pathogènes, notamment, *Plasmopara viticola*, *Pseudoperonospora cubensis*, *Venturia inaequalis*, *Alternaria solani* ... (Sierotzki *et al.*, 2000a ; Ishii, 2009 ; Knight et Turner, 2009). Chez *M. graminicola*, les premiers isolats résistants aux strobilurines ont été détectés au Royaume-Uni dans des isolats de l'année 2000-2001 (Fraaije *et al.*, 2003 ; 2005). Plusieurs auteurs ont attribué le développement de la résistance aux strobilurines à l'utilisation excessive de ces fongicides dans certaines régions du monde, notamment les pays du Nord de l'Europe (Allemagne, Royaume-Uni, France), au niveau desquels une dissémination rapide de la résistance a été notée, durant des périodes très courtes (Gisi *et al.*, 2005 ; Ware, 2006 ; Torriani *et al.*, 2009). Selon Torriani *et al.* (2009a), le développement de la résistance aux strobilurines résulte de l'adaptation des pathogènes aux pressions de sélection imposées par les systèmes de cultures, notamment, l'application des fongicides.

Plusieurs mutations conférant la résistance aux strobilurines ont été détectées chez les champignons parasites des plantes, notamment, les mutations induites par la substitution d'acides aminés au niveau des codons 129, 137 et 143 du *cytb*, mais c'est la mutation G143A qui prédomine dans beaucoup de pathosystèmes (Bangya, 2006 ; Gisi et Sierotzki, 2008 ; Kildea *et al.*, 2010 ; Marzani, 2011 ; Scalliet *et al.*, 2012). La mutation F129L, qui consiste en une substitution de la phenylalanine avec la leucine à la position 129 du *cytb*, a été détectée chez des isolats d'*Alternaria solani*, agent du mildiou de la pomme de terre, et elle résulte en une perte de la sensibilité à l'azoxystrobine de l'ordre de 12 à 15 fois (Mallik *et al.*, 2014), la même mutation a été trouvée chez des isolats de *Pyrenophora teres* et *Pyrenophora tritici-repentis* résistants à des QoIs (Semar *et al.*, 2007 ; Sierotzki *et al.*, 2007). Des mutations G143S chez les isolats résistants aux strobilurines de *Cercospora beticola* attaquant la canne à sucre (Malandrakis *et al.*, 2011). La mutation G137R chez des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis*, mais avec des fréquences très faibles (FRAC, 2006 ; Sierotzki *et al.*, 2007). La mutation G143A a été détectée chez les isolats résistants à l'azoxystrobine, de plusieurs espèces d'*Alternaria* (*A. alternata*, *A. tenuissima*, et *A. arborescens*), s'attaquant aux pistachiers (Ma *et al.*, 2003 ; Yong *et al.*, 2007), chez des isolats résistants à des strobilurines, de *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (Sierotzki *et al.*, 2000a), *Pyrenophora tritici-repentis* (Sierotzki *et al.*, 2007), *Botrytis cinerea* (Jiang *et al.*, 2009), *P. nodorum* (Blixt *et al.*, 2009), *Pyricularia grisea* (Kim *et al.*, 2003), *Mycosphaerella fijiensis* (Otto, 2014), et chez beaucoup d'autres champignons (Fisher *et al.*, 2004 ; Fontaine *et al.*, 2012 ; Asadollahi *et al.*, 2013 ; Aguilar-Barragan *et al.*, 2014). Chez *M. graminicola*, c'est la mutation G143A (Fig. 26) qui a été détectée dans plusieurs travaux (Torriani, 2008 ; Torriani *et al.*, 2009a ; Siah *et al.*, 2010).

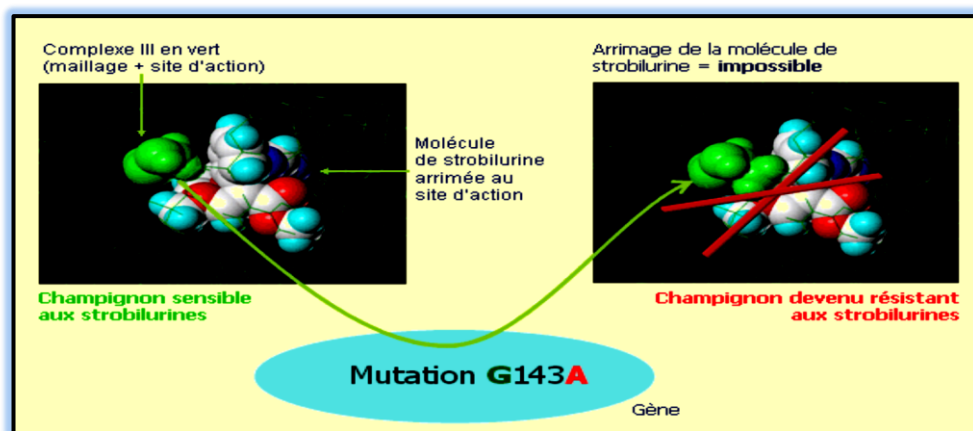


Figure 26 : Représentation schématique du développement des résistances aux strobilurines chez *M. graminicola* par la mutation G143A [8].

Chez les champignons basidiomycètes *Strobilurus tenacellus* et *Mycena galopoda*, qui produisent naturellement la strobilurine A, plusieurs points de mutations existent au niveau du gène *cytb* ce qui entraîne une « résistance naturelle » à leurs propres métabolites (Kraiczy *et al.*, 1996).

En analysant la structure d'un fragment du gène *cytb*, d'isolats résistants et d'isolats sensibles à l'azoxystrobine de *Botrytis cinerea*, Jiang *et al.* (2009) ont révélé la présence d'un intron de 1204pb inséré directement après le codon 143 du gène *cytb* chez tous les isolats sensibles à l'azoxystrobine ; cet intron n'a pas été détecté chez les isolats résistants pour lesquels l'analyse génétique a montré un point de mutation au codon 143 (G143A). Des résultats similaires ont été obtenus par Leroux *et al.* (2010) chez ce même pathogène, et par Grasso *et al.* (2006 ; 2006a) chez plusieurs espèces de *Puccinia* ; les auteurs ont trouvé que toutes les espèces testées possédaient des introns de longueurs différentes : *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* (1500pb), *P. graminis* f.sp. *tritici* (506pb), *P. striiformis* f.sp. *tritici* (755pb), *P. coronata* f.sp. *avenae* (644pb), *P. hordei* (660pb), *P. recondita* f.sp. *secalis* (687pb), *P. sorghi* (709pb), et *P. horiana* (478pb) ; et aucune mutation qui confère la résistance aux fongicides QoIs n'a été détectée chez toutes ces espèces. Plusieurs auteurs ont signalé la présence d'introns chez les isolats sensibles aux strobilurines, de plusieurs espèces de champignons phytopathogènes, et ils ont signalé que la mutation G143A est létale chez les souches possédant un intron juste après le codon 143 (Grasso *et al.*, 2006 ; Fernández-Ortuño *et al.*, 2008).

Outre la mutation G143A, conférant la résistance aux strobilurines, certains travaux ont montré que, chez *M. graminicola*, d'autres mécanismes sont probablement impliqués dans la résistance à ces fongicides, notamment la surexpression de certains gènes (*MgMfs1*) codant pour des protéines intervenant dans l'exclusion du fongicide à l'extérieur de la cellule fongique (Fernández-Ortuño *et al.*, 2008 ; Roohparvar *et al.*, 2008) ou encore, la voie de respiration alternative, assurant le transfert d'électrons en présence des strobilurines, qui peut permettre la survie des champignons (Affourtit *et al.*, 2000 ; Amand *et al.*, 2003), cependant l'importance de ces mécanismes dans la résistance est très limitée (Fernández-Ortuño *et al.*, 2008). La résistance des champignons aux strobilurines est mono-allélique, « disruptive » (discrète) ou qualitative, des écarts importants dans les niveaux de résistance, existent entre les isolats sensibles et les isolats résistants (Fig. 27). Dans une population donnée, deux phénotypes seulement existent, soit des isolats résistants, soit des isolats sensibles (Brent et Hollomon, 2007).

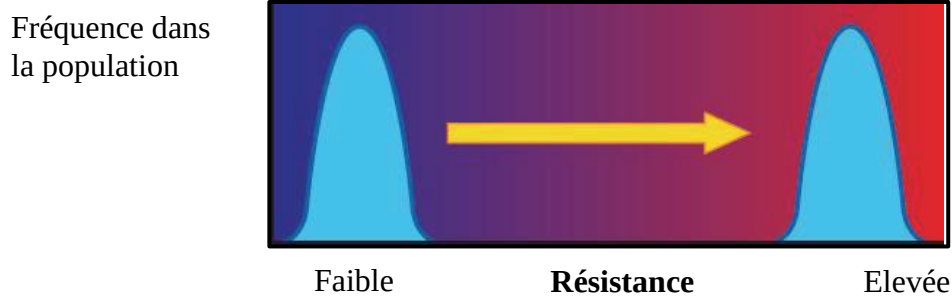


Figure 27 : Représentation schématique de l'évolution disruptive (qualitative) de la résistance aux fongicides QoIs. Le bleu foncé indique la population originale sensible et le rouge indique la population résistante résultante (Brent et Hollomon, 2007).

3.3.2.3.3. Dissémination de la résistance aux QoIs

En étudiant l'effet des strobilurines sur l'oïdium du blé, Sierotzki *et al.* (2000a), ont mis en évidence la mutation G143A chez les isolats résistants, et ils ont signalé que, du fait de l'héritabilité mitochondriale, la résistance aux strobilurines peut être donnée après une recombinaison sexuée seulement si elle est présente chez le partenaire maternel. Torriani *et al.* (2009a) et Sierotzki et Scalliet (2013) rapportent que chez *M. graminicola*, la résistance aux QoIs émerge indépendamment dans différentes régions géographiques, puis elle est disséminée vers d'autres régions par le biais de certains facteurs, notamment le mouvement des ascospores.

Fraaije *et al.*, (2002) signalent que la fréquence de l'allèle A143 augmente en condition de pression de sélection, un essai réalisé sur le champignon *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* par application d'azoxystrobine et de tébuconazole a montré que la fréquence de cet allèle était de 33 à 82% après 3 applications de strobilurines, et elle a passé d'une moyenne de 2.2 à 58 %. Dans les parcelles non traitées la fréquence de l'allèle a faiblement augmenté de 1.3 à 3.2 % (avant le traitement la fréquence moyenne pour toutes les parcelles était de l'ordre de 2.2 %). Alors que dans les parcelles traitées avec le tébuconazole, 5/27 seulement des parcelles ont montré une fréquence de l'allèle A143 supérieure à 10%, et ils ont attribué cette légère augmentation à une migration de l'allèle des parcelles voisines traitées par l'azoxystrobine. Des résultats similaires ont été obtenus par Fraaije *et al.* (2005) pour des populations de *M. graminicola*, et ils ont noté que la fréquence de la mutation G143A a passé de 35% à 80% après la première application de l'azoxystrobine, et a dépassé 90% après la deuxième application. Les

auteurs ont attribué cette rapidité dans la dissémination des allèles de résistance à la reproduction sexuée, et ont conclu que les ascospores sont à l'origine de cette dissémination à de longues distances. La même conclusion a été tirée par Bayles *et al.* (2000) qui ont attribué la dissémination en Europe de phénotypes de *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*, résistants au gène Yr17, à la migration des spores du pathogène.

L'utilisation de fongicides est de plus en plus controversée pour le contrôle de *M. graminicola*. Cependant, la disponibilité de composés à différents modes d'action est un facteur essentiel pour l'efficacité des stratégies anti-résistance pour le contrôle du blé (Adin et Torriani, 2012). Aussi, il existe un besoin grandissant de méthodes de lutte alternative ; les stimulateurs de défense des plantes (SDPs) peuvent être une solution respectueuse de l'environnement et de la santé humaine (Abuhaie, 2014).

Plusieurs auteurs s'accordent sur le fait que, le risque d'apparition de souches résistantes de pathogènes aux strobilurines peut être géré par la diminution du nombre d'application par saison, et l'association avec d'autres fongicides à mode d'action différent (Bartlett *et al.*, 2001 ; Leroux, 2003 ; Schürch *et al.* , 2009 ; 2009a ; Veloukas *et al.*, 2014). Rheinheimer *et al.* (2014) signalent que, des produits analogues aux strobilurines ont été développés, en vue de combattre le phénomène des résistances aux strobilurines des champignons. Ces produits ont une structure chimique plus ou moins similaires à celle des strobilurines, et ont le même mode d'action que les strobilurines, mais se caractérisent par une légère modification du site de fixation, qui est le codon 143 du cytochrome b pour les strobilurines.

Chapitre IV :

Matériel et méthodes

Chapitre 4. Matériel et méthodes

4.1. Evaluation de l'incidence de la tache septorienne des feuilles du blé

En vue d'estimer la prévalence de la tache septorienne des feuilles du blé, causée par *Zymoseptoria tritici*, en Algérie, des prospections ont été effectuées dans différentes régions céréalières en Algérie, pendant les campagnes 2010/2011 et 2011/2012. Ces prospections ont permis de visiter environ 160 champs cultivés en blé dur (*Triticum durum* Desf.) et en blé tendre (*Triticum aestivum*).

L'incidence de la maladie a été déterminée par estimation du pourcentage de champs infectés par la maladie pour chaque région, et du pourcentage de plantes infectées par rapport à l'ensemble, pour les différents champs prospectés dans les différentes régions.

La sévérité de la maladie a été déterminée selon l'échelle de Saari et Prescott (1975), qui donne la hauteur relative de la maladie, au niveau des plantes infectées (de 0 à 9), selon la notation décrite ci-dessous :

- 0** = Absence de symptômes ;
- 1** = 10% de la surface foliaire attaquée ;
- 2** = 20% de la surface foliaire attaquée ;
- 3** = 30% de la surface foliaire attaquée ;
- 4** = 40% de la surface foliaire attaquée ;
- 5** = 50% de la surface foliaire attaquée ;
- 6** = 60% de la surface foliaire attaquée ;
- 7** = 70% de la surface foliaire attaquée ;
- 8** = 80% de la surface foliaire attaquée ;
- 9** = 90% de la surface foliaire attaquée.

Dans la pratique, la sévérité de la maladie (le pourcentage d'attaque de la surface foliaire) est estimée par l'observation de 10 à 20 plantes (Sebei, 2009).

4.2. Caractérisation phénologique des isolats de *M. graminicola*

4.2.1. Collecte des échantillons

Dans le but de faire une caractérisation globale de la population algérienne de *Zymoseptoria tritici*/*Mycosphaerella graminicola*, agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé, aussi bien à l'échelle du pays et des régions qu'à l'échelle de l'espèce du blé hôte (blé dur et blé tendre), des échantillons de feuilles, montrant des symptômes de la maladie ont été collectés en 2012, de 68 champs de blé (blé dur et blé tendre), représentant différentes zones de culture du blé, au niveau de 11 wilayas :

- **La région Est** : représentée par plusieurs zones (wilayas), notamment, Guelma, Constantine, Annaba, Skikda, Souk Ahras, El Taref et Oum El Bouaghi,
- **La région centre** : représentée par la wilaya de Blida et Médéa,
- **La région Ouest** : représentée par la wilaya d'Oran et Mascara.

Cependant, cinq zones de culture seulement ont été retenues pour cette étude (Guelma, Annaba, Constantine, Skikda et Oran), à cause d'un nombre insuffisant d'isolats obtenu dans les autres zones, et pour la même raison, les isolats retenus pour certaines régions sont issus de blé tendre et de blé dur (Guelma, Constantine et Skikda), pour d'autres régions, les isolats sont issus de blé dur seulement (région d'Annaba), ou de blé tendre seulement (région d'Oran).

La méthodologie adoptée dans cette étude consiste à tester le même nombre d'isolats de *M. graminicola*, issus des deux génotypes de blé (blé dur et blé tendre) provenant de différentes zones céréalières, de champs différents, de plants différents et de feuilles différentes d'un même plant, et d'avoir au minimum 15 à 20 isolats par génotype de blé et par zone d'échantillonnage.

La distance entre les zones (wilayas), étant de 50 à 900 Km (Fig. 28), et la distance entre les champs au niveau d'une même région, étant de 2 à 40 km. Le prélèvement des échantillons (feuilles infectées) a été effectué aléatoirement, de plants différents espacés de quelques mètres, en nombre de 10 à 20 feuilles de chaque étage foliaire (2^{ème} feuille à partir de la base, 3^{ème} feuille, 4^{ème} feuille,...), du même champ.

Les feuilles prélevées sont séchées à l'air libre pendant 48 heures puis conservées dans des enveloppes à + 4 °C jusqu'à l'utilisation, en indiquant toutes les informations relatives à

l'origine des isolats : la zone et le site d'échantillonnage, le génotype de blé, et le numéro de la feuille (étage foliaire).

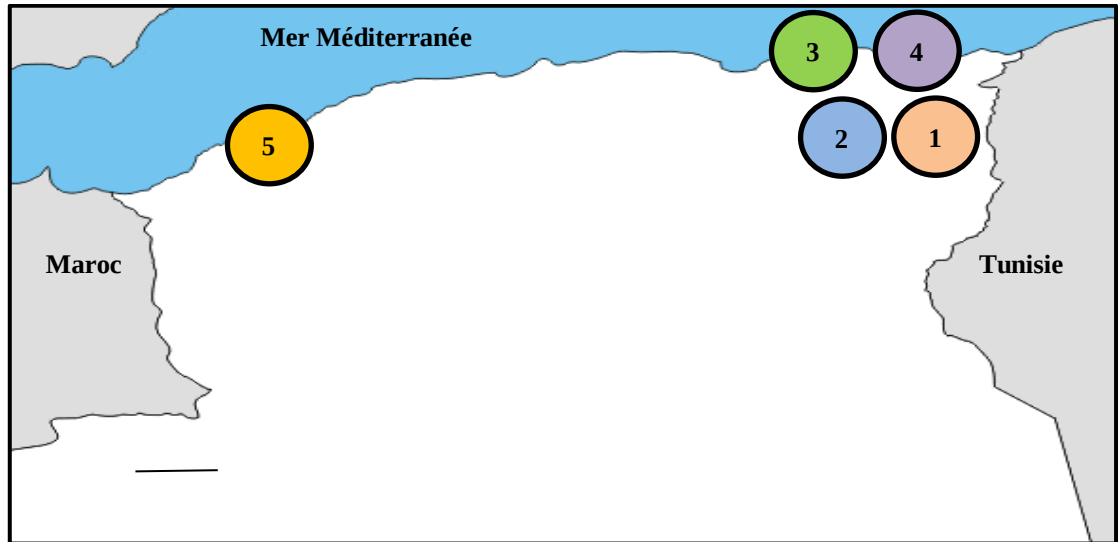


Figure 28 : Carte du Nord de l'Algérie montrant les différentes régions d'échantillonnage

1 Guelma, 2 Constantine, 3 Skikda, 4 Annaba, 5 Oran

(Echelle : — = 100 Km)

4.2.2. Isolement et culture des souches

Le traitement des échantillons et l'isolement des souches ont été effectués selon la technique décrite par Siah (2009) :

- Afin d'obtenir des souches monospores (chaque souche est issue d'une seule pycnidiospore), les feuilles de blé infectées par *M. graminicola* sont mises en chambres humides pendant une nuit à + 20 °C pour l'émission des cirrhes (Fig. 29),
- Les cirrhes contenant les spores (Fig. 30) sont ensuite prélevés sous loupe binoculaire à partir de la surface des pycnides avec une aiguille stérile avant de les mettre en suspension dans de l'eau stérile,
- Pour avoir suffisamment d'isolats, trois à cinq cirrhes ont été prélevées, de différentes pycnides, de chaque feuille,



Figure 29 : Feuilles de blé montrant les symptômes de la tache septorienne des feuilles, mises en chambre humide pour l'émission des cirrhes (Photo personnelle).

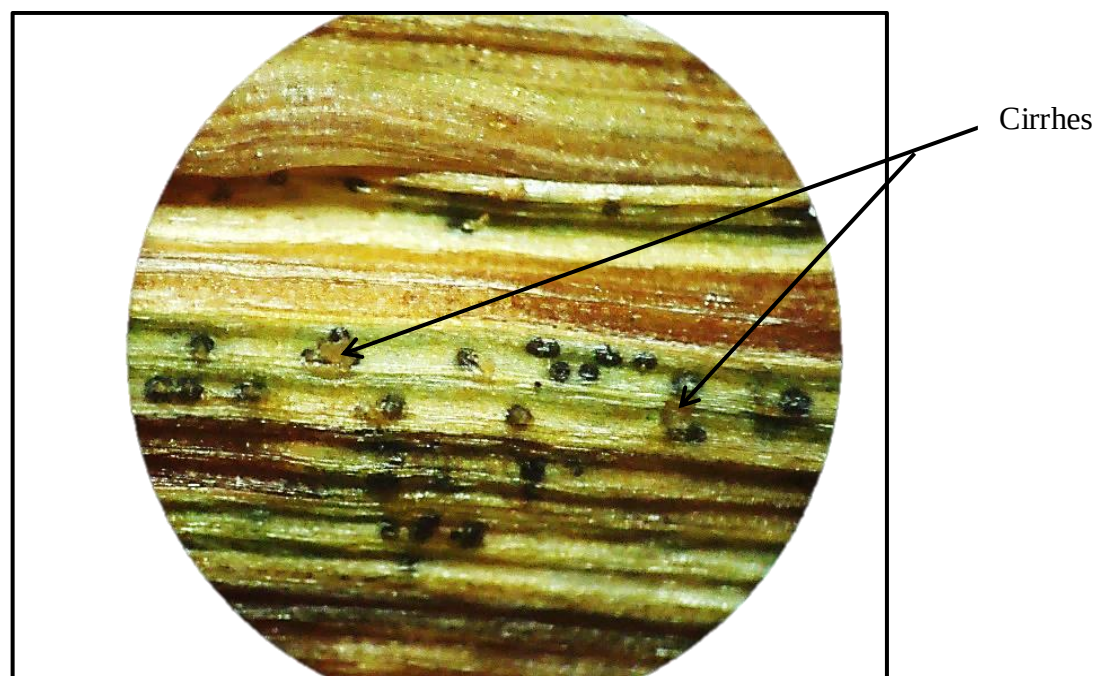


Figure 30 : Cirrhes de *M. graminicola* sur feuille de blé, émises après une nuit dans la chambre humide, observées à la loupe binoculaire (x 5). (Photo personnelle)

- La suspension de spores est ensuite étalée sur des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA (Potatoes Dextrose Agar, Difco Laboratories, Detroit, USA : 39 g de PDA/L d'eau osmosée, autoclavé pendant 2h).
- Après une période d'incubation de 4 jours à 18 °C et à l'obscurité, des micro-colonies de différentes couleurs (blanchâtres, rosâtres, noirâtres), caractéristiques de *M. graminicola*, se sont développées,
- A l'aide d'une Anse de platine, une seule colonie est prélevée puis repiquée sur du milieu PDA neuf. Les cultures monospores obtenues pour les différentes souches sont ensuite conservées dans des cryotubes à – 80 °C pour des analyses ultérieures.

4.2.3. Bilan des isolements

Au total 120 souches issues de cultures monospores de *M. graminicola* ont été retenues et ont fait l'objet de cette étude, 60 souches isolées sur du blé dur et 60 souches isolées sur du blé tendre, 30 isolats par région (zone) de culture (15 isolats issus de blé dur et 15 isolats issus de blé tendre), à l'exception des régions de, Annaba et Oran, où 15 isolats sont issus d'un seul génotype de blé : blé dur (*T. durum*) pour les isolats d'Annaba et blé tendre (*T. aestivum*) pour les isolats d'Oran (Tabs. 07 et 08).

Tous les isolats sont issus de champs naturellement infectés par la tache septorienne des feuilles (*Z. tritici* / *M. graminicola*).

Tableau 07 : Nombre d'isolats de *M. graminicola*, collectés des différentes zones de l'étude

Région	Nombre d'isolats issus de blé dur	Nombre d'isolats issus de blé tendre
Guelma	15	15
Constantine	15	15
Skikda	15	15
Annaba	15	---
Oran	---	15

Tableau 08 : Origine des isolats de *M. graminicola* retenus pour l'étude

ISOLATS RETENUS POUR L'ETUDE								
N°	GUELMA		CONSTANTINE		SKIKDA		ANNABA	ORAN
	Blé dur	Blé tendre	Blé dur	Blé tendre	Blé dur	Blé tendre	Blé dur	Blé tendre
	T05201 - T05215	T05216 - T05230	T05231 - T05245	T05246 - T05260	T05261 - T05275	T05276 - T05290	T05291 - T05305	T05306 - T05320
	Code	Code	Code	Code	Code	Code	Code	Code
1	T05201	T05216	T05231	T05246	T05261	T05276	T05291	T05306
2	T05202	T05217	T05232	T05247	T05262	T05277	T05292	T05307
3	T05203	T05218	T05233	T05248	T05263	T05278	T05293	T05308
4	T05204	T05219	T05234	T05249	T05264	T05279	T05294	T05309
5	T05205	T05220	T05235	T05250	T05265	T05280	T05295	T05310
6	T05206	T05221	T05236	T05251	T05266	T05281	T05296	T05311
7	T05207	T05222	T05237	T05252	T05267	T05282	T05297	T05312
8	T05208	T05223	T05238	T05253	T05268	T05283	T05298	T05313
9	T05209	T05224	T05239	T05254	T05269	T05284	T05299	T05314
10	T05210	T05225	T05240	T05255	T05270	T05285	T05300	T05315
11	T05211	T05226	T05241	T05256	T05271	T05286	T05301	T05316
12	T05212	T05227	T05242	T05257	T05272	T05287	T05302	T05317
13	T05213	T05228	T05243	T05258	T05273	T05288	T05303	T05318
14	T05214	T05229	T05244	T05259	T05274	T05289	T05304	T05319
15	T05215	T05230	T05245	T05260	T05275	T05290	T05305	T05320

4.2.4. Détermination des caractéristiques phénologiques des isolats

La diversité des couleurs et des formes, des colonies obtenues lors de la culture des isolats (culture monospore), a conduit à vérifier les caractéristiques morphologiques des isolats algériens de *M. graminicola*.

Ce test a porté sur 60 isolats issus des deux génotypes de blé (blé dur et blé tendre), collectés de différentes régions, et choisis en fonction des variations de la couleur, observées, lors de la culture. Deux critères ont été pris en considération :

- Couleur : notée pour les spores (micro-colonies) lors de la culture monospore, et pour la culture après repiquage d'une spore sur un milieu PDA, dans une nouvelle boîte.
- Aspect (forme) de la colonie, observée après culture de la souche sur un milieu PDA, par repiquage d'une spore, à l'aide d'une aiguille stérile (dépôt au milieu de la boîte).

Les notations des résultats, concernant la couleur, ont été effectuées après 6 jours de culture pour les spores (micro-colonies), et après 15 jours pour les colonies cultivées en stries. Alors que, pour l'aspect (forme de la colonie), les notations ont été effectuées un peu plus tard, après 25 jours de culture, afin de pouvoir noter le maximum d'observations et de variations pouvant se produire entre les différents isolats testés.

4.3. Evaluation du potentiel de la reproduction sexuée de *M. graminicola* dans les conditions de l'agrosystème algérien

4.3.1. Contexte et objectifs de l'étude

Au cours des deux derniers siècles, l'espèce *Phaeosphaeria nodorum* (E. Müll.) Hedjar., responsable de la tache septorienne des glumes, a été plus répandue sur le blé, par rapport à *Mycosphaerella graminicola* (Fückel) J. Schröt. in Cohn (anamorphe : *Zymoseptoria tritici* Desm.), responsable de la tache septorienne des feuilles du blé ; mais depuis 1980, les fréquences d'apparition des deux agents pathogènes ont été inversées (Shaw *et al.*, 2008).

Actuellement la tache septorienne des feuilles est la maladie la plus fréquente du blé dans le monde entier, notamment en Algérie. Elle s'attaque aussi bien au blé tendre (*Triticum aestivum* L.) qu'au blé dur (*Triticum durum*). Elle est particulièrement préjudiciable dans les zones avec un climat humide et tempéré (Eyal, 1999 ; Dunne, 2004), et des épidémies graves de cette maladie peuvent réduire les rendements de plus de 50 % (Ponomarenko *et al.*, 2011).

Pour le champignon *M. graminicola* la multiplication se réalise sur champs par les deux modes de reproduction : la reproduction asexuée et la reproduction sexuée. Au cours de la reproduction asexuée, le champignon produit des pycnidiospores qui sont dispersées localement par les éclaboussures de pluie, alors que d'une manière générale, les ascospores issues de la reproduction sexuée sont dispersées par le vent sur de longues distances (Shaw et Royle, 1989).

Etant donné que la reproduction sexuée se produit toute l'année (Hunter *et al.*, 1999), les ascospores contribuent à la progression de la maladie au cours de la saison, en plus de leur participation dans les primo-infections (infections initiales) du blé à l'automne (Kema *et al.*, 1996a ; Zhan *et al.*, 1998).

L'évaluation et la surveillance de la reproduction sexuée des champignons est un paramètre important dans les programmes de lutte antiparasitaire car, la diversité génétique, résultant de la recombinaison sexuée, peut conduire à une amélioration biologique de l'adaptation des champignons pathogènes : elle permet d'augmenter leurs aptitudes d'adaptation aux changements environnementaux (Chen et McDonald, 1996).

Chez *M. graminicola*, il a été démontré que, la fréquence de la reproduction sexuée entraîne une diversification des populations de cet agent pathogène à l'échelle du champ (Zhan *et al.*, 2003 ; El Chartouni *et al.*, 2011) ; et des recombinaisons sexuelles fréquentes, lui confèrent l'avantage de surmonter les résistances imposées par les cultivars de blé et/ou le développement de la résistance aux fongicides (Cowger *et al.*, 2000 ; Zhan *et al.*, 2007).

Les modes de reproduction des champignons ont été largement étudiés durant les dernières décennies. La plupart des études ont porté principalement, soit sur le clonage des gènes correspondants, et l'analyse de leurs séquences (Waalwijk *et al.*, 2002), ou encore sur la présence et la distribution géographique des deux types sexuels, ou idiomorphes (Halama, 2002 ; Zhan *et al.*, 2002 ; Siah *et al.*, 2010a).

Halama et Lacoste (1992) et Wirsal *et al.* (1998), ont démontré que les types sexuels (*Mating-types*) permettent de contrôler la fréquence de la reproduction sexuée et la production d'ascospores chez plusieurs espèces de champignons phytopathogènes.

Des travaux réalisés sur l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé, ont montré que, *M. graminicola* est un champignon haploïde hétérothallique loculoascomycète caractérisé par un système d'accouplement bipolaire, possédant un locus d'accouplement de type diallélique, qui se produit dans deux formes alternatives : MAT1-1 et MAT1-2 (Kema *et al.*, 1996). Ces formes sont appelées idiomorphes plutôt que des allèles, parce qu'elles montrent une différence significative dans les nucléotides (Turgeon, 1998).

Outre leur implication dans la reproduction sexuée à l'échelle de l'individu, les idiomorphes *MAT* jouent aussi un rôle crucial à l'échelle de la population ; l'évolution et la biologie des populations des champignons hétérothalliques est fortement liée à la distribution géographique des *Mating- types* (Zhan *et al.*, 2002).

L'étude des fréquences et de la distribution des idiomorphes *MAT* permet l'obtention de plusieurs informations liées à la génétique, la dynamique et au potentiel d'évolution des champignons ascomycètes hétérothalliques (Siah, 2009).

L'hypothèse que les populations de *M. graminicola* produisent des cycles réguliers de la reproduction sexuée peut être donc testée en étudiant les fréquences et la distribution des types sexuels (*Mating-types*). En effet, si les recombinaisons sexuées s'opèrent sur champ, et les ascospores sont la principale source de l'inoculum primaire, les deux types sexuels doivent être présents à des fréquences similaires (Milgroom, 1996).

Les deux types sexuels de *M. graminicola* ont été signalés dans les champs de blé dans différentes régions du monde, notamment en Iran (Abrinbana *et al.*, 2010), en France (Siah *et al.*, 2010a), aux U.S.A (Gurung *et al.*, 2011), en Tunisie (Boukef *et al.*, 2012) et au Maroc (Elbekali *et al.*, 2012).

Cependant, bien que *M. graminicola* est présent en Algérie et a un impact considérable sur le rendement du blé, aucune information n'est disponible à ce jour sur la biologie des populations de ce pathogène, ni encore sur l'occurrence de la reproduction sexuée.

Cette partie du travail vise à vérifier la présence des deux types sexuels de *M. graminicola* et leur distribution géographique dans les conditions de l'agrosystème algérien, ainsi que leur répartition sur les deux génotypes du blé (blé dur et blé tendre).

L'étude a été réalisée sur un échantillon de 120 souches du pathogène (cultures monospores) isolées à partir de cinq zones de culture céréalière de l'Algérie, issus des deux génotypes de blé (Tab. 8).

Deux paramètres sont pris en considération :

- Présence des deux types sexuels (*Mating-types*) dans les champs de blé en Algérie, et sur les deux génotypes de blé.
- Fréquence des types sexuels dans les différentes régions, et sur les deux génotypes de blé.

4.3.2. Détermination des *Mating-types*

La détermination des *Mating-types* a été effectuée selon la technique utilisée par Siah (2009) et Siah *et al.* (2010a), dont les différentes étapes sont décrites ci-dessous :

4.3.2.1. Dosage de l'ADN fongique

Le dosage de l'ADN fongique a été effectué comme suit (Siah, 2009) :

- Sous hotte à flux laminaire, environ 50 mg de cirrhes ont été prélevés à partir des souches cultivées sur PDA, à l'aide d'une anse de platine, puis déposés dans un tube eppendorf de 1,5 mL.
- Après l'ajout de deux cents (200 µL) d'eau ppi (Eau ultra-pure), les cirrhes sont broyés, vortexés et spinés avant de les mettre dans un sonificateur (Deltasonic, France) pendant 20 mn. Ce traitement physique aux ondes ultrason permet la libération du contenu cellulaire des spores en désorganisant la rigidité de leurs parois.

- Quatre cents μL (400 μL) de phénolchloroforme sont ensuite ajoutés dans les tubes. Les tubes sont vortexés et centrifugés pendant 4 min à 13000 tpm (tours/minutes) et à 4 °C (Hettich, Zentrifugen). Le surnagent est récupéré puis transféré dans un tube eppendorf neuf.

- Trois cents μL (300 μL) de chloroforme sont ajoutés dans les tubes qui seront ensuite vortexés et centrifugés pendant 3 min à 13000 tpm et à 4 °C. Cette opération est répétée deux fois. Le surnagent est récupéré puis transféré dans un autre tube eppendorf neuf.

- Afin de précipiter l'ADN, dix μL (10 μL) de NaCl à 5 M (5 Molaire) et cinq cents μL (500 μL) d'éthanol absolu sont ajoutés. Les tubes sont vortexés avant d'être stockés pendant une nuit à -20° C.

- Le lendemain, les tubes sont centrifugés à 14000 tpm pendant 30 min. Le culot est gardé, puis cinq cents μL (500 μL) d'éthanol à 70 % sont ajoutés. Les tubes sont à nouveau centrifugés à 14000 tpm pendant 15 min. Le culot correspondant à l'ADN propre est gardé puis séché au dessiccateur pendant 20 min ; quarante μL (40 μL) d'eau PPI sont ajoutés dans les tubes avant de les incuber dans une étuve à 37 °C dans l'objectif de solubiliser l'ADN.

- Après dosage de l'ADN à l'aide d'un spectrophotomètre UV (UV Light, Secoman, France) à 260 nm, les tubes contenant l'ADN pur sont conservés à -20 °C pour des analyses ultérieures.

4.3.2.2. Méthode de détermination des *Mating- types*

Les *Mating-types* du champignon sont déterminés par amplification par "PCR multiplex" de séquences partielles des deux idiomorphes *MAT1-1* et *MAT1-2*, selon la technique de Waalwijk *et al.* (2002).

Selon Siah (2009) cette technique est avantageuse en termes de rapidité, d'efficacité et de fiabilité par rapport à celle des croisements sur plantules, développée par Kema *et al.* (1996a). La "PCR multiplex" a été également utilisée par Cherif *et al.* (2006) pour déterminer les *Mating-types* d'*Ascochyta lentis*.

Les amorces utilisées pour l'amplification des séquences *MAT1-1* sont :

- F (5'-CCGCTTTCTGGCTTCTTCGCACTG-3', position des nucléotides entre 5494 et 5517 sur le locus *MAT1-1*, numéro d'accès GenBank : AF440399) et,
- R (5'-TGGACACCATGGTGAGAGAACCT-3', position des nucléotides entre 5812 et 5834).

Cette amplification génère des fragments de 341 pb pour les souches de type *MAT1-1* correspondant aux positions 576 à 916 des 994 pb du gène *MAT1-1*.

Les amorces utilisées pour l'amplification des séquences *MAT1-2* sont :

- F (5'-GGCGCCTCCGAAGCAACT-3', position des nucléotides entre 10117 et 10134 sur le locus *MAT1-2*, numéro d'accès GenBank : AF440398) et,
- R (5'-GATGCGGTTCTGGACTGGAG-3', position des nucléotides entre 10754 et 10773).

Cette amplification génère des fragments de 657 pb pour les souches de type *MAT1-2*, correspondant aux positions 448 à 1104 des 1233 pb du gène *MAT1-2*.

Les réactions *PCR* sont réalisées dans des tubes eppendorf *PCR* contenant un mélange de 0,1 µL de chacune des quatre amorces à une concentration de 20 µM, 4 µL de dNTP à 2,5 mM, 8 µL de MgCl₂ à 25 mM, 5 µL de tampon 10x, 0,25 unité de la *Taq* Polymérase (Ampli *Taq* Gold, Applied Biosystem, Roche) et 5 µL de l'ADN génomique de chaque souche du parasite (concentration finale 1 ng/µL).

Le mélange réactionnel est ajusté à 50 µL avec de l'eau ppi, les tubes sont ensuite incubés dans un thermocycleur (Peltier, MJ Research) et sont soumis à 40 cycles du programme de température suivant : incubation à 94 °C pendant 10 minutes, dénaturation à 94 °C pendant 60 secondes, hybridation des amorces à 60 °C pendant 30 secondes, et extension à 72 °C pendant 60 secondes. Après le dernier cycle, les échantillons sont incubés à 72 °C pendant 10 minutes, puis stockés à + 4 °C.

Les amplicons (fragments amplifiés) sont séparés par électrophorèse sur un gel d'agarose (1,5 % d'agarose, TBE (Tris-Borate-EDTA) à 0.5 x) à 100 V, pendant 45 minutes.

Les fragments sont ensuite visualisés sous UV et les photographies des gels sont prises à l'aide d'une caméra (Clara Vision, France).

Le choix de l'endonucléase *Taq* utilisée pour la digestion des amplicons *MAT1-1* et *MAT1-2* est déterminé sur le site web <http://www.restrictionmapper.org>.

L'alignement et l'analyse des séquences nucléotidiques et d'acides aminés pour les fragments *MAT1-1* et *MAT1-2* séquencés sont réalisés sur le site web d'infobiogen (<http://bioinfo.hku.hk/services/menuserv.html>).

4.3.3. Traitement statistique des résultats

Les fréquences de répartitions des deux *Mating-types* en fonction des localités géographiques (Régions), et des génotypes de blé à partir desquelles l'échantillonnage a été effectué, ont été analysées par le test de khi deux (χ^2) au risque $\alpha = 5 \%$ à l'aide du logiciel STATISTICA (version 8).

4.4. Analyse de la diversité génétique et la structure de la population

4.4.1. Contexte et objectifs de l'étude

M. graminicola est un champignon haploïde avec un système de reproduction hétérothallique. La recombinaison sexuée est fréquente, avec un ou plusieurs cycles qui se produisent par saison (Eriksen *et al.*, 2001 ; Cowger *et al.*, 2002). Les spores sexuées (ascospores) agissent comme sources principales d'inoculum pour l'initiation des épidémies de la maladie (Shaw et Royle, 1989). Des études antérieures ont montré que le rôle des spores asexuées dans le développement des épidémies est nettement supérieur à celui des ascospores sexuées en début de saison, tandis que la contribution du téléomorphe (forme sexuée) augmente progressivement au stade tardif de la croissance des feuilles (Eriksen et Munk, 2003).

Les ascospores sont des propagules susceptibles d'être dispersées par le vent sur de longues distances, allant jusqu'à 100 km et provoquent de fortes densités de l'infection (Linde *et al.*, 2002 ; Banke *et al.*, 2004).

Contrairement à la reproduction sexuée, la multiplication clonale s'effectue par des spores asexuées (pycnidiospores) qui sont généralement dispersées sur de courtes distances par les éclaboussures de pluie (Boeger *et al.*, 1993 ; Chen et McDonald, 1996 ; Linde *et al.*, 2002). Plusieurs travaux ont montré que, le stade sexué a un impact majeur sur la structure génétique de *M. graminicola* (McDonald *et al.*, 1994 ; Chen et McDonald, 1996).

Le contrôle de la tache septorienne des feuilles du blé, repose plus spécifiquement sur l'emploi de cultivars résistants, et l'utilisation de fongicides. Néanmoins, ces stratégies de lutte ont des applications limitées pour les agents pathogènes avec une grande flexibilité génétique, comme *M. graminicola*, capables d'évoluer afin de surmonter la résistance des gènes, imposée par les cultivars résistants (McDonald et Linde, 2002), et où de nombreux isolats résistants aux fongicides surviennent chaque année partout, dans différents pays du monde (Fraaije *et al.*, 2003; 2007; Brunner *et al.*, 2008 ; Elbekali *et al.*, 2011; Mullins *et al.*, 2011; Boukef *et al.*, 2012). De ce fait, des stratégies fructueuses dans les programmes de lutte s'appuient fortement sur la connaissance de la biologie, la dynamique des populations et la structure génétique du pathogène (McDonald et Linde, 2002).

Lourd (1995) signale que, l'apparition des techniques de génétique moléculaire ont permis de faire progresser nos connaissances sur la génétique et la structure des populations des champignons parasites. En parvenant à une meilleure appréciation du polymorphisme, il est possible d'évaluer avec plus de précision l'aptitude de l'agent pathogène à répondre aux changements intervenant dans l'agrosystème, ce qui permettra de gérer les gènes de résistance des plantes en fonction d'une évolution prévisible des populations parasites dans le temps et dans l'espace.

La structure génétique se réfère à la quantité de la diversité génétique et sa répartition au sein, et entre les populations (McDonald, 1997). C'est le résultat des interactions entre les principales forces évolutives, y compris la mutation, le flux génétique, le mode de reproduction et la sélection. Ces déterminants peuvent, au fil du temps, entraîner des changements substantiels dans les populations de pathogènes constituant un risque potentiel pour l'hôte cible.

La compréhension du rôle de chaque facteur et comment il influe sur l'émergence d'une population nouvellement adaptée est indispensable pour prévoir le risque d'un agent pathogène et améliorer les stratégies de lutte (McDonald *et al.*, 1989 ; McDermott et McDonald, 1993 ; Adiba, 2010).

Le flux génétique est un facteur important pour déterminer la structure et la démographie des populations (Gurung *et al.*, 2011). La capacité d'un agent pathogène à diffuser sur de longues distances a un impact direct sur les stratégies de gestion de la maladie, et les pathogènes avec un flux de gènes élevé présentent une menace plus grave par rapport aux agents pathogènes à faible flux de gènes (McDonald et Linde, 2002).

La structure génétique des populations de *M. graminicola* originaires de différentes régions géographiques ont été analysées à l'aide de différentes techniques moléculaires, telles que : les RAPD, les RFLP, les AFLP, les microsatellites (SSR),...

Selkoe et Toonen (2006) signalent que, la technique des marqueurs microsatellites (SSR) ou Simple-Sequence-Repeat est une technique qui a connu une large application dans les études écologiques, notamment dans les études portant sur des approches de la génétique.

Pitel et Riquet (2000) révèlent que la technique SSCP (Single-Stranded Conformation Polymorphism), est une technique très performante pour la détection des polymorphismes génétiques ; plus de 80 % des mutations peuvent être détectées pour des fragments de 180 à 200 pb ; mais son efficacité diminue pour des fragments plus longs.

Chez *M. graminicola*, Owen *et al.* (1998) ont décrit les neuf premiers marqueurs microsatellites, puis, près d'une centaine de marqueurs microsatellites supplémentaires ont été identifiés ultérieurement.

De nombreux microsatellites ont été caractérisés et génétiquement localisés dans le génome de ce pathogène (Goodwin *et al.*, 2007) et peuvent être utilisés pour estimer la diversité génétique au sein et entre les populations (Gurung *et al.*, 2011), et les fréquences d'allèles de chaque locus sont détectables (Komijani *et al.*, 2010).

À ce jour, aucune information n'est disponible sur la structure génétique de la population algérienne de *M. graminicola*, agent causal de l'une des maladies les plus fréquentes sur le blé et qui représente un problème économique majeur, en limitant la production du blé, qui est l'une des cultures les plus importantes dans ce pays.

Cette partie du travail de thèse, vise à caractériser et étudier pour la première fois :

- La diversité génétique de la population algérienne de *M. graminicola* au niveau de cinq régions productrices de blé ;
- La diversité génétique de l'agent pathogène sur les deux génotypes de blé (blé dur et blé tendre) ;
- Le flux de gènes entre les différentes zones étudiées et l'éventuelle structure de la population.

Pour cela, 08 marqueurs microsatellites, analysés par la technique du polymorphisme de conformation du simple brin d'ADN (SSCP) ont été utilisés pour étudier la diversité génétique de ce pathogène en Algérie ; et cent vingt (120) isolats de *M. graminicola* issus de cinq (05) régions de culture du blé, et collectés sur les deux génotypes de blé, ont fait l'objet de cette étude.

4.4.2. Analyse de la diversité génétique par la technique du polymorphisme de conformation du simple brin d'ADN (SSCP)

4.4.2.1. Principe de la technique SSCP

Le polymorphisme de conformation du simple brin d'ADN (SSCP : Single-Stranded Conformation Polymorphism) est une technique de séparation par électrophorèse de molécules d'ADN simples brins dans un gel d'acrylamide non dénaturant de l'ADN (Fig. 31).

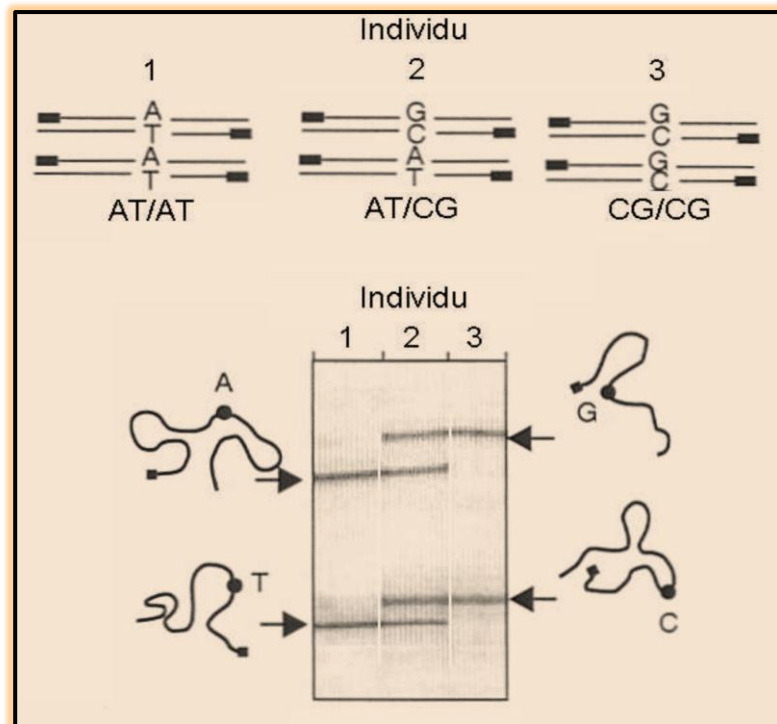


Figure 31 : Principe de la technique SSCP
(Pitel et Riquet, 2000)

Le principe de la méthode consiste à séparer les fragments d'ADN monocaténares selon la conformation (Siah, 2009). Ainsi, entre deux fragments d'ADN dont les séquences ne diffèrent que par la substitution d'une seule paire de base, il peut apparaître des polymorphismes de structure secondaire après dénaturation. La technique PCR-SSCP est capable de révéler ces éventuels polymorphismes, et donc de détecter d'éventuelles variations de séquences nucléotidiques entre différents individus (Hayashi, 1991).

Après amplification par PCR, la molécule à analyser est dénaturée par chauffage. Les échantillons sont maintenus dans une solution limitant la renaturation. Chacun des deux brins peut alors adopter une conformation particulière. Les échantillons sont chargés sur un gel de polyacrylamide non dénaturant. La migration de l'ADN simple brin est dépendante de la conformation qu'il adopte dans la maille de polyacrylamide : la distance parcourue par le fragment ne dépend donc plus seulement de sa taille, mais aussi de sa structure secondaire et donc de sa séquence (Dufourg, 1998 ; Sunnucks *et al.*, 2000 ; Zhu *et al.*, 2006).

Dans l'analyse PCR-SSCP, les changements dans plusieurs centaines de bases peuvent être détectés, contrairement à d'autres techniques où des séquences relativement courtes (quelques bases) sont détectées (Hayashi, 1991).

4.4.2.2 Amplification de l'ADN des marqueurs microsatellites et des séquences analysées par PCR-SSCP

4.4.2.2.1. Les marqueurs microsatellites

Les marqueurs microsatellites sont des séquences courtes de nucléotides simples, répétées en tandem (toujours dans le même sens, par opposition à répétitions inversées). Il s'agit de motifs mono-, di-, tri- et tétra-nucléotidiques à différents locus (Fig. 32), réparties uniformément dans le génome (Abd Essalam *et al.*, 2011).

Les microsatellites les plus courants sont (A)_n, (TC)_n, (TAT)_n et (GATA)_n. Le nombre d'unités répétées peut aller jusqu'à 6 et les valeurs de n sont de quelques unités à plusieurs dizaines [9], notamment, de 5 à 40 (Camus, 2008).

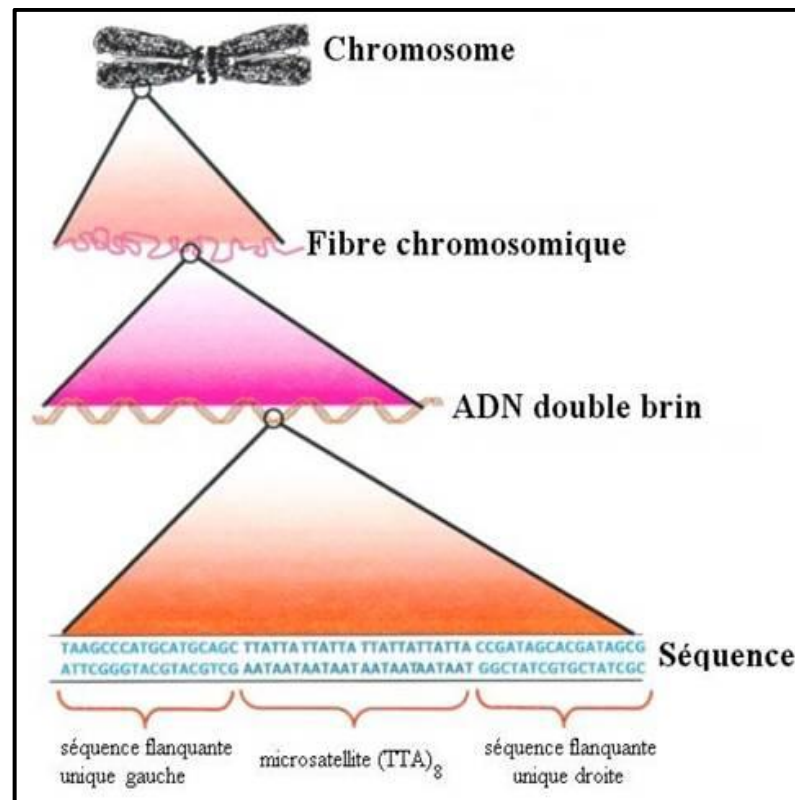


Figure 32 : Schéma d'un marqueur microsatellite [10]

Plusieurs auteurs ont utilisés des marqueurs microsatellites pour étudier le polymorphisme de *M. graminicola* (Owen *et al.*, 1998 ; Razavi et Hughes, 2004a ; Banke et McDonald, 2005 ; Goodwin *et al.*, 2007 ; Komijani *et al.*, 2010 ; El Chartouni *et al.*, 2011 ; Gurung *et al.*, 2011 ; Boukef *et al.*, 2012 ; Berraies *et al.*, 2013).

Pour cette étude, nous avons utilisé huit (08) marqueurs microsatellites : ST1A4, ST1E3, ST1E7, ST1D7, ST1G7, ST2E4, ST2C10 et AC0007. Les motifs répétés ainsi que leur nombre, pour chaque marqueur sont indiqués dans le tableau 09.

4.4.2.2.2. Technique d'analyse de la diversité par PCR-SSCP

a. Les PCR

La technique de PCR (**P**olymerase **C**hain **R**eaction = Réactions en chaîne par polymérase = Amplification en chaîne par polymérisation) a été utilisée pour révéler le polymorphisme des microsatellites. Une paire d'amorces spécifiques des bordures droite et gauche d'un microsatellite est utilisée pour amplifier le même microsatellite chez différents individus. En effet, chaque microsatellite est bordé par des séquences uniques qui lui sont propres (séquences flanquantes). Les fragments d'amplification sont ensuite révélés par électrophorèse. Un individu B, possédant plus d'unités de répétition qu'un individu A, a un produit d'amplification qui migre plus lentement que celui de A [9].

Les amorces utilisées pour les huit (08) marqueurs microsatellites analysés dans cette étude sont citées dans le tableau 09.

Tableau 09 : Tableau récapitulatif des amorces utilisées pour les 08 marqueurs microsatellites analysés (Owen *et al.*, 1998)

Marqueur	Motifs répétés	Séquences d'amorces		Température d'hybridation
ST1A4	(CGG)7	F	GGTTCGATGGAGAGATTT	58°C
		R	TCACCTCCTCATCGCAGA	
ST1E3	(CGG)5	F	GTTCCGCCGGTCGAAGTCG	65°C
		R	GCCAAGGCACTGCTGCTCC	
ST1E7	(CGG)5	F	GATCTCGAGCAGGGCGGAAGT	65°C
		R	TCACACGCTGGTCTGTGAATC	
ST1D7	(AC)22	F	ATCCTCCATTCACTACTGCAT	65°C
		R	TGTGGAACAGGAATAGGCTTG	
ST2E4	(GGC)5	F	GAAGATCAACAGCATGGGCGG	58°C
		R	CTCCAGAGGGATCACAAAGGC	
ST2C10	(AGCGG)4	F	AGGCGAGAACTTGCTTGACAG	58°C
		R	AATGAACGTCCCATGGACGTG	
ST1G7	(TG)9	F	ATGCTGAGAAGTTCCGGTGAGG	65°C
		R	CGTTCCTCCACCTCCAACACT	
AC0007	(AC)15	F	TGCTCGCAAGACATAAAACG	58°C
		R	CTCTTAGCATTGGTCGGTGG	

F : Forward, R : Reverse

➤ **Préparation des amorces**

Les amorces sont préparées selon les indications portées sur la fiche technique fournie par le fournisseur :

- Pour chaque amorce utilisée les tubes mère (F et R) conservés à – 20 °C sont mis sous hotte pour faire dissoudre le contenu, vortexés et spinés,
- Puis dans un tube eppendorf de 1 mL, l'amorce est préparée en prenant : 192 µL d'eau PPI (Eau pure) auxquels sont ajoutés 4 µL de chacun des tubes mère (F et R) de l'amorce,
- Le contenu est vortexé, spiné et conservé à -20 °C jusqu'à utilisation.

➤ **Amplification**

L'amplification des produits PCR des microsatellites a été réalisée comme suit :

- Prendre 18 µL du mélange de PCR (Mélange réactionnel), dont la composition est indiquée dans le tableau 10,
- Ajouter 2 µL de l'ADN,
- Vortexer et spinner,
- Faire passer à un thermocycleur (*MJ Research*) pour une amplification en 40 cycles selon le programme décrit par Razavi et Hugues (2004) qui comprend plusieurs étapes :
 - Une première étape de dénaturation de 60 secondes à 95°C ; suivie de 30 cycles d'amplification formés d'une étape de dénaturation à 95°C pendant 40 secondes,
 - Une étape d'hybridation de 60 secondes, en respectant les températures optimales d'hybridation de chaque paire d'amorce (58°C pour les marqueurs ST1A4, ST2E4, ST2C10 et AC0007, et 65°C pour les autres marqueurs),
 - Une étape de polymérisation à 72°C pendant 60 secondes,
 - L'étape finale d'extension s'est déroulée à 72°C pendant 10 minutes. Une fois l'opération est achevée les échantillons sont conservés à + 4°C.

Tableau 10 : Composition du mélange utilisé pour l'amplification de l'ADN (Siah, 2009)

N°	Produit	Volume (µL)
01	Eau PPI	725
02	Tampon 10x*	135
03	MgCl ₂	216
04	dNTP **	108
05	Amorce	13.5
06	Taq polymérase	13.5
Volume total	Mélange réactionnel	1211

* Le tampon PCR est composé de : 750 mM Tris-HCl pH 8.8 (à 25°C), 200 mM (NH₄)₂SO₄, 0.1% (v/v) Tween 20 (El chartouni, 2009).

** Le dNTP est un mélange formé de 4 désoxyribonucléases à une concentration de 100 mM : dATP (désoxy-adénine tri-phosphate), dCTP (desoxy-cytosine tri-phosphate), dGTP (désoxy-guanine triphosphate) et dTTP (désoxy-thymine tri-phosphate).

Le dNTP est utilisé au cours d'une PCR (amplification de l'ADN) comme élément de synthèse de l'ADN complémentaire. Il a été préparé dans un tube eppendorf de 1 mL, en prenant 720 µL d'eau PPI et 20 µL de chacune des 4 désoxyribonucléases (vortexer pour mélanger les produits).

b- Mode opératoire de l'analyse par PCR-SSCP

➤ Préparation des plaques

La préparation des plaques a été réalisée selon les étapes suivantes :

- Un bon nettoyage des plaques avec un détergent et de l'eau, puis avec un alcool (Méthanol),
- Une solution de methacryloxypropyl-trimethoxysilane (colle) dans l'acide acétique à 10 %, est étalée, avec du papier propre, à la surface de la plaque découpée,
- Laisser sécher 5 mn,
- Etaler la sigmacote (silicone) sur la surface de l'autre plaque (non découpée),

- Laisser sécher 2 à 3 mn,
- Rincer à l'eau distillée,
- Après 5 mn, la plaque découpée est rincée 3 fois au méthanol,
- Une fois les plaques sont prêtes, mettre les espaceurs,
- Superposer les deux plaques, les faces traitées au contact l'une de l'autre, puis placer les pinces pour fixer les plaques (Fig. 33).

➤ Préparation et écoulement du gel

Le gel utilisé pour l'analyse est le gel de polyacrylamide non-dénaturant (**Mutation Detection Enhancement (MDETM)** 2x concentrate, FMC Bioproducts), préparé selon les instructions du fabricant (Tab. 11).

Plusieurs auteurs révèlent que le gel de polyacrylamide est souvent utilisé pour la séparation des molécules biologiques (Blum *et al.*, 1987 ; Bassam *et al.*, 1991 ; Bassam et Bentley, 1995 ; Bassam et Gresshoff, 2007).

Tableau 11 : Composition du gel MDE
(El Chartouni, 2009 ; Siah, 2009)

Composé	Quantité
MDE (2x)	18.75 mL
TBE (5x)*	09.00 mL
Eau distillée	47.70 mL
Temed	30.00 µL
Ammonium Persulfate	300.00 µL
Quantité totale	75 mL

* Pour un litre d'eau, la solution de TBE (5x) est constituée de :

- 54,4 g de Tris,
- 27,8 g d'acide borique,
- 4,65 g d'EDTA

L'écoulement se fait à l'aide d'une seringue de 50 mL, le gel est coulé horizontalement en longeant le bord de la plaque. Il progressera tout seul par capillarité (Fig. 34).

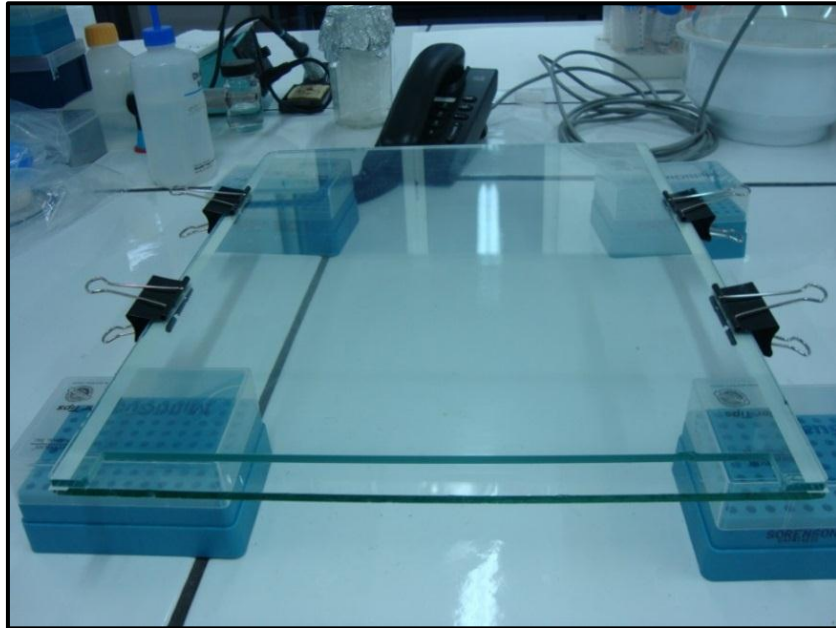


Figure 33 : Préparation des plaques d'analyse SSCP
(Photo personnelle).

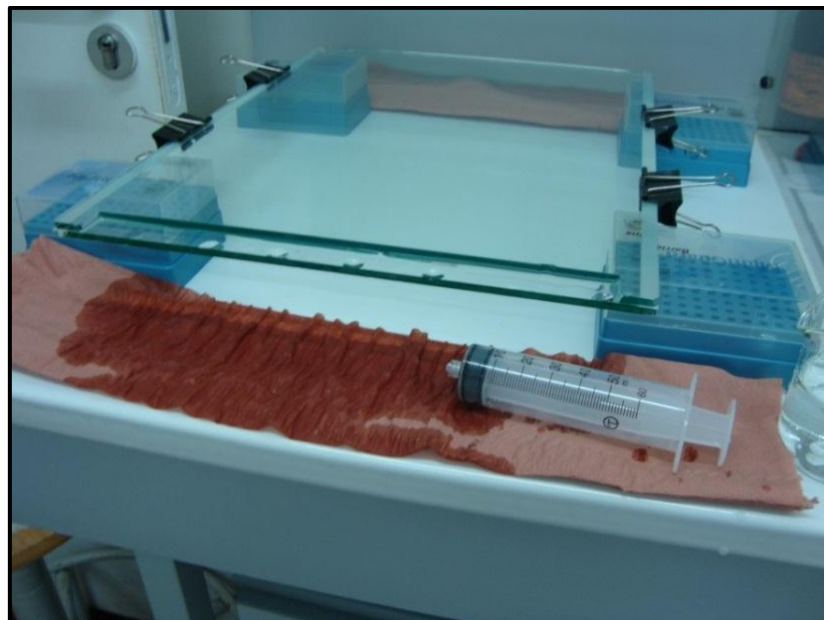


Figure 34 : Ecoulement du gel entre les plaques
(Photo personnelle)

Une fois le gel atteint la partie basale des plaques, le peigne est placé, dents vers l'extérieur, laisser polymériser environ deux (02) heures.

➤ **Préparation de l'appareil**

Avant le dépôt des échantillons, l'appareil doit être préparé, ainsi que le tampon de migration, constitué de TBE 0.6 x, à partir d'une solution mère 5x. La quantité nécessaire du tampon est environ 1 Litre.

Après polymérisation, du gel, les étapes de manipulation doivent suivre l'ordre suivant :

- Enlever les pinces et le peigne,
- Placer les vitres sur l'appareil,
- Replacer le peigne (Dans l'autre sens, dents vers le bas, et enfoncer juste l'extrémité des pointes dans le gel),
- Bien fixer les vitres sur l'appareil.
- Numéroté les puits : puit 0 est réservé pour le poids moléculaire,
- Mettre le tampon de migration (TBE 0.6 x) sur l'appareil.

➤ **Dépôt des échantillons**

Avant le dépôt des échantillons sur le gel, la dénaturation des fragments est réalisée dans des tubes eppendorf PCR contenant chacun 20 µL d'amplicons digérés et 20 µL du tampon de dénaturation composé de :

- 0.025 g de bleu de bromophénol
- 0.025 g de xylène cyanol
- 10 mL de NaOH 10 mM à 95 % formamide.

Les tubes sont ensuite vortexés, chauffés à 95 °C pendant 4 minutes pour hybridation puis refroidis immédiatement dans de la glace pillée.

Après dépôt de 3 µL de chaque échantillon sur le gel (Fig. 35), l'appareil est mis en marche, et les fragments sont séparés par électrophorèse sous conditions non dénaturantes à 4-12 watts pendant 4-15 heures (Fig. 36).

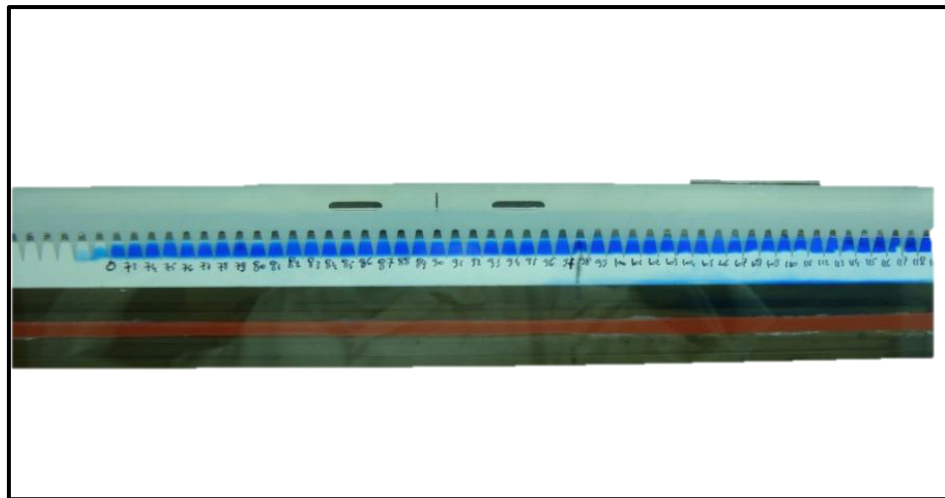


Figure 35 : Dépôt des échantillons sur le gel SSCP
(Photo personnelle)

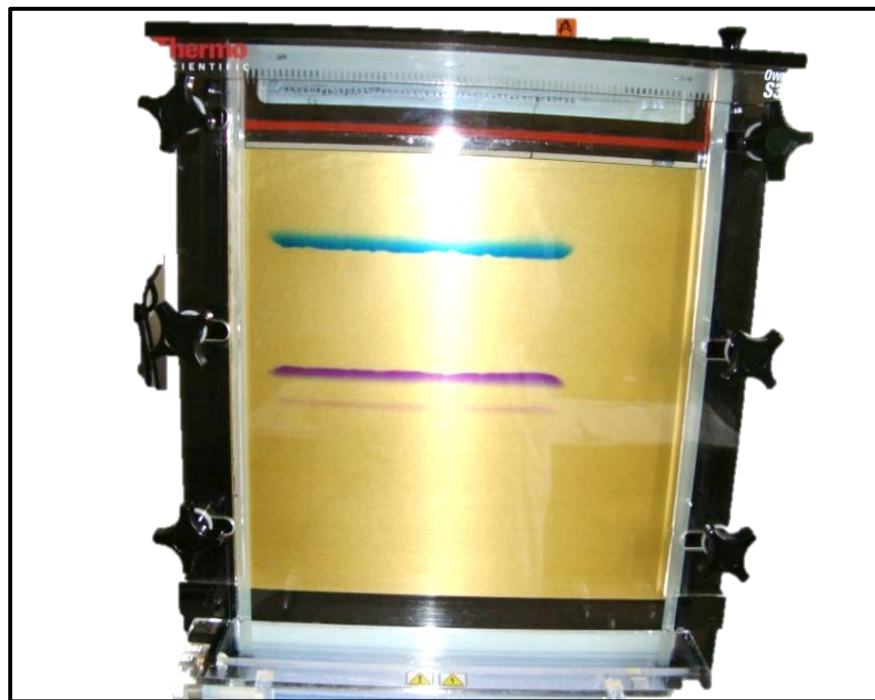


Figure 36 : Migration des échantillons par électrophorèse
(Photo personnelle)

A la fin de la migration l'appareil est arrêté, le tampon de migration est récupéré et les plaques sont retirées et séparées l'une de l'autre.

Une fois la séparation des plaques est faite, le gel restant collé à la plaque découpée, est coloré au nitrate d'argent selon le protocole de Bassam *et al.* (1991), décrit par El Chartouni (2009) et Siah (2009).

➤ **Coloration au nitrate d'argent**

Trois solutions sont nécessaires à la coloration du gel et doivent être préparées préalablement :

- **Une solution (I)** de fixation composée d'acide acétique 10%,
- **Une solution (II)** de nitrate d'argent, (préparée sous hotte), composée de :

- Eau	2 L
- Formaldéhyde	3 mL
- Nitrate d'argent	2 g
- **Une solution (III)** de carbonate de sodium (préparée sous hotte), composée de :

- Eau	2 L
- Formaldéhyde	3 mL
- Carbonate de sodium	60 g
- Thiosulfate de sodium	9 à 10 mg

La révélation du gel (Fig. 37) se fait en plusieurs étapes, selon le protocole décrit par El Chartouni (2009) et Siah (2009), et elle nécessite beaucoup d'attention et de concentration :

- Une fois les plaques sont séparées, la plaque portant le gel est placée dans un bac contenant la solution de fixation d'acide acétique 10 % (**Solution I**), pendant 30 mn,
- Puis elle est rincée 3 fois à l'eau pendant 20 s, 45 min et 15 min respectivement, en vue d'éliminer l'acide acétique,
- Ensuite la plaque subit une imprégnation au nitrate d'argent (**Solution II**) 30 à 45 mn,
- Pour éliminer l'excès du nitrate d'argent, la plaque est rincée à l'eau pendant 20 s,

- Puis elle est placée dans la solution de carbonate de sodium (**Solution III**) quelques secondes,
- Une fois les bandes sont visibles sur le gel, la plaque est remise rapidement dans la solution de l'acide acétique à 10 % avant l'apparition du bruit de fond, pendant environ 15 mn,
- Un rinçage de 15 min à l'eau est obligatoire avant de sécher la plaque à l'étuve (à 50 °C) pendant 2 h,
- Après séchage, le gel est scanné et les profils électrophorétiques seront notés et analysés.

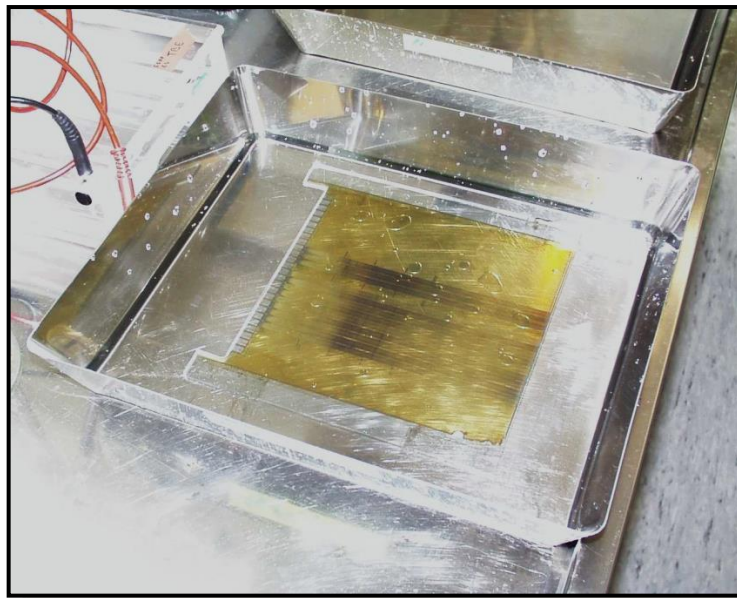


Figure 37 : Coloration des gels au nitrate d'argent (Tebbe, 2000)

4.4.3. Analyse des résultats et évaluation de la diversité génétique et la structuration de la population

Nous tenons à rappeler que l'analyse de la diversité par la technique SSCP a été réalisée en utilisant 08 marqueurs microsatellites : ST1A4, ST1E3, ST1E7, ST1D7, ST1G7, ST2E4, ST2C10 et AC0007, et a porté sur 120 isolats.

A la fin du test, chaque isolat est représenté par une série de lettres, correspondant à la différence dans la longueur des profils enregistrés pour les différents marqueurs testés, et ce en comparaison avec les autres isolats pour un même marqueur (08 marqueurs = 08 lettres pour chaque isolat, qui peuvent être identiques ou différentes).

Une différence de lettre dans la notation, signifie, une différence dans la longueur des profils, et donc une différence dans le nombre des motifs répétés pour le même marqueur microsatellite entre deux isolats différents, et elle reflète un polymorphisme entre les deux individus.

Pendant la notation des profils, les allèles nuls (allèles ne présentant pas de produits d'amplifications), ont été considérés comme étant le même allèle.

Les résultats relatifs au polymorphisme enregistré entre les différents isolats testés, sont ensuite portés dans des tableaux « sources ». Une analyse multiple de correspondance par XL STAT (Version 2010), a révélé des haplotypes formés d'un isolat ou plus.

Les isolats présentant des profils d'ADN identiques ont été considérés comme membre d'un même clone, puisqu'ils sont les produits potentiels d'une reproduction asexuée.

En plus de l'XL STAT, le traitement des résultats a été effectué par application de programmes (logiciels) spéciaux, permettant l'estimation de paramètres relatifs à la diversité génétique et la structuration des populations des êtres vivants.

Le tableau 12 présente les noms et les références de quelques logiciels utilisés dans ce domaine.

Tableau 12 : Quelques logiciels utilisés pour l'évaluation de la diversité génétique et la structuration des populations (Leblois, 2009)

Nom du logiciel	Référence
FSTAT	Goudet (1995)*
Genetix	Belkhir <i>et al.</i> (1996)*
Arlequin	Schneider <i>et al.</i> (2000)*
Genepop (PopGene)	Yeh <i>et al.</i> (2000)**
SPAGeDi	Hardy et Vekemans (2002)*
Genepop (PopGene)	Rousset (2007)*

* Références citées in Leblois (2009)

** Références citées in El Chartouni (2009)

Pour cette étude nous avons utilisé le programme PopGene (Version 1.32 ; Yeh *et al.*, 2000. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada, URL: <http://www.ualberta.ca/~fyeh/index.htm>).

Plusieurs auteurs ont utilisé ce logiciel pour étudier la structure des populations des agents pathogènes (Adhikari *et al.*, 2008 ; Kabbage *et al.*, 2008 ; 2009 ; Travadon, 2008 ; El Chartouni, 2009 ; Setti *et al.*, 2012a), ou même les populations des plantes (Ouédraogo *et al.*, 2005).

4.4.3.1. Paramètres estimés pour l'évaluation de la diversité génétique

Plusieurs paramètres peuvent être estimés pour l'évaluation de la diversité génétique et la structure des populations. Les paramètres mesurés, sont cités ci-dessous :

*** La fraction clonale**

La fraction clonale **Fc** ou **CF** (pour « Clonal Fraction ») qui signifie, la proportion de souches fongiques issues de la reproduction asexuée au sein d'une population et indique le pourcentage de clones à l'intérieur d'une population, a été mesurée en appliquant la formule donnée par Zhan *et al.* (2003) et Jürgens *et al.* (2006) :

$$CF = 1 - \frac{\text{nombre d'haplotypes}}{\text{nombre de souches différentes}}$$

*** La correction clonale**

La correction clonale permet d'éliminer une sur-représentation de certains haplotypes, qui seraient en fait des clones (El Chartouni, 2009). Cette correction est effectuée après le calcul de la fraction clonale. Un seul représentant par clone sera sélectionné.

*** Les fréquences alléliques**

Dans une population, plus d'un allèle peut être présent à un locus donné. La proportion relative de chaque allèle est décrite comme étant la fréquence allélique. Cette fréquence est un paramètre fondamental dans les études de populations puisque les variations

génétiques d'une population sont habituellement décrites par des changements de fréquence allélique (Nei, 1987). Pour une population de N individus d'une espèce haploïde, si deux allèles se retrouvent en n_1 et n_2 copies à ce locus donné, la fréquence allélique de chaque allèle serait respectivement de n_1/N et n_2/N . La somme de ces fréquences alléliques est égale à 1 (Li et Graur, 1991).

* L'indice de Nei (h)

L'indice de Nei est un indice d'estimation de la diversité génique. Son calcul repose sur la probabilité d'avoir deux allèles différents à un locus donné parmi deux individus tirés au hasard dans une population (ensemble des individus) ou une sous-population. Une valeur élevée de l'indice indique un nombre élevé d'allèles (El Chartouni, 2009).

La fraction clonale (CF ou F_c) et la correction clonale sont les seuls paramètres estimés pour l'évaluation de la diversité génétique, qui ont été déterminés par XL STAT (version 2010). Tous les autres paramètres estimés sont déterminés par utilisation du programme PopGene.

4.4.3.2. Paramètres estimés pour l'étude de la structure de la population

Tous les paramètres estimés pour l'étude de la structure de la population ont été déterminés par utilisation du programme PopGene (Version 1.32; Yeh *et al.*, 2000, Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada, URL : <http://www.ualberta.ca/~fyeh/index.htm>) :

* La différenciation entre populations (G_{ST})

Elle représente la répartition de la diversité au sein des populations. Des valeurs de G_{ST} inférieures à 0,05 indiquent une différenciation génétique négligeable, alors que des valeurs supérieures à 0,25 montrent une importante différenciation génétique avec des populations structurées (Nagylaki, 1998 ; El Chartouni, 2009) :

- de 0.0 à 0.05 : différenciation génétique faible
- de 0.05 à 0.15 : différenciation génétique modérée
- de 0.15 à 0.25 : différenciation génétique élevée
- > 0.25 : différenciation génétique très élevée

*** Le flux de gène (Nm)**

McDermott et McDonald (1993) définissent le flux de gène (Nm) comme le paramètre résultant du mouvement des gènes d'une population à l'autre.

El Chartouni (2009) rapporte que, le flux de gène évite la fixation de différents allèles dans des populations locales. Les champignons pathogènes des plantes peuvent être disséminés localement (par les gouttelettes de pluie, les débris contaminés, etc.), et sur de longues distances (par le vent, les grains contaminés etc.), ce qui peut influencer le flux de gène.

Un flux de gène inférieur à 1, augmente la différenciation entre populations tandis qu'un flux de gène supérieur à 1, diminue la différenciation entre populations. Ce paramètre est inversement corrélé au paramètre de différenciation des populations (El Chartouni, 2009):

$$Nm = 0,25[(1/G_{ST})-1]$$

*** Le déséquilibre gamétique**

Dans les populations naturelles, l'association au hasard entre allèles de différents gènes n'est pas toujours réalisée. Les fréquences gamétiques sont alors différentes du produit des fréquences des allèles. On dit alors qu'il y a déséquilibre gamétique ou déséquilibre de liaison (Lewontin, 1988).

Le déséquilibre gamétique se déduit directement de l'écart entre les fréquences gamétiques observées dans la population et les fréquences gamétiques à l'équilibre correspondant au produit des fréquences alléliques (Lewontin, 1988).

Chez les organismes à reproduction sexuée, le niveau de déséquilibre gamétique est supposé être faible et le test du déséquilibre gamétique est non significatif (Razavi et Hughes, 2004).

Selon El Chartouni (2009), le calcul du coefficient du déséquilibre gamétique pour des loci à plusieurs allèles repose sur la méthode suggérée par Lewontin et Kojima (1960) :

$$D = p_{ab} - p_a p_b$$

avec :

- p_{ab} qui est la fréquence gamétique observée ;
- $p_a p_b$ qui est le produit de la fréquence des allèles « a » et « b » de deux loci.

*** La distance génétique de Nei (1972)**

El Chartouni (2009), rapporte que, la divergence de deux populations par rapport à une population ancestrale définit la distance génétique de Nei (1972). Cette distance établit donc des relations génétiques entre individus de deux populations ou sous-populations différentes. Elle repose sur les fréquences alléliques. Si $P(A_i)$ et $P(B_i)$ sont les fréquences de l'allèle « i » dans les populations A et B, n est le nombre total d'allèles. La distance génétique de Nei est alors égale à :

$$GD = -\ln \left\{ \sum_1^n P(A_i) P(B_i) / \sqrt{\sum_1^n P(A_i)^2 \times P(B_i)^2} \right\}$$

*** L'indice de Shannon**

L'indice de Shannon est un indice permettant de mesurer la biodiversité, il permet de quantifier l'hétérogénéité de la biodiversité d'un milieu d'étude et donc d'observer une évolution au cours du temps (Jayaraman, 1999 ; Grall et Coïc, 2006).

4.5. Etude de la sensibilité et de la résistance des souches aux strobilurines

4.5.1. Contexte et objectifs de l'étude

Étant donné que la résistance de l'hôte contre ce pathogène n'est pas complètement efficace pour la plupart des cultivars de blé, le contrôle de *M. graminicola* en Algérie, comme dans le monde entier, s'appuie principalement sur l'utilisation des fongicides. Les Benzimidazoles et les inhibiteurs de la déméthylation des stérols ont été, pour une longue période, les classes de fongicides les plus utilisés pour le contrôle de ce pathogène.

Cependant, depuis leur introduction en 1996, les fongicides du groupe « Strobilurines » appelés aussi : Quinone outside inhibitors (QoIs), ont été utilisés intensivement pour gérer le développement des champignons phytopathogènes, notamment *M. graminicola* (Bartlett *et al.*, 2002).

Les fongicides QoIs inhibent la respiration mitochondriale chez les champignons en se liant à la Quinone au niveau de la face externe de la membrane mitochondriale (Qo), site de liaison du complexe enzymatique du cytochrome *bc₁*, ce qui bloque le transfert d'électrons et inhibe la synthèse d'ATP (Gisi *et al.*, 2002).

Le succès des QoIs était en raison de leur efficacité supérieure et de leurs effets favorables supplémentaires sur la physiologie de la plante (Fraaije *et al.*, 2003).

En conséquence à leur utilisation intensive, des résistances aux fongicides QoIs chez les populations de *M. graminicola*, ainsi que chez beaucoup d'autres espèces de champignons phytopathogènes, ont pris naissance dans plusieurs pays du monde. La résistance est conférée, plus particulièrement, par une mutation dans le gène mitochondrial du cytochrome *b* donnant lieu à une substitution de la glycine, par une alanine à la position 143 (G143A) du cytochrome *b*. Cette mutation empêche la liaison des fongicides QoIs au site Qo, rétablissant ainsi la capacité du champignon à effectuer la respiration mitochondriale.

Les premiers isolats résistants aux QoIs de *M. graminicola* étaient détectés au Royaume Uni en 2001 (Fraaije *et al.*, 2003). Puis, leur fréquence a augmenté rapidement dans différentes régions, notamment ceux du Nord de l'Europe.

Semar *et al.* (2007), signalent que pour la mutation G143A, les facteurs de résistance aux fongicides de type QoIs, sont très élevés, et elle confère un niveau de résistance plus élevé que celui de la mutation F129L, qui consiste en une substitution de la phénylalanine avec la leucine à la position 129 du *cytb*, détectée chez les champignons pathogènes des céréales, notamment *Blumeria graminis* et *Septoria tritici*.

La surveillance de la résistance aux fongicides est une phase particulièrement importante dans les stratégies de lutte contre les parasites, pour assurer un contrôle efficace des maladies et elle constitue un paramètre crucial pour la compréhension de la distribution, l'évolution et l'impact de la résistance sur le terrain.

Bien que la résistance aux QoIs de *M. graminicola* soit actuellement répandue dans beaucoup de pays, et à travers le monde entier, peu d'études ont été réalisées en Afrique, sur le statut de la résistance de *M. graminicola* aux strobilurines, et, à cette date aucune information n'est disponible en ce qui concerne la résistance aux QoIs en Algérie, malgré l'utilisation de ce type de fongicides, dans ce pays pour contrôler les champignons pathogènes du blé, notamment *M. graminicola*.

L'objectif visé par cette partie de la thèse, est de vérifier si la résistance aux fongicides QoIs se produit en Algérie, et quelles sont ses fréquences si elle existe, au sein de la population algérienne de *M. graminicola*.

Pour cette partie, deux tests différents ont été réalisés :

- L'analyse moléculaire : test de criblage de la substitution G143A, qui a porté sur les 120 isolats de la collection.

- Le test d'évaluation phénologique de la résistance aux strobilurines (azoxystrobine), effectué, en vue de confirmer la résistance à l'azoxystrobine de 03 souches ayant révélé par le test de criblage, la présence de la mutation G143A ; ce test a porté sur 08 souches, deux souches de référence et 06 souches choisies parmi les 120 souches (les trois souches à tester et trois souches ayant révélé par le test de criblage, la présence de l'allèle G143).

4.5.2. Analyse moléculaire : Criblage de la substitution G143A

Ce test a été réalisé sur les 120 souches de *M. graminicola*, faisant l'objet de l'étude. Selon la technique décrite par Ware (2006) et Siah (2009), le criblage des allèles du cytochrome *b* "G143" et "A143", conférant respectivement la sensibilité et la résistance aux strobilurines, a été réalisé par "PCR mismatch" (*mismatch amplification mutation assay* (MAMA)).

Les amorces sont conçues en "mismatch" sur l'avant dernier nucléotide terminal de l'amorce sens. Le dernier nucléotide de l'amorce sens est situé sur la position 143 du cytochrome *b*.

Pour les souches sensibles, le couple d'amorces utilisées pour amplifier une bande de 639 pb est :

- **Amorce sens** : StrobSNP2fwd (5'-CTTATGGTCAAATGTCTTTATGATG-3'), position entre 404 et 428 sur le gène cytochrome *b*, avec un "mismatch" d'un **T** au lieu d'un **G** sur le nucléotide 427.
- **Amorce antisens** : StrobSNP1rvs (5'-GGTGACTCAACGTGATAGC-3'), position entre 1024 et 1043.

Pour les souches résistantes, le couple d'amorces utilisées pour amplifier une bande de 302 pb est :

- **Amorce sens**: StrobSNPrcF7 (5'-CAATAAGTTAGTTATAACTGTTGCGG-3'), position entre 428 et 453 sur le gène cytochrome *b*, avec un "mismatch" d'un **T** au lieu d'un **G** sur le nucléotide 427.
- **Amorce antisens** : StrobSNPrcR1 (5'-CTATGCATTATAACCCTAGCGT-3'), position entre 152 et 173.

La PCR est réalisée dans un volume final de 50 μ L contenant un mélange, composé de :

- 20 μ M de chaque amorce,
- 2,5 mM de chaque dNTP,
- 5 μ L de tampon de réaction 10x,
- 25 mM de $MgCl_2$,
- 0,25 unité de *Taq* polymérase (Ampli Taq Gold, Applied Biosystem, Roche) et,
- 5 μ L d'ADN cytoplasmique du champignon (concentration finale 1 ng/ μ L).

Les réactions PCR sont réalisées dans un thermocycleur (Peltier, MJ Research) avec le programme d'amplification suivant :

- Incubation à 94 °C pendant 10 min,
- Suivie de 40 cycles de 94 °C pendant 60 s, 55 °C pendant 30 s et de 72 °C pendant 60 s.
- Après le dernier cycle, les échantillons sont incubés pendant 10 min à 72 °C avant de les conserver à 4 °C.

Les amplicons obtenus sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5 % contenant 0,01 % de bromure d'éthidium. La migration est réalisée dans du tampon TBE (0,5x) à 100 V pendant 45 min. Après visualisation des amplicons sous lumière UV, les photographies sont prises à l'aide d'une caméra (Clara Vision, France).

4.5.3. Évaluation phénotypique de la résistance aux strobilurines

L'objectif visé par ce test, comme indiqué ci-dessus, est la confirmation de l'existence de la mutation de type A143 conférant la résistance à l'azoxystrobine, pour trois souches du champignon, ayant montré par le test de criblage de la substitution G143A, une bande de 302 pb (résistance).

Huit souches de *M. graminicola* ont fait l'objet de ce test :

- Les trois souches algériennes soupçonnées résistantes (**T05220**, **T05222** et **T05303**).
- Deux souches de référence, une souche hollandaise (**IPO323**) possédant l'allèle G143 (Sensible) et une souche française (**T01193**) possédant une mutation de type A143 (résistante).

- Trois souches algériennes sensibles, possédant l'allèle G143, identifiées par le test de criblage (**T05201**, **T05225** et **T05308**).

4.5.3.1. Caractéristiques du fongicide utilisé

Le fongicide utilisé est **L'Azoxystrobine** (Sigma Aldrich), une matière active appartenant à la famille des strobilurines. Elle entre dans la composition de plusieurs produits fongicides destinés à lutter contre plusieurs maladies cryptogamiques des plantes (Sudisha *et al.*, 2005 ; MacDonald *et al.*, 2007). Parmi ces produits figure : Amistar , Heritage, ...

L'azoxystrobine : $C_{22}H_{17}N_3O_5$ (Fig. 38), est la première strobilurine de synthèse, annoncée en 1992, et mise sur marché en 1996 par Syngenta (Bartlett *et al.*, 2001).

En 1999, les ventes des strobilurines ont atteint 600 millions de dollars, et ceux de l'azoxystrobine, lui seul, ont atteint 415 millions de dollars (Bartlett *et al.*, 2001).

En 2011, l'azoxystrobine a été la molécule la plus vendue, à travers le monde, et le chiffre d'affaire était de l'ordre de 1.065 millions de dollars (Palomar, 2014).

Les propriétés physico-chimiques de l'azoxystrobine sont citées dans le tableau 13.

Tableau 13 : Propriétés physico-chimiques de l'azoxystrobine (INERIS, 2012)

Propriétés	Valeurs	Sources
Poids moléculaire [g/mol]	403.4	EFSA, 2009* EFSA, 2010*
Hydrosolubilité [mg/L]	A 20 °C : 6.7 à pH 5.2 et 7 5.9 à pH 9.2	
Pression de vapeur [Pa]	$1.1 \cdot 10^{-10}$ à 20 °C	
Constante de Henry [Pa/m ³ /mol]	$7.3 \cdot 10^{-9}$	
Log du coefficient de partage Octanol-eau (log K _{ow})	2.5 à 20 °C	
Coefficient d'adsorption (carbone organique) (K _{oc}) [L/kg]	309 – 739	
Constante de dissociation (pK _a)	Non pertinent	

* Sources citées in INERIS (2012).

Le spectre d'action de l'azoxystrobine couvre les quatre grandes classes de champignons phytopathogènes : Basidiomycètes, Ascomycètes, Deutéromycètes et Oomycètes. Elle a été recommandée pour combattre un large spectre de maladies fongiques, sur 84 cultures différentes dans 71 pays, représentant plus de 400 systèmes « culture/maladie ». Les cultures principales sont : les céréales, la vigne, les fruits et légumes, et les arachides (Bartlett *et al.*, 2001).

Plusieurs travaux ont montré que cette matière active est très utilisée et elle est très efficace contre un grand nombre de champignons phytopathogènes (Bertelsen *et al.*, 2001 ; Rohel *et al.*, 2001 ; 2002 ; Bahous *et al.*, 2005 ; 2006 ; Gaurilcikiéné et Ronis, 2006 ; Gaurilcikiéné *et al.*, 2010).

En Algérie, le contrôle de la septoriose, causée par *M. graminicola* repose sur l'utilisation des fongicides de la famille des strobilurines, notamment ceux à base de l'azoxystrobine (Amistar).

Comme est le cas pour toutes les molécules QoIs, l'effet fongicide de l'azoxystrobine, est dû à la présence d'un toxophore (Fig. 38), une propriété chimique liée à un oxygène carbonyle permettant la fixation sur le site Qo du cytochrome *b* (Fernández-Ortuño *et al.*, 2008).

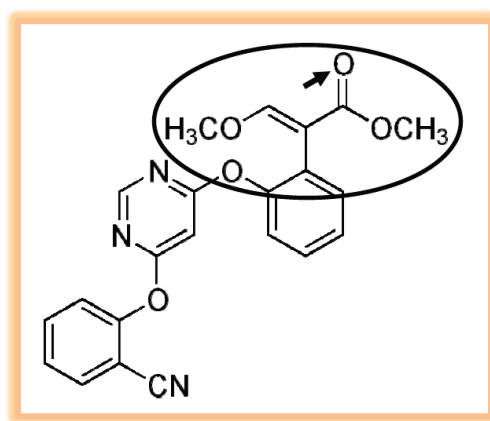


Figure 38 : Structure chimique d'une molécule d'azoxystrobine. Le toxophore est présenté par le cercle et l'oxygène carbonyle est présenté par la flèche (Fernández-Ortuño *et al.*, 2008).

4.5. 3.2. Mode opératoire

Les phénotypes de résistance des souches à l'azoxystrobine (strobilurine) ont été déterminés par la méthode de croissance dans des plaques de microtitration (Fig. 39), en polystyrène à 96 puits (Iwaki, Asahi techno glass, Japan), selon la technique décrite par Pijls *et al.* (1994) et Siah (2009), sans l'ajout de bleu Alamar (Dans une autre technique, Siah (2009) a utilisé le bleu Alamar qui est un indicateur de la croissance microbienne ayant comme principe un virage de la couleur du bleu au rouge en cas de croissance).



Figure 39 : Plaques de microtitration utilisées pour le test d'évaluation phénotypique de la résistance à l'azoxystrobine

- Préparation du fongicide

La préparation du fongicide a été réalisée selon la technique décrite par Siah (2009) et Siah *et al.* (2010) : Le fongicide (azoxystrobine) est amendé pour les milieux de culture à l'ordre de différentes concentrations (0.001, 0.006, 0.02, 0.1, 0.4, 1.6, 6.2, 25, et 100 mg/L). L'ajout est effectué en conditions stériles à 50 °C après l'autoclavage et après solubilisation dans 0.5 mL de DMSO (dimethyl sulfoxide) (Merck). La concentration finale de DMSO dans les milieux de culture y compris les témoins n'excédait pas 0,5 mL/L.

Les différentes concentrations de l'azoxystrobine sont obtenues par dilutions successives des solutions des milieux de culture contenant la concentration en fongicide la plus élevée (100 mg/L).

- Préparation des plaques et test d'évaluation de la résistance

La préparation des plaques a été faite selon la technique évoquée par Pijls *et al.* (1994), selon les étapes suivantes :

- Des aliquotes de 150 μ L du milieu glucose peptone (14,3 g/L de dextrose (VWR), 7,1 g/L de bactopectone (Difco laboratories) et 1,4 g/L d'extrait de levure (Merck)) contenant les différentes concentrations du fongicide (concentrations finales dans 200 μ L de milieu) sont répartis dans les puits.

- Des aliquotes de 50 μ L de 2×10^5 spores/mL de chaque souche (obtenu par lavage d'une culture de spores âgée de 7 jours, à l'aide de l'eau distillée stérile) sont ensuite ajoutés. Des répétitions de 8 puits sont utilisées pour chaque condition. Des conditions de milieu sans fongicide et sans champignon ainsi que de milieu sans fongicide mais avec champignon sont également réalisées comme témoin pour chaque isolat.

- Après une incubation de 6 jours à 20 °C, à l'obscurité et sous agitation à 140 tpm, la croissance fongique est estimée en mesurant la DO (densité optique) à l'aide d'un spectrophotomètre lecteur de microplaques (MRX, Dynex Technologies) à 405 nm.

Pour chaque isolat des courbes relatives à la croissance en réponse aux différentes concentrations du fongicide ainsi que la concentration maximale d'inhibition de 50 % de la population (IC₅₀) sont déterminées en utilisant GraphPad Prism 5 software (Hearne Scientific Software).

4.5.4. Caractérisation génétique des isolats résistants

Dans le but d'une caractérisation génétique, les empreintes génétiques des trois isolats montrant une QoI-résistance, ont été obtenues par l'intermédiaire de l'analyse de microsatellites, décrite dans la deuxième partie de cette thèse, par utilisation de 08 marqueurs microsatellites : ST1A4, ST1E3, ST1E7, ST1D7, ST2E4, ST2C10, ST1G7.

Les empreintes génétiques ont été analysées, pour vérifier si les souches résistantes sont des clones ou des génotypes différents (haplotypes).

4.5.5. Analyses statistiques des résultats

Les résultats relatifs au test de l'évaluation phénotypique de la résistance à l'azoxystrobine, ont fait l'objet de différents tests statistiques, en utilisant le logiciel MINITAB (X, 2006), en vue de déterminer le degré de variations pouvant exister entre les différentes souches testées, et permettant ainsi de déduire la variabilité dans la résistance à l'azoxystrobine des différentes souches testées :

- Le test d'analyse de la variance à un critère de classification

Le test d'analyse de la variance à un critère de classification consiste à comparer les moyennes de plusieurs populations à partir des données d'échantillons aléatoires simples et indépendants (Dagnelie, 2009).

La réalisation du test se fait soit en comparant la valeur de $F_{obs.}$ avec une valeur théorique $F_{1-\alpha}$ correspondante, extraite à partir de la table F de Fisher pour un niveau de signification $\alpha = 0.05$ ou 0.01 ou 0.001 et pour K_1 et K_2 degrés de liberté, soit en comparant la valeur de la probabilité p avec toujours les différentes valeurs de $\alpha = 5\%$, 1% ou 0.1% .

Selon que cette hypothèse d'égalité des moyennes est rejetée au niveau $\alpha = 0.05$ ou 0.01 ou 0.001 , on dit conventionnellement que l'écart observé entre les moyennes est significatif, hautement significatif ou très hautement significatif. On marque généralement ces écarts de 1, de 2 ou de 3 astérisques (Dagnelie, 2009).

Ce test est utilisé pour comparer, entre souches, la croissance, au niveau des différentes concentrations du fongicide.

- Le test de Tukey

Lorsqu'à l'issue d'un test de l'analyse de la variance et pour des facteurs fixes on est amené à rejeter l'hypothèse d'égalité de plusieurs moyennes, dans ces conditions la question de rechercher et de localiser les inégalités se pose. De nombreuses solutions ont été proposées pour répondre ou tenter de répondre à cette question. Ces solutions sont regroupées sous l'appellation générale de méthodes de comparaisons particulières et multiples de moyennes. Le choix entre les différentes approches dépend de façon très large de la nature qualitative ou quantitative des facteurs considérés et de l'objectif qui a été fixé ou qui avait dû être fixé au moment où la collecte des données a été décidée (Dagnelie, 2009).

La méthode de Tukey est une méthode qui s'applique en une seule étape, et qui est, de ce fait, d'une utilisation très facile. Elle consiste à comparer toutes les paires de moyennes à une valeur critique qui correspond à la plus petite amplitude significative (p.p.a.s.) de Newman et Keuls calculée pour q « stations » (Dagnelie, 2009).

En ce qui concerne notre travail, l'égalité des moyennes a été rejetée par l'analyse de la variance, pour cela, nous avons utilisé la méthode de Tukey pour tenter de déterminer les groupes de moyennes qui sont identiques ou en d'autres termes les groupes des souches qui sont aussi homogènes que possibles (Dagnelie, 2009).

-Le test de Dunnett

Le test de Dunnett est utilisé lorsqu'on souhaite comparer les moyennes de plusieurs « stations » à la moyenne d'une « station » témoin ou de référence. Ce test est toujours utilisé après avoir rejeté l'hypothèse d'égalité de plusieurs moyennes par l'analyse de la variance pour un facteur fixe.

Le principe de ce test consiste à calculer, chaque fois, la plus petite différence significative (p.p.d.s) entre une moyenne d'une station quelconque et la moyenne de la station de référence à partir de la relation suivante :

$$d_{1-\alpha/2} \sqrt{2CM/n}$$

et de rejeter l'hypothèse d'égalité des deux moyennes chaque fois que la différence en valeur absolue entre les deux moyennes est supérieure ou égale à cette p.p.d.s. (Dagnelie, 2009).

Les valeurs de $d_{1-\alpha/2}$ se trouvent dans les tables proposées par Dunnett. Elles sont exprimées en fonction du nombre de moyennes à comparer au témoin et du nombre de degrés de liberté du carré moyen (CM) qui a servi de base de comparaison lors de l'analyse de la variance. Tandis que n représente le nombre de données (ou répétitions) qui ont servi à calculer chacune de ces moyennes (Dagnelie, 2009).

Chapitre V :

Résultats et discussions

Chapitre 5. Résultats et discussions

5.1. Incidence de la tache septorienne des feuilles du blé

Les prospections effectuées dans différentes régions céréalières de l'Algérie, pendant les campagnes 2010/2011 et 2011/2012, ont permis de noter que la tache septorienne des feuilles (STB, pour *Septoria Tritici leaf Blotch*) causée par le champignon *Zymoseptoria tritici*, était la maladie la plus répandue chez le blé ; environ 80 % des champs prospectés ont montré des attaques de cette maladie, avec une sévérité, variant de 1 à 8.

Les niveaux d'attaque les plus élevés ont été notés sur le blé tendre, notamment dans la région de Guelma en 2011/2012, où la couverture pycnidiennne était très élevée, et plus particulièrement sur la variété ARZ, pour laquelle le niveau de la maladie a atteint la feuille étendard en mois d'avril (Figs. 40 et 41).



Figure 40 : Champ de blé tendre infecté par la tache septorienne, dans la région de Guelma (en 2012)
(Photo personnelle)



Figure 41 : Couverture pycnidiennne de *Z. tritici* sur une feuille étandard de blé tendre, dans la région de Guelma (en 2012)
(Photo personnelle).

Un effet intéressant de nos résultats est l'absence totale de *Phaeosphaeria nodorum*, agent causal de la septoriose des épis, sur les différentes feuilles échantillonnées, et ce pour les deux génotypes de blé, et dans toutes les régions.

5.2. Caractéristiques phénologiques des isolats

5.2.1. Résultats

5.2.1.1. La couleur des colonies

En fonction de la couleur des micro-colonies obtenues de *M. graminicola* (Fig. 42 a, b, c, et d), et des colonies issues de cultures monospores, sur le milieu PDA (Fig. 43 a-f), nous avons noté une grande variabilité entre les isolats, et les couleurs varient du blanc au noir.

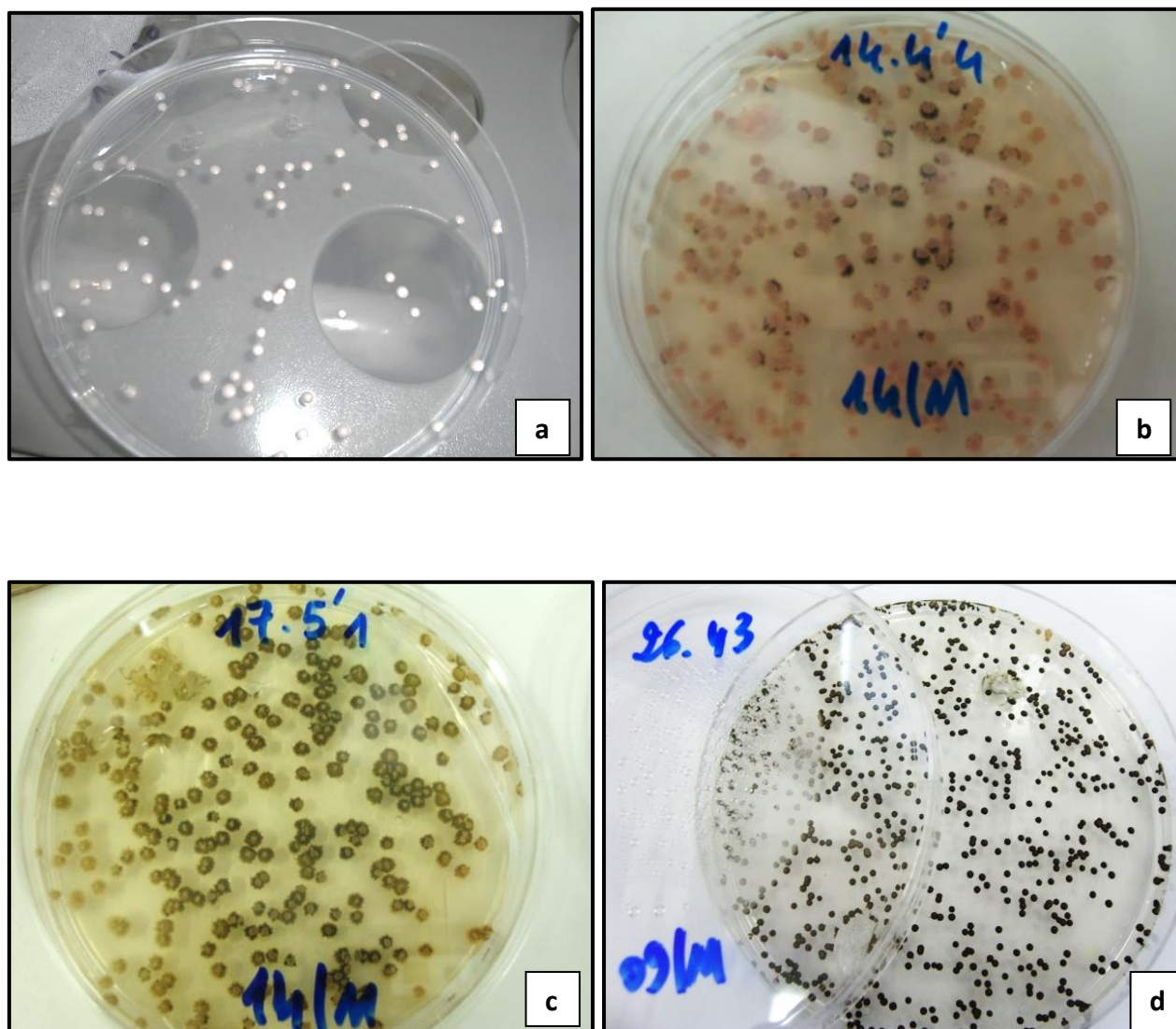


Figure 42 : Micro-colonies de *M. graminicola* après 6 jours de culture sur milieu PDA, observées à la loupe binoculaire (x 5). a : micro-colonies blanchâtres (souche T05248), b : micro-colonies rosâtres (souche T05227), c : micro-colonies brunâtres (souche T05264), d : micro-colonies noirâtres (souche T05309) (Photos personnelles)

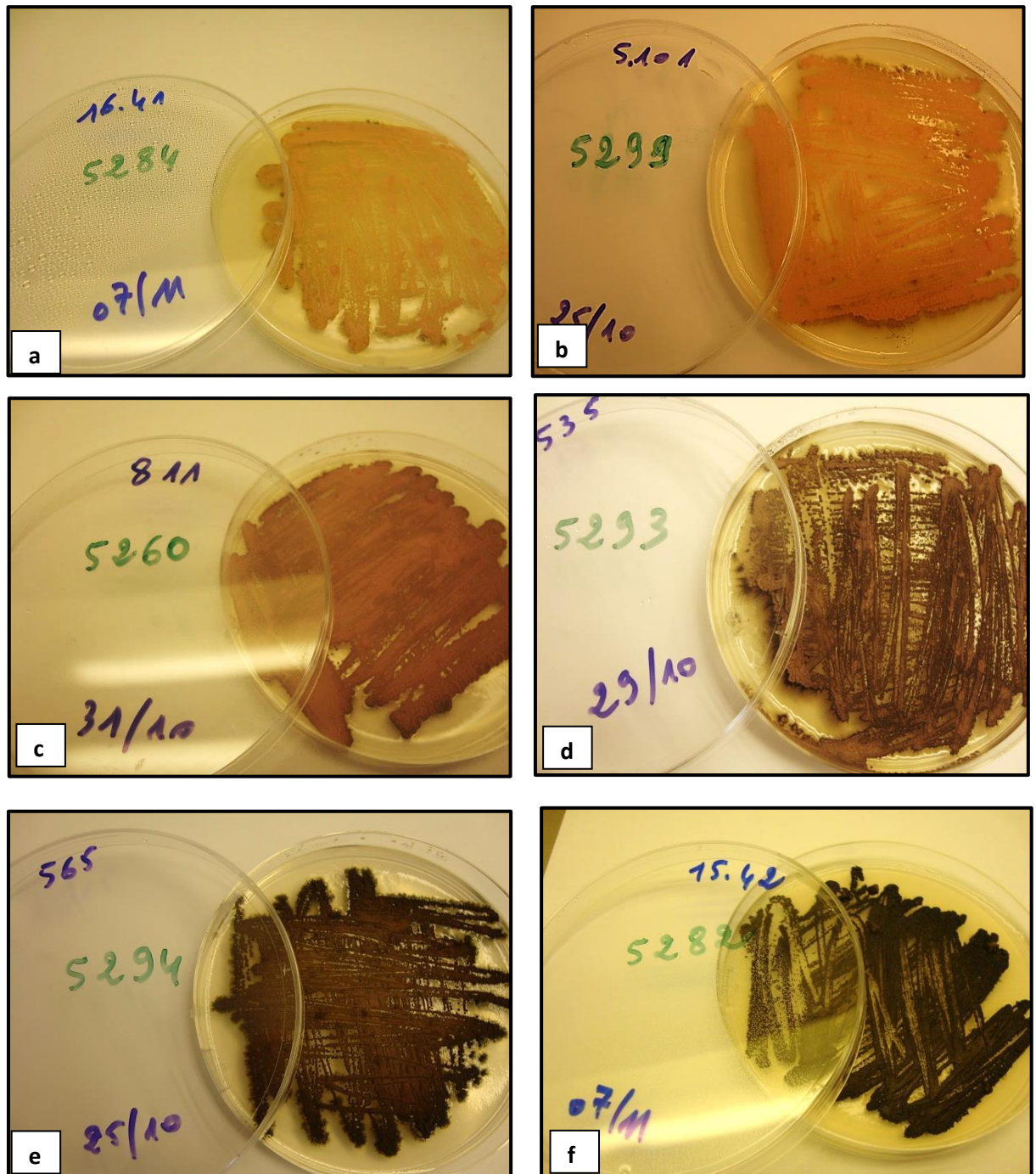


Figure 43 : Couleurs des colonies observées chez les souches étudiées de *M. graminicola*.
a : Rose clair (souche T05284), b : Rose (souche T05299), c : Rose foncé (souche T05260),
d : Marron claire (souche T05293), e : Marron foncé (souche T05294),
f : Noir (souche T05282)
(Photos personnelles)

5.2.1.2. Les aspects culturels des isolats

En ce qui concerne la forme, les résultats obtenus, montrent également une diversité dans la croissance des isolats de *M. graminicola* (Figs. 44- 49), malgré que les conditions de culture sont les mêmes pour tous les isolats (même substrat : milieu PDA, et mêmes conditions de laboratoire).

Cordo *et al.* (1997) ont pu distinguer différents types de culture pour des isolats de *M. graminicola* de l'Argentine, cultivés sur milieu PDA (culture monospore).

Les mêmes résultats ont été trouvés par Ayad *et al.* (2014) pour des isolats algériens de *M. graminicola*, cultivés sur le milieu YMA (Yeast Malt Agar : milieu de culture à base d'extrait de Malt et de levure).

Selon Cordo *et al.* (1997) et Ayad *et al.* (2014), les types de cultures obtenus chez *M. graminicola* peuvent être identifiés comme suit :

a- Croissance de type « albino »

Les colonies ont un aspect duveteux, de formes irrégulières et de bordures ondulées et dures; la couleur présente un mélange de rose clair et gris foncé avec une surface rugueuse et filamenteuse.

b- Croissance de type stromatique (crème bactérienne)

Les colonies sont minces d'aspect crème bactérien, circulaire ou parfois irrégulier, de bordure ondulée surélevée, rose clair à rose, de surface généralement radieuse et brillante.

c- Croissance de type mycélien filamenteux

Les colonies sont circulaires à aspect mycélien, surface lisse et plane, rose chamois, portant une crête de mycélium cotonneux blanchâtre.

d- Croissance type-levure

La croissance de la colonie est semblable à celle des levures (Yeast-Like Growth).

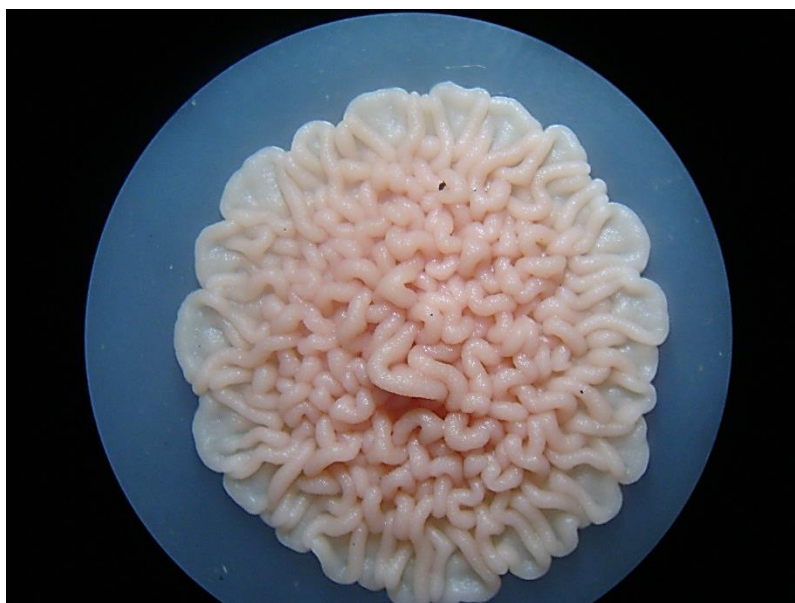


Figure 44 : Souche T05276 de *M. graminicola* cultivée sur milieu PDA (isolée sur du blé tendre, de la région de Skikda), observée à la loupe binoculaire (Photo personnelle)



Figure 45 : Souche T05278 de *M. graminicola* cultivée sur milieu PDA (isolée sur du blé tendre, de la région de Skikda), observée à la loupe binoculaire (Photo personnelle)

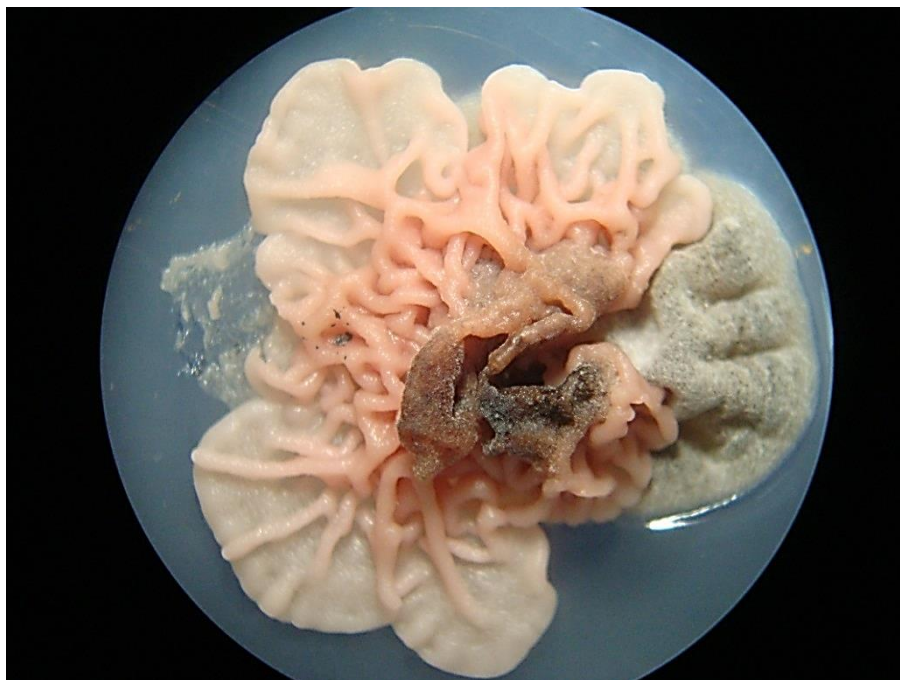


Figure 46 : Souche T05316 de *M. graminicola* cultivée sur milieu PDA (isolée sur du blé tendre, de la région d'Oran), observée à la loupe binoculaire
(Photo personnelle)



Figure 47 : Souche T05298 de *M. graminicola* cultivée sur milieu PDA (isolée sur du blé dur, de la région d'Annaba), observée à la loupe binoculaire
(Photo personnelle)

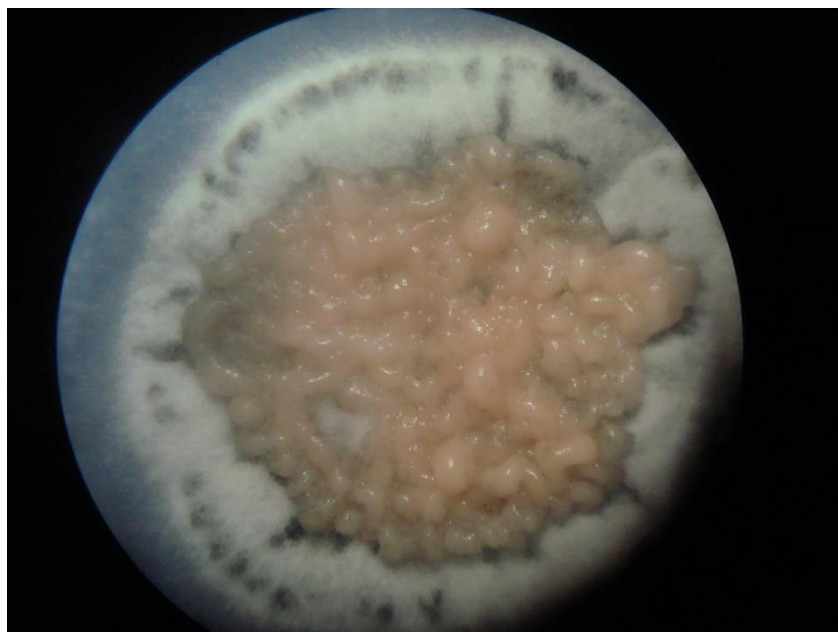


Figure 48 : Souche T05233 de *M. graminicola* cultivée sur milieu PDA (isolée sur du blé dur, de la région de Constantine), observée à la loupe binoculaire
(Photo personnelle)



Figure 49 : Souche T05205 de *M. graminicola* cultivée sur milieu PDA (isolée sur du blé dur, de la région de Guelma), observée à la loupe binoculaire
(Photo personnelle)

5.2.2. Discussion

Les résultats obtenus dans cette étude corroborent donc, avec ceux trouvés par Cordo *et al.* (1997) et Ayad *et al.* (2014). Différents types de culture, de différentes couleurs, ont été observés.

Plusieurs travaux ont signalé que pour *M. graminicola*, une grande diversité des couleurs et des aspects culturels peut être observée (Kema et Annone, 1991 ; Cordo *et al.*, 1997 ; Mehrabi *et al.*, 2009 ; Siah, 2009 ; Choi et Goodwin, 2011 ; Ayad *et al.*, 2014). Siah (2009) a pu distinguer 04 couleurs : Rose foncé, Brun noir, Rose claire et Rose très clair.

Cordo *et al.* (1997) rapporte que l'aspect de la culture est un paramètre associé à la virulence des isolats, et il a été démontré que les isolats ayant une culture de type, albino et type-levure sont moins virulents que les isolats ayant autres types de culture (Mycélium filamenteux, ou stromatique).

Kema et Annone (1991) signalent que les isolats ayant une culture de type-levure ont une couleur rosâtre, se caractérisent par la formation d'hyphes courts et produisent plus de pycnides que les isolats ayant une culture de type mycélium filamenteux, qui sont de couleur foncée.

Selon les mêmes auteurs, la forme de la culture ainsi que, la production des fructifications chez *M. graminicola*, peuvent être influencées par les conditions de culture, notamment la lumière et le type du substrat (milieu de culture). Le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) semble mieux favorable pour le développement de type mycélien et la production de pycnides, que le milieu V8 (vegetable juice agar) ou le milieu WLEA (Wheat Leaf Extract Agar).

Cette diversité enregistrée dans les caractéristiques phénologiques de *M. graminicola*, peut être attribuée à la grande diversité génotypique de ce pathogène, pour lequel, des milliers de génotypes différents peuvent exister, même au niveau d'un même champ de blé (McDonald et Martinez, 1991 ; Boeger *et al.*, 1993).

Les mécanismes générateurs de cette diversité sont multiples. Cependant, même si la mutation, conduisant à l'introduction de nouveaux allèles dans une population, est rare, et se produit chez un seul individu parmi des milliers, la reproduction sexuée chez *M. graminicola* est

la méthode la plus efficace pour le réarrangement de gènes dans de nouvelles recombinaisons, et la création de nouveaux génotypes (McDonald et McDermott, 1993).

Ueng *et al.* (2003) révèlent l'existence de transposons (fragments d'ADN mobiles capables de s'intégrer, se détacher ou de se réintégrer au génome des champignons), dont le mouvement peut, changer l'expression des gènes, altérer la séquence des gènes, augmenter le nombre de copies des gènes, provoquer un réarrangement chromosomique et induire ainsi une instabilité phénotypique des individus ; pouvant avoir des effets sur la pathogénicité et la virulence du champignon.

Les mêmes auteurs signalent que, chez *M. graminicola*, le transposon « pSTL70 probe » semble être mobile durant les phases de reproduction sexuée et asexuée.

Adachi *et al.* (2002 et 2003) révèlent l'existence, chez *M. graminicola*, d'un gène de 1653 nucléotides, codant pour une enzyme dont le rôle n'est encore pas bien élucidé, la Dialkylglycine decarboxylase (DGD1), qui est une aminotransférase probablement impliquée, dans la nutrition de ce pathogène, notamment l'utilisation de certaines sources d'azote, l'élaboration du phénotype et la pathogénicité.

Un autre mécanisme susceptible de produire des changements dans les caractéristiques physiologiques et génétiques des individus, est l'adaptation ; ce mécanisme permet aux individus, de développer des processus physiologiques, tels que l'acquisition de la tolérance à des substances toxiques, la capacité d'utiliser de nouvelles substances des milieux de culture, ou des changements de la virulence sur les plantes hôtes. L'adaptation peut résulter de la sélection de mutants, ou de la production d'enzymes d'adaptation ; ces deux phénomènes peuvent être induits par les caractéristiques du substrat, qu'il soit le milieu de culture ou l'hôte (Cordo *et al.*, 1997).

Choi et Goodwin (2011) signalent que beaucoup de travaux récents ont mis en évidence la présence d'un gène nommé *veA*, qui régularise beaucoup de processus physiologiques, liés au développement et la production de métabolites secondaires chez beaucoup de champignons. Il a été démontré que plusieurs caractéristiques phénologiques (production de spores, formation de mycélium, type et couleur de la colonie), ainsi que les caractéristiques physiologiques,

notamment celles liées aux stress, telles que la production de mycotoxines, la réponse aux stress osmotiques, la réponse physiologique à la température et à la lumière,..., toutes ces caractéristiques, qui sont d'une grande importance pour les activités des champignons, sont contrôlées par ce gène.

Chez *M. graminicola*, un gène homologue au gène *veA*, a été identifié et nommé *MVE1*. L'implication de ce gène dans le contrôle des caractéristiques phénologiques et physiologiques, notamment la couleur de la colonie (production de mélanine), le type de la culture (forme de la colonie et formation ou non de mycélium,..), la réponse à la température et à la lumière..., ont été mis en évidence par la création de mutants $\Delta mve1$ par délétion du gène *MVE1* (Choi et Goodwin (2011).

5.3. Evaluation du potentiel de la reproduction sexuée de *M. graminicola* dans les conditions de l'agrosystème algérien

5.3.1. Résultats

5.3.1.1. Présence et distribution des deux types sexuels (*Mating-types*) dans les différentes régions

Cent vingt (120) isolats de *M. graminicola* provenant de cinq régions géographiques de l'Algérie ont été testés pour vérifier la présence et la distribution des *Mating-types*, par amplification de fragments de l'ADN comportant les locus correspondants aux deux idiomorphes, par la *PCR-Multiplex*.

Les résultats obtenus ont montré que tous les isolats de *M. graminicola* testés génèrent un seul amplicon, de tailles correspondant aux tailles des deux idiomorphes de ce pathogène : les isolats de *MAT1-1* ont généré un fragment de 341 pb et les isolats de *MAT1-2* ont généré un fragment de 657 pb (Fig. 50).

A l'échelle du pays, 55 isolats (46 %) de l'ensemble des isolats testés, étaient de type *MAT1-1* et 65 isolats (54 %) étaient des *MAT1-2* (Tab. 14).

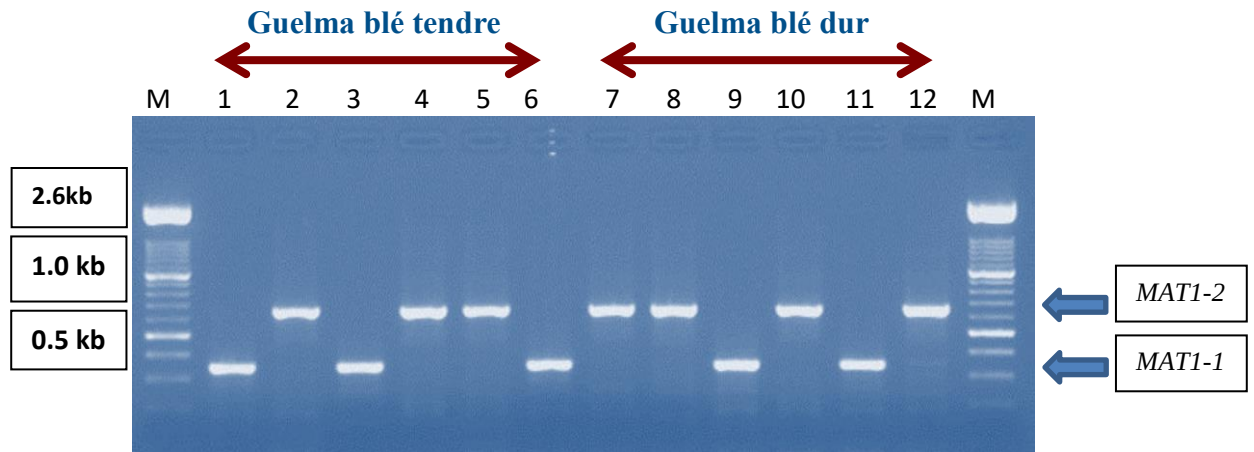


Figure 50 : Résultats de détermination des *Mating-types* par *Multiplex-PCR* des isolats de *M. graminicola* collectés de la région de Guelma sur blé tendre (de 1 à 6) et sur blé dur (de 7 à 12). M : le poids moléculaire standard.

Tableau 14 : Distribution des *Mating-types* de *M. graminicola* à l'échelle du pays et dans les différentes régions de l'étude

	Pays	Régions
Nombre d'isolats testés	120	- 30 isolats pour : Guelma, Skikda et Constantine, et - 15 isolats pour : Oran et Annaba
Présence des deux <i>Mating-types</i>	+	+
Distribution des <i>Mating-types</i> (<i>MAT1-1</i> / <i>MAT 1-2</i>)	55 / 65	- Skikda 15 / 15 - Guelma 12 / 18 - Constantine 15 / 15 - Annaba 07 / 08 - Oran 06 / 09
Fréquence <i>MAT1-1</i> / <i>MAT1-2</i> (%)	46% / 54%	- Skikda 50% / 50% - Guelma 40% / 60% - Constantine 50% / 50% - Annaba 47% / 53% - Oran 40% / 60%

+ : indique la présence des deux types sexuels.

Les deux idiomorphes étaient présents dans les cinq régions d'échantillonnage (Fig. 51), y compris les régions où seulement 15 isolats étaient collectés (Annaba et Oran).

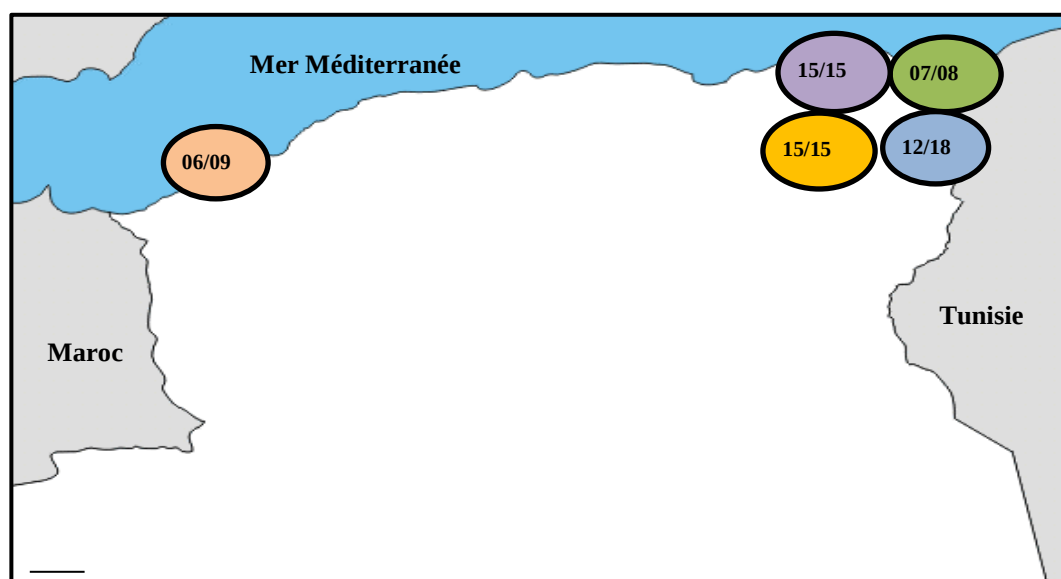


Figure 51 : Carte du nord de l'Algérie montrant la distribution des types sexuels de *M. graminicola* (MAT1-1/ MAT1-2) dans les différentes régions de l'étude. (■ Annaba, ■ Skikda, ■ Guelma, ■ Constantine, ■ Oran) (Echelle : — 100 Km)

Le test de χ^2 appliqué pour vérifier l'écart par rapport à l'hypothèse nulle du rapport 1:1 n'a révélé aucune différence significative dans la fréquence de distribution des deux idiomorphes à l'échelle du pays ($P = 0,36 > 0,05$). De même, ce test a révélé que les deux idiomorphes sont présents à des fréquences plus ou moins égales dans les différentes régions, avec une répartition à égalité absolue à Skikda et Constantine (Tab. 15).

Tableau 15 : Résultats du test de χ^2 pour la distribution des types sexuels de *M. graminicola*, à l'échelle du pays et dans les différentes régions.

Pays / Région	Nombre d'isolats	Rapport MAT1-1 / MAT1-2	Résultat du test de χ^2 (P = 0.05)
Pays	120	55 / 65	0.36
Guelma	30	12 / 18	0.27
Constantine	30	15 / 15	1.00
Skikda	30	15 / 15	1.00
Annaba	15	07 / 08	0.80
Oran	15	06 / 09	0.44

5.3.1.2. Présence et distribution des deux types sexuels (*Mating-types*) sur les deux espèces de blé

Cent vingt (120) isolats de *M. graminicola*, 60 isolats collectés sur le blé dur et 60 isolats collectés sur le blé tendre, ont fait l'objet de ce test, par amplification de fragments de l'ADN comportant les locus correspondant aux deux types sexuels *MAT1-1* et *MAT1-2*, par la *PCR-Multiplex*.

L'analyse des résultats relatifs à la présence et la distribution des types sexuels de *M. graminicola*, sur les deux espèces de blé, a révélé, la présence des deux *Mating-types* sur les deux espèces du blé (Tab. 16). Les fréquences de distribution des deux idiomorphes sur les deux espèces de blé, à l'échelle du pays étaient plus ou moins égales :

* **Sur le blé dur** : 27 (45 %) parmi les 60 isolats testés étaient des *MAT1-1* et 33 (55 %) étaient des *MAT1-2*.

* **Sur le blé tendre** : 28 (47 %) parmi les 60 isolats testés étaient des *MAT1-1* et 32 (53 %) étaient des *MAT1-2*.

Aucune variation significative sur le rapport 1:1 n'a été trouvée entre les fréquences de distribution des deux *Mating-types* sur les deux espèces du blé conformément au test de χ^2 au risque $P = 0,05$, à l'échelle du pays (Tab. 17).

Au sein des différentes régions de l'étude, les deux idiomorphes ont été également présents sur les deux espèces de blé (Figs 52 et 53), et à parts égales y compris la région de Guelma où une déviation par rapport au rapport 1:1 a été observée pour les isolats issus du blé dur, mais qui est statistiquement non significative ($P = 0.07 > 0.05$) (Tab. 17).

Tableau 16 : Distribution des *Mating-types* de *M. graminicola* sur les deux espèces du blé, à l'échelle du pays et des régions

	Pays		Régions		
	Blé dur	Blé tendre		Blé dur	Blé tendre
Nombre d'isolats testés	60 isolats	60 isolats	- 15 isolats sur blé dur/15 isolats sur blé tendre pour : Guelma, Skikda et Constantine. - 15 isolats sur blé tendre pour : Oran, - 15 isolats sur blé dur pour Annaba.	15 isolats / région (à l'exception d'Oran)	15 isolats / région (à l'exception d'Annaba)
Présence des deux <i>Mating-types</i>	+	+	+	+	+
Distribution des <i>Mating-types</i> (MAT1-1 / MAT1-2)	27 / 33	28 / 32	- Skikda - Guelma - Constantine - Annaba - Oran	7 / 8 4 / 11 9 / 6 7 / 8 ----	8 / 7 8 / 7 6/9 --- 6/9
Fréquence MAT1-1 / MAT1-2 (%)	45% / 55%	47% / 53%	- Skikda - Guelma - Constantine - Annaba - Oran	47% / 53% 27% / 73% 60% / 40% 47% / 53% ----	53% / 47% 53% / 47% 40% / 60% ---- 40% / 60%

+ : indique la présence des deux types sexuels.

--- : absence d'échantillonnage.

Tableau 17 : Résultats du test de χ^2 pour la distribution des types sexuels de *M. graminicola*, à l'échelle de l'espèce de blé hôte, dans tout le pays et dans les différentes régions

Pays / Région	Espèce de blé	Nombre d'isolats testés	Rapport MAT1-1 / MAT1-2	Résultat du test de χ^2 (P = 0.05)
Pays	Blé dur	60	27 / 33	0.44
	Blé tendre	60	28 / 32	0.61
Skikda	Blé dur	15	07 / 08	0.80
	Blé tendre	15	08 / 07	0.80
Guelma	Blé dur	15	04 / 11	0.07
	Blé tendre	15	08 / 07	0.80
Constantine	Blé dur	15	09 / 06	0.44
	Blé tendre	15	06 / 09	0.44
Annaba	Blé dur	15	07 / 08	0.80
Oran	Blé tendre	15	06 / 09	0.44

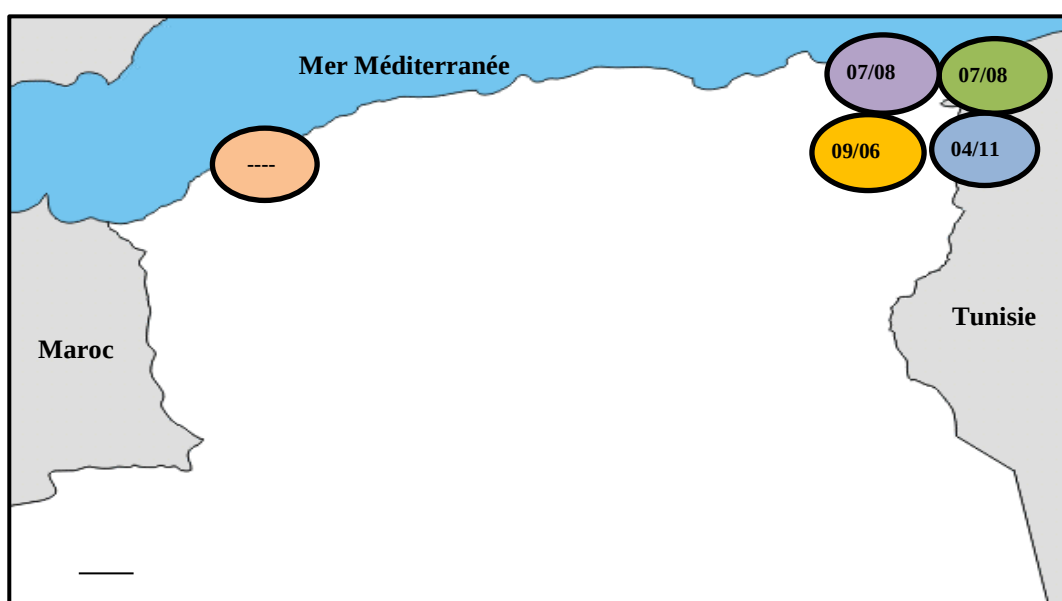


Figure 52: Carte du nord de l'Algérie montrant la distribution des types sexuels de *M. graminicola* (MAT1-1/ MAT1-2) sur le blé dur dans les différentes régions de l'étude.
(■ Annaba, ■ Skikda, ■ Guelma, ■ Constantine, ■ Oran : absence d'échantillons sur le blé dur dans la région d'Oran)
(Echelle : — 100 Km)

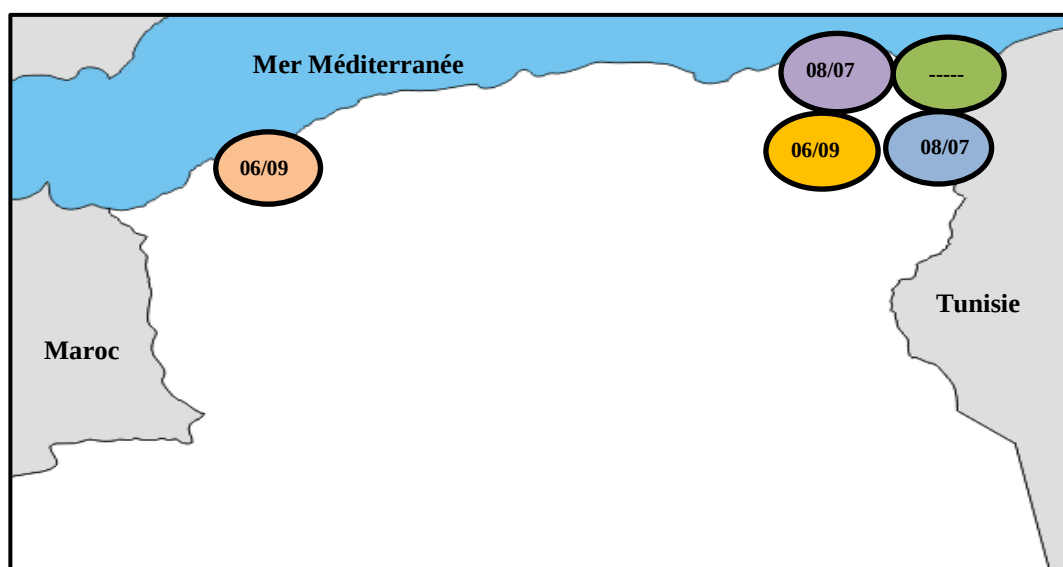


Figure 53 : Carte du nord de l'Algérie montrant la distribution des types sexuels de *M. graminicola* (MAT1-1/ MAT1-2) sur le blé tendre dans les différentes régions de l'étude.
(■ Oran, ■ Skikda, ■ Guelma, ■ Constantine, ■ Annaba : absence d'échantillons sur le blé tendre dans la région d'Annaba)
(Echelle : — 100 Km)

5.3.2. Discussion

Le test de vérification de la présence et la distribution des types sexuels (*Mating-types*) dans l'agrosystème algérien, qui a porté sur cent vingt (120) isolats de *M. graminicola* provenant de cinq régions céréalières de l'Algérie et collectés aussi bien sur le blé tendre et sur le blé dur a fait ressortir plusieurs constatations :

L'absence totale de *Phaeosphaeria nodorum*, agent causal de la septoriose des glumes du blé, dans tous les échantillons de feuilles collectés, révèle une nette prépondérance de *M. graminicola* par rapport à *P. nodorum* en Afrique du Nord, comme en Europe où *M. graminicola* est aussi actuellement le plus fréquent, bien que *P. nodorum* a été le pathogène le plus dominant pendant une longue période (Shaw *et al.*, 2008).

Nos résultats ont montré que les deux types sexuels de *M. graminicola* se produisent dans les conditions algériennes, ce qui corrobore avec les rapports précédents, des études réalisées dans d'autres pays.

Une grande similarité dans les caractéristiques phénologiques, a été notée entre les isolats de type *MAT1-1* et les isolats *MAT1-2*. Les deux types sexuels ont montré différentes couleurs et différentes formes des colonies ; aussi, aucune différence n'a été notée pour les caractéristiques phénologiques entre les isolats *MAT1-1* issus de blé dur et ceux issus de blé tendre ; de même que pour les isolats *MAT1-2*.

Harrington et McNew (1997), ont étudié les caractéristiques phénologiques des types sexuels de *Ceratocystis coeruleus*, un champignon ascomycète, et ils ont noté, une absence de corrélation entre le type sexuel et le type de mycélium produit par l'isolat.

Les deux idiomorphes de *M. graminicola* étaient présents dans des zones géographiques, avec un climat relativement froid et humide comme Canada, Ukraine, Danemark, le Royaume-Uni, l'Allemagne et la France, ainsi que dans des régions où le climat est la plupart du temps plus chaud et moins humide, tels que l'Australie, l'Iran, le Maroc et la Tunisie (Zhan *et al.* 2002 ; Abrinbana *et al.*, 2010 ; Siah *et al.*, 2010a ; Boukef *et al.*, 2012 ; Elbekali *et al.*, 2012).

Nos résultats ont démontré que les deux idiomorphes de *M. graminicola* se produisent également en Algérie, où le climat est principalement chaud et sec ; ils sont présents, aussi bien dans des régions côtières (Annaba, Skikda et Oran), caractérisées par un taux d'humidité élevé, que dans des régions internes, non côtières (Guelma et Constantine).

Kema *et al.* (1996) révèlent que la présence des deux idiomorphes fournit aux champignons la possibilité de faire des recombinaisons sexuées, du fait de la coexistence d'individus compatibles indispensables pour la reproduction sexuée, ce qui confirme bien, que la reproduction sexuée de *M. graminicola* s'opère dans les conditions de l'agrosystème algérien.

Zhan *et al.* (2003), suggèrent que, si le stade sexué représente une phase importante du cycle de vie, et que les ascospores jouent un rôle significatif, en tant que source de l'inoculum primaire, les deux idiomorphes seront présents à fréquences égales.

La distribution égale des deux idiomorphes mise en évidence aussi bien à l'échelle nationale que régionale du pays, suggère donc un certain potentiel de la reproduction sexuée chez la population algérienne de *M. graminicola*.

Selon Leslie et Klein (1996), la proportion des deux idiomorphes dans les populations naturelles est dépendante du rapport entre la reproduction asexuée et la reproduction sexuée : plus la proportion de la reproduction sexuée de la population est élevée, plus le rapport 1:1 est vérifié. Cette hypothèse est liée au système de recombinaison bipolaire chez les champignons ascomycètes tels que *M. graminicola* où on note un rapport de 4:4 ascospores dans un asque.

Selon Santos *et al.* (1986), la répartition uniforme des *Mating-types* peut également être liée à la sélection fréquence-dépendante, qui est un type de sélection qui favorise les génotypes rares. En effet, quand la fréquence de l'un des deux idiomorphes est faible, le nombre d'individus porteur de type sexué rare a tendance à augmenter du fait que ces individus sont plus susceptibles de trouver un partenaire compatible ; ainsi, les fréquences des deux types sexués tendent à s'équilibrer.

La distribution des deux idiomorphes à fréquences égales en Algérie corrobore avec les résultats de plusieurs études précédentes, qui ont montré qu'une répartition égale des deux idiomorphes de ce pathogène a été rencontrée à différentes échelles, dans le monde entier (Zhan *et al.*, 2002 ; Levy, 2003 ; Komijani *et al.*, 2009 ; Siah, 2009 ; Queiroz *et al.*, 2010 ; Siah *et al.*, 2010a ; Boukef *et al.*, 2012 ; Elbekali *et al.*, 2012).

Adhikari *et al.* (2008), ont enregistré des résultats similaires pour *Phaeosphaeria nodorum*, agent causal de la tache septorienne des glumes chez le blé ; en analysant 293 isolats de ce pathogène, ils ont trouvé que 143 isolats étaient de type *MAT1-1* et 150 isolats de type *MAT1-2*, la fréquence des deux types sexuels est 1:1 et sur la base de ces résultats, ils ont conclu que la reproduction sexuée de ce pathogène s'opère dans les différentes régions de culture du blé au USA.

Komijani *et al.* (2009) ont étudié la présence et la distribution des *Mating-types* de *M. graminicola*, en analysant par *PCR-Multiplex*, 58 isolats de ce pathogène, provenant de 07 localités géographiques de l'Iran, et ils ont trouvé que 29 isolats génèrent des fragments de 340 pb (*MAT1-1*) et 29 isolats génèrent des fragments de 660 pb (*MAT1-2*), les deux idiomorphes étaient présents dans toutes les localités, et le test de Chi-deux a montré que la fréquence des deux *Mating-types* est 1:1, ce qui montre que le stade sexué de ce pathogène existe en Iran, et ils suggèrent qu'un tel pathogène avec une reproduction sexuée et asexuée est capable de détourner rapidement la résistance spécifique de l'hôte. Des résultats similaires ont été obtenus par Levy (2003), en étudiant deux populations australiennes de *M. graminicola*.

Zhan *et al.* (2002), sur un total de 2035 isolats de *M. graminicola* collectés de 16 localités géographiques de quatre continents, en utilisant des marqueurs RFLP, ont étudié la présence et la distribution des types sexuels à différentes échelles ; ils ont pu démontrer que les deux types sexuels sont présents à une fréquence égale à petite échelle (quelques Cm^2) et grande échelle (allant de quelques m^2 à plusieurs milliers de km^2) : au niveau des différentes localités dans les différents continents, au niveau des différentes lésions de la même feuille et au niveau de différentes pycnides de la même lésion. Cependant, certaines variations dans la fréquence des deux types sexuels ont été observées pour certaines échelles (parcelles au niveau du même champ, champs au niveau du même pays, ou différents pays à travers le monde), mais aucune

différence n'est statistiquement significative pour l'hypothèse 1:1 des fréquences égales des deux types sexuels.

Siah (2009) a étudié la présence, la distribution et le polymorphisme des types sexuels dans la population française de *M. graminicola*, en analysant 510 isolats de ce pathogène, provenant de 16 localités géographiques, il a trouvé que les deux idiomorphes ont été détectés en fréquences équilibrées au sein de chacune des localités étudiées, à l'exception d'un site dans le nord de la France, où une différence significative entre la fréquence des deux *Mating-types* a été observée. Les deux *Mating-types* ont également été identifiés sur 42 % des feuilles de blé à partir desquelles deux ou trois souches ont été isolées, mettant ainsi en évidence l'existence des idiomorphes compatibles à des échelles spatiales très fines. Cependant, un polymorphisme faible a été noté pour les deux types sexuels, notamment pour l'idiomorphe *MAT1-1*. L'auteur, a conclu que, cette étude suggère, d'une part, un potentiel élevé de reproduction sexuée au sein de la population française de *M. graminicola* et, d'autre part, une grande conservation des séquences des *Mating-types* de ce pathogène.

Siah *et al.* (2010a) signalent que dans la majorité des cas, les deux *Mating-type*, *MAT1-1* et *MAT1-2* sont détectés sur une même lésion ; la proximité des deux idiomorphes sur de petites échelles, permettant le contact physique entre les *Mating-types* opposés est l'une des conditions requises pour la réalisation de la reproduction sexuée chez les champignons hétérothalliques.

Cependant, des résultats différents ont été signalés récemment à l'Iran, les Etats-Unis et le Maroc, où des distributions inégales des types sexuels ont été trouvées dans certaines localités géographiques (Abrinbana *et al.*, 2010 ; Gurung *et al.*, 2011 ; Elbekali *et al.*, 2012).

La distribution inégale observée en Iran et au Maroc a été expliquée par un échantillonnage insuffisant dans les régions correspondantes (Abrinbana *et al.*, 2010 ; Elbekali *et al.*, 2012). Toutefois, aux Etats-Unis (Californie), la distribution inégale a été expliquée par une erreur statistique (faux rejet de la l'hypothèse nulle) ou par la pression de sélection favorisant l'idiomorphe *MAT1-1*, qui a été précédemment désigné plus pathogène que l'idiomorphe *MAT1-2* (Zhan *et al.*, 2007a ; Gurung *et al.*, 2011).

L'analyse des données bibliographiques relatives à ce sujet, permet de déduire que, chez *M. graminicola*, ayant une reproduction sexuée facultative (Cowger *et al.*, 2000), mais prédominante (Zhan *et al.*, 2007a), la distribution des types sexuels s'opère à des fréquences variables, vérifiant ou non l'hypothèse de distribution 1:1.

La distribution à fréquences variables des types sexuels a été également observée chez d'autres champignons phytopathogènes hétérothalliques. Barve *et al.* (2003) en analysant la structure et la distribution des types sexuels de 03 populations de l'*Ascochyta rabei* (ascomycète à hétérothallisme bipolaire) ont démontré que les types sexuels de cette espèce présentent une certaine similarité (17%) avec les types sexuels de *M. graminicola*, et ils ont trouvé une distribution inégale des deux types sexuels dans les 03 populations : pour *MAT1-1* / *MAT1-2*, les résultats obtenus étaient, 14/17 pour la première population, 12/8 pour la deuxième population et 4/17 pour la troisième population ; cependant les valeurs obtenus pour les populations 01 et 02 confirment l'hypothèse du rapport 1:1, et ils ont conclu que la reproduction sexuée est importante et régulière dans ces populations, et que le stade sexué joue un rôle important dans le cycle biologique de ce pathogène ainsi que l'épidémie de cette maladie ; par contre le déséquilibre obtenu dans la population 03 a été attribué à une prédominance de la reproduction asexuée dans cette population, et ils signalent que pour ce pathogène, un seul type sexuel a été trouvé dans beaucoup de pays (Egypte, Inde, Australie, USA et plusieurs autres régions du monde), ce qui suggère que ce pathogène a été introduit dans toutes les régions de culture de pois chiche (hôte de ce pathogène) par des semences contaminées, et l'un des objectifs visés est de vérifier l'introduction du deuxième type sexué de ce pathogène dans ces différents pays.

Plusieurs auteurs révèlent que, la distribution et la fréquence des *Mating-types* dans une population sont en relation directe avec la fréquence et la régularité de la reproduction sexuée des individus, et la diversité génétique de la population est très dépendante du rythme de la reproduction sexuée (Milgroom *et al.*, 1993 ; Milgroom, 1996 ; Barve *et al.*, 2003).

Zhan *et al.* (2002) et Sommerhalder *et al.* (2006), signalent que la distribution des types sexuels est strictement dépendante de l'importance de la reproduction sexuée dans le cycle biologique du pathogène, et ils révèlent que, chez les champignons à reproduction sexuée obligatoire, les deux types sexuels doivent éventuellement être présents à des fréquences égales, par contre chez les champignons alternant des cycles de reproductions sexuée et asexuée, la

distribution des types sexuels est en faveur du type sexué ayant le degré de pathogénicité le plus faible, mais elle tend à s'équilibrer avec le temps.

Nos résultats ont montré une distribution inégale des deux types sexuels qui était en faveur du type *MAT1-2*, ayant une pathogénicité moindre par rapport au type *MAT1-1* (Zhan *et al.*, 2007b ; Gurung *et al.*, 2011), et ce à l'échelle du pays, sur les deux génotypes de blé, ainsi que dans la plupart des régions de l'étude (Tabx. 14 -17).

Le déséquilibre dans la distribution des types sexuels, était plus ou moins remarquable dans la région de Guelma, pour le blé dur, où nous avons noté respectivement, 04 isolats de type *MAT1-1* et 11 isolats de type *MAT1-2* pour un échantillon de 15 isolats (mais le test de Chi deux était non significatif). Ceci nous permet de supporter l'hypothèse de Zhan *et al.* (2002) et Sommerhalder *et al.* (2006), citée ci-dessus.

D'autre part, dans la présente étude, la distribution égale des deux types sexuels n'est pas affectée par les espèces de blé hôte, soutenant ainsi les études antérieures qui ont signalé la présence des deux idiomorphes de ce pathogène sur les deux espèces de blé (Waalwijk *et al.*, 2002 ; Elbekali *et al.*, 2012).

En étudiant l'alignement des séquences des types sexuels, Waalwijk *et al.*, (2002) ont signalé qu'une très grande similarité dans les séquences d'ADN, existe entre les idiomorphes des isolats adaptés au blé dur et ceux des isolats adaptés au blé tendre, corroborant ainsi la similitude de la séquence ITS (Internal Transcribed Spacer : région de l'ADN, hautement polymorphe utilisée pour la distinction des espèces), et la compatibilité sexuelle mise en évidence pour ces deux groupes (Kema *et al.*, 1996a ; Wittenberg *et al.*, 2009).

Van Ginkel et Scharen (1988 et 1988a), en analysant la résistance du blé à la septoriose causée par *M. graminicola*, ont signalé l'absence de la spécialisation physiologique des isolats aux cultivars de blé, et ils ont suggéré l'existence d'une différence dans l'agressivité, plutôt que dans la virulence des isolats, et leur adaptation aux cultivars d'origine.

En revanche, la spécialisation des isolats de *M. graminicola* à l'une des espèces du blé en terme d'induction de nécrose et de sporulation, ainsi que l'interaction spécifique de type gène-pour-gène ont été rapportés (Kema *et al.*, 1996a ; Brading *et al.*, 2002).

Cependant, nos résultats indiquent une absence de la spécialisation entre les types sexuels et l'espèce du blé-hôte dans le cas du pathosystème blé-*M. graminicola* et s'accordent avec une absence de linkage génétique entre les types sexuels et les gènes d'avirulence chez *M. graminicola*, du fait que les deux types sexuels sont distribués à fréquences égales sur le blé dur et le blé tendre.

Verma et Ballester (1999) et Zhan *et al.* (2002), révèlent que, dans certains cas, la distribution des *Mating-types* au sein des populations peut être affectée par certains facteurs liés à l'environnement, à la biologie ou à la génétique du champignon. Les gènes *Mat* peuvent être liés à d'autres gènes ou à des produits d'autres gènes conférant la résistance aux fongicides.

L'exercice d'une pression de sélection par des applications fongicides pourrait dans ce cas induire une déviation des fréquences des deux *Mating- types*, en particulier si la liaison avec la résistance existe uniquement chez l'un des deux *Mating-types* (Zhan *et al.*, 2002).

Les fréquences des deux *Mating-types* pourraient également être influencées par certains processus cellulaires, étant donné qu'il a été démontré que les gènes *mat* peuvent être impliqués dans d'autres fonctions cellulaires, comme le maintien de l'intégrité des parois cellulaires (Verma et Ballester, 1999).

Rau *et al.* (2005), en analysant la distribution des types sexuels de *Pyrenophora teres*, ont conclu que la reproduction sexuée semble être le processus principal, susceptible de créer l'équilibre dans la distribution et la fréquence des deux types sexuels, au sein des populations.

En conclusion, cette étude a mis en évidence pour la première fois la présence des deux types sexuels de *M. graminicola* en Algérie. Leur distribution à fréquences égales aussi bien à l'échelle du pays qu'à l'échelle des régions de l'échantillonnage, suggèrent que des cycles sexuels fréquents se produisent au sein de la population algérienne de cet agent pathogène. Les

proportions égales obtenues à l'échelle des espèces de blé, dur et tendre révèlent une absence de relation entre les types sexuels et les espèces d'hôtes dans les interactions blé - *M. graminicola*.

La prévalence du stade sexué de *M. graminicola* en Algérie pourrait être confirmée par la recherche et la quantification de pseudothèces dans le champ. Ces informations seront sans doute d'une importance considérable pour mieux comprendre l'évolution de ce pathogène dans les conditions de culture algériennes, permettant ainsi la maîtrise de la gestion des programmes de lutte contre cette maladie.

5.4. Diversité génétique et structure de la population algérienne de *M. graminicola*

Dans cette partie de la thèse, 120 isolats de *M. graminicola*, collectés de 05 régions différentes, et sur les deux espèces de blé (blé dur et blé tendre) ont fait l'objet d'une analyse du polymorphisme par la technique, du polymorphisme de conformation du simple brin d'ADN (SSCP : Single-Stranded Conformation Polymorphism), en utilisant 08 marqueurs microsatellites : ST1A4, ST1E3, ST1G7, ST1E7, ST1D7, ST2E4, ST2C10 et AC0007.

L'utilisation des programmes XL STAT (2010) et PopGene (Version 1.32) a permis d'estimer plusieurs paramètres permettant d'analyser la diversité génétique et la structure de la population algérienne de *M. graminicola*.

5.4.1. Résultats

Après correction clonale, 94 haplotypes distincts ont été trouvés, la fraction clonale a été de 22 % pour l'ensemble du pays. Pour les différentes localités, Guelma a montré la fraction clonale la plus élevée (17 %) alors que, Annaba et Oran ont montré la fraction clonale la plus faible (Tab. 18).

Tableau 18: Diversité génétique de *M. graminicola* dans le pays et dans les différentes régions de l'étude

Pays / Régions	Nombre de souches	Nombre d'haplotypes (Nh)	Diversité Génétique (Gd) (%)	Fraction clonale (Cf) (%)
Total (pays)	120	94	78	22
Guelma	30	25	83	17
Constantine	30	26	87	13
Skikda	30	27	90	10
Annaba	15	14	93	7
Oran	15	14	93	7

A l'échelle de l'espèce de blé hôte, 55 haplotypes distincts ont été observées dans la population de blé tendre et 42 haplotypes dans la population de blé dur. La fraction clonale est de 30 % pour le blé dur et 08 %, pour le blé tendre. Guelma a montré la fraction clonale la plus élevée, chez le blé dur (33 %). La diversité génétique était plus élevée sur le blé tendre par rapport au blé dur, et elle a atteint la valeur maximale (100 %) sur le blé tendre à Skikda (Tab. 19).

Tableau 19 : Diversité génétique de *M. graminicola* dans le pays et dans les différentes régions pour l'espèce de blé hôte (blé dur / blé tendre)

Pays / Régions	Nombre de souches	Nombre d'haplotypes (Nh)	Diversité génétique (Gd)	Fraction clonale (Cf) (%)
Total (pays)	60 / 60	42 / 55	70 / 92	30 / 08
Guelma	15 / 15	10 / 14	67 / 93	33 / 07
Constantine	15 / 15	12 / 14	80 / 93	20 / 07
Skikda	15 / 15	12 / 15	80 / 100	20 / 00
Annaba	15 / 00	14 / ---	93 / ---	07 / ---
Oran	00 / 15	--- / 14	--- / 93	--- / 07

--- : absence d'échantillons issus de l'une des espèces de blé.

Pour l'ensemble du pays tous les loci sont polymorphes (08/08 : 100 %), mais au sein des différentes localités, c'est Constantine seulement qui a montré 100 % de loci polymorphes ; ST2E4 n'était pas polymorphe à Guelma et à Oran, et ST1G7 n'était pas polymorphe à Skikda et Annaba, pour lesquels le pourcentage de loci polymorphes était 87,50 % (Tab. 20).

Pour l'ensemble du pays, le nombre d'allèles observés (*na*) varie entre 02 (locus ST1G7) et 11 (locus AC0007) avec une moyenne de 6,25 (Tab. 21). L'indice de diversité génique de Nei (1973) (*h*) varie de 0,12 (locus ST1G7) à 0,74 (locus AC0007) avec une moyenne de 0,39. AC0007 a été le plus polymorphe et le ST1G7 a été le moins polymorphe ; l'Indice de Shannon (*I*) (Lewontin, 1972) a enregistré une moyenne de 0,82 avec la valeur la plus élevée pour le locus AC0007 (1,63) et la valeur la plus faible pour le locus ST1G7. La différenciation des populations (G_{ST}) (Nei, 1973), a montré une moyenne de 0,10, avec une valeur plus élevée (0,14) pour les loci AC0007, ST2E4 et ST1G7 et une valeur plus faible (0,04) pour le locus ST1A4. (*Nm*) qui estime le flux de gènes (McDermott et McDonald, 1993) a enregistré une valeur plus élevée pour le locus ST1A4 (10,85) et une valeur plus faible pour le locus AC0007 (3,07) avec une valeur moyenne de 4,76 (Tab. 21).

Tableau 20 : Moyennes de la diversité génique de *M. graminicola*, au sein des différentes régions pour tous les microsatellites

Régions	Nombre de souches	(<i>na</i>)	(<i>ne</i>)	(<i>h</i>)	(<i>I</i>)	Nombre de loci polymorphes	Pourcentage de loci polymorphes
Guelma	30	3,37	1,60	0,29	0,58	7	87,50 %
Constantine	30	4,12	1,71	0,32	0,68	8	100 %
Skikda	30	4,00	1,89	0,42	0,81	7	87,50 %
Annaba	15	2,62	1,74	0,39	0,66	7	87,50 %
Oran	15	2,75	1,85	0,38	0,66	7	87,50 %

(*na*): nombre d'allèles observés

(*ne*): nombre effectif d'allèles (Kimura et Crow, 1964)*

(*h*): Nei (1973)* diversité génétique

(*I*): l'indice de Shannon (Lewontin, 1972)*

* : références citées in El Chartouni (2009).

Tableau 21 : Diversité génique de *M. graminicola*, pour l'ensemble du pays

Locus	Nombre de souches	(na)	(ne)	(h)	(I)	(Ht)	(Hs)	(G _{ST})	(Nm)
ST1A4	120	9,00	1,54	0,35	0,86	0,36	0,35	0,04	10,85
ST1E3	120	4,00	1,42	0,30	0,55	0,31	0,29	0,08	5,87
AC0007	120	11,00	3,88	0,74	1,63	0,74	0,64	0,14	3,07
ST1E7	120	4,00	1,85	0,46	0,87	0,47	0,44	0,07	6,72
ST1D7	120	7,00	1,79	0,44	0,95	0,45	0,41	0,09	5,15
ST2E4	120	5,00	1,47	0,32	0,67	0,29	0,25	0,14	3,15
ST2C10	120	8,00	1,61	0,38	0,81	0,34	0,37	0,06	7,51
ST1G7	120	2,00	1,14	0,12	0,24	0,15	0,13	0,14	3,16
Moyenne	120	6,25	1,84	0,39	0,82	0,40	0,36	0,10	4,76

(na): nombre d'allèles observés

(ne): nombre effectif d'allèles (Kimura et Crow, 1964)*

(h): diversité génétique de Nei (1973)*

(I): l'indice de Shannon (Lewontin, 1972)*

(Ht): la diversité génétique dans la population globale

(Hs): diversité génétique de la population régionale,

(G_{ST}): différenciation entre populations (Nei, 1973)*,

(Nm): flux de gènes (McDermott et McDonald, 1993)

* : références citées in El Chartouni (2009).

Quatre groupes (1, 2, 3 et 4) ont été observés pour les cinq populations (Pop. 1-5) des différentes localités (Fig. 54), la distance génétique (Tab. 22) a enregistré la valeur la plus élevée entre les groupes 4 et 1 (2,92), et la valeur la plus basse a été mise en évidence entre les groupes 3 et 2 (0,75).

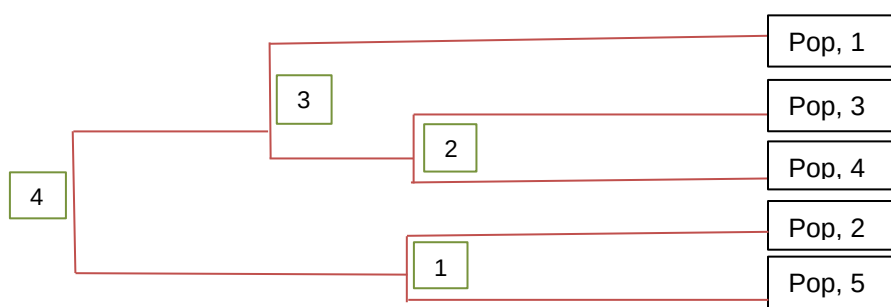


Figure 54 : Dendrogramme montrant la distance génétique de Nei (1978)*, entre les populations de *M. graminicola*, des différentes régions de l'étude
(*: référence citée in El Chartouni, 2009)

Tableau 22 : La distance génétique de Nei (1978)*, entre les populations des différentes régions

Entre	et	Longueur
4	3	2,10
3	Pop, 1	1,99
3	2	0,75
2	Pop, 3	1,24
2	Pop, 4	1,24
4	1	2,92
1	Pop, 2	1,17
1	Pop, 5	1,17

* : référence citée in El Chartouni (2009)

A l'échelle de l'espèce hôte de blé, tous les loci sont polymorphes pour les deux espèces de blé (blé tendre et le blé dur) ; le nombre d'allèles observés (na) se situait entre 02 (locus ST1G7) et 11 (locus AC0007), avec une moyenne de 6,25. La diversité génétique de Nei (1973) (h) varie entre 0,12 (locus ST1G7) et 0,74 (locus AC0007), avec une valeur moyenne de 0,39 (Tab. 23).

La différenciation entre populations G_{ST} (Nei, 1973), pour l'espèce de blé hôte varie de 0,00 (ST2E4) à 0,04 (ST1D7) avec une moyenne de 0,02. Le flux génique Nm (McDermott et McDonald, 1993), se situe entre 12,61 (ST1D7) et 230,00 (ST2E4) avec une moyenne de 24.28 (Tab. 23).

Tableau 23 : Diversité génique globale de *M. graminicola*, en fonction de l'espèce de blé hôte

Locus	Nombre de souches	(na)	(ne)	(h)	(I)	(Ht)	(Hs)	(G _{ST})	(Nm)
ST1A4	120	9,00	1,54	0,35	0,86	0,35	0,34	0,03	17,84
ST1E3	120	4,00	1,42	0,30	0,55	0,30	0,29	0,01	62,29
AC0007	120	11,00	3,88	0,74	1,63	0,74	0,72	0,03	16,74
ST1E7	120	4,00	1,85	0,46	0,87	0,46	0,45	0,01	36,29
ST1D7	120	7,00	1,79	0,44	0,95	0,44	0,42	0,04	12,61
ST2E4	120	5,00	1,47	0,32	0,67	0,32	0,32	0,00	230,00
ST2C10	120	8,00	1,61	0,38	0,81	0,38	0,37	0,01	56,08
ST1G7	120	2,00	1,14	0,12	0,24	0,12	0,12	0,02	27,50
Moyenne	120	6,25	1,84	0,39	0,82	0,39	0,38	0,02	24,28

(na): nombre d'allèles observés

(ne): nombre effectif d'allèles (Kimura et Crow, 1964)*

(h): diversité génétique de Nei (1973)*

(I): l'indice de Shannon (Lewontin, 1972)*

(Ht): la diversité génétique dans la population globale

(Hs): diversité génétique de la population régionale,

(G_{ST}): différenciation entre populations (Nei, 1973)*,

(Nm): flux de gènes (McDermott et McDonald, 1993)

* : références citées in El Chartouni (2009).

Pour le blé tendre (*Triticum aestivum*), le nombre d'allèles observés (na) se situait entre 02 (locus ST1G7) et 10 (locus AC0007), avec une moyenne de 5.50. La diversité génétique de Nei (1973) (h) varie entre 0,18 (locus ST1G7) et 0,81 (locus AC0007), avec une valeur moyenne de 0,45 (Tab. 24).

Tableau 24 : Diversité génique de *M. graminicola* en fonction de l'espèce de blé hôte, (pour le blé tendre)

	Locus	Nombre de souches	(<i>na</i>)	(<i>ne</i>)	(<i>h</i>)	(<i>I</i>)
Blé tendre	ST1A4	60	8,00	1,88	0,47	1,07
	ST1E3	60	4,00	1,56	0,36	0,67
	AC0007	60	10,00	5,39	0,81	1,88
	ST1E7	60	4,00	2,07	0,52	0,93
	ST1D7	60	7,00	2,38	0,58	1,24
	ST2E4	60	5,00	1,48	0,32	0,71
	ST2C10	60	4,00	1,50	0,33	0,61
	ST1G7	60	2,00	1,22	0,18	0,33
	Moyenne	60	5,50	2,18	0,45	0,93

(*na*): nombre d'allèles observés

(*ne*): nombre effectif d'allèles (Kimura et Crow, 1964)*

(*h*): diversité génétique de Nei (1973)*

(*I*): l'indice de Shannon (Lewontin, 1972)*

* : références citées in El Chartouni (2009).

Pour le blé dur (*Triticum durum* Desf.), le nombre d'allèles observés (*na*) se situait entre 02 (locus ST1E3 et ST1G7) et 06 (locus AC0007 et ST2C10), avec une moyenne de 04. La diversité génétique de Nei (1973) (*h*) varie entre 0,06 (locus ST1G7) et 0,63 (locus AC0007), avec une valeur moyenne de 0,32 (Tab. 25).

Le tableau 26 récapitule les valeurs moyennes de la diversité génique de *M. graminicola*, au sein de l'espèce de blé hôte pour tous les loci microsatellites, et montre une comparaison entre les populations de ce pathogène collectées sur les deux espèces de blé, dans l'agrosystème algérien.

Tableau 25 : Diversité génique de *M. graminicola* en fonction de l'espèce de blé hôte, (pour le blé dur)

	Locus	Nombre de souches	(<i>na</i>)	(<i>ne</i>)	(<i>h</i>)	(<i>I</i>)
Le blé dur	ST1A4	60	5,00	1,27	0,22	0,51
	ST1E3	60	2,00	1,30	0,23	0,39
	AC0007	60	6,00	2,68	0,63	1,19
	ST1E7	60	4,00	1,64	0,39	0,77
	ST1D7	60	4,00	1,37	0,27	0,56
	ST2E4	60	3,00	1,46	0,32	0,60
	ST2C10	60	6,00	1,71	0,42	0,88
	ST1G7	60	2,00	1,07	0,06	0,15
	Moyenne	60	4,00	1,56	0,32	0,63

(*na*): nombre d'allèles observés

(*ne*): nombre effectif d'allèles (Kimura et Crow, 1964)*

(*h*): diversité génétique de Nei (1973)*

(*I*): l'indice de Shannon (Lewontin, 1972)*

* : références citées in El Chartouni (2009)

Tableau 26 : Moyennes de la diversité génique de *M. graminicola*, au sein de l'espèce de blé hôte pour tous les loci microsatellites

	Nombre de souches	(<i>na</i>)	(<i>ne</i>)	(<i>h</i>)	(<i>I</i>)	Nombre de loci polymorphes	Pourcentage de loci polymorphes
Blé tendre	60	5,50	2,18	0,45	0,93	08	100 %
Le blé dur	60	4,00	1,56	0,32	0,63	08	100 %

(*na*): nombre d'allèles observés

(*ne*): nombre effectif d'allèles (Kimura et Crow, 1964)*

(*h*): diversité génétique de Nei (1973)*

(*I*): l'indice de Shannon (Lewontin, 1972)*

* : références citées in El Chartouni (2009)

Les valeurs enregistrées pour la fréquence de gènes dans tout le pays, pour les loci les plus polymorphes (AC0007 et ST1A4), étaient respectivement, entre 01 % et 40 % pour le locus AC0007 (11 allèles), et entre 01 % et 80 % pour le locus ST1A4 (09 allèles), alors que pour le locus ST1G7, le moins polymorphe (02 allèles), la fréquence des gènes était de 07 % et 93 % (Tab. 27).

Tableau 27 : Fréquence des gènes pour les différents loci, pour l'ensemble du pays

Nombre d'Allèles / marqueur	ST1A4	ST1E3	AC0007	ST1E7	ST1D7	ST2E4	ST2C10	ST1G7
Allèle 1	0,80	0,82	0,40	0,71	0,11	0,80	0,77	0,93
Allèle 2	0,08	0,15	0,19	0,17	0,09	0,08	0,14	0,07
Allèle 3	0,02	0,01	0,23	0,02	0,02	0,01	0,01	
Allèle 4	0,01	0,02	0,06	0,10	0,02	0,02	0,01	
Allèle 5	0,02		0,02		0,01	0,09	0,01	
Allèle 6	0,03		0,01		0,01		0,01	
Allèle 7	0,02		0,05		0,74		0,04	
Allèle 8	0,01		0,01				0,01	
Allèle 9	0,01		0,01					
Allèle 10			0,01					
Allèle 11			0,01					

Dans les différentes régions, et au niveau de Guelma (Tab. 28), le locus ST2E4, n'était pas polymorphe, la fréquence des gènes pour AC0007, le locus le plus polymorphe (06 allèles) variait entre 03 % et 57 %, et la fréquence des gènes pour les loci ST1E3 et ST1G7, les loci les moins polymorphes (02 allèles), variaient de 07 % à 93 % pour le locus ST1E3, et de 03 à 97 % pour le locus ST1G7.

Tableau 28 : Fréquence des gènes pour les différents loci dans la région de Guelma

Nombre d'Allèles / marqueur	ST1A4	ST1E3	AC0007	ST1E7	ST1D7	ST2E4	ST2C10	ST1G7
Allèle 1	0,80	0,93	0,57	0,50	0,07	1,00	0,87	0,97
Allèle 2	0,14	0,07	0,03	0,33	0,03		0,10	0,03
Allèle 3	0,03		0,23	0,03	0,03		0,03	
Allèle 4	0,03		0,07	0,14	0,07			
Allèle 5			0,07		0,80			
Allèle 6			0,03					

À Constantine, tous les loci étaient polymorphes (Tab. 29), les loci AC0007 et ST1D7 ont été les plus polymorphes (07 allèles) et la fréquence des gènes variait de 03 % à 40 % pour le locus AC0007 et de 03 % à 68 % pour le locus ST1D7. Les loci ST1E3, ST1E7 et ST1G7 sont les loci les moins polymorphes (02 allèles) ; la fréquence de gènes a été de 10 % et 90 % pour les deux allèles des loci ST1E3 et ST1G7, et de 07 % et 93 % pour les allèles du locus ST1E7.

Tableau 29 : Fréquence des gènes pour les différents loci dans la région de Constantine

Nombre d'Allèles / marqueur	ST1A4	ST1E3	AC0007	ST1E7	ST1D7	ST2E4	ST2C10	ST1G7
Allèle 1	0,87	0,90	0,13	0,93	0,17	0,83	0,85	0,90
Allèle 2	0,07	0,10	0,40	0,07	0,03	0,07	0,03	0,10
Allèle 3	0,03		0,27		0,03	0,10	0,03	
Allèle 4	0,03		0,07		0,03		0,03	
Allèle 5			0,03		0,03		0,03	
Allèle 6			0,07		0,03		0,03	
Allèle 7			0,03		0,68			

À Skikda, le locus ST1G7 n'était pas polymorphe (Tab. 30), le locus AC0007 était le plus polymorphe (07 allèles) et la fréquence des gènes est entre 03 % et 57 %. Les loci ST1E3 et ST2C10 ont été les moins polymorphes (03 allèles) ; la fréquence des gènes varie de 07 % à 70 % pour le locus ST1E3, et de 03 % à 70 % pour le locus ST2C10.

Tableau 30 : Fréquence des gènes pour les différents loci dans la région de Skikda

Nombre d'Allèles / marqueur	ST1A4	ST1E3	AC0007	ST1E7	ST1D7	ST2E4	ST2C10	ST1G7
Allèle 1	0,77	0,70	0,57	0,73	0,03	0,53	0,70	1,00
Allèle 2	0,07	0,23	0,13	0,14	0,14	0,17	0,27	
Allèle 3	0,13	0,07	0,08	0,03	0,03	0,03	0,03	
Allèle 4	0,03		0,03	0,10	0,80	0,07		
Allèle 5			0,03			0,20		
Allèle 6			0,08					
Allèle 7			0,08					

À Annaba, le locus ST1G7 n'était pas polymorphe (Tab. 31), les loci ST1A4 et ST1E7 ont été les plus polymorphes (04 allèles) et la fréquence des gènes est entre 07 % et 67 % pour les deux loci. Les loci ST1E3, AC0007 et ST1D7 ont été les moins polymorphes, deux allèles seulement ont été observés ; la fréquence de gènes pour le locus ST1E3, a été de 33 % pour un allèle et 67 % pour le second, pour le locus AC0007 , 40 % pour un allèle et 60 % pour le deuxième, et 13 % pour un allèle et 87 % pour le second pour le locus ST1D7.

Tableau 31 : Fréquence des gènes pour les différents loci dans la région d'Annaba

Nombre d'Allèles / marqueur	ST1A4	ST1E3	AC0007	ST1E7	ST1D7	ST2E4	ST2C10	ST1G7
Allèle 1	0,67	0,67	0,60	0,67	0,13	0,80	0,60	1,00
Allèle 2	0,13	0,33	0,40	0,13	0,87	0,13	0,20	
Allèle 3	0,13			0,07		0,07	0,20	
Allèle 4	0,07			0,13				

À Oran, le locus ST2E4 n'était pas polymorphe (Tab. 32), le locus AC0007 était le plus polymorphe (05 allèles) et la fréquence des gènes a été entre 07 % et 40 %. Les loci ST2C10 et ST1G7 ont été les moins polymorphes, deux allèles seulement ont été observés ; la fréquence de gènes pour le locus ST2C10 a été de 20 % pour un allèle et 80 % pour le deuxième ; et pour le locus ST1G7, 27 % pour un allèle et 73 % pour le second.

Tableau 32 : Fréquence des gènes pour les différents loci dans la région d'Oran

Nombre d'Allèles / marqueur	ST1A4	ST1E3	AC0007	ST1E7	ST1D7	ST2E4	ST2C10	ST1G7
Allèle 1	0,86	0,86	0,07	0,67	0,33	1,00	0,80	0,73
Allèle 2	0,07	0,07	0,40	0,13	0,20		0,20	0,27
Allèle 3	0,07	0,07	0,33	0,20	0,47			
Allèle 4			0,13					
Allèle 5			0,07					

À l'échelle de l'espèce de blé hôte, tous les loci sont polymorphes pour le blé tendre et le blé dur. Cependant, le blé tendre a montré le niveau le plus élevé de polymorphisme, 10 allèles parmi 11 allèles trouvés chez les deux espèces de blé ont été trouvés chez les isolats issus du blé tendre.

Pour le blé tendre (Tab. 33), le locus AC0007 était le locus le plus polymorphe (10 allèles) et la fréquence des gènes était entre 02 % (pour trois allèles) et 27 %. Le locus ST1G7 a été le moins polymorphe, deux allèles seulement ont été observés ; la fréquence de gène a été de 10 % pour l'un des allèles et 90 % pour le second.

Tableau 33 : Fréquence des gènes pour les différents loci, pour le blé tendre

Nombre d'Allèles / marqueur	ST1A4	ST1E3	AC0007	ST1E7	ST1D7	ST2E4	ST2C10	ST1G7
Allèle 1	0,71	0,78	0,27	0,65	0,13	0,81	0,80	0,90
Allèle 2	0,10	0,17	0,20	0,22	0,13	0,07	0,16	0,10
Allèle 3	0,02	0,02	0,23	0,01	0,03	0,02	0,02	
Allèle 4	0,02	0,03	0,10	0,12	0,05	0,03	0,02	
Allèle 5	0,05		0,03		0,02	0,07		
Allèle 6	0,06		0,02		0,02			
Allèle 7	0,02		0,08		0,62			
Allèle 8	0,02		0,02					
Allèle 9			0,02					
Allèle 10			0,03					

Pour le blé dur (Tab. 34), les loci AC0007 et ST2C10 ont été les plus polymorphes (06 allèles) et la fréquence de gènes variait de 02 % (pour trois allèles) à 53 %, pour le locus AC0007 et de 02 % (pour trois allèles) à 75 %, pour le locus ST2C10. Les loci ST1E3 et ST1G7 ont été les moins polymorphes, deux allèles seulement ont été observés ; la fréquence de gènes a été de 13 % pour l'un des allèles et 87 % pour le deuxième pour le locus ST1E3 et de 03 % pour l'un des allèles et 97 % pour le second pour le locus ST1G7.

Tableau 34 : Fréquence des gènes pour les différents loci, pour le blé dur

Nombre d'Allèles / marqueur	ST1A4	ST1E3	AC0007	ST1E7	ST1D7	ST2E4	ST2C10	ST1G7
Allèle 1	0,88	0,87	0,53	0,77	0,08	0,82	0,75	0,97
Allèle 2	0,05	0,13	0,18	0,12	0,05	0,08	0,11	0,03
Allèle 3	0,02		0,23	0,03	0,02	0,10	0,02	
Allèle 4	0,03		0,02	0,08	0,85		0,02	
Allèle 5	0,02		0,02				0,08	
Allèle 6			0,02				0,02	

5.4.2. Discussion

Les études portant sur la génétique de la population de *M. graminicola*, ont commencé au cours des années 1990 par les travaux de McDonald et ses collaborateurs (McDonald et Martinez, 1990 ; 1990a ; McDonald *et al.*, 1995 ; 1999), depuis plusieurs travaux ont été menés sur cet axe ; les résultats enregistrés confirment tous, que la diversité génétique est élevée au niveau des populations naturelles de ce pathogène (Chen *et al.*, 1994 ; Zhan *et al.*, 2000 ; 2001), et ils ont démontré que cette diversité est fonction de plusieurs facteurs, notamment, le mode de reproduction et la taille de la population (Zhan *et al.*, 2002 ; 2002a). Zhan *et al.* (2002a) ont démontré que la structure génétique de *M. graminicola* change en fonction du temps (début, milieu et fin de la saison) et elle varie également en fonction de la population hôte, les cultivars résistants retardent l'évolution de la population du pathogène, en limitant le *fitness* de la reproduction chez le pathogène.

D'autre part, Shaw (2014) rapporte que la dynamique des populations de ce pathogène peut varier en fonction de la nutrition minérale de la culture. Une étude réalisée en Angleterre, a porté sur l'abondance des deux espèces de septoriose du blé (*Z. tritici* et *P. nodorum*), sur une période de 160 ans a montré que la dynamique des populations de ces deux pathogènes est dépendante de plusieurs facteurs, notamment la nutrition minérale du blé.

Dans cette partie de la thèse, l'étude du polymorphisme au niveau de huit marqueurs microsatellites du génome de *Mycosphaerella graminicola*, évalué sur 120 souches, par la technique de conformation du simple brin d'ADN (SSCP), nous a permis d'identifier 50 allèles au sein des populations algériennes de ce pathogène.

Nos résultats ont révélé une diversité génétique de Nei (*h*) de l'ordre de 0,39, pour la population globale. Setti *et al.* (2012) ont signalé que la diversité génétique totale peut être considérée comme élevée si elle est supérieure à 0,25. Cette diversité génétique élevée est corrélée à une clonalité faible. Un niveau élevé de la diversité génétique a été également enregistré dans les différentes régions de l'étude.

Des résultats similaires ont été obtenus dans des études antérieures, pour différentes populations de *M. graminicola* (Schnieder *et al.*, 2001 ; Linde *et al.*, 2002 ; Zhan *et al.*, 2003 ; Kabbage *et al.*, 2008 ; Komijani *et al.*, 2010 ; El Chartouni *et al.*, 2011 ; Gurung *et al.*, 2011).

Schneider *et al.* (2001) en utilisant les AFLP pour étudier les populations de *M. graminicola*, ont montré que la population allemande de *M. graminicola* possédait un indice de diversité de Nei de 0,27, une faible différenciation génétique G_{ST} de 0,04 et un flux de gène, Nm de 12. De même, Kabbage (2007) a utilisé ces marqueurs pour étudier des populations de *M. graminicola* du Kansas et de la Californie, et il a montré une diversité génétique entre les populations des deux régions, avec un G_{ST} de 0,215 et un flux de gène inférieur à 2.

Diria *et al.* (2014), ont étudié la structure génétique de la population marocaine de *M. graminicola*, ils ont trouvé que la population marocaine se caractérise par une diversité génétique élevée, une différenciation faible entre populations de 05 régions étudiées et un flux de gène de l'ordre de 9,12 indiquant un échange de matériels génétique entre les différentes régions par le biais des ascospores emportées par le vent.

Razavi et Hughes (2004) ont étudié la structure génétique de la population de *M. graminicola* de la région de Saskatchewan (Canada), en utilisant 09 marqueurs microsatellites pour analyser 90 isolats de ce pathogène, les résultats obtenus ont montré que le nombre d'allèles par locus variait entre 1 et 5, pour une moyenne de trois allèles par locus. La diversité génétique variait entre 0,04 et 0,67. La répartition de la variabilité génétique totale en ses composantes intra- et inter-sites a montré que 88 % de la variabilité survenait au sein du même site, d'un mètre carré, tandis que relativement peu de variabilité était observée entre les sites. Les auteurs suggèrent que, la faible variabilité entre sites et la grande variabilité intra-site représente la situation attendue si la principale source d'inoculum s'avère les ascospores transportées par le vent, lesquelles seraient dispersées uniformément au sein d'un champ.

Zhan *et al.* (2003) ont analysé par RFLP, 1673 isolats de *M. graminicola*, collectés de 17 champs, durant la période allant de 1989 à 1995, provenant de 11 pays, répartis dans les cinq continents, et ont trouvé une diversité génétique nucléaire, élevée pour les différentes populations de ce pathogène. Dans cette étude, les auteurs ont testé 52 isolats algériens, collectés de différentes régions de l'Algérie, sur le blé dur et le blé tendre, et ils ont démontré que la population algérienne de ce pathogène se caractérise par une diversité élevée, notamment pour le génome nucléaire. Le nombre d'haplotypes pour la population algérienne était de 41/52 isolats pour le génome nucléaire et 6/52 isolats pour le génome mitochondrial. La population algérienne a un nombre d'allèles moyen de 4,2 (6, 25 dans notre étude) et une diversité génique de 0,403

(0,39 dans notre étude). Pour la population de l'Oregon, sur un total de 711 isolats le nombre d'haplotypes pour le génome nucléaire était de 654 alors que pour le génome mitochondrial était de 2 haplotypes seulement. Pour la population du Mexique : sur 126 isolats, 48 haplotypes pour le génome nucléaire et 1 seul haplotype pour le génome mitochondrial ont été détectés. En comparant les résultats obtenus pour les différentes populations (15 populations provenant de 11 pays), nous remarquons que la population algérienne présente le plus grand nombre d'haplotypes pour le génome mitochondrial (6/52 haplotypes), suivi de la population syrienne (4 haplotypes pour le génome mitochondrial et 30 haplotypes pour le génome nucléaire pour un total de 31 isolats.). Le nombre d'allèles observés étant de 07 allèles dans les 15 populations (1673 isolats), alors que pour notre étude, 11 allèles ont été observés sur 05 sous-populations seulement.

La même étude, a montré par le biais des résultats relatifs à la diversité génique, estimée par l'analyse de 08 marqueurs RFLP (SS192A, SS192b, SS14, SL10, SL53, SS43, SL31 et SS2), que la population algérienne est très diversifiée et, tous les marqueurs sont polymorphes à l'exception du marqueur SS192b, pour lequel le polymorphisme n'a été noté que pour 6 populations parmi les 15 populations étudiées, et ce polymorphisme était faible (2 allèles avec une dominance de l'un des allèles, de 87-98 %), dans les différentes populations, sauf dans la population Israélienne où le polymorphisme était plus ou moins élevé pour ce marqueur. La diversité génique est plus importante à faible échelle, et pour 10 populations parmi les 15 populations étudiées, 79,2 % de la diversité génique existe au sein de parcelles de 1-9 m² au niveau du champ. 10.8 % de la diversité existe entre les parcelles d'un même champ et 10 % entre les champs de la même région (Zhan *et al.*, 2003).

L'analyse globale des résultats obtenus sur la diversité génétique des populations de *M. graminicola*, montre que ce pathogène se caractérise par une diversité génétique à petite, moyenne et grande échelle ; cette diversité est plus élevée dans des parcelles de 1 m² et faible à de grandes échelles, notamment à l'échelle des pays et des continents. Tous les travaux s'accordent à ce que plusieurs facteurs sont impliqués dans cette diversité, notamment, la reproduction sexuée régulière et fréquente durant toute l'année, qui joue un rôle important dans la diversité et la structuration des populations, en fournissant l'inoculum primaire par les ascospores et en contribuant à l'épidémie de la maladie, par dispersion à longues distance de ces ascospores. D'autre part, les facteurs biotiques et abiotiques de l'environnement, qui jouent le rôle de forces de pression (résistance de l'hôte, utilisation de fongicides...), qui peuvent conduire

à une adaptation du pathogène par changement de caractères de virulence et donc l'apparition de nouvelles souches plus virulentes, capables de détourner les résistances imposées par le cultivar ou le toxique (McDermott et McDonald, 1993 ; Cowger et Mundt, 2002 ; Linde *et al.*, 2002 ; Zhan *et al.*, 2003).

Selon Burdon et Silk (1997) et McDonald (2004), cette diversité peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment les mutations génétiques et les recombinaisons. Burdon et Silk (1997) signalent que, pour les champignons phytopathogènes, comme est le cas pour la plupart des organismes, les processus de mutation et de recombinaison sont les sources majeures de la diversité génétique (Fig. 55). Au sein d'une espèce, le flux de gènes entre les populations complète ces processus, par la propagation des propagules d'une zone épidémiologique à l'autre et d'un site à l'autre.

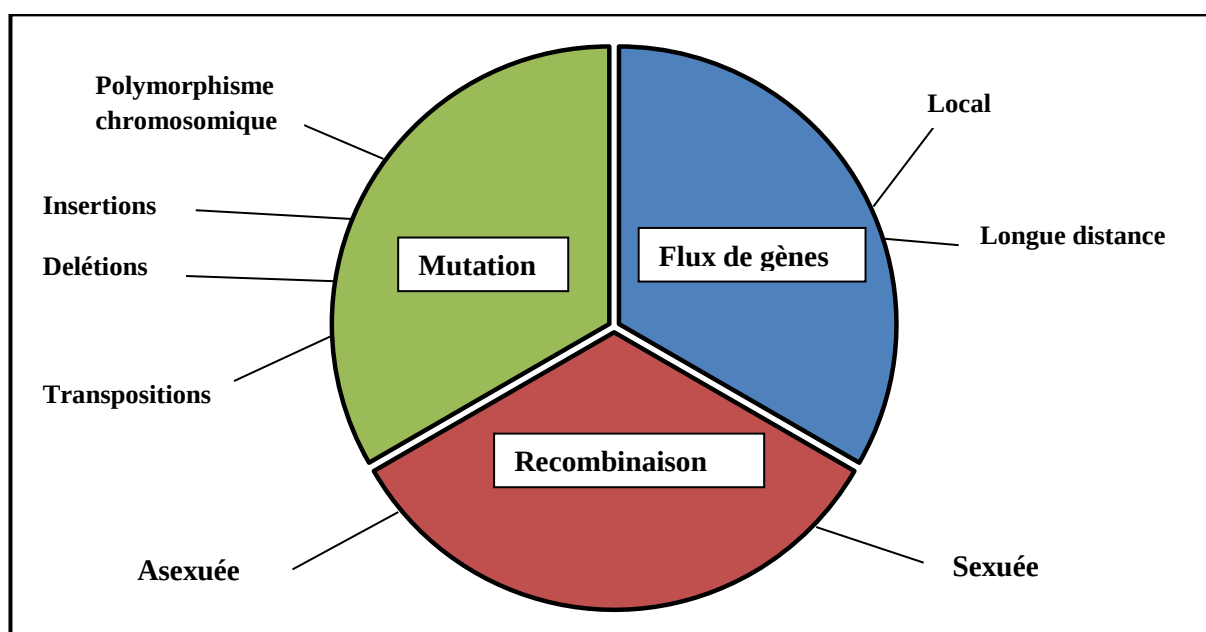


Figure 55 : Sources de diversité génétique et génique dans les populations d'agents pathogènes (adaptée de Burdon et Silk, 1997)

Debuchy et Turgeon (2006), révèlent que, la reproduction sexuée, consiste à un processus complexe au cours duquel s'opère un échange d'informations entre les individus, les cellules, les noyaux, les chromosomes et les gènes.

Selon Perez *et al.* (2010), la reproduction sexuée augmente le flux de gène par le transport aérien des ascospores. D'autre part, Pariaud *et al.* (2009), révèlent que l'agressivité joue un rôle dans l'adaptation des agents phytopathogènes.

Burdon (1993), révèle que la mutation et la recombinaison sexuée sont deux mécanismes générateurs de la variabilité génétique dans les populations pathogènes, alors que la dérive génétique, la migration et la sélection sont des mécanismes qui influencent la distribution de la diversité génétique dans la métapopulation. La recombinaison par reproduction sexuée chez les agents pathogènes des plantes est un des principaux facteurs d'adaptation locale des populations. La recombinaison n'influence pas le nombre total d'allèles présents dans une population mais elle modifie les associations d'allèles et influence ainsi la diversité génétique globale (multilocus) des individus d'une population donnée. McDonald (2004), signale que la mutation provoque des changements de la séquence nucléotidique de certains gènes et peut faire apparaître de nouveaux allèles dans les populations

La recombinaison chez les agents pathogènes des plantes se produit soit par reproduction sexuée ou par un processus d'hybridation somatique, dans lequel pourront être échangés des matières nucléaires et cytoplasmiques. À son tour, l'échange nucléaire peut être suivi d'une fusion nucléaire, et de la recombinaison (cycle parasexuel). Tous ces mécanismes peuvent générer une augmentation de la diversité génotypique dans une population du pathogène, mais leur importance varie au sein et entre les espèces (Burdon et Silk, 1997).

Plusieurs travaux ont porté sur le rôle de la reproduction sexuée dans la diversité génétique et la structure de la population des champignons. Li *et al.* (2010) signalent que la division méiotique qui s'opère lors de la reproduction sexuée, est considérée comme le processus majeur induisant la diversification des populations fongiques. Un des avantages de la reproduction sexuée est la génération de diversités génétiques, ce qui engendre des individus ayant une virulence altérée ou un *fitness* important dans les nouvelles niches écologiques.

Zhan *et al.* (2007) ont essayé de connaître la contribution de la reproduction sexuée, la reproduction asexuée et la migration dans la structure génétique des populations de *M. graminicola*, en inoculant au champ, des variétés résistantes et sensibles du blé par 10 isolats du pathogène ; les résultats obtenus ont démontré qu'à la fin de la phase épidémique de la maladie, une proportion importante de la population de ce pathogène est originaire de la reproduction sexuée, les recombinants étaient présents à fréquence élevée sur les cultivars modérément résistants en comparaison avec les cultivars sensibles. A la fin de la saison, environ 13% des isolats échantillonnés sur les cultivars résistants sont des recombinants, alors que 9 % seulement de recombinants ont été trouvés chez les cultivars sensibles. Cette étude a également mis en évidence que les isolats issus de cultivars résistants ont un *fitness*, ainsi qu'une virulence et une tolérance aux fongicides élevés par rapport aux isolats issus de cultivars sensibles. Ces résultats ont permis de suggérer que la recombinaison sexuée génère la diversité génétique des individus, leur permettant une adaptation aux fluctuations de l'environnement, facilite l'évolution des parasites et le contournement de la résistance de l'hôte.

McDermott et McDonald (1993) révèlent que la recombinaison sexuée est un facteur important qui contribue à la diversité génétique de *M. graminicola*. Dans une étude, étalée sur trois années successives, réalisée sur un même champ, aucune variation significative n'a été notée dans la fréquence des allèles de 08 marqueurs RFLP.

Ce même phénomène a été observé pour des échantillons éloignés de 750 km. Ce qui suggère selon les mêmes auteurs, que les ascospores issues de la reproduction sexuée constituent la source primaire des propagules échangées à travers des distances, par le flux de gènes chez *M. graminicola*.

De nombreuses investigations ont révélé que la diversité génétique des micro-organismes phytopathogènes est corrélée à la balance entre la reproduction sexuée et asexuée, et la reproduction sexuée joue un rôle majeur dans la structure génétique des populations (Hamilton *et al.*, 1990 ; Chen et McDonald, 1996 ; Burdon et Silk, 1997 ; Kraft *et al.*, 1998 ; Brown, 1999 ; 2000 ; Bousset et de Vallavieille-Pope, 2003 ; Billiard *et al.*, 2012 ; Zhu *et al.*, 2015).

Dans une étude menée sur *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*, agent causal de la rouille de la tige du blé, Roelfs et Groth (1980), ont comparé la virulence des phénotypes dans la population, se reproduisant sexuellement et asexuellement et ont démontré que la population sexuée était plus polymorphe par rapport à la population asexuée provenant exclusivement d'urédospores ; et la population sexuée a enregistré une diversité de 23,5 % pour les facteurs de virulence, tandis que la population asexuée a enregistré seulement 0,07 % de la diversité des mêmes facteurs.

Des études antérieures ont indiqué que dans les populations de *M. graminicola*, la recombinaison sexuée est très fréquente et régulière ; les clones sont rarement trouvés au-delà d'une échelle spatiale de 1 m², et les populations régionales sont génétiquement très semblables (Chen et McDonald, 1996 ; Zhan *et al.* 1998 ; McDonald *et al.*, 1999 ; Linde *et al.*, 2002). Ces résultats confirment que l'infection au niveau des champs se fait principalement par les ascospores, et les ascospores aéroportées, sont les propagules les plus susceptibles d'être dispersées sur des distances allant jusqu'à 100 km (Banke *et al.*, 2004). *M. graminicola* est capable de produire plus d'un cycle de recombinaison sexuée au cours de chaque saison de croissance (Zhan *et al.*, 1998).

Razavi et Hughes (2004 ; 2004a), en analysant 90 isolats de *M. graminicola* prélevés d'un même champ ont trouvé un degré élevé du polymorphisme de l'ADN, ce qui suggère que la principale source d'inoculum résultait des ascospores aéroportés qui seraient dispersées uniformément dans le champ. Une variabilité génétique considérable de *M. graminicola* a également été signalée au sein de lésions prélevées d'une même feuille et au niveau de la même lésion (Boeger *et al.*, 1993 ; Cordo *et al.*, 2006).

Dans nos résultats relatifs aux *Mating-types* (Allioui *et al.*, 2014), nous avons trouvé que les deux idiomorphes (*MAT1-1* et *MAT1-2*) de *M. graminicola* étaient présents en Algérie, et distribués à des fréquences égales à l'échelle du pays. La distribution égale des types sexuels suggère un potentiel important de la reproduction sexuée chez la population algérienne de ce pathogène. Leslie et Klein (1996) ont rapporté que les proportions des deux types sexuels dans les populations naturelles pourraient dépendre du rapport entre la reproduction asexuée et sexuée.

La régularité de la recombinaison sexuée dans la population algérienne de *M. graminicola* a été démontrée par la présence des deux idiomorphes (*MAT1-1* et *MAT1-2*) à proportion égale (50 % / 50 %) au niveau de Skikda, où la fraction clonale est de 00,00 % et la diversité génétique a atteint 100 % sur le blé tendre (Tab. 19). Cependant au niveau de Guelma, où nous avons enregistré la valeur la plus élevée de la fraction clonale (17 %) et la plus faible diversité génétique (83 %), par rapport aux autres régions, nous avons enregistré un certain déséquilibre dans la répartition des deux types sexuels, où les fréquences enregistrées étaient respectivement 40 % pour *MAT1-1* et 60 % pour *MAT1-2*.

En se basant sur ces constatations, nous suggérons que la reproduction sexuée s'est produite régulièrement au niveau de Skikda et a joué un rôle important dans la diversité génétique de *M. graminicola* dans cette région, alors que dans la région de Guelma, la reproduction asexuée s'est produite avec un taux élevé par rapport à Skikda et a engendré la production de nombreux clones.

L'indice de différenciation des populations (Nei, 1973), G_{ST} a été faible (0,10), ce qui suggère une grande similarité entre les populations des différentes régions ; le flux de gène N_m (McDermott et McDonald, 1993) a enregistré une valeur élevée (04,76), ce qui signifie qu'un flux génétique se produit entre les populations des différentes régions. Ceci peut être probablement attribué au mouvement inter-régions de ce pathogène, à travers différentes activités, agricoles (par exemple, l'échange de matériel agricole utilisé pour la préparation du sol entre les agriculteurs, notamment entre les régions de l'Est, situées à proximité l'une de l'autre), ou autres activités (commerciales, ou autres), permettant le transfert de propagules de ce pathogène, en plus de la migration des ascospores aéroportées, qui peuvent parcourir des centaines de kilomètres, sous l'effet des vents.

En termes de diversité génique pour les microsatellites utilisés dans cette étude, les loci sont polymorphes ; le nombre d'allèles par locus a été élevé dans les régions de Skikda et Constantine (07 allèles). Il a été signalé que la recombinaison sexuée peut faciliter la diffusion rapide des allèles introduites dans une population de ce champignon (Gureng *et al.*, 2011). La région de Skikda et de Constantine sont très proches l'une de l'autre (environ 87 Km), ce qui suggère que le flux de gènes est important entre ces deux régions ; en plus beaucoup d'échanges s'opèrent entre ces deux régions, et ce, dans les différents domaines. D'autre part, la zone de

Skikda est une zone côtière et elle dispose d'un port, au niveau duquel les échanges commerciaux, notamment pour le blé, sont d'une grande importance.

Les polymorphismes entre les allèles peuvent être dus soit, à quelques nucléotides, soit au nombre de répétitions, découlant de la mutation au cours de la réplication de l'ADN (Owen *et al.*, 1998 ; Razavi et Hughes, 2004 ; El Chartouni *et al.*, 2011).

Jakobsson *et al.* (2013), révèlent qu'il existe une relation étroite entre, la différenciation entre populations G_{ST} , la fréquence de l'allèle le plus fréquent et l'homozygotie à l'intérieur de la population.

A l'échelle de l'espèce de blé hôte, nos résultats ont révélé que la diversité génétique a enregistré une valeur élevée, notamment pour le blé tendre, et qui est de l'ordre de 0,45 et 0,32 respectivement sur blé tendre et blé dur ; l'indice de différenciation des populations G_{ST} a été très faible (0,02), en corrélation avec une valeur élevée de flux génique Nm (24.28), indiquant qu'aucune distinction n'existe entre les populations de blé, et un flux génétique élevé se produit entre les populations de *M. graminicola* sur le blé tendre et le blé dur en conditions algériennes, et cela a confirmé l'hypothèse qu'aucune spécificité n'existe sur l'hôte de blé pour *M. graminicola* dans les environnements des localités algériennes étudiées.

La population de *M. graminicola* issue de blé tendre était plus diversifiée (10 allèles) que celle provenant de blé dur (06 allèles). Ceci laisse supposer que le blé tendre est plus favorable à la reproduction sexuée et la production de nouveaux haplotypes pour la population de *M. graminicola* dans les conditions algériennes. Cependant, cette hypothèse doit être vérifiée par la réalisation de cette étude sur un nombre élevé de cultivars de blé dur et de blé tendre, à cause du rôle important que peuvent jouer les changements des systèmes de culture et des cultivars dans l'incidence de la tache septorienne des feuilles du blé (STB).

McDonald et Martinez (1991a) révèlent qu'en conséquence à la reproduction asexuée, les populations fongiques peuvent avoir une faible diversité génétique qui peut probablement être due à des recombinaisons sexuelles irrégulières. La structure de la population peut également être affectée par le mouvement des clones d'une sous-population à une autre. Cependant, le

mouvement à longue distance peut accélérer la diversité génétique de la population par l'introduction de nouveaux allèles dans des populations géographiquement isolées.

De nombreuses études portant sur la génétique des populations, ont montré que la reproduction sexuée joue un rôle important dans la structure et la diversité génétique de la population de ce pathogène, ainsi que dans l'épidémie de la maladie (Milgroom *et al.*, 1993 ; McDonald *et al.*, 1995 ; Chen et McDonald, 1996 ; Zhan *et al.*, 1998 ; 2001 ; Zhan et McDonald, 2004).

Des études menées en plein champ lors d'une épidémie de cette maladie en Oregon (USA), par Zhan et McDonald (2004), ont montré que 4 % de la population est originaire de la reproduction sexuée de ce pathogène.

Les spores sexuées (ascospores) peuvent être dispersées par le vent à des dizaines de kilomètres (Sanderson, 1972), et elles constituent non seulement une source primaire de l'inoculum, mais contribuent aussi de façon remarquable à des infections secondaires au cours de l'année, en absence qu'en présence de l'hôte et aussi bien pendant la phase biotrophique que la phase nécrotrophique de son cycle de développement (Shaw et Royle, 1989 ; Zhan *et al.*, 1998 ; Hunter *et al.*, 1999 ; Zhan *et al.*, 2001 ; Cowger *et al.*, 2002).

Linde *et al.* (2002), ont étudié la structure des populations de 04 régions (Suisse, Oregon, Texas et Israël), ils ont trouvé que la proportion totale de la diversité génique présente entre les champs d'une même région était de 1,2 % avec une différenciation des populations (G_{ST}) faible (0,01) et un flux de gène correspondant important ($Nm = 58$ à 86). Ils ont expliqué cette faible valeur de G_{ST} par la dispersion anémophile des ascospores sur une distance de 10 à 200 Km entre les différents champs d'une même région.

M. graminicola, a un stade sexué qui s'effectue durant toute l'année (Kema *et al.*, 1996 ; Hunter *et al.*, 1999), ce qui permet aux ascospores de jouer un rôle important dans la dissémination de la maladie.

Plusieurs auteurs signalent que la structure de la population de ce pathogène indique que la reproduction sexuée s'opère à des fréquences très importantes, et elle permet au champignon de s'adapter aux contraintes imposées par l'environnement, notamment, les gènes de résistances de l'hôte et les fluctuations de l'environnement (Chen et McDonald, 1996 ; Arie *et al.*, 2000 ; Cowger *et al.*, 2002 ; 2008 ; Zhan *et al.*, 2007 ; Butler, 2010).

Lourd (1995) rapporte que, des résultats similaires ont été signalés par Welz et Kranz (1987) chez le champignon *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*, qui s'attaque à l'orge, qui présente une reproduction sexuée active dans la nature, mais également une phase conidiennne importante durant l'épidémie. En prélevant des conidies et des ascospores sur orge de printemps, ces auteurs ont montré que la recombinaison sexuée est responsable pour une part des changements intervenus dans la population de spores qui a initié l'épidémie d'automne. Ceci se traduit par une plus grande diversité des races et une plus faible proportion des races les plus communes dans les descendance sexuelles (Fig. 56). La prédominance du cycle asexuel pendant l'épidémie associée à la recombinaison sexuelle donne à l'oïdium de l'orge sa grande aptitude à s'adapter aux changements génétiques de l'hôte.

En conclusion, nous pouvons signaler que les résultats de cette étude confirment que les populations de *M. graminicola* en Algérie recombinent de façon fréquente et régulière ; la production de nouveaux génotypes, entraîne une diversification des populations, et cette diversité peut augmenter par le biais de la migration, et le potentiel élevé des flux de gènes sur de courtes distances. La grande diversité génotypique des populations de *M. graminicola* dans les cinq zones de production de blé échantillonnées de l'Algérie, suggère que les gènes de résistance majeurs pouvant exister, chez certaines variétés de blé cultivées dans ce pays, peuvent écrouler rapidement et doivent être employés avec prudence.

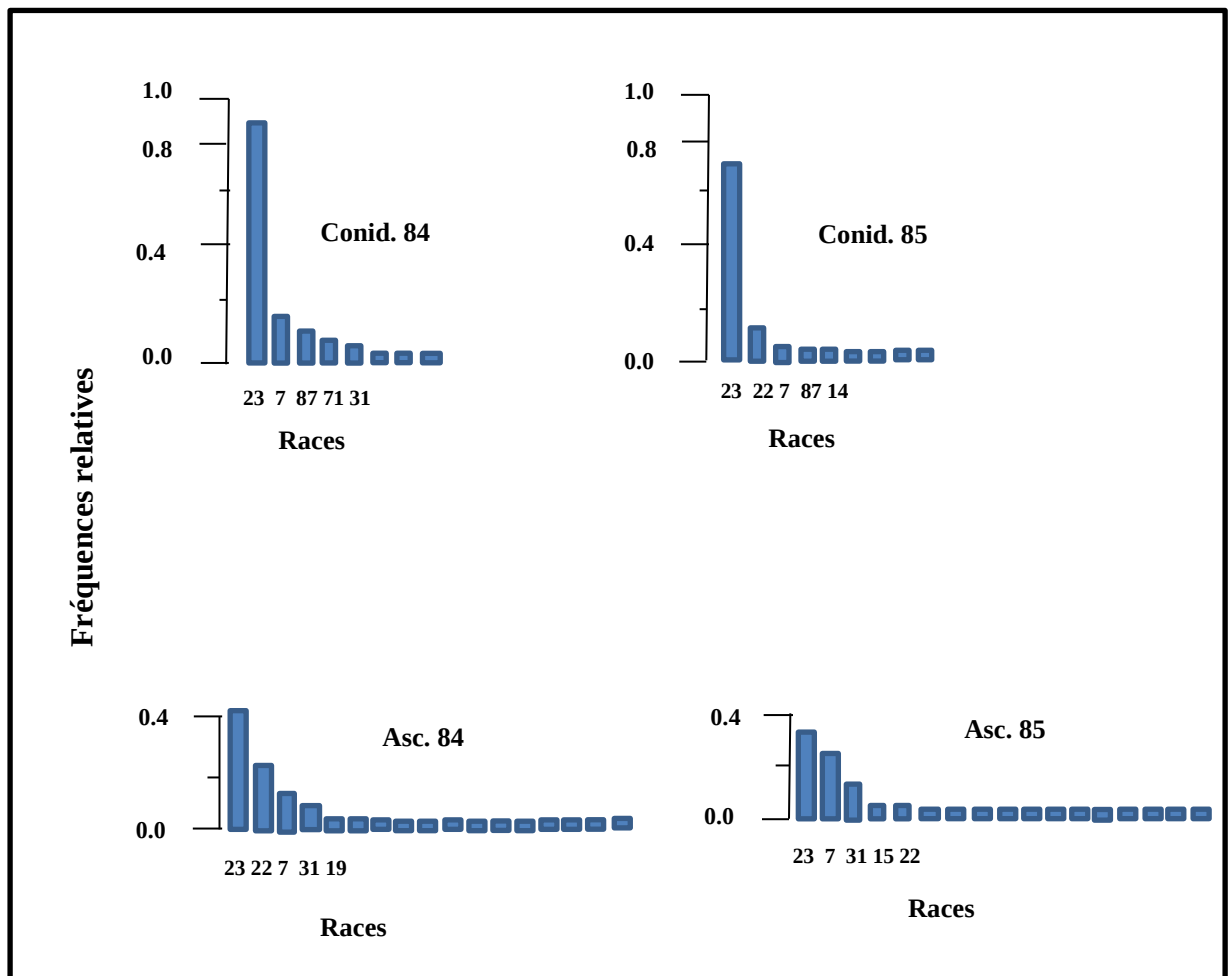


Figure 56 : Fréquences des races de l'*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* dans un champ d'orge expérimental en Allemagne sur le cultivar Golden Promise : - à partir des conidies (Conid. 84 et Conid. 85) ; et à partir des ascospores (Asc. 84 et Asc. 85).
(D'après Welz & Kranz (1987) cités par Lourd, 1995)
(Adapté de Lourd, 1995)

5.5. Sensibilité et résistance des isolats aux strobilurines

Nous rappelons que, dans cette partie de la thèse, les isolats de *M. graminicola* collectés de cinq régions géographiques distincts de l'Algérie, ont été analysés en vue de tester la sensibilité et la résistance de ce pathogène aux strobilurines (Azoxystrobine) dans les conditions de l'agrosystème algérien. Deux méthodes ont été utilisées :

- **Méthode moléculaire**, portant sur la détection de l'allèle A143, conférant la résistance aux strobilurines (QoIs), par PCR. Cette méthode a concerné les 120 souches faisant l'objet de l'étude.

- **Méthode du test phénologique**, utilisée pour la confirmation des résultats obtenus par la méthode moléculaire, concernant 03 isolats portant l'allèle A143. Cette méthode repose sur l'exposition des isolats à différentes concentrations du fongicide (Azoxystrobine), et la détermination des phénotypes de résistance ou de sensibilité à l'Azoxystrobine en fonction du taux de croissance des différents isolats dans les différentes concentrations. Un essai sur des microplaques a été effectué et a porté sur huit isolats : les trois isolats soupçonnés résistants (T05220, T05222 et T05303), trois isolats algériens, sensibles, pour lesquels le test de criblage a révélé la présence de l'allèle G143 (T05201, T05225 et T05308), un isolat de référence, sensible, possédant l'allèle G143 (IPO323), originaire de la Hollande et un isolat de référence, résistant, possédant l'allèle A143 (T01193), originaire de la France.

5.5.1. Résultats

5.5.1.1. Tests de sensibilité et de résistance des isolats aux QoIs

5.5.1.1.1. Analyse moléculaire : Criblage de la substitution G143A

Les résultats obtenus ont montré que chaque isolat génère un seul amplicon de taille correspondante à l'allèle G143 ou l'allèle A143. Les isolats sensibles génèrent un fragment de 639 pb, et les isolats résistants génèrent un fragment de 302 pb (Fig. 57).

Tous les isolats testés, possédaient l'allèle sauvage G143, et sont donc avérés pour être sensibles, à l'exception de trois isolats, qui possédaient l'allèle résistant A143 (Fig. 57) ; deux isolats (T05220 et T05222) sont issus de Guelma et un isolat (T05303) est issu de Annaba. L'isolat T05220 et l'isolat T05222 ont été échantillonnés sur le blé tendre, tandis que l'isolat T05303 a été échantillonné sur le blé dur.

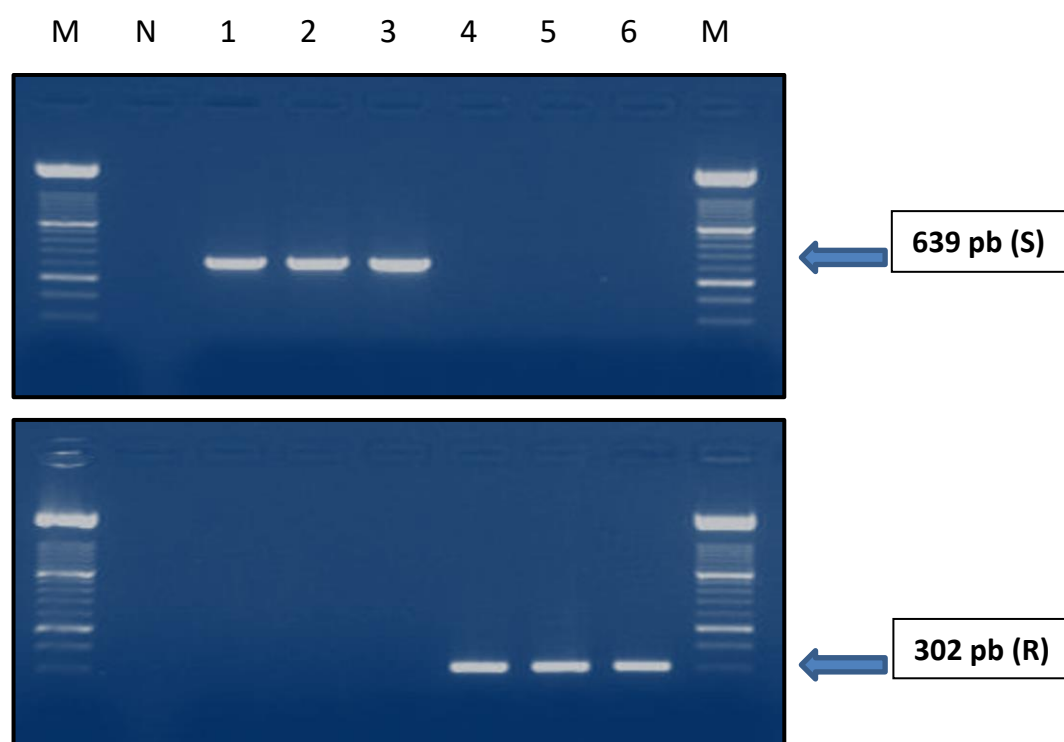


Figure 57 : Détermination de l'allèle G143 ou A143 dans six isolats de *M. graminicola*. Les isolats sensibles (S) possèdent l'allèle G143 générant un amplicon de 639 pb. Les isolats résistants (R) possèdent l'allèle A143 générant un amplicon de 302 pb ; **M** : poids moléculaire standard). **N** : PCR négative (témoin sans ADN) ; 1-6 : les isolats testés (1: T05201, 2: T05225, 3: T05308, 4: T05220, 5: T05222, 6: T05303)

La caractérisation génétique de ces isolats avec les huit marqueurs microsatellites utilisés pour l'étude de la diversité génétique de la population, a révélé qu'ils sont tous génétiquement différents (haplotypes).

Aucun isolat ne partage la même combinaison d'allèles avec les autres. Les isolats T05220 et T05303 sont de type *MAT1-2*, alors que T05222 est de type *MAT1-1* (Tab. 35).

Tableau 35 : Empreintes génétiques des trois isolats de *M. graminicola* résistants au fongicide QoIs (Azoxystrobine), analysés par huit marqueurs microsatellites, ainsi que leurs *Mating-types* : la lettre « a » ou « b » indique l'allèle obtenu pour chaque isolat pour le marqueur correspondant

Isolats	Marqueurs microsatellites utilisés								Mating-type
	ST1A4	ST1E3	AC0007	ST1E7	ST1D7	ST2E4	ST2C10	ST1G7	
T05220	a	a	a	a	a	a	a	a	MAT1-2
T05222	b	b	b	a	b	a	a	a	MAT1-1
T05303	a	a	a	b	a	a	a	a	MAT1-2

5.5.1.1.2. Confirmation phénotypique de la résistance

Les courbes montrant la croissance des différents isolats en réponse aux différentes concentrations de l'azoxystrobine sont représentées dans la figure 58.

La concentration d'inhibition de 50 % de la population, IC_{50} a été déterminée pour chaque isolat. Tous les isolats résistants : les trois isolats algériens (T05220, T05222 et T05303) et l'isolat Français (T01193) ont affiché des valeurs de la concentration d'inhibition très élevées comparativement à celles affichées pour les isolats sensibles.

L'analyse des résultats obtenus montre que les différences entre le témoin et certaines parmi les souches testées, sont notables, pour la concentration d'inhibition IC_{50} ; la valeur la plus faible (0.001 mg/L) a été enregistrée pour la souche algérienne T05201 (sensible), issue du blé dur dans la région de Guelma, suivie de la souche Hollandaise sensible (IPO323), pour laquelle la concentration d'inhibition IC_{50} était de l'ordre de 0,008 mg/L. Les souches T05225 (issue de Guelma sur le blé tendre) et T05308 (issue d'Annaba sur du blé dur) ont enregistré une même concentration d'inhibition IC_{50} , de l'ordre de 0.04 mg/L. Des valeurs élevées ont été notées pour les souches T05303 (7, 65 mg/L), collectée sur du blé dur de la région d'Annaba, la souche française résistante T01193 (11,03 mg/L) et la souche T05220 (12,00 mg/L), collectée sur du blé tendre de la région de Guelma.

La valeur la plus élevée de la concentration d'inhibition IC_{50} , a été d'une grandeur très importante et a été notée pour la souche T05222, collectée de la région de Guelma sur du blé tendre, pour laquelle nous avons enregistré une IC_{50} de 61.57 mg/L (Tab. 36) ; ce qui indique que les facteurs de résistance au fongicide sont très élevés pour cette souche.

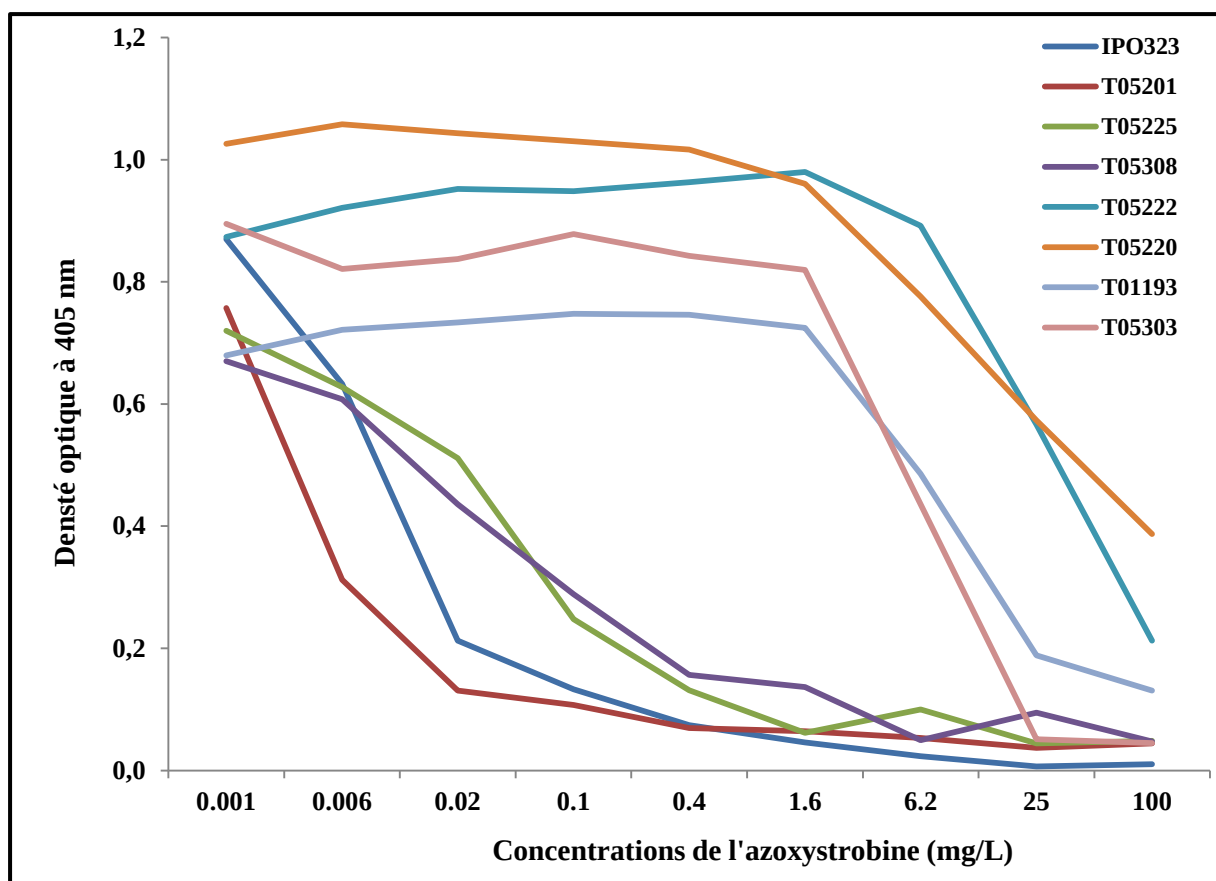


Figure 58 : Courbes de croissance des six isolats algériens de *M. graminicola*, ainsi que les deux isolats européens de référence (IPO323: sensible ; T01193 résistant), en fonction des différentes concentrations de l'azoxystrobine : T05201, T05225, T05308 sont des isolats sensibles possédants l'allèle G143 et T05220, T05222, T05303 sont des isolats résistants possédant l'allèle A143

Tableau 36 : Concentrations d'inhibition (IC_{50}) obtenues par le test de confirmation phénotypique de la résistance à l'azoxystrobine des six isolats algériens de *M. graminicola* et des deux isolats européens de référence

Isolat	Région	Présence de l'allèle G143 ou A143	IC_{50} (mg/L)	Sensible (S) ou Résistant (R)
IPO323	Hollande	G143	0.008	S
T05201	Guelma	G143	0.001	S
T05225	Guelma	G143	0.04	S
T05308	Annaba	G143	0.04	S
T01193	France	A143	11.03	R
T05220	Guelma	A143	12.00	R
T05222	Guelma	A143	61.57	R
T05303	Annaba	A143	7.65	R

Les concentrations d'inhibition des isolats résistants sont proches des concentrations enregistrées par Aguilar-Barragan *et al.* (2014) chez des isolats de *Mycosphaerella fijiensis* du Mexique, à l'azoxystrobine, qui étaient de l'ordre de 13.25 à 51.58 mg/L.

L'analyse de la variance effectuée sur la base des résultats obtenus pour la croissance des différents isolats testés, en présence des différentes concentrations de l'azoxystrobine, a affiché des différences très hautement significatives entre les 08 souches fongiques testées (Tab. 37). Ceci reflète la grande variabilité dans la tolérance des souches fongiques aux différentes concentrations utilisées de l'azoxystrobine.

Les résultats statistiques du test Tukey, réalisé pour la recherche de groupes de souches homogènes, ont mis en évidence que les 08 souches testées se répartissent en 06 groupes distincts (Tab. 38).

Tableau 37 : Résultats de l'analyse de la variance pour la croissance des différents isolats testés (Souches) de *M. graminicola*, en présence des différentes concentrations de l'azoxystrobine

Sources de variation	ddl	SCE	CM	Fobs.	P
Souches	7	18.56189	2.65170	1110.26	0.000 ***
Concentrations	9	16.46398	1.82933	765.94	0.000 ***
Souches * Concentrations	63	6.99660	0.11106	46.50	0.000 ***
Variation résiduelle	240	0.57321	0.00239		
Total	319	42.59567			

ddl : degrés de liberté

SCE : Somme des carrés des écarts

CM : Carré moyen

Fobs. : Valeur observée de F de Fisher

P : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

*** : différences très hautement significatives ($P \leq \alpha = 0.001$).

Tableau 38 : Résultats du test de Tukey, affichant les groupes de moyennes des souches homogènes sur la base de la croissance en présence de l'azoxystrobine

Souches	Moyennes	Groupements*
T05220 (R)	1.0	A
T05222 (R)	0.9	B
T05303 (R)	0.8	C
T01193 (R)	0.7	D
T05225 (S)	0.4	E
T05308 (S)	0.4	E
IPO323 (S)	0.4	E
T05201 (S)	0.3	F

* Les moyennes ne partageant aucune lettre sont sensiblement différentes.

L'examen des résultats du tableau 38 montre qu'il existe six groupes de souches, les trois souches algériennes résistantes à l'azoxystrobine : T05220, T05222 et T05303, la souche française, résistante T01193 et la souche algérienne sensible à l'azoxystrobine T05201 forment chacune un groupe à part, tandis que les souches algériennes sensibles : T05225 et T05308, et la souche Hollandaise sensible, IPO323 forment un même groupe et sont donc sensiblement homogènes, ceci indique que, pour les souches sensibles aux strobilurines, les souches algériennes T05225 et T05308 ont des degrés de tolérance à l'azoxystrobine, similaires à ceux de la souche Hollandaise de référence IPO323, alors que la souche T05201 (souche algérienne sensible) est différente de toutes les autres souches testées. Toutefois, pour les souches résistantes : les 3 souches algériennes (T05220, T05222 et T05303), et la souche française de référence (T01193), aucune similarité n'existe entre elles, dans la tolérance au fongicide utilisé.

Le test de Dunnett (Tab. 39) a montré des différences significatives entre le témoin et les différentes concentrations, à l'exception de la première concentration (0.008 mg/L), enregistrée pour la souche Hollandaise sensible, qui est très faible, et pour laquelle des différences non significatives ont été notées.

Tableau 39 : Résultats du test de Dunnett montrant la différence de croissance des différentes souches dans les différentes concentrations en comparaison avec le témoin sans fongicide

Concentrations	N	Moyenne	Groupe (signification)
Témoin (1)	32	0.9	--
2	32	0.9	NS
3	32	0.8	*
4	32	0.7	*
5	32	0.7	*
6	32	0.6	*
7	32	0.6	*
8	32	0.5	*
9	32	0.3	*
10	32	0.2	*

N.S. : Non significatif à un niveau de confiance de 95.0 %

* : Significatif pour un niveau de confiance de 95.0 %

5.5.1.2. Fréquence et distribution de la résistance

La fréquence des isolats résistants au sein de la population testée a été globalement très faible ($3/120 = 2,5 \%$).

La fréquence des isolats résistants dans les différentes régions était de 7 % à Guelma (2/30) et à Annaba (1/15), et 0 % dans les autres régions (Constantine, Skikda et Oran), pour lesquelles, aucun isolat résistant n'a été détecté (Fig. 59).

5.5.2. Discussion

Le « monitoring », ou la surveillance de la résistance aux fongicides uni-sites dans les populations de champignons phytopathogènes est l'une des stratégies d'anti-résistance les plus efficaces pour assurer un contrôle adéquat des maladies.

Dans cette étude, nous avons analysé 120 isolats de l'agent pathogène du blé *M. graminicola* afin d'examiner l'état de la résistance du champignon aux fongicides de type QoIs en Algérie. Les résultats obtenus ont permis de détecter pour la première fois la présence de souches résistantes aux QoIs dans la population de *M. graminicola* de ce pays, où cette classe de fongicides est largement utilisée pour le contrôle des maladies fongiques du blé.

Deux hypothèses peuvent expliquer l'émergence de ces souches résistantes :

- La résistance pourrait être due à une émergence locale dans les champs de blé face à la pression de sélection imposée par les fongicides QoIs sur le champignon notamment à Guelma et à Annaba.

- A l'opposé, la résistance peut être introduite dans ces régions par la dissémination des ascospores emportées par le vent, et peut être originaire de l'Europe. du fait que les ascospores de *M. graminicola* peuvent parcourir de longues distances (McDonald *et al.*, 1999), du fait que, la résistance à ce type de fongicides est largement implantée dans les pays européens, notamment en France (Siah, 2009).

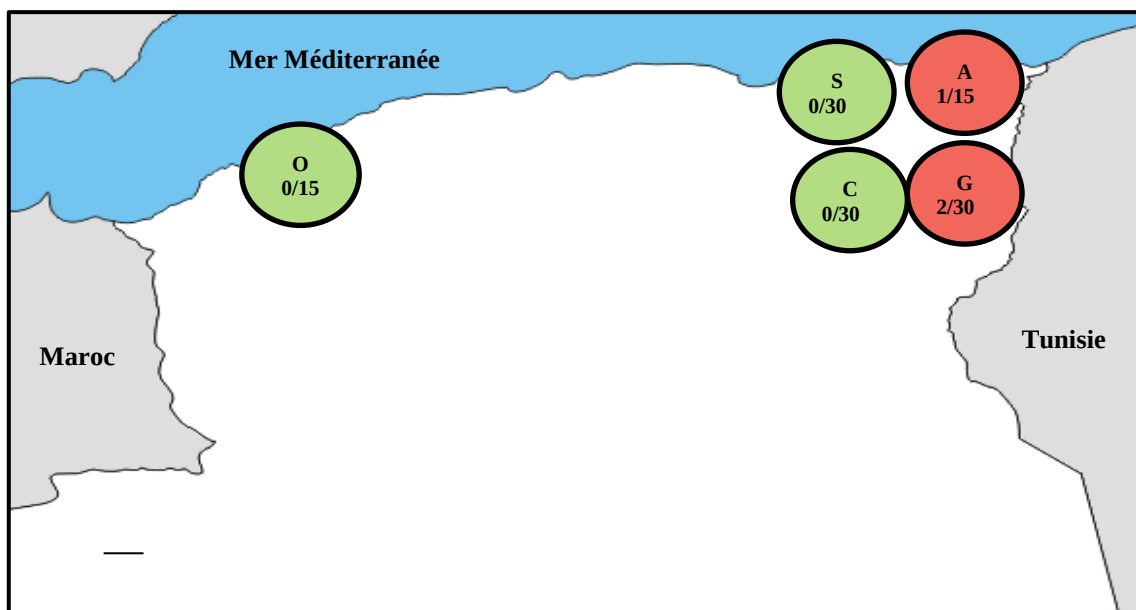


Figure 59 : Carte du nord de l'Algérie montrant les fréquences de l'allèle A143 dans les populations de *M. graminicola* dans les différentes régions échantillonnées

● A : Annaba,
 ● G : Guelma,
 ● C : Constantine,
 ● S : Skikda,
 ● O : Oran

(Echelle : — 100 Km)

Un screening, portant sur le maximum des zones de production du blé en Algérie, avec un échantillonnage suffisamment important au niveau des différentes zones, pourrait apporter plus d'informations sur l'origine de la résistance aux strobilurines des isolats algériens de *M. graminicola*.

Il est fort probable que l'absence de la résistance enregistrée à Oran, est dû au nombre d'échantillons faible (15 isolats seulement), et la détection de la résistance au niveau d'Annaba, sur un même nombre d'échantillons (15 isolats), suggère qu'au niveau de cette zone, où la distribution des types sexuels était à fréquence égale (07 isolats de type *MAT1-1* et 08 isolats de type *MAT1-2*), le potentiel de reproduction sexuée est élevé, ce qui a engendré la production de recombinants résistants, induisant ainsi une fréquence élevée de la résistance au niveau de cette zone. Cordo *et al.*, (2007) signalent que la reproduction sexuée est la source principale de la production de nouveaux allèles par le biais des réarrangements de gènes dans de nouvelles recombinaisons, lors de la division méiotique.

Kema *et al.* (2010) révèlent que, chez *M. graminicola*, les deux types sexuels (*MAT1-1* et *MAT1-2*) sont capables de produire des organes mâles et femelles, et la reproduction sexuée s'opère même en conditions de stress, notamment en présence d'hôte résistant ou de fongicides (strobilurines). Un isolat avirulent, incapable de pénétrer l'hôte et provoquer la maladie, est capable de s'engager dans la reproduction sexuée, et les gènes de tel isolat avirulent sont transmis aux générations suivantes, ce phénomène est tout à fait différent de ce qui s'opère dans beaucoup d'autres pathosystèmes, où les gènes d'avirulence sont perdus chez les progénitures. En cas de stress, le type sexué le plus sensible (avirulent) se comporte comme le donneur paternel, alors que le type sexué résistant se comporte comme un donneur maternel, capable de générer des ascospores ; le stress n'affecte pas la production de spermaties de *M. graminicola*, conduisant à la production d'ascospores viables.

Legrève (2013) signale que, la coexistence des deux formes (sexuée et asexuée) de ce champignon confère à cette espèce un potentiel évolutif important : lorsqu'un génotype est bien adapté à un environnement particulier (par exemple un génotype résistant à un fongicide sur une plante traitée avec ce fongicide), la reproduction asexuée va lui permettre de se multiplier et d'augmenter la part de ce génotype (dont le gène de résistance) dans la population, et la reproduction sexuée va ensuite produire de nouveaux génotypes (combinaison de gènes) incluant le gène de résistance en question.

Kema *et al.* (2010) ajoutent que, le fait que les isolats sensibles aux strobilurines sont préférentiellement des donneurs paternels, et les isolats résistants soient des donneurs maternels, au cours de la reproduction sexuée, entraîne une émergence importante de la résistance aux strobilurines dans les populations ségréantes, du fait que le site de fixation des strobilurines se trouve sur le génome mitochondrial. Une dose minimale de strobilurines (6 %) est capable de rendre toute les populations résistantes à ces composés. Ce ci explique bien la dissémination rapide de la résistance aux strobilurines de *M. graminicola*, dans les pays européens, indépendamment de l'espace et du temps, sans qu'il y ait une perte de diversité génétique nucléaire. La plasticité du génome de *M. graminicola* peut contribuer à la capacité du pathogène à surmonter les stress imposés par l'environnement.

Stammler *et al.* (2014), signalent que la structure du gène cible des strobilurines (*cyt b*) est responsable de l'apparition de la mutation G143A : si une séquence intron suit directement le

codon 143, la mutation G143A ne peut pas se produire, car le codon glycine 143 fait partie dans ce cas, de la séquence signal qui est essentielle pour la reconnaissance de l'intron et joue un rôle essentiel dans la maturation des ARNm, par contre les mutations F129L et G137R, conférant une faible résistance aux QoIs peuvent avoir lieu.

Semar *et al.* (2007), révèlent que la mutation F129L se produit fréquemment dans les populations de *Pyrenophora teres* s'attaquant à l'orge, mais le traitement à la pyraclostrobine (QoIs) reste efficace.

Stammler *et al.* (2014), ajoutent que, chez d'autres espèces comme *Puccinia triticina* et *Phakopsora pachyrhizi*, agents de rouilles, aucune mutation de type G143A n'a été signalée jusqu'à présent. La structure des gènes autour du codon 143 semble être hautement conservée au sein de l'espèce, même pour les isolats présentant une diversité, géographique, de plante-hôte ou historique (année d'isolement), et des milliers de gènes *cyt b* d'isolats de *Perenophora teres* analysés dans la dernière décennie étaient tous identiques, et aucun isolat comportant la mutation G143A n'est apparu dans les populations de *Puccinia triticina* ou *Phakopsora pachyrhizi*, après de nombreuses années d'utilisation des fongicides QoIs, ce qui confirme la haute conservation intraspécifique de la séquence du gène *cyt b* chez ces espèces. Par conséquent, il est probable que tous les individus de la population d'une espèce, contiennent l'intron à la même position, ceci a été détecté chez certains isolats.

Beaucoup de champignons phytopathogènes, restent sensibles aux strobilurines et pour lesquels le gène *cyt b* possède un intron juste après le codon 143, et la mutation G143A, responsable de la résistance aux fongicides QoIs ne peut pas se produire, citons comme exemples : *Alternaria solani*, qui s'attaque à la pomme de terre et à la tomate, *Hemileia vastatrix*, qui s'attaque au caféier, *Puccinia spp.*, s'attaquant aux céréales et autres cultures, *Perenophora teres*, qui s'attaque à l'orge,.... Cependant *Botrytis cinerea* semble faire exception, deux types de gène du *cyt b* (avec ou sans intron) existent chez ce pathogène, et le génotype sans intron a développé la mutation G143A dans différentes régions et sur différentes cultures (Stammler *et al.*, 2014).

Les hypothèses indiquées ci-dessus concernant l'origine de la résistance en Europe, peuvent être vérifiées, pour la population algérienne de *M. graminicola*, par des analyses génétiques supplémentaires, en analysant par exemple des collections Européennes et des collections Algériennes d'isolats de ce pathogène, par des marqueurs microsatellites très diversifiés, afin d'évaluer la probabilité du flux de gènes chez les populations récentes, et de calculer les probabilités permettant de vérifier si les isolats résistants algériens se sont produits localement.

Les empreintes génétiques révélées par des marqueurs microsatellites spécifiques à ce pathogène (Tab. 35), ont montré que les trois isolats algériens résistants sont des haplotypes. Cette constatation indique que, dans le cas d'émergence locale, la résistance est née indépendamment dans chacun des trois haplotypes ou, dans le cas contraire, elle s'est produite au départ dans un seul haplotype et elle a été ensuite héritée par les autres haplotypes par recombinaison sexuée, avec une propagation possible de la résistance d'un endroit à l'autre par le biais des ascospores transportées par le vent.

En Europe, deux hypothèses ont été élaborées pour expliquer la propagation rapide de la résistance aux fongicides QoIs de ce pathogène dans tout le continent :

- La mutation G143A ne s'est produite localement qu'une seule fois ou très rarement, et a été distribuée par la suite dans d'autres régions par la migration des isolats résistants ;
- La mutation G143A s'est produite indépendamment dans plusieurs haplotypes possédants des ADN mitochondriaux différents (ADNmt) et/ou dans différentes régions géographiques.

Une étude réalisée par Torriani *et al.* (2009a) sur les séquences des ADN mitochondriaux (ADNmt) de *M. graminicola*, confirme la deuxième hypothèse, et les auteurs ont conclu que la résistance en Europe a émergé indépendamment au moins quatre fois, puis la fréquence des haplotypes résistants a augmenté rapidement en raison de la sélection imposée par les fongicides, et la propagation intense vers l'Est du continent par le biais des ascospores dispersées par le vent.

Abadie (2007), rapporte que la résistance des champignons phytopathogènes aux fongicides de type QoIs est due à des mutations ponctuelles au niveau du gène-cible du cytochrome b chez de nombreuses espèces (*Ustilago maydis*, *Blumeria graminis*, *Plasmopara viticola* . . .). La localisation mitochondriale de ce gène a pour conséquence de conduire à une hérédité non mendélienne de la résistance ; cette hérédité cytoplasmique permet, suite aux mécanismes d'anastomoses par exemple, une diffusion plus rapide de la résistance dans les populations que dans le cas d'une hérédité mendélienne classique.

Un résultat intéressant a été constaté dans notre étude, c'est que les deux isolats résistants T05220 et T05222 ont été isolés sur le blé tendre, tandis que l'autre isolat résistant T05303 était isolé sur du blé dur. Ceci indique que la résistance de *M. graminicola* peut se produire sur les génotypes de blé tendre et ceux du blé dur.

Les trois isolats résistants ont été détectés dans les régions de Guelma et d'Annaba, situées toutes les deux sur la frontière avec la Tunisie, où des isolats résistants aux QoIs ont été récemment signalés (Taher *et al.* 2014) avec une fréquence très faible (2 %). Les auteurs ont trouvé trois isolats résistants parmi 159 isolats de *M. graminicola* échantillonnés en 2012. Toutefois, l'absence de telle résistance a été signalée par des travaux précédents portant sur la population Tunisienne de ce pathogène (Boukef *et al.*, 2012 ; Naouari *et al.*, 2013 ; Somai-Jemmali *et al.*, 2014).

De même, Siah *et al.*, (2014) ont détecté récemment neuf isolats résistants au Maroc dans une population de 96 isolats (9 %) échantillonnés en 2010, alors qu'aucun isolat résistant n'a été observé dans une collection de 134 isolats échantillonnées en 2008 de ce même pays ; ce qui suggère l'émergence récente de la résistance au Maroc (Siah *et al.*, 2014).

Les fréquences de résistance aux fongicides de type QoIs en Afrique du Nord, dont l'Algérie (2,5 %), diffèrent fortement de celles de l'Europe occidentale, où les populations de *M. graminicola* sont actuellement entièrement résistantes aux fongicides QoIs (Siah, *données non publiées*).

Des études récentes ont révélé que la résistance aux QoIs de *M. graminicola* est également répandue à l'Est de l'Europe, en particulier dans la République tchèque, où une augmentation rapide de la résistance a été observée entre 2005 et 2011 coïncidant avec l'utilisation excessive des fongicides QoIs (Drabešová *et al.*, 2013).

La différence entre l'Europe et l'Afrique du Nord concernant le niveau de résistance, peut être attribuée à l'utilisation faible des fongicides dans les pays d'Afrique du Nord par rapport à l'Europe, où les applications de fongicides sont plus fréquentes. Cette constatation indique que la mer Méditerranée, séparant l'Afrique du Nord de l'Europe constitue, à un certain degré, une barrière géographique qui empêche et/ou limite la migration de la résistance à travers les ascospores originaires de l'Europe, transportées par le vent vers l'Afrique du Nord.

D'autre part, aucune résistance aux fongicides QoIs n'a été signalée en Asie, notamment en l'Iran, où Saidi *et al.* (2012) n'ont trouvé que l'allèle G143 dans 89 isolats de *M. graminicola* échantillonnés de cinq régions du pays.

En Amérique, plus récemment, Estep *et al.* (2013) ont analysé deux collections fongiques provenant de deux régions de l'Ouest de l'Oregon aux Etats-Unis et ont signalé pour la première fois, la présence d'isolats résistants dans les deux collections, et de ce fait ils ont annoncé pour la première fois la présence de génotypes résistants de *M. graminicola* aux QoIs dans ce continent. Estep *et al.* (2014), ont signalé que la résistance aux QoIs, qui était absente en 1992, s'est installée avec une fréquence élevée à partir de 2012, à cause de l'utilisation intensive des fongicides, et ils ont conclu que l'émergence de cette résistance s'est produite indépendamment dans différentes régions de l'Oregon.

Mavroeidi et Shaw (2006) et FAO (2013) révèlent que, l'apparition de la résistance dans une population de pathogène à la suite d'applications de pesticides dépend de plusieurs facteurs (Tab. 40), qui peuvent être liés, au pathogène (biologie, génétique et épidémiologie), à l'hôte (architecture de l'hôte, résistance au pathogène), ou encore au traitement fongicide (Type de produit utilisé, dose d'application, fréquence d'application).

Tableau 40 : Facteurs biologiques, génétiques et opérationnels dans le développement de la résistance (FAO, 2013).

Facteur	Potentiel pour le développement d'une résistance	
	Faible	Élevé
Facteurs biologiques		
Taille de la population	Petite	Grande
Potentiel reproductif	Faible	Élevé
Renouvellement générationnel	une génération ou moins par an	Plusieurs générations par an
Type de reproduction	Sexuée	Asexuée
Dispersion	Faible	Importante
Banque de semences	Grande	Petite ou absente
Métabolisme du pesticide	Difficile	Facile
Nombre de sites cibles du pesticide	Sites multiples	Unique, spécifique
Gamme d'hôtes du ravageur	Étroite	Large
Facteurs génétiques		
Apparition de gènes de résistance	Absents	Présents
Nombre de mécanismes de résistance	Un seul	Plusieurs

Fréquence des gènes	Basse	Élevée
Dominance des gènes de résistance	Récessive	Dominante
Valeur adaptative des individus “R”	Médiocre	Bonne
Protection induite par le gène “R”	Médiocre	Bonne
Résistance croisée	Négative ou absente	Positive
Sélection antérieure	Aucune	Significative
Gènes modificateurs	Absents	Présents
Facteurs opérationnels		
Spectre d'activité du pesticide	Étroit	Large
Taux d'application du pesticide	Selon l'étiquette, hétérozygotes tués (Si le gène R n'est pas complètement dominant)	Moins que l'étiquette: hétérozygotes survivent Plus que l'étiquette: seuls quelques individus résistants homozygotes survivent et se reproduisent (surtout si l'immigration est minime)
Couverture de l'application	Bonne	Médiocre
Systémie		Effet du facteur variable; peut accroître ou diminuer le risque de résistance
Fréquence des traitements	Basse	Élevée
Présence de ravageurs secondaires	Absents (seul le ravageur ciblé est traité)	Présents (Les ravageurs (potentiels) non ciblés sont aussi traités)
Stades de vie traités par les pesticides relatifs	Unique	Multiples

Proportion de la population traitée	Effet du facteur variable; peut accroître ou diminuer le risque de résistance	
Persistance	de courte durée	de longue durée
Nombre de cultures traitées	Une	Plusieurs
Séquence de la culture	Cultures séparées par le temps ou la géographie	Cultures intercalaires; pas d'intervalles entre les semis; en continu
Tactiques de lutte contre les ravageurs	Tactiques de lutte multiples (Chimique, biologique, culturale)	Utilisation continue d'une seule méthode ou d'un seul composé
Effets sur les éléments non ciblés	Activité sélective, pas d'effet sur les ennemis naturels	Non sélective, les ennemis naturels sont tués aussi

Selon FAO (2013) et Dooley *et al.* (2015), les conditions d'utilisation des fongicides sont parfois considérées comme modificateurs du risque, mais en fait, elles représentent un élément déterminant dans le développement de la résistance et doivent toujours être prises en considération et faire partie intégrante de l'évaluation. Les conditions d'utilisation les plus importantes qui influent sur le développement de la résistance sont les suivantes (FAO, 2013) :

- **le nombre des applications** : plus un composé particulier est appliqué à une population pathogène, plus la sélection de la résistance est rapide;
- **l'utilisation exclusive d'un seul mode d'action** : plus on a recours exclusivement à un seul mode d'action, plus est forte la pression sélective de la résistance;
- **le dosage du fongicide utilisé** : l'application d'une dose inférieure à celle recommandée par l'étiquette du produit peut accroître la pression sélective de la résistance;
- **l'ampleur des populations pathogènes exposées au fongicide** : si l'incidence de la maladie, dans une région particulière est relativement faible ou irrégulière d'une saison à l'autre, la sélection de la résistance se réduit;
- **la taille des parcelles traitées et la proportion de la zone ou de la région traitée** : plus les parcelles traitées sont grandes et plus est grande la proportion de l'ensemble de la zone où le fongicide est utilisé, plus la sélection s'étend et plus se créent des variantes résistantes;
- **le recours aux fongicides seulement et la non-utilisation de la gestion intégrée des maladies** : aboutiront à une pression sélective accrue aux fongicides; et
- **l'isolement des populations pathogènes (par exemple, dans les serres, les tunnels en polyéthylène, ou les régions agricoles isolées), qui empêche la réintroduction de variétés sensibles** : peut favoriser le développement de populations résistantes.

Abadie (2007) rapporte que, la dérive génétique, l'apparition de nouvelles mutations, et la variation des pressions de sélection biotiques ou abiotiques conduisent à l'obtention d'individus de *fitness* différents au sein d'une même espèce de champignons. Ceci conduit donc *in natura* à des différences de compétitivité entre les souches. Les individus résistants possèdent un meilleur *fitness* que les sensibles en présence du fongicide.

Le même auteur ajoute que, chez *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise, deux groupes phylogénétiques (*vacuma* et *transposa*) ont été mis en évidence : ces deux groupes possèdent des *fitness* différents puisque *vacuma* est décrit comme plus saprophyte que *transposa*. D'autres auteurs ont pu observer chez *Phytophthora infestans* que ces différences de *fitness* pouvaient conduire à terme à l'apparition de nouvelles espèces. En effet, *P. infestans* peut s'attaquer à la tomate (*Lycopersicon esculentum*) ou à la pomme de terre (*Solanum tuberosum*). L'analyse génotypique d'isolats obtenus à partir de tomate ou de pomme de terre a mis en évidence des différences génétiques caractéristiques entre les isolats. Cette différenciation s'explique par un *fitness* et une pathogénicité spécifique : des souches plus virulentes ont attaqué préférentiellement la tomate, alors que des souches de moins bon *fitness* se sont limitées à la pomme de terre.

Plusieurs auteurs suggèrent l'utilisation de mélange de fongicides à différents modes d'actions pour gérer la résistance chez les agents pathogènes.

Dans une étude réalisée sur l'effet du traitement fongicide sur la mutation F129L, conférant la résistance aux fongicides QoIs chez *Pyrenophora teres* Drechsler, qui s'attaque à l'orge, Semar *et al.* (2007) ont comparé trois types de fongicides : Comet (Pyraclostrobine), Amistar (Azoxystrobine) et Opera (Pyraclostrobine + Epoxiconazole), et ils ont démontré que le produit Opera comportant le mélange de deux matières actives à différents modes d'actions a donné un résultat satisfaisant par rapport aux deux autres fongicides QoIs, appliqués seuls.

Mavroeidi et Shaw (2006), en utilisant un mélange de Fluquinconazole (triazole) avec l'Azoxystrobine (strobilurine), pour le contrôle de *M. graminicola*, ils ont trouvé que la dose est un paramètre clef dans la gestion de la résistance chez cet agent pathogène, et le mélange entre les produits, peut augmenter ou diminuer la fréquence de la résistance dans la population du pathogène, et ce en fonction de la nature du mélange utilisé et les modalités de son application. Ces auteurs ont déduit également de cette étude que, l'augmentation de la fréquence d'utilisation des fongicides, augmente la sélection pour la résistance.

Marroni *et al.* (2006) signalent que la période d'application du traitement fongicide (Stade de croissance de la plante) est également d'une grande importance pour le contrôle de la septoriose du blé.

Mikaberidze *et al.* (2013), ont étudié l'efficacité des mélanges de fongicides pour le contrôle des maladies chez les plantes, et la diminution des risques de développement des résistances chez les pathogènes ; et ils ont démontré que le coût du *fitness* pour la résistance est un paramètre crucial qui détermine la compétition entre les souches sensibles et les souches résistantes du pathogène, et qui détermine donc l'efficacité du mélange fongicide utilisé. Si le coût du *fitness* de la résistance est absent, l'utilisation de fongicides de risque élevé pour la résistance dans le mélange, conduit à la sélection d'isolats résistants, et le mélange utilisé devient non efficace, par contre si le coût du *fitness* pour la résistance existe, un rapport optimal se produit entre les fongicides utilisés dans le mélange, et la sélection pour la résistance tend à disparaître, et une optimisation du contrôle de la maladie peut avoir lieu.

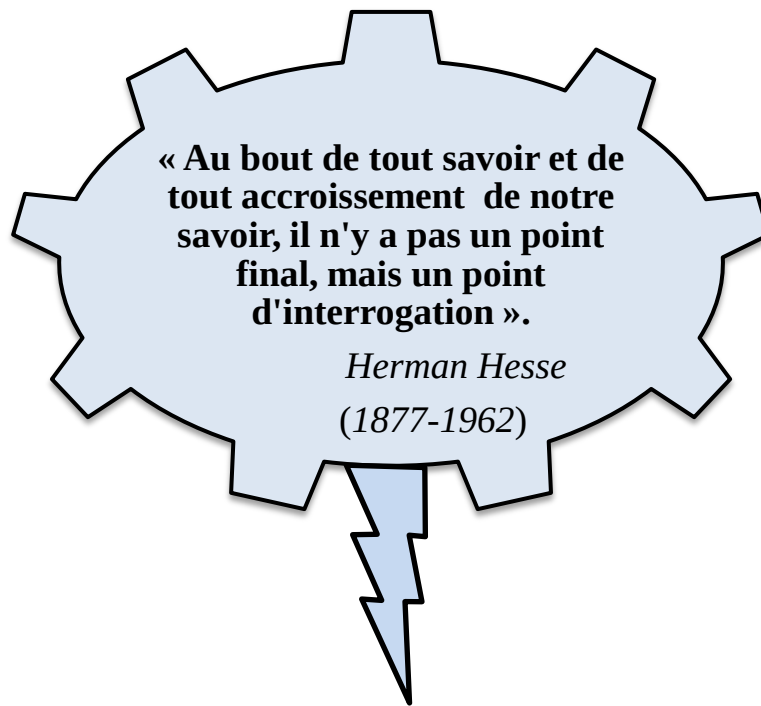
Plusieurs modèles mathématiques ont été développés pour contrôler les maladies fongiques, et pour gérer l'émergence et la dissémination des résistances aux fongicides chez les champignons phytopathogènes, notamment chez *M. graminicola* (Hobbelen *et al.*, 2011 ; 2014 ; Mikaberidze *et al.*, 2013).

Dans le cadre de programmes internationaux, des travaux récents, sur le pathosystème Blé-Septoriose, portent beaucoup plus sur la recherche et le développement des facteurs de résistance chez l'hôte (O'Driscoll *et al.*, 2014).

Sur la base des résultats obtenus dans cette partie de la thèse, nous pouvons conclure que cette étude a mis en évidence pour la première fois la présence d'isolats de *M. graminicola*, résistants aux fongicides QoIs, en Algérie. Des investigations complémentaires peuvent déterminer si les isolats résistants sont produits localement ou introduits de l'Europe (où cette résistance est fortement installée), *via* la migration des ascospores avec le vent.

Bien que la résistance est présente à une faible fréquence et limitée localement, une gestion appropriée des applications des strobilurines en Algérie, par exemple l'utilisation de ces fongicides dans des mélanges ou en alternance avec d'autres classes de fongicides, est recommandée pour prévenir la propagation de la résistance à travers d'autres régions du pays ou dans d'autres pays de l'Afrique du Nord, surtout que, les études réalisés par Taher *et al.* (2014) sur la Tunisie et ceux réalisés par Siah *et al.* (2014) sur le Maroc, ont révélé une émergence de cette résistance, mais à fréquence très faible dans ces deux pays de l'Afrique du Nord.

Conclusion et perspectives :



?

Conclusion et perspectives

En Algérie, le blé constitue la principale ressource alimentaire de la population. Cependant, cette culture est constamment menacée par beaucoup de facteurs biotiques et abiotiques, et malgré l'aire importante réservée annuellement à la culture du blé, la production reste faible, très irrégulière et insuffisante pour couvrir les besoins nationaux.

Les maladies cryptogamiques, notamment les maladies foliaires (Rouilles, Septorioses, Oïdium,...) sont parmi les facteurs incriminés dans la limitation des rendements. Les septorioses, et plus particulièrement la tache septorienne des feuilles (STB), causée par le champignon ascomycète *Mycosphaerella graminicola* (anamorphe *Zymoseptoria tritici*) constitue ces dernières années la principale contrainte de la production du blé, du fait que les grandes zones de production de cette culture sont localisées principalement dans la région Nord du pays, caractérisée par un climat méditerranéen favorable au développement de ce pathogène.

D'autre part, la lutte contre cette maladie repose principalement sur l'utilisation de variétés tolérantes ou l'application de fongicides ; cependant, des résultats de travaux menés par différents organismes notamment, l'Institut Technique des Grandes Cultures (I.T.G.C.) et l'Institut National de Recherches Agronomiques (I.N.R.A.), portant sur le comportement des variétés de blé semées en Algérie, face à *Mycosphaerella graminicola*, révèlent que la plupart des variétés cultivées, plus particulièrement, les variétés de blé tendre, qui semble être plus affecté par cette maladie par rapport au blé dur, sont sensibles à cette maladie ; et peu de produits fongicides sont capables d'apporter la protection adéquate et la préservation des rendements.

De ce fait une lutte raisonnée contre la tache septorienne des feuilles, repose principalement sur une connaissance approfondie de tous les aspects impliqués dans le développement de cette maladie, notamment la biologie du pathogène et la structure de sa population, qui reflète ses potentialités génétiques d'adaptation aux stress imposés par l'hôte ou par l'environnement, et lui permettant un développement épidémique.

Les travaux menés dans le cadre de cette thèse entrent dans ce contexte, et ont abordé, en plus de l'étude de la prévalence de la maladie, et les caractéristiques phénologiques du

pathogène, trois aspects de la caractérisation de la population algérienne de *Mycosphaerella graminicola*, champignon responsable de la tache septorienne des feuilles du blé (STB) :

- Le premier volet a été consacré à l'étude de la prépondérance de la reproduction sexuée de *M. graminicola* en Algérie, par le biais de l'analyse de la présence et la distribution des types sexuels *MAT 1-1* et *MAT 1-2* à l'échelle du pays, de la région et de l'espèce de blé infectée.

- Le second volet a porté sur la caractérisation génétique des populations algériennes de *M. graminicola* par la détermination du taux de polymorphisme génétique, ainsi que la structuration de la population.

- Le troisième volet a concerné la détermination de la sensibilité/résistance aux fongicides QoIs d'isolats algériens de *M. graminicola* collectés de cinq régions du pays.

Malgré la prévalence de cette maladie sur les cultures des blés en Algérie, et les pertes considérables occasionnées chaque année par ce pathogène, aucune information n'était disponible sur les caractéristiques génétiques, l'existence de la reproduction sexuée de ce pathogène en Algérie, la structure de la population, et l'adaptation de ce pathogène aux pressions imposés par l'environnement, notamment la résistance variétale, et les molécules fongicides appliquées pour contrôler cette maladie.

Les travaux de cette thèse, qui ont porté sur l'analyse de 120 isolats de *M. graminicola* collectés de cinq régions de culture du blé en Algérie (Guelma, Annaba, Constantine, Skikda et Oran), sur les deux espèces de blé (dur et tendre), ont permis d'apporter de nombreuses informations sur les caractéristiques génétiques de la population algérienne de ce parasite, ainsi que sur ses aptitudes d'adaptation au milieu par l'émergence de mutations et d'allèles permettant la résistance aux contraintes imposées, notamment les fongicides du groupe des Strobilurines (QoIs). Les résultats obtenus pour les différents volets de l'étude peuvent être résumés comme suit :

- L'absence de *P. nodorum*, agent de la septoriose des glumes, dans les populations testées, confirme bien la prévalence de *M. graminicola* dans l'agrosystème algérien par rapport à *P. nodorum*, et ce dans les différentes zones, indépendamment des conditions agroclimatiques.

L'incidence de cette maladie a été considérablement importante durant les années de prospection dans les différentes régions du pays.

- Une grande diversité phénotypique, reflétant une diversité génotypique importante du pathogène, a été notée lors de la caractérisation phénotypique des isolats testés, collectés des différentes régions et sur les deux espèces de blé (dur et tendre), par culture sur le milieu PDA.

- Les deux idiomorphes *MAT1-1* et *MAT1-2* de *M. graminicola* ont été mis en évidence, et en fréquences équilibrées dans toutes les localités de l'Algérie à partir desquelles l'échantillonnage a été effectué, ce qui suggère l'existence de la forme sexuée de ce pathogène, ainsi que la régularité de la reproduction sexuée de *M. graminicola* dans l'agrosystème Algérien.

- La répartition des deux idiomorphes sur les deux espèces de blé (dur et tendre) à partir desquelles, les souches ont été isolées, a été également trouvée en fréquences équilibrés. Nos résultats concordent avec ceux trouvés par plusieurs auteurs. Siah (2009), signale qu'un tel résultat révèle l'absence de l'interaction entre les *Mating-types* et les espèces de blé, et suggère également à l'échelle du champignon que les gènes ou les produits des gènes des *Mating-types* ne sont pas liés aux gènes ou aux produits des gènes d'avirulence chez *M. graminicola*.

- Aucune relation n'a été obtenue entre les idiomorphes et les différents phénotypes des souches observés lors de leur culture sur milieu PDA. Des résultats similaires ont été trouvés par Siah (2009), et ont été interprétés par l'indépendance de ces deux caractères au sein du champignon.

- Les résultats relatifs à la diversité génétique et la structure de la population, déterminées en testant les 120 isolats Algériens de *M. graminicola*, par l'utilisation de huit (08) marqueurs microsatellites, et analysés par la technique moléculaire de polymorphisme de conformation simple brin d'ADN (SSCP) permettent de signaler que, cette étude confirme que les populations de *M. graminicola* en Algérie peuvent recombinaison fréquemment pour créer de nouveaux génotypes et peuvent augmenter leur diversité génétique par le biais de la migration, avec un potentiel élevé pour les flux de gènes sur de courtes distances. Une diversité génotypique et génique a été notée au niveau des différentes régions, associée à une différenciation entre population faible.

- Le criblage de la substitution G143A au niveau du cytochrome *b*, permettant l'évaluation de la résistance de *M. graminicola* aux strobilurines, a été déterminé par une électrophorèse sur gel d'agarose, après amplification des fragments correspondant par la PCR. Les souches sensibles, possédant l'allèle G143, génèrent des amplicons de 639 pb, alors que les souches résistantes, possédant l'allèle A143, génèrent des amplicons de 302 pb. Les résultats obtenus ont permis d'identifier pour la première fois la présence de mutation G143A dans les populations Algériennes de *M. graminicola*. Trois isolats se sont révélés résistants à l'azoxystrobine (QoI), deux isolats collectés sur du blé tendre dans la région de Guelma (T05220 et T05222), et un isolat collecté sur du blé dur dans la région de Annaba. La confirmation de la résistance des isolats à l'azoxystrobine, a été réalisée par la méthode de caractérisation phénologique, en utilisant des plaques de microtitration. Les résultats obtenus ont révélé que les concentrations d'inhibitions de la croissance (IC_{50}) sont très élevées pour les trois souches testées, révélées résistantes.

- La caractérisation génétique des isolats résistants avec des marqueurs microsatellites a révélé qu'ils sont tous génétiquement différents (haplotypes). Aucun isolat ne partage la même combinaison d'allèles avec les autres. Les *Mating-types* des deux isolats T05220 et T05303 sont de type *MAT1-2*, alors que T05222 est de type *MAT1-1*.

- Bien que la résistance aux strobilurines soit présente à une faible fréquence (2,5 %) et limitée localement, une gestion appropriée des applications des strobilurines en Algérie, par exemple l'utilisation dans des mélanges ou en alternance avec d'autres classes de fongicides, est recommandée pour prévenir la propagation de la résistance à travers d'autres régions du pays.

En perspectives à cette étude nous suggérons d'approfondir la recherche sur la biologie et l'évolution de la population algérienne de ce pathogène. Des travaux complémentaires sont utiles et indispensables pour réussir les programmes de lutte :

* La recherche du stade sexué, et le suivi de la prépondérance et la régularité de la reproduction sexuée de ce pathogène, dans l'ensemble des régions de culture du blé en Algérie, notamment dans les régions connues par la prévalence de cette maladie, et ce durant toute les périodes de l'année.

* La grande diversité génotypique des populations de *M. graminicola* enregistrée dans les cinq zones de production de blé échantillonnées de l'Algérie suggère que les gènes de résistance majeurs existant chez certaines variétés de blé, peuvent écrouler rapidement et doivent être employés avec prudence ; ce qui nous incite à connaître et à identifier les sources de résistance à *M. graminicola* chez les variétés de blé cultivées en Algérie.

* Les potentialités génétiques d'adaptation des isolats algériens de ce pathogène aux fongicides, par le biais des mutations, identifiées dans cette étude, laisse suggérer qu'un suivi rigoureux de la dissémination de cette résistance doit être effectué ; et des études similaires doivent être envisagées pour vérifier l'état de la sensibilité et la résistance des isolats algériens aux strobilurines ainsi qu'aux autres groupes de fongicides utilisés pour le contrôle de cette maladie, et ce à travers tout le pays.

Références bibliographiques:

Références bibliographiques

* Livres, Thèses et Articles

-A-

- **Abadie P. (2007).** Adaptation des champignons phytopathogènes aux contraintes biotiques et abiotiques: Etude du fitness. Rapport bibliographique de Master 2 en génétique et développement des plantes. INRA Bordeaux, UMR. Santé du végétal: 11p.
- **Abd Essalam K.; Bahkali A.H.; Moslem M.; De Wit P.J.G.M. & Verreet J.A. (2011).** Detection of *Mycosphaerella graminicola* in wheat leaves by a microsatellite dinucleotide specific-primer. *Int. J. Mol. Sci.* **12**: 682-693.
- **Abrinbana M.; Mozafari J.; Shams-bakhsh M. & Mehrabi R. (2010).** Genetic structure of *Mycosphaerella graminicola* populations in Iran. *Plant Pathol.* **59**:829–838.
- **Abuhaie C.M. (2014).** Conception, synthèse et évaluation de l'efficacité de nouveaux stimulateurs de défense des plantes (SDPs). *3rd French-Romanian Colloquium on Medicinal Chemistry, Iasi, Romania, October, 30 – 31*: 203.
- **Adachi K.; Nelson G.H.; Peoples K.A.; Frank S.A.; Montenegro-Chamorro M.V. & al. (2002).** Efficient gene identification and targeted gene disruption in the wheat blotch fungus *Mycosphaerella graminicola* using TAGKO. *Curr. Genet.* **42**: 123–127.
- **Adachi K.; Nelson G.H.; Peoples K.A.; DeZwaan T.M.; Skálchunes A.R. & al. (2003).** Sequence analysis and functional characterization of the dialkylglycine decarboxylase gene DGD1 from *Mycosphaerella graminicola*. *Curr. Genet.* **43**: 358–363.
- **Adhikari T.B.; Anderson J.M. & Goodwin S.B. (2003).** Identification and molecular mapping of a gene in wheat conferring resistance to *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* **93**: 1158-1164.
- **Adhikari T.B.; Yang X.; Cavaletto J.R.; Hu X.; Buechley G. & al. (2004).** Molecular mapping of *Stb1* a potentially durable gene for resistance to Septoria tritici leaf blotch in wheat. *Theoretical Applied Genetics.* **109**: 944-953.
- **Adhikari T.B.; Cavaletto J.R.; Dubcovsky J.; Gieco J.; Schlatter .R. & al. (2004a).** Molecular mapping of the *Stb4* for resistance to Septoria tritici blotch in wheat. *Phytopathology.* **94**: 1198-1206.
- **Adhikari T.B.; Wallwork H. & Goodwin S.B. (2004b).** Microsatellite markers linked to the *Stb2* and *Stb3* genes for resistance to Septoria tritici blotch in wheat. *Crop Science* **44**: 1403–1411.
- **Adhikari T.B.; Boovaraghan B.; Breeden J.D.; Cavaletto J.R. & Goodwin S.B. (2005).** Expression of defense-related genes in wheat during compatible and incompatible interactions with *Mycosphaerella graminicola*. *Plant and Animal Genome XIII Conference*, January 15-19. San Diego, CA.: 759.
- **Adhikari T.B.; Ali S.; Burlakoti R.R.; Singh P.K.; Mergoum M. & al. (2008).** Genetic structure of *Phaeosphaeria nodorum* populations in the north-central and midwestern United States. *Phytopathology* **98**:101-107.
- **Adiba S. (2010).** Natural selection and genetic drift effects on neutral polymorphism. Thèse de PhD en Sciences de la vie. Ecole Normale Supérieure de Paris (PhD thesis of the Doctoral School European Interdisciplinary Frontier in Life Sciences : 212p.
- **Adin E. & Torriani S. (2012).** The role of intraspecific parallel genetic adaptation to QoIs in Europe, in Thind T.S. . Fungicide resistance in crop protection: risk and management. Edit. Wallingford, Oxfordshire; Cambridge, MA: CABI: 78-86.

- **Affourtit C.; Heaney S.P. & Moore A.L. (2000).** Mitochondrial electron transfer in the wheat pathogenic fungus *Septoria tritici*: on the role of alternative respiratory enzymes in fungicide Resistance. *Biochimica et Biophysica Acta* **1459**: 291-298.
- **Agrios, G.N. (2005).** *Plant Pathology*, Fifth edition. Elsevier Academic Press: 983p.
- **Aguilar-Barragan A.; García-Torres A.E.; Odriozola-Casas O.; Macedo-Raygoza G.; Ogura T. & al. (2014).** Chemical management in fungicide sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis* collected from banana fields in México. *Brazilian Journal of Microbiology* **45** (1): 359-364.
- **Ahmed H.U. (1994).** Pathogenic Variability and Adaptation of *Septoria tritici* to Different Wheat Cultivars. Thèse de Doctorat en Botanique et phytopathologie. *Oregon State University* : 101p.
- **Ahmed H.U.; Mundt C.C. & Coakley S.M. (1995).** Host-pathogen relationship of geographically diverse isolates of *Septoria tritici* and wheat cultivars. *Plant Pathology* **44**: 838-847.
- **Ahmed H.U.; Mundt C.C.; Hoffer M.E. & Coakley S.M. (1996).** Selective influence of wheat cultivars on pathogenicity of *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*). *Phytopathology* **86**: 454-458.
- **Ait Benkhali J. (2012).** Recherche des gènes impliqués dans le développement sexué du champignon *Podospora anserina*. Thèse de Doctorat en biologie. *Université Paris-Sud* : 209p.
- **Alberts B.; Bray D.; Lewis J.; Raff M.; Roberts K. & al. (1995):** Biologie moléculaire de la cellule. Médecine-Sciences, Flammarion, Paris 3^{ème} édition : 815-840.
- **Ali S.; Singh P. K.; McMullen M. P.; Mergoum M. & Adhikari T. B. (2008).** Resistance to multiple leaf spot diseases in wheat. *Euphytica* **159**:167-179.
- **Allioui N.; Siah A.; Brinis L.; Reignault Ph. & Halama P. (2014).** Mating type distribution provides evidence for sexual reproduction of *Mycosphaerella graminicola* in Algeria. *Can. J. Plant Pathol.* Vol. **36** (4): 475- 481.
- **Altpeter F.; Varshney A.; Abderhalden O.; Douchkov D.; Sautter C. & al. (2005).** Stable expression of a defense-related gene in wheat epidermis under transcriptional control of a novel promoter confers pathogen resistance. *Plant Molecular Biology* **57**: 271–283.
- **Amand O.; Calay F.; Coquillart L.; Legat T.; Bodson B. & al. (2003).** First detection of resistance to QoI fungicides in *Mycosphaerella graminicola* on winter wheat in Belgium. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences* **68**: 519-531.
- **Ammermann E.; Lorenz G.; Schelberger K.; Mueller B.; Kirstgen R. & al. (2000).** in: *BCPC Conference, Pests & Diseases* : 541-548.
- **Andanson A. (2010).** Evolution de l'agressivité des champignons phytopathogènes, couplage des approches théorique et empirique. Thèse de Doctorat en Sciences agronomiques. *Université Nancy I - Henri Poincaré* : 5-17.
- **Ansar M.; Cheema N.M. & Leittch N.H. (2010).** Effect of agronomic practices on the development of *Septoria* leaf blotch and its subsequent effect on growth and yield components of wheat. *Pak. J. Bot.*, **43**(3): 2125-2138.
- **Arabi M.I.E.; Jawhar M. & Mir Ali N. (2007).** The Effects of *Mycosphaerella graminicola* Infection on Wheat Protein Content and Quality. *Cereal Research Communications* **35**(1):81-88.
- **Arie T.; Kaneko I.; Yoshida T.; Noguchi M.; Nomura Y. & al. (2000).** Mating-Type Genes from Asexual Phytopathogenic Ascomycetes *Fusarium oxysporum* and *Alternaria alternata*. *MPMI* Vol. **13** N°. 12:1330-1339.
- **Armour T.; Viljanen-Rollinson S.L.H.; Chng S.; Butler R.C.; Jamieson P.D. & al. (2004).** Examining the latent period of *Septoria tritici* blotch in a field trial of winter wheat. *New Zealand Plant Protection* **57**:116-120.
- **Arnaise S.; Zickler D. & Glass N.L. (1993).** Heterologous expression of mating-type genes in filamentous fungi (sexual reproduction/vegetative incompatibility). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. **90** (July): 6616-6620.

- **Arnaise S.; Zickler D.; Le Bilot S.; Poisier C. & Debuchy R. (2001).** Mutations in mating type genes of the heterothallic fungus *Podospira anserina* lead to self-fertility. *Genetics* **159**: 545-556.
- **Aronstein K.A.; Murray K.D.; De Leôn J.H.; Qin X. & Weinstock G.M. (2007).** High mobility group (HMG-box) genes in the honeybee fungal pathogen *Ascosphaera apis*. *Mycologia* **99(4)**: 553-561.
- **Arraiano L.S.; Worland A.J.; Ellerbrook C. & Brown J.K.M. (2001).** Chromosomal location of a gene for resistance to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in the hexaploid wheat 'Synthetic 6x'. *Theoretical and Applied Genetics* **103**: 758-764.
- **Arraiano L.S.; Brading P.A.; & Brown J.K.M. (2001a).** A detached seedling leaf technique to study resistance to *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*) in wheat. *Plant pathology* **50**: 339-346.
- **Arraiano L.S.; Brading P.A.; Dedryver F. & Brown J.K.M. (2005).** Resistance of wheat to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) and associations with plant ideotype and the 1BL-1RS translocation. *Plant Pathology*. Doi: 10.1111/j.1365-3059.2005.01319.x.
- **Arraiano L. S. & Brown J.K.M. (2006).** Identification of isolate-specific and partial resistance to *Septoria tritici* blotch in 238 European wheat cultivars and breeding lines. *Plant Pathology* **55** (6):726-738.
- **Arraiano L.S.; Kirby J. & Brown J.K.M. (2007).** Cytogenetic analysis of the susceptibility of the wheat line Hobbit sib (Dwarf A) to *Septoria tritici* blotch. *Theor Appl Genet.* **116**:113-122.
- **Arraiano L.S.; Chartrain L.; Bossolini E.; Slatter H.N.; Keller B. & al. (2007a).** A gene in European wheat cultivars for resistance to an African isolate of *Mycosphaerella graminicola*. *Plant Pathology* **56**: 73-78.
- **Arraiano L. S.; Balaam N.; Fenwick P.M.; Chapman C.; Feuerhelm D. & al. (2009).** Contributions of disease resistance and escape to the control of septoria tritici blotch of wheat. *Plant Pathology* **58**: 910-922.
- **Arvalis (2008).** Choisir : Céréale 2, traitement et interventions de printemps des céréales:133p.
- **Arvalis (2009).** Maladies des céréales, guide pratique : 5,6.
- **Arvalis (2013).** Maladies des céréales à paille, Septoriose: quelle nuisibilité et quelle stratégie de protection ? : 9p.
- **Arzanlou M.; Crous P.W.; Zwiers L-H. (2010).** Evolutionary dynamics of Mating-Type loci of *Mycosphaerella* spp. Occurring on Banana. *Eucaryotic Cell* (**Jan**): 164-172.
- **Asadollahi M.; Szojka A.; Fekete E.; Karaffa L.; Takács F. & al. (2013).** Resistance to QoI Fungicide and Cytochrome *b* Diversity in the Hungarian *Botrytis cinerea* Population. *J. Agr. Sci. Tech.* Vol. **15**: 397- 407.
- **Ayad D.; Sayoud R.; Benbelkacem K. & Bouznad Z. (2014).** La tache septorienne du blé: Première signalisation de la présence en Algérie des deux Mating types du téléomorphe *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schröter, (anamorphe : *Septoria tritici* Rob. Ex Desm.) et diversité phénotypique de l'agent pathogène. *Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, N° **11**: 34 – 45.
- **Azimi-Motem H. & Osipyany L.L. (2009).** Taxonomic notes on the genus *Septoria* of several ornamental plants in Iran. *Biolog. Journal of Armenia* **3** (61): 10-15.

-B-

- **Baccar R. (2011).** Plasticité de l'architecture du blé d'hiver modulée par la densité et la date de semis et son effet sur les épidémies de *Septoria tritici*. Thèse de Doctorat. AgroParisTech, Institut National de la Recherche Agronomique, Unité Environnement et Grandes Cultures : 199p.
- **Bahat A.; Gelernter I.; Brown M.B. & Eyal Z. (1980).** Factors affecting the vertical progression of *Septoria* leaf blotch in short-statured wheats. *Phytopathology* **70**:179-184.
- **Bahous M.; Ouazzani-Touhami A. ; Badoc A. & Douira A. (2005).** Effet de l'azoxystrobine sur la pyriculariose, l'helminthosporiose et la curvulariose du riz. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* **144** : 27-46.

- Bahous M.; Ouazzani-Touhami A.; Badoc A. & Douira A. (2006). Persistence d'action et effet translaminaire de l'azoxystrobine sur les feuilles de riz. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* **145** : 19-30.
- Bakkeren G. & Kronstad J.W. (1993). Conservation of the *b* Mating-Type gene complex among bipolar and tetrapolar smut fungi. *The Plant Cell*, Vol. 5: 123-136.
- Bakkeren G. & Kronstad J.W. (1994). Linkage of mating-type loci distinguishes bipolar from tetrapolar mating in basidiomycetous smut fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. **91**:7085-7089.
- Bancal M-O.; Robert C. & Ney B. (2007). Modelling wheat growth and yield losses from late epidemics of foliar diseases using loss of green leaf area per layer and pre-anthesis reserves. *Annals of Botany* **100**: 777–789.
- Bancal M-O.; Roche R. & Bancal P. (2008). Late foliar diseases in wheat crops decrease nitrogen yield through n uptake rather than through variations in N remobilization. *Annals of Botany* **102**: 579–590.
- Bangya M. (2006). Azoxystrobin sensitivity and resistance management strategies of *Magnaporthe grisea* causing gray leaf spot on perennial ryegrass (*Lolium perenne*) Turf. Thesis in plant pathology. *Pennsylvania State University, college of agricultural sciences*: 19p.
- Banke S.; Peschon A. & McDonald B.A. (2004). Phylogenetic analysis of globally distributed *Mycosphaerella graminicola* population based on three DNA sequence loci. *Fungal Genetics and Biology*. **41**(2): 226-238.
- Banke S. & McDonald B.A. (2005). Migration patterns among global populations of the pathogenic fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Molecular Ecology*. **14**: 1881-1896.
- Bannon F.J. & Cooke B.M. (1998). Studies on dispersal of *Septoria tritici* pycniospores in wheat-clover intercrops. *Plant Pathology*. **47**: 49-56.
- Barry M.C. & Peter P.U. (1999). Taxonomy and Identification of *Septoria* and *Stagonospora* Species on Small-Grain Cereals. *Annual Review of Phytopathology* **37** : 267-284.
- Bartlett D.W.; Clough J.M.; Godfrey C.R.A.; Godwin J.R.; Hall A.A. & al. (2001). Understanding the strobilurin fungicides. *Pesticide Outlook*. **12**: 143-148.
- Bartlett D.W.; Clough J.M.; Godwin J.R.; Hall A.A.; Hamer M. & al. (2002). The strobilurin fungicides. *Pest Management Science*. **58**: 649-662.
- Barve M.P.; Arie T.; Salimath S.S.; Muehlbauer F.J. & Peever T.L. (2003). Cloning and characterization of the mating type (MAT) locus from *Ascochyta rabiei* (teleomorph: *Didymella rabiei*) and a MAT phylogeny of legume-associated *Ascochyta* spp. *Fungal Genetics and Biology* **39**: 151–167.
- BASF (2007). Les bases du raisonnement du programme fongicide : 7p.
- Bassam B.J.; Gaetano-Anolles G. & Gresshoff P.M. (1991). Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry* **196**: 80-83.
- Bassam B.J. & Bentley S. (1995). Electrophoresis of polyester-backed polyacrylamide gels. *Biotechniques* **19**: 568–573.
- Bassam B.J. & Gresshoff P. M. (2007). Silver staining DNA in polyacrylamide gels. *Nature protocols* **2** (11): 2649-2654. doi:10.1038/nprot.2007.330.
- Bathgate J.A. & Loughman R. (2001). Ascospores are a source of inoculum of *Phaeosphaeria nodorum*, *P. avenaria* f. sp. *avenaria* and *Mycosphaerella graminicola* in Western Australia. *Australasian Plant Pathology*. **30**: 317-322.
- Batina H. ; Atanasova-Penichon V. ; Du Cheyron P. ; Fourrey A.; Gelisse S. & al. (2015). Lutte contre les fusarioses des épis de blés : de l'utilisation raisonnée des fongicides aux méthodes de luttés alternatives. AFPP, Cinquième conférence internationale sur les méthodes alternatives de protection des plantes. Lille: 11 - 13 mars 2015: 24p.

- **Bayles R. (1999).** The interaction of strobilurin fungicides with cereal varieties. *Plant varieties and seeds*.**12**: 129-140.
- **Bayles R. A.; Flath K.; Hovmøller M. S. & de Vallavieille-Pope C. (2000).** Breakdown of the Yr17 resistance to yellow rust of wheat in northern Europe. *Agronomie* **20**: 805–811.
- **Bean T. (2008).** Characterisation of *Mycosphaerella graminicola* isolates with reduced azole sensitivities. PhD Summary Report No. 7. Project No. RD-2004-3007. (2004-2008). Plant Pathology and Microbiology Department Rothamsted Research, Harpenden, Herts: 42p.
- **Bean T.P.; Cools H.J.; Lucas J.A.; Hawkins N.D.; Ward J.L. & al. (2009).** Sterol content analysis suggests altered eburicol 14 α -demethylase (CYP51) activity in isolates of *Mycosphaerella graminicola* adapted to azole fungicides. *FEMS Microbiology Letters*. **296**: 266-273.
- **Bearchell S.J.; Fraaije B.A.; Shaw M.W. & Fitt B.D.L. (2005)** Wheat archives links long-term fungal population dynamics to air pollution. *Proceeding of Natural Academy of Science. USA*. **102**: 5438-5442.
- **Ben Hassine A. & Hamada W. (2014).** First isolation of the *Mycosphaerella graminicola* teleomorph stage causing Septoria leaf blotch on wheat in Tunisia. *Disease Reports* **29**:18. [<http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2014.029.018>].
- **Ben M'Barek, S. ; Van Der Lee T.A. ; Wittenberg A.H. ; Maliepaard C. ; Crane C.F. & al. (2009).** Outstanding: the Dispensable Chromosomes of *Mycosphaerella graminicola*. *Fungal Genetics Conference Proceedings* **56**:102.
- **Ben M'Barek S. (2011).** Genome structure and pathogenicity of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. Thèse de Doctorat en Phytopathologie. *Wageningen University*: 230p.
- **Ben Mohamed L.; Rouaissi M.; Sebei A.; Hamza S. & Harrabi M. (2000).** Effet du génotype, de la date de semis, de la fertilisation azotée et potassique et des fongicides sur le développement de *Septoria tritici*. In : Royo C.; Nachit M. ; DiFonzo N. ; Araus J.L.(2000). *Durum wheat improvement in the Mediterranean region: New challenges*. Zaragoza : CIHEAM, (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; N° 40) : 349 - 356.
- **Benbelkacem K.; Bouznad Z.; Benslimane H. & Salhi N.L. (2011).** Occurrence of Septoria leaf blotch in Algeria and assessment of wheat resistance. 8th International Symposium on *Mycosphaerella* and *Stagonospora* Diseases of Cereals. Mexico City September 10-14, 2011 *Book of Abstracts – Poster Presentations – Session 7*: 96.
- **Benedict W.G. (1971).** Differential effect of light intensity on the infection of wheat by *Septoria tritici* Desm. under controlled environmental conditions. *Physiol. Plant Pathol.* **1**:55-66.
- **Bennett R.S.; Yun S.H.; Lee T.Y. ; Turgeon B.G.; Arseniuk E. & al. (2003).** Identity and conservation of mating type genes in geographical diverse isolates of *Phaeosphaeria nodorum*. *Fungal Genetic and Biology*. **40**: 25-37.
- **Berraies S.; Gharbi M.S.; Belzile F. ; Yahyaoui A.; Hajlaoui M.r. & al. (2013).** High genetic diversity of *Mycosphaerella graminicola* (*Zymoseptoria tritici*) from a single wheat field in Tunisia as revealed by SSR markers. *African Journal of Biotechnology* Vol. **12**: 1344-1349.
- **Berraies S.; Gharbi M.S.; Rezgui S. & Yahyaoui A. (2014).** Estimating grain yield losses caused by septoria leaf blotch on durum wheat in Tunisia. *Chilean journal of agricultural research* **74(4)**: 432-437.
- **Bertelsen J. R.; de Neergaard E. & Smedegaard-Petersen V. (2001).** Fungicidal effects of azoxystrobin and epoxiconazole on phyllosphere fungi, senescence and yield of winter wheat. *Plant Pathology* **50**: 190-205.
- **Billiard S.; Lo´Pez-Villavicencio M.; Hood M.E. & Giraud T. (2012).** Sex, outcrossing and mating types: unsolved questions in fungi and beyond. *Journal of Evolutionary Biology*: 19p.
- **Blixt E. (2009).** On *Phaeosphaeria nodorum* in Wheat. Thèse de Doctorat en Sciences agronomiques. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala : 56p.

- **Blixt E.; Djurle A.; Yuen J. & Olson Å. (2009).** Fungicide sensitivity in Swedish isolates of *Phaeosphaeria nodorum*. *Plant Pathology*. **58**: 655–664.
- **Blum H.; Beier H. & Gross H.J. (1987).** Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. *Electrophoresis* **8**: 93–99.
- **Blum L.E.B. (2000).** Reduction of incidence and severity of *Septoria lycopersici* leaf spot of tomato with bacteria and yeasts. *Ciência Rural, Santa Maria*, V. **30**, N° 5: 761-765.
- **Boeger J.M.; Chen R.S. & McDonald B.A. (1993).** Gene flow between geographic populations of *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*) detected with restriction fragment length polymorphism markers. *Phytopathology* **83**:1148–54.
- **Boerema G.H.; Pieters R. & Hamers M.E.C. (1992).** Check-list for scientific names of common parasitic fungi. Supplement Series 2b (additions and corrections): Fungi on field crops: cereals and grasses. *Neth. J. Pl. Path.* **98** Supplement 1:1-32.
- **Boughalleb N. & Harabi M. (1997).** Physiological specialization of *Septoria tritici* in North-Africa. *Tropicultura* **15** (1): 33-36.
- **Boukef S.; McDonald B.A.; Yahyaoui A. ; Rezgui S. & Brunner P.C. (2012).** Frequency of mutations associated with fungicide resistance and population structure of *Mycosphaerella graminicola* in Tunisia. *Eur. J. Plant Pathol.* **132**: 111–122.
- **Boukef S.; Yahyaoui A. ; Rezgui S. (2013).** Geographical distribution of a specific mitochondrial haplotype of *Zymoseptoria tritici*. *Phytopathologia Mediterranea* **52** (3): 466–471.
- **Bousquet J. F. ; Belhomme de Franqueville H.; Kollmann A. & Fritz R. (1991).** Action de la septorine, phytotoxine synthétisée par *Septoria nodorum*, sur la phosphorylation oxydative dans les mitochondries isolées de coléoptiles de Blé. *Can. J. Bot.* **58**: 2575-2580.
- **Bousset L. et de Vallavieille-Pope C. (2003).** Effect of sexual recombination on pathotype frequencies in barley powdery mildew populations of artificially inoculated field plots. *European Journal of Plant Pathology* **109**: 13–24.
- **Brading P.A.; Verstappen E.C.P.; Kema G.H.J. & Brown J.K.M. (2002).** A gene-for-gene relationship between wheat and *Mycosphaerella graminicola*, the septoria tritici blotch pathogen. *Phytopathology*. **92**: 439-445.
- **Brandt U. (1996).** Bifurcated ubihydroquinone oxidation in the cytochrome bcl complex by proton-gated charge transfer. *Federation of European Biochemical Societies Letters* **387**:1-6.
- **Brent K.J. & Hollomon D.W. (2007).** Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed ?, 2nd edition, Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), Brussels, Belgium: 60p.
- **Brown J.K.M. (1999).** The Evolution of sex and recombination in fungi. In Warrall (1999). Structure and dynamics of fungal populations. *Population and Community Biology Series* Volume **25**, Chapitre 4, Kluwer academic publishers : 73-95.
- **Brown, J.K.M. (2000).** Estimation of rates of recombination and migration in populations of plant pathogens. *Phytopathology* **90**: 320-323.
- **Brown J.K.M. (2006).** Surveys of variation in virulence and - fungicide resistance and their application to disease control. In Cooke *et al.* (2006). The epidemiology of plant diseases, 2nd edit., Springer: 81- 117.
- **Brown J.S.; Kellock A. W. & Paddick R. G. (1978).** Distribution and dissemination of *Mycosphaerella graminicola* (Fückel) Schroeter in relation to the epidemiology of speckled leaf blotch of wheat. *Aust. J. Agric. Res.* **29**:1139-1145.
- **Brown J.K.M.; Kema G.H.J.; Forrer H.R.; Verstappen E.C.P.; Arraiano L.S. & al. (2001).** Resistance of wheat cultivars and breeding lines to *Septoria tritici* blotch caused by isolates of *Mycosphaerella graminicola* in field trials. *Plant Pathol.* **50**: 325–338.

- **Brown J.K.M.; Chartrain L.; Lasserre-Zuber P. & Saintenac C. (2015).** Genetics of resistance to *Zymoseptoria tritici* and applications to wheat Breeding. *Fungal Genetics and Biology* **79**: 33-41.
- **Brunner P.C, Stefanato F.L. & McDonald B.A. (2008).** Evolution of the *CYP51* gene in *Mycosphaerella graminicola*: evidence for intragenic recombination and selective replacement. *Molecular Plant Pathology* **9**: 305-316.
- **Burdon J.J. (1993).** Genetic variation in pathogen populations and its implications for adaptation to host resistance. in Jacobs T. H. & Parlevliet J. E. (1993). Durability of disease resistance. Kluwer Academic Publishers: 41-56.
- **Burdon J.J. et Silk J. (1997).** Sources and patterns of diversity in plant-pathogenic fungi. *Phytopathology* **87**, N° 7: 663- 669.
- **Butler G. (2010).** Fungal Sex and Pathogenesis. *Clinical microbiology reviews*, Vol. **23** (1): 140–159.
- **Byamukama E.; Abendroth L.J.; Elmore R.W. & Robertson A.E. (2013).** Quantifying the effect of Pyraclostrobin on grain-fill period and kernel dry matter accumulation in maize. *Plant Health Progress*: doi:10.1094/PHP-2013-1024-02-RS.
- **C-**
- **Calonnec A.; Burie J-B.; Langlais M.; Guyader S.; Saint-Jean S. & al. (2012).** Impacts of plant growth and architecture on pathogen processes and their consequences for epidemic behaviour. *Eur. J. Plant Pathol.* : DOI 10.1007/s10658-012-0111-5.
- **Camus C. (2008).** Polymorphisme de l'ADN, présentation et mise en évidence. Support pédagogique :10p.
- **Carmi O.; Eshel J. & Eyal Z. (1985).** Chemical control of spackled leaf blotch of wheat in Israel. in Scharen A. L., Septoria of cereals. Proc. Workshop, Aug 2-4 1985, Boseman, MT. USDA-ARS Publ. N° **12**: 100-106.
- **Carmi R.; Carmeli S.; Levy E. & Gough F.J. (1994).** (+)-(S)-Dihydroaeruginic Acid an inhibitor of *Septoria tritici* and other phytopathogenic fungi and bacteria, produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of natural products* Vol. **57** N° 9: 1200-1205.
- **Caron D. (1993).** Maladies des blés et des orges, édit. I.T.C.F. : 42-57.
- **Castro A. M.; Tacaliti M. S.; Giménez D.; Tocho E.; Dobrovolskaya O. & al. (2008).** Mapping quantitative trait loci for growth responses to exogenously applied stress induced hormones in wheat. *Euphytica* **164**:719–727.
- **Caten C.E. et Newton A.C. (2000).** Variation in cultural characteristics, pathogenicity, vegetative compatibility and electrophoretic karyotype within field populations of *Stagonospora nodorum*. *Plant Pathology* **49**: 219–226.
- **Chartrain L.; Brading P.A.; Makepeace J.C. & Brown J.K.M. (2004).** Sources of resistance to septoria tritici blotch and implications for wheat breeding. *Plant Pathology* **53**: 454-460.
- **Chartrain L.; Brading P.A.; Widdowson J.P. & Brown J.K.M. (2004a).** Partial resistance to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in wheat cultivars Arina and Riband. *Phytopathology* **94**: 497-504.
- **Chartrain L.; Joaquim P.; Berry S.T.; Arraiano L.S.; Azanza F. & al. (2005).** Genetics of resistance to septoria tritici blotch in the Portuguese wheat breeding line TE 9111. *Theoretical and Applied Genetics* **110**: 1138-1144.
- **Chartrain L.; Berry S.T. & Brown J.K.M. (2005a).** Resistance of the wheat line Kavkaz-K4500 L.6.A.4 to *Septoria tritici* blotch controlled by isolate-specific resistance genes. *Phytopathology* **95**: 664-671.
- **Chartrain L.; Brading P.A. & Brown J.K.M. (2005b).** Presence of the *Stb6* gene for resistance to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in cultivars used in wheat-breeding programmes worldwide. *Plant Pathology* **54**: 134-143.

- Chartrain L.; Sourdille P.; Bernard M. & Brown J.K.M. (2009). Identification and location of *Stb9*, a gene for resistance to septoria tritici blotch in wheat cultivars Courtot and Tonic. *Plant Pathology* **58**: 547–555.
- Chen R.S.; Boeger J.M. & McDonald B.A. (1994). Genetic stability in a population of plant pathogenic fungus over time. *Molecular Ecology* **3**: 209-218.
- Chen R.S. & McDonald B.A. (1996). Sexual reproduction plays a major role in the genetic structure of populations of the fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Genetics* **142**: 1119-1127.
- Chérif M.; Chilvers M.I.; Akamatsu H.; Peever T.L. & Kaiser W. J. (2006). Cloning of the mating type locus from *Ascochyta lentis* (teleomorph: *Didymella lentis*) and development of a multiplex PCR mating assay for *Ascochyta* species. *Curr Genet* **50**:203–215.
- Choi Y-E. & Goodwin S.B. (2011). *MVE1*, Encoding the Velvet Gene Product Homolog in *Mycosphaerella graminicola*, is associated with aerial mycelium formation, melanin biosynthesis, hyphal swelling, and light signaling. *Applied and environmental microbiology*, Vol. **77**, No. 3: 942–953.
- Chungu C.; Gilbert J. & Townley-Smith F. (2001). Septoria tritici Blotch Development as Affected by Temperature, Duration of Leaf Wetness, Inoculum Concentration, and Host. *Plant Disease* **85**: 430-435.
- Cohen L. et Eyal Z. (1993). The histology of processes associated with the infection of resistance and susceptible wheat cultivars with *Septoria tritici*. *Plant Pathology* **42**: 737-743.
- Conde-Ferráez L.; Waalwijk C.; Canto-Canché B.B.; Kema G.H.J.; Crous P.W. & al. (2007). Isolation and characterisation of the mating type locus of *Mycosphaerella fijiensis*, the causal agent of black leaf streak disease of banana. *Molecular Plant Pathology* **8** (1): 111-120.
- Cook R.J. (1999). Management by chemicals. In: Lucas J.A.; Bowyer P. & Anderson H.M. (1999). *Septoria on Cereals: a Study of Pathosystems*. Wallingford, UK: CABI Publishing : 286-298.
- Cools H.J.; Fraaije B.A. & Lucas J.A. (2005). Molecular examination of *Septoria tritici* isolates with reduced sensitivities to triazoles. In: Dehne H.W.; Gisi U.; Kuck K.H.; Russell P.E. & Lyr H., *Modern Fungicides and Antifungal Compounds IV*, BCPC, Alton, UK.: 103-114.
- Cools H.J.; Fraaije B.A.; Kim S.H. & Lucas J.A. (2006). Impact of changes in the target P450 CYP51 enzyme associated with altered triazolesensitivity in fungal pathogens of cereal crops. 8th International Symposium on Cytochrome P450 Biodiversity and Biotechnology, *Biochemical Society Transactions* Vol. **34** (6) : 1219-1222.
- Cools H.J.; Fraaije B.A.; Bean T.P.; Antoniw J. & Lucas J.A. (2007). Transcriptome profiling of the response of *Mycosphaerella graminicola* isolates to an azole fungicide using cDNA microarrays. *Molecular Plant Pathology*, **8**: 639-651.
- Cools HJ. & Fraaije B.A. (2008). Are azole fungicides losing ground against Septoria wheat disease? Resistance mechanisms in *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science*, **64**: 681-684.
- Cools H.J.; Parker J. E.; Kelly D. E.; Lucas J.A.; Fraaije B.A & al. (2010). Heterologous Expression of Mutated Eburicol 14-Demethylase (CYP51) Proteins of *Mycosphaerella graminicola* to assess effects on azole fungicide sensitivity and intrinsic protein function. *Applied and environmental microbiology* Vol. **76**, No. 9: 2866–2872.
- Cools H.J.; Mullins J.G.L.; Fraaije B.A; Parker J. E.; Kelly D. E. & al. (2011). Impact of recently emerged sterol 14-Demethylase (CYP51) variants of *Mycosphaerella graminicola* on azole fungicide sensitivity. *Applied and environmental microbiology* Vol. **77** N° 11: 3830–3837.
- Cools H.J. et Fraaije B.A. (2012): Resistance to Azole Fungicides in *Mycosphaerella graminicola*: Mechanisms and Management, in Thind T.S. (2012): *Fungicide resistance in crop protection: risk and management*. Edit. Wallingford, Oxfordshire ; Cambridge, MA : CABI : 64-77.
- Coppin E.; Debuchy R.; Arnaise, S. & Picard M. (1997) Mating types and sexual development in filamentous ascomycetes. *Microbial and Molecular Biology Research*. **61**(4): 441-428.

- **Cordo C.A.; Perelló A.E.; Alippi H.E. & Arriaga H.O. (1997).** Morphocultural variants of *Septoria tritici* isolates. *Rev Iberoam Micol.* **14**: 168-172.
- **Cordo C.A.; Linde C.C.; Zhan J. & McDonald B. (2006).** Genotypic diversity of the wheat leaf blotch pathogen (*Septoria tritici*) in Buenos Aires province. *Bol. Soc. Argent. Bot.* **41** (3-4): 293 - 305.
- **Cordo C.A.; Monaco C.; Segarra C.I.; Simon M.R.; Mansilla A.Y. & al. (2007).** *Trichoderma* spp. as elicitors of wheat plant defense responses against *Septoria tritici*. *Biocontrol Science and Technology* **17**(7): 687-698.
- **Cornish P.S.; Baker G.R. & Murray G.M. (1990).** Physiological responses of wheat (*Triticum aestivum*) to infection with *Mycosphaerella graminicola* causing *Septoria tritici* blotch. *Australian Journal of Agricultural Research.* **41**(2): 317-327.
- **Cowger C.; Hoffer M.E. & Mundt C.C. (2000).** Specific adaptation by *Mycosphaerella graminicola* to resistant wheat cultivar. *Plant Pathology.* **49**: 445-451.
- **Cowger C. & Mundt C. (2002)** Aggressiveness of *Mycosphaerella graminicola* isolates from susceptible and partially resistant wheat cultivars. *Phytopathology.* **92**(6):624-630.
- **Cowger C. & Mundt C. (2002a).** Effects of wheat cultivar mixtures on epidemic progression of *Septoria tritici* blotch and pathogenicity of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* **92**:617-623.
- **Cowger C.; McDonald B.A. & Mundt C. (2002).** Frequency of sexual reproduction by *Mycosphaerella graminicola* in partially resistant wheat cultivars. *Phytopathology* **92**(11): 1175-1181.
- **Cowger C.; Brunner P. C. & Mundt C. C. (2008).** Frequency of sexual recombination by *Mycosphaerella graminicola* in mild and severe epidemics. *Phytopathology* **98**:752-759.
- **Cowling S.G.; Brule-Babel A.L.; Somers D.J. & Lamari L. (2006).** Identification and mapping of *Stb13*, an isolate specific wheat resistance gene to isolate MG96-36 (group 1) of *Mycosphaerella graminicola*. Manuscript.
- **Crous P.W.; Wingfield M.J.; Mansilla J.P.; Alfenas A.C. & Groenewald J.Z. (2006).** Phylogenetic reassessment of *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs occurring on *Eucalyptus*. II. *Studies in mycology* **55**: 99–131.
- **Crous P.W.; Braun U. & Groenewald J.Z. (2007).** *Mycosphaerella* is polyphyletic . *Studies in mycology* **58**: 01–32.
- **Crous P.W. (2009).** Taxonomy and phylogeny of the genus *Mycosphaerella* and its anamorphs. *Fungal Diversity* **38**: 1-24.
- **Crous P.W. Wingfield M.J.; Guarro J.; Hernández-Restrepo M.; Sutton D.A. & al. (2015).** Fungal Planet description sheets: 320–370. *Persoonia* **34**: 167- 266.
- **Cunfer B.M. (1997).** Taxonomy and nomenclature of *Septoria* and *Stagonospora* species on small grain cereals. *Plant disease* **8**: 427-428.
- **Cunfer B.M. (1999).** *Stagonospora* and *Septoria* pathogens of cereals: the infection process, 41-45. In: Van Ginkel M., McNab A., Krupinsky J. (Eds.). *Septoria* and *Stagonospora* diseases of cereals: a compilation of global research. Mexique. CIMMYT: 41-45.
- **Cunfer B.M. & Ueng P.P. (1999).** Taxonomy and identification of *Septoria* and *Stagonospora* species on smallgrain cereals. *Annual Revue of Phytopathology* **37**: 267-284.

-D-

- **Dagnelie P. (2009).** Principes d'expérimentation: planification des expériences et analyse de leurs résultats. Gembloux, Presses agronomiques : 413 p.

- **Danon T.; Sacks J.M. & Eyal Z. (1982).** The relationships among plant stature, maturity class, and susceptibility to Septoria leaf blotch of wheat. *Phytopathology* **72**: 1037-1042.
- **Danon T. & Eyal Z. (1990).** Inheritance of resistance to two Septoria tritici isolates in spring and winter bread wheat cultivars. *Euphytica* **47**: 203-214.
- **De Gruyter J.; Woudenberg J.H.C.; Aveskamp M.M.; Verkley G.J.M.; Groenewald J.Z. & al. (2013).** Redisposition of phoma-like anamorphs in *Pleosporales*. *Studies in mycology* **75**: 1–36.
- **De Waard M.A.; Andrade A.C.; Hayashi K.; Schoonbeek HJ.; Stergiopoulos I. & al. (2006).** Impact of fungal drug transporters on fungicide sensitivity, multidrug resistance and virulence. *Pest Manag. Sci.* **62**:195–207.
- **De Wit P.J.G.M.; van der Burgt A.; O' kmen B.; Stergiopoulos I.; Abd-Elsalam K.A. & al. (2012).** The Genomes of the Fungal Plant Pathogens *Cladosporium fulvum* and *Dothistroma septosporum* Reveal Adaptation to Different Hosts and Lifestyles But Also Signatures of Common Ancestry. *PLoS Genet* **8** (11): e1003088. doi:10.1371/journal.pgen.1003088.
- **De Wolf E. (2008).** Septoria tritici bloch of wheat. *K-State Plant pathology* **P-133**: 2p.
- **Dean R.; Van Kan J. A. L.; PretoriusZ.A; Hammond-Kosack K.E.; Di Pietro A. et al. (2012).** The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*. DOI: 10.1111/J.1364-3703.2011.00783.X.
- **Debuchy R. et Turgeon B.G. (2006).** Mating-Type Structure, Evolution, and Function in Euascomycetes. in Ficher U.K.R. (2006). *The Mycota, Growth, Differentiation and Sexuality*. Volume 1, Chapitre 15. Ed. Springer : 293-323.
- **Deihimi T. ; Niazi A. & Ebrahimie E. (2013).** Identification and expression analysis of *TLPs* as candidate genes promoting the responses to both biotic and abiotic stresses in wheat. *Plant omics journal* **6**(2):107-115.
- **Delhey K.M.R. (2007).** *Phaeosphaeria avenaria* f. sp. *triticea* (anamorphe *Stagonospora avenae* f. sp. *triticea*) on wheat in Argentina. *International Journal of Botany* **76**: 85-94.
- **Dhillon B.; Gill N.; Hamelin R.C. & Goodwin S.B. (2014).** The landscape of transposable elements in the finished genome of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *BMC Genomics* **15**:1132.doi:10.1186/1471-2164-15-1132.
- **Diani Z. (2009).** Événements oxydatifs précoces et mécanismes de défense induits *in vitro* et *in vivo* chez le blé tendre et leur relation avec la résistance à la septoriose et au déficit hydrique. Thèse de Doctorat, spécialité : Biotechnologie et phytopathologie. Université Cadi Ayyad, faculte des sciences, Semlalia-Marrakech (Maroc) : 170p.
- **Diaz de Ackennann M. (1993).** Chemical control of *Septorla trlticii* on spring wheat. In Gilchrist S. et al.(1993), Proceedings of a *Septoria tritici* Workshop, 20-24 September 1993 CIMMYT, Mexico: 147-151.
- **Diria G.; Labhilili M.; Bentata F.; Abdelwahd R.; Gaboun F. & al. (2014).** Genetic Diversity of *Mycosphaerella graminicola* in Morocco Using Amplified Fragment Length Polymorphism. *Journal of Life Sciences* Vol. **8**, No. 3: 211-222.
- **Dooley H.; Shaw M.W.; Spink J. & Kildea S. (2015).** Effect of azole fungicide mixtures, alternations and dose on azole sensitivity in the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. *Plant Pathology* : Doi: 10.1111/ppa.12395.
- **Douala U. (2009).** La chaine respiratoire mitochondriale. Brochure de cours en biologie cellulaire : 5p. www.ured-douala.com/Cours_magistral/Niveau_I/B1_122/Biologie_Cellulaire/2009_Sem_1.
- **Drabešová J.; Ryšánek P.; Brunner P.; McDonald B.A. & Croll D. (2013).** Population genetic structure of *Mycosphaerella graminicola* and Quinone Outside Inhibitor (QoI) resistance in the Czech Republic. *Eur J. Plant Pathol.* **135**: 211-224.

- **Driessen A.J.M.; Rosen B.P. & Konings W.N. (2000).** Diversity of transport mechanisms: common structural principles. *Trends Biochem. Sci.* **25**: 397-401.
- **Dudkina N.V.; Kouřil R.; Peters K.; Braun H.P. & Boekema E.j. (2010).** Structure and function of mitochondrial supercomplexes. *Biochimica et Biophysica Acta* **1797** : 664–670.
- **Dufourg C. (1998).** Application des techniques moléculaires de PCR" -RFLP" et de PCR-RFLP-SSCP" dans l'étude de la différenciation génétique de deux Huîtres creuses: *Crassostrea gigas* et *Crassostrea angulata*. Rapport de stage. Université de Pau et des Pays de l'Adour, Secteur Ecologie : 58p.
- **Dujeancourt L. (2012).** Métabolisme et traduction des ARNs mitochondriaux chez la levure *Schizosaccharomyces pombe*. Thèse de Doctorat Université Evry Val d'Essonne école doctorale des génomes aux organismes (GAO): 286p.
- **Duncan K.E. and Howard R.J. (2000).** Cytological analysis of wheat infection by the leaf blotch pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Mycological Research* **104**: 1074-1082.
- **Dunne, B. (2004).** Disease control strategies for cereals. In: Proceedings of the National Tillage Crop Conference. Crops Research Centre, Oak Park, Carlow, Ireland: 77-98.
- **E-**
- **Elbekali A.Y.; Ramdani A.; Siah A.; Tisserant B.; Deweer C. & al. (2011).** Detection of strobilurin-resistant isolates of *Mycosphaerella graminicola* in Morocco. *Comm. Appl. Biol. Sci.*, Ghent University 76/2.
- **Elbekali A.Y.; Siah A.; Ramdani A.; El Chartouni L.; Tisserant B. & al. (2012).** First report of the mating types MAT1-1 and MAT1-2 of *Mycosphaerella graminicola* In Morocco. *Journal of Plant Pathology* **94** (1) : 243-247.
- **El Chartouni L. (2009).** Conditions françaises de l'interaction entre *Mycosphaerella graminicola*, agent de la septoriose, et le blé : diversité et structure d'une population du champignon et modalités de la résistance et de la tolérance chez le blé. Thèse de Doctorat, spécialité: Ingénierie des fonctions biologiques. Université du littoral côte d'Opale, France : 280p.
- **El Chartouni L. ; Tisserant B. ; Siah A. ; Duyme D. ; Leducq J.B. & al. (2011).** Genetic diversity and population structure in French populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Mycologia* **103**(4): 764-774.
- **El Jarroudi M. (2005).** Evaluation des paramètres épidémiologiques des principales maladies cryptogamiques affectant les feuilles du blé d'hiver au Grand-Duché de Luxembourg : calibration et validation d'un modèle de prévision. Thèse de Doctorat en sciences de l'environnement. Université de Liège : 262p.
- **Eriksen L.; Shaw M.W. & Østergård H. (2001).** A model of the effect of pseudothecia on genetic recombination and epidemic development in populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* **91**: 240-248.
- **Eriksen L. & Munk L. (2003).** The occurrence of *Mycosphaerella graminicola* and its anamorph *Septoria tritici* in winter wheat during the growing season. *European Journal of Plant Pathology* **109**: 253–9.
- **Eriksen L.; Borum F. & Jahoor A. (2003).** Inheritance and localisation of resistance to *Mycosphaerella graminicola* causing septoria tritici blotch and plant height in the wheat (*Triticum aestivum* L.) genome with DNA markers. *Theor. Appl. Genet.* **107**: 515–527.
- **Estep L.K.; Zala M.; Anderson N.P.; Sackett K. E.; Flowers M.; & al. (2013).** First Report of Resistance to QoI Fungicides in North American Populations of *Zymoseptoria tritici*, Causal Agent of Septoria Tritici Blotch of Wheat. *Plant disease* Volume **97** (11): <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-05-13-0486-PDN>.
- **Estep L.K.; Torriani S.F.F.; Zala M.; Anderson N.P.; Flowers M.D. & al. (2014).** Emergence and early evolution of fungicide resistance in North American populations of *Zymoseptoria tritici*. *Plant Pathology*; DOI: 10.1111/ppa.12314, 2014.
- **Eyal Z. (1971)** The kinetics of pycnidiospore liberation in *Septoria tritici*. *Can J Bot* **49**: 1095-1099.

- Eyal Z.; Amiri Z. & Wahl I. (1973). Physiologic Specialization of *Septoria tritici*. *Phytopathology* **63**: 1087-1091.
 - Eyal Z. (1981). Research on Septoria Leaf Blotch: Recent Advances1. *EPPO Bulletin*, June, 1981. 10.1111/j.1365-2338.1981.tb01765.x.
 - Eyal Z.; Scharen A. L.; Huffman M. D. & Prescott J. M. (1985). Global insights into virulence frequencies of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* **75**:1456-1462.
 - Eyal Z. and Levy E. (1987). Variations in pathogenicity patterns of *Mycosphaerella graminicola* within *Triticum* spp. in Israel. *Euphytica* **36** : 231-250.
 - Eyal Z.; Scharen A.L.; Prescott J.M. & van Ginkel M. (1987). The Septoria Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management. Mexico: International Maize and Wheat Improvement Centre (CIMMYT); 54p.
 - Eyal Z. (1992). The response of field-inoculated wheat cultivars to mixtures of *Septoria tritici* isolates. *Euphytica* **61** : 25-35.
 - Eyal Z. (1999). The *Septoria tritici* and *Stagonospora nodorum* blotch diseases of wheat. *European Journal of Plant Pathology* **105**: 629-641.
- F-**
- FAO (2013). (Food and Agricultural Organization). Code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides. Directives pour la prévention et la gestion de la résistance aux pesticides : 62p.
 - Farsad L.K.; Mardi M. & Ebrahimi M.A. (2013). Quantitative expression analysis of candidate genes for *Septoria tritici* blotch resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Progress in Biological Sciences* Vol. 3 (1) : 73- 78.
 - Fernández-Ortuño D. ; Torés J.A. ; de Vicente A. & Pérez-García A. (2008). Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. *International Microbiology* **11**: 1-9.
 - Fernández-Ortuño D. ; Torés J.A. ; de Vicente A. & Pérez-García A. (2010). The QoI Fungicides, the Rise and fall of a successful class of agricultural fungicides. In Carisse O. (2010). Fungicides, Chapitre 10: 203-221.
 - Fisher N.; Brown A.C.; Sexton G.; Cook A.; Windass j. & Meunier B. (2004). Modeling the Qo site of crop pathogens in *Saccharomyces cerevisiae* cytochrome b. *Eur. J. Biochem.* **271** : 2264–2271.
 - Flaishman M. & Eyal Z. (1990) Mechanism of suppression of *Septoria tritici* by antagonistic bacteria. *Phytoparasitica* **18**: 82- 90.
 - Flaishman M. & Eyal Z.; Voisard C. & Haas D. (1990). Suppression of *Septoria tritici* by Phenazine or Siderophore-deficient mutants of *Pseudomonas*. *Current Microbiology* **20**(2):121-124.
 - Flaishman M.; Eyal Z.; Zilberstein A.; Voisard C. & Haas D. (1996). Suppression of *Septoria tritici* blotch and leaf rust of wheat by recombinant cyanide-producing strains of *Pseudomonas putida*. *Molecular Plant Microbe Interaction* **9** (7): 642-645.
 - Fokkema N.J. & van der Meulen F. (1976). Antagonism of yeast-like phyllosphere fungi against *Septoria nodorum* on wheat leaves. *Netherlands Journal of Plant Pathology* **82**: 13-16.
 - Fontaine S. ; Caddoux L. & Grosman J. (2012). Résistance de l'Oïdium de la vigne (*Erysiphe necator*) vis-à-vis des QoIs et des IDM. Rapport Anses-RPP. : 11p.
 - Fraaije B.A.; Butters J.A.; Coelho J.M.; Jones D.R. & Hollomon D.W. (2002). Following the dynamics of strobilurin resistance in *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* using quantitative allele-specific real-time PCR measurements with the fluorescent dye SYBR Green I. *Plant Pathology* **51** : 45–54.

- **Fraaije B.A.; Lucas J.A.; Clark W.S. & Burnett F.J. (2003).** QoI resistance development in populations of cereal pathogens in the UK. *in: proceedings of the BCPC Congress, Crop Science and Technology.* The British Crop Protection Council, Alton, Hampshire, UK: 689-694.
- **Fraaije B.A.; Cools H.J.; Fountaine J.; Lovell D.J.; Motteram J. & al. (2005).** Role of ascospores in further spread of QoI-resistant cytochrome *b* alleles (G143A) in field populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* **95**: 933-941.
- **Fraaije B.A.; Cools H.J.; Kim S.H.; Motteram J.; Clark W.S. & al. (2007).** A novel substitution I381V in the sterol 14a-demethylase (CYP51) of *Mycosphaerella graminicola* is differentially selected by azole fungicides. *Molecular Plant Pathology* **8**: 245-254.
- **Fraaije B.A.; Bayon C.; Atkins S.; Cools H.J.; Lucas J.A. & al. (2012).** Risk assessment studies on succinate dehydrogenase inhibitors, the new weapons in the battle to control Septoria leaf blotch in wheat. *Molecular plant pathology* **13**(3): 263–275.
- **FRAC** (fungicide resistance action committee). **(2006).** Mutations associated with QoI-resistance. www.frac.info: 2p.
- **FRAC** (fungicide resistance action committee). **(2013).** FRAC Code List ©*2013: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering): 10p.
- **FRAG-UK** (The Fungicide Resistance Action Group - UK). **(2013).** Fungicide resistance management in cereals: 29p.
- **G-**
- **Ganeshan G. & Kumar A.M. (2005).** *Pseudomonas fluorescens*, a potential bacterial antagonist to control plant diseases. *Journal of Plant Interactions* **1** (3):123-134.
- **Gaurilcikiénė I. (2001).** The spread of Septoria leaf blotch in spring triticale stands in Lithuania. *Biologija* **3**: 11-13.
- **Gaurilcikiénė I. et Ronis A. (2006).** The effect of strobilurin fungicides on the development of foliar diseases of winter wheat. *Agronomy research* **4**: 177-180.
- **Gaurilcikiénė I., Butkutė B.; Mankevičienė A. & Paplauskienė V. (2010).** A Multi-Aspect Comparative Investigation on the Use of Strobilurin and Triazole-based Fungicides for Winter Wheat Disease Control, *In* Carisse O. (2010). Fungicides, Chapitre 04: 69-94.
- **Gautam S. (2010).** Biocontrol of cereal pathogens. Dissertation de Doctorat., Boca-Radon Florida, USA : 25p.
- **Gautier A. ; Marcel T.C. ; Confais J. ; Crane C. ; Kema G. & al. (2014).** Development of a rapid multiplex SSR genotyping method to study populations of the fungal plant pathogen *Zymoseptoria tritici*. *BMC Research* **7**, 373 :10p.
- **Ghaffary S.M.T.; Laurent V.; Guerreiro L.; Flodrops Y.; Van Der Lee T.A. J. & al. (2008).** Unravelling and exploitation of diversity for resistance to *Mycosphaerella graminicola* and *Fusarium graminearum* in wheat and its progenitors: 31-38.
- **Ghaffary S.M.T.; Van Der Lee T.A. J. ; Verstappen E.C.P. & Kema G.H.J. (2009).** Finding more resistance sources to septoria tritici blotch of wheat. *Gewasbescherming jaargang* **40** (3):122-123.
- **Ghaffary S.M.T. (2011).** Efficacy and mapping of resistance to *Mycosphaerella graminicola* in wheat. Thèse de Doctorat, Wageningen University : 233p.
- **Ghaffary S.M.T.; Robert O.; Laurent V. ; Lonnet P.; Margale E. & al. (2011).** Genetic analysis of resistance to septoria tritici blotch in the French winter wheat cultivars Balance and Apache. *Theor Appl Genet.* **123**:741–754.

- Ghaffary S.M.T.; Faris J.D.; Friesen T.L.; Visser R.G. F.; Van Der Lee T.A. J. & al. (2012). New broad-spectrum resistance to septoria tritici blotch derived from synthetic hexaploid wheat. *Theor Appl Genet.* **124**:125–142.
- Gieco J.O.; Dubcovsky J. & Camargo L.E.A. (2004). Aggressiveness and physiological specialization of *Septoria tritici* rob. Isolates. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, V.**61** (4):414-421.
- Gieco J.O.; Dubcovsky J. & Camargo L.E.A. (2004a). Interaction between resistance to *Septoria tritici* and phenological stages in wheat. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, V.**61** (4): 422-426.
- Gigot C. (2013). Potentialités des associations de variétés pour limiter la progression épidémique de la septoriose du blé : rôle des mécanismes de dispersion des spores par la pluie dans un couvert végétal hétérogène. Thèse de Doctorat en Sciences agronomiques et écologiques. AgroParisTech – Institut National de la Recherche Agronomique. France : 160p.
- Gilchrist L.I. (1994). Research on *Septoria* Diseases at CIMMYT. In: Saari E. E. & Hittel G.P. (1994). Guide to the CIMMYT Wheat Crop Protection Subprogram: Wheat Special Report N° **24**, CIMMYT: 42-47.
- Gilligan C.A. (2008). Sustainable agriculture and plant diseases: an epidemiological perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society B.* **363**: 741–759.
- Gisi U.; Sierotzki H.; Cook A. & Mccaffery A. (2002). Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. *Pest Management Science* **58**: 859-867.
- Gisi U.; Pavic L.; Stanger C.; Hugelshofer U. & Sierotzki H. (2005). Dynamics of *Mycosphaerella graminicola* populations in response to selection by different fungicides. In: Dehne H.W.; Gisi U.; Kuck K.H.; Russell P.E. & Lyr H.. Modern fungicides and antifungal compounds IV. Edit. BCPC, Alton, UK : 73-80.
- Gisi U. & Sierotzki H. (2008). Fungicides modes of action and resistance in downy mildews. *European Journal of plant pathology* **122**: 157-167.
- Glowka L.; Burhenne-Guilmin F. & Synge H. (1996). Guide de la convention sur la diversité biologique. Edit. Gland: International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources: 20-27.
- Gloria C. (2002). Désherbage - Les strobilurines entre pénétration et effet vapeur. Groupe Réussir. Article Réf. 3394 : 2p.
- Godwin J.R.; Bartlett D.W.; Clough J.M.; Godfrey C.R.A.; Harrison E.G. & al. (2000). Picoxystrobin a new strobilurin fungicide for use on cereals. *Proceedings Brighton crop protection conference, Pests and diseases British crop protection council survey U.K.* : 533-541.
- Goodwin S. B. and Zismann V.L. (1999). *Septoria passerinii* Closely Related to the Wheat Pathogen *Mycosphaerella graminicola*. in: Van Ginkel M.; McNab A. & Krupinsky J. (1999). *Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: A Compilation of Global Research Proceedings of the Fifth International Septoria Workshop* September 20-24, 1999 CIMMYT, Mexico: 34- 36.
- Goodwin S. B.; Dunkle L. D. & Zismann V. L. (2001). Phylogenetic analysis of *Cercospora* and *Mycosphaerella* based on the internal transcribed spacer region of ribosomal DNA. *Phytopathology* **91**:648-658.
- Goodwin S.B.; Waalwijk C.; Kema G.H.J.; Cavaletto J.R. & Zhang G. (2003). Cloning and analysis of the mating type idiomorphs from the barley pathogen *Septoria passerinii*. *Molecular Genetic and Genomics* **269**: 1-12.
- Goodwin S.B.; McDonald B.A. & Kema G.H. (2003a). The *Mycosphaerella* sequencing initiative. In: Global Insights into the Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals. International Symposium on Septoria/Stagonospora Disease of Cereals, December 8-12, 2003, Tunis, Tunisia: 149-151.
- Goodwin S.B.; Van Der Lee T.A.J.; Cavaletto J.R.; te Lintel Hekkert B.; Crane C.H.F. & al. (2007). Identification and genetic mapping of highly polymorphic microsatellite loci from an EST database of the septoria tritici blotch pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Fungal Genetics and Biology* **44**: 398-414.

- **Goodwin S.B. (2008).** Genetics and genomics of the Septoria pathogens of cereals. Rapport des Résultats de projets sur le génome de *Mycosphaerella* et *Stagonospora*. USDA-ARS, Department of Botany and Plant Pathology, Purdue University, West Lafayette, Indiana : 51p.
- **Goodwin S.B.; Ben M'Barek S.; Dhillon B.; Wittenberg A.H.J.; Crane C.F. & al. (2011).** Finished genome of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* reveals dispensome structure, chromosome plasticity, and stealth pathogenesis. *PLoS Genet.* 7(6): e1002070.
- **Goodwin S.B. (2012).** Resistance of wheat to Septoria diseases caused by *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) and *Phaeosphaeria* (*Stagonospora*) *nodorum*. In: Sharma I. (2012). Disease resistance in wheat. Chapitre 8. Edit. CAB. : 151-159.
- **Goodwin S.B. & Kema G.H.J. (2014).** The Genomes of *Mycosphaerella graminicola* and *M. fijiensis*. In: Dean R.A; Lichens-Park A. & Kole C. (2014). Genomics of Plant-Associated Fungi: Monocot Pathogens . Edit. Springer: 123-140.
- **Gough F. J. & Lee T. S. (1985).** Moisture effects on the discharge and survival of conidia of *Septoria tritici*. *Phytopathology* 75:180-182.
- **Grall J. et Coïc N. (2006).** Synthèse des méthodes d'évaluation de la qualité du benthos en milieu côtier. Rapport de projet. Institut Universitaire Européen de la Mer – Université de Bretagne Occidentale Laboratoire des sciences de l'Environnement MARin. IUEM (UBO)/LEMAR – Ifremer: 10-40.
- **Grasso V. (2005).** Characterization of the cytochrome *b* gene in plant pathogenic basidiomycetes and consequences for QoI resistance. Thèse de Doctorat, en Sciences agronomiques. Université Bazel (Italie): 122p.
- **Grasso V.; Sierotzki H.; Garibaldi A. & Gisi U. (2006).** Characterization of the cytochrome *b* gene fragment of *Puccinia* species responsible for the binding site of QoI fungicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 84: 72-82.
- **Grasso V.; Palermo S.; Sierotzki H.; Garibaldi A. & Gisi U. (2006a).** Cytochrome *b* gene structure and consequences for resistance to Qo inhibitor fungicides in plant pathogens. *Pest Manag. Sci.* 62:465–472.
- **Grossmann K. & Retzlaff G. (1997).** Bioregulatory effects of the fungicidal strobilurin kresoxim-methyl in wheat (*Triticum aestivum*). *Pesticide Science* 50: 11-20.
- **Grossmann K.; Kwiatkowski J.; Retzlaff G. (1999).** Regulation of Phytohormone Levels, Leaf Senescence and Transpiration by the Strobilurin Kresoxim-methyl in Wheat (*Triticum aestivum*), *Journal of Plant Physiology* Vol.. 154: 805-808.
- **Guerin, F.; Gladioux, P.; Le Cam, B. (2007).** Origin and colonization history of newly virulent strains of the phytopathogenic fungus *Venturia inaequalis*. *Fungal. Genet. Biol.*, 44: 284–292.
- **Guo J.R. & Verreet J-A. (2008).** Formation and Germination of *Septoria tritici* Secondary Conidia as Affected by Environmental Factors. *J. Phytopathology* 156: 635–637.
- **Gurung S.; Goodwin S.B.; Kabbage M.; Bockus W.W. & Adhikari T.B. (2011).** Genetic differentiation at microsatellite loci among populations of *Mycosphaerella graminicola* from California, Indiana, Kansas, and North Dakota. *Phytopathology* 101:1251–1259.
- **Gurung S.; Short D.P.G.; Adhikari T.B. (2013).** Global genetic structure and migration patterns suggest significant population differentiation among isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Fungal genetics and Biology* 52: 32-41.

-H-

- **Hagenmuller J. (2008).** Étude des interactions fonctionnelles des protéines mitochondriales impliquées dans la maturation des cytochromes de type *c* chez *Arabidopsis thaliana*. Thèse de Doctorat, spécialité : biologie moléculaire végétale. Université Louis Pasteur : 212p.

- **Haghdel M. & Banihashemi Z.A.D. (2005).** Survival and host range of *Mycosphaerella graminicola* the causal agent of septoria leaf blotch of wheat. *Iranian journal of plant pathology* Volume **41**(4): 613-630.
- **Halama P. & Lacoste L. (1992).** Déterminisme de la reproduction sexuée du *Phaeosphaeria* (*Leptosphaeria*) *nodorum* agent de la septoriose du blé II. Action de la température et de la lumière. *Canadian Journal of Botany* **70**: 1563-1569.
- **Halama P.; Parguey-Leduc A. & Lacoste L. (1992).** Les organes de reproduction de l'ascomycète *Phaeosphaeria* (*Leptosphaeria*) *nodorum* et de la forme asexuée *Septoria nodorum*. *Canadian Journal of Botany* **70**: 1401-1408.
- **Halama P. (1996).** The occurrence of *Mycosphaerella graminicola*, teleomorph of *Septoria tritici* in France. *Plant Pathology* **45**: 135-138.
- **Halama P. (2002).** Mating relationship between isolates of *Phaeosphaeria nodorum* (anamorph *Stagonospora nodorum*) from geographical locations. *Eur. J. Plant Pathol.* **108**: 593-596.
- **Halperin T.; Schuster S.; Pnini-Cohen S. Zilberstein A. & Eyal Z. (1996).** The suppression of pycnidial production in wheat seedlings following sequential inoculation by isolates of *Septoria tritici*. *Phytopathology* **86**: 728-732.
- **Hamilton W.D.; Axelrodt R. & Tanese R. (1990).** Sexual reproduction as an adaptation to resist parasites (A Review). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. **87**: 3566-3573.
- **Harrabi M. ; Cherif M. ; Amara H. ; Ennaiffer Z. & Daaloul A. (1993).** In vitro selection for resistance to *Septoria tritici* in wheat. Proceedings of the *Septoria tritici* Workshop. 20-24 September 1993. CIMMYT, Mexico. 109-116.
- **Harrington T. C. & McNew D.L. (1997).** Self-fertility and uni-directional mating-type switching in *Ceratocystis coeruleus*, a filamentous ascomycete. *Curr Genet* **32**: 52-59.
- **Hayachi K. (1991).** PCR-SSCP: A Simple and Sensitive Method for Detection of Mutations in the Genomic DNA. *Cold Spring Harbor Laboratory Press* 1, ISSN 1054-9803/91: 34-38.
- **Hayachi K. (1992).** A method for the detection of mutations. *Genet. Anal. Tech. Appl.* **9**: 73-79.
- **Hess D. E. & Shaner G. (1987).** Effect of moisture on *Septoria tritici* blotch development of wheat in the field. *Phytopathology* **77**: 220-226.
- **Hess D. E. & Shaner G. (1987a).** Effect of moisture and temperature on *Septoria tritici* blotch development in wheat. *Phytopathology* **77**: 215-219.
- **Hitte Ch. (2009).** Organisation du génome et polymorphisme génétique. Support pédagogique, université de Rennes : 47p.
- **Hobbelen P.H.F.; Paveley N.D.; Fraaije B.A.; Lucas J.A. & van den Bosch F. (2011).** Derivation and testing of a model to predict selection for fungicide resistance. *Plant Pathol.* **60**: 304-313.
- **Hobbelen P.H.F.; Paveley N.D. & van den Bosch F. (2014).** The Emergence of Resistance to Fungicides. *PLoS ONE* **9**(3): e91910. doi:10.1371/ journal.pone.0091910.
- **Hollaway G. (2014).** *Septoria tritici* blotch of Wheat. The Victorian Government Department of Environment and Primary Industries, Melbourne, May 2014, ISSN 1329-8062: 2p.
- **Hoorne C.; Lamari L.; Gilbert j. & Ballance G.M. (2002).** First report of *Mycosphaerella graminicola*, the sexual state of *Septoria tritici*, in Manitoba, Canada. *Can. J. Plant Pathol.* **24**: 445-449.
- **Humphries S.E.; Gudnason V.; Whittall R. & Ian N.M. (1997).** Single-strand conformation polymorphism analysis with high throughput modifications, and its use in mutation detection in familial *hypercholesterolemia*. *Clinical Chemistry* **43** (3): 427-435.

- **Hunter R.; Coker R.R. & Royle D.J. (1999).** The teleomorph stage, *Mycosphaerella graminicola*, in epidemics of septoria tritici blotch on winter wheat in UK. *Plant pathology* **48**: 51-57.

- **Hysing S.C. (2007).** Genetic Resources for Disease Resistance Breeding in Wheat Characterization and Utilization. Thèse de Doctorat. *Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp* : 179p.

-I-

- **Ijaz M. (2012).** Effect of Triazole and Strobilurin Fungicides on Seed Yield and Grain Quality of Winter Rapeseed (*Brassica napus* L.). Thèse de Doctorat, Faculty of Agricultural and Nutritional Sciences, and Environmental Management Justus Liebig University Giessen, Germany : 169p.

- **INERIS: Normes de Qualité Environnementale. (2012).** Azoxystrobine, n° cas 131860-33-8 : 20p.

- **Ishii H. (2009).** QoI Fungicide Resistance: Current Status and the Problems Associated with DNA-Based Monitoring. In : Gisi *et al.* (2009). *Plant Pathology in the 21st Century: Contributions to the 9th International Congress. Recent Developments in Management of Plant Diseases.* Chapter 3. Edit. Springer Dordrecht Heidelberg London New York : 37-45.

-J-

- **Jabs T.; Pfirrmann J.; Schafer S.; Wu Y.X. & Tiedermann A.V. (2002).** Anti-oxxydative and anti-senescence effect of strobilurin Pyrachlostobin in plants. A new strategy to cop whith environmental stress in cereals. In : Proceeding of the BCPC Conference , Pests and Diseases, 18-21 novembre 2002. Brighton, UK. Vol. **2**: 941-946.

- **Jackson L.F.; & Wennig R.W. (1997).** Use of wheat cultivar blends to improve grain yield and quality and reduce disease and lodging. *Field Crops Research* **52**: 261-269.

- **Jakobsson M.; Edge M. D.; & Rosenberg N. A. (2013).** The Relationship between F_{ST} and the frequency of the most frequent allele. *Genetics*, Vol. **193** : 515–528.

- **Jayaraman K. (1999).** Manuel de statistique pour la recherche forestière. *Kerala Forest Research Institute Peechi, Thrissur, Kerala (Inde)*. Edit. FAO. : 242p.

- **Jellis G.; Kelly C.; Clark B.; Barn B. & al. (2008).** The encyclopedia of cereal diseases. Edit. HGCA & BASF: 44-70.

- **Jiang J.; Ding L. ; Michailides T.J. ; Li H. & Ma Z. (2009).** Molecular characterization of field azoxystrobin-resistant isolates of *Botrytis cinerea*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 02/2009; DOI:10.1016/j.pestbp.2008.11.004 ·

- **Jing H-C.; Korniyukhin D.; Kanyuka K.; Orford S.; Zlatska A. & al. (2007).** Identification of variation in adaptively important traits and genome-wide analysis of trait–marker associations in *Triticum monococcum*. *Journal of Experimental Botany*, Vol. **58** (13) : 3749–3764.

- **Jing H-C.; Lovell D.; Gutteridge R.; Jenk D.; Korniyukhin D. & al. (2008).** Phenotypic and genetic analysis of the *Triticum monococcum*–*Mycosphaerella graminicola* interaction. *New Phytologist* **179**: 1121–1132.

- **Jilbene, M., Gustafson, J.P., & Rajaram, S. (1992)** A field disease evaluation method for selecting wheat resistant to *Mycosphaerella graminicola*. *Plant Breeding*. **108**: 26-32.

- **Jones G. D. (1985).** Partial resistance, cultivar mixture and epidemic development in the *Septoria nodorum*-wheat association. in : Scharen A.L. (1985). *Septoria of cereals: Proceeding of the workshop*, Montana State University, Bozeman. : 108.

- **Jürgens T.; Linde C.C. & McDonald B.A. (2006).** Genetic structure of *Mycosphaerella graminicola* populations from Iran, Argentina and Australia. *European Journal of Plant Pathology* **115**: 223–233.

-K-

- **Kabbage M. (2007).** Amplified fragment length polymorphism in *Mycosphaerella graminicola*. Thèse de Doctorat. Department of plant pathology, College Of Agriculture Kansas State University Manhattan, Kansas, USA: 88p.
- **Kabbage M.; Leslie J.F.; Zeller K.A.; Hulbert S.H. & Bockus W.W. (2008).** Genetic diversity of *Mycosphaerella graminicola*, the causal agent of Septoria tritici blotch, in Kansas winter wheat. *Journal of Agricultural, Food and environmental Sciences* 2: 1-9.
- **Kabbage M.; Leslie J.F.; Hulbert S.H. & Bockus W.W. (2009).** Comparison of natural populations of *Mycosphaerella graminicola* from single fields in Kansas and California. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 74 : 55–59.
- **Kandula D.R.W.; Jones E.E.; Stewart A.; McLean K.L. & Hampton J.G. (2015).** *Trichoderma* species for biocontrol of soil-borne plant pathogens of pasture species. *Biocontrol Science and Technology* 25 (9):1052-1069.
- **Kanungo M. & Joshi J. (2014).** Impact of Pyraclostrobin (F-500) on Crop Plants. *Plant Science Today* 1(3): 174-178.
- **Kebede T. & Payne T.S. (2000).** Field response of bread wheat genotypes to *Septoria tritici* blotch. In : The Eleventh Regional Wheat Workshop For Eastern, Central and Southern Africa, Addis Ababa, Ethiopia 18-22 September, 2000 . Edit. CIMMYT: 169-182.
- **Kellner R.; Bhattacharyya A.; Poppe S.; Hsu T.Y.; Brem R.B. & al. (2014).** Expression Profiling of the Wheat Pathogen *Zymoseptoria tritici* Reveals Genomic Patterns of Transcription and Host-Specific Regulatory Programs. *Genome Biol. Evol.* 6 (6) : 1353–1365.
- **Kelm C.; Ghaffary S.M.T.; Bruelheide H.; Röder M.S.; Miersch S. & al. (2012).** The genetic architecture of seedling resistance to Septoria tritici blotch in the winter wheat doubled-haploid population Solitar 3 Mazurka. *Mol. Breeding* 29: 813–830
- **Kema G.H.J. & Annone J.G. (1991).** In vitro production of pycnidia by *Septoria tritici*. *Neth. J. Pl. Path.* 97: 65-72.
- **Kema G.H.J. (1996).** *Mycosphaerella graminicola* on wheat, genetic variation and histopathology. Thèse de Doctorat. Van de Landbouwniversiteit te Wageningen. : 126p.
- **Kema G.H.J.; Yu D.; Rijkenberg F.H.J.; Shaw M.W. & Baayen R. (1996).** Histology of the pathogenesis of *Mycosphaerella graminicola* in wheat. *Biochemistry and Cell Biology* 86: 777-786.
- **Kema G.H.J.; Verstappen E.C.P.; Todorova M. & Waalwijk C. (1996a).** Successful crosses and molecular tetrad and progeny analyses demonstrate heterothallism in *Mycosphaerella graminicola*. *Current Genetics* 30: 251-258.
- **Kema G.H.J.; Annone J.G.; Sayoud R.; Van Silfhout C.H.; Van Ginkel M. & al. (1996b).** Genetic variation for virulence and resistance in the wheat-*Mycosphaerella graminicola* pathosystem. I. Interactions between pathogen isolates and host cultivars. *Phytopathology* 86: 200-212.
- **Kema G.H.J.; Sayoud R.; Annone J.G. & Van Silfhout C.H. (1996c).** Genetic variation for virulence and resistance in the wheat-*Mycosphaerella graminicola* pathosystem. II. Analysis of interactions between pathogen isolates and host cultivars. *Phytopathology* 86: 213-220.
- **Kema G.H.J. & Van Silfhout C.H. (1997).** Genetic variation for virulence and resistance in the wheat-*Mycosphaerella graminicola* pathosystem. III. Comparative seedling and adult plant experiments. *Phytopathology* 87: 266-272.

- **Kema G.H.J. & Verstappen E.C.P. (1999).** Genetic Control of Avirulence in *Mycosphaerella graminicola* (Anamorph *Septoria tritici*). In: Van Ginkel M.; McNab A. & Krupinsky J. (1999). *Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: A Compilation of Global Research Proceedings of the Fifth International Septoria Workshop* September 20-24, 1999 CIMMYT, Mexico: 51-52.
- **Kema G.H.J.; Verstappen E.C.P. & Waalwijk C. (2000).** Avirulence in the wheat septoria tritici leaf blotch fungus *Mycosphaerella graminicola* is controlled by a single locus. *Molecular Plant-Microbe Interaction* **13**: 1375-1379.
- **Kema G.H.J.; Goodwin S.B.; Hamza S.; Verstappen E.C.P.; Cavaletto J.R. & al., (2002).** A Combined Amplified Fragment Length Polymorphism and Randomly Amplified Polymorphism DNA Genetic Linkage Map of *Mycosphaerella graminicola*, the Septoria Tritici Leaf Blotch Pathogen of Wheat. *Genetics* **161**: 1497–1505.
- **Kema G.H.J.; Verstappen E.; van der Lee T.; Mendes O.; Sandbrink H. & al. (2003).** Gene hunting in *Mycosphaerella graminicola*. In : proceeding of the 22nd Fungal Genetics Conference, Asilomar, CA, USA.: 252.
- **Kema G.H.J.; Van Der Lee T.A.J.; Mendes O.; Verstappen E.C.P.; Lankhorst R.K. & al. (2008).** Large-scale gene discovery in the Septoria tritici blotch fungus *Mycosphaerella graminicola* with a focus on *in planta* expression. *Molecular Plant-Microbe Interaction* **21**: 1249-1260.
- **Kema G.H.J.; Ware S.B.; van der Lee T.A.J.; Wittenberg A.H.J.; Diaz C. & al. (2010).** The dodge of blotch: Saving sex in *Mycosphaerella graminicola*. Poster presentation in symposium. Parallel session 5: Fungal Way of Living: Sex and Other Encounters . PS 5.1: 37.
- **Keon J. & Hargreaves J. (1998).** Isolation and heterologous expression of a gene encoding 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase from the wheat leaf-spot pathogen, *Mycosphaerella graminicola*. *FEMS Microbiology Letters* **161**: 337-343.
- **Keon J.; Rudd J.J.; Antoniw J.; Skinner W.; Hargreaves J. & al. (2005).** Analysis of expressed sequence tags from the wheat leaf blotch pathogen *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*). *Fungal Genetics Biology* **42**(5): 376-389.
- **Kildea S.; Ransbotyn V.; Khan M.R.; Fagan B.; Leonard G. & al. (2008).** *Bacillus megaterium* shows potential for the biocontrol of septoria tritici blotch of wheat. *Biological Control* **47**: 37–45.
- **Kildea S.; Dunne B.; Mullins E.; Cooke L. R.; Mercer P. C. & al. (2010).** Pyraclostrobin reduces germ tube growth of QoI-resistant *Mycosphaerella graminicola* pycnidiospores and the severity of septoria tritici blotch on winter wheat. *Plant Pathology* **59** : 1091–1098.
- **Kim Y.S.; Dixon E.W.; Vincelli P. & Farman M.L. (2003).** Field resistance to strobilurin (QoI) fungicides in *Pyricularia grisea* caused by mutations in the mitochondrial cytochrome *b* gene. *Phytopathology* **93**:891-900.
- **Knight B. & Turner R. (2009).** *Fungicides in combinable crops in the UK*. Rreport on economic, financial and market studies to demonstrate the economic value of research carried out by Rothamsted research. *Topic No 1: Agrochemical Resistance*. : 27p.
- **Köehle H.; Grossmann K.; Retzlaff G.; Saur R.; Akers A. & al. (1997).** The yield physiology of kresoximmethyl. *The Agronomist* Vol. 3: 11-14.
- **Kollers S.; Rodemann B.; Ling J.; Korzun V.; Ebmeyer E. & al. (2013).** Genetic resistance to Septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in European winter wheat. *Mol. Breeding* **32**: 411- 423.
- **Kolomiets S. (1999).** Populations of *Septoria* spp. Affecting Winter Wheat in the Forest-Steppe Zone of the Ukraine. In: Van Ginkel M.; McNab A. & Krupinsky J. (1999). *Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: A compilation of Global Research Proceedings of the Fifth International Septoria Workshop* September 20-24, 1999 CIMMYT, Mexico: 32-33.
- **Komijani S.; Razavi M.; Aminian H.A. & Etebarian H.R. (2009).** Study on mating types of *Mycosphaerella graminicola* causative agent of septoria leaf blotch of wheat using molecular markers and its importance in Iran. *Applied entomology and phytopathology* **76** (2):1-14.

- **Komijani S.; Razavi M. & Aminian H.A. (2010).** Study on the genetic diversity of *Mycosphaerella graminicola* cause of Septoria leaf blotch of wheat in Iran using SSR, SCAR and REP-PCR Markers. *Iran. J. Plant Path.* Vol. **45** (4): 79-81.
- **Kraft T.; Sall T.; Magnusson-Rading I.; Nilsson N. O. & Hallden C. (1998).** Positive correlation between recombination rates and levels of genetic variation in natural populations of sea beet (*Beta vulgaris* subsp. *maritima*). *Genetics* **150**:1239-1244.
- **Kraiczky P.; Haase U.; Gencic S.; Flindt S.; Anke T. & al. (1996).** The molecular basis for the natural resistance of the cytochrome bc1 complex from strobilurin-producing basidiomycetes to center QP inhibitors. *Eur. J. Biochem.* **235**: 54-63.
- **Kramer W.; Schirmer U. ; Jeschke P. & Witschel M. (2012).** Modern crop protection compounds. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany.
- **Kronstad J.W. & Staben C. (1997).** Mating type in filamentous fungi. *Annual review of genetics* **31**: 245-276.
- **Kumar S. & Rani A. (2013).** Fungicide resistance: a major challenge in plant disease control .*International Journal of Applied Biosciences*. Vol. **1(3)**: 35-47.

-L-

- **Leadbeater A. & Gisi U. (2009).** The Challenges of Chemical Control of Plant Diseases. In Gisi et al. (2009). Recent Developments in Management of Plant Diseases. Chapitre 1. Edit. Springer Dordrecht Heidelberg London New York : 3-18.
- **Leblois R. (2009).** Génétique des populations: Dérive, migration, extinction et F-statistiques. (Support pédagogique). Module ENS. UMR7205 : Origine, Structure et Evolution de la biodiversité : 163p.
- **Lee N.; Bakkeren G.; Wong K.; Sherwood J.E. & Kronstad J.W. (1999).** The mating-type and pathogenicity locus of the fungus *Ustilago hordei* spans a 500-kb region. *PNAS*, Vol. **96** N° 26 : 1524-1531.
- **Lee J.; Lee T.; Lee Y-W. ; Yun S-H. & Turgeon B.G. (2003).** Shifting fungal reproductive mode by manipulation of mating type genes: obligatory heterothallism of *Gibberella zeae*. *Molecular Microbiology* **50**(1) : 145-152.
- **Lee S.H.; Ni M.; Li W.; Shertz C. & Heitman J. (2010).** The Evolution of Sex: a Perspective from the Fungal Kingdom. *Microbiology and molecular biology reviews*, Vol. **74** N° 2: 298-340.
- **Legrève A. (2013).** Pourquoi *Mycosphaerella graminicola* développe-t-il si facilement des résistances aux fongicides ? Petite histoire d'un grand stratège !. *Livre Blanc « Céréales » – Février*. Chapitre 6: Lutte intégrée contre les maladies. Problématique de résistance : 1-6.
- **Le Guyader H. (2008).** La biodiversité : un concept flou ou une réalité scientifique ?. *Courrier de l'environnement de l'INRA* N° **55** (février) : 7- 26.
- **Leroux P. & Delorme R. (1997).** La respiration cellulaire. *Phytoma* **494** :17-23.
- **Leroux P. (2003).** Résistances des champignons phytopathogènes aux fongicides. Ce que l'on sait sur elles et les moyens de les gérer. *Phytoma* N° de décembre. Disponible sur: [http://www.phytoma-ldv.com/auteurs.php?auteurid=10149&page_avis=2].
- **Leroux P.; Albertini C.; Arnold A.; Bach J.; Chapeland F. & al. (2003).** Mécanismes moléculaires des résistances aux fongicides chez *Botrytis cinerea*. INRA Versailles. Unité de Phytopharmacie & Médiateurs Chimiques, Rapport de projet: 17p.
- **Leroux P.; Walker A-S.; Albertini C. & Gredt M. (2006).** Resistance to fungicides in French populations of *Septoria tritici*, the causal agent of wheat leaf blotch. *Aspects of Applied Biology* **78**: 153-162.

- **Leroux P.; Albertini C.; Gautier A.; Gredt M. & Walker A-S. (2007).** Mutations in the *CYP51* gene correlated with changes in sensitivity to sterol 14 α -demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* **63**: 688-698.
- **Leroux P. & Walker A-S. (2009).** La septoriose du blé continue d'évoluer. INRA Versailles UMR-Biogère CPP.
- **Leroux P.; Gredt M.; Leroux M. & Walker A-S. (2010).** Exploring Mechanisms of Resistance to Respiratory Inhibitors in Field Strains of *Botrytis cinerea*, the Causal Agent of Gray Mold. *Applied and environmental microbiology* Vol. **76** N° 19: 6615–6630.
- **Leslie J.F. & Klein K.K. (1996)** Female fertility and mating-type effects on effective population size and evolution in filamentous fungi. *Genetics* **144**:557–567.
- **Levy L. (2003).** Isolation and genotypic diversity of two *Mycosphaerella graminicola* populations from Australia. Projet de recherche. *ETH Phytopathology Group*. : 23p.
- **Levy E.; Eyal Z. & Chet I. (1988)** Suppression of Septoria tritici blotch and leaf rust on wheat seedling leaves by pseudomonads. *Plant Pathology* **37**: 551-557.
- **Levy E.; Eyal Z.; Carmely S.; Kashman Y. & Chet I. (1989)** Suppression of *Septoria tritici* and *Puccinia recondita* of wheat by an antibiotic-producing fluorescent pseudomonad. *Plant Pathology* **38**: 564-570.
- **Levy E.; Eyal Z. & Hochman A. (1992).** Purification and characterization of a catalase-peroxidase from the fungus *Septoria tritici*. *Arch. Biochem. Biophys.* **296** (1):321-327.
- **Lewontin R.C. (1988).** On measures of gametic disequilibrium. *Genetics* **120** (3): 849-852.
- **Li W.H. & Graur D. (1991)** Fundamentals of molecular evolution. Eds. *Sinauer Associates Inc.* Sunderland, Massachusetts: 443 p.
- **Li W.; Metin B.; White T.C. & Heitman J. (2010).** Organization and Evolutionary Trajectory of the Mating-Type (*MAT*) Locus in Dermatophyte and Dimorphic Fungal Pathogens. *Eukaryotic Cell* Vol. **9** N° 1 : 46–58.
- **Linde C.C.; Zhan J. & McDonald B.A. (2002).** Population structure of *Mycosphaerella graminicola*: from lesions to continents. *Phytopathology* **92**(9): 946-955.
- **Liu F.; Niu Y. ; Deng H. & Tan G. (2007).** Mapping of a Major Stripe Rust Resistance Gene in Chinese Native Wheat Variety Chike Using Microsatellite Markers. *Journal of Genetics and Genomics* **34**(12): 1123-1130.
- **Liu Y.; Zhang L.; Thompson I.A.; Goodwin S.B. & Ohm H.W. (2012).** Molecular mapping re-locates the Stb2 gene for resistance to Septoria tritici blotch derived from cultivar Veranopolis on wheat chromosome 1BS. *Euphytica* DOI 10.1007/s10681-012-0796-8.
- **Loughman R.; Wislon R.E. & Thomas G.J. (1996).** Components of resistance to *Mycosphaerella graminicola* and *Phaeosphaeria nodorum* in spring wheats. *Euphytica* **89**: 377-385.
- **Lourd M. (1995).** Diversité génétique des populations de parasites des plantes : structure des populations et analyse de la diversité. In : **SERGE S. (1995).** *Modélisation en protection des cultures*. Edit. Paris : ORSTOM : 171-186.
- **Lovell D.J.; Parker S.R.; Hunter T.; Royle D.J. & Coker R.R. (1997).** Influence of crop growth and structure on the risk of epidemics by *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) in winter wheat. *Plant pathology* **46**: 126-138.
- **Lovell D.J.; Parker S.R.; Hunter T.; Welham S. J. & Nichols A. R. (2004).** Position of inoculum in the canopy affects the risk of septoria tritici blotch epidemics in winter wheat. *Plant Pathology* **53**: 11–21.
- **Lovell D.; Hunter T.; Powers S.; Parker S. & Van den Bosch F. (2004a).** Effect of temperature on latent period of septoria leaf blotch on winter wheat under outdoor conditions. *Plant Pathology* **53**: 170-181.

- Loyce C.; Meynard J.M.; Bouchard C.; Rolland B.; Lonnet P. & al. (2008). Interaction between cultivar and crop management effects on winter wheat diseases, lodging, and yield. *Crop Protection* **27** : 1131–1142.
- Ltfi A. & Sakkouhi L. (2008). La septoriose du blé dur: résistance variétale et impact de la maladie sur le rendement. *Ann. de l'INRAT* **81**: 74-86.

-M-

- Ma Z.; Felts D. & Michailides T.J. (2003). Resistance to azoxystrobin in *Alternaria* isolates from pistachio in California. *Pesticide Biochemistry and Physiology* Vol.77 (2):66-74.
- MacDonald W.; Peters R.D.; Coffin R.H. & Lacroix C. (2007). Effect of strobilurin fungicides on control of early blight (*Alternaria solani*) and yield of potatoes grown under two N fertility regimes". *Phytoprotection* Vol. **88** N° 1: 9-15.
- Mackels C. (2009). Modélisation des pertes de rendement des cultures de blé d'hiver au Grand-Duché de Luxembourg sur base de l'étude des surfaces photosynthétiquement actives. Thèse de Doctorat en Sciences et gestion de l'environnement. *Université de Liège* : 151p.
- Madariaga, B. R. (1984). Interactions of *Puccinia striiformis* and *Mycosphaerella graminicola* on wheat. Mémoire de Master en phytopathologie. *Montana State University Bozeman, Montana* : 100p.
- Madariaga B. R. & Scharen A. L. (1985). Septoria tritici blotch in Chilean wild oat. *Plant Dis.* **69**:126-127.
- Madhani H. (2009). Introduction to fungal genetics: *s. cerevisiae* genomes, life cycle, cell type-specification, chromosome behavior during mitosis and meiosis. *Genetics* **200A**: 20p.
- Magboul A.M.; Geng S.; Gilchrist D.G. & Jackson L.F. (1992). Environmental influence on the infection of wheat by *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* **82**: 1407-1413.
- Mahtour A. (2010). Images Radar des précipitations et durée d'humectation simulée pour l'évaluation des risques potentiels d'infection du blé d'hiver par la septoriose. Thèse de Doctorat en Sciences et gestion de l'environnement. *Université de Liège* : 223p.
- Malandrakis A.A.; Markoglou A.N. ; Nikou D.C. ; Vontas J.G. & Ziogas B.N. (2011). Molecular diagnostic for detecting the cytochrome b G143S-QoI resistance mutation in *Cercospora beticola*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **100** : 87–92.
- Mallik I.; Arabiat S.; Pasche J. S.; Bolton M. D.; Patel J. S. & al. (2014). Molecular characterization and detection of mutations associated with resistance to succinate dehydrogenase-inhibiting fungicides in *Alternaria solani*. *Phytopathology* **104**:40-49.
- Mann R. L.; Kettlewell P. S. & Jenkinson P. (2004). Effect of foliar-applied potassium chloride on septoria leaf blotch of winter wheat. *Plant Pathology* **53**: 653-659.
- Marano R.P. ; Maumary R.L. ; Fernandez L.N. & Rista L.M. (2012). Epidemiology of the diseases of wheat under different strategies of supplementary irrigation. *International Journal of Agronomy* Vol. **2012**, Article ID 407365:11p.
- Marroni M.V., Viljanen-Rollinson S.L.H.; Butler R.C. & Deng Y. (2006). Fungicide timing for the control of septoria tritici blotch of wheat. *New Zealand Plant Protection* **59**:160-165.
- Marshall R.; Kombrink A.; Motteram J.; Loza-Reyes E.; Lucas J. & al. (2011). Analysis of Two in Planta Expressed LysM Effector Homologs from the Fungus *Mycosphaerella graminicola* Reveals Novel Functional Properties and Varying Contributions to Virulence on Wheat1[W][OA]. *Plant Physiology* Vol. **156**: 756–769.
- Martinek P.; Svobodová I. & Věchet L. (2013): Selection of the wheat genotypes and related species with resistance to *Mycosphaerella graminicola*. *Agriculture (Poľnohospodárstvo)* Vol. **59** N°2: 65–73.

- **Marzani Q-A. (2011).** Fungicide resistance and efficacy for control of *pyrenophora teres* and *mycosphaerella graminicola* on barley and wheat. Thèse de Doctorat en Phytopathologie. *University of Nottingham*: 237p.
- **Mavroeidi V.I. & Shaw M.W. (2005).** Sensitivity distributions and cross resistance patterns of *Mycosphaerella graminicola* to fluquinconazole, prochloraz and azoxystrobin over a period of 9 years. *Crop Protection* **24**: 259-266.
- **Mavroeidi V.I. & Shaw M.W. (2006).** Effects of fungicide dose and mixtures on selection for triazole resistance in *Mycosphaerella graminicola* under field conditions. *Plant Pathology* **55**: 715–725
- **Mazouz H.; Saadaoui E.M.; Jlibene M. & El Bouami F. (2002).** Evidence of cytoplasm contributing resistance to specific groups of virulence of *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Shroeter in two bread wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.). *Field Crops Research* **79**: 197-206.
- **McCartney C.A.; Brule-Babel A.L. & Lamari L. (2002).** Inheritance of race-specific resistance to *Mycosphaerella graminicola* in wheat. *Phytopathology* **92**: 138-144.
- **McCartney C.A.; Brule-Babel A.L.; Lamari L. & Somers D.J. (2003).** Chromosomal location of race-specific resistance gene to *Mycosphaerella graminicola* in the spring wheat ST6. *Theoretical and Applied Genetics* **107**: 1181-1186.
- **McCartney H.A.; Fitt B.D.L. & West J.S. (2006).** Dispersal of foliar plant pathogens: mechanisms, gradients and spatial patterns. In Cooke *et al.* (2006). *The Epidemiology of Plant Diseases*. Second Edition, Chapitre 6. Edit. Springer: 159-193.
- **McDermott J.M. & McDonald B.A. (1993).** Gene flow in plant pathosystems. *Annu. Rev. Phytopathol.* **31**:353-373.
- **McDonald B.A.; McDermott J.M.; Goodwin S.B. & Allard R.W. (1989).** The population biology of host-pathogen interactions. *Annu. Rev. phytopathol.* **27**:77-94.
- **McDonald B.A. & Martinez J.P. (1990).** Restriction fragment length polymorphisms in *Septoria tritici* occur at a high frequency. *Current Genetics* **17**: 133-138.
- **McDonald B.A. & Martinez J.P. (1990a).** Restriction fragment length polymorphisms among *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*) isolates collected from a single wheat field. *Phytopathology* **80**: 1368-1373.
- **McDonald B.A. & Martinez J.P. (1991).** Chromosome length polymorphisms in a *Septoria tritici* population. *Curr. Genet.* **19**: 265-271.
- **McDonald B.A. & Martinez J.P. (1991a).** DNA Fingerprinting of the Plant Pathogenic Fungus *Mycosphaerella graminicola* (Anamorph *Septoria tritici*). *Experimental Mycology* **15**:146-158.
- **McDonald B.A. & McDermott J.M. (1993).** Population genetics of plant pathogenic fungi. Electrophoretic markers give unprecedented precision of analyses of genetic structure of populations. *BioScience* Vol. **43** N°5: 311-319.
- **McDonald B. A.; Miles J.; Nelson L. R. & Pettway R. E. (1994).** Genetic variability in nuclear DNA in field populations of *Stagonospora nodorum*. *Phytopathology* **84**:250-255.
- **McDonald B.A.; Pettway R. E.; Chen R.S.; Boeger J. M. & Martinez J. P. (1995).** The population genetics of *Septoria tritici* (teleomorph *Mycosphaerella graminicola*). *Can. J. Bot.* **73** (S1): 292–301.
- **McDonald B.A.; Mundt C.C. & Chen R.S. (1996).** The role of selection on the genetic structure of pathogen populations: Evidence from field experiments with *Mycosphaerella graminicola* on wheat. *Euphytica* **92**: 73-80.
- **McDonald B.A. (1997).** The Population Genetics of Fungi: Tools and Techniques. *Phytopathology* Vol. **87** N° 4: 448-453.

- McDonald B.A.; Zhan J.; Yarden O.; Hogan K.; Garton J. & Pettway R.E. (1999). The population genetics of *Mycosphaerella graminicola* and *Stagonospora nodorum*. In *Septoria on cereals: a study of pathosystems*. Edited by Lucas J.A., Bower P. and Anderson H.M. CABI Publishing, New York : 44-69.
- McDonald B.A. & Linde C.C. (2002). Pathogen population genetics, evolutionary potential and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* **45**: 349-379.
- McDonald B.A. (2004). Population Genetics of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor*. DOI:10.1094/PHI-A-2004-0524-01: 23p.
- McDonald M.C.; Razavi M.; Friesen T.L.; Brunner P.C. & McDonald B.A. (2012). Phylogenetic and population genetic analyses of *Phaeosphaeria nodorum* and its close relatives indicate cryptic species and an origin in the Fertile Crescent. *Fungal Genetics and Biology* **49**: 882–895.
- McDonald M.C.; Williams A.H.; Milgate A.; Pattemore J.A.; Solomon P.S. & Hane J.K. (2015). Next-generation re-sequencing as a tool for rapid bioinformatics screening of presence and absence of genes and accessory chromosomes across isolates of *Zymoseptoria tritici*. *Fungal Genetics and Biology* **79**: 71–75.
- McKendry A.L.; Henke G.E. & Finney P.L. (1995). Effects of Septoria leaf blotch on soft red winter wheat milling and baking quality. *Cereal chemistry* **72**: 142-146.
- Mehrabi R. (2006). Signaling pathways involved in pathogenicity and development of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. PhD thesis Wageningen University, The Netherlands : 176p.
- Mehrabi R. & Kema G.H.J. (2006). Protein Kinase A subunits of the ascomycete pathogen *Mycosphaerella graminicola* regulate asexual fructification, filamentation, melanization and osmosensing. *Molecular Plant Pathology* **7**: 565-577.
- Mehrabi R.; Zwiers L.H.; De Waard M. & Kema G.H.J. (2006). *MgHog1* regulates dimorphism and pathogenicity in the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Molecular plant-microbe interactions* **19**: 1262-1269.
- Mehrabi R.; Van der Lee T.A.J.; Waalwijk C. & Kema G.H.J. (2006a). *MgSlt2*, a cellular integrity MAP kinase of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*, is dispensable for penetration but essential for invasive growth. *Molecular plant-microbe interactions* **19**: 389-398.
- Mehrabi R.; Taga M. & Kema G.H.J. (2007). Electrophoretic and cytological karyotyping of the foliar wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* reveals many chromosomes with a large size range. *Mycologia* **99** (6): 868-876.
- Mehrabi R.; Ben M'Barek S.; Van Der Lee T.A.J. ; Waalwijk C.; de Wit P.J.G.M. & al. (2009). $G\alpha$ and $G\beta$ Proteins Regulate the Cyclic AMP Pathway That Is Required for Development and Pathogenicity of the Phytopathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Eukaryotic Cell* Vol. **8** N° 7: 1001–1013.
- Metcalfe R. J.; Shaw M. W. & Russell P. E. (2000). Effects of infection by *Mycosphaerella graminicola* on translocation of fluquinconazole in wheat seedlings. *Phytopathology* **90**:1345-1351.
- Metcalfe R. J.; Shaw M. W. & Russell, P. E. (2000a). The effect of dose and mobility on the strength of selection for DMI fungicide resistance in inoculated field experiments. *Plant Pathology* **49** : 546-557.
- Metzenberg R.L. & Glass N.L. (1990). Mating type and mating strategies in *Neurospora*. *Bioassays* **12**: 53-59.
- Mikaberidze A.; McDonald B.A. & Bonhoeffer S. (2013). Can high risk fungicides be used in mixtures without selecting for fungicide resistance? arXiv:1301.6561v1 [q-bio.PE]: 30 p.
- Mikaberidze A.; McDonald B.A. & Bonhoeffer S. (2014). How to develop smarter host mixtures to control plant disease?. *Institute of Integrative Biology, ETH Zurich* : 32p.
- Milgroom M.G. ; Lipari S.E.; Ennos R.A. & Liu Y-C. (1993). Estimation of the outcrossing rate in the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Heredity* **70**: 385-392.

- **Milgroom M.G. (1996).** Recombination and the multilocus structure of the fungal populations. *Annual Review of Phytopathology* **34**: 457-477.
 - **Mojerlou S.H.; Safaie N.; Alizadeh A. & Khelghatibana F. (2009).** Measuring and modeling crop loss of wheat caused by septoria leaf blotch in seven cultivars and lines in Iran. *Journal of Plant Protection Research* Vol. **49** N° 3: 257-262.
 - **Mojerlou S.H.; Safaie N.; Alizadeh A. & Khelghatibana F. (2009a).** Study of latent period and interactions between different *septoria tritici* genotypes and different wheat cultivars and lines in greenhouse. *Trakia Journal of Sciences* Vol. **7** N° 4: 7-17.
 - **Mojerlou S.H.; Safaie N. ; Alizadeh A. & Khelghatibana F. (2010).** Temporal analysis of septoria leaf blotch progress in wheat. *Agricultura Tropica Et Subtropica* Vol. **43** (4): 266-276.
 - **Morvan Y. (2006).** Les maladies fongiques du blé - La septoriose : *Septoria tritici* . BASF Agro. : 5p.
 - **Mullins J.G.L; Parker J.E.; Cools H.J., Togawa R.C.; Lucas J.A. & al. (2011)** Molecular Modelling of the Emergence of Azole Resistance in *Mycosphaerella graminicola*. PLoS ONE **6**(6): e20973. doi:10.1371/journal.pone.0020973.
 - **Mundt C.C.; Cowger C. & Garrett K.A. (2002).** Relevance of integrated disease management to resistance durability. *Euphytica* **124**: 245–252.
- N-**
- **Nagylaki T. (1998).** Fixation Indices in Subdivided Populations. *Genetics* **148**: 1325–1332.
 - **Naouari M.; Siah A.; Elgazzah M.; Reignault P. & Halama P. (2013).** Tunisian Population of the Wheat Pathogen *Mycosphaerella graminicola* is Still Fully Sensitive to Strobilurin Fungicides. *Journal of Agricultural Science and Technology A* 3: 955-959.
 - **Nei M. (1973).** Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. Vol. **70**, No. 12, Part I: 3321-3323.
 - **Nei M., 1987.** Molecular Evolutionary Genetics, Columbia University Press, New York : 512 p.
 - **Nolan S. & Cooke B.M. (2000).** Control of *Stagonospora nodorum* and *Septoria tritici* in wheat by pre-treatment with *Drechslera teres*, a non-host pathogen. *European Journal of Plant Pathology* **106**: 203–207.
 - **Nolting N. & Pöggeler S. (2006).** A MADS Box Protein Interacts with a Mating-Type Protein and Is Required for Fruiting Body Development in the Homothallic Ascomycete *Sordaria macrospora*. *Eukaryotic Cell* Vol. **5** N° 7: 1043–1056.
 - **Nyvall R.F. (1989).** Field crop disease hand book. Ed. Springer science, 2nd edition: 727-728.
- O-**
- **O'Driscoll A.; Kildea S.; Doohan F.; Spink J. & Mullins E. (2014).** The wheat–Septoria conflict: a new front opening up?. *Trends in Plant Science* xx: 1-9.
 - **Orita M.; Iwahanna H.; Kanasawa H.; Hayashi K. & Sekiya T. (1989).** Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single stranded conformation polymorphism. *Proceeding of National Academy of Science. USA* **86**: 2766-2770.
 - **Orton E.S.; Deller S. & Brown J.K.M. (2011).** *Mycosphaerella graminicola*: from genomics to disease control. *Molecular Plant Pathology* **12**(5) : 413–424.
 - **Otto J.N.E (2014).** Sélection et évolution de la résistance aux fongicides systémiques chez *Mycosphaerella fijiensis* agent causal de la maladie des raies noires des bananiers. Thèse de Doctorat. Spécialité : Evolution,

Ecologie, Ressources génétiques, Paléontologie (EERGP). *Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques Montpellier, France* : 144p.

- **Ouédraogo M. ; Maquet A. & Baudoin J.P. (2005).** Etude comparative de la diversité et de la structure génétique de populations sauvages de *Phaseolus lunatus* L. à l'aide des marqueurs enzymatiques et microsatellites. *Base* [En ligne] volume 9 N° 3 :195-205.

- **Owen P.G.; Pei M.; Karp A.; Royle D.J. & Edwards K. J. (1998).** Isolation and characterization of microsatellite loci in the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Molecular Ecology* 7: 1611–1612.

-P-

- **Palmer C.L. & Skinner W. (2002).** *Mycosphaerella graminicola*: latent infection, crop devastation and genomics. *Molecular Plant Pathology* 3: 63-70.

- **Palomar M.A.Q. (2014).** Impact of fungicide mode of action and application timing on the control of *Mycosphaerella graminicola* and the physiology and yield of wheat. Thèse de Doctorat. *Justus Liebig Universität Giessen*. Colombia : 190p.

- **Paoletti M.; Seymour F.A.; Alcocer M.J.C; Kaur N.; Calvo A.M. & al. (2007).** Mating Type and the Genetic Basis of Self-Fertility in the Model Fungus *Aspergillus nidulans*. *Current Biology* 17: 1384–1389.

- **Pariaud B.; Ravigné V.; Halkett F.; Goyeau H.; Carlier J. & al. (2009).** Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. *Plant Pathology* 58 : 409–424.

- **Paveley N. D.; Lockley D.; Vaughan T. B.; Thomas J.M. & Schmidt K. (2000).** Predicting effective fungicide doses through observation of leaf emergence. *Plant Pathology* 49: 748-766.

- **Paveley N. D.; Thomas J.M.; Vaughan T. B.; Havis N. D. & Jones D. R. (2003).** Predicting effective doses for the joint action of two fungicide applications. *Plant Pathology* 52: 638–647.

- **Payne A.C.; Grosjean-Cournoyer M.C. & Hollomon D.W. (1998).** Transformation of the phytopathogen *Mycosphaerella graminicola* to carbendazim and hygromycin B resistance. *Current Genetics* 34: 100-104.

- **Penaud A.; Printz P.; Maumené C.; Couleaud G.; Walker A.S. & al. (2011).** Des outils de raisonnement pour limiter et rendre durable la lutte chimique contre les bioagresseurs en grandes cultures. *Innovations Agronomiques* 17: 1-14.

- **Perello A.; Cordo C.A.; Arriaga H.O. & Alippi H.E. (1991).** Variation in virulence in isolates of *Septoria tritici* Rob. ex Desm. on wheat. *Agronomie* 11: 571-579.

- **Perello A.; Monaco C.; Moreno M.; Cardo C. A. & Simon M. (2006).** The effect of *Trichoderma harzianum* and *T. koningii* on the control of tan spot (*Pyrenophora tritici-repentis*) and leaf blotch (*Mycosphaerella graminicola*) of wheat under field conditions in Argentina. *ano*, Vol. 16 N° 8: 803-813.

- **Perello A.E.; Moreno M.V. Monaco C.; Simon M.R. & Cordo C. (2009).** Biological control of *Septoria tritici* blotch on wheat by *Trichoderma* spp. under field conditions in Argentina. *BioControl* 54:113–122.

- **Perez G.; Slippers B.; Wingfield B.D.; Hunter G.C. & Wingfield M.G. (2010).** Micro- and macroscale analyses illustrates mixed mating strategies and extensive gene flow in populations of an invasive haploid pathogen. *Molecular Ecology* 19: 1801–1813.

- **Pijls C. F. N.; Shaw M. W. & Parker A. (1994).** A rapid test to evaluate *in vitro* sensitivity of *Septoria tritici* to flutriafol, using a microtitre plate reader. *Plant Pathology* 43 : 726-732.

- **Pitel F. & Riquet J. (2000).** Les marqueurs anonymes et la détection de leur polymorphisme. In Bibé B. (2000). *Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales*. Edit. INRA Versailles : 42-49.

- **Pnini-Cohen S.; Zilberstein A.; Schuster S.; Sharon A. & Eyal Z. (2000).** Elucidation of *Septoria tritici* × wheat interactions using GUS-expressing isolates. *Phytopathology* 90: 297-304.

- **Pöggeler S.; Risch S.; Kiick U. & Osiewacz H.D. (1997).** Mating-Type Genes From the Homothallic Fungus *Sordaria macrospora* Are Functionally Expressed in a Heterothallic Ascomycete. *Genetics* **147**: 567-580.
- **Pöggeler S. (2001).** Mating type genes for classical strain improvement of ascomycetes. *Applied Microbiology and Biotechnology* **56**: 589–601.
- **Ponomarenko A.; Goodwin S.B. & Kema G.H.J. (2011).** Septoria tritici blotch (STB) of wheat. *APS net*. Doi:10.1094/PHI-I-2011-0407-01: 16p.
- **Poppe S. (2015).** Host specialization in the fungal plant pathogen *Zymoseptoria tritici*. Thèse de Doctorat en Biologie. *der Philipps-Universität Marburg* : 95p.

-Q-

- **Quaedvlieg W.; Kema G.H.J.; Groenewald J.Z.; Verkley G.J.M.; Seifbarghi S. & al. (2011).** *Zymoseptoria* gen. nov.: a new genus to accommodate *Septoria*-like species occurring on graminicolous hosts. *Persoonia* **26**: 57–69.
- **Quaedvlieg W.; Verkley G.J.M.; Shin H.-D., Barreto R.W. ; Alfenas A.C. & al. (2013).** Sizing up *Septoria*. *Studies in Mycology* **75**: 307–390.
- **Queiroz C.B. ; Miranda E.C. ; Hanada R.E. ; Sousa N.R. ; Gasparotto L. & al. (2010).** Distribution of mating-type alleles and M13 PCR markers in the black leaf spot fungus *Mycosphaerella fijiensis* of bananas in Brazil. *Genet. Mol. Res.* **12** (1): 443-452.

-R-

- **Raboin L.M.; Selvi A.; Oliveira K.M.; Paulet F.; Calatayud C. & al. (2007).** Evidence for the dispersal of a unique lineage from Asia to America and Africa in the sugarcane fungal pathogen *Ustilago scitaminea*. *Eur. J. Plant Pathol.* **44**: 64–76.
- **Raisonnier A. (2005).** Respiration Mitochondriale. Support pédagogique, Université Pierre et Marie Curie, faculté de médecine : 122p.
- **Rastoin J.L. & Benabderrazik E.H. (2014).** Céréales et oléoprotéagineux au Maghreb Pour un co-développement de filières territorialisées. IPMED (Institut de prospection économique du monde méditerranéen : 32p.
- **Rau D.; Maier F.J. ; Papa R. ; Brown A.H.D. Balmas V. & al. (2005).** Isolation and characterization of the mating-type locus of the barley pathogen *Pyrenophora teres* and frequencies of mating-type idiomorphs within and among fungal populations collected from barley landraces. *Genome* **48**: 855–869.
- **Ray S.; Anderson J.M.; Urmeev F.I. & Goodwin S.B. (2003).** Rapid induction of a protein disulfide isomerase and defense-related genes in wheat in response to the hemibiotrophic fungal pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Plant Molecular Biology* **53**: 741–754.
- **Razavi M. (2003).** Pathogenic and molecular variability in a population of *Mycosphaerella graminicola*, cause of septoria tritici leaf blotch of wheat. Thèse de Doctorat en Biologie végétale. *University of Saskatchewan Saskatoon* : 164p.
- **Razavi M. & Hughes G.R. (2004).** Microsatellite markers provide evidence for sexual reproduction of *Mycosphaerella graminicola* in Saskatchewan. *Genome* **47**: 789-794.
- **Razavi M. & Hughes G.R. (2004a).** Molecular variability of *Mycosphaerella graminicola* as detected by RAPD markers. *Journal of phytopathology* **152**: 543-548.
- **Reedy J.L.; Floyd A.M. & Heitman J. (2009).** Mechanistic Plasticity of Sexual Reproduction and Meiosis in the *Candida* Pathogenic Species Complex. *Current Biology* **19**: 891–899.

- Rezgui, S.; Fakhfakh M. M.; Boukef S.; Rhaïem A. ; Chérif Mo. & al. (2008). Effect of common cultural practices on Septoria leaf blotch disease and grain yield of irrigated durum wheat. *Tunisian Journal of Plant Protection* 3: 59-67.
- Rheinheimer J.; Terteryan V.; Redlich S.; Rosenbaum C.; Rohrer S.G. & al. (2014). Use of strobilurin type compounds for combating phytopathogenic fungi resistant to Qo inhibitors. Patent Application Publication Oct. 30, 2014 US 2014/0323305 A1: 66p.
- Robert C.; Bancal M-O.; Nicolas P.; Lannou C. & Ney B. (2004). Analysis and modelling of effects of leaf rust and Septoria tritici blotch on wheat growth. *Journal of Experimental Botany* Vol. 55 N° 399:1079-1094.
- Robert C.; Bancal M-O.; Lannou C. & Ney B. (2006). Quantification of the effects of Septoria tritici blotch on wheat leaf gas exchange with respect to lesion age, leaf number, and leaf nitrogen status. *Journal of Experimental Botany* Vol. 57 N° 1: 225–234.
- Robert S.; Ravigne V.; Zapater M.F.; Abadie C. & Carlier J. (2012). Contrasting introduction scenarios among continents in the worldwide invasion of the banana fungal pathogen *Mycosphaerella fijiensis*. *Molecular Ecology*: DOI:10.1111/j.1365-294X.2011.05432.x
- Rodriguez-Contreras M.E. (2008). Effect of resistance and height plant of wheat in *Septoria tritici* incidence and its expression in yield. Thèse de Doctorat en biologie. Collège de Post graduation, Mexique: 134p.
- Rodriguez-Contreras M.E.; Villaseñor-Mir H.E.; Leyva-Mir G. ; Huerta-Espino J. ; Sandoval-Islas J.S. & al. (2008). Effect of *Septoria tritici* on rainfed wheat yield in rainy environments of the central highlands of México. *Agrociencia* 16 Vol. 42 N° 4: 435-442.
- Roelfs A. P. & Groth J. V. (1980). A comparison of virulence phenotypes in wheat stem rust populations reproducing sexually and asexually. *Phytopathology* 70:855-862.
- Rohel A.E.; Payne A.C.; Fraaije B.A. & Hollomon D.W. (2001). Exploring infection of wheat and carbohydrate metabolism in *Mycosphaerella graminicola* transformants with differentially regulated green fluorescent protein expression. *Molecular plant-microbe interaction* 14: 1-7.
- Rohel A.E.; Laurent P.; Fraaije B.A.; Cavelier N. & Hollomon D.W. (2002). Quantitative PCR monitoring of the effect of azoxystrobin treatments on *Mycosphaerella graminicola* epidemics in the field. *Pest Management Science* 58: 248-254.
- Roohparvar R.; Zwiers L-H.; Kema G.H.J. & De Waard M.A. (2004). Characterization of an MFS transporter from *Mycosphaerella graminicola* as a potent multidrug transporter. *Gewasbescherming jaargang* 35 N°4: 221.
- Roohparvar R. (2007). Drug transporters of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. PhD Thesis, Wageningen University, the Netherlands: 184p.
- Roohparvar R.; De Waard M.A.; Kema G.H.J. & Zwiers L-H. (2007). MgMfs1, a major facilitator superfamily transporter from the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*, is a strong protectant against natural toxic compounds and fungicides. *Fungal Genetics and Biology* 44: 378–388.
- Roohparvar R.; Huser A Zwiers L-H.; & De Waard M.A. (2007a). Control of *Mycosphaerella graminicola* on wheat seedlings by medical drugs known to modulate the activity of atp-binding cassette transporters. *Applied And Environmental Microbiology* Vol. 73 N°15: 5011–5019.
- Roohparvar R.; Mehrabi R.; van Nistelrooy J.G.M.; Zwiers L-H. & De Waard M.A. (2008). The drug transporter MgMfs1 can modulate sensitivity of field strains of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* to the strobilurin fungicide trifloxystrobin. *Pest Management Science* 64: 685-693.
- Rosielle A.A. (1972). Sources of resistance in wheat to speckled leaf blotch caused by *Septoria tritici* . *Euphytica* 21: 152-161.
- Rosielle A.A. & Brown A.G.P. (1979). Inheritance, heritability and breeding behaviour of three sources of resistance to *Septoria tritici* in wheat. *Euphytica* 28 : 385 392.

- Rouzet J. & Eyries G. (1982). Les septorioses du blé. *Phytoma*, Avril: 3-16.
- Rudd J.J.; Antoniw J.; Marshall R.; Motteram J.; Fraaije B. & Hammond-Kosack K. (2010). Identification and characterisation of *Mycosphaerella graminicola* secreted or surface-associated proteins with variable intragenic coding repeats. *Fungal Genetics and Biology* 47: 19-32.
- Rudd J.J.; Kanyuka K.; Hassani-Pak K.; Derbyshire M.; Andongabo A. & al. (2015). Transcriptome and Metabolite Profiling of the Infection Cycle of *Zymoseptoria tritici* on Wheat Reveals a Biphasic Interaction with Plant Immunity Involving Differential Pathogen Chromosomal Contributions and a Variation on the Hemibiotrophic Lifestyle Definition. *Plant Physiol.* Vol. 167: 1158- 1185.
- S-
- Saadaoui E.M. (1987). Physiologic specialization of *Septoria tritici* in Morocco. *Plant Disease* Vol.71(2) : 153-155.
- Saari E. E. & Wilcoxson R. D. (1974). Plant disease situation of high yielding dwarf wheats in Asia and Africa. *Ann. Rev. Phytopathol.* 12: 49-68.
- Saari E. E. & Prescott J. M. (1975). A scale for appraising the foliar intensity of wheat diseases. *Plant Dis. Rep.* 59: 377-380.
- Saidi A.; Safaie N.; & Palizi P. (2012). Study on mating types and sensitivity to strobilurin fungicide in fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *J. Crop Prot.* 1 (4): 271-277.
- Samils N.; Gioti A.; Karlsson M.; Yu Sun Y.; Kasuga T. & al. (2013). Sex-linked transcriptional divergence in the hermaphrodite fungus *Neurospora tetrasperma*. *Proceeding of the royal society B* 280: rspb.royalsocietypublishing.org Proc. R. Soc. B. 280: 8p.
- Sanderson F.R. (1972). A *Mycosphaerella* species as the ascogenous state of *Septoria tritici* Rob. & Desm. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 21: 277-281.
- Sanderson F.R. (1976). *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Sanderson comb, nov., the ascogenous state of *Septoria tritici* Rob. and Desm. *New Zealand Journal of Botany* Vol.14: 359-60.
- Sanderson F.R. (1976a). *Mycosphaerella* species as the ascogenous state of *Septoria tritici* Rob. Ex Desm. *N. Z. J. Bot.* 10: 707-709.
- Sanderson F.R & Hampton J.G. (1978). Role of the perfect states in the epidemiology of the common *Septoria* diseases of wheat. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 21: 277-281.
- Sanssené J.; Selim S.; Roisin-Fichter C. ; Djerroud L. Deweer C. & al. (2011). Protective and curative efficacy of prothioconazole against isolates of *Mycosphaerella graminicola* differing in their *in vitro* sensitivity to DMI fungicides. *Pest Manag. Sci.* (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/ps.2163.
- Santos M.; Tarrio R.; Zapata C. & Alvarez G. (1986). Sexual selection on chromosomal polymorphism in *Drosophila subobscura*. *Heredity* 57:161-169.
- Saupe S.J. (2000). Molecular Genetics of Heterokaryon Incompatibility in Filamentous Ascomycetes. *Microbiology And Molecular Biology Reviews* Vol. 64 N° 3: 489–502.
- Sayoud R. (1995). Possible specialization of *Mycosphaerella graminicola* on durum wheats in Algeria. ISBN 968-6923-49-7. AGRIS Categories Plant diseases. International Maize and Wheat Improvement Centre, Library (Mexico) CIMMYT.
- Scalliet G.; Bowler J.; Luksch T.; Kirchhofer-Allan L.; Steinhauer D. & al. (2012). Mutagenesis and Functional Studies with Succinate Dehydrogenase Inhibitors in the Wheat Pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *PLoS ONE* 7(4): e35429. doi:10.1371/journal.pone. 0035429.

- Schalamuk S.; Velazquez S.; Simón M.R. & Cabello M. (2014). Effect of Septoria leaf blotch and its control with commercial fungicides, on arbuscular-mycorrhizal-fungal colonization, spore numbers, and morphotype diversity. *Journal Of Plant Protection Research* Vol. **54** No. 1 : 9-14.
- Scharen A.L. (1999). Biology of the *Septoria/Stagonospora* Pathogens: An Overview. In: Van Ginkel M.; McNab A. & Krupinsky J. (1999). *Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: A compilation of Global Research Proceedings of the Fifth International Septoria Workshop September 20-24, 1999 CIMMYT, Mexico*: 19-22.
- Schnieder F.; Koch G.; Jung C. & Verreet J.A. (2001). Genotypic diversity of the wheat leaf blotch pathogen *Mycosphaerella graminicola* (anamorph) *Septoria tritici* in Germany. *European Journal of Plant Pathology* **107**: 285–290.
- Schoch C.L.; Crous P.W.; Groenewald J.Z.; Boehm E.W.A.; Burgessa T.I. & al . (2009). A class-wide phylogenetic assessment of *Dothideomycetes*. *Studies in Mycology* **64**: 1-15.
- Schuh W. (1990). Influence of Tillage Systems on Disease Intensity and Spatial Pattern of Septoria Leaf Blotch. *Ecology and Epidemiology* Vol. **80** N° 12: 1337-1340.
- Schürch S. & Roy B.A. (2004). Comparing single- vs. mixed-genotype infections of *Mycosphaerella graminicola* on wheat: effects on pathogen virulence and host tolerance. *Evolutionary Ecology* **18**: 1–14.
- Schürch S.; Frei P.; Frey R.; Wullschleger J. & Sierotzki H. (2009). Septoriose du blé: sensibilité aux fongicides de la population suisse de *Mycosphaerella graminicola*. *Revue suisse Agric.* **41** (3): 167-170.
- Schürch S.; Frei P. & Sierotzki H. (2009a). Résistance aux fongicides chez *Mycosphaerella graminicola*. Résultats de projet. Département fédéral de l'économie DFE : 14p.
- Scott P.R.; Sanderson F. R. & P. W. Benedikz P.W.(1988). Occurrence of *Mycosphaerella graminicola* (teleomorph of *Septoria tritici*) on wheat debris in the UK. *Plant Pathology* **37** : 285-290.
- Sebei A. (2009). Contribution à l'étude de la variabilité de la résistance à la septoriose chez le blé dur et la virulence chez *Septoria tritici*. Conséquences sur le rendement. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Université 7 novembre carthage, Tunisie:136p.
- Seifbarghi S.; Razavi M.; Aminian H.; Zare R. & Etebarian H.R. (2009). Studies on the host range of *Septoria* species on cereals and some wild grasses in Iran. *Phytopathol. Mediterr.* **48**: 422-429.
- Selim Mr.; Legras-Klöpfel P.; Lépée M.; Leplay B.; Levacher E. & al. (2010). La septoriose du blé. Projet en pathologie végétale. Promotion 151 :12p.
- Selkoe K.A., Toonen R.J. (2006). Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecol Lett.* May; **9**(5): 615-629.
- Semar M.; Strobel D.; Koch A.; Klappach K. & Stammler G. (2007). Field efficacy of pyraclostrobin against populations of *Pyrenophora teres* containing the F129L mutation in the cytochrome *b* gene. *Journal of Plant Diseases and Protection* **114** (3): 117–119.
- Setti B.; Bencheikh M. & Henni D.E. (2012). Microsatellites Markers, an Efficient Tool in Phytopathogenic Fungus Population Studies: Background and Applications. *European Journal of Scientific Research* Vol. **84** N°2: 223 – 235.
- Setti B.; Bencheikh M.; Henni D.E. & Neema C. (2012a). Genetic variability and population structure of *Mycosphaerella pinodes* in western Algeria using aflp fingerprinting. *Journal of Plant Pathology* **94** (1):127-133.
- Shaw M.W. & Royle D. J. (1989). Airborne inoculum as a major source of *Septoria tritici* (*Mycosphaerella graminicola*) infections in winter wheat crops in the UK. *Plant Pathology* **38** :35-43.
- Shaw M.W. (1990). Effects of temperature, leaf wetness and cultivar on the latent period of *Mycosphaerella graminicola* on winter wheat. *Plant Pathology* **39**: 255-268.

- Shaw M.W. (1991).** Interacting effects of interrupted humid periods and light on infection of wheat leaves by *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*). *Plant Pathology* **40**:595-607.
- **Shaw M. W. & Royle D. J. (1992).** Airborne inoculum as a major source of *Septoria tritici* (*Mycosphaerella graminicola*) infections in winter wheat crops in the UK. *Plant Pathol.***42**:882-899.
- **Shaw M.W. & Royle D.J. (1993).** Factors determining the severity of epidemics of *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) on winter wheat in the UK. *Plant Pathology* **42**: 882-899.
- **Shaw M.W.; Bearchell, S. J.; B.D.L.; Fitt B.D.L.; & Fraaije B. A. (2008).** Long-term relationships between environment and abundance in wheat of *Phaeosphaeria nodorum* and *Mycosphaerella graminicola*. *New Phytologist* **177**: 229–238.
- **Shaw M.W. (2014).** The population dynamics of disease on short and long time-scales. *Eur. J. Plant Pathol.* **138**: 487- 497. DOI 10.1007/s10658-013-0339-8.
- **Shetty N.P.; Kristensen B.K.; Newman A.; Møller K.; Gregersen P.L. & al. (2003).** Association of hydrogen peroxide with restriction of *Septoria tritici* in resistant wheat. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **62**: 333–346.
- **Shetty N.P.; Mehrabi R.; Lütken H.; Haldrup A.; Kema G.H. J. & al. (2007).** Role of hydrogen peroxide during the interaction between the hemibiotrophic fungal pathogen *Septoria tritici* and wheat. *New Phytologist* **174**: 637–647.
- **Shtienberg D. (1990).** Effect of foliar diseases of wheat on the physiological processes affecting yield under semi-arid conditions. *Plant Pathology* **40**: 533-541.
- **Shtienberg D. (1991).** Effects of moistures and *Septoria tritici* Blotch stresses on wheat yealds Under semi-arid conditions: A simulation study. *Phytoparasitica* **19** (4): 301-310.
- **Shtienberg D. (1992).** Effects of seed treatment with thiabendazole on *Septoria* leaf Blotch and growth wheat. *Plant disease* Vol. **76** N° 2: 178-182.
- **Siah A. (2009).** Distribution et polymorphisme des *mating types*, variabilité du pouvoir pathogène et résistance aux strobilurines au sein d’une population française de *Mycosphaerella graminicola*, agent de la septoriose du blé. Thèse de Doctorat. Discipline : Ingénierie des Fonctions Biologiques. *Université du Littoral Côte d’Opale, France* : 281p.
- **Siah A.; Deweer C.; Morand E.; Reignault Ph. & Halama P. (2010).** Azoxystrobin resistance of French *Mycosphaerella graminicola* strains assessed by four in vitro bioassays and by screening of G143 A substitution. *Crop Protection* **29**:737-743.
- **Siah A.; Tisserant B.; El Chartouni L.; Duyme F.; Deweer C. & al. (2010a).** Mating type idiomorphs from a French population of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*: widespread equal distribution and low but distinct levels of molecular polymorphism. *Fungal biology* **114**: 980-990.
- **Siah A.; Elbekali A. Y.; Ramdani A.; Reignault P.; Torriani S. F. F. & al. (2014).** QoI Resistance and Mitochondrial Genetic Structure of *Zymoseptoria tritici* in Morocco. *Plant disease* **98** (8): 1138-1144.
- **Sierotzki, H., S. Parisi, U. Steinfeld, I. Tenzer, S. Poirey, and U. Gisi. (2000).** Mode of resistance to respiration inhibitors at the cytochrome *bc1* enzyme complex of *Mycosphaerella fijiensis* field isolates. *Pest Management Science* **56**: 833-841.
- **Sierotzki H.; Wullschlegler J. & Gisi U. (2000a).** Point Mutation in Cytochrome *b* Gene Conferring Resistance to Strobilurin Fungicides in *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* Field Isolates. *Pesticide Biochemistry and Physiology* Vol. **68**:107-112.
- **Sierotzki H.; Frey R.; Wullschlegler J.; Palermo S.; Karlin S. & al. (2007).** Cytochrome *b* gene sequence and structure of *Pyrenophora teres* and *P. tritici* – *repentis* and implications for QoI resistance. *Pest management Science* **63** (3): 225-233.

- **Sierotzki H. & Scalliet G. (2013).** Review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. *Phytopathology* Vol. **103** N°9: 880-887.
- **Simon M.R.; Perello A.E.; Cordo C.A. & Struik P.C. (2002).** Influence of *Septoria tritici* on Yield, Yield components, and test weight of wheat under two nitrogen fertilization conditions. *Crop. Sci.* **42**: 1974-1981.
- **Simon M.R.; Ayala F.M.; Cordo C.A.; Roder M.S.; & Börner A. (2004).** Molecular mapping of quantitative trait loci determining resistance to *Septoria tritici* blotch caused by *Mycosphaerella graminicola* in wheat. *Euphytica* **138**: 41-48.
- **Simon M.R.; Worland A.J. & Struik P.C. (2004a).** Influence of plant height and heading date on the expression of the resistance to *Septoria tritici* Blotch in near isogenic lines of wheat. *Crop. Sci.* **44**: 2078-2085.
- **Simon M.R.; Ayala F. M.; Cordo C.A.; Roder M. S.; & Börner A. (2007).** The use of heat/goatgrass introgression lines for the detection of gene(s) determining resistance to *Septoria tritici* blotch (*Mycosphaerella graminicola*). *Euphytica* **154**: 249-254.
- **Simon M.R.; Khlestkina E.K.; Castillo N.C. & Börner A. (2010).** Mapping quantitative resistance to *Septoria tritici* blotch in spelt wheat. *Eur. J. Plant. Pathol.* **128**: 317-324.
- **Simon M.R.; Cordo C.A.; Castillo N.S.; Struik P.C. & Börner A. (2012).** Population Structure of *Mycosphaerella graminicola* and Location of Genes for Resistance to the Pathogen: Recent Advances in Argentina. *International Journal of Agronomy* Vol. 2012, Article ID 680275, 7 pages doi:10.1155/2012/680275.
- **Singh P. K.; Mergoum M.; Ali S.; Adhikari T.B.; Elias E.M. & al. (2006).** Identification of New Sources of Resistance to Tan Spot, *Stagonospora nodorum* Blotch, and *Septoria tritici* Blotch of Wheat. *Crop Sci.* **46**: 2047-2053.
- **Sivanesan. A. (1990).** List of sets, index of species, and list of accepted names for some obsolete species names in CMI. Descriptions of pathogenic Fungi and Bacteria sets 1-100, Nos. 1-1000, issued January 1964-March 1990. *Mycopathologie* **11**: 91-108.
- **Soballe B. & Poole R.K. (1999).** Microbial ubiquinones: multiple roles in respiration, gene regulation and oxidative stress management. *Microbiology* **145**: 1817-1830.
- **Somai-jemmal L.; Selim S.; Siah A. & Hamada W. (2014).** Fungicide sensitivity of *Mycosphaerella graminicola* Tunisian isolates: the importance of drug transporter genes in the process of fungicide tolerance. *Phytopathologia Mediterranea* **53**: 83-93.
- **Somasco O.A.; Qualset C.O. & Gilchrist D.G. (1996).** Single-gene resistance to *Septoria tritici* blotch in the spring wheat cultivar 'Tadinia'. *Plant breeding* **115**: 261-267.
- **Sommerhalder R.J.; McDonald B.A. & Zhan. J. (2006).** The Frequencies and Spatial Distribution of Mating Types in *Stagonospora nodorum* Are Consistent with Recurring Sexual Reproduction. *Phytopathology* Vol. **96** N° 3: 234-239.
- **Stammler G.; Carstensen M.; Koch A.; Semar M.; Strobel D. & al. (2008).** Frequency of different CYP51-haplotypes of *Mycosphaerella graminicola* and their impact on epoxiconazole-sensitivity and-field efficacy. *Crop Protection* **27**: 1448-1456.
- **Stammler G.; Miessner S. & Koch A. (2014).** Pathogens with low QoI resistance risk. In: Dehne H.W.; Deising H.B.; Fraaije B.; Gisi U.; Hermann D. & al. (Eds), "*Modern Fungicides and Antifungal Compounds*", Vol. **VII** : 145-146. *Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, Braunschweig*, ISBN: 978-3-941261-13-6.
- **Steinberg G. (2015).** Cell biology of *Zymoseptoria tritici*: Pathogen cell organization and wheat infection. *Fungal Genetics and Biology* **79** : 17-23.
- **Stergiopoulos J.; Zwiers L.H. & De Waard M.A. (2003).** The ABC Transporter MgAtr4 Is a virulence factor of *Mycosphaerella graminicola* that affects colonization of substomatal cavities in wheat leaves. *MPMI*. Vol. **16** N° 8: 689-698.

- Stergiopoulos J.; Nistelrooy J.G.M.V.; Kema G.H.J. & De Waard M.A. (2003a). Multiple mechanisms account for variation in the base-line sensitivity to azole fungicides in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest management Science* Vol. 59 (12):1333-1343.
 - Stewart D. M.; Hafiz A. & Abdel Hak T. (1972). Disease epiphytotic threats to high yielding and local wheats in the Near East. *Plant Prot. Bull.* 20: 50-57.
 - Stukenbrock E.H.; Jørgensen F.G.; Zala M.; Hansen T.T.; McDonald B.A. & al. (2010). Whole-Genome and Chromosome Evolution Associated with Host Adaptation and Speciation of the Wheat Pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *PLoS Genet.* 6 (12):e1001189. doi:10.1371/ journal.pgen.1001189.
 - Stukenbrock E.H.; Quaedylied W.; Javan-Nikhah M.; Zala M.; Crous P.W. & al. (2012). *Zymoseptoria ardabiliae* and *Z. pseudotritici*, two progenitor species of the septoria tritici leaf blotch fungus *Z. tritici* (synonym: *Mycosphaerella graminicola*). *Mycologia* 104 (6): 1397–1407.
 - Sudisha J.; Amruthesh K.N.; Deepak S.A.; Shetty N.P.; Sarosh B.R. & al. (2005). Comparative efficacy of strobilurin fungicides against downy mildew disease of pearl millet. *Pesticide Biochemistry and Physiology* Vol. 81 N°3: 188-197.
 - Suffert F.; & Sache I. (2011). Relative importance of different types of inoculum to the establishment of *Mycosphaerella graminicola* in wheat crops in north-west Europe. *Plant Pathology* 60: 878–889.
 - Sunnucks P.; Wilson A.C.C.; Beheregaray L.B.; Zenger K.; French J. & al. (2000). SSCP is not so difficult: the application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. *Molecular Ecology* 9:1699-1710.
- T-**
- Tagu D. & Moussard C. (2003). Principes des techniques de biologie moléculaire. 2^{ème} édition. INRA : 184p.
 - Taher K.; Graf S.; Fakhfakh M.M.; Salah H.B.H. ; Yahyaoui A. & al. (2014). Sensitivity of *Zymoseptoria tritici* Isolates from Tunisia to Pyraclostrobin, Fluxapyroxad, Epoxiconazole, Metconazole, Prochloraz and Tebuconazole. *Phytopathology* 162: 442-448.
 - Tavella C. M. (1978). Date of heading and plant height of wheat varieties as related to Septoria leaf blotch damage. *Euphytica* 27:577-580.
 - Tebbe C.C. (2000). PCR-SSCP Technique Protocols and Demonstration (Support pédagogique). Institut für Agrarökologie (Dept. Agroecology) Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL) Braunschweig – Germany: 18p.
 - Torriani S.F.F. (2008). Mitochondrial genomes of plant pathogenic fungi. Thèse de Doctorat en Sciences. Swiss Federal Institute Of Technology Zurich : 176p.
 - Torriani S.F.F.; Goodwin S.B.; Kema G.H.J.; Pandilinan J.L. & McDonald B.A. (2008). Intraspecific comparison and annotation of two complete mitochondrial genome sequences from the plant pathogenic fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Fungal Genetics and Biology* 45: 628-637.
 - Torriani S.F.F.; Linde C.C. & McDonald B.A. (2009). Sequence conservation in the mitochondrial cytochrome b gene and lack of G143A QoI resistance allele in a global sample of *Rhynchosporium secalis*. *Australasian Plant Pathology* 38 : 202–207
 - Torriani S.F.F.; Brunner P.C.; McDonald B.A. & Sierotzki H. (2009a). QoI resistance emerged independently at least 4 times in European populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* 65: 155-162.
 - Travadon R. (2008). Facteurs épidémiologiques contribuant à l'adaptation des populations de *Leptosphaeria maculans* aux résistances spécifiques de *Brassica napus* : dispersion des pycnidiospores et des ascospores et progression systémique du champignon. Thèse de Doctorat en Biologie et Agronomie. Ecole Nationale Supérieure Agronomique De Rennes : 285p.

- **Turgeon B.G. (1998).** Application of mating type gene technology to problems in fungal biology. *Annual Review of Phytopathology* **36**: 115-137.

- **Turgeon B.G. & Yoder O.C. (2000).** Proposed nomenclature for mating type genes of filamentous ascomycetes. *Fungal Genetics and Biology* **31**: 1-5.

-U-

- **Ueng P.P.; Subramaniam K.; Chen W.; Arseniuk E.; Wang L. & al. (1998)** Intraspecific genetic variation of *Stagonospora avenae* and its differentiation from *S. nodorum*. *Mycol. Res.***102** (5): 607-614.

- **Ueng P.P.; Arseniuk E.; Cunfer B.M. & Song Q.J. (2003).** Transposition and aggressiveness in *Phaeosphaeria nodorum* sexual cross. *Plant pathology bulletin* **12**: 149-156.

- **Ueng P.P.; Dai Q.; Cui Q.r.; Czembor P.C. ; Cunfer B.M. & al. (2003a).** Sequence diversity of mating-type genes in *Phaeosphaeria avenaria*. *Curr Genet* **43**: 121–130.

-V-

- **Van Beuningen L.T. & Kohli M.M. (1990).** Deviation from the regression of infection on heading and height as a measure of resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat. *Plant Dis.* **74**: 488-493.

- **Van der Plank J.E. (1963).** Plant Diseases : Epidemics and Control. Academic Press : 342p.

- **Van Ginkel M. & Sharen A.L. (1988).** Host-pathogen relationships of wheat and *Septoria tritici*. *Phytopathology* **78**: 762-766.

- **Van Ginkel, M., & Scharen. A.L. (1988a).** Diallel analysis of resistance to *Septoria tritici* isolates in durum wheat. *Euphytica* **38**:31–37.

- **Vechet L. & Synchronova E. (2005).** Reactions of winter wheat to *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*). *Acta Agrobotanica* Vol. **58**: 97-100.

- **Veloukas T.; Kalogeropoulou P.; Markoglou A. N. & Karaoglanidis G. S. (2014).** Fitness and competitive ability of *Botrytis cinerea* field isolates with dual resistance to SDHI and QoI fungicides, associated with several *sdhB* and the *cytb* G143A mutations. *Phytopathology* **104**: 347-356.

- **Venancio W.S.; Rodrigues M.A.T. ; Begliomini E. & de Souza N.L. (2003).** Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. *Publ. UEPG Exact Soil Sci., Agr. Sci. Eng., Ponta Grossa* **9** (3): 59-68.

- **Verkley G.J.M.; Starink-Willemse M.; van Iperen A. & Abeln E.C.A. (2004).** Phylogenetic analyses of *Septoria* species based on the ITS and LSU-D2 regions of nuclear ribosomal DNA. *Mycologia* **96**(3) : 558–571.

- **Verma J. & Ballester R. (1999).** A novel role for the mating types (MAT) locus in the maintenance of cell wall integrity *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and general genetics* **261**: 681-689.

- **Viljanen-Rollinson S.L.H.; Marroni M.V.; Butler R.C.; Deng Y. & Armour T. (2005).** Latent periods of *septoria tritici* blotch on ten cultivars of wheat. *New Zealand Plant Protection* **58**:256-260.

- **Von Jagow G.; Gribble G.W. & Trumpower B.L. (1986).** Mucidin and Strobilurin A are identical and inhibit electron transfer in the cytochrome *bc₁* complex of the mitochondrial respiratory chain at the same site as Myxothiazol. *Biochemistry American Chemical Society*. Vol. **25** N° 4: 775-780.

-W-

- **Waalwijk C.; Mendes O.; Verstappen E.C.P.; de Waard M.A. & Kema GHJ. (2002).** Isolation and characterisation of the mating type idiomorphs from the wheat *septoria* leaf blotch fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Fungal Genetic and Biology* **35**: 277-286.

- **Ware S.B. (2006).** Aspects of sexual reproduction in *Mycosphaerella* species on wheat and barley: genetic studies on specificity, mapping and fungicide resistance. Thèse de Doctorat, *Université de Wageningen, Pays-Bas* : 101-122.
- **Wirsel S.; Turgeon B.G. & Yoder O.C. (1996).** Deletion of the *Cochliobolus heterostrophus* mating type (MAT) locus promotes the function of MAT transgenes. *Current Genetics* **29**: 241-249.
- **Wirsel S.; Horwitz B.; Yamagushi K.; Yoder O.C. & Turgeon B.G. (1998).** Single mating type-specific genes and their 3' UTRs control mating and fertility in *Cochliobolus heterostrophus*. *Molecular and general genetics* **259**: 272-281.
- **Wittenberg A.H.J. (2007).** Genetic mapping using the Diversity Arrays Technology (DArT), Application and validation using the whole-genome sequences of *Arabidopsis thaliana* and the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. Thèse de Doctorat en Sciences. *Wageningen Universiteit* : 224p.
- **Wittenberg A.H.J.; Van Der Lee T.A.J.; Ben M'Barek S.; Ware S.B.; Goodwin S.B. & al. (2009).** Meiosis Drives Extraordinary Genome Plasticity in the Haploid Fungal Plant Pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *PLoS ONE* **4**(6): e5863. doi:10.1371/journal.pone.0005863.
- **Wolfe M.S. (1985).** The current status and prospects of multiline cultivars and variety mixtures for disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* **23**: 251-273.
- **Wolfe M.S.; Baresel J. P.; Desclaux D.; Goldringer L.; Hoad S. & al. (2008).** Developments in breeding cereals for organic agriculture. *Euphytica*. DOI 10.1007/s10681-008-9690-9.
- **Wu Y. X. & von Tiedemann A. (2002).** Evidence for oxidative stress involved in physiological leaf spot formation in winter and spring barley. *Phytopathology* **92**:145-155.

-Y-

- **Yong L.; Zhonghua Ma.; Reyes H.C.; Morgan D.P. & Michailides T.J. (2007).** Using real-time PCR to survey frequency of azoxystrobin-resistant allele G143A in *Alternaria* populations from almond and pistachio orchards in California. *Pesticide Biochemistry and Physiology* Vol. **88** (3):328-336.

-Z-

- **Zahri S.; Farih A. & Douira A. (2013).** Statut des principales maladies cryptogamiques foliaires du blé au Maroc en 2013. *Journal of Applied Biosciences* **77**:6543-6549.
- **Zelikovitch N. & Eyal Z. (1991).** Reduction pycnidial coverage after inoculation of wheat with mixtures of isolates of *Septoria tritici*. *Plant disease* Vol.75(9) : 907-910.
- **Zhan J.; Mundt C.C.; McDonald B.A. (1998).** Measuring Immigration and sexual reproduction in field populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* Vol. **88** N° 12: 1333-1337.
- **Zhan J.; Mundt C.C. & McDonald B.A. (2000).** Estimating rates of recombination and migration in populations of plant pathogens-a reply. *Phytopathology* **90**: 324-326.
- **Zhan J.; Mundt C.C.; & McDonald B.A. (2001).** Using restriction fragment length polymorphisms to assess temporal variation and estimate the number of ascospores that initiate epidemics in field populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* **91** (10):1011-1017.
- **Zhan J.; Kema G.H.J.; Waalwijk C. & McDonald B.A. (2002).** Distribution of mating type alleles in the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* over spatial scales from lesions to continents. *Fungal Genetics and Biology* **36**:128-136.
- **Zhan J.; Mundt C.C.; Hoffer M.E & McDonald B.A. (2002a).** Local adaptation and effect of host genotype on the rate of pathogen evolution: an experimental test in a plant pathosystem. *J. Evol. Biol.* **15**: 634-647.

- Zhan J.; Pettway R.E. & McDonald B.A. (2003). The global genetic structure of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* is characterized by high nuclear diversity, low mitochondrial diversity, regular recombination, and gene flow. *Fungal Genetics and Biology* **38**: 286–297.
- Zhan J. & McDonald B.A. (2004). The interaction among evolutionary forces in the pathogenic fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Fungal Genetics and Biology* **41**: 590–599
- Zhan J.; Kema G.H.J. & McDonald B.A. (2004). Evidence for Natural Selection in the Mitochondrial Genome of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* **94** (3): 261–267.
- Zhan J.; Linde C.C.; Jurgens T.; Merz U.; Steinebrunner F. & al. (2005). Variation for neutral markers is correlated with variation for quantitative traits in the plant pathogenic fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Molecular Ecology* **14**: 2683–2693.
- Zhan J.; Stefanato F.L. & McDonald B.A. (2006). Selection for increased cyproconazole tolerance in *Mycosphaerella graminicola* through local adaptation and in response to host resistance. *Molecular Plant Pathology* **4**: 259–268.
- Zhan J.; Mundt C.C. & McDonald B.A. (2007). Sexual reproduction facilitates the adaptation of parasites to antagonistic host environments: Evidence from empirical study in the wheat-*Mycosphaerella graminicola* System. *International journal for parasitology* **37**: 861–870.
- Zhan J.; Torriani S.F.F. & McDonald B.A. (2007a). Significant difference in pathogenicity between *MAT1-1* and *MAT1-2* isolates in the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Fungal Genetics and Biology* **44**: 339–346.
- Zhang X.; Hale S.D. & Jin Y. (2001). Inheritance of Septoria Tritici Blotch Resistance in Winter Wheat. *Crop Sci.* **41**: 323–326.
- Zhang Y.-J.; Zhang X.; Chen C.-J.; Zhou M.-G. & Wang H.-C. (2010). Effects of fungicides JS399-19, azoxystrobin, tebuconazole, and carbendazim on the physiological and biochemical indices and grain yield of winter wheat. *Pesticide Biochemistry and Physiology* Vol. **98** (2): 151–157.
- Zhu X.; Niu N.; Liu Y.; Du T.; Chen D.; Wang X. ; Gu H.F & Li .Y (2006). Improvement of the sensitivity and resolution of PCR-SSCP analysis with optimized primer concentrations in PCR products. *Journal of Genetics*, Vol. **85** N° 3 : 233–235.
- Zhu W.; Yang L.-N. ; Wu E.-J.; Qin C.-F.; Shang L.-P. & al. (2015). Limited sexual reproduction and quick turnover in the population genetic structure of *Phytophthora infestans* in Fujian, China. *Scientific Reports* | 5:10094 | DOI: 10.1038/srep10094 : 11p.
- Zillinsky F. J. (1983). Maladies Communes des céréales à paille. Guide d'identification. Edit. CIMMYT, Mexico: 156p.
- Zlot V. & Sunley R. (2011). Report of the EPPPO Workshop on azole fungicides and Septoria leaf blotch control (Harpenden (GB), 2010-12-07/09). *Bulletin OEPP/EPPPO Bulletin* **41**:145–148.
- Zuckerman E.; Eshel A.; & Eyal Z. (1997). Physiological Aspects Related to Tolerance of Spring Wheat Cultivars to Septoria tritici Blotch. *Phytopathology* Vol. **87** N° 1: 60–65.
- Zwiers L-H & De Waard M.A. (2000). Characterization of the ABC transporter genes *MgAtr1* and *MgAtr2* from the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Fungal Genetics and Biology* **30**:115–125.
- Zwiers L-H & De Waard M.A. (2001). Efficient *Agrobacterium tumefaciens*-mediated gene disruption in the phytopathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Curr. Genet.* **39**: 388–393.
- Zwiers L-H.; Stergiopoulos I.; Van Nistelrooy J.G.M. & De Waard M. (2002). ABC Transporters and azole susceptibility in laboratory strains of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy* Vol. **46** N°12: 3900–3906.

- **Zwiers L.-H.; Stergiopoulos I.; Gielkens M.M.C.; Goodall S.D. & De Waard M.A. (2003).** ABC transporters of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* function as protectants against biotic and xenobiotic toxic compounds. *Mol. Gen. Genomics* **269**: 499–507.

- **Zwiers L.-H.; Roohparvar R. & de Waard M.A. (2007).** MgAtr7, a new type of ABC transporter from *Mycosphaerella graminicola* involved in iron homeostasis. *Fungal Genetics and Biology* **44**: 853–863.

* Sites Web.

[1] (<http://www.fao.org/gIEWS/countrybrief/country.jsp?code=DZA>). (Consulté le 12/09/2015).

[2] <http://www.maghrebemergent.com/economie/algerie/47249-algerie-la-facture-des-importations-de-cereales-augmente-de-pres-de-18-au-1er-trimestre-2015.html>. (Consulté le 01/09/2015).

[3] <http://www.plantwise.org/knowledgebank/datasheet.aspx?dsid=49701> (Consulté le 25/07/2015).

[4] http://www.agro.basf.be/agroportal/be/fr/m_crop_management/granen/tarwe/tarwe_bestrijding_van_ziekten/tarwe_schade_van_ziekten_1/CEREALS_crop_management_level_7.html (Consulté le 01/01/2015).

[5] http://www.fiches.arvalis-infos.fr/fiche_accident/fiches_accidents.php?mode=fa&type_cul=1&type_acc=4&id_acc=46 (Consulté le 01/01/2015).

[6] <http://www.bayer-agri.fr/articles/1284/contamination-via-leffet-splashing/> (Consulté le 20/12/2014).

[7] <http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p107/cyclescellulairesAscomycota.pdf> (Consulté le 24/07/2015).

[8] <http://www.frij.ch/documents/showFile.asp?ID=2263> (FRI-SPC.BB.8.2.2006) (Consulté le 20/02/2015).

[9] <http://www.gnis-pedagogie.org/index.php?spec=lexique&numpage=179&numfamille=11&numrub=33&numcateg=&numsscateg=&numpara=2395&lettre=M> (Consulté le 12/05/2015).

[10] http://www.edu.upmc.fr/sdv/masselot_05001/introduction/introduction.html (Consulté le 12/05/2015).

[11] <http://slideplayer.fr/slide/495492/#> (Consulté le 12/05/2015).

Annexes :

Annexe 1 : Principes des méthodes moléculaires utilisées pour l'analyse du polymorphisme génomique.

Annexe 2 : Propriétés de redistribution des strobilurines dans la plante.

Principes des méthodes moléculaires utilisées pour l'analyse du polymorphisme génomique

- **La Technique RFLP** (Restriction Fragment Length Polymorphism = Polymorphisme de longueur des Fragments de restriction).

À un locus donné, un site de restriction va être soit présent soit absent (Camus, 2008). Cette méthode permet de détecter des variations de séquence au niveau des sites de restriction. La technique consiste à hybrider des sondes de séquence déterminée sur des fragments d'ADN obtenus par digestion de l'ADN nucléaire ou mitochondrial avec des enzymes de restriction. Celles-ci sont des endonucléases qui reconnaissent spécifiquement des sites de séquence déterminée. Les fragments sont ensuite séparés par électrophorèse sur gel d'agarose, selon leur taille. Les variations observées portent donc sur la longueur des fragments reconnus par la sonde. En effet, toutes mutations (substitutions de paires de bases, délétions ou additions) modifient la position du site de restriction et modifieront donc la longueur du fragment qui résultera de la digestion. Des études plus précises peuvent être réalisées en utilisant des sondes particulières qui permettent d'identifier chaque individu. On établit ainsi des « empreintes génétiques » ou « fingerprint », en utilisant comme sonde des séquences répétées en tandem (minisatellites) ou dispersées dans le génome. Le nombre de répétitions de ces séquences et leur localisation étant extrêmement variables d'un génotype à l'autre, les profils d'hybridation se caractérisent par une multitude de bandes (20 à 40) correspondant à des fragments d'ADN de taille différente (Lourd, 1995 ; Tagu et Moussard, 2003).

- **Les marqueurs AFLP** (Amplified Fragment Length Polymorphism = Polymorphisme de la longueur du fragment amplifié).

La technique d'AFLP a été introduite en 1993. Son principe repose sur l'amplification sélective de fragments de restriction générés à partir d'un échantillon d'ADN génomique. Cette technique permet la recherche de polymorphisme de longueur de fragment de restriction au niveau de l'ADN. Dans cette technique, l'ADN est digéré le plus souvent avec deux enzymes de restriction coupant respectivement au niveau d'un site rare et d'un site fréquent. Puis des adaptateurs, spécifiques des sites de restriction utilisés, sont fixés aux extrémités des fragments de restriction obtenus. Les amplifications sont réalisées à l'aide d'amorces définies d'après la séquence des adaptateurs. Ces amorces portent sur leur extrémité 3'-OH des extensions aléatoires de 1 à 3 bases permettant l'amplification sélective d'une partie seulement de la population des fragments de restriction. Une pré-amplification est réalisée en premier lieu sur tous les fragments. Cette amplification est suivie par une amplification sélective qui fixe le nombre de fragments à observer. Les produits d'amplification sélective sont ensuite séparés sur gel de polyacrylamide en conditions dénaturantes, La détection des bandes d'AFLP est obtenue soit par coloration des gels à l'argent, soit par autoradiographie ou émission de fluorescence. Dans ce cas, une des amorces d'AFLP (généralement celle correspondant au site de restriction rare) est marquée soit radioactivement, soit par un chromophore fluorescent, dans le cas d'une analyse à l'aide d'un séquenceur automatique (Tagu et Moussard, 2003).

- **Les marqueurs RAPD** (**R**andomly **A**mplified **P**olymorphic **D**NA : ADN Polymorphe Amplifié au hasard ; ou Polymorphisme d'ADN par amplification aléatoire).

Lors d'une recherche de polymorphisme d'un génome, si aucune séquence d'ADN précise n'est ciblée, il est possible d'utiliser des oligonucléotides de petite taille (de 6 à 9 bases) de séquence aléatoire qui vont se fixer sur l'ADN cible au hasard. L'utilisation de la PCR permet d'obtenir des produits d'amplification de séquence inconnue. Cette technique est appelée RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). A l'inverse de la PCR traditionnelle ciblée sur une séquence déterminée, une réaction de RAPD utilise un seul type d'amorce et non un couple de deux amorces différentes. Si deux amorces voisines sont en position correcte, dans la bonne orientation et pas trop éloignées l'une de l'autre (moins de 5000 pb), la PCR génère un produit d'amplification. La RAPD permet d'obtenir rapidement des fragments variés d'ADN génomique qui sont ensuite analysés. Les conditions de préparation des échantillons et des cycles de PCR doivent être optimisées pour chaque application afin d'assurer la reproductibilité des résultats. Les fragments d'amplification permettant de révéler un polymorphisme peuvent être sous-clonés afin d'être séquencés. A partir de cette séquence, il est possible de redéfinir un couple d'amorces qui aura une forte probabilité d'être spécifique de l'échantillon analysé. Il s'agit alors d'un SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*). (Tagu et Moussard, 2003).

- **Les EST et SNP** (SNP : **S**ingle **N**ucleotide **P**olymorphism = polymorphisme d'un seul nucléotide ; EST : **E**xpressed **S**equences **T**ag).

Le polymorphisme de l'ADN appelé SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) concerne un polymorphisme de nucléotide simple. Il s'agit d'une mutation ponctuelle isolée qui révèle un polymorphisme d'un seul nucléotide entre deux ou plusieurs séquences d'ADN. Ces variations portant sur une seule base se retrouvent aléatoirement environ toutes les 100 à 300 bases sur un génome. La plupart des SNP se trouvent dans les parties non codantes des génomes et, dans ce cas, ce polymorphisme n'a pas d'implications fonctionnelles. Cependant, certaines de ces mutations ponctuelles touchent les régions codantes (SNPc) et les régions régulatrices des gènes. Elles peuvent de ce fait modifier la séquence en acides aminés du polypeptide correspondant ou le mode de régulation de l'expression du gène. Les SNPc seront particulièrement intéressants pour réaliser la cartographie des maladies multifactorielles par une étude de recherche de gènes candidats impliqués dans ces maladies.

La détection des SNP nécessite tout d'abord une amplification PCR sur différents génotypes. Ces PCR peuvent être ciblées sur des séquences connues et déterminées à l'avance, mais elles peuvent être également aléatoires (AFLP). Dans un second temps, les différents produits d'amplification sont séquencés. Cette technique de SNP nécessitant le séquençage de produits de PCR est coûteuse. Après séquençage et vérification, les différentes séquences obtenues sont alignées. Les sites de polymorphisme

de séquences sont alors identifiés, en particulier les polymorphismes de type substitution. Ainsi, les différents haplotypes (à partir des différentes combinaisons de SNP) peuvent être identifiés.

Les SNP, comme tout marqueur génétique, peuvent être exploités de différentes manières. Leur extrême précision permet des analyses très fines dans des domaines comme la recherche de parenté ou de variabilité liée à des maladies. La puissance des SNP est due essentiellement à leur présence sur l'ensemble du génome tant dans les introns que dans les exons. De plus, chaque individu d'une espèce posséderait plusieurs milliers de SNP qui sont autant de variations ponctuelles dont la combinaison fait de chaque individu une "personne" unique. Le repérage de SNP peut ainsi permettre la découverte de gènes de prédisposition à de nombreuses maladies (telles que le diabète, l'hypertension artérielle ou la polyarthrite rhumatoïde chez l'Homme). Cependant, l'utilisation des SNP pose le problème du coût et des débits d'analyses (Tagu et Moussard, 2003).

Le tableau A affiche une comparaison entre différents marqueurs moléculaires utilisés dans l'étude du polymorphisme.

Tableau A : Les principaux marqueurs moléculaires [11].

Marqueurs / Caractéristiques	RFLP	Microsatellites	RAPD	AFLP
Type de marqueur	Enzyme /Sonde	Amorce spécifique bordant le microsatellite	Amorce de séquence arbitraire	Enzyme/Amorce
Nombre de marqueurs	Illimité	Quelques milliers	Illimité	Illimité
Polymorphisme mis en évidence	Elevé	Elevé	Très élevé	Très élevé
Type de polymorphisme	Insertion/ Déletion/ Substitution	Insertion	Plutôt Substitution, quelquefois Insertion	Plutôt Substitution,
Caractérisation génétique	Locus codominants et révélés individuellement	Locus codominants et révélés individuellement	Locus dominants et révélés en masse	Locus dominants et révélés en masse
Principales utilisations	Cartographie génétique quantitative (QTL)	Cartographie génétique quantitative (QTL)	Clonage positionnel, Rétrocroisement	Clonage positionnel, Rétrocroisement
Reproductibilité	Parfaite	Parfaite	faible	Faible

Tableau B : Propriétés de redistribution des strobilurines dans la plante (Bartlett *et al.*, 2001).

	Azoxystrobine	Trifloxystrobine	Kresoxim-methyl	Metominostrobin	Pyraclostrobine	Picoxystrobine
Mouvement dans la feuille	Très faible	Faible	faible	Très élevé	Faible	Moyen
« Effet Vapeur »	Non	Oui	Oui	Non	Non	Oui
Stabilité métabolique dans la feuille	Oui	Faible	Faible	---	Oui	Oui
Mouvement translaminaire	Oui	Faible	Faible	Oui	Faible	Oui
Systémie (xylème)	Oui	Non	Non	Oui	Non	Oui
Mouvement systémique vers les nouveaux organes de céréales	Oui	Non	Non	Oui	Non	Oui
Mobilité dans le phloème	Non	Non	Non	Non	Non	Non