

# **Table des matières :**

Page

## **Remerciement**

Résumés

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures et photos

## **Introduction**

## **Partie I : Synthèse bibliographique**

<b>Chapitre I</b> : Les maladies cryptogamiques du blé dur.....	4
<b>1-1</b> -La tache auréolée (Tan spot).....	5
<b>1-2</b> -Symptômes.....	6
<b>1-3</b> -Agent phytopathogène.....	6
<b>1-3-1</b> -Forme parfaite ou téléomorphe : <i>Pyrenophora tritici repentis</i> .....	6
<b>1-3-2</b> -Forme imparfaite ou anamorphe : <i>Drechslera tritici repentis</i> .....	8
<b>1-4</b> -Classification.....	8
<b>1-5</b> -Cycle de développement de la tache auréolée.....	10
<b>1-6</b> -Toxines produites et races physiologiques.....	10
<b>1-7</b> -La tache auréolée : une maladie dévastatrice à l'échelle mondiale.....	13
<b>1-8</b> -Gestion et control de la maladie.....	14
<b>Chapitre II</b> : Lutte chimique contre la tache auréolée.....	16
<b>2-1</b> -Les fongicides .....	16
<b>2-2</b> -Critères de choix d'un fongicide agricole.....	16
<b>2-3</b> -Classification des: fongicides agricoles.....	16
<b>2-4</b> -Classification selon l'effet et le rôle du fongicide sur la croissance du champignon.....	17
<b>2-4-1</b> - Préventif .....	17
<b>2-4-2</b> -Curatif .....	17
<b>2-4-3</b> -Systémique .....	18
<b>2-5</b> -Classification des fongicides selon le mode d'action.....	18

2-5-1-Les multisites.....	19
2-5-2-Les unisites .....	19
2-6-Principales familles de fongicides céréales.....	20
<b>Chapitre III : Fongicides et résistance des champignons phytopathogènes .....</b>	<b>21</b>
<b>3-1-La résistance aux fongicides.....</b>	<b>21</b>
3-1-1-Résistance pratique.....	21
3-1-2-Résistance technique.....	22
3-1-3-Résistance croisée.....	23
<b>3-2-Facteurs favorisant le développement de la résistance aux fongicides.....</b>	<b>23</b>
<b>3-2-1-Facteurs biologique.....</b>	<b>23</b>
3-2-1-1-La taille de la population.....	23
3-2-1-2-Le potentiel reproductif.....	23
3-2-1-3-Le type de reproduction.....	24
3-2-1-4-La dispersion.....	24
<b>3-2-2-Facteurs génétiques.....</b>	<b>24</b>
3-2-2-1-Apparition des gènes de résistance.....	24
3-2-2-2-Nombre de mécanismes de résistance.....	24
3-2-2-3-Dominance des gènes de résistance.....	25
<b>3-2-3-Facteurs opérationnels.....</b>	<b>25</b>
3-2-3-1-Spectre d'activité du fongicide.....	25
3-2-3-2-Taux d'application.....	25
3-2-3-3-Fréquence de traitement.....	25
<b>3-3-Mécanismes de la résistance .....</b>	<b>26</b>
<b>3-4-Control de la résistance au fongicides pour les céréales.....</b>	<b>27</b>
 <b>Partie II : Matériels et méthodes</b>	
<i>Introduction.....</i>	28
<b>1-Prospection.....</b>	<b>28</b>
1-1-Méthode d'échantillonnage .....	30
1-2-Conservation des échantillons .....	34

<b>2-Isolement du champignon au laboratoire</b> .....	34
2-1-Identification de l'espèce <i>Pyrenophora tritici repentis</i> .....	38
2-2-Etude de l'aspect macroscopique.....	39
2-3-Identification de l'aspect microscopique.....	39
2-4-Mesure de la croissance radiale.....	40
3-Characterisation des pathotypes.....	41
<b>4- Evaluation de la sensibilité des isolats aux trois types de fongicides</b> .....	44
4-1- Les fongicides utilisés .....	44
4-1-1- Le fongicide Tilt 250EC .....	44
4-1-2- Le fongicide Amistar .....	44
4-1-3- Le fongicide Amistar Xtra .....	45
4-2-- Préparation de la solution mère du fongicide .....	46
4-3 -Effet sur la croissance mycélienne.....	47
4-Analyse statistique.....	48

## ***Résultats et Discussion***

<b>Chapitre I</b> : Isolement et identification de l'espèce <i>Pyrenophora tritici repentis</i> .....	50
Aspect du champignon sur le milieu MEA.....	52
Aspect microscopique.....	54
Les complexes fongiques observés.....	56
<b>Chapitre II</b> : <b><i>Characterisation des pathotypes</i></b> .....	60
<b>Chapitre III</b> : <b><i>Activité antifongique in vitro</i></b> .....	66
Le Tilt 250EC.....	67
L'Amistar.....	76
L'Amistar Xtra.....	84
Pathotype et résistance aux fongicides.....	92
Relation avec la résistance antifongique dans le milieu médical.....	95

*Conclusion et Perspective*

*Références bibliographiques*

*Annexes*

## ***Liste des Tableaux***

***Page***

<b>Tableau N1</b> : les principales maladies cryptogamiques du blé dur.....	4
<b>Tableau N2</b> : Races physiologique de <i>Pyrenophora tritici repentis</i> .....	12
<b>Tableau N3</b> : Principaux fongicides céréales.....	20
<b>Tableau N4</b> : Liste des isolats de <i>Pyrenophora tritici repentis</i> avec leurs origines, variété du blé hôte et la date de collection.....	31
<b>Tableau N5</b> : Clés d'identification de l'espèce <i>Pyrenophora tritici repentis</i> .....	38
<b>Tableau N6</b> : Caractérisation des pathotypes de <i>Pyrenophora tritici repentis</i> .....	41
<b>Tableau N7</b> : Comparaison entre les moyennes de CI 50 et CI 90 des trois fongicides durant les quatre saisons agricoles (2012-2015).....	49
<b>Tableau N°8</b> : les maladies fongiques rencontrées durant les prospections.....	50
<b>Tableau N°9</b> : Effet de <i>Tilt 250EC</i> sur la croissance des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (2012-2015).....	74
<b>Tableau N°10</b> : Effet de <i>l'Amistar</i> sur la croissance des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (2012-2015).....	82
<b>Tableau N°11</b> : Effet de <i>l'Amistar Xtra</i> sur la croissance des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (2012-2015).....	89
<b>Tableau N°12</b> : Variation des valeurs CI50 et CI90 des trois fongicides entre 2012 et 2015....	91

## Liste des Figures et des Photos

<b>Photo N°1</b> : stade précoce de la tache auréolée sur feuille de blé dur (nécrose).....	7
<b>Photo N°2</b> : stade tardif de la tache auréolée sur feuille de blé dur (chlorose).....	7
<b>Photo N3</b> : Ascospores de <i>Pyrenophora tritici repentis</i> .....	9
<b>Photos N4</b> : Conidies de <i>Pyrenophora tritici repentis</i> .....	9
<b>Photo N°5</b> : Fructification de <i>Pyrenophora tritici repentis</i> sur chaume du blé.....	11
<b>Photo N°6</b> : Cycle de développement de <i>Pyrenophora tritici repentis</i> .....	11
<b>Figure N1</b> : Distribution des maladies du blé en Algérie.....	14
<b>Photo N°8</b> : Mode d'action d'un fongicide à effet préventif.....	17
<b>Photo N°9</b> : Mode d'action d'un fongicide à effet curatif.....	17
<b>Photo N°10</b> : Mode d'action d'un fongicide de type systémique.....	18
<b>Photo N°11</b> : la Pression de sélection par un fongicide des souches résistantes.....	22
<b>Figure N°2</b> : les wilayas prospectées.....	29
<b>Figure N°3</b> : Méthode d'échantillonnage de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> .....	30
<b>Photo N°12</b> : Symptômes caractéristiques de la tache auréolée sur une feuille de blé dur.....	36
<b>Photo N°13</b> : Technique d'isolement du champignon par la chambre humide.....	36
<b>Photo N°14</b> : Formation de fructification sur un fragment de feuille.....	37
<b>Photo N°15</b> : Fragment d'une feuille de blé dur infecté sous microscope optique.....	37
<b>PhotoN°16</b> : Représentation de l'aspect microscopique de <i>Pyrenophora tritici repentis</i> .....	39
<b>Figure N°4</b> : Méthode de la mesure des deux diamètres perpendiculaire.....	40
<b>Photo N17</b> : Symptômes caractéristiques du pathotype 1.....	42
<b>Photo N18</b> : Symptômes caractéristiques du pathotype 2.....	43
<b>Photo N19</b> : Symptômes caractéristiques du pathotype 3.....	43
<b>Figure N°5</b> : structure chimique de propiconazole.....	44
<b>Figure N°6</b> : structure chimique de l'azoxystrobine.....	45
<b>Figure N°7</b> : structure chimique de cyproconazole.....	46

<b>Figure N°8 :</b> Distribution des isolats de <i>Pyrenophora tritici repentis</i> selon l'année d'isolement.....	50
<b>Figure N9 :</b> Distribution des isolats de <i>Pyrenophora tritici repentis</i> par wilaya.....	51
<b>Figure N10 :</b> Distribution des isolats de <i>Pyrenophora tritici repentis</i> par variété.....	51
<b>Photo N°20 :</b> Couleur grise pale du mycélium.....	52
<b>Photo N° 21 :</b> Couleur vert gris du mycélium.....	52
<b>Photo N° 23 :</b> Couleur blanche du mycélium.....	53
<b>Photo N° 24 :</b> Couleur vert d'olive du mycélium.....	53
<b>Photo N°25 :</b> Stade Téléomorphe de <i>Pyrenophora tritici repentis</i> observé au microscope otique.....	55
<b>Photo N°26 :</b> Stade anamorphe de <i>Pyrenophora tritici repentis</i> observé au microscope otique .....	55
<b>Photo N°27 :</b> Aspect de <i>Septoria</i> sur milieu MEA (25C°/7js).....	57
<b>Photo N°28 :</b> Conidies de <i>Septoria</i> observés au microscope optique .....	57
<b>Photo N°29 :</b> Aspect de <i>Fusarium</i> sur milieu MEA .....	58
<b>Photo N°30 :</b> Conidies de <i>Fusarium</i> observés au microscope optique.....	58
<b>Photo N°31:</b> Aspect de <i>Puccinia</i> sur milieu MEA.....	59
<b>Photo N°32 :</b> Conidies de <i>Puccinia</i> observés au microscope optique.....	59
<b>Figure N11 :</b> Pourcentage d'isolement des pathotypes de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> .....	61
<b>Figure N12 :</b> Distribution des pathotypes dans les sites de prélèvement.....	61
<b>Figure N 13 :</b> Distribution des pathotypes pour la variété Siméto.....	62
<b>Figure N 14 :</b> Distribution des pathotypes pour la variété GTA Dur.....	62
<b>Figure N 15 :</b> Distribution des pathotypes pour la variété Vitron.....	63
<b>Figure N 16 :</b> Distribution des pathotypes pour la variété HD1220.....	63
<b>Figure N 17 :</b> Distribution des pathotypes pour la variété Waha.....	64
<b>Figure N 18 :</b> Distribution des pathotypes pour la variété Chagra.....	64
<b>Figure N 19 :</b> Distribution des pathotypes pour la variété Citra.....	65
<b>Figure N°20 :</b> Croissance de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> en absence de fongicide sur milieu extrait de malt.....	66
<b>Figure N21 :</b> Taux d'inhibition du fongicide <b>Tilt 250E</b> sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2012.....	67

<b>Figure N22:</b> Taux d'inhibition du fongicide <b>Tilt 250E</b> sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2013.....	67
<b>Figure N46:</b> Taux d'inhibition du fongicide <b>Tilt 250E</b> sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2014.....	68
<b>Figure N47:</b> Taux d'inhibition du fongicide <b>Tilt 250E</b> sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2015.....	68
<b>Figure N48 :</b> variation des valeurs de CI 50 et CI 90 de <b>Tilt 250EC</b> durant les quatre saisons agricoles.....	69
<b>Photo N33 :</b> Photos de l'activité antifongique du fongicide Tilt EC250 sur <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> .....	75
<b>Figure N 49:</b> Taux d'inhibition du fongicide <b>Amistar</b> sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2012.....	69
<b>Figure N 50:</b> Taux d'inhibition du fongicide <b>Amistar</b> sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2013.....	70
<b>Figure N 51:</b> Taux d'inhibition du fongicide <b>Amistar</b> sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2014.....	70
<b>Figure N52 :</b> Taux d'inhibition du fongicide <b>Amistar</b> sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2015.....	71
<b>Figure N53 :</b> variation des valeurs de CI 50 et CI 90 de <b>l'Amistar</b> durant les quatre saisons agricoles.....	72
<b>Photo N34 :</b> Photos de l'activité antifongique du fongicide Amistar sur <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> .....	83
<b>Figure N54:</b> Taux d'inhibition du fongicide <b>Amistar Xtra</b> sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2012.....	72
<b>Figure N55:</b> Taux d'inhibition du fongicide <b>Amistar Xtra</b> sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2013.....	73
<b>Figure N56:</b> Taux d'inhibition du fongicide <b>Amistar Xtra</b> sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2014.....	73
<b>Figure N57:</b> Taux d'inhibition du fongicide <b>Amistar Xtra</b> sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2015.....	74
<b>Figure N58 :</b> variation des valeurs de CI 50 et CI 90 de <b>l'Amistar Xtra</b> durant les quatre saisons agricoles.....	74
<b>Figure N59 :</b> Effet de l'Amistar sur la croissance des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (groupe 2015).....	75
<b>Figure N60 :</b> Taux d'inhibition du fongicide <b>Amistar</b> sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2015.....	75

<b>Figure N61</b> : variation des valeurs de CI 50 et CI 90 de l'Amistar durant les quatre saisons agricoles.....	76
<b>Figure N62</b> : Effet de l'Amistar Xtra sur la croissance des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (groupe 2012)	
<b>Figure N 63</b> : Taux d'inhibition du fongicide Amistar Xtra sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2012.....	77
<b>Figure N64</b> : Effet de l'Amistar Xtra sur la croissance des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (groupe 2013).....	77
<b>Figure N 65</b> : Taux d'inhibition du fongicide Amistar Xtra sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2013.....	78
<b>Figure N66</b> : Effet de l'Amistar Xtra sur la croissance des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (groupe 2014).....	78
<b>Figure N 67</b> : Taux d'inhibition du fongicide Amistar Xtra sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2014.....	79
<b>Figure N68</b> : Effet de l'Amistar Xtra sur la croissance des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (groupe 2015).....	79
<b>Figure N 69</b> : Taux d'inhibition du fongicide Amistar Xtra sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> de la saison 2015.....	80
<b>Figure N70</b> : variation des valeurs de CI 50 et CI 90 de l'Amistar Xtra durant les quatre saisons agricoles.....	81

## ***Liste des abréviations***

**IDM** : Inhibiteur de la déméthylation

**SDHI** : Succinat deshydrogenase inhibitors

**QoI** : Quinone outside inhibitor

**MEA** : Malt extract agar

**INPV** : Institut National de la Protection des Végétaux

**ppm** : particule par million

**CI50** : Concentration inhibitrice de 50% de la population du champignon

**CI90** : Concentration inhibitrice de 90% de la population du champignon

**HST** : Host Selective Toxine

Aliment de base de la population algérienne, le blé et ses produits dérivés ont représenté et représentent encore un produit de première nécessité, aujourd'hui l'Algérie ne couvre que 30% de ses besoins alimentaires le reste est satisfait par les importations ce qui met l'Algérie dans une position de dépendance vis-à-vis de l'extérieur pour l'approvisionnement du marché national (Djermoun, 2009 ; Benbelkacem et Bendif, 2010). Cette faible production est en relation directe avec des facteurs abiotique (pluviométrie), biotique (maladies) et techniques (pratiques culturaux), les maladies cryptogamiques du blé dur causées par des champignons phytopathogènes sont les maladies les plus dévastatrices (Lepoivre, 2003 ; Agrios, 2005), elles peuvent attaquer le blé dur dans tous ses stades de développement avec des pertes de rendement allant jusqu'à 50%, leurs vitesses de propagation dans les champs rendent leur contrôle très difficile (Ezzahiri, 2010).

Le champignon *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. [anamorphe: *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoem.] est un ascomycète homothalique qui induit la tache auréolée de blé dur (syn. yellow spot) (Drechsler, 1923; Lepoivre, 2003; Agrios, 2005). Cet agent pathogène a été signalé dans le monde entier, y compris l'Europe, l'Asie du Sud-Ouest, l'Asie centrale, l'Amérique du Nord et du Sud et l'Afrique (Freisen et al, 2006; Tekauz et al, 2004; Perello, 2003). Les épidémies sévères de la tache auréolée ont tendance à provoquer des pertes de rendement de 10-20% et peuvent entraîner des pertes de plus de 50% dans des conditions favorables au développement de la maladie (Bhatahl et al, 2003; Oliver et al, 2008; Singh et al, 2011). La maladie a été signalée en Algérie (Benbelkacem, 2010, Benslimen et al, 2011), mais l'ampleur des pertes économiques est inconnue. La production intensive de blé, les pratiques réduites de labour, les variétés sensibles et les rotations plus courtes des cultures ont contribué à des épidémies de la tache auréolée dans de nombreuses régions.

*Pyrenophora tritici-repentis* reproduit à la fois sexuellement et asexuellement, la reproduction sexuelle se produit sur le chaume de blé entre les cultures tandis que la reproduction asexuée est prédominante pendant la saison de croissance sur la culture du blé (Ali et Francl, 2003; Andronova, 2007; Cao et al, 2009; Perello, 2011).

Huit races de *P. tritici-repentis* ont été identifiées sur la base des symptômes de nécrose (brunissement) et / ou de chlorose (jaunissement) induits sur un

ensemble de cultivars de blé spécifiques (Lamari et *al.*, 2003; Strelkov, 2003). Ces races produisent différentes toxines sélectives d'hôte (HST) sur des variétés de blé sensibles qui fonctionnent comme facteurs de pathogénicité. La gestion efficace de la tache auréolée repose sur une combinaison de contrôles chimiques, pratiques culturales et moyens génétiques (Clark et Paveley, 2005, Jorgensen, 2008, Bockus, 2008).

Aujourd'hui, la communauté agricole est très dépendante des fongicides afin de réduire les pertes des cultures engendrées par les maladies cryptogamiques des céréales et de stabiliser les rendements. L'utilisation intensive de fongicides pour le contrôle de la tache auréolée du blé dur au cours des années précédentes à donner lieu à un développement de la résistance à ces produits chimiques, depuis 2003, des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* ont été signalés comme insensibles aux fongicides couramment utilisés pour gérer la tache auréolée sur le blé tels que les benzimidazols (SDHI), les triazols (DMI) et les strobilurines (QoI) (Sierotzki, 2007; Beard et *al.*, 2009; Cools et *al.*, 2011). Le degré de risque associé à la résistance à un fongicide dépend de son mode d'action, de son utilisation et du potentiel d'évolution des champignons cibles (Fraaije et *al.*, 2003; Gisi et *al.*, 2005; Jørgensen, 2008).

En Algérie, la tache auréolée est la maladie la plus importante du blé dur (Benslimen et *al.*, 2006, Benbelkacem, 2010, Benslimen et *al.*, 2011), les conditions climatiques du pays jouent un rôle majeur dans la persistance de la maladie, en particulier dans les régions orientales qui se caractérisent par des précipitations et des températures élevées adaptées à la croissance des champignons pendant la période hivernale (Ezzahiri B, 2001, Benbelkacem, 2010). Les pertes de rendement et la faible qualité des graines (taches rouges) causée chaque année par cette maladie forcent les agriculteurs à utiliser différents fongicides pour protéger leurs cultures.

Peu d'informations sont disponibles sur la sensibilité de la population de *Pyrenophora tritici-repentis* aux fongicides en Algérie, les travaux sur les agents phytopathogènes du blé dur reste limité sur la collecte des données statistiques concernant la répartition géographique des maladies ainsi que leurs effets sur la physiologie de la plante, par contre les études microbiologiques et surtout la sensibilité aux fongicides semble un peu négligé., l'étude suivante est la première à traiter ce problème, l'objectif de ce

travail était d'évaluer la sensibilité de 100 isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* recueillies à partir de des champs de blé dur infectés dans les zones céréalières de l'est algérien pendant quatre saisons agricoles (2012-2015) à trois types de fongicides: inclinaison le Tilt250E (strobilurine), L'Amistar (triazol) et L'Amistar Xtra (combinaison de strobilurine et de triazols) afin de suivre le changement dans leurs valeurs CI 50 et CI 90 pendant les quatre années.

Le présent manuscrit contiendra :

- Une partie de synthèse bibliographique des données de la littérature concernant les maladies cryptogamiques du blé dur ainsi que l'agent phytopathogène *Pyrenophora tritici repentis*, la lutte chimique contre la tache auréolée et le problème de la résistance des champignons phytopathogènes aux fongicides agricoles.
- Une partie qui présentera tous les outils et le protocole expérimental utilisés pour la réalisation de ce travail.
- Une partie consacrée à l'exposition des résultats et de discussion qui se terminera par une conclusion et des perspectives pour les futures recherches.

*PARTIE*

*BIBLIOGRAPHIQUE*

### Chapitre I : Les maladies cryptogamiques du blé dur

Le blé dur peut être attaqué par de nombreuses maladies cryptogamiques (Badillet et *al*, 1987 ; Champion, 1996 ; Bonjeau, 2000 ; Boulal et Zaghouane, 2007) et à différents stades de son développement (**Tableau N°1**), ces maladies peuvent occasionner des pertes importantes du rendement, surtout lorsque les variétés cultivées sont sensibles et les conditions de l'environnement sont favorables à leurs l'expansion.

Les dégâts engendrés par ces maladies ne touchent pas uniquement le rendement, mais ils peuvent aussi être à l'origine de :

- ✓ Dépréciation de la qualité des graines (fusariose, carie, charbon)
- ✓ Perte de la valeur boulangère
- ✓ Présence de certaine substance toxique (fusariose)
- ✓ Réduction de la valeur nutritionnelle des fourrages.

**Tableau N°1** : les principales maladies cryptogamiques du blé dur (Ezzahiri, 2001 ; Lepoivre, 2003 ; Soltner, 2005 ; Djermoun, 2009)

Champignon pathogène	Mode de conservation	Maladies
<i>Fusarium culmorum</i>	Sol	Pourriture racinaire
<i>Fusarium graminearum</i>		
<i>Ustilago nuda</i>	Semence	Charbon nu
<i>Tilletia caries</i>		Carie
<i>Septoria nodorum</i>		Septoriose des épis
<i>Erysiphe graminis f. sp. Tritici</i>	Chaume	Oïdium
<i>Septoria nodorum</i>		Septoriose des épis
<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>		Tache auréolée

<i>Puccinia recondita</i>	Chaume + plante hôte	Rouille brune
<i>Puccinia graminis</i>		Rouille noire
<i>Puccinia striiformis</i>		Rouille jaune

### 1-1-La tache auréolée (Tan spot)

La tache auréolée, connue aussi sous les noms de tache helminthosporienne ou la tache bronzée, est une maladie foliaire du blé dur (Zillinsky, 1983 ; Semal, 1996 ; Friesen, 2003 ; Agrios, 2005), elle est largement distribuée dans les régions productrices du blé dur à travers le monde (Perello et Moreno, 2003 ; Todorova, 2006 ; Carmona et al, 2006 ; Lamari et Strelkov, 2010 ; Gamba et al, 2017 ; Kamel et al, 2019). En Algérie, la sévérité de la maladie est forte dans les zones littorales (l'Est), moyenne dans les plaines intérieures et faible dans les hauts plateaux (Abassene et al, 1998 ; Sayoud et al, 1999 ; Ezzahiri, 2001 ; Boufenar et Zaghouane, 2006 ; Djarmoune, 2009 ; Duveiller et al, 2005).

Les pertes de rendement causées par cette maladie varient chaque année en fonction des conditions climatiques, la variété du blé dur semée et le stade de la culture au moment de l'attaque, ces pertes peuvent atteindre 30 à 50% quand la maladie est présente tout au long du cycle de la culture et entre 10 à 15% quand elle attaque aux stades tardifs seulement (Ree et al, 1982 ; Semal, 1996 ; Lepoivre, 2003 ; Agrios, 2005 ; Manning et Ciuffetti, 2005 ; Strelkov et al, 2006).

### 1-2-Symptômes

La tache auréolée se manifeste sur les feuilles du blé dur sous forme de tache losangiques ou allongées (**Photo N°1**) de couleur jaune au milieu des quelles il apparait un point de couleur brune ce symptôme est généralement appelé la nécrose (Zhang, 1997 ; Martinez et al, 2001 ; Engle et al, 2004). Plus tard, les taches se réunissent et déterminent sur

les feuilles de larges plages jaunâtres induisant une chlorose aboutissant à la mort des feuilles, une coloration rose à rouge (red smudge) peut apparaître aussi sur les grains de blé comme un signe d'infection (Agrios, 2003 ; Strelkov et Lamari, 2003). (**Photo N°2**).

### 1-3-Agent phytopathogène

Le champignon causant la tache auréolée est un ascomycète homothallic, isolé pour la première fois en Allemagne est identifié comme : *Pleospora trichostoma* par Diecke (Drechsler, 1923 ; Shoemaker, 1959), puis en 1928 il était nommé *Helminthosporium tritici repentis* (Shoemaker, 1962 ; Badillet et al, 1987), ce champignon présente sous deux formes :

#### 1-3-1-Forme parfaite ou téléomorphe : *Pyrenophora tritici repentis*

Correspond au stade sexué, les ascospores produits sont brune, ovoïdes munies de trois cloisons transversales et d'une cloison longitudinale (**Photo N3**), ils mesurent 40 à 60  $\mu\text{m}$  de long et 18 à 25  $\mu\text{m}$  de large. Généralement, 8 ascospores sont produites et maintenues dans un asque mesurant 170 à 215  $\mu\text{m}$  de long et 43 à 50  $\mu\text{m}$  de large, après maturation, les ascospores sont libérés à courte distance et constituent l'inoculum primaire pour l'infection des jeunes plantes de blé dur (Zillinsky, 1983 ; Evans et al, 1996 ; Bouchet et Guignard, 2000 ; Pandelova et Ciuffetti, 2007).



**Photo N°1** : stade précoce de la tache auréolée sur feuille de blé dur (nécrose)



**Photo N°2** : stade tardif de la tache auréolée sur feuille de blé dur (chlorose)

### 1-3-2-Forme imparfaite ou anamorphe : *Drechslera tritici repentis*

Correspond au stade asexué, les conidies produites sont de forme cylindrique, grise jaunâtre et mesurant 80 à 170 µm de long et 12 à 24 µm de large, ces conidies comportent 4 à 9 cloisons transversales (**Photo N4**), elles sont portées par des conidiophores et produites généralement sur les feuilles infectées sous forme d'un point noir au centre. Les conidies constituent un inoculum secondaire pour le cycle de la maladie, elles sont transportées à longue distance par le vent et infectant un grand nombre de plante (Zillinsky, 1983 ; Adee et Pfender, 1989 ; Agrios, 2003 ; Friesen, 2003).

### **1-4-Classification**

*Pyrenophora tritici repentis* est classé comme suit (Shoemaker, 1962 ; Bouchet et Guignard, 2000) :

Règne : Fungi

Embranchement : Ascomycota

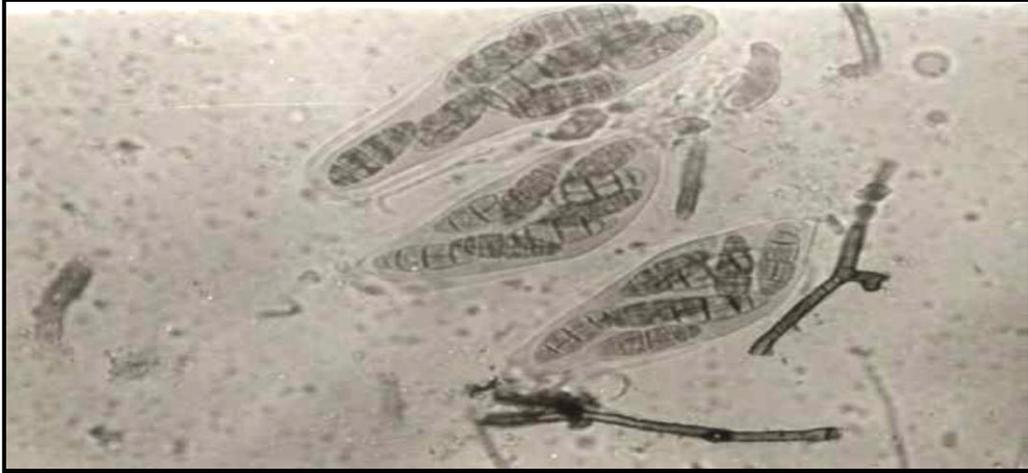
Classe : Dothidiomycetes

Ordre : Pleosporales

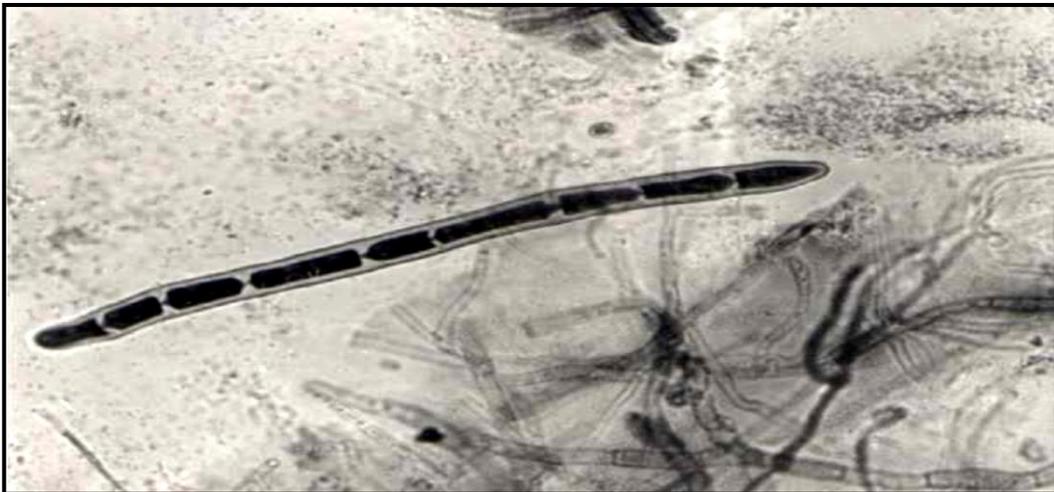
Famille : Pleosporaceae

Genre : *Pyrenophora*

Nom binomial : *Pyrenophora tritici repentis*



**Photo N3** : Ascospores de *Pyrenophora tritici repentis* (Agris, 2003)



**Photo N4** : Conidies de *Pyrenophora tritici repentis* (Agris, 2003)

### 1-5-Cycle de développement de la tache auréolée

Le champignon hiverne sur le chaume de blé dur et la paille à la surface du sol pendant l'automne et l'hiver, après un temps pluvieux et humide (humidité é de 60 à 100%) et des températures oscillant entre 15 et 28 C°, les ascospores débutent leurs germination et se présente sous forme de point noirs sur les résidus du blé dur (**Photo N5**), une fois matures, les ascospores sont libérées et transportées par le vent à des courtes distances (Zillinsky, 1983 ; Agrios, 2003 ; Mikhailova et Prigorovskaya, 2005) .

Le cycle de la maladie s'étend généralement du stade levé au stade épiaison, plus tard, des conidies sont produites en grand nombre au niveau des lésions foliaires, puis elles sont transportées par le vent à des long distances, permettant ainsi la propagation de la maladie et l'infection d'un grand nombre de plante (**Photo N6**).

### 1-6-Toxines produites et races physiologiques

L'observation de comportement individuel des isolats de *Pyrenophora tritici repentis* inoculés sur des variétés spécifiques de blé dur, a montré que le champignon peut induire chez la plante hôte deux symptômes différents: la nécrose ou la chlorose (Hunger et Brown, 1987 ; Duguid et Brûlé-Babel, 2001 ; Ali et Francl, 2002). En réalité, ces deux symptômes sont le résultat de trois types de toxines sélectives produites par le pathogène au cours de l'infection.

Ces toxines sont communément appelées : toxine A, toxine B et toxine C, les deux premiers sont de nature protéique tandis que la troisième et de nature inorganique (Lamai et al, 2003 ; Strelkov et Lamari, 2003 ; Freisen et al, 2005).



Photo N°5 : Fructification de *Pyrenophora tritici repentis* sur chaume du blé

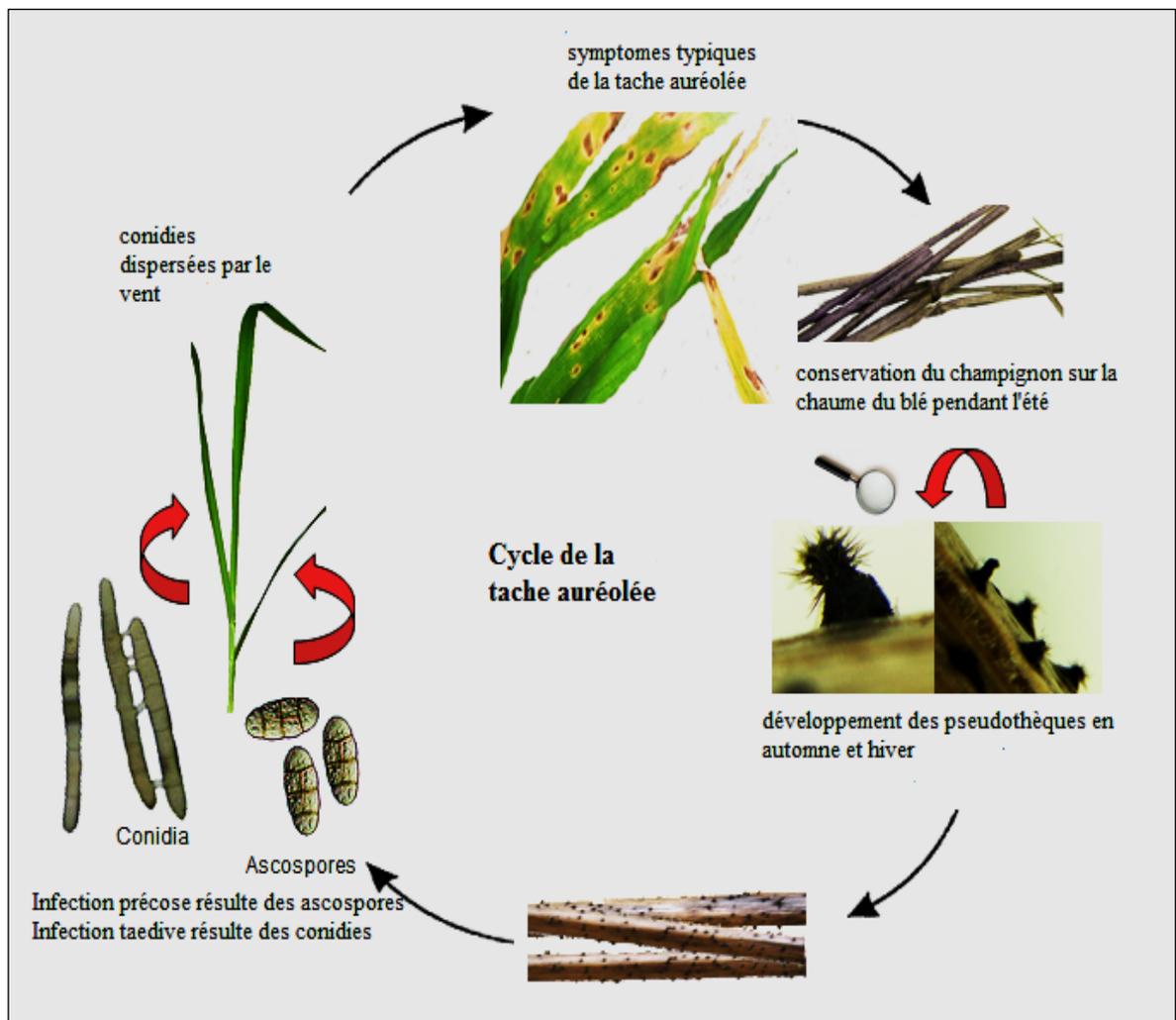


Photo N°6: Cycle de développement de *Pyrenophora tritici repentis* (Moreno et Perello, 2010)

Les recherches ont montrées que la toxine A est à l'origine de symptôme nécrose et les toxines B et C sont à l'origine de la chlorose (Singh et Hughes, 2006 ; Andonova et Todorova, 2007). En se basant sur ces résultats, Lamari et ces collaborateurs ont créés un système de classification de *Pyrenophora tritici repentis* en pathotypes ou bien en races physiologiques en utilisant une gamme de variétés de blé dur différentielles qui permet de noter les symptômes induits par chaque pathotype (Leisová et Hanzalová, 2008 ; Perello, 2011). Actuellement, *Pyrenophora tritici repentis* est divisée en 8 races physiologiques selon le type de toxine produite et le symptôme induit, le **Tableau N 2** résume cette classification.

**Tableau N 2** : Races physiologique de *Pyrenophora tritici repentis* selon Lamari et al, (2003)

Race	Glenlea	Katepwa	6B662	6B365	Salamoun i	M3
1	N (toxine A)	N (toxine A)	R	CL (toxine C)	R	R
2	N (toxine A)	N (toxine A)	R	R	R	R
3	R	R	R	CL (toxine C)	R	R
4	R	R	R	R	R	R
5	R	CL (toxine B)	CL (toxine B)	R	R	R

6	R	CL (toxine B)	CL (toxine B)	CL (toxine C)	R	R
7	N (toxine A)	N (toxine A)	CL (toxine B)	R	R	R
8	N (toxine A)	N (toxine A)	CL (toxine B)	CL (toxine C)	R	R

Référence : **N** = nécrose, **CL** = chlorose, **R** = résistant

### 1-7-La tache auréolée : une maladie dévastatrice à l'échelle mondiale

La tache auréolée est l'une des maladies les plus dévastatrices du blé dur avec une distribution géographique mondiale, cette maladie fongique a été signalée dans toutes les régions de culture de blé dur et sous des conditions climatiques différentes, ce qui indique que le champignon responsable est d'une grande capacité adaptative (Loughman et al, 1998 ; Lamari et al, 1998 ; Ali et Francl 1999 ; Feldman, 2001). La maladie a été signalée dans les plaines de Canada, en Australie, en USA, en Asie, en Afrique du nord et en plusieurs pays européens (Andrie et al, 2003 ; Engle et al, 2004 ; Strelkov, 2006). Les pertes de rendement engendrées par cette maladie variaient selon les rapports d'une région à autre selon plusieurs facteurs, mais généralement elles étaient estimées entre 20 et 70% (Moreno, 2008 ; Andonova et Todorova, 2007 ; Perello, 2011).

En Algérie, les derniers rapports publiés par Benbelkacen et Bendif en 2010 montrent que la situation des maladies du blé dur a été caractérisée par la prédominance de la rouille brune et la tache auréolée (**Figure N1**). Durant les prospections, la tache auréolée a été présente dans toutes les régions céréalières de l'Algérie avec un pourcentage de 60% par rapport aux autres maladies cryptogamiques, en plus les rapports montrent que les variétés de blé dur semées ont été particulièrement sensibles à la maladie (Boufenar et Zaghouane, 2006 ; Djermoun, 2009 ; .Benslimen et al, 2011).

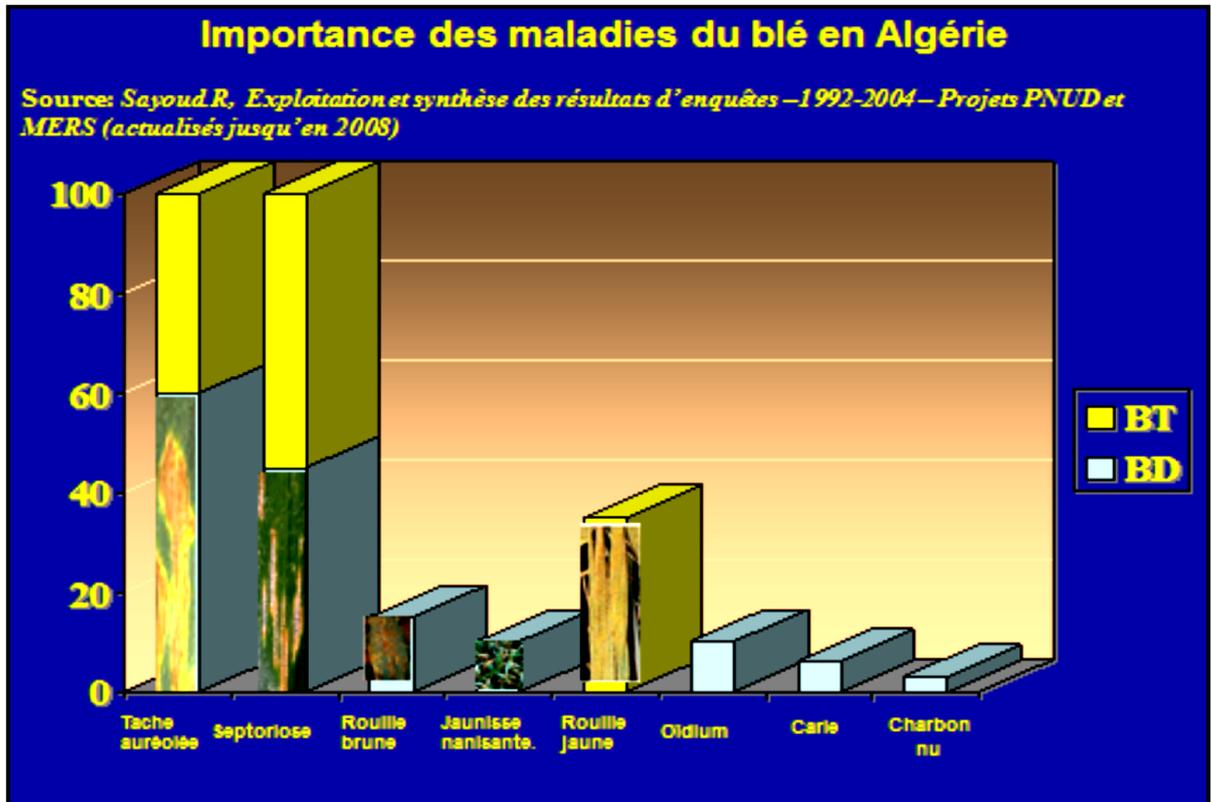


Figure N1 : Distribution des maladies du blé en Algérie selon les rapports de Sayoud (2008).

### 1-8-Gestion et control de la maladie

Les moyens de lutte adoptés contre la tache auréolée, sont les mêmes établies par les phytopraticiens contre toutes les maladies cryptogamiques des céréales en général. Le programme de lutte repose sur trois axes majeurs :

1-Eviter le pathogène : par des mesures prophylactiques reposant essentiellement sur le respect de pratiques culturales de base pour réduire l'inoculum première de l'infection, ces pratiques repose sur :

- ✓ Rotation des cultures.
- ✓ Enfouissement des résidus des cultures précédentes
- ✓ Semi tardif surtout dans les régions littorales.
  
- ✓ Eviter le semi directe et recoure au labour.

2-Elimination et destruction du pathogène : qui constitue la lutte chimique ou il ya le recours aux fongicides dès l'apparition des premiers symptômes de la maladie, les fongicides utilisés sont généralement à base de triazoles, de strobilurines ou une mixture entre les deux.

3-Développement des hôtes résistants : qui représente la lutte génétique, elle repose sur l'utilisation des variétés de blé dur résistantes, selon les spécialistes en phytopathologie c'est la meilleure méthode pour minimiser les dégâts de la tache auréolée même si les conditions climatiques sont lui y favorable.

### **Chapitre II : Lutte chimique contre la tache auréolée :**

Comme toutes les cultures céréalières, le blé dur est fréquemment attaqué par de nombreuses maladies fongiques qui peuvent survenir à n'importe quel stade de son développement, les pertes énormes de rendement causées par ces maladies ont obligées les agriculteurs à utiliser plusieurs types de fongicides appartenant aux différentes familles chimiques et avec des modes d'action différents afin de protéger leurs cultures et réduire le degré des dégâts engendrés par ces maladies fongiques.

#### **2-1-Les fongicides**

En terme général, un fongicide est une substance chimique naturelle ou synthétique capable de tuer un champignon microscopique (Lhoste, 1961 ; Huston et Miyamoto, 1998 ; Bonjeau, 2000 ; Morton et Stanb, 2008 ; Carisse, 2010).

En agriculture, les fongicides sont des produits chimiques phytosanitaires utilisés pour combattre les maladies cryptogamiques des végétaux dues aux champignons parasites microscopiques (Ardigier et Dufan, 2001 ; Pimentel, 2002 ; Regnault-Roger et *al*, 2005).

#### **2-2-Critères de choix d'un fongicide agricole**

Un bon fongicide agricole doit posséder en plus de ses qualités biologiques antifongiques et non phytotoxiques pour la plante cultivée, un certain nombre de propriétés nécessitées par les conditions de son emploi comme la résistance au lessivage par la pluie, la stabilité à la chaleur solaire et ne doit pas être trop volatile. En plus, un bon fongicide agricole doit être facile à appliquer, ne présente aucun risque pour le manipulateur et l'environnement (Syngenta ; Leroux P, 2003 ; Duvivier et *al*, 2013).

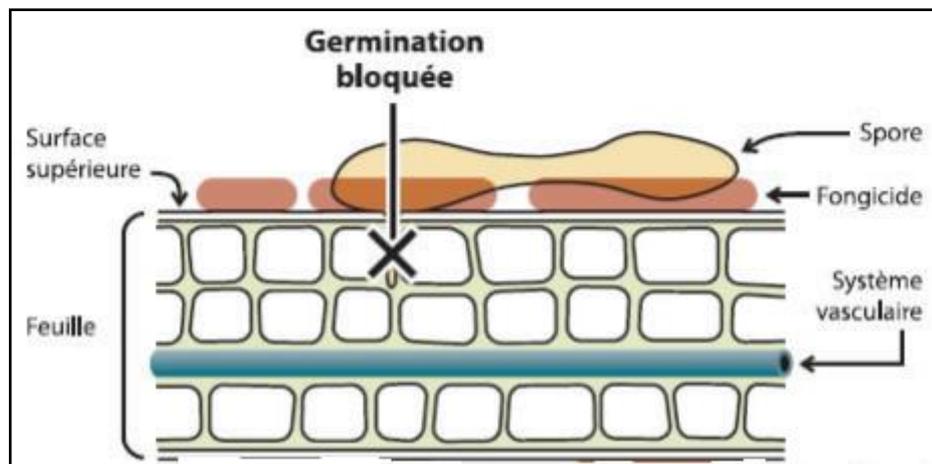
#### **2-3-Classification des: fongicides agricoles**

En agriculture, les fongicides sont classés en groupes selon plusieurs critères comme la composition chimique, l'effet exercé, l'agent pathogène à éradiquer, le mode d'action ou encore la culture à protéger. Les plus importants sont :

## 2-4-Classification selon l'effet et le rôle du fongicide sur la croissance du champignon

Selon l'effet exercé au niveau du cycle de vie du champignon parasite (Bockus et al, 1992 ; Sharma, 2000 ; Serghat et al, 2004). un fongicides peut être qualifié de :

**2-4-1- Préventif** : qui agisse par contact et empêchent la germination des spores à la surface de la plante (**Photo N°8**), ce type de fongicide n'est pas absorber par la plante et par conséquent il est lessivé par la pluie.



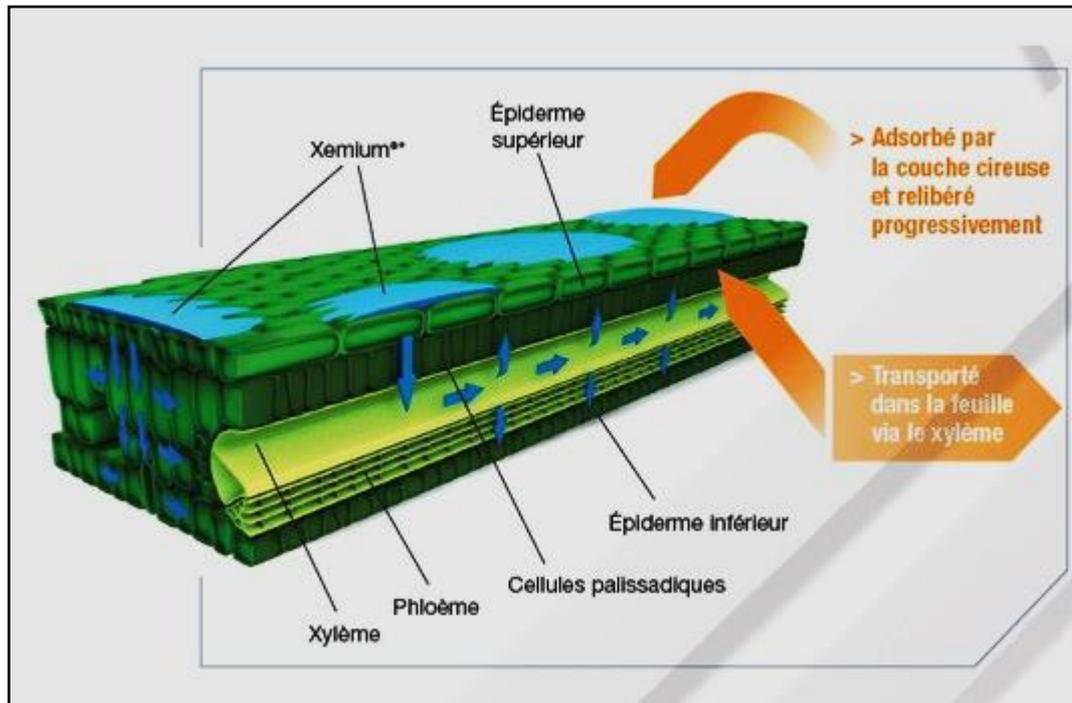
**Photo N°8** : Mode d'action d'un fongicide à effet préventif (Pimentel, 2002)

**2-4-2-Curatif** : qui agisse par pénétration et stop le développement du champignon déjà installé dans la plante (**Photo N°9**), il est absorbé par la plante et peut inhiber la croissance du champignon présent au niveau des tissus végétaux.



**Photo N°9** : Mode d'action d'un fongicide à effet curatif (Pimentel, 2002)

**2-4-3-Systémique** : il est à la fois préventif et curatif en même temps, il pénètre dans la plante, puis il est véhiculé par la sève dans toutes les parties végétales ce qui permet la protection des parties non traitées et celles nouvellement émergées de la plante (PhotoN°10).



**Photo N°10** : Mode d'action d'un fongicide de type systémique (Pimentel, 2002)

### 2-5-Classification des fongicides selon le mode d'action

L'émergence de la résistance aux fongicides chez les champignons phytopathogènes a conduit les scientifiques de se concentrer sur la classification selon leurs modes d'action biochimiques. Il y a une multitude de modes d'action des fongicides selon la cible visée de la cellule fongique, ils peuvent altérer la membrane des cellules des champignons, désactiver des enzymes ou des protéines, interférer avec des processus de respiration et de production d'énergie. Certains fongicides interfèrent avec des cycles de divisions cellulaires, d'autres possèdent la capacité de stimuler les défenses naturelles de la plante. Il faut savoir que tous les fongicides appartenant au même groupe chimique ont le même mode d'action (Lhoste, 1961 ; Bye et *al*, 1991 ; Pimentel, 2002 ; Vorstermans et *al*, 2005) .

### ***2-5-1-Les multisites***

Sont généralement des fongicides de contact (non systémiques), ils ont plusieurs sites d'action au niveau de la cellule fongique, l'action de ces fongicides se faisant par contacte avec les spores, ils sont appliqués à forte dose (1 à 2 kg/hectare) et d'une manière systémique ce qu'ils les qualifiés d'agents polluants important. Parmi ce groupe on trouve les Dithiocarbamates et les Chloronitriles, le caractère multisites de ces fongicides faits que le risque de développer de la résistance est faible.

### ***2-5-2-Les unisites***

Leur action est ciblée sur une seule fonction biologique spécifique du champignon, ils ont un effet curatif grâce à leurs systémie plus ou moins importante selon leurs pénétrations et répartition dans la plante. L'effet curatif de ces fongicides permet de limiter le nombre de traitement et ils sont employés à faibles doses de l'ordre de 100g/hectare, les triazoles, les strobilurines et les morpholines sont les principaux fongicides de ce groupe. Par contre le caractère unisite de ce type de fongicides à conduit à un développement rapide de la résistance.

### **2-6-Principales familles de fongicides céréales**

La protection fongicide des céréales contre les maladies cryptogamiques repose actuellement sur sept groupes majeurs de molécules (**Tableau N°3**) avec des modes d'actions différents.

**Tableau N 3 : Principaux fongicides céréales (Syngenta ; Morton et Stanb, 2008).**

<b>Nom du groupe</b>	<b>Famille chimique</b>	<b>Mode d'action</b>	<b>Cible</b>
BMC (MéthylBenzimidazol Carabamates)	benzimidazoles	Division cellulaire	Microtubules
SDHI (succinat desyhydrogenase inhibitors)	Phenyl benzamides  Thiazole- carboxamides	Respiration	Complexe mitochondrial II  (succinate déshydrogénase)
QoI (quinine outside inhibitors)	Methoxy-acrylates  Oximino-acetates		Complexe mitochondrial III  Cytochrome b
AP (Anilion Pyrimidines)	Anilinopyrimidines	Synthèse des acides aminés et protéines	Biosynthèse de la méthionine
IDM (Demethylation inhibitors)	Triazoles	Biosynthèse des lipides membranaires	C14 deméthylation des stéroles
Amines	Morpholines  Pipéridines		$\Delta$ 14 reductase et isomérase des stéroles
Dithiocarbamates  Chloronitries	Dithiocarbamates  Chloronitries	Mutisites	Plusieurs sites d'action

### Chapitre III : Fongicides et résistance des champignons phytopathogènes

L'utilisation massive des fongicides pour le contrôle des maladies dévastatrices du blé dur tel que la septoriose, l'oïdium ou encore la tache auréolée a conduit à une émergence rapide de la résistance aux différentes familles de fongicides chez ces champignons phytopathogènes (Gisi et al, 2000 ; Aman et al, 2003 ; Brano et al, 2014). Cette résistance se traduit pratiquement par une perte d'efficacité aux champs, *Sptoria tritici*, *Erysiphe graminis* et *Pyrenophora tritici repentis* sont actuellement résistants à la plus part des fongicides céréales, le problème a commencé d'abord avec les strobilurines, à partir de 2001, des isolats de *Sptoria tritici* collectés en Europe (Irlande, France, Allemagne) ont été insensibles aux strobilurines, à partir de 2004, 80% des isolats de *Sptoria tritici* sont résistants dans les parcelles traitées avec une strobilurine (Gisi et al, 2002 ; Barlett et al, 2002 ; Leroux et Wakers, 2010) . La situation était similaire pour *Pyrenophora tritici repentis*, en 2003 des isolats originaires du Danemark, Canada, Australie et de l'Europe orientale ont présentées des niveaux de résistance très élevés aux strobilurines. Le problème s'étend ensuite aux triazoles, principales classe des IDM, depuis 2003, les rapports des scientifiques apportent de plus en plus des nouvelles informations sur la résistance à cette famille de fongicides. *Erysiphe graminis* agent responsable de l'oïdium est depuis 2001 est résistant à la majorité des fongicides IDM, la résistance est implantée dans toutes les zones céréalières avec une émergence très rapide des phénotypes résistants. Cette perte de sensibilité, résulte selon les chercheurs aux plusieurs mutations génétiques touchant les gènes codant pour les cibles d'actions de ces fongicides (Cools et Fraaigie, 2008 ; Singh et al, 2008 ; Mc Mullen et al, 2009 ; Kildea, 2010 ; Duvivier et al, 2013).

#### 3-1-La résistance aux fongicides

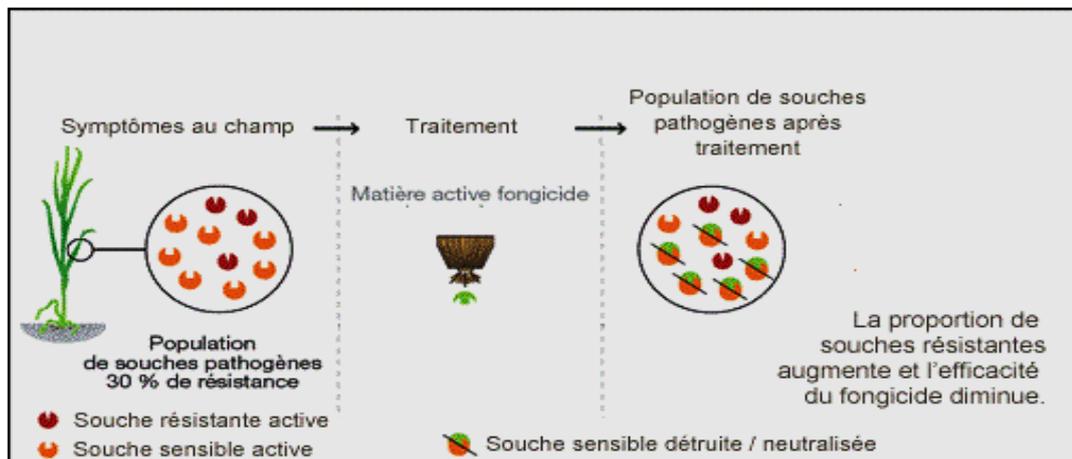
Dans le domaine agricole, il ya plusieurs termes en relation avec la résistance aux fongicides, il faut donc distinguer entre :

##### 3-1-1-Résistance pratique

un changement transmissible de la sensibilité d'une population de champignon qui se traduit par les échecs répétés (plus d'une fois) d'un produit à obtenir le niveau de lutte attendu sur terrain, alors que ce produit est utilisé suivant les recommandations de l'étiquette et que les problèmes de

stockage et d'application, et les conditions climatiques et environnementales inhabituelles peuvent être écartés comme causes de l'échec (Sutton et Roke, 1986 ; Ragsdal, 1992 ; Ellis et *al*, 2003 ; Carisse , 2003).

Il paraît que les souches résistantes sont présentes naturellement dans la population du champignon mais restent minoritaires (**Photo N°11**), ce sont celles sélectionnées par des applications répétées d'une même famille de fongicides avec le même mode d'action, ainsi, avec les traitements, les souches sensibles sont éliminées laissant alors le champ libre à celles qui ont plus d'aptitudes génétiques à résistées, elles se croisent entre elles et augmente ainsi la résistance au champ (Syngenta ; Corbaz, 1990 ; Ragsdal, 1991 ; Letessier et *al*, 2001).



**Photo N11** : la Pression de sélection par un fongicide des souches résistantes (Syngenta ; Leroux, 2010)

### 3-1-2-Résistance technique

C'est une réduction de la sensibilité d'un champignon à un fongicide donné, cette insensibilité résulte d'une sélection des souches résistantes présentent naturellement à l'intérieur de la population d'un champignon (Carisse, 2003 ; Sharma, 2000 ; Oxenham et *al*, 2005).

### **3-1-3-Résistance croisée**

Survienne l'orsque la résistance vis-à-vis de deux ou plusieurs fongicides est déterminée par le même gène, cette résistance apparait la plupart du temps entre deux fongicides à structure chimiques voisines ou qui ont des modes d'action similaires (Bye et *al*, 1991 ; Maouni et *al*, 2002).

### **3-2-Facteurs favorisant le développement de la résistance aux fongicides**

Les facteurs qui influent sur le développement d'une résistance à un fongicide donné peuvent être regroupés en trois catégories :

#### **3-2-1-Facteurs biologique**

Ces facteurs sont en relation directe avec la physiologie et le mode de vie du champignon phytopathogène, les plus influençant sont (Shurleff, 1997 ; Murray , 1998 ; Duveiller et *al* , 2005 ; Mc Mullen, 2010) :

##### **3-2-1-1-La taille de la population**

C'est un élément majeurs dans le processus de développement de la résistance, plus la population du champignon est nombreuse, plus grandes sont les probabilités que les souches résistantes peuvent se reproduire et transmettre les gènes de résistance et par conséquence l'émergence sera très rapide. En revanche, si la taille de la population est réduite, es probabilités que les souches résistantes peuvent se reproduire sont basses et le développement d'une résistance s'en trouvera ralenti.

##### **3-2-1-2-Le potentiel reproductif**

Il représente le nombre de spores produits durant le cycle de vie du champignon phytopathogène, chaque lésion pathologique peut relâchée des milliers de spores, plus élevé le nombre de spores produits, plus élevé le nombre de souches résistantes sera dans la population.

### **3-2-1-3-*Le type de reproduction***

La reproduction sexuée chez les champignons accroît la possibilité de développement d'une résistance à travers la formation de nouvelles combinaisons génétiques, une fois la résistance est sélectionnée, elle est rapidement propagée par la reproduction asexuée.

### **3-2-1-4-*La dispersion***

Les spores des champignons peuvent être dispersées sur de longues distances par le vent ou introduites avec les semences, le sol, les équipements et les débris végétaux, ces différents modes de dispersion favorisent le mouvement des souches résistantes de leur point initial vers d'autres zones ce qui facilite ainsi leurs implantation et généralise la résistance dans tout le champ.

### **3-2-2-Facteurs génétiques**

La résistance aux fongicides est un phénomène absolument génétique, la présence d'un ou de plusieurs gènes protégeant un champignon contre un fongicide explique sa capacité de survivre, les facteurs les plus impliqués dans cette résistance sont (Carisse, 2003 ; Lamari *et al*, 2005 ; Mc Mullen et Adhikari, 2009) :

#### **3-2-2-1-*Apparition des gènes de résistance***

Pour la sélection de la résistance dans une population du champignon, il faut qu'au moins quelques souches possèdent les gènes résistants, le degré de la résistance et la rapidité avec laquelle elle se développe dans la population dépend de l'efficacité de ces gènes, en générale, plus la fréquence des gènes de résistance est élevée, plus vite la résistance sera sélectionné.

#### **3-2-2-2- *Nombre de mécanismes de résistance***

La résistance aux fongicides peut se développée facilement quand le champignon possède plus d'un mécanisme de résistance, l'effet combiné de deux mécanismes accroît considérablement le degré de cette résistance et lui rend résistant à plusieurs familles de fongicides, ce phénomène est appelé une multirésistance.

### **3-2-2-3-Dominance des gènes de résistance**

Les gènes de la résistance peuvent être dominants ou récessifs, si le caractère résistant est dominant chez un champignon, la résistance peut rapidement s'établir dans la population et les facteurs opérationnels vont favoriser son émergence. Chez les champignons phytopathogènes, la plupart des mécanismes de résistance aux fongicides sont contrôlés par des gènes récessifs.

### **3-2-3-Facteurs opérationnels**

La résistance à un fongicide est sélectionnée par le fongicide lui-même, les propriétés de ce fongicide ainsi que la manière dont il est utilisé jouent un rôle clé dans cette résistance (Syngenta ; Pimentel, 2002 ; Carisse, 2003 ; Leroux, 2003 ; Morton et Stanb, 2008).

#### **3-2-3-1-Spectre d'activité du fongicide**

Les fongicides à large spectre, efficaces contre une gamme de champignons phytopathogènes sont plus susceptibles de favoriser le développement de la résistance que les fongicides à spectre étroit, parce qu'ils sont utilisés beaucoup plus souvent dans une zone donnée, ils peuvent sélectionner la résistance chez des espèces non ciblées présentes dans la zone de traitement au même temps que le champignon ciblé.

#### **3-2-3-2-Taux d'application**

Il est important de respecter les doses recommandées et ne pas appliquer une dose inférieure en raison d'économie ou de protection de l'environnement, une dose faible d'un fongicide aura pour effet de rendre les gènes de la résistance fonctionnellement dominants et la résistance se développera rapidement.

#### **3-2-3-3-Fréquence de traitement**

L'application répétée des fongicides durant la même saison accroît la pression sélective dans la population du champignon, le risque augmente avec des fongicides du même groupe et le même mode d'action.

### 3-3-Mécanismes de la résistance

Les champignons phytopathogènes ont recours à une variété de mécanismes pour survivre à l'exposition à des agents toxiques. La résistance se développe plus facilement quand deux ou plusieurs de ces mécanismes entrent en fonction en même temps.

Plusieurs mécanismes permettent l'adaptation du champignon aux molécules antifongiques, on note :

#### 3-3-1--La modification de la cible du fongicide

C'est le mécanisme principal décrit chez les champignons conduisant à la résistance spécifique à une famille de fongicides, il résulte d'une ou de plusieurs mutations génétiques touchant le gène codant pour la protéine cible, par conséquent, il ya une perte d'affinité du fongicide pour son site de fixation. La résistance aux strobilurines par exemple est induite par deux mutations au niveau du gène codant pour le cytochrome b qui est la cible du fongicide (Gisi et *al*, 2002 ; Vorstermans et *al*, 2005 ; Morton, 2008).

**3-3-2-** Développement d'un système secondaire de compensation pour remplacer celui qui est affecté par le fongicide, dans le cas des strobilurines, les champignons résistants ont développés un système de respiration alternatif pour la production de l'énergie (Singh et *al*, 2008 ; Leroux et Wakers, 2010 ; Brano et *al*, 2014).

**3-3-3-** L'activation de systèmes d'excrétion ou de détoxification du fongicide :

Chez certaines espèces fongiques, des pompes à efflux sont impliquées dans le mécanisme de résistance, ces structures membranaires spécialisées permettent au champignon de croître en présence de fongicide par excrétion de se dernier à l'extérieur de la cellule. Deux types essentiels de ces pompes ont été identifiés : les ATP Binding Cassette (ABC) et les Majors Facilitators Superfamily (MFS) (Singh et *al*, 2008 ; Duvivier et *al*, 2013).

Un mécanisme de résistance plus rare a été identifié chez *M. graminicola* : la résistance multi-drogues (MDR). Elle se caractérise par la résistance croisée à des fongicides ayant des modes d'action différents, liée à l'excrétion accrue des fongicides par des transporteurs membranaires (Leroux et *al*, 2013, Leroux & Walker, 2013). La MDR est en émergence depuis 2008 pour cet espèce.(Leroux & Walker, 2011)

### 3-4-Contrôle de la résistance aux fongicides pour les céréales

La gestion de la résistance aux fongicides chez les champignons phytopathogènes des céréales, repose selon les phytopathologistes sur une lutte intégrée qui comprend un programme regroupant l'ensemble des méthodes de lutte déjà citées. Pour que la lutte soit efficace, il faut :

**Préférer des variétés peu sensibles** aux maladies et éviter d'utiliser des variétés de blé sensibles sur toute l'exploitation.

- **Diversifier les variétés** à l'échelle de l'exploitation d'une année sur l'autre pour favoriser la durabilité des résistances génétiques.
- Privilégier les pratiques culturales permettant de réduire le risque parasitaire, notamment en **limitant l'inoculum primaire** (ex. rotation, labour, date de semis, densité, azote).
- **Ne traiter que si nécessaire**, en fonction du climat, des conditions de culture.
- **Limitier le nombre d'applications chaque campagne avec des matières actives de la même famille** (caractérisées généralement par une résistance croisée positive). De même, dans le cas où une même matière active peut être utilisée en traitement de l'épi et en traitement des semences, éviter si possible de cumuler 2 traitements avec la même molécule.
- **Diversifier les modes d'action** en alternant ou en associant les molécules dans les programmes de traitements, pour minimiser le risque de développement de résistance.
- Recourir lorsque cela est possible et utile aux **fongicides multisites**, moins susceptibles de sélectionner des populations résistantes.

*PARTIE*

*EXPÉRIMENTALE*



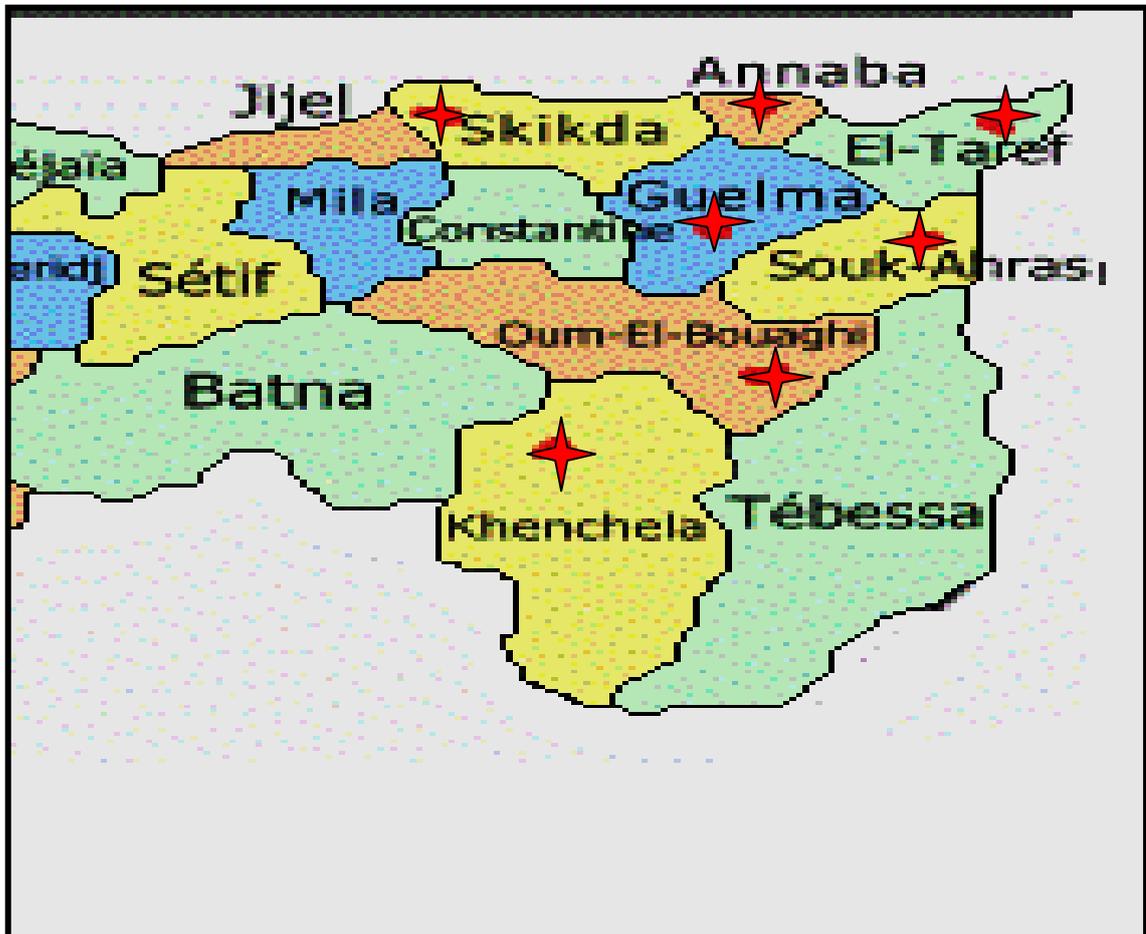
### Matériels et méthodes

#### *Introduction*

A coté des méthodes de lutte culturales, biologiques ou génétique, les fongicides sont largement utilisés pour combattre les maladies cryptogamiques du blé dur, l'emploi des fongicides a permet d'améliorer l'efficacité du contrôle des maladies fongiques, mais d'un autre coté l'utilisation massive de ces substances chimiques a entraînée l'émergence et le développement rapide des souches fongiques résistantes. Le présent travail consiste à suivre le développement d'une maladie fongique du blé dur : la tache auréolée à travers 7 wilayas de l'est algérien durant quatre saisons agricoles successives (2012-2015). L'étude comprend la collecte des échantillons du blé dur avec des symptômes caractéristiques de la maladie, l'isolement et l'identification du champignon phytopathogène *Pyrenophora tritici repentis* et l'évaluation de leurs sensibilité *in vitro* aux trois types de fongicides largement utilisés dans la lutte chimique contre cette maladie.

#### *1- Zone d'étude et Prospections*

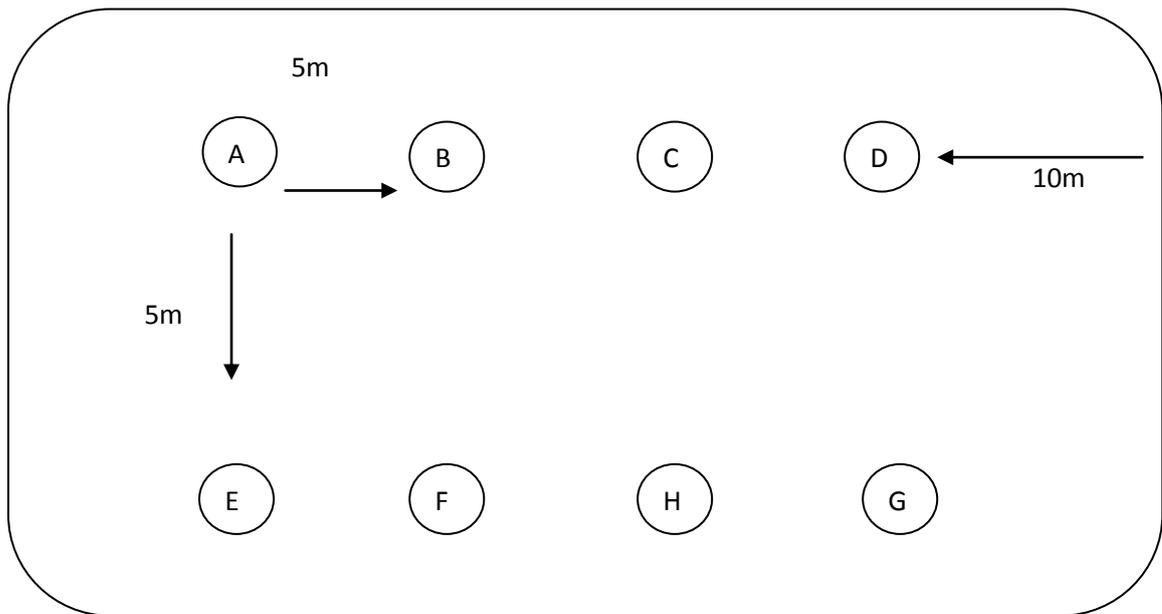
Les prospections ont été réalisées durant quatre saisons agricoles successives de 2012 à 2015 à travers des régions céréalières de 7 Wilaya de l'est Algérien : Annaba, Skikda, Guelma, EL-Taref, Souk ahras, Oum elbouagui et Kenchela (**Figure N°2**). Les prospections ont été effectuées durant la période (Février – Mai) qui correspond à la période active de la maladie, toutes les parcelles visitées on subit un traitement antifongique avec différentes familles de fongicides. Le suivi de la tache auréolée consiste à revisiter les mêmes champs de blé dur l'année suivante, le **Tableau N°4** représente l'origine de chaque prélèvement.



**Figure N°2** : les wilayas prospectées

### 1-1-Méthode d'échantillonnage

La méthode d'échantillonnage utilisée est celle adoptée par Mc Donald (1991), au sein du champ du blé dur choisi, 8 micro-parcelles sont marquées, puis 4 prélèvements sont réalisés au niveau de chacune (**Figure N°3**).



**Figure N°3** : Méthode d'échantillonnage de *Pyrenophora tritici-repentis*, (Mc Donald, 1991 ; Ayad et al, 2014)

**Tableau N°4** : Liste des isolats de *Pyrenophora tritici repentis* avec leurs origines, variété du blé hôte et la date de collection

Isolat	Origine	Variété du blé dur	Date de collection
1	Annaba	Siméto	2012
2	Annaba	GTA DUR	2012
3	Annaba	Simeto	2013
4	El-Tarf	HD1220	2012
5	El-Tarf	Simeto	2012
6	Skikda	Vitron	2012
7	Skikda	Simeto	2013
8	Skikda	HD1220	2013
9	Annaba	GTA DUR	2013
10	S.ahras	Simeto	2012
11	S.ahras	GTA DUR	2013
12	S.ahras	HD1220	2013
13	Guelma	Simeto	2012
14	El-Tarf	Vitron	2012
15	Skikda	Siméto	2013
16	Annaba	Siméto	2013
17	El-Tarf	Chagra	2013
18	Guelma	Simeto	2012
19	Guelma	HD1220	2013
20	S.ahras	Citra	2013
21	Annaba	Siméto	2014
22	Annaba	HD1220	2014
23	S.ahras	Citra	2013
24	Skikda	Siméto	2014
25	Skikda	GTA DUR	2014
26	El-Tarf	Chagra	2013
27	Annaba	Simeto	2015
28	Annaba	GTA DUR	2015
29	Guelma	Simeto	2014

30	Guelma	HD1220	2014
31	S.ahras	Siméto	2014
32	Skikda	Simeto	2014
33	Skikda	GTA DUR	2014
34	El-Tarf	GTA DUR	2013
35	El-Tarf	Simeto	2014
36	El-Tarf	Vitron	2014
37	Annaba	Simeto	2015
38	Guelma	Vitron	2014
39	Guelma	Siméto	2014
40	Guelma	GTA DUR	2015
41	S.ahras	HD1220	2014
42	S.ahras	Simeto	2015
43	S.ahras	GTA DUR	2015
44	Skikda	Siméto	2015
45	El-Tarf	Siméto	2015
46	Guelma	Vitron	2015
47	S.ahras	Simeto	2015
48	Guelma	GTA DUR	2015
49	Skikda	Waha	2015
50	El-Tarf	Siméto	2015
51	Om-Elbouagui	Simeto	2015
52	Om-Elbouagui	GTA DUR	2015
53	Om-Elbouagui	Simeto	2015
54	Khenchela	Waha	2015
55	Khenchela	Waha	2015
56	Khenchela	Semito	2015
57	Annaba	Semito	2014
58	S.ahras	GTA DUR	2014
59	S.ahras	GTA DUR	2014
60	Guelma	Semito	2013
61	Guelma	Vitron	2012

62	Guelma	Semito	2013
63	Om-Elbouagui	Simeto	2012
64	Khenchela	Simeto	2012
65	Skikda	GTA DUR	2013
66	Skikda	GTA DUR	2013
67	Om-Elbouagui	Vitron	2014
68	Annaba	HD1220	2014
69	S.ahras	Vitron	2012
70	Khenchela	Waha	2012
71	Annaba	Vitron	2013
72	S.ahras	Waha	2013
73	El-Tarf	GTA DUR	2012
74	El-Tarf	Simeto	2013
75	Guelma	HD1220	2012
76	Guelma	GTA DUR	2012
77	Annaba	Simeto	2014
78	Annaba	HD1220	2015
79	Om-Elbouagui	Siméto	2014
80	S.ahras	Simeto	2014
81	S.ahras	Vitron	2014
82	Khenchela	HD1220	2015
83	El-Tarf	Vitron	2013
84	Guelma	Simeto	2013
85	Guelma	Waha	2014
86	Khenchela	Simeto	2014
87	El-Tarf	Vitron	2012
88	El-Tarf	Waha	2012
89	Annaba	Simeto	2013
90	El-Tarf	Siméto	2014
91	Skikda	Vitron	2014
92	Skikda	Waha	2015
93	Khenchela	Waha	2013

94	S.ahras	Siméto	2013
95	S.ahras	Vitron	2013
96	Om-Elbouagui	Siméto	2014
97	Guelma	HD1220	2015
98	El-Tarf	Waha	2015
99	S.ahras	GTA DUR	2013
100	Skikda	Simeto	2012

### ***1-2-Conservation des échantillons***

Les feuilles du blé présentant les symptômes typiques de la tache auréolée sont placées individuellement dans des enveloppes en papier accompagnées avec une fiche phytosanitaire contenant les informations concernant la parcelle visitée (région, variété du blé, la date de collecte,...) (Annexe).

### ***2-Isolement du champignon au laboratoire***

Les isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* sont obtenus par la méthode de single spore ou la chambre humide (Davet et Rouxel, 1997 ; Watanabe, 2002 ; Lepoivre, 2003 ; Agrios, 2005 ; Carmona et al, 2006).

- À partir des feuilles de blé infectées (**Photo N°12**), des fragments de 5 à 7cm sont coupés et désinfectés avec une solution d'hypochlorite de sodium à 5% puis rincer à l'eau distillée stérile. Les fragments sont ensuite séchés sur du papier filtre.

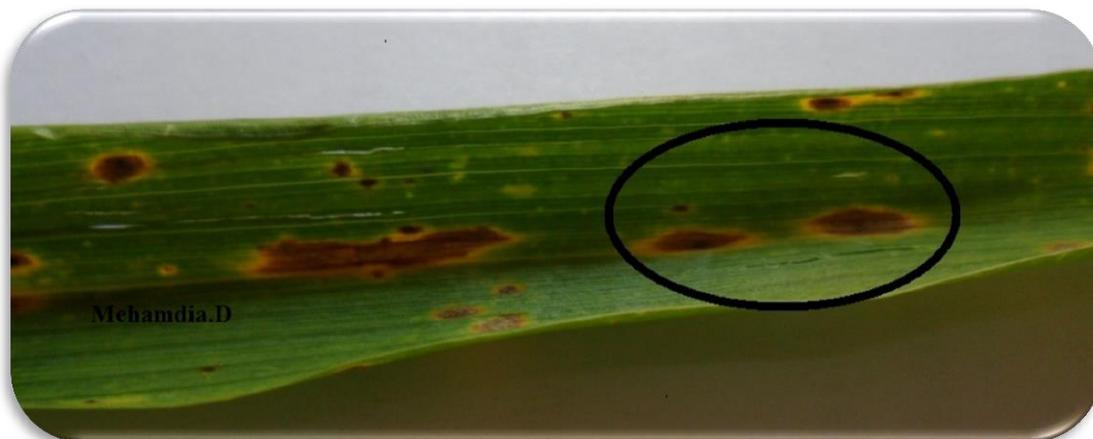
-Avec une pince stérile, placer les fragments des feuilles désinfectées dans des boîtes de Pétri contenant du papier filtre stérile humidifié par de l'eau distillée stérile (**Photo N°13**).

-Les boîtes sont placées dans un sachet fermé et incubées à une température de 25C° pendant 3 à 4 jours à l'obscurité.

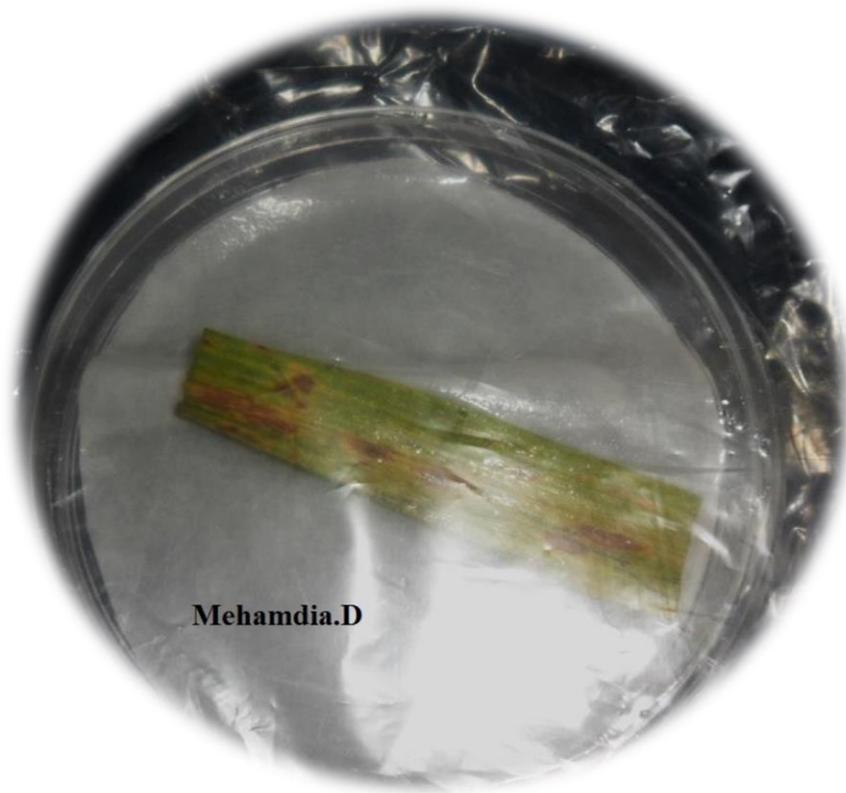
-Les boîtes sont examinées après incubation pour la formation des fructifications sur les fragments des feuilles (**Photo N°14**).

-L'examen microscopique (objectif x40) d'un fragment pour la recherche des spores caractéristiques de l'espèce *Pyrenophora tritici-repentis* (**Photo N° 15**)

-Avec anse de platine stérile, transférer une spore sur une boîte de Pétri contenant un milieu extrait de malt (MEA), les boîtes sont incubées à l'obscurité pendant 7 jours à 25C°



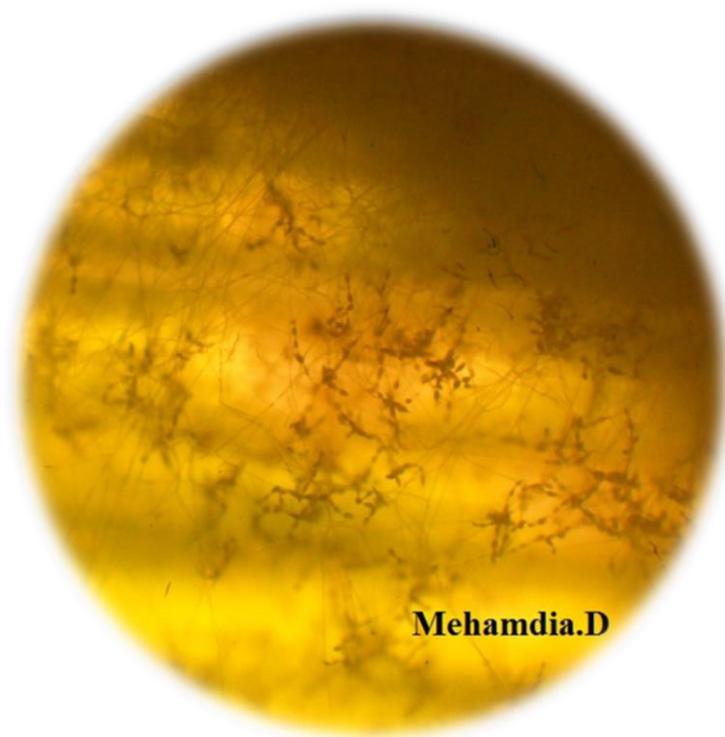
**Photo N°12 :** Symptômes caractéristiques de la tache auréolée sur une feuille de blé dur



**Photo N°13 :** Technique d'isolement du champignon par la chambre humide



**Photo N°14 :** Formation de fructification sur un fragment de feuille



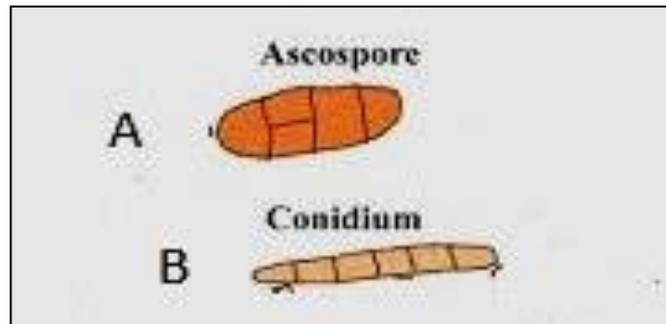
**Photo N°15 :** Fragment d'une feuille de blé dur infecté sous microscope optique  
(objectif x 40)

### 2-1- Identification de l'espèce *Pyrenophora tritici repentis*

L'identification de l'espèce *Pyrenophora tritici repentis* était basée sur les caractères macroscopiques des colonies sur le milieu MEA et l'observation microscopique du mycélium et des spores caractéristiques de l'espèce selon les références de la phytopathologie (**Tableau N°5 ; Photo N°16**)

**Tableau N°5** : Clés d'identification de l'espèce *Pyrenophora tritici repentis* (Zilinsky, 1983 ; Agrios, 2003 ; Sergat, 2004 ; Moreno, 2007)

<b>Élément d'identification</b>	<b>Description</b>
<p><i>Caractère macroscopique des colonies :</i></p> <p>Culture à 22C° pendant 7 jours sur MEA Croissance rapide (diamètre 8 cm)</p>	<p>Colonie duveteuses, cotonnées</p> <p>Couleur blanche, grise, vert gris, vert d'olive</p> <p>Milieu non coloré, coloré en noir.</p>
<p><i>Caractère microscopique :</i></p> <p>Observation sous microscope optique</p> <p><b>1-Stade anamorphe</b> (asexuel)</p> <p><b>2-Stade téléomorphe</b> (sexuel)</p>	<p>Mycélium cloisonné</p> <p><b>1</b>-Les conidies sont cylindriques avec une couleur brune.</p> <p>Les conidies sont munies de 5 à 8 cloisons transversales avec une extrémité en forme de cône à sommet arrondie (forme d'une tête de serpent)</p> <p><b>2</b>-Les ascospores sont brunes jaunâtres, ils sont munies de trois cloisons transversales et d'une ou deux longitudinale</p>



**Photo N°16 :** Représentation de l'aspect microscopique de *Pyrenophora tritici repentis*

(A : ascospore ; B : conidie) (Agrios, 2003 ; Moreno, 2007)

### **2-1-1-Etude de l'aspect macroscopique**

Après 7 jours d'incubation à 25C°, un examen macroscopique des colonies est effectué pour étudier les caractères suivants :

- Vitesse de croissance = mesure de diamètre de croissance
- Aspect des colonies (cotonné, duveteux, poudreux)
- Couleur des colonies en *recto* et en *verso* de la boîte de Pétri
- Pigmentation du milieu de culture

### **2-1-2-Identification de l'aspect microscopique**

Cette étape est réalisée après la purification des souches, elle consiste en une observation microscopique à l'état frais d'un fragment de mycélium selon la démarche suivante :

Mettre un fragment de mycélium dans une goutte d'eau physiologie stérile entre lame et lamelle et observer sous le microscope optique en utilisant le grossissement x 40.

– Noter l'aspect du mycélium cloisonné ou non cloisonné, la présence ou l'absence des conidies et des ascospores, leurs aspects et leurs couleurs.

-Déterminer le stade du champignon anamorphe ou téléomorphe.

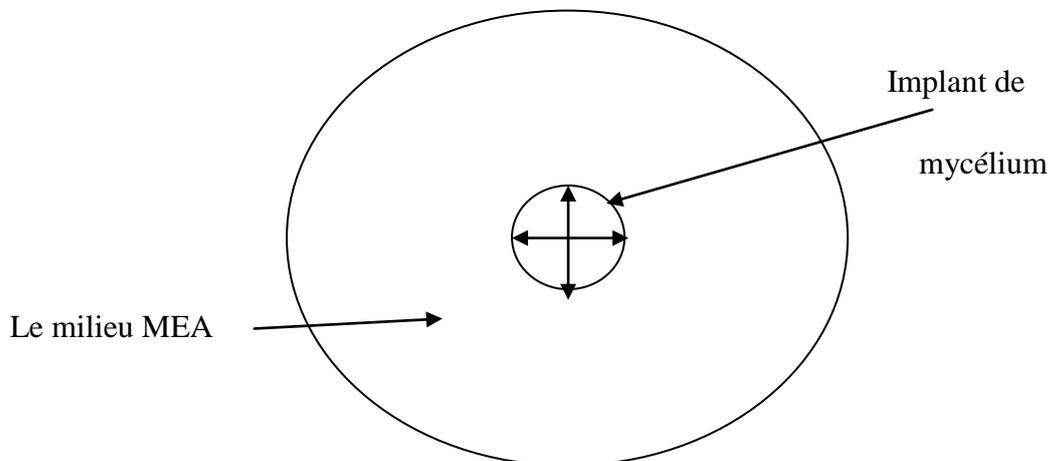
**2-2-Mesure de la croissance radiale**

On mesure pendant 7 jours le diamètre de la croissance de la culture à partir de 2 lignes orthogonales tracés au revers de la boîte (**Figure N°4**), la moyenne des valeurs mesurées est calculée selon la formule suivante : (Ragsdal et Sisler, 1991 ; Blaise, 2001 ; Djeugap et Fontem, 2011).

$$D = (d_1 + d_2 - 2d_0) / 2$$

$d_0$  = diamètre de l'inoculum de départ

$d_1$  et  $d_2$  = les 2 diamètres orthogonaux mesurés.



**Figure N° 4:** Méthode de la mesure des deux diamètres perpendiculaire (Blaise et al, 2001)

### 3- Caractérisation des pathotypes

La caractérisation des isolats de *Pyrenophora tritici repentis* en pathotypes est réalisée selon le protocole de Lamari et ses collaborateurs ( Lamari et al, 2003 ; Andrie et al, 2007), le classement en pathotypes est basé sur la nature des symptômes observés sur les feuilles infectées de blé dur. En général, le champignon peut induire deux symptômes caractéristiques de la tache auréolée : la nécrose qui est une tache losangique de couleur brune (**Photo N17**) ou la chlorose qui est une coloration jaune des feuilles (**Photo N18**) ou bien les deux symptômes en même temps (**Photo N19**), le Tableau N6 résume les critères de classement de *Pyrenophora tritici repentis* en pathotypes.

**Tableau N°6** : Caractérisation des pathotypes de *Pyrenophora tritici repentis* (Lamari et al, 2003 ; Leisova et al, 2008)

<i>Pathotype</i>	Nécrose	Chlorose
1	+	+++
2	+	-
3	-	+
4	-	-



**Photo N17** : Symptômes caractéristiques du pathotype 1 (nécrose+, chlorose+++)  
(Photo personnelle)



**Photo N18** : Symptômes caractéristiques du pathotype 2 (nécrose+, chlorose-)



**Photo N19** : Symptômes caractéristiques du pathotype 3 (nécrose-, chlorose+)

(Photo personnelle)

### 4-Evaluation de la sensibilité des isolats aux trois types de fongicides

#### 4-1- Les fongicides utilisés

3 types de fongicides largement utilisés dans la lutte chimique contre la tache auréolée en Algérie sont retenues dans ce travail : l'Amistar xtra, le Tilt 250EC et l'Amistar, ces fongicides appartiennent aux différentes familles chimiques avec des modes d'action différents.

##### 4-1-1- Le fongicide Tilt 250EC

C'est un fongicide unisite de la famille des triazoles, il contient le propiconazole (250g/l) comme matière active (**Figure N°5**), c'est un fongicide systémique à large spectre d'action avec une activité antimycélienne (Syngenta ; Arvalis ; Bonjeau, 2000 ; Leroux, 2003). Le Tilt 250EC est très toxique pour les organismes aquatiques.

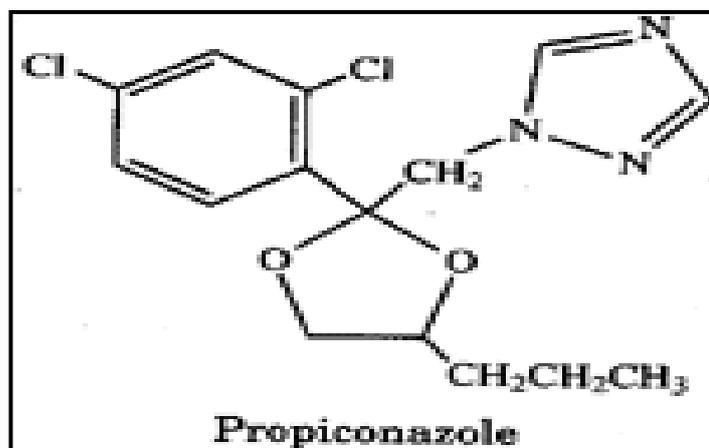
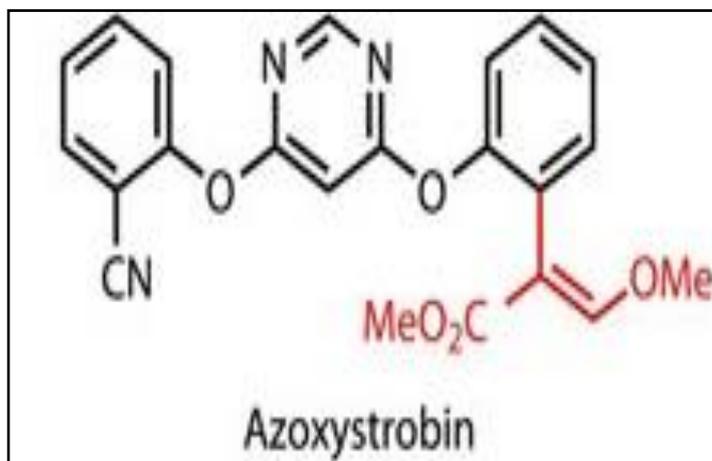


Figure N°5 : structure chimique de propiconazole

##### 4-1-2- Le fongicide Amistar

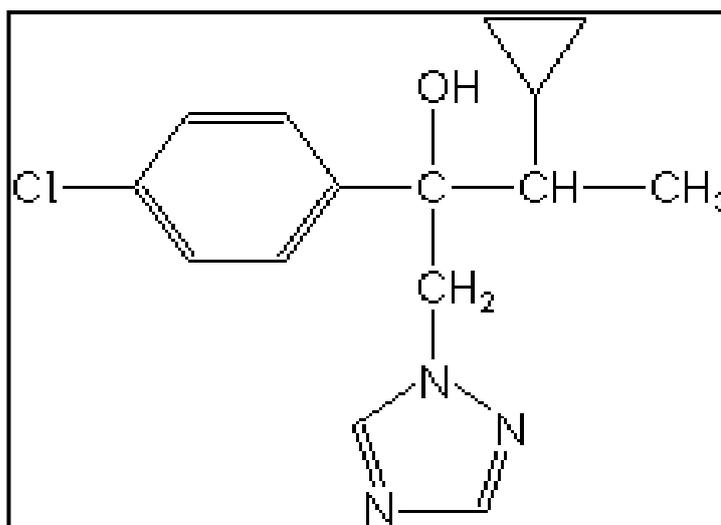
C'est un fongicide de la famille des strobilurines contenant l'azoxystrobine (250g/l) comme matière active (**Figure N°6**), il est de type unisite avec un effet partiellement systémique et possède une activité antisporelante (Syngenta ; Ragsdal, 1992 ; Barlett, 2001 ; Carisse, 2010). L'Amistar est aussi très toxiques pour les organismes aquatiques.



**Figure N°6** : structure chimique de l'azoxystrobine

#### **4-1-3- Le fongicide Amistar Xtra**

l'Amistar Xtra est une association de deux substance actives différentes l'azoxystrobine (200g/l) appartenant au strobilurines et le cyproconazole (80g/l) (**Figure N°7**) appartenant au triazoles, c'est un fongicide multisite, systémique avec un large spectre d'action et une activité antisporulante (Syngenta ; BASF ; Leroux, 2003 ; Morton et Stanb, 2008 ; Carisse, 2010). Ce fongicide est très toxique pour les organismes aquatiques.



**Figure N°7** : structure chimique de cyproconazole

#### **4-2-- Préparation de la solution mère du fongicide**

Les fongicides sont solubilisés dans l'eau distillée stérile à raison de 2g/l pour obtenir une solution mère avec une dose de 2000ppm.

-Les dilutions ont été effectuées avec l'eau distillée stérile dans des flacons de 100 ml avec une micropipette.

-La gamme des doses utilisée pour les trois fongicides testés était : 2.5 ppm, 5 ppm, 7.5 ppm, 10 ppm, 12.5 ppm, 15 ppm, 17.5 ppm et 20 ppm.

### 4-3 -Effet sur la croissance mycélienne :

L'effet des trois fongicides testés sur les différents isolats de *Pyrenophora tritici repentis* est estimé *in vitro* par le calcul de pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne en présence de plusieurs doses de fongicides, deux paramètres ont été mesurés :

- La **CI50** qui est la concentration qui inhibe 50% de la population du champignon.
- La **CI90** qui est la concentration qui inhibe 90% de la population du champignon.

La technique utilisée est l'incorporation des différentes doses du fongicides dans le milieu de culture (Camara et al, 2007 ; Zahri et al, 2008 ; Doumbouya, 2012 ; Schuch et Cordette, 2013), on procède comme suit :

-Le milieu MEA en surfusion + fongicide (2.5 ppm, 5 ppm, 7.5 ppm, 10 ppm, 12.5 ppm, 15 ppm, 17.5 ppm et 20 ppm) est coulé dans des boites de Pétri, après solidification, ensemencer la boite avec le champignon et incuber à l'obscurité pendant 7jours à 25C°.

-Dans le but d'assuré que la même quantité de mycélium est ensemencée dans les boites de témoin et celles contenant le fongicide, on réalise des disques de même diamètres avec des cônes stériles sur la culture de chaque souche testée, puis on les dépose aseptiquement avec anse de platine sur les boites témoins et celles contenant le fongicide.

-Pour chaque dose ppm de fongicide testé, une boite de Pétri contenant le milieu MEA sans fongicide a été utilisée comme Témoin, l'ensemencement et l'incubation ont été réalisés dans les mêmes conditions.

-Le diamètre des boites contenant le champignon + fongicide ainsi que celui des boites Témoins a été mesuré après 7 jours d'incubation à 25C°.

L'effet des différentes doses du fongicides sur la croissance mycélienne est estimé en comparant les valeurs mesurés avec celles des témoins.

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (**Ic**) est calculé selon la formule suivante (Serghat, 2004 ; Attarassi, 2007 ; Zahri et *al*, 2008 ; Fadel et *al*, 2011) :

$$\mathbf{Ic\ (\%)\ =\ (D_0-Dc)/D_0\ x\ 100}$$

**D<sub>0</sub>** = la croissance diamétrale du témoin

**D<sub>c</sub>** = la croissance diamétrale du champignon en présence d'une concentration (c) du fongicide.

Pour chaque dose de fongicide, deux boites de MEA ont étéensemencées.

### 5-Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée par la transformation des pourcentages d'inhibition en valeurs probits, l'équation de régression linéaire :  $y = (a \log x + b)$  avec a = coefficient de corrélation, b = constante, x = dose de fongicide, y = valeur probit et log = logarithme décimale permet par projection d'obtenir les valeurs de CI 50 et CI 90 qui permette la réduction de 50% et 90% de la croissance mycélienne du champignon.

Le dispositif expérimental utilisé dans cet essai est celui d'un plan complet à 2 facteurs avec répétitions, le facteur A correspond aux fongicides testés et le facteur B représente les saisons, les expériences ont été répétées deux fois. L'analyse statistique a été réalisée en utilisant les procédures des modèles linéaires générales (GLM) du logiciel SPSS (10.0). Les expériences ont été analysées en utilisant une analyse standard de la variance (ANOVA) avec interactions. Pour tous les tests, le niveau de la signification a été évalué au seuil 5% (**Tableau N7**).

**Tableau N7** : comparaison entre les moyennes de CI 50 et CI 90 des trois fongicides durant les quatre saisons agricoles (2012-2015)

		N	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard	Minimum	Maximum	p
CI50	Tilt	4	8,75	3,23	1,61	5,00	12,50	ns
	Amistar	4	11,25	3,23	1,61	7,50	15,00	
	Amistar Xtra	4	6,88	2,39	1,20	5,00	10,00	
	Total	12	8,96	3,28	0,95	5,00	15,00	
CI 90	Tilt	4	13,75	1,44	0,72	12,50	15,00	**
	Amistar	4	16,88	2,39	1,20	15,00	20,00	
	Amistar Xtra	4	11,25	1,44	0,72	10,00	12,50	
	Total	12	13,96	2,91	0,84	10,00	20,00	
		N	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard	Minimum	Maximum	p
CI50	Tilt	4	8,75	3,23	1,61	5,00	12,50	ns
	Amistar	4	11,25	3,23	1,61	7,50	15,00	
	Amistar Xtra	4	6,88	2,39	1,20	5,00	10,00	
	Total	12	8,96	3,28	0,95	5,00	15,00	
CI 90	Tilt	4	13,75	1,44	0,72	12,50	15,00	**
	Amistar	4	16,88	2,39	1,20	15,00	20,00	
	Amistar Xtra	4	11,25	1,44	0,72	10,00	12,50	
	Total	12	13,96	2,91	0,84	10,00	20,00	

(\*) Différence significative (p<0.05)

(\*\*) Différence hautement significative (p<0.01)

*RÉSULTAT*

*ET*

*DISCUSSION*

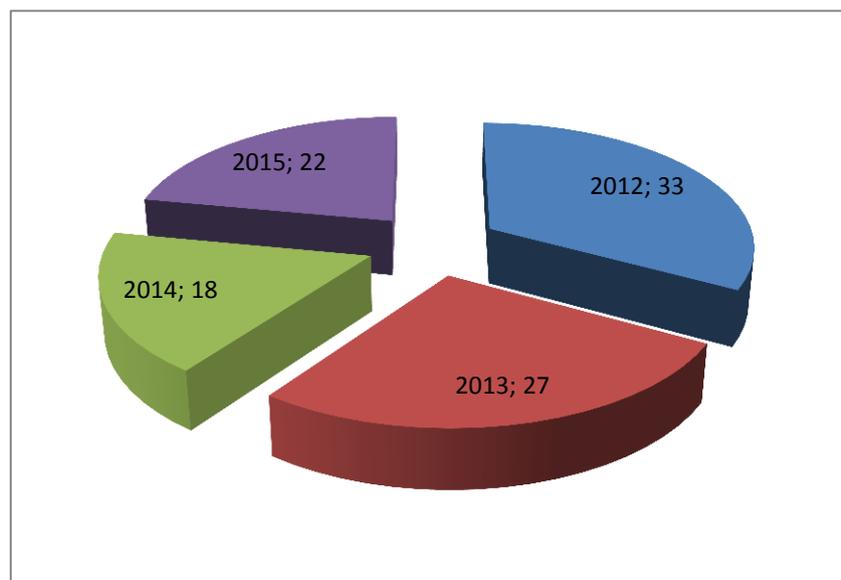
### Chapitre I : Isolement et identification de l'espèce *Pyrenophora tritici repentis*

Durant les prospections, la tache auréolée était la maladie fongique dominante dans toutes les parcelles visitées, le pourcentage d'attaque des champs était estimé entre 5 et 18% (**Tableau N°8**).

**Tableau N°8** : les maladies fongiques rencontrées durant les prospections (données INPV).

Maladie	Annaba	Skikda	El-Tarf	Guelma	S.ahras
Tache auréolée	10-15%	10-15%	15-18%	10-15%	5-10%
Septoriose	7-10%	1-5%	3-5%	5-10%	5-8%
Oïdium	1-3%	3-5%	1-2%	0.5-1%	0.5-1%
Rouille brune	1-2%	3-5%	1-5%	1-2%	1-3%

Les prospections réalisées durant les quatre saisons agricoles (2012-2015) ont permis l'isolement et l'identification de 100 isolats de *Pyrenophora tritici repentis* (**Figure N°8**), ces isolats ont présenté des différences majeures sur le plan macroscopique et microscopique.



**Figure N°8**: Distribution des isolats de *Pyrenophora tritici repentis* selon l'année d'isolement

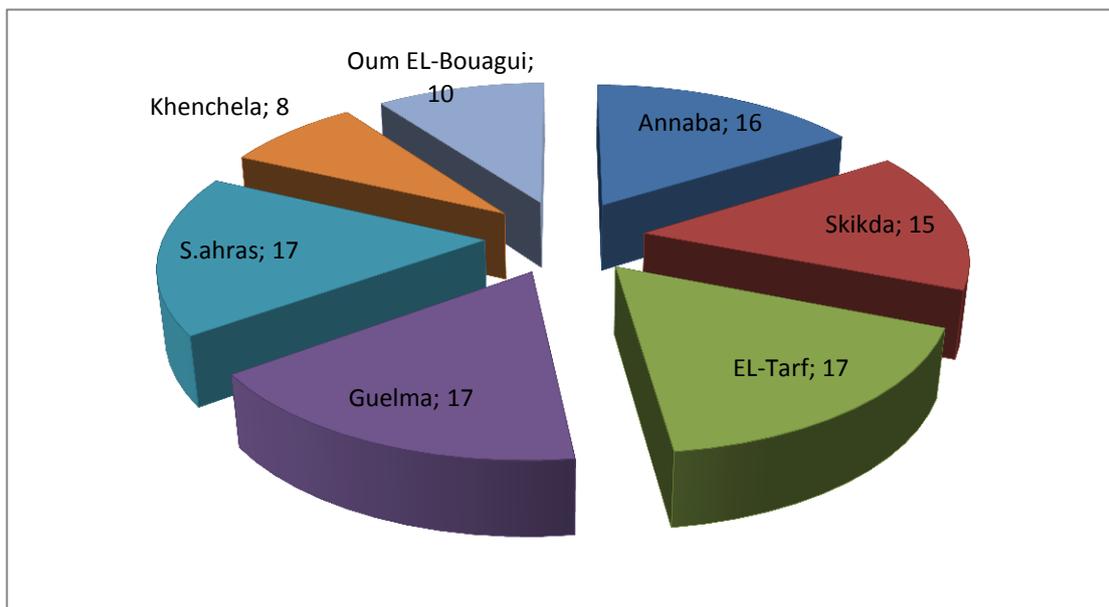


Figure N9 : Distribution des isolats de *Pyrenophora tritici repentis* par wilaya

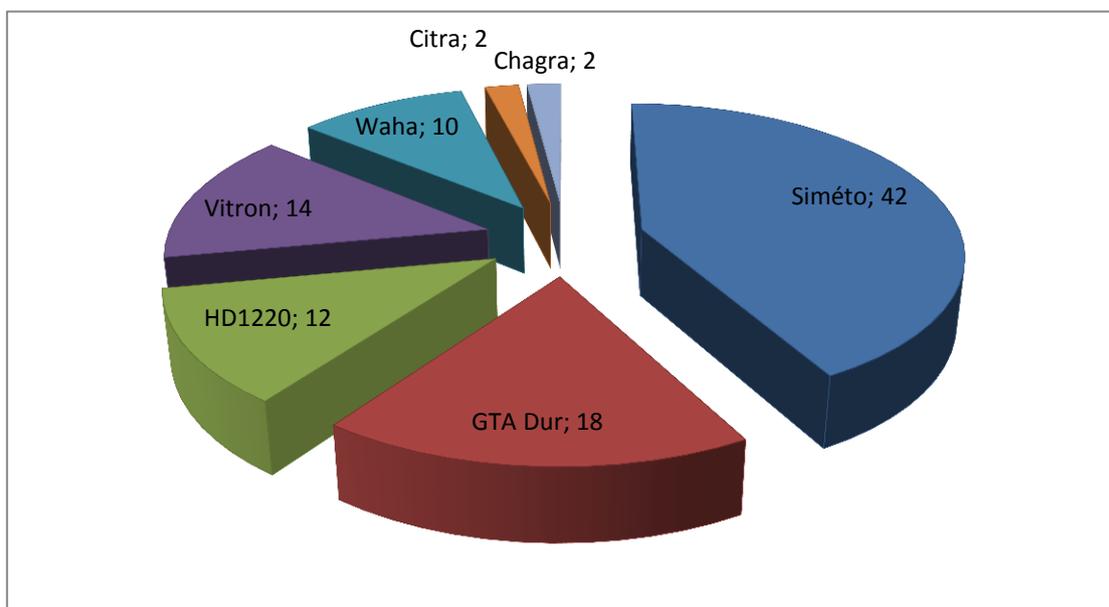
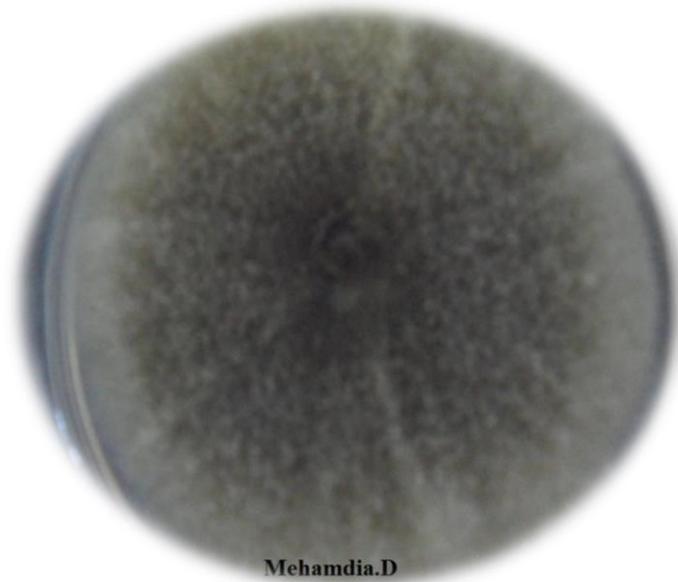


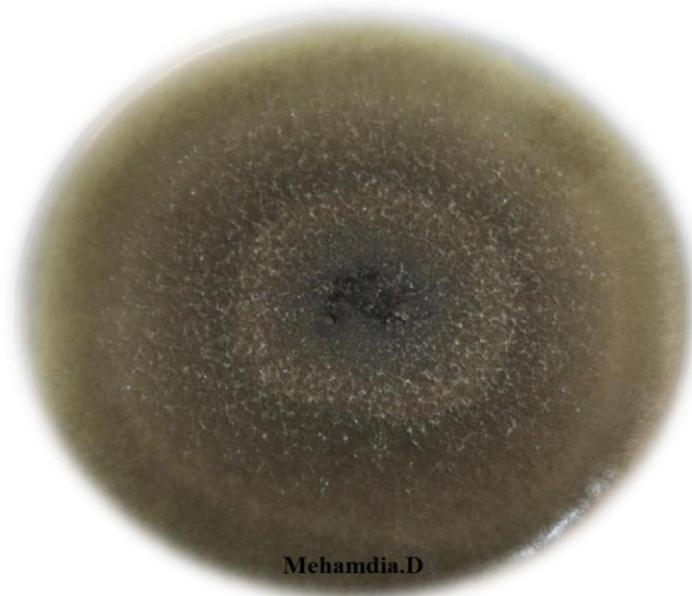
Figure N10 : Distribution des isolats de *Pyrenophora tritici repentis* par Variété

### 1-Aspect du champignon sur le milieu MEA

L'espèce *Pyrenophora tritici repentis* a présentée différents aspect sur le milieu MEA, les différences concernent la couleur du mycélium, l'aspect, et la coloration du milieu.



**Photo N°20** : Couleur grise pale du mycélium sur milieu MEA (7js/25C°)



**Photo N° 21** : Couleur vert gris du mycélium sur milieu MEA (7js/25C°)



**Photo N° 22** : Couleur blanche du mycélium sur milieu MEA (7js/25C°)



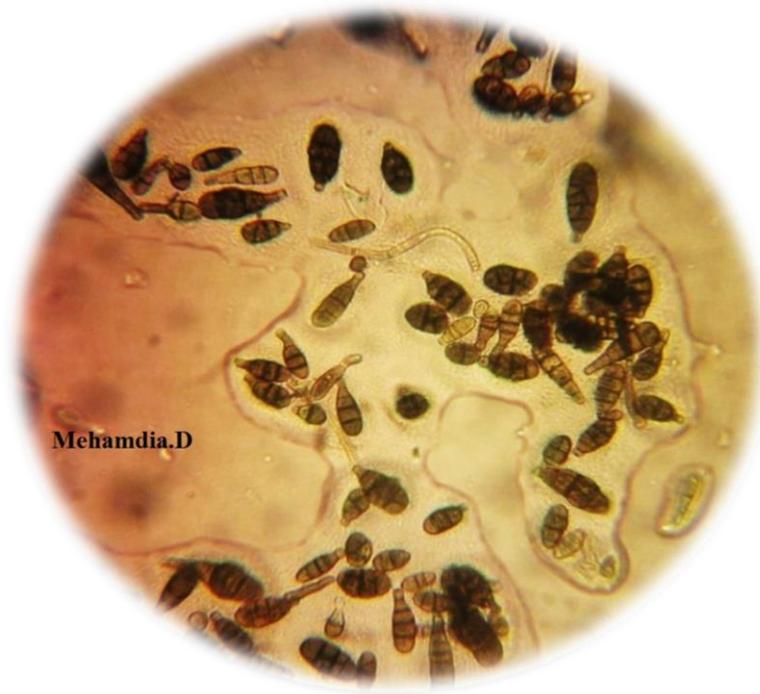
**Photo N° 23** : Couleur vert d'olive du mycélium sur milieu MEA (7js/25C°)

Les 100 isolats de l'espèce *Pyrenophora tritici repentis* ont présentés quatre couleurs différentes du mycélium : la grise pale (10 isolats), le vert d'olive (30 isolats), le blanc (2 isolats) et le vert gris (18 isolats), tous les isolats avaient un contour rond et régulier avec un aspect duveteux ou bien cotonné, le milieu de culture était coloré en noir uniquement dans le cas des isolats avec un mycélium vert d'olive. Cette différence de coloration du mycélium surtout est indépendante de la région d'isolement puisque plusieurs couleurs ont été trouvées dans la même région, ces mêmes couleurs ont été signalées en Russie, en Italie et en Kazakhstan (Hunger et Brown, 1987 ; Frazzon et al, 2002 ; Andorova, 2007 ;Kremneva, 2011), une couleur noire et autre violacée du mycélium ont été rapportées en Brésil en 2012 (Perello et al, 2012 ; Benslimane et al, 2017 ; Bertagnolli et al, 2019).

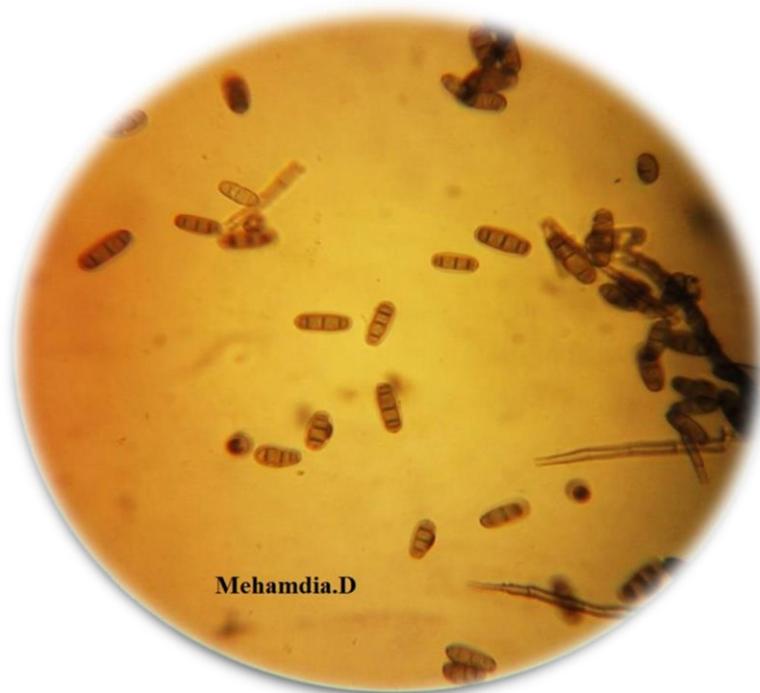
Cette variation de couleur du mycélium peut être en relation avec les différentes races physiologiques de *Pyrenophora tritici repentis*, mais aucune étude n'a montrée le lien entre la couleur du mycélium et la race physiologique.

### **2-Aspect microscopique**

L'examen microscopique avec un microscope optique (objectif x40) à révéler la présence des deux stades chez les 100 isolats de *Pyrenophora tritici repentis*, 92% des isolats identifiés ont présentés le stade téléomorphe (stade sexué) (**Photo N°24**). Par contre le stade anamorphe (asexué) était rarement observé (**Photo N°25**).



**Photo N°24** : Stade Téléomorphe de *Pyrenophora tritici repentis* observé au microscope otique (G x 400)



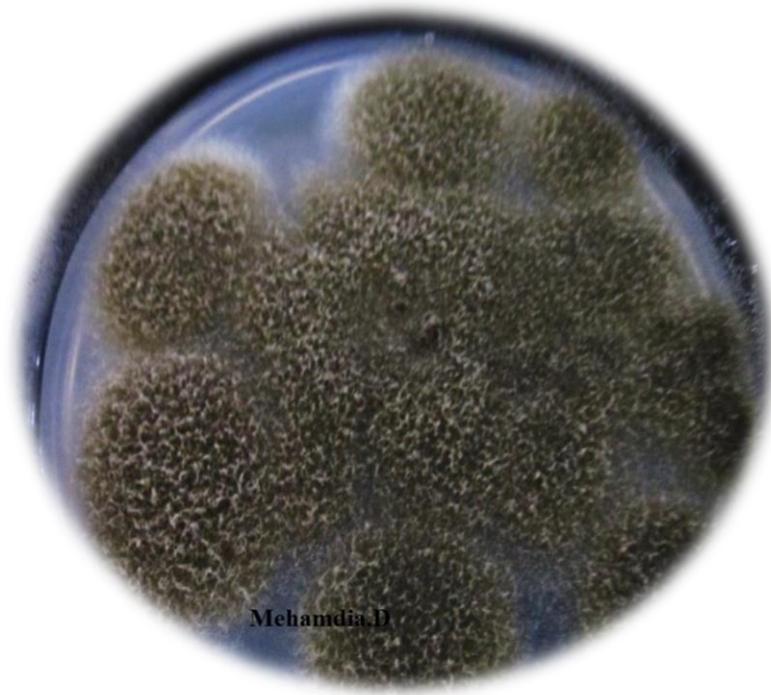
**Photo N°25** : Stade anamorphe de *Pyrenophora tritici repentis* observé au microscope otique (G x 400)

Le stade Téléomorphe (stade sexué) constitue d'après les études l'inoculum primaire pour le cycle de la tache auréolée (Engle et *al*, 2004 ; Carmouna et *al*, 2006 ; Mc Mullen, 2010) les ascospores restent conservées dans le sol et sur les débris des cultures précédentes et dans les conditions favorables d'humidité et de température elles germent et infectent les jeunes plantes, ces isolats ont été collectés durant le stade tallage du blé dur.

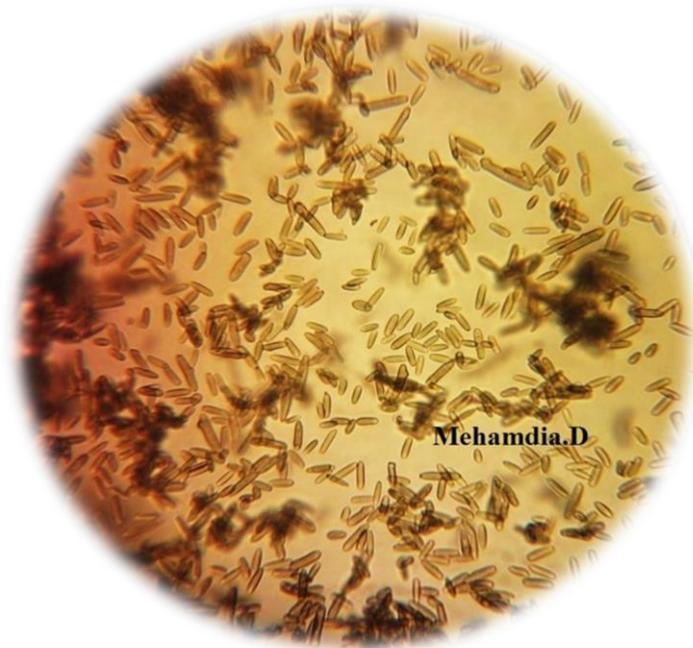
Le stade asexué (anamorphe) a été détecté chez 8 % des isolats durant les périodes montaison et floraison du blé dur, ce stade constitue l'inoculum secondaire pour le cycle de développement du champignon, les conidies sont transportées par le vent à des longues distances se qui favorise la propagation de la maladie sur toute la parcelle.

### **3-Les complexes fongiques observés**

Nous avons remarqué aussi que dans la plupart des parcelles visitées, il y avait fréquemment la présence d'un complexe fongique, le plus rencontré c'est : tache auréolée-septoriose, par fois l'oïdium, la fusariose ou la rouille brune (**Photos : 26-31**).



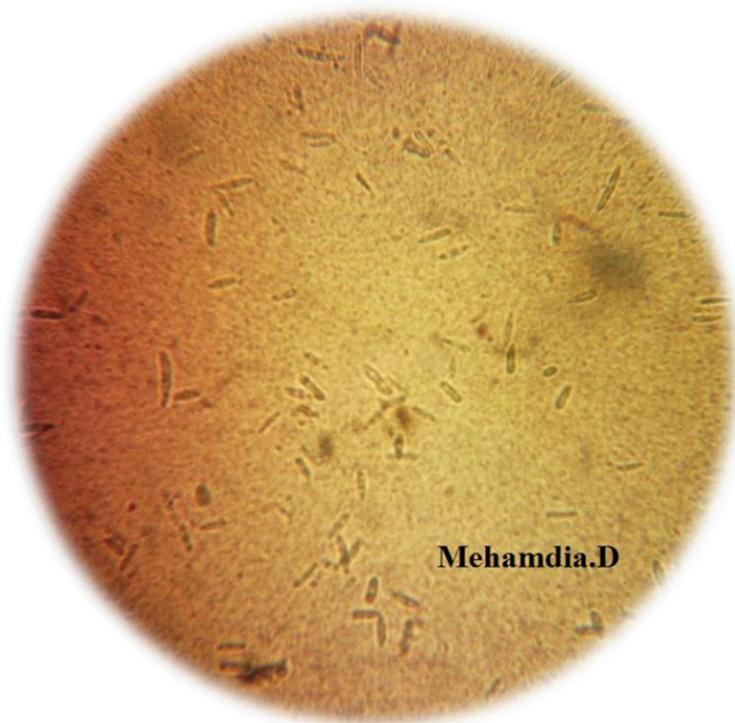
**Photo N°26** : Aspect de *Septoria* sur milieu MEA (25C°/7js)



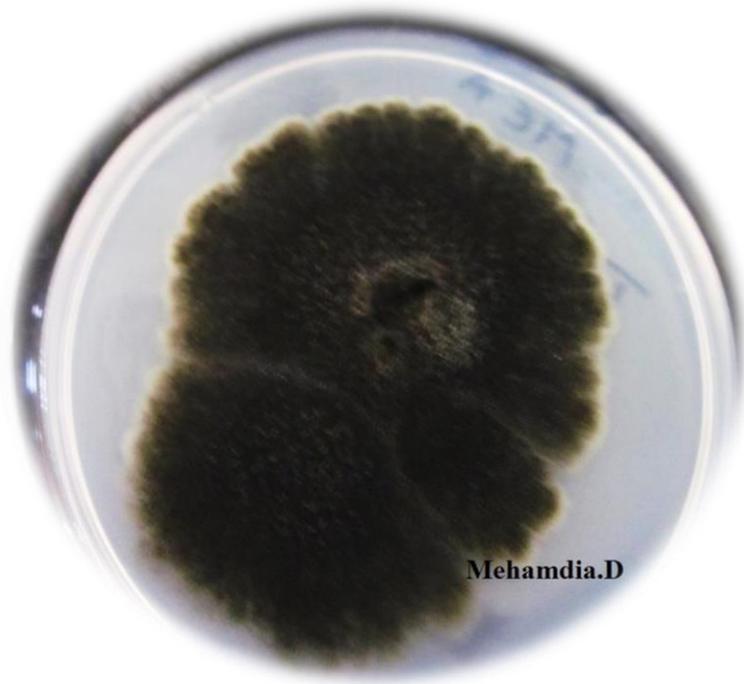
**Photo N°27** : Conidies de *Septoria* observés au microscope optique (G x400)



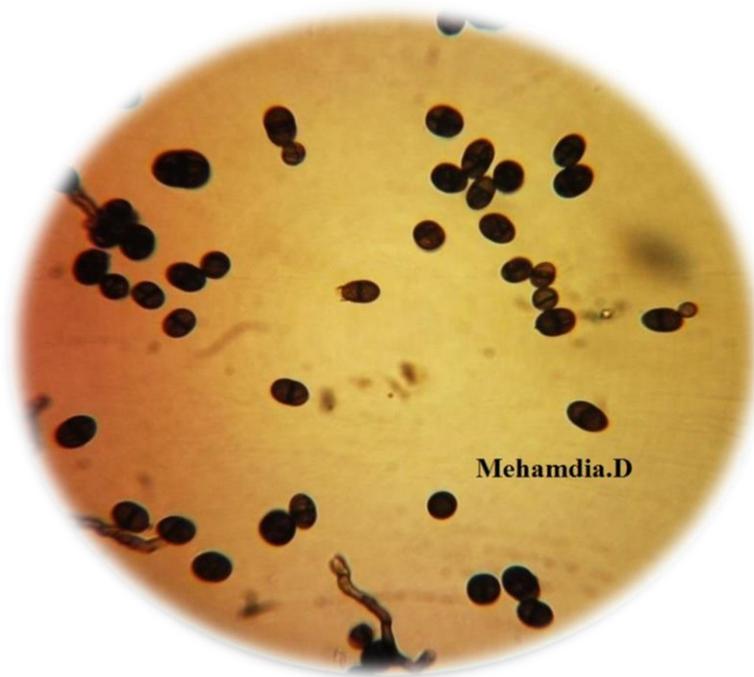
**Photo N°28** :Aspect de *Fusarium* sur milieu MEA (25C°/7js)



**Photo N°29** : Conidies de *Fusarium* observés au microscope optique (G x400)



**Photo N° 30:** Aspect de *Puccinia* sur milieu MEA (25C°/7js)



**Photo N°31 :** Conidies de *Puccinia* observés au microscope optique (G x400)

### Chapitre II : Caractérisation des pathotype

Selon les symptômes observés sur les feuilles de blé dur infectées, les 100 isolats de l'espèce *Pyrenophora tritici repentis* ont été répertoriés en 3 pathotypes (**Figure N11**), le pathotype 1 était majoritaire (73%) suivi par le pathotype 2 (16%) et enfin le pathotype 3 (11%) par contre aucun isolat de pathotype 4 n'a été identifié.

Les pathotypes 1, 2 et 3 sont considérés comme des pathotypes virulents grâce à la production des toxines spécifique ou sélectives (HST) qui sont responsables des symptômes caractéristiques de la tache auréolée, le pathotype 1 produit une toxine (ToxA) responsable de l'apparition de la nécrose et une toxine (ToxB) qui induit la chlorose, alors que le pathotype 2 produit uniquement la toxine ToxA qui induit la nécrose tandis que le pathotype 3 produit la toxine ToxB qui donne une chlorose.

Ces trois pathotypes ont été identifiés dans toutes les régions céréalières des wilayas prospectées à l'exception de Khenchela et Oum El-bouagui où le pathotype 1 était le seul identifié (**Figure N12**). Bensliman et *al* ont rapporté en 2011 l'existence des quatre pathotypes dans les régions céréalières algériennes y'a compris l'est algérien mais avec identification d'un seul isolat de pathotype 4, selon leurs rapports le pathotype 1 était le prédominant (41%). Le Pathotype 1 est aussi prédominant en Australie, Canada et Europe du nord (Ali et *al*, 2006) Lamari et Strelkov, 2010 ; Aboukhadour et *al*, 2013).

L'isolement de pathotype 4 est très rare à travers le monde, ce pathotype a été identifié uniquement au USA et au Canada et en Algérie (Lamari and Strelkov, 2010, Bensliman et *al* (2011) .des études en Canada montre que la fréquence d'isolement de ce pathotype est de 1% par rapport aux autres types (Ali et Francel, 2003 ; Andrie et *al*, 2007).

Toutes les variétés de blé dur semées durant les quatre saisons d'études ont présentées des degrés différents de sensibilité vis-à-vis de la tache auréolée, ceci est exprimé par le nombre de pathotypes isolé pour chaque variété, la variété Siméto était la plus touchée avec 42% des pathotypes isolés suivi par la variété GTA Dur (18%) et Vitron (14%), les autres variétés comme HD1220, Waha, Chagra et Citra ont présentées une sensibilité moindre avec des pourcentage 12%, 10% et 2% respectivement (**Figure N13-19**).

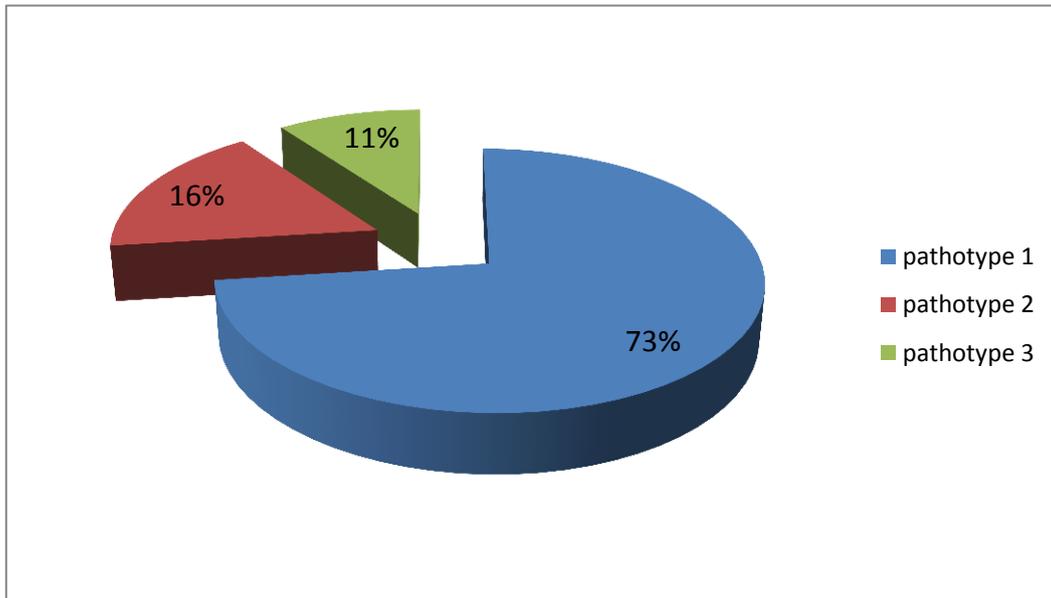


Figure N11 : Pourcentage d'isolement des pathotypes pour *Pyrenophora tritici repentis*

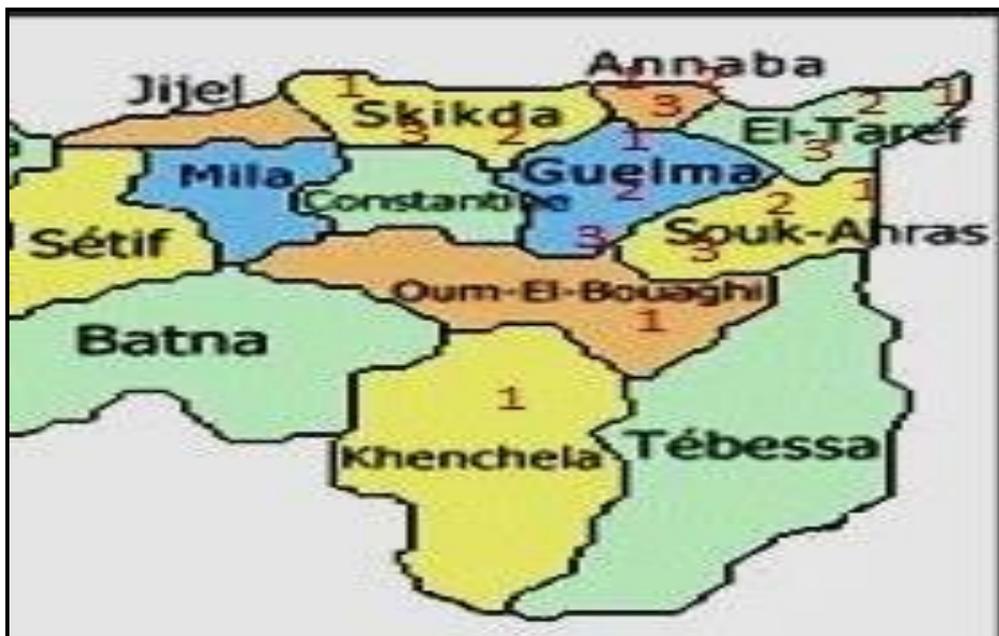
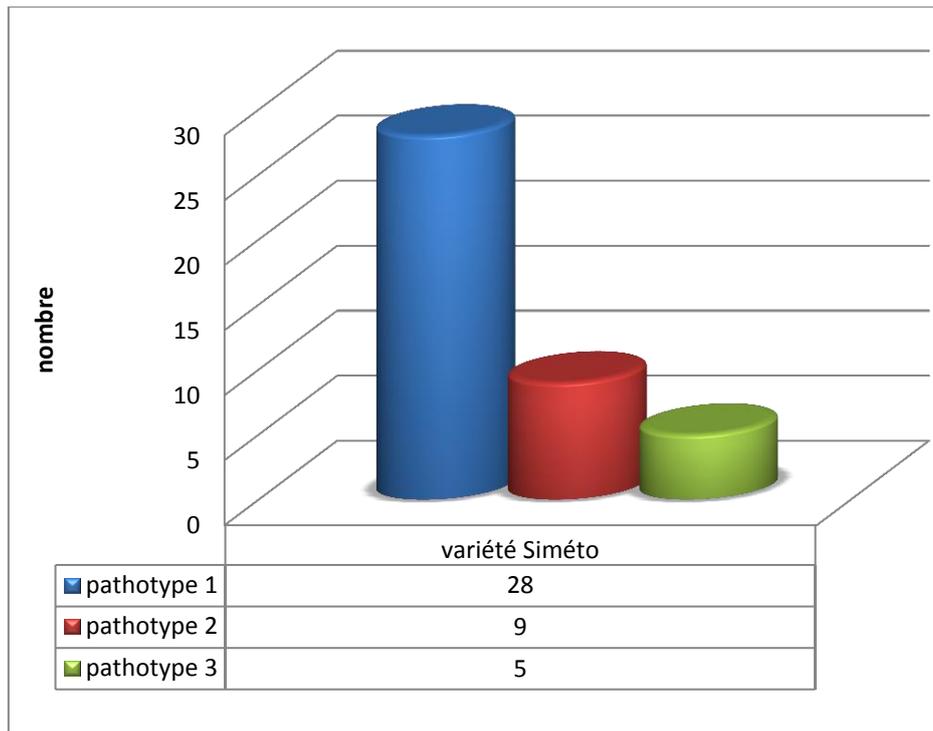
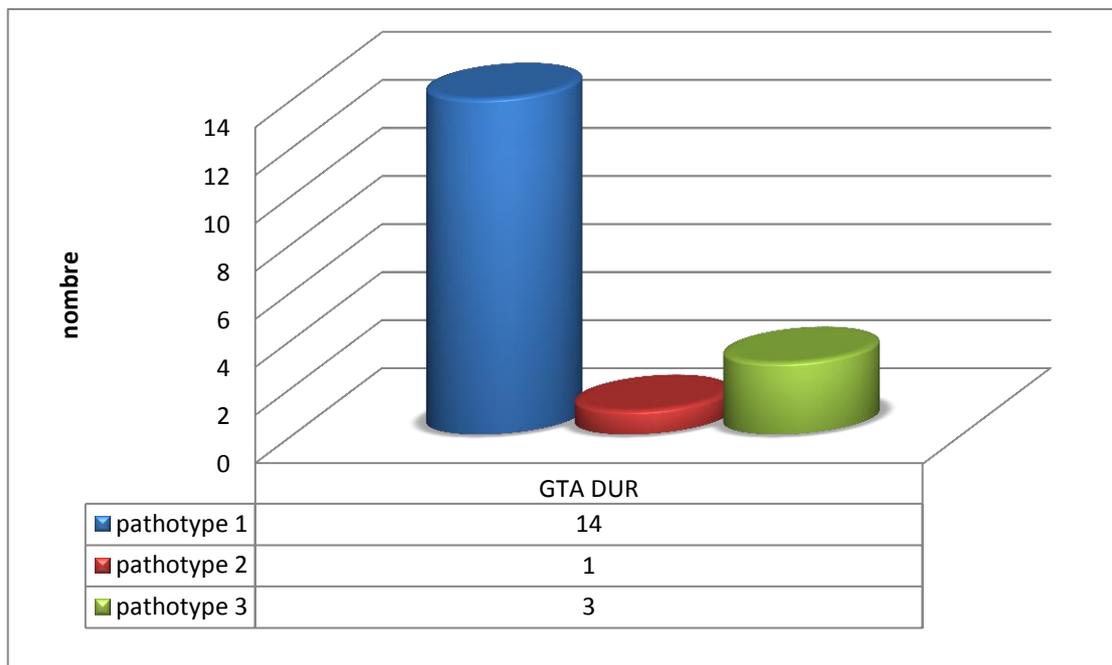


Photo N12 : Distribution des pathotypes dans les sites de prélèvement

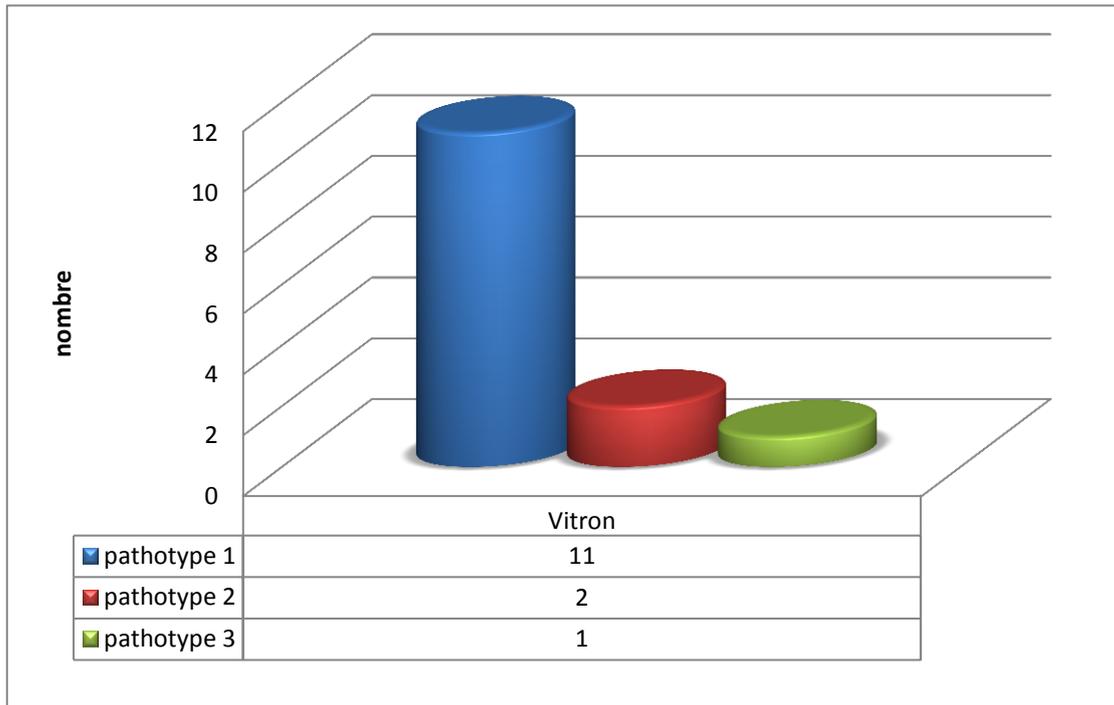
1 = pathotype 1 ; 2 = pathotype 2 ; 3 = pathotype 3



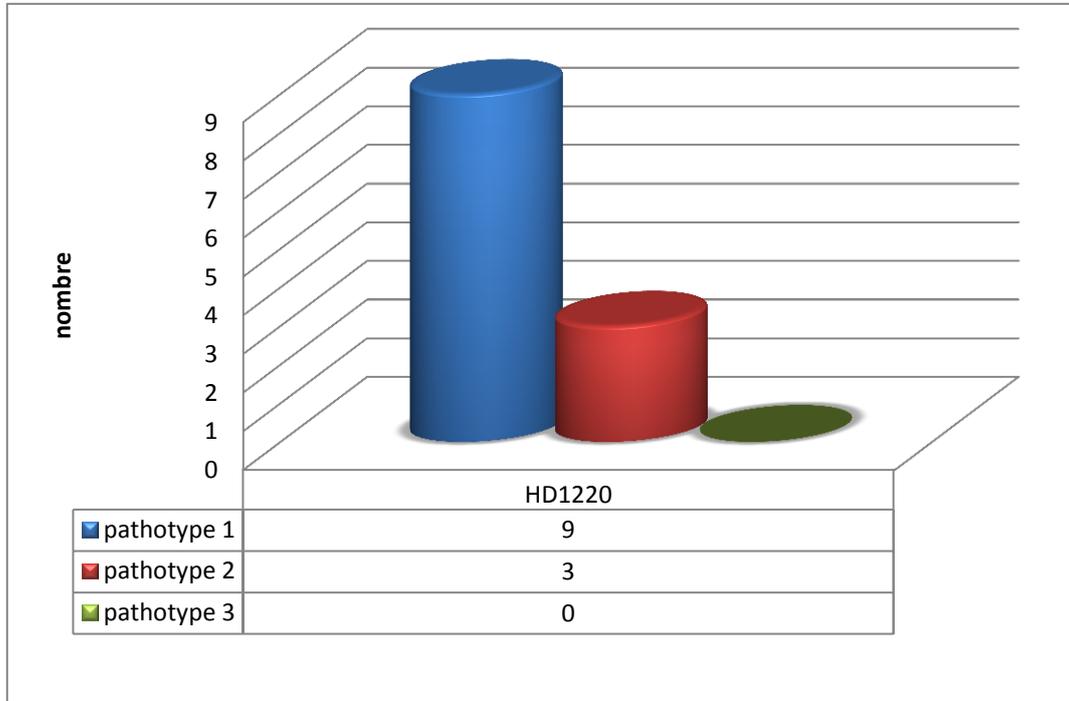
**Figure N 13** : Distribution des pathotypes pour la variété Siméto



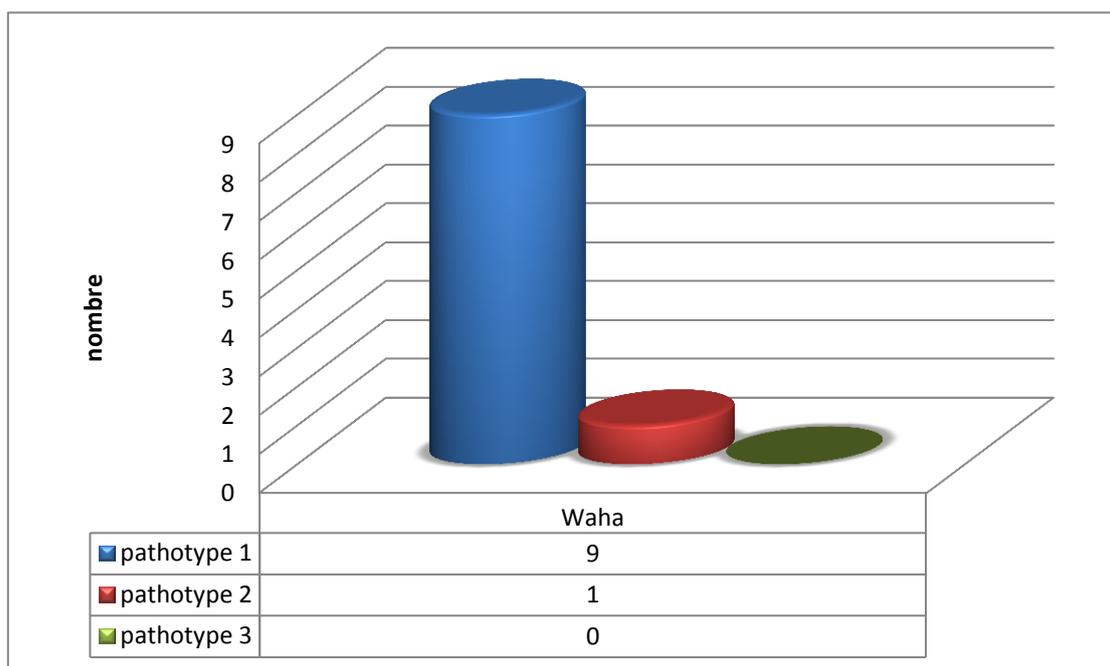
**Figure N 14** : Distribution des pathotypes pour la variété GTA Dur



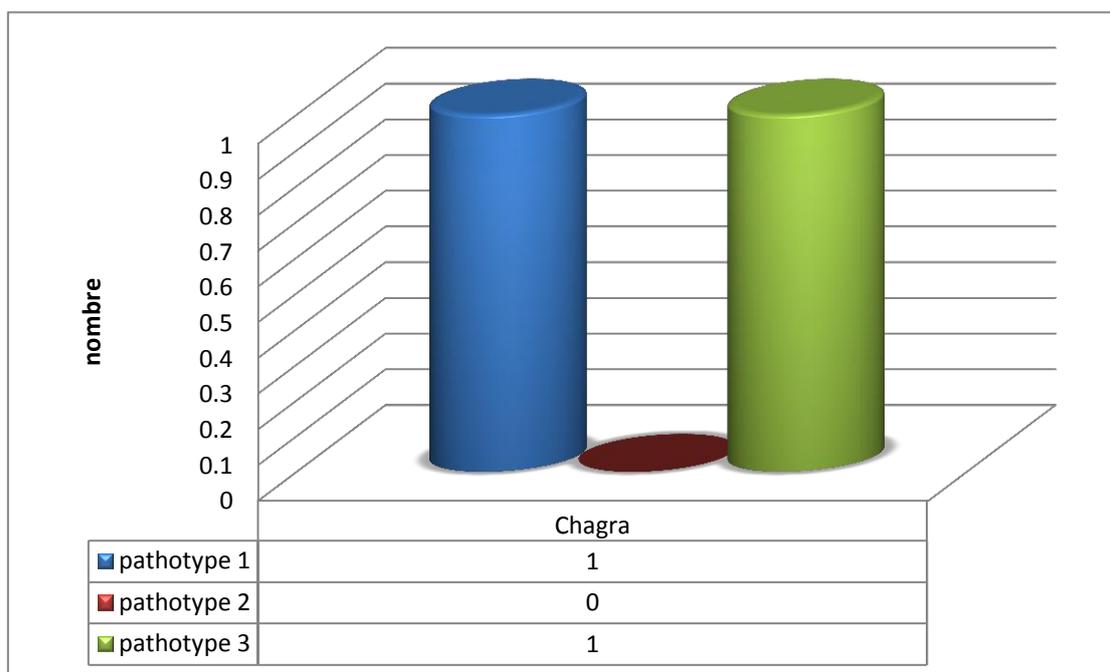
**Figure N 15** : Distribution des pathotypes pour la variété Vitron



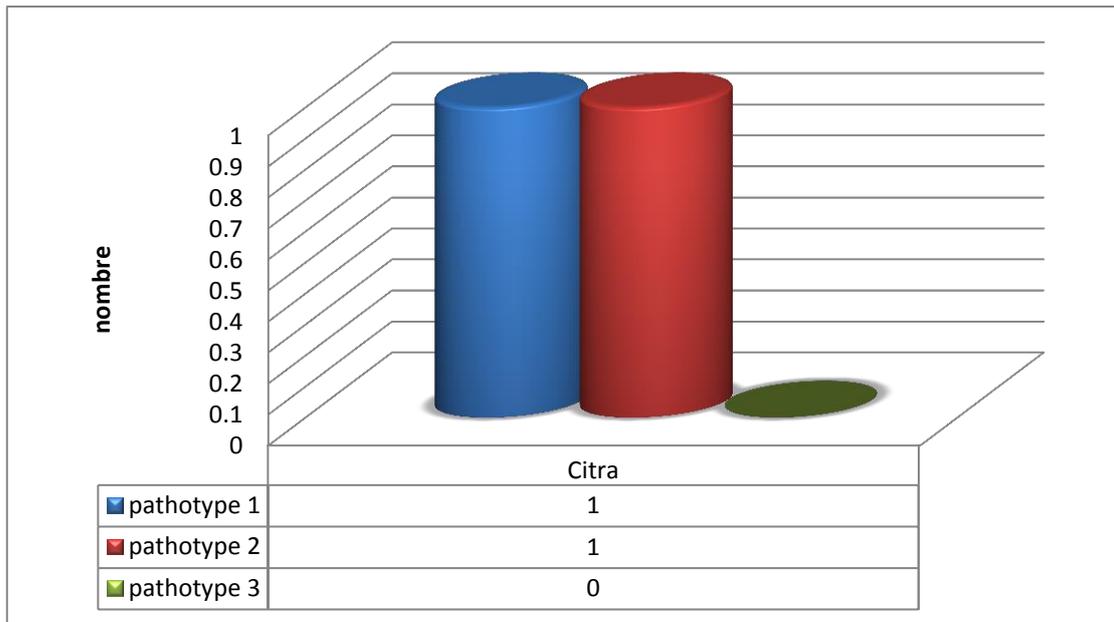
**Figure N 16** : Distribution des pathotypes pour la variété HD1220



**Figure N 17** : Distribution des pathotypes pour la variété Waha



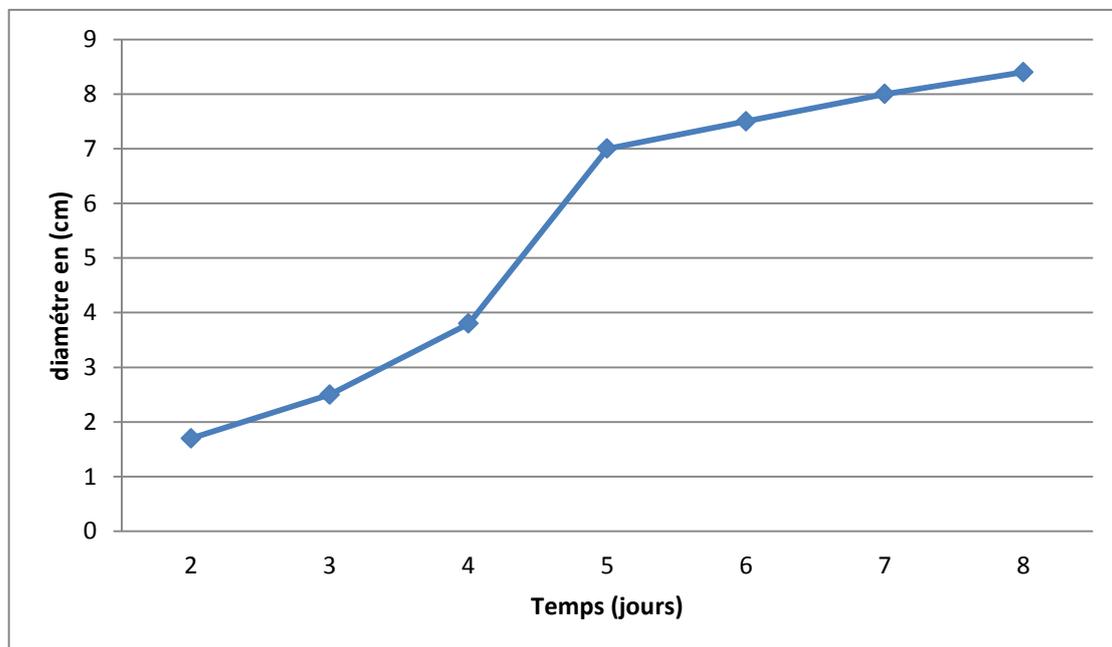
**Figure N 18** : Distribution des pathotypes pour la variété Chagra



**Figure N 19** : Distribution des pathotypes pour la variété Citra

### Chapitre III: Activité antifongique *in vitro*

Les 100 isolats de *Pyrenophora tritici repentis* ont été répartis en quatre groupes selon l'année d'isolement, ils étaient testés *in vitro* pour leurs sensibilités aux trois types de fongicides communément utilisés dans la lutte contre les maladies fongiques du blé: le Tilt 250E, l'Amistar et l'Amistar Xtra, les résultats de l'activité antifongique sont présentés dans les figures suivantes :



**Figure N°20 :** Croissance de *Pyrenophora tritici-repentis* en absence de fongicide sur milieu extrait de malt (25°C/7js)

### *Le Tilt 250EC*

Pour le fongicide Tilt 250EC à base de propiconazole, 100% des isolats du groupe 2012 (**Figure N°21-22**) ont montrés une CI50 égale à 5 ppm tandis que la CI90 à été estimée à 12,5 ppm. En 2013, 70% des isolats testés (**Figure N°23-24**) ont gardés une CI50 de 5 ppm, alors que 20% des isolats ont présentés une CI50 de 7.5 ppm, la CI90 à été estimée à 12.5 ppm pour les isolats de ce groupe.

En 2014, la CI50 pour 80% des isolats était 7.5 ppm et de 10 ppm pour les 20% des autres isolats (**Figure N°25-26**), la CI90 aussi é été passée à 15 ppm pour tous les isolats. 60% des isolats de la campagne 2015 avaient une CI50 de 10 ppm et 40% avec une CI50 de 12.5 ppm, la CI90 était estimée de 15 ppm (**Figure N°27-28**).

Les résultats de l'activité antifongique pour le fongicide Tilt 250EC sur les isolats de *Pyrenophora tritici repentis* montrent une augmentation significative ( $p < 0.05$ ) de la CI50 et de la CI90 durant les quatre saisons agricoles (2012 à 2015) (**Figure N°29**), se qui signifie que l'espèce *Pyrenophora tritici repentis* est devenue de plus en plus insensible à ce type de fongicide, ces résultats ont été prouvés par les responsables de l'institut régional de la protection des plantes (INPV) de la wilaya d'EL-Tarf qui ont confirmés la persistance de la tache auréolée après le traitement avec le Tilt 250EC.

Le Tilt 250EC est un fongicide unisite à base de propiconazole, un produit de la famille des triazoles appelée aussi les inhibiteurs de la 14- $\alpha$ -déméthylase (IDM) (Syngenta ; Dutzmann, 2004 ; Carisse, 2010), son rôle et l'inhibition de la synthèse de l'ergostérol, un composant majeur de la membrane plasmique du champignon (Gisi et al, 2005 ; Russell, 2005). Ce fongicide est utilisé en Algérie depuis les années 80 pour la lutte contre les maladies fongiques des céréales.

La résistance au triazoles à été détectée quelques années après le début de leurs utilisation (Buchenauer et Hellwald, 1985 ; Jorgensen, 2008), il parait que la résistance à un triazole induit généralement la résistance aux autres matières actives de la famille (phytoma, 2004). Selon Jorgensen et Olsen, le pourcentage de la tache auréolée en Australie après traitement avec une dose de 125g/l de Tilt est estimé à 67.44% (Jorgensen et Olsen, 2007), cette résistance à été aussi signalée par l'institut Arvalis qui pendant les essais réalisés en 2012, les triazoles comme le cyproconazole à 100g/l ou le propiconazole à 125g/l avaient une faible efficacité (40%) sur

*Pyrenophora tritici repentis*. Harvy et Craigie ont montrés en 2010 que la CI50 pour prothioconazole était 4.4 ppm et 6 ppm pour le propiconazole en 2011 (Beard et al, 2009 ; Harvy, 2012). Des isolats testés en France et en Allemagne au prothioconazole en 2012 on montrés des CI50 de 38.8 ppm.

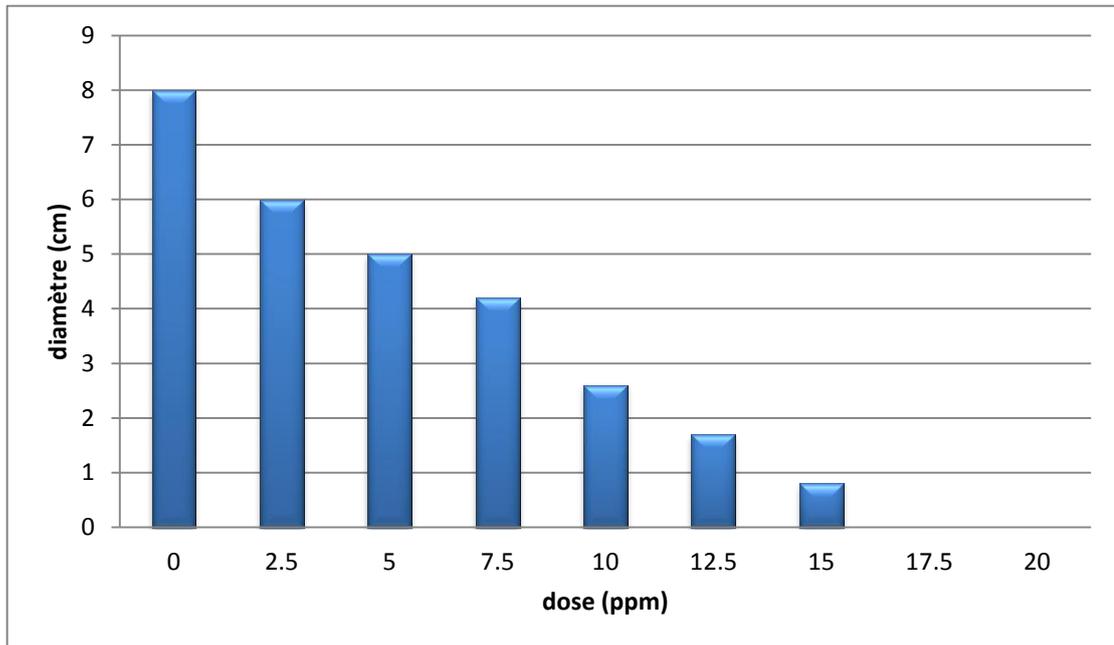
La résistance aux IDM a touchée aussi d'autres agents phytopathogènes du blé dur comme *Septoria* ou la CI50 était 12 ppm pour le cyproconazole et 10ppm pour le prothioconazole en 2011 (Jorgensen, 2012, Cools et al, 2013). Des isolats de *Pyrenophora tritici repentis* testés en France et en Allemagne ont montrés une CI50 de 38 ppm au prothioconazole (Jorgensen et al, 2012, Phytoma, 2012)), des résultats similaires ont été signalés pour *Erysiphe graminis* agents responsable de l'oïdium (Clark et al, 2005, Jorgensen, 2008, phytoma, 2004, 2012) et aussi pour *Septoria tritici* (Mavroeidi et Shaw, 2005 ; Antanas et al, 2014)

D'après les études moléculaires réalisées sur les isolats résistants de *Pyrenophora tritici repentis*, les chercheurs ont trouvés que la résistance aux IDM est induite par une mutation au niveau du gène CYP51 qui code pour l'enzyme éburicol 14  $\alpha$ -déméthylase (Délye et al, 1997, walker et Leroux, 2003), dans cette mutation nommée Y136F, l'acide aminé Tyrosine est remplacé par la Phénylalanine en position 136 du gène (Cools et al, 2005, Leroux et al, 2007). Aussi, ils ont découvert chez ces isolats résistants la présence des pompes à efflux au niveau de la membrane plasmique, ces pompes ont un rôle de détoxification, elles exportent le fongicide à l'extérieur de la cellule fongique. (Reimann, 2005 ; Leroux et al, 2007).

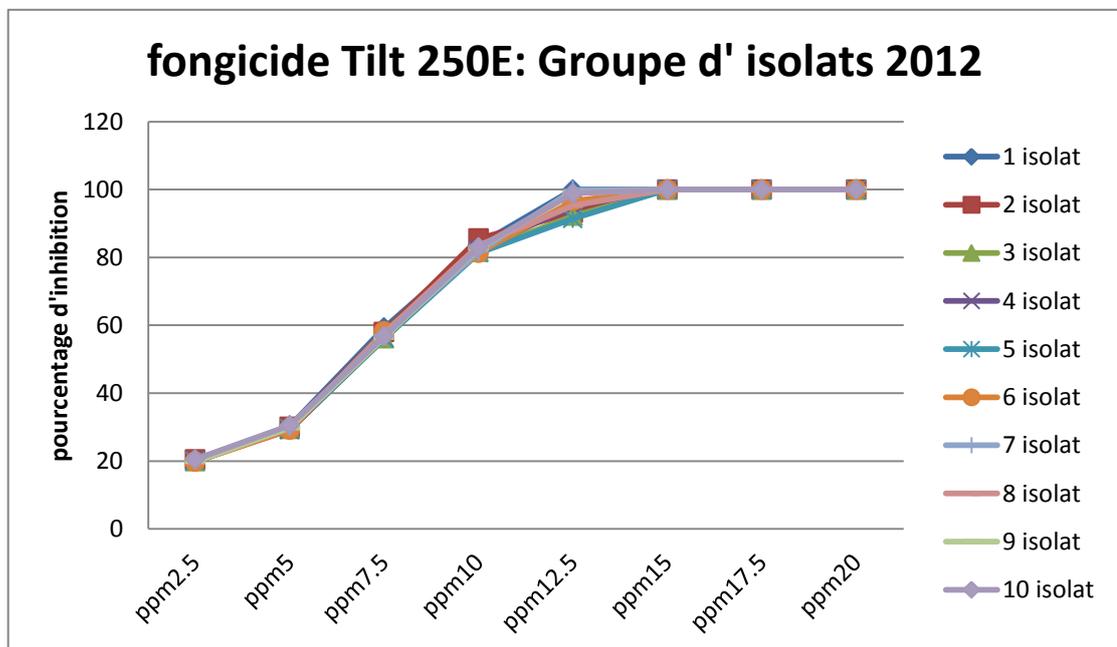
La résistance aux triazoles a été aussi détectée chez des champignons pathogènes pour l'homme, a partir de 2007, des isolats d'*Aspergillus fumigatus* responsable d'aspergillose chroniques ont été signalés comme insensibles aux plusieurs types d'IDM d'emploi médicale comme l'Itraconazole, le Voriconazole et le Posaconazole , ces isolats résistants possèdent une mutation de type PR34 au niveau du gène cyp51A qui code pour le stérol 14 alpha demethylase, en meme temps, des isolats d'*Aspergillus* d'origine environnement possédant aussi le même type de mutation PR34 ont été détectés. Selon les specialists 99% des IDM (25 types d'azolés) sont utilisés dans l'agriculture ce qui explique le lien entre la résistance des agents pathogène dans le milieu clinique et l'utilisation des azole dans l'agriculture

(Camps *et al*, 2012 ; Doukas *et al*, 2012 ; Chowdhary *et al*, 2013 ; Van der Linden *et al*, 2013).

**Le Tilt 250EC**



**Figure N21 :** Effet de Tilt 250EC sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (groupe 2012)



**Figure N 22:** Taux d'inhibition du fongicide **Tilt 250E** sur la croissance mycélienne des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* de la saison 2012

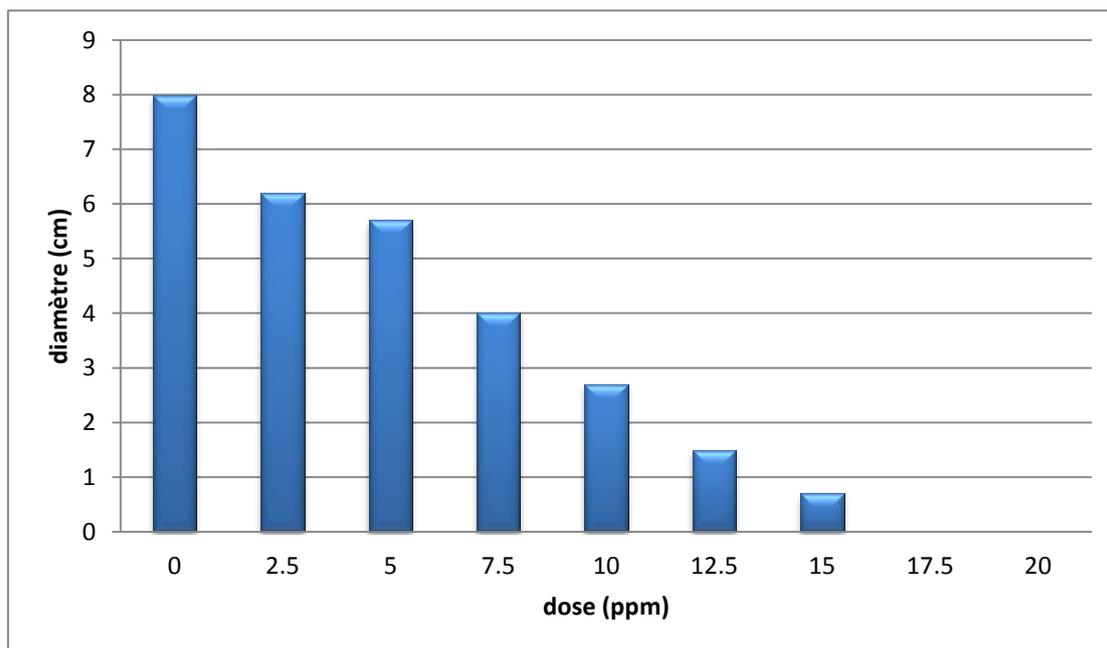


Figure N23 : Effet de Tilt 250EC sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (groupe 2013)

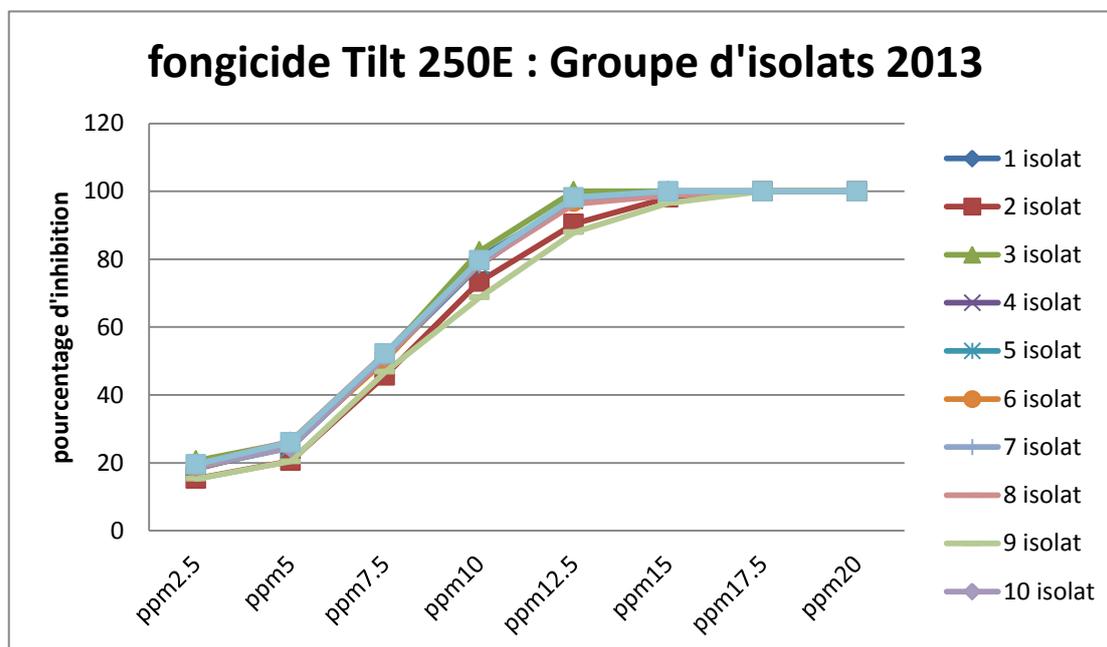


Figure N 24: Taux d'inhibition du fongicide Tilt 250E sur la croissance mycélienne des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* de la saison 2013

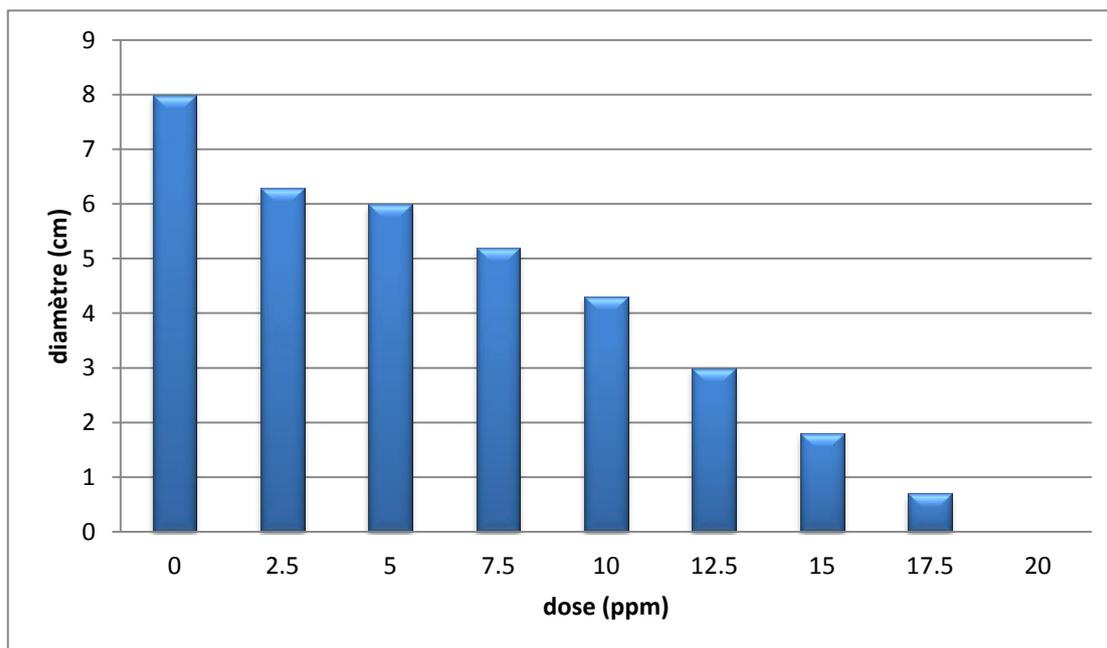


Figure N25 : Effet de Tilt 250EC sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (groupe 2014)

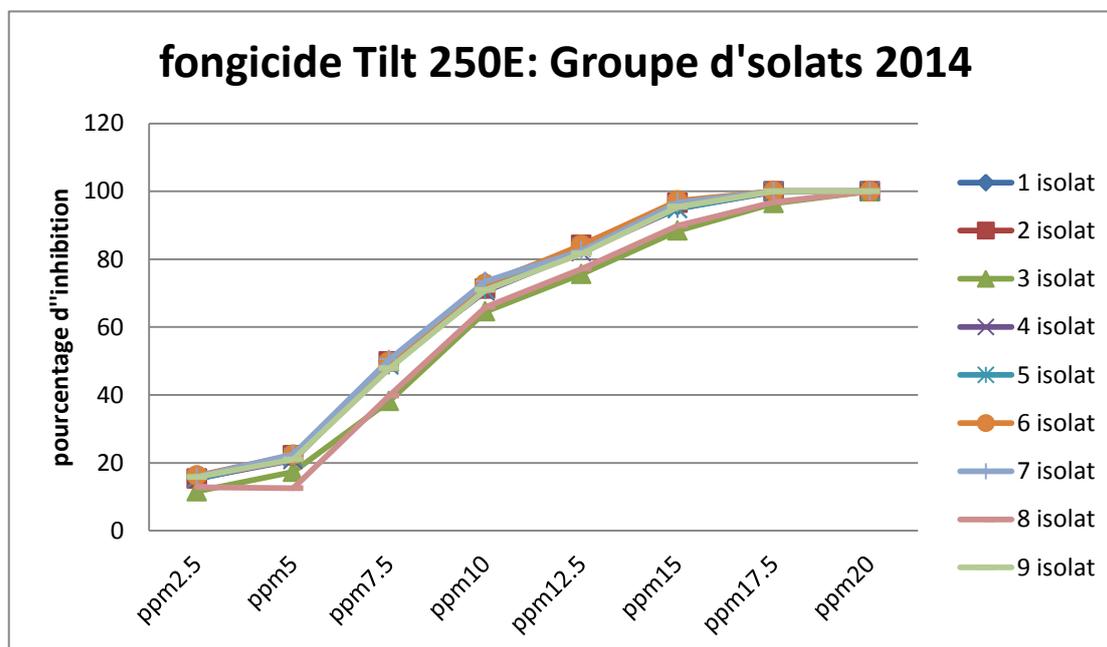


Figure N 26: Taux d'inhibition du fongicide **Tilt 250E** sur la croissance mycélienne des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* de la saison 2014

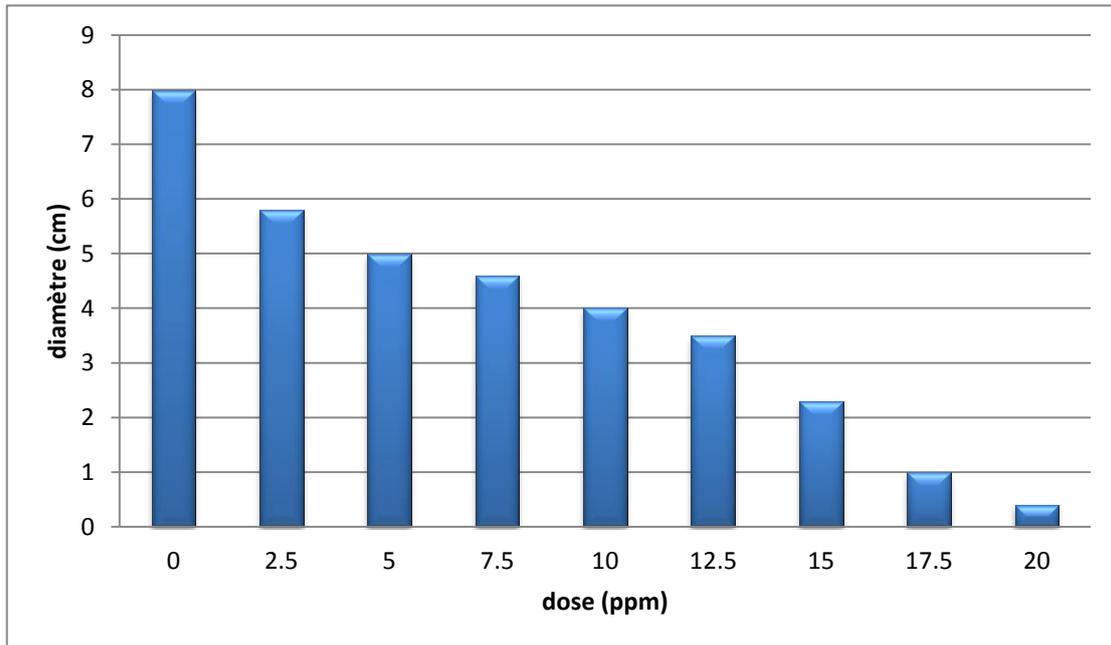


Figure N27 : Effet de Tilt 250EC sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (groupe 2015)

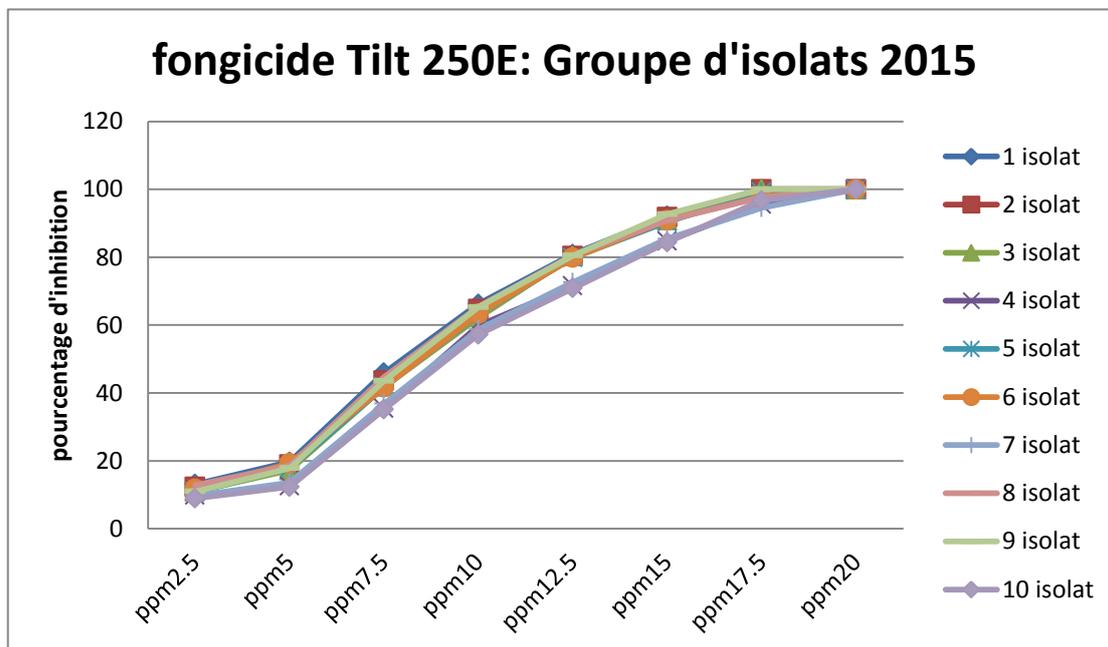
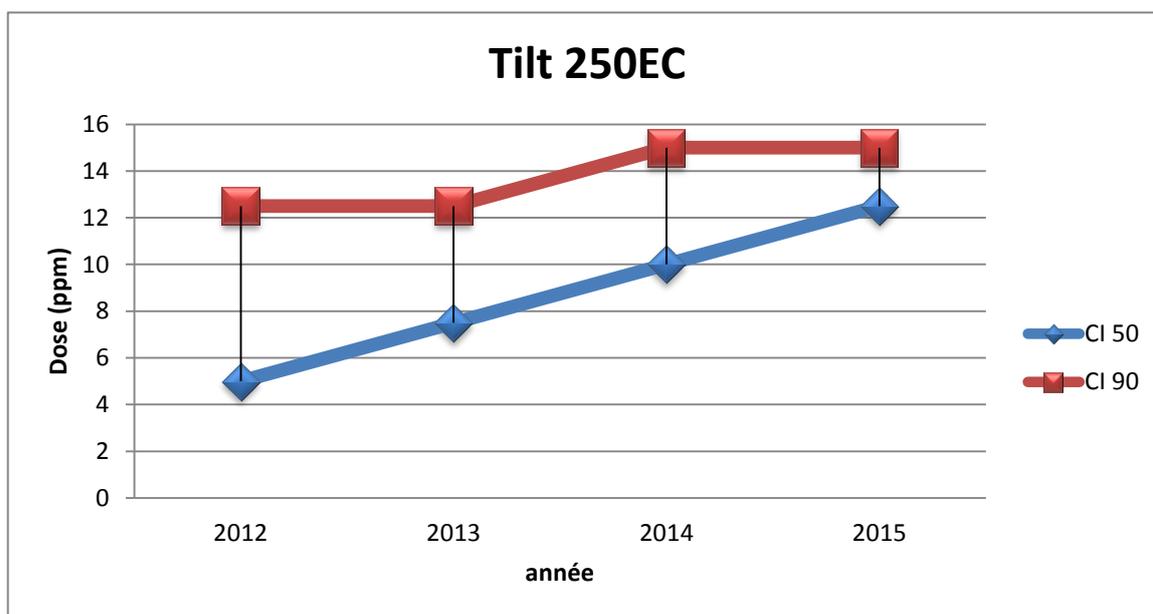


Figure N 28 : Taux d'inhibition du fongicide Tilt 250E sur la croissance mycélienne des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* de la saison 2015

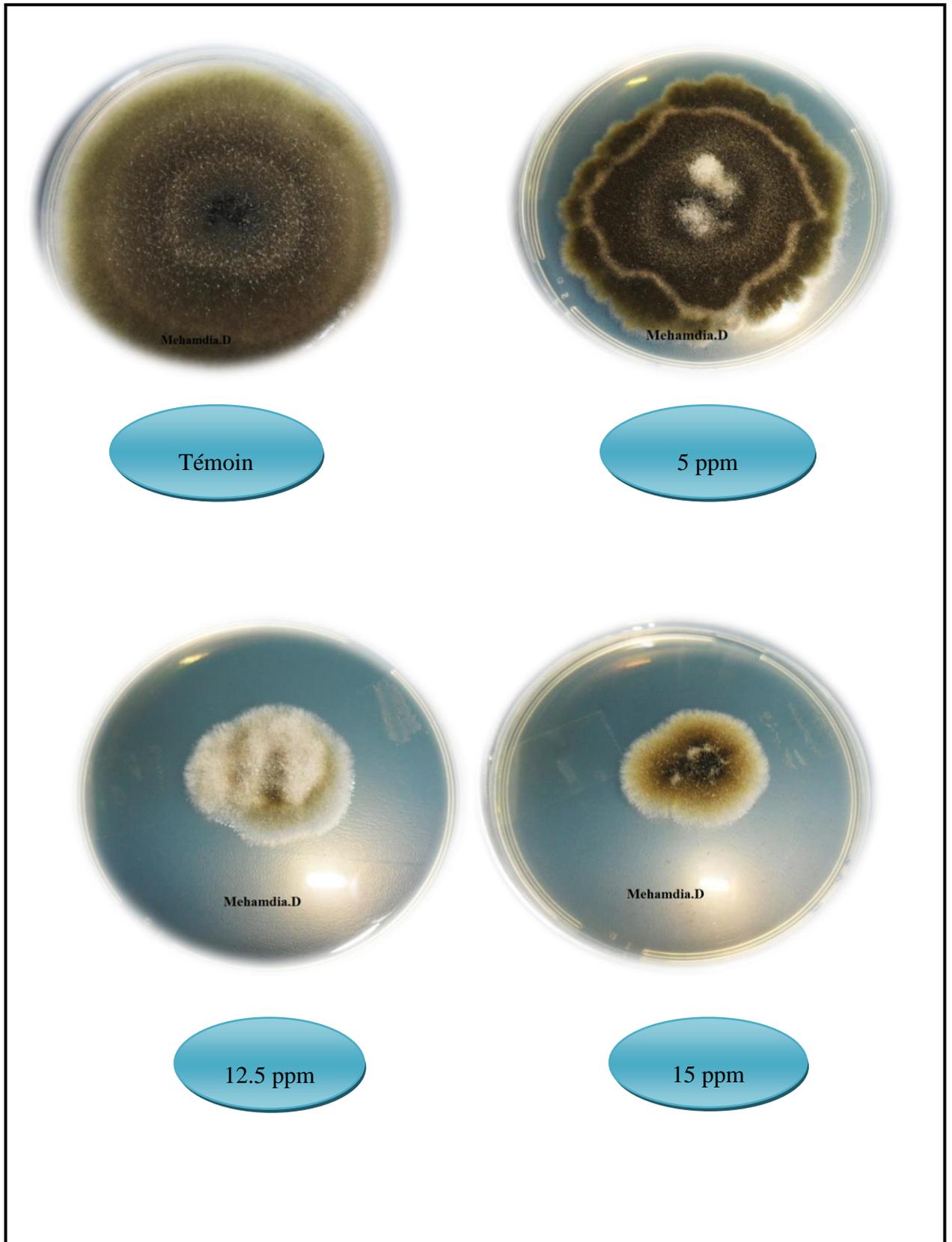


**Figure N29** : variation des valeurs de CI 50 et CI 90 de **Tilt 250EC** durant les quatre saisons agricoles

**Tableau N9** : Effet de **Tilt 250EC** sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (2012-2015)

Année	2.5ppm		5ppm		7.5ppm		10ppm		12.5ppm		15ppm		17.5ppm		20ppm	
	D (cm)	I (%)	D (cm)	I (%)	D (cm)	I (%)	D (cm)	I (%)	D (cm)	I (%)						
2012	6	25	5	37.5	4.2	47.5	2.6	67.5	1.7	78.75	0.8	90	0	100	0	100
2013	6.2	22.5	5.7	28.75	4	50	2.7	66.25	1.5	81.25	0.7	91.25	0	100	0	100
2014	6.3	21.25	6	25	5.2	35	4.3	46.25	3	62.5	1.8	77.5	0.7	91.25	0	100
2015	5.8	27.5	5	37.5	4.6	42.5	4	50	3.5	56.25	2.3	71.25	1	87.5	0.4	95
Effet		ns		ns		ns		*		**		**		***		***

**D** : diamètre de la croissance mycélienne en cm, **I** : pourcentage d'inhibition, **ns** : non significatif, \* : significatif, \*\* : très significatif, \*\*\* : hautement significatif



**Photo N33** : Photos de l'activité antifongique du fongicide Tilt EC250 sur *Pyrenophora tritici repentis*

### L'Amistar

Concernant le fongicide Amistar à base d'azoxystrobine, les résultats de l'activité antifongique sur les isolats de *Pyrenophora tritici repentis* ont montrés que 100% des isolats du groupe 2012 (**Figure N°3.-31**) avaient une CI50 de 7.5 ppm et une CI90 égale à 15 ppm, en 2013, 60% des isolats ont présentés une CI50 de 7.5 ppm et 40% avaient une CI50 de 10 ppm, tous les isolats de ce groupe ont montrés une CI90 égale à 15 ppm (**Figure N°32-33**).

En 2014, 70% des isolats ont montrés une CI50 de 10 ppm (**Figure N°34-35**) tandis que les 30% avaient une CI50 de 12,5 ppm, la CI90 a été aussi passé à 17,5 ppm pour ce groupe d'isolats. 80% des isolats du groupe 2015 avaient une CI50 de 12,5 ppm (**Figure N°36-37**) et 20% ont présentés une CI50 de 15 ppm, la CI90 a aussi augmentée pour atteindre 20 ppm.

L'Amistar est utilisé en Algérie depuis les années 90, les résultats de l'activité antifongique de ce fongicide sur les isolats de *Pyrenophora tritici repentis* des quatre saisons ont montrés une augmentation hautement significative ( $p < 0.01$ ) de la CI50 et de la CI90 (**Figure N°38**), ces résultats indiquent que les isolats de *Pyrenophora tritici repentis* isolés dans l'est algérien durant la période (2012-2015) ont développés une résistance vis-à-vis des strobilurines (**Tableau N10**)

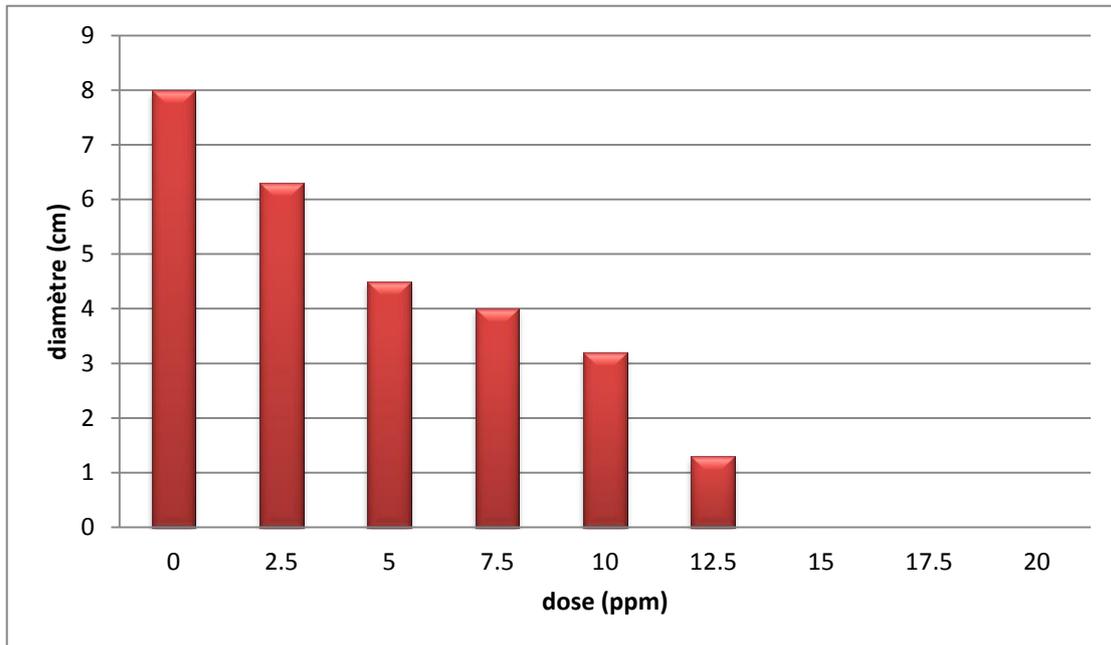
Les rapports de suivi des responsables de l'unité céréales et maladies fongiques de l'INPV de la wilaya d'EL-Tarf rapportent que la tache auréolée contenue sa diffusion dans les parcelles après le traitement avec l'Amistar même après une deuxième application du fongicide, ils conseillent les agriculteurs d'éviter ce type de fongicide ou bien de l'utilisé en combinaison avec un autre fongicide d'une famille chimique différente.

Le fongicide Amistar appartient à la famille des strobilurines ou les inhibiteurs de la respiration cellulaire (Qol) (Syngenta ; Caraisse, 2010), c'est un fongicide unisite contenant de l'azoxystrobine son rôle et l'attachement au cytochrome b composant du complexe mitochondrial III de la cellule fongique (Bartlett et al, 2002). Cet attachement bloque le transfère des électrons et empêche par conséquence la production d'ATP dans la cellule (Sierotzki et al, 2000 ; Fraiji et al, 2000).

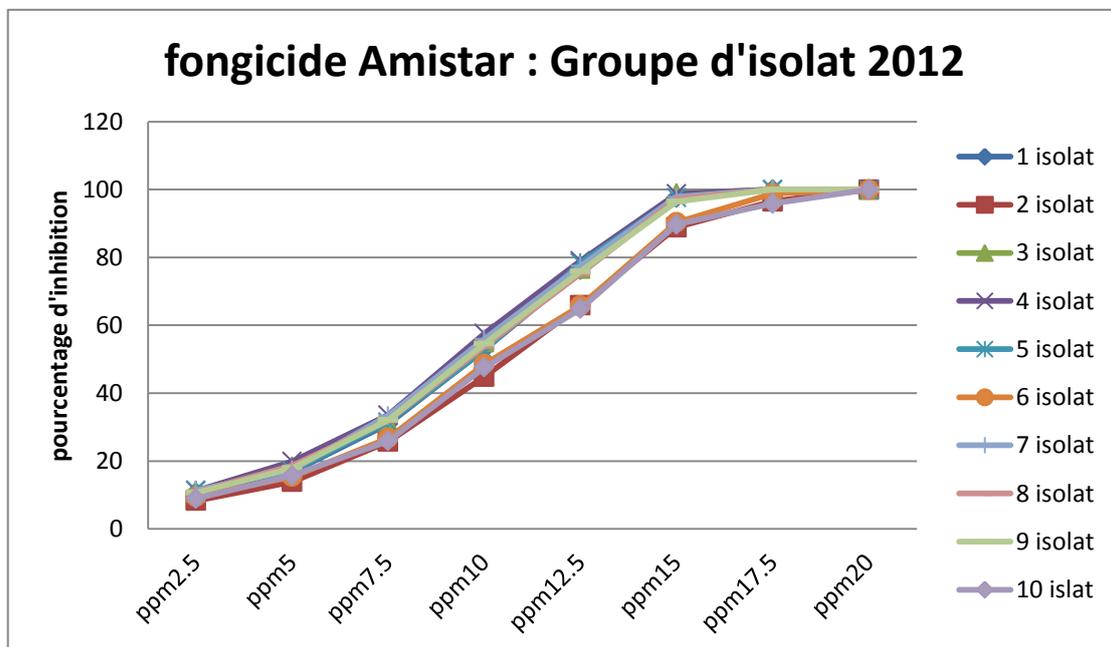
La résistance de *Pyrenophora tritici repentis* à l'azoxystrobine a été signalée par Colsen et ces collaborateurs (Colsen et al, 2003), d'après leurs essais en plein champs, le pourcentage d'attaque de la tache auréolée après un traitement avec l'azoxystrobine (125g/l) était 88.48% et il était 71.33% pour une dose de 250g/l d'azoxystrobine. Des isolats de *Pyrenophora tritici repentis* testés en France aux strobilurines ont montrés une CI50 de 25 ppm (Walker, 2004 ; phytoma), d'autres isolats testés au Danemark, au Canada et en Australie ont présentés une CI50 supérieure à 10 ppm (Jorgensen et al, 2008). Le problème de résistance aux strobilurines est actuellement signalé pour tous les champignons phytopathogènes des céréales y compris *Septoria tritici*, *Blumeria graminis*, *Puccinia recondita* chez le blé dur, *Pyreularia grisea* chez le riz et *Helminthosporium* pour l'orge (Chin et al, 2001 ; Kim et Dixon, 2003 ; Grasso et al, 2006).

Selon les chercheurs, la résistance aux strobilurines est induite par deux mutations au niveau du gène qui code pour le cytochrome b (Leadbeater, 2005 ; Dolores, 2008), soit en position F129L ou la phenylalanine devient leucine cette mutation se manifeste par une faible résistance, soit en position G143A ou la glycine devient alanine et la mutation se manifeste par une forte résistance (Sierotzki et al, 2006). Il a été démontré que les isolats de *Pyrenophora tritici repentis* contenant les deux types de mutations en même temps ont présentés des valeurs de CI50 entre 80 et 100ppm (crop protection ; Sierotzk et al. 2007), ces mutation ont permet au champignon d'échapper à l'action des strobilurines en utilisant une autre voie de respiration cellulaire appelée la respiration alternative (Haevey et Craigie, 2015).

**L'Amistar**



**Figure N30** : Effet de l'Amistar sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (groupe 2012)



**Figure N 31**: Taux d'inhibition du fongicide **Amistar** sur la croissance mycélienne des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* de la saison 2012

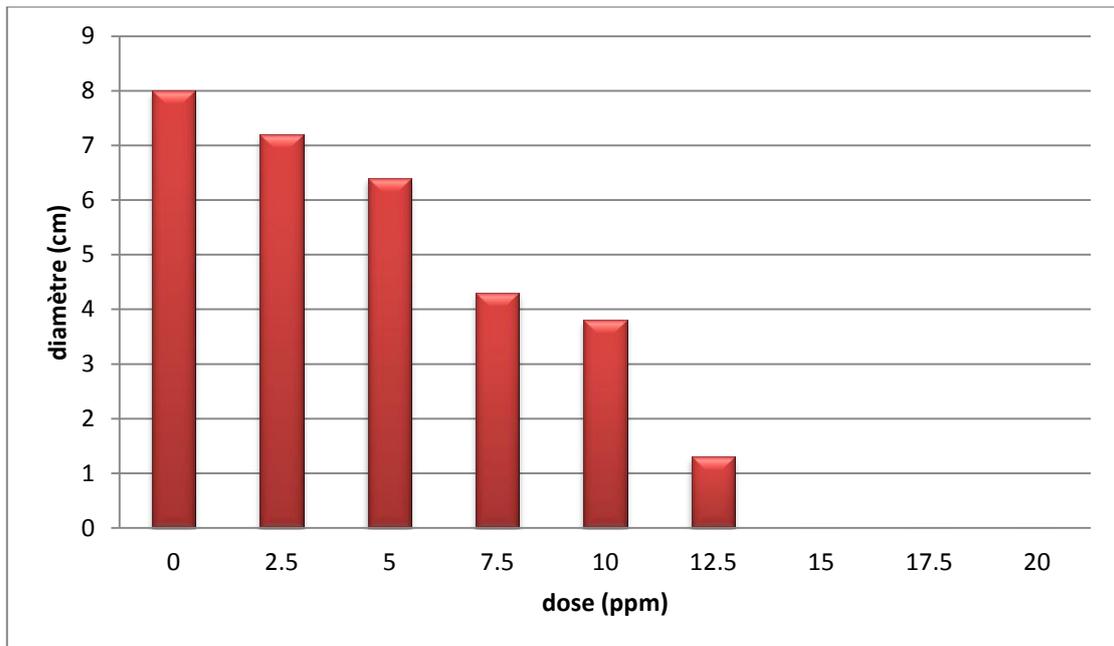


Figure N32 : Effet de l'Amistar sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (groupe 2013)

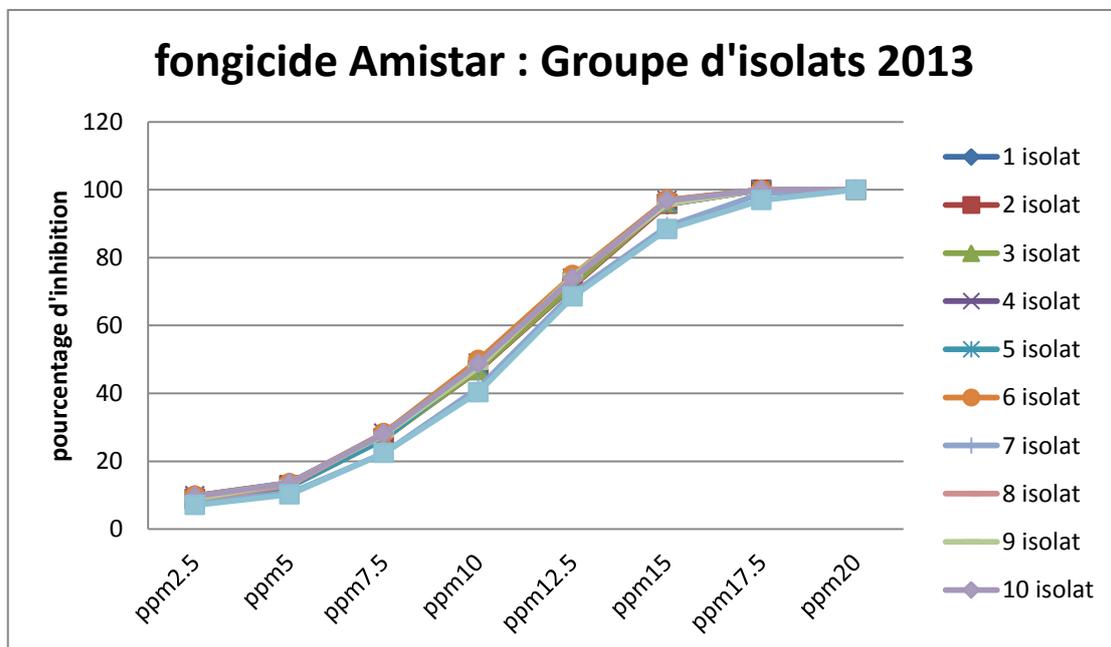


Figure N 33: Taux d'inhibition du fongicide **Amistar** sur la croissance mycélienne des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* de la saison 2013

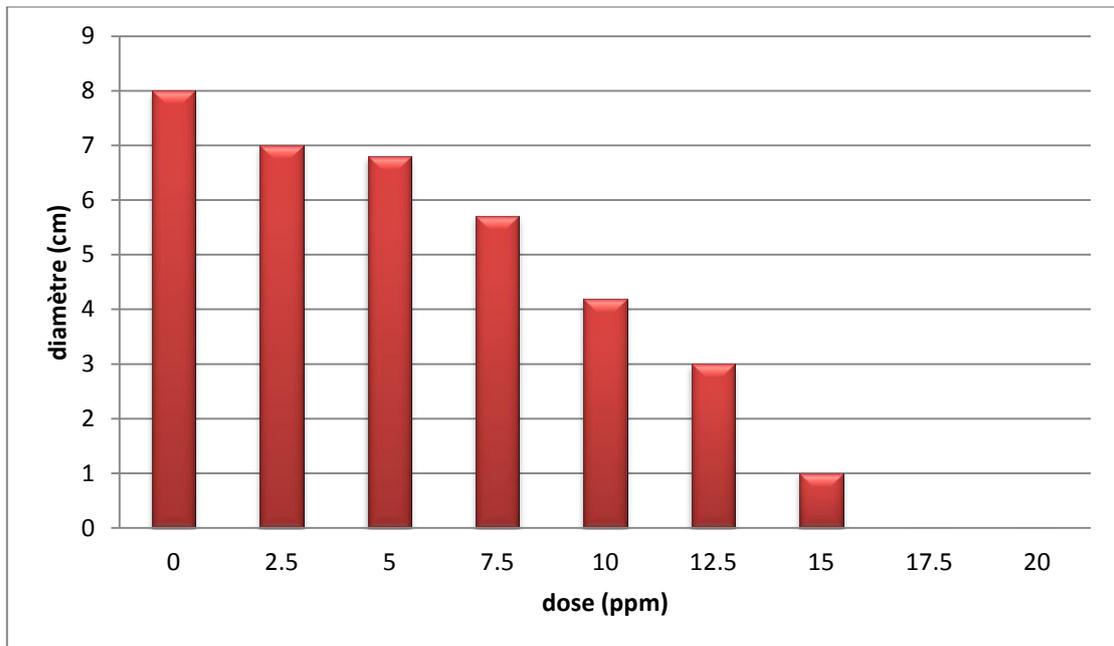


Figure N34 : Effet de l'Amistar sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (groupe 2014)

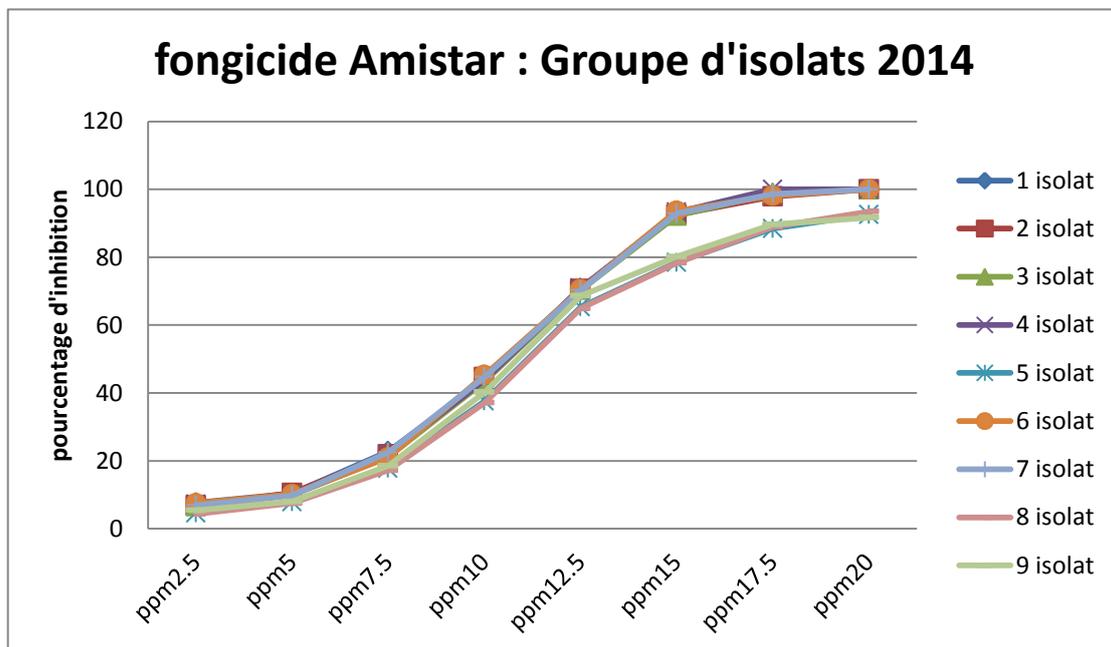


Figure N 35: Taux d'inhibition du fongicide Amistar sur la croissance mycélienne des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* de la saison 2014

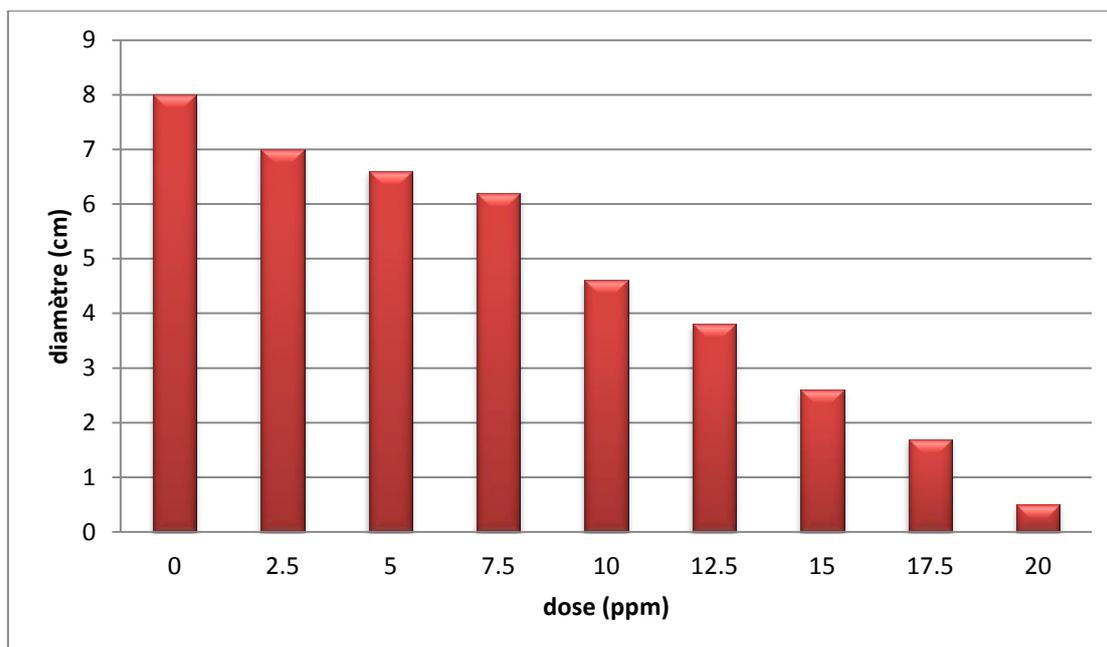


Figure N36: Effet de l'Amistar sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (groupe 2015)

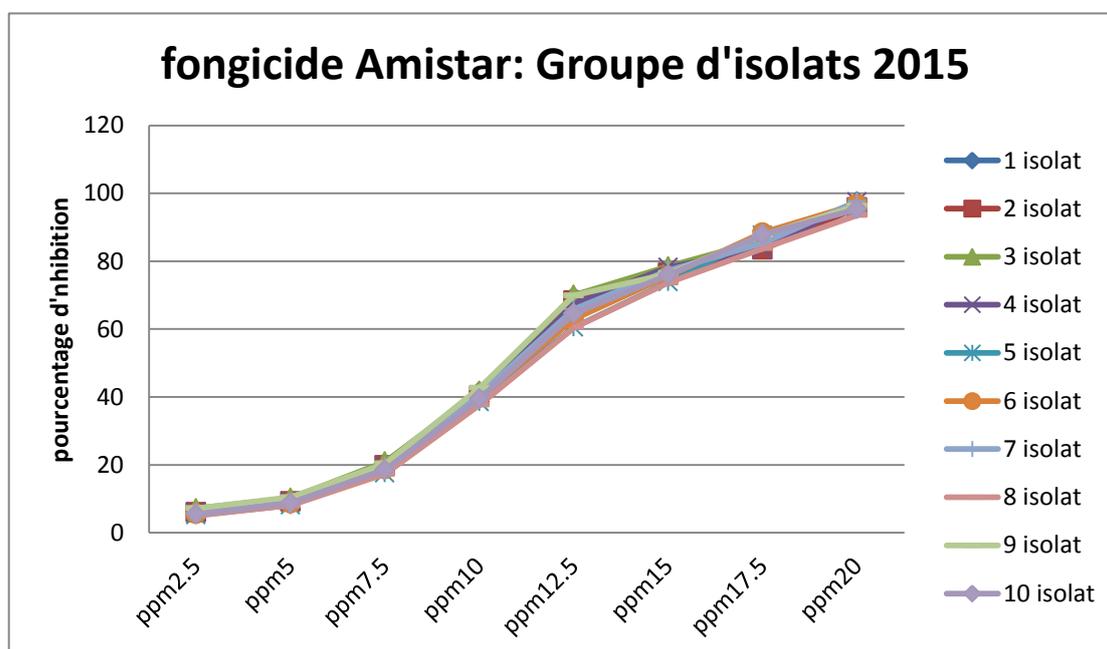
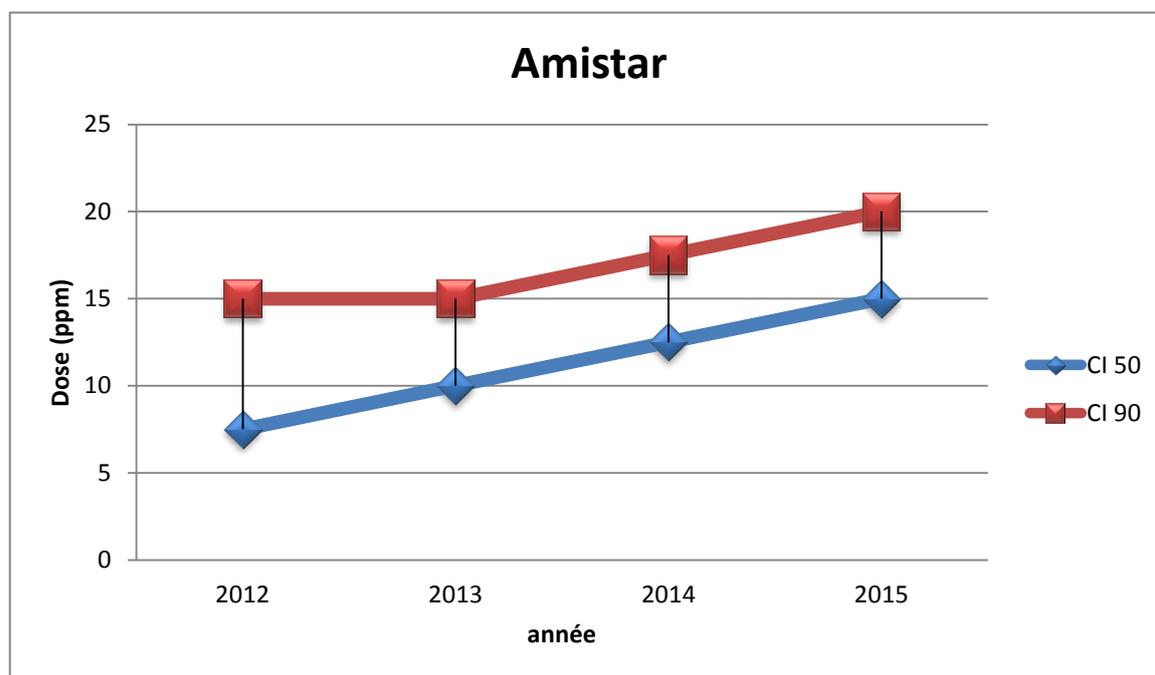


Figure N37 : Taux d'inhibition du fongicide Amistar sur la croissance mycélienne des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* de la saison 2015

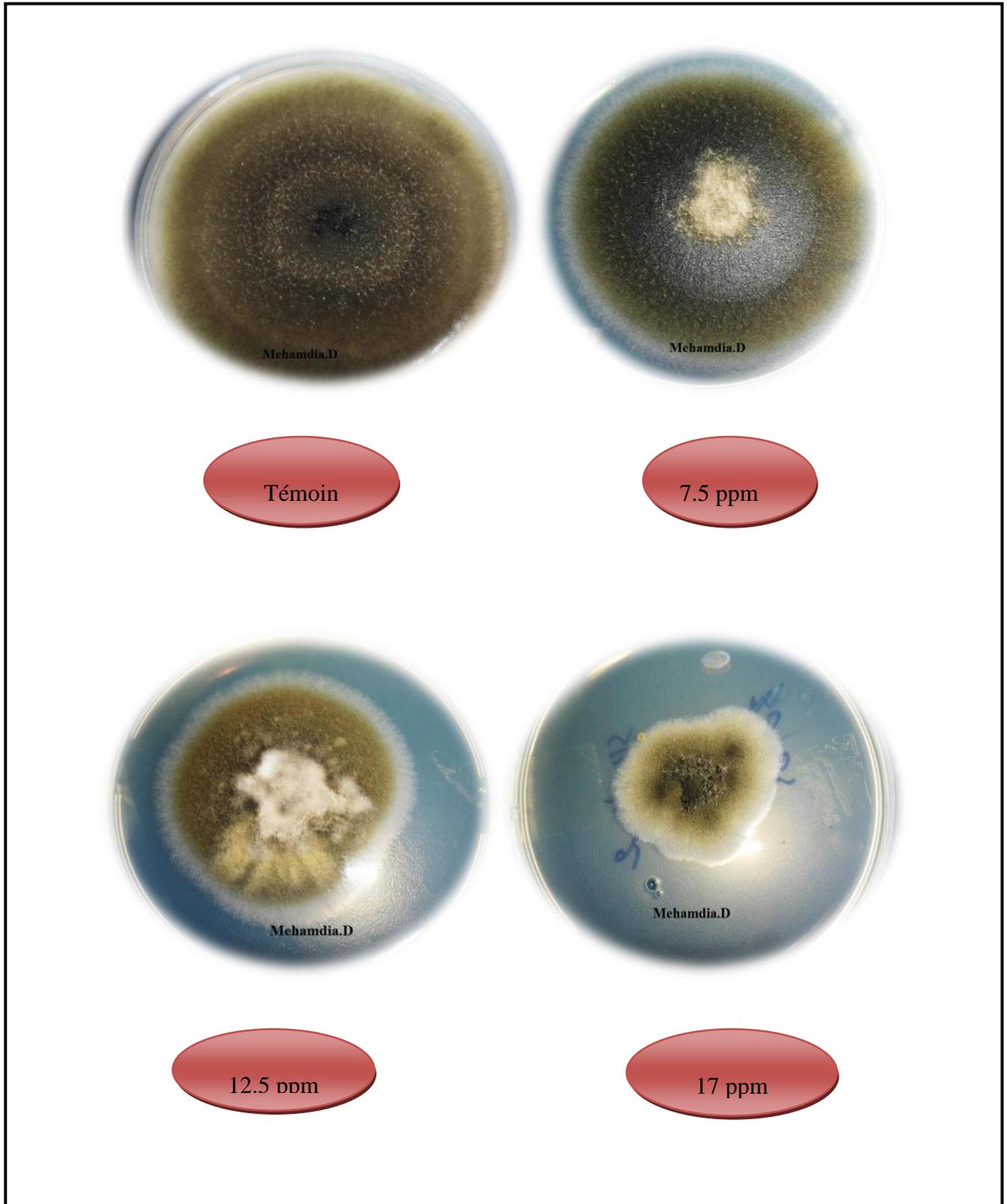


**Figure N38** : variation des valeurs de CI 50 et CI 90 de l'Amistar durant les quatre saisons agricoles

**Tableau N10** : Effet de l'Amistar sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (2012-2015)

Année	2.5ppm		5ppm		7.5ppm		10ppm		12.5ppm		15ppm		17.5ppm		20ppm	
	D (cm)	I (%)	D (cm)	I (%)	D (cm)	I (%)	D (cm)	I (%)	D (cm)	I (%)						
2012	6.3	21.25	4.5	43.75	4	50	3.2	60	1.3	83.75	0	100	0	100	0	100
2013	7.2	25	6.4	20	4.3	46.25	3.8	52.5	1.3	83.75	0	100	0	100	0	100
2014	7	12.5	6.8	15	5.7	28.75	4.2	47.5	3	62.5	1	87.5	0	100	0	100
2015	7	12.5	6.6	17.5	6.2	22.5	4.6	42.5	3.8	52.5	2.6	67.5	1.7	78.75	0.5	93.75
Effet		ns		ns		ns		*		**		***		***		***

**D** : diamètre de la croissance mycélienne en cm, **I** : pourcentage d'inhibition, **ns** : non significatif, \* : significatif, \*\* : très significatif, \*\*\* : hautement significatif



**Photo N34** : Photos de l'activité antifongique du fongicide Amistar sur *Pyrenophora tritici repentis*

### *L'Amistar Xtra*

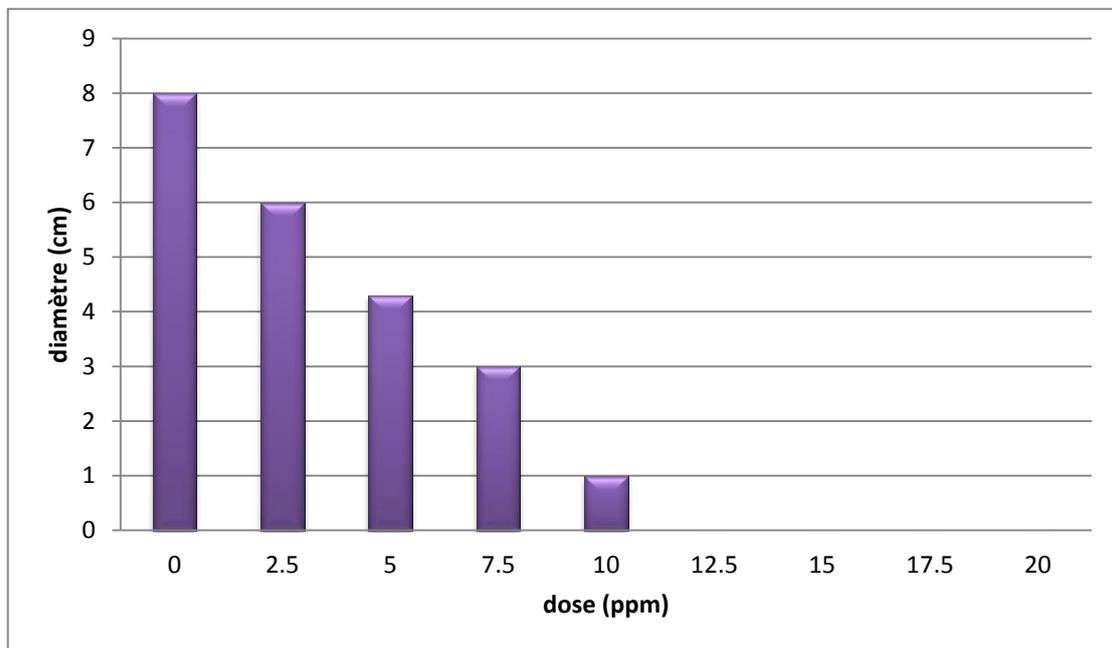
Par rapport au Tilt 250EC et l'Amistar, l'Amistar Xtra est un fongicide multisite (Syngenta) utilisé récemment en Algérie depuis 2004, c'est une combinaison entre les triazoles (cyproconazole) et les strobilurines (azoxystrobine), cette association de deux matières actives différentes permet de diversifier les modes d'actions pour ce fongicide et l'attaque de plusieurs cibles dans la cellule fongique. L'Amistar Xtra agit d'une part sur la respiration cellulaire et la production de l'ATP par l'azoxystrobine et d'autre part sur la structure de la membrane plasmique par le cyproconazole, le champignon est alors fortement affaibli (Pawn, 2012).

Les résultats de l'activité antifongique de l'Amistar Xtra sur les isolats de *Pyrenophora tritici repentis* des quatre groupes ont montrés une augmentation lente des valeurs de la CI50 et de la CI90 durant les quatre saisons agricoles (**Tableau N11**), entre 2012 et 2015, tous les isolats testés ont montrés une CI50 de 5ppm et une CI90 de 10ppm (**Figures N°39-40, 41-42, 43-44, 45-46, 47**). En 2015, uniquement deux isolats originaires de Souk ahras et de Guelma ont montrés une CI50 de 7.5ppm et un CI90 de 12.5ppm.

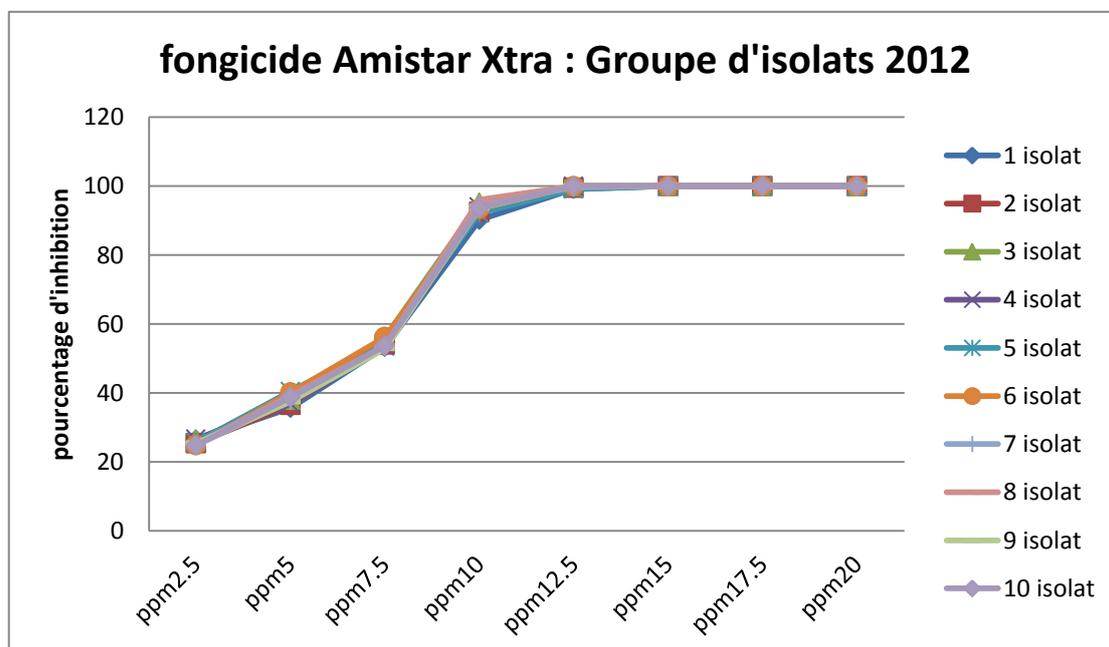
Selon les déclarations des responsables de l'INPV de la wilaya d'ET-Tarf, le pourcentage d'attaque de la tache auréolée est réduit considérablement en cas du traitement avec Amistar Xtra et dans 80% des parcelles revisitées, la maladie était totalement éradiquée.

L'efficacité de la combinaison entre les triazoles et les strobilurines contre *Pyrenophora tritici repentis* à été démontrés par plusieurs études (Caraisse, 2010), en Australie, la sévérité de la tache auréolée est réduite en cas de traitement avec des triazoles combinés aux strobilurines et avec un gain de rendement de 2.6 tonne/h (Colse et al, 2003 ; Russell, 2008 ; Beard et al, 2009), des résultats similaires ont été obtenues en New Zélande en 2015 (Harvey et al, 2015).

**Amistar Xtra**



**Figure N39 :** Effet de l'Amistar Xtra sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (groupe 2012)



**Figure N 40:** Taux d'inhibition du fongicide **Amistar Xtra** sur la croissance mycélienne des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* de la saison 2012

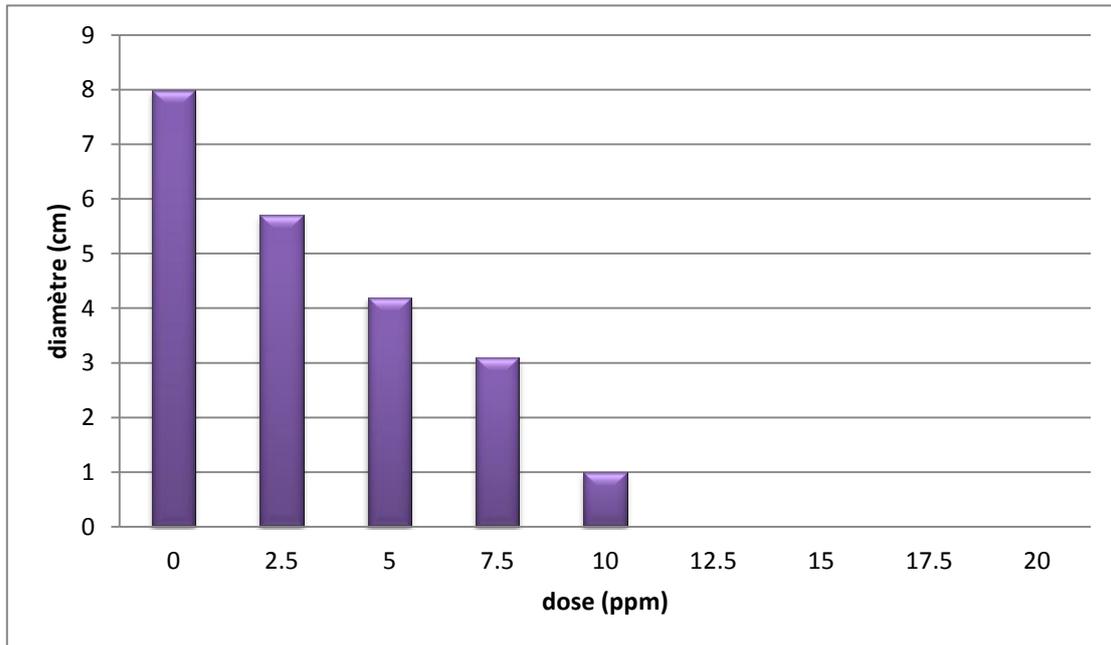


Figure N41 : Effet de l'Amistar Xtra sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (groupe 2013)

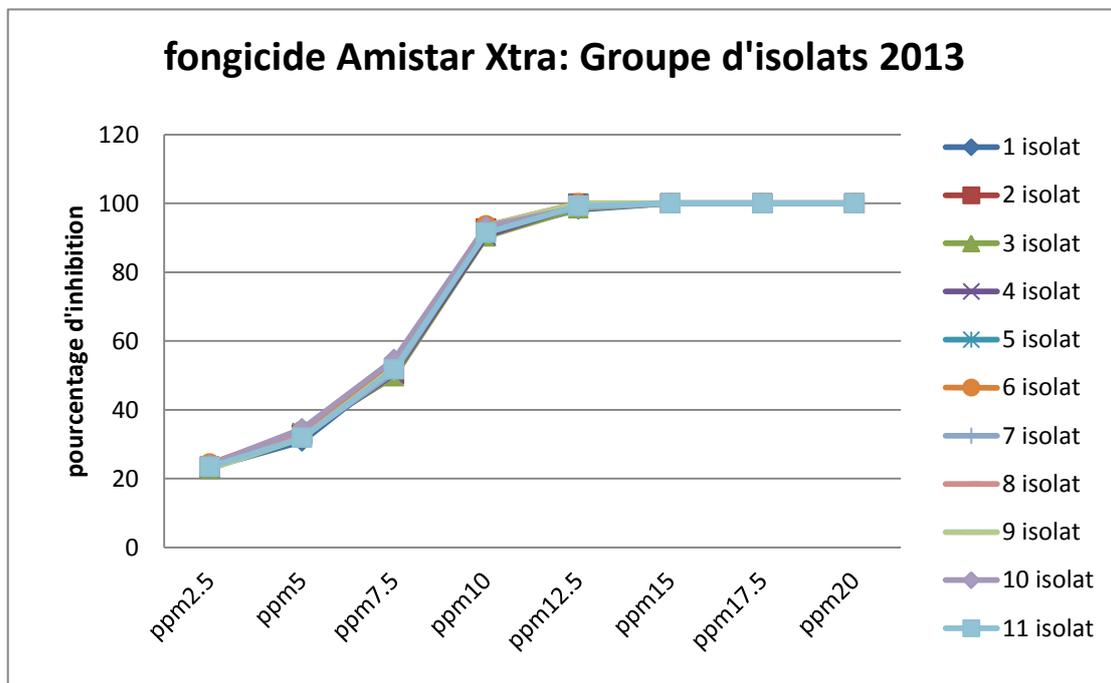


Figure N 42: Taux d'inhibition du fongicide Amistar Xtra sur la croissance mycélienne des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* de la saison 2013

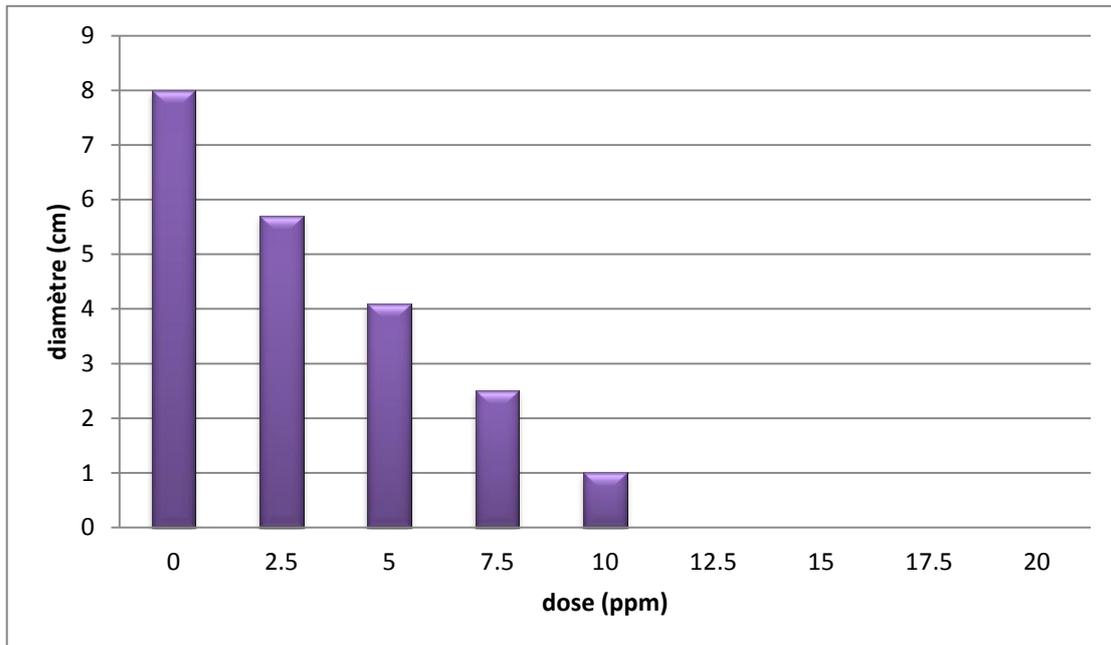


Figure N43 : Effet de l'Amistar Xtra sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (groupe 2014)

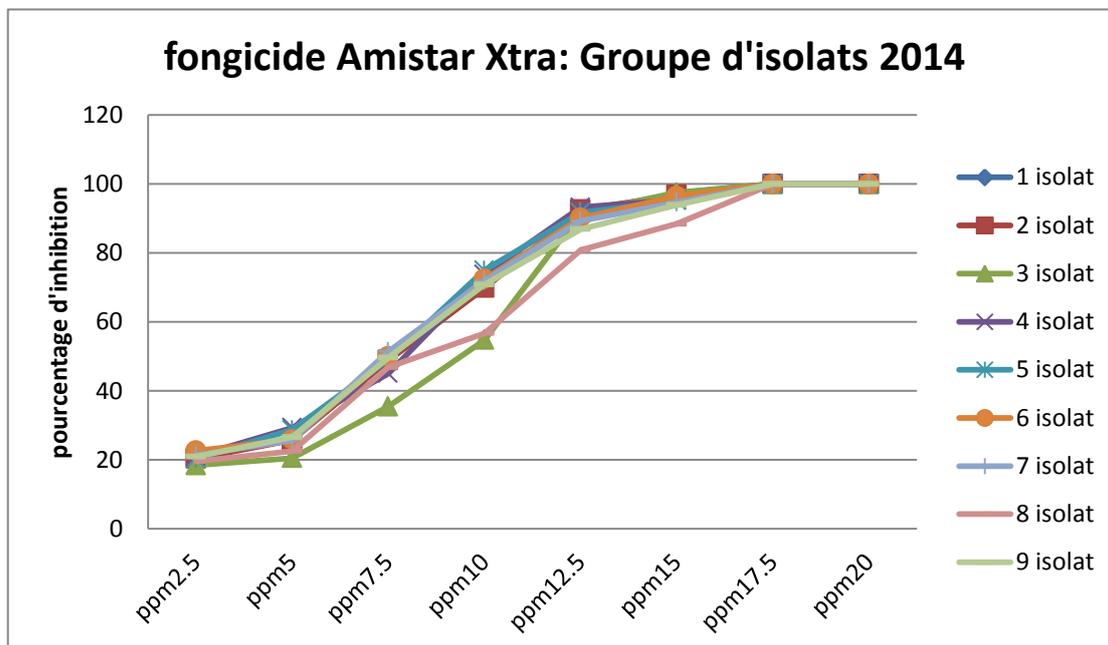


Figure N 44: Taux d'inhibition du fongicide Amistar Xtra sur la croissance mycélienne des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* de la saison 2014

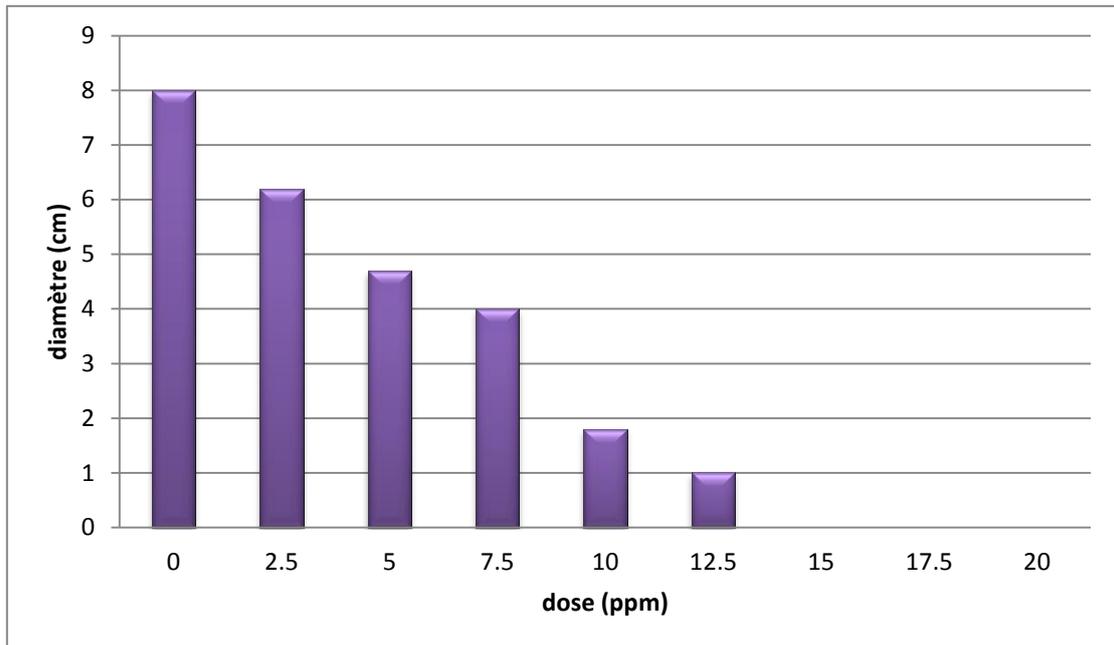


Figure N45 : Effet de l'Amistar Xtra sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (groupe 2015)

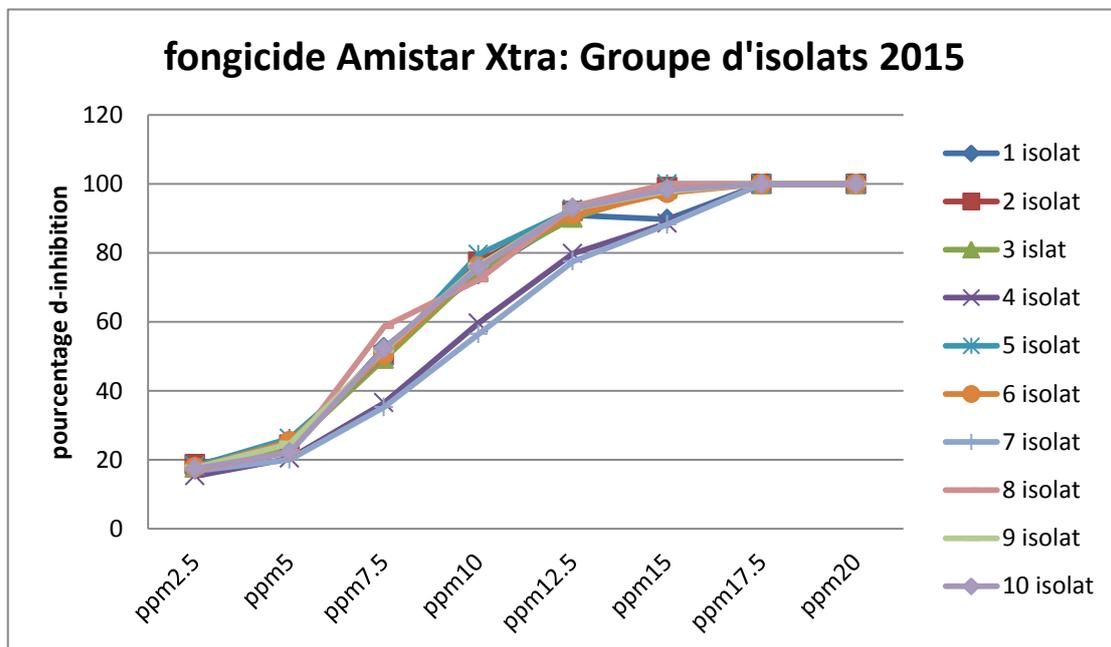
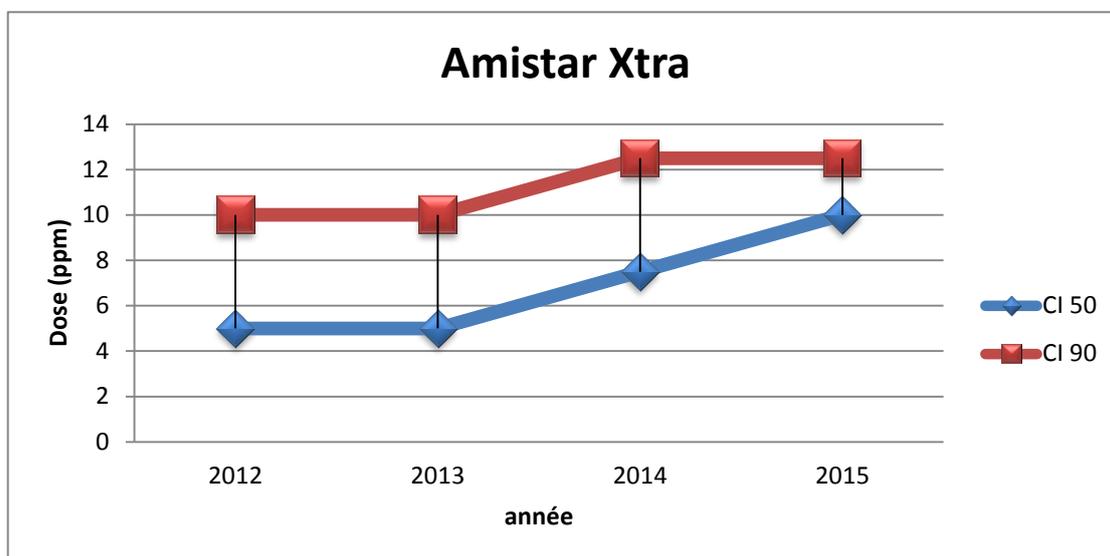


Figure N 46: Taux d'inhibition du fongicide Amistar Xtra sur la croissance mycélienne des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* de la saison 2015

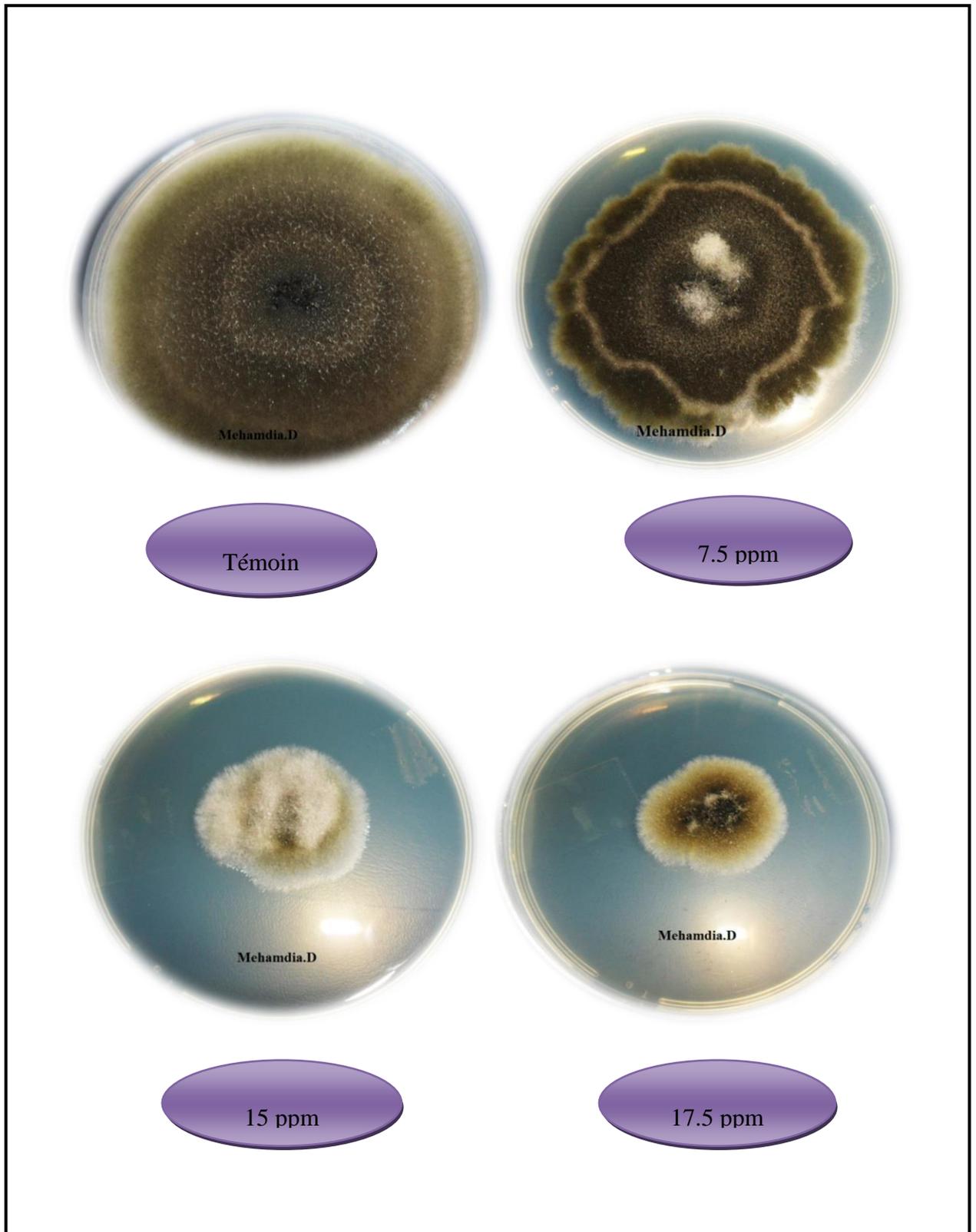


**Figure N47** : variation des valeurs de CI 50 et CI 90 de l'Amistar Xtra durant les quatre saisons agricoles

**Tableau N11** : Effet de l'Amistar Xtra sur la croissance des isolats de *Pyrenophora tritici-repentis* (2012-2015)

Année	2.5ppm		5ppm		7.5ppm		10ppm		12.5ppm		15ppm		17.5ppm		20ppm	
	D (cm)	I (%)	D (cm)	I (%)	D (cm)	I (%)	D (cm)	I (%)	D (cm)	I (%)						
2012	6	25	4.3	46.25	3	62.5	1	87.5	0	100	0	100	0	100	0	100
2013	5.7	28.75	4.2	47.5	3.1	61.25	1	87.5	0	100	0	100	0	100	0	100
2014	5.7	28.75	4.1	48.75	2.5	68.75	1	87.5	0	100	0	100	0	100	0	100
2015	6.2	22.5	4.7	41.25	4	50	1.8	77.5	1	87.5	0	100	0	100	0	100
Effet		ns		ns		*		**		***		***		***		***

D : diamètre de la croissance mycélienne en cm, I : pourcentage d'inhibition, ns : non significatif, \* : significatif, \*\* : très significatif, \*\*\* : hautement significatif



**Photo N29** : Photos de l'activité antifongique du fongicide Amistar Xtra sur *Pyrenophora tritici repentis*

**Tableau N12** : Variation des valeurs CI50 et CI90 des trois fongicides entre 2012 et 2015

Année	<i>Amistar</i>		<i>Tilt 250EC</i>		<i>Amistar Xtra</i>	
	CI50	CI90	CI50	CI90	CI50	CI90
2012	7.5ppm	15ppm	5ppm	12.5ppm	5ppm	10ppm
2013	7.5/10ppm	15ppm	5/7.5ppm	12.5ppm	5ppm	10ppm
2014	10/12.5ppm	17.5ppm	7.5/10ppm	15ppm	5ppm	10ppm
2015	12.5/15ppm	20ppm	10/12.5ppm	15ppm	7.5ppm	12.5ppm

Une différence importante de croissance entre les isolats témoins et les isolats testés de *Pyrenophora tritici-repentis* aux différentes doses du fongicide a été enregistrée durant les quatre années d'étude, en général, une différence non significative a été observée pour les doses 2.5ppm, 5ppm et 7.5ppm avec des diamètres variés entre 7cm et 4cm respectivement comparé au témoin (8cm) pour les fongicides Tilt 250EC et Amistar (**Tableau N9, 10**). Nous avons observé une différence hautement significative ( $p \leq 0.01$ ) avec les doses 10ppm, 12.5ppm, 15ppm 17.5ppm qui ont donnés des diamètres variés entre 3cm et 1 cm, parallèlement, les taux d'inhibition ont connus aussi des différences significatives durant les quatre année d'étude, ils varie entre 20 et 27% pour la dose 2.5ppm, entre 30 et 50% pour les doses 5ppm et 7ppm, entre 60 et 80% pour les doses 10ppm et 12.5ppm et entre 90 et 100% a partir de la dose 15ppm, aucune croissance n'a été notée a partir de la dose 20ppm. Une différence non significative de croissance pour les doses 2.5ppm et 5ppm a été notée pour l'Amistar Xtra entre 2012 et 2015 avec des taux d'inhibition entre 22 et 45% (**Tableau 11**), l'activité antifongique du fongicide s'exerce a partir de la dose 7.5ppm avec un diamètre varie en général entre 4cm et 2.5cm et un taux d'inhibition allant jusqu'à 65%, une inhibition totale de la croissance mycélienne est observée a partir de la dose 10ppm.

L'analyse statistique a montrée qu'il existe des différences hautement significatives ( $p < 0.01$ ) entre les trois fongicides durant les 4 ans d'étude selon les valeurs de CI50 et CI90. Durant les quatre saisons, les valeurs de la CI50 pour le Tilt 250EC ont passée de 5 ppm en 2012 à 12.5 ppm en 2015 et de 12.5 ppm à 15 ppm pour la CI90, alors

que l'augmentation était importante pour l'Amistar ou la CI50 était passée de 7.5 ppm en 2012 à 15 ppm en 2015 et de 15 ppm à 20 ppm pour la CI90 (**Tableau 12**). Il paraît donc que les isolats de *Pyrenophora tritici repentis* de l'est algérien ont gardés une bonne sensibilité vis-à-vis de ce fongicide par rapport au Tilt 250EC et à l'Amistar

### ***Pathotype et résistance aux fongicides***

Les tests d'activité antifongique montrent qu'il n'existe aucun lien entre la nature de pathotype et la résistance aux fongicides, les isolats montrant des CI50 et des CI90 élevées font partie des pathotypes 1, 2 et 3 sans exception. Par exemple l'isolat N°6 qui fait partie du pathotype 1 a montré une CI50 de 20 ppm pour l'Amistar alors que l'isolat N°26 qui fait partie du pathotype 3 a montré aussi la même valeur pour le même fongicide, d'autre part on peut voir que l'isolat N°13 (pathotype 2) possède une CI50 de 15 ppm pour le Tilt 250EC qui est la même valeur exprimée par l'isolat N°16 (pathotype 3).

Les isolats présentant une résistance à un ou à plusieurs fongicides ont été détectés dans toutes les wilayas, mais avec des proportions différentes.

La fréquence était plus élevée dans les wilayas de Guelma, El-Tarf et Souk ahras où nous avons remarqué l'absence de rotation des cultures ou bien le blé dur et remplacé par la jachère qui favorise la conservation du champignon sur le chaume et favorise le cycle de vie de ce dernier par contre la fréquence d'isolement des isolats résistants était moins importante dans les wilayas d'Annaba et de Skikda, dans ces deux wilayas nous avons remarqué que dans 80% des champs visités il y'avait une rotation entre blé dur, légumineuse, melon et tomate cette rotation permet d'éliminer les résidus de blé dur présent sur le sol et par conséquent de briser le cycle de vie du champignon. Pour les wilayas de Khenchela et Oum Elbouagui, tous les isolats résistants appartenant au pathotype 1, ces isolats ont présentés une résistance à l'Amistar et au Tilt 250EC mais aucun isolat résistant à l'Amistar Xtra n'a été détecté.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer la diminution de la sensibilité des isolats de *Pyrenophora tritici repentis* vis-à-vis des fongicides au cours de ces quatre campagnes de suivie, on peut noter :

### 1-l'utilisation des variétés de blé sensibles

Durant la période de prospection et de collecte des échantillons, les variétés de blé dur semées dans les champs des wilayas visités sont des variétés sensibles à la tache auréolée comme Simeto qui est la prédominante, Waha et HD1220. Les agriculteurs ont tendance à utiliser ces variétés à cause de leurs prix moins chères comparant aux variétés Vitron ou GTA Dur qui sont considérés par l'ITGC comme des variétés résistantes à la tache auréolée, mais avec un prix relativement chère.

Selon les spécialistes le type de la variété de blé dur semé influe directement sur la persistance de la tache auréolée et l'émergence de la résistance aux fongicides (Clark et Paveley, 2005 ; Singh et Hughes, 2006 ; Carmouna et al, 2006), il est actuellement admis que la lutte génétique est le moyen le plus efficace pour le contrôle de la maladie et le problème de la résistance en même temps (Tadesse et al, 2006 ; Jorgensen et Olsen, 2007 ; Leroux et al, 2013).

### 2 les pratiques culturales

Durant ce travail, on a pu constater l'abondement total du labour profond (enfouissement) dans la culture de blé dur, le travail de la terre était généralement basé sur un labour superficiel léger à la fin du mois septembre ou en octobre et le semi était effectué en mois de novembre. Ce type de labour superficiel ne permet pas l'enfouissement des résidus du blé de la culture précédente, ces résidus constituent une étape primordiale dans le cycle de vie du champignon, les ascospores sont conservés sur le chaume de blé et servent comme inoculum primaire pour l'infection de la culture suivante (Stover et al, 1996 ; Dewolf et al, 1998 ; Duveiller et al, 2005 ; Fraigie, 2005 ; Carigano et al, 2008).

### 3-la précédente culturale

60% des parcelles revisitées au cours des quatre campagnes ont été soit semées céréales (blé, orge) ou bien restées sous forme de jachère, ce type de monoculture

favorise la conservation du champignon dans la parcelle, par contre il a été démontré que le système de rotation des cultures permet de briser le cycle de vie de champignon en réduisant la source de l'inoculum primaire (Loughman et al, 1998 ; Carigano et al, 2008 ; Singh et al, 2008 ; Bockus, 2010 ).

#### 4-le traitement fongicide

Les fongicides utilisés par les agriculteurs contre la tache auréolée et les autres maladies cryptogamiques du blé dur était soit à base de triazols le (Tilt 250EC, l'Artea) ou à base de strobilurines (Amistar) et dans certains cas une combinaison entre les deux groupes comme le fongicide Amistar Xtra. Ces fongicides ont été appliqués deux à trois fois dans la même saison et avec une dose réduite de 0.5L/hé ou lieu de 1 L/hé selon les recommandations du fabricant.

L'utilisation des mêmes familles de fongicides plusieurs fois augmente le risque de la résistance croisée chez le champignon (Colsen et al, 2003 ; Jorgesen et Olsen, 2008), en plus l'application d'une dose réduite dans un but économique ou pour la protection d'environnement favorise la sélection rapide des souches naturellement résistantes dans la population du champignon (Reimen et al, 2005 ; Jaimin et Patel, 2012 ; Pawan et al, 2012). Selon les informations fournis par le service de maladies fongiques des céréales de l'INPV, la tache auréolée réapparaît même après un traitement fongicide ce qui signifie que le champignon *Pyrenophora tritici repentis* est devenu insensible à l'action de ce type de fongicide.

#### 5-Présence des complexes fongiques

Pendant la période de collection des isolats de *Pyrenophora tritici repentis*, d'autres espèces phytopathogènes ont été présentes simultanément dans les mêmes parcelles, ces espèces forment des complexes fongiques dont les plus fréquents sont tache auréolée-septoriose et tache auréolée-rouille brune par fois la fusariose et l'oïdium. La présence de plusieurs maladies fongiques dans le même champ de blé oblige les agriculteurs à utiliser les fongicides plusieurs fois pour les éradiquer ce qui favorisent la sélection des souches résistantes surtout en cas d'application d'une même famille de fongicides, aussi les complexes fongiques favorisent selon les chercheurs les transfères des gènes de résistance entre les champignons, par exemple,

les mêmes gènes de résistances au strobilurines ont été détectés chez *Septoria tritici* (Fraigie, 2005 ; Bockus, 2010).

### ***Relation avec la résistance antifongique dans le milieu médical***

La résistance aux triazoles a été aussi détectée chez des champignons pathogènes pour l'homme, à partir de 2007, des isolats d'*Aspergillus fumigatus* responsable d'aspergillose chroniques ont été signalés comme insensibles aux plusieurs types d'IDM d'emploi médicale comme l'Itraconazole, le

Voriconazole et le Posaconazole , ces isolats résistants possèdent une mutation de type PR34 au niveau du gène *cyp51A* qui code pour le stérol 14 alpha demethylase, en même temps, des isolats d'*Aspergillus* d'origine environnementale possédant aussi le même type de mutation PR34 ont été détectés. Selon les spécialistes 99% des IDM (25 types d'azolés) sont utilisés dans l'agriculture ce qui explique le lien entre la résistance des agents pathogène dans le milieu clinique et l'utilisation des triazoles dans l'agriculture, cette résistance est d'une conséquence importante sur la prise en charge des patients atteints d'aspergilloses (Camps *et al*, 2012 ; Doukas *et al*, 2012 ; Chowdhary *et al*, 2013 ; Van der Linden *et al*, 2013).

Le blé dur constitue la principale céréale cultivée en Algérie, cette culture est constamment menacée par des maladies cryptogamiques dont la prédominante est la tache auréolée, la présente étude vise à évaluer *in vitro*, la sensibilité de 100 isolats de *Pyrenophora tritici repentis* collectés durant quatre campagnes agricoles successives (2012-2015) à partir de différentes zones céréalières de l'est algérien aux trois types de fongicides : l'Amistar (azoxystrobine) qui appartient à la famille de strobilurine, le Tilt 250EC (propiconazole) de la famille des triazoles et l'Amistar Xtra (azoxystrobine + cyproconazole) qui est une association entre les deux familles.

Les résultats de l'activité antifongique *in vitro* montrent une diminution de la sensibilité des isolats d'une année à l'autre, cette diminution est traduite par l'augmentation des valeurs de la CI50 des trois fongicides utilisés, Les valeurs de la CI50 pour l'Amistar varient entre 7,5 ppm et 15 ppm, entre 5 ppm et 12,5 ppm pour le Tilt 250EC et entre 5 ppm et 10 ppm pour l'Amistar Xtra. Il semble que les isolats de *Pyrenophora tritici repentis* ont développés une résistance vis-à-vis des strobilurines et des triazoles, l'association de l'azoxystrobine et le cyproconazole dans un seul produit (Amistar Xtra) a donnée une bonne activité antifongique contre le champignon par apport au strobilurines ou triazoles seul. Plusieurs facteurs peuvent contribués à l'émergence de cette résistance chez les isolats de *Pyrenophora tritici repentis* dont les principaux sont l'utilisation des variétés sensible de blé dur, les mauvaises pratiques culturaux surtout la monoculture du blé, l'abandon du labour profond et l'enfouissement des résidus des cultures précédentes, l'application d'un même fongicide plusieurs fois dans la même campagne agricoles et enfin, l'utilisation des doses réduites des fongicides en vue d'économisations permet au pathogène de s'adapter et de développé une résistance vis-à-vis des fongicides.

L'efficacité des combinaisons triazoles-strobilurins et d'autres produits similaires n'est pas garantie avec l'apparition des isolats de PTR qualifiés de multi drug résistants, ces isolats sont résistants à la fois aux triazoles et aux strobilurines ce qui menace encore la culture de blé dur en Algérie et dans le monde. En plus, l'Apparition des champignons pathogènes humains (*Aspergillus*) résistants aux antifongiques azoles et apparament en lien directe avec l'utilisation d'antifongiques azolés dans le domaine agricole, cette résistance est d'une conséquence importante sur la prise en charge des patients atteints d'aspergilloses.

### *Perspectives :*

- ✓ Caractérisation moléculaire de races physiologiques isolées.
- ✓ Etude moléculaire des isolats résistants et caractérisation des gènes de résistance.
- ✓ Recherche des liens entre la résistance chez les champignons phytopathogènes et ceux d'origine médicale.

- Abdelkader Djermoun, (2009). La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques, Revue Nature et Technologie. N1. P.45 à 53.
- Adee, E.A. & Pfender, W.F. (1989). The effect of primary inoculum level of *Pyrenophora tritici-repentis* on tan spot epidemic development in wheat. *Phytopathology* **79**: 873-877.
- Agrios.G.N, (2005), Plant Pathology, 5<sup>ème</sup> Ed, Elsevier Press, P.388-400, 469
- Ali. S ; Francl L. J. (2003), Population race structure of *Pyrenophora tritici repentis* prevalent on wheat and non cereal grasses in the Great Plains. Plant Disease, **87**(4): 418-422.
- Aman O ; Calay F ; Legat T ; Bodson B, (2003) :First detection of resistance to QoI in *Mycosphaerella graminicola* on winter wheat in Belgium, Commun Agric App Biosci, (68) : 519-531.
- Andonova. R ; Todorova M . (2007), *In vitro* characteristics of different *Pyrenophora tritici-repentis* isolates. Bulgarian Journal Agricultural Science, **13**, 673-678
- Andrie, R.M.; Pandelova, I. & Ciuffetti, L.M. (2007). A combination of phenotypic and genotypic characterization *Pyrenophora tritici-repentis* race identification. *Phytopathology* **97**: 694-701.
- Antanas Ronis,.(2014), Sensitivity of *Mycosphaerella graminicola* isolates to demethylation inhibitor fungicides. Zemderbyste agriculture, **101**, 177-184.
- Barlett B ; Clough JM ; Hall AA, (2001) : The strobilurin fungicides. Pest Manag sci, (58) : 649-662.
- Beard.C ; Loughman.R ; Smith.A., Bseline ( 2009), sensitivity to three triazoles fungicides in *Pyrenophora tritici repentis*. Australasian plant pathology, **38** (2), 168-172.
- Badillet G., de Briève C., Guého E., (1987), Champignons contaminants des cultures, champignons opportunistes, Atlas clinique et biologique, vol II, Ed VARIA, Paris
- Benbelkacem A et Bendif N.,( 2010), Résultats des enquêtes maladies et insectes des céréales en région Est de l'Algérie. Bilan PNAB 2009/2010. Cereal culture, , **45**,12-19
- Benslimane H; Z. Bouznad ; S. Aouali ; A. Khalfi ; K. Benbelkacem and R. Sayoud, (2006), Prévalence en Algérie de la tache bronze du blé causée par *Pyrenophora triticirepentis*. 6<sup>ème</sup> Journées Scientifiques et Techniques Phytosanitaires, 20–21, El-Harrach, Alger, Algeria

- Bensliman.H . (2011), Distrubition of races of *Pyrenophora tritici repentis* in Algeria. *Phytopathologiae. Mediterranea*,, **50**, 203–211
- Benslimane H, Aouali S, Khalfi A, Shaukat A, Bouznad Z, (2017).*In vitro* morphological Characteristics of *Pyrenophora tritici repentis* isolates from several algerian agro-ecological zones. *Plant Pathol.J*, 33 (2), 109-117
- Bertagnolli, V. V., Ferreira, R. J., Liu, Z., Rosa, C. A., Deuner, C. (2019). Phenotypical and genotypical characterization of *Pyrenophora tritici-repentis* races in Brazil. *Eur. J. Plant Pathol.* 154, 995–1007
- Bhathal, JS, Loughman, R, and Speijers, (2003), Yield reduction in wheat in relation to leaf disease from yellow (tan) spot and septoria nodorum blotch. *European Journal of Plant Pathology*, **109**, 435–443.
- Bokus WW., (1998), Control strategies for stubble-borne pathogen of wheat, *canadian journal of plant pathology*, **20**, 371-375.
- Bonjeau.A, (2000), .Histoire de la culture des céréales à paille, Edition, INRA, P.29-37
- Boufenar-Zaghouane F. et Zaghouane O., (2006) - Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). ITGC d'Alger, 1ère Ed, p.152.
- Boulal Hakim, Zaghouane Omar,(2007), Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blé et orge) dans le Maghreb, édition INRAA, P.19-21, 35-43, 119-132.
- Brano S ; Yamashita K ; Okada K, (2014) : Characterization of QoI resistance in *Botrytis cinerea* and identification of two tupes of mitochondrial cytochrome b gene, *Plant Pzathology* (**58**), 120-129.
- Carigano, M., S.A. Staggenborg, and J.P. Shroyer. (2008). Management practices to minimize tan spot in a continuous wheat rotation. *Agronomy Journal* **100**:145-153.
- Carmona, M., Ferrazini, M. & Barreto D.E. (2006). Tan spot of wheat caused by *Drechslera tritici repentis*: Detection, transmission and control in wheat seed. *Cereal Research Communications* **34(2-3)**:1043-1049
- Caron J. et Laverdière L. (2003), Test d'efficacité de RootShield contre *Pythium* de la tomate de serre du Québec. . *Rev. Ivoir. Sci. Technol* **09**: 187-201.
- Cao, T, Yong MK, Kav, NV, and Strelkov, SE. (2009), A proteomic evaluation of *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat, reveals major differences between virulent and avirulent isolates. *Proteomics*. **9**, 1177–1196.
- Chin KM ; Chavaillaz D ; Staub T, (2001), Characterizing resistance risk of *Erysiphe graminis* to strobilurine, *Crop protection*, 20, 87-96.

Clarck W. S., Paveley N. (2005), Wheat disease management guide – Update: HomegrownCereals Authority. – London, UK, 25

Cools H ; Mullins G.L ; Fraiji B.A,(2013), Impact of recently emerged sterol 14- $\alpha$ -demethylase (CYP51) variants of *Mycosphaerella graminicola* on azoles fungicides sensitivity. Applied environmental microbiology, **77**, 3830-3837.

Corbaz (R.), (1999) - Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Lausanne : Presses polytechniques et universitaires romandes, Suisse, p 172-189 (286 p).

Cousin A ; Mornval M.H, (2012), Septoriose et triazoles : gestion des modes d'action pour une protection durable du blé. Phytooma-la défense des végétaux, **652**, 7-10.

Davet.P, F.Rouxel, (1997), Détection et isolement des champignons du sol, édition INRA,P.47-53

Dhingra, O. D., and Sinclair, J. B. (1985). Basic Plant Pathology Methods.CRC Press, Boca Raton, FL.

Dolores.F.O ; Juan.A, (2008). Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. International Microbiology, **11**, 1-9.

Dorneles, K.R, Pazdiora P.C, Hoffman J.F, Chaves F.C, (2018). Wheat leaf resistance to *Pyrenophora tritici-repentis* induced by silicon activation of phenylpropanoid metabolism. Plant Pathology, vol 67, issue 8, p1713-1724.

Dutzmann.S ; Suty-Heinze.A, (2004), Prothioconazole : a broad spectrum demethylation inhibitor for arable crops. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, **57** (2), 249-264.

Duveiller, E., Y.R. Kandel, R.C. Sharma, and S.M. Shrestha. (2005). Epidemiology of foliar blights (spot blotch and tan spot) of wheat in the plains bordering the Himalayas. Phytopathology **95**:248-256.

Drechsler, C, (1993) : Some graminicolous species of *Helminthosporium*. *Journal of Agricultural Research*, (**24**), 641-740.

Engle, J. S., Lipps, P. E., and Friesen, T. L. (2004). Distribution of tan spot and race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* in Ohio. Phytopathology 94:S28.

Evans C. K., Hunger R. M., Siegerist W. C., (1996). Inoculum density and infection efficiency of conidia and conidiophores of isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*. Plant Disease, **80(5)**: 505-512.

- Ezzahiri B., (2010), Les maladies du blé : identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. Bulletin de transfert de technologie en agriculture, **77**, 4.
- Fraijie B.A ; Lucas J.A ; Clarck W.S, (2003), QoI resistance developpement in population of cereal pathogen in UK. Crop science and technology, **2**, 689-694.
- Friesen, T. L ; Ali, S ; Klein, K. K., and Rasmussen, J. B. (2006), Population genetic analysis of a global collection of *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat. Phytopathology, **95**:1144-1150
- Gamba, F. M., Bassi, F. M., Finckh, M. R. (2017). Race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* in Morocco. Phytopathol. Mediterr. **56**, 119–126.
- Gisi.U ; Pvic.L ; Stanger.C, (2005), Dynamics of *Mycosphaerella graminicola* population in response to selection by différents fungicides. Edition Dehne H.W et al, moderne fungicides and antifungal compounds, **4**, 82-101.
- Grasso N ; Sierotzki H ; Garibaldi A., (2006), Characterization of the cytochrom b gene of *Puccinia* species responsable for the binding site o QoI fungicides. Pesticides Biochemistry Physiology,**84**, 72-82.
- Harvey IC ; Craigie RA ; Mc cloy BL, (2015), The control of tan spot of wheat : a possible emeging disease in New Zeald. New Zealand plant protection, **68**, 428-433.
- Hunger RM, Brown DA (1987). Colony color, growth, sporulation fungicides sensitivity and pathogenicity of *Pyrenophora tritici-repentis*. Plant Dis., **71**: 907-910
- Huston D ; Miyamoto J, (1998) : Fungicidal activity, chemical and biological approaches to plant protection, Wiley, New york, P254.
- Jaimin S ; Patem Neil C, (2012), Pyraclostrobine sensitivity to baseline and fungicides expose isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*. Crop protection, **34**, 37-41.
- Jean Semal. (1996), Traité de pathologie végétale,édition Presse Agronomique de Gembloux, Lavoisier TEC et DOC.P.361-379
- J.F.Djeugap, D.A.(2011), Fontem :Efficacité in vitro et in vivo des extraits de plantes contre le mildiou de la morelle noire.Int.J.Bio.Chem.Sci.**5(6)** :2205-2213.
- Jorgensen LN, Olsen LV. (2007), Control of tan spot (*Drechslera tritici-repentis*) using cultivar resistance, tillage methods and fungicides. Crop Protection, **26**, 1606-1616.
- Kamel S, Cherif M, Hafez M, Despins T and Aboukhaddour R (2019), *Pyrenophora tritici-repentis* in Tunisia: Race Structure and Effector Genes. Front. Plant Sci. **10**:1562
- Kim YS ; Dixon P ; Farman ML., (2003), Field resistance to strobilurine fungicides in *Pyricularia grisea* caused by mutation in the mitochondrial cytochrom b gen. Phytopathology, **93**, 891-900.

Lamari, L., Strelkov, S. E., Yahyaoui, A., Orabi, J., and Smith, R. B. (2003), .The identification of two new races of *Pyrenophora tritici-repentis* from the host center of diversity confirms a one-to-one relationship in tan spot of wheat. *Phytopathology*, **93**, 391-396

Leadbeater.A.J,(2005), Ensuring the long term effectiveness of fungicides- an industry perspective. *Crop science and technology*, **22**, 253-266

lepoivre Philippe, (2003), *Phytopathologie*, Edition De Boeck, p.215-218,243-257

Leroux P ; Albertini C ; Gautier A, (2007). Mutation in the CYP51 gene correlated with changes in sensibility to IDM in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pesticides Management Science*, **63**, 688-698.

Linhares, A. J. & da Luz, W. C. (1994). Detection of *Drechslera tritici-repentis* on wheat seed. *Fitopatologia Brasileira*. **19**, p.: 298

Loughman, R.; Wilson, R. E., Roake, J. E., Platz, G. J., Rees, R. G. & Ellison, E. W. (1998). Crop management and breeding for control of *Pyrenophora tritici-repentis*, causing yellow spot of wheat in Australia. Ed. Mexico, D.F. Mexico. P.10-17.

Marvroëidi V.I; Shaw M.W, (2005), Sensitivity distribution and cross-resistance patterns of *Mycosphaerella graminicola* to fluquinconazole and azoxystrobine over a period of 9 years. *Cop protection*, **24**, 259-266.

McMullen, M., and T. Adhikari. (2009). Fungal Leaf Spot Diseases of Wheat: Tan Spot, Stagonospora nodorum blotch and Septoria tritici blotch. PP-1249. North Dakota State University Extension Service.

McMullen, M.P. (2010). Tan spot (yellow leaf spot). Pages 82-84 in: Compendium of Wheat Diseases and Pests. W.W. Bockus, R.L. Bowden, R.M. Hunger, W.L. Morrill, T.D. Murray, and R.W. Smiley, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

Morton V ; Stanb T, (2008) : A short history of fungicides

Odile.C, (2010), *Les Fongicides*, édition Intech, Rijeka, Croatia, 23, 69, 139, 201.

Pawn K ; Singh S ; Duveiller E, (2012), Resistance breeding for tan sot (*Pyrenophora tritici repentis*) of wheat. *Disease resistance in wheat*, edition Sharma, Mexico, 136-140.

- Pimentel D, (2002) : Encyclopedia of pest management. Ed Marcel Dekker incorporation, USA, New York, p929.
- Perello.A, (2011). Genetic analysis and comparative virulence of isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* from wheat in Argentina. African Journal of Microbiology Research, **6(27)**, 5558-5567.
- Ragsdal N, Sisler H.D, (1991) : The nature, mode of action and toxicity of fungicides. In Pimental (D). Ed : CRC Handbook of best management in agriculture, 2. Boca Raton : CRC Press, 2ed Ed. p.757
- Ragsdal (N.N.), (1992) - Fungicides - Encyclopedia of Agricultural Sciences, **2**, 445-453.
- Rees, R.G., G.J. Platz, and R.J. Mayer. (1982). Yield losses in wheat from yellow spot: comparison of estimates derived from single tillers and plots. Australian Journal of Agricultural Research **33**:899-908.
- Russell.P.E., (2005), A century of fungicides evolution. The journal of agricultural science, **143**, 11-25.
- Serghat.S, (2004). Effets de quelques fongicides sur le développement in vitro de *Pyrenularia grisea* et *Helminthosporium oryzae*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, **143**, 7-18
- Sierotzki.H ; Frey. R, (2007), *Pyrenophora tritici repentis* and implication for QoI resistance. Pest Management Science, **63**, 225-233
- Singh.S ; W.W.Bockus ; I.Sharma and R.L.Bowden, (2008), A new source of résistance in wheat to *Pyrenophora tritici-repentis* race 1. Plant Diseases, **92**, 91-95.
- Stover, R. W.; Francl, L. J. & Jordahl. (1996). Tillage and fungicide management of foliar diseases in a spring wheat monoculture. J. Prod. Agric. **9**: 261-265
- Strelkov, S. E., and Lamari, L. ( 2003), Host-parasite interaction in tan spot *Pyrenophora tritici-repentis* of wheat. Can. J. Plant Pathology, **25**, 339-349.
- Tadesse, W., S.L.K. Hsam, and F.J. Zeller. (2006). Evaluation of common wheat cultivars for tan spot resistance and chromosomal location of a resistance gene in the cultivar 'Salamouni'. Plant Breeding **125**:318-322.
- Tekauz, A, Mueller, E, Stulzer, M, and Schultz, D. (2004), Leaf spot diseases of winter wheat in Manitoba in 2003. Canadian Plant Diseases ,**83**:73-74.
- Walker A.S ; Leroux P, (2004), Oïdium du blé : qu'elle résistance aux fongicides en France ?. Phytoma-la défense des végétaux, **571**, 16-18



# *ANNEXES*

**Exemple d'une fiche phytosanitaire (source : INPV)**

**MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DU DEVELOPPEMENT RURAL**

**Fiche Phytosanitaire Céréales N° 01**

**Identification de la parcelle:**

- **Wilaya :** Annaba **Daïra :** Ain El-Berda
- **Commune :** Ain El-Berda **Lieu :** F.P : H'Mil Boubaker
- **Espèce :** Blé dur **Variété :** Simeto, GTA Dur.
- **Coordonnées Géographiques :** **Altitude :** 131m, **N :** 36 38 46 **E :** 007 35 48
- **Nature de la Parcelle :** **Consommation**  **Multiplication**
- **Superficie :** 250 has
- **Précédent culturale :** Pois chiche, Féverole, Orge, Pomme de terre.
- **Date de semis:** Novembre **Densité de semis :** 1,8 Ql/ha

**Etat Phytosanitaire:**

- **Date de visite:** 23/01/2012 – 05/02/2012--22/03/2012—05/04/2012
- **Stade Phénologique :** Tallage, Montaison, Epiaison.

**1-Traitements de Semences :**

- Maladies fongiques :  Oui  Non
- Ver blanc :  Oui  Non

**2-Mauvaises herbes:**

- Présence de mauvaises herbes :  Oui  Non
- Espèces :  
Densité/m<sup>2</sup>
- Traitements herbicides effectués :  Oui  Non

Produits utilisés :

- Nom : - Zoom+Traxos Dose : 120g/ha+1,2l/ha
- Chevalier Dose : 330g/ha

Nombre d'applications : 02 pour la multiplication et 01 pour la consommation.

Stade d'application : Tallage - Montaison

### 3-Maladies fongiques :

Maladies observées :  
Pourcentage

- |                  |     |
|------------------|-----|
| - Tache auréolée | 15% |
| - Septoriose     | 2%  |
| - Oïdium         | 1%  |
| - Rouille Brune  | 1%  |

Traitements fongiques effectués :  Oui  Non

Produits utilisés : - Tilt Dose : 0,5 l/ha  
- Artea Dose : 0,5 l/ha  
- Amistar Xtra Dose : 0,75 l/ha

Nombre d'applications : 03 à 04

Stade d'application : - Tallage, Montaison, Epiaison.

**Composition du milieu malt extract agar**

Extrait de malt .....20g

Agar .....15g

Eau distillée.....1L

УДК 632.911.4

## TRIAZOLE AND STROBILURIN FUNGICIDES SENSITIVITY OF *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS* ISOLATES ORIGINATED FROM EASTERN ALGERIA

© 2020 г. D. Mehamdia<sup>a,\*</sup>, T. Merad<sup>b,\*\*</sup>, and L. Tichati<sup>a,\*\*\*</sup>

<sup>a</sup> Badji Mokhtar University, Faculty of Science, Department of Biochemistry, Laboratory of Microbiology, 23000 Annaba, Algeria

<sup>b</sup> Badji Mokhtar University, Faculty of Science, Laboratory of Genetic Amelioration of Plants, 23000 Annaba, Algeria

\*e-mail: doniazed23@gmail.com

\*\*e-mail: meradtarek@yahoo.fr

\*\*\*e-mail: lazharbio@hotmail.com

Received May 31, 2019; revised November 2, 2019; accepted December 20, 2019

Tan spot of wheat, caused by the fungus *Pyrenophora tritici-repentis*, is a destructive disease worldwide that can cause serious losses in quality and quantity of wheat grain production. The fungus induces two distinct symptoms: tan necrosis and extensive chlorosis, on susceptible wheat cultivars. This disease is widespread in the cereals production areas Algeria, causing considerable losses of yield and obliging farmers to use different class of fungicides. In this study, 100 isolates of *P. tritici-repentis* collected from different fields in eastern of Algeria during four successive agricultural seasons (2012–2015) were tested in vitro for their sensitivity to the fungicides that commonly in use in the country: azoxystrobin (Amistar), propiconazol (Tilt250EC) and azoxystrobin combined with prothioconazole (Amistar Xtra). In vitro assays showed a decrease in the sensitivity of the isolates of *P. tritici-repentis* to these three fungicides during the four years of testing. For Amistar, IC 50 values range from 7.5 ppm to 15 ppm, between 5 ppm and 12.5 ppm for Tilt 250EC and between 5 ppm and 10 ppm for Amistar Xtra, the combination of triazoles (Cyproconazole) with strobilurins (azoxystrobin) appears to have good antifungal activity on *P. tritici-repentis*, whereas the strobilurins or triazoles used alone show low antifungal activity.

**Keywords:** antifungal activity, durum wheat, fungicides, tan spot

**DOI:** 10.31857/S0026364820030095

### INTRODUCTION

The fungus *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. [anamorph: *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoem.] is a homothallic ascomycete that causes tan spot (syn. yellow spot) of wheat (Drechsler, 1993; Agrios, 2005). This pathogen has been reported worldwide, including Europe, southwest Asia, central Asia, north and south America and Africa (Freisen et al., 2006; Perello, 2014). Severe tan spot epidemics tend to cause 10–20% yield losses, and may cause losses of over 50% under favorable conditions for disease development (Bhatal, 2003; Singh et al., 2008). The disease has been reported in Algeria (Benbelkacem, Bendif, 2011; Benslimane, 2011), but the extent of economic losses is unknown. Intensive wheat production, reduced tillage practices, susceptible varieties, and shorter crop rotations have contributed to tan spot epidemics in many regions.

*P. tritici-repentis* reproduces both sexually and asexually, sexual reproduction occurs on wheat stubble between crops whereas asexual reproduction is predominant during the growing season on the wheat crop (Ali, Francl, 2003; Cao et al., 2009).

Eight races of *P. tritici-repentis* have been identified on the basis of necrosis (browning) and/or chlorosis (yellowing) symptoms induced on a set of specific wheat cultivars (Lamari et al., 2003; Perello, 2011). These races produce different host-selective toxins (HSTs) on susceptible wheat varieties that work as pathogenicity factors.

Effective management of tan spot is achieved by integrating available strategies, that is, a combination of chemical, cultural and genetic controls (Strelkov, Lamari, 2003; Jorgensen, Olsen, 2007).

To date, the farming community is very dependent on effective fungicides being available in order to reduce the losses from the development of disease epidemics in cereals and to stabilize yields. Intensive use of fungicides for control of tan spot disease in wheat has over the years been found to give rise to development of fungicide resistance. Since 2003, *P. tritici-repentis* isolates has been reported as insensitive to fungicides commonly used to manage tan spot on wheat such as benzimidazols (SDHI), triazoles (DMIs) and strobilurins (QoI) (Bockus, 1998; Bread et al., 2009). The degree of risk associated with resistance to a fungicide is dependent on its mode of action, the way it is

used and the evolutionary potential of the target fungus (Fraaije et al., 2003; Cools et al., 2013).

In Algeria, tan spot is the most important disease of durum wheat (Gisi et al., 2005; Benbelkacem, Bendif, 2011; Benslimane, 2011), the climatic conditions of the country play a major role in the persistence of the disease, especially in the eastern regions which are characterized by high rainfall and temperature suitable for fungus growth during the winter period (Benslimane et al., 2006; Benbelkacem, Bendif, 2011). The yield losses and the low quality of seeds (red smudge) incurred each year by this disease force farmers to use different fungicides to protect their crops. Little is known regarding the sensitivity of the *P. tritici-repentis* population to fungicides in Algeria, the following study is the first one which treat this problem, the aim of this work was to evaluate the sensitivity of 100 strains of *P. tritici-repentis* collected from infected durum wheat fields in the eastern cereal growing areas of Algeria during four growing seasons (2012–2015) to three class of fungicides: Tilt 250E (strobilurin), Amistar (triazole) and Amistar Xtra (combination of strobilurin and triazole) by following the increase in their IC50 and IC90 values during the four years.

## MATERIALS AND METHODS

**Fungal isolates.** One hundred strains of *P. tritici-repentis* were obtained from infected wheat leaves collected from seven different eastern wheat producing areas of Algeria during four successive years (2012–2015) (Table 1).

Leaves of symptomatic plants were cut into 3 cm fragments and surfaces were sterilized with 5% hypochlorite sodium solution for 2 min then washed with sterile distilled water. Leaf segments were placed in plastic Petri dishes with wet sterile paper, and the dishes were incubated in the dark for 3 days at 25°C in order to stimulate the production of conidia. A single spore was picked of under binoculaire microscope with a sterile needle then transferred to malt extract agar growing medium (10 g malt extract and 20 g agar per litre of medium autoclaved for 20 minutes at 120°C) and incubated at 25°C for 7 days in the dark.

**Fungicides tested.** Three classes of fungicides commonly used in Algeria for the chemical control of the tan spot were used in this study: 1) Tilt 250E (triazoles) with propiconazole (250 g/l) as active ingredient, 2) Amistar (strobilurine) with azoxystrobin (250 g/l) as active ingredient, and 3) Amistar Xtra which is a mixture of triazoles and strobilurins [Azoxystrobin (200 g/l) + cyproconazole (80 g/l)]. A final doses of fungicides tested was 2.5 ppm, 5 ppm, 7.5 ppm, 10 ppm, 12.5 ppm, 15 ppm, 17.5 ppm, and 20 ppm, respectively.

**Antifungal activity on mycelial growth.** The technique used was the incorporation of the various doses of the fungicides in the malt extract agar medium (MEA) heating at 45°C, after solidification, a mycelial disc of 5 mm harvested from 7 days old culture on

MEA was placed in the center of Petri dish containing the medium MEA-fungicide and MEA medium alone for the control. The dishes were incubated in the dark for 7 days at 25°C. All treatments were made in two replics.

**Fungicides sensitivity testing.** The diameter of the colony of *P. tritici-repentis* containing a fungicide and that of the control was measured after 7 days of incubation at 25°C. The effect of different doses of fungicides on mycelial growth were estimated by comparing the measured values with those of the control. The percent inhibition of mycelial growth (Ic) was calculated according to the following formula:  $IC (\%) = (D_0 - D_c) / D_0 \times 100$ , where  $D_0$  – the diameter growth of the control,  $D_c$  – the diameter growth of the fungus in the presence of a dose (C) of the fungicide.

**Statistical analysis.** The statistical analysis was carried out using the procedures of the general linear models (GLM) of the SPSS software (10.0). The experiments were analyzed using standard analysis of variance (Anova) with interactions. For all tests, the level of the significance was assessed at the 5%, the averages of IC 50 (dose of fungicide that inhibits 50% of mycelial growth) and IC 90 (dose of fungicide that inhibits 90% of mycelial growth) were compared by means of the test of Student-Newman-Keuls.

## RESULTS AND DISCUSSION

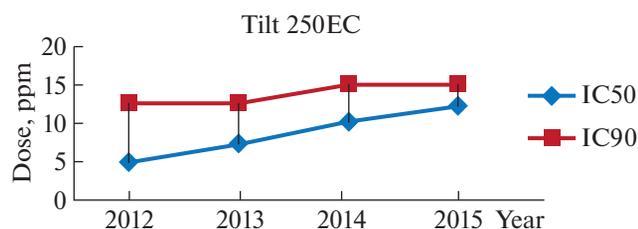
In total, 100 isolates of *P. tritici-repentis* were re-grouped into four groups according the year of their collection: the group 2012 (33 isolates), the group 2013 (27 isolates), the group 2014 (18 isolates), and the group 2015 (22 isolates).

For Tilt 250EC fungicide (Propiconazole), 100% of the 2012 group isolates showed an IC50 of 5 ppm while the IC90 was estimated at 12.5 ppm. In 2013, 70% of the isolates tested retained an IC50 of 5 ppm, while 20% of the isolates showed an IC50 of 7.5 ppm, IC90 was estimated at 12.5 ppm for isolates of this group. In 2014, the IC50 for 80% of isolates was 7.5 ppm and 10 ppm for 20% of other isolates, and IC90 was also increased to 15 ppm for all isolates. 60% of the 2015 isolates had an IC50 of 10 ppm and 40% with an IC50 of 12.5 ppm, the IC90 was estimated to be 15 ppm.

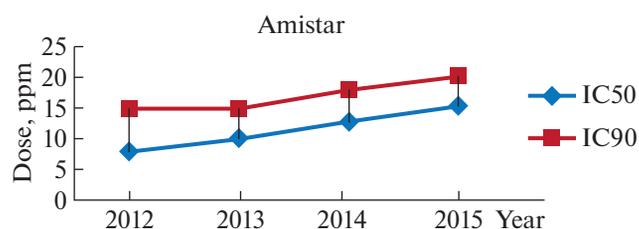
The Tilt 250EC fungicide has been used in Algeria since the 1980s for the control of fungal diseases of cereals, it is a unisite fungicide based on propiconazole, a triazole product also called 14- $\alpha$ -demethylase inhibitors (IDM) (Ezzahiri, 2001; Dutzmann, Suty-Heiz, 2004). Inhibition of the synthesis of ergosterol, a major component of the fungal plasma membrane (Fraaije et al., 2003; Caraisse, 2010). Results of antifungal activity for Tilt 250EC fungicide on *P. tritici-repentis* isolates show a significantly ( $p < 0.05$ ) increase in IC50 and IC90 values during the four farming seasons (2012 to 2015) (Fig. 1), which means that the isolates of *P. tritici-repentis* has become increasingly insensitive to this type of fungicide. These results have been proved by the

**Table 1.** The list of *Pyrenophora tritici-repentis* isolates studied

Isolate number	Region	Variety of durum wheat	Date of collection	Isolate number	Region	Variety of durum wheat	Date of collection
1	Annaba	Siméto	2012	51	Om-Elbouagui	Simeto	2015
2	Annaba	GTA DUR	2012	52	Om-Elbouagui	GTA DUR	2015
3	Annaba	Simeto	2013	53	Om-Elbouagui	Simeto	2015
4	El-Tarf	HD1220	2012	54	Khenchela	Waha	2015
5	El-Tarf	Simeto	2012	55	Khenchela	Waha	2015
6	Skikda	Vitron	2012	56	Khenchela	Semito	2015
7	Skikda	Simeto	2013	57	Annaba	Semito	2014
8	Skikda	HD1220	2013	58	S. ahras	GTA DUR	2014
9	Annaba	GTA DUR	2013	59	S. ahras	GTA DUR	2014
10	S. ahras	Simeto	2012	60	Guelma	Semito	2013
11	S. ahras	GTA DUR	2013	61	Guelma	Vitron	2012
12	S. ahras	HD1220	2013	62	Guelma	Semito	2013
13	Guelma	Simeto	2012	63	Om-Elbouagui	Simeto	2012
14	El-Tarf	Vitron	2012	64	Khenchela	Simeto	2012
15	Skikda	Siméto	2013	65	Skikda	GTA DUR	2013
16	Annaba	Siméto	2013	66	Skikda	GTA DUR	2013
17	El-Tarf	Chagra	2013	67	Om-Elbouagui	Vitron	2014
18	Guelma	Simeto	2012	68	Annaba	HD1220	2014
19	Guelma	HD1220	2013	69	S. ahras	Vitron	2012
20	S. ahras	Citra	2013	70	Khenchela	Waha	2012
21	Annaba	Siméto	2014	71	Annaba	Vitron	2013
22	Annaba	HD1220	2014	72	S. ahras	Waha	2013
23	S. ahras	Citra	2013	73	El-Tarf	GTA DUR	2012
24	Skikda	Siméto	2014	74	El-Tarf	Simeto	2013
25	Skikda	GTA DUR	2014	75	Guelma	HD1220	2012
26	El-Tarf	Chagra	2013	76	Guelma	GTA DUR	2012
27	Annaba	Simeto	2015	77	Annaba	Simeto	2014
28	Annaba	GTA DUR	2015	78	Annaba	HD1220	2015
29	Guelma	Simeto	2014	79	Om-Elbouagui	Siméto	2014
30	Guelma	HD1220	2014	80	S. ahras	Simeto	2014
31	S. ahras	Siméto	2014	81	S. ahras	Vitron	2014
32	Skikda	Simeto	2014	82	Khenchela	HD1220	2015
33	Skikda	GTA DUR	2014	83	El-Tarf	Vitron	2013
34	El-Tarf	GTA DUR	2013	84	Guelma	Simeto	2013
35	El-Tarf	Simeto	2014	85	Guelma	Waha	2014
36	El-Tarf	Vitron	2014	86	Khenchela	Simeto	2014
37	Annaba	Simeto	2015	87	El-Tarf	Vitron	2012
38	Guelma	Vitron	2014	88	El-Tarf	Waha	2012
39	Guelma	Siméto	2014	89	Annaba	Simeto	2013
40	Guelma	GTA DUR	2015	90	El-Tarf	Siméto	2014
41	S. ahras	HD1220	2014	91	Skikda	Vitron	2014
42	S. ahras	Simeto	2015	92	Skikda	Waha	2015
43	S. ahras	GTA DUR	2015	93	Khenchela	Waha	2013
44	Skikda	Siméto	2015	94	S. ahras	Siméto	2013
45	El-Tarf	Siméto	2015	95	S. ahras	Vitron	2013
46	Guelma	Vitron	2015	96	Om-Elbouagui	Siméto	2014
47	S. ahras	Simeto	2015	97	Guelma	HD1220	2015
48	Guelma	GTA DUR	2015	98	El-Tarf	Waha	2015
49	Skikda	Waha	2015	99	S. ahras	GTA DUR	2013
50	El-Tarf	Siméto	2015	100	Skikda	Simeto	2012



**Fig. 1.** Dynamic changes in the concentration of the Tilt 250EC for IC50 and IC90 values for *Pyrenophora tritici-repentis* isolates between 2012 and 2015.



**Fig. 2.** Dynamic changes in the concentration of the Amistar for IC50 and IC90 values for *Pyrenophora tritici-repentis* isolates between 2012 and 2015.

officials of the Regional Plant Protection Institution (INPV) of the EL-Tarf wilaya who confirmed the persistence of the tan spot after treatment with the Tilt 250EC.

Triazole resistance was detected a few years after the start of use (Clarck, Paveley, 2005; Russell, 2005), it appears that resistance to triazole generally induces resistance to other active ingredients in the same group. According to Jorgensen and Olsen, the percentage of the tan spot in fields after treatment with a dose of 125 g/l Tilt was estimated at 67.44% (Walker, Leroux, 2004), this resistance was also reported by the Arvalis Institute which during tests carried out in 2012, triazoles such as cyproconazole at 100 g/l or propiconazole at 125 g/l had a low efficacy on *P. tritici-repentis*. Harvy and Craigie (2010) showed that the IC50 for prothioconazole was 4.4 ppm and 6 ppm for propiconazole in 2011 (Sierotzki and Fery, 2007; Jorgensen and Olsen, 2007), isolates of *P. tritici-repentis* tested in France and Germany showed an IC50 of 38 ppm to prothioconazole (Pawn et al., 2012). Resistance to IDM also affected other phytopathogenic agents of durum wheat such as *Septoria*: IC50 was 12 ppm for cyproconazole and 10 ppm for prothioconazole in 2011 (Cousin, Mornval, 2012). Similar results have been reported for *Erysiphe graminis* (Clarck, Paveley, 2005; Marvroedi, Shaw, 2005) and also for *Puccinia recondita* (Leroux et al., 2007; Ronis et al., 2014).

Based on molecular studies of resistant isolates of *P. tritici-repentis*, the researchers found that resistance to IDM is induced by a mutation in the CYP51 gene that codes for the enzyme ebicicol 14  $\alpha$ -demethylase (Russell, 2005; Chin et al., 2001), in this mutation named Y136F, the amino acid *tyrosine* was replaced by the *phenylalanine* at position 136 of the gene (Chin et al., 2001; Cousin, Mornval, 2012). They also discovered in these resistant isolates the presence of efflux pumps at the level of the plasma membrane, these pumps have a role of detoxification, they export the fungicide outside the fungal cell (Chin et al., 2001).

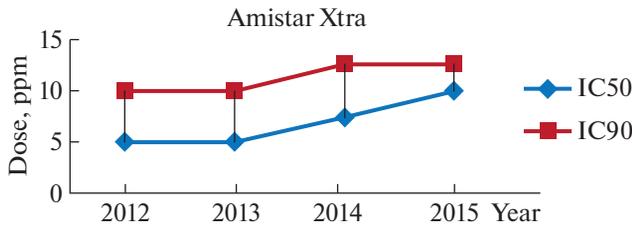
For Amistar based on azoxystrobin, results of antifungal activity on *P. tritici-repentis* isolates showed a highly significant difference ( $p < 0.01$ ) of the IC 50 and IC 90 values, 100% of the 2012 group isolates had an IC50 of 7.5 ppm and an IC50 of 15 ppm in 2013, 60% of the isolates showed an IC50 of 7.5 ppm and 40% had

an IC50 of 10 ppm, all isolates in this group showed an IC50 of 15 ppm. In 2014, 70% of the isolates showed an IC50 of 10 ppm while the 30% had an IC50 of 12.5 ppm, IC90 was also increased to 17.5 ppm for this group of isolates. 80% of the 2015 isolates had an IC50 of 12.5 ppm and 20% had an IC50 of 15 ppm, the IC90 also increased to 20 ppm.

Amistar has been used in Algeria since the 1990s, and the results of the antifungal activity of this fungicide on the isolates of *P. tritici-repentis* from the four companions showed a remarkable increase in the IC50 and IC90 values (Fig. 2). These results indicate that isolates of *P. tritici-repentis* isolated in eastern Algeria during the period (2012–2015) have developed resistance to strobilurins. Amistar Fungicide belongs to the strobilurin class or cellular respiration inhibitors (Qol) (Dutzmann, Suty-Heinz, 2004), it is a unisite fungicide containing azoxystrobin, its role is the attachment to the cytochrome b component of the complex Mitochondrial III of the fungal cell (Bartlett et al., 2002), this attachment blocks the transfer of electrons and consequently prevents the production of ATP in the cell (Cools et al., 2013; Harvey et al., 2015).

The resistance of *P. tritici-repentis* to azoxystrobin has been reported by Colsen and his collaborators, based on their field trials, the percentage of tan spot was 88.48% after treatment with azoxystrobin (125 g/l) and it was 71.33% for a dose of 250 g/l (Russell, 2005). Isolates of *P. tritici-repentis* tested in France with strobilurins showed an IC50 of 25 ppm (Russell, 2005), other isolates tested in Denmark, Canada and Australia showed an IC50 greater than 10 ppm (Clarck, Paveley, 2005). The problem of strobilurin resistance is currently reported for all phytopathogenic fungi on cereals including *Septoria tritici*, *Blumeria graminis*, and *Puccinia recondita* on durum wheat, *Pyricularia grisea* on rice and *Helminthosporium* on barley (Kim et al., 2003; Leadbeater, 2005).

According to some researches, the resistance to strobilurins is induced by two mutations at the level of the gene which codes cytochrome b (Fernandez-Ortuno et al., 2008; Patel et al., 2012), in position F129L where phenylalanine becomes leucine, this mutation manifests itself by low resistance, or in position G143A where the glycine becomes alanine and the mutation manifests itself by high resistance (Bokus, 1998). It was



**Fig. 3.** Dynamic changes in the concentration of the Amistar Xtra for IC50 and IC90 values for *Pyrenophora tritici-repentis* isolates between 2012 and 2015.

demonstrated that isolates of *P. tritici-repentis* containing both mutations at the same time showed IC50 values between 80 and 100 ppm (Bokus, 1998; Harvey et al., 2015), those mutants escape from the action of strobilurins by using another cellular respiration pathway called alternative respiration (Patel et al., 2012).

For Amistar Xtra based on azoxystrobin and cyproconazole, the 2012 and 2013 isolates showed an IC50 of 5 ppm and an IC90 of 10 ppm by 2014, 80% of the isolates of *P. tritici-repentis* had an IC50 Of 5 ppm and 20% showed an IC50 equal to 7.5 ppm, the IC90 was increased to 12.5 ppm for these isolates. All isolates in group 2015 showed an IC50 of 7.5 ppm and an IC50 of 12.5 ppm.

Amistar Xtra is a multisite fungicide (Syngenta) used recently in Algeria (since 2004), it is a mixture of triazoles (cyproconazole) and strobilurins (azoxystrobin), this combination of two different active ingredients makes it possible to diversify the modes of action for this fungicide and the attack of several targets in the fungal cell. Firstly, Amistar Xtra acts on cell respiration and ATP production by azoxystrobin, secondly on the structure of the plasma membrane by cyproconazole, the fungus is strongly weakened (Jorgensen, Olsen, 2007).

The results of the antifungal activity of Amistar Xtra on the isolates of *P. tritici-repentis* of the four groups showed a slow increase in IC50 and IC90 values during the four seasons (Fig. 3). It appears that the isolates of *P. tritici-repentis* have a good sensitivity to this fungicide compared to Tilt 250EC and Amistar.

The Anova test showed highly significant differences ( $p < 0.01$ ) for the CI 50 and IC 90 values of the three fungicides between the isolates of *P. tritici-repentis*. During the four agricultural seasons, IC50 values for Tilt 250EC increased from 5 ppm in 2012 to 12.5 ppm in 2015 and from 12.5 ppm to 15 ppm for IC90, while the increase was significantly for Amistar where IC50 values had increased from 7.5 ppm in 2012 to 15 ppm in 2015 and from 15 ppm to 20 ppm for IC90.

The efficacy of the combination of triazoles with strobilurins against *P. tritici-repentis* has been demonstrated by several studies (Caraisse, 2010). In Australia, the severity of the tan spot is reduced when treated with triazoles combined with strobilurins and with a yield

gain of 2.6 tons/hr (Russell 2008; Beard et al., 2009; Cools et al., 2013), similar results were obtained in New Zealand in 2015 (Grasso et al., 2006; Harvey et al., 2015).

### CONCLUSION

Durum wheat is the main crop grown in Algeria; this culture is constantly threatened by fungal diseases which predominantly is tan spot. This study aims is to evaluate in vitro the sensitivity of 100 isolates of *P. tritici-repentis*, collected during four agricultural seasons (2012–2015) from different cereal areas in eastern of Algeria to three groups of fungicides: Amistar (azoxystrobin) that belongs to the strobilurin class, Tilt 250EC (propiconazole) from the triazoles class and Amistar Xtra (azoxystrobin plus cyproconazole) which is a combination of the two class.

The results of the antifungal activity in vitro show a decreasing in the sensitivity of isolates from one year to another. This decrease resulted in the increase of the IC50 values of the three fungicides used; the IC50 values for Amistar vary between 7.5 ppm and 15 ppm, between 5 ppm and 12.5 ppm for Tilt 250EC and between 5 ppm and 10 ppm for Amistar Xtra. It seems that *P. tritici-repentis* isolates have developed a resistance against strobilurins and triazoles. Mixture of triazoles and strobilurins in a single product (Amistar Xtra) has made it possible to diversify the modes of action and thus the targets of attack in the fungal cell (ATP production and plasma membrane structure) as result, the fungus is strongly weakened. Several factors may contributed to the emergence of resistance among isolates of *P. tritici-repentis* the main ones being the use of sensitive durum wheat varieties, poor farming practices especially monoculture of wheat, abandonment of plowing and burial of residues of previous crops, repeated application of the same fungicide or mode of action in the same area and season, finally, the use of reduced doses of fungicides allows the pathogen to adapt and become resistant to those fungicides.

### REFERENCES

Agrios G.N., Plant Pathology, 5me ed., Burlington, Academic Press, 2005.

Ali S., Francl L.J. Population race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* prevalent on wheat and non cereal grasses in the Great Plains. Plant Disease. 2003. V. 87. P. 418–422.

Andonova R., Todorova M. In vitro characteristics of different *Pyrenophora tritici-repentis* isolates. Bulgarian J. Agric. Sci. 2007. V. 13. P. 673–678.

Barlett D.W., Clough J.M., etc. Review the strobilurin fungicides. Pest. Manag. Sci. 2002. V. 58. P. 649–662.

Beard C., Loughman R., Smith A, Speijers J. Baseline sensitivity to three triazoles fungicides in *Pyrenophora tritici-repentis*. Australasian Plant Pathol. 2009. V. 38. P. 168–172.

Benbelkacem A., Bendif N. Results of survey of cereal diseases and insects in the eastern region of Algeria. Bilan PNAB 2009/2010. Cereal Culture. 2010. V. 45. P. 12–19.

- Benslimane H. Distribution of races of *Pyrenophora tritici-repentis* in Algeria. *Phytopathologia Mediterranea*. 2011. V. 50. P. 203–211.
- Benslimane H., Bouznad Z., Aouali S., Khalfi A., Benbelkacem K., Sayoud R. Prevalence in Algeria of the bronze spot of wheat caused by *Pyrenophora tritici-repentis*. In: 6me Journées Scientifiques et Techniques Phytosanitaires, 20–21 juin 2006, El-Harrach, Alger, Algeria.
- Bhathal J.S., Loughman R., Speijers J. Yield reduction in wheat in relation to leaf disease from yellow (tan) spot and *Septoria nodorum* blotch. *Eur. J. Plant Pathol.* 2003. V. 109. P. 435–443.
- Bokus W.W. Control strategies for stubble-borne pathogen of wheat. *Can. J. Plant Pathol.* 1998. V. 20. P. 371–375.
- Cao T., Yong M.K., Kav N.V., Strelkov S.E. A proteomic evaluation of *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat, reveals major differences between virulent and avirulent isolates. *Proteomics*. 2009. V. 9. P. 1177–1196.
- Caraisse O. Fungicides. Tech. Rijeka, Croatia. 2010. V. 23. P. 69–201.
- Chin K.M., Chavaillaz D., Staub T. Characterizing resistance risk of *Erysiphe graminis* to strobilurine. *Crop Protection*. 2001. V. 20. P. 87–96.
- Clarck W.S., Paveley N. Wheat disease management guide – update: Homegrown cereals authority. London, 2005.
- Cools H., Mullins G.L., Fraaije B.A., Parker J.E., Kelly D.E., Lucas J.A., Kelly S.L. Impact of recently emerged sterol 14- $\alpha$ -demethylase (CYP51) variants of *Mycosphaerella graminicola* on azoles fungicides sensitivity. *Appl. Env. Microbiol.* 2013. V. 77. P. 3830–3837.
- Cousin A., Mornval M.H. *Septoria* and triazoles: management of modes of action for sustainable wheat protection. *Phytoma-la défense des végétaux*. 2012. V. 652. P. 7–10.
- Drechsler C. Some graminicolous species of *Helminthosporium*. *J. Agricult. Res.* 1923. V. 24. P. 641–740.
- Dutzmann S., Suty-Heinze A. Prothioconazole: A broad spectrum demethylation inhibitor for arable crops. *Fflanzenschutz-Nachrichten Bayer*. 2004. V. 57. P. 249–264.
- Ezzahiri B. Wheat diseases: Identification, development factors and control methods. *Bulletin de Transfert de Technologie en Agriculture*. 2001. V. 77. P. 4.
- Fernández-Ortuño D., Torés J.A., De Vicente A., Pérez-García A. Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. *International Microbiol.* 2008. V. 11. P. 1–9.
- Fraaije B.A., Lucas J.A., Clarck W.S., Burnett F.J. QoI resistance development in population of cereal pathogen in UK. In: *Proceedings of the BCPC Congress. Crop science and technology*. V. 2. Glasgow, 2003, pp. 689–694.
- Friesen T.L., Klein K.K., Rasmussen J.B. Population genetic analysis of a global collection of *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat. *Phytopathology*. 2005. V. 95. P. 1144–1150.
- Gisi U., Pvic L., Stanger C., Hugelshofer U., Sierotzki H. Dynamics of *Mycosphaerella graminicola* population in response to selection by different fungicides. In: Dehne H.W et al. (eds). *Moderne fungicides and antifungal compounds*. V. 4, 2005, pp. 82–101.
- Grasso N., Sierotzki H., Garibaldi A., Gisi U. Characterization of the cytochrome *b* gene fragment of *Puccinia* species responsible for the binding site of QoI fungicides. *Pesticides Biochem. Physiol.* 2006. V. 84. P. 72–82.
- Harvey I.C., Craigie R.A., Mc Cloy B.L. The control of tan spot of wheat: a possible emerging disease in New Zealand. *N.Z. Plant Protect.* 2015. V. 68. P. 428–433.
- Jorgensen L.N., Olsen L.V. Control of tan spot (*Drechslera tritici-repentis*) using cultivar resistance, tillage methods and fungicides. *Crop Protection*. 2007. V. 26. P. 1606–1616.
- Kim Y.S., Dixon E.W., Vincelli P., Farman M. Field resistance to strobilurine fungicides in *Pyricularia grisea* caused by mutation in the mitochondrial cytochrome *b* gene. *Phytopathology*. 2003. V. 93. P. 891–900.
- Lamari L., Strelkov S.E., Yahyaoui A., Orabi J., Smith R.B. The identification of two new races of *Pyrenophora tritici-repentis* from the host center of diversity confirms a one-to-one relationship in tan spot of wheat. *Phytopathology*. 2003. V. 93. P. 391–396.
- Leadbeater A.J. Ensuring the long term effectiveness of fungicides an industry perspective. *Crop Sci. Technol.* 2005. V. 22. P. 253–266.
- Lepoivre P. *Phytopathology*. De Boeck les presses agronomiques de Gembloux. 2003.
- Leroux P., Albertini C., Gautier A., Gredt M., Walker A.S. Mutation in the CYP51 gene correlated with changes in sensibility to IDM in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pesticides Management Science*. 2007. V. 63. P. 688–698.
- Marvroedi V.I., Shaw M.W. Sensitivity distribution and cross-resistance patterns of *Mycosphaerella graminicola* to fluquinconazole, prochloraz and azoxystrobin over a period of 9 years. *Crop Protection*. 2005. V. 24. P. 259–266.
- Patel J.S., Gudmestad N.C., Meinhardt S.W., Adhikari T.B. Pyraclostrobin sensitivity of baseline and fungicides expose isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Crop Protection*. 2012. V. 34. P. 37–41.
- Pawn K., Singh S., Duveiller E. Resistance breeding for tan spot (*Pyrenophora tritici-repentis*) of wheat. In: *Disease resistance in wheat*, edition Sharma. Mexico, 2012, pp. 136–140.
- Perello A. Genetic analysis and comparative virulence of isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* from wheat in Argentina. *African J. Microbiology Research*. 2012. V. 6. P. 5558–5567.
- Ronis A., Jorgensen L.N., Semaskiene R., Gaurilcikiene I., Ramanauskienė J. Sensitivity of *Mycosphaerella graminicola* isolates to demethylation-inhibiting (DMI) fungicides. *Zemderbyste agriculture*. 2014. V. 101. P. 177–184.
- Russell P.E. A century of fungicides evolution. *J. Agricult. Sci.* 2005. V. 143. P. 11–25.
- Sierotzki H., Frey R. *Pyrenophora tritici-repentis* and implication for QoI resistance. *Pest. Management Science*. 2007. V. 63. P. 225–233.
- Singh S., Bockus W.W., Sharma I., Bowden R.L. A new source of resistance in wheat to *Pyrenophora tritici-repentis* race 1. *Plant Diseases*. 2008. V. 92. P. 91–95.
- Strelkov S.E., Lamari L. Host-parasite interaction in tan spot *Pyrenophora tritici-repentis* of wheat. *Can. J. Plant Pathol.* 2003. V. 25. P. 339–349.

Tekauz A., Mueller E., Stulzer M., Schultz D. Leaf spot diseases of winter wheat in Manitoba in 2003. Can. Plant Diseases. 2004. V. 83. P. 73–74.

Walker A.S., Leroux P. Wheat powdery mildew: What resistant to fungicides in French? Phytoma-la défense des végétaux. 2004. V. 571. P. 16–18.

## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ИЗОЛЯТОВ *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS* (ВОСТОЧНЫЙ АЛЖИР) К ФУНГИЦИДАМ ТРИАЗОЛУ И СТРОБИЛУРИНУ

Т. Мехамдия<sup>1, #</sup>, Д. Мерад<sup>2</sup>, Л. Тишати<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Университет Баджи Мохтара, кафедра биохимии, Аннаба, Алжир

<sup>2</sup> Университет Баджи Мохтара, лаборатория генетической мелиорации растений, Аннаба, Алжир

<sup>#</sup> e-mail: doniazed23@gmail.com

Листовая пятнистость пшеницы, вызванная грибом *Pyrenophora tritici-repentis*, является опасным заболеванием во всем мире, которое может привести к серьезным потерям в качестве и количестве урожая. Гриб вызывает два различных симптома: некроз и обширный хлороз у восприимчивых сортов пшеницы. Это заболевание широко распространено в районах производства зерновых в Алжире, вызывая значительные потери урожая и вынуждая фермеров использовать различные фунгициды. В настоящем исследовании 100 изолятов *P. tritici-repentis*, полученные на разных полях восточной части Алжира в течение четырех последовательных сезонов (2012–2015 гг.), были проверены *in vitro* на их чувствительность к фунгицидам, которые обычно используются в стране: азоксистробину (Амистар), пропиконазол (Tilt 250EC) и азоксистробину в сочетании с протиоконазолом (Амистар Xtra). Анализы *in vitro* показали снижение чувствительности изолятов *P. tritici-repentis* к этим трем фунгицидам в течение четырех лет испытаний. Для Amistar значения IC50 находятся в диапазоне от 7.5 до 15 7.5 ppm, для Tilt 250EC – от 5 до 12.5 7.5 ppm и для Amistar Xtra – от 5 до 10 7.5 ppm. Комбинация триазолов (ципроконазол) со стробилуринами (азоксистробином), по-видимому, имеет выраженную ингибирующую активность в отношении *P. tritici-repentis*, тогда как используемые отдельно стробилурины или триазолы проявляют низкую антифунгальную активность.

*Ключевые слова:* антифунгальная активность, листовые пятнистости, твердая пшеница, фунгициды