



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche
scientifique

جامعة حسيبة بن بوعلي - الشلف -
Université Hassiba Ben Bouali Chlef
معهد العلوم الفلاحية
Institut des Sciences Agronomiques

***Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister en
sciences agronomiques***

Option : Ressources phylogénétiques et développement durable

Thème:

***Caractérisation morpho-biométrique, pathologique
et quantification de la variabilité de Puccinia
striiformis f.sp. tritici agent de la rouille jaune du blé
dans la région du Chélif.***

Présenté par :

Mr. NEDJARI BENHADJ ALI KAMAL

Devant le jury :

M^{me} ALLEME R. (Maitre de conférences -A- U.H.B. Chlef) Présidente.

Mr SAADI A. (Maitre de conférences -A- U.H.B. Chlef).....Encadreur.

Mr SETTI B.A. (Maitre de conférences -A-U.H.B. Chlef).....Co-encadreur.

Mr SEBAIHIA M. (Maitre de conférences -A-U.H.B. Chlef)..... Examineur.

Mr ADDA A. (Maitre de conférences -A- Univ. Tiaret)Examineur.

M^{elle} MEZIAN M. (Maitre assistante -A- UHB Chlef)Examinatrice.

Année universitaire : 2012/2013

Remerciements

Je remercie avant tout DIEU tout puissant, pour la volonté, la santé, et la patience qu'il m'a donné durant toutes ces années d'études, afin je puisse en arriver là.

J'adresse mes plus vifs remerciements à mon encadreur, Dr. SAADI Abdelkader pour avoir bien voulu m'encadrer, par ses précieux conseils, pour le soutien moral, J'ai beaucoup appris avec lui tant scientifiquement que personnellement. J'espère qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

J'adresse mes plus vifs remerciements à mon Co-encadreur, Dr SETTI Benali pour m'avoir guidé tout au long de ce travail, pour ses conseils. Par leur qualité scientifique et personnelle, il a hautement participé à la réalisation de ce travail. J'espère qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

J'adresse mes sincères remerciements aux membres de jury:

M^{me} ALLEME R. (Maitre de conférences -A- U.H.B. Chlef)

Mr SEBAIHIA M. (Maitre de conférences -A-U.H.B. Chlef)

Mr ADDA A. (Maitre de conférences -A- Univ. Tiaret)

M^{elle} MEZIAN M. (Maitre assistante -A- UHB Chlef)

Qu'ils trouvent ici toute ma gratitude et mes remerciements pour avoir accepté de faire partie du jury et pour avoir bien voulu évaluer ce travail.

Je remercie également ma mère, ma deuxième mère et mon père, qui m'ont soutenu tout au long de mes années d'études avec amour et patience et qui ont sacrifié tout pour me voir heureux de ma réussite.

J'adresse mes sincères remerciements à Mme MEDJAHED F. pour son considérable aide.

Je tiens à remercier MEKHENEG Boulâme, Melle HADAD Yasmina et l'équipe de l'INPV pour leur soutien, et l'aide qu'ils m'ont apporté durant les périodes d'échantillonnage.

Je tiens à remercier tout particulièrement: Mme BOUDOUR, TAHER DJEBAR Abla, Melle GADOUCHE, Melle MEZIANE, Mme OUCHENE, Mme REKADE pour leur disponibilité, leurs aides précieuses lors de réalisation de ce travail ainsi que tout le personnel de l'institut des sciences agronomiques et la faculté des sciences.

J'adresse mes profonds remerciements à tous mes amis et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Dédicaces

A mes chers parents.

A mes frères et mes sœurs.

A mes adorables nièces et neveux, Kamel, Manel, Sohaib, Iman, Ishak, Khawola.

A mes amis et collègues en particulier : Abdallah, Abdelaziz, Houssyen, Nassima,

Soumia, Houria, Hiba, Ahmed, Hamida, Sami, Lahecèn, Mohamed Al amine,

M'hamed, Abdalhak.

AMr BEN HELIMA Djilali.

A mon encadreur Mr SAADI Abdelkader

A mon Co-encadreur Mr SETTI Benali

Liste des abréviations

Liste des abréviations

A: Aire
ADN: acide désoxyribonucléique
AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism
ANAT: Agence National d'Aménagement du Territoire
B: Bleu
BET : Bromure d'Ethidium
C: Circularité
D.O : Densité Optique
D.S.A: Direction des Services Agricole
E: Elongation
EDTA : Ethyl Diamine Tetra Acetate
G: Verte
H: Largeur
Ha: Hectares
ITS: Internal Transcribed Spacer
L: Longueur
M: Marqueur de taille moléculaire
Mg Cl₂ : Chlorure de Magnesium
Mix: Mixte (mélange)
mM: milli molaire
P: Périmètre
Pb: Paire de base
PCR: Polymérase chaine réaction
PM : Poids Moléculaires
PSF: *Puccinia striiformis* forward
PSR: *Puccinia striiformis* reverse
PST: *Puccinia striiformis f.sp. tritici*
Qx: Quintaux
R: Rouge
RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism
SDS: Sodium Dodicyl Sulfate
SNP: Single Nucleotide Polymorphism
SSR: Simple Sequence Repeats
TAE: Tris Acétate EDTA
TE: Tris EDTA
U: Unité
UV: Ultra- Violet
µL: Micro litre
µm: Micro mètre

Liste des figures

Figure 01: Production des céréales dans la wilaya de Chlef.	5
Figure 02: Cycle biologique de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i>	16
Figures 03: Symptômes des rouilles sur céréales	17
Figure 04: Symptômes de rouille jaune sur blé.	17
Figure 05: Phases de développement de l'infection par urédospore.....	21
Figure 06 : Unité de transcription ribosomique d'un champignon	32
Figure 07: Carte des étages bioclimatiques et Répartition des zones de prospection dans la région de Chlef	35
Figures n°08: Foyer de la rouille jaune sur blé tendre.....	36
Figures 09: Symptômes de la rouille jaune observés sur champs	40
Figure 10: Pustules contenant les deux formes de spores.....	41
Figure 11: Urédospores avec les différents paramètres mesurés.	42
Figure 12: Téléspores avec les différents paramètres mesurés	43
Figure 13: Prévalence de la rouille jaune selon les zones prospectées.....	51
Figure 14: Incidence de la maladie (%) sur blé tendre et blé dur dans les trois zones prospectées	52
Figure 15: Incidence de maladie (%) selon les variétés cultivées	53
Figure 16: Indice de maladie sur blé tendre et blé dur dans les trois zones prospectées....	54
Figure 17: Indice de maladie sur variétés prospectées.	54
Figure 18: Symptômes typiques des urédosores (urédies) sur feuilles du blé tendre.	58
Figures 19: Urédospores de quelques isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i> observées sous microscope optique	57
Figure 20: Comparaison de longueur et largeur des urédospores des isolats pour les trois zones prospectées.....	58
Figure 21: Comparaison de l'aire des urédospores des isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i>	59
Figure 22: Comparaison de périmètres des urédospores chez les isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i> dans les trois zones prospectées.....	60

Liste des figures

Figure 23: Projection des variables descriptives des urédospores sur le plan formé par les deux premiers axes.....	63
Figure 24: Dendrogramme de classification hiérarchique (utilisant la distance Euclidienne) des isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i> basant sur les caractères morphologiques des urédospores.....	64
Figure 25: Symptômes typiques de début de formation des téléosores sur feuilles de blé tendre.....	66
Figures 26: Téléospires de quelques isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp tritici</i> observées sous microscope optique	67
Figure 27: Comparaison de longueur et largeur moyennes des téléospores des isolats pour les deux zones prospectées.....	68
Figure 28: Comparaison d'aire et périmètre des téléospores des isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i> selon la zone de prospection.....	69
Figure 29: Projection des variables descriptives des teliospores sur le plan formé par les deux premiers axes.....	71
Figure 30: Dendrogramme de classification hiérarchique (utilisant la distance Euclidienne) de 12 isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i> basant sur les caractères morphologiques des téléospores.	72
Figure 31: Gel d'agarose montrant une bande spécifique amplifié par PCR avec les amorces forward (PSF) et reverse (PSR) spécifique pour les isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i>	74
Figure 32: Diagramme électrophorétique RAPD (Révélation des fragments amplifiés pour les neuf isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i> 1-9 et un isolat de <i>Puccinia recondita</i>) généré par l'amorce OPA-03	75
Figure 33: Diagramme électrophorétique RAPD (Révélation des fragments amplifiés pour les neuf isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i> 1-9 et un isolat de <i>Puccinia recondita</i>) généré par l'amorce OPA-04	76
Figure 34: Diagramme électrophorétique RAPD (Révélation des fragments amplifiés pour les neuf isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i> 1-9 et un isolat de <i>Puccinia recondita</i> -10-) généré par l'amorce OPA-07	77
Figure 35: Diagramme électrophorétique RAPD (Révélation des fragments amplifiés pour les neuf isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i> 1-9 et un isolat de <i>Puccinia recondita</i> -10-) généré par l'amorce OPW-12.	78
Figure 36: Dendrogramme montrant le degré de similarité entre les isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i> en fonction des profils électrophorétique obtenus par RAPD a l'aide de 04 amorces.....	80

Liste des tableaux

Tableau 01: Production mondiale de blé.	3
Tableau 02: Principales rouilles des céréales.....	9
Tableau 03: Stades du développement de <i>Puccinia</i>	14
Tableau 04: Evolution des nouvelles races de la rouille jaune sur blé	23
Tableau 05: Répartition des localités prospectées selon un gradient climatique	34
Tableau 06: Echelle de notation des symptômes de la rouille jaune.....	38
Tableau 07: Origine et date d'échantillonnage des différents isolats.....	39
Tableau 08: Origine des isolats de <i>Puccinia striiformis</i> utilisés dans l'étude de la diversité génétique.....	44
Tableau 09: Composition du mixte pour amplification d'ADN avec les amorces PSF et PSF spécifique au <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i>	47
Tableau 10: Conditions d'amplification d'ADN par les une paire d'amorce PSF et PSR. .	48
Tableau 11 : Composition du Mixte utilisé dans la technique RAPD.....	49
Tableau 12: Conditions d'amplification d'ADN utilisé dans la technique RAPD.....	50
Tableau 13: Prévalence de la rouille jaune pour les trois zones prospectées.....	52
Tableau 14: Contribution des axes dans l'information à expliquer (Urédospores)	62
Tableau 15: Corrélation entre les variables et les composantes principales (urédospores). 63	
Tableau 16: Contribution des axes dans l'information à expliquer (Téléospores). .	71
Tableau 17: Corrélation entre les variables et les composantes principales (Téléospores). .	72
Tableau 18: Qualité et quantité d'ADN extrait à partir de 10 isolats. .	74
Tableau 19: Pourcentage de polymorphisme des amorces utilisées dans la technique RAPD pour neuf isolats de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i> et un isolat de <i>Puccinia recondita</i>	81
Tableau 20: Matrice de similarité et distance génétique entre les isolats testés (Indice de Jaccard, logiciel past)	83

Remerciements
Dédicaces
Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux

Table des matières

Introduction

Chapitre I: Synthèses bibliographique

Synthèse bibliographique 01: Aperçus générale sur les céréales

1.1. Importance économique des céréales3
 1.1. 1. Dans le monde 3
 1.1. 2. En Algérie 4
1.2. Intérêt des céréales et contraintes de production.....5
 1.2.1. Intérêt nutritionnel et agronomique 5
 1.2.2. Contraintes de production des céréales..... 6
 1.2.2.1. Contraintes abiotiques 6
 1.2.2.2. Contraintes biotiques 7

Synthèse bibliographique 02: La rouille jaune du blé causé par *Puccinia striiformis*

2.1. Importance dans le monde 10
2.2. Taxonomie de l'agent causal 11
2.3. Hôtes de la rouille jaune..... 13
2.4. Cycle biologique de *puccinia striiformis* 14
2.5. Symptômes de la rouille jaune sur blé..... 16
2.6. Epidémiologie du pathogène..... 18
2.7. Mécanisme de pathogénicité 20
2.8. Facteurs de virulence de *Puccinia striiformis*..... 21
2.9. Lutte contre la rouille jaune du blé..... 24

Synthèse bibliographique 03: Outils de la caractérisation de la diversité chez les agents phytopathogènes

3.1. Les marqueurs d'expression25
 a. Caractères phénotypiques..... 25
 b. Caractères de virulence..... 25
 c. Marqueurs iso-enzymatiques 26

Tableau des matières

3.2. Outils moléculaires.....	26
3.2.1. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).....	27
3.2.2. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).....	28
3.2.3. SSR (Simple Sequence Repeats) ou Microsatellites.....	30
3.2.4. AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).....	30
3.2.5. ITSs (Internal Transcribed Spacer).....	31
3.2.6. SNPs (Single Nucleotide Polymorphism).....	33

Chapitre II. Matériel et Méthodes

1: Enquête et échantillonnage.....	34
1.1. Zone de prospection et collecte des échantillons.....	34
1.2. Notation des symptômes in situ.....	37
2: Analyse de la diversité de la population de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i> à l'échelle locale	
2.1. Analyse de la diversité morphologique de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i>.....	39
2.1.1. Zone de prospection.....	39
2.1.2. Matériel biologique.....	40
2.1.2.1. Matériel fongique.....	40
2.1.2.2. Conservation des échantillons.....	41
2.1.3. Méthode.....	41
2.1.3.1. Mensuration des urédospores et téléospores.....	41
2.2. Recherche de la diversité moléculaire chez <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i>.....	44
2.2.1. Matériel biologique.....	44
2.2.1.1. Matériels fongique.....	44
2.2.2 Méthodes.....	45
2.2.2.1. Extraction d'ADN.....	45
2.2.2.1.1. Protocole d'extraction.....	45
2.2.2.1.2. Dosage de l'ADN.....	46
2.2.3. Amplification de l'ADN.....	46
2.2.3.1. Les ITSs (Internal Transcribed Spacer).....	46
2.2.3.1.1. Protocole d'amplification.....	47
2.2.3.1.2. Cycles d'amplification.....	47
2.2.2.1.3. Electrophorèse sur gel d'agarose.....	48
2.2.2.1.4. Migration de l'ADN et visualisation.....	48

Tableau des matières

2.2.3.2. La technique RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).....	48
2.2.3.2.1. Protocole d'amplification	48
2.2.3.2.2. Electrophorèse sur gel d'agarose	50
2.2.3.2.3. Analyse des données RAPD	50

Chapitre III: Résultats et discussions

1. Enquête et échantillonnage	51
1.1. Prévalence de la maladie	51
1.2. Incidence de la maladie	52
1.3. Sévérité d'attaque	54
2. Etude morpho-biométriques de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i>	56
2.1. Mensuration des urédospores.....	56
2.2. Mensuration des téléospores	66
3. Etude de polymorphisme moléculaire de <i>Puccinia striiformis f.sp. tritici</i>.....	73
3.1. Dosage de l'ADN.....	73
3.1.1. Pureté de l'ADN extrait.....	73
3.2. Résultat des Produits d'amplification de région ITS (Internal Transcribed Spacer) 73	
3.3. Résultats et analyse des produits RAPD	74
Conclusion- perspectives.....	83

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Les céréales occupent une place très importante sur le plan économique et alimentaire, c'est une source d'énergie et de protéine qui peuvent fournir plus de 60% de l'apport calorifique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire. Ils représentent plus de 40% de la valeur des importations mondiale par rapport aux autres produits alimentaires (Djermoun, 2009).

En Algérie, les céréales représentent l'épine dorsale du système alimentaire Algérien. La superficie emblavée annuellement en céréales se situe entre 3 et 3,5 millions d'hectares. Les superficies annuellement récoltées représentent 63% des emblavures (Djermoun, 2009). Le blé est principalement employé pour la consommation humaine dans diverses formes de produits, elle est aussi devenue la céréale de choix pour l'alimentation des animaux.

Malgré les efforts déployés en matière de développement de la céréaliculture, cette dernière reste caractérisée par des variations notables liées au paramètre climatique qu'il est difficile à maîtriser (Djermoun, 2009). La céréaliculture en Algérie reste tributaire des aléas climatiques ce qui explique les fluctuations en production d'une année à une autre. Outre les aléas climatiques, la faiblesse des productions céréalières résulte de nombreux facteurs biotiques, parmi lesquels les maladies fongiques causées par la famille des basidiomycètes, ces dernières sont considérées comme les maladies les plus destructrices des cultures des céréales, qui peuvent occasionner des pertes jusqu'à 70% voire totale sur des variétés sensibles (Chen, 2005).

La rouille jaune du blé causée par *Puccinia striiformis f.sp. tritici* est l'une des maladies les plus redoutables sur la culture du blé tendre. Ce champignon phytopathogène peut provoquer des dégâts très importants à la culture et son développement est lié à des conditions climatiques particulières (printemps frais, couvert, humide et venteux). La réunion des conditions climatiques et la présence d'une variété sensible favorisent le développement et l'extension de la maladie.

La diversification du champignon en races, primordiale pour assurer son succès en tant que parasite, lui permet de contourner les gènes de résistance laborieusement introduits par les sélectionneurs (Fossati et Brabant, 2003).

En raison, l'importance de cet agent phytopathogène et le peu d'étude consacrée à cette pathologie en Algérie, nous avons jugé nécessaire de mettre notre contribution par

Introduction

la caractérisation de l'agent causal aussi bien sur le plan morphologique, pathologique et moléculaire sur quelques isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* par la technique RAPD.

Pour atteindre ces objectifs, ce travail a été organisé en trois chapitres présentés comme suit:

Le premier chapitre de nos travaux consiste à étudier la prévalence, l'incidence de la maladie ainsi que la sévérité d'attaque à partir des enquêtes sur terrain réalisées selon un gradient climatique vertical dans la région de chlef afin d'estimer l'importance de la maladie sur blé tendre et blé dur.

Le second chapitre de ce mémoire sera consacré aux résultats de l'étude morpho-biométrique fondés sur plusieurs paramètres descriptifs (Longueur, largeur, aire, périmètre...etc.) de deux types des spores à savoir les urédospores et les téléospores des isolats échantillonnés. L'objectif était donc de détecter les différences existantes entre les isolats par des paramètres descriptifs pertinents en utilisant des analyses statistiques appropriées.

En fin, le dernier chapitre sera consacré aux résultats obtenus lors de l'analyse moléculaire par PCR de quelques isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* en utilisant les amorces spécifiques aux ITSs pour l'identification et la confirmation de l'appartenance des isolats à l'espèce *Puccinia striiformis f.sp. tritici* d'une part et par l'utilisation des marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) pour l'évaluation de la diversité génétique des isolats collectés. Nous avons choisi cette technique pour sa simplicité d'utilisation, la faible quantité d'ADN nécessaire et le nombre important de marqueurs qu'elle peut générer.

A notre connaissance aucune étude de polymorphisme moléculaire n'a été faite sur ce champignon pathogène en Algérie.

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique 01: Aperçus générale sur les céréales

1.1. Importance économique des céréales

1.1. 1. Dans le monde

Parmi les produits alimentaires les plus régis par l'offre et la demande, les céréales représentent plus de 40% de la valeur des importations et occupent le premier rang (39.22%) devant les produits laitiers (20.6%), le sucre et les huiles (10%) (Djermoun, 2009).

Les céréales étaient cultivées en 1968 sur 710 millions d'hectares et la production avoisinait 12 milliards de quintaux avec un rendement moyen d'environ 16 q/ha. Les principales régions productrices de céréales du globe, sont par ordre décroissant l'Asie, Amérique du Nord et centrale, Europe (Moule, 1971)

La production mondiale des céréales a augmenté de près de 10% en 2008. Elle continue de progresser en Inde et en Chine, cette dernière reste le premier producteur mondial de céréales avec une progression de sa récolte de 4% en 2008, alors que la production des Etats-Unis diminue de 04% dans la même année.

La culture des céréales représente un secteur économique important. Les céréales demeurent l'aliment de base d'une très grande partie de la population mondiale. La superficie était de 218.8 millions d'hectares durant la campagne 2005-2006 un rendement de 28.3 quintaux/hectare. Cependant, des variations sensibles ont été notées durant plusieurs campagnes allant de 2006 à 2010 (Tableau n°01) (GAM, 2010).

Tableau 01: Production mondiale de blé.

	2005-2006	2006-2007	2007-2008	2008-2009	2009-2010
Superficie ensemencée (Millions d'hectare)	218.8	213.0	218.0	225.1	226.7
Rendement moyen (Qx/hectare)	28.3	28.0	28.0	30.3	30.1

(GAM, 2010)

1.1.2. En Algérie

Les céréales dominent les agricultures maghrébines, encore peu diversifiées. Leurs superficies représentent 60 % des terres cultivables au Maroc, 36 % en Algérie et 30 % en Tunisie. Si l'on tient compte des jachères qui font partie intégrante du système céréalier, ces taux passent à 80 % pour le Maroc et l'Algérie et à 50 % pour la Tunisie. Trois céréales, le blé dur, le blé tendre et l'orge, représentent plus de 90 % des superficies et des productions céréalières dans les trois pays (Jouve et al., 1995).

Le secteur des céréales occupe une place très importante dans l'économie algérienne ou l'Algérie appartient au groupe des plus gros importateurs de blé dans le monde.

En effet, les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire algérien. A titre indicatif, la quantité de blé importée pour la saison 2005/2006 a atteint 5.5 millions de tonnes pour une facture de 510 millions de dollars US (Kellou, 2008).

La superficie emblavée annuellement en céréales se situe entre 3 et 3,5 millions d'hectares. Les superficies annuellement récoltées représentent 63% des emblavures et la production des céréales a dépassé les 65 millions de quintaux en 2009 et de 2,1 millions de tonnes en 2008 (Djermoun, 2009).

La production céréalière dans la wilaya de Chlef est fortement dépendante des conditions climatiques. Cela se traduit aussi bien dans les superficies que dans le rendement (Figure n°01). Ainsi en 2009, la superficie consacrée au blé dur a été de 44582 hectares avec une production de 809440 quintaux et le blé tendre 17381 hectares avec une production de 290130 quintaux. En 2012 la superficie du blé dur était de 55236 hectares avec une production de 1163340 quintaux et le blé tendre a subi aussi une augmentation de superficie qui était de 12674 hectares (D.S.A., 2012).

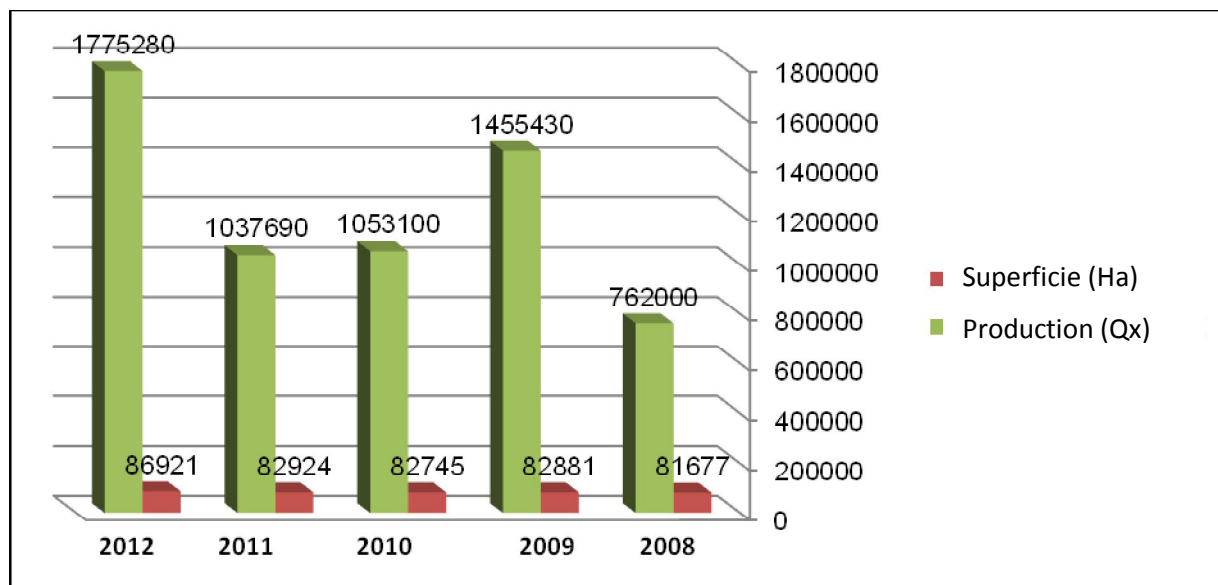


Figure 01: Production des céréales dans la wilaya de Chlef.

(D.S.A, 2012)

1.2. Intérêt des céréales et contraintes de production

1.2.1. Intérêt nutritionnel et agronomique

Dans toutes les espèces des céréales, le grain est essentiellement glucidique avec 60 à 75 % de glucides digestibles (amidon principalement). La teneur en protéines va de 6 à 18 % dans les cas extrêmes mais se situe le plus souvent entre 8 et 13 %. Malgré cette modicité relative, les céréales réalisent à elles seules un apport protéique très important en raison de leur prépondérance dans la ration de nombreuses populations. Qualitativement, ces protéines sont médiocres : l'acide aminé limitant est la lysine; dans le cas du maïs, le tryptophane présente également un grave déficit et constitue l'acide aminé limitant secondaire (Favier, 1989).

Le blé est principalement employé pour la consommation humaine dans diverses formes de produits: le pain à partir de la farine panifiable du blé tendre, les semoules et pâtes à partir du blé dur. Le froment (*Triticum aestivum* L.) est actuellement la céréale de choix pour l'alimentation de poulet de chair (Piron et *al.*, 2007).

L'amidon de blé peut être chimiquement modifié ou hydrolysé pour rapporter beaucoup de produits fonctionnels qui peuvent être employés dans la production du papier, adhésifs, feuilles de plastique, édulcorants, les poudres cosmétiques et les crèmes ainsi que les matériaux d'emballage.

La fermentation de l'amidon par levure pour produire le bio-carburant et l'alcool industriel gagne l'intérêt dans le monde entier (Carena, 2009). La graine de blé contient l'huile autour de 11%, qui est une bonne source de la vitamine E.

Sur le plan agronomique les cultures céréalières considérées comme des bonnes cultures intercalaires dans une rotation culturale. Les céréales cultivées principalement pour leur grain, les céréales le sont aussi pour leur paille (litière et fumier, alimentation); également elles sont fréquemment cultivées pour récolter en vert (en feuilles ou en épis), en culture pure ou en association avec une légumineuse (vesce-avoine, par exemple) (Moule, 1971).

Après la moisson, la paille est soit laissée sur la parcelle, soit récoltée en vue d'une utilisation essentiellement comme litière pour les animaux, mais peut aussi servir comme fourrage ou combustible. L'enfouissement de la paille après récolte permet de restituer au sol du carbone et des éléments minéraux prélevés par la culture. Cet enfouissement favorise l'activité des micro-organismes qui réorganisent une partie de l'azote minéral présent après la moisson, ce qui l'empêche d'être lessivé pendant l'interculture.

1.2.2. Contraintes de production des céréales

Les plantes subissent en permanence des altérations et des attaques des agents pathogènes qui sont dans leur environnement et influent négativement sur les rendements. Ces altérations et attaques sont d'ordre abiotique tel que le froid, le gel, la chaleur, la sécheresse et la salinité. Les contraintes biotiques les plus importantes sont les mauvaises herbes, les insectes, les maladies fongiques, virales ainsi que les nématodes.

1.2.2.1. Contraintes abiotiques:

Les principaux facteurs abiotiques limitant le rendement des céréales sont de nature climatique (gel, températures excessives et sécheresse). La gelée provoque une migration de l'eau des cellules vers les méats intercellulaires ou elle se transforme en cristaux, ce qui entraîne une coagulation irréversible du protoplasme donc mortelle. Lorsque le froid est très vif, les feuilles peuvent être touchées les cellules initiales des racines secondaires peuvent être tuées sur le nœud de tallage, celui-ci pourrit et la plante meurt (Clément-grandcourt, et Parts, 1971). Les sécheresses caractérisées par les déficits hydriques, intenses en zones arides et semi arides affectent négativement les rendements ou édaphique (acidité du sol entraînant une toxicité, salinité, déficience d'alimentation azotée).

1.2.2.2. Contraintes biotiques:

- **Les adventices:** qui entrent en compétition pour l'eau, les éléments nutritifs, la lumière et l'espace, elles diminuent considérablement les rendements et peuvent même déprécier le produit de récolte (Clément-grandcourt, et Parts, 1971). Les mauvaises herbes sont considérées comme une source d'hébergement des insectes et ravageurs. En Algérie le niveau d'infestation par les dicotylédones est supérieur au seuil toléré (30 plants/m²), alors que l'infestation par les graminées est dans 87% des cas supérieur au seuil toléré (20 plants/m²) (ITGC, 2008).
- **Les insectes:** comme la tordeuse des céréales (*Cnephasia pumicana*) qui provoquent des chutes de rendement de 05 à 19% sur blé et l'hanneton japonais (*Popillia japonica*) (Clément-grandcourt, et Parts 1971). Les espèces plus petites et moins visibles, tel que les thrips, les acariens et les criocères des céréales souvent passent inaperçues, surtout quand elles sont en petit nombre. Les insectes qui s'attaquent au grain occasionnent des dégâts durant le remplissage des grains à maturité et au niveau des silos de stockage par les charançons.
- **Les nématodes:** sont connus comme étant des ravageurs des céréales depuis plus de 300 ans. Les critères de distinction des nématodes sont les symptômes qu'ils causent aux racines ou aux parties aériennes, la présence de galles, de kystes ou de nodules dans lesquels se trouvent les œufs. Les plus importantes espèces parasites des céréales sont, entre autres, le nématode du blé (nielle) (*Anguina tritici*), et le nématode à galle des racines (*Meloidogyne spp*).
- **Les principaux agents fongiques sur céréales:**

Les céréales peuvent être attaquées par de multiples maladies durant leur cycle de développement, ces maladies peuvent être regroupées selon les symptômes qu'elles induisent et les parties qu'elles affectent en maladies causant des pourritures racinaires comme exemple *Fusarium graminearum* et *Cochliobolus sativus* qui peuvent attaquer le système racinaire de la plante à n'importe quel stade de développement.(Aouali et Douickhalfi, 2009).

La septoriose:

Les espèces de *Septoria* possèdent des pycniospores (conidies) qui sont produites à l'intérieur d'un appareil fructigène fermé, presque sphérique, appelé pycnide. Deux espèces de *Septoria* s'attaquent au blé: *Septoria tritici* (tache septorienne), responsable de la septoriose des feuilles, les pycnides sont très foncées. Dans les taches, elles ont l'aspect de

petits points noirs. Les conidies sont des bâtonnets allongés, étroits, courbes, filiformes, et mesurent ordinairement à maturité, 40-80 μm x 1.7-3.0 μm . Cette espèce attaque surtout le blé, cependant on la rencontre sur le triticales, le seigle et rarement sur certaines espèces d'avoine et *Septoria nodorum*, responsable de septoriose des feuilles et des épis. Les pycnides ont l'aspect de gelée couleur paillée dans les taches en phase de développement rapide. Les pycnides s'assombrissent et se durcissent avec l'âge. Les conidies sont plus courtes, plus épaisses et plus droites que celles de toutes les autres espèces de *Septoria*, et à maturité sont munies d'une à trois cloisons transversales bien distinctes et mesurent alors 15-24 μm x 2.5-4 μm . Cette espèce est un parasite du blé, du triticales, du seigle et de l'orge (Zillinsky, 1983).

Tache auréolée de blé:

Petites taches brunes, ovales et entourées d'un évident halo jaune caractéristique. Ces taches deviennent ovales, beiges, 5 à 13 mm de longueur et bordées d'un halo jaune. Contrairement aux lésions causées par *Septoria tritici*, la tache auréolée est ovale à lenticulaire (pointue aux extrémités). Un point brun foncé est souvent présent au centre des taches (Lacroix, 2002).

Charbon nu de blé:

Les maladies affectant la graine (l'épi) se développent aussi bien sur le blé tendre que le blé dur. A titre d'exemple le charbon nu est causé par *Ustilago tritici*. Son importance est tributaire de la désinfection des semences (Sayoud et al., 1999). Les symptômes du charbon sont visibles entre la floraison et la maturité.

Les graines dans les épis affectés par le charbon sont remplacées par des masses de spores ayant une apparence poudreuses et noire tandis que dans le cas de la carie les graines affectés sont grises à brunâtre tout en conservant leur forme. Le charbon est qualifié de charbon couvert lorsque la glume n'est pas entièrement détruites et qu'une fine membrane blanchâtre non opaque laisse entrevoir la masse de spores noires quant au charbon nu tout le grain est complètement détruit et la masse de spores noires n'est pas enveloppée par une membrane (Lacroix, 2002).

Les rouilles des céréales:

Les rouilles sont peut-être les maladies des céréales les plus destructrices et aussi les plus connues. Elles sévissent à peu près partout dans le monde, là où les céréales sont cultivées. Toutes les parties aériennes des plantes sont susceptibles d'être attaquées, depuis la plantule jusqu'à la plante mature.

Les champignons, tous des espèces du genre *Puccinia*, sont des parasites très stricts (obligatoires) qui possèdent un cycle évolutif très compliqué (Zillinsky, 1983). Les rouilles ont une action néfaste sur les céréales et qui peuvent occasionner des pertes jusqu'à 70% voire totale sur des variétés sensibles (Chen, 2005). Les espèces les plus connus sont présentées dans le tableau n°02.

Tableau 02: Principales rouilles des céréales

Espèce	description
<i>Puccinia graminis</i> (rouille noire)	Grosses masses allongées de spores brun rougeâtre encadrées de lambeaux de tissus épidermiques déchirés. Les urédosores sont susceptibles de se développer sur les deux faces des feuilles, sur les tiges et les épis. Les urédospores sont rouge foncé, ellipsoïdes, échinulées, et mesurent 24-32 µm x 18-22 µm.
<i>Puccinia recondita</i> (rouille brune)	Les urédosores sont rouges, ovales, et épars, sans lambeaux de tissus épidermiques autour. Ces sores n'apparaissent ordinairement qu'à la face supérieure des feuilles. Les urédospores sont de couleur rouge orangé à rouge foncé, sphériques, et mesurent 20-28 f.1m de diamètre.
<i>Puccinia hordei</i> (rouille naine des feuilles)	Les urédosores sont jaune orangé, ovales, épars, et disposés généralement à la face supérieure du limbe des feuilles. Les urédospores sont de couleur jaune orangé, relativement grosses, ovoïdes ou sphéroïdes, et mesurent 28-36 µm x 24-28 µm. Ce champignon n'attaque que l'orge et les espèces voisines.
<i>Puccinia coronata</i> (rouille couronnée)	Ce champignon n'attaque que l'avoine. Les urédosores revêtent la forme d'ampoules ovales ou allongées qui renferment des urédospores jaunes ou orangées. Ces spores sont sphéroïdes ou ovoïdes et mesurent 20-32 µm de diamètre. Les téléutospores sont larges et leur sommet est garni de petits créneaux.
<i>Puccinia striiformis</i> (rouille jaune striée)	Les urédosores sont disposés en longues stries jaunâtres bien distinctes sur le limbe et la gaine des feuilles. Les urédospores sont jaunes, plus ou moins sphéroïdes et grosses, mesurant 28-34 µm de diamètre. Les glumes et la glumelle inférieure sont souvent infectées. Des stries étroites et noires se forment sur les feuilles durant le développement des téléutospores.

(Zillinsky, 1983)

Synthèse bibliographique 02: La rouille jaune du blé causé par *Puccinia striiformis*

2.1. Importance dans le monde

Historiquement, la rouille des tiges a été une maladie extrêmement ravageuse du blé et de l'orge. Une série d'épidémies graves est survenue en Amérique du Nord entre 1900 et les années 1950, affectant la production céréalière dans la région des grandes plaines, de nombreux états du Midwest et au Canada. Un plus grand nombre d'éclosions localisées se sont produites dans le Sud des grandes plaines aussi récemment qu'en 1985-1986. Dans tous ces cas, la fréquence et l'intensité des épidémies de rouille des tiges sont associées à l'émergence de nouvelles races du champignon qui étaient en mesure de surmonter la résistance génétique de plusieurs variétés populaires. De nouveau, après plusieurs décennies de maîtrise de la maladie au moyen de variétés résistantes, de nouvelles races du champignon de la rouille des tiges se sont attaquées à la production céréalière dans certaines parties du monde. La première variante, appelée « Ug99 », a été signalée dans les pays de l'Afrique de l'Est : Ouganda, Kenya et Éthiopie. D'autres variantes ont aussi émergé. Cette dernière continue de se propager et peut même menacer d'ici peu la production de blé et d'orge en Amérique du Nord. La détection précoce des nouvelles races est un élément clé de la lutte au niveau international devant ces menaces émergentes (De Wolf et al., 2010).

La rouille jaune du blé, causée par *Puccinia striiformis f. sp. tritici* est l'une des maladies de blé les plus importantes dans le monde (Chen, 2005). En Europe, elle a été une maladie commune sur blé pendant des siècles, particulièrement dans les pays du nord-ouest (Steele et al., 2001). Les pertes de rendement enregistrées aux USA étaient de 25% en 1960 où les conditions étaient extrêmement favorables pour le développement de la rouille jaune avec 70% des superficies qui ont été touchées (Chen, 2005).

La maladie a été observée pour la première fois en Afrique du Sud dans le cap occidental en 1996, sur le blé de printemps (cultivars sensibles) et dans des conditions climatiques favorables (Pretorius et al., 1997, Boschoft et al., 2002).

En 1975, des cultivars d'orge en Colombie ont été sévèrement infectés par ce champignon (Dubbin et Stubbs, 1986) et quelques années après, des pertes de rendement jusqu'à 70% sur une grande partie de l'orge cultivée en Amérique du Sud et au Mexique ont été signalées (Chen et al., 1995).

Au Danemark, les pertes dues à la rouille jaune étaient en moyenne de 2 à 15% sur blé entre 1988 et 1990, alors que sur variétés sensibles, ils atteignent 50% (Hovmøller, 2001).

En Algérie, vu l'absence des études consacrées à cette maladie, les pertes causées par ce pathogène sont inconnues et les services chargés de la protection des végétaux se limitent seulement sur les déclarations des régions touchées.

2.2. Taxonomie de *Puccinia striiformis*

Les rouilles ont été groupés avec d'autres classes des champignons appelés Teliomycetes (Jülich, 1981). Actuellement, une séparation de trois classes, à savoir *Urediniomycetes* (y compris les rouilles), *Ustilaginomycetes*, et *Hyménomycètes* semble être la meilleure classification établie sous le phylum de *Basidiomycota* (Cummins et Hiratsuka, 2003).

D'après Maier et al. (2003), aujourd'hui les Urédinales comportent plus de 100 genres et autour de 7000 espèces. Ces chiffres correspondent environ 75% des genres et 95% d'espèces de la classe d'*Urediniomycetes*. En terme de nombre d'espèces, les *Pucciniaceae* sont les plus grandes parmi toutes les familles de rouille (Maier et al., 2007). Le genre *Puccinia* comporte environ 4000 espèces et le genre *Uromyces* 600 espèces (Cummins et Hiratsuka, 2003). La classification taxonomique classique selon Cummins et Hiratsuka (2003), est principalement basée sur la morphologie des spores et le type de fructification notamment la morphologie des Téléospores.

Les espèces de rouille sont parfois subdivisées en catégories plus spécialisées, d'où le terme forme spéciale. Il n'y a pratiquement aucune caractéristique morphologique distinctive pour les formes spéciales, et ils sont identifiés par la détermination de l'espèce de l'hôte (Voegelé et al., 2009). Ce type de spécialisation a été décrit pour la première fois dans les années 1890s par Eriksson et Henning (Eriksson 1894; Eriksson and Henning 1896).

La rouille jaune (stripe rusts ou yellow rust) des céréales est provoquée par différentes formes spéciales de *Puccinia striiformis*, un champignon de la Classe des basidiomycètes, d'ordre urédinales, et de la famille des *Pucciniaceae*. Le nom d'espèce du pathogène avait subi plusieurs changements. Il a été décrit la première fois comme *Uredo glumarum* par Schmidt (1827 in Liu et Hambleton, 2010), *Puccinia striaeformis* (Westendorp 1854 in Liu et Hambleton, 2010), et comme *Puccinia glumarum* par Eriksson et Henning (1894 in Liu et Hambleton, 2010). D'après Stubbs (1985) le nom *Puccinia*

glumarum était utilisé par Hylander et al. (1953), et plus tard Cummins et Stevenson (1956), ont employé pour la première fois le nom de *Puccinia striiformis* (Liu et Hambleton, 2010).

La taxonomie classique repose principalement sur la morphologie des spores et les structures de fructification (Cummins et Hiratsuka, 2003). Les critères taxonomiques classiques pour décrire et identifier des taxa sont les gammes d'hôtes, la morphologie des urédospores et des téléspores ainsi que leurs dimensions (Niks, 1986, Anikster et al., 2005).

- **Les Urédospores:**

Les urédospores sont les types des spores asexuées les plus importantes de la plupart des rouilles (Voegelé et al., 2009). Elles sont produites d'une manière répétitive sur l'hôte durant la saison de croissance de la plante à partir d'un mycélium dicaryotique (Hiratsuka, 1973). Les cellules urédinales sont formées à partir d'un mycélium dicaryotique issu de la germination d'une écidiospore ou d'urédospore sous l'épiderme de l'hôte. Les urédospores sont dicaryotiques et ont des parois épaisses typiquement couvertes avec des échinulations (Roelfs et al., 1992). Les urédosores de *Puccinia striiformis* sont disposés dans des stries étroites, jaunâtres, sur les feuilles et les épillets.

Les urédospores de PST sont jaunes ou orangées (Zillinsky, 1983) largement ellipsoïdes, obovoïdes, de surfaces étroitement échinulées, sur feuilles. Elles sont de couleur jaune-clair au jaune orange. Les dimensions des urédospores varient généralement entre 18-30 x 17-27 µm (Savile, 1984, Abbasi et al., 2004, Anikster et al., 2005, Liu et Hambleton, 2010). Les échinules sont de 0.3-0.6 µm large en bas et 0.5-0.8 µm haut; la distance entre les échinules est de 1.1 -1.6 µm. L'épaisseur de la paroi est d'environ 0.5-1.5 µm, sur laquelle se trouve un nombre des pores de germination de 9-14, avec un diamètre de 1.5-3.0 µm (Liu et Hambleton, 2010).

- **Les Téléspores:**

Les téléspores ont été décrits la première fois en tant que spores fongiques par les frères Tulasne (Tulasne et Tulasne, 1847 in Bushnell et Roelfs, 1983) qui les a appelés parfaites, "ou vrai spores puisqu'elles représentent la forme finale des spores chez les rouilles (Mendgen, 1984). De Bary, 1865 (in Bushnell et Roelfs, 1983) a proposé pour ces spores vraie appellation "Teleutosporen" parce qu'elle signifie les spores qui apparaissent à la fin du développement de l'espèce. Plus tard, Arthur (1929, 1932) a défini le *teliospore*, puisqu'elles sont formées dans le telia, la dernière structure fructifère des rouilles (Arthur, 1929, 1932 in Bushnell et Roelfs, 1983). Après la production d'urédospores, des téléspores

sont formés comme un deuxième type de spore dans l'urédie. L'urédie est ainsi transformé en télie (Bushnell et Roelfs, 1983). Les téléspores se développent comme des spores pédicellés, elles peuvent être mono cellulaire (formé d'une seule cellule comme par exemple chez *Puccinia hordei* (Gäumann, 1959), bi ou pluricellulaires comme c'est le cas de *Puccinia striiformis* et *Puccinia boroniae* (Driessen et al., 2005).

Les téléspores sont produites durant l'approche de la maturité de la plante hôte et ordinairement restent couvertes par l'épiderme. Elle diffère des urédospores par la couleur, la forme et ont des parois épaisses, et leur fonction est celle de premier stade de la phase sexuée du champignon (Zillinsky, 1983).

Les téléspores du PST sont bruns sombres, ont une forme variable, la plupart du temps oblongue-claviformes et se composent par deux cellules et un pédicelle court. Les dimensions des téléspores de *Puccinia striiformis* varient entre 31-56 x 14-25µm, la cellule supérieure mesure 15-25x 14-25µm et la cellule basale mesure 16-31x10-20 µm (Abbasi et al., 2004, Anikster et al., 2005, Liu et Hambleton, 2010).

2.3. Hôtes de la rouille jaune

Les champignons phytopathogènes sont classés selon leur comportement trophique en champignons necrotrophes qui parasitent les plantes après la mort de ces dernières. Les champignons biotrophes par contre ne peuvent vivre sans la disponibilité des tissus sains de la plante qu'ils parasitent comme les rouilles des céréales (Bahri, 2005).

Puccinia striiformis est classé comme un parasite biotrophe obligatoire, elle est subdivisée en forme (formae) spéciale basé sur la spécialisation des genres et des espèces de différentes plantes hôte. Eriksson (1894) rapporte cinq formes spéciales (f.sp.): *Puccinia striiformis* f.sp. *agropyri*, *Puccinia striiformis* f.sp. *elymi*, *Puccinia striiformis* f.sp. *hordei*, *Puccinia striiformis* f.sp. *secalis*, et *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* respectivement sur Agropyron, Elymus, orge, seigle, et blé, (Chen, 2005; Liu et Hambleton, 2010). Plus tard, trois formes spéciales ont été rapportées: *Puccinia striiformis* f. sp. *dactylidis* sur (*Dactylis glomerata* L.) (Manners, 1960; Tollenaar, 1967), *Puccinia striiformis* f. sp. *poae* sur (*Poa pratensis* L.) (Britton and Cummins, 1956; Tollenaar, 1967), et *Puccinia striiformis* f. sp. *leymi* sur *Leymus secalinus* (Georgi) Tzvel.

Boshoff et al.(2002), rapportent la présence d'une forme spéciale sur *Hordeum murinum* L. et sur *Bromus catharticus* Vahl en Afrique du Sud qui peuvent multiplier *Puccinia striiformis*. L'importance de ces hôtes sauvages, susceptibles de maintenir

l'inoculum et d'induire des épidémies de rouille jaune sur blé, varie d'une région à une autre.

La découverte récente d'hôte sexuel de PST a été reçue avec grande surprise et a clairement résolu un problème qui a été éludé des générations des chercheurs (Wellings, 2011). Le blé inoculé avec des écidiospore de *Berberis chinensis* a démontré que les espèces de *Berberis* servent également d'hôtes alternatifs pour la rouille jaune du blé (Jin et al., 2010).

2.4. Cycle biologique de *Puccinia striiformis*

Les rouilles constituent un groupe de parasites obligatoires avec un cycle de vie complexe qui implique habituellement les modes de reproduction sexués et asexués de cinq types de spores différentes (pycniospores, écidiospores, urédospores, teliospores, basidiospores et exige habituellement deux hôtes différents (Voegelé et al., 2009). Le tableau ci-dessous montre les différents stades de développement de *Puccinia* avec le type de spores (Tableau n°03).

Tableau 03: Stades du développement de *Puccinia*

Nom de la spore	Stade maladif	Type de spore	Nom de la fructification
BASIDIOSPORE	0 ou IV	Spore d'origine sexuée (N)	Baside
SPERMATIE	S	Spore asexuée (N)	Spermogonie
ECIDIOSPORE=(Eciospore)	E ou I	Spore à dicaryon (N+N) Sexuée	Ecidie
UREDOSPORE=(Urediospore)	U ou II	Spore à dicaryon (N+N) Asexuée	Uredosore
TELEUTOSPORE=(Teliospore)	T ou III	Spore à dicaryon (N+N) puis diploïde (2N) sexuée	Teleutosore

Alexopoulos, 1996

Dans le cas de PST, le cycle biologique comprend les seuls stades urédien et télén (Figure n°02). D'après Stubbs (1985), Roelfs et *al.* (1992), Chen (2005) aucun hôte alternatif n'a été découvert pour la rouille jaune du blé. Probablement le champignon se conserve, après la moisson sur les repousses des céréales et sur certaines graminées sauvages et les teliospores germent juste vers la fin de l'été, et produit des basidiospores à un moment où les feuilles d'une plante hôte ne sont pas disponibles ((Rapilly et *al.*, 1971; Line, 2002).

Vu la forte spécificité d'hôte de PST, les repousses de blé jouent certainement un rôle majeur dans l'épidémie et la survie estivale du pathogène dans les régions où les précipitations estivales favorisent la levée précoce de repousses (Bahri, 2008).

En effet, les conditions favorables (hivers doux et printemps frais) peuvent favoriser l'établissement et le développement de la rouille jaune au printemps (Line, 2002). La durée de latence du champignon n'est plus que de quatorze jours en moyenne. Les symptômes apparaissent une semaine après l'infection suivie d'une sporulation et jusqu'à six cycles peuvent se succéder au cours d'une saison culturale (Caron, 1993, Chen, 2005). L'humidité du milieu et la température sont essentielles pour la germination des urédospores. L'épidémie s'arrête parfois d'elle-même si les températures s'élèvent suffisamment pour gêner son développement, c'est pour cette raison que les attaques précoces au début du printemps (début de la montaison), sont celles qui ont le plus d'impact sur le rendement (Rapilly et *al.*, 1971).

À la fin de cycle de l'hôte, le champignon produit des téléospores noires dans des pustules indéhiscents (Figure n°03 b) qui assurent la survie pendant l'intersaison, et de germer au printemps pour assurer la survie du parasite en infectant un hôte intermédiaire (Bahri, 2008).

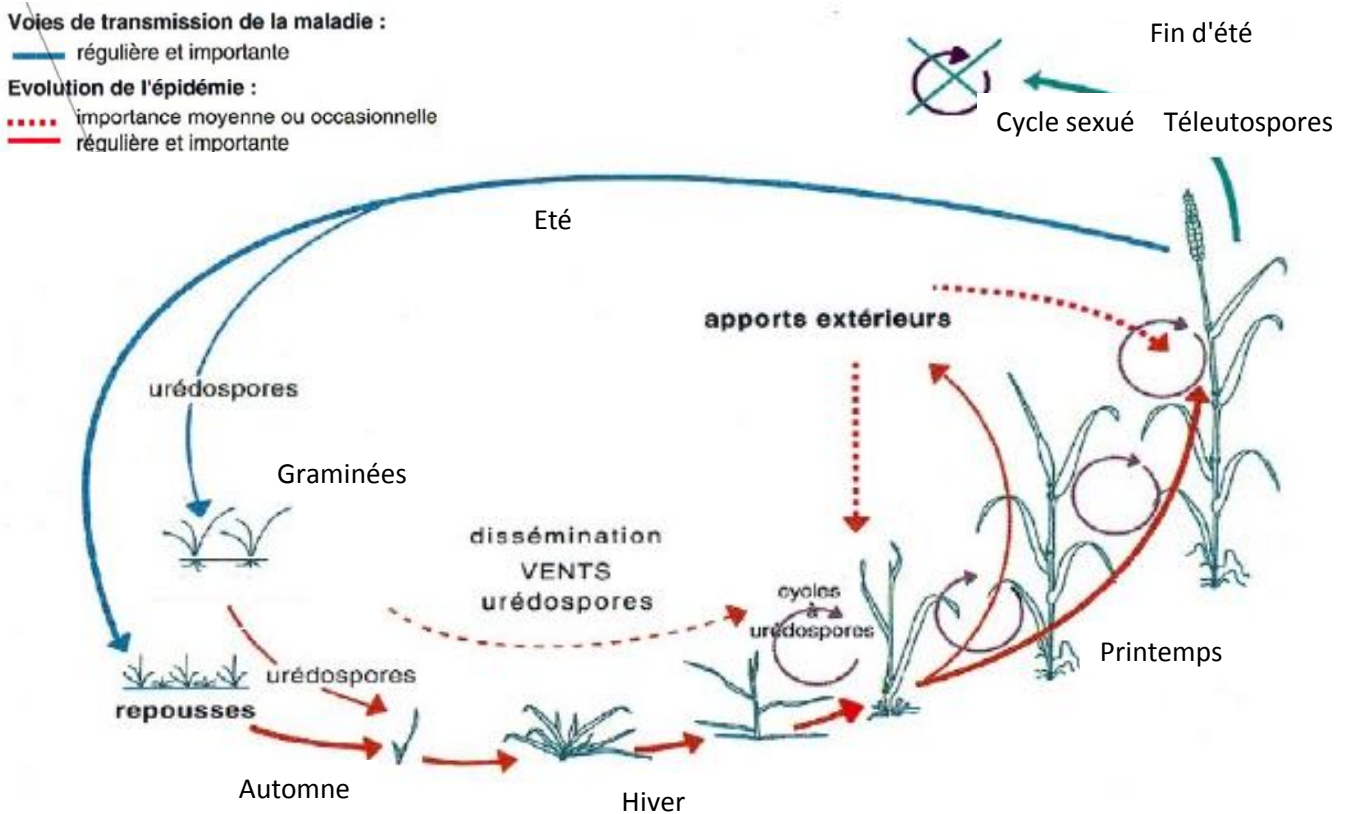
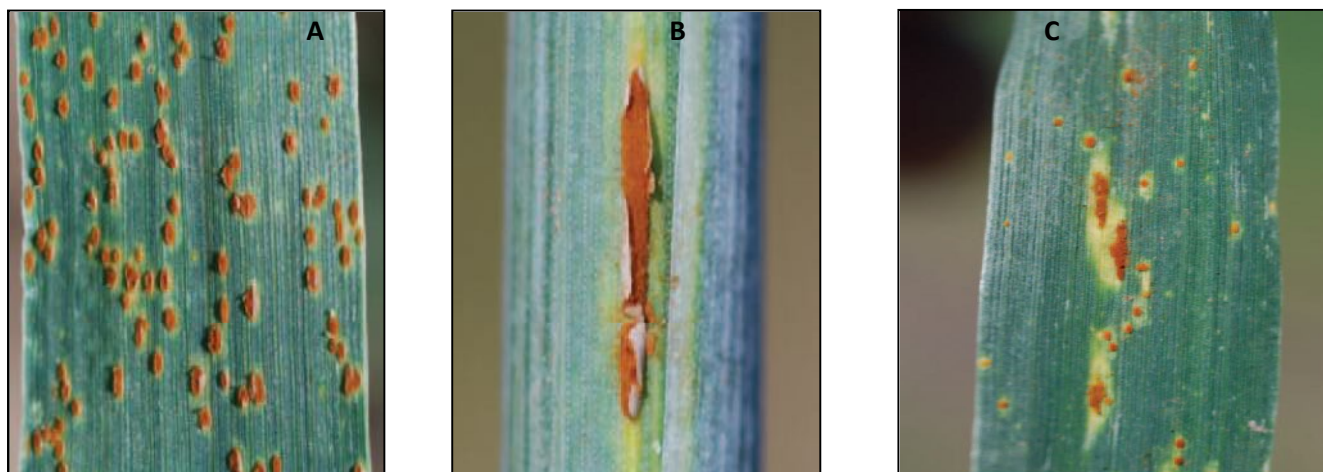


Figure 02: Cycle biologique de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* (D'après Caron *et al.*, 1993).

2.5. Symptômes de la rouille jaune sur blé

Cette maladie aérienne présente une symptomatologie singulière par rapport aux autres rouilles des céréales (Figure n°03 a, b, c). La maladie se manifeste, chez la plante adulte par des lésions linéaires semi systémiques qui se développent parallèlement aux nervures des feuilles (Figure n°04). Sur les jeunes plantes, les pustules produites peuvent couvrir complètement la feuille (Line, 2002). Les pustules pulvérulentes ont une couleur jaune ou jaune-orange (Caron, 1993, Liu et Hambleton, 2010) et allongées le long de la feuille. Selon Abbasi *et al.*, (2004), Liu et Hambleton, (2010), les pustules d'urédie qui se trouvent sur la partie supérieure de la feuille peuvent mesurer entre 0.4-0.7mm de longueur et 0.1mm de largeur. L'alignement des pustules entre les nervures sous forme des stries justifie l'appellation de « stripe rust » pour désigner la maladie et l'épithète latine *striiformis* du nom de l'espèce (Rapilly *et al.*, 1971).

La rouille jaune cause des dégâts importants sur la production de blé et d'orge dans le monde entier, mais elle peut également attaquer le seigle et d'autres herbes appartenant aux *Triticum*, *Aegilops*, *Hordeum* et autres genres. Les infections sévères de ce pathogène peuvent causer la réduction du nombre de grains ainsi que la qualité du blé et le poids de grains (Ma et Singh, 1996).



Figures 03: symptômes des rouilles sur céréales. (A) Rouille brune sur blé causée par *Puccinia triticina* (ou *Puccinia recondita f. sp. tritici*), (B) rouille noir sur blé causée par *Puccinia graminis f.sp. tritici*, (C) rouille brune et noir sur la même feuille (De Wolf et al., 2010).

La sévérité des attaques varie selon la sensibilité des cultivars et leur précocité. Sur des variétés sensibles, les pertes de rendement peuvent atteindre les 70% et parfois plus (Chen, 2005).



Figure 04. Symptômes de rouille jaune (a) sur blé tendre (cv. HD1220) et (b) sur *Hordeum* spp. (Bahri, 2005).

2.6. Epidémiologie du pathogène

Les différentes formes de spore des rouilles ont différents modes de dispersion. Les urédospores sont la forme de spore asexuée la plus importante chez la plupart des rouilles. Elles sont produites en forte nombre par l'infection répétée de la plante hôte (Voegelé et al., 2009). Ainsi une urédie de *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* peut produire environ 600 urédospores par jour (Eversmeyer and Kramer 2000).

La forte aptitude à la dispersion de la rouille jaune (caractère sporadique des épidémies) permet la migration du pathogène sur de longue distance et l'occupation des nouvelles aires géographiques (Chen, 2005).

Le vent est l'agent principal de libération et de transport des spores, il joue un rôle important dans la dispersion de la rouille jaune (Bahri, 2008, Chen, 2005). La dispersion de la maladie se fait à courte distance allant jusqu'à 25 cm de la source d'inoculum initial (Sackett et Mundt, 2005) mais, grâce à leur légèreté, les spores peuvent également migrer sur de longues distances (Rapilly et al., 1971). Des spores viables ont été trouvées après une migration de plus de 800 km (Zadoks, 1961). Les spores perdent rapidement leur viabilité en dehors de conditions climatiques favorables notamment à cause de leur forte sensibilité aux U.V. (Rapilly et al., 1971, Roelfs et al., 1992). Ainsi, plusieurs exemples de migration de nouvelles races chez PST à l'échelle continentale ont été également rapportés notamment en Europe du Nord et au Moyen Orient. C'est le cas de la virulence pour la race Yr17 apparue en Angleterre et qui a migré vers la France et le Danemark au cours d'une saison culturale (Bayles et al., 2000 ; Hovmøller et al., 2002). L'homme a également contribué à l'introduction de nouveaux pathotypes, comme il a été supposé en Australie en 1979, date d'introduction de la maladie sur le continent, puis en 1996 et 2002 où des pathotypes exotiques ont été détectés (Wellings, 2007).

La maladie se manifeste surtout dans les régions à climat tempéré, comme dans le nord-ouest de l'Europe (Hovmøller et al., 2002, Hau et de Vallavieille-Pope, 2006), les hauts plateaux de la Chine (Chen et al., 2002), le nord des Etats-Unis, l'Asie Centrale et l'Inde (Chen, 2005) et l'Australie (Wellings et McIntosh, 1990). La rouille jaune est devenue récurrente dans les principales régions céréalières mondiales notamment au Mexique, en Afrique de l'Est et du Sud (Boshoff et al., 2002).

Chaque épidémie a ses propres caractéristiques. L'inoculum peut être faible ou abondant, le rythme de multiplication plus ou moins rapide, la viabilité des spores plus ou moins longue. L'épidémie chez *Puccinia striiformis* est déterminée par le taux d'inoculum primaire (L'inoculum a besoin d'un grand nombre de foyers établis en automne pour déclencher une épidémie le printemps et l'été suivant) (Corbaz, 1990).

La température est un paramètre essentiel pour le développement épidémiologique, la rouille jaune, se développe à des températures fraîches variant de -10°C à 25°C (Rapilly et al., 1971, Hau et de Vallavieille-Pope, 2006). La maladie peut commencer très tôt et peut, en conséquence, causer des dégâts sévères par rapport à la rouille brune (*Puccinia triticina* Eriks.) et la rouille noire (*Puccinia graminis f.sp. tritici*) (Chen, 2005).

Les températures cardinales de germination sont basses chez PST (2°C , 10°C , 28°C), ce qui explique la répartition géographique de la maladie dans les zones à climat tempéré et dans les zones à hautes altitudes (Zadoks, 1961, Rapilly et al., 1971). Les températures de nuit jouent un rôle plus critique dans le développement de la rouille jaune que les températures de journée (Stubbs 1985) puisque la formation d'humidité et les basses températures se produisent ensemble le plus fréquemment à la nuit.

L'élévation des températures maximales au-dessus de 25°C freine ou stoppe la rouille jaune (Caron, 1993). Néanmoins, Milus et al. (2006) ont suggérer l'existence des nouvelles races agressives adaptées à des températures élevées.

Le cycle biologique de *Puccinia striiformis*, l'agent causal de la rouille jaune (stripe rust) des céréales, demeure une énigme parce que l'hôte alternatif (ou écidien) n'a été jamais identifié bien qu'on l'ait supposé que *Puccinia striiformis* est un champignon macrocyclique, basé sur des similitudes avec d'autres rouilles de céréale (Jin et al., 2010). Hassebrauk (1965) a énuméré 230 espèces des herbes de 42 genres comme plante hôte de *Puccinia striiformis* West., et de 29 espèces de huit genres étaient les plantes hôtes de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* (Zadoks, 1961). L'importance de ces plantes hôtes sauvages, susceptibles de maintenir l'inoculum et d'induire des épidémies de rouille jaune sur blé, varie d'une région à une autre (Bahri, 2008).

Aux Etats-Unis, dans les montagnes du Pacifique Nord-Ouest et en Californie, les graminées sauvages qui assurent la survie de PST durant la période estivale sont considérées comme une importante source d'infection du blé dans les basses altitudes (Stubbs, 1985). Dans les régions où les températures ne sont pas très basses, les

urédospores et le mycélium se conservent durant l'hiver sur les céréales semées l'automne et les graminées (Bahri, 2008).

2.7. Mécanisme de pathogénicité

Les plantes sont toujours exposées à l'attaque d'une grande variété d'agents pathogènes. Pour faire face à cette diversité de parasites, les plantes ont développé un système de défense qui leur permet de réagir aux agents pathogènes par une grande diversité de réponses inductibles (Cavalcante, 2009).

Le type d'interaction entre une plante et un micro-organisme est dicté par la capacité de ce micro-organisme d'infecter cette plante. Pour qu'un micro-organisme développe et cause la maladie à un hôte, il doit être capable de surmonter et éviter la défense de la plante (Heath, 1991).

Le processus d'infection d'une plante par un agent pathogène est très dépendant de l'environnement. Lorsqu'un agent pathogène est placé au contact d'une plante dans des conditions environnementales favorables, deux relations sont possibles : la relation compatible, lorsque la multiplication du parasite sur l'hôte est active et lui permet de coloniser tout ou partie de l'hôte, par exemple dans une interaction compatible entre une rouille et son hôte, les hyphes d'infection se développent souvent dans les espaces intercellulaires mésophylliens sans n'importe quelle réponse évidente par l'hôte (Heath, 1997) et produire librement les haustorias dans les cellules vivantes de l'hôte, et la sporulation des pustules de rouille se produit sur le tissu vert de feuille (Garrood, 2001). La relation incompatible a lieu lorsque la croissance du parasite et donc la colonisation de l'hôte s'arrête précocement (Lepoivre, 2003). Quand l'hôte a la capacité de résister au pathogène, une interaction incompatible est établie, bloquant le développement de la maladie. La première étape de l'infection de rouille est la germination de l'urediospore (Figure n°5) et de la croissance d'un tube germinatif vers des stomates (Mendgen et Hahn, 2002). Cette étape est suivie par la formation d'un appressorium au-dessus de l'ouverture stomatal et la croissance d'une cheville d'infection appressorial dans la cavité stomatal (Niks et Rubiales, 2002). Une vésicule substomatal est formée à l'intérieur de la cavité et un hyphe d'infection se développe entre les cellules mésophylliennes (figure n°05).

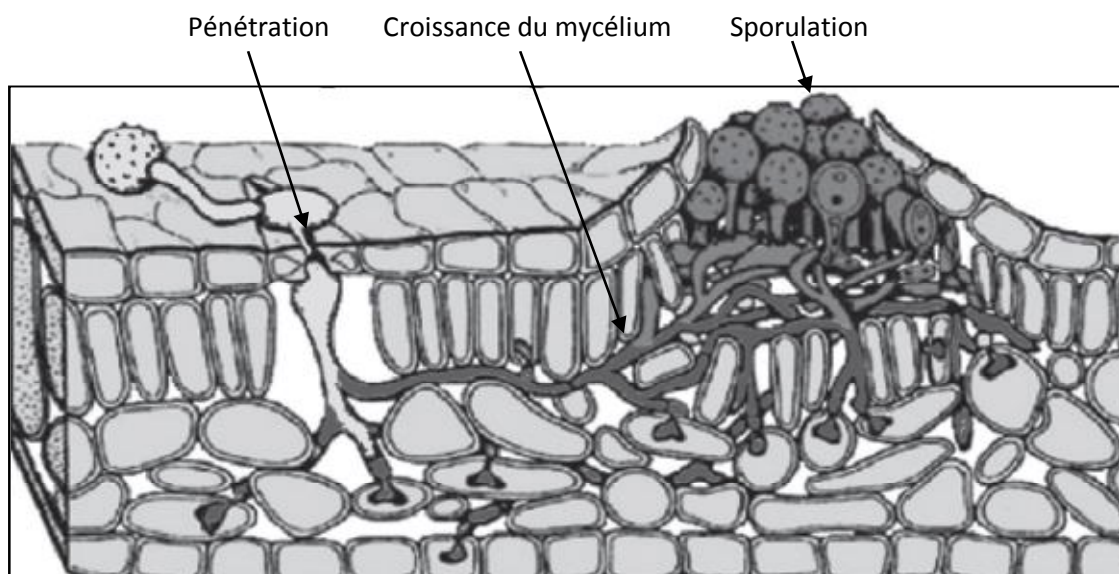


Figure n°05. Phases de développement de l'infection par urédospore. Voegele (2006).

L'extrémité de l'hyphe d'infection, quand il est en contact avec une cellule mésophyllienne, donne un signal à la cellule haustoriale mère, ce qui produit une cheville d'infection qui ouvre une brèche dans le mur mésophyllien de la cellule. Jusqu'à cette étape, l'hôte n'a pas été en contact physique direct avec le pathogène, puisque le développement des structures d'infection se produit dans les espaces intercellulaires. Quand la cheville d'infection développe un haustorium dans la cellule mésophyllienne, une relation de parasitisme est finalement établi (Rodrigues, 2003).

2.8. Facteurs de virulence de *Puccinia striiformis*

Van der Plank (1963 in Pariaud, 2008) a formalisé la génétique de la résistance des plantes face aux agressions parasitaires en définissant deux concepts explicatifs du pouvoir pathogène : la virulence, qui est la faculté que possède un agent pathogène d'attaquer un hôte, et l'agressivité qui est la quantité de maladie que cet agent pathogène peut induire. A ces deux composantes du pouvoir pathogène, il a associé deux types de résistances caractérisant le comportement de l'hôte : la résistance verticale opposée à la virulence et la résistance horizontale opposée à l'agressivité.

En phytopathologie, le pouvoir pathogène se décline traditionnellement en une composante qualitative, la capacité d'un agent pathogène à infecter un hôte donné et à causer une maladie et une composante quantitative, le degré de dommages infligés à l'hôte par l'infection pathogène (Van der Plank 1968 in Cavalcante, 2009).

Pour la majorité des phytopathologistes européens, la composante qualitative est appelée virulence et repose sur l'interaction gène pour gène (Flor 1971). La composante quantitative est quand à elle nommée agressivité. Le terme virulence est toutefois beaucoup plus largement utilisé pour définir la composante quantitative du pouvoir pathogène. Cette définition fait acceptation au sein des écologistes, des épidémiologistes animaux et des phytopathologistes nord-américains et la composante qualitative du pouvoir pathogène est nommée pathogénicité (pathogenicity) par les phytopathologistes nord-américains (Andanson, 2010).

L'agressivité peut se définir comme la capacité d'un champignon à créer une épidémie sévère dans une parcelle et est fonction de caractères quantitatifs du cycle de vie de l'agent pathogène tels que le taux de sporulation, la taille des lésions occasionnées par le champignon ou encore sa période de latence (Andanson, 2010).

D'après Roelfs et *al.*, 1992 les différences dans l'agressivité existent chez *Puccinia striiformis* probablement, mais elles sont obscurcies par la variabilité dans la réponse de résistance. En plus, les différences en humidité relative, lumière, température, et polluants combinés avec la résistance des plantes adultes ont rendu les études des différences dans l'agressivité de pathogène difficile. La période de latence de la rouille jaune change entre les isolats et peut durer de 11 jours aux conditions optimales et à 188 jours à température plus basse (Roelfs et *al.*, 1992).

Milus et *al.*, (2006) ont suggéré l'existence d'adaptation des différentes souches de *Puccinia striiformis* à des plages de températures assez élevés selon leur origines d'isolement. Ainsi les souches issues des régions chaudes peuvent réaliser une période de latence sur un intervalle de température allant de 12 à 18°C.

En plus de la période de latence, Milus et *al.*, (2006) ont quantifié les différences dans l'agressivité des isolats de PST collectées dans différentes régions par la mesure de longueur, largeur et surface des lésions ainsi que la production de spores sur des plantes d'une variété sensible de blé. Ces résultats démontrent donc que les rouilles de blé peuvent s'adapter aux températures plus élevées et causer des maladies sévères dans les environnements défavorables.

- **Races de *Puccinia striiformis* étudiées sur blé**

Les plantes étant constamment attaquées par des agents pathogènes, elles ont donc développé plusieurs stratégies de défense. A leur tour, ces stratégies ont été utilisées par les sélectionneurs pour protéger les récoltes. Cependant, les populations de pathogènes

parviennent à s'adapter aux variétés nouvellement sélectionnées. Cette adaptation peut être très visible comme le contournement d'un gène majeur de résistance ou plus discret comme l'affaiblissement progressif de la résistance quantitative (Schürch, 2004).

Les formes spéciales chez les rouilles sont séparées à des races basées sur l'avirulence ou la virulence aux cultivars ou aux génotypes du blé (Chen, 2005). Chaque race physiologique est généralement définie par les gènes de résistance qu'elle est capable de contourner (Tableau n°04). La référence expérimentale des gènes de résistance est constituée par des lignées différentielles de blé et d'espèces apparentées (Mascher, 2010).

L'évolution de la virulence (diminution de la fitness de l'hôte) a été le sujet de plusieurs modèles mathématiques et elle est influencée par plusieurs facteurs. Un de ces facteurs est la présence de plusieurs génotypes d'une même espèce de pathogène dans un seul hôte (Schürch, 2004). Le tableau 03 montre l'évolution des races de PST selon leurs virulences d'après les tests sur la gamme différentielles du blé de 1964 jusqu'à 2005 (Chen, 2012).

Tableau 04: Evolution des nouvelles races de la rouille jaune sur blé.

Année	race	Gènes de résistance
1964	PST-3	1,3
1981	PST-22	1,3,12
1987	PST-38	1,3,11
1990	PST-42	1,3,11,12
1998	PST-59	1,3,11,12,16
2000	PST-78	1,3,11,12,,16,17,18,19,20
2000	PST-80	1,3,8,11,12,16,17,18,19,20
2002	PST-97	1,3,10,11,12,16,17,18,19,20
2002	PST-98	1,3,8,10,11,12,16,17,18,19,20
2002	PST-99	1,3,9,11,12,16,17,18,19,20
2003	PST-100	1,3,8,9,10,11,12,16,17,18,19,20
2003	PST-101	1,2,3,9,11,12,16,17,18,19,20
2003	PST-102	1,3,9,10,11,12,14,16,17,18,19,20
2004	PST-111	1,3,5,8,9,10,11,12,16,17,18,19,20
2004	PST-113	1,2,3,8,9,10,11,1,14,16,17,18,19,20
2004	PST-114	1,3,4,8,10,11,12,14,16,17,18,19,20
2004	PST-15	1,3,5,8,9,10,11,12,14,16,17,18,19,20
2005	PST-16	1,3,4,5,8,9,10,11,12,14,16,17,18,19,20

(Chen, 2005).

2.9. Lutte contre la rouille jaune du blé

Beaucoup de pathogènes peuvent être détectés dans une culture de céréale, mais tous n'ont pas la même importance. L'évaluation sanitaire d'un champ n'est donc pertinente que si elle est interprétée de manière critique. Certaines maladies comme la septoriose, l'oïdium, l'helminthosporiose sont communément détectables dans les champs de blé. Ce sont les taches ou lésions dans le couvert végétal qui indiquent les risques encourus par la culture. D'autres maladies doivent par contre inciter à la vigilance dès leur détection. C'est principalement le cas pour les rouilles.

La rouille jaune peut provoquer des dégâts très importants à la culture. Il est conseillé de surveiller les cultures et de traiter immédiatement en cas de détection des foyers de rouille jaune. L'observation des parcelles à partir du stade épi un centimètre va permettre de définir la stratégie fongicide à employer. Les triazoles restent une valeur sûre contre la rouille jaune qui ont une activité sur les autres maladies foliaires du blé. Les pulvérisations fongicides du feuillage donnent de bons résultats, mais ne constituent pas une méthode de lutte économique (Zillinsky, 1983).

La résistance variétale est en général assez bonne et peut protéger la culture vis-à-vis de la maladie. L'utilisation de cultivars présentant des gènes de résistance efficaces permet de réduire les risques de maladies et les pertes de rendement. Actuellement, les sélectionneurs cherchent à produire de nouveaux cultivars présentant des gènes de résistance efficaces contre les principales maladies du blé. Dans le cas de la rouille jaune ou de la rouille brune, l'utilisation de cultivars résistants suffit à éliminer le risque de contamination. Cependant ceci n'est pas vrai pour d'autres maladies telles que l'oïdium, la septoriose des feuilles, l'helminthosporiose du blé et la fusariose de l'épi, pour lesquelles on constate une résistance modérée. (Jørgensen et al., 2010).

Mais il faut être prudent puisque le champignon présente une grande variabilité de souches. La maladie ne se développe en effet pas chaque année. Après plusieurs années d'absence, elle peut réapparaître brutalement avec des dégâts importants surtout sur les variétés sensibles (Moreau, 2010).

Synthèse bibliographique 03: Outils de la caractérisation de la diversité chez les agents phytopathogènes

3.1. Les marqueurs d'expression

a. Caractères phénotypiques

Les méthodes actuelles d'évaluation de la diversité génétique en phytopathologie sont nombreuses et presque la totalité des collections est évaluée au champ à l'aide de caractères phénotypiques (morphologiques, biométriques, agronomiques) soumis à la sélection (Margalé et *al.*, 1994).

Les marqueurs morphologiques sont largement utilisés dans la caractérisation de nombreuses espèces végétales (Chebbi et *al.*, 1995, Mahmood et *al.*, 2010).

Les caractères morphologiques ont été longtemps utilisés pour identifier les champignons pathogènes et pour comparer des isolats de différentes origines. La caractérisation morphologiques et biométriques des champignons phytopathogènes a été l'objet de nombreuses études (Jennings et *al.*, 1990, Edwards et *al.*, 1999, Anikster et *al.*, 2004, Hantula et *al.*, 2009), qui se base généralement sur l'observation microscopique de forme, de couleur ainsi que l'utilisation des outils de mesure (analyse d'image) pour déterminer les paramètres biométriques telle que la forme, la taille et la couleur des hyphes (Andersen et *al.*, 2005).

Cependant, ces caractères parfois peuvent être influencés par les conditions de l'environnement, ce qui pourrait minimiser leur porté dans une étude de diversité et de détermination de la structure de populations. Néanmoins, cette approche reste incontournable dans toute étude de diversité en phytopathologie (Sandmeier et *al.*, 1993).

b. Caractères de virulence

D'après Lourd, (1995), la virulence est considérée comme le marqueur largement utilisé pour caractériser les champignons pathogènes (Chen et Penman, 2005). La méthode la plus simple étant l'inoculation sur une gamme d'hôtes portant différents facteurs de résistance. Plus le nombre de gènes de résistance identifiés est important, plus le potentiel de caractérisation des facteurs de virulence est grand et plus l'analyse de la structure pathogénique de la population étudiée sera précise.

Toutefois, un des inconvénients majeurs de ce marqueur est qu'il ne peut être utilisé que dans le cas de relations hôte/parasite de type gène-pour-gène, connues et identifiées (Lourd, 1995).

c. Marqueurs iso-enzymatiques

Les isoenzymes correspondent à différentes formes d'une même enzyme, catalysant la même réaction, mais dont les propriétés physico-chimiques (charge électrique, taille,...) sont différentes. L'analyse des isozymes est une technique biochimique puissante avec de nombreuses applications, elle est utilisée depuis longtemps par les généticiens pour étudier plusieurs organismes, entre autre les agents phytopathogènes (Micales et Bonde, 1995).

La technique iso-enzymatique est simple, après extraction, les protéines sont déposées sur un support solide, tel que l'amidon ou le polyacrylamide, et placées dans un champ électrique. La migration conduit à séparer les molécules en fonction de leur charge et de leur taille (Lourd, 1995).

Cette technique fut largement utilisée, aussi bien dans des études de taxonomie (identification des espèces des champignons que pour l'identification des pathotypes ou l'analyse de la structure génétique des populations.

Cependant l'utilisation de ces marqueurs présente un certain nombre de limites à savoir: la faiblesse du nombre moyen d'allèles, l'occurrence de mutations silencieuses et d'allèles nuls, l'expression de certains enzymes en fonction du stade de développement et la variabilité génétique limitée aux loci codants (Ouedraogo *et al.*, 2005).

3.2. Outils moléculaires

Avec l'arrivée des marqueurs d'ADN, une nouvelle ère de la pathologie des plantes moderne a commencé. Ces techniques sont rapides, fortement spécifiques et peuvent être employées pour détecter une quantité minimale d'ADN (Joly, 2005, Zhao *et al.*, 2007, Setti *et al.*, 2011).

Au niveau des études de génétique des populations, les analyses reposent essentiellement sur l'utilisation de marqueurs génétiques. Ces marqueurs, représentant chacun une portion du génome, permettent de caractériser des individus et donc de mesurer la variabilité génétique de ces individus et des populations qu'ils constituent (Joly, 2005). Les études traditionnelles de pathologie végétale sont passées par beaucoup de phases où nombreux marqueurs conventionnel ont été employés pour la détection, l'identification, quantification des espèces pathogènes et pour l'évaluation de la variabilité génétique à l'un ou l'autre individu, population...etc.

Les premiers marqueurs développés en génétique des populations étaient qualifiés de phénotypiques. Outre les différents tests de virulence et de pathogénicité, les isoenzymes ont souvent été employées.

L'utilisation de marqueurs génotypiques présente donc de nombreux avantages face aux marqueurs phénotypiques, du fait qu'ils sondent directement le génome. Également, de par leur nature, ces marqueurs permettent de détecter toutes les variations génétiques à un locus donné, que les mutations soient silencieuses ou non, et codantes ou non.

Les marqueurs d'ADN sont généralement classés dans deux catégories selon les méthodes utilisées pour leurs détections: les marqueurs de type I qui sont associés à un gène connu ou à une séquence d'ADN connue ce qui sont visualisés par l'hybridation d'enzyme de restriction –digestion de l'ADN (Zhang et al., 2005); les marqueurs de type RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) appartient au premier type. Les marqueurs de type II, ils sont associés aux séquences génomiques anonyme. Ces marqueurs impliquent l'amplification d'une séquence particulière ou des loci avec des amorces spécifiques ou arbitraire. La plupart des marqueurs récents sont du type II tel que RAPDs, AFLPs, microsatellites (SSRs), ITSs et SNPs (Setti et al., 2011).

3.2.1. RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*)

La technique RFLP développée par Botstein et al., (1980) repose sur la mise en évidence de la variabilité de la séquence nucléotidique de l'ADN génomique après digestion par des enzymes de restriction, les marqueurs RFLP combinent l'utilisation d'enzymes de restriction et de sondes génétiques et permet de révéler des mutations présentes au niveau de l'ADN.

Le principe du RFLP consiste à soumettre l'ADN d'un individu à l'action d'enzymes qui coupent l'ADN à des sites très précis. Une multitude de fragments d'ADN de tailles variables est générée par digestion enzymatique, puis séparée sur gel d'agarose et transférée par capillarité sous forme dénaturée sur une membrane de nylon.

S'il survient un changement de la séquence dans un site de restriction, l'enzyme ne le reconnaît pas et elle ira couper le site suivant. Donc, le polymorphisme observé entre deux individus est basé sur la différence qui existe dans la longueur des fragments obtenus après la digestion enzymatique.

Le polymorphisme détecté est dû à des mutations au niveau des sites de restriction de l'enzyme (polymorphisme de site de restriction) et/ou à des délétions/insertions d'un fragment d'ADN au voisinage de la zone génomique reconnue par la sonde. C'est le couple enzyme/sonde qui constitue le marqueur.

Les RFLP sont dits co-dominants parce qu'ils distinguent entre les organismes hétérozygotes et homozygotes. Un organisme hétérozygote à un locus (Aa) présentera deux fragments de tailles différentes alors qu'un seul fragment ne sera visible pour

organisme homozygote (AA ou aa). Bien que cette technique soit co-dominante et permet une analyse génétique complète, elle est lente et laborieuse. Les étapes de transfert et d'hybridation empêchent une automatisation du travail.

3.2.2. RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

La technique RAPD-PCR a été mise au point en 1990 par Williams et *al.*, Welsh et Mc Clelland. Elle est basée sur la réaction d'amplification en chaîne (PCR) de séquences prises au hasard d'ADN génomique. Cette technique repose sur l'utilisation de courtes paires d'amorces généralement de 5 à 15 pb de longueur. Une amorce RAPD permet généralement l'amplification d'une dizaine de fragments correspondant à des locus dominants. Les produits d'amplification sont généralement visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose.

Le polymorphisme détecté en RAPD se situe au niveau des sites d'appariement d'une amorce sur le brin d'ADN. Lors de la réaction PCR, les amorces mises en présence de l'ADN dénaturé d'un organisme, vont s'apparier à deux sites différents situés sur les deux brins complémentaires. Dans cette réaction, les amorces oligo-nucléotides de séquence aléatoire fonctionnent dans les deux sens (forward / reverse) de génome à une température constante d'hybridation (Williams et *al.*, 1993).

Le polymorphisme observé se traduit par la présence ou l'absence de bande chez les différents génotypes (Adam et Dron, 1993).

Le polymorphisme décelé est dû à des mutations (un changement nucléotidique qui empêche l'appariement de l'amorce) soit une délétion du site d'appariement de celle-ci ou encore d'une insertion de nucléotides qui fait en sorte d'augmenter la longueur du segment entre les deux sites d'appariement ne permettant pas l'amplification. En conséquence, un polymorphisme de présence/absence sera observé. Dans certains cas on peut observer un manque de reproductibilité de ces marqueurs (Williams et *al.*, 1990).

Toutefois, lorsqu'un marqueur RAPD a été identifié il est aisé de le transformer en un marqueur SCAR (Sequence- characterized amplified region) qui est spécifique à une région de l'ADN.

Les marqueurs RAPD ont été utilisés chez plusieurs espèces pour l'analyse de la diversité génétique, la caractérisation de ressources génétiques, l'identification de cultivars et la cartographie des génomes.

En phytopathologie, ces marqueurs ont été appliqués sur plusieurs espèces afin de déterminer la diversité génétique (Vakalounakis et Fragkiadakis, 1998, Sonnier, 1999), la caractérisation génétique d'espèces à une épidémie émergente (Nelson et al., 1997) et l'identification des espèces pathogènes du sol et plantes (Chiocchetti et al., 1999), ainsi que l'étude de relation entre la virulence et le polymorphisme chez les champignons phytopathogènes (Chen et al., 1993).

Cette technique est simple, rapide et ne nécessite ni un marquage radioactif ni une connaissance préalable de la séquence nucléotidique. Elle constitue un moyen rapide et efficace pour réaliser des screenings en génétique moléculaire en s'appuyant sur la technique PCR.

De plus, la convivialité de cette technique et la rapidité avec laquelle il est possible de détecter le polymorphisme entre individus font en sorte que l'approche RAPD est très appréciée dans la recherche de marqueurs liés à des gènes d'intérêt économique (Marchand, 1999).

Ces marqueurs présentent également l'avantage de pouvoir sonder la totalité du génome. Ils ont été largement utilisés pour l'analyse génétique des populations de parasites, car ils permettent d'évaluer le polymorphisme au niveau intra spécifique, Lourda, (1995) à différencier les races de *Fusarium oxysporum f.sp. vasinfectum* sur le cotonnier. Chen et al. (1993,1995) ont étudié le polymorphisme moléculaire entre des isolats de *Puccinia striiformis* collectés à partir de différentes régions de l'Amérique du nord. Kolmer et al. (1995) ont analysé le polymorphisme moléculaire des isolats de *Puccinia recondita* par l'utilisation de technique RAPD.

D'après Collignon-Trontin, (2000), l'utilisation de fragments RAPD a cependant quelques limites. Les premières sont d'ordre technique, la méthode RAPD est particulièrement sensible aux conditions de réaction et de très légers changements peuvent affecter la reproductibilité des profils d'amplification obtenus. Elle nécessite donc une très grande standardisation, tant au niveau de la quantité d'ADN et des produits utilisés (Taq polymérase, dNTP, eau ...) qu'au niveau des conditions de manipulation.

À ces contraintes techniques, s'ajoute une certaine incertitude dans la lecture des profils d'amplification. L'obtention de deux fragments de même taille ne signifie pas nécessairement qu'ils sont homologues.

3.2.3. SSR (*Simple Sequence Repeats*) ou Microsatellites

Le terme microsatellite a été inventé par Litt et Luty (1989), également appelé séquences simples répétées (SSR). Ce sont des éléments d'ADN qui se répètent plusieurs fois à différents endroits (séquences de di-, tri- ou tétra- nucléotides répétés en tandem) chez tous les organismes, à la fois les eucaryotes et les procaryotes. Les séquences répétées sont souvent simples, de taille de 1 à 6 paires de bases et ils sont présents dans les deux régions codantes et non codantes. Ces régions flanquantes tendent à être conservées à l'intérieur de l'espèce (Setti et *al.*, 2011)

Les microsatellites présentent un taux de polymorphisme élevé, qui repose sur la variation du nombre d'unités de répétition constituant ces derniers (Najimi et *al.*, 2003). Les polymorphismes sont identifiés en construisant des amorces PCR dans la région adjacente de la région microsatellite (Hajeer et *al.*, 2000). C'est la paire d'amorces spécifique des bordures droite et gauche du microsatellite qui constitue le marqueur. L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur gel d'acrylamide.

Ces marqueurs ont été utilisés pour des études de la diversité génétique de nombreux agents phytopathogènes (Dutech et *al.*, 2007, Bahri et *al.*, 2009, Unartngam et *al.*, 2011) ainsi que dans l'élaboration des cartes génétiques des plantes (Röder et *al.*, 1995, Westman et Kresovich, 1999).

Si les SSR constituent de bons marqueurs moléculaires (reproductibles, co-dominants et aisés d'utilisation), leur caractérisation initiale est toutefois assez lourde. En effet, leur production doit passer d'abord par le clonage et le séquençage de ces éléments répétés (Najimi et *al.*, 2003).

3.2.4. AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*)

La technique AFLP (Amplified fragments length polymorphism) développée par Vos et *al.* (1995) combine à la fois l'utilisation des enzymes de restriction de l'ADN génomique et la technologie PCR.

Après la digestion de l'ADN génomique, des adaptateurs de séquence connue et spécifiques des deux sites de restriction sont ajoutés aux extrémités des fragments de restriction. Une première amplification, dite pré-amplification, est réalisée à l'aide d'amorces de séquences complémentaires à la séquence des adaptateurs et des sites de restriction. La deuxième amplification, dite sélective, utilise des amorces identiques aux premières mais prolongées à l'extrémité 3' de quelques nucléotides arbitraires (de 1 à 3 nucléotides). Ainsi, seuls sont amplifiés les fragments possédant les bases complémentaires de ces bases arbitraires. Les produits de la PCR sont séparés par électrophorèse sur gel de

polyacrylamide dénaturé et révélés par radiographie. C'est la combinaison enzyme de restriction/amorce qui permet de révéler le polymorphisme entre les organismes et constitue donc le marqueur AFLP (Najimi et *al.*, 2003).

Les AFLP ont été largement utilisés pour l'identification des cultivars et la détermination de leurs relations phylogénétiques, la cartographie des génomes, elles sont utilisées aussi pour l'analyse de la diversité génétique des agents pathogènes des plantes en raison du nombre élevé de loci qui peuvent être détectés simultanément. Ces marqueurs ont été utilisés avec succès pour la quantification de la variabilité génétique des populations de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* échantillonnées à une échelle locale (Villéral et *al.*, 2000). Rachel et *al.*, (2005) ont utilisé ces marqueurs pour évaluer la diversité génétique des pathogènes comme *Phytophthora nemorosa* et *Pseudomonas pseudosyringae*.

Cependant, parmi les limites des marqueurs AFLP est que sont techniquement difficiles et coûteux. D'autre part, les AFLP sont notés comme marqueurs dominants, ce qui a réduit leur contenu informatif, car ils ne permettent pas de faire la distinction entre les individus hétérozygotes et homozygotes (Schlötterer, 2004).

3.2.5. ITSs (*Internal Transcribed Spacer*)

Les gènes des unités ribosomiques présentent dans le génome de tous les organismes, est répétée en tandem chez les champignons (figure n°06). Les séquences de cette unité contiennent à la fois des régions variables et des régions conservées. Ainsi, la région ITS (*Internal Transcribed Spacer*, ou espaceurs transcrits internes) de l'ADN ribosomique (ADNr) est une zone assez bien conservée à l'intérieur d'une même espèce fongique mais elle est très variable d'une espèce à l'autre. La région est une partie de l'ADNr cistron qui se compose des séquences 18S, 5.8S, ITS1, ITS2, et de 28S. L'ITS1 et ITS2 sont les régions non codantes situées entre les 18S et 5,8 S (ITS1) et entre le 5,8 S et 28S (ITS2) région codante. Ces marqueurs constituent un bon indicateur taxonomique à l'échelle de l'espèce, chez bon nombre de champignons.

Zhao et *al.*, (2007), ont développé la technique ITS-PCR pour la détection de l'agent pathogène dans les feuilles de blé (*Triticum aestivum*) avant l'apparition des symptômes typique de la maladie par l'utilisation des ITS spécifiques à la rouille jaune du blé causé par PST.

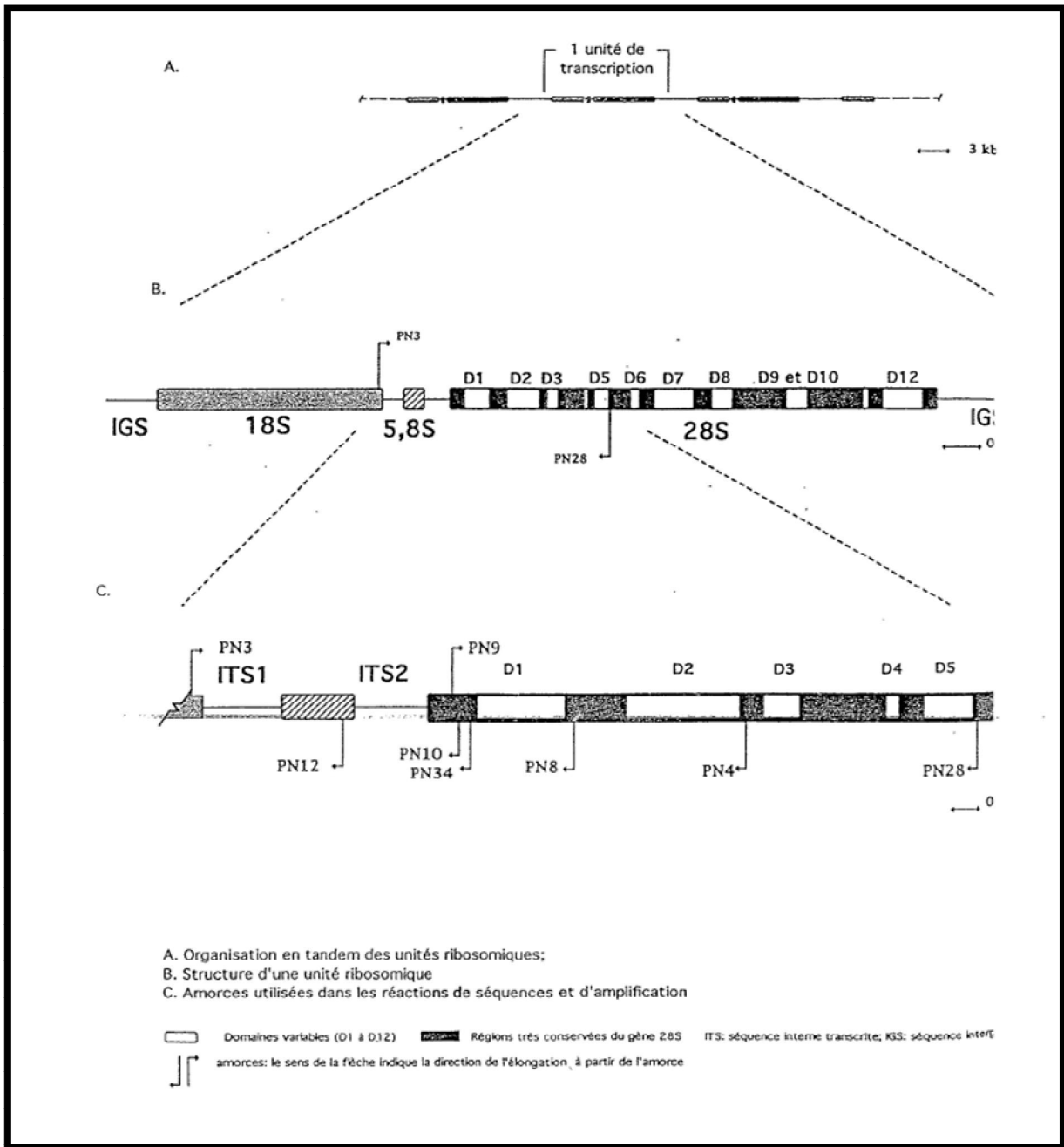


Figure 06. Unité de transcription ribosomique d'un champignon.

(Ndir, 1998).

3.2.6. SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*)

Les marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism) constituent l'un des éléments les plus récents de marqueurs d'ADN qui sont devenus de plus en plus populaires et fortement utilisés dans les études génomiques. Les SNPs, sont très abondants et répartis à la fois dans les régions codantes et non codantes de génome, et il peut se produire à 01 sur tous les 1000pb (Gaur et *al.* 2012).

SNP décrit un polymorphisme entre individus causés par point de mutation qui donne lieu à des allèles différents. On observe un SNP lors du changement d'une base en une autre : transition ou transversion. Les transitions étant des changements d'une purine en une autre purine ou le changement d'une pyrimidine en une autre pyrimidine (Vignal et *al.*, 2002). Les transversions sont des changements de purines en pyrimidines et vice versa.

Les SNPs actuellement sont utilisés en phytopathologie pour la détection de polymorphisme moléculaire ainsi que la détection des mutations ponctuelles (Lamour et *al.*, 2006, Lee et *al.*, 2010, Patel et *al.*, 2011). Il existe actuellement de nombreuses techniques visant à mettre en évidence la présence de SNP dans l'ADN, telle que le Séquençage complet du génome, puces à ADN, TaqMan ...etc.

Matériel et méthodes

1: Enquête et échantillonnage

1.1. Zone de prospection et collecte des échantillons

Des prospections ont été organisées en Mars-Avril-Mai dans deux régions céréalières Chlef, Tiaret, portant sur 37 champs de blé tendre et 86 champs de blé dur durant les campagnes 2010/2011 et 2011/2012 (Figure n°07).

Les localités prospectées ont été divisées en trois zones (Tableau n°05), en se basant sur un gradient climatique vertical du nord vers le sud (Figure n°07).

Tableau 05: Répartition des localités prospectées selon un gradient climatique.

Etage bioclimatique	Localité
Zone I (Sub-humide)	Beni Rached
	Abou Elhassen
Zone II (Semi-aride chaud)	Medjadja
	Sobha
	Oum Drou
Zone III (semi-aride froid)	ITGC (Tiaret)

Les prospections ont été réalisées au moment où les stades phénologiques de blé s'étaient étalés de la floraison à la maturité. Les champs du blé ont été choisis au hasard. Pour chaque champ, dix pieds ont été inspectés aléatoirement et en cas de présence des symptômes de la rouille jaune, dix plants par foyer ont été prélevés (Figure n°08).

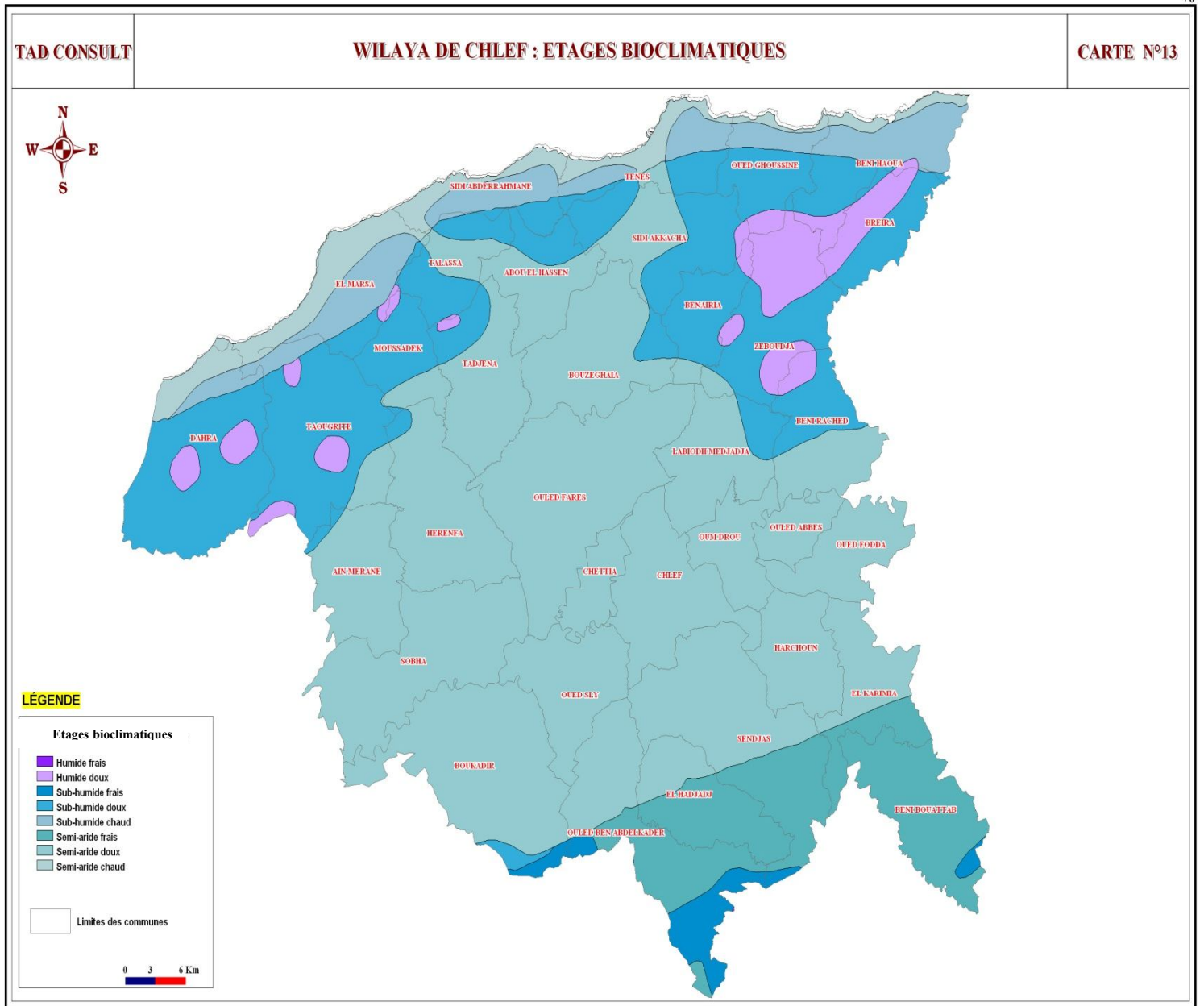


Figure 07: Carte des étages bioclimatiques et répartition des zones de prospection dans la région de Chlef (ANAT, 2007).

D'après Delp et *al.* (1986), la technique commune pour évaluer les maladies des plantes consiste à prélever des plantes au hasard ou à des intervalles uniforme le long d'un chemin.



Figures 08: Foyer de la rouille jaune sur blé tendre (A). Symptômes typiques de la rouille jaune sur blé tendre (B, C), 2012.

1.2. Notation des symptômes *in situ*

Sur place, on note sur une fiche détaillée le type de blé (tendre ou dur), son stade phénologique, la présence de la rouille jaune, l'incidence (pourcentage de pieds malades par rapport au nombre de pieds prospectés), la sévérité d'attaque (pourcentage moyen de tissu foliaire infecté) est estimée pour chaque pied par l'échelle de notation présentée dans le tableau n° 06.

Les données récoltées à partir de ces prospections permettent pour une région donnée le calcul de prévalence ou le pourcentage de champs contaminés par la rouille jaune par rapport au nombre des champs prospectés.

Il faut signaler que les notations ont été effectuées sur des plantes adultes du blé tendre. La réaction moyenne globale est quantifiée à l'aide des formules suivantes:

- **Indice de maladie**

$$\text{IM} = (1X.F1 + 2X.F2 + \dots + 9X.F9) / N$$

IM: Indice de maladie

F: Nombre des feuilles pour chaque degré dans l'échelle de notation allant de 0 à 9.

N: Nombre total des feuilles observées.

- **Incidence de maladie**

$$\text{INM} = P / N$$

INM: Incidence de maladie.

P: nombre des pieds malades par rapport au nombre des pieds prospectés.

N: nombre total des pieds observés.

- **Prévalence**

$$P = C / N$$

P: Prévalence

C: Nombre de champs contaminés par la rouille jaune

N: Nombre total des champs prospectés

Tableau 06: Echelle de notation des symptômes de la rouille jaune d'après Chen et *al.* (2007).

Type d'infection	Description des symptômes
0	aucun signe ou symptôme visible
1	taches nécrotiques et/ou chlorotiques ; aucune sporulation
2	Taches ou stries nécrotiques et/ou chlorotiques ; aucune sporulation
3	Taches ou stries nécrotiques et/ou chlorotiques ; sporulation de trace
4	Taches ou stries nécrotiques et/ou chlorotiques ; sporulation légère
5	Taches ou stries nécrotiques et/ou chlorotiques ; sporulation intermédiaire
6	Taches ou stries nécrotiques et/ou chlorotiques ; sporulation modérée
7	Taches ou stries nécrotiques et/ou chlorotiques ; sporulation abondante
8	Chlorose derrière les surfaces de sporulation ; sporulation abondante
9	Aucune nécrose ou chlorose ; sporulation abondante

2: Analyse de la diversité de la population de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* à l'échelle locale

2.1. Analyse de la diversité morphologique de *Puccinia striiformis f.sp. tritici*

2.1.1. Zone de prospection

Un échantillonnage a été réalisé sur plusieurs sites répartis au sein des zones cartographiées (Tableau n°07) selon un gradient climatique (Figure 07).

Tableau 07: Origine et date d'échantillonnage des différents isolats.

	Isolat	Hôte origine (variété)	Provenance géographique	Date d'échantillonnage
Zone I (Sub-humide)	SM2	ACSAD 885 (blé tendre)	ABOU ELHASSEN	12/04/2011
	SM3	ACSAD 885 (blé tendre)	ABOU ELHASSEN	12/04/2011
	SM4	ACSAD 885 (blé tendre)	ABOU ELHASSEN	12/04/2011
	SM5	ACSAD 885 (blé tendre)	ABOU ELHASSEN	12/04/2011
	SM6	ACSAD 885 (blé tendre)	ABOU ELHASSEN	12/04/2011
	R BR	Variété inconnu	BENI RACHED	24/05/2011
Zone II (Semi-aride chaud)	SY1 AR	ARZ (blé tendre)	MEDJADJA	21/03/2011
	SY2 AR	ARZ (blé tendre)	MEDJADJA	21/03/2011
	SY3 AR	ARZ (blé tendre)	MEDJADJA	21/03/2011
	SY4 AR	ARZ (blé tendre)	MEDJADJA	21/03/2011
	SY5 AR	ARZ (blé tendre)	MEDJADJA	21/03/2011
	SY6 AR	ARZ (blé tendre)	MEDJADJA	21/03/2011
	SY1 AN	ANZA (blé tendre)	MEDJADJA	08/05/2011
	SY2 AN	ANZA (blé tendre)	MEDJADJA	08/05/2011
	SY3 AN	ANZA (blé tendre)	MEDJADJA	08/05/2011
	SY4 AN	ANZA (blé tendre)	MEDJADJA	08/05/2011
	SY5 AN	ANZA (blé tendre)	MEDJADJA	08/05/2011
	SY6 AN	ANZA (blé tendre)	MEDJADJA	08/05/2011
	SY7 AN	ANZA (blé tendre)	MEDJADJA	08/05/2011
	SALST	SALAMA (blé tendre)	SOBHA	24/04/2012
	AAST	AIN ABID (blé tendre)	SOBHA	24/04/2012
	ARST	ARZ (blé tendre)	SOBHA	24/04/2012
	MIST	MIXICALI (blé dur)	SOBHA	24/04/2012
SALOM	SALAMA (blé tendre)	OUM DROU	27/04/2012	
Zone III (Semi-aride froid)	ACT	ACSAD 885 (blé tendre)	ITGC TIARET	25/05/2011
	AAT	AIN ABID (blé tendre)	ITGC TIARET	25/05/2011
	RHD	HD1220 (blé tendre)	ITGC TIARET	25/05/2011

2.1.2. Matériel biologique**2.1.2.1. Matériel fongique**

L'étude morpho-biométrique a été faite sur 27 isolats obtenus à partir de différentes variétés de blé (26 isolats sur blé tendre et 01 isolat sur blé dur). Ces isolats ont été utilisés directement après récolte. Les feuilles prélevées au hasard portent des pustules pulvérulentes jaunes, allongées et alignées entre les nervures (Caron, 1993), qui contiennent des urédospores (Figure n°09,10a).

Les téléspores ont été prélevées à partir des pustules indéhiscentes de couleur noire (figure n°10b), seulement les feuilles des variétés qui portent les pustules noires ont été retenues pour l'analyse morpho-biométrique.



Figures 09: symptômes de la rouille jaune observés sur blé (Photos Chlef, 2012).

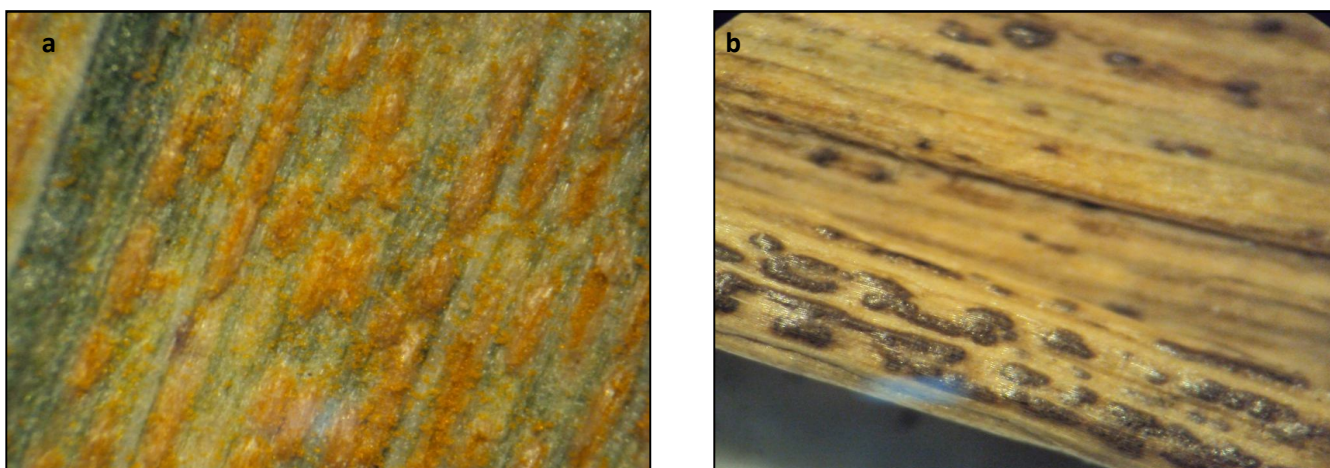


Figure 10: Pustules contenant les deux formes de spores. (a) Pustules contenant les urédospores de *Puccinia striiformis* sur blé tendre; (b) Pustules indéhiscents (Téléosaures) contenant des téléospores de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* sur blé tendre (variété Anza). Photos sous binoculaire, 2012.

2.1.1.2. Conservation des échantillons

Les échantillons récoltés sont mis dans des sacs en papier, numérotés et datés selon le site prospecté et la date de prospection. Ils sont ensuite mis dans des sachets en plastique fermés hermétiquement, afin d'éviter leur contamination par d'autre saprophyte. Dans le laboratoire les feuilles sont conservées sous formes d'herbier.

2.1.2. Méthode

Toutes les mensurations réalisées ont été faites à partir d'analyse d'images. Selon Vogé, (2008), les informations quantitatives peuvent aussi être extraites de ces images à l'aide de logiciels d'analyse. Les informations, devenues des données, peuvent alors être manipulées, stockées et comparées avec les résultats d'autres expériences.

2.1.2.1. Mensuration des urédospores et téléospores

Pour l'examen microscopique, les urédospores de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* fraîchement récoltées ont été mis dans une goutte de lactophenol entre lame et lamelle à une température ambiante et examinés avec un microscope optique (Motic) à un grossissement 10x40. Les images obtenues avec un appareil-photo numérique (10.1 Mega pixels), ont été transférées au micro portable et analysés en utilisant le logiciel d'analyse d'image (NIH image J, 1.44 p). La longueur (**L**), la largeur (**H**), l'aire (**A**) et le périmètre (**P**) ont été déterminées (Figure n°11) comme décrit par Anikster et *al.*, 2005. Les dimensions de 100 urédospores par isolat ont été mesurées. La longueur et la largeur des spores ont été

mesurées selon la disposition de l'axe de la meilleure ellipse convenable (Anikster et al., 2005).

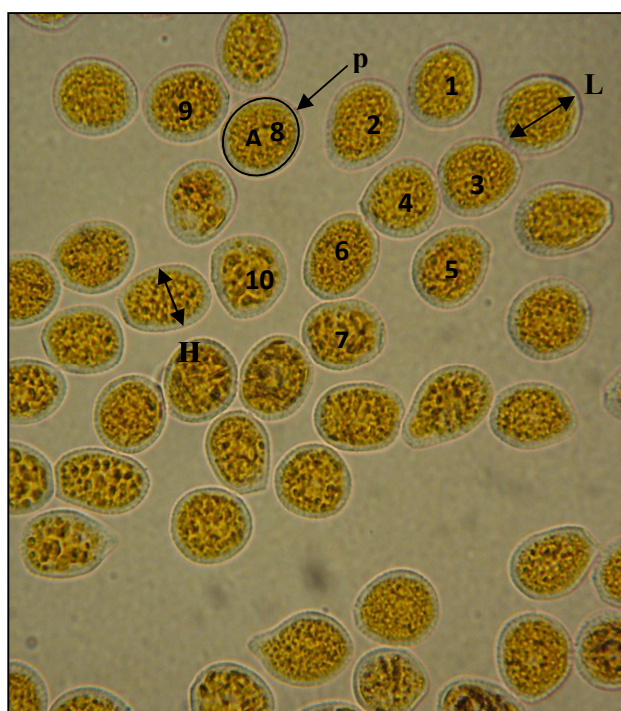


Figure 11: Urédospores avec les différents paramètres mesurés (Longueur: **L**, Largeur: **H**, Périmètre: **P**, Aire: **A**)

D'autres paramètres descriptifs de forme ont été calculés telle que l'élongation, la rectangularité, la circularité, selon les équations suivantes:

$$E = L/H$$

E: Élongation

L: Longueur

H: Largeur

$$C = P^2/4\pi A$$

C: Circularité

P: Périmètre

A: Aire (μm^2)

$$R = LH/A$$

R: Réctongularité

L: Longueur

H: Largeur

(Benyon et al., 1999).

Les téléspores de PST ont été éraflées à partir des feuilles sèches du blé tendre et mis dans une goutte de 50% de glycérol afin d'être examinés sous microscope à un grossissement 10 x 40 avec élimination des pédicelles de chaque isolat, puisqu'elles s'attachent entre elles (Anikster et al., 2004) et même lors des prélèvements on remarque l'absence des pédicelles (Hétérogénéité de mesure). Les téléspores avec une cellule (mesospores) ont été exclus des mesures et les mêmes paramètres descriptifs des urédospores ont été mesurés chez les téléspores. Les spores incluses dans les échantillons mesurés ont été numérotées automatiquement (Figure n°12).

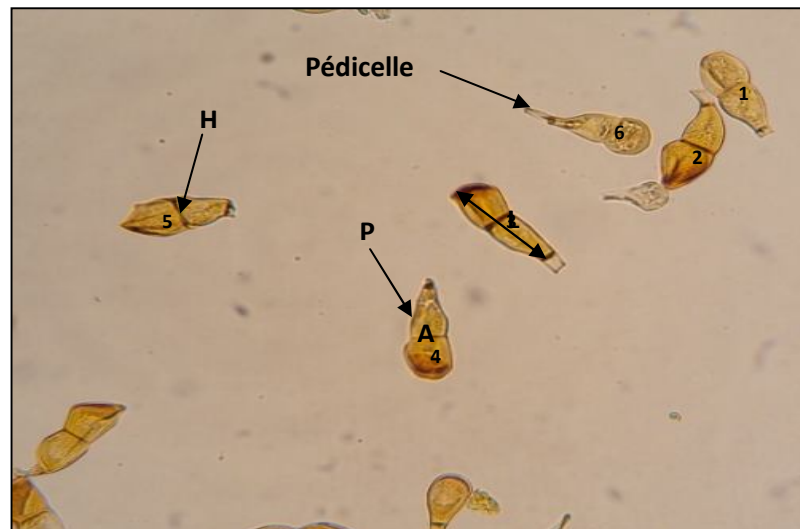


Figure 12: Téléospores avec les différents paramètres mesurés (Longueur: **L**, Largeur: **H**, Périmètre: **P**, Aire: **A**).

Les résultats de mesure de longueur, largeur, périmètre et d'aire ont été enregistrés automatiquement sur feuille Excel et sont rapportés comme une moyenne pour chaque isolat. L'analyse statistique des résultats a été effectuée par le logiciel XLStat pro (Version 7.5) et la signification des différences des moyennes des isolats a été déterminée par ANOVA en utilisant le test de comparaison Post Hoc de Tukey. La relation entre la longueur et la largeur a été caractérisée par le coefficient de corrélation de Pearson.

2.2. Recherche de la diversité moléculaire chez *Puccinia striiformis f.sp. tritici*

2.2.1. Matériel biologique

2.2.1.1. Matériel fongique

Parmi les 27 isolats provenant de différentes localités seulement neuf isolats ont été utilisés pour l'étude de la diversité moléculaire ces derniers sont présentés dans le tableau suivant (tableau n°08).

Tableau 08 : Origine des isolats de PST utilisés dans l'étude de la diversité génétique.

N°	Isolat	Hôte origine (variété)	Provenance géographique
1	SAOD	SALAMA (Blé tendre)	Oum Drou (Chlef)
2	SAST	SALAMA (Blé tendre)	Sobha(Chlef)
3	ARST	ARZ (Blé tendre)	Sobha(Chlef)
4	ANSY	ANZA (Blé tendre)	Medjadja(Chlef)
5	INBR	Inconnu (Blé tendre)	Baní Rached(Chlef)
6	AABT	AIN ABID (Blé tendre)	Esebaine (Tiaret)
7	SADJ	SALAMA (Blé tendre)	Djelida (Ain Defla)
8	ARSY	ARZ (Blé tendre)	Medjadja(Chlef)
9	RHDT	HD1220 (Blé tendre)	Esebaine(Tiaret)
10	RBSY	SEMITO (Blé dur)	Medjadja(Chlef)

Des feuilles présentant des symptômes de la rouille jaune ont été récoltées dans différents sites des zones prospectées (feuilles qui portent une charge suffisante des urédospores) et des feuilles portant des pustules de la rouille brune provenant d'une seule localité.

2.2.2. Méthodes**2.2.2.1. Extraction d'ADN****2.2.2.1.1. Protocole d'extraction**

L'ADN a été extrait directement à partir des urédospores en utilisant la méthode décrite par Zhan G. *et al.* (2012) avec modification (Ripoll *et al.*, 2011). Les urédospores sur feuilles ont été prélevées par une lame de bistouri sous un binoculaire et utilisés pour l'extraction d'ADN.

Dans un tube Eppendorf de 1.5 ml contenant les urédospores, environ 10 mg du sable de silice stérile et 400 µl du tampon d'extraction d'ADN (Annexe n°4) ont été ajoutés. Le mélange a été secoué pendant 2 minutes par vortex du tube. On ajoute 40 µl de SDS (20 %) et incubé le mélange à 55° C pendant 30 min en agitant fréquemment. Refroidir à température ambiante pendant 10 minutes.

Extraire le lysat avec un volume égal à 200µl de mélange phénol/ chloroforme/ alcool isoamylique (100µl/96µl/4µl) respectivement suivant la fraction 25:24:1. L'ensemble est agité par inversement du tube, puis centrifugé à 12500 tpm pendant 30 min. La phase aqueuse est transférée à un nouveau tube eppendorf. En suite en Ajoutant 200µL de mélange Chlorophorme/alcool isoamylique (192µl/8µl) respectivement suivant la fraction 24:1. L'ensemble après agitation est centrifugé à 12500 tpm pendant 10 minutes. Transférer le surnageant dans un nouveau tube et 400 µl de chloroforme est ajouté, mélangé doucement et centrifugé pendant 20 minutes à 12 500 t/mn. La phase aqueuse supérieure est transférée à un nouveau tube et un volume égal (environ 400 µl) d'Isopropanol froid est ajouté. La solution est maintenue à – 20°C durant toute la nuit, et centrifugé pendant 5 minutes à 12 500 t/mn pour précipiter l'acide nucléique. Le culot est lavé avec éthanol 75 % et puis lavé avec d'éthanol 95 %. Après avoir séché l'ADN pendant 30 minutes à l'air libre et 100 µl d'eau bi distillé stérile (ddH₂O) est ajoutée au tube pour dissoudre l'ADN. La Concentration d'ADN est déterminée en utilisant un spectrophotomètre est stocké à - 20°C. Pour L'amplification par PCR, le stock de la solution d'ADN est dilué en ajoutant 50 µl d'eau distillé stérile et gardé à 4 C.

2.2.2.1.2. Dosage de l'ADN

Pour connaître la quantité d'ADN extraite par isolat, il est nécessaire de réaliser un dosage d'ADN par:

- ✓ Spectrophotométrie UV à 230nm, 260nm et 280nm. Les échantillons sont dilués au 100^{ème} (Facteur de dilution) dans de l'eau distillée stérile pour l'analyse spectrophotométrique. Une contamination par des protéines se traduit par une absorption vers 280nm alors que les acides nucléiques absorbent vers 260nm. La concentration est calculée à partir de la densité optique (DO) au maximum d'absorption: une unité de DO représente une concentration de 50µg/ml d'ADN double brin. Le rapport des D.O 260/280 doit être compris entre 1,8 et 2. Quant au rapport des D.O 260/230, celui ci doit être compris entre 1,7 et 2 (Sambrook et *al.*, 2001).
- ✓ Electrophorèse sur gel d'agarose: L'état de pureté de l'ADN est vérifié en déposant sur gel d'agarose à 0.8% (Annexe n°4) un volume de 15µL, ce dernier est composé de 6µL de chaque échantillon d'ADN extrait mélangé avec 9µL de tampon de charge. En fin, une migration est effectuée sous une tension de 100 volts pendant une heure. Après la fixation de bromure d'éthidium (BET), en visualisant l'intensité des bandes.

2.2.3. Amplification de l'ADN**2.2.3.1. Les ITSs (*Internal Transcribed Spacer*)**

Parmi les techniques moléculaires disponibles nous avons utilisé celle basée sur l'analyse des séquences de l'ADN ribosomal. Cette région d'ADN est conservée au sein d'une même espèce et par conséquent elle constitue un bon indicateur taxonomique à l'échelle d'espèce (Ndir, 1998).

Nous avons choisi d'amplifier par PCR cette région ITS avec deux amorces spécifique au *Puccinia striiformis f.sp tritici* (Zhao et *al.*, 2007).

Séquence de l'amorce

PSF: 5'-GGATGTTGAGTGCTGCTGTAA-3'

PSR: 5'-TTGA GGTCTTAAGGTTAAAATTG-3'

2.2.3.1.1. Protocole d'amplification

La réaction d'amplification a été faite dans un volume final de 25 µl du mélange selon le protocole de (Zhao et al., 2007) (tableau n°09).

Tableau 09: Composition de mélange pour amplification d'ADN avec les amorces PSF et PSR spécifique au PST.

Réactif	Concentration dans SM	Concentration dans le Mix	Volume prélevé
tampons5X	5X	1X	5 µl
MgCl 2	15 Mm	1.5 Mm	1.5 µl
dNTP mix	10mM de chaque	2 mM pour chaque dNTP	1µl
Amorce	100µM de chaque	10µM dans 25 µl	2,5µl PSF et 2.5 µl PSR
Taq polymérase	5U/ µl	1U	0,5 µl
ADN			3 µl
Eau distillée			09 µl

Dans un premier temps un mélange est réalisé pour 10 tubes, puis réparti à raison de 22 µl /tube. L'ADN est ajouté en dernier au mélange réactionnel.

2.2.3.1.2. Cycles d'amplification

Les conditions d'amplification par PCR à l'aide des amorces PSF et PSR sont montrés dans le tableau suivant (Tableau n°10):

Tableau 10: Conditions d'amplification d'ADN par la paire d'amorce PSF et PSR.

Etape du cycle	Température du Thermocycleur en degré	Temps en mn ou sec
Dénaturation initiale	94°C	05mn
35 cycles d'amplification		
Dénaturation	94°C	30S
Hybridation	60°C	40S
Extension	72°C	90S
Extension finale	72°C	07min

(Zhao et al., 2007)

2.2.3.1.3. Electrophorèse sur gel d'agarose

Lorsque la PCR est terminée, le produit amplifié est étudié par électrophorèse sur gel d'agarose (0.8%)

2.2.3.1.4. Migration de l'ADN et visualisation

La migration a été faite sous une tension de 100 Volts pendant 01 heure. Une fois la migration achevée, le gel est observé sous UV. Le fragment d'ADN amplifié donne une bande sur le gel. Le BET étant un cation qui s'intercale entre les bases de l'ADN, et rend le fragment fluorescent sous UV.

2.2.3.2. La technique RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

La technique RAPD décrite par Williams et *al.* (1990), consiste, en une amplification de séquences d'ADN, mais à l'aide d'une seule amorce de séquence aléatoire et en l'absence de toute information concernant les séquences nucléotidiques de l'ADN à amplifier.

L'hybridation de l'amorce se fait à basse température. Dans notre travail elle est de 29°C pour permettre la fixation au maximum de sites. La température d'hybridation est déterminée par la relation: $T_0 = 22.3 + 1.45 [(A+T) + 0.5 (G+C)]$ (Maniatis et *al.*, 1989).

La technique RAPD a une résolution potentiellement illimitée, car le nombre de marqueurs (amorces) possibles est très élevé.

Malgré le caractère de dominance elle reste une technique rapide et efficace pour étudier la diversité génétique des populations.

Nous l'avons donc appliquée à l'étude de la diversité génétique de nos isolats de *Puccinia striiformis f.sp tritici*.

2.2.3.2.1 Protocole de l'amplification

Les extraits d'ADN des différents isolats dilués en 1/10ème ont été utilisés pour l'amplification. La réaction a été faite dans un volume total de 25 µL du mélange. Ce dernier est préparé selon le protocole appliqué par kamoumia et Omar (2012) (Tableau n°11).

Tableau 11: composition du Mix utilisé dans la technique RAPD.

Réactif	Concentration dans SM	Concentration dans le Mix	Volume prélevé
tampons5X	5X	1X	06 µl
MgCl 2	15 Mm	1.5 Mm	1.5 µl
dNTP mix	10mM de chaque	2 mM pour chaque dNTP	1µl
Amorce	100µM	10µM dans 25 µl	2.5
Taq polymérase	5U/ µl	1U	0,5 µl
ADN			5 µl
Eau distillée			08.5 µl

Le mélange a été préparé dans des conditions stériles sous la hotte à flux laminaire, afin d'éviter toute source de contamination possible.

Le cycle d'amplification (PCR) présenté dans le tableau°10 a été utilisé par Echeverrigaray et Agostini (2006) et appliqué par Kamoumia et Omar (2012) (Tableau n°12) avec modification.

Tableau 12: conditions d'amplification d'ADN utilisé dans la technique RAPD.

Etape du cycle	Température du Thermocycleur en degré	Temps en mn ou sec
Dénaturation initiale	95°C	05mn
45 cycles d'amplification		
┌ Dénaturation	95°C	1min
└ Hybridation	29°C	2min
└ Extension	72°C	2min
Extension finale	72°C	10min

2.2.3.2.2. Electrophorèse sur gel d'agarose

Après amplification d'ADN, Les produits amplifiés sont étudiés par électrophorèse sur gel d'agarose préparé comme celle pour ITS. Après le dépôt des amplifiats la migration de l'ADN est réalisé à 100 volts

2.2.3.2.3. Analyse des données RAPD

La vérification du nombre de bandes pour chaque amorce a été faite par trois observateurs et un système binaire (1-0) représente la présence/absence respectivement a été adopté pour former la matrice de chaque amorce. Seules les bandes polymorphes ont été retenu pour l'analyse des donnés à l'aide du logiciel PAST par la méthode analysis cluster et l'indice de similarité de Jaccard. Les bandes monomorphes ne présentent aucune différence entre les isolats et ne donnent aucune information sur le polymorphisme.

Résultats et discussions

1. Enquête et échantillonnage

1.1. Prévalence de la maladie

Les résultats obtenus montrent que la maladie est présente dans les trois zones prospectées mais avec une prévalence variante d'une zone à une autre (Tableau 13).

La prévalence moyenne ne dépasse pas les 50% dans les trois zones prospectées. Ces résultats montrent effectivement, que PST possède une affinité importante pour les variétés de blé tendre par rapport au blé dur ceci est vérifié par le taux de prévalence qui est de 30,22% pour le blé tendre et n'est que de 0,58% chez le blé dur (Tableau n°13).

Tableau 13: Prévalence de la rouille jaune pour les trois zones prospectées

	Zone I		Zone II		Zone III		Total	
	Blé tendre	Blé dur	Blé tendre	Blé dur	Blé tendre	Blé dur	Blé tendre	Blé dur
Prospectées	9	20	17	57	11	9	37	86
Avec Rouille jaune	2	0	7	1	3	0	12	1
Prévalence (%)	22.22	0	41.17	1.75	27,27	0.00	30.22	0.58

Cette différence dans la prévalence semble aussi affectée par le gradient climatique comme le montre la figure ci-dessous (Figure n°13).

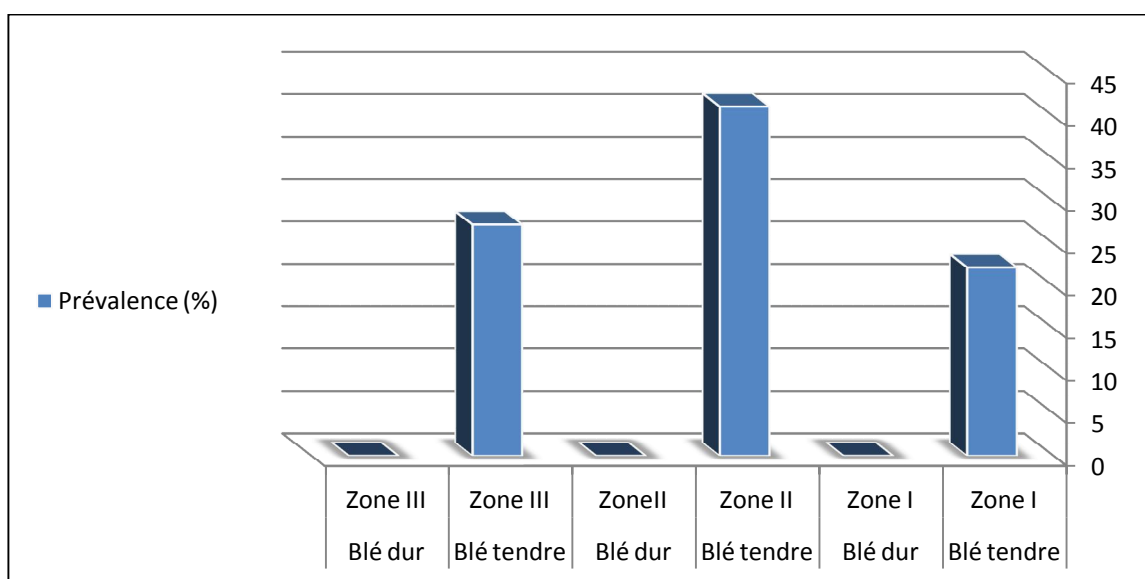


Figure 13: Prévalence de la rouille jaune selon les zones prospectées.

Ainsi, les parcelles de blé tendre situées dans la zone II ont présenté une prévalence de 41.17% alors qu'elle n'est que de 27,27 % dans la zone III et de 22,22% dans la zone I. Cette prévalence reste cependant inférieure à 1% dans le cas du blé dur dans les trois zones étudiées.

D'après nos prospections, La rouille jaune est fréquente sur le blé tendre dans notre région, ce qui explique le nombre faible des parcelles cultivées du blé tendre par rapport au blé dur. Malgré les conditions climatiques qui semblent favorables au développement de la maladie dans les zones I et III (étage climatique sub-humide et semi-aride froid) la zone II (semi-aride chaude) montre la prévalence la plus élevée. Ce qui pourrait être expliqué par le nombre d'interruption de la période humide suivie souvent par une longue période sèche. Alors que l'apparition des symptômes d'après nos prospections étaient à la fin du mois de Mars jusqu'à la fin de juin ou les périodes sèches sont fréquentes. En effet de Vallavieille-Pope et al. (1995) a déjà signalé ce phénomène sur *Puccinia striiformis f.sp. tritici* sur blé.

1.2. Incidence de la maladie

L'incidence de maladie a été évaluée selon les zones prospectées ainsi que la variété de blé tendre prospectées.

D'après les résultats obtenus, l'incidence moyenne de la maladie été de 77.93% pour le blé tendre et de 10% pour le blé dur sur l'ensemble des trois zones prospectées (Figure n°14).

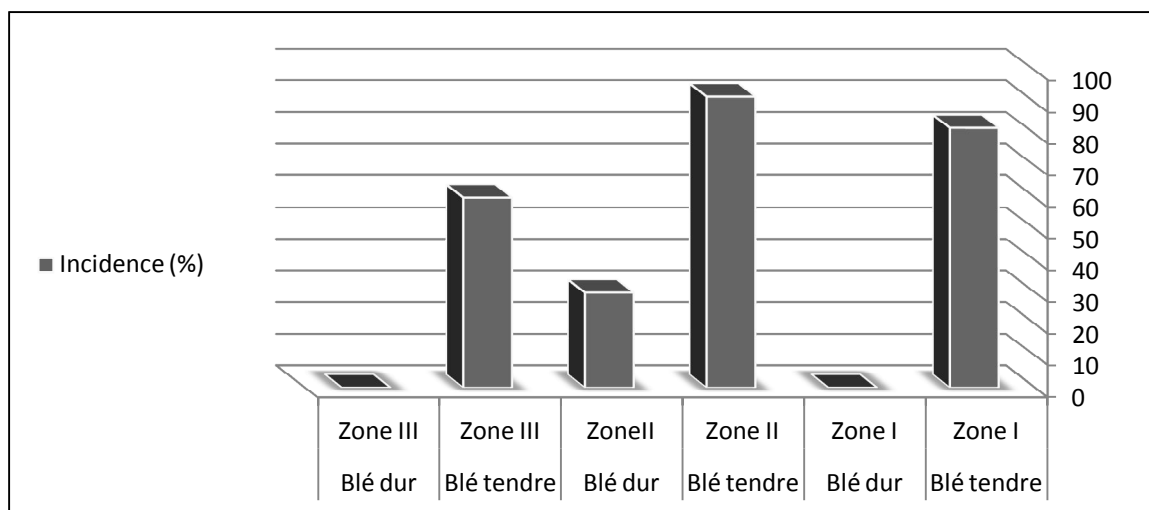


Figure 14: Incidence de la maladie (%) sur blé tendre et blé dur dans les trois zones prospectées.

Les cultures de blé tendre de la zone II ont présenté l'incidence de maladie la plus élevée (91.87%) suivies de la zone I avec une incidence de 81,92%. Pour la zone III, l'incidence moyenne est de 60% (Sd=0.34). Alors que cette incidence était nul dans le blé dur aussi bien dans les zones I et III (Figure n°14).

En se basant sur la variété du blé tendre les résultats obtenus montrent que l'incidence de maladie varie de 50% à 100%. La variété Anza et la variété HD1220 présentent une incidence de maladie de 100% suivie par la variété Arz et Salama avec une incidence de 95% et 90% respectivement alors que la variété Ain Abid présente l'incidence la plus faible avec 50%. La variété Acsad 885 présente une incidence non négligeable de 73,59% (Figure n°15).

D'autre part, il est important de noter que la variété Salama est inscrite comme une variété résistante selon le bulletin des variétés "Céréales" (CNCC, 2009), on a remarqué une forte incidence (90%). Par ailleurs, les parcelles ayant montrées une forte prévalence ont montré aussi une forte incidence.

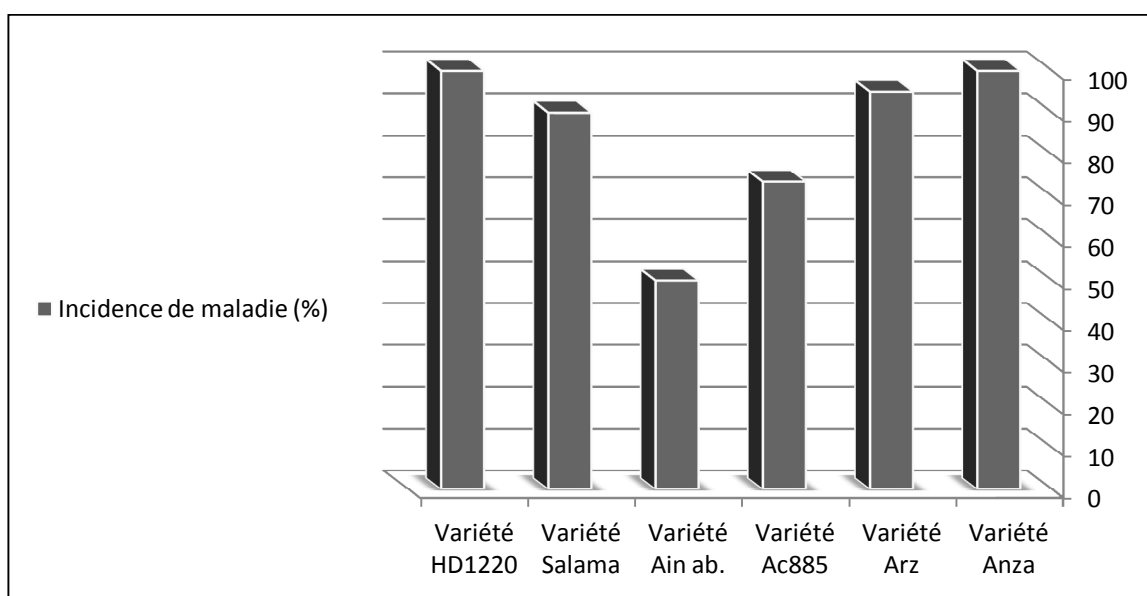


Figure 15: Incidence de maladie (%) selon les variétés cultivées.

1.1. Sévérité d'attaque

L'indice de maladie est calculé sur les deux dernières feuilles dans les trois zones prospectées.

En effet, la sévérité d'attaque a varié de 3,70 à 6,56 sur blé tendre pour les trois zones prospectées avec une moyenne de 5.32. Cet indice sur blé dur n'a été par contre que de 0.37 (Figure n°16).

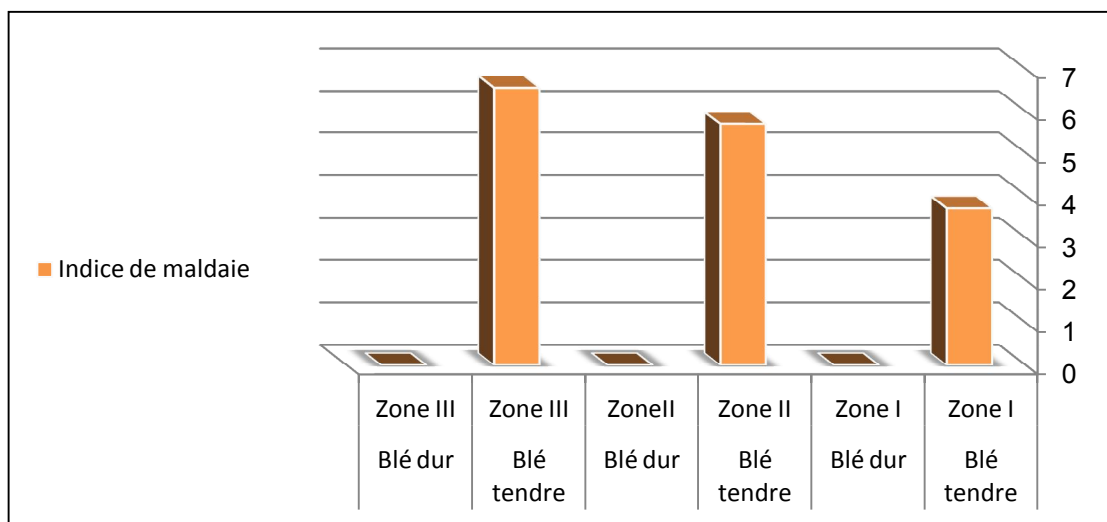


Figure 16: Indice de maladie sur blé tendre et blé dur dans les trois zones prospectées.

Par ailleurs, une variation dans l'indice de maladie a été notée entre les trois zones prospectées. Celui-ci est le plus élevé dans la zone III suivi de la zone II avec une valeur de 5,7. Cet indice n'est que de 3.70 dans la zone I. Le calcul des indices moyens par le regroupement des isolats selon les variétés touchées est présenté dans la figure n°17.

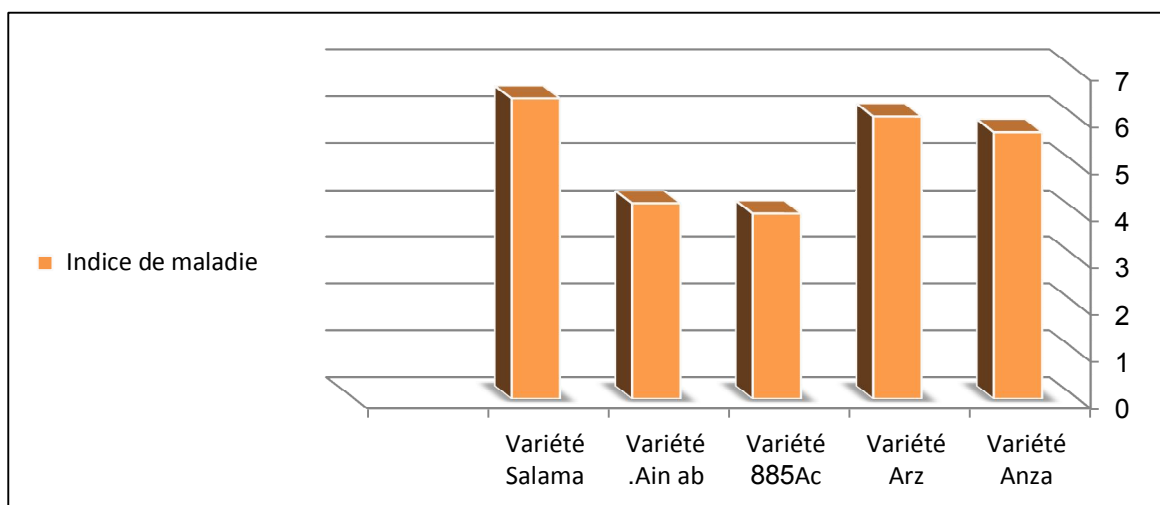


Figure 17: Indice de maladie sur variétés prospectées.

D'après les résultats obtenus la variété Salama présente l'indice le plus élevé 6,41 (Sd=0.22) suivie par la variété Arz et Anza avec une moyenne de 6,03 (Sd= 1.12) et 5.7 (Sd= 2.13) respectivement.

Cependant l'analyse de variance (ANOVA) n'a montré aucune différence significative entre les trois zones pour l'incidence de maladie et la sévérité. D'autre part, l'analyse n'a montré aucune corrélation entre l'incidence et l'indice de maladie.

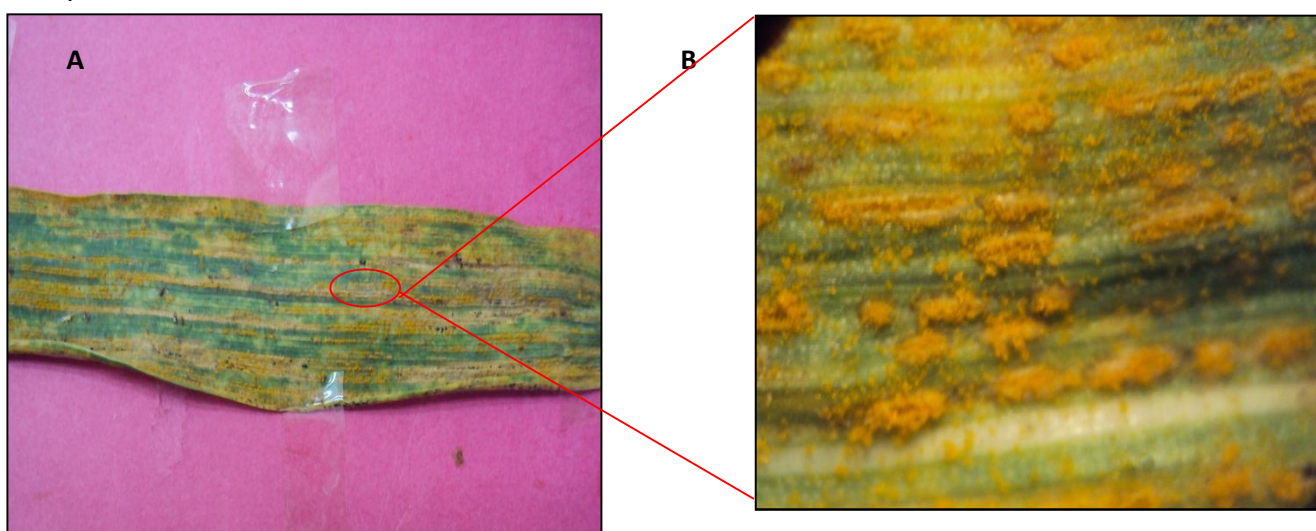
D'après ces résultats la rouille jaune apparait comme une maladie qui touche en grande partie les variétés du blé tendre (Sayoud et *al.*, 1999). Elle se présente dans les trois zones prospectées tandis que le blé dur ne montre aucune attaque par cette maladie sauf la variété Mexicali avec une faible attaque enregistrée,

2. Etude morpho-biométriques de *Puccinia striiformis f.sp. tritici*

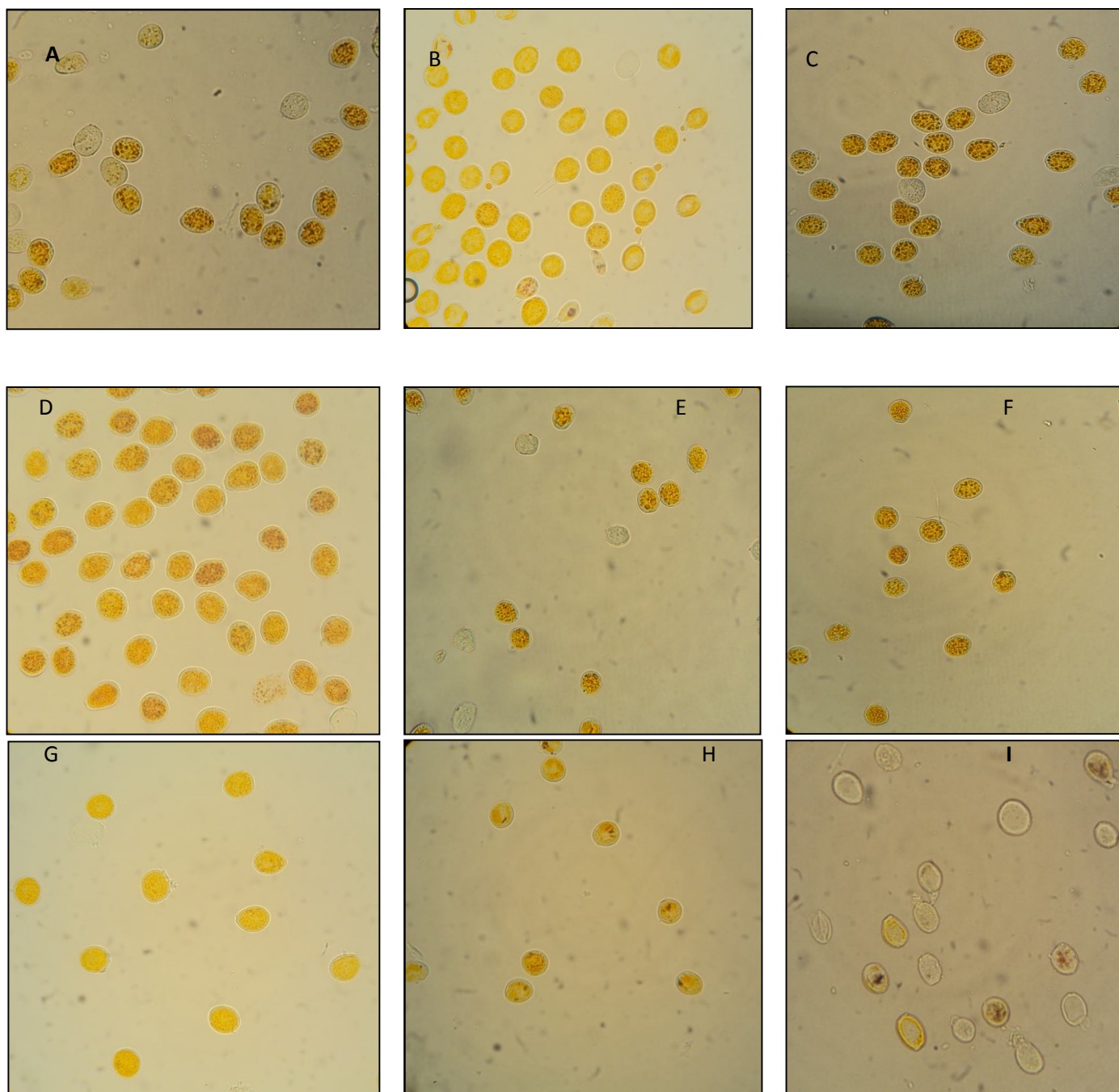
2.1. Mensuration des urédospores

Les échantillons récoltés lors de nos prospections montrent des symptômes typiques de la rouille jaune avec des fructifications arrangées sous forme de strie sur la face supérieur des feuilles, les pustules alignées contiennent les urédospores (Figure n°18).

Les mensurations ont été effectuées sur les deux types de spores à savoir les urédospores (forme de dissémination, Figure n°19) et téléospores (forme de conservation). Les différents paramètres descriptifs ont été mesurés par un logiciel de traitement d'image "imageJ".



Figures 18: Symptômes typiques des urédosores (urédies) sur feuille de blé tendre (**B= G:** x40).



Figures 19: Urédospores de quelques isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* observées sous microscope optique (G: x400). A: SY7 AN; B: SALST; C: ACT; D: SYAR; E: R BR; F: RHD; G: SALOM; H: SALDJ; I: SY3AN. Présence des paraphyses= spores incolores).

Les résultats des mensurations ont montré des variations entre les différents isolats obtenus des trois zones qui représentent des étages bioclimatiques différents. Ainsi la longueur des urédospores a varié entre 28.16 μm et 33.94 μm avec une moyenne de 30.51 μm (Sd= 2.75) (Figure n°20).

Les isolats de la zone II ont montré la longueur moyenne la plus élevée de 30.91 μm (Sd= 2.70). Parmi les isolats testés, l'isolat SALST de Sobha a montré une longueur maximale de 33.94 μm , Sd= 2,35). L'isolat SY3an de Medjadja, a montré quant à lui une faible longueur avec une moyenne de 28.16 (Sd= 2.53).

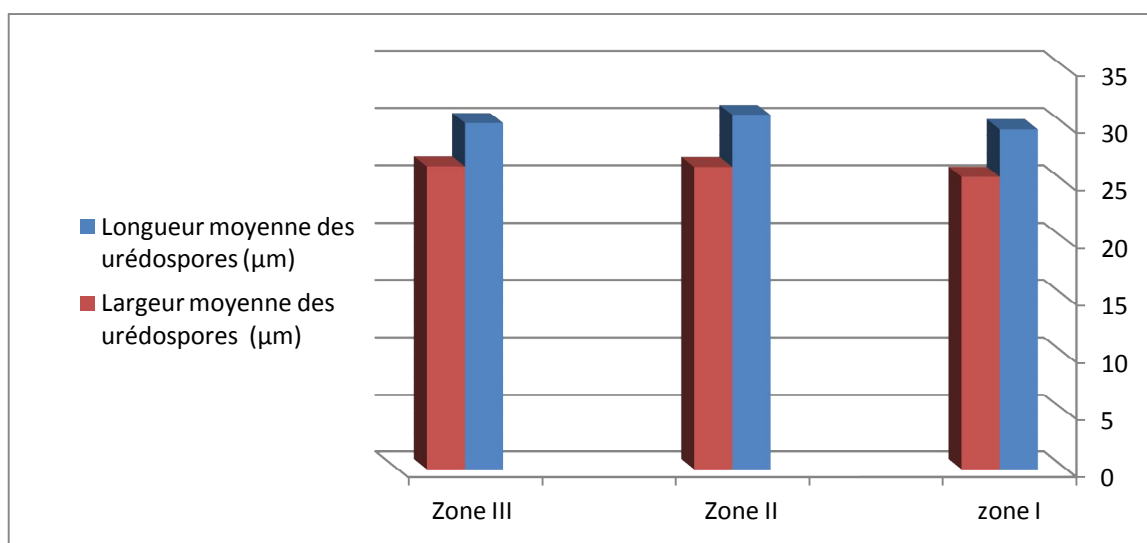


Figure 20: Comparaison de longueur et largeur des urédospores des isolats pour les trois zones prospectées.

La largeur des urédospores des isolats des trois zones présente une légère variation. Cette dernière varie entre 24,04 μm à 30.78 μm avec une moyenne de 26.18 μm (Sd= 2.32). L'isolat SALST de sobha a montré la largeur la plus élevée avec une moyenne de 30.78 μm (Sd= 1.67). Alors que l'isolat SYan2 présente la largeur la plus faible avec une moyenne de 24,04 μm (Sd=1.58).

D'autre part l'analyse de variance (ANOVA) a montré une différence significative pour la longueur et largeur entre les isolats au seuil de signification ($P < 0.05$) (Annexe n°03). Une corrélation a été notée entre la longueur et la largeur des urédospores des isolats testés. Ainsi, 16 isolats ont montré une corrélation positive allant de 0,103 et 0.510. Les autres par contre, ont montré soit une corrélation négative ou absence totale de corrélation (Annexe n°03).

Selon Baka et al., (2003), Anikster et al. (2005), les urédospores de PST présentent des longueurs de $26.2 \pm 0.6 \mu\text{m}$ et une largeur de $20.6 \pm 0.5 \mu\text{m}$. ces résultats confirment les notres.

D'autre part, Liu et Hambleton (2010) ont récemment travaillé sur la diversité de PST et ont suggéré une variation de $24.5 \mu\text{m}$ de longueur et $21.6 \mu\text{m}$ de largeur.

D'autre part, des variations ont été notées au niveau des aires des urédospores. L'aire a varié entre $536,99$ et $840,80 \mu\text{m}^2$ avec une moyenne de $643,51 \mu\text{m}^2$ ($Sd= 96,82$). Les isolats de la zone II présentent l'aire la plus élevée comparativement à celui des zones I et III (Figure n°21). Les urédospores de l'isolat SALST de Sobha a montré une valeur moyenne de $840,80 \mu\text{m}^2$ ($sd=84,9$), alors que l'isolat SY3an de Medjadja a présenté le plus faible aire de $536,99 \mu\text{m}^2$ ($sd=64.853$).

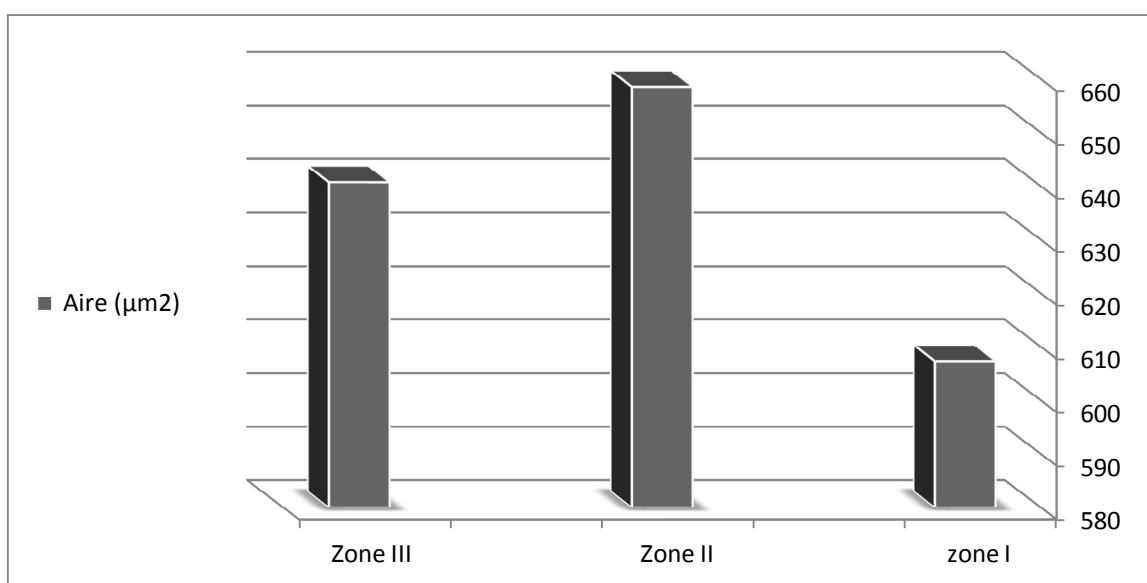


Figure 21: Comparaison de l'aire des urédospores des isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici*

Les valeurs moyennes des aires des urédospores chez les isolats de la zone III varient entre $569,05$ et $691,80 \mu\text{m}^2$ avec une moyenne de $640,78 \mu\text{m}^2$ ($Sd=63,94$) dont l'isolat AC 885 montre une aire maximale de $691,8 \mu\text{m}^2$.

L'analyse de variance (ANOVA) a montré une différence significative de l'aire entre les isolats au seuil de signification ($P < 0.05$) (Annexe n°03).

Les variations observées ont été déjà décrites par Anikster et al. (2005), ou ils considèrent que l'aire des urédospores chez PST est en moyenne de $380 \mu\text{m}^2$.

Quant aux valeurs moyennes des périmètres des urédospores, celle-ci varient entre $82,63 \mu\text{m}$ à $102,95 \mu\text{m}$ avec une moyenne de $90,22 \mu\text{m}$ ($Sd= 7.80$).

Les valeurs moyennes des périmètres des urédospores présentent des différences remarquables entre les zones prospectées (Figure n°22).

Dans la zone II, la valeur maximale a été notée chez l'isolat SALST (102,95 μm , Sd= 5.24) obtenu à partir de la localité de Sobha. Alors que la valeur minimale a été observée chez l'isolat Sy3an (82,63 μm , Sd= 5.17) obtenu à partir de la localité de Medjadja.

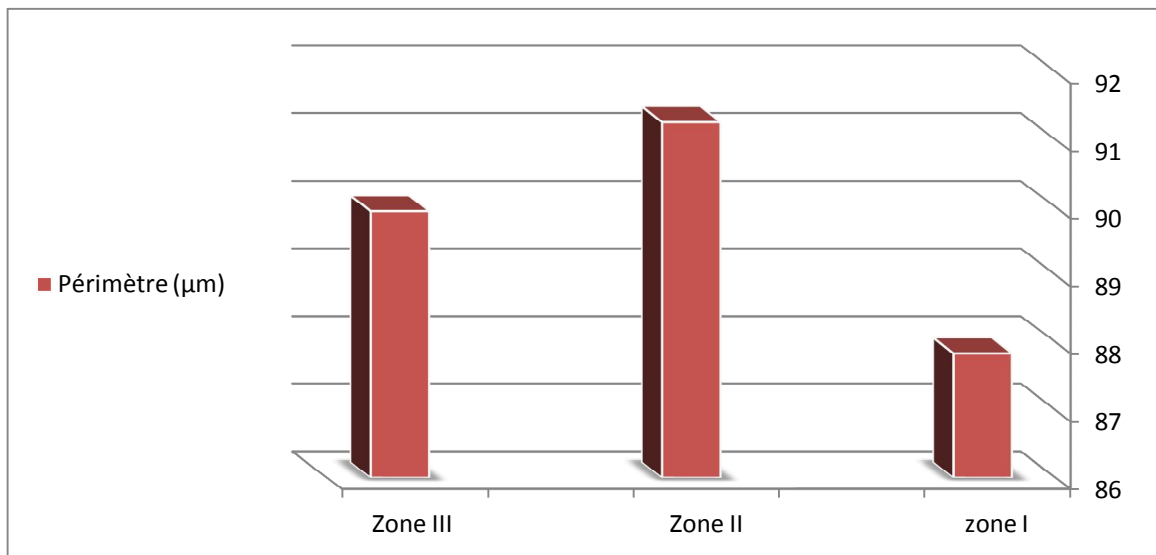


Figure 22: Comparaison de périmètres des urédospores chez les isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* dans les trois zones prospectées.

Pour déduire quels sont les paramètres qui participent à la caractérisation des urédospores de PST, une analyse en composantes principales (ACP) a été effectuée. En se basant sur le pourcentage de variance expliquée et le pourcentage cumulé de la variance, les résultats du tableau n°14 nous permettent de choisir les composantes principales contribuant à l'information.

Tableau n°14: Contribution des axes dans l'information expliquée (Urédospores).

	Valeur propre	variance%	cumulé%
F1	4,363	62,323	62,323
F2	1,117	15,952	78,275
F3	0,773	11,048	89,323
F4	0,744	10,626	99,949
F5	0,002	0,024	99,973
F6	0,001	0,021	99,994
F7	0,000	0,006	100,000

Le tableau n°15 montre que le premier axe (F1) explique à lui seul 62,32% de l'ensemble des paramètres descriptifs des caractères morphologiques des urédospores alors que le deuxième axe (F2) explique seulement 15,95% de cette variation. Le total de l'information expliquée par les deux premiers axes est de 78,27% (Dans le cas d'une ACP, cela revient à conserver les valeurs propres supérieurs à 1 ou conserver les axes qui expliquent au moins 75 à 80% de l'information). Ce qui est largement suffisant pour notre analyse. Le reste des composantes ont une part expliquée faible (moins de 10%).

La corrélation des variables avec les composantes principales (Tableau n° 15) montre que les variables étudiés (valeurs des coordonnées) les plus élevées en valeurs absolue sont ceux qui contribuent fortement à l'axe.

Tableau15: Corrélations entre les variables et les composantes principales (urédospores).

Variable	F1	F2
Longueur	0,903	0,302
Largeur	0,990	0,032
Aire	0,988	0,123
Périmètre	0,974	0,166
Elongation	-0,609	0,380
Circularité	-0,483	0,403
Rectangularité	-0,197	0,822

Du point de vue variable, on remarque que le premier axe (F1) est formé principalement par les descripteurs qui sont la largeur (0,99), l'aire (0,98) le périmètre (0,97) et la longueur (0,90) avec une corrélation positive.

Le deuxième axe est expliqué par les descripteurs de forme qui sont rectangularité, circularité, élongation qui présentent une corrélation négative avec le premier axe et qui contribue faiblement dans l'information (Tableau n°15).

Le cercle de corrélation (Figure n°23) établi entre les deux premiers axes confirme ce qui a été retenu de la matrice de corrélation (Annexe n°03).

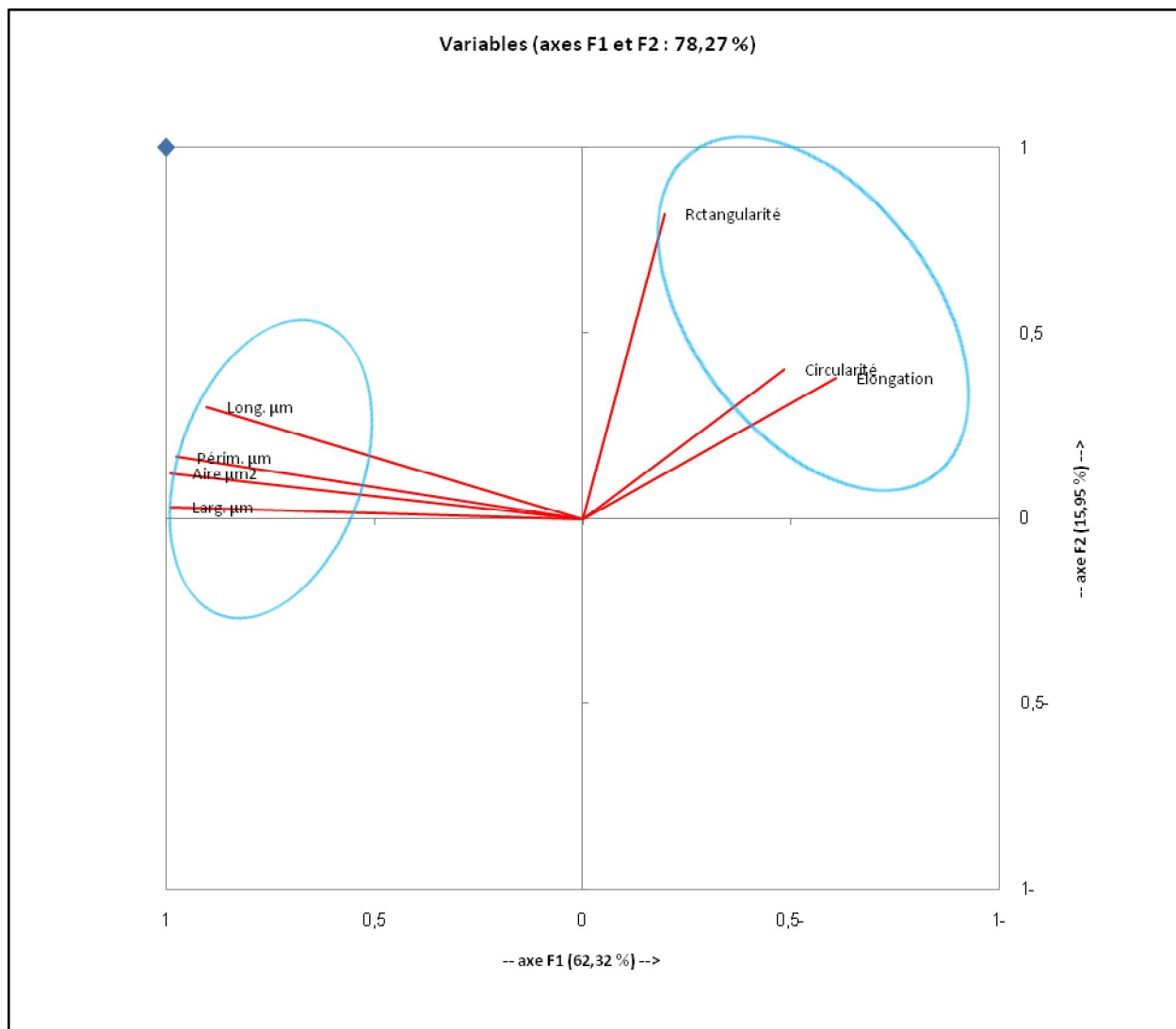


Figure 23: Projection des variables descriptives des urédospores sur le plan formé par les deux premiers axes.

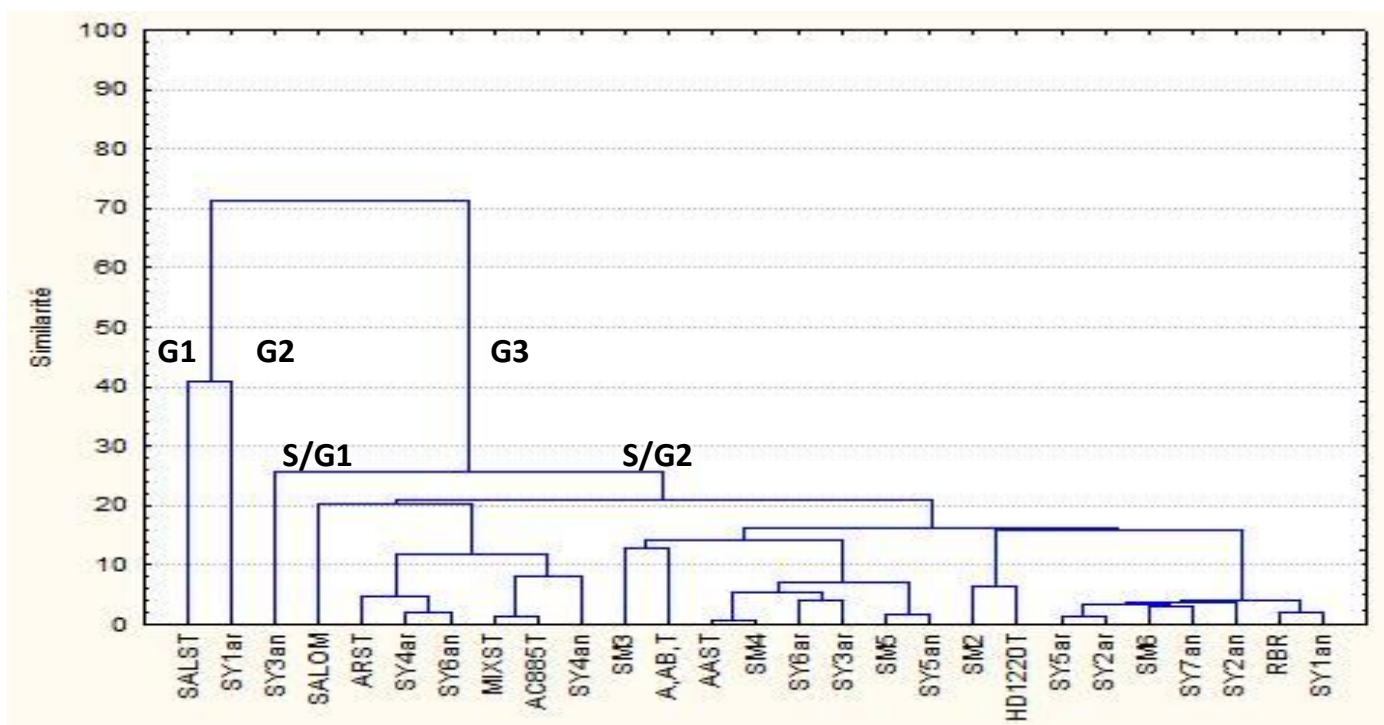


Figure 24: Dendrogramme de classification hiérarchique (utilisant la distance Euclidienne) des isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* basant sur les caractères morphologiques des urédospores.

Le dendrogramme présenté dans la figure n°24 illustre l'ampleur de la diversité relevée sur la base des caractères morphologiques des urédospores de 27 isolats de PST.

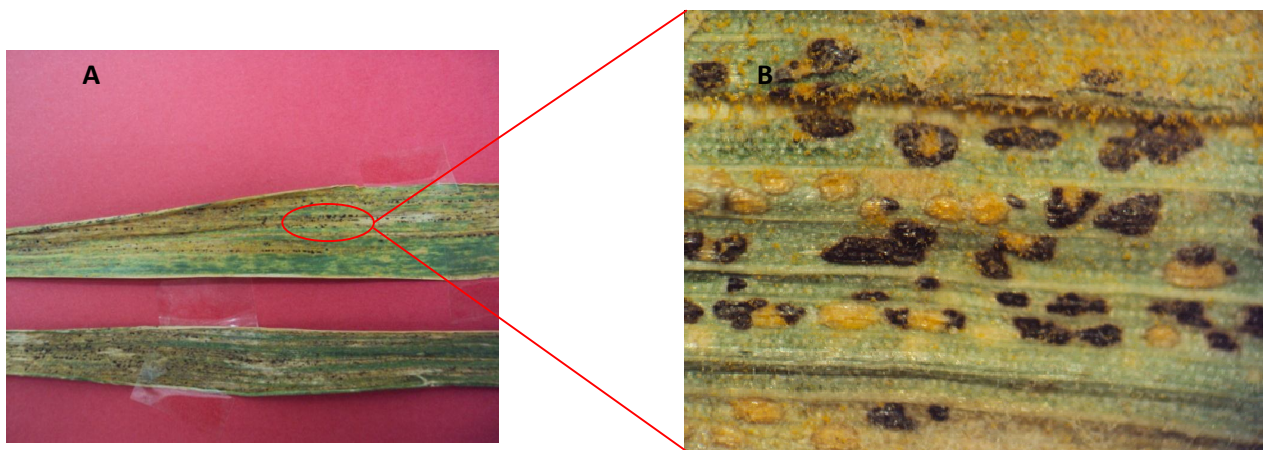
L'analyse discriminante par le calcul de distance Euclidienne (Logiciel Statistica V6.1) basé sur les caractères morphologiques des urédospores nous a permis de classer les isolats de PST en trois groupes (Cluster) selon le pourcentage de similarité à savoir groupe 1 (G1), groupe 2 (G2) et groupe 3 (G3) avec un pourcentage de similarité qui ne dépasse pas les 40% (Figure n°25). Le premier et le deuxième groupe renferment seulement l'isolat SALST et SYar1 respectivement avec une similarité de 40%. Le troisième groupe renferme 92% des isolats et se divise à son tour en deux sous groupes (26% de similarité), le premier sous groupe (S/G1) est représenté par l'isolat SY3an de la localité de Medjadja alors que le deuxième sous groupe (S/G2) renferme le reste des isolats des différentes localités (Figure n°25).

La distribution des isolats dans les différents groupes ne saurait être liée à leurs étages climatiques ou origines géographiques, puisque des isolats collectés dans une même localité peuvent présenter d'importantes différences dans leurs profils morphologiques spécifiques. C'est ainsi que les isolats de T.HD, T.AC885 et T.a.abid, collectés de même étage climatique (même zone géographique) se classent dans des sous-groupes différents, ce qui traduit bien les différences dans leur morphologie. Une situation similaire a également été relevée pour les isolats SYar1, 2, 3, 4, 5 collectés dans une autre localité de Medjadja (Chlef) mais qui ont bien montré leurs différences morphologiques. De même pour les isolats SALST et ARST de Sobha qui ont été trouvés dans des groupes différents.

En général, les urédospores ont une forme ellipsoïde et rarement, globuleuse, avec une couleur jaune pâle ou jaune orange.

2.2. Mensuration des téléospores

Les feuilles de quelques échantillons présentent des pustules indécrites de couleur noire, conséquence de la formation du stade téléutosores, entraînant plus tard la mort des feuilles (Figure n°25).



Figures 25: Symptômes typiques de début de formation des téléutosores sur feuille de blé tendre (B= G: X40).

Parmi l'ensemble des échantillons qui portent des symptômes de la rouille jaune seulement 12 isolats ont présenté des téléutosores avec téléospores. Les isolats obtenus ont été regroupés selon l'étage bioclimatique de chaque zone de provenance.

La classification classique est basée principalement sur la morphologie des spores et la fructification, principalement la morphologie des teliospores (généralement deux cellules pour *Puccinia*, unicellulaires pour les espèces *Uromyces* (Voegele et al., 2009).

La présence des téléutosores sur feuilles du blé tendre montre qu'il y a un hôte alternatif dans notre région qui reste inconnu, puisque les teliospores produisent des basidiospores qui vont à leur tour germer sur l'hôte.

Morphologiquement, les observations microscopiques montrent que les téléospores de nos isolats ont une forme de clavète et se composent par deux cellules, une cellule basale parfois large et de couleur jaune pâle ou jaune foncé avec la présence d'une teinte marron et une cellule apicale dans la plus part des cas s'étroite comme une bouteille, de couleur jaune, cette dernière est attaché par un pédicelle de différentes longueurs. Dans des cas rares, on observe des teliospores qui se composent par une seule cellule (Figure n°26).

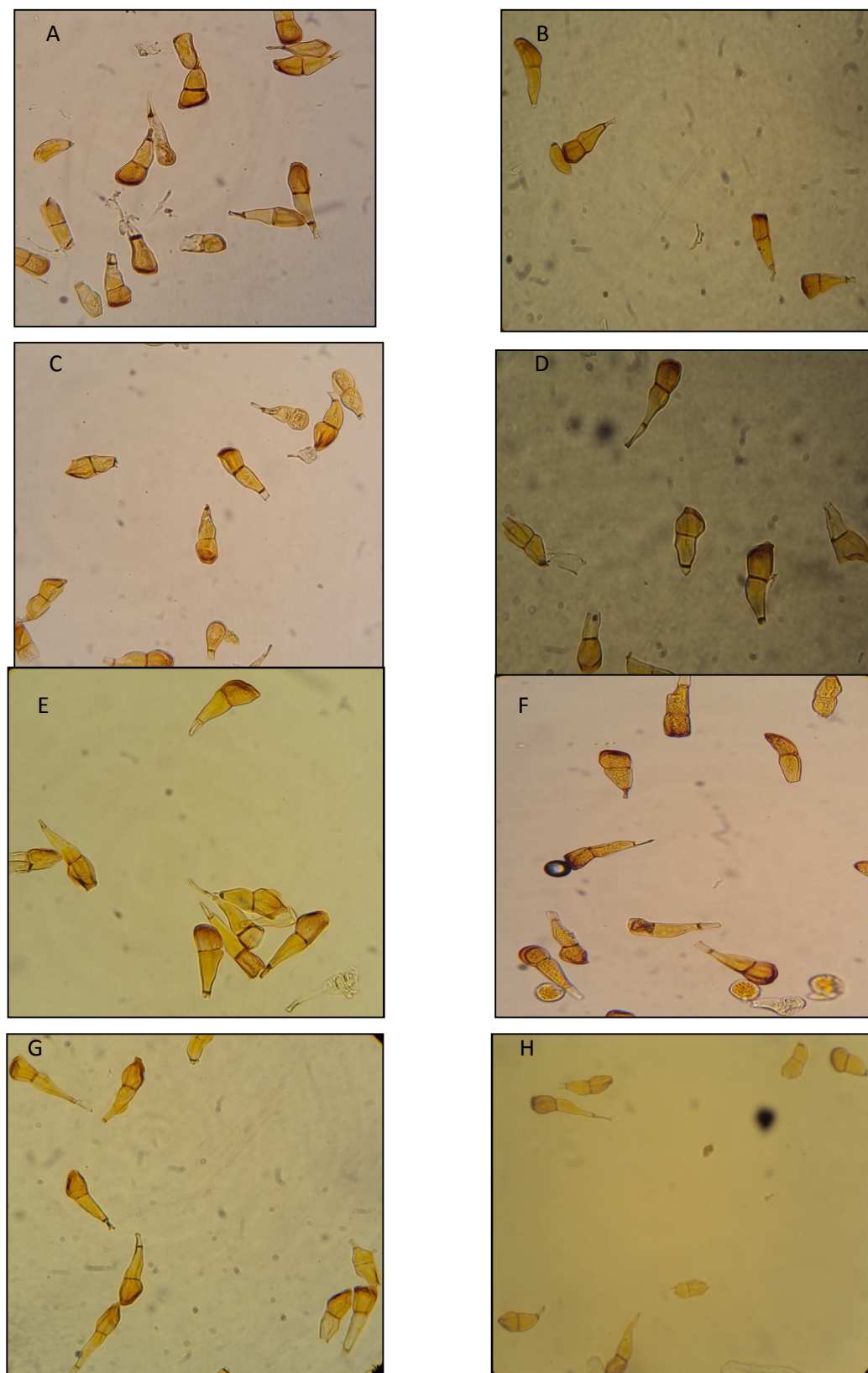


Figure 26: Téléspores de quelques isolats de *Puccinia striiformis f.sp tritici* observées sous microscope optique (G:X400) **A:** SY7 AN; **B:** SALST; **C:** ACT; **D:** SYAR; **E:** R BR; **F:** THD **G:** SALOM; **H:** RDJ.

Les résultats de mensuration ont montré des variations entre les différents isolats. Ainsi la longueur des téléspores varie de 54,68 à 67,97 μm avec une longueur moyenne de 61.19 μm (Sd= 9.67). Les téléspores obtenus de la zone II à climat semi-aride chaud ont montré une longueur plus élevée (Figure n°27). Parmi les isolats testés, l'isolat SALOM de Oum Drou a montré une longueur maximale de 67,97 μm (Sd= 9.82). Par contre l'isolat SALST de la localité de Sobha a montré la longueur la plus faible avec une moyenne de 54.68 μm (Sd= 8.55).

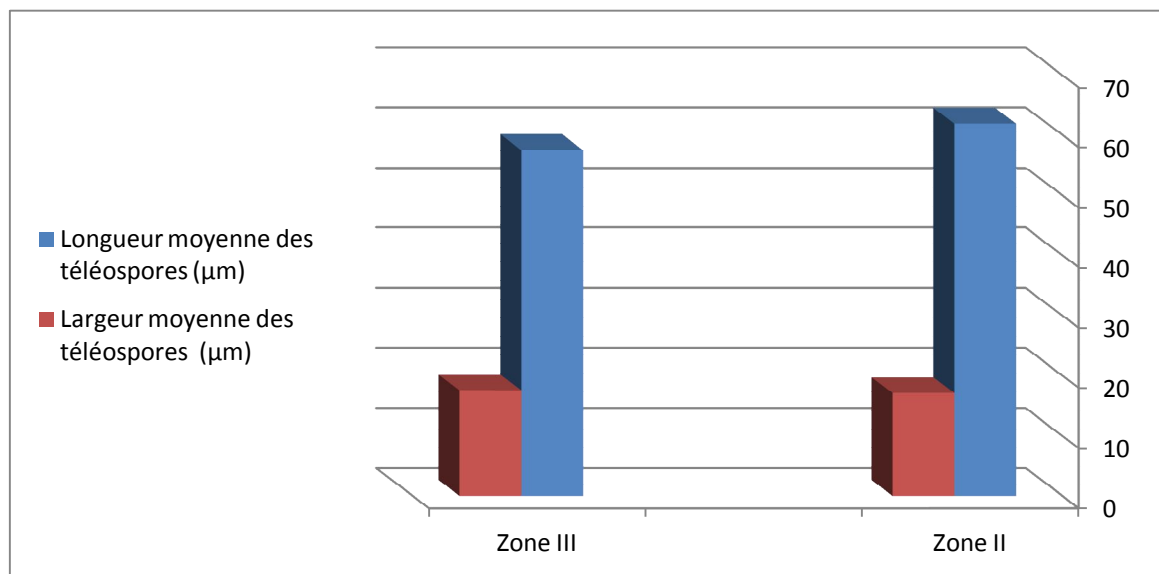


Figure 27: Comparaison de longueur et largeur moyennes des téléspores des isolats pour les deux zones prospectées.

D'autre part, les mensurations n'ont montré aucune différence dans la largeur des téléspores pour les deux zones étudiées. Néanmoins la largeur des téléspores varie entre 19.05 μm et 15.89 μm avec une moyenne de 17.17 μm (Sd= 2.64). Parmi les isolats testés, l'isolat SY7an de la localité de Medjadja a montré une largeur maximale de 19.05 μm (Sd= 2.65) suivie par l'isolat T.AC885 de la localité de Sebain (Tiaret) de la zone semi-aride froide avec une moyenne de 18.13 μm (Sd=2.71). Par contre les teliospores de l'isolat SY2an de la localité de Medjadja a présenté la largeur la plus faible (15,89 μm , Sd= 2.77).

L'analyse de la variance a montré une différence significative ($P < 0.05$) entre les isolats. Une corrélation négative a été enregistrée entre la longueur et la largeur des teliospores (Annexe n°03).

Les paramètres calculés (élongation, rectangularité) ont révélé des différences significatives entre les téléspores de nos isolats. L'élongation (rapport entre la longueur et la largeur) présente une corrélation positive avec la longueur et une forte corrélation négative avec la largeur des teliospores. Le degré de rectangularité des teliospores montre une corrélation positive avec la largeur des teliospores..

Selon Anikster *et al.* (2005), la longueur moyenne des teliospores de *Puccinia striiformis* était de 49.4µm alors que Liu et Hambleton (2010) ont présenté des longueurs de 31 à 56 µm. Ainsi, ces auteurs ont fourni des résultats de largeur allant de 18.1 à 25µm. Ces résultats confirment les nôtres. D'autre part, Anikster *et al.* (2005) ont suggéré une forte corrélation négative entre longueur et largeur des teliospores.

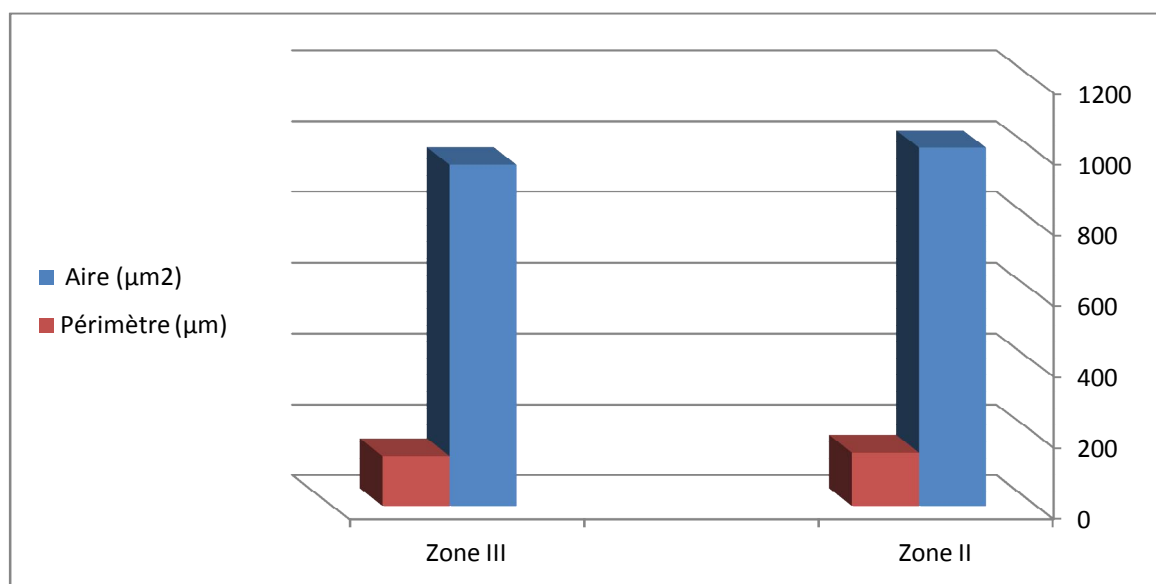


Figure 28: Comparaison d'aire et périmètre des téléspores des isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* selon la zone de prospection.

Des variations ont été notées entre les isolats de deux zones aussi bien au niveau de l'aire que de périmètre. Ainsi, les valeurs moyennes des aires des teliospores varient entre 872,31 et 1098,62 µm² avec une moyenne de 1002,15 µm² (Sd= 149.66). Les isolats obtenus de la zone II, ont montré les valeurs les plus élevées aussi bien pour l'aire que pour le périmètre (Figure n°28).

La valeur maximale d'aire a été noté chez l'isolat Sy5an de la localité de Medjadja avec une moyenne de 1098,62 µm² (Sd= 172,84). Alors que la valeur minimale a été observé chez l'isolat SALST (872,31 µm² Sd= 121,18). Ces résultats ont été confirmés par l'analyse de la variance, au seuil de signification de 5% ($P \leq 0.05$).

Par ailleurs le périmètre des téléspores a varié entre 161,25 et 133,89 μm avec une moyenne de 148,84 μm (Sd= 19.12). Les valeurs moyennes dans les deux zones sont non significatives (Figure n°28).

Anikster et *al.* (2005), ont suggéré une valeur de l'aire des téléspores qui est de 703 μm^2 .

L'analyse de variance a montré une différence significative entre les teliospores de différents isolats au seuil ($P < 0.05$). La matrice de corrélation entre les paramètres montre une forte corrélation positive entre le périmètre et la longueur et l'aire (Annexe n°03).

Une analyse en composantes principales (ACP) a été effectuée pour choisir les composantes principales contribuant à la caractérisation morphologique des teliospores.

Tableau n°16: Contribution des axes dans l'information expliquée (Téléspores).

	Valeur propre	Variance%	Cumulé%
F1	3,505	58,422	58,422
F2	1,854	30,895	89,318
F3	0,628	10,462	99,780
F4	0,008	0,127	99,907
F5	0,005	0,086	99,993
F6	0,000	0,007	100,000

Le tableau n° 16 montre que le premier axe (F1) explique 58,42% de l'information alors que le deuxième axe (F2) explique 30,89%, le cumule est donc 89,31% ce qui est suffisant dans l'analyse des composantes principales (ACP) le reste des valeurs contribue faiblement dans l'information.

La corrélation des variables avec les composantes principales (Tableau n°17) montre que les variables étudiés les plus élevées en valeurs absolue sont ceux qui contribuent fortement à l'axe.

Tableau 17: Corrélation entre les variables et les composantes principales (Téliospores).

	F1	F2
Longueur	0,974	0,192
Largeur	-0,523	0,815
Aire	0,668	0,672
Perimètre	0,955	0,285
Elongation	0,926	-0,319
Rectangularité	-0,260	0,719

Le premier axe est formé principalement par les valeurs moyennes de longueur (0,97), le périmètre (0,95) et l'élongation des teliospores (0,92) et le deuxième axe regroupe les valeurs moyennes de la largeur (0,81) et la rectangularité (0,71) (Tableau n°17).

Le cercle de corrélation établi entre les deux premiers axes confirme ce qui a été retenu de la matrice de corrélation (Figure n° 29).

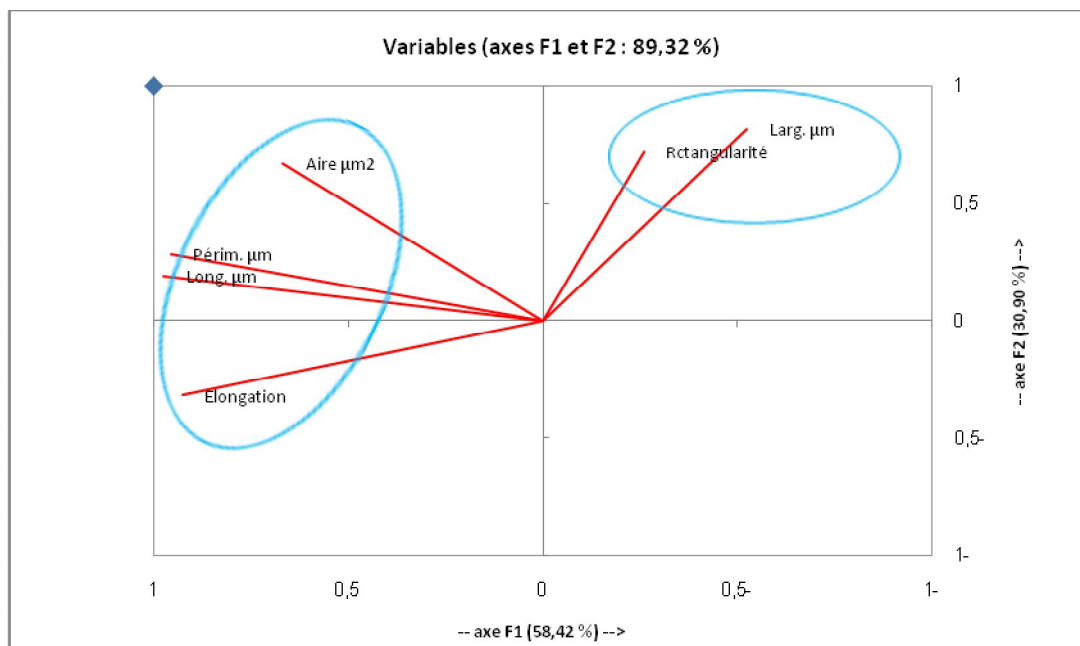


Figure 29: Projection des variables descriptives des teliospores sur le plan formé par les deux premiers axes.

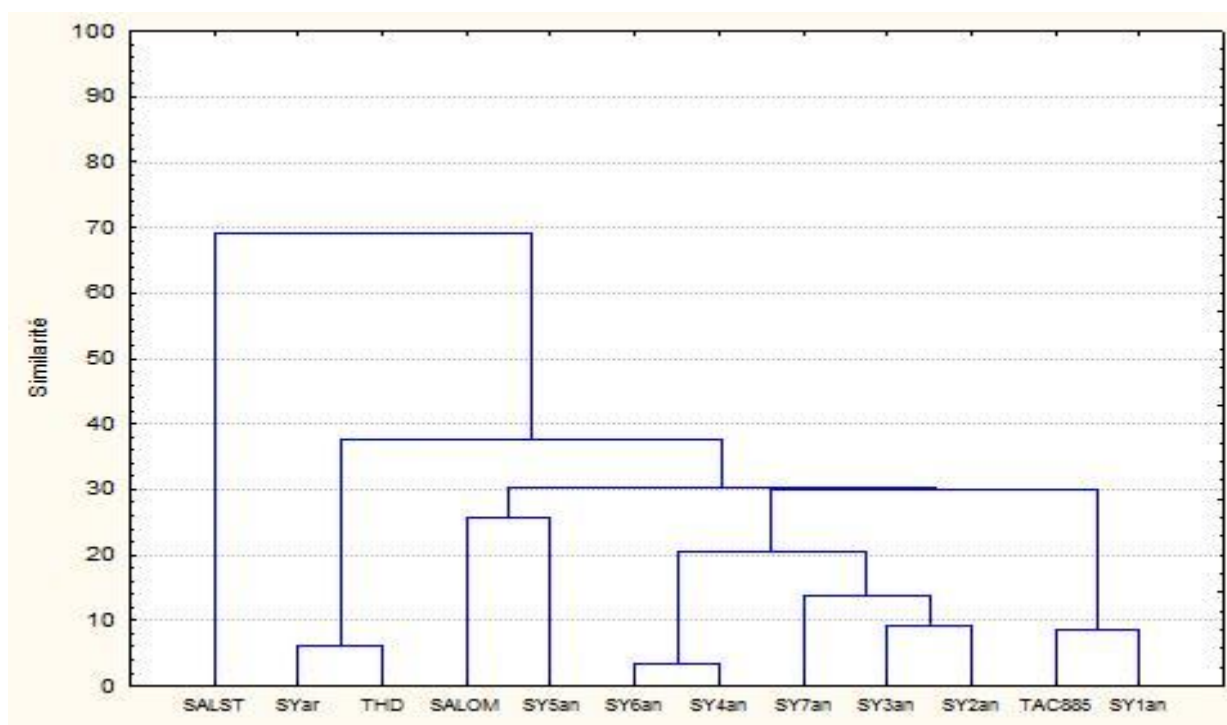


Figure 30: Dendrogramme de classification hiérarchique (utilisant la distance Euclidienne) de 12 isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* basant sur les caractères morphologiques des teliospores.

Le dendrogramme de classification hiérarchique des isolats selon les paramètres mesurés des teliospores tout en basant sur la distance Euclidienne nous a permis de classer les isolats en trois groupes avec une similarité qui ne dépasse pas 38%. Le premier groupe (**G1**) renferme un seul isolat SALST de la localité de Sobha qui apparaît fort éloigné aux autres isolats, le deuxième groupe (**G2**) renferme l'isolat SYar de Medjadja et l'isolat T.HD de Tiaret avec une dissimilarité de plus de 90% entre les deux groupes (Figure n°30). Le groupe trois renferme la majorité des isolats.

La similarité entre les isolats SY2, 3, 4, 5, 6, 7an de Medjadja et d'Oum Drou peut être expliqué par la distance géographique proche. Alors que les isolats provenant de la zone III semi-aride froide se trouve dans des groupes différents. Alors que ce n'est pas le cas pour les urédospores.

3. Etude de polymorphisme moléculaire de *Puccinia striiformis f.sp. tritici*

3.1 Dosage de l'ADN

3.1.1. Pureté de l'ADN extrait

Les résultats d'extraction d'ADN des isolats collectés de différentes localités sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau n°18):

Tableau 18: Qualité et quantité d'ADN extrait à partir de 10 isolats; **a:** *Puccinia striiformis f.sp. tritici*, **b:** *Puccinia recondita*.

Isolat	<i>SAOD</i> ^a	<i>SAST</i> ^a	<i>ARST</i> ^a	<i>ANSY</i> ^a	<i>INBR</i> ^a	<i>AABT</i> ^a	<i>SADJ</i> ^a	<i>ARSY</i> ^a	<i>RHDT</i> ^a	<i>RBSY</i> ^b
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
A260	0.248	0.244	0.223	0.321	0.293	0.295	0.241	0.249	0.280	0.266
A280	0.261	0.261	0.237	0.345	0.311	0.315	0.255	0.263	0.297	0.281
Rapport A260/280	0.947	0.935	0.941	0.930	0.942	0.937	0.945	0.947	0.943	0.947
Quantité de l'ADN (ng/μl)	1240	1220	1115	1605	1465	1475	1205	1245	1400	1330

En effet la qualité d'ADN de 10 isolats testés a été vérifiée par deux méthodes. D'abord par le calcul du rapport DO260/DO280 (Tableau n°21). Cette valeur s'est située entre 0.930 et 0.947, ce qui semble être hors de l'intervalle de pureté qui est entre 1.8 et 2.0. C'est probablement dû à la présence des protéines dans la solution d'ADN (Sonnier, 1999).

Concernant l'estimation de la qualité d'ADN par migration sur gel d'agarose, nous avons pu noter assez intense pour l'ensemble des isolats (Figure n°32).

Néanmoins, la quantité d'ADN obtenue pour chaque isolat semble être très satisfaisante pour procurer des analyses moléculaires (Tableau n°18).

3.2. Résultat des Produits d'amplification de région ITS (*Internal Transcribed Spacer*)

Dans cette partie d'étude nous avons utilisé les amorces spécifiques de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* développés par Zhao et al. (2007) à partir des régions ITS d'ADN ribosomal (rADN). Pour confirmer que nos isolats prélevés à partir des feuilles du blé qui présentent les symptômes typiques de la rouille jaune sur champs appartiennent à l'espèce de *Puccinia striiformis f.sp. tritici*, nous avons réalisé une amplification avec une amorce PSF et PSR.

Le résultat d'amplification d'ADN de nos isolats s'est caractérisé par l'apparition d'une bande d'environ 169 Pb (Figure n°31), alors que l'amplifié d'ADN de *Puccinia recondita* n'avait développé aucune bande. Ainsi, aucun produit PCR n'a été obtenu à partir du contrôle négatif.



Figure 31: Gel d'agarose montrant une bande spécifique amplifiée par PCR avec les amorces forward (PSF) et reverse (PSR) spécifique pour *Puccinia striiformis f.sp. tritici* (1 à 09) et non pas à *Puccinia recondita* (10). Les produits de PCR ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 0.8%. **M:** Marqueur de taille (DNA Ladder Sigma: 100 Pb), **CN:** Control négatif (eau distillé stérile).

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Zhao et al. (2007) et montrent que ces amorces PSF et PSR sont spécifiques au PST.

En effet, l'utilisation de ces amorces peuvent servir comme indicateur de présence de pathogène et l'identification des espèces même avant l'apparition des symptômes, une faible quantité d'ADN est nécessaire pour la fiabilité de l'amplification par PCR (Ge et Guo, 2003, Yang et al., 2003, Zhang et al. 2005).

3.3. Résultats et analyse des produits RAPD

La technique RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) consiste à amplifier, au hasard dans le génome, des régions codantes et/ou non codantes délimitées à chaque extrémité par des sites de fixation inversés d'un oligonucléotide de séquence connue mais aléatoire.

Cette partie d'étude a été réalisée dans le but de mettre en évidence l'existence ou non d'un polymorphisme génétique intra-spécifique.

Pour l'étude du polymorphisme, le marqueur nucléaire RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) a été choisi en utilisant quatre amorces aléatoires (Annexe n°04) qui ont répondu positivement en nombre de bandes et se sont avérées polymorphes par rapport aux amorces testés (neuf amorces).

- **Amorce OPA-03:**

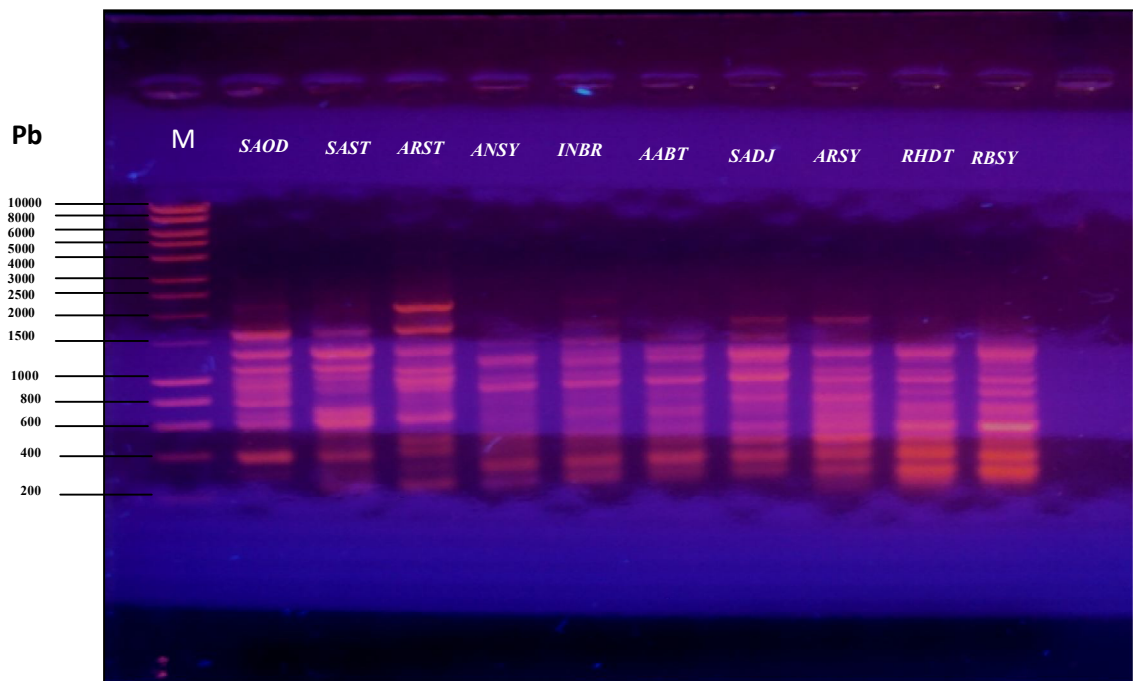


Figure 32: Diagramme électrophorétique RAPD (Révélation des fragments amplifiés pour les neuf isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* 1-9 et un isolat de *Puccinia recondita*) généré par l'amorce OPA-03, M: Marqueur de taille (DNA Ladder 200Pb).

L'électrophorèse a montré la révélation de 24 bandes d'amplifiats des 10 isolats étudiés avec une intensité suffisante pour la majorité des bandes (Figure n°32). Le nombre moyen des bandes par isolat est de 09. La taille des fragments générés par cette amorce varie entre 260 et 2250Pb avec un pourcentage de polymorphisme de 95.83%.

Les 10 isolats ont présenté une migration répartie presque sur tous les différents niveaux. Les isolats SAOD de Oum Drou et ARST de Sobha révèlent le nombre maximal des bandes, 12 fragments dont 11 sont polymorphes et une bande monomorphe (un fragment est présent dans tous les isolats au niveau de PM=10000). Dans les 11 bandes polymorphes on remarque 05 bandes communes entre les deux isolats qui correspondent aux numéros 2, 8, 10, 12, 15, alors que la bande numéro 05 apparaît spécifique à l'isolat ARST (Annexe n°06), par contre les isolats SAST de Sobha et SADJ de Djelida (Ain Defla) ont un nombre total des bandes de 11 avec 10 bandes polymorphes dont 06 bandes sont communes entre les deux isolats. L'isolat INBR provient de Beni Rached a révélé 10 bandes, 09 bandes sont polymorphes dont la bande numéro 01 est spécifique de cet isolat avec un PM=2250Pb. Les autres bandes sont dispersées aléatoirement.

L'isolat ANSY de la localité de Medjadja a montré le nombre des bandes le plus faible (06 bandes).

- **Amorce OPA-04:**

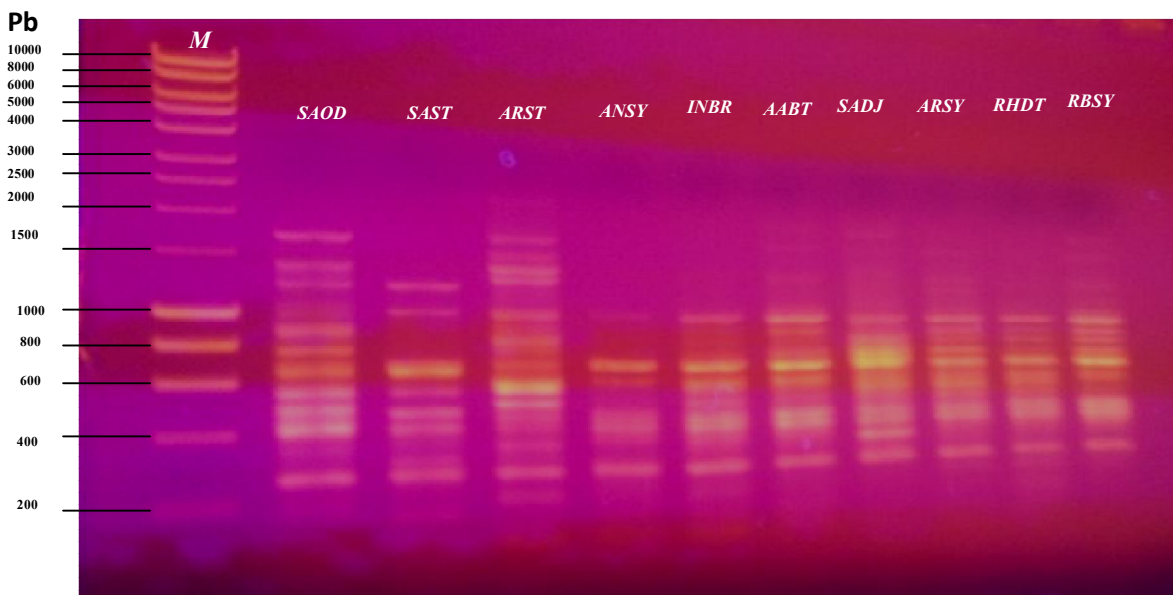


Figure 33: Diagramme électrophorétique RAPD (Révélation des fragments amplifiés pour les neuf isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* 1-9 et un isolat de *Puccinia recondita*) généré par l'amorce OPA-04, M: Marqueur de taille (DNA Ladder 200Pb).

L'électrophorèse a révélé la présence de 28 bandes générées par la l'amorce OPA-04 (figure n°33, Annexe n°05) dont la taille varie entre 200 et 1700 Pb. Le nombre moyen des bandes était de 13 bandes par isolat. Le nombre des bandes polymorphe est de 25 soit un pourcentage de polymorphisme de 89.28% alors on remarque la présence de trois bandes monomorphe 7, 12, 18 avec un PM 1000Pb, 700Pb, 500Pb respectivement.

L'isolat ARST de sobha a présenté le nombre le plus élevé des fragments amplifiés par cette amorce (19 bandes), le poids moléculaire de ces fragments varie entre 210 et 1700 Pbs. Parmi ces bandes 16 bandes sont montrées polymorphes dont deux bandes apparaissent spécifiques (bande numéro 03 avec PM environ 1490Pb et la bande numéro 27 avec PM environ 210Pb), suivi par l'isolat SAOD d'Oum Drou avec un nombre de 17 bandes (14 sont polymorphes). D'autre part, l'isolat ARSY de Medjadja enregistre un nombre de bande égale à 15 dont 12 sont polymorphes.

Les isolats AABT, RHDT de Tiaret et RBSY (*Puccinia recondita*) révèlent 13 bandes pour chacun dont dix sont polymorphes. On remarque que ces trois isolats présentent des bandes communes à savoir les bandes numéro 08, 09, 10, 11, 12, 14 (Annexe n°05).

L'amplifiat de l'isolat ANSY provenant de Medjadja a généré le nombre le plus faible de bande (09 bandes) dont 06 sont polymorphes.

D'après les résultats obtenus on remarque que les bandes polymorphes numéro 08, 09, 10, 11, 12, 14, sont communes entre les isolats AABT, SADJ, ARSY, RHDT, RBSY (Figure n°33, Annexe n°05).

Cette amorce a permis la révélation d'un nombre un peu élevé des bandes par rapport de l'amorce OPA-03 mais avec moins de polymorphisme par rapport a cette dernière.

- **Amorce OPA-07:**

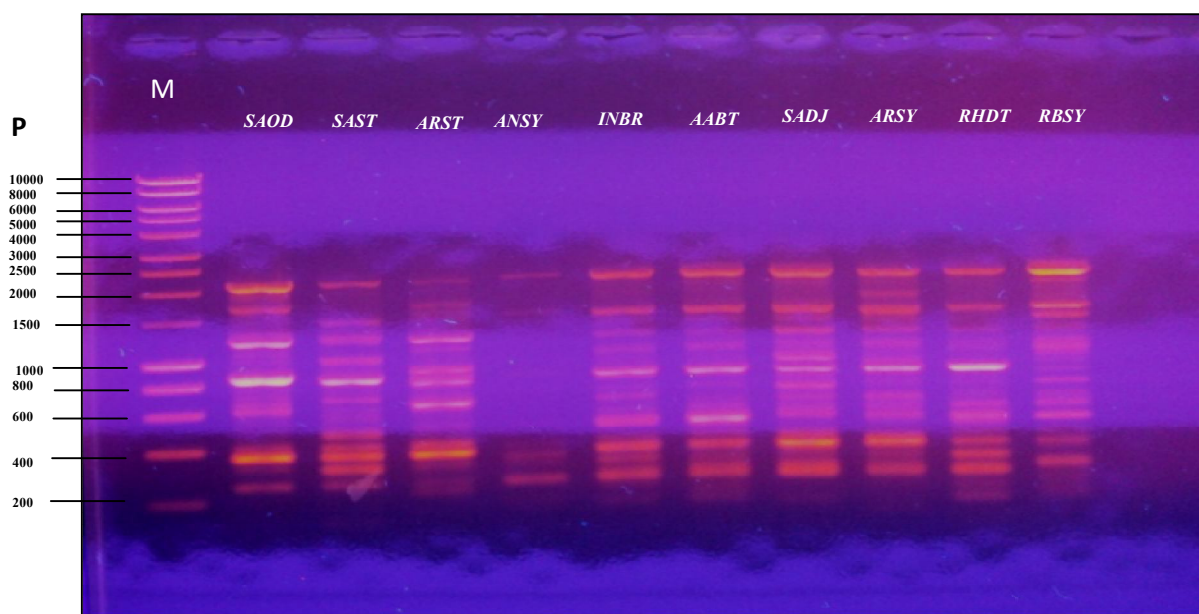


Figure 34: Diagramme électrophorétique RAPD (Révélation des fragments amplifiés pour les neuf isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* 1-9 et un isolat de *Puccinia recondita*-10-) généré par l'amorce OPA-07, M: Marqueur de taille (DNA Ladder 200Pb).

L'électrophorèse a montré la présence de 29 bandes générées par l'utilisation de l'amorce OPA-07 sur différents niveaux selon leurs poids moléculaire. Un nombre moyen de 10 bandes a été enregistré. Le poids moléculaire des bandes varie de 250 à 2500Pb. Le taux de polymorphisme de cette amorce est de 96.55%. On remarque la présence d'une seule bande monomorphe d'environ 400Pb (Figure n°34).

Les isolats SAOD de Oum Drou, SAST de Sobha et INBR de Beni Rached présentent un nombre maximal de bande dont 12 bandes pour chacun. Les bandes numérotées 17, 26, 27, 29 correspondant aux poids moléculaires 800, 390, 370Pb, 250Pb sont communes (Annexe n°05).

Les résultats d'électrophorèse par l'utilisation de l'amorce OPA-07 montrent la présence d'un nombre de bande égale à 11 pour les isolats ARST de Sobha (Chlef), SADJ de Djelida (Ain Defla), ARSY de Medjadja (Chlef) et RBSY de Medjadja (Chlef) dont les numéros des bandes 1, 9, 11, 17, 21 correspondent aux poids moléculaires 2500Pb, 1490Pb, 1350Pb, 800Pb, 600Pb sont communes entre les isolats SADJ de Djelida (Ain Defla), ARSY de Medjadja (Chlef) et RBSY de Medjadja (Chlef). Alors qu'un nombre de bande égale à 10 pour les isolats AABT et RHDT de Tiaret, ces isolats présentent des bandes commune à savoir 1, 9, 21, 25, 27, 29 qui correspondent aux poids moléculaires 2500Pb, 1490Pb, 600Pb, 400Pb, 370Pb, 250Pb respectivement. L'isolat ANSY de Medjadja a montré le nombre le plus faible des bandes (05 bandes) générées par l'amorce OPA7.

- **Amorce OPW-12:**

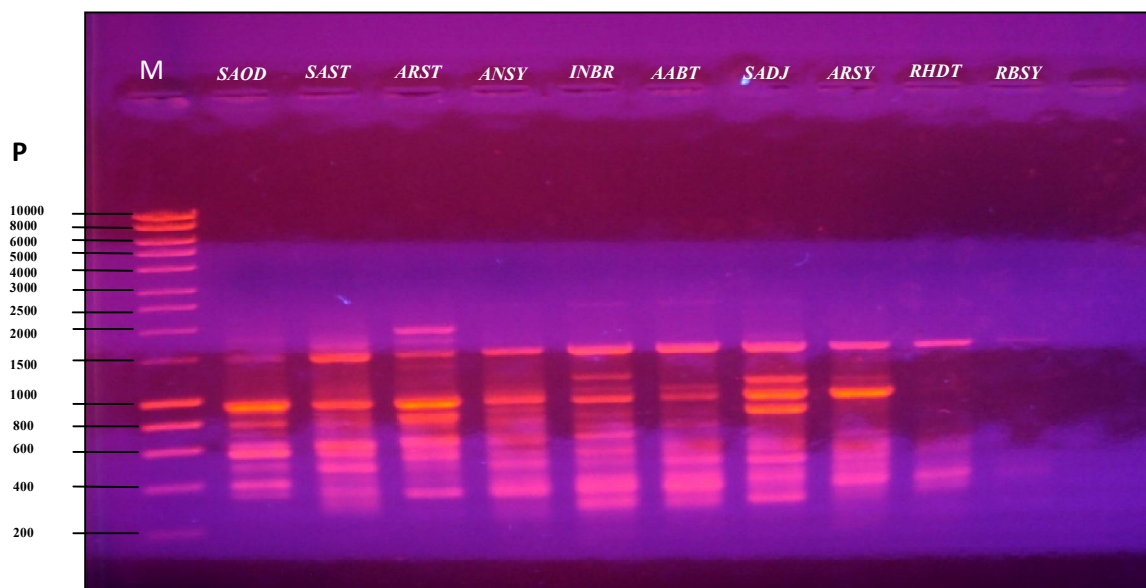


Figure 35: Diagramme électrophorétique RAPD (Révélation des fragments amplifiés pour les neuf isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* 1-9 et un isolat de *Puccinia recondita* -10-) généré par l'amorce OPW-12, M: Marqueur de taille (DNA Ladder 200Pb).

L'amorce OPW-12 a généré 19 bandes (Figure n°35, Annexe n°05) d'un poids moléculaire qui varie de 380 à 2500Pb avec un nombre moyen de 8 bandes par isolat. Un taux de polymorphisme de 100% a été enregistré. Les isolats ARST de Sobha et INBR de Beni Rached présentent le nombre de bandes le plus élevé avec 12 bandes pour chaque isolat, suivie par les isolats SAST de Sobha et AABT de Tiaret avec 10 bandes. L'isolat de *Puccinia recondita* a présenté quant à lui, le nombre de bande le plus faible (Annexe n°05).

Tableau 19: Pourcentage de polymorphisme des amorces utilisées dans la technique RAPD pour neuf isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* et un isolat de *Puccinia recondita*.

Code	Séquences (5'— 3')	Nombre total des bandes	Taille des bandes (pb)	Bandes polymorphes		Bandes monomorphes	
				N	%	N	%
OPA-03	AGTCAGCCAC	24	260-2250	23	95.83	1	4.17
OPA-04	AATCGGGCTG	28	200-1700	25	89.28	3	10.72
OPA-07	GAAACGGGTG	29	250-2500	28	96.55	1	3.45
OPW-12	TGGGCAGAAG	19	380-2500	19	100	0	0
Total		100	200-2500	95		05	
Moyenne		25		23.7	95.41	1.25	4.59

D'après les résultats obtenus par la technique RAPD sur les neuf isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* et un isolat de *Puccinia recondita*, on peut dire que les amorces que nous avons utilisées ont répondu positivement par le nombre de bandes par amorce qui se sont avérées polymorphes.

Le pourcentage de polymorphisme des quatre amorces pour l'ensemble des isolats utilisés est de 95.41%, dont le pourcentage de polymorphisme de l'amorce OPW-12 est de 100%, suivi par les amorces OPA-07, OPA-03 et OPA-04, avec 96.77%, 96.55%, 89.28% respectivement (Tableau n°19).

Le pourcentage de polymorphisme obtenu par ces amorces montre qu'il y a une forte variabilité entre les isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici*.

D'autre part l'isolat SAOD de Oum Drou a montré la présence de quatre bandes spécifiques pour l'ensemble des amorces testées: OPA-07 (2100,2000, 650Pb), pour l'isolat SAST seulement deux bandes spécifiques sont générées par l'amorce OPA-07 (1500, 510 Pb), ARST montre la présence d'une bande spécifique générée par OPA-03 (1800Pb), deux bandes avec OPA-04 (1490, 210Pb), deux bandes pour OPA-07 (1400, 570Pb). L'électrophorèse a révélé la présence de trois bandes spécifiques pour l'isolat INBR : OPA-03 (2250Pb), OPA-04 (580Pb), OPA-07 (590 Pb) , alors qu'une seule bande a été enregistrée pour l'isolat ANSY OPA-07(300Pb) , SADJ OPA-04 (400Pb) , RBSY OPA-04(990Pb).

✓ **Similarité et distance génétique entre isolats**

Pour établir une relation de similarité entre les isolats étudiés nous avons choisi l'indice de Jaccard pour des variables binaires.

Le dendrogramme obtenu à l'aide des profils de bandes amplifiées par RAPD a permis de visualiser les relations (similarités) existant entre les différents isolats de notre collection (Figure n°38) et établir une matrice de similarité (Tableau n°20).

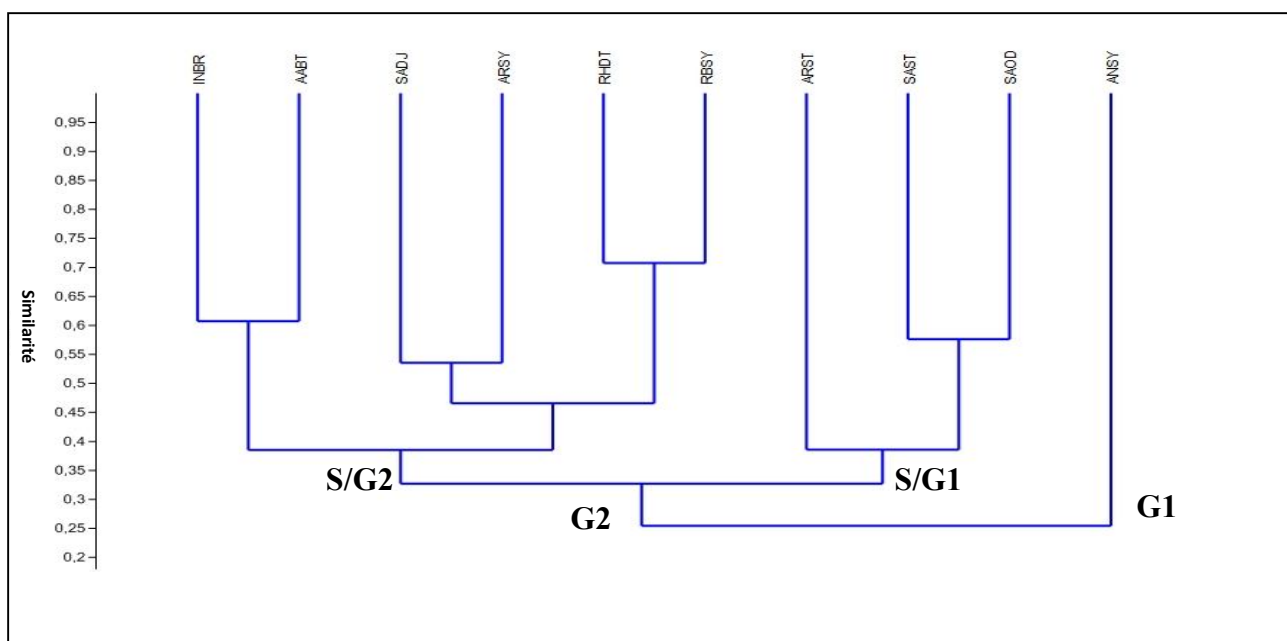


Figure 36: Dendrogramme montre le degré de similarité entre les isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* en fonction des profils électrophorétique obtenus par RAPD à l'aide de 04 amorces.

Le dendrogramme (Figure n°36) fait apparaître deux groupes (G1, G2) au sein desquels existent des différences entre les isolats. Le premier groupe (G1) est composé seulement de l'isolat ANSY de Medjadja alors le deuxième groupe (G2) renferme le reste

des isolats avec un niveau de similarité de 25%. Le deuxième groupe à son tour se divise en deux sous groupes (S/G1 et S/G2) avec une similarité de 33% entre les isolats. Le sous groupe S/G1 renferme l'isolat ARST qui montre un niveau de similitude d'environ 39% avec les isolats SAOD, SAST, ces deux derniers présentent une similarité d'environ 57%, les isolats SAOD et SAST appartiennent à des localités différentes mais infectent la même variété du blé tendre (variété Salama) alors que les isolats SAST et ARST étaient prélevés de la même localité.

Dans le deuxième sous groupe S/G2, les isolats SADJ et ARSY montrent une similarité d'environ 53% alors que l'isolat RHDT montre une forte similarité avec l'isolat RBSY de *Puccinia recondita* (Rouille brune du blé), elle est d'environ 70%. Les isolats INBR et AABT de même sous groupe (S/G2) présentent un pourcentage de similitude d'environ 60 %.

D'après les résultats de similarité entre les isolats (Figure n° 38, Tableau n°20) on remarque qu'il y a des isolats qui se réunissent dans le même groupe alors qu'ils ont été collectés de localités éloignées mais montrent beaucoup de ressemblances dans leurs profils moléculaires. L'indice de similarité a varié de 0.17 à 0.70. Ainsi l'isolat INBR de Beni Rached et l'isolat AABT de Tiaret ont montré un indice de similarité de 0.60. Cependant les isolats collectés dans la même localité n'ont présenté aucune similarité. C'est le cas des isolats ANSY et ARSY de Medjadja.

Tableau 20: Matrice de similarité et distance génétique entre les isolats testés (Indice de Jaccard, logiciel past).

	SAOD	SAST	ARST	ANSY	INBR	AABT	SADJ	ARSY	RHDT	RBSY
SAOD	1	0.57625	0.40541	0.24194	0.32	0.35821	0.3	0.41791	0.34375	0.33333
SAST	0.57625	1	0.3662	0.27273	0.31429	0.37705	0.33333	0.33333	0.31667	0.28333
ARST	0.40541	0.3662	1	0.35	0.35526	0.33803	0.26667	0.30263	0.30435	0.29412
ANSY	0.24194	0.27273	0.35	1	0.38182	0.30769	0.17241	0.18033	0.18868	0.19608
INBR	0.32	0.31429	0.35526	0.38182	1	0.60714	0.40625	0.40299	0.32813	0.29686
AABT	0.35821	0.37705	0.33803	0.30769	0.60714	1	0.54717	0.43333	0.35088	0.31579
SADJ	0.3	0.33333	0.26667	0.17241	0.40625	0.54717	1	0.53571	0.4	0.41509
ARSY	0.41791	0.33333	0.30263	0.18033	0.40299	0.43333	0.53571	1	0.5283	0.51923
RHDT	0.34375	0.31667	0.30435	0.18868	0.32813	0.35088	0.4	0.5283	1	0.70732
RBSY	0.33333	0.28333	0.29412	0.19608	0.31579	0.31579	0.41509	0.51923	0.70732	1

Les analyses du polymorphisme par marqueurs RAPD montre une forte variabilité entre les isolats testés. En outre aucune relation n'a été trouvée entre l'origine géographique et les profils d'ADN obtenus (Nelson et al., 1997; Thompson et Latorre, 1999). A notre connaissance aucune étude moléculaire n'est faite sur les isolats de PST dans la région de Chlef et même dans les autres régions céréalières de l'Algérie d'où le manque de comparaison avec d'autres travaux.

Les études menées par Chen et al. (1993) sur 115 isolats de PST de différentes régions du nord Américain par l'utilisation de 11 amorces RAPD ont montré un pourcentage de polymorphisme de 80% avec un nombre total de bandes de 107. L'amorce OPA-03 utilisée dans l'étude de diversité moléculaire par Chen et al. (1993) a révélé 09 bandes dont 05 se sont montrées polymorphes, alors que nos isolats ont montré 24 bandes dont 23 sont polymorphes soit un pourcentage de 95.83%. Chen et al. (1993), Steele et al., (2001), les variations RAPD détectées au niveau des races et isolats montrent que *Puccinia striiformis* est fortement variable. Les mutations sont fort probables qui sont à l'origine de la source des nouvelles variations de *Puccinia striiformis*. Puisque les stades sexués (pycnia et écidien) n'ont jamais été observés et seulement les urédospores asexuées sont connus pour la reproduction de parasite. Donc la diversité observée est peu probable d'être expliquée par recombinaison sexuelle (Busogoro et al. 1999).

Chen et al. (1995) travaillent sur *Puccinia striiformis f.sp. hordei* sur orge, a obtenu 172 bandes polymorphes en utilisant 12 amorces aléatoires ce qui suggère une forte variabilité au niveau de cette espèce.

Selon Busogoro et al. (1999), un profil RAPD similaire trouvé entre les isolats provenant de différentes origines géographiques est probablement due à la migration qui a pu se produire entre ces endroits. Ces observations confortent nos résultats mais un échantillonnage beaucoup plus large est nécessaire pour confirmer l'influence de la zone sur la structuration de l'espèce.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

La production et la rentabilité de blé sont actuellement compromises par de nombreux problèmes phytosanitaires dont fait partie intégrante la rouille de blé causée par le champignon phytopathogène *Puccinia striiformis f.sp. tritici*. Le thème ayant fait l'objet de ce mémoire de magistère est la caractérisation morpho-biométrique et pathologique ainsi que l'analyse de polymorphisme moléculaire (RAPD) de quelques isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* l'agent causal de la rouille jaune du blé tendre.

A l'issue de différentes observations et analyses réalisées au cours de cette étude nous avons essayé de lever le voile sur ce champignon qui n'a pas été un sujet d'étude en Algérie que ce soit sur le plan morphologique ou moléculaire malgré l'importance de ce pathogène surtout là où les conditions climatiques sont favorables en présence des variétés sensibles.

L'enquête qui a été effectuée sur plusieurs localités de la région de Chlef, nous a permis de ressortir des résultats qui peuvent être résumés comme suit:

D'après nos prospections, l'année 2011-2012 n'a pas été favorable au développement et à la propagation de la rouille jaune du blé ce qui a limité l'étendue des zones prospectées. Ainsi que le faible taux de surface consacré à la culture du blé tendre par rapport au blé dur qui devient la première vocation dans notre région.

Cette observation a été confirmée par estimation de la prévalence de maladie selon les étages climatiques. Cette prévalence était en moyenne de 30% pour le blé tendre et ne dépasse pas le 1% pour le blé dur dans les trois zones prospectées.

Malgré la prévalence de la maladie qui était relativement faible avait cependant une incidence de maladie très importante et qui dépasse les 60% sur blé tendre. La zone à climat semi aride a connu l'incidence la plus élevée. De même une attaque sévère a été enregistrée sur le blé tendre avec un indice de maladie dépassant le six même sur des variétés considérées jusqu'ici tolérante au *Puccinia striiformis f.sp. tritici*.

Conclusion

D'une manière générale, on peut résumer les résultats morpho-biométriques des urédospores obtenus sur l'ensemble des isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* sont comme suit:

- La longueur moyenne des urédospores est de 30.47 μm (Sd=1.45).
- La largeur moyenne des urédospores est de 26.06 μm (Sd=1.66).
- L'aire moyenne des urédospores est de 641.13 μm^2 (Sd= 96,82)..
- Le périmètre moyen des urédospores est de 90.06 μm (Sd=4.67).
- Les autres paramètres calculés: L'élongation, rectangularité, circularité, ont donné des différences significatives entre les isolats mais elles participent faiblement dans la caractérisation morphologique des urédospores.

Concernant les téléspores, les résultats nous ont permis d'extraire les caractéristiques suivantes:

Les téléspores observées sous microscope sont presque formées par deux cellules et rarement une cellule avec une forme de clavète. La cellule basale est très large alors que la deuxième cellule s'étrangle comme une bouteille. La couleur des téléspores de nos isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* est jaune avec une teinte marron au niveau de la cellule basale et présentant les dimensions suivantes:

- La longueur moyenne des téléspores est de 60,95 μm (Sd=3,83).
- La largeur moyenne des téléspores est de 17,19 μm (Sd= 0,88).
- La valeur moyenne d'aire des téléspores est de 997,98 μm^2 (Sd= 59,60).
- Les téléspores ont un périmètre moyen de 148,36 μm (Sd= 7,61).
- Les téléspores présentent une forme allongé ce qui traduit par une élongation remarquable avec une moyenne de 3,66 (Sd= 0,35).

L'étude du polymorphisme moléculaire de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* par la technique RAPD, nous a permis de détecter un niveau de polymorphisme qui dépasse les 90%. Ce qui nous a conduit à dire que *Puccinia striiformis f.sp. tritici* présente une forte variabilité génétique en absence des études sur les races physiologiques existantes en Algérie.

Vu l'importance de cette maladie qui peut devenir destructrice avec l'introduction des nouvelles variétés qui peuvent être menacé par la rouille jaune dans notre région et afin de mieux connaître cette pathologie, nous avons essayé de formuler des recommandations et perspectives essentiels pour les prochaines études:

Conclusion

- L'élargissement de l'étendu des zones de prospection afin d'estimer le statut actuel de la maladie surtout dans les zones les plus humides et qui favorise l'installation de la maladie.
- L'étude de virulence de nos isolats pour pouvoir recenser les races existantes en Algérie.

Entreprendre des études moléculaires par d'autres techniques telle que les SSR, RFLP... pour mieux caractériser ce pathogène et connaître leur diversité et la structuration génétique en vue d'établir une stratégie de lutte intégrée et globale.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abbasi M, Hedjaroude G, Scholler M, Goodwin SB., 2004.** Taxonomy of *Puccinia striiformis* s.l. in Iran. Rostaniha 5: Pp71-82.
- Adam-Blondon A.F. et Dron M., 1993.** Les outils moléculaires et leurs applications à l'amélioration des plantes. John Libbey Eurotext, Paris, Pp: 23-46.
- Ahmad I. S., Reid J. F., Paulsen M. R., Sinclair, J. B., 1999.** Color classifier for symptomatic soybean seeds using image processing. Plant Dis. 83: Pp320-327.
- Alexopoulos C.J., Mims C.W, Blackwell M., 1996.** Introductory mycology. In Voegelé R.T., Hahn M., Mendgen K., 2009. The Uredinales: cytology, Biochemistry, and molecular biology. Plant relationships, 2nd edition. The Mycota VH. Deising (ed.) P 30.
- ANAT, 2007.** Carte bio-climatologique de la région du Chlef. Agence national d'Aménagement du territoire.
- Andanson A., 2010.** Evolution de l'agressivité des champignons phytopathogènes, couplage des approches théorique et empirique. Thèse doct. Biologie végétale et Forestière. Université Nancy I - Henri Poincaré. P338.
- Andersen B., Hansen M. E., Smedsgaard J. 2005.** Automated and unbiased image analyses as tools in phenotypic classification of small-spored *Alternaria spp.* Phytopathology 95: Pp1021-1029.
- Anikster Y., Eilam T., Bushnell WR., Kosman E., 2005.** Spore dimensions of *Puccinia* species of cereal hosts as determined by image analysis. *Mycologia*, 97(2), Pp. 474–484.
- Anikster Y., Szabo L. J., Eilam T., Manisterski J., Koike S. T., et Bushnell W. R., 2004.** Morphology, Life Cycle Biology, and DNA Sequence Analysis of Rust Fungi on Garlic and Chives from California. *Phytopathology* 94: Pp569-577.
- Aouali S. et Douici- khalfi A, 2009.** Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie: symptômes, développement et moyens de lutte. Institut technique des grandes cultures (ITGC) Alger. P56.
- Arthur J.C., 1929.** "The Plant Rusts (*Uredinales*). In: Bushnell W. R., Roelfs A.P., 1983. Development and Physiology of Teliospores. First publ. in: The Cereal rusts. Tampa: Acad. Pr. Pp375-398.
- Bahri B., 2008.** Adaptation et structuration spatiale des populations méditerranéennes de rouille jaune du blé (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*). Thès. Doc. Ecole Doctorale Sciences Du Végétal (ED145) de l'université PARIS-SUD11. P250.

Références bibliographiques

- Bahri B., Leconte M., de Vallavieille-Pope C., Enjalbert J., 2009.** Isolation of ten microsatellite loci in an EST library of the phytopathogenic fungus *Puccinia striiformis f.sp. tritici*. *Conserv Genet.* 10: Pp1425–1428.
- Baka Z.A.M., Alwadie H. M., Mostafa Y. S., 2003.** Comparative morphology of uredinia and Urediniospores of six *puccinia* species parasitic on *poaceae* in Saudi Arabia. *Phytopathology and Plant Protection.* Vol. 37, Pp. 89 –101.
- Bayles RA, Flath K., Hovmøller M.S., de Vallavieille-Pope C., 2000.** Breakdown of the Yr17 resistance to yellow rust of wheat in northern Europe. *Agronomie* **20**, Pp805-811.
- Benyon F.H.L., Jones A.S., Tovey E. R., Stone G., 1999.** Differentiation of allergenic fungal spores by image analysis, with application to aerobiological counts. *Aerobiologia*15: Pp211–223.
- Boshoff WHP., Pretorius Z.A., Niekerk BDV., 2002.** Establishment, distribution, and pathogenicity of *Puccinia striiformis f.sp. tritici* in South Africa. *Plant Disease* **86**, Pp485-492.
- Botstein D., White RL., Skolnick M., Dvies RW ., 1980.** Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* 32, Pp 314–331.
- Britton M., and Cummins, G.B., 1956.** The reaction of species of *Poa* and grasses to *Puccinia striiformis*. *Plant Dis. Rep.* 40: Pp 643–645.
- Busogoro J.P., Jijakli M.H., Lepoivre P., 1999.** Virulence variation and RAPD polymorphism in African isolates of *Phaeoisariospis griseola*(Sacc.) Ferr., the causal agent of angular leaf spot of common bean. *European Journal of Plant Pathology* 105:559–569.
- Bushnell W. R. , Roelfs A.P., 1983.** Development and Physiology of Teliospores. First publ. in: *The Cereal rusts.* Tampa: Acad. Pr. pp. 375-398.
- Carena M. J., 2009.** *Cereals: Handbook of plant breeding.*(Ed.) Springer Science and Business Media. P430.
- Caron D., 1993.** *Maladies des blés et des orges.* Institut technique des céréales et des fourrages, Paris, 87p.
- Cavalcante M. DJ. B., 2009.** Imagerie cellulaire de l'interaction *Musa acuminata* - *Mycosphaerella fijiensis*. Thes. Doc. Biologie Intégrative des Plantes. Ecole Doctorale Sibaghe Systeme Integres En Biologie, Agronomie, Geoscience, Hydroscience, Environnement. Montpellier Supagro.P150.
- Chen X., 2012.** Scouting and 2012 Stripe Rust Forecast. USDA-ARS, Wheat Genetics, Quality, Physiology, and Disease Research Unit, Pullman, WA. Department of Plant Pathology, Washington State University.P27.

Références bibliographiques

- Chen X., Line R. F., Leung H., 1993.** Relationship between virulence variation and DNA polymorphism in *Puccinia striiformis*. *Phytopathology* 83: Pp1489-1497.
- Chen X., Line R. F., Leung H., 1995.** Virulence and polymorphic DNA Relationship of *Puccinia striiformis f.sp. hordei* to other rusts. *Phytopathology* 85: Pp1335-1342.
- Chen X.M., 2005.** Epidemiology and control of stripe rust [*Puccinia striiformis f. sp. tritici*] on wheat .*Can. J. Plant Pathol.* 27: Pp314–337.
- Chen X., Penman L., 2005.** Races of *Puccinia striiformis f. sp. hordei*, the pathogen of barley stripe rust in the United States in 2004. *Barley Genetics Newsletter* 35: Pp23-26
- Chen, X. M., Moore, M., Milus, E. A., Long, D. L., Line, R. F., Marshall, D., and Jackson, L., 2002.** Wheat stripe rust epidemics and races of *Puccinia striiformis f. sp. tritici* in the United States in 2000. *Plant Dis.* 86: Pp39-46.
- Chebbi H., Pascual-Villalobos M.J., CenisJ.L., Correal E. 1995.** Caractérisation morphologique et moléculaire des espèces ligneuses du genre *Medicago*. *Fourrages* 142, Pp191-206.
- Chiocchetti, A., Ghignone, S., Minuto, A., Gullino, M. L., Garibaldi, A., et Migheli Q., 1999.** Identification of *Fusarium oxysporum f. sp. Basilica* isolated from soil, basil seed, and plants by RAPD analysis. *Plant Dis.* 83: Pp576-581.
- Clément-Grandcourt M. et Parts J., 1971.** Les céréales, 2^{ème} Ed. Revue et augmentée; collection d'enseignement agricole. P351.
- CNCC, 2010.** Bulletin des variétés "Céréales". Centre national de contrôle et de certification des semences et plantes. *Algerie*. P75.
- Collignon-trontin A-M., 2000.** Etude des variations moléculaires chez l'Epicéa commun (*Picea abies* (L.) Karst.) à l'aide de marqueurs RAPD. Thes. Doc. Université Henri Poincaré, NANCY-I en Biologie Forestière. P165.
- Corbaz R., 1990.** Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes (collection biologie). Presses polytechniques et universitaires Romandes (1^{er} édition). Pp 42.
- Cummins GB, Hiratsuka Y., 2003.** Illustrated genera of rust fungi. American Phytopathological Society, St Paul.
- Cummins GB, Stevenson JA., 1956.** A checklist of North American rust fungi (Uredinales). *Plant Disease Reporter* (Suppl. 240): Pp109-193.

Références bibliographiques

- De bary A., 1865.** Neue Untersuchungen über die *Uredineen*, insbesondere die Entwicklung der *Puccinia graminis* und den Zusammenhang derselben mit *Aecidium berberidis*. *Monatsber.* In: Bushnell W. R., Roelfs A.P., 1983. Development and Physiology of Teliospores. First publ. in: The Cereal rusts. Tampa: Acad. Pr. Pp. 375-398.
- de Vallavieille-Pope C., Huber L., Leconte M., Goyeau H., 1995.** Comparative effects of temperature and interrupted wet periods on germination, penetration, and infection of *Puccinia recondita f.sp. tritici* and *P. striiformis* on wheat seedlings. *Phytopathology* 85, Pp409-415.
- De Wolf E., Bowden R., Bockus W., and Burrows M., 2010.** Identifying Rust Diseases of *Wheat and Barley*. Regional Plant Disease Diagnostic Labs: 41533-05331.P4.
- Delp B.R., Stowell L.J and Marois J.J., 1986.** Evaluation of field sampling techniques for estimation of disease incidence. *Phytopathology* 76: Pp1299- 1305.
- Djermoun A., 2009.** La production céréalière en Algérie: les principales caractéristiques. *Revu nature et technologie.* n°01, Pp45 - 53.
- Driessen S.A., O'Brien P.A., Hardy G.E St J., 2005.** Morphology of the rust fungus *Puccinia boroniae* revisited. *Mycologia*, 97(6), Pp. 1330–1334.
- D.S.A., 2012.** Direction des Services Agricoles. Production céréalières dans la wilaya de Chlef.
- Dubbin H.J. et Stubbs R.W., 1986.** Epidemic Spread of Barley Stripe Rust in South America. *Plant Dis.* 70(2): Pp141-144.
- Dutech, C., Enjalbert, J., Fournier, E., Delmotte, F., Barrès, B., Carlier, J., Tharreau, D., Giraud, T., 2007.** Challenges of microsatellite isolation in fungi, *Fungal Genetics and Biology.* P47.
- Dyer R.B., Kendra D.F., et Brown D.W., 2006.** Real-time PCR assay to quantify *Fusarium graminearum* wild-type and recombinant mutant DNA in plant material. *Journal of Microbiological Methods* 67, Pp.534–54.
- Echeverrigaray, S.; Agostini, G. 2006:** Les relations génétiques entre les cultivars commerciaux et adhésions brésiliens de *Salvia officinalis* L. basées sur des marqueurs RAPD in Kamoumia S., OMAR M.A., 2012. Relation génétique entre trois espèces De sauge fondée sur les marqueurs Moléculaires. Thès. Mast. Innovation et écophysiologie végétal. Univ. Hassiba Ben Bouali. Chlef. P62.
- Edwards J., Ades P. K., Parbery D. G., Halloran G. M. et Taylor P. W. J., 1999.** Morphological and molecular variation between Australian isolates of *Puccinia menthae*. *Mycol. Res.* 103(12) : Pp 1505-1514.

Références bibliographiques

- Eriksson J, Henning E., 1896.** Die Getreideroste. Ihre Geschichte und Natur sowie Massregeln gegen dieselben. Norstedt and Soner, Stockholm. In: Liu M., Hambleton S., 2010. Taxonomic study of stripe rust, *Puccinia striiformis* sensu lato, based on molecular and morphological evidence. fungal biology 114 : Pp881 -899.
- Eriksson J., 1894.** -ber die Spezialisierung des Parasitismus bei den Getreiderostpilzen. Ber Dtsch Bot Ges 12:292–331. In: Liu M., Hambleton S., 2010. Taxonomic study of stripe rust, *Puccinia striiformis* sensu lato, based on molecular and morphological evidence. fungal biology 114 : Pp881 -899..
- Eriksson, J., Henning, E., 1894.** Die Hauptresultate einer neuen Untersuchung über die Getreiderostpilze. Z. Pflanzenkr. In: Liu M., Hambleton S., 2010. Taxonomic study of stripe rust, *Puccinia striiformis* sensu lato, based on molecular and morphological evidence. fungal biology 114 : Pp881 -899.
- Eversmeyer M.G., Kramer C.L., 2000.** Epidemiology of wheat leaf and stem rust in the Central Great Plains of the USA. Annu Rev Phytopathol 38: Pp491–513.
- Favier J.C., 1989.** Valeur nutritive et comportement des céréales au cours de leurs transformations. Céréales en régions chaudes. AUPELF-UREF, Eds John Libbey Eurotext, Paris, Pp. 285-297.
- Flor, H.H., 1971.** Current status of the gene-for-gene concept. Annual Review of Phytopathology, 9, P21.
- Fossati D. et Brabant C., 2003.** La sélection du blé en Suisse. Le programme des stations fédérales. Revue suisse Agric. 35(4), Pp 169 – 180.
- GAM, 2010. Groupe de l'analyse du marché.** BLÉ : Situation et perspective. Rapport sur les perspectives du marché, volume 02, n°01. P14.
- GAM, 2011. Groupe de l'analyse du marché.** BLÉ : Situation et perspective. Rapport sur les perspectives du marché, volume 03, n°01. P08.
- Garrood J.M., 2001.** The interaction of *Puccinia striiformis* with wheat and barley in Rodrigues P.C.A. 2003. Identification of Non-Host Resistance Genes in Wheat to *Puccinia striiformis* f. sp. *Hordei*. Thèse Mast.resso. gén. Univ. Trás-os-montes e alto douro. Vila Real.P136.
- Gäumann, E., 19591.** Die RostpHze Mitteleuropas. . In: Bushnell WR, Roelfs AP (eds) Origins, specificity, structure, and physiology. The cereal rusts, vol 1. Academic, Orlando, Pp 375–398.
- Gaur R., Azam S., Jeena G, Khan A. W., Choudhary S., Jain M., Yadav G., Tyagi A. K., Chattopadhyay D. et Bhatia S., 2012.** High-Throughput SNP Discovery and Genotyping for

Références bibliographiques

- Constructing a Saturated Linkage Map of Chickpea (*Cicer arietinum*L.). DNA RESEARCH Pp 1–17.
- Ge Y. Y., and Guo J. H., 2003.** Analysis of ITS sequence and PCR protocol for the detection of *Clavibacter fangii*, the causal agent of wheat seedling wilting disease. Acta Phytopathol. Sin. 33:Pp198-202.
- Hajeer A., J. Worthington et John S., 2000.** SNP and Microsatellite Genotyping: Markers for Genetic Analysis. Biotechniques: Molecular Laboratory Methods Series. Eaton Publishing, Manchester, UK.
- Hantula J., Kurkela T., Hendry S., Yamaguchi T., 2009.** Morphological measurements and ITS sequences show that the new alder rust in Europe is conspecific with *Melampsorium hiratsukanum* in eastern Asia. Mycologia, 101(5) pp. 622–631.
- Hassebrauk, K., 1965.** Nomenklatur, geographische verbreitung und wirtsbereich des gelbrostes, *Puccinia striiformis* West. In: Holmes R. J. and Dennis J. I. 1985. Accessory hosts of wheat stripe rust in victoria, Australia. *Trans. Br. mycol. Soc.* 85: Pp159-160.
- Hau B, de Vallavieille-Pope C., 2006.** Wind-dispersed diseases. In: *The Epidemiology of Plant Diseases* (eds. Cooke B. M., D. Gareth Jones D, Kaye B), Pp. 387-416. Springer.
- Heath M.C., 1991.** The Role of Gene-for-Gene Interactions in the Determination of Host Species Specificity. *Phytopathology* 81(2): Pp127-130.
- Heath M.C., 1997.** Signalling between Pathogenic Rust Fungi and Resistant or Susceptible Host Plants. *Ann. Bot.* 80: Pp713-720.
- Hiratsuka Y., 1973.** The nuclear cycle and terminology of spores states in uredinals. Mycologia, 55, Pp432-433.
- Holmes R. J. and Dennis J. I., 1985.** Accessory hosts of wheat stripe rust in victoria, Australia. *Trans. Br. mycol. Soc.* 85:159-160
- Hovmöller M. S., 2001.** Disease severity and pathotype dynamics of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* in Denmark. *Plant Pathology* : 50, 181-189.
- Hovmöller, M.S., Justesen, A.F., and Brown, J.K.M., 2002.** Clonality and long-distance migration of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* in north-west Europe. *Plant Pathology* 51: Pp 24-32.

Références bibliographiques

- Hylander N, Jørstad I, Nannfeldt JA, 1953.** Enumeratio uredinearum scandinavicarum. In: Liu M., Hambleton S., 2010. Taxonomic study of stripe rust, *Puccinia striiformis* sensu lato, based on molecular and morphological evidence. fungal biology 114 : 881 -899.
- Jennings D. M., Ford-lloyd B. V., Butler G. M., 1990.** Morphological analysis of spores from different Allium rust populations. Mycol. Res. 94 (1): Pp83-93.
- Jin Y, Szabo L.J., Carson M., 2010.** Century-old mystery of *Puccinia striiformis* life history solved with the identification of Berberis as an alternate host. Phytopathology 100: Pp 432–435.
- Joly D., 2005.** Analyse de la diversité génomique des Populations de *cronartium ribicola*, Agent responsable de la rouille Vésiculeuse du pin blanc. Mémo. Grade de maître en sciences (M. Sc.). En sciences forestières Univ. Laval. P 107.
- Jørgensen L.N., Clark B., Jahn M., Antichi D., Góral T., Schepers H., Lucas P., Rolland B., Gouache D., Hornok L., 2010.** Promouvoir l'utilisation de cultivars résistants afin de réduire l'utilisation des fongicides dans la culture du blé. ENDURE Étude de Cas sur le Blé – Guide Numéro 1. P4.
- Jouve A-M., Belghazi S., Kheffache Y., 1995.** La filière des céréales dans les pays du Maghreb : constante des enjeux, évolution des politiques. Options Méditerranéennes, Sér. B / n°14. CIHEAM - Options Mediterraneennes.P24.
- Jülich W., 1981.** Higher taxa of Basidiomycetes. Bibliotheca Mycologica 85:1–485.
- Kamoumia S., OMAR M.A., 2012.** Relation génétique entre trois espèces de sauge fondée sur les marqueurs Moléculaires. Thès. Mast. Innovation et écophysologie végétal. Univ. Hassiba Ben Bouali. Chlef. P62.
- Kellou R., 2008.** Analyse du marché algérien du blé dur et les opportunités d'exportation pour les céréales français dans le cadre du pole de compétitivité quali-méditerranée. Thèse de Master en science du CIHEAM-IAMM. n°93. P169.
- Kolmer J., Liu J.Q., Sies M., 1995.** Virulence and molecular polymorphisme in *Puccinia recondita f.sp. tritici* in Canada. Phytopathology 85: 276-285.
- Krizman M., Jakse J., Baricevic D., Javornik B., Prosek M., 2006.** Robust CTAB-activated charcoal protocol for plant DNA extraction. Robuste protocole de charbon de bois activé CTAB pour l'extraction de l'ADN végétal. Acta Agric. Slovenica, 87: Pp427-433.
- Lacroix M., 2002.** Maladies des céréales et de la luzerne. Laboratoire de diagnostic en phytoprotection, Québec. P26.

Références bibliographiques

- Lamour K-H., Finley L., Hurtado-Gonzales O., Gobena D., Tierney M., et Meijer H.J.G., 2006.** Targeted Gene Mutation in *Phytophthora spp.* MPMI Vol. 19, No.1, Pp. 1359–1367.
- Lepoivre P., 2003.** Les mécanismes de résistance et la spécificité parasitaire. In Phytopathologie. Lepoivre P. (Ed.) Bruxelles, De Boeck Université, Pp161-191.
- Lee J.H., Muhsin M., Atienza G.A., Kwak D-Y., Kim S-M., De Leon T., Angeles E.R., Coloquio E., Kondoh H., Satoh K., Cabunagan R.C., Cabauatan P.Q., Kikuchi S., Leung H., Choi R., 2010.** Single Nucleotide Polymorphisms in a Gene for Translation Initiation Factor (eIF4G) of Rice (*Oryza sativa*) Associated with Resistance to Rice *tungro spherical virus*. MPMI Vol. 23, No. 1, Pp. 29–38.
- Line R.F., 2002.** Stripe Rust of Wheat and Barley in North America: A Retrospective Historical Review. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40: Pp75-118.
- Litt M. et Luty J. A., 1989.** A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a nucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am.J.Hum.Genet.* 44: Pp397-401.
- Littlefield L.J., 1981.** Biology of the Plant Rusts; An Introduction. In **Baka Z.A.M. , Alwadie H. M., Mostafa Y. S., 2003.** Comparative morphology of uredinia and Urediniospores of six *Puccinia* species parasitic on *Poaceae* in Saudi Arabia. *Phytopathology and plant Protection.* Vol. 37, Pp. 89 –101.
- Liu M., Hambleton S., 2010.** Taxonomic study of stripe rust, *Puccinia striiformis* sensu lato, based on molecular and morphological evidence. *fungal biology* 114 : Pp 881 -899.
- Lourd M., 1995.** Diversité génétique des populations de parasites. des plantes: structure des populations et analyse de la diversité. ORSTOM, laboratoire de phytopathologie tropicale, Montpellier. P16.
- Ma H. and Singh R.P., 1996.** Expression of Adult Plant Resistance to Stripe Rust at Different Growth Stages of Wheat. *Plant Dis.* 80(4): Pp 375-379.
- Mahmood T. Muhammad S., Shinwari Z.K., 2010.** Molecular and morphological characterization of *CARALLUMA* species. *Pak. J. Bot.,* 42(2): Pp 1163-1171
- Maiatis T., Fritsch, E.F. et Sambrook, J. 1989.** Molecular cloning: A laboratory manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.
- Maier W., Begerow D., Weib M. , Oberwinkler F., 2003.** Phylogeny of the rust fungi: An approach using nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Can J Bot* 81: Pp 12–23.

Références bibliographiques

- Maier W, Wingfield B.D., Mennicken M, Wingfield M.J., 2007.** Polyphyly and two emerging lineages in the rust genera *Puccinia* and *Uromyces*. *Mycol Res* 111: Pp 176–185.
- Manners J.G., 1960.** *Puccinia striiformis* Westend. var. *dactylidis* var. nov. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 43: Pp 65–68.
- Marchand S., 1999.** Recherche de marqueurs moléculaires liés aux gènes qui confèrent la résistance au charbon nu chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.)
- Margalé E. , Chèvre A.M., Delourme R., Hervé Y. 1994.** Description de la diversité génétique chez *Brassica oleracea* à l'aide de marqueurs iso-enzymatiques et moléculaires. *Genet Sel Evol* 26, Suppl1. Elsevier/INRA, 137s-183s.
- Marshall D. and Sutton R.L., 1995.** Epidemiology of Stripe Rust, Virulence of *Puccinia striiformis* f. sp. *hordei*, and Yield Loss in Barley. *Plant Disease* 79(7): Pp 732-737.
- Mascher F., Habersaat M., Kellenberger S., 2010.** La rouille jaune menace-t-elle la culture du blé en Suisse ? *Recherche Agronomique Suisse* 1 (6): Pp 244–251
- Mendgen K and Hahn M., 2002.** Plant infection and the establishment of fungal biotrophy. *Trends Plant Sci* 7(8): Pp 352-356.
- Mendgen K., 1984.** Development and physiology of teliospores. In: Bushnell WR, Roelfs AP (eds) *Origins, specificity, structure, and physiology. The cereal rusts*, vol 1. Academic, Orlando, Pp 375–398.
- Micales J. A. et Bonde M. R., 1995.** *Isozymes: Methods and Applications*. CRC Press, Inc. P18.
- Milus, E. A., Seyran, E., and McNew, R., 2006.** Aggressiveness of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* isolates in the south-central United States. *Plant Dis.* 90: Pp 847-852.
- Moule C., 1971.** *Céréales tome II, phytotechnie spéciale*. Maisson rustique. Paris. P95.
- Moreau J.M., 2010.** Lutte contre les maladies. Livre Blanc « Céréales » ULg Gembloux Agro-Bio Tech et CRA-W Gembloux. P43.
- Najimi B., El Jaafari S., Jlibène M., Jacquemin J.M., 2003.** Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 7 (1), 17–35. P19.
- Ndir M.S., 2000,** recherche de la diversité au sein d'une population d'isolats de *Stemphylium solani* Weber au Sénégal. Rapport de stage. ORSTOM – Montpellier. P36.

Références bibliographiques

- Nelson, A. J., Elias, K. S., Arévalo G., E., Darlington, L. C., et Bailey, B. A., 1997.** Genetic characterization by RAPD analysis of isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Erythroxyli* associated with an emerging epi-demic in Peru. *Phytopathology* 87: Pp 1220-1225.
- Niks, R. E., 1986.** Variation of mycelial morphology between species and formae speciales of rust fungi of cereals and grasses. *Can. J. Bot.* 64: Pp 2976-2983.
- Niks R.E. & Rubiales D., 2002.** Potentially durable resistance mechanisms in plants to specialised fungal pathogens. *Euphytica* 124: Pp 201-216.
- Ouédraogo M., Maquet A., Baudoin J-P., 2005.** Étude comparative de la diversité et de la structure génétique de populations sauvages de *Phaseolus lunatus* L. à l'aide des marqueurs enzymatiques et microsatellites. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 9(3), Pp 195–205.
- Pariaud B., 2008.** Agressivité de *Puccinia triticina* (agent de la rouille brune du blé) et son adaptation à l'hôte. Thes.Doc. UMR INRA-Agro Paris Tech. Thiverval-Grignon. P150.
- Patel J. S., Meinhardt S. W., Sierotzki H., Stammler, G., Gudmestad N. C., et Adhikari T. B. 2011.** A two-step molecular detection method for *Pyrenophora tritici-repentis* isolates insensitive to QoI fungicides. *Plant Dis.* 95:Pp1558-1564.
- Piron F., Collin C., Bodson B., Théwis A., Beckers Y., 2007.** Effet de la dureté des grains et du mode de présentation du froment sur la digestion de l'amidon chez le poulet de chair. Livre blanc "céréales". P19.
- Pretorius Z.A., Boshoff W.H.P., Kema G.H.J., 1997.** First report of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* on wheat in South Africa. *Plant Dis.* 81: P424.
- Rachel, L., D. Rizzo, and M. Garbelotto, 2005.** AFLP Analysis of *Phytophthora nemorosa* and *P. pseudosyringae* Genetic Structure in North America. General Technical Report PSW-GTR, 196, Pp. 149-151.
- Rapilly F, Lemaire JM, Cassini R, Vegh I., 1971.** Les maladies des céréales. In Bahri B. Adaptation et structuration spatiale des populations méditerranéennes de rouille jaune du blé (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*). Thès. Doc. Ecole Doctorale Sciences Du Végétal (ED145) de l'université ARIS-SUD11. P250.
- Ripoll J., Bon M-C., Jones W., 2011.** Optimisation de l'extraction d'ADN génomique de la morelle jaune (*Solanum elaeagnifolium* Cav.), une plante invasive des milieux cultivés en région méditerranéenne. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 15(1),Pp95-100

Références bibliographiques

- Röder M.S., Plaschke J., König S.U., Börner A., Sorrells M.E., Tanksley S.D., Smith J.S.C., Kresovich S., Hopkins M.S, Mitchell S.E., Dean R.E., Woodman W.L., Lee M., Porter K., 1995.** Genetic diversity among elite sorghum inbred lines assessed with simple sequence repeats. *Crop Sci.* 40:Pp226-232.
- Rodrigues P.C.A., 2003.** Identification of Non-Host Resistance Genes in Wheat to *Puccinia striiformis* f. sp. *Hordei*. Thes. Mast.resso. gén. Univ. Trás-os-montes E alto douro. Vila Real. P136.
- Roelfs A.P., Singh R., Saari E., 1992.** Rust diseases of wheat: concept and method of diseases management. Mexico, D.F. CIMMYT.P81.
- Sackett K.E. et Mundt C.C., 2005.** Primary disease gradients of wheat stripe rust in large field Plots. In Bahri B., 2008. Adaptation et structuration spatiale des populations méditerranéennes de rouille jaune du blé (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*). Thès. Doc. Ecole Doctorale Sciences Du Végétal (ED145) de l'université PARIS-SUD11. P250.
- Sambrook J., Russel D.W. 2001.** Molecular cloning: a laboratory manual. Third Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Savile D. B. O. Taxonomy of the Cereal Rust Fungi in Bushnell W. R. , Roelfs A.P.,1984.** The Cereal Rusts, VOLUME I origins, specificity, structure, and physiology. Academic press, INC.Orlando, Florida 32887. Pp108-109.
- Sandmeier M., Pilate-andré S., Métivier E., 1993.** Quelques illustrations de l'utilisation des marqueurs enzymatiques chez le mil. Lab. Evolu. et Systém. Végétale. Paris sud. P10.
- Sayoud R., Ezzahiri B, Bouznad Z., 1999.** Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb.ITGC, alger.P64.
- Schlötterer, C., 2004.** The evolution of molecular markers—just a matter of fashion, *Natural Review of Genetics*, 5, Pp.63–69.
- Schmidt, J.K., 1827.** Allgemeine ökonomisch-technische Flora oder Abbildungen und Beschreibungen aller in bezug auf Ökonomie und Technologie, merkwürdigen Gewächse. In: Liu M., Hambleton S., 2010. Taxonomic study of stripe rust, *Puccinia striiformis* sensu lato, based on molecular and morphological evidence. *fungus biology* 114 : 881 -899.
- Schürch S., 2004.** Evolutionary processes in pathogen-plant interactions inferred from a mixed infection experiment and molecular analysis of an avirulence gene. Diss. ETH No. 15521.P4

Références bibliographiques

- Setti B., Bencheikh M., Henni D.E. Claire N., 2011.** Advances of Molecular Markers Application in Plant Pathology Research. European Journal of Scientific Research. Vol.50 No.1, Pp.110-123
- Sonnier I., 1999.** Techniques de biologie moléculaire (RAPD-PCR, PCR Allèle Spécifique) appliquées a la caractérisation d'un vecteur du paludisme en Asie du sud-est, anopheles dirus. Stage Ingénieur Laboratoire de Lutte contre les Insectes Nuisibles. Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier. IRD Montpellier. Pp27-29.
- Steele K.A., Humphreys E, Wellings C.R. and Dickinson M.J. 2001.** Support for a stepwise mutation model for pathogen evolution in Australasian *Puccinia striiformis f.sp. tritici* by use of molecular markers. *Plant Pathol.* **50**: Pp174-180.
- Stubbs R.W., 1985.** Stripe rust. In: Bushnell WR, Roelfs A.P. 1983 (eds), The Cereal Rusts: Diseases, Distribution, Epidemiology, and Control. Academic Press, New York, Pp. 61-99.
- Thompson J. R. and Latorre B. A., 1999.** Characterization of *Botrytis cinerea* from Table Grapes in Chile Using RAPD-PCR. *Plant Disease / Vol. 83 No. 12*: 1090-1094.
- Tollenaar H., 1967.** A comparison of *Puccinia striiformis f. sp. poae* on bluegrass with *P. striiformis f. sp. tritici* and *f. sp. dactylidis*. *Phytopathology*, **57**: Pp418–420.
- Tulasne, L. R., and Tulasne, C., 1847.** Memoire sur les *Ustilaginees* comparees aux *Uredinees*. In: Bushnell W. R. , Roelfs A.P.,1983. Development and Physiology of Teliospores. First publ. The Cereal rusts. Tampa: Acad. Pr. Pp. 375-398.
- Unartngam J., Janruang P., To-anan C., 2011.** Genetic diversity of *Puccinia polysora* in Thailand based on inter simple sequence repeat (ISSR) markers analysis. *Journal of Agricultural Technology* **7(4)**:Pp1125-1137.
- Vakalounakis, D. J., and Fragkiadakis, G. A. 1999.** Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber: Differentiation by pathogenicity, vegetative compatibility, and RAPD fingerprinting. *Phytopathology* **89**:Pp161-168.
- Van der Plank JE., 1963.** Plant disease: epidemics and control. In Pariaud B., 2008. Agressivité de *Puccinia triticina* (agent de la rouille brune du blé) et son adaptation à l'hôte.Thes.Doc. UMR INRA-Agro Paris Tech. Thiverval-Grignon. P150.
- Van der Plank JE., 1968.** Disease resistance in plants. In Cavalcante M. DJ. B., 2009. Imagerie cellulaire de l'interaction *Musa acuminata* - *Mycosphaerella fijiensis*. Thes. Doc. Biologie Intégrative des Plantes. Ecole Doctorale Sibaghe Systeme Integres En Biologie, Agronomie, Geoscience, Hydrosience, Environnement. Montpellier Supagro.P150.

Références bibliographiques

- Vignal A., Milan D., Sancristobal M., Eggen A., 2002.** A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet. Sel. Evol.* 34 : Pp 275-305
- Villareal L. M. M. A. , Lannou C., de Vallavieille-Pope C., et Neema C., 2002.** Genetic Variability in *Puccinia striiformis* sp. *Tritici* Populations Sampled on a local Scale during Natural Epidemics. *Applied and environmental microbiology*, Vol. 68, No. 12. Pp 6138–6145.
- Voegelé R.T., 2006.** *Uromyces fabae*: development, metabolism, and interactions with its host *Vicia faba*. *FEMS Microbiol Lett* 259: Pp 165–173.
- Voegelé R.T., Hahn M., Mendgen K., 2009.** The Uredinales: cytology, Biochemistry, and molecular biology. *Plant relationships*, 2nd edition. The Mycota VH. Deising (ed.) P 30.
- Vogel G., 2008.** Analyse d'images avec ImageJ. Stage TICE d'Isle-d'Abeau. P9.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Van de Lee T., Homes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kupier M. and Zabeau M., 1995.** AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23: Pp4407-4410.
- Wellings C.R., 2007.** *Puccinia striiformis* in Australia: a review of the incursion, evolution, and adaptation of stripe rust in the period 1979–2006. *Aust J Agric Res* 58: Pp567–575
- Wellings C.R., 2011.** Global status of stripe rust: a review of historical and current threats. *Euphytica*.p13
- Wellings C.R., McIntosh R.A., 1990.** *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* in Australia: pathogenic changes during the first 10 years. *Plant Pathology* 39, 316-325.
- Welsh J. et McClelland M., 1990.** Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18: Pp 7213-7218.
- Westendorp G.D., 1854.** *Puccinia striiformis*. In: Liu M., Hambleton S., 2010. Taxonomic study of stripe rust, *Puccinia striiformis* sensu lato, based on molecular and morphological evidence. *fungus biology* 114 : Pp 881 -899.
- Westman, A.L. et Kresovich S., 1999.** Simple sequence repeats (SSR)-based marker variation in *Brassica nigra* genebank accessions and weed populations. *Euphytica*. 109: Pp 85-92
- Williams J.G.K., Hanafey M.K., Rafalski J.A., et Tingey S.V., 1993.** Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. *Methods in Enzymology*, pp. 218: 704-740.

Références bibliographiques

- Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A. and Tingey S.V., 1990.** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 22: Pp6531-6535.
- Yang P. W., Li J. R., Yang Q. Z., Zeng L., and Wang, Q. 2003.** Cloning and sequencing the internal transcribed spacer of the ribosomal gene of *Plasmodiophora brassicae* and applying it in detecting the pathogen. *J. Yunnan Agric. Univ.* 18:228-233
- Zadoks J.C., 1961.** Yellow rust on wheat, studies in epidemiology and physiologic specialization. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 67, Pp 69-256.
- Zhan G., chen X., Kang Z., huang L., Wang M., Cheng P., Cao S., Jin S., 2012.** Comparative virulence phenotypes and molecular genotypes of *puccinia striiformis f.sp. tritici*, the wheat stripe rust pathogen in China and United states. *Fungal biology*. Elsevier. P11.
- Zhang J. X., Fernando X. G. D., and Remphery W. R., 2005.** Molecular detection of *Apiosporina morbosa*, causal agent of black knot in *Prunus virginiana*. *Plant Dis.* 89:815-821.
- Zhang, Z., Zhang J., Wang Y., Zheng X., 2005.** Molecular detection of *Fusarium oxysporum f.sp. niveum* and *Mycosphaerella melonis* in infected plant tissues and soil. *FEMS Microbiology Letter*, 249, Pp. 39–47.
- Zhao, J., Wang, X. J., Chen, C. Q., Huang, L. L., and Kang, Z. S., 2007.** A PCR-based assay for detection of *Puccinia striiformis f. sp. tritici* in wheat. *Plant Dis.* 91: Pp 1669-1674.
- Zillinsky, F.J., 1983.** Maladies communes des céréales à paille: Guide d'identification. Centre International pour l'Amélioration du Maïs et du Blé (CIMMYT).P156.

Annexes

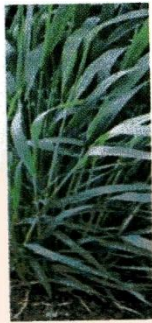
AIN ABID

FICHE VARIETALE

Variété : Ain Abid
 Obtenteur : ITGC Khroub
 Demandeur : ITGC
 Origine : Espagne
 Année d'inscription : 2001
 Pedigree : Sélection conservatrice



DESIGNATION DU CARACTERE



Coléoptiles: Pigmentation anthocyannique
 Plante : Port au tallage
 Dernière Feuille: Port
 Dernière Feuille: Pigmentation Anthocyannique des oreillettes
 Epoque d'épiaison : 1^{er} épillet visible sur 50 % des plantes
 Dernière Feuille: Glaucescence de la gaine
 Dernière Feuille: Glaucescence du limbe
 Epi : Glaucescence
 Tige : Glaucescence du col de l'épi
 Anthères: pigmentation anthocyannique
 Tige: Pilosité du dernier nœud
 Plante: Hauteur (tige, épi et barbes)
 Plante: Section (à mi-chemin entre l'épi et le nœud)



Epi couleur (à maturité)
 Epi: Forme
 Epi: Compacité
 Barbes ou arêtes: Présence
 Barbes ou arêtes: distribution
 Barbes à l'extrémité de l'épi: Longueur
 Article terminal du rachis : Pilosité de la face externe



Glume inférieure: Largeur de la troncature
 Glume inférieure: Forme de la troncature
 Glume inférieure: Longueur du Bec
 Glume inférieure: Forme du Bec
 Glume inférieure: Etendue de la pilosité interne
 Glume inférieure: Empreinte interne
 Glumelle inférieure: Forme du bec



Grain: Forme
 Grain: Couleur
 Grain: Long des poils de la brosse Vue dorsale
 Grain: Coloration au phénol

Type de développement

NIVEAU D'EXPRESSION

Nulle à Très Faible
 Moyen
 Mi- dressé
 Faible
 Moyen
 Nulle à très faible
 Faible
 Faible
 Moyenne
 Nulle à très faible
 Faible
 Moyenne
 Peu épaisse
 Blanche
 Pyramidale
 Lâche
 Barbes présentes
 Epi entier
 Moyenne
 Faible
 Moyenne
 Inclinée
 Très courte
 légèrement coudée
 Faible
 Moyenne
 Droite
 Ovoïde
 Rousse
 Courte
 Moyenne
 Hiver

ANZA

FICHE VARIETALE

Variété : Anza
 Obtenteur : ITGC Khroub
 Demandeur : ITGC
 Origine : USA
 Année d'inscription : 1997
 Pedigree : LR/N10BX Ane3=II8739HRIMIR



DESIGNATION DU CARACTERE



Coléoptiles: Pigmentation anthocyanique
 Plante : Port au tallage
 Dernière Feuille: Port
 Dernière Feuille: Pigmentation Anthocyanique des oreillettes
 Epoque d'épiaison : 1^{er} épillet visible sur 50 % des plantes
 Dernière feuille: Glaucescence de la gaine
 Dernière Feuille: Glaucescence du limbe
 Epi : Glaucescence
 Tige : Glaucescence du col de l'épi
 Anthères: pigmentation anthocyanique
 Tige: Pilosité du dernier nœud
 Plante: Hauteur (tige, épi et barbes)
 Plante: Section (à mi-chemin entre l'épi et le nœud)

NIVEAU D'EXPRESSION

Nulle à très faible
 Faible
 Mi-dressé
 Faible
 Moyen
 Moyenne
 Nulle à très faible
 Moyenne
 Moyenne
 Nulle à très faible
 Faible
 Moyenne
 Peu épaisse



Epi couleur (à maturité)
 Epi: Forme
 Epi: Compacité
 Barbes ou arêtes: Présence
 Barbes ou arêtes: distribution
 Aristation de l'extrémité de l'épi: Longueur
 Barbes à l'extrémité de l'épi: Longueur
 Article terminal du rachis : Pilosité de la face externe

Blanche
 Pyramidale
 Lâche
 Barbes présentes
 Epi entier
 Très courte
 Moyenne
 Faible



Glume inférieure: Largeur de la troncature
 Glume inférieure: Forme de la troncature
 Glume inférieure: Longueur du Bec
 Glume inférieure: Forme du Bec
 Glume inférieure: Etendue de la pilosité interne
 Glume inférieure: Empreinte interne
 Glumelle inférieure: Forme du bec

Etroite
 Droite
 Courte
 Droite
 Moyenne
 Réduite
 Droite



Grain: Forme
 Grain: Couleur
 Grain: Long des poils de la brosse. Vue dorsale
 Grain: Coloration au phénol

Allongée
 Rousse
 Longue
 Foncée

Type de développement

Hiver

ARZ (Beni Slimane)

FICHE VARIÉTALE

Variété : Arz (Beni Slimane)
 Obtenteur : Cymmit
 Demandeur : ITGC
 Origine : Mexique
 Année d'inscription : 2001
 Pedigree : Mayo 54 ILR64/"TAC S"



DESIGNATION DU CARACTERE



Coléoptiles: Pigmentation anthocyannique
 Plante : Port au tallage
 Dernière Feuille: Port
 Dernière Feuille: Pigmentation Anthocyannique des oreillettes
 Epoque d'épiaison : 1^{er} épillet visible sur 50 % des plantes
 Dernière feuille: Glaucescence de la gaine
 Dernière Feuille: Glaucescence du limbe
 Epi : Glaucescence
 Tige : Glaucescence du col de l'épi
 Anthères: pigmentation anthocyannique
 Tige: Pilosité du dernier nœud
 Plante: Hauteur (tige, épi et barbes)
 Plante: Section (à mi-chemin entre l'épi et le nœud)

Epi couleur (à maturité)
 Epi: Forme
 Epi: Compacité
 Barbes ou arêtes: Présence
 Barbes ou arêtes: distribution
 Aristation de l'extrémité de l'épi: Longueur
 Barbes à l'extrémité de l'épi: Longueur
 Article terminal du rachis : Pilosité de la face externe

Glume inférieure: Largeur de la troncature
 Glume inférieure: Forme de la troncature
 Glume inférieure: Longueur du Bec
 Glume inférieure: Forme du Bec
 Glume inférieure: Etendue de la pilosité interne
 Glume inférieure: Empreinte interne
 Glumelle inférieure: Forme du bec

Grain: Forme
 Grain: Couleur
 Grain: Long des poils de la brosse. Vue dorsale
 Grain: Coloration au phénol

Type de développement

NIVEAU D'EXPRESSION

Nulle à très faible
 Nul à très faible
 Mi-dressé
 Nulle à très faible
 Précoce
 Moyenne
 Faible
 Faible
 Faible
 Nulle à très faible
 Moyenne
 Longue
 Peu épaisse

Colorée
 Pyramidale
 Lâche
 Barbes présentes
 Epi entier
 Très courte
 Moyenne
 Moyenne

Moyenne
 Inclinée
 Longue
 Droite
 Faible
 Réduite
 Droitee

Ovoïde
 Rousse
 Longue
 Faible

Hiver

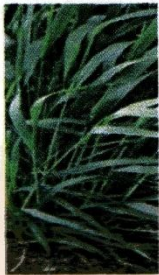
HIDDAB

FICHE VARIETALE

Variété : Hiddab
Obtenteur : Cymmit
Demandeur : ITGC
Origine : Mexique
Année d'inscription : 1997
Pedigree : HD 1120 / 3 Kel/Mal CM



DESIGNATION DU CARACTERE



Coléoptiles: Pigmentation anthocyanique
 Plante : Port au tallage
 Dernière Feuille: Port
 Dernière Feuille: Pigmentation Anthocyanique des oreillettes
 Dernière Feuille: Glaucescence de la gaine
 Dernière Feuille: Glaucescence du limbe
 Epi : Glaucescence
 Tige : Glaucescence du col de l'épi
 Anthères: pigmentation anthocyanique
 Tige: Pilosité du dernier nœud
 Plante: Hauteur (tige, épi et barbes)
 Plante: Section (à mi-chemin entre l'épi et le nœud)



Epi couleur (à maturité)
 Epi: Forme
 Epi: Compacité
 Barbes ou arêtes: Présence
 Barbes ou arêtes: distribution
 Aristation de l'extrémité de l'épi: Longueur
 Barbes à l'extrémité de l'épi: Longueur
 Article terminal du rachis : Pilosité de la face externe



Glume inférieure: Largeur de la troncature
 Glume inférieure: Forme de la troncature
 Glume inférieure: Longueur du Bec
 Glume inférieure: Forme du Bec
 Glume inférieure: Etendue de la pilosité interne
 Glume inférieure: Empreinte interne
 Glumelle inférieure: Forme du bec



Grain: Forme
 Grain: Couleur
 Grain: Long des poils de la brosse. Vue dorsale

Type de développement

NIVEAU D'EXPRESSION

Nulle à très faible
 Faible
 Dressé
 Nulle à très faible
 Forte
 Moyenne
 Moyenne
 Moyenne
 Nulle à très faible
 Moyenne
 Longue
 Peu épaisse

Blanche
 Pyramidale
 Lâche
 Barbes présentes
 Epi entier
 Très courte
 Longues
 Forte

Nulle à très faible
 Incliné
 Très courte
 Droite
 Moyenne
 Moyenne
 Droite

Allongée
 Blanche
 Moyenne

Hiver

Caractéristiques Agronomiques : - Rendement : Elevé

Caractéristiques technologiques : - Teneur en protéines : 11.50%

Caractéristiques alvéographiques : - Force boulangère W : Moyenne
- Gonflement G : Moyen

Résistance aux maladies : - Oïdium feuille : résistante
- Rouille brune : Moyennement sensible
- Rouille jaune : sensible
- Septoriose : Moyennement sensible

SALAMA

FICHE VARIETALE

Variété : Salama
 Obtenteur : FLORIMOND DESPREZ
 Demandeur : ACI
 Origine : France
 Année d'inscription : 2003
 Pedigree : Sélection Génétologique



DESIGNATION DU CARACTERE



Coléoptiles: Pigmentation anthocyanique
 Plante : Port au tallage
 Dernière Feuille: Port
 Dernière Feuille: Pigmentation Anthocyanique des oreillettes
 Epoque d'épiaison : 1^{er} épillet visible sur 50 % des plantes
 Dernière Feuille: Glaucescence du limbe
 Anthères: pigmentation anthocyanique
 Tige: Pilosité du dernier nœud
 Plante: Hauteur (tige, épi et barbes)
 Plante: Section (à mi-chemin entre l'épi et le nœud)



Epi couleur (à maturité)
 Epi: Forme
 Epi: Compacité
 Barbes ou arêtes: Présence
 Barbes ou arêtes: distribution
 Aristation de l'extrémité de l'épi: Longueur
 Barbes à l'extrémité de l'épi: Longueur
 Article terminal du rachis : Pilosité de la face externe



Glume inférieure: Largeur de la troncature
 Glume inférieure: Forme de la troncature
 Glume inférieure: Longueur du Bec
 Glume inférieure: Forme du Bec
 Glume inférieure: Etendue de la pilosité interne
 Glume inférieure: Empreinte interne
 Glumelle inférieure: Forme du bec



Grain: Forme
 Grain: Couleur
 Grain: Long des poils de la brosse. Vue dorsale
 Grain: Coloration au phénol

Type de développement

NIVEAU D'EXPRESSION

Nulle à très faible
 Nul à très faible
 Mi-dressé
 Forte
 Moyenne
 Moyenne
 Nulle à très faible
 Faible
 Moyenne
 Peu épaisse

Blanche
 Pyramidale
 Compact
 Barbes présentes
 Epi entier
 Très courte
 Moyenne
 Moyen

Moyenne
 Echanquée
 Longue
 Droite
 Faible
 Développée
 Droite

Ovoïde
 Rousse
 Moyenne
 Nulle à Très Faible

Hiver

Caractéristiques Agronomiques : - Rendement : Elevé

Caractéristiques technologiques : - Teneur en protéines : 12.01%

Caractéristiques alvéographiques : - Force boulangère W : Elevée
 - Gonflement G : Faible

Résistance aux maladies : - Oïdium feuille : résistante
 - Rouille brune : résistante
 - Rouille jaune : résistante
 - Septoriose : résistante

Annexe02

Isolat	Nombre de spores	Air (μm^2)		Longueur (μm)			Largeur (μm)			Coef. de Corrélation long/larg
		Moy	Sd	Variation de long.	Moy	Sd	Variation de larg.	Moy	Sd	
sy1an	100	585,08062	82.376	24.616-39.710	30,55934	2.984	20.616-29.012	24,07024	1.749	0,155
sy2an	100	589,07254	59.861	25.045-35.415	30,34911	2.835	19.934-28.169	24,04212	1.581	-0,137
sy3an	100	536,99254	64.853	21.897-34.67	28,16588	2.531	18.054-27.658	23,51913	1.684	0,194
sy4an	100	682,49382	86.267	25.818-37.855	31,4349	2.766	23.113-31.475	26,88192	1.985	0,283
sy5an	100	633,29207	60.899	24.727-41.386	30,72606	2.516	22.079-28.675	25,5789	1.428	0,006
sy6an	100	703,5102	49.475	26.536-36.605	31,72735	1.943	24.727-31.182	27,57368	1.266	-0,049
sy7an	100	600,05498	48.015	24.747-35.126	29,80956	2.245	21.651-29.764	25,06555	1.452	-0.295
sy1ar	100	799,89233	72.464	29.001-38.812	33,6676	2.049	26.257-33.327	29,53794	1.486	0,288
sy2ar	100	593,91764	43.165	25.798-36.56	29,4041	2.110	21.812-28.058	25,19049	1.204	-0,251
sy3ar	100	622,18436	56.424	25.469-37.453	30,6562	2.406	28.878-29.137	25,28814	1.385	-0,017
sy4ar	100	703,86385	58.698	25.899-36.882	32,19645	2.087	24.368-30.935	27,13156	1.408	0,065
sy5ar	100	592,6441	43.797	25.18-33.8	29,35312	1.809	22.13-28.244	25,01337	1.233	-0,114
SY6ar	100	626,07522	51.407	25.603-34.365	30,00382	1.802	22.314-28.938	25,69449	1.489	0,085
BR	100	584,74361	54.342	24.705-37.078	28,83174	2.289	22.662-28.617	25,13012	1.174	0,079
ACT885	100	691,80652	66.507	27.34-37.675	31,7591	2.047	20.301-31.673	27,2935	1.662	0,184
TA,A.bid	100	661,48785	75.249	25.651-35.604	30,57424	2.206	21.235-32.022	26,8986	1.789	0,455
T,HD	100	569,05096	58.026	24.425-35.246	28,307	2.045	20.002-28.777	25,04114	1.403	0,304
SM2	100	562,52681	78.686	21.592-36.043	28,83921	2.919	16.398-29.95	24,48837	2.199	0,103
SM3	100	648,88485	82.660	22.703-36.306	30,97511	2.596	19.988-31.195	26,2012	1.172	0,197
SM4	100	616,15952	77.105	22.826-35.883	30,35793	2.894	20.186-30.191	25,33237	1.955	0,139
SM5	100	634,68992	79.167	22.998-38.623	30,23375	2.751	21.306-30.601	26,1921	1.786	0,270
SM6	100	597,19105	73.222	22.049-35.972	28,86799	2.636	20.553-28.933	25,85325	1.710	0,328
SALST	100	840,80923	84.900	29.314-40.289	33,94708	2.354	27.246-35.613	30,78363	1.674	0,397
AAST	100	616,75946	79.515	24.381-37.008	30,03864	2.285	21.75-29.647	25,5071	1.575	0,054
MIST	100	690,69009	68.040	24.429-37.813	31,01467	2.040	21.729-31.038	27,52379	1.737	0,330
ARST	100	708,39113	75.522	25.152-37.488	31,51315	2.230	22.915-30.937	27,83385	1.655	0.510
SALOM	100	728,61395	60.643	26.978-40.059	31,88961	2.187	24.862-34.534	28,38778	1.881	-0,167

Tableau: Dimension et coefficient de corrélation longueur-largeur des urédospores de *Puccinia striiformis f.sp. tritici*.

Annexe02

Isolat	Nombre de spores	Air (μm^2)		Longueur (μm)			Largeur (μm)			Coef. de Corrélation long/larg
		Moyenne	Sd	Variation de long.	Moyenne	Sd	Variation de larg.	Moyenne	Sd	
SY1an	100	982,10	130.6 3	16,84-82,42	58,82	9.01	12,06-23,82	17,01	2.28	-0,46
SY2an	100	1022,16	159.9 4	39,92-84,39	65,37	9.20	8,15-22,75	15,89	2.77	-0,31
SY3an	100	1013,51	125.6 3	44,62-86,27	64,14	9.08	11,29-23,45	16,30	2.11	-0,48
SY4an	100	1045,21	153.1 9	38,81-78,91	62,56	8.93	11,61-23,34	17,27	2.32	-0,46
SY5an	100	1098,63	172.8 4	41,61-87,52	64,08	9.37	12,27-25,47	17,94	2.72	-0,30
SY6an	100	1042,07	136.8 8	37,69-77,13	63,08	7.87	11,90-23,83	18,04	2.49	-0,41
SY7an	100	1011,56	103.6 9	41,50-84,45	57,34	7.83	13,68-26,92	19,06	2.56	-0,53
RBR	100	947,91	121.7 5	38,45-82,22	58,09	9.34	12,17-24,97	17,49	2.53	-0,54
T.AC88 5	100	981,10	115.4 3	41,28-72,55	55,76	6.76	11,29-27,51	18,14	2.71	-0,52
T.HD	100	943,81	138.4 1	40,60-83,96	59,25	9.12	12,13-24,38	16,97	2.45	-0,46
ARSY	100	939,80	135.4 1	40,83-87,41	61,30	9.90	11,51-23,32	15,96	2.34	-0,49
SALST	100	872,32	121.1 8	37,48-76,26	54,69	8.55	10,17-22,38	16,79	2.25	-0,27
SALOM	100	1073,59	135.4 0	46,09-91,20	67,97	9.82	11,65-26,81	16,73	2.49	-0,35

Tableau: Dimension et coefficient de corrélation longueur-largeur des téléospores de *Puccinia striiformis f.sp. tritici*.

Annexe02

Tableaux des valeurs moyennes de périmètre des urédospores de *Puccinia striiformis* f.sp.*tritici*.

Isolat	Nombre de spores	Périmètre (µm)	
		Moyenne	Sd
sy1an	100	87,05556	5,84
sy2an	100	87,0004	4,73
sy3an	100	82,6365	5,17
sy4an	100	92,97209	6,03
sy5an	100	89,84821	4,53
sy6an	100	92,83176	11,14
sy7an	100	87,41312	3,72
sy1ar	100	100,5536	4,58
sy2ar	100	86,84506	3,39
sy3ar	100	89,10998	4,27
sy4ar	100	94,59096	4,10
sy5ar	100	86,76443	3,33
SY6ar	100	89,15961	3,74
BR	100	87,61691	7,35
ACT885	100	93,6619	4,52
TA,A.bid	100	91,37736	5,34
T,HD	100	84,78308	4,43
SM2	100	84,51637	6,08
SM3	100	89,92298	5,16
SM4	100	88,55127	5,89
SM5	100	89,63196	5,78
SM6	100	86,77364	5,66
SALST	100	102,9599	5,24
AAST	100	88,80989	4,69
MIST	100	93,39009	4,78
ARST	100	94,61759	5,17
SALOM	100	96,05907	4,05
SALDJ	100	87,00022	4,63

Annexe02

Tableaux des valeurs moyennes de périmètre et elongation des télésportes de *Puccinia striiformis f.sp.tritici*.

Isolat	Perimètre μm		Elongation	
	Moyenne	Sd	Moyenne	Sd
<i>SY1an</i>	147,11575	16,29	3,550992201	0,84
<i>SY2an</i>	156,75419	19,62	4,283921293	1,16
<i>SY3an</i>	154,36785	17,92	4,038841327	0,99
<i>SY4an</i>	151,70261	18,09	3,722983501	0,88
<i>SY5an</i>	156,28259	19,65	3,681187029	0,90
<i>SY6an</i>	152,83583	16,29	3,597759158	0,85
<i>SY7an</i>	142,89709	14,22	3,101150943	0,77
<i>T.AC885</i>	139,31183	13,34	3,174187714	0,75
<i>T.HD</i>	142,95819	17,75	3,598315489	0,90
<i>SYAR</i>	146,81247	19,53	3,966424229	1,05
<i>SALST</i>	133,89994	16,37	3,340482049	0,81
<i>SALOM</i>	161,25898	19,21	4,181046478	0,98

Annexe03

Tableau : Analyse de variance de la longueur (L) des urédospores de *Puccinia striiformis f.sp. tritici*.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	27	5632,645	208,616	37,186	< 0,0001
Résidus	2772	15551,025	5,610		
Total	2799	21183,671			

Tableau : Analyse de variance de la largeur (H) des urédospores *Puccinia striiformis f.sp. tritici*.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	27	7533,156	279,006	102,764	< 0,0001
Résidus	2772	7526,040	2,715		
Total	2799	15059,196			

Tableau : Analyse de variance de l'aire (A) des urédospores *Puccinia striiformis f.sp. tritici*.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	27	13528096,458	501040,610	109,269	< 0,0001
Résidus	2772	12710686,816	4585,385		
Total	2799	26238783,274			

Tableau : Analyse de variance de périmètre (P) des urédospores de *Puccinia striiformis f.sp. tritici*.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	27	58787,005	2177,296	53,942	< 0,0001
Résidus	2772	111887,554	40,363		
Total	2799	170674,559			

Tableau: Matrice de corrélation de Pearson des paramètres descriptifs des urédospores *Puccinia striiformis f.sp. tritici*.

	Longueur	Largeur	Aire	Perimètre	Elongation	Circularité	Rectangularité
Longueur	1	0,864	0,948	0,953	-0,227	-0,351	-0,049
Largeur	0,864	1	0,977	0,965	-0,684	-0,410	-0,137
Aire	0,948	0,977	1	0,995	-0,519	-0,390	-0,138
Perimètre	0,953	0,965	0,995	1	-0,490	-0,312	-0,133
Elongation	-0,227	-0,684	-0,519	-0,490	1	0,284	0,201
Circularité	-0,351	-0,410	-0,390	-0,312	0,284	1	0,193
Rectangularité	-0,049	-0,137	-0,138	-0,133	0,201	0,193	1

Annexe03

Tableau : Analyse de variance de la longueur (L) des télésportes.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	12	19087,319	1590,610	19,921	< 0,0001
Résidus	1287	102761,114	79,845		
Total	1299	121848,433			

Tableau : Analyse de variance de la largeur (H) des télésportes.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	12	1020,694	85,058	13,670	< 0,0001
Résidus	1287	8008,200	6,222		
Total	1299	9028,893			

Tableau : Analyse de variance de l'aire (A) des télésportes.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	12	4618632,896	384886,075	20,645	< 0,0001
Résidus	1287	23993047,327	18642,616		
Total	1299	28611680,223			

Tableau : Analyse de variance de périmètre (P) des télésportes.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	12	75388,158	6282,347	20,100	< 0,0001
Résidus	1287	402259,443	312,556		
Total	1299	477647,601			

Tableau : Analyse de variance d'élongation des télésportes.

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	12	162,268	13,522	15,875	< 0,0001
Résidus	1287	1096,286	0,852		
Total	1299	1258,554			

Tableau: Matrice de corrélation de Pearson des paramètres descriptifs des télésportes

	Longueur	Largeur	Aire µm ²	Périmètre	Elongation	Rectangularité
Longueur	1	-0,381	0,744	0,978	0,863	-0,040
Largeur	-0,381	1	0,275	-0,257	-0,789	0,565
Aire	0,744	0,275	1	0,841	0,343	0,106
Périmètre	0,978	-0,257	0,841	1	0,783	-0,071
Elongation	0,863	-0,789	0,343	0,783	1	-0,346
Rectangularité	-0,040	0,565	0,106	-0,071	-0,346	1

Annexe04

Tampon d'extraction d'ADN

NaCl..... 0.4 M
Tris-HCl.....10mM (pH8.0)
EDTA..... 2mM (pH8.0)
SDS 20%.....40µl

Tampon TAE 50X (Tris acétate EDTA à 50X)

Tris-base.....242g
Acide acétique glacial57,1ml
EDTA.....100ml (0,5M, pH8)
H2O stérile.....Complété à 1000ml

Gel d'agarose 0,8%

Agarose 0,8g
Tampon TAE 0,5X (pH 8)100ml

Tampon TAE 0,5X

Prélevé 1ml de Tampon TAE 50X complété à 100ml avec l'eau distillée.

Equipement

- Hotte à flux laminaire - pH mètre
- Etuve - Centrifugeuse
- Réfrigérateur - congélateur
- Spectrophotomètre UV - Unités d'électrophorèse sur gel
- Transilluminateur UV - Microonde - Thermocycleur

Liste des amorces RAPD testées

Count	Oligo Name	Sequence (5'- 3')	Length	MW	TM	EC	nmols	µg	A260 Units
1	OPA-01	CAGGCCCTTC	10	2,964	33,6	92,8	55,5	164,5	5,15
2	OPA-03	AGTCAGCCAC	10	2,997	29,5	107,5	47,7	143,0	5,13
3	OPA-04	AATCGGGCTG	10	3,068	29,5	109,0	47,5	145,8	5,18
4	OPA-05	AGGGGTCTTG	10	3,099	29,5	106,4	48,6	150,6	5,17
5	OPA-06	GGTCCCTGAC	10	3,004	33,6	96,9	52,9	159,0	5,13
6	OPA-07	GAAACGGGTG	10	3,117	29,5	119,8	43,1	134,3	5,16
7	OPA-08	GTGACGTAGG	10	3,108	29,5	113,1	45,8	142,3	5,18
8	OPA-10	GTGATCGCAG	10	3,068	29,5	109,0	48,0	147,2	5,23
9	OPW-12	TGGGCAGAAG	10	3,117	29,5	119,8	43,1	134,3	5,16

Annexe05

RAPD	N° Bande	PM (pb)	Isolat										P%
			<i>SAOD</i> 1	<i>SAST</i> 2	<i>ARST</i> 3	<i>ANSY</i> 4	<i>INBR</i> 5	<i>AABT</i> 6	<i>SADJ</i> 7	<i>ARSY</i> 8	<i>RHDT</i> 9	<i>RBSY</i> 10	
OPA-03	1	2250	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	2	2100	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	3	2000	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	
	4	1900	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	5	1800	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	6	1600	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	
	7	1500	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
	8	1400	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	
	9	1250	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
	10	1150	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	
	11	1000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	12	950	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	
	13	850	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	
	14	800	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	
	15	700	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	
	16	600	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	
	17	550	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	
	18	500	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	
	19	450	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	
	20	400	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	
	21	380	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
	22	360	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
	23	300	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	
	24	260	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
Total=24			12	11	12	6	10	8	11	9	8	7	

95.83

Tableau: Fréquence de bande par isolat généré par l'amorce OPA-03 (présence=1, absence=0).

Annexe05

RAPD	N° Bande	PM (pb)	Isolat										P%
			<i>SAOD</i> 1	<i>SAST</i> 2	<i>ARST</i> 3	<i>ANSY</i> 4	<i>INBR</i> 5	<i>AABT</i> 6	<i>SADJ</i> 7	<i>ARSY</i> 8	<i>RHDT</i> 9	<i>RBSY</i> 10	
OPW-12	1	2500	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	100
	2	2000	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	3	1800	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	
	4	1700	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	
	5	1500	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
	6	1400	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	
	7	1300	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	
	8	1200	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	
	9	1000	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	
	10	980	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
	11	800	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	
	12	750	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	
	13	650	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
	14	600	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	
	15	580	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	
	16	500	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	
	17	450	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	
	18	400	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	
	19	380	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	
Total=19			09	10	12	07	12	10	07	09	04	03	

Tableau: Fréquence de bande par isolat généré par l'amorce OPW-12 (présence=1, absence=0).

Annexe05

RAPD	N° Bande	PM (pb)	Isolat										P%
			<i>SAOD</i> 1	<i>SAST</i> 2	<i>ARST</i> 3	<i>ANSY</i> 4	<i>INBR</i> 5	<i>AABT</i> 6	<i>SADJ</i> 7	<i>ARSY</i> 8	<i>RHDT</i> 9	<i>RBSY</i> 10	
OPA-07	1	2500	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	96.55
	2	2200	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
	3	2100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	4	2000	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	5	1900	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	
	6	1700	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	
	7	1600	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
	8	1500	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	9	1490	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	
	10	1400	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	11	1350	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	
	12	1200	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	
	13	1100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	14	1010	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	
	15	1000	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	
	16	990	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	
	17	800	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	
	18	790	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	
	19	760	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	
	20	650	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	21	600	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	
	22	590	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	23	570	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	24	510	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	25	400	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	26	390	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	
	27	370	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	
	28	300	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	29	250	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	
Total=29			12	12	11	05	12	10	11	11	10	11	

Tableau: Fréquence de bande par isolat généré par l'amorce OPA-07 (présence=1, absence=0).

Annexe05

RAPD	N° Bande	PM (pb)	Isolat										P%
			SAOD 1	SAST 2	ARST 3	ANSY 4	INBR 5	AABT 6	SADJ 7	ARSY 8	RHDT 9	RBSY 10	
OPA-04	1	1700	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	89.28
	2	1500	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	
	3	1490	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	4	1400	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	
	5	1200	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	
	6	1090	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	7	1000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	8	900	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	
	9	850	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	
	10	810	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	
	11	800	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	
	12	700	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	13	680	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	
	14	600	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	
	15	590	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	
	16	580	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	17	560	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	
	18	500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	19	480	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	
	20	410	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	
	21	400	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	22	390	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	
	23	380	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	
	24	370	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	
	25	360	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	
	26	300	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	
	27	210	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	28	200	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
Total=28			17	10	19	09	14	13	12	15	13	13	

Tableau: Fréquence de bande par isolat généré par l'amorce OPA-04 (Présence=1, Absence=0).

ملخص: يصنف مرض الصدأ الأصفر الذي يسببه الفطر الممرض *Puccinia striiformis f.sp. tritici* من أكثر الأمراض خطرا على محصول القمح اللين. دراسة تمايز لهذا الفطر تمت في منطقة الشلف خلال السنتين 2011 و 2012 بهدف تمييز العزلات مورفولوجيا و جزيئيا وكذا القيام بعملية مسح لحقول القمح اللين و الصلب في المنطقة لمعرفة حالة هذا المرض. أظهرت النتائج أن المرض يوجد في معظم المناطق المدروسة بنسبة انتشار قدرت ب 30% على محصول القمح اللين و لم تتعد نسبته 01 % على محصول القمح الصلب. أما فيما يخص نسبة الإصابة بالمرض فقد تجاوزت 50 % على عينات القمح اللين أما شدة الإصابة فقد كانت جد معتبرة و خاصة على القمح اللين. كما أظهرت الدراسة المورفوبيوميترية والتي تمت على *urédospores* و *téléospores* استنادا إلى بعض المعلمات للشكل. وقد لوحظت فروق معتبرة ($P < 0.05$) في الطول والعرض والمساحة ومحيط. وبالمثل قد لوحظت أيضا الاختلافات لخصائص الشكل كالاستطالة، ودائرية. أما فيما يخص دراسة التنوع الجزيئي للعزلات من *Puccinia striiformis f.sp. tritici* بواسطة تقنية RAPD فقد بينت النتائج وجود تنوع بين العزلات تجاوزت نسبته 90%. سمحت لنا هذه الدراسة الأولية بتوضيح بعض النقاط حول هذا المرض والتي يجب أن تتبعها بحوث أخرى متقدمة لتطوير طريقة المكافحة المتكاملة و شاملة.

Résumé: La rouille jaune du blé causée par *Puccinia striiformis f.sp. tritici* est classée parmi les maladies les plus redoutables sur la culture du blé tendre. Une étude discriminante a été conduite dans la région de Chlef durant les années 2011 et 2012 dans le but de caractériser ce champignon phytopathogène sur le plan morphologique et moléculaire ainsi que l'estimation de l'état de maladie par une enquête sur terrain. Les résultats obtenus montrent que la maladie présente sur les différentes zones prospectées avec une prévalence de 30% sur blé tendre et moins de 1% pour le blé dur. L'incidence de la maladie a dépassé les 50%, ainsi que la sévérité d'attaque était très considérable surtout sur le blé tendre. L'étude morpho-biométrique des isolats basée sur quelques paramètres de forme a montré une diversité importante tant pour les urédospores que les téléospores. Des différences significatives ($P < 0,05$) de longueur, largeur, l'aire et le périmètre ont été observé. De même, des différences ont également été observées pour les autres caractéristiques de forme à savoir l'élongation, rectangularité et circularité. L'étude de la diversité moléculaire des isolats de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* par la technique RAPD a montré un polymorphisme important qui dépasse les 90%. Cette étude préliminaire nous a permis d'éclaircir quelques points sur cette maladie et qui doit être suivie par d'autres recherches avancés pour établir une lutte intégrée et globale.

Abstract: The wheat stripe rust caused by *Puccinia striiformis f.sp. tritici* is ranked among the most dreaded diseases of growing wheat. A discriminate study was conducted in the Chlef region during the years 2011 and 2012 in order to characterize the phytopathogenic fungus on the morphological and molecular as well as the estimation of the disease state by a field survey. The results show that the disease has on different areas surveyed with a prevalence of 30% wheat and less than 1% for durum wheat. The incidence of the disease has exceeded 50%, and the severity of attack was very significant especially in wheat. The morpho-biometric study of isolates based on some shape parameters showed significant diversity for both urediniospores that téléospores. Significant differences ($P < 0.05$) in length, width, area and perimeter were observed. Similarly, differences were also observed for other shape characteristics namely elongation, rectangularity and circularity. The study of the molecular diversity of isolats of *Puccinia striiformis f.sp. tritici* by RAPD showed high polymorphism that exceeds 90%. This preliminary study allowed us to clarify a few points about this disease and to be followed by other advanced research to develop an integrated and overall.