

CN960028

Arthur Da SYLVA

**EFFET DU *FUSARIUM GRAMINEARUM*
SUR LA GERMINATION DES SEMENCES DE BLÉ**

Mémoire
présenté
à la Faculté des études supérieures
de l'Université Laval
pour l'obtention
du grade de maître ès sciences [M.Sc.]

Département de phytologie
FACULTÉ DES SCIENCES DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC, CANADA


1 décembre 1994


© Arthur Da SYLVA, 1994

C.N.R.A. - BAMBEY - S.D.I.	
Date	09 Mai 1995
Numéro	602/95
Mois Bulletin	
Destinataire	JBL

RÉSUMÉ

Après avoir mis au point une technique d'inoculation des semences avec séchage des graines après inoculation, on l'a utilisée ainsi qu'une méthode sans séchage pour tester la résistance de quinze cultivars de blé au *Fusarium graminearum*, au stade plantule. Quatre concentrations de macroconidies ont été utilisées: 0, 30 000, 60 000, et 120 000 spores/mL. L'évaluation de la germination des semences et de la viabilité des plantules a été faite sur papier buvard, eau gélosée et en caissettes de terreau. On remarque que l'inhibition de la germination est plus prononcée avec la concentration de 120 000 spores/mL et que la viabilité des plantules diffère selon le cultivar, la concentration et le milieu d'évaluation. Des cultivars testés, Celtic est le meilleur. Suivant l'analyse statistique, la méthode avec séchage donne plus de discrimination entre les cultivars. Aussi, il n'y a pas eu de corrélation entre nos résultats et la fusariose de l'épi. Enfin, un essai préliminaire sur les métabolites montre que l'effet de l'infection des semences de blé par le *F. graminearum* est presque identique à l'effet de ses métabolites.


Candidat


Directeur

REMERCIEMENTS

Je remercie très sincèrement mon directeur de mémoire, le docteur Luc Couture, ainsi que mon codirecteur le docteur Daniel Dostaler pour leur disponibilité et leur appui tant technique que moral tout au long de ce travail.

Je remercie aussi le Centre de Recherches pour le Développement International (C.R.D.I.) pour l'appui financier qu'il m'a apporté pendant ces deux années d'études. Mes remerciements vont aussi à la direction et aux membres du centre de recherche d'Agriculture et Agroalimentaire Canada à Saint e-Foy pour l'appui matériel et l'aide technique qu'ils m'ont prodigués.

Je remercie particulièrement Madame Lucie Lévesque pour son assistance technique au laboratoire. Je suis reconnaissant envers Jean-Pierre Mwondo Awono et sa famille pour le soutien qu'ils m'ont toujours accordé.

J'exprime aussi toute ma reconnaissance à mon épouse Désirée Diémé et à mes enfants pour tout le sacrifice qu'ils ont enduré pendant ces deux années de mon absence auprès d'eux. En tout, par conséquent, je leur dédie ce mémoire.

Enfin je remercie tout ceux qui de près ou de loin ont participé à la mise au point de ce travail.

TABLE DES MATIÈRES

RESUME	ii
REMERCIEMENTS	iii
LISTE DES TABLEAUX	vi
INTRODUCTION	1
Chapitre 1. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1.1 Le blé	3
1.2 La fusariose de l'épi du blé	4
1.2.1 Agent causal	4
1.2.2 Épidémiologie	6
1.2.2.1 Conditions de production de l'inoculum	6
1.2.2.2 Transmission du <i>F. graminearum</i>	7
1.2.2.3 Infection des épis de blé par le <i>Fusarium</i> <i>graminearum</i>	8
1.3 Effet du <i>Fusarium graminearum</i> sur les semences	9
1.4 Lutte contre la fusariose de l'épi du blé	9
1.5 Résistance au <i>Fusarium graminearum</i>	10
1.6 Conclusions	11
Chapitre II. MISE AU POINT D'UNE TECHNIQUE D'INOCULATION ARTIFICIELLE DES SEMENCES DE BLÉ	13
2.1 Méthodologie	13
2.1.1 Choix d'une concentration de l'inoculum	14
2.1.2 Comparaison de trois méthodes d'inoculation des graines	14
2.1.3 Durée de pré-trempage des graines dans l'eau distillée	14
2.1.4 Comparaison entre la réfrigération des graines et leur séchage à l'air libre après inoculation	15
2.1.5 Comparaison de trois méthodes de séchage	15
2.2 Résultats	15
2.2.1 Choix d'une concentration de l'inoculum	15
2.2.2 Comparaison de trois méthodes d'inoculation et de germination	16
2.2.3 Durée de pré-trempage des graines dans l'eau distillée	17
2.2.4 Comparaison entre la réfrigération des graines et leur séchage à l'air libre après inoculation des graines	17

2.2.5 Comparaison de trois méthodes de séchage	18
2.3 Discussion.....	19
2.4 Conclusions.....	20

Chapitre III. ÉTUDE DE L'EFFET DU *FUSARIUM GRAMINEARUM*

SUR LA GERMINATION DE SEMENCES DE BLÉ	22
3.1. Matériel et méthodes	22
3.2 Résultats	24
3.2.1 Méthode sans séchage	24
3.2.1.1 Sur papier buvard	25
3.2.1.2 Sur eau gélosée	28
3.2.1.3 En caissettes de terreau	31
3.2.2 Méthode avec séchage.....	34
3.2.2.1 Sur papier buvard	34
3.2.2.2 Sur eau gélosée	34
3.2.2.3 En caissettes de terreau	37
3.3 Récapitulation des comparaisons entre les différents facteurs de l'essai.....	41
3.4 Discussion.....	41
3.5 Conclusions.....	46

Chapitre IV. COMPARAISON DE LA TOXICITÉ DU CHAMPIGNON

ET CELLE DE SES MÉTABOLITES.....*	47
4.1 Matériel et méthodes	47
4.2 Résultats	48
4.3 Discussion.....	52
4.4 Conclusions.....	53

CONCLUSIONS GÉNÉRALES	54
RÉFÉRENCES	55

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Germination des semences de blé soumises à différentes concentrations de spores de <i>Fusarium graminearum</i>	16
Tableau 2	Effet de méthodes d'inoculation sur la germination de semences de blé inoculées de <i>F. graminearum</i> à 60 000 spores/mL.....	16
Tableau 3	Effet de durées de pré-trempage sur la germination de semences de blé inoculées de <i>F. graminearum</i> à 60 000 spores/mL.....	17
Tableau 4	Effet du séchage à l'air libre et de la réfrigération à 4°C sur la germination de semences de blé inoculées de <i>F. graminearum</i> à 60 000 spores/mL.....*	18
Tableau 5	Effet de modes de séchage sur la germination de semences de blé inoculées de <i>F. graminearum</i> à 60 000 spores/mL.....	18
Tableau 6	Liste et pourcentage de germination de cultivars de blé utilisés dans l'essai avant leur inoculation au <i>F. graminearum</i>	24
Tableau 7	Germination au 4 ^e jour sur papier buvard de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de <i>F. graminearum</i> et non séchées avant semis.....	26
Tableau 8	Viabilité au 7 ^e jour sur papier buvard de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de <i>F. graminearum</i> et non séchées avant semis.....*	27
Tableau 9	Germination au 4 ^e jour sur eau gélosée de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de <i>F. graminearum</i> et non séchées avant semis.....*a.....	29

Tableau 10	Viabilité au 7 ^e jour sur eau gélosée de semences de blé soumise à plusieurs concentrations de <i>F. graminearum</i> et non séchées avant semis	30
Tableau 11	Levée au 7 ^e jour en caissettes de terreau de semences de blé soumise à plusieurs concentrations de <i>F. graminearum</i> et non séchées avant semis	31
Tableau 12	Viabilité au 15 ^e jour en caissettes de terreau de semences de blé soumise à plusieurs concentrations de <i>F. graminearum</i> et non séchées avant semis	32
Tableau 13	Germination au 4 ^e jour sur papier buvard de semences de blé soumise à plusieurs concentrations de <i>F. graminearum</i> et séchées avant semis	34
Tableau 14	Viabilité au 7 ^e jour sur papier buvard de semences de blé soumise à plusieurs concentrations de <i>F. graminearum</i> et séchées avant semis	35
Tableau 15	Germination au 4 ^e jour sur eau gélosée de semences de blé soumise à plusieurs concentrations de <i>F. graminearum</i> et séchées avant semis	37
Tableau 16	Viabilité au 7 ^e jour sur eau gélosée de semences de blé soumise à plusieurs concentrations de <i>F. graminearum</i> et séchées avant semis	38
Tableau 17	Levée au 7 ^e jour en caissettes de terreau de semences de blé soumise à plusieurs concentrations de <i>F. graminearum</i> et séchées avant semis	40
Tableau 18	Viabilité au 15 ^e jour en caissettes de terreau de semences de blé soumise à plusieurs concentrations de <i>F. graminearum</i> et séchées avant semis	42

Tableau 19	Comparaison des F calculés obtenus par concentration, méthode d'inoculation et milieu d'évaluation du 4 ^e au 7 ^e jour.....	42
Tableau 20	Blé de printemps inoculé de fusariose de l'épi dans les essais C.P.V.Q. à Saint-Hyacinthe en 1.993	43
Tableau 21	Coefficient de corr lation (r) des données de l'infection de semences de blé par le <i>F. graminearum</i> versus la fusariose de l'épi a tenue par Devaux (1993)a.....*	44
Tableau 22	Germination sur p apier buvard de semences de blé exposées à divers traitements issus de la centrifugation du milieu GYEPensemencé de <i>F. graminearum</i>*a.....	51
Tableau 23	Germination sur e au gélosée de semences de blé exposées à divers traitements issus de la centrifugation du milieu GYEPensemencé de <i>F. graminearum</i>	52

INTRODUCTION

L'un des intrants les plus importants en agriculture est la semence. Avoir des semences de qualité garantit une meilleure production lorsque les conditions sont favorables. La semence recèle toutes les qualités d'une plante. L'une des qualités importantes d'une semence est sa condition sanitaire. En effet la présence d'un agent pathogène au niveau des semences peut être désastreuse pour diverses raisons. Pour le producteur de semences, elle peut d'abord empêcher la certification du lot de semence et aboutir à des pertes financières. Ensuite, elle peut réduire la germination d'un lot de semence au-dessous du niveau normalement accepté (environ 85%) par les services semenciers. Au point de vue de l'utilisation de la semence, la présence d'agents pathogènes peut entraîner des populations de plantules trop faibles dans les champs. La semence contaminée peut aussi servir de source d'inoculum d'une maladie et provoquer des rendements faibles et une récolte de **pauvre qualité**.

La pathologie semencière est l'étude des maladies des semences et des agents pathogènes portés par les semences. Son application dans les productions végétales devient une nécessité, compte tenu de la prolifération des agents pathogènes et de la place capitale de la semence dans ces productions.

Le blé (*Triticum aestivum* L.) est parmi les céréales les plus importantes au monde. L'intensification de sa culture entraîne parallèlement une augmentation des maladies qui l'affectent. Au Canada, l'une des grandes épidémies survenue sur le blé est la fusariose de l'épi. En 1980, cette dernière a entraîné des pertes considérables sur le rendement du blé (Sutton 1982). Le principal préjudice de cette maladie est la présence dans les graines infectées de substances toxiques, dangereuses pour les humains et les animaux, appelées mycotoxines (Couture 1988).

Le *Fusarium graminearum* Schwabe, dont le téléomorphe est le *Gibberella zeae* [Schwein.] Petch, est l'agent causal de la fusariose de l'épi. C'est un champignon porté et transmis par les semences. Par conséquent, lorsque la maladie survient à grande échelle, elle est très dangereuse car non seulement elle empêche l'utilisation des graines comme semences, mais

aussi leur vente et leur consommation.

Parmi les moyens de lutte contre la fusariose de l'épi, l'utilisation de cultivars résistants demeure la plus indiquée. La plupart des cultivars recommandés au Québec sont sensibles ou très sensibles à la fusariose [Conseil des productions végétales du Québec 1994]; ceux considérés résistants tels que Toropi, Nyu Bay, et Nobeoka Bozu ne seraient pas appréciés par les producteurs à cause de la faiblesse de certaines de leurs caractéristiques agronomiques [rendement à l'hectare, verse, etc.].

En conséquence, la sélection de cultivars résistants à la fusariose de l'épi reste toujours nécessaire. Mais la création de cultivars résistants n'est pas facile à cause de la durée (nombre d'années) et de la difficulté de sélection due à la variabilité des symptômes au champ d'année en année. Ceci a conduit certains chercheurs à militer pour une autre forme de sélection. Celle-là devrait permettre d'identifier des lignées résistantes dès le stade plantule. Des recherches menées dans ce domaine (Mesterházy 1983; Wang et Miller 1987) ont montré que cette sélection serait possible, mais que la corrélation avec la résistance des plantes adultes n'existe pas toujours. Une investigation plus approfondie avec l'utilisation d'autres méthodes d'inoculation artificielle des semences pourrait peut-être donner de meilleurs résultats.

L'objectif de cette étude est d'abord de mettre au point une méthode de contamination artificielle des semences de blé avec du *F. graminearum*; puis tout en étudiant l'effet du champignon sur la germination des semences de blé, évaluer la résistance de cultivars à l'infection des plantules et de voir si cette infection est corrélée avec la fusariose de l'épi.

Chapitre 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Le blé

Les céréales sont des plantes cultivées, généralement de la famille des graminées, dont les grains surtout réduits en farine, forment la base de l'alimentation humaine en tant que source de glucides et de protéines. L'une des céréales les plus anciennes et importantes à l'alimentation humaine est le blé (*T. aestivum*). Il fut d'abord appelé froment par les Romains et ensuite blé dans le langage courant. Consommé sous forme de grains entiers dans l'ancien temps, il fut progressivement exploité en culture afin d'être utilisé sous forme broyée pour l'alimentation humaine. Aujourd'hui, il entre dans la préparation du pain et des pâtes alimentaires (Boudreau et Ménard 1992).

Suivant l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (1993), la production mondiale de blé en 1992 était estimée à 564 millions de tonnes métriques. Les plus grands producteurs mondiaux étaient la Communauté des États Indépendants [C.E.I.], les États-Unis et la Chine qui à eux seuls produisaient 38% de la production totale mondiale. Le Canada venait en cinquième position avec une production d'environ 30 millions de tonnes soit 5 %. Les pays producteurs consomment la plupart de leur production. Seulement 21 % de la production mondiale a fait l'objet d'exportation en 1992 (Boudreau et Ménard 1992). Les États-Unis dominent le commerce international avec une moyenne de 35 millions de tonnes, suivi du Canada avec environ 24 millions de tonnes soit 1.9 % des exportations mondiales en 1993. Les principaux pays importateurs mondiaux sont le Japon, l'Égypte, le Brésil, le Royaume-Uni, l'Inde, la Pologne et l'Italie (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture 1993).

Au Canada, le blé est la céréale la plus cultivée compte tenu de la superficie emblavée (environ 12 millions ha/an) et de la production qui varie entre 25 et 31 millions de tonnes par an [Statistiques Canada 1994]. Le blé est surtout cultivé dans les provinces des Prairies, c'est-à-dire en Alberta, en Saskatchewan et au Manitoba. Mais il est aussi produit dans une moindre mesure, dans les autres provinces. L'excès de la production est exporté et

ramène au Canada, environ. 3 milliards de dollars U.S. par an (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture 1993). Cette situation est extrêmement bénéfique pour l'économie et les producteurs canadiens.

Au Québec, la production du blé en 1986 était équivalente à celle des provinces Maritimes c'est-à-dire 15 000 tonnes métriques. Mais il y a un potentiel réel pour la culture du blé au Québec, car près de 10 000 km² seraient propices à cette culture [Boudreau et Ménard 1992]. Suivant les chiffres de Statistiques Canada (1994) on voit que la culture du blé a pris de l'ampleur car la production a atteint 20 000 tonnes métriques en 1993 soit 33 % de plus qu'en 1986. Ce blé est essentiellement destiné à l'industrie de transformation alimentaire de la province. Cette dernière livre déjà environ 595 millions de dollars de produits transformés (farine, biscuits, pain, etc.) par an. La campagne de promotion de la culture de blé tendre dans la région de Montréal, lancée par la Coopérative Fédérée de Québec en 1986, continue de favoriser le développement de la culture du blé au Québec [Boudreau et Mienard 1992]. Le blé est cependant sensible à plusieurs maladies dont la fusariose de l'épi.

1.2 La fusariose de l'épi du blé

1.2.1 Agent causal

L'agent causal de la fusariose de l'épi est le *F. graminearum*. C'est un champignon qui appartient à la classe des Hyphomycetes. Il est membre de la famille des Moniliacées dans laquelle les hyphes et les conidies sont hyalines ou de couleur claire. À ce champignon correspond une forme parfaite appelée *Gibberella zeae*.

Le *F. graminearum* produit des macroconidies qui mesurent généralement 25 à 50 µm sur 2,5 à 5,0 µm et comportent 3 à 7 cloisons. Le corps de la spore est généralement droit ou faiblement arqué. La cellule apicale est courbe et pointue. La cellule basale est allongée, effilée et légèrement courbe (Zillinsky 1983). Sur milieu de culture, il émet d'abondants hyphes aériens brun clair, devenant rouges au contact avec l'agar. Des sporodochies rouge brunâtre à orange apparaissent plus tard. Les microconidies sont absentes. Les chlamydospores sont rares; si elles sont présentes, elles sont généralement formées dans les macroconidies (Toussoun et Nelson 19763).

Burgers et al. (1975), puis Cook (1981) et Windels (1991) divisent le *Fusarium gramineum* en deux groupes, dont la différenciation ne peut être faite par les macroconidies:

le groupe 1: hétérothallique (nécessitant deux thalles de sexe différent pour la fécondation), ne produit pas de périthèces sur milieu de culture pauvre comme celui de la gélose de feuille d'oeillet. Il est souvent associé au piétin fusarien.

le groupe 2: homothallique (un seul thalle porte les deux sexes), produit des périthèces bleu sombre sur la gélose de feuille d'oeillet. Ce groupe est le plus souvent lié à la fusariose de l'épi.

Les périthèces du champignon peuvent être retrouvés sur les plantes infectées, et il est probable qu'ils jouent un rôle dans la perpétuation de la maladie d'une année à l'autre. C'est l'une des espèces de *Fusarium* qui produit normalement des périthèces dans les conditions naturelles (Zillinsky 1983). Les périthèces se développent superficiellement en groupes sur les épis des céréales. Les ascospores sont légèrement teintées, brun jaunâtre, fusoides et légèrement courbées, arrondies aux extrémités, et sans cellule centrale gonflée. À la maturité, les ascospores possèdent trois cloisons, et mesurent 20 à 25 μm sur 3 à 4 μm (Zillinsky 1983).

Le *Fusarium graminearum* produit des mycotoxines qui sont des toxines produites par les champignons et qui sont toxiques à l'homme et aux animaux. Les mycotoxines les plus connues produites par le *F. graminearum* sont la zéaralénone et le désoxynivalénole (Mirocha et Christensen 1974; Neish et Cohen 1981; Vesonder et al. 1978). La biosynthèse de ces mycotoxines dépend de plusieurs facteurs, spécialement de l'isolat, du substrat, de la température et de l'humidité relative (Mirocha et Christensen 1974; Naik et al. 1978).

Ces substances sont dangereuses. Des concentrations de 1 à 5 $\mu\text{g/g}$ dans les aliments sont suffisantes pour causer des troubles oestrogènes chez les porcs (Mirocha et Christensen 1974). On a aussi rapporté des cas de phytotoxicité de ces mycotoxines. C'est ainsi que les filtrats liquides de souches non-sporulantes de *F. culmorum* et *F. graminearum* ont eu un effet phytotoxique élevé sur les caryopses de blé (Šrobárová et al. 1991).

Les métabolites toxiques **zéaralénone** et F-2 ont provoqué une baisse de la germination, une diminution de la croissance et une augmentation de la production de tiges secondaires chez le blé (Bukovcáková et al. 1991). Une forte inhibition de la division **cellulaire** a été observée chez le blé lorsque les racines ont été traitées au **désoxynivalénole** [Danuta 1991]. Il a été aussi montré que cette mycotoxine **inhibe** la synthèse de protéines eucaryotiques en bloquant la phase de **peptidyl**-transférase (Carter et al. 1980). La croissance des plantules de **blé** a été complètement inhibée par une concentration de 10^{-4} M de **désoxynivalénole** (DON) (Shimada et Otani 1990; Snijders 1988). Le **désoxynivalénole** est soluble dans l'eau et peut donc être transporté dans le phloème. C'est ainsi qu'on peut le trouver dans des tissus non encore colonisés par le **champignon** [Miller et al. 1983; Young et Miller 1985]. Des observations similaires ont été faites par Snijders et Krechting [1992].

1.2.2 Épidémiologie

1.2.2.1 Conditions de production de l'inoculum

L'inoculum se forme principalement sous des conditions tièdes et humides. Tschang et al. (1975) observent que les périthèces se forment sur la gélose de feuille d'oeillet de 16°C à 31°C. Le nombre de périthèces augmente avec une **augmentation** de la température jusqu'à 29°C. Yé (1980) observe en Chine la formation de périthèces à des températures allant de 5°C à 35°C, et la production d'ascospores de 13°C à 33°C, l'optimum se situant entre 25°C et 28°C. Les températures nécessaires à la production des macroconidies sont similaires à celles nécessaires à la formation des périthèces et des ascospores. Les macroconidies sont produites à des températures allant de 16°C à 36°C, l'optimum se situe à 32°C, suivant des études menées avec une seule culture [Anderson 1948]. Cependant, la réponse avec plusieurs isolats peut varier (Haws 1961).

Les conditions humides sont nécessaires pour la formation des macroconidies et des ascospores (Sutton 1982). Sur un milieu gélosé ajusté à différents potentiels hydriques avec NaCl ou KCl, la production de macroconidies de *F. graminearum* du groupe 1 est maximale à -15 bars et nulle entre -50 et -60 bars (Sung et Cook 1981). Cependant avec les isolats

du groupe 2 la sporulation est maximale entre -1,4 bars à -3,0 bars et nulle entre -40 et -50 bars ou moins. Un humectage persistant favorise l'abondance des périthèces sur les tissus des hôtes ou les débris végétaux dans les champs (Sutton 1982).

1.2.2.2 Transmission du *F. graminearum*

Le champignon passe l'hiver comme mycélium ou macroconidies dans le sol, les semences, et les résidus de cultures (Sutton 1982). Les spores sont disséminées par le ruissellement d'eau de pluie et par le vent et peuvent entrer en contact avec les épis sensibles, et les infecter (Warren et al. 1973). Les épis sont infectés directement au stade de la floraison par des ascospores ou des macroconidies disséminées par le vent [Cassini 1970; Sutton 1982]. Les plantules sont souvent infectées directement au moment de la levée par les spores contenues dans le sol ou dans les semences au niveau desquelles le champignon se conserve, soit à l'état de macroconidies libres, soit sous formes d'hyphes [Djerbi 1971]. Ces infections peuvent servir d'inoculum secondaire au développement de la maladie sur les épis (Djerbi 1971). L'accroissement de la dose d'inoculum est favorisé par des rotations maïs - blé tendre et maïs - blé dur (Cook 1986).

En ce qui concerne les semences, le *Fusarium graminearum* est transmissible par celles-ci [Hampton 1980; Richardson 1979]. Ainsi, les semences de céréales récoltées au Québec peuvent atteindre un taux de contamination assez élevé par les champignons du genre *Fusarium* et deviennent ainsi une voie de dissémination privilégiée [Couture 1982]. En milieu contrôlé, l'infection des semences par ce champignon entraîne une baisse de la germination (Hart et al. 1984; Purss 1966; Schroeder et Christensen 1963). Il s'en suit une pourriture des collets des plantules en pré- ou post-levée (Colhoun et Park 1964; Duben et Ferhrman 1979). Ce même phénomène peut être observé au champ (Halfon-Meiri et al 1979;; Purss 1966). Il a été aussi rapporté que l'incidence de l'infection des tiges et des talles de blé augmente avec celle des semences [Duthie et Hall 1987]. Les semences seraient donc une des origines de la contamination des parties supérieures de la plante. Dans les régions où la fusariose de l'épi survient, la pourriture des racines et du pied est le plus souvent causée par l'inoculum transmis par les semences [Djerbi 1970].

1.2.2.3 Infection des épis de blé par le *Fusarium graminearum*

La fusariose de l'épi du blé se caractérise par la présence, après floraison, d'épillets avortés (échaudés). Ces épillets sont blanchâtres et certains portent des masses de sporodochies de couleur corail. Durant la saison de végétation, des amas (sporodochies) jaune pâle ou orange de conidies s'accumulent à la base des épillets ou sur les bords des glumes et des lemmes (glumelles inférieures). Les graines des épillets infectés sont petites, ridées, et souvent non viables. Ces graines sont susceptibles de contenir des mycotoxines.

Les épidémies les plus graves au Canada chez le blé ont été rapportées en 1940, 1942, 1945, 1957, et 1980. Les relevés climatiques pendant ces années ont montré une pluviométrie supérieure à la moyenne au cours du mois de juillet pendant cinq des six années d'épidémie, et une pluviométrie du mois de juin et d'août très supérieure à la normale: pendant trois des six années d'épidémie. Ces observations montrent que la pluviométrie abondante joue un rôle très important dans le développement de ces épidémies (Sutton 1982).

Plusieurs investigateurs ont observé que les épis de blé sont plus sensibles à l'infection par le *Fusarium graminearum* au stade de la floraison. Certains chercheurs ont associé les anthères à l'infection [Anderson 1948; Takegami et al. 1967]. Les travaux de Anderson (1948), puis de Schroeder et Christensen (1963) et enfin de Strange et Smith (1971) ont montré que seuls les épillets qui avaient produit des anthères ont été infectés après inoculation avec le *Fusarium*. Toutefois, Nkongolo et al. (1993) suggèrent que des facteurs additionnels, qui pourraient être d'ordre morphologique ou structural, influencent aussi et surtout la réceptivité du blé au *F. graminearum* à l'anthèse. Cependant, le *F. graminearum* peut infecter les épis de blé par d'autres voies que les anthères. Des chercheurs ont conclu qu'il y a infection par les macroconidies ou les ascospores, lorsque que ces dernières entrent en contact avec les épillets ou le rachis du blé (Schroeder et Christensen 1963; Takegami et Sasai 1970). Le *F. graminearum* peut aussi infecter l'épi de blé par les piqûres ou les blessures laissées par les insectes, les oiseaux ou d'autres animaux (Sutton 1982).

1.3 Effet du *Fusarium graminearum* sur les semences

Dans une étude de l'effet du *F. graminearum* sur plusieurs lots de semence, Halfon-Meiri et al. (1979) rapportent que la germination de graines de blé fortement infectées (ridées et blanchies) est extrêmement faible (0 à 4%). Le téléomorphe, *G. zeae*, a été retrouvé sur 99% de ces graines. Les graines normales infectées par inoculation artificielle ont donné 50% de germination tandis que les graines saines ont germé à 90%.

Le *Fusarium graminearum* réduit la germination, le nombre de plantules et la hauteur des plantules mesurées 15 jours après semis (Mantecon et al. 1984). Dans une étude menée au Manitoba sur l'importance de la fusariose de l'épi du blé, Wong et al. (1992) rapportent 47% de réduction de la germination des semences de blé dans des lots de semences naturellement infectées par le champignon. D'autres chercheurs ont aussi rapporté la réduction de la germination des semences de blé lorsque infectées par le *F. graminearum* (Hart et al. 1984; Tuite et al. 1990). Duthie et Hall (1987) ont observé que l'effet de l'infection des semences sur la germination était le même qu'au niveau de la levée des plantules.

Une étude conduite par Molot et Simone (1967) chez le maïs montre que l'attaque des embryons en germination par les *Fusarium* se situe en général au niveau du mésocotyle, c'est-à-dire l'organe qui relie le grain au plateau de tallage au moment de la germination. L'infection est bien visible car marquée par une nécrose. Une rupture se produit et la jeune plante meurt faute de ne pouvoir s'alimenter à partir des réserves du grain. La même étude a montré qu'à partir de la troisième feuille, les racines secondaires formées au niveau du plateau de tallage sont devenues suffisamment fonctionnelles pour permettre à la plantule de s'affranchir.

1.4 Lutte contre la fusariose de l'épi du blé

Pour lutter contre la fusariose de l'épi, Sutton (1982) propose les pratiques culturales telles que la rotation des cultures pour prévenir l'accroissement de l'inoculum, un apport équilibré d'engrais, le labour profond pour enfouir les spores, le nettoyage des bordures pour enlever les mauvaises herbes qui peuvent abriter l'agent pathogène, l'utilisation de semences certifiées, le traitement des semences au bénomyl, et enfin l'utilisation de cultivars

résistants. Il est aussi très important de bien nettoyer la parcelle après la récolte car les débris végétaux sont un des principaux moyens de survie des *Fusarium*. De toutes ces pratiques culturales, la notion de l'élimination de l'inoculum primaire est la plus importante. Mais en ce qui concerne l'inoculum provenant du sol, l'adoption du labour minimum a grandement restreint l'option de la technique du labour (Bai et Shaner 1994). Pour les fongicides, le coût de traitement et la difficulté de déterminer la période optimale d'application rendent ce moyen de lutte moins attrayant pour les producteurs. En plus, même si un fongicide réduit directement la perte en rendement du blé ou du maïs, il ne réduit pas pour autant la contamination en mycotoxines à des doses tolérables [Martin et Johnson 1982]. Ceci fait que le moyen de lutte le plus indiqué demeure l'utilisation de cultivars résistants (Sutton 1982). Des cultivars moins sensibles ont été identifiés (ex: Toropi, Nyu Bay, Nobeoka Bozu), mais ne sont pas adoptés à cause de caractères agronomiques indésirables tels un rendement faible, la hauteur des plants, une maturité tardive, etc. (Bai et Shaner 1994).

1.5 Résistance au *Fusarium graminearum*

La plupart des cultivars et lignées de blé sont sensibles ou très sensibles à la fusariose de l'épi (Devaux 1993). La création de lignées résistantes pose certains problèmes: d'abord elle est longue, puis la manifestation des symptômes de la fusariose de l'épi sur les plantes adultes est très variable d'une année à l'autre. Les travaux de Devaux (1992) depuis 1980 en donnent nettement la preuve. De même les symptômes peuvent varier suivant le lieu de production. En effet Mesterházy (1985) a étudié l'effet de l'influence du lieu de production de semences sur la résistance des plantules à l'infection par le *F. graminearum*. Il a observé que la résistance des variétés est différente suivant les lieux de production et que cette différence peut être reproduite d'année en année.

Pour éviter toutes ces difficultés, certains chercheurs se sont penchés sur la sélection massale de plantes résistantes au *F. graminearum* dès le stade plantule. C'est ainsi que Mesterházy (1983) a fait la relation entre la résistance des plantules au *F. graminearum* et la résistance des plantes adultes à la fusariose de l'épi. Il rapporte que cette relation est possible et que l'on pourrait faire la sélection pour la résistance à la fusariose de l'épi à

partir des plantules. Mais il conclut que seuls les géotypes ayant une résistance génétiquement fixée, tendent à avoir une corrélation proche de la réponse de la plante à la fusariose de l'épi. Car dans son étude il y a des variétés résistantes ou intermédiaires qui ont été très sensibles au stade plantule, et des variétés sensibles ou intermédiaires qui se sont montrées résistantes au stade plantule. Cela lui permet de mentionner que la réaction phénotypique est susceptible d'être influencée par des facteurs de prédisposition, et donc n'est pas liée à la résistance génétiquement fixée.

La résistance contre les mycotoxines du *F. graminearum* a été aussi rapportée. C'est ainsi que Miller et Arnison (1986) ont mentionné la dégradation du désoxynivalénole [DON] par le cultivar résistant Frontana, ce qui n'a pas été ou très peu noté avec le cultivar sensible Casavant. Ces données suggèrent que les lignées résistantes ont des facteurs qui inhibent la synthèse ou favorisent la dégradation de désoxynivalénole. Wang et Miller (1987) ont étudié la résistance de coléoptiles étiolés vis-à-vis de plusieurs mycotoxines produites par le *F. graminearum*. Ils conclurent que les résultats du bio-essai pouvaient être utilisés pour déterminer la résistance de ces cultivars à la fusariose de l'épi en relation avec des tests au champ. Mais il semblerait toutefois que ces résultats soient difficiles à reproduire.

1.6 Conclusions

Les informations précédentes permettent la perception du problème que constitue le *F. graminearum* au niveau des graines de blé. Il cause des pertes de rendement importantes et son impact économique est considérable, d'autant plus qu'il produit sur les graines qu'il infecte des mycotoxines dangereuses pour l'homme et les animaux. En plus, sa présence sur les semences de blé provoque le déclassement de ces dernières étant donné qu'elles constituent une voie privilégiée pour sa dissémination. Aucune lutte chimique n'est vraiment fiable quand la maladie survient ou lorsque la contamination provient du sol. Milus et Parsons (1994) ont évalué plusieurs fongicides en végétation pour lutter contre la fusariose de l'épi. Ils ont conclu qu'aucun des fongicides utilisés n'a réduit l'incidence de la fusariose de l'épi ni le niveau de désoxynivalénole produit. En plus, il n'y a eu ni accroissement du rendement ni augmentation du poids de mille grains. L'utilisation de cultivars résistants demeure alors le moyen de lutte le plus

préconisé. Des cultivars **résistants** sont disponibles mais leur valeur agronomique est encore faible. Ce qui fait que la sélection de **variétés** résistantes avec des valeurs agronomiques de qualité reste nécessaire. Mais la production de tels **cultivars** n'est pas facile. En effet l'évaluation des Variétés pour la résistance au *F. graminearum* par les méthodes traditionnelles est longue et **coûteuse**.

Il semble donc pertinent de **penser** à un mode de sélection plus rapide et moins cher. L'identification de variétés résistantes dès le stade de la germination pourrait apporter une solution. La mise au point d'une méthode d'inoculation artificielle des **semences** qui permet l'infection rapide de l'embryon paraîtrait très **appropriée** à une telle sélection. Tout ceci nous suggère les hypothèses suivantes:

- les cultivars réagissent **différemment** à l'infection par le *F. graminearum*.
- la résistance de la plante **reflète** celle de l'épi.
- il existe une corrélation **significative** entre la **toxicité** du champignon et celle de ces métabolites.

Les objectifs devant servir à **la** vérification de nos hypothèses sont les suivants:

- mettre au point une **technique** artificielle d'inoculation pour tester la résistance des plantules à la fusariose.
- évaluer la résistance de **cultivars** de blé au *Fusarium graminearum* au moment de la germination.
- étudier la corrélation entre la résistance des plantules et celle des plantes adultes à la fusariose de l'épi.
- comparer la toxicité du **champignon** et celle de ses métabolites à l'égard des semences de **blé**.

Chapitre II

MISE AU POINT D'UNE TECHNIQUE D'INOCULATION ARTIFICIELLE DES SEMENCES DE BLÉ

Parmi les méthodes d'inoculation artificielle des semences qu'on a trouvées dans la littérature, seules quelques-unes ont été utilisées pour tester la résistance des semences au *Fusarium graminearum*. Il s'agissait de la méthode développée par Molot et Simone (1967) pour étudier la résistance des semences de maïs au *F. graminearum*, de celle utilisée par Mesterhazy (1978) pour la résistance des plantules de blé au *F. graminearum*, et la méthode générale (Mesterhazy 1978) qui consiste à tremper les semences dans l'inoculum pendant 24 heures avant de les placer à germer directement sur du papier buvard. La méthode de Molot et Simone (1978) semble très intéressante, mais n'a pas été utilisée chez le blé d'une part, d'autre part elle exige la disponibilité de certains matériels assez coûteux tel qu'un cabinet de croissance. Celle utilisée par Mesterházy [1978] ne semble pas favoriser une infection rapide de la graine par le champignon. On a donc entrepris de développer une méthode plus simple et qui permet d'infecter l'embryon le plus vite que possible afin de bien évaluer l'inhibition de la germination.

2.1 Méthodologie

La méthodologie suivante a été appliquée à tous les essais qu'on a menés dans ce chapitre:

La semence de blé utilisée est une variété population prise dans le laboratoire du Dr Couture au centre de recherche d'Agriculture et Agroalimentaire Canada à Sainte-Foy [Québec]. On a utilisé la souche F-1 1-8 du *Fusarium graminearum*. L'inoculum a été préparé par contamination d'un ballon de 6 L contenant une solution de 3 L de carboxyméthylcellulose [C.M.C.] avec trois rondelles de culture du *F. graminearum* provenant du milieu Potato Dextrose Agar [P.D.A]. La production de macroconidies a été effectuée dans un cabinet de croissance pendant 15 jours. Elle a été favorisée par exposition du ballon pendant 13 heures par jour à la lumière N.U.V. [Near Ultra Violet] et par aération de la solution à l'aide d'une pompe à air pour aquarium. Au bout des 15 jours on a compté le nombre de macroconidies produites. Puis on a transvasé

l'inoculum dans une bouteille de 3,5 L et conservé en chambre froide à la température de 5°C. La concentration de l'inoculum utilisée pour tous les essais dans ce chapitre était de 60 000 spores/mL.

On a d'abord désinfecté les graines en surface par trempage dans l'éthanol 70% pendant 30 secondes, puis dans de l'hypochlorite de sodium 1% pendant 10 minutes suivi d'un rinçage à l'eau distillée et stérile. Puis on a trempé les graines dans l'inoculum pendant 24 heures et ensuite on les a placés sur du papier buvard dans des boîtes de Pétri de 150 mm de diamètre. On a déposé 100 graines par boîte de Pétri et par traitement. Tous les essais ont été répétés 4 fois.

2.1.1 Choix d'une concentration de l'inoculum.

On a procédé au choix d'une concentration de spores/mL en effectuant plusieurs essais avec des concentrations différentes. L'objectif était d'avoir une concentration qui permette au moins l'obtention de la moitié de la germination du témoin non inoculé. Pour notre premier essai les concentrations en spores/mL étaient les suivantes: 0, 250 000, 500 000, 1 000 000 et 2 000 000. Au deuxième, elles étaient de 0, 15 000, 30 000, 60 000 et 125 000. Au troisième de 0, 30 000, 60 000 et 120 000.

2.1.2 Comparaison de trois méthodes d'inoculation des graines

Les trois méthodes d'inoculation que nous avons comparées étaient les suivantes:

la méthode qui consiste à désinfecter les graines en surface, les rincer, puis à les tremper 24 heures dans l'inoculum et ensuite les placer sur du papier buvard humecté d'eau distillée et stérile.,

la méthode du papier buvard décrite par Mesterházy (1978), dans laquelle, après désinfecter des semences en surface, on les dépose sur du papier buvard imbibé d'inoculum.

et la méthode de Molot et Simone (1967) dans laquelle la semence subit un pré-trempage de quatre heures dans de l'eau distillée. Puis elle est trempée dans l'inoculum pendant 24 heures et ensuite placée dans un cabinet de croissance aux environs de son zéro végétatif qui est de 0°C

pour le blé (Boyeldieu 1980). Pour l'essai on a utilisé 4°C pendant 72 heures. Après, on a **déposé** les graines sur du **papier** buvard humecté d'eau distillée et stérile **pour germination**.

On a prévu un témoin non inoculé pour chacune des méthodes. La concentration de l'inoculum **utilisé** était de 60 000 spores/mL.

2.1.3 Durée de pré-trempe des graines dans l'eau distillée

Cette opération servait à **ramollir** les téguments avant l'inoculation afin de favoriser la pénétration du **champignon**. Quatre temps de trempage dans l'eau distillée avant le **trempe dans l'inoculum** pendant 24 heures ont été choisis: pas de trempage, 4 heures, 8 heures et 16 heures. Un témoin non inoculé a été prévu **pour chaque durée de trempage**.

2.1.4 Comparaison entre la réfrigération des graines et leur séchage à l'air libre après inoculation

Cette opération sert à **permettre** une progression du champignon vers l'embryon soumis à un arrêt temporaire de sa croissance. On a comparé la méthode de la réfrigération au **zéro** végétatif de la plante pendant 72 heures, **utilisée** par Molot et Simone (1967) et le séchage des graines à l'air libre. **Après** la désinfection des **graines** en surface et le rinçage, la moitié des **graines** a été mise dans un réfrigérateur à 4°C et l'autre moitié a été séchée à l'air libre dans le laboratoire **jusqu'à** séchage complet. On a retenu un témoin non inoculé pour chacune **des deux** méthodes.

2.1.5 Comparaison de **trois** méthodes de séchage

On a voulu voir si on ne **pouvait** pas avoir une méthode plus rapide et meilleure que le séchage à **l'air libre**. On a choisi de comparer le séchage à l'air libre au séchage à la **hotte** ou à l'étuve. Pour l'étuve nous avons choisi une température de 32°C car à **cette température** la **graine** n'est pas détruite et le champignon croit **bien** (Anderson 1948; Djerbi 1971). À chacun de ces traitements on a **assigné un témoin** non inoculé.

Pour tous les essais l'évaluation a été faite par comptage des graines germées au quatrième jour. On a **procédé** à l'analyse en comparant les rapports de: la germination des traitements **in** ulés sur celle de leur témoin non inoculé,

multipliés par 100. On a aussi calculé les écarts types de ces rapports dans l'essai.

2.12 Résultats

2.2.1 Choix d'une concentration de l'inoculum

Les résultats de l'essai 1 (Tableau 1) montrent que les concentrations sont trop fortes. Le second essai avec les concentrations 0, 15 000, 30 000, 60 000 et 125 000 spores/mL a permis de sélectionner les concentrations 30 000, 60 000, et 125 000 spores/mL qui ont donné un résultat proche de ce que l'on voulait.

Tableau 1. Germination des semences de blé soumises à différentes concentrations de spores de *Fusarium graminearum*.

Essai 1		Essai 2		Essai 3	
Conc. (sp/mL)	Germ. (%)	Conc. (sp/mL)	Germ. (%)	Conc. (sp/mL)	Germ. (%)
0	74	0	76	0	75
250 000	6	15 000	52	30 000	42
500 000	0	30 000	38	60 000	34
1000 000	0	60 000	31	120 000	28
2 000 000	0	125 000	29		

On a repris l'essai avec les concentrations 30 000, 60 000 et 120 000 spores/mL et les pourcentages de germination obtenus ont permis de maintenir ces concentrations pour le test de résistance des cultivars.

2.2.2 Comparaison de trois méthodes d'inoculation et de germination

On observe une inhibition de la germination dans les traitements inoculés. Les résultats présentent très peu de différences entre les méthodes comparées (Tableau 2). Les rapports entre la germination des traitements inoculés et celle de leur témoin non inoculé sont très peu différents et le calcul des écarts types montre que les traitements ne sont pas significativement différents.

Tableau 2. Effet de méthodes d'inoculation sur la germination de semences de blé inoculées de *F. graminearum* à 60 000 spores/mL.

Méthodes	Germination des semences (%)		Rapports	Écart type
	Inoculées	Non inoculées		
Générale	72	88	82%	± 8
Mesterhazy	74	89	83%	± 10
M. & Simone	71	88	81%	± 6

Rapports = (inoculées/non inoculées) x 100.

2.2.3 Durée de pré-trempage des graines dans l'eau distillée

On observe une inhibition de la germination au niveau des traitements où les graines ont été inoculées. Les résultats montrent aussi que le traitement sans pré-trempage et pré-trempage pendant 4 heures ne sont pas significativement différents (Tableau 3). Le rapport entre la germination des traitements inoculés et celle de leur témoin non inoculé donne très peu de différence. Lorsque le trempage atteint 8 heures avant inoculation on commence à avoir une baisse de germination au niveau du témoin non inoculé. Avec 16 heures de trempage avant inoculation le témoin non inoculé est très affecté. Le calcul des écarts types montre que les traitements 0 heure et 4 heures ne sont pas différents.

Tableau 3. Effet de durées de pré-trempage sur la germination de semences de blé inoculées de *F. graminearum* à 60 000 spores/mL.

Durée de pré-trempage (h)	Germination des semences (%)		Rapports	Écart type
	Inoculées	Non inoculées		
0	76	90	85%	± 2
4	78	89	87%	± 2
8	67	72	93%	± 4
16	53	56	95%	± 3

Rapports = (inoculées/non inoculées) x 100.

2.2.4 Comparaison entre la réfrigération des graines et leur séchage à l'air libre après inoculation des **graines**.

Les résultats montrent une **inhibition** de la germination dans les traitements inoculés. On observe que la germination par la méthode de séchage complet des graines à l'air libre n'est pas significativement différente de celle de la **réfrigération** des graines **pendant** 72 heures à 4°C. Les valeurs obtenues lors du calcul des rapports entre la germination de ces traitements et leur témoin **respectif** sont très peu différents (Tableau 4). Le calcul de l'écart type ne présente pas de **différence significative** entre les deux traitements.

Tableau 4. Effet du séchage à l'air libre et de la réfrigération à 4°C sur la germination de semences de blé inoculées de *F. graminearum* à 60 000 spores/mL.

Traitements après inoculation	Germination des semences (%)		Rapports	Écart type
	Inoculées	Non inoculées		
Séchage à l'air libre	82	91	90%	± 5
Réfrigération à 0°C	85	92	91%	± 3

Rapports = (inoculées/non inoculées) x 100.

2.2.5 Comparaison de trois méthodes de séchage

Les résultats montrent que les **germinations** obtenues par les méthodes de **séchage à l'air libre et de séchage sous la hotte** à flux laminaire ne sont pas **significativement différentes** (Tableau 5). Le rapport entre le pourcentage de germination de ces **traitements** et celui de leur témoin respectif est très peu différent. Le calcul des écarts types ne présente pas de différence entre eux. **Cependant, il existe une différence** significative entre ces traitements et le séchage dans l'étuve. On **observe** aussi dans les traitements inoculés une inhibition de la germination. À 1^{ère} étuve cette inhibition est encore plus forte.

Tableau 5. Effet de modes de séchage sur la germination de semences de blé inoculées de *F. graminearum* à 60 000 spores/mL.

Mode de séchage	Germination des semences (%)			
	Inoculées	Non inoculées	Rapports	Écart type
Séchage à l'air libre	80	92	87%	± 1
Séchage à l'étuve	39	42	93%	± 3
Séchage sous la hotte à flux laminaire	79	92	86%	± 3

Rapports = (inoculées/non inoculées) x100.

2.3 Discussion

Dans un essai de mise au point d'une technique d'inoculation des semences il est toujours bon d'avoir un gamme de concentrations de spores avec lesquelles travailler. Plus la concentration est élevée plus l'infection est grande et plus on enregistre d mortalité à la germination et en post-levée (Halfon-Meiri et al. 1979). Les fortes concentrations (500 000, 1 000 000, 2 000 000 spores/mL) dans l'essai ont donné des résultats semblables. On a retenu les concentrations suivantes: 30 000, 60 000 et 120 000 spores/mL qui permettent d'avoir au moins une germination égale à la moitié de la germination de leur témoin respectif.

La comparaison des trois méthodes d'inoculation a permis de choisir la méthode générale qui consiste à tremper les graines pendant 24 heures dans l'inoculum puis à les faire germer directement sur du papier buvard humecté d'eau distillée. Cette technique est la plus couramment utilisée pour le test de résistance des semences aux champignons (Champion 1983). Cependant la méthode de Molot et Simone (1967) présente des caractéristiques très intéressantes. Par le ramollissement des téguments elle favorise la pénétration rapide du champignon dans la graine. Par le ralentissement de la croissance de l'embryon elle permet au champignon d'atteindre l'embryon

avant germination (Molot et Simone 1967). Ces idées se retrouvent dans la méthode de la congélation sur papier buvard décrite par Limonard (1966) dans laquelle après **inoculation** les semences sont congelées pendant 24 heures afin de stopper la **croissance** de l'embryon et favoriser une progression du champignon vers l'embryon. Cependant avec cette méthode l'évaluation se fait par la détection des conidies au niveau de l'embryon et aussi par le nombre de graines infectées et non par le nombre de graines germées. Aussi on s'est imprégné de ces idées pour mettre au point une technique d'inoculation.

La comparaison de différents temps de pré-trempage montre que pour le blé on n'a pas besoin de trempage dans l'eau distillée avant inoculation. L'inoculation des graines, précédée d'un pré-trempage dans l'eau distillée pendant 4 heures présente les mêmes résultats qu'une inoculation sans **pré-trempage**. Plus le temps de trempage augmente plus la germination des **traitements** témoins sans **inoculation** diminue; ce qui rend l'interprétation plus difficile car l'effet du champignon ne peut plus être évaluée avec certitude.

L'essai de la comparaison entre le séchage à l'air libre et la réfrigération n'est pas significatif. Donc les **traitements** à ce niveau se valent. L'un des avantages de la méthode avec **séchage** est que l'on peut traiter une plus grande quantité de graines et les utiliser au fur et à mesure des besoins. En plus, cette méthode peut être utilisée dans tous les **laboratoires** puisqu'elle est très simple et n'exige pas beaucoup d'équipement. On a pu observer pendant l'essai que l'épaisseur de la couche de graines au moment du séchage est très importante. Plus elle est grande, plus la durée de séchage est longue et plus la **probabilité d'avoir des** pourritures de graines est grande et peut diminuer la précision de l'évaluation de l'effet du champignon. Cette méthode est aussi plus rapide que celle de Molot et Simone (1967) qui demande en plus une pré-germination pendant 48 heures, à l'obscurité, dans une chambre de **croissance**.

Les graines mises dans l'étuve, lors de la comparaison des différentes méthodes de séchage, ont **chauffé** dans la nuit à cause d'une élévation non voulue de la température dans l'étuve et ont perdu beaucoup de leur pouvoir germinatif. Ce traitement demande donc un appareil précis et fidèle.

L'élévation de la température dans l'étuve a pu aussi inhiber la croissance du champignon et réduire l'infection. Jorgensen (1982) rapporte que le traitement par la chaleur sèche à 90°C de semences d'orge, infectées d'*Alternaria* spp., de *Pyrenophora graminea* et de *P. teres*, pendant une heure réduisait largement la croissance d'*Alternaria* spp. et les comptages d'infection par *P. graminea* et par *P. teres* étaient réduits à environ 75% par rapport à ceux obtenus sans traitements à la chaleur. De même l'exposition de semences d'orge contaminées de *Bipolaris sorokiniana* à la chaleur pendant plusieurs heures réduit la viabilité du champignon, mais aussi celle des semences [Couture et Sutton 1980]. L'évaluation du séchage à l'étuve a montré une baisse draconienne du pouvoir germinatif au niveau du témoin non inoculé; ce qui ne permet pas de remarquer l'effet du champignon sur la germination. Pour ce qui est des traitements séchage à l'air libre et séchage sous la hotte, les résultats ne sont pas significativement différents l'un de l'autre. Le séchage dans la hotte est plus rapide à cause du courant d'air, mais le résultat final est le même que le séchage à l'air libre. Au vu de tout cela, la méthode avec séchage à l'air libre a été retenue.

2.4 Conclusions

Parmi les méthodes préexistantes, on a retenu la méthode générale qui consiste à tremper les graines dans l'inoculum pendant 24 heures, puis les placer directement dans le milieu d'évaluation pour tester la résistance des cultivars au *F. graminearum*. Cette méthode est comparée au moment du test de résistance des cultivars à celle que l'on a mis au point et qui se présente comme suit:

1. Désinfecter les graines en surface.
2. Tremper dans de l'inoculum pendant 24 heures pour permettre la pénétration du champignon.
3. Essorer puis étaler les graines en couche mince, et laisser sécher à l'air libre jusqu'à séchage complet [72 heures pour 400 graines dans une boîte de Pétri de 150 mm].
4. Semer les graines au moment voulu dans le milieu choisi.

Chapitre III

ÉTUDE DE L'EFFET DU *FUSARIUM GRAMINEARUM* SUR LA GERMINATION DE SEMENCES DE BLÉ

Bien que des progrès aient été faits dans la recherche et l'analyse de la résistance du blé à la fusariose de l'épi, tous les cultivars recommandés au Québec sont sensibles. La combinaison de caractères agronomiques désirables et de hauts degrés de résistance est encore difficile. Le développement d'une technique rapide, efficace et précise d'identification de cultivars résistants est nécessaire (Bai et Shaner 1994). L'identification de cultivars résistants dès le stade plantule serait peut-être l'une de ces avenues. Voilà pourquoi après avoir mis au point une technique d'inoculation artificielle des semences, on l'a utilisée ainsi qu'une méthode sans séchage des graines après inoculation pour tester la résistance de 15 cultivars de blé provenant des essais du Conseil des productions végétales du Québec (C.P.V.Q.) de 1993. L'essai a été mené au laboratoire et en serre. Quatre concentrations de l'inoculum ont été utilisées ainsi que trois milieux d'évaluation. L'objectif de l'essai est d'étudier l'effet du *Fusarium graminearum* sur les semences, d'identifier les cultivars résistants à l'infection des plantules et de faire la corrélation entre cette infection et la fusariose de l'épi testée par Devaux dans les essais C.P.V.Q. 1993.

3.1. Matériel et méthodes

Deux méthodes d'inoculation artificielle des semences ont été utilisées. La méthode sans séchage qui consiste à semer les graines directement après trempage dans l'inoculum et la méthode avec séchage qui consiste à sécher les graines à l'air libre jusqu'à séchage complet, après la période de trempage dans l'inoculum. On a utilisé la souche F-1 1-8 du *Fusarium graminearum*. L'inoculum a été préparé par ensemencement d'un ballon de 6 L contenant une solution de 3 L de milieu carboxyméthylcellulose (C.M.C.) (Cappellini et Peterson 1965) avec trois rondelles de 5 mm de culture du *F. graminearum* produite sur milieu Potato Dextrose Agar (P.D.A). La production de macroconidies a été effectuée dans un cabinet de croissance pendant 15 jours. Elle a été favorisée par exposition du ballon pendant 13 heures par jour à la lumière N.U.V. (Near Ultra Violet) et par aération de la solution à

l'aide d'une pompe à air pour aquarium. Au bout des 15 jours on a compté à l'aide d'un hématimètre le nombre de macroconidies produites. Puis on a transvasé l'inoculum dans une bouteille de 3,5 L et conservé en chambre froide à la température de 5°C. Les semences provenaient du programme de phytogénétique de l'Université Laval. Des lots de semences de quinze cultivars (Tableau 6) provenant des essais C.P.V.Q. 1993 ont été choisis suivant leur capacité germinative (plus de 90%). Le cultivar Laval-19 a été mis dans la liste parce que c'est l'un des cultivars les plus utilisés comme témoin sensible à la fusariose de l'épi dans la province de Québec. Les graines ont été désinfectées en surface par trempage dans l'éthanol à 70% pendant 30 secondes, puis dans l'hypochlorite de sodium à 1% pendant 10 minutes, ensuite rincées plusieurs fois dans l'eau distillée. Après essorage, elles ont été trempées dans l'inoculum pendant 24 heures. Quatre concentrations de spores par millilitre ont été utilisées: 0, 30 000, 60 000, et 120 000. Après inoculation, la moitié des graines a été séchée à l'air libre jusqu'à séchage complet avant semis, pour le traitement avec séchage et l'autre moitié a été semée directement, pour le traitement sans séchage. Les évaluations en boîtes de Pétri ont été conduites en laboratoire et celles en caissettes de terreau en serre.

Au laboratoire, l'évaluation a été faite sur papier buvard en boîtes de Pétri, et sur de l'eau gélosée (10 g d'agar par litre). Sur papier buvard, on a déposé 100 graines de chaque cultivar, par boîte de Pétri de 150 mm de diamètre et par traitement. On a procédé à l'arrosage au besoin avec de l'eau distillée. Ensuite on les a laissé germer à la température ambiante du laboratoire pendant 4 jours et on a compté le nombre de graines germées. On a laissé se développer l'infection des plantules et au 7^e jour on a mesuré la viabilité des plantules en comptant le nombre de plantules encore vivantes. Sur l'eau gélosée, on a placé 25 graines de chaque cultivar, par boîte de Pétri de 100 mm de diamètre. On a utilisé quatre boîtes de Pétri par traitement (combinaison d'un cultivar et d'une concentration) faisant en tout 100 graines. Les traitements ont été répétés 4 fois. Pour éviter toute contamination de l'eau gélosée par d'autres micro-organismes, on a procédé au dépôt des graines sur l'eau gélosée dans une hotte à flux laminaire. Puis on les a laissées germer à la température ambiante du laboratoire pendant quatre jours et on a compté le nombre de graines germées. Au 7^e jour on a compté le nombre de graines encore vivantes.

Tableau 6. Pouvoir germinatif des lots de semences utilisés pour l'essai.

Cultivars	Germination (%)	
	avant	inoculation
Mondor		90
AC Voyageur		97
Katepwa		96
Algot		96
Consens		95
Opal		92
Aquino		92
Messier		96
AC Pollet		92
AC Mimi		99
Celtic		97
Bluesky		91
Laval- 19		79
Norseman		96
SS Blomidon		96

En serre, on a fait les semis en caissettes de terreau de 52 cm de long sur 26 cm de large divisées en 6 cellules. Le terreau était de la terre noire venant de la Pocatière et contenant 16,5 % de matière organique (M.O.), 435 ppm (partie par million) de phosphore (P), 1604 ppm de potassium (K), 2323 ppm de calcium [Ca], 650 ppm de magnésium (Mg) avec un pH de 6,9. On a semé 100 graines d'un même cultivar par cellule et par traitement. Les traitements ont été répétés 4 fois. La distribution des traitements par cellule a été faite au hasard. Puis on a laissé les plantules lever à la température ambiante de la serre. Au 7^e jour on a compté le nombre de plantules levées, puis au 15^e jour on a aussi mesuré la viabilité des plantules en comptant le nombre de plantules encore vivantes. On a fait l'analyse statistique par méthode d'inoculation (séchage ou non séchage) des graines après incubation. Les traitements étaient les suivants: 15 cultivars, 4 Concentrations. Le nombre

de répétitions était de 4. La structure des traitements était un factoriel 15 x 4, et celle des unités expérimentales était en blocs aléatoires complets. On a enfin procédé aux analyses de corrélation entre les résultats des essais C. P.V.Q. 1993 menés par Devaux et ceux trouvés dans nos essais.

3.2 Résultats

3.2.1 Méthode sans séchage

3.2.1.1 Sur papier buvard

L'analyse statistique présente une interaction cultivars par concentrations significative au seuil de probabilité 5%. Ceci implique que les cultivars se comportent différemment suivant les concentrations. On a donc procédé à l'analyse des données par **concentration**. C'est ainsi qu'à 30 000 spores/mL, sur papier buvard, la germination au 4^e jour ne présente aucune différence significative entre les cultivars. Par contre à 60 000 spores/mL on observe une différence significative au seuil de probabilité 5% [Tableau 7]. À 120 000 spores/mL la différence est hautement significative (0,01). Le regroupement des cultivars par la plus petite différence significative (P.P.D.S.) donne les résultats suivants:

Les cultivars Celtic et Consens sont les moins sensibles au *Fusarium graminearum*, AC Pollet et Messier les plus affectés et les autres sont intermédiaires.

Au point de vue viabilité au 7^e jour, la différence entre les cultivars est hautement significative (0,01) pour toutes les concentrations considérées. Le regroupement des cultivars par la plus petite différence significative [P.P.D.S.] présente les résultats suivants:

De façon générale, Celtic est le cultivar dont la viabilité est le moins affectée. Messier, AC Pollet, AC Mimi et Katepwa ont les viabilités les plus réduites.

Tableau 7. Germination au 4^e jour sur papier buvard de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de *F. graminearum* et non séchées avant semis.

Cultivars	Germination (%) par concentration			
	30 000 [sp/mL]	60 000 [sp/mL]	120 000 [sp/mL]	Moyenne générale
Celtic	98 a	96 a	80 ab	93 a
Consens	96 a	94 ab	87 a	93 a
Mondor	94 a	86 abcde	71 abc	84 ab
Algot	93 a	92 abc	77 ab	87 ab
Aquino	93 a	86 abcde	86 ab	88 ab
Messier	91 a	73 e	64 bc	76 c
Opal	90 a	80 cde	78 ab	83 bc
Norseman	93 a	93 abc	69 abc	84 abc
SS Blomidon	89 a	82 bcde	76 abc	82 bc
Bluesky	88 a	91 abc	78 ab	86 ab
AC Voyageur	86 a	77 de	80 ab	81 bc
Laval- 19	85 a	82 bcde	73 abc	80 bc
AC Pollet	83 a	74 de	56 c	71 c
Katepwa	83 a	87 abcd	79 ab	82 bc
AC Mimi	83 a	82 bcde	75 abc	79 bc
F calculé	1,79 ^{NS}	3,39*	3,07**	3,24**
P.P.D.S.	15,46	13,42	19,99	9,88

Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de la P.P.D.S.

^{NS} pas significatif.

* significatif au seuil de $P \leq 0,05$.

** significatif au seuil de $P \leq 0,01$.

Tableau 8. Viabilité au 7^e jour sur papier buvard. de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de *F. graminearum* et non séchées avant semis.

Cultivars	Viabilité (%) par concentration			
	30 000 (sp/mL)	60 000 (sp/mL)	120 000 (sp/mL)	Moyenne générale
Celtic	74 a	41 a	24 ab	46 a
Consens	55 ab	21 bc	16 ab	31 b
Mondor	37 bc	16 bcd	2 c	18 cd
Algot	22 cde	10 cd	6 bc	13 cd
Aquino	31 cd	15 bcd	6 bc	17 cd
Messier	10 e	1 d	3 c	5 d
Opal	21 de	9 cd	6 bc	12 cd
Norseman	32 cd	13 bcd	5 bc	25 bc
SS Blomidon	23 cde	11 bcd	6 bc	14 cd
Bluesky	25 cde	12 bcd	5 bc	21 c
AC Voyageur	25 cde	27 ab	25 a	26 bc
Laval- 19	38 bc	16 bcd	8 bc	21 c
AC Pollet	4 e	0 d	0 c	1 d
Katepwa	7 e	3 d	1 c	4 d
AC Mimi	4 e	2 d	0 c	2 d
F calculé	5,39**	3,19**	4,04**	6,58**
P.P.D.S.	22,80	16,76	10,95	9,90

Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de la P.P.D.S.

* significatif au seuil de $P \leq 0,05$.

** significatif au seuil de $P \leq 0,01$.

3.2.1.2 Sur eau gélosée

Sur l'eau gélosée la germination est plus inhibée que sur papier buvard. L'analyse statistique présente des différences significatives de germination entre les cultivars à toutes les concentrations d'inoculum (Tableau 9). Au point de vue viabilité la différence entre les cultivars est hautement significative pour toutes les concentrations sauf à 30 000 spores/mL où elle est seulement significative au seuil de probabilité 0,05 [Tableau 10). On a aussi noté que le pourcentage de viabilité est nettement inférieur à celui relevé sur papier buvard. Le regroupement des cultivars par concentration par la P.P.D.S. donne les résultats suivants:

À la germination au 4^e jour, le cultivar Mondor est significativement différent des cultivars Bluesky, AC Mimi, Katepwa, Laval-19, Messier et Opal. Le reste des cultivars sont intermédiaires. On remarque aussi qu'à 60 000 spores par millilitre, Celtic se reclassse au premier rang mais n'est pas significativement différent de AC Voyageur et de Norseman.

Au point de vue viabilité à 30 000 spores/mL le cultivar Celtic est significativement différent des cultivars Mondor, Norseman, Algot, AC Pollet, Bluesky, AC Mimi, Katepwa et Opal. Le reste des cultivars sont intermédiaires. À 60 000 spores/mL Celtic se classe au premier rang, mais n'est pas significativement différent du Cultivar Consens. À 120 000 spores/mL et à la moyenne générale le cultivar Celtic: est significativement différent du reste des cultivars.

3.2.1.3 En caissettes de terreau

Seules les concentrations 60 000 spores/mL et 120 000 spores/mL ont donne des différences significatives entre les cultivars tant du point de vue germination que viabilité (Tableaux 11 et 12). Puis les résultats montrent une très grande hétérogénéité dans la levée des plantules au 7^e jour lorsqu'on compare les concentrations. En effet certains cultivars comme Laval- 19, Katepwa, Norseman, Yondor et SS Blomidon ont eu une meilleure levée à 60 000 sp/mL qu'à 30 000 et 120 000 spores/mL; d'autres tels que Messier, Consens et AC Mimi ont même eu une levée: meilleure à 120 000 spores/mL qu'à 60 000 spores/mL.

À la germination au 4^e jour, à 60 000 spores/mL les cultivars Celtic et

Tableau 9. Germination au 4^e jour sur eau gélosée de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de *F. graminearum* et non séchées avant semis.

Cultivars	Germination [%] par concentration			
	30 000 (sp/mL)	60 000 (sp/mL)	120 000 (sp/mL)	Moyenne générale
Mondor	98 a	78 bcd	89 a	88 a
SS Blomidon	95 ab	70 de	73 abc	80 ab
Consens	89 abc	83 bcd	65 bc	79 ab
Norseman	88 abc	85 abc	72 abc	81 ab
AC Voyageur	87 abc	87 ab	78 ab	84 ab
Celtic	86 abc	89 a	85 ab	87 a
Algot	84 abc	82 bcd	74 abc	80 ab
Aquino	84 abc	82 bcd	70 abc	79 ab
AC Pollet	83 abc	73 cde	66 bc	74 bc
Bluesky	82 bc	70 de	75 abc	76 bc
AC Mimi	81 bc	78 bcd	64 bc	74 bc
Katepwa	80 bc	69 de	71 abc	73 bc
Laval- 19	76 c	74 bcde	66 bc	72 bc
Messier	75 c	71 de	65 bc	70 c
Opal	73 c	61 e	56 c	63 c
F calculé	3,40**	7,37**	2,56**	4,85**
P.P.D.S.	15,90	13,56	21,90	9,78

Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de la P.P.D.S.

** significatif au seuil de $P \leq 0,01$.

Tableau 10. Viabilité au 7^e jour sur eau gélosée de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de *F. graminearum* et non séchées avant semis.

Cultivars	Viabilité [%] par concentration			
	30 000 (sp/mL)	60 000 (sp/mL)	120 000 (sp/mL)	Moyenne Générale
Mondor	2 bc	3 bc	0 b	2 c
SS Blomidon	11 abc	1 c	4 b	5 bc
Consens	11 abc	9 ab	1 b	7 b
Norseman	2 b c	1 c	0 b	1 c
AC Voyageur	12 ab	2 c	0 b	5 bc
Celtic	18 a	14 a	10 a	14 a
Algot	3 bc	0 c	0 b	1 c
Aquino	13 ab	2 c	4 b	6 bc
AC Pollet	0 c	0 c	0 b	0 c
Bluesky	4 bc	1 c	0 b	2 c
AC Mimi	4 bc	2 c	2 b	3 bc
Katpwa	1 bc	0 c	0 b	0 c
Laval- 19	10 abc	5 bc	0 b	5 bc
Messier	5 abc	2 c	0 b	2 c
Opal	0 c	1 c	4 b	2 c
F calculé	2,01*	3,19**	2,46**	2,63**
P.P.D.S.	12,85	6,57	5,11	5,00

Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de la P.P.D.S.

* significatif au seuil de $P \leq 0,05$.

** significatif au seuil de $P \leq 0,01$.

Tableau 11. Levée au 7^e jour en caissettes de terreau de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de *F. graminearum* et non séchées avant semis.

Cultivars	Levée [%] par concentration			
	0 000 (sp/mL)	60 000 (sp/mL)	120 000 (sp/mL)	Moyenne générale
Celtic	96 a	94 a	92 a	95 a
AC Pollet	95 a	85 ab	73 cd	85 bc
AC Voyageur	94 a	85 ab	83 abc	88 ab
Messier	93 a	80 ab	78 bcd	84 bc
Algot	92 a	76 b	85 abc	85 bc
Bluesky	92 a	90 ab	82 bcd	88 ab
Consens	91 a	91 ab	87 ab	90 ab
Aquino	90 a	75 b	78 bcd	82 bc
Laval- 19	88 a	81 ab	70 d	80 c
Katepwa	88 a	90 ab	77 bcd	85 bc
Norseman	87 a	93 a	78 bcd	86 bc
AC Min-ri	87 a	90 ab	80 bcd	86 bc
Opal	85 a	55 b	77 bcd	74 c
Mondor	84 a	80 ab	77 bcd	81 bc
SS Blomidon	84 a	85 ab	75 bcd	81 bc
F calculé	1,45 ^{NS}	3,23 ^{**}	2,36 [*]	3,44 ^{**}
P.P.D.S.	1,31	15,87	12,87	7,66

Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de la P.P.D.S.

** significatif au seuil de $P \leq 0,01$.

* significatif au seuil de $P \leq 0,05$.

NS pas significatif.

Tableau 12. Viabilité au 15^e jour en caissettes de terreau de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de *F. graminearum* et non séchées avant semis.

Cultivars	Viabilité (%) par concentration			
	30 000 (sp/mL)	60 000 (sp/mL)	120 000 (sp/mL)	Moyenne générale
Celtic	98 a	91 a	86 a	92 a
AC Pollet	95 a	80 ab	76 abc	84 ab
AC Voyageur	87 a	81 ab	72 abc	80 bc
Messier	84 a	76 b	68 bc	76 c
Algot	93 a	82 ab	82 ab	86 ab
Bluesky	87 a	86 ab	82 ab	85 ab
Consens	86 a	82 ab	82 ab	83 bc
Aquino	91 a	81 ab	72 abc	82 bc
Laval- 19	89 a	78 ab	64 c	77 c
Katepwa	87 a	86 ab	70 bc	81 bc
Norseman	89 a	91 a	78 ab	86 ab
AC Mimi	89 a	77 ab	66 c	77 bc
Opal	87 a	59 c	77 abc	75 c
Mondor	86 a	77 ab	66 c	73 c
SS Blomidon	86 a	82 ab	75 abc	81 bc
F calculé	1,37 ^{NS}	2,48 ^{**}	2,36 [*]	3,21 ^{**}
P.P.D.S.	12,85	14,53	12,87	8,10

Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de la P.P.D.S.

^{NS} non significatif.

* significatif au seuil de $P \leq 0,05$.

** significatif au seuil de $P \leq 0,01$.

Norseman se classent au **premier** rang et sont significativement différents de Algot, Aquino, et **Opal**. À 120 000 spores/mL Celtic devient significativement différent de Norseman, mais s'**équiva**ut à AC Voyageur, Algot et Consens. À la moyenne générale le **cultivar** Celtic est au premier rang mais n'est pas significativement différent des **cultivars** AC Voyageur, **Bluesky** et Consens. Le reste des cultivars se valent.

En ce qui concerne la viabilité au 7^e jour, à 60 000 spores/mL, seuls les cultivars Messier et **Opal** sont significativement **différents** de Celtic. À 120 000 spores/mL Celtic est **toujours** au premier rang mais est seulement différent de Messier, Laval- 19, **AC Mimi** et Mondor qui de façon générale ont été les plus affectés.

3.2.2 Méthode avec **séchage**

3.2.2.1 Sur papier **buvard**

L'analyse statistique par concentration donne une différence hautement significative pour toutes les concentrations autant pour la germination au 4^e jour que pour la viabilité des pl^{an}tules au 7^e jour [Tableaux 13 et 14].

L'inhibition de la germination au 4^e jour est plus prononcée qu'avec le traitement sans séchage. À 30 000 spores/mL, les cultivars Celtic, Aquino et Bluesky sont **significativement** différents des autres. À 60 000 spores/mL, Celtic est seul en tête. Le reste des cultivars forme trois groupes bien distincts parmi lesquels Algot et AC Pollet sont les plus affectés. À 120 000 spores/mL le cultivar AC Voyageur n'est pas significativement différent: de Celtic qui encore une fois est au premier rang. À la moyenne générale, Celtic est encore supérieur aux **autres**.

En ce qui concerne la viabilité, le nombre de plantules vivantes au 7^e jour est très faible par rapport au **traitement** sans séchage. À 30 000 sp/mL le cultivar Celtic est au premier rang **mais** n'est pas significativement différent de Consens. Les cultivars Katepwa, Mondor, Algot, Messier et AC Pollet sont les plus affectés. Les autres sont **intermédiaires**.

3.2.2.2 Sur eau **gélifiée**

La germination a été plus **inhibée** que lors du traitement sans séchage des

Tableau 13. Germination au 4^e jour sur papier buvard de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de *F. graminearum* et séchées avant semis.

Cultivars	Germination (%) par concentration			
	30 000 (sp/mL)	60 000 (sp/mL)	120 000 (sp/mL)	Moyenne générale
Celtic	68 a	65 a	45 a	60 a
Aquino	64 a	39 b	13 efg	39 b
Bluesky	59 ab	44 b	21 ef	41 b
Consens	49 c	42 b	33 bc	42 b
Norseman	38 cd	27 c	24 cde	30 c
AC Mimi	36 cd	23 c	5 g	21 d
Laval- 19	35 d	19 c	13 efg	22 d
Katepwa	35 d	23 c	12 ef	24 d
SS Blomidon	34 d	28 c	31 bcd	31 c
AC Voyageur	33 d	26 c	35 ab	31 c
Opal	30 de	19 c	13 efg	21 d
Mondor	29 de	20 c	12 fg	20 de
Algot	21 ef	9 d	17 ef	16 de
Messier	19 ef	19 c	4 g	14 de
AC Pollet	15 f	3 d	3 g	7 f
F calculé	16,97**	20,55**	10,53**	19,62**
P.P.D.S.	11,59	9,25	10,73	6,16

Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de la P.P.D.S.

** significatif au seuil de $P \leq 0,01$

Tableau 14. Viabilité au 7^e jour sur papier buvard de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de *F. graminearum* et séchées avant semis.

Cultivars	Viabilité (%) par concentration			
	10 000 (sp/mL)	60 000 (sp/mL)	120 000 (sp/mL)	Moyenne générale
Celtic	12 a	33 a	26 a	27 a
Aquino	12 c	11 bc	3 cdef	9 c
Bluesky	4 bc	13 b	5 cde	11 c
Consens	9 ab	13 b	12 b	15 b
Norseman	2 c	11 bc	6 c	9 c
AC Mimi	5 ef	3 de	1 def	3 de
Laval- 19	5 ef	2 de	3 cdef	3 de
Katepwa	3 f	1 de	1 def	1 e
SS Blomidon	5 ef	6 cd	6 c	6 cd
AC Voyageur	6 def	3 de	4 cdef	5 d
Opal	0 cde	4 de	2 cdef	5 d
Mondor	3 f	3 de	2 cdef	3 de
Algot	2 f	2 de	2 cdef	2 de
Messier	2 f	2 de	1 def	2 de
AC Pollet	1 f	0 e	0 f	0,4 e
F calculé	13,00**	15,78**	15,70**	12,43**
P.P.D.S.	5,99	5,70	4,42	3,42

Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de la P.P.D.S.

** significatif au seuil de $P \leq 0,01$.

graines. Certains cultivars comme Mondor, Norseman et AC Pollet qui s'étaient bien comportés lors du traitement sans séchage sont les plus affectés dans ce cas ci.

À 30 000 spores/mL, Celtic est significativement différent des autres cultivars. Algot a été le plus affecté. Le reste des cultivars est intermédiaire. À 60 000 spores/mL le cultivar Celtic se classe au premier rang mais n'est pas significativement différent des cultivars SS Blomidon, Messier et Consens. À 120 000 spores/mL et à la moyenne générale, le cultivar Celtic domine les autres cultivars. Mondor et AC Pollet sont les plus affectés (Tableau 15).

En ce qui concerne la viabilité des plantules au 7^e jour, les tendances changent lorsqu'on les compare au traitement sans séchage (Tableau 16). À 30 000 sp/mL, le cultivar AC Mimi se classe en tête, mais n'est pas significativement différent des cultivars Celtic, AC Voyageur, SS Blomidon et Consens. Le cultivar Norseman qui s'était bien comporté lors du test sur papier buvard, se comporte très mal sur l'eau gélosée tant du point de vue germination que viabilité des plantules.

À 60 000 sp/mL, la tendance reste la même, sauf que Celtic reprend sa place en tête du lot avec 28% de plantules encore vivantes au 7^e jour mais n'est pas significativement différent de SS Blomidon, Consens, AC Mimi, AC Voyageur et Messier. À 120 000 sp/mL et à la moyenne générale Celtic domine tout le lot avec plus de 30% de plantules encore vivantes au 7^e jour. Aussi, plusieurs cultivars n'ont pas survécu jusqu'au 7^e jour à 120 000 spores/mL.

3.2.2.3 En caissettes de terreau

Il y a eu moins d'inhibition de la levée par concentration que lors du traitement sans séchage. Néanmoins seules les concentrations 60 000 spores/mL et à 120 000 spores/mL présentent une différence significative entre les cultivars. À 30 000 spores/mL il n'existe aucune différence significative entre les cultivars. Les résultats au 7^e jour montrent toujours une hétérogénéité à la levée. Les cultivars Mondor, SS Blomidon et AC Voyageur ont eu leur meilleure levée à 60 000 sp/mL.

Tableau 15. Germination au 4^e jour sur eau gélosée de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de *F. graminearum* et séchées avant semis.

Cultivars	Germination (%) par concentration			
	30 000 (sp/mL)	60 000 (sp/mL)	120 000 (sp/mL)	Moyenne générale
Celtic	96 a	62 a	69 a	76 a
AC Mimi	44 cd	31 de	32 bc	36 cd
AC Voyageur	65 cd	42 bcd	21 cde	40 c
SS Blomidon	62 bc	60 a	44 b	56 b
Consens	44 bc	47 abc	43 b	52 b
Messier	45 cd	48 ab	27 cd	40 c
Aquino	75 cd	32 cde	30 bc	36 cd
Laval- 19	13 b	29 de	14 de	39 c
Algot	310 f	28 de	27 cd	35 cd
Katepwa	3 de	29 de	15 de	26 cd
Bluesky	61 bc	19 efg	26 cd	35 cd
Opal	58 bc	29 de	7 e	31 cd
Mondor	16 ef	9 g	7 e	11 e
Norseman	11 ef	22 efg	11 e	15 de
AC Pollet	50 cd	13 fg	8 e	10 e
F calculé	11,53**	12,20**	10,74**	12,85**
P.P.D.S.	22,20	14,82	14,70	10,51

Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de la P.P.D.S.

** significatif au seuil de $P \leq 0,01$.

Tableau 16. Viabilité au 7^e jour sur eau gélosée de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de *F. graminearum* et séchées avant semis.

Cultivars	Viabilité (%) par concentration			
	30 000 (sp/mL)	60 000 (sp/mL)	-120 000 (sp/mL)	Moyenne générale
Celtic	34 ab	28 a	34 a	32 a
AC Mimi	38 a	17 abc	10 bcd	22 b
AC Voyageur	33 ab	16 abcd	12 bc	20 b
SS Blomidon	29 abc	24 ab	7 bcde	20 b
Consens	25 abc	18 abc	15 b	19 bc
Messier	21 bcd	14 abcde	0 e	12 c
Aquino	20 bcd	4 cdefg	0 e	8 c
Laval- 19	16 cde	12 bcdefg	3 de	10 c
Algot	9 def	5 cdefg	0 e	5 cd
Katepwa	8 def	2 fg	0 e	3 d
Bluesky	7 def	5 cdefg	4 cde	5 cd
Opal	3 ef	11 bcdefg	0 e	5 cd
Mondor	0 f	0 g	0 e	0 d
Norseman	0 f	0 g	0 e	0 d
AC Pollet	0 f	1 fg	0 e	0,4 d
F calculé	6,88**	3,69**	9,25**	6,66**
P.P.D.S.	15,15	14,06	8,37	7,48

Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de la P.P.D.S.

** significatif au seuil de $P \leq 0,01$

À la levée à 60 000 sp/mL, les cultivars peuvent être divisés en deux groupes: Laval- 19 qui a été le plus affecté d'une part et tout le reste des cultivars d'autre part. À 120 000 sp/mL, les cultivars Celtic, Aquino et Messier arrivent en tête mais ne sont pas différents de AC Mimi, Consens, Algot, Bluesky, Opal, AC Pollet, Mondor et AC Voyageur. Laval-19 est le plus affecté, les autres sont intermédiaires. À la moyenne générale on observe à peu près la même tendance (Tableau 17).

En ce qui concerne la viabilité au 15^e jour, les résultats ne présentent pas les mêmes tendances que lors du test avec le traitement sans séchage. À 30 000 spores/mL les cultivars ne présentent pas de différence significative au point de vue germination. Par contre, à 60 000 spores/mL et à 120 000 spores/mL la différence est hautement significative [Tableau 18]. À 60 000 spores/mL Celtic, AC Voyageur et Bluesky dominent avec 94% de plantules vivantes mais ne sont pas significativement différents de AC Mimi, Aquino, Consens, Algot, Norseman, Opal, Messier, AC Pollet, Katepwa et SS Blomidon. À 120 000 spores/mL Celtic est de nouveau seul en tête avec 93%, mais n'est pas significativement différent de AC Mimi, Aquino, Algot, Bluesky, Opal, Messier AC Pollet et AC Voyageur. À la moyenne générale les cultivars Celtic, Aquino, Algot, Bluesky, Opal, Messier et AC Voyageur sont meilleurs que les autres cultivars. Laval- 19 a été le cultivar le plus affecté.

3.3 Récapitulation des comparaisons entre les différents facteurs de l'essai.

La comparaison des F calculés montre que de façon générale, ceux trouvés au niveau du traitement avec séchage des graines après inoculation sont supérieurs aux F calculés trouvés au niveau du traitement sans séchage des graines après inoculation. Ceci implique que le séchage des graines donne plus de chance d'avoir une différence significative entre les cultivars [Tableau 19]. L'analyse de la corrélation entre les essais de Devaux 1993 [Tableau 20] et les nôtres montre que les résultats obtenus dans ce test ne sont pas corrélés au test de la fusariose de l'épi mené dans les essais C.P.V.Q. de 1993 [Tableau 21].

Tableau 17. Levée au 7^e jour en caissettes de terreau de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de *F. graminearum* et séchées avant semis.

Cultivars	Levée (%) par concentration			
	30 000 (sp/mL)	60 000 (sp/mL)	120 000 (sp/mL)	Moyenne générale
AC Mimi	99 a	94 a	92 ab	95 ab
Celtic	99 a	97 a	95 a	97 a
Aquino	97 a	97 a	93 a	96 a
Consens	97 a	94 a	88 ab	93 ab
Algot	97 a	93 a	91 ab	94 ab
Norseman	96 a	96 a	76 cd	89 b
Bluesky	96 a	95 a	92 ab	95 ab
Opal	96 a	95 a	91 ab	94 ab
Messier	95 a	91 a	93 a	93 ab
AC Pollet	95 a	95 a	85 abcd	92 ab
Mondor	95 a	96 a	89 ab	93 ab
Katepwa	94 a	91 a	76 d	87 b
Laval- 19	92 a	81 b	46 e	73 c
SS Blomidon	91 a	93 a	81 bcd	88 b
AC Voyageur	90 a	93 a	88 ab	90 b
F calculé	1,05 ^{NS}	2,53**	8,38**	7,26**
P.P.D.S.	8,90	6,54	11,52	5,12

Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de la P.P.D.S.

^{NS} Non significatif.

** significatif au seuil de $P \leq 0,01$.

Tableau 18. Viabilité au 15^e jour en caissettes de terreau de semences de blé soumises à plusieurs concentrations de *F. graminearum* et séchées avant semis,

Cultivars	Viabilité [%] par concentration			
	30 000 (sp/mL)	60 000 (sp/mL)	120 000 (sp/mL)	Moyenne générale
AC Mimi	93 a	89 ab	89 ab	91 ab
Celtic	98 a	94 a	93 a	95 a
Aquino	94 a	92 ab	90 ab	93 a
Consens	91 a	88 ab	84 abc	87 b
Algot	93 a	92 ab	90 ab	92 a
Norseman	92 a	90 ab	78 c	87 b
Bluesky	93 a	94 a	90 ab	93 a
Opal	93 a	92 ab	89 ab	91 a
Messier	93 a	92 ab	90 ab	92 a
AC Pollet	99 a	90 ab	81 bc	87 b
Mondor	90 a	86 b	84 abc	87 b
Katpwa	92 a	88 ab	81 bc	87 b
Laval- 19	98 a	74 c	39 d	67 c
SS Blomidon	90 a	89 ab	81 bc	87 b
AC Voyageur	94 a	94 a	90 ab	93 a
F calculé	1,19 ^{NS}	3,36 ^{**}	11,46 ^{**}	9,42 ^{**}
P.P.D.S.	3,90	7,09	10,30	4,50

Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de la P.P.D.S.

^{NS} Non significatif

^{**} significatif au seuil de $P \leq 0,01$.

Tableau 19. Comparaison des F calculés obtenus par concentration, méthode d'inoculation et milieu d'évaluation du 4^e au 7^e jour,

Concentrations (Sp/mL)	Séchage après inoculation	F calculés sur les données des cultivars									
		Buvard				Gélose				Terreau	
		J 4	J 5	J 6	J 7	J 4	J 5	J 6	J 7	J 7	J 15
30 000	oui	17	4	3	13	12	12	3	7	1	2
	non	2	5	3	5	3	8	5	7	1	1
60 000	oui	21	10	8	15	12	11	12	4	3	3
	non	3	2	3	3	7	9	4	3	3	2
120 000	oui	13	1	20	15	10	16	4	9	8	11
	non	3	4	1	4	3	10	3	2	2	2
Global	oui	20	4	9	12	13	14	4	7	7	9
	non	3	7	5	7	5	11	5	3	3	3

Tableau 20. Blé de printemps inoculé de *Fusarium graminearum* dans les essais C.P.V.Q. à Saint-Hyacinthe en 1993.

Cultivars	Épillets fusariés (%)
Mondor	35
AC Voyageur	35
Katepwa	37
Algot	45
Consens	46
SS Blomidon	55
Opal	55
Aquino	57
Messier	59
AC Pollet	59
AC Mimi	60
Celtic	61
Bluesky	68
Laval-19	72
Norseman	75

C.V. = 19,84; F = 16,28**; P.P.D.S. 0,05 = 12,05.
(Source: Devaux 1993).

Tableau 2 1. Coeffkients de corrélation (r) des données de l'infection de semences de blé par le *F. graminearum* versus la fusariose de l'épi obtenue par Devaux [1993].

a) Méthode avec séchage

Concen- trations sp/mL	Coefficient de corrélation (r) avec la fusariose de l'épi					
	Buvard		Gélose		Terreau	
	Germina- tion	Viabilité	Germina- tion	Viabilité	Levée	Viabilité
30 000	- 0,240 ^{NS}	- 0,280 ^{NS}	- 0,267 ^{NS}	0,059 ^{NS}	- 0,239 ^{NS}	- 0,014 ^{NS}
60 000	0,304 ^{NS}	- 0,289 ^{NS}	- 0,007 ^{NS}	- 0,050 ^{NS}	0,176 ^{NS}	0,179 ^{NS}
120 000	0,162 ^{NS}	- 0,146 ^{NS}	- 0,078 ^{NS}	- 0,010 ^{NS}	0,307 ^{NS}	0,366 ^{NS}

NS = il n'existe aucune corrélation entre les résultats de cet essai et ceux trouvés dans les essais C.P.V.Q. de 1993.

b) Méthode sans séchage

concen- trations sp/mL	Coefficient de corrélation (r) avec la fusariose de l'épi					
	B u v a r		d Gélose		Terreau	
	Germina- tion	Viabilité	Germina- tion	Viabilité	Levée	Viabilité
30 000	0,166 ^{NS}	- 0,081 ^{NS}	0,357 ^{NS}	- 0,009 ^{NS}	- 0,017 ^{NS}	- 0,177 ^{NS}
60 000	- 0,078 ^{NS}	- 0,025 ^{NS}	0,083 ^{NS}	- 0,134 ^{NS}	- 0,158 ^{NS}	- 0,130 ^{NS}
120 000	0,282 ^{NS}	0,176 ^{NS}	0,323 ^{NS}	- 0,158 ^{NS}	0,229 ^{NS}	- 0,069 ^{NS}

NS = il n'existe aucune corrélation entre les résultats de cet essai et ceux trouvés dans les essais C.P.V.Q. de 1993.

3.4 Discussion

L'interprétation de ces résultats montre que d'une façon générale les semences inoculées germent **bien**. Ceci avait été rapporté par Djerbi (1970). Mais l'inhibition de la germination s'accroît avec un accroissement de la concentration de spores. Cette tendance sur la réduction de la germination avait été déjà mentionnée par **d'autres** chercheurs [Halfon-Meiri et al. 1979; Tuite et al. 1990; Wong et al. 1992]. On remarque aussi que la viabilité des plantules diffère selon le cultivar, la concentration et le milieu d'évaluation. Ceci reflète les résultats obtenus par **Mesterházy** (1983). Du lot de **cultivars** testés, il n'y a pas eu **beaucoup** de différence statistique. Celtic semble être le meilleur. A point de vue stabilité, il est le plus souvent en tête tant du point de vue germination que viabilité des plantules et quel que soit le milieu **d'évaluation**. Cependant le test pour la fusariose de l'épi dans les essais C.P.V.Q. (Tableau 20) **Devaux** 1993) le classe comme un cultivar sensible. Les autres variétés changent **souvent** de comportement suivant le milieu d'évaluation et ne diffèrent pas tellement les uns des autres.

L'effet du *F. graminearum* se remarque plus dans l'eau gélifiée que dans les **autres** milieux d'évaluation. Le milieu gélifié reste humide en permanence et donc peut favoriser un développement plus rapide du champignon. Les conditions humides prolongées **favorisent** aussi l'infection (**Sutton** 1982).

En serre l'effet du *Fusarium graminearum* a été moins perçu. Le pourcentage de levée et de viabilité obtenu est très élevé [entre 80 et 96%]. D'après certains chercheurs, **l'inoculation** des semences seule n'est pas suffisante pour provoquer une infection **prononcée** des plantules, lorsque l'essai est mené dans du sable ou du terreau (Messiaen 1981; Mesterházy 1978). Ils **préconisent** une contamination du sol en plus de la contamination des semences. Mais cela n'était pas l'objectif visé car on voulait voir l'effet du *Fusarium* sur la germination des semences contaminées. On a eu beaucoup d'hétérogénéité lors de la levée des plantules et cela peut être dû au fait que seules les semences étaient contaminées ou alors à l'effet **d'hétérogénéité** de la serre elle-même. En effet **en** serre sur sable ou terreau, plus l'humidité ambiante est faible et la température élevée, plus la levée est faible et le nombre de plantules ayant la première feuille **effondrée** élevé; cependant la mortalité en post-levée est **faible** (Halfon-Meiri et al. 1979). **Toute fois** la méthode de semis en sable, lorsque l'inoculation est bien homogène

(semences et sol traités), peut être meilleure pour prévoir la maladie des **plantules** au champ et, par **conséquent**, pour déterminer la nécessité d'un traitement de semence (**Jørgensen 1989**).

Au point de vue **germination**, le séchage des graines après inoculation procure une infection plus grande des semences. Au niveau des résultats obtenus, l'inhibition de la germination était supérieure lorsqu'on a utilisé cette méthode d'inoculation. Le Tableau de comparaison des différents facteurs montre que la méthode avec séchage donne plus de chance d'avoir une discrimination entre les **cultivars** car quel que soit le milieu d'évaluation ou la concentration, les F calculés d'une façon générale sont supérieurs à ceux du traitement sans séchage des graines après inoculation. Aussi, il n'y a pas de corrélation entre les résultats de cet essai et la fusariose de l'épi. Donc contrairement aux essais menés par **Mesterházy (1983)** cet essai ne permet pas de conclure que l'on peut faire la sélection pour la fusariose de l'épi à partir de l'infection des plantules.

3.5 Conclusions

Cet essai a permis de tirer **plusieurs** conclusions qui peuvent être regroupées comme suit:

- D'une façon générale on a eu une plus grande inhibition de la germination à 120 000 **spores/mL**. Le regroupement des cultivars par concentration montre que les graines inoculées artificiellement à 30 000 spores/mL germent bien. Mais aux concentrations 60 000 et 120 000 spores/mL on obtient des différences significatives entre les cultivars. Cependant, au niveau de la viabilité des plantules on a une différence significative pour toutes les concentrations et tous les milieux d'évaluation utilisés. Au point de vue pouvoir germinatif et viabilité, le **cultivar** Celtic est **meilleur** que les autres cultivars lorsqu'on compare les moyennes arithmétiques, mais n'est pas toujours significativement différent des autres, spécialement de Consens et **AC** Voyageur.
- Bien que la méthode avec **séchage** favorise plus de discrimination entre les cultivars et que le **cultivar** Celtic est meilleur que les autres, il n'y a pas eu de corrélation entre nos résultats et la fusariose de l'épi testée dans les essais C.P.V.Q. **1993**. Ceci ne permet pas de conclure que l'on

peut faire la sélection pour la fusariose de l'épi à partir de l'infection des plantules.

Chapitre IV

COMPARAISON DE LA TOXICITÉ DU CHAMPIGNON ET CELLE DE SES MÉTABOLITES

L'une des particularités du *Fusarium graminearum* est qu'il produit des substances toxiques à l'homme et aux animaux. La phytotoxicité de ces substances a été aussi rapportée (Bukovcáková et al. 1991; Šrobárová et Bukovcáková 1991). Certains investigateurs ont même fait la relation entre l'effet de ces métabolites et la fusariose de l'épi (Wang et Miller 1988). Mais leur effet sur la germination des semences reste encore peu étudié. Une recherche dans ce domaine serait très importante et aussi assez originale. Tout en étudiant l'effet des filtrats de culture obtenus du milieu GYEP [connu pour favoriser la production de mycotoxines par le *F. graminearum*] sur la germination des semences de blé, on a comparé leur phytotoxicité au pouvoir pathogène du champignon.

4.1 Matériel et méthodes

On a utilisé la souche F-11-8 de *F. graminearum* pour ce test. Le substrat était le milieu GYEP (Miller et Greenhalgh 1988) constitué de 10 g/L de D-glucose, 1 g/L d'extrait de levure (Difco) et 1 g/L de peptone (Difco). Ce milieu est connu pour permettre la production de mycotoxines dont le désoxynivalénole par le *Fusarium graminearum*. L'inoculum a été préparé par ensemencement de six flacons d'Erlenmeyer de 50 mL contenant chacun 25 mL du substrat, avec trois rondelles de 5 mm de diamètre de culture du champignon provenant d'un milieu P.D.A. (Potato Dextrose Agar). Le tout a été incubé pendant une semaine dans un cabinet de croissance à 28°C, à une photopériode de 13 heures de lumière. On a ensuite réuni les cultures de cinq des six flacons dans un seul de 250 mL. Le sixième a été gardé pour représenter le traitement *Fusarium* dans son milieu de culture.

Après homogénéisation du milieu contenu dans le flacon de 250 mL, on l'a centrifugé à 10°C pendant 20 minutes à la vitesse de 13 000 tours par minutes (r/min) dans des bouteilles de centrifugation de 250 mL. La centrifugeuse utilisée était une Dupont RC5C. Après, le surnageant a été séparé du culot de centrifugation et ce dernier resuspendu dans de l'eau physiologique (NaCl 0,85%). Ainsi on a obtenu les traitements suivants:

1. Le surnageant, obtenu de la centrifugation du milieu GYEP ensemencé de *F. graminearum*. Il est présumé contenir les métabolites.
2. Le milieu GYEP ensemencé de *Fusarium graminearum*. Il est présumé contenir des macroconidies et des métabolites.
3. Les spores obtenues de la centrifugation du milieu GYEP ensemencé de *F. graminearum*, et resuspendues dans l'eau physiologique.
4. Le milieu GYEP non contaminé pour servir de témoin aux traitements 1 et 2.
5. L'eau physiologique pour servir comme témoin au traitement 3.

Les cultivars Laval- 19, Celtic, Aquino et Katepwa fournis par le programme de phytogénétique de l'Université Laval ont été utilisés pour cet essai. On a désinfecté les graines en surface par trempage dans de l'éthanol 70% pendant 30 secondes, puis dans l'hypochlorite de sodium 1% pendant 10 minutes. Après rinçage et essorage, on a procédé à l'inoculation par trempage de graines dans les 5 traitements pendant 24 heures. Puis on les a fait sécher à l'air libre jusqu'à séchage complet. Sur papier buvard on a déposé 100 graines par boîte de Pétri de 150 mm de diamètre, par cultivar et par traitement. Sur eau gélosée on a placé 25 graines par boîte de Pétri de 100 mm de diamètre, on avait 4 boîtes par traitement, ce qui fait 100 graines par cultivar et par traitement. L'essai a été répétés 4 fois. Les papiers buvard ont été humectés au besoin avec de l'eau distillée. On a laissé les graines germer à la température ambiante du laboratoire. Au 4^e jour on a compté le nombre de graines germées. On a analysé les résultats en faisant le rapport relatif entre la germination des traitements inoculés et celle de leur témoin non inoculé. Puis comme analyse statistique on a calculé les écarts types.

4.2 Résultats

Les traitements contenant soit des métabolites, des macroconidies, ou les deux présentent une inhibition de la germination supérieure à leur témoin respectif. Les rapports de la germination des traitements 1 et 3 sur la germination de leur témoin respectif sont très peu différents. Le calcul de l'écart type ne présente pas de différence significative entre ces deux traitements. Par contre il existe une différence significative entre le traitement 2 et les traitements 1 et 3 (Tableau 22). Le traitement dans lequel le champignon est ensemble avec ses métabolites (traitement 2) présente une

inhibition de la germination plus prononcée que les deux autres traitements (1 et 3). Le cultivar Celtic a , résisté plus que les autres aux différents traitements. Sur l'eau gélosée on a obtenu des résultats semblables à l'essai sur papier buvard [Tableau 23].

4.3 Discussion

Dans cet essai on a trouvé que l'inhibition de la germination par le champignon avait les mêmes tendances que celle de ses filtrats liquides. Mais étant donné que c'est la première étude faite dans ce sens cette corrélation est encore très peu connue. En effet, Wang et Miller (1988) ont fait la comparaison entre la phytotoxicité des métabolites et la fusariose de l'épi en travaillant sur des coléoptiles étiolés. Mesterházy (1983) a fait la relation entre l'infection des plantules et la fusariose de l'épi. Mais la comparaison de l'inhibition de la germination de semences de blé par les filtrats de culture du champignon et par les spores de celui-ci n'aurait pas fait l'objet de plusieurs études. Les cultivars ont réagi de la même façon aux filtrats de culture et au champignon seul. Ceci illustre encore une fois que le pouvoir pathogène du champignon est semblable à celui de ses métabolites.

L'expérience a aussi montré que le traitement où le *Fusarium graminearum* est en présence de ses filtrats a été celui qui a donné plus d'inhibition de la germination. Cela pourrait être dû à une action synergique des deux. Et comme on le sait, l'un des mécanismes actifs de défense utilisé par la plante hôte pour lutter contre l'invasion du champignon est la synthèse de certaines enzymes. Or comme l'ont mentionné Carter et al. (1980), certains métabolites tels que le désoxynivalénole empêchent cette action. Étant donné que les métabolites sont présents dans les semences infectées, ils joueraient certainement un rôle dans l'inhibition de la germination de celles-ci.

4.4 Conclusions

Les conclusions que l'on peut tirer de cet essai sont que d'une part l'inhibition de la germination par le champignon a les mêmes tendances que celle de ses filtrats liquides, d'autre part lorsque le champignon est en présence de ses filtrats liquides l'inhibition de la germination est plus élevée. Aussi le cultivar Celtic s'est comporté mieux que les autres au point de vue germination dans tous les traitements appliqués.

Tableau 22. Germination sur Papier buvard de semences de blé exposées à divers traitements issus de la centrifugation du milieu GYEP ensemencé de *F. graminearum*.

Cultivars	Germination absolue (%)		Germination relative au témoin (%)
	Traitements	Témoins	
	Milieu GYEP non contaminé		
	Surnageant ♦♦		
Laval- 19	52	86	61 ± 8♦
Celtic	81	87	94 ± 5
Aquino	60	87	69 ± 10
Katepwa	60	88	68 ± 7
	Spores et Surnageant ♦♦♦	Milieu GYEP non contaminé	
Laval- 19	40	86	48 ± 13
Celtic	60	87	70 ± 11
Aquino	51	87	58 ± 13
Katepwa	49	88	56 ± 11
	Spores ♦♦♦♦	Eau physiologique	
Laval- 19	48	84	58-r 5
Celtic	80	87	92 ± 4
Aquino	57	89	64 ± 19
Katepwa	58	87	67 ± 13

∞ = Écart type obtenu des rapports des pourcentages de germination issus de graines traitées avec le surnageant ou les spores sur leur témoin respectif.

♦♦ = Surnageant obtenu de la centrifugation du milieu GYEP ensemencé de *F. graminearum*.

♦♦♦ = Milieu GYEP ensemencé de *F. graminearum*.

∞*++ = Spores obtenues de la centrifugation du milieu GYEP ensemencé de *F. graminearum* et resuspendues dans l'eau physiologique.

Tableau 23. Germination sur eau gélifiée de semences de blé exposées à divers traitements issus de la centrifugation du milieu GYEP ensemencé de *F. graminearum*.

Cultivars	Germination absolue (%)		Germination relative au témoin 1%)
	traitements	Témoins	
	Surnageant ♦♦	Milieu GYEP non ensemencé	
Laval- 19	51	88	59 ± 9♦
Celtic	83	89	93 ± 10
Aquino	62	89	70 ± 4
Katepwa	54	90	60 ± 7
	Spores et Surnageant ♦♦♦	Milieu GYEP non contaminé	
Laval- 19	42	88	48 ± 7
Celtic	53	89	60-c 7
Aquino	50	89	56-t 9
Katepwa	40	90	47 ± 4
	Spores ♦♦♦♦	Eau physiologique	
Laval- 19	50	89	58 ± 14
Celtic	75	89	90 ± 10
Aquino	67	91	73 ± 12
Katepwa	57	93	61 ± 18

♦ = Écart type obtenu des rapports des pourcentages de germination issus de graines traitées avec le surnageant ou les spores sur leur témoin respectif.

♦* = Surnageant obtenu de la centrifugation du milieu GYEP ensemencé de *F. graminearum*.

♦** = Milieu GYEP ensemencé de *F. graminearum*.

♦♦♦ = Spores obtenues de la centrifugation du milieu GYEP ensemencé de *F. graminearum* et resuspendues dans l'eau physiologique

Mais ce travail ouvre plutôt la porte à plusieurs domaines de recherches tels que l'**approfondissement** de la **recherche** dans le domaine de l'inhibition de la germination par les **filtrats** liquides du *F. graminearum*, et aussi dans la recherche du rôle des **métabolites** dans la germination des semences infectées. En effet, on se rend compte, lors de la revue bibliographique, que cet axe de recherche serait **très** peu exploré. Seuls quelques chercheurs ont mentionné l'inhibition de la germination chez le blé par les métabolites telles que zéaralénone et F-2 (Bukovcáková et al. 1991), et les **filtrats** liquides du *Fusarium graminearum* sur les **caryopses** de blé (Šrobárová et Bukovcáková 1991).

Il serait donc pertinent de continuer cette étude en dosant les différents métabolites produits par le champignon dans le milieu GYEP. On pourrait aussi les identifier et surtout voir leur effet sur la germination des semences.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Cette étude a permis de mettre en évidence les points suivants:

1. La technique d'inoculation artificielle des semences avec séchage mise au point favorise mieux l'infection que la méthode sans séchage. En plus, elle a l'avantage de permettre le traitement d'une grande quantité de semences que l'on peut garder et de les utiliser au fur et à mesure que l'on en a besoin. Les résultats ont aussi montré une meilleure appréciation de l'effet du champignon.
 2. Y1 existe une différence: dans la résistance des cultivars au *F. graminearum* au moment de la germination. Le cultivar Celtic est meilleur que les autres cultivars testés.
 3. Il n'y a pas eu de corrélation entre les résultats de l'essai et ceux de la fusariose de l'épi testé dans les essais C.P.V.Q. Ceci ne permet pas de conseiller la sélection pour la résistance à la fusariose de l'épi à partir de l'infection des semences et des plantules.
 4. Quand on compare les différentes concentrations, la concentration 120000 spores/mL a entraîné une plus forte inhibition de la germination que les concentrations 30 000 spores/mL et 60 000 spores/mL. En ce qui concerne le pourcentage de viabilité, le cultivar AC Voyageur se comporte mieux à partir de la concentration 60 000 jusqu'à 120 000 spores/mL.
 5. L'inhibition de la germination par le champignon est presque équivalente à celle de ses métabolites. Si ce résultat se confirme par d'autres essais, on pourrait travailler avec les métabolites et appliquer directement les résultats au champignon.
 6. Le *Fusarium graminearum* combiné à ses filtrats de culture entraîne une inhibition de la germination plus forte que lorsqu'il est utilisé sans filtrats. Ce résultat ouvre la porte à d'autres essais qui peuvent permettre de mettre en évidence le rôle des métabolites dans l'infection des semences au moment de la germination.
-

RÉFÉRENCES

- Andersen, A.L. 1948.** The developpment of *Gibberella zeae* head blight of wheat. *Phytopathology* 38: 595-611.
- Bai, G. et Shaner, G. 1994.** Scab of wheat: prospects for control. *Plant Dis.* 78: 760-766.
- Boudreau, A. et Ménard, G. 1992.** Le Blé: Éléments fondamentaux et transformation. Presses de l'Université Laval, Québec. 439 pp.
- Boyeldieu, J. 1980.** Les cultures céréalières. Hachette, Paris. 256 pp.
- Burgess, L.W., Wearing, A.H. et Toussoun, T.A. 1975.** Surveys of *Fusaria* associated with crown rot of wheat in eastern Australia. *Aust. J. Agric. Res.* 26: 791-799.
- Bukovcáková, M., Šrobárová, A. et Vozár, I. 1991.** Zearalenone production in wheat infected by *Fusarium graminearum* Schwabe. *Mycotoxin Res.* 7[A]: 84-90.
- Cappellini, R.A. et Peterson J.N. 1965.** Macroconidium formation in submerged cultures by a non sporulating strain of *Gibberella zeae*. *Mycologia* 57: 962-966.
- Cassini, R. 1970.** Sur l'importance de la contamination des semences dans l'apparition et le développement de la maladie du pied des céréales due à *Fusarium roseum* (Link) Sn. et H. *Ann. Acad. Sci. Fenn. A, II Biol.*: 168: 28-30.
- Carter, C.J., Cannon, M. et Jimenez, A. 1980.** A trichodermin-resistant mutant of *Saccharomyces cerevisiae* with abnormal distribution of native ribosomal subunits. *Eur. J. Biochem.* 107: 173-183.
- Champion, R. 1983.** Essais de résistance des cultivars aux maladies en France. *Seed Sci. & Technol.* 11: 681-690.
- Colhoun, J. et Park, D. 1964.** *Fusarium* diseases of cereals. 1. Infection of wheat plants, with particular reference to the effects of soil moisture and

temperature on seedling infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 47: 579-582.

Conseil des productions végétales du Québec 1994. Céréales: Cultivars recommandés au Québec en 1994-1995. Conseil des productions végétales du Québec. Publication N° 94-0089. 31 pp.

Cook, R.J. 1980. Fusarium foot rot of wheat and its control in the Pacific Northwest. Plant Dis. 64: 1061-1066.

Cook, R.J. 1986. *Fusarium* diseases of wheat and other small grains in North America. Pages 39-52 in: Nelson P.E. et al. [r-éd.): *Fusarium* diseases, biology and control. Pennsylvania State University Press, University Park.

Couture, L. 1982. Réceptivité de cultivars de céréales de printemps à la contamination des graines sur inflorescence par les *Fusarium* spp. Can. J. Plant Sci. 62: 29-34.

Couture, L. 1988. Maladies. ~Pages 101- 112 dans Céréales de printemps: culture. Conseil des productions végétales du Québec. AGDEX 110/20.

Couture, L. et Sutton, J.C. 1980. Effect of dry heat treatment on survival of seed borne *Bipolaris sorokiniana* and germination of barley seeds. Can. Plant Dis. Surv. 60: 59-61.

Danuta, P. 199 1. Cytogenetic changes in plant cells as influenced by mycotoxins. Mycotoxin Res. 7(A): 150-156.

Devaux, A. 1992. Essais sur la résistance du blé à la fusariose de l'épi (*Fusarium graminearum*). Rapport n° 1. Service de phytotechnie, M.A.P.A.Q. Saint-Hyacinthe, Québec. 26 1 pp.

Devaux, A. 1993. Essais sur la résistance du blé à la fusariose de l'épi (*Fusarium graminearum*). Rapport n° 2. Service de phytotechnie, M.A.P.A.Q. Saint-Hyacinthe, Québec. 28 pp.

Djerbi, M. 1970. Étude écologique des actions parasitaires des espèces fusariennes à l'égard du blé. Bulletin de la faculté d'agronomie (Tunis) 26-27: 5-58.

Djerbi, M. 197 1. Recherche sur l'histologie et le cycle biologique du

Fusarium roseum [Schwabe] Snyder. et Hans. du blé. Bulletin de l'I.N.A.T 28-29: 5-76.

Duben, J. et Fehrmann, H. 1980. [Occurrence and pathogenicity of *Fusarium* spp on winter wheat in West Germany. III. Relation between infections of the haulm base and the heads] [en allemand]. Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz 87: 1-12.

Duthie, J.A. et Hall, R. 1987. ~Transmission of *Fusarium graminearum* from seed to stems of winter wheat. Plant Pathol. 36: 33-37.

Halfon-Meiri, A., Kulik, M.M. et Schoen, J.F. 1979. Studies on *Gibberella zeae* carried by wheat seeds produced in the Mid-Atlantic region of the United States. Seed Sci. & Technol. 7: 439-448.

Hampton, J.G. 1980. Fungal pathogens in New Zealand certified wheat seed. N. Z. J. Exp. Agric. 8: 301-304.

Hart, L.P, Pestka, J.J. et Liu, M.T. 1984. Effet of kernel development and wet periods on production of deoxynivalenol in wheat infected with *Gibberella zeae*. Phytopathology 74: 1415-1418.

Haws, C.L. 196 1. Studies on strains relationships of *Gibberella zeae* (Schw.) Petch. M.Sc. Thesis, Cornell University. 48 pp.

Jsrghensen, J. 1982. The freezing blotter method in testing barley seed for inoculum of *Pyrenophora graminea* and *P. teres*. Repeatability of test results. Seed Sci. & Technol. 10: 639-646.

Jsrghensen, J. 1989. Comparison of fluorescence method with other methods in testing wheat seed for infection with *Septoria nodorum*. Seed Sci. & Technol. 17: 249- 253.

Limonard, T. 1966. A modified blotter test for seed health. Neth. J. Plant Pathol. 72: 3 19-32 1.

Mantecón, J.D., Melegani, A.L. et Escande, A.R. 1984. Pathogenicity of *Fusarium* strains on wheat seeds and seedlings. Fitopatologia 19: 85-88.

Martin, R.A. et Johnston, H.W. 1982. Effects and control of *Fusarium*

diseases of cereal grains in the Atlantic Provinces. *Can. J. Plant Pathol.* 4: 210-216.

Mesterházy, Á. 1978. Comparative analysis of artificial inoculation methods with *Fusarium* spp. on winter wheat varieties. *Phytopathol. Z.* 93: 12-15.

Mesterházy, Á. 1983. Breeding wheat for resistance to *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*. *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz* 91: 295-311.

Mesterházy, Á. 1985. Effect of seed production area on the seedling resistance of wheat to *Fusarium* seedling blight. *Agronomie* 5: 491-497.

Messiaen, C.M. 1981. Les variétés résistantes: méthode de lutte contre les maladies et ennemis des plantes. INRA, Paris. 374 pp.

Miller, J.D. et Arnison, P.G. 1986. Degradation of deoxynivalenol by suspension cultures of the *Fusarium* head blight resistant wheat cultivar Frontana. *Can. J. Plant Pathol.* 8: 147-150.

Miller, J.D., Taylor, A. et Greenhalgh, R. 1983. Production of deoxynivalenol and related compounds in liquid culture by *Fusarium graminearum*. *Can. J. Microbiol.* 29: 1171-1178.

Milus, E.A. et Parsons, C.E. 1994. Evaluation of foliar fungicides for controlling *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Dis.* 76: 697-699.

Mirocha, C.J. et Christensen, C.M. 1974. Fungus metabolites toxic to animals. *Annu. Rev. Phytopathol.* 12: 303-330.

Molot, P. et Simone, J. 1967. Technique de contamination artificielle des semences de maïs par les fusarioses. *Rev. Zool. Agric. Appl.* 66: 29-32.

Naik, D.M., Bush, L.V. et Barron, G.L. 1978. Influence of temperature on the strains of *Fusarium graminearum* Schwabe in zearalenone production. *Can. J. Plant Sci.* 58: 1095-1097.

Neish, G.A. et Cohen, H. 1963. Vomitoxin and zearalenone production by *Fusarium graminearum* from winter wheat and barley in Ontario. *Can. J. Plant Sci.* 61: 811-815.

Nkongolo, K.K., Dostaler, D. et Couture, L. 1993. Effet de la bétaine, de la choline et d'extraits d'anthères du blé sur la croissance du *Fusarium graminearum*. Can. J. Plant Pathol. 15: 81-84.

Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture. 1993. Annuaire FAO du commerce 1992. Vol. 46. FAO, Rome. 264 pp.

Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture. 1993. Annuaire FAO de la production 1992. Vol. 46. FAO, Rome. 282 pp.

Perkowski, J., Plattner, R.D., Golinski, P., Vesonder, R.F. et Chelkowski, J. 1990. Natural occurrence of deoxynivalenol, 3-acetyldeoxynivalenol, 15-acetyldesoxyvalenol, nivalenol, 4,7-dideoxynivalenol and zearalenone in Polish wheat. Mycotoxin Res. 6: 7-12.

Purss, G.S. 1966. Studies of varietal resistance to crown rot of wheat caused by *F. graminearum* Schwabe. Qd. J. Agric. Anim. Sci. 23: 475-478.

Richardson, M.J. 1979. An annotated list of seed-borne diseases. Troisième édition. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey. 320 pp.

Shimada, T. et Otani, M. 1990. Effects of *Fusarium* mycotoxins on the growth of shoots and roots at germination in some Japanese wheat cultivars. Cereal Res. Commun. 18: 229-233.

Shroeder, H.W. et Christensen, J.J. 1963. Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. Phytopathology 53: 831-838.

Sing, J.M. et Cook, R.J. 1981. Effect of water potential on reproduction and spore germination by *Fusarium roseum* "*graminearum*", "*culmorum*", and "*avenaceum*". Phytopathology 71: 449-504.

Snijders, C.H.A. 1988. The phytotoxic action of deoxynivalenol and zearalenone on wheat seedlings. Proc. Jpn. Assoc. Mycotoxicol. Suppl. 1: 103-104.

Snijders, C.H.A. et Krechting, C.F. 1992. Inhibition of deoxynivalenol translocation and fungal colonization in *Fusarium* head blight resistant wheat. Can. J. Bot. 70: 1570-1576.

Snijders, C.H.A. et Perkowski, J. 1990. Effects of head blight caused by *Fusarium culmorum* on toxin content and weight of wheat kernel. *Phytopathology* 80: 566-570.

Šrobárová, A. et Bukovcáková, M. 1991. Cultural characteristics and zearalenone production by strains of *Fusarium* from wheat. *Mycotoxin Res.* 7(A): 77-83.

Statistique Canada. 1994. Série de rapport sur les grandes cultures. Division de l'agriculture, catalogue 22-002. Vol. 73, n° 1. 77 pp.

Strange, R.N. et Smith, H. 1971. A fungal growth stimulant in anthers which predisposes wheat to attack by *Fusarium graminearum*. *Physiol. Plant Pathol.* 1: 141-150.

Strange, R.N. et Smith, H. 1978. Specificity of choline and betaine as stimulants of *Fusarium graminearum*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 70: 187-192.

Sutton, J.C. 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Can. J. Plant Pathol.* 4: 195-209.

Takegami, S. et Sasai, K. 1970. Investigations on the resistance of wheat varieties to *Gibberella zeae* after particular inoculation techniques. X. Experiments on improved inoculation methods involving conidiospores and hyphae. *Proc. Crop Sci. Soc. Jpn* 39: 1-6.

Toussoun, T.A. et Nelson, P.E. 1976. A pictorial guide to identification of *Fusarium* species according to the taxonomic system of Snyder and Hansen. Second edition. The Pennsylvania State University Press, University Park. 43 pp.

Tschang, A.T., Horst, R.K. et Nelson, P.E. 1975. A substrate for uniform production of perithecia in *Gibberella zeae*. *Mycologia* 67: 1101 - 1108.

Tuite, J., Shaner, G. et Everson, R.J. 1990. Wheat scab in soft red winter wheat in Indiana in 1986 and its relation to some quality measurements. *Plant Dis.* 74: 959-962.

Vesonder, F., Ciegler, A., Rogers, R.F., Burbidge, K.A., Bothast, R.J. et

- Jensen, A.H. 1978.** Survey of 1977 crop year preharvest corn for vomitoxin. Appl. Environ. Microbiol. 36: 845-888.
- Wang, Y.Z. et Miller, J.D. 1988.** Screening techniques and sources of resistance to *Fusarium* head blight. Pages 239-250 in: Klatt, A.R. (r-éd.), Wheat production constraints in tropical environments. CIMMYT, Mexico.
- Warren, H.L. et Kommedahl, T. 1973.** Fertilization and wheat refuse effects on *Fusarium* species associated with wheat roots in Minnesota. Phytopathology 63: 103-108.
- Windels, C.E. 1991.** Current status of *Fusarium* taxonomy. Phytopathology 81: 1048-1051.
- Wong, L.S.L., Tekauz, A., Leisle, D., Abramson, D. et McKenzie, R.I.H. 1992.** Prevalence, distribution, and importance of *Fusarium* head blight in wheat in Manitoba. Can. J. Plant Pathol. 14: 233-238.
- Ye, H.Z. 1980.** On the biology of the perfect stage of *Fusarium graminearum* Schw. Acta Phytologica Sin. 7: 35-42.
- Zillinsky, F.J. 1983.** Maladies communes des céréales à paille: Guide d'identification. CIMMYT, Mexico. 141 pp