

*Prospection, isolement et caractérisation  
phénotypique d'isolats de Fusarium  
oxysporum Schlechtendahl f.sp. albedinis  
(Killian & Maire).*

**Essais d'antagonisme bactérien.**

Présenté par  
**BANI Mustapha**  
Directeur de thèse Benchabane M. Pr. ENSA  
Soutenu le 08 février 2011

Jury Président Bouznad Z. MC USDB Examineurs : Khelifi L. Pr. ENSA Aissat A. MC USDB  
Guezlane A. MC ENSA



# Table des matières

Dédicace . . .	5
Remerciements . . .	6
ص خ لم . . .	7
Résumé . . .	8
Abstract . . .	9
Liste des abréviations . . .	10
Introduction . . .	11
Chapitre 1. Synthèse bibliographique . . .	13
1.1 Le palmier dattier . . .	13
1.1.1 Botanique et aspects morphologiques . . .	13
1.1.2 Diversité génétique . . .	14
1.2. Le Bayoud . . .	15
1.2.1 Historique et extension géographique en Algérie . . .	15
1.2.2 Importance des dégâts . . .	17
1.2.3 Symptomatologie . . .	17
1.2.4 Dissémination . . .	18
1.2.5 Cycle d'infection . . .	18
1.2.6 Méthodes de lutte . . .	20
1.3 Agent causal . . .	22
1.3.1 Taxonomie et écologie . . .	22
1.3.2 Caractéristiques morphologiques . . .	22
1.3.3 Caractéristiques pathogénique . . .	23
1.3.4 Structure génétique . . .	24
1.3.5 Interaction plante-pathogène . . .	24
Chapitre 2. Matériel et méthodes . . .	28
2.1. Diagnostic et prospection sur terrain . . .	28
2.1.1 Localisation des palmeraies . . .	28
2.1.2 Observations effectuées sur terrain . . .	28
2.1.3 Prélèvement des échantillons . . .	29
2.2. Diagnostic au laboratoire . . .	29
2.2.1 Techniques d'isolement . . .	30
2.2.2 Identification des isolats . . .	31
2.2.3 Caractérisation des isolats . . .	32
2.2.4 Analyse statistique . . .	34
2.3 Antagonisme microbien . . .	35
2.3.1 Matériel biologique . . .	35
2.3.2 Essais d'antagonisme <i>in vitro</i> . . .	36
2.3.3 Analyse statistique . . .	39
Chapitre 3. Résultats et discussions . . .	40
3.1 Diagnostic et prospection sur terrain . . .	40

3.1.1 Descriptif symptomatologique . .	40
3.1.2 Répartition des palmiers malades . .	44
3.2 Diagnostic au laboratoire . .	44
3.2.1 Isolement et identification . .	44
3.2.2 Caractérisation des isolats . .	47
3.2.3 Analyse statistique . .	55
3.3 Antagonisme microbien . .	57
3.3.1 Antagonisme <i>in vitro</i> . .	57
3.3.2 Antagonisme dans le sol . .	64
3.4 Discussion générale . .	66
Conclusion . .	72
Références bibliographiques . .	74

## Dédicace

*A mon grand pays «Algérie» A mes très chers parents et mes beaux parents, pour Leurs sacrifices et leurs efforts consentis, A mon frère Hichem, A ma femme Sara et sa famille, A ma grand-mère, A mes frère et sœurs, A tous Ma grande famille (Bani, Rafed, Saker) A Firdaous et Salssabile. A tous mes amis sans exception (Djilali, Billel, Belkacem, Salim, Toufik, Madjid, Ridha, Benhaoua, kheirddine, youcef, bourouba, Mohamed, fateh...) Je dédie ce travail Mustapha*

## Remerciements

Je remercie « ALLAH » le tout puissant pour me donner la santé, les moyens, la volonté, le courage et la force de réaliser ce travail.

*Au terme de ce travail, j'exprime ma plus profonde reconnaissance à M. **Benchabane Messaoud** pour m'avoir épaulé tout au long de ce travail, pour m'avoir fait profiter de ses connaissances et pour son soutien précieux lors de la réalisation et la rédaction de ce mémoire.*

Je tiens à remercier **M. Bouznad Z** de bien vouloir m'honorer par sa présence en présidant le jury. Je souhaite que vous trouviez ici l'expression de mes sincères remerciements et gratitude.

*Je remercie **M. Khelifi L, M. Aissat A et M. Guezlane A** d'avoir accepté d'examiner ce travail. Je vous présente mes profondes reconnaissances et mes remerciements pour vos conseils précieux.*

Je remercie amplement **M<sup>me</sup> CHAOUCH** d'avoir accepté l'utilisation des moyens de son laboratoire. Je tiens à remercier aussi très vivement tout le personnel du département des sciences agronomiques de Blida, plus particulièrement : **M. Benmoussa, M<sup>elle</sup> Fadil D, M. Ali Ousaleh, Riadh, Kamel, Ami Slimane, Abdelkader, Nasro et Yahia.**

Un grand merci à tous ceux qui m'ont accompagné par leur soutien affectif, moral et matériel, par leurs encouragements tout au long de cette étude, particulièrement:

- M. Ibrahim Elmir de m'avoir aidé avec ses propres moyens dans la réalisation de la prospection dans la région de Bechar.
- M<sup>lles</sup> Bensaid, Loumazia, Benchikh et Kaderi de m'avoir aidé dans la réalisation de ce travail.
- Tout le personnel de l'INRA Adrar (M. Boudfer, M. Kherssi, M. Kadri.....).
- Les phoeniculteurs qui m'ont facilité la réalisation de ce travail (ami khaked «Besekra» Elbarka Sliman «Adrar»...).
- La station de l'INPV de Ghardaïa pour l'envoi des échantillons.
- M<sup>lle</sup> Aicha de m'aider dans la zone de Ain Saleh.
- Mes chères parents, mes frères et sœurs.
- Mes amis (Hichem, Bilal, Djilali, Salim,...).

Je voudrais adresser mes sincères remerciements et mon plus grande reconnaissance à tous les professeurs qui ont assuré dans ma formation.

Enfin, une grande reconnaissance à toutes les personnes qui ont fait, font ou feront de la science un outil au service de l'humanité.

## ص خلم

يعتبر نخيل النمر العنصر الأساسي في الأنظمة البيئية للواحات، و تعد مشاكل الآفات المرضية و الحشرية من أهم صعوبات تنمية قطاع النخيل. حيث يعتبر مرض الفيوزاريوم الأشد تدميرا و الأكثر تهديدا لواحات النخيل الجزائرية.

يشكل هذا العمل جزءا من الدراسات المخصصة للعامل المسبب (فيوزاريوم أوكسيسورم) لهذا المرض ، ويهدف إلى تحديث المعطيات الوبائية للفيوز في واحات جنوب غرب الجزائر، و دراسة وصفية لعزلات الفيوزاريوم أوكسيسورم التي تم عزلها من مناطق مختلفة، لأجل استبيان اختلافات مورفولوجية، فسيولوجية و مرضية محتملة. في الأخير نقيم استجابة بعض عزلات الفطر بوجود بعض الكائنات الحية الدقيقة الحداثية و ذلك بهدف مكافحة الفيولوجية.

الدراسة التي أجريت في عشر حدائق نخيل مصابة واقعة بولايات أدرار، تمنراست و بشار، سمحت بمعالجة حالة حدائق النخيل وسلوك أصنافه تجاه الفيوز في المنطقة. الدراسة الوصفية المظهرية لسنة وعشرين عزلة تم عزلها من مختلف العينات من أصول مختلفة ، ساعد في تحديد مجموعات من عزلات جد متقاربة من حيث الصفات إزاء مختلف التجارب المجرات.

نتائج إختبار ثلاثة سلالات لبكتيرية *Pseudomonas fluorescens* (CHAO, CK4, S20)

وعزلة الفيوزاريوم أوكسيسورم غير مرضية أظهرت نشاط تثبط ملموس خص نماتي عزلات من فيوزاريوم أوكسيسورم في مختلف الأوساط الحداثية المستعملة وكذلك في التربة.

### كلمات مفتاحية

*Pseudomonas fluorescens* , نخيل النمر, الفيوز , الجزائر , فيوزاريوم أوكسيسورم

## Résumé

Le palmier dattier constitue l'élément essentiel des écosystèmes oasiens, ses problèmes phytosanitaires sont classés parmi les contraintes majeures du développement du secteur dattier. Le Bayoud ou fusariose vasculaire, est la maladie la plus destructive et la plus menaçante pour cette culture en Algérie.

Ce travail s'intègre dans le cadre des études consacrées à l'agent pathogène de cette maladie, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (*Foa*), qui a pour objectif d'actualiser les données épidémiologiques de la maladie dans la région sud-ouest algérienne, de rechercher d'éventuelles variations morphologiques, physiologiques et pathogéniques entre des isolats du *Foa* collectés à partir des différentes palmeraies et enfin d'évaluer les potentialités de certains micro-organismes antagonistes vis-à-vis de l'agent pathogène (*Foa*) dans une perspective de lutte biologique.

Les prospections réalisées dans dix palmeraies bayoudées situées dans les wilayates d'Adrar, Tamanrasset et Bechar ont permis d'examiner l'état du verger *phoénicole et de constater le comportement des cultivars à cette maladie dans ces régions*. La caractérisation phénotypique réalisée sur 26 isolats issus des isolements effectués à partir de différents échantillons, provenant de différentes origines, a pu repérer des groupes d'isolats s'avérant proches en termes de comportement vis-à-vis des différents tests réalisés, des caractères culturels et certains aspects physiologiques et pathologiques.

Les résultats des tests antagonistes ont mis en évidence l'action antagoniste des souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et CK4) et l'isolat non pathogène de *Fusarium oxysporum* (FO47) vis-à-vis de huit isolats de *Foa*. Ces actions ont été démontrées sur la croissance mycélienne et le pouvoir de sporulation.

**Mots clés:** *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, palmier dattier, Bayoud, Algérie *Pseudomonas fluorescens*.

---

## Abstract

The date palm is the essential element of oasis ecosystems, their health problems are classified as major constraints for development of date palm. The bayoud (*Fusarium* vascular wilt) is the most destructive disease and most threatening to this crop in Algeria.

This work forms part of several studies on the causal agent of this disease (*Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*), which aims to update the epidemiological data of the disease in the southwestern region of Algeria, to investigate possible morphological, physiological and pathogenic variations, among the *Fusarium oxysporum* isolates collected from different date palm oasis, and finally to assess the pathogenic potential of certain microorganisms antagonistic towards the pathogen (*Foa*) in a biological control perspective.

The different prospections conducted in ten date palm areas largely affected by this disease located in the provinces of Adrar, Tamanrasset and Bechar were used to examine the state of date palm orchards and note the comportment of cultivars to this disease in the region. The phenotypical characterization performed on 26 isolates from different isolations made from different samples, issued from different origins could help identify groups of isolates seems to be close in terms of relationship towards the realized tests, the cultural features, physiological and pathogenic aspects.

Test results of the antagonist tests showed the antagonistic action of bacterial strains of *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO and CK4) and the non-pathogenic isolate of *Fusarium oxysporum* (Fo47) towards eight isolates of *Fusarium oxysporum*. All these actions have been demonstrated on mycelial growth and the sporulation power.

**Key words:** *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*, date palm, Bayoud, Algeria, *Pseudomonas fluorescens*.

## Liste des abréviations

- ACP: l'analyse en composantes principales.
- AFLPs: Amplified Fragment Length Polymorphism
- CAPS: Cleaved amplified polymorphic sequences.
- EDTA: Acide Éthylène Diamine Tetracétique.
- *Foa*: *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*
- GCV: Groupes de Compatibilité Végétative.
- KB: milieu b de King
- N.S : milieu de Nash et Snyder
- PDA: milieu potato-dextrose-agar
- RAPDs: Random Amplification of Polymorphic DNA.
- RFLPs: Restriction fragment length polymorphisms.
- SNPs: Single Nucleotide Polymorphisms.
- SSR: Single Sequence Repeat.
- UPGMA: Unweight Pair Group Method with Arithmetic mean.

---

# Introduction

Dans les espaces oasiens, du sud algérien, le palmier dattier n'est pas considéré seulement comme culture de production dattière, mais en plus de sa place stratégique comme première vocation il représente l'équilibre agro-écologique et assure la structure socio-économique de ces régions. La création des palmeraies a toujours engendré d'autres orientations de gestion agricole, tant en production végétale (cultures sous palmeraies) et aussi en production animale (élevage). De telles activités, parfois vivrières, et souvent productives ont créé des centres de vie, garantissant à la fois une production destinée à la consommation locale, nationale et à l'exportation. Selon les données établies par la FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture) l'Algérie occupe la 6<sup>ème</sup> place mondiale en terme de production dattière, avec 526921 tonnes, dont environ 2% est destinée à l'exportation (Fao, 2007).

En Algérie, à l'instar des pays voisins du Maghreb, la phoeniculture constitue un élément essentiel dans le développement agro-économique des oasis. L'accroissement des surfaces et la diversification des variétés restent parmi les préoccupations majeures des professionnels de ce secteur. Globalement, il apparaît que l'introduction de nouvelles méthodes de gestion et de conduite culturales, en faisant appel à des procédures biotechnologiques (croisement, amélioration, sélection, culture *in vitro*) est devenue plus que nécessaire pour le devenir de cette vocation. Parmi les obstacles redoutables, nous nous sommes intéressés surtout aux problèmes sanitaires, et particulièrement à la maladie du bayoud, qui reste un intérêt d'actualité, dont les menaces sont graves et parfois insurmontables.

Le bayoud, trachéomycose provoquée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Foa), est considérée comme une affection fongique destructive, menaçante dans les palmeraies algériennes cultivées avec des variétés sensibles, à l'exemple Deglet Nour très appréciée pour ses caractéristiques productives et organoleptiques. Depuis sa première apparition, qui remonte à plus d'un siècle, dans les palmeraies marocaines où il a été enregistré la disparition de plus de 12 millions de palmiers (Djerbi, 2003). Sa progression ne cesse d'avancer de l'ouest vers les palmeraies du centre et de l'Est algérien. En l'absence d'une estimation actualisée des dernières années, les pertes signalées dès l'année 2003 (Djerbi, 2003), estimée à plus de 3 millions de palmiers sont en nette évolution, surtout que plusieurs régions indemnes par le passé sont reconsidérées comme contaminées par le bayoud. En dépit des mesures réglementaires, relatives aux normes phytosanitaires, et des restrictions imposées par les services de la protection des végétaux (INPV, Algérie), le bayoud reste une menace certaine et son espace épidémiologique ne cesse de s'élargir. Le Bayoud a détruit non seulement les meilleures variétés commerciales de renommée mondiale, mais aussi a contribué à accentuer le phénomène de désertification et à l'exode des phoeniculteurs vers les grands centres urbains.

En raison des caractéristiques biologiques de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et de son hôte, toute tentative de lutte chimique reste incertaine d'une part. D'autre part, les mesures prophylactiques proposées ne semblent pas en mesure d'arrêter sa progression, surtout que les données épidémiologiques sont à la faveur d'une dissémination progressive de cette maladie. La lutte génétique par l'utilisation des variétés résistantes apparaît donc

comme un moyen susceptible de contrôler la progression et l'évolution de cette fusariose, néanmoins le manque de certaines données sur les aspects pathogéniques de l'agent causal (interaction palmier dattier x *Foa*) rend les programmes d'amélioration génétiques difficilement abordables. Une telle situation rend les travaux de sélection de génotypes (variétés-cultivars) ou à la limite tolérants au bayoud, comme une voie plus que nécessaire. Depuis au moins trois décennies des institutions de recherche nationales, particulièrement les projets réalisés au niveau de l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), l'URZA (Unité de Recherche sur les Zones Arides) et l'ENSA (Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie), n'ont pas abouti à la sélection des génotypes recherchés. Les méthodes de lutte généralement adoptées, basées sur des procédures chimiques et de destruction des foyers, n'ont pas permis de freiner la progression de cette maladie vers les palmeraies du centre et de l'est; donc la menace est toujours d'actualité.

Dans les travaux précédemment réalisés en Algérie sur le bayoud, nous avons constaté que peu d'étude a été consacré à la caractérisation de l'agent causal, que ce soit en aspect phénotypique ou encore en aspect pathologique et génotypique. Il apparaît évident que de telles données renforceront les connaissances déjà acquises dans toute perspective de lutte ou de contrôle de cette maladie. Dans ce contexte, notre travail se présente en trois parties: (i) Actualisation des données épidémiologiques relatives à la dissémination du bayoud dans les palmeraies du sud-ouest algérien; (ii) Initiation d'une étude pour rechercher d'éventuelles variations morphologiques, physiologiques et pathogéniques sur une collection d'isolats issus des différentes régions où nous avons réalisé des prospections; (iii) En dernier lieu des essais d'application de biocontrôle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* en interaction avec des souches de rhizobactéries (*Pseudomonas* spp. *fluorescents*) douées d'activités antagonistes, dans une perspective de lutte biologique.

---

# Chapitre 1. Synthèse bibliographique

## 1.1 Le palmier dattier

Le palmier dattier constitue, l'élément essentiel de l'écosystème oasien. Il joue un rôle important dans la protection des cultures sous jacentes (fruitières, maraîchères, fourragères ou céréalières). C'est une plante d'intérêt socio-économique majeur pour de nombreux pays elle permet la fixation des populations et maintien des centres de vie (Loutfi et El Hadrami, 2004). Il est considéré comme une source très importante de devise pour l'Algérie (les dattes occupent la première place des produits agricoles exportés en Algérie).

Le dattier est natif de la région du Golf Arabe, et peut être du sud de l'Iraq. Sa culture en Afrique du Nord revenait à l'époque des premières migrations musulmanes de l'Arabie Saoudite et de la Mésopotamie. Sa distribution actuelle à travers le globe a été déterminée par ses exigences climatiques, entre la 10° latitude du sud (Somalie) et la 39° latitude du nord (Espagne et Turkménistan), et spécialement dans les régions sèches et semi-arides (Munier, 1973). Cependant, les zones les plus favorables à sa culture sont comprises entre la 24° et la 34° latitudes Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, Egypte, Iraq) (Zaid, 2002).

### 1.1.1 Botanique et aspects morphologiques

---

Le palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L. est une espèce dioïque, monocotylédone arborescente appartenant à la famille des "Palmacées" ou "Arécaceae" (Munier, 1973). Plusieurs opinions disent que le dattier provient d'une ou plusieurs formes sauvages plus ou moins passées dans les formes cultivées. Alors que d'autres opinions indiquent qu'il provient de l'hybridation de plusieurs palmiers qui se trouvent encore aux environs de son aire de distribution (Munier, 1973). Le genre *Phoenix* comprend 12 espèces qui montrent des parentés, dont plusieurs hybrides ont été obtenus par les croisements *P. dactylifera* (palmier dattier) x *P. sylvestris* (palmier à sucre), *P. dactylifera* (palmier dattier) x *P. canariensis* (palmier des canaries) et *P. dactylifera* (palmier dattier) x *P. reclinata* (palmier nain) (Zaid, 2002; EL Hadrami et El Hadrami, 2009).

Le palmier dattier est une plante monopodiale, basée sur un stipe ou tronc (30 à 40 m de hauteur) cylindrique, robuste, droit, sans ramification, couverts par les bases de palmes mortes et couronné au sommet par une touffe de feuilles (palmes) vivantes (Fig1.1), organisées en trois couronnes (externe, moyenne et interne) (Munier, 1973, Zaid, 2002; EL Hadrami et El Hadrami, 2009).

À l'aisselle de chaque palme se trouvent des bourgeons axillaires végétatifs, floraux ou intermédiaires (Bouguedoura et al., 1990; Bouguedoura, 1991). Le système racinaire est fasciculé, se répartit sur quatre zones d'enracinement (Fig.1.1) (Munier, 1973; Zaid, 2002; EL Hadrami et El Hadrami, 2009). En générale, le palmier dattier peut se propager par voie sexuée, assurée par les graines, ou par voie végétative grâce aux rejets produits à la base du stipe (Fig.1.1), cette voie est la plus utilisée car elle constituée un mode de multiplication conforme, mais un palmier ne peut produire pas plus de 20 à 40 rejets durant toute sa vie (Munier, 1973; EL Hadrami et El Hadrami, 2009). La multiplication in vitro pratiquée

sur le palmier dattier se réalise avec les techniques de l'organogenèse et l'embryogenèse somatique (Zaid, 2002; Loutfi et El Hadrami, 2004; EL Hadrami et El Hadrami, 2009).

### **1.1.2 Diversité génétique**

---

Du point de vue cytologique, le nombre de chromosomes ( $n = 18$  et  $2n = 36$ ) a été observé dans la plupart des cas chez six espèces de *Phoenix* et chez les cultivars de *Phoenix dactylifera* (Sedra, 2003). Al Salih et Al Jarrah (1987) rapportent des différents niveaux de ploïdie (32, 34, 36, 64) chez des cultivars irakiens. La taille chromosomique du palmier dattier a été estimée de 250 Mb avec une proportion nucléotidique GC variée de 35 à 55%. Cependant l'étude de la distribution des gènes au niveau du génome du palmier dattier, utilisant les ETSs du maïs a montré que cette proportion couvre 41% du génome (Barakat et al., 1999).

Les cultivars du palmier dattier sont les individus femelles qui produisent les fruits, ils représentent la première catégorie de ressources génétiques chez cette espèce. Une deuxième catégorie est représentée par les francs issus d'une multiplication sexuée "Khalts", la troisième catégorie représentée par les palmiers mâles "Dokkars", ils ont une grande importance dans la production phoenicole (Munier, 1973; Ben Abdallah, 1990). L'effectif total des palmiers dans les pays maghrébins est estimé à 33 millions d'arbres, dont l'Algérie détient la première place avec 17 millions d'arbres, suivi de la Libye (7000000), le Maroc (4700000), la Tunisie (3400000) et la Mauritanie avec 1900000 arbres (Anonyme, 2007a). Les oasis algériennes sont caractérisées par une richesse génétique considérable où le nombre de cultivars recensé est estimé à plus de 800 (Belguedj, 2002).

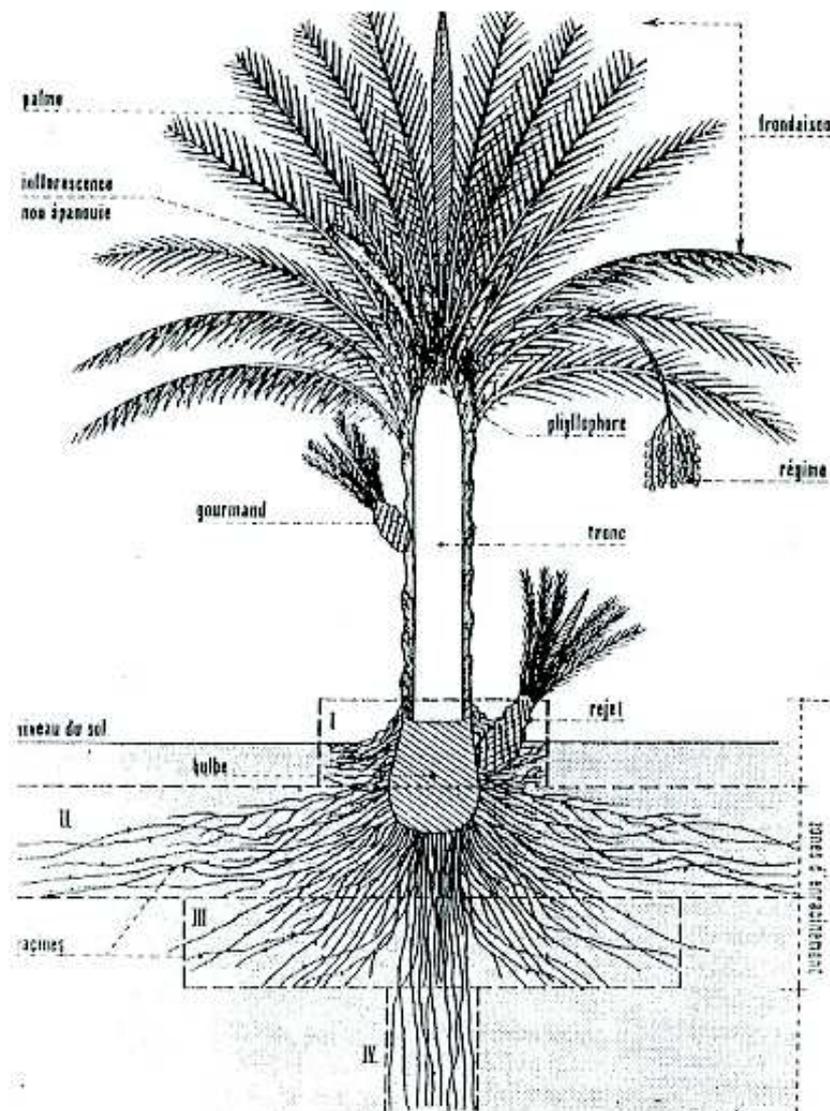


Figure 1.1: Représentation schématique de la plante du palmier dattier (Munier, 1973)

## 1.2. Le Bayoud

### 1.2.1 Historique et extension géographique en Algérie

Les premiers signalements du bayoud semblent être rapportés au niveau de la vallée du Draa (Maroc) vers 1870. A partir de la quelle a propagée dans l'ensemble des palmeraies marocaines, ainsi que celles du Sahara occidental et central algérien où il a été signalé pour la première fois dans les palmeraies de Boudenib en 1890 (Djerbi, 1988; Brac de Perrière et Benkhalifa, 1991a; Fernandez et al., 1995; Sedra, 1995; 2000; 2003). Récemment cette maladie a été signalée en Mauritanie (Fig.1.3)(Sedra, 2000).

En Algérie La maladie apparaît donc à Boudenib et Figuig respectivement en 1890 et 1898 et atteint Béni ounif en 1898 et Bechar en 1900. Les palmeraies des environs de ces centres sont atteintes à leur tour (Foggaret et zaoua (Tidikelt) en 1902, Béni Abbés en 1908 ; Tabalbala en 1912 ; Taghit, 1932) (Djerbi, 1988; Brac de Perrière et Benkhalifa, 1991a; Fernandez et al., 1995; Sedra, 1995; 2000; 2003). La carte des foyers de Bayoud s'est élargie modestement Entre les années 1920 et 1940, deux contaminations étaient particulièrement importantes, la région d'Adrar et celle d'in Salah respectivement vers 1930 et 1941(Djerbi, 1988).

Contrairement au Maroc où la progression s'est faite de proche en proche, en Algérie elle s'est faite par bonds désordonnés à partir de différents foyers (Djerbi, 1988). La dernière étape franchi par le bayoud est représentée par la barrière constituée par le grand Erg Occidental et le plateau de Tademaït. En effet, d'in Salah, le Bayoud atteint Metlili en 1950. Par contre les palmeraies de Ghardaïa et d'El Goléa sont à leur tour atteintes en 1965 et 1978 (Djerbi, 1990).

Le bayoud s'est propagé en Algérie depuis plus d'un siècle, la progression de la maladie s'est effectuée de l'Ouest vers l'Est. Au total 34 communes sont touchées et les foyers bayoudés sont parfois localisés ou dispersés « Béni Ounif, Saoura, Gourara, Touat, Tidikelt à l'Ouest et au niveau des palmeraies du M'zab au centre». Dans certaines oasis la situation est très alarmante, actuellement, il a atteint l'oasis Zelfana, située entre Ghardaïa et Ouargla (Anonyme, 2007b). Cette progression contenue du bayoud ver l'Est constitue une menace réelle pour les plantations importantes de Deglet Nour d'Algérie (Ziban et Oued Rhigh) et de la Tunisie

L'isolement du parasite responsable remonte à 1921 et son identification a été réalisée en 1934 par Malençon. Il s'agit de *Fusarium oxysporum* .f.sp. *albedinis* doué d'unespécifié parasite avec le palmier dattier (Djerbi, 2003). Depuis son identification, de nombreux travaux se sont intéressés à cette maladie avec plus d'orientation sur la caractérisation de l'agent causal et son aspect épidémiologique, Les principales étapes sont résumées ci-dessous :

- 1877 - 1887 : Signalement de l'anomalie sur palmier au Maroc et en Algérie (ouest) (Toutain, 1965).
- 1919 - 1934 : Les études sur l'étiologie, mettant en cause en premier lieu une origine physiologique (Foes et Vayssioers (1919) in Sedra, 2003). Les possibilités d'action de *Neocosmopora vasinfecta* (Sergent et Beguet (1921) in Sedra, 2003). L'identification de l'agent causal, en tant que *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Maire et al, 1933 ; Malençon, 1934).
- 1936 -1958 : Durant cette période, les travaux se sont intéressés aux méthodes de lutte. Ainsi, des tentatives de lutte chimique et l'éradication des foyers de la maladie (Malençon, 1947 ; 1950 et Selvaraj et al., 1998). Début des études sur la sensibilité et la résistance à la maladie de différents cultivars du palmier (Pereau-Leroy, 1958).
- 1967-1980 : Les études et les recherches ont été axées sur l'amélioration des méthodes de lutte directe, l'écologie et la physiologie de l'agent causal (Bulit et al., 1967;Bounagua, 1970; Louvetet Toutain, 1973). L'orientation des recherches vers la sélection des variétés résistantes (Louvet et Toutain, 1973;Saaïdi et al, 1981; Djerbi et al., 1986; Saaïdi, 1992; Sedra et al., 1993; 1996; 1998).
- à partir de 1980: Durant cette période, les études ont commencé à s'intéresser aux aspects physiopathologiques et l'étude des relations physiologiques et histopathologies du couple palmier – parasite, diversité génétiques du pathogène et son hôte ( Zaid et Tisserat, 1983; Bennaceur et al., 1991; Fakir et al.,1992; Sedra

et al., 1993; 1996; 1998; Rhouma, 1994; 2005; Anjarne et al., 1995; Fernandez et al., 1995; Benjama et al., 1996; Belguedj, 1996, El Fakhouri et al., 1996; Tantaoui et al., 1996; Ouinten, 1996; El Idrissi-Tourane et al., 1996 ; Ziouti et al., 1996; Abahmane, 1998; El Hadrami et al., 1998; Hannachi et al., 1998; Bendaib et al., 1998; Driraet Benbadis, 1985; Sedra, 2003; El Modafar et al., 1999; 2000a; 2000b ; El Modafar et El Boustani, 2000; 2001; 2002).

### 1.2.2 Importance des dégâts

---

Le bayoud a détruit en un siècle plus de 12 millions de palmiers au Maroc et plus de 3 millions en Algérie (Djerbi, 2003), avec une vitesse d'avancement de 4 à 15 % de palmiers atteints par an (Djerbi, 1988; Fernandez et al., 1995). Les variétés qui produisent des dattes de qualité (Medjhool, Deglet Nour et Boufegous) sont très sensibles à la maladie (Fernandez et al., 1995; Zaid, 2002; El Hadrami et al., 2005) ainsi, certaines variétés marocaines (Berni, Idrar) ont complètement disparu (Djerbi, 1988), alors que les plantations de l'est algérien et de Tunisie sont actuellement protégées par des méthodes prophylactiques. L'impact désastreux du Bayoud n'est pas seulement économique, lié à la diminution de la production de dattes, mais il perturbe également l'écosystème oasien, vu le rôle du palmier dattier à ce niveau, en accentuant ainsi le phénomène de désertification, provoquant un impact sociologique et de l'émigration des familles vers le nord (dans la vallée du Drâa, plus de 2500 familles ont migré définitivement vers le nord du pays) (Djerbi, 1988; Fernandez et al., 1995).

### 1.2.3 Symptomatologie

---

Le diagnostic symptomatologique du bayoud peut se faire selon les aspects externes et internes, montrant les anomalies dans les différentes parties du palmier atteint.

#### 1.2.3.1 Symptômes externes

Le bayoud attaque aussi bien les palmiers jeunes qu'adultes, de même que leurs rejets basaux. Les premiers symptômes externes spécifiques de la maladie, visibles par un œil averti, font leur apparition sur une ou plusieurs feuilles de la couronne moyenne (Bounaga et Djerbi, 1990 and Djerbi, 2003). Les feuilles affectées prennent une teinte plombée (gris cendré) et ensuite se fanent d'une façon particulière : les pennes situées d'un côté de la feuille commencent à blanchir, d'où le nom de bayoud (du mot arabe pour blanc) donné à la maladie. La maladie progresse de la base vers l'apex, de façon Unilatéral et progresse vers l'autre côté, en sens inverse, de l'extrémité de la feuille vers sa base, jusqu'à la mort de la feuille « attaque hémiplegique» ( Fernandez et al., 1995; Djerbi, 1988 ; 2003 ; Sedra, 2003).

Les mêmes symptômes peuvent ensuite apparaître sur des feuilles voisines ou opposées. Dans tous les cas, la maladie avance toujours vers le cœur de l'arbre quand le mycélium atteint le bourgeon terminal. Finalement, les rejets à la base de l'arbre sont attaqués (Djerbi, 1988 ; Sedra, 2003). L'évolution du dessèchement sur les folioles s'accompagne de l'apparition d'une strie brune longitudinale sur le rachis ; cette strie correspond au passage du mycélium du parasite dans les vaisseaux du rachis (Djerbi, 1988; Fernandez et al., 1995; Djerbi, 2003 ; Sedra, 2003). Le degré d'évolution des symptômes dépend essentiellement des conditions culturales et du cultivar, le temps moyen entre l'apparition des symptômes la mort du sujet variée entre 6 mois à 2 ans (Djerbi, 1988; Fernandez et al., 1995).

### **1.2.3.2 Symptômes internes**

Les coupes transversales et longitudinales d'un palmier arraché montrent les traces du passage du champignon à travers les vaisseaux depuis quelques racines, faisceaux libéro-ligneux du stipe jusqu'au bourgeon terminal (Djerbi, 1988; Sedra, 2003). Si on déracine un palmier malade, on ne voit qu'un petit nombre de racines malades, rougeâtres, il y a donc continuité des symptômes vasculaires qui existent depuis les racines jusqu'aux feuilles apicales du palmier. Les symptômes ne sont pas signalés sur pédoncules, fleurs ou fruits (Djerbi, 1988; Fernandez et al., 1995; Djerbi, 2003; Sedra, 2003).

### **1.2.4 Dissémination**

---

*F. oxysporum* f.sp. *albedinis* peut se disséminer par des rejets, par des particules de terre ou des porteurs sains contaminés provenant de zones infectées. Les fragments de rachis infectés en particulier, et l'eau d'irrigation passant par des palmeraies infectées sont des facteurs potentiels de dispersion de la maladie. Les semences et les fruits ne disséminent pas (Sedra, 2003). Dans une palmeraie, la maladie se dissémine par contact entre racines saines et malades (Djerbi, 1988).

Selon Djerbi et al (1985) et Sedra (2003), les Conditions favorables pour le développement du bayoud, sont particulièrement:

- Irrigation intense et fréquente.
- Travail du sol et son aération.
- Les sols légers sont les plus favorables. Des études au Maroc ont montré que la maladie s'est manifestée dans 42.9% des sols limoneux, 54.3% dans les sols équilibrés et à 100% dans les sols sableux, contre seulement 8.6% dans les sols argileux sur un échantillon de 79 sols de différentes de palmeraies.
- Sols pauvres en matière organique.
- Sols réceptifs à potentiel infectieux mesurables élevé et culture intensive de plantes considérée comme porteurs sains « henné, luzerne ».
- Mauvaise installation des arbres à l'échelle du verger.

### **1.2.5 Cycle d'infection**

---

*Fusarium oxysporum* a un cycle de vie complexe qui pourrait être divisé en deux phases, une vie parasitaire sur son hôte spécifique et une croissance saprophyte sur les tissus morts (Fig.1.3). La phase saprophyte commence lorsque les tissus infectés de la plante commence à mourir. Les différentes étapes se succèdent en neuf phases:

1. Conservation : Le champignon produit des chlamydospores lorsque les niveaux d'hydrates de carbone sont diminués dans les tissus morts. Les chlamydospores sont libérés dans le sol avec le reste des hyphes lorsque la plante meurt (Beckman, 1987). Ces structures de résistance survivent sous une forme inactive pendant de longues périodes en raison de leur capacité élevée à survivre dans le sol sous des conditions défavorables (Djerbi, 1988; Sedra, 2003).
2. Phase saprophytique : En présence de conditions favorables pour le champignon au niveau du sol, les chlamydospores peuvent germer et commencer leur phase de vie saprophyte. La germination des chlamydospores, qui se produit en présence des débris végétaux ou des hôtes appropriés, peut être un processus rapide. En outre, la

germination des chlamydo-spores peut produire de nouvelles chlamydo-spores avec réserves fraîches qui permettent la persistance de l'agent pathogène dans le sol (Djerbi, 2003; Sedra, 2003).

3. Colonisation des racines : L'état de dormance des chlamydo-spores peuvent être interrompu lorsqu'elles rencontrent les racines de l'hôte, et le champignon peut coloniser la plante et produit une infection de l'hôte et entrer dans la phase parasitaire, mais si l'hôte n'est pas approprié il continue comme un saprophyte. *F. oxysporum* est un colonisateur agressif et compétitif par rapport aux autres champignons filamenteux, il est capable de pénétrer dans le tissu cortical externe de la racine à travers des pointes des racines ou des blessures. Dans cette première phase se détermine le succès ou l'échec de l'agent pathogène à entrer dans le système vasculaire (Beckman, 1987; Djerbi, 2003; Sedra, 2003).
4. Pénétration et développement dans les vaisseaux vasculaires : Quand il pénètre dans un hôte susceptible se déclenche la seconde phase du cycle de vie parasitaire. Le champignon envahit les tissus du xylème qui se propage rapidement à travers la croissance des hyphes et la production des spores (conidies), ces derniers peuvent être dispersés facilement à travers les vaisseaux de la plante. Quand ce mouvement est empêché par une paroi transversale, les conidies germent, le tube germinatif pénètre dans la paroi et la formation de conidies reprend de l'autre côté de la paroi. Les souches non pathogènes sont capables de coloniser les racines, mais ne déclenchent pas la maladie parce qu'ils sont incapables de pénétrer dans le système vasculaire de la plante (Beckman, 1987; Djerbi, 2003; Sedra, 2003). Lorsque le champignon pénètre dans un hôte non spécifique, certains mécanismes de défense de la plante se déclenchent en renforçant certaines structures cellulaires. Et par conséquent la formation de nouvelles chlamydo-spores, en augmentant leur capacité à persister dans le sol (Beckman, 1987; El Modafar et El Boustani, 2000; 2002).
5. Apparition des symptômes : La troisième phase de la maladie se constate quand ils commencent l'apparition des symptômes sur la plante. Il existe une controverse sur les mécanismes qui déclenchent l'apparition des symptômes, qui peuvent être due à l'obstruction du système vasculaire de la plante, à la production de toxines ou à la combinaison des deux mécanismes au même temps. En plus de nombreux facteurs environnementaux tels que la température, la lumière, l'aération et l'humidité du sol, la richesse du sol en calcium et en azote. le pH et la microflore du sol sont essentielles pour déclencher la maladie (Djerbi, 2003; Sedra, 2003).
6. Contamination par contact des racines : Les sujets malades, par contact peuvent contaminer facilement et rapidement le reste des palmiers voisins (Djerbi, 2003; Sedra, 2003).
7. Mort de l'arbre : Une fois la progression du champignon se généralise, dans les systèmes vasculaires de la plante, le palmier meurt progressivement ou brutalement (Djerbi, 2003; Sedra, 2003).
8. Porteurs saines : En présence de cultures sous palmeraies, certaines espèces végétales (henné, luzerne,...), peuvent jouer un rôle important dans l'hébergement et la propagation du pathogène et deviennent des foyers de contamination (Djerbi et al., 1985; Sedra, 2003).
9. Décomposition du végétal atteint et libération des spores : La désintégration des tissus végétaux permet la libération des chlamydo-spores dans le sol (Djerbi, 2003; Sedra, 2003).

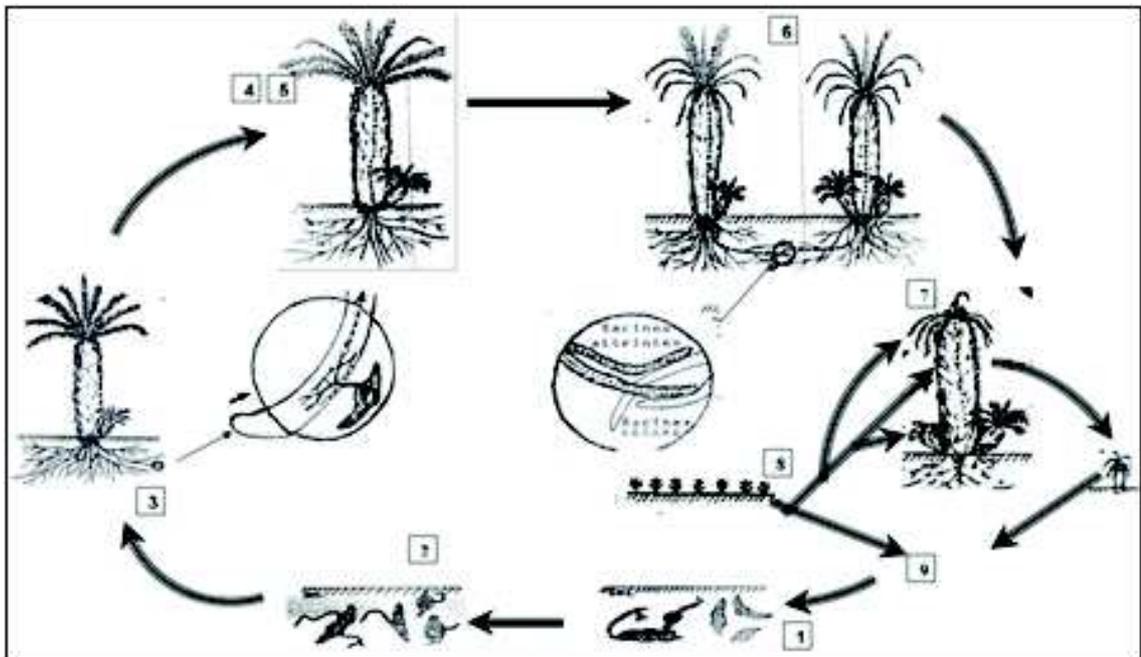


Figure 1.2: Cycle d'infection de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*(Sedra, 2003).

## 1.2.6 Méthodes de lutte

Etant donné le caractère épidémique, infectieux et vasculaire du bayoud, les orientations de lutte s'apparentent à celles préconisées contre les autres fusarioses vasculaires connues et qui s'attaquent aux cultures pérennes. Les techniques préconisées jusqu'à présent restent en grande partie, d'ordre préventif dans le but de freiner la progression de cette trachéomyose et jusqu'à présent, la lutte curative demeure impossible.

### 1.2.6.1 Mesures prophylactiques

Ces mesures s'appliquent à des zones ou des pays encore indemnes de bayoud en vue d'assurer leur protection, elles n'ont par contre aucun intérêt pour les régions phoenicoles déjà atteintes par cette maladie. Une surveillance sérieuse doit être poursuivie et renforcée pour empêcher la progression de la maladie vers l'est algérien et la Tunisie, là où elle se concentre la variété Deglet Nour (Djerbi, 1988; Bennaceur et al., 2007).

### 1.2.6.2 Lutte culturale

L'utilisation de certaines techniques culturales, permet dans certains cas de réduire les dégâts, en plaçant l'agent pathogène dans des conditions défavorables. Malheureusement, il a été démontré que le développement du bayoud est plus rapide en cultures intensives qu'en cultures extensives et que les facteurs favorables pour le palmier (irrigation, fumure, ...) le sont également pour le parasite (Djerbi, 1988; Sedra, 2003).

### 1.2.6.3 Lutte chimique

L'objectif des techniques chimiques est surtout l'éradication des nouveaux foyers détectés dans les zones saines (Djerbi, 1988). Procédant à la fumigation et/ou solarisation du sol contaminé après la délimitation du foyer avec une marge de sécurité suffisante. Cette activité

nécessite d'abord l'arrachage et l'incinération des arbres sur place. L'éradication chimique a été réussie au niveau de deux foyers bayoudés algériens à El Meniâa et le M'Zab (Sedra, 2003). Cependant cette technique reste coûteuse et risque d'engendrer des problèmes d'environnement et de santé humaine et animale.

### 1.2.6.4 Lutte génétique

La lutte génétique par l'utilisation des variétés résistantes apparaît comme une alternative de lutte contre cette maladie, même en présence du bayoud (Sedra, 2003). Cette stratégie de lutte apparaît comme étant l'approche la plus souhaitable et la plus économique, mais les génotypes naturellement résistants sont rares et avec une mauvaise qualité dattière (El Hassani et al., 2007). Elle est pratiquée communément par les agriculteurs pour reconstituer les palmeraies détruites, en utilisant le peu des variétés signalées résistantes.

Des programmes d'amélioration, qui visent des variétés de bonne qualité dattière et résistantes au Bayoud, ont été envisagés au Maroc et en Algérie (Saaidi, 1990), mais ces recherches sont restées très limitées et généralement sans grands résultats, et les variétés de dattes cultivées actuellement sont des clones très anciens obtenues par des croisements naturels, même aux Etats-Unis où la phoeniculture moderne a été bien développée depuis le début de ce siècle (Nixon and Furr, 1965; Chao and Krueger, 2007). Ce faible progrès génétique dans le domaine du palmier dattier est lié essentiellement aux difficultés que présentent sa biologie (plante dioïque à croissance très lente) et à son milieu peu accueillant pour les chercheurs (régions présahariennes), et au manque d'information concernant la génétique de transmission des caractères (Quenzar et al., 2001, Chao and Krueger, 2007). Jusqu'à l'heure actuelle la nature génétique de la résistance du palmier dattier au bayoud, reste confuse, et tous les types sont possibles (monogénique, oligogénique, polygénique ou combinaison de tous les types) (Saaidi, 1990 ; Sedra, 2003 ; Chao and Krueger, 2007). Les études effectuées sur la transmission du caractère « qualité de dattes » ont montré qu'il présente un contrôle polygénique (Sedra, 2003). L'effet métaxénique est très notable chez cette espèce (Nixon and Furr, 1965).

### 1.2.6.5 Lutte biologique

Durant le dernier siècle, une somme considérable de recherche a maintes fois démontré que plusieurs microorganismes de diverses origines phylogénétiques sont capables d'inhiber différents agents pathogènes. Les interactions plante-microorganismes sont complexes et celles menant au biocontrôle peuvent inclure l'antibiose, la compétition, l'induction des mécanismes de défense de la plante et la prédation (Benizri et al., 2001). La lutte contre des agents pathogènes telluriques, se fait principalement via des bactéries appartenant aux quatre genres (*Streptomyces*, *Bacillus*, *Agrobacterium* et *Pseudomonas*), et des champignons des genres *Ampelomyces*, *Candida*, *Coniothyrium*, *Trichoderma*, et *Fusarium oxysporum* non pathogènes (McSpadden Gardener and Favel, 2002).

Les *Pseudomonas*, principalement l'espèce *P. fluorescens*, sont connues depuis longtemps pour leur aptitude à réduire l'incidence des maladies telluriques, ainsi qu'à inhiber la croissance d'un grand nombre d'agents phytopathogènes *in vitro* particulièrement ceux appartenant à l'espèce *Fusarium oxysporum*. Cette capacité d'inhibition peut se faire selon plusieurs mécanismes incluant la production d'une large gamme de métabolites antagonistes et de sidérophores. Ces derniers permettent de compétitionner farouchement pour l'acquisition du fer. Notamment dans un milieu comme le sol où cet élément est présent en très faible quantité. Certaines souches ont une capacité à induire les mécanismes de défense chez la plante (Kim et al., 2004; Iavicoli et al., 2003). L'idée d'utilisation des

rhizobactéries pour lutter contre les agents pathogènes telluriques découle en partie de certaines études faites sur les sols suppressifs (Keel et al., 1996; Raaijmakers et al., 1997; 1998; Mazzola et al., 2002). Un sol suppressif se caractérise par une très faible incidence d'infection, ou l'absence totale de maladie, malgré la présence d'un organisme capable d'infecter la plante et d'un hôte susceptible (Weller et al., 2002). On rencontre deux types de sols suppressifs : premièrement, ceux offrant une suppression dite générale, est lié à la biomasse microbienne totale qui compétitionne avec le microorganisme nuisible. Dans ce cas, aucune espèce unique n'est responsable et la suppressivité n'est pas transférable d'un sol à l'autre. Deuxièmement, la suppression spécifique, causée par l'action d'un groupe précis de microorganismes, qui est transférable (Weller et al., 2002; Benchabane, 2005; Bensaid, 2006).

Les recherches des microorganismes antagonistes, en vue d'élaborer une voie de lutte microbiologique en perspective efficace et adaptée au palmier et au milieu oasien a fait l'objet des plusieurs travaux (Amir et al., 1996, Benssedik et al., 2000 et El Hassni et al., 2007), particulièrement après la détection des sols résistants au Maroc (Marrakech) et en Algérie (Touggourt, Kerzaz et Ouargla) (Larbaoui, 2003; Benchabane, 2005; Bensaid, 2006; El Hassni et al., 2007).

## **1.3 Agent causal**

### **1.3.1 Taxonomie et écologie**

---

Le genre *Fusarium* décrit pour la première fois en 1809 regroupe des espèces cosmopolites et peuvent coloniser le sol, l'air et les substances organiques. Les espèces pathogènes aux plantes peuvent infecter aussi bien les parties aériennes que les parties souterraines. On trouve les *Fusariums* dans les zones tropicales, les régions tempérées, les zones désertiques, montagneuses et même arctiques. Le mot *Fusarium* dérive du terme grec « Fusiforme » signifiant enflé au centre et rétréci vers les extrémités correspondant à la forme typique de ces spores (Nelson et al., 1983). Ce genre a été étudié profondément par Snyder et Hansen qui ont suggéré neuf espèces (Snyder et Hansen, 1945), dont l'espèce *Fusarium oxysporum* est la plus répandue à l'échelle mondiale. Les phytopathologistes s'intéressent plus à cette espèce, à cause de ses dégâts provoqués par les souches pathogènes sur de nombreuses plantes cultivées. *Fusarium oxysporum*, est un champignon du sol à reproduction asexuée, classé au sein des champignons imparfaits « Deutéromycètes », appartient à l'ordre des Moniliales, famille de Tuberculariacées. Il se rencontre pratiquement dans la quasi-totalité des sols agricoles (Kistler, 2001), et regroupe des souches pathogènes et des souches non pathogènes (Nelson et al., 1983; Gordon et Okamoto, 1992).

### **1.3.2 Caractéristiques morphologiques**

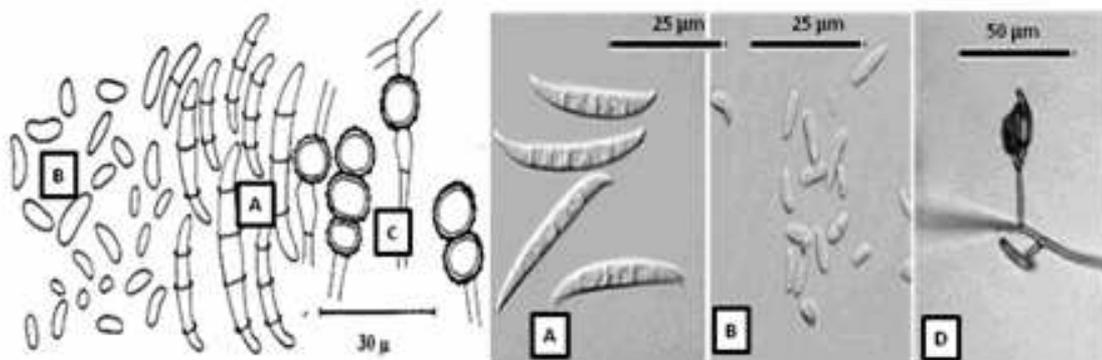
---

Sur le plan morphologique, *Fusarium oxysporum* présente un polymorphisme remarquable du thalle. En se basant sur ce critère, Snyder et Hansen (1940) ont signalé que certains clones et sous clones de la même souche pourraient être classés dans des espèces et même des sections différentes. Ce polymorphisme a été confirmé dans de nombreux travaux (Abawi et Lorbeer, 1965; Awuah et lorbeer, 1988; Dossa, 1993; Henni et al.,

1994; Leslie et Summerell, 2006). En se basant sur les variations culturales chez cette espèce, Nelson et al. (1983), Booth (1985), Djerbi (2003) et Leslie et Summerell (2006), ont défini plusieurs morphotypes: duveteux, fin et frisé ; floconneux, cotonneux, ras muqueux, sporodochial, sclérotial. Cependant on a noté une variabilité de couleur des talles (rose saumon clair, violète, blanchâtre, brunâtre... etc). Les mêmes auteurs ont montré qu'il n'y a pas de stabilité de ces caractéristiques dans la descendance d'un clone.

Les caractères microscopiques montrent que les spores (microconidies, macroconidies et chlamydospores) impliqués dans la reproduction asexuée (Fig.1.2), sont des caractères morphologiques stables et spécifiques de l'espèce *Fusarium oxysporum*, permettant l'identification de ses souches (Djerbi, 2003; Leslie et Summerell, 2006; Fuskey, <http://res.agr.ca/brd/fusarium/home1.html>):

- Les microconidies sont nombreuses, hyalines, de formes et dimensions très variables (7 -12 x 2-4 $\mu$ ), elles sont unicellulaires ou bicellulaires, globuleuses ou arrondies. Ainsi se rassemblent en fausses têtes à partir de monophialides courtes, dressées et perpendiculaires aux filaments.
- Les macroconidies sont rares, elles sont formées de 2 à 3 cloisons, rarement plus, leur taille est variable (20 - 35 x 3 - 5  $\mu$ ), caractérisé par une cellule apical de forme effilée et a courbée, quelquefois avec un crochet léger.
- Les chlamydospores, forme de résistance, de couleur hyaline, arrondies ou légèrement ovoïdes et de dimension variables (9- 17 x 8 - 12  $\mu$ ) ; elle sont formées isolément ou par deux, rarement plus.



**Figure 1.3 :** caractères microscopiques de *F. oxysporum*

(A: Macroconidies, B: Microconidies, C: Chlamydospores, D : fausses têtes).(Pereau Leroy, 1958 ; Leslie et Summerell, 2006)

### 1.3.3 Caractéristiques pathogénique

Les formes phytopathogènes ont été étudiées durant plus de cent ans et parasitent plus de 100 espèces de plantes, y compris les angiospermes et les gymnospermes, où chaque forme pathogène a une gamme d'hôte bien déterminée (Armstrong et Armstrong, 1981). Ces formes phytopathogènes sont dénommées «formes spéciales». La forme spéciale est définie comme étant l'ensemble des souches attaquant une même espèce végétale, ou une même gamme d'espèces d'un même genre (Snyder et Hansen, 1940). On compte 122 formes spéciales chez cette espèce selon la liste la plus récente décrite par Armstrong et Armstrong (1981). A titre d'exemple tous les souches attaquant le palmier dattier appartiennent à la forme spéciale *albedinis*.

A l'intérieur de chaque forme spéciale, la variation de la virulence est catégorisée par le classement des pathotypes en races pathogénique ou physiologique. Les races sont définies par leur interaction différentielle avec des génotypes de l'hôte, de même ces variétés portent un ou plusieurs gènes majeurs de résistance (Armstrong et Armstrong, 1975). Malgré qu'il existe plusieurs formes spéciales caractérisées en races physiologique tel que, *FO f.sp. lycopersici, lini, melonis ...ect*. le nombre de races caractérisées pour l'espèce *Fusarium oxysporum* n'est pas large, comparativement avec d'autres pathogènes tel que *Puccinia graminis* et *phytophthora infestans* (Gordon et Martyn, 1997).

### **1.3.4 Structure génétique**

---

La diversité génétique de *Fusarium oxysporum* à été mise en évidence par l'utilisation des concepts de formes spéciales, de races physiologiques, et des groupes de compatibilité végétative (VCG). L'outil moléculaire est intégré aussi dans l'étude de la diversité génétique de cette espèce.

#### **1.3.4.1 Compatibilité végétative**

Les études réalisées sur la compatibilité végétative de 18 formes spéciales de *Fusarium oxysporum* ont mis en évidence 167 groupes (VCG), dans les quels certaines formes spéciales portent plusieurs GCV, a l'exemple des formes spéciales *lycopersici et asparagi* présentant 50 et 42 GCV respectivement. Sept formes spéciales ne présentent qu'un seul GCV, dont les isolats du Maroc et d'Algérie de la forme spéciale *albedinis* classé dans un seul GCV. En revanche; aucun GCV n'a regroupé des isolats de différentes formes spéciales (Takehara et Kuniyasu, 1994; Yoo et al., 1993; Marlatt et al., 1996; Ouinten, 1996 Tantaoui et al., 1996; Kim et al., 1997; Henni et al., 1998; Mes et al., 1999; Katan et Di Primo, 1999 ; Katan, 1999; Rosewich et al., 1999).

#### **1.3.4.2 Caractérisation moléculaire**

L'outil moléculaire a apporté une nouvelle contribution à l'étude de la diversité génétique de cette espèce, mettant en valeur sa phylogénie, le mode évolutif de son pouvoir pathogène et l'identification ainsi que la caractérisation des souches de différentes formes spéciales (Leslie et Summerell, 2006). L'analyse moléculaire des génomes (ADN nucléaire et mitochondrial) de différentes formes spéciales et des formes non pathogènes, a l'aide de différentes techniques analytiques (RFLP, RAPD, AFLP, PCR...) ; a mis en évidence une diversité génétique au sein de l'espèce *F. oxysporum*, et a l'intérieur des formes spéciales, cependant cette variation est plus ou moins importante selon la forme étudiée, alors que l'analyse de l'ADN ribosomique n'a révélé une grande variation génétique au sein de l'espèce (Leslie et Summerell, 2006). Les analyses génétiques des populations du bayoud provenant de plusieurs palmeraies marocaines et algériennes à l'aide des marqueurs moléculaires (RFLP, RAPD) n'ont pas permis de différencier les isolats testés, à l'exception de quelques uns provenant des palmeraies de Ghardaïa et Adrar, en Algérie. Ces résultats suggèrent une homogénéité génétique du champignon et l'origine clonale « une ou quelques souches seraient à l'origine de tous les foyers de Bayoud des palmeraies du Maroc et d'Algérie » (Fernandez et al., 1995; Ouinten, 1996)

### **1.3.5 Interaction plante-pathogène**

---

Les interactions entre la plante et l'agent pathogène impliquent l'échange d'informations. Tout d'abord, l'organisme pathogène est capable de reconnaître la plante modifié son métabolisme pour fournir les conditions favorables à la pathogénicité (Alfano et Collmer, 2004). Parallèlement, les plantes ont évolué pour identifier des structures associées aux pathogènes, pour renforcer les défenses existantes et développer d'autres mécanismes de défenses puissants. Cette interaction inclue les relations compatibles et incompatibles.

### 1.3.5.1 Processus d'infection

Dans le pathosystème « plante hôte – pathogène », le champignon dispose de toute une gamme de mécanismes physico-chimiques capables de surmonter les mécanismes de défense du palmier dattier dans la plus part des cas. Le processus d'infection du *Fusarium oxysporum* se constitué de différentes étapes:

- **Germination et adhésion des spores:** Les spores de *F. oxysporum* germent en réponse des exsudats stimulants libérés par les racines de l'hôte, suivi d'un adhérent des tubes germinatifs sur la surface racinaires (Di Pietro et al., 2001).
- **Pénétration :** Les tubes germinatifs se différencient en hyphes d'infection (Mendgen et al., 1996). Ces derniers pénètrent directement dans les membranes épidermiques (Rodriguez- Gálvez and Mendgen, 1995). Di Pietro et al. (2001), suggèrent que la cascade de signalisation MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase signaling cascades ) est impliquée dans l'adhérence des spores à la surface des racines, pénétration des hyphes, la croissance invasive et la production de pectates lyases, qui sont nécessaires pour la pénétration dans la paroi cellulaire et de la colonisation de la plante par *F. oxysporum*.
- **Perception et transduction du signal par la plante:** Les communications moléculaires entre l'agents pathogène et la plantes hôte commence presque immédiatement après contact de l'agent pathogène avec la surface des plantes.L'induction de l'activité du PAL (phenylalanine ammonia-lyase) chez la plante hôte est liée à l'éliciteur « hydrate de carbone » de la paroi cellulaire de *F. oxysporum* . Les glycosphingolipides produites par *Fusarium oxysporum* sont considérés comme éliciteurs des mécanismes de défense de la plante hôte (Umemura et al., 2004). La plante peut aussi produire des composés (éliciteur endogènes) inducteurs de la réaction de défense vis-à-vis des agents pathogènes. Plusieurs travaux montrent l'implication de l'acide jasmonique et l'éthylène dans l'induction de la résistance au *Fusarium oxysporum*(Creelman et Mullet, 1995). Ces événements se déroulent dans les deux types d'interactions compatible et incompatible, probablement avec différentes vitesse et intensité. Les pathogènes produisent également des molécules supprimeurs empêchant l'action des éliciteurs, ce qui résulte la sensibilité de la plante hôte (Di Pietro et al., 2001).
- **Dégradation de la paroi cellulaire par le pathogène:** La pénétration de la paroi cellulaire semble être la première exigence de la pathogenèse de champignons pathogènes. Pour ce faire les champignons pathogènes sont capables de produire une variante d'enzymes de dégradation de la paroi végétale « CWDE » (cell wall-degrading enzymes), pour facilite la pénétration et la colonisation de leurs hôtes (El Modafar et al., 2000b, Umemura et al., 2004).
- **Production des toxines :** L'acide fusarique (AF) est la principale toxine trouvée dans les filtrats des souches agressives du Foa. Il peut être impliqué dans des étapes précoces de la relation hôte-pathogène et induit des modifications sur la perméabilité et le potentiel membranaire cellulaire. L'AF peut inhiber aussi les enzymes de défense

produites par la plante (Bouizgarne et al., 2004). Il participe aussi dans le colmatage des vaisseaux conducteurs et par conséquent le dessèchement de la plante (Fernandez et al., 1995). L'étude histologique révèle une concentration fusarienne particulièrement importante dans le cylindre central par comparaison à l'écorce, en provoquant la disparition des tubes criblés du phloème (El Hadrami et al., 1998).

### **1.3.5.2 Mécanismes de défense de la plante**

Plusieurs mécanismes de défense sont induits chez le palmier dattier en réponse à l'infection fongique par *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Foa), ces mécanismes sont deux types :

- **Renforcement de la paroi cellulaire:** Lorsque l'agent pathogène pénètre dans la paroi cellulaire de l'hôte, des mécanismes constitutifs de résistance de la paroi cellulaire sont accentués dans les cultivars résistants (El Modafar et El Boustani, 2000). Dans le premier stade de l'hydrolyse de la paroi cellulaire, des mécanismes mécaniques sont impliqués, en utilisant la lignine et composés phénoliques de la paroi cellulaire (cell wall-bound phenolics) (l'acide *p* - hydroxybenzoïque, l'acide *p* - coumarique, l'acide férulique et l'acide sinapique), pour limiter l'action du CWDE sur la paroi cellulaire de l'hôte. Un deuxième mécanisme chimique intervient à des étapes plus avancées pour empêcher la production des CWDE par le pathogène. Cette inhibition est liée, à la participation des phénols estérifiés dans la paroi cellulaire (El Modafar et El Boustani, 2002). Ces mécanismes impliquent aussi la formation de thylles par la plante-hôte (bouchons produits par des cellules du parenchyme due au renforcement de la paroi cellulaire par modification structurale) à fin d'obstruer les vaisseaux et bloquer l'avancée du parasite (Fernandez et al., 1995). La réponse post-infectionnelle de la lignine, les composés phénoliques (cell wall-bound phenolics) et les thylloses, est plus rapide et plus intense chez les cultivars résistants que chez les cultivars sensibles (El Modafar et El Boustani, 2002). Ceci aboutit à un blocage précoce du pathogène au niveau des points d'infection chez les variétés résistantes, alors que la réponse tardive des variétés sensibles provoque le dessèchement de la plante due au blocage de la circulation de sève (Fernandez et al., 1995).

- **Biosynthèse et accumulation de composé phénoliques et des enzymes:** La résistance du palmier dattier au bayoud implique aussi la biosynthèse et l'accumulation de certains composés telles que les phytoalexines (El Modafar et al., 1999), l'acide caféoylshikimique (CSA) (Ziouti et al., 1996a; 1996b) et flavones (El Hadrami et al., 1998). L'implication des phytoalexines dans la résistance du palmier dattier au bayoud est liée à la rapidité et à la l'intensité de leur accumulation à des doses fongitoxiques dans les premiers stades de l'infection (El Modafar et al., 1999). L'acide caféoylshikimique (ACS), composé phénolique soluble majeur des racines du palmier dattier (El Modafar et El Boustani, 2002). Les doses de CSA accumulées dans les cultivars résistants empêchent directement et indirectement la croissance et le développement du *Foa*, et inhibent l'activité et la production des enzymes lytiques produites par le pathogène « CWDE » (polygalacturonases, pectinmethylesterases, polygalacturonate trans-eliminases, cellulases and proteases). Ces effets sont dûs principalement aux produits hydrolytiques (l'acide caféique) et d'oxydation (quinones) générés par CSA (Ziouti et al., 1996 b ; ElModafar et al., 2000a). La présence du *Fusarium* dans la racine conduit à une accumulation de flavones et de composés bruns près des faisceaux conducteurs du xylème (El Hadrami et al., 1998). L'arrêt de la progression du champignon dans les tissus et/ou l'inhibition de ses enzymes lytiques par les composés phénolamidiques induits et mis en évidence *in situ* et *in*

*in vitro* paraît d'une importance majeure dans les mécanismes de résistance du dattier face au Foa (Ramos et al., 1997). Selon El Modafar et al. (2000b), ces mécanismes de défense dépendent du niveau d'activité de PAL (phenylalanine ammonia-lyase) induite par des éliciteurs d'hydrate de carbone ou peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Cependant, l'élicitation du palmier dattier induit des réponses identiques de l'activité de PAL chez les cultivars résistants et susceptibles, qui est due à la suppression de l'élicitation dans les cultivars susceptibles par un suppresseur protéique soluble produit constitutivement par le Foa, donc les cultivars résistants disposent d'un mécanisme inhibiteur de l'activité de ces suppresseurs. La comparaison de la réaction des cultivars a révélé une accumulation plus rapide et en quantité nettement plus importante des composés en question dans les tissus des cultivars résistants par rapport aux sensibles (El Modafar et El Boustani, 2001).

## Chapitre 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Diagnostic et prospection sur terrain

#### 2.1.1 Localisation des palmeraies

---

Notre étude, a été réalisée dans sa partie prospection sur terrain au niveau de quelques palmeraies du sud-ouest algérien. Au total nous avons visité dix palmerais situées dans les wilayas d'Adrar, Tamanrasset et Bechar. Notre travail consiste en la réalisation d'un diagnostic symptomatologique et la description de certains paramètres, pouvant expliquer les aspects étiologiques et épidémiologiques du bayoud dans les régions suivantes:

1. Touat : la région de Touat se situe dans le centre de la wilaya d'Adrar, ses palmeraies constituent une séquence de Tsabit au nord jusqu'à Regagne au sud, sur une distance de 220 km. Notre travail a été concentré dans cette région, au niveau de cinq palmeraies différentes et éloignées, a fin de réaliser un échantillonnage représentatif de cette région.
2. Gourara : Située au nord d'Adrar, entre la commune d'Aougrout au nord à Zaoyet El Debakh au sud. Dans cette région nous avons prospecté une seule palmeraie sise à la commune de Timimoun.
3. Tidikelt : Cette région est administrativement découpée en deux grandes parties : la partie nord rattachée à la wilaya d'Adrar et la partie sud localisée a Ain Saleh rattachée administrativement à la wilaya de Tamanrasset. Notre prospection a été réalisée dans une palmeraie située dans la commune d'Ain Saleh, les jardins de cette localité sont en général très mal entretenus.
4. Saoura : Cette région est rattachée administrativement à la wilaya de Bechar où le bayoud a été signalé la première fois en 1923. Nos prospections ont été réalisées au niveau de trois palmeraies de la zone « Haouadj ».

#### 2.1.2 Observations effectuées sur terrain

---

Durant nos prospections, après avoir pris connaissance des caractéristiques de chaque palmeraie, les observations portent essentiellement sur le dénombrement des palmiers atteints par le bayoud, pour pouvoir estimer le taux d'infection relativement au nombre total des palmiers observés. La localisation des pieds atteints s'est basée sur la présence d'un ou de plusieurs symptômes typiques et spécifiques de cette maladie. Les principaux symptômes recherchés sont:

- Dessèchement d'une palme de la couronne moyenne.
- Dessèchement unilatéral sur les palmes.
- Dessèchement des folioles s'accompagne de l'apparition d'une strie brune sur le coté dorsal.
- Coloration blanchâtre des palmes complètement desséchées.
- Aspect de plumes mouillées des palmes desséchées.
- Présence d'une coloration brun rougeâtre des vaisseaux sur des rachis découpés.

- Palmier atteint totalement de dépérissement.

### 2.1.3 Prélèvement des échantillons

A fin de recouvrir la répartition spatiale du bayoud dans la région, nous avons prélevé plusieurs échantillons à partir de chaque palmeraie prospectée dans les quatre localités visitées (Touat, Gourara, Tidikelt, Taghit). En plus, nous avons reçu des échantillons (sol et organes végétaux) provenant de palmeraies atteintes de bayoud, prélevés par les services techniques de la station régionale de protection des végétaux (SRPV) de Ghardaïa. Nous avons pu récolter des échantillons à partir de différents cultivars de palmier dattier [Deglet Nour, Deglah baidha, Tafixiouine, Boufegous, Hartani, Bentecherk, Elrabti, Elhmira, Ageuse, Aghamou, Tagaza, Tinassour, Tazerzait et Deglah(Khalt)]

Dans le but de constituer une collection représentative d'isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*(Foa), nous avons prélevé des échantillons à partir du sol et des fragments végétaux (racine, rachis et moelle) au niveau de chaque palmeraie visitée, où le bayoud était signalé (Tableau 2.1).

- Le prélèvement des fragments végétaux a été effectué aléatoirement au niveau des pieds atteints. À l'aide de sécateurs, où des fragments végétaux sont découpés à partir de l'extrémité des palmes atteintes.
- Les échantillons de sol, approximativement de 500 g, ont été prélevés au pied des palmiers atteints, à une profondeur de 20 à 30 cm, sur un rayon de 2 m.

Les prélèvements ont été réalisés, en respectant le maximum des conditions aseptiques, en évitant le contact direct entre les différents échantillons. Chaque échantillon est mis dans un sac en papier portant des indications relatives à son origine (date de prélèvement, cultivar, ...etc.).

Localisations géographiques	Nombre des échantillons	Sol	Organes végétaux	
			Racines	rachis
<b>Adrar</b>	17	5	6	6
<b>Bechar</b>	9	2	4	3
<b>Ghardaïa</b>	4	2	1	1
<b>Tamanrasset</b>	3	1	1	1
<b>Total</b>	33	10	12	11

Tableau 2.1 : Nombre et origine des échantillons.

## 2.2. Diagnostic au laboratoire

Cette partie consiste à réaliser des isolements à partir des échantillons prélevés et des échantillons reçus pour des caractérisations morphologiques, physiologiques et pathogéniques de la collection fongique obtenue.

## **2.2.1 Techniques d'isolement**

---

Les techniques d'isolement ont été adoptées selon la nature des échantillons: à partir du sol ou d'organes végétaux.

### **2.2.1.1 Isolement à partir du sol**

Nous avons utilisé les techniques directes d'isolement où on obtient directement le développement des colonies fongiques sur le milieu nutritif PDA (Potato Dextrose d'Agar) (Annexe1), selon deux procédures:

- **Suspension dilutions (dilutions plates):** Cette technique comprend plusieurs étapes allant de la préparation des dilutions jusqu'à la purification du champignon (Rapilly, 1968). Une quantité de 10 g de sol préalablement séché et homogénéisé est mise en suspension dans 90 ml d'eau distillée stérile pour l'obtention de la dilution  $10^{-1}$ . Cette dernière est soumise à une agitation mécanique pendant 30 mn, pour une meilleure homogénéisation.
  - 1 ml à partir de chaque suspension à additionner successivement dans des tubes contenant 9 ml d'eau stérile, pour obtenir des dilutions allant de  $10^{-2}$  à  $10^{-6}$ .
  - 1 ml de chaque dilution est déposé dans des boîtes de Pétri, et versé par-dessus 20 ml de milieu PDA additionné de 150 mg/l de streptomycine et maintenu en surfusion.
  - Trois boîtes par dilutions sont préparées et incubées à  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  entre 2 à 8 jours.
- **Technique d'isolement a partir de sol (soil plates):** Cette technique décrite par Warcup (1950), consiste à incorporer 10g de sol séché et homogénéisé directement dans le milieu d'isolement (PDA additionné de 150 mg/l de streptomycine) maintenu en surfusion. Les 10 g de sol sont incorporés directement dans des boîtes de Pétri contenant le milieu d'isolement maintenu en surfusion. Une agitation horizontale est assurée pour homogénéisation. Les boîtes sont ensuite incubées à  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 5 à 8 jours.

### **2.2.1.2 Isolement à partir d'organes végétaux**

Les isolements à partir d'organes végétaux ont concernés des échantillons de racines de rachis. Après un léger flambage à l'alcool ( $90^{\circ}$ ), l'échantillon est débarrassé de tissus externes et de la partie centrale, des fragments de 4 à 6 mm ont été découpés et déposés sur le milieu PDA additionné de streptomycine (150 mg / l ). Quatre fragments sont déposés par boîte. L'incubation a été effectuée à  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 5 à 8 jours. Après développement des colonies fongiques en plus de la flore associée, des opérations de purification ont été réalisées selon deux techniques, en se basant sur des caractères macromorphologiques cultureux connus chez *Fusarium*.

- **Les repiquages successifs:** sur les colonies fongiques suspectées, des fragments sous formes des disques mycéliens sont découpés et repiqués dans de nouvelles boîtes de Petri sur le même milieu(PDA). Ces repiquages ont été répétés jusqu'à l'obtention de colonies d'apparence pure.
- **La culture monospore:** Pour une caractérisation plus précise, nous avons recherché l'obtention de cultures pures selon la technique monospore. *Fusarium oxysporum* peut être reconnu par ses caractéristiques morphologiques issus par culture monospore (Djerbi, 1990 ; Sedra ,2003; Leslie et Summerell, 2006).

## 2.2.2 Identification des isolats

La description des isolats est basée sur les caractères morphologiques (macroscopiques et microscopiques) à partir de cultures issues de culture monospore considérée comme «type sauvage». Pour cibler d'avantage les isolats de *Fusarium oxysporum*, nous avons utilisé, dans les mêmes conditions de culture, des isolats types de *Foa* (Tableau 2.2) isolés à partir de rachis de palmiers bayoudés.

L'identification des isolats sélectionnées a été réalisée selon les caractéristiques macromorphologiques, micromorphologiques, en utilisant les critères de la clé d'identification décrits par Djerbi (1990) et le manuel de caractérisation de *Fusarium* (Leslie et Summerell, 2006). Ce système s'illustre par une méthode de classification appliquée spécifiquement au *Fusarium oxysporum*. Les éléments de base de ce système sont la morphologie des structures de sporulation connues naturellement, telles que la forme et la couleur des conidies.

### 2.2.2.2 Caractéristiques microscopiques et biométriques

Isolat	Localité	Date d'isolment	cultivar	Provenance
A <sub>1</sub>	Ouled Aisa (Touat)	2000	Tegaza	INRA Adrar
G <sub>1</sub>	Metlili (Ghardaïa)	1998	Deglet-nour	Laboratoire de Phytopathologie, Université de Blida
G <sub>2</sub>	Ghardaïa centre	1990	Tafiziouine	Station Régionale de la Protection des Végétaux de Ghardaïa
T <sub>1</sub>	Ain Saleh	2000	Tinnasseur	INRA d'Adrar

**Tableau 2.2 :** Isolats types de *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*.

Cette étape d'identification a été assistée par des comparaisons de caractères avec les données illustrées dans les pages web, utilisant une interface active d'identification spéciale des espèces du genre *Fusarium* (Fuskey, <http://res.agr.ca/brd/fusarium/home1.html>).

### 2.2.2.3 Caractéristiques macroscopiques

La description des caractères macroscopiques a été effectuée sur des cultures âgées de sept à huit jours sur PDA incubées à 25 ± 2°C, en prenant en considération les critères usuels décrits par Djerbi (1990) et Leslie et Summerell (2006) et figurés dans le site web (Fuskey, <http://res.agr.ca/brd/fusarium/home1.html>).

- Couleur des colonies: rose, blanc, violet, hyalin...etc.

- Aspect des hyphes: ras, haut, abondant...etc.
- Présence ou absence des sclérotés ainsi que leurs couleurs.
- Production des pigments dans le milieu de culture.

Des observations microscopiques concernent le mycélium et les caractéristiques d'éventuelles fructifications sont réalisées. Les caractères ainsi observés, et photographiés sont comparés à ceux décrits dans les clés de détermination (Djerbi, 1990; Leslie et Summerell, 2006; Fuskey, <http://res.agr.ca/brd/fusarium/home1.html>). Les caractérisations microscopiques recherchées sont :

- Abondance des fructifications, leur modalités de regroupement (solitaire ou en grappes) et l'aspect des conidiospores (couleur, ramification, groupé, solitaire...etc).
- Forme et dimensions des micros et des macroconidies.
- Morphologie de la cellule apicale et basale des macroconidies et le nombre des cloisons.
- Présence ou absence des fausses têtes.
- Aspect chlamydospores : forme, dimension, regroupement et position...etc.

#### 2.2.2.4 Sporulation

### 2.2.3 Caractérisation des isolats

En raison de la variabilité des caractérisations des isolats de *Fusarium oxysporum* selon l'origine géographique et végétale (Djerbi, 1990), nous avons jugé utile de procéder à la caractérisation d'une partie de notre collection d'isolats. A cet effet nous avons sélectionné 22 isolats issus de différentes régions géographiques et à partir de différents cultivars et origines d'isolement (sol, organe végétal). De même pour cette partie d'étude, nous avons intégré les caractères des isolats types, en nombre de quatre (Tableau 2.3), pour établir une meilleure comparaison.

Localisations géographiques	Nombre des isolats	Sol	Organes végétaux	
			Racines	rachis
Adrar	8 + 1 <sup>a</sup>	3	1	4 + 1 <sup>a</sup>
Bechar	5	-	3	2
Ghardaïa	8 + 2 <sup>a</sup>	4	2	2 + 2 <sup>a</sup>
Tamanrasset	1 + 1 <sup>a</sup>	-	-	2
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>13</b>

**Tableau 2.3:** Nombre et origine des isolats.

a: isolat type de *Foa* (cf. tableau 2.2)

A l'exception des tests de température, l'incubation des cultures, pour les autres tests a été réalisée à 27- 28 °C pendant 7 jours.

En fin une comparaison des potentialités phytopathogéniques a été réalisé par l'utilisation des extraits de toxines ou par la suspension sporales.

### 2.2.3.1 Effet de la température

Ce test vise à évaluer la croissance mycélienne et le niveau de sporulation de chaque isolat après inoculation aux températures: 4 – 5 °C, 19 – 20 °C, 24 – 25 °C, 27 – 28 °C, 29 – 30 °C, 34 – 35 °C et 39 – 40 °C.

### 2.2.3.2 Effet de la lumière

L'effet de la lumière a été testé après inoculation dans différentes conditions:

- Obscurité totale.
- Lumière blanche continue.
- Obscurité / Lumière (alternance 12 h / 12 h).

### 2.2.3.3 Effet du milieu de culture

L'effet de la diversification des éléments nutritifs sur la croissance mycélienne et la sporulation a été étudié dans trois milieux de culture:

- Le milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar) (Jonsthorpe et Booth, 1983).
- Le milieu Czapeck (Rapilly, 1968).
- Le milieu de Nash et Snyder (1962).

### 2.2.3.4 Effet des rayons ultra-violet U.V

Pour évaluer l'effet des U.V sur la croissance et la sporulation des différents isolats cultivés sur le milieu PDA, nous avons déposé les boîtes de Pétriensemencées par chaque isolat sous une lampe U.V dans une hotte, à une hauteur de 38 cm, pendant différentes durées d'exposition: ½ h, 2h, 4h et 6h.

### 2.2.3.5 Effet du chlorure de sodium

Selon Bulit et al (1967), *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis* se trouve dans des sols de palmeraies à salinité variable, mais il semble qu'il ne se trouve pas dans un sol à forte salinité. Pour cette raison nous avons testé le comportement de nos isolats en fonction de la concentration en sel (Na Cl) dans le milieu de culture PDA, auquel nous avons ajouté du NaCl à différentes concentrations: 10, 30, 50, 100 et 130 g/l.

### 2.2.3.6 Test de pathogénicité

#### 2.2.3.6.1 Essai de biophytotoxicité

L'extraction des toxines a été effectuée selon la technique décrite par Pringle et Scheffer (1963), et modifiée par El Fakhouri et al (1996). Nous avons établi le protocole pour purifier la fraction susceptible de contenir les toxines de *Foa*, qui consiste à inoculer 200 ml de milieu Czapeck (pH = 5); avec 1ml d'une suspension de spore ( $10^6$  spores / ml), en agitation continue (200 tours/minute pendant 10 jours à 27 °C en 12 heures photopériode).

Après 10 jours d'agitation, les suspensions obtenues sont filtrées à l'aide de filtres micropores ( $\varnothing$  : 5  $\mu$ m), et évaporées au bain-Marie (45-50°C) pour obtenir à la fin approximativement 10% du volume initial.

Selon El Fakhouri et al (1996) et Sedra (2003), les toxines de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* peuvent être testées sur des petites plantules issues de graines, ou de culture

des tissus (*vitro plants*), ou des jeunes feuilles détachées. Dans notre cas et par manque des moyens de détection par HPLC (Chromatographie Liquide à Haute Performance), les extraits obtenus de chaque isolats sont testées sur des feuilles détachées de palmier dattier de la variété sensible (Deglet – Nour) âgées de 6 mois.

Au préalable les boîtes de Petri tapissés avec du papier filtre et imbibé d'extrait de toxines (10ml), sur les quels des fragments de feuilles sont déposés aseptiquement. Les boîtes refermées sont laissées en incubation dans les conditions de laboratoire à la température ambiante. En parallèle, des plantules issues de graines (stade première feuille) sont introduites dans des tubes a essai contenant 10 ml d'extrait de toxines.

#### **2.2.3.6.2 Pouvoir pathogène**

Ce test concerne l'étude du pouvoir pathogène des isolats identifiés comme étant des souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, sur des plantules issues de graines.

Les graines de la variété deglet-Nour ont été déposées dans l'eau javellisée (3%) tiède (45 et 50 °C) pendant toute une nuit. En Parallèle ; nous avons stérilisé notre substrat (perlite + tourbe) à une température de 120°C pendant 20min. Après désinfection il est imbibé avec de l'eau distillée stérile pour assurer son humidification. Les graines sont par la suite déposées dans des bacs pour la prégermination en chambre de culture (28 ± 2°C) pendant 45 jours, L'arrosage se fait tous les 2 à 3 jours.

Les graines prégermées, sont transplantées dans des sachets en plastique (14 cm de diamètre x 16 cm de profondeur) contenant un substrat composé d'un tiers de tourbe et deux tiers de sol stérilisé antérieurement.

Après transplantation, les sachets sont mis sous serre en verre avec un arrosage régulier tous les 2 à 3 jours jusqu'à l'obtention des plantules au stade deux feuilles.

L'inoculum a été préparé avec des cultures sur milieu PDA liquide, déposés sur un agitateur latéral avec une fréquence de 150 tours/min pendant une à deux semaines, à 25 ± 2°C. La suspension de spores qui servira d'inoculum a été réajusté à une concentration de 10<sup>6</sup> spores /ml a l'aide de la cellule de Malassez.

L'inoculation a été réalisée au stade végétatif de deux à trois feuilles (âge de trois mois), l'infection a été réalisée à l'aide d'une seringue dépourvue d'aiguille a fin d'évité la blessure des racines, en apportant un volume de 10ml d'inoculum au niveau de la zone de regroupement des racines jeunes. Nous notons que les plantes témoins ont été traitées de la même façon avec de l'eau distillée stérile. Pour chaque isolat nous avons réalisé 4 répétitions.

Les plantules inoculées sont déposées au niveau de la serre à la température ambiante. Les observations concernant le développement des symptômes sont effectuées chaque 2 jour à partir de la troisième semaine d'inoculation. Les observations consistent à noter le type et l'évolution de symptômes observés, ainsi la mort totale des plantules testées.

### **2.2.4 Analyse statistique**

---

Dans le but d'établir une étude comparative des isolats constituant notre collection, à titre de rappel, 22 isolats issus de notre travail et quatre isolats types de *Foa*, l'analyse statistique vise à détecter d'éventuelles variations, en se basant sur la matrice de valeurs moyennes de sporulation et de croissance mycélienne obtenues dans différents tests.

Avant de standardiser la matrice des données, les valeurs en proportion relatives ont été transformées avec la fonction « Arcsin ». L'analyse statistique en composantes principales (ACP) vise à établir la répartition des isolats, sur la base des caractères enregistrés, sur un plan bidimensionnel. Nous avons effectué aussi une classification hiérarchique des isolats sur la même matrice, selon la méthode UPGMA « Unweight Pair Group Method with Arithmetic mean », en se basant sur la distance minimale et l'indice de similarité. Le programme utilisé dans ces deux analyses est « GenstatDiscovery » 11.1 software (VSN International Ltd., Hemel Hempstead, UK), fourni par l'Institut Agronomique Méditerranéen de Saragosse-Espagne (IAMZ-CIHEAM).

## 2.3 Antagonisme microbien

Cette partie consiste en l'étude d'éventuelles actions antagonistes des souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens*, et de l'isolat non pathogène de *Fusarium oxysporum* (Fo47) vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. A cet effet nous avons réalisé trois expérimentations indépendantes.

### 2.3.1 Matériel biologique

---

#### 2.3.1.1 Souches antagonistes

Trois souches de *Pseudomonas fluorescens* ont été utilisées dans les trois parties de nos essais antagonistes (Tableau 2.4). Il s'agit de la souche S20 isolée localement qui a montré des aptitudes antagonistes dans des travaux précédents (Larbaoui, 2003; Benchabane, 2005; Bensaid, 2006). La souche CHAO de référence, considérée comme modèle dans la sélection des *Pseudomonas* spp. fluorescents, elle est connue par ses performances en lutte microbiologique vis-à-vis de divers agents phytopathogènes, par sa compétence rhizosphérique et sa production de divers métabolites secondaires (Voisard et al, 1989; Defago et al, 1990 et Bull et al, 2001,). La souche CK4, mutant de la souche CHAO, déficient en synthèse de pyoverdines, ce mutant a été utilisé spécialement à titre comparatif pour étudier l'apport de la synthèse des pyoverdines dans l'effet antagoniste. L'isolat FO47 de *Fusarium oxysporum* non pathogène (Tableau 2.4) a été utilisé comme souche antagoniste dans les essais sur milieu solide et dans le sol.

A partir de cultures conservées (4 °C) sur le milieu King B (King et al, 1954) (Annexe 2), des repiquages sont réalisés sur le même milieu en boîte de Petri pour vérifier la pureté des souches.

Souches antagonistes	Origine d'isolement	Origine géographique	Année d'isolement	Observations
S20	rhizosphère de palmier dattier	Ghardaïa (Algérie)	2001	Collection du laboratoire de microbiologie, département d'agronomie - université de Blida
CHAO	rhizosphère du tabac	Suisse	1986	Envoi du Pr.K. Keel (labo de phytomédecine, Zurich, Suisse)
CK4 *	rhizosphère du tabac	Suisse	1986	Envoi du Pr.K. Keel (labo de phytomédecine, Zurich, Suisse).
FO47	Sol suppressif à la fusariose	Dijon (France)	1986	Envoi du D. Lemanceau Laboratoire de pathologie du sol Dijon- France.

**Tableau 2.4:** Souches antagonistes.

a: mutant de CHAO (pvd<sup>-</sup>)

### 2.3.1.2 Isolats de *Foa*

Pour la réalisation des essais antagonistes et afin de couvrir la diversité de *Foa* existante dans nos isolats, nous avons choisi huit isolats répartis dans différents groupes obtenus avec l'analyse multivariée, il s'agit de deux isolats de Ghardaïa (G4, G9), deux de Bechar (B1, B2), trois d'Adrar (A2, A6, A9) et un seul isolat de Tamanrasset (T2).

## 2.3.2 Essais d'antagonisme *in vitro*

Ce test consiste en la vérification des activités antagonistes *in vitro* des microorganismes antagonistes vis-à-vis des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. La confrontation *in vitro* des souches antagonistes et les isolats fongiques sont réalisés sur deux milieux de culture différents (milieu solide et milieu liquide).

### 2.3.2.1 En milieu solide

L'objectif de cet essai est d'évaluer l'effet antagoniste des trois souches bactériennes (CHAO, CK4 et S20) et l'isolat non pathogène FO47 sur la croissance mycélienne de trois isolats de *Foa* (A9, G4 et T2).

Le pouvoir antagoniste de nos souches sur l'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Foa* a été testé sur deux milieux gélosés (PDA, KB) selon la méthode des spots décrite par Baker et Kook (1988). Il s'agit de placer dans la même boîte de Petri cinq pastilles gélosées (5 mm de diamètre), l'une portant le pathogène au centre de la boîte et les autres l'antagoniste à la périphérie. Trois répétitions sont prévues pour chaque boîte.

L'incubation a été réalisée à 25°C pendant huit jours. Des notations concernant l'inhibition de la croissance diamétrale des colonies de *Foa*, sont effectuées sur la base de la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition entre la limite de la croissance du disque

mycélien du pathogène et celle de la souche antagoniste (Allaker et al, 1989). Ces notations ont été réalisées lorsque les filaments mycéliens atteignent la périphérie de la boîte dans les témoins, ces derniers sont constitués par un repiquage du pathogène au centre de la boîte.

### 2.3.2.2 En milieu liquide

A fin de tester le pouvoir antagoniste des souches bactériennes sur l'inhibition de la germination et l'élongation des tubes germinatifs des conidies de huit isolats de *Foa*, nous avons utilisé les mêmes milieux de cultures à l'état liquide, en plus de leur mixture à part égales (1/2 PDA:1/2 KB). Il s'agit de placer dans le même tube contenant 8 ml du milieu, 1ml de la suspension bactérienne et 1ml de la suspension conidienne à raison de trois tubes par traitement. La suspension bactérienne est préparée à partir des cultures de 24 heures à raison de  $10^7$  CFU/ml évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre (Shimadzu,  $\lambda = 580$  nm), alors que la suspension conidienne est préparée à partir d'une culture âgée de 7 à 8 jours à raison de  $10^5$  à  $10^6$  conidie/ml évaluée à l'aide de cellule de Malassez.

Pour chaque interaction (isolats fongiques x souches bactériennes), trois répétitions sont réalisées, et afin d'évaluer l'effet antagoniste sur chaque isolat nous avons préparé un témoin avec l'introduction de la suspension conidienne de chaque isolat dans les tubes en absence de la bactérie. L'incubation a été réalisée à 27°C et la lecture des résultats a été effectuée chaque 6 heures (0h, 6h, 12h, 18h et 24h).

Des observations microscopiques pour estimer l'inhibition de la germination des conidies et l'élongation des tubes germinatifs de ces derniers sont réalisées à raison de cinq prélèvements par tube, soit 15 répétition par traitement (isolat de *Foa* x souche bactérienne x milieu de culture).

#### 2.3.2.2.1 Inhibition de la germination

Les observations consistent à effectuer un comptage des conidies germées par rapport à la totalité des conidies observées dans le champ de vision microscopique, pour déterminer le taux de germination et déduire le taux d'inhibition de la germination pour chaque interaction:

$$\text{Taux de germination(\%)} = \frac{\text{nombre des conidies germées}}{\text{nombre totale des conidies}} \times 100$$

$$\text{Taux d'inhibition de la germination (\%)} = 1 - \frac{\text{Taux de germination du traitement bactérienne}}{\text{Taux de germination du témoin}} \times 100$$

#### 2.3.2.2.2 Inhibition de l'élongation des tubes germinatifs

Le but de ce test est d'évaluer le pouvoir inhibiteur des souches bactériennes antagonistes, sur l'élongation des tubes germinatifs des conidies ayant germés des huit isolats étudiés de *Foa*.

Les observations ont été effectuées avec les mêmes préparations utilisées précédemment, lors du test de la germination des conidies à chaque 6 heures. Le taux d'inhibition de l'élongation des tubes germinatifs, après leur émission sont calculés relativement aux témoins correspondant à chaque interaction, et dans chaque milieu de culture utilisé.

### **2.3.2.2.3 L'effet du fer**

Pour mettre en évidence l'effet du fer dans l'activité antagoniste, nous avons testé le pouvoir antagoniste des deux souches bactériennes  $pvd^+$  productrice de pyoverdine (SO4, CHAO) et une souche  $pvd^-$  déficiente en synthèse de pyoverdine (CK4) vis-à-vis trois isolats de *Foa* (A9, G4 et T2). Les tests ont été effectués avec le milieu KB additionné de fer EDTA ou de  $FeCl_3$  (50 $\mu$ g/ml).

Les témoins sont préparés dans les mêmes conditions pour chaque isolat, sans qu'il y ait introduction de la suspension bactérienne. Les mêmes observations concernant le taux d'inhibition de la germination et de l'élongation des tubes germinatifs sont effectuées. La lecture des résultats a été réalisée au moment de l'introduction des suspensions et après 24 heures d'incubation à 27°C.

### **2.3.2.3 Antagonisme dans le sol**

Le sol utilisé dans les essais d'antagonisme a été prélevé au niveau de la station expérimentale du département des sciences agronomiques (université de Blida). Le sol rapporté au laboratoire a été tamisé (2 mm) afin d'éliminer les éléments grossiers, et utilisé après sa stérilisation au four Pasteur deux fois à 200°C pendant 1h chacune.

L'objectif de cet essai est de tester l'effet des agents antagonistes sur le développement des agents pathogènes dans le sol. A cet effet des confrontations (antagoniste x isolats de *Foa*) ont été effectuées dans des terrines en plastique contenant 450 g de sol stérilisé au préalable. Les inoculums bactériens d'une concentration de  $10^5$  cfu /ml ont été préparés dans de l'eau distillée stérile à partir de cultures bactériennes de 24 h cultivées sur le milieu KB. Les inoculums fongiques d'une concentration de  $10^5$  conidies /ml ont été préparés à partir de cultures âgées de 7 à 10 jours cultivées sur le milieu PDA.

Dans chaque terrine, le sol est imprégné avec la suspension antagoniste (CHAO, S20 ou CK4) suivi de la suspension fongique pathogène (G4, A9, T2) après une légère agitation, pour homogénéiser la répartition dans le milieu. Il est à noter que les inoculations pathogènes et antagonistes ont été apportées à la même concentration dans le sol, soit  $10^5$  cfu ou conidies par gramme de sol. Les témoins ont été traités selon la même procédure, il s'agit de deux types de témoins :

- Le témoin positif, représenté par des terrines où le sol a été inoculé seulement avec l'agent pathogène, l'inoculum antagoniste a été substitué par l'eau distillée stérile.
- Le témoin négatif où les apports, que ce soit en qualité d'antagoniste ou de pathogène, ont été remplacés avec les mêmes volumes en eau distillée stérile.

Dans ce cas, nous avons réalisé deux essais:

- Le premier consiste à inoculer le sol avec l'antagoniste et le pathogène (G4, A9, T2); ceci dans le but d'étudier l'effet inhibiteur des antagonistes étudiés (CHAO, CK4 et S20) sur la croissance mycélienne.
- Le deuxième consiste à tester l'effet additif de  $FeCl_3$  ou de l'EDTA (50  $\mu$ g/g de sol) sur l'activité antagoniste de nos souches bactériennes sur l'isolat A9 de *Foa*.

La lecture des résultats s'est basée sur de développement du pathogène observé macroscopiquement et micro morphologiquement. Il s'agit de noter la densité mycélienne et la concentration conidienne dans le sol.

### **2.3.3 Analyse statistique**

---

A fin d'étudier l'effet des souches antagonistes sur nos isolats nous avons réalisé la comparaison des moyenne selon le test de Newman et Keuls à  $\alpha=5\%$  et  $1\%$ , dans le cas où l'analyse de la variance (ANOVA à  $\alpha=5\%$ ) montre une différence significative.

## Chapitre 3. Résultats et discussions

### 3.1 Diagnostic et prospection sur terrain

#### 3.1.1 Descriptif symptomatologique

---

Les prospections effectués au niveau des dix palmeraies ont permis de noter que dans sept palmeraies prospectées, les symptômes observés (Fig3.1 A, B, C, D, E, F) sont similaires aux symptômes typiques du bayoud décrits par plusieurs auteurs (Djerbi, 1982, Sedra, 2003). Ces symptômes ont été généralement observés sur une palme de la couronne moyenne (Fig3.1 C) et se manifestent par un blanchiment et un dessèchement unilatéral qui évolue de la base vers le haut (Fig3.1 A, B, D). Ce blanchiment est souvent accompagné de développement de stries brunâtres durcissant le rachis sur le coté dorsal (Fig3.1 A, B).

Les palmes desséchées deviennent blanchâtres et prennent un aspect de plumes mouillées (Fig3.1 F). Des coupes transversales sur le rachis, ont montré des traces d'envahissement du champignon à travers les vaisseaux conducteurs (Fig3.1 E).

Dans deux palmeraies de Taghit et d'Ain Saleh les symptômes externes ne se présentent pas de façon unilatérale, ils se confondent avec ceux provoqués par la sécheresse, et la salinité (Fig3.1 G) surtout au niveau des palmeraies mal entretenues. Les palmes desséchées sont couvertes d'un duvet grisâtre.

Selon les phoeniculteurs, la mort des palmiers peut durer de quelques mois à quelques années, selon la gravité de l'infection, après l'apparition des premiers symptômes. Ceci diffère d'une localité à l'autre et selon le cultivar attaqué et même les conditions culturales. Cependant la même variété peut survivre entre six mois à quelques années selon les localités (Tableau 3.1).

A travers nos prospections réalisées dans les quatre régions phoenicoles du sud-ouest algérien, nous avons pu faire une description générale sur l'état des palmeraies dans ces régions, en ce basant sur le taux d'infection, la gravité de l'infection (temps moyen entre l'apparition des symptômes et la mort du sujet) et le comportement variétal dans chaque palmeraie visitée (Tableau3.1).

Les résultats montrent que le taux d'infection varie de 5 % à 42,4 %, où nous avons comptabilisé aussi les pieds récemment arrachés suite à leur infection par le bayoud, Ce taux calculé par le rapport des pieds malades sur la totalité des palmiers de l'exploitation varie d'une localité à une autre, et même à l'intérieur de chaque localité, cette différence est due principalement à la composition variétales de chaque palmeraie ainsi aux travaux culturales réalisés. Cependant les taux les plus élevés ont été enregistrés dans les palmeraies les plus entretenues, notamment les techniques d'irrigation adoptées et leur rôle dans la dissémination de la maladie et même dans la création d'un milieu favorable à son développement (Fig 3.2).

Concernant la gravité de la maladie, nous avons noté que dans la plupart des cas la mort du palmier survient 4 à 6 ans après l'apparition des premiers symptômes. Ceci n'est

le cas dans la palmeraie d'Ain Saleh où les sujets infectés meurent totalement en moins de trois années.

Dans la région de Touat, nous avons noté exceptionnellement pour l'année 2007 un nouveau comportement des palmiers malades avec une progression très rapide de la maladie, et la mort du pied malade survient 6 à 8 mois. Selon le propriétaire de la palmeraie ceci a été remarqué après la plantation de quelques rejets de la variété « Tgaza » provenant de la région de Ain Saleh.

Comme le montre nos résultats (Tableau 3.1), il apparaît une hétérogénéité de comportement des cultivars vis-à-vis du bayoud, où on note que certains cultivars sont totalement sensibles ( Boufeggous, Hartan, Elrabt, Tgaza, Tenekeur, Tilemsou, Agamou, Timliha, Aghas, Adekli), alors que les palmiers du cultivar Takerboucht ne manifestant aucun symptôme du bayoud dans les dix palmeraies prospectées. Selon les agriculteurs ce cultivar reste indemne des symptômes typiques du bayoud. Entre les deux catégories il y a certains cultivars qui présentent une sensibilité hétérogène, dans certaines localités. Tel est le cas:

- du cultivar Timadjhourt tolérant à Gourara sensible à Tidikelt (20% d'infection).
- du cultivar Agheras considéré comme tolérant dans la région Touat, est sensible dans la région de Tidikelt, et même nous avons noté quelques pieds malades dans la palmeraie n° 2 de la région de Touat.
- du cultivar Tinnaceur considéré comme tolérant dans la plupart des palmerais du Touat, a enregistré quelques infections dans les régions de Gourrara et Tidikelt.
- des deux cultivars Bentecherk et Elhmira présentent un comportement différent entre les palmeraies de la même région (Taghit).

Dans le cas des palmiers issus de semis naturel « Khalts », nous avons enregistré une grande diversité de ce type de matériel, dont la sensibilité au bayoud diffère d'une palmeraie à une autre, avec la présence de plusieurs Khalts tolérant mais la plupart se caractérisent par une faible qualité dattière.

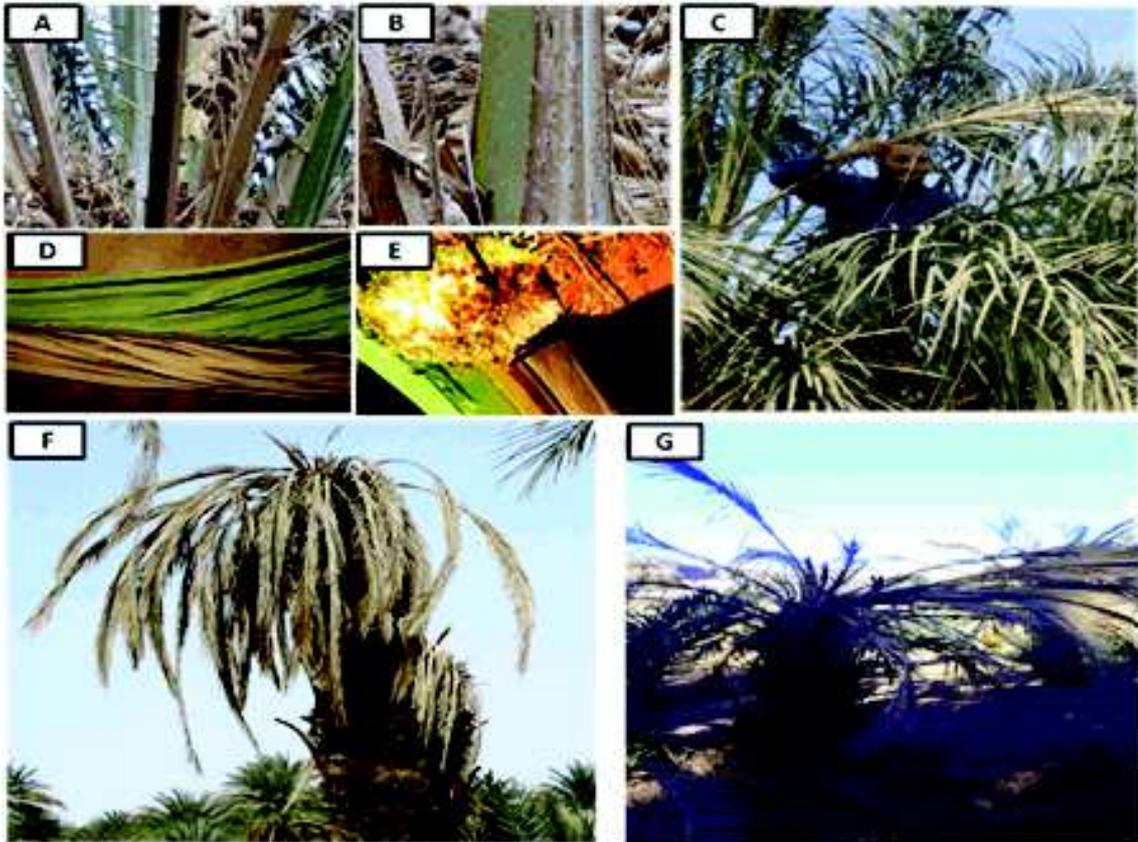
Prospection, isolement et caractérisation phénotypique d'isolats de *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl f.sp. *albedinis* (Killian & Maire).

Localisation des Palmeraies	Taux d'infection (%)	Gravité de l'infection <sup>a</sup>	Cultivars infectés	Cultivars Tolérants <sup>b</sup>
1- Aouled Ahmed (Touat-Adrar)	22,2	2-6 ans	Aghas, Khalt	Takerboucht, Agheras, Tinnaqueur
2- Aouled Aâroussa (Touat-Adrar)	8,25	4-6 ans 6-8 mois (à partir de 2007)	Khalt(Deglat), Tgaza	Takerboucht, Tinnaqueur
3- El Manssour-Bouda (Touat-Adrar)	25,5	4-6 ans	Agamou, Khalt, Timliha	Takerboucht, Agheras
4- Station INRAA-Aouled Aissa (Touat-Adrar)	5,00	5-6 ans	Tgaza,	Takerboucht, Agheras
5- Tililane (Touat-Adrar)	35,33	2-4 ans	Khalt(Deglat), Tilemsou, Tinekour, Adekli	Takerboucht, Agheras
6- Kseur Badriane Timimoun (Gourrara-Adrar)	15,5	4-6 ans	Tgaza. Tinnaqueur. Tilemsou. khalt	Takerboucht. Timadjhourt
7- Ain Saleh (Tidiklt-Tamerrasset)	42,4	2-3 ans	Agheras. Tinnaqueur. Timadjhourt. Khalt. Tgaza. Tenekeur.	Takerboucht
8- Mezouar 01- Haouadj (Taghit- Bechar)	18,6	4-6 ans	Boufeggous. Hartan. Bentecheik. Elrabti.	Elhmiria, Khalt
9- Mezouar 02- Haouadj (Taghit- Bechar)	27,5	4-6 ans	Elhmiria. Boufeggous. Hartan,	Khalt
10- Mezouar 03- Haouadj (Taghit- Bechar)	13,0	4-6 ans	Boufeggous. Hartan	Bentecheik. Khalt.

**Tableau 3.1:** Taux d'infection et comportement variétales dans les palmeraies prospectées.

a: séparation de l'infection et la mort du palmier.

b: Cultivar tolérant : l'agriculteur n'a jamais noté un pied malade de ce cultivar dans sa palmeraie.



**Figure 3.1 :** différents symptômes du bayoud observé

(**A, B :** Stries brunes longitudinales sur le rachis; **A, B, D :** symptômes unilatérales; Blanchiment de palmes unilatéralement de bas en haut sur un seul coté de la palme; **C :** blanchiment d'une palme de couronne moyenne; **E :** Coupe transversale au milieu du rachis montrant la progression du parasite dans les vaisseaux conducteurs; **F :** Symptômes avancés de bayoud montrant la forme des palmes en « Plumes mouillées » et la mort du bourgeon terminal; **G :** symptômes confondus avec ceux provoqués par la sécheresse, et la salinité).



**Figure 3.2:** Technique d'irrigation utilisée.

### 3.1.2 Répartition des palmiers malades

---

Les observations effectuées au niveau des palmeraies infectées montrent que les sujets malades se répartissent soit de façon isolée; ou distribués linéairement ou en foyers regroupés (Fig.3.3). Le type de distribution peut être dû à la composition variétale de palmeraie, ainsi que aux méthodes culturales assurées, principalement les techniques d'irrigation.



*Figure 3.3: Répartition des palmiers malades*

(A : Répartition isolée, B : Répartition en foyers.C: Répartition linéaire).

## 3.2 Diagnostic au laboratoire

### 3.2.1 Isolement et identification

---

Il est à rappeler que les opérations d'isolement du pathogène ont été réalisées avec 33 échantillons prélevés dans les localités prospectées. Il s'agit de dix échantillons du sol, 12 échantillons de la racine et 11 échantillons du rachis.

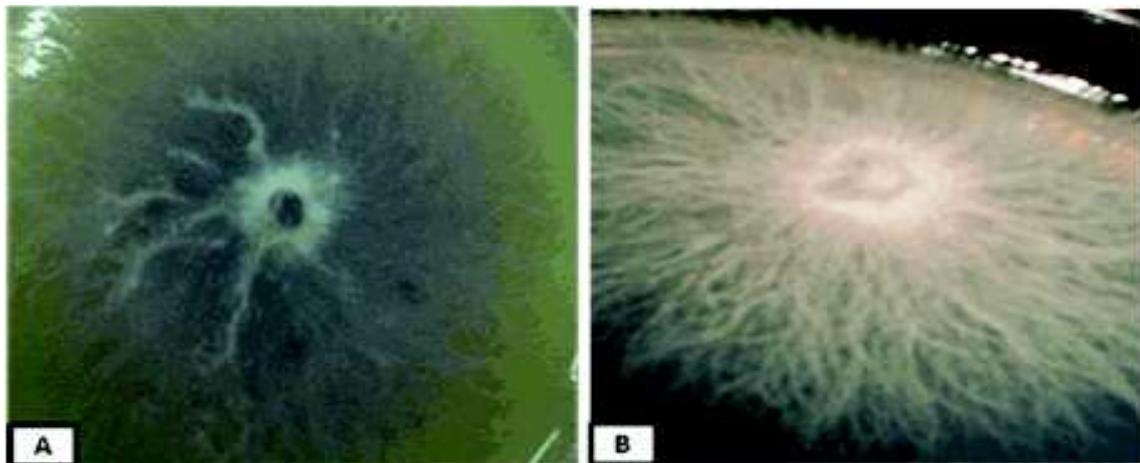
Nous avons pu isoler 100 isolats de différentes origines, dont une grande partie provient des échantillons prélevés des palmeraies d'Adrar (40 %). Au sein de ces isolats d'Adrar, 22 sont issus du sol, 10 des racines et 8 des rachis. A partir des différents échantillons utilisés (échantillons confondus) il en ressort que 33 % des isolats ont été isolés du sol, 31 % des isolats des racines et 36 % des isolats des rachis (Tableau 3.2).

Origines géographiques	Nombre d'isolats	Localisation		
		sol	racines	rachis
Adrar	40	22	10	8
Bechar	25	1	8	16
Ghardaïa	26	8	11	7
Tamanrasset	9	2	2	5
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>33</b>	<b>31</b>	<b>36</b>

**Tableau 3.2:** Nombre et origine des isolats.

Après purification, nous avons sélectionné 75 isolats d'apparence macromorphologique similaire aux caractères connus chez les *Fusariums*; particulièrement *Fusarium oxysporum* (Leslie et Summerll,2006; Fuskey, <http://res.agr.ca/brd/fusarium/home1.html>).

Après l'identification des isolats ; effectuée selon des critères macro et microscopiques et en utilisant les isolats types de *Foa* (Tableau 2.2). Nous avons sélectionné 56 isolats (Tableau 3.3). Nous avons noté des aspects cultureux variables entre les colonies issues de cultures monospores par rapport à ceux obtenus en masse du même isolat (Fig.3.4). Ceci dénote l'instabilité de ces caractères chez les isolats de *Fusarium*.



**Figure 3.4:** Aspects macroscopiques de culture en masse (A) et monospore (B) de l'isolat A2 sur milieu PDA

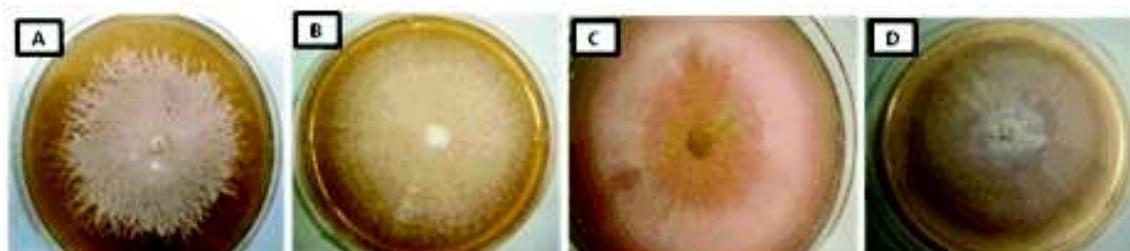
**Prospection, isolement et caractérisation phénotypique d'isolats de *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl f.sp. *albedinis* (Killian & Maire).**

Nombre d'isolats	Isolats	Localisation des palmeraies	Date de prélèvement	cultivar	Nature du matériel
2	A <sub>2</sub> , A <sub>3</sub>	Mehdia (Touat- Adrar)	2007	Tegaza	Rachis
2	A <sub>4</sub> , A <sub>5</sub>	Ouled Aroussa (Touat- Adrar)	2008	Khait	Sol, Rachis
2	A <sub>6</sub> , A <sub>7</sub>	Menseur-bouda (Touat- Adrar)	2008	Aghamou	Sol, rachis
2	A <sub>8</sub> , A <sub>9</sub>	Tillan (Touat- Adrar)	2008	Khait	sol ; rachis
1	A <sub>10</sub>	Ouled Ahemed (Touat- Adrar)	2008	Agueuze	sol
6	A <sub>11</sub> ; A <sub>12</sub> ; A <sub>13</sub> ; A <sub>14</sub> ; A <sub>15</sub> ; A <sub>16</sub>	Ouled Ahemed (Touat- Adrar)	2008	Agueuze	racine
3	A <sub>17</sub> , A <sub>18</sub> , A <sub>19</sub>	Ouled Aroussa (Touat- Adrar)	2008	Khait	sol , rachis
1	A <sub>20</sub>	Tillan (Touat- Adrar)	2008	Khait	rachis
2	A <sub>21</sub> ; A <sub>22</sub>	Ksour Badriaine(Gourara- Adrar)	2008	Tigaza	rachis
1	A <sub>23</sub>	Menseur-bouda (Touat- Adrar)	2008	Aghamou	sol
1	B <sub>1</sub>	Zone Haouadj (Taghit-Bechar)	2008	Tazeszaït	Racine aérien
4	B <sub>2</sub> ; B <sub>3</sub> ; B <sub>7</sub> ; B <sub>19</sub>	Zone Haouadj (Taghit-Bechar)	2008	Tazeszaït	Racine sous terrain
3	B <sub>4</sub> ; B <sub>5</sub> ; B <sub>20</sub>	Zone Haouadj (Taghit-Bechar)	2008	Tazeszaït	rachis
6	B <sub>6</sub> ; B <sub>14</sub> ; B <sub>15</sub> ; B <sub>16</sub> ; B <sub>17</sub> ; B <sub>18</sub>	Zone Haouadj (Taghit-Bechar)	2008	Tazeszaït	Racine aérien
8	G <sub>5</sub> ; G <sub>6</sub> ; G <sub>7</sub> ; G <sub>8</sub> ; G <sub>11</sub> ; G <sub>12</sub> ; G <sub>13</sub> ; G <sub>14</sub> ;	Baba ou Aïsa- Ghardaïa	2007	Tazeszaït DN	sol
4	G <sub>9</sub> ; G <sub>10</sub> ; G <sub>15</sub> ; G <sub>16</sub>	Baba ou Aïsa- Ghardaïa	2007	Tazeszaït	racine
5	G <sub>3</sub> ; G <sub>4</sub> ; G <sub>17</sub> ; G <sub>18</sub> ; G <sub>19</sub>	Baba ou Aïsa- Ghardaïa	2007	Tazeszaït DN	Rachis
2	T <sub>2</sub> ; T <sub>3</sub>	Ain Salah	2008	Tinnasseur	Rachis
1	T <sub>4</sub>	Ain Salah	2008	tinnasseur	Racine

**Tableau 3.3: Isolats de *Foa* sélectionnés.**

### 3.2.1.1 Caractères macroscopiques

Pour l'ensemble des isolats, le type du mycélium est souvent fin et frisé, ras alors que quelques isolats présentent un mycélium cotonneux, subaérien. La couleur reste variable entre le rose saumon, hyaline, blanchâtre ou violette (Annexe 3) (Figure 3.5).



**Figure 3.5: Les caractères macroscopiques des cultures en masse**

(A: Fin frisé, B: subaérien, C : cotonneux, D : ras).

### 3.2.1.2 Caractères microscopiques

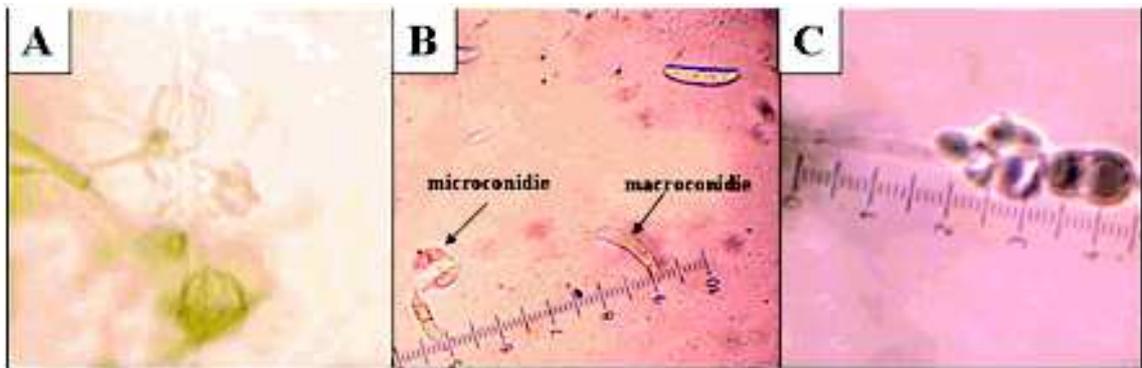
Pour l'ensemble des isolats, le mycélium est cloisonné, ramifié et hyalin. Nous avons noté la présence de fausses têtes sur les microphialides qui sont souvent d'une courte longueur (Figure 3.6 A).

Les microconidies sont très nombreuses, ovoïdes, le plus souvent unicellulaires avec des dimensions de l'ordre de 1,2 - 4, 8 µm x 6,8 - 12 µm (Annexe 4, Figure3.6 B).

Selon le développement des isolats, les macroconidies sont assez abondantes ou rares. Elles sont fusiformes de 1 à 3 cloisons ; rarement en 4 cloisons, avec des dimensions de l'ordre de 3,6 - 16,8 µm x 1,2 - 12 µm (Annexe 4, Figure3.6 B).

De même que la densité des macroconidies, les chlamydospores (Figure3.6 C) étaient généralement peu abondants, mais parfois nombreuses chez certains isolats, notamment ceux isolés à partir du sol.

Les taux de sporulation diffèrent d'un isolat à l'autre (Annexe 4), variant de  $2,8.10^4$  à  $9,9.10^6$ , respectivement pour les isolats B<sub>2</sub> et T<sub>2</sub>, isolés à partir de racines et de rachis.



**Figure 3.6:** Caractères microscopiques des isolats de *Fusarium oxysporum* (G : 10\* 40)

(A: fausses têtes, B: micro et macroconidies, C: chlamydospores).

### 3.2.2 Caractérisation des isolats

A travers les tests effectués et leurs effets sur la croissance mycélienne et les niveaux de sporulation, il en ressort une nette hétérogénéité entre les 26 isolats de *Foa* étudiés (Tableaux 3.4, 3.5, 3.6, 3.7)

#### 3.2.2.1 Effet de la température

Les différents groupes d'isolats testés ont montré une certaine similitude, en termes de croissance mycélienne et de sporulation selon les températures testées:

- Entre 4 – 5 °C et 39 – 40 °C : pas de croissance chez la totalité des isolats.
- Les maximums de croissance ont été notés à 27-28 °C pour 15 isolats alors que l'isolat B<sub>5</sub> a enregistré sa meilleure croissance à 24-25°C.
- L'augmentation de la température au delà de 29 °C a affecté nettement la croissance mycélienne et la sporulation pour tous les isolats testés. L'effet de la température sur ces deux paramètres diffère entre les différents isolats. Nous avons noté que plus de la moitié des isolats n'ont pas sporulés à 34-35°C, alors que les isolats A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub>, A<sub>7</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>, G<sub>6</sub>, G<sub>7</sub>, G<sub>8</sub> et G<sub>9</sub>, ont présenté une sporulation normale comparativement à leur sporulation à 27-28°C (Tableau 3.4).

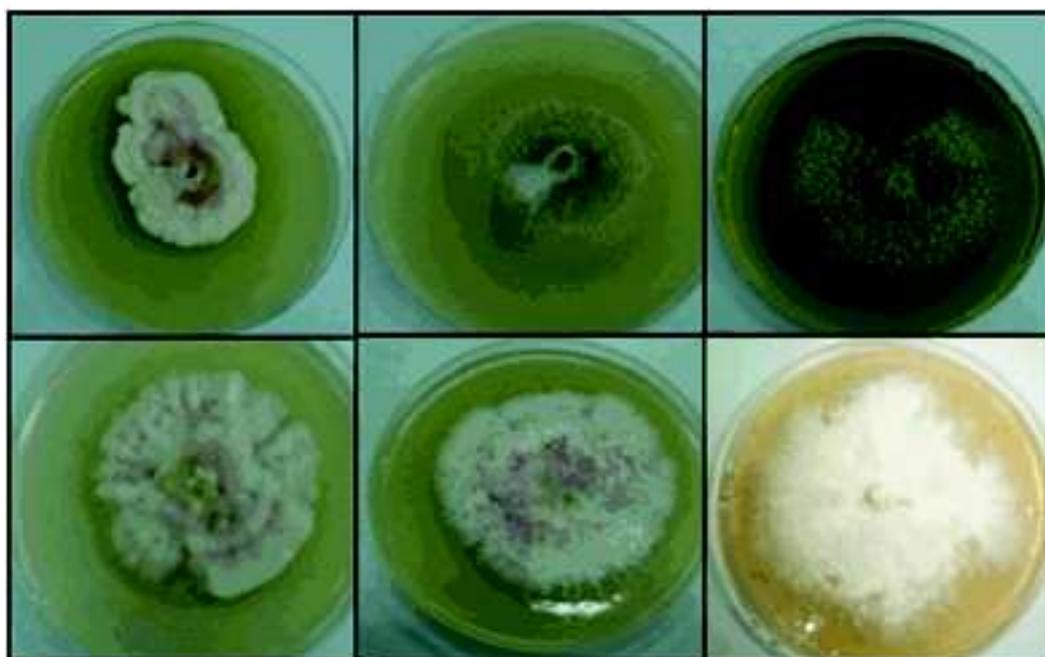
#### 3.2.2.2 Effet des rayons (U.V)

L'effet des expositions des cultures aux U.V apparait nettement sur les niveaux de sporulation et de croissance mycélienne (Tableau 3.4 et 3.5). En effet l'augmentation de la durée d'exposition aux UV a provoqué une diminution de la croissance mycélienne chez tous les isolats testés, alors qu'elle a provoqué une augmentation dans les niveaux de sporulation pour la plupart des isolats à l'exception des isolats B<sub>2</sub>, B<sub>4</sub>, T<sub>1</sub>, et T<sub>2</sub>, qui ont marqués une diminution. L'isolat B<sub>3</sub> n'a montré de sporulation à partir de 2 heures d'exposition aux U.V (Tableau 3.4).

**Prospection, isolement et caractérisation phénotypique d'isolats de *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl f.sp. *albedinis* (Killian & Maire).**

Il y est à noter que la cinétique de diminution de la croissance mycélienne est variable selon les isolats, où nous avons noté une diminution progressive tout en augmentant la durée d'exposition aux U.V chez la majorité des isolats. Les isolats B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, G<sub>4</sub> et G<sub>5</sub> ont montré une stabilité relative jusqu'à 4 heures d'exposition et un déclin brusque à 6 heures (Tableau 3.5).

En plus des effets constatés sur la croissance et la sporulation, nous avons observé des changements importants dans les caractères macromorphologiques, particulièrement la coloration et l'aspect des colonies (Figure 3.7).



**Figure 3.7: Changements des aspects et des couleurs mycéliennes après expositions aux U.V**

Isolats	Témoins <sup>a</sup>	Température (°C)						Exposition aux UV (heures)			
		4-5	19-20	24-25	29-30	34-35	39-40	1/2	2	4	6
A <sub>1</sub>	89,89 ± 0,33 <sup>b</sup>	0	81,56 ± 4,87	80,72 ± 0,16	40,39 ± 0,83	1,11 ± 0,11	0	23,22 ± 0,89	31,16 ± 0,28	36,61 ± 1,72	41,61 ± 0,94
A <sub>2</sub>	53,16 ± 1,83	0	56,33 ± 3,30	69,65 ± 1,10	16,66 ± 1,00	0	0	12,16 ± 0,28	14,83 ± 0,61	16,33 ± 1,45	23,00 ± 0,45
A <sub>3</sub>	84,78 ± 0,44	0	18,72 ± 0,40	9,89 ± 1,12	23,00 ± 0,67	0	0	2,00 ± 0,56	6,77 ± 1,11	9,27 ± 0,61	16,11 ± 0,67
A <sub>4</sub>	09,61 ± 0,61	0	04,00 ± 0,94	15,66 ± 0,22	20,11 ± 1,11	1,00 ± 0,11	0	17,66 ± 0,22	25,05 ± 0,39	11,50 ± 1,06	36,50 ± 1,17
A <sub>5</sub>	11,45 ± 1,11	0	48,17 ± 3,06	11,66 ± 0,78	16,17 ± 0,84	2,17 ± 0,06	0	31,39 ± 0,94	31,11 ± 0,45	37,72 ± 0,39	43,89 ± 0,33
A <sub>6</sub>	20,05 ± 3,39	0	11,11 ± 0,78	2,56 ± 0,45	5,88 ± 0,00	4,00 ± 1,78	0	0,33 ± 0,11	1,05 ± 0,06	14,83 ± 0,61	16,44 ± 0,11
A <sub>7</sub>	01,55 ± 0,89	0	01,83 ± 0,71	2,66 ± 0,89	2,66 ± 0,11	1,28 ± 0,06	0	3,16 ± 0,39	8,05 ± 0,61	14,17 ± 1,06	15,89 ± 0,44
A <sub>8</sub>	11,89 ± 0,67	0	40,83 ± 4,46	41,11 ± 2,55	7,72 ± 0,50	0	0	31,83 ± 0,61	35,11 ± 0,55	47,55 ± 0,89	52,55 ± 2,11
A <sub>9</sub>	23,67 ± 0,44	0	82,50 ± 4,16	30,27 ± 1,61	50,22 ± 5,66	0	0	38,22 ± 2,34	47,22 ± 1,34	57,55 ± 0,89	70,22 ± 0,33
B <sub>1</sub>	07,05 ± 0,83	0	01,50 ± 0,23	4,44 ± 1,44	5,92 ± 2,42	0	0	1,94 ± 0,06	9,00 ± 0,44	10,55 ± 0,67	14,89 ± 0,34
B <sub>2</sub>	42,00 ± 1,34	0	14,50 ± 0,08	8,72 ± 0,61	30,66 ± 1,30	0	0	11,39 ± 0,05	9,38 ± 0,39	6,61 ± 0,61	11,22 ± 0,89
B <sub>3</sub>	05,05 ± 0,28	0	01,00 ± 0,47	2,61 ± 0,39	3,61 ± 0,39	0	0	2,00 ± 0,44	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
B <sub>4</sub>	23,00 ± 0,00	0	18,61 ± 1,49	1,61 ± 0,84	6,05 ± 0,72	0	0	15,61 ± 0,50	13,66 ± 1,33	1,77 ± 0,11	0,28 ± 0,05
B <sub>5</sub>	22,83 ± 0,05	0	43,78 ± 2,35	2,33 ± 0,78	21,44 ± 0,89	0	0	2,56 ± 0,56	3,83 ± 0,39	5,55 ± 1,00	10,89 ± 0,44
C <sub>1</sub>	67,83 ± 1,95	0	46,11 ± 0,16	07,55 ± 0,11	29,88 ± 2,00	0	0	3,94 ± 0,61	10,55 ± 0,67	15,22 ± 0,45	20,66 ± 0,78
C <sub>2</sub>	44,61 ± 2,28	0	07,22 ± 0,78	16,27 ± 2,83	16,16 ± 1,39	0	0	3,44 ± 0,78	10,78 ± 0,34	13,50 ± 1,06	18,72 ± 0,84
C <sub>3</sub>	47,89 ± 2,11	0	55,11 ± 2,04	58,94 ± 0,72	36,05 ± 0,50	0	0	9,89 ± 0,33	12,94 ± 0,61	14,05 ± 1,61	17,94 ± 0,50
C <sub>4</sub>	41,39 ± 1,16	0	17,49 ± 0,86	8,28 ± 1,73	52,17 ± 1,05	3,06 ± 0,95	0	3,83 ± 1,39	9,33 ± 0,45	14,28 ± 0,94	19,55 ± 0,56
C <sub>5</sub>	00,89 ± 0,11	0	01,50 ± 0,39	01,77 ± 0,00	4,61 ± 0,39	0,94 ± 0,17	0	1,94 ± 0,61	8,22 ± 0,66	11,50 ± 1,06	15,39 ± 0,84
C <sub>6</sub>	15,89 ± 1,56	0	03,89 ± 2,51	3,61 ± 0,06	1,00 ± 0,23	2,56 ± 0,56	0	1,44 ± 0,22	5,22 ± 0,45	7,72 ± 0,39	13,89 ± 1,44
C <sub>7</sub>	13,78 ± 0,67	0	05,39 ± 0,23	3,05 ± 0,39	8,00 ± 1,34	2,22 ± 0,11	0	8,72 ± 0,84	10,83 ± 0,39	14,83 ± 0,61	17,94 ± 0,61
C <sub>8</sub>	15,22 ± 0,11	0	10,55 ± 2,36	6,94 ± 0,94	5,33 ± 0,33	3,39 ± 0,73	0	9,28 ± 1,06	11,50 ± 0,95	14,17 ± 1,06	15,17 ± 1,06
C <sub>9</sub>	17,67 ± 0,55	0	42,50 ± 0,54	02,11 ± 0,11	2,50 ± 0,16	0,89 ± 2,23	0	8,83 ± 0,39	14,61 ± 0,62	17,55 ± 0,89	18,55 ± 0,89
C <sub>10</sub>	02,38 ± 0,50	0	39,83 ± 3,22	02,17 ± 0,11	52,44 ± 2,11	0	0	6,61 ± 0,50	13,61 ± 0,95	18,39 ± 2,28	25,44 ± 0,89
T <sub>1</sub>	65,50 ± 2,94	0	67,89 ± 0,78	44,33 ± 3,67	71,11 ± 3,11	0	0	9,00 ± 1,00	18,05 ± 0,50	21,50 ± 1,95	25,55 ± 1,00
T <sub>2</sub>	37,33 ± 1,45	0	52,00 ± 0,32	38,83 ± 4,17	84,33 ± 0,89	0	0	32,00 ± 3,89	24,00 ± 0,56	13,00 ± 0,22	10,00 ± 0,12

a: Témoin : sporulation à la Température 27-28 °c et sans exposition aux U.V

b:  $\bar{x} \pm \sigma$  (%) / Ecart type calculé avec les trois répétitions.

**Tableau 3.4 : Effet de la température et des U.V sur les niveaux de sporulations ( $10^5$  spores/ml).**

Isolats	Témoins*	Température (°C)						Exposition aux U.V (heurs)			
		4-5	19-20	24-25	29-30	34-35	39-40	1/2	2	4	6
A1	78.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0	32.83 ± 5.19	40.00 ± 1.41	37.00 ± 1.10	21.33 ± 0.52	0	57.67 ± 1.11	53 ± 1.18	46.33 ± 1.23	42.5 ± 0.43
A2	71.50 ± 0.55	0	41.08 ± 0.92	63.33 ± 2.25	57.50 ± 0.55	12.33 ± 1.37	0	53.50 ± 0.34	51.17 ± 0.78	45.83 ± 0.65	35.17 ± 0.54
A3	78.0 ± 0.00	0	29.00 ± 2.02	54.33 ± 1.51	37.67 ± 1.75	12.75 ± 1.17	0	57.17 ± 1.04	62.83 ± 0.98	45.17 ± 1.09	37.83 ± 0.98
A4	78.00 ± 0.00	0	37.58 ± 0.66	59.58 ± 1.50	33.17 ± 1.17	27.83 ± 0.98	0	56.83 ± 0.67	51.83 ± 0.67	48.5 ± 0.98	31.33 ± 0.54
A5	72.50 ± 2.43	0	53.00 ± 1.79	41.33 ± 0.52	73.33 ± 1.63	29.33 ± 1.03	0	58.17 ± 1.43	52.33 ± 1.54	55.33 ± 0.56	33.67 ± 0.78
A6	78.00 ± 0.00	0	33.00 ± 1.79	55.17 ± 1.17	40.17 ± 1.47	32.83 ± 0.75	0	68.50 ± 0.89	63.5 ± 0.79	59.5 ± 1.22	25 ± 0.65
A7	78.00 ± 0.00	0	56.50 ± 1.05	72.17 ± 2.14	70.83 ± 1.47	38.00 ± 1.79	0	70 ± 1.09	69.83 ± 0.89	58 ± 0.67	26.83 ± 1.25
A8	59.00 ± 2.37	0	34.17 ± 1.47	35.83 ± 1.17	35.00 ± 1.41	4.42 ± 0.66	0	45.67 ± 0.38	38.17 ± 0.55	41.83 ± 0.23	15.83 ± 0.33
A9	55.67 ± 0.52	0	34.50 ± 1.38	38.00 ± 2.28	39.00 ± 1.26	21.67 ± 0.52	0	43.67 ± 1.23	39.33 ± 1.28	35.67 ± 0.45	25.17 ± 0.62
B1	78.0 ± 0.00	0	36.75 ± 3.00	56.33 ± 1.97	68.00 ± 2.00	44.83 ± 1.17	0	78 ± 0.78	78 ± 1.08	62 ± 0.32	34.5 ± 1.54
B2	78.00 ± 0.00	0	36.75 ± 1.25	46.67 ± 1.63	20.83 ± 1.17	20.83 ± 1.17	0	51.5 ± 1.02	48.83 ± 1.02	41.33 ± 0.69	28.67 ± 1.15
B3	78.00 ± 0.00	0	39.00 ± 1.55	46.00 ± 0.89	57.83 ± 3.25	32.17 ± 1.17	0	78 ± 0.76	78 ± 1.47	67.83 ± 1.14	25.83 ± 0.65
B4	68.17 ± 1.17	0	26.92 ± 0.80	48.17 ± 0.89	15.17 ± 0.75	7.00 ± 0.63	0	41.17 ± 0.65	40.67 ± 1.17	38.33 ± 0.33	27.83 ± 0.87
B5	40.17 ± 1.17	0	27.00 ± 1.67	45.50 ± 1.05	33.00 ± 2.37	10.17 ± 1.17	0	58 ± 1.32	47.67 ± 0.62	47.17 ± 0.75	37.5 ± 0.34
G1	78.00 ± 0.00	0	37.67 ± 2.94	45.83 ± 1.17	34.25 ± 0.61	12.00 ± 1.26	0	56.5 ± 0.95	58.5 ± 1.03	41.17 ± 1.22	21.17 ± 0.67
G2	78.00 ± 0.00	0	43.75 ± 1.41	62.00 ± 2.37	58.50 ± 1.05	18.67 ± 2.07	0	53.33 ± 0.78	51 ± 1.79	46.83 ± 0.56	34.17 ± 1.14
G3	78.00 ± 0.00	0	53.25 ± 3.79	68.00 ± 1.67	48.17 ± 1.17	18.67 ± 1.03	0	66 ± 0.58	62.67 ± 0.89	52.67 ± 0.94	38.17 ± 0.75
G4	78.00 ± 0.00	0	32.42 ± 2.65	53.67 ± 1.21	36.83 ± 1.94	19.00 ± 0.89	0	78 ± 0.56	78 ± 1.94	72 ± 1.22	63.83 ± 1.33
G5	78.00 ± 0.00	0	35.83 ± 1.47	64.67 ± 4.18	78.00 ± 0.00	31.33 ± 0.82	0	78 ± 0.78	78 ± 2.14	65.67 ± 0.67	31.5 ± 1.12
G6	78.00 ± 0.00	0	36.83 ± 1.17	53.83 ± 0.75	55.67 ± 1.21	26.17 ± 2.14	0	50.17 ± 1.09	47 ± 0.56	36.5 ± 0.67	32.17 ± 0.98
G7	72.17 ± 2.23	0	37.17 ± 0.92	55.00 ± 1.41	35.33 ± 1.03	27.17 ± 0.75	0	50.5 ± 0.82	46.67 ± 1.26	45.83 ± 0.45	33.83 ± 0.45
G8	78.00 ± 0.00	0	37.08 ± 1.20	56.50 ± 1.05	66.50 ± 1.38	22.67 ± 1.37	0	67.17 ± 0.78	61.83 ± 0.54	46.17 ± 0.89	35.67 ± 0.76
G9	78.00 ± 0.00	0	42.05 ± 1.11	40.33 ± 1.21	43.67 ± 1.63	24.83 ± 0.75	0	57.83 ± 1.18	53.33 ± 1.26	57.83 ± 1.05	40.83 ± 1.77
G10	78.00 ± 0.00	0	28.92 ± 2.06	37.83 ± 1.83	67.67 ± 1.51	36.00 ± 0.89	0	53 ± 0.56	50.5 ± 0.92	46.5 ± 1.02	41.50 ± 1.02
T1	72.83 ± 4.79	0	46.00 ± 3.46	66.00 ± 1.79	33.33 ± 1.21	9.00 ± 0.89	0	56 ± 0.72	51.5 ± 1.22	35 ± 0.39	29.17 ± 0.38
T2	66.55 ± 1.05	0	37.17 ± 2.40	40.50 ± 0.55	25.33 ± 0.52	17.67 ± 0.82	0	65.17 ± 0.78	60.5 ± 0.65	54.17 ± 1.44	49.33 ± 1.11

\* Témoins : développement à la Température 27-28 °C et sans exposition aux U.V

b:  $\bar{x} \pm \sigma$  (%) / Ecart type calculé avec les trois répétitions.

**Tableau 3.5 : Effet de la température et des U.V sur la croissance mycélienne (mm).**

### 3.2.2.3 Effet de la lumière

Les résultats montrent que la lumière affecte négativement la croissance mycélienne, dont les maximums de croissance ont été notés avec l'obscurité totale pour tous les isolats testés, avec des diamètres allant de 40,17 à 78 mm, contre 9,33 à 34,67 mm enregistrés en lumière continue. Des valeurs intermédiaires (38 à 71 mm) ont été enregistrées avec l'alternance obscurité/lumière (Tableau 3.6).

Concernant la sporulation nous avons noté en générale un effet inhibiteur sur la plupart des isolats restés. Pour certains isolats (A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, G<sub>5</sub> et G<sub>10</sub>), les meilleurs taux de sporulation ont été enregistrés en lumière contenue, alors que pour les isolats A<sub>6</sub>, A<sub>8</sub>, A<sub>9</sub> et B<sub>5</sub>, les valeurs de sporulation ont été faibles dans le cas de l'alternance obscurité / lumière (Tableau 3.7).

### 3.2.2.4 Effet du NaCl

Les différents isolats testés ont répondu de façon hétérogène, en termes de croissance mycélienne et de sporulation selon les différentes concentrations en NaCl (Tableau 3.6 et 3.7).

- la concentration de 10 g/l de Na Cl n'a pas affecté les deux paramètres (croissance et sporulation), où nous avons noté des valeurs similaires par rapport aux témoins.
- Les concentrations de 50 et 100g/l de Na Cl, ont provoqué une nette diminution dans la croissance mycélienne des différents isolats: un taux de réduction avoisinant les 50% chez les isolats A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>4</sub> et T<sub>2</sub>. Avec 100g/l, à l'exception des isolats A<sub>1</sub>, A<sub>3</sub> et T<sub>3</sub> qui restent similaires aux témoins, les autres ont marqué une nette inhibition.

En terme de sporulation, la diminution est nettement apparente chez l'ensemble des isolats, et s'annule complètement avec les isolats B<sub>1</sub> et B<sub>3</sub> à partir de 50g/l de NaCl et chez les isolats A<sub>5</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>5</sub>, G<sub>5</sub> et G<sub>9</sub>, à 100g/l de NaCl.

- A la concentration 130 g/l de Na Cl, la croissance mycélienne de la plupart des isolats a été inhibée complètement, à l'exception de A<sub>1</sub>, A<sub>3</sub>, T<sub>1</sub> et G<sub>10</sub> ayant noté des valeurs avoisinant 20 mm de diamètre mycélien (Tableau 3.6). A l'exception des isolats A<sub>1</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>8</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>10</sub> et T<sub>1</sub>, où la sporulation variée de  $0,51 \cdot 10^5$  à  $0,90 \cdot 10^5$  spores/ml, elle est totalement absent chez les autres (Tableau 3.7).

### 3.2.2.5 Effet du milieu de culture

La diversification des éléments nutritifs influe sur la croissance mycélienne et la sporulation des différents isolats testés. Nous avons noté un comportement variable dans les trois milieux de culture testés (PDA, Czapeck, N.S) (Tableau 3.6 et 3.7):

- Le milieu PDA s'avère favorable à la croissance de onze isolats (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>4</sub>, B<sub>4</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>8</sub>, G<sub>10</sub>, T<sub>1</sub> et T<sub>2</sub>). L'isolat B<sub>5</sub> a enregistré sa plus faible croissance dans ce milieu.
- Les isolats A<sub>3</sub>, A<sub>6</sub>, A<sub>7</sub>, B<sub>1</sub> et B<sub>3</sub> n'ont pas montré de préférences nutritives dans les trois milieux testés.
- Plus de 50% des isolats testés n'ont pas montré une différence notable en sporulation dans les trois milieux de cultures utilisés. Quelques isolats (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>8</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>, G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub>) ont montrés les meilleures sporulations en milieu PDA.
- Comparativement aux deux milieux de cultures (PDA et Czapeck), le milieu N.S s'avère le plus défavorable pour la majorité des isolats en croissance mycélienne. Les niveaux de sporulation restent deçà de ceux enregistrés au niveau des autres milieux précités pour la moitié des isolats testés.

Isolats	Témoins <sup>a</sup>	Lumière		Concentration en NaCl (g/l)				Milieux de culture	
		Lumière	Obsc-Lum <sup>c</sup>	10	50	100	130	Czapeck	N.S
A1	78 ± 1,23 <sup>b</sup>	14,17 ± 0,69	56 ± 1,29	78 ± 0,75	35,52 ± 0,48	43,83 ± 0,65	17,67 ± 0,67	53,5 ± 0,35	53,5 ± 0,64
A2	71,5 ± 0,95	9,17 ± 0,52	55,80 ± 0,45	65,17 ± 0,43	32,57 ± 0,45	25 ± 0,47	2,67 ± 0,46	68 ± 0,75	65,83 ± 0,95
A3	78 ± 0,78	19,67 ± 0,65	65,33 ± 0,59	78 ± 0,52	52,35 ± 0,95	57,83 ± 1,33	22,67 ± 0,39	78 ± 1,45	78 ± 1,05
A4	78 ± 1,35	14,17 ± 0,29	63,61 ± 1,11	78 ± 0,45	50,05 ± 0,49	9 ± 0,35	0	69 ± 0,25	53,83 ± 0,43
A5	72,5 ± 0,98	21,17 ± 0,45	56,38 ± 0,89	62,83 ± 0,75	47,93 ± 0,58	7,66 ± 0,67	0	78 ± 1,08	59,16 ± 0,57
A6	78 ± 1,45	31,67 ± 0,89	70,61 ± 0,81	78 ± 0,78	56,84 ± 0,64	44,5 ± 0,17	3,41 ± 0,67	78 ± 0,65	78 ± 0,78
A7	78 ± 0,76	15,83 ± 0,33	71 ± 1,35	78 ± 0,48	61,14 ± 0,43	44,33 ± 0,53	2,67 ± 0,22	78 ± 0,52	78 ± 1,23
A8	59 ± 0,86	24,17 ± 0,47	38,80 ± 0,46	53 ± 0,45	31,45 ± 0,61	20,33 ± 0,55	3,17 ± 0,5	50,83 ± 0,31	56,33 ± 0,83
A9	55,67 ± 1,05	23,33 ± 0,38	51,83 ± 0,53	48,5 ± 0,56	29,86 ± 0,62	14,91 ± 0,66	0	52,67 ± 0,47	65,67 ± 0,65
B1	78 ± 0,78	15,33 ± 0,46	78 ± 0,48	78 ± 0,45	65 ± 0,35	56,17 ± 0,36	0	74,67 ± 0,97	78 ± 0,85
B2	78 ± 1,12	7,67 ± 0,22	51,36 ± 0,55	78 ± 0,45	37,72 ± 0,56	35,5 ± 1,25	0	78 ± 0,78	36,5 ± 0,697
B3	78 ± 0,54	11,83 ± 0,38	78 ± 1,02	78 ± 0,85	65 ± 0,45	45,16 ± 0,57	0	78 ± 0,38	78 ± 0,76
B4	68,17 ± 1,17	16,33 ± 0,59	51,78 ± 0,58	52,5 ± 0,95	33,84 ± 0,95	13,83 ± 0,33	0	55,83 ± 0,53	55,5 ± 0,45
B5	40,17 ± 0,42	34,67 ± 0,5	41,39 ± 0,45	32,33 ± 0,33	31,34 ± 0,75	24,33 ± 0,45	0	57,67 ± 0,67	54,83 ± 1,05
G1	78 ± 0,78	7,83 ± 0,29	41,19 ± 0,44	78 ± 0,65	48,47 ± 0,82	32,16 ± 0,37	3,25 ± 0,34	57,33 ± 0,56	57,33 ± 1,33
G2	78 ± 1,02	19,7 ± 0,59	67,47 ± 0,67	78 ± 0,65	48,59 ± 1,17	4,5 ± 0,35	2,67 ± 0,48	48,67 ± 0,45	48,67 ± 0,87
G3	78 ± 0,76	11,33 ± 0,68	67,67 ± 0,86	78 ± 0,62	62,49 ± 0,92	34,33 ± 0,48	0	78 ± 0,85	68 ± 0,49
G4	78 ± 0,46	21,17 ± 0,42	51,78 ± 0,45	64,17 ± 1,12	52,59 ± 0,57	11 ± 0,23	7 ± 1,05	57,83 ± 1,13	66,67 ± 0,45
G5	78 ± 0,75	22,83 ± 0,78	50,61 ± 0,56	78 ± 0,45	65 ± 0,43	16,83 ± 0,35	0	65,5 ± 1,12	78 ± 0,49
G6	78 ± 1,04	22 ± 0,88	46 ± 0,75	64 ± 0,67	41,53 ± 0,69	13 ± 0,49	0	78 ± 0,95	58 ± 0,85
G7	72,17 ± 0,76	28,17 ± 1,28	51,39 ± 0,49	63,5 ± 0,98	38,76 ± 0,35	12,16 ± 0,67	0	78 ± 0,45	67,67 ± 1,07
G8	78 ± 0,65	28,5 ± 0,59	53,86 ± 0,48	78 ± 0,42	51,01 ± 0,84	13,83 ± 0,55	0	69,5 ± 0,57	66 ± 0,48
G9	78 ± 1,20	9,33 ± 0,33	53,39 ± 0,88	78 ± 0,67	48 ± 0,72	6,58 ± 0,35	0	78 ± 1,58	61,17 ± 0,78
G10	78 ± 0,85	24,17 ± 0,35	71,86 ± 0,51	78 ± 1,05	49,52 ± 0,68	51,16 ± 0,88	12,17 ± 0,45	66,16 ± 0,67	58,67 ± 0,59
T1	72,83 ± 1,09	9,33 ± 0,59	46,2 ± 1,19	64,66 ± 0,45	52,19 ± 0,67	41,66 ± 0,44	19,83 ± 0,85	55,5 ± 0,98	55,5 ± 0,45
T2	66,5 ± 0,52	16,67 ± 0,49	46,5 ± 0,87	60,17 ± 0,65	22,49 ± 0,45	9 ± 0,85	0	54,33 ± 0,46	56,67 ± 0,75

a: Développement sur milieu PDA, en obscurité totale, à 0% NaCl

b:  $\bar{x} \pm \sigma$  (%) / Ecart type calculé avec les trois répétitions.

c: Obscurité / Lumière (alternance 12 h / 12h).

**Tableau 3.6 : Effet de la lumière, du sel et du milieu de culture sur la croissance mycélienne (mm).**

Isolats	Témoins <sup>a</sup>	Lumière		Concentration en NaCl (g/l)				Milieux de culture	
		Obsc-Lum <sup>c</sup>	Lumière	10	50	100	130	Czapeck	N.S
A <sub>1</sub>	89.89 ± 0.33 <sup>b</sup>	12.55 ± 0.67	08.11 ± 0.89	90.22 ± 1.89	71.77 ± 2.11	60.21 ± 0.33	0.51 ± 0.1	01,67 ± 0,45	5,11 ± 1,11
A <sub>2</sub>	53.16 ± 1.83	10.39 ± 1.16	02.33 ± 0.44	15.39 ± 0.17	09.00 ± 0.11	02.33 ± 0.33	0	04,01 ± 0,24	36,77 ± 2,11
A <sub>3</sub>	84.78 ± 0.44	12.39 ± 0.27	12.44 ± 0.56	73.83 ± 1.28	74.11 ± 1.12	64.50 ± 0.94	0.90 ± 0.34	00,00 ± 0,00	1,94 ± 0,94
A <sub>4</sub>	09.61 ± 0.61	03.77 ± 0.11	10.05 ± 1.17	08.28 ± 1.06	04.66 ± 0.78	02.55 ± 0.67	0	04,22 ± 1,34	9,00 ± 1,22
A <sub>5</sub>	11.45 ± 1.11	08.33 ± 1.00	14.50 ± 0.50	06.50 ± 0.28	05.89 ± 0.88	0	0	03,44 ± 0,56	9,05 ± 1,61
A <sub>6</sub>	20.05 ± 3.39	05.33 ± 0.11	09.11 ± 0.00	18.11 ± 0.45	05.28 ± 0.84	04.00 ± 0.67	0	20,28 ± 1,94	0
A <sub>7</sub>	01.55 ± 0.89	01.00 ± 0.11	00.94 ± 0.28	1.00 ± 0.23	00.94 ± 0.17	0.72 ± 0.05	0	02,28 ± 0,28	2,28 ± 0,28
A <sub>8</sub>	11.89 ± 0.67	04.83 ± 0.17	11.77 ± 0.11	7.89 ± 1.56	06.66 ± 0.34	01.94 ± 0.06	0.82 ± 0.06	01,83 ± 0,39	5,22 ± 1,34
A <sub>9</sub>	23.67 ± 0.44	04.61 ± 0.94	19.05 ± 1.72	18.55 ± 2.11	05.83 ± 0.28	03.33 ± 0.78	0	10,50 ± 0,16	47,50 ± 2,95
B <sub>1</sub>	07.05 ± 0.83	01.16 ± 0.39	08.83 ± 1.17	1.06 ± 0.05	0	0	0	00,00 ± 00,00	0
B <sub>2</sub>	42.00 ± 1.34	06.55 ± 1.22	00.77 ± 0.00	6.16 ± 1.50	05.94 ± 0.50	0	0	07,00 ± 01,63	0
B <sub>3</sub>	05.05 ± 0.28	00.94 ± 0.17	08.39 ± 0.38	0.88 ± 0.00	0	0	0	00,00 ± 00,00	0
B <sub>4</sub>	23.00 ± 0.00	12.28 ± 0.05	06.38 ± 0.50	12.55 ± 0.89	10.83 ± 1.17	0	0	05,44 ± 00,56	4,89 ± 0,67
B <sub>5</sub>	22.83 ± 0.05	04.28 ± 0.94	07.00 ± 0.77	1.06 ± 0.05	00.77 ± 0.00	0	0	19,55 ± 00,89	36,66 ± 3,22
C <sub>1</sub>	67.83 ± 1.95	67.83 ± 1.95	01.50 ± 0.06	13.00 ± 0.22	07.55 ± 1.00	02.00 ± 0.56	0	12,55 ± 02,33	1,94 ± 1,39
C <sub>2</sub>	44.61 ± 2.28	44.61 ± 2.28	14.17 ± 0.95	8.33 ± 0.00	03.89 ± 0.33	01.55 ± 0.11	0	13,16 ± 00,72	6,39 ± 0,61
C <sub>3</sub>	47.89 ± 2.11	76.06 ± 3.94	16.39 ± 1.28	16.83 ± 1.50	08.67 ± 0.34	01.72 ± 0.50	0	03,55 ± 01,67	0,000
C <sub>4</sub>	41.39 ± 1.16	12.39 ± 0.05	08.28 ± 0.83	35.93 ± 3.41	27.00 ± 0.34	03.78 ± 0.78	0.7 ± 0.29	10,77 ± 00,11	8,00 ± 1,11
C <sub>5</sub>	01.89 ± 0.11	01.05 ± 0.17	06.66 ± 0.11	0.84 ± 0.07	00.63 ± 0.08	0	0	07,50 ± 01,50	1,00 ± 0,23
C <sub>6</sub>	15.89 ± 1.56	13.89 ± 0.88	05.72 ± 0.05	10.83 ± 0.61	03.44 ± 0.09	01.33 ± 0.22	0	11,66 ± 00,11	10,00 ± 0,22
C <sub>7</sub>	13.78 ± 0.67	19.28 ± 0.28	10.89 ± 0.44	9.33 ± 0.45	08.78 ± 0.77	00.50 ± 0.06	0	33,33 ± 0,44	5,11 ± 0,22
C <sub>8</sub>	15.22 ± 0.11	11.11 ± 0.23	03.17 ± 0.83	4.39 ± 0.38	03.83 ± 0.16	01.28 ± 0.17	0	13,47 ± 00,69	4,83 ± 0,83
C <sub>9</sub>	17.67 ± 0.55	3.05 ± 0.17	0.00 ± 0.00	13.05 ± 0.83	06.78 ± 0.55	0	0	11,22 ± 01,22	5,72 ± 1,95
C <sub>10</sub>	2.38 ± 0.50	10.66 ± 0.89	20.05 ± 3.83	0.72 ± 0.05	00.72 ± 0.05	00.61 ± 0.28	00.33 ± 0.11	02,38 ± 0,50	1,11 ± 0,11
T <sub>1</sub>	65.50 ± 2.94	22.89 ± 0.55	05.05 ± 0.17	26.61 ± 2.73	27.17 ± 0.27	22.55 ± 1.89	0.22 ± 0.19	36,50 ± 0,4,17	3,16 ± 0,72
T <sub>2</sub>	37.33 ± 1.45	04.83 ± 00,39	03.27 ± 0.50	11.11 ± 3.56	10.44 ± 0.56	01.80 ± 0.10	0	04,83 ± 00,39	8,89 ± 0,77

a: Développement sur milieu PDA, en obscurité totale, à 0% NaCl. b:  $\bar{x} \pm \sigma$  (%) / Ecart type calculé avec les trois répétitions.

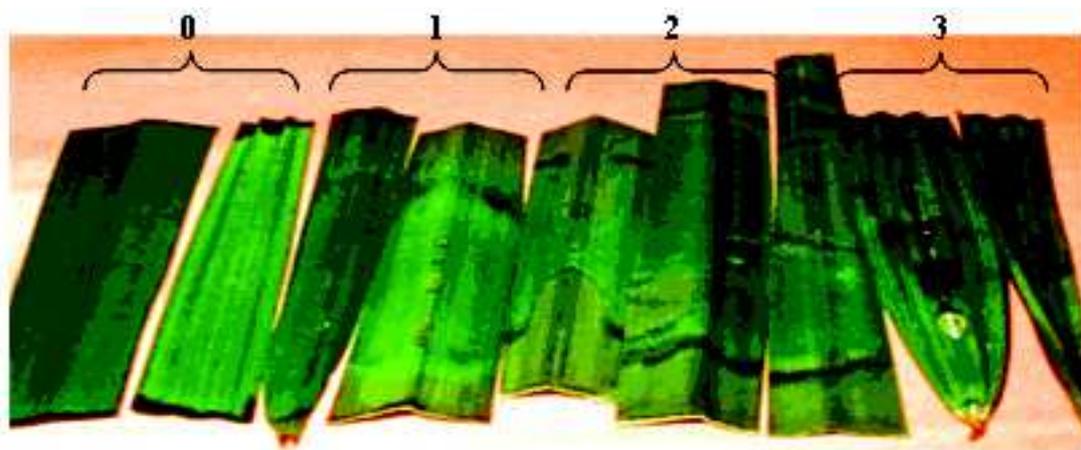
c: Obscurité / Lumière (alternance 12 h / 12 h).

**Tableau 3.7 : Effet de la lumière, du sel et du milieu de culture sur les niveaux de sporulations ( $10^5$  spores/ml)**

### 3.2.2.6 Test de pathogénicité

#### 3.2.2.6.1 Essai de biotoxicité

Les résultats des tests des toxines montrent que l'extraits de chaque isolat appliqué indépendamment a induit le développement de nécroses sur les fragments des feuilles détachées, et des dessèchements des jeunes plantules déposées dans les solutions à base des extraits de chaque isolat (Fig.3.8 et 3.9).



**Figure 3.8 :** Différentes catégories de réactions nécrotiques sur les fragments des feuilles.

Après 15 jours de contact avec les fragments foliaires, l'ensemble des isolats a provoqué des nécroses, à l'exception des isolats A<sub>6</sub> et A<sub>8</sub> ayant montré un aspect similaire au témoin. Les isolats A<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>, G<sub>6</sub>, G<sub>7</sub> et G<sub>8</sub> ont provoqué des zones nécrotiques sur les extrémités foliaires. Le reste des isolats a provoqué plus de 50% de nécrose sur les fragments foliaires (Tableau 3.8).

Sur les jeunes plantules, nous avons noté des dessèchements dès la première semaine en évoluant en mort totale à partir de la deuxième semaine. La vitesse de dessèchement varie d'un isolat à l'autre. Nous avons noté des dessèchements totaux après le 10<sup>ème</sup> jour pour la plupart des isolats. Comparativement à leurs témoins respectifs et aux précédents (10<sup>ème</sup> jour), les plantules traitées avec les isolats A<sub>6</sub>, A<sub>8</sub>, G<sub>8</sub>, G<sub>7</sub>, ne se sont desséchées qu'après 20 jours (Fig.3.9)

Isolats	Après la 1 <sup>ère</sup> semaine	Après la 2 <sup>ème</sup> semaine
A <sub>6</sub> , A <sub>8</sub>	0	0
A <sub>4</sub> , G <sub>8</sub>	0	1
G <sub>5</sub> , G <sub>6</sub> , G <sub>7</sub>	1	1
A <sub>3</sub> , A <sub>2</sub> , A <sub>7</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>5</sub> , T <sub>1</sub>	1	2
G <sub>4</sub> , B <sub>1</sub>	2	2
A <sub>5</sub> , A <sub>0</sub> , G <sub>3</sub> , G <sub>10</sub> , T <sub>2</sub>	2	3
A <sub>1</sub> , B <sub>4</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> , G <sub>0</sub>	3	3
Témoin	0	0

**Tableau 3.8:** Résultats d'application des extraits des toxines sur les fragments des feuilles.

0 : Pas de réaction = pas de formation de nécrose.

1 : Formation d'une zone nécrotique sur les extrémités foliaires.

2 : Formation d'une zone nécrotique sur la moitié de la feuille.

3 : Formation d'une zone nécrotique sur presque la totalité de la feuille.



*Figure 3.9: Tests sur des jeunes plantules (10<sup>ème</sup> jour).*

### 3.2.2.6.2 Pouvoir pathogène

Après 20 jours d'inoculation nous avons observé les premiers symptômes sur les plantules inoculées avec les isolats A1, A9, G1, G2, G10, B4 et T2. Après 45 jours, les symptômes ont été généralisés sur la majorité des plantules inoculées, à l'exception des applications des isolats A6, A8, G5, G6, G7 et G8.

Les symptômes observés sont de trois types:

- Jaunissement unilatéral des feuilles (Fig.3.10 A).
- Enroulement longitudinal des feuilles (Fig.3.10 B).
- Dessèchement totale des plantules (Fig.3.10 C).

Souvent ces différentes catégories de symptômes induisent la mortalité totale des plantules au bout de 20 jours (Fig.3.10).

Les plantules inoculées avec les isolats G6 et A8 ont noté un retard notable dans le développement des premiers symptômes (jaunissement et dessèchement), qui n'ont apparu qu'après 5 mois de l'inoculation. Dans le cas des plantules inoculées avec les isolats A6, G5, G7 et G8 aucun symptôme n'a été noté, et l'aspect reste similaire au témoin même après 6 mois d'observation (fig.3.10, Tableau 3.9).

Groupe d'isolats	Type de symptôme	Durée d'apparition du premier symptôme	Durée entre l'apparition du symptôme et la mort totale
A <sub>1</sub> , A <sub>5</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> , G <sub>10</sub> , B <sub>4</sub> et T <sub>2</sub>	2-3	20 jours	10-15 jours
G <sub>4</sub> , G <sub>9</sub>	1-2	26-30 jours	15-20 jours
A <sub>3</sub> , A <sub>2</sub> , A <sub>7</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>5</sub> , T <sub>1</sub>	2	24-32 jours	20 jours
B <sub>1</sub>	1	40-45 jours	10-15 jours
A <sub>5</sub> , G <sub>3</sub>	3	40 jours	-
A <sub>4</sub> , B <sub>2</sub>	2-3	40 jours	10-15 jours
A <sub>8</sub> , G <sub>6</sub>	2-3	5 mois	10-15 jours
A <sub>6</sub> , G <sub>5</sub> , G <sub>7</sub> , G <sub>8</sub> , Témoin	0	-	-

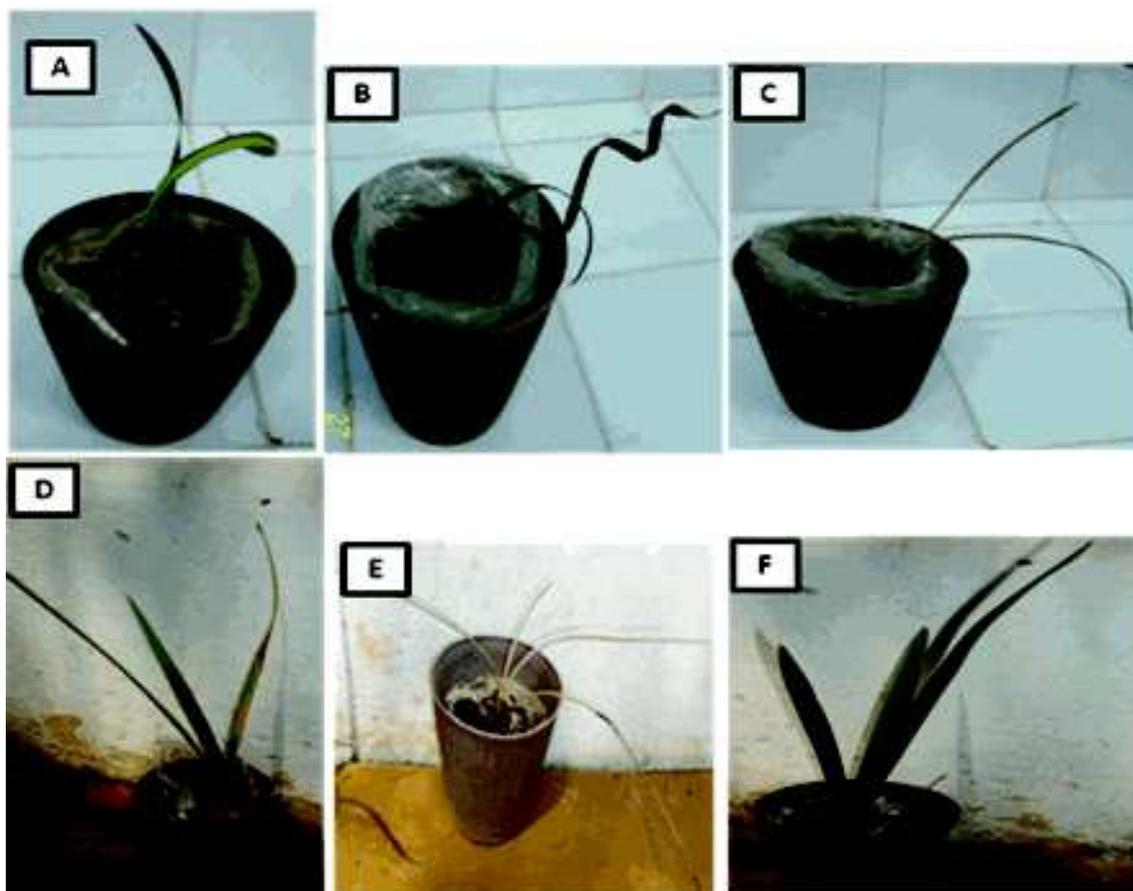
**Tableau 3.9:** Résultats du pouvoir pathogène

Type 0 : pas de symptôme.

Type 1 : enrroulement longitudinal des feuilles.

Type 2 : Jaunissement unilatérale des feuilles.

Type 3 : dessèchement totale des plantules.



**Figure 3.10:** Types des symptômes observés après le test du pouvoir pathogène

**A:** Jaunissement unilatérale des feuilles, **B:** enroulement longitudinal des feuilles, **C** et **E:** dessèchement totale des plantules. **D:** Jaunissement, **F:** témoin.

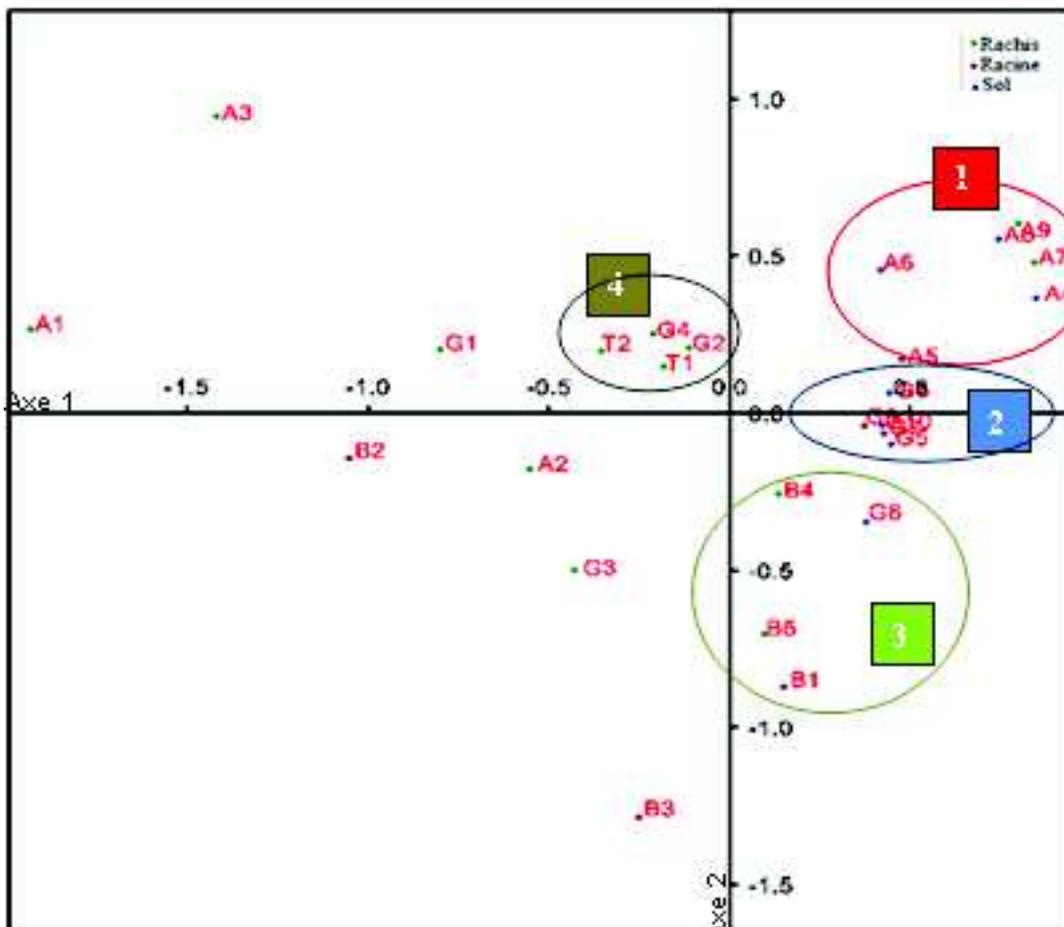
(**A, B et C**): après moins de 40 jours d'inoculation. (**D, E et F**) après plus de 5 mois).

### 3.2.3 Analyse statistique

#### 3.2.3.1 L'analyse en composantes principales (ACP)

Les différents tests effectués ont montré des variations notables en croissance et en sporulation. L'analyse multivariée vise à regrouper nos isolats selon les niveaux de réponses ou de comportements notés précédemment ; A cet effet l'analyse en composantes principales (ACP) consiste à rechercher les axes qui représentent le mieux la dispersion des isolats dans l'espace multidimensionnel des paramètres de départ (sporulation et croissance dans différents tests).

A partir de la matrice des données obtenues (Annexe 5), l'analyse ACP a montré que les 26 isolats étudiés se répartissent selon deux axes; l'axe horizontal avec une participation de 45% et l'axe vertical avec une participation de 21%, soit un total de 66% (Annexe 6, Fig.3.11)



**Figure 3.11:** Dispersion des 26 isolats dans le plan bidimensionnel de l'ACP.

Globalement, il en ressort que 19 isolats se regroupent en quatre groupes distincts:

**Groupe 1:** Il rassemble 6 isolats (A4, A5, A6, A7, A8 et A9) provenant de la région d'Adrar, dont trois d'entre eux ont été isolés à partir du sol, deux à partir du rachis et un de la racine.

**Groupe 2:** il regroupe 5 isolats (G4, G5, G6, G7 et G9) provenant de la région de Ghardaïa isolés à partir du sol ou de la racine.

**Groupe 3 :** Il rassemble 4 isolats, Trois (B1, B4 et B5) isolés à partir des échantillons de rachis et de racine provenant de la région de Bechar, et l'isolat G8 isolé à partir du sol de la région de Ghardaïa.

**Groupe 4:** il regroupe 4 isolats du rachis, deux provenant de la région de Ghardaïa et les deux isolats de Tamanrasset.

Hormis ces quatre groupes, le reste soit 7 isolats se retrouvent dispersés sur le côté gauche de notre espace bidimensionnel (Fig.3.11), ces isolats représentent trois régions étudiées, Adrar (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> et A<sub>3</sub>), Bechar (B<sub>2</sub> et B<sub>3</sub>) et Ghardaïa (G<sub>1</sub> et G<sub>3</sub>), tous ces isolats ont été isolés à partir du rachis à l'exception des isolats de Bechar qui ont été isolés à partir de la racine.

### **3.2.3.2 Classification hiérarchique**

A titre de rappel, la classification a été effectuée selon la méthode UPGMA « Unweight Pair Group Method with Arithmetic mean », en se basant sur la distance minimale et l'indice de similarité, à partir de la même matrice des données utilisée dans l'ACP (annexe 5). Les résultats de cette classification sont présentés sous forme d'un dendrogramme, illustrant les distances entre les différents isolats (Fig.3.12).

Les résultats montrent qu'il existe un niveau de similarité avoisinant 60% entre les 26 isolats testés, en prenant en considération les paramètres de croissance et de sporulation simultanément.

Au niveau de similarité de 70 %, trois groupes se constituent:

- Le groupe 1: regroupe les trois isolats de Bechar (B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub> et B<sub>5</sub>).
- Le groupe 2: englobe six isolats d'Adrar (A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub>, A<sub>7</sub>, A<sub>8</sub>, A<sub>9</sub>), dont deux sont isolés à partir du rachis, un de la racine et trois du sol.
- Le groupe 3: inclut les isolats de Ghardaïa et Tamanrasset avec le reste des isolats d'Adrar et de Bechar.

Au niveau de 83% de similarité, nous constatons le regroupement de la majorité des isolats en groupe spécifique à chaque région: En effet,

- Le groupe 1: inclut tous les isolats issus de la région de Ghardaïa (10 isolats) en plus de deux isolats (B<sub>2</sub>, B<sub>4</sub>) issus de Bechar, ce groupe présente un indice de similarité de 84%.
- Le groupe 2: renferme les deux isolats de Tamanrasset et l'isolat A<sub>2</sub> d'Adrar. avec une similarité de 88%.
- Le groupe 3: est composé de deux isolats (A<sub>1</sub> et A<sub>3</sub>) issus d'Adrar.
- Le groupe 4: regroupe six isolats (A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub>, A<sub>7</sub>, A<sub>8</sub>, A<sub>9</sub>) issus de la région d'Adrar, avec une similarité de 92%.
- Le groupe 5: renferme trois isolats de Bechar (B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub> et B<sub>5</sub>).

Ces niveaux de similarité précédemment présentés (de 70 à 83%) mettent en évidence l'éventualité de la spécificité géographique. À partir de 90% de similarité le nombre de groupes augmente, en plus de la séparation des isolats selon les régions, ils sont différenciés selon l'origine d'isolement (sol, racine et rachis) tel est le cas pour les isolats de Ghardaïa, où il est noté que ceux issus de sol ou de racine sont regroupés dans un seul groupe.

L'analyse n'a pas permis de mettre en évidence l'influence du cultivar sur la répartition obtenue.

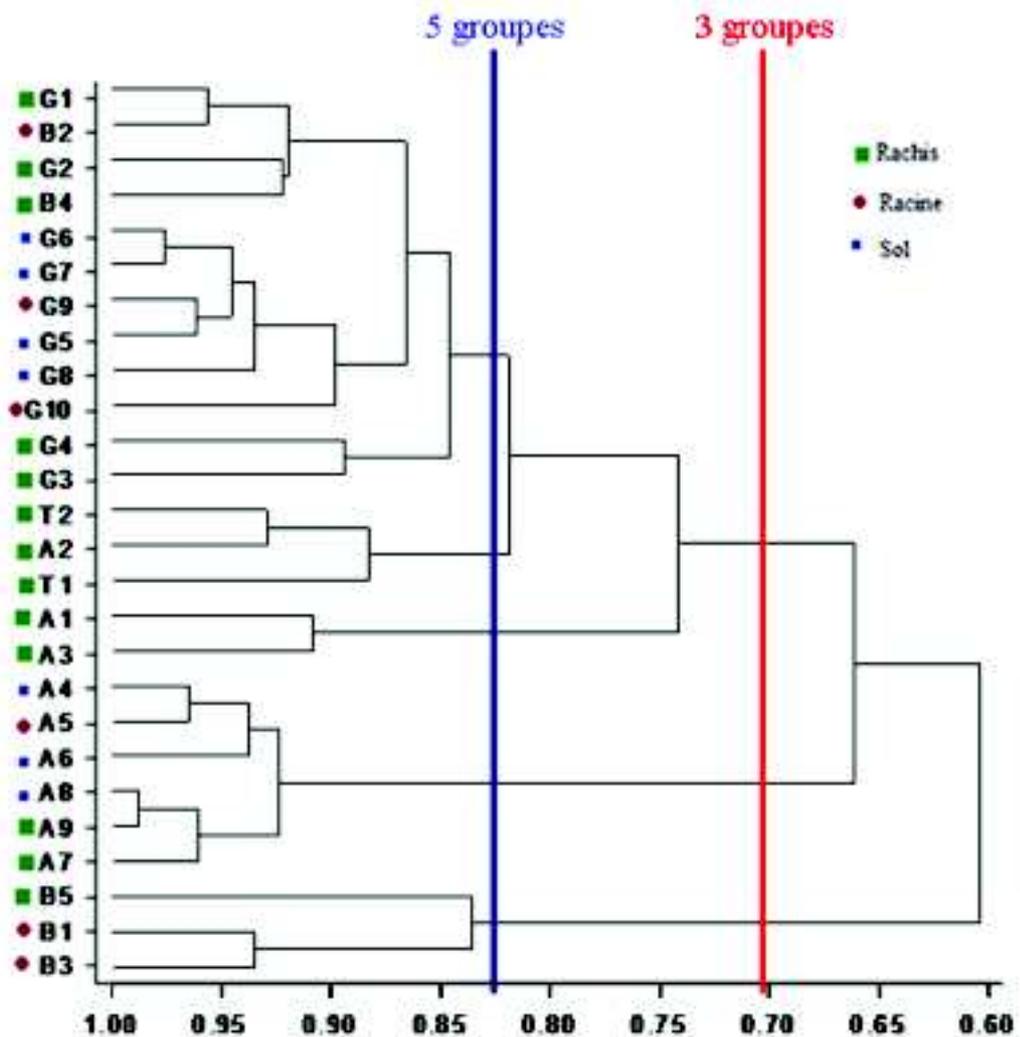


Figure 3.12. Classification hiérarchique des 26 isolats selon la méthode UPGMA.

### 3.3 Antagonisme microbien

#### 3.3.1 Antagonisme *in vitro*

##### 3.3.1.1 En milieu solide

**Prospection, isolement et caractérisation phénotypique d'isolats de *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl f.sp. *albedinis* (Killian & Maire).**

Les résultats de tests préliminaires des activités antagonistes des trois souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et CK4) et de l'isolat F047 de *Fusarium oxysporum* non pathogène, montrent des activités inhibitrices appréciables sur les deux milieux de culture à l'égard des trois isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Tableau 3.10).

Les taux d'inhibitions de la croissance mycélienne estimés varient de 45,93 % enregistré par l'interaction de la souche CHAO avec l'isolat T<sub>2</sub> sur PDA, à 81,88% enregistré sur le milieu KB avec FO47 en interaction avec l'isolat G<sub>4</sub> (Tableau 3.10).

		Isolats de <i>Foa</i>					
		T <sub>2</sub>		G <sub>4</sub>		A <sub>9</sub>	
		PDA	KB	PDA	KB	PDA	KB
antagonistes	<b>CHAO</b>	45,93 ± 12,14 <sup>a</sup>	57,42 ± 12,73	59,79 ± 11,42	65,45 ± 18,45	57,76 ± 18,89	58,17 ± 4,66
	<b>CK4</b>	51,77 ± 7,98	65,23 ± 7,96	54,19 ± 8,53	61,49 ± 9,85	60,1 ± 11,59	73,5 ± 6,22
	<b>S20</b>	52,93 ± 13,98	54,87 ± 8,7	53,55 ± 8,47	56,74 ± 8,42	58,7 ± 10,48	67,45 ± 15,75
	<b>F047</b>	71,9 ± 7,49	69,93 ± 8,07	72,46 ± 5,14	81,88 ± 6,52	71,67 ± 1,83	78,67 ± 5,16

KB: milieu b de King

PDA: milieu potato-dextrose-agar

a:  $\bar{x} \pm \sigma$  (%) / Ecart type calculé avec les trois répétitions.

**Tableau 3.10 : Inhibition de la croissance mycélienne sur milieu solide (%).**

L'analyse de l'effet globale, du test d'antagonisme sur milieu solide, selon le test de Newman et Keuls n'a pas révélé des différences significatives entre les milieux de culture, ni entre les trois isolats de *Foa*; alors que les antagonistes ont été regroupés en deux groupes homogène A et B (Tableau 3.11).

En comparant l'effet antagoniste des souches bactériennes regroupées en (B), il apparaît que l'isolat fongique FO47 a procuré plus d'inhibition (Tableau 3.11).

Les interactions antagoniste x pathogène diffèrent parfois selon les milieux de culture. En effet les interactions S20, CK4 sur KB vis-à-vis de l'isolat A<sub>9</sub> déterminent les seuils maximum d'inhibition. Les interactions CHAO, CK4 sur PDA vis-à-vis de l'isolat T<sub>2</sub> ont marqué les valeurs les plus faibles en inhibition (Tableau 3.10).

Souche antagoniste				Milieu de culture		Isolat Fongique		
CHAO	CK4	S20	FO47	PDA	KB	T <sub>2</sub>	G <sub>4</sub>	A <sub>9</sub>
57,42	61,05	57,37	74,36	59,23	65,90	58,75	63,19	65,75
±	±	±	±	±	±	±	±	±
14,47 <sup>(B)</sup>	8,47 <sup>(B)</sup>	10,86 <sup>(B)</sup>	7,19 <sup>(A)</sup>	14,22	11,32	12,43	14,27	13,06

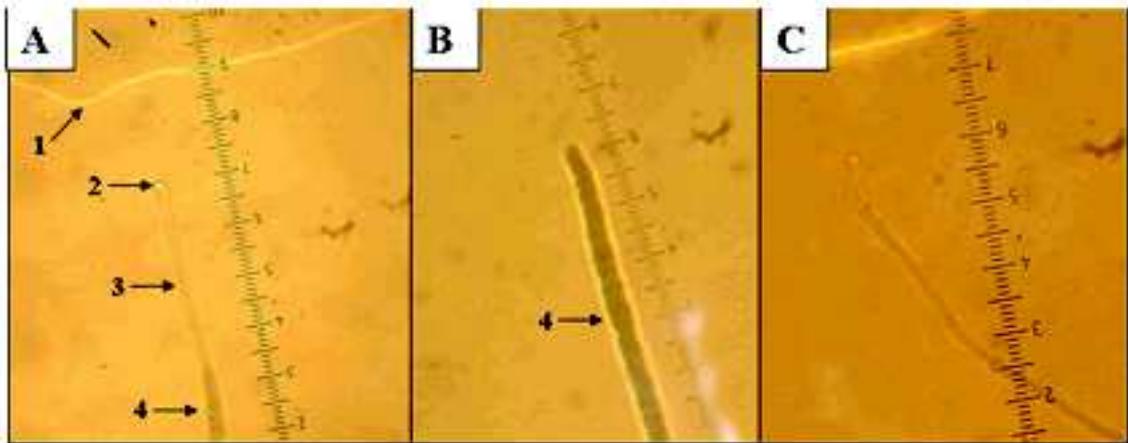
a:  $\bar{x} \pm \sigma$  (%) / Ecart type calculé avec les trois répétitions.

b: groupes homogènes selon le test de Newman et Keuls au risque d'erreur  $\alpha=5\%$

**Tableau 3.11: Taux d'inhibitions moyennes des trois facteurs étudiés (%).**

Les observations microscopiques ont permis de constater des déformations mycéliennes, particulièrement en zones proches des bactéries. Le mycélium se rétrécisse

et forme une boucle à son extrémité à la limite bactérienne, alors que chez le témoin le mycélium reste uniforme et sans aucune modification (Fig. 3.13).



**Figure 3.13** : modifications structurales du mycélium

[(A : l'interaction T2 x CHAO x KB (1 : limite de la bactérie ; 2 : déformation du mycélium ; 3 : mycélium fin ; 4 : mycélium normale), B: témoins x CHAO, C : l'interaction A9 x CHAO x PDA, déformation mycélienne].

### 3.3.1.2 En milieu liquide

L'étude de l'activité antagoniste des trois souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et CK4) vis-à-vis les huit isolats de *Fusarium oxysporum F.sp albedinis* (G4, Gg, B1, B3, A2, A1, Ag et T2) dans trois milieux liquides (PD, KB et Mixte), s'est basée sur leur activité inhibitrice de la germination et de l'élongation des tubes germinatifs des conidies du *Foa*.

#### 3.3.1.2.1 Inhibitrice de la germination conidienne

Les résultats de la germination des conidies de *Foa* dans les trois milieux de culture liquides testés, ont montré que les meilleures valeurs ont été enregistrées en absence des souches antagonistes (témoins). Dans certaines interactions, le taux d'inhibition a dépassé le seuil de 90% ; tel est le cas avec les isolats T2 et A2.

En présence des antagonistes bactériens, nous avons constaté des diminutions dans les taux de germination chez tous les isolats de *Foa* dans les trois milieux de culture.

Plus de 70% des interactions (*Foa* x antagoniste x milieu) montrent des taux d'inhibition de plus de plus de 50%, à l'exception de quatre interactions ayant montrées des valeurs d'inhibition inférieures à 25% (Tableau 3.12).

Globalement les taux d'inhibition se rapprochent chez les trois souches bactériennes, mais l'isolat fongique provoque des variations dans l'effet inhibiteur (Tableau 3.12)

Nous remarquons que, les taux d'inhibitions les plus élevés ( $\geq 75\%$ ) sont enregistrés avec :

- les isolats T2 et A2 sur les trois milieux de culture notant des valeurs d'inhibition entre 89,52 et 97,10%.à l'exception de l'interaction (A2 x S20 x PDA) qui montre une faible valeur d'inhibition (22,12%).

**Prospection, isolement et caractérisation phénotypique d'isolats de *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl f.sp. *albedinis* (Killian & Maire).**

- l'isolat B1 sur deux milieux de culture (KB et mixte), avec des valeurs allant de 92,17 à 99,99%, sauf l'interaction (CK4 x mixte) qui montre une inhibition moyenne estimée à 34,4% et.
- les isolats B3 et G9 sur le milieu mixte et PDA respectivement (79,55% à 97,01%).

L'analyse statistique des taux d'inhibition de la germination conidienne, selon le test de Newman et Keuls à  $\alpha=5\%$  et  $1\%$ , a révélé des différences significatives avec les huit isolats de Foa, avec les milieux de culture et non pas avec les antagonistes (Tableau 3.13 et 3.14).

Cette analyse a permis de distinguer trois groupes homogènes et deux groupes intermédiaires (Tableau 3.13). Les isolats T<sub>2</sub> et A<sub>2</sub> sont les plus sensibles (avec une moyenne de 94,75 et 87,19%). Les isolats A<sub>9</sub>, G<sub>4</sub> et A<sub>1</sub> ont montré les valeurs d'inhibition les plus faibles, variant de 46,14% à 58,95%.

Isolats de Foa							
T <sub>2</sub>	A <sub>2</sub>	G <sub>9</sub>	B <sub>4</sub>	B <sub>3</sub>	G <sub>4</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>9</sub>
94,75	87,19	72,23	70,61	65,34	54,57	58,95	46,14
±	±	±	±	±	±	±	±
7,7 <sup>a</sup>	7,81	9,91	7,43	13,35	10,42	6,55	20,17
(A) <sup>b</sup>	(AB)	(B)	(B)	(BC)	(C)	(C)	(C)

**Tableau 3.13.** Inhibition de la germination conidienne de différents isolats (%).

a: (%) / Ecart type calculé avec les 15 répétitions

b: Groupes homogènes selon le test de Newman et Keuls à  $\alpha=1\%$ .

Concernant l'effet des milieux de culture, le milieu PDA semble le plus favorable à la germination des conidies. Il a été noté une différence significative en terme d'activité inhibitrice entre les trois milieux de culture, où les deux milieux KB et le milieu mixte semblent être plus favorable aux antagonistes bactériens que le milieu PDA. Nous notons respectivement 61,71% d'inhibition sur le milieu PDA contre 74,34 % et 80,12% sur les milieux KB et mixte.

Milieux de culture			Souches bactériennes		
PDA	KB	Mixte	CHAO	CK4	S20
61,71	74,34	80,12	65,71	71,28	69,18
±	±	±	±	±	±
16,83 <sup>a</sup> (B) <sup>b</sup>	17,98 (A)	13,42 (A)	15,6	15,92	7,42

a:  $\bar{x} \pm \sigma$  (%) / Ecart type calculé avec les 15 répétitions

b: Groupes homogènes selon le test de Newman et Keuls à  $\alpha=1\%$ .

**Tableau 3.14.** Inhibition de la germination conidienne sur les trois milieux de culture (%).

### 3.2.1.2.2 Inhibition de l'élongation des tubes germinatifs

L'étude de l'élongation des tubes germinatifs des huit isolats de *Foa*, soumis à l'effet antagoniste des trois souches bactériennes sur les trois milieux de culture, montre que la longueur des tubes germinatifs est variable selon l'isolat fongique et selon le milieu de culture. Les valeurs enregistrées en absence des souches antagonistes sont plus élevées. (Tableau 3.15). L'estimation des taux d'inhibition de la germination, montre des valeurs avoisinant les 50% pour la plupart des isolats de *Foa*. Nous notons les meilleurs taux d'inhibition avec les trois souches antagonistes en interaction avec l'isolat B<sub>3</sub> dans les deux milieux PDA et Mixte, à l'exception l'interaction CK4 x PDA (Tableau 3.15). Le test de Newman et Keuls ( $\alpha=5\%$  et  $1\%$ ), a mis en évidence l'effet significatif avec les souches antagonistes et les isolats de *Foa* (Tableau 3.16 et 3.17)

D'une manière générale, la souche bactérienne CHAO a provoqué des taux d'inhibition relativement élevés par rapport aux deux autres souches, avec une valeur moyenne de 55,52% contre 49,01 et 49,82% pour les souches CK4 et S29 (Tableau 3.16). Concernant les milieux de culture il n'y a pas de différence significatives notable (Tableau 3.17).

Souches bactériennes			Milieux de culture		
CHAO	CK4	S20	PDA	KB	MIXTE
55,52 ± 6,66 <sup>a</sup>	49,01 ± 5,88	49,82 ± 5,99	54,56 ± 7,17	45,33 ± 15,82	54,44 ± 18,65
(A) <sup>b</sup>	(B)	(B)	(A)	(A)	(A)

a:  $\bar{x} \pm \sigma$  (%) / Ecart type calculé avec les 15 répétitions

b: Groupes homogènes selon le test de Newman et Keuls à  $\alpha=1\%$ .

**Tableau 3.16.** Inhibition de l'élongation des tubes germinatifs (%).

Le test de Newman et Keuls ( $\alpha=5\%$  et  $1\%$ ), a classé nos isolats en 4 groupes homogènes, dont les deux groupes extrêmes (A et D) représentés avec un seul isolat chacun (B<sub>3</sub> et B<sub>4</sub> respectivement). L'isolat B<sub>3</sub> s'avère le plus sensible à l'effet inhibiteur avec un taux de 68,95%. L'isolat B<sub>4</sub> a enregistré la valeur moyenne d'inhibition la plus faible, soit 39,38%, les isolats T<sub>2</sub> et A<sub>2</sub> ont été classés dans le groupes C avec des valeurs moyennes autour de 45%. Le reste (G<sub>4</sub>, G<sub>9</sub>, A<sub>1</sub> et A<sub>9</sub>) représente le groupe B avec des valeurs moyennes variées entre 52 et 54,47% (Tableau 3.17).

Isolats de <i>Foa</i>							
T2	A2	G4	G9	B3	B4	A1	A9
45,66	45,91	52,68	54,47	68,95	39,38	52,01	52,51
±	±	±	±	±	±	±	±
5,48 <sup>a</sup> (C) <sup>b</sup>	5,51(C)	6,32(B)	6,54(B)	8,27(A)	4,73(D)	6,24 (B)	6,30 (B)

a:  $\bar{x} \pm \sigma$  (%) / Ecart type calculé avec les 15 répétitions

b: Groupes homogènes selon le test de Newman et Keuls à  $\alpha=1\%$ .

**Tableau 3.17.** Inhibition d'élongation des tubes germinatifs des isolats de *Foa* (%).

### 3.3.1.2.3 Effet du Fer dans les interactions antagonistes

Dans ce test en dépit de la présence du fer (FeCl<sub>3</sub>), ou son absence (EDTA), les niveaux d'inhibition restent notables dans l'ensemble des interactions. Nous n'avons pas enregistré des différences significatives entre les souches antagonistes, particulièrement la souche CHAO et son mutant CK4 (Tableau 3.18, 3.19).

		Isolats de Foa								
		T2			G4			A9		
		FeCl <sub>3</sub>	EDTA <sup>b</sup>	Témoin	FeCl <sub>3</sub>	EDTA	Témoin	FeCl <sub>3</sub>	EDTA	Témoin
Antagonistes	CHAO	97,9	89,6	89,52	61,8	59,16	60,8	71,6	86,12	76,6
		±	±	±	±	±	±	±	±	±
		5,84 <sup>a</sup>	11,26	14,38	12,6	11,24	7,18	10,01	12,52	10,01
	CK4	96,6	80,8	92,76	49,8	66,16	53,4	64,02	88,52	84,02
		±	±	±	±	±	±	±	±	±
		7,11	16,66	12,49	12,48	13	2,62	10,31	13,04	10,31
	S20	60,06	84,4	86,26	65,5	77,34	59,2	87,44	69,99	77,44
		±	±	±	±	±	±	±	±	±
		12,23	15,29	11,45	12,19	9,39	5,95	11,57	10,09	11,57

**Tableau 3.18.** Les valeurs moyennes des taux d'inhibition de la germination conidienne en présence des amendements de fer

La différence est significative selon les isolats de Foa, le test de Newman et Keuls ( $\alpha=1\%$ ) a mis en évidence trois groupes homogènes; l'isolat T<sub>2</sub> semble le plus sensible, suivi de l'isolat G<sub>4</sub>(B) et de l'isolat A<sub>9</sub> (C).

Traitement fer			souches antagonistes			Isolats de Foa		
FeCl <sub>3</sub>	EDTA <sup>b</sup>	T	CHAO	CK4	S20	T2	A9	G4
72,78	78,02	75,57	77,04	75,15	74,18	86,46	61,49	78,42
±	±	±	±	±	±	±	±	±
17,16 <sup>a</sup>	10,73	14,38	14,47	17,24	10,98	11,33(A) <sup>c</sup>	7,91 (C)	8,68 (B)

a:  $\bar{x} \pm \sigma$  (%) / Ecart type calculé avec les 15 répétitions

b: Acide Éthylène Diamine Tetracétique.

c: Groupes homogènes selon le test de Newman et Keuls à  $\alpha=1\%$ .

**Tableau 3.19.** Inhibition de la germination en présence des amendements de fer

En ce qui concerne l'inhibition de l'élongation des tubes germinatifs (Fig.3.14), la différence est significative selon les souches bactériennes et les isolats de Foa. Les amendements en FeCl<sub>3</sub> ou en EDTA n'ont pas influencé la moyenne d'inhibition constatée chez nos antagonistes (Tableau 3.20).

		Isolats de <i>Foa</i>								
		T2			A9			G4		
		FeCl3	EDTA <sup>a</sup>	T	FeCl3	EDTA	T	FeCl3	EDTA	T
Antagonistes	CHAO	54,26	56,98	32,94	68,9	67,56	42,05	46,76	51,82	55,86
		±	±	±	±	±	±	±	±	±
		5,43 <sup>a</sup>	5,70	3,95	6,89	6,76	5,05	4,68	5,18	6,7
	CK4	35,7	32,91	45,98	43,0	41,64	56,79	45,93	52,02	43,76
		±	±	±	±	±	±	±	±	±
		3,57	3,29	5,52	4,31	4,16	6,81	4,59	5,20	5,25
	S20	26,74	34,94	22	47,5	43,24	35,02	39,15	42,94	54,93
		±	±	±	±	±	±	±	±	±
		2,67	3,49	0,24	4,75	4,32	4,2	3,92	4,29	6,59

a:  $\bar{x} \pm \sigma$  (%) / Ecart type calculé avec les 15 répétitions

b: Acide Éthylène Diamine Tetracétique.

**Tableau 3.20:** Les valeurs moyennes des taux d'inhibition d'élongation des tubes germinatif en présences des amendements de fer

La susceptibilité à l'inhibition de l'élongation des tubes germinatifs est différente entre l'isolat T2 est les deux autres isolats de *Foa* testés (A9 et G4): L'isolat T2 semble le moins affecté par l'effet inhibiteur dans ces condition avec une valeur moyenne d'inhibition de 38,05 %. Les deux autres isolats (A9 et G4) ont montrés des valeurs moyennes similaires entre eux (Tableau 3.21).

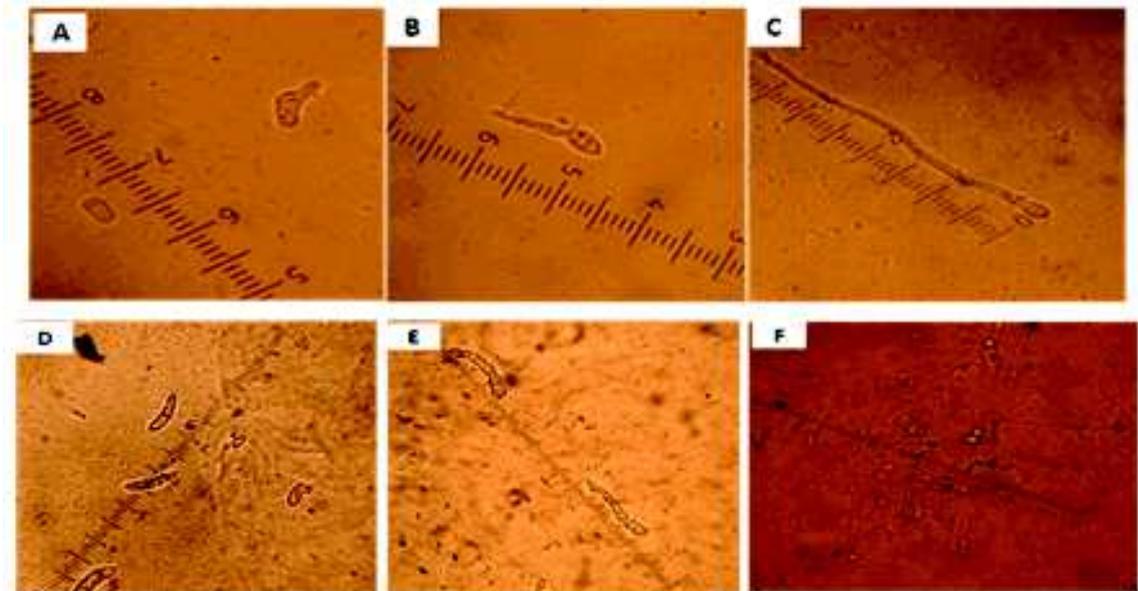
traitements de fer			souches antagonistes			Isolats de <i>Foa</i>		
FeCl3	EDTA <sup>a</sup>	Témoin	CHAO	CK4	S20	T2	A9	G4
45,33	46,37	44,68	49,48	43,55	37,28	38,05	49,53	48,13
±	±	±	±	±	±	±	±	±
11,85 <sup>a</sup>	11,03	11,10	11,47 (A) <sup>c</sup>	7,36(AB)	10,17(B)	11,92(B)	12,09(A)	5,78(A)

a:  $\bar{x} \pm \sigma$  (%) / Ecart type calculé avec les 15 répétitions

b: EDTA ; Acide Éthylène Diamine Tetracétique.

c: Groupes homogènes selon le test de Newman et Keuls à  $\alpha=1\%$ .

**Tableau 3.21:** Inhibition de l'élongation en présences des amendements de fer



**Figure 3.14:** observation microscopiques de l'élongation des tubes germinatifs

(A: le témoin au moment de l'introduction, B: après 6 heures, C : après 12 heures, D: interaction B3 x CHAO x KB après 12 heures, E : B3 x KB après 6 heures, F: G4 x PDA après 18 heures)

### 3.3.2 Antagonisme dans le sol

---

Après 15 jours d'inoculation de sol nous avons noté les observations suivantes :

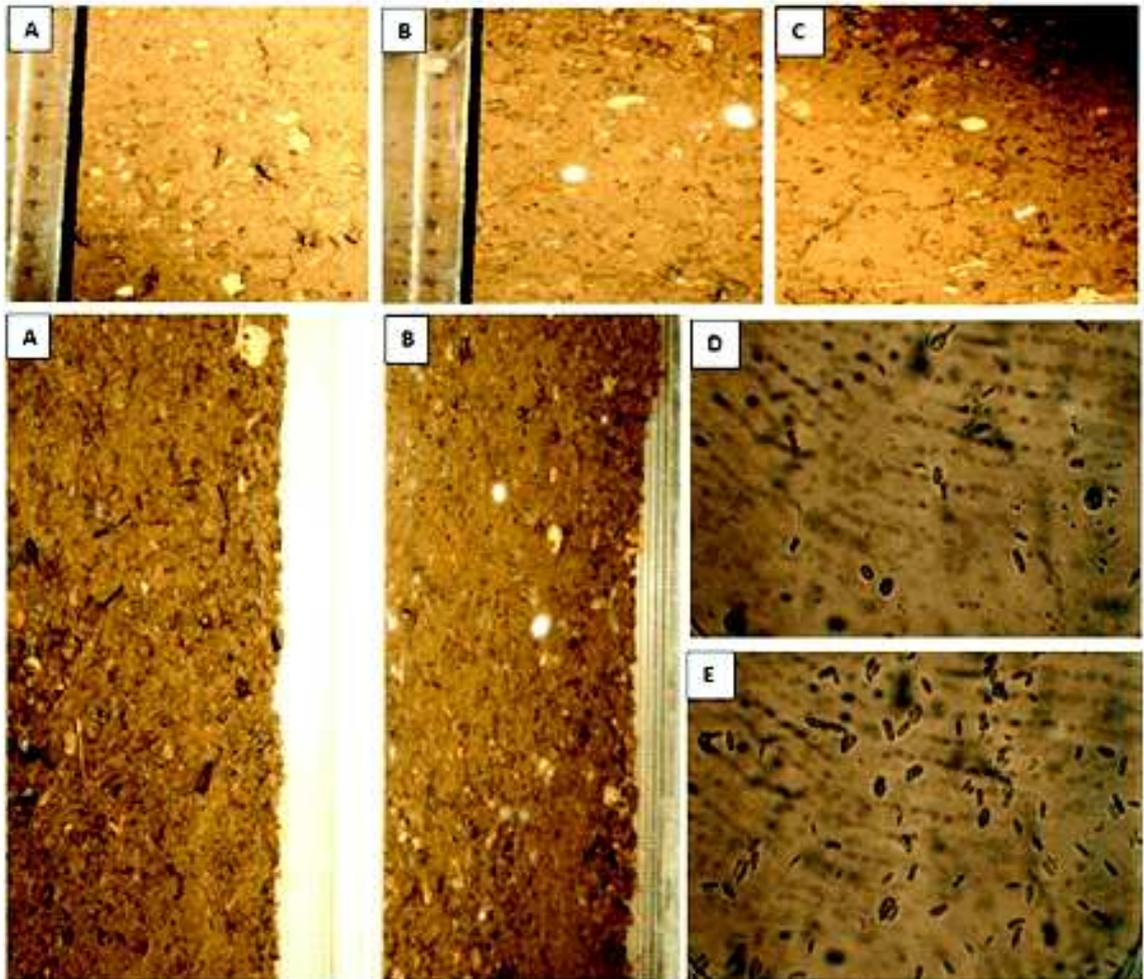
- Dans les sols inoculés uniquement avec les isolats pathogènes (témoins positif), un développement mycélien important a été constaté avec les trois isolats de *Foa* avec une répartition plus ou moins homogène sur la totalité du sol. Contrairement, dans les sols où les antagonistes ont été inoculés, le développement mycélien était nul pour la plupart des interactions (antagoniste x isolats de *Foa*), à l'exception de l'interaction (T2 x S20) qui a présenté un léger développement mycélien localisé dans des zones éparses de faible importance (Tableau 3.22, Fig.3.15).
- Pour l'isolat A9, les mêmes observations notées chez le témoin, ont été enregistrées en présence des amendements en  $FeCl_3$  et en EDTA. Globalement les confrontations de l'isolat A9 avec les trois souches antagonistes en présence des amendements n'ont pas permis un développement mycélien pour la plupart des interactions. La présence de  $FeCl_3$  a procuré un effet différentiel avec les souches CHAO et S20, alors que l'EDTA avec la souche CK4.
- Aucun développement mycélien n'a été observé dans le cas du témoin négatif (sol non inoculé).
- Les observations microscopiques ont révélé la présence de fructifications (microconidies, et parfois de chlamydospores), dans la plupart des interactions (antagoniste x isolats de *Foa*), mais sans qu'il ait un développement mycélien, comparativement aux témoins qui ont présenté en plus des fructifications abondantes un développement mycélien assez important. Ces observations ont permis aussi de constater que la densité des fructifications des isolats de *Foa* en présence des

souches antagonistes est très faible, comparativement aux témoins où la densité était très élevée (Tableau 3.22, Fig.3.15).

Isolats fongiques	Souches antagonistes	Amendements du sol	Développement du pathogène		
			Rep 1	Rep 2	Rep3
Témoin	-	-	-	-	-
T2	-	-	++	++	++
	CHAO	-	-	-	-
	CK4	-	-	-	-
G4	S20	-	+	+	-
	-	-	++	++	++
	CHAO	-	-	-	-
A9	CK4	-	-	-	-
	-	FeCB	++	++	++
	-	EDTA	++	++	++
	CHAO	-	-	-	-
	-	FeCB	-	+	+
	-	EDTA	-	-	-
	CK4	-	-	-	-
	-	FeCB	-	-	-
	-	EDTA	+	+	+
	S20	-	-	-	-
	-	FeCB	+	-	+
	-	EDTA	-	-	-

**Tableau 3.22:** Effet des antagonistes sur le développement mycélien des isolats du *Foa* dans le sol.

- + +: Développement mycélien important et réparti sur tout le conteneur;
- +: un léger développement mycélien localisé dans certaines points du conteneur;
- : pas de développement



**Figure. 3.15:** activité d'antagonisme dans le sol :

- A : interaction A9 x CHAO, pas de développement.
- B : Témoin (A9), développement important.
- C : interaction T2 x S20, légère développement.
- D : fructification dans le cas de «A9 x CHAO».
- E : fructification dans le cas du témoin.

### 3.4 Discussion générale

Notre travail vise en premier lieu à actualiser nos connaissances relatives à la situation générale de la fusariose du palmier dattier dans les régions sud-ouest algérien. L'objectif étant d'estimer les taux d'infection et d'en déduire des éléments épidémiologiques du bayoud. La caractérisation phénotypiquement vise à étudier une éventuelle diversité des isolats de *Fusarium oxysporum* isolés dans ces régions.

A partir de 33 échantillons prélevés de ces différentes régions, nous avons retenu 75 isolats présentant les caractéristiques de *Fusarium oxysporum*, dont 56 isolats ont

été affiliés à *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*. La caractérisation phénotypique et pathologique a été réalisée sur 22 isolats sélectionnés.

Il en ressort que, d'après nos résultats que le bayoud est une menace réelle dans ces régions. D'ailleurs sa progression ne cesse d'évoluer et d'atteindre des palmeraies jusqu'à la indemne, dont le signalement du bayoud est récent. La gravité apparaît à travers les taux d'infection enregistrés variant de 5% à 35,33%.

L'hétérogénéité de comportement des variétés vis-à-vis du bayoud est variable entre les différentes régions; c'est-à-dire des variétés qui ne présentent aucun symptôme dans une région, sont considérées comme sensibles dans une autre région. Cette hétérogénéité, en terme de sensibilité des variétés au bayoud, a été signalée déjà par Brac De la Perrière et Benkhalifa (1991b), sur 18 cultivars qualifiés comme variétés à sensibilité variable ou hétérogène selon la région. Cette différence du comportement des mêmes variétés dans deux localités différentes, peut s'expliquer par l'interaction entre le cultivar et son environnement. Cette interaction (cultivar x environnement), peut être due à une variabilité du cultivar de l'environnement, ou les deux à la fois.

Le comportement variétal demeure imprécis dans certaines localités où nous avons noté des appellations identiques pour des génotypes d'apparence différente. L'évaluation du potentiel phoenicicole des différentes palmeraies maghrébines a fait apparaître des problèmes de synonymie et d'homonymie mettant en cause la nomenclature des cultivars. Ce constat préliminaire laisse supposer une origine commune des dattiers (Brac de la Perrière et Benkhalifa, 1989 ; Baaziz et Bendiab, 2007). En effet, ce qu'on appelle communément "variété" ou "cultivar" n'est en réalité que des races ou métis (Munier, 1973). Dans d'autres cas où le critère caractéristiques des fruits est nécessaire dans la détermination du cultivar, il se peut que le comportement du même cultivar d'une région à l'autre ne peut être que la coexistence de différents génotypes. D'ailleurs, selon Belguedj (2002), les cultivars sont identifiés par des appellations vernaculaires à base de la vigueur du palmier et la morphologies des fruits(couleurs et mensurations) facilitant ainsi leur distinction.

L'analyse est basée sur les marqueurs moléculaires (RFLPs; RAPDs et SSR), et enzymatiques, ont été employés largement pour la caractérisation des génotypes du palmier dattier. Cependant plusieurs travaux de ce genre ont mis en évidence une variabilité génétique moins importante que celle basée sur les caractères morphologiques (Sedra et al, 1998; Ben Abdallah et al, 2000; Trifi et al, 2000; Hamama et al, 2003; Hussein et al, 2005; Bennaceur et al, 1991; 2007).

Le cas signalé dans une palmeraie de Touat où le comportement des palmiers s'est modifié subitement, suite à l'introduction de rejet de la variété Tgaza de Ain Saleh dont la sensibilité s'est accrue, peut s'expliquer par d'éventuelle introduction d'une variabilité pathogénique, du fait que les autres conditions pédoclimatiques et les travaux culturaux restent les mêmes.

Concernant la résistance des cultivars au bayoud, nous avons constaté que la notion du cultivar résistant reste à un niveau régional. Chaque région considère certaines variétés résistantes au bayoud, sachant que les variétés résistantes selon l'agriculteur sont les variétés sur les quelles n'a jamais observé les symptômes de bayoud dans sa région, en ne prenant pas en considération son comportement dans les autres régions. Seule la variété Takerboucht qui a montré une tolérance commune dans toutes les zones où est cultivée. Cette variété ainsi que la variété Akerboucht sont signalés avec certaines variétés marocaines comme résistantes au bayoud par plusieurs auteurs (Saaidi, 1990; Brac De la

Perrière et Bounaga, 1991b; Tirichine, 1991; Sedra, 2003). La résistance de ces cultivars a été expérimentée après plantation et suivi des rejets dans des parcelles expérimentales naturellement infestées par *Foa* (Sedra, 2003).

La sélection réalisée sur les isolats issus de différentes régions, a permis de constater un regroupement, après l'analyse multivariée, selon l'origine géographique et même selon l'origine d'isolement (sol ou végétal). D'ailleurs les isolats issus du sol se rapprochent aux isolats issus des racines. En effet cette analyse a pu mettre en évidence des niveaux différentiels et notables, entre les isolats, concernant les potentialités de sporulation et l'impact de différents paramètres étudiés. Il est à rappeler que ce facteur est déterminant, d'une part sur les potentialités d'adaptation du pathogène aux différentes conditions pédoclimatiques et d'autre part sur les spectres de dissémination de la maladie.

Le regroupement dans un même groupe d'isolats provenant de localités distantes confirme l'hypothèse suggérée par les données épidémiologiques de la maladie quand à l'échange spécifique entre certaines oasis (Djerbi, 1982). Sedra (2003), a rapporté que Certaines espèces végétales cultivées dans les oasis (Luzerne, Henné) constituent un réservoir du champignon, et jouent un rôle important dans la dissémination de *Foa*. Elles sont qualifiées de « porteurs sains » c'est-à-dire elles permettent le développement du parasite sans qu'il y ait des symptômes.

Les tests de pathogénicité ont montré, qu'à travers les essais de biototoxicité et d'inoculation de plantules, que les isolats du sol sont moins virulents que ceux isolés de racines ou de rachis. Aussi, la durée d'apparition des symptômes est variable selon les isolats. Ceci dénote peut être des comportements pathologiques différents. Certains auteurs (Tantaoui et Fernandez, 1993 ; Fernandez et Tantaoui, 1994; Fernandez et al ,1995; Ouintin, 1996) ont mis en évidence des différences de comportements pathologiques entre les isolats de *Fo* issus de sol de palmeraies bayoudées et des isolats de *Foa* issus de matériel végétal. La différence génétique concerne des profils RFLPs (Restriction fragment length polymorphisms) de l'ADN mitochondriale et des profils RAPDs(Random Amplification of Polymorphic DNA),ainsi que des groupes de compatibilité végétative (GCV). D'autre part, les analyses des empreintes génétiques des isolats de *Foa*, montrent l'existence d'une variabilité génétique chez *F. o. albedinis*, mais qui reste faible, comparée à celle d'autres formes spéciales de *F. oxysporum*, ou à d'autres champignons à reproduction asexuée (Fernandez et al ,1995).

Par ailleurs, en se basant sur les données bibliographique et sur nos résultats, nous ne pouvons pas exclure totalement la possibilité de variabilité pathogéniques notamment celle relative aux potentialités de sporulation et de dissémination, malgré que Les études menées jusqu'à présent, au Maroc et en Algérie sur le pouvoir pathogène n'ont pas permis de révéler l'existence de races physiologiques dans les populations de *F.o.albedinis* à cause la l'hétérogénéité du matériel végétal (issu de la graine) utilisé dans les tests d'inoculation (Djerbi, 1988). Donc pour cette forme spéciale (*albedinis*), le test doit être réalisé sur des clones du palmier dattier homogènes, ce matériel ne peut être fourni qu'avec la micropropagation *in vitro*. Malheureusement, jusqu'à présent cette méthode est maîtrisée pour que pour certains cultivars (Sedra, 2003).

Plusieurs travaux montrent que chez plusieurs formes spéciales de *Fusarium oxysporum*, l'existence de souches présentant le même génotype et appartenant au même GCV, qui pouvait être des races différentes (Correll,1991; Elias et al, 1993; Jacobson et Gordon, 1991; Mes et al, 1994; Gordon et Martyn, 1997). Du même, Armstrong et Armstrong (1975), ont signalé que certaines formes spéciales, tel qu'*apii*, *cassiae* et *vanisfectum*, définies par Snyder et Hansen devraient être étudiées plus en détail à cause de leur gamme

d'hôtes très large. Ce concept est aussi utilisé pour identifier les souches qui produisent des pathologies différentes, malgré parasitent la même espèce. Cette définition se réfère surtout à des capacités physiologiques du champignon et n'a aucune valeur scientifique, mais a toujours été un concept utile pour les phytopathologistes (Gordon et Martyn, 1997).

En raison des difficultés de réaliser des tests du pouvoir pathogène fiables, ainsi que la méconnaissance actuelle des systèmes géniques impliqués dans l'expression du pouvoir pathogène, impose le recours aux techniques récentes de biologie moléculaire qui permettent d'évaluer la diversité génétique des populations du parasite. en plus des études fondamentales en marquage moléculaire [RFLPs, RAPDs, AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphism)]. Il devient nécessaire de faire appel aux marqueurs plus polymorphes tels que les SSR (Single Sequence Repeat), et les SNPs (Molecular markers are polymorphic), CAPS (Cleaved amplified polymorphic sequences) en analysant des nombres élevés d'isolats provenant de zones géographiques distantes. D'une autre coté, l'analyse de la diversité génétique de la plante-hôte (le palmier dattier) peut aider considérablement dans l'étude de la diversité du pathogène, ainsi que dans l'établissement des programmes d'amélioration génétique de cette espèce pour lutter contre cette maladie.

D'une manière générale, nos résultats démontrent que les trois souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et CK4) ont montré des activités antagonistes appréciables sur les isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*, dans les différents milieux solides et liquides testés, ainsi que dans le sol. Cette activité étudiée sur les différents paramètres de développement mycélien, de germination conidienne et d'élongation des tubes germinatifs, semblent similaires entre les trois souches sauf dans le cas de l'élongation des tubes germinatif, où la souche CHAO s'est avérée la plus performante. Ceci peut être expliqué par l'implication des sidérophores synthétisés par la souche CHAO de *Pseudomonas fluorescens*, qui est connue par une forte production des sidérophores (Iavicoli et al, 2003).

Plusieurs études ont montré l'existence d'une corrélation entre l'intensité de la synthèse de sidérophores par les *Pseudomonas spp. fluorescent in vitro* et leur aptitude à réduire la germination des spores de *Fusarium* dans le sol (Sneh et al, 1984; Elad et Baker; 1985; Baker et al, 1986; O'sullivan et O'gara, 1992; Defago et Keel et, 1995; Keel et Defago, 1997; Bolwerk et al, 2003). Cette aptitude s'explique par la forte affinité des pyoverdines pour le fer ferrique ( $10^{24}$  à  $10^{32}$  moles /l) que les sidérophores synthétisé par *Fusarium* « fusarinines », (Lemanceau et al 1986; Emery, 1967, 1975; Scher et Baker, 1982; Meyer et Abdallah, 1978; Glick et al 1999; Ongena et al, 2002). Des essais réalisés *in vitro* ont mis en évidence l'importance des pyoverdines sur la réduction de la croissance de nombreux champignons telluriques, surtout des espèces du genre *Fusarium* (Bull et al, 2001). Les sidérophores synthétisé par *Fusarium* « fusarinines » sont inaptes à se procurer dans un milieu carencé en fer, cet élément nécessaire à la germination des spores et à l'élongation des tubes germinatifs (Sneh et al, 1984; Elad et Baker, 1985).

D'autre part, nous constatons qu'il n'y a pas d'effet de milieu de culture sur l'activité antagoniste pour les différents paramètres étudiés, sauf sur la germination conidienne où les deux milieux KB et Mixte semblent plus favorable aux antagonistes bactériens. Ceci peut être due au fait que le milieu KB utilisé dans nos essais est un milieu carencé en fer, donc il est favorable à la synthèse de sidérophores, contrairement au milieu PDA, sans omettre le rôle important du fer dans le développement des microorganismes (Duffy et Défago, 1999).

Nos résultats ont également révélé que l'isolat F047 de *Fusarium oxysporum* non pathogène a montré un pouvoir inhibiteur plus important sur le milieu solide, même supérieur

à celui des souches bactériennes. Ceci peut s'expliquer par la vitesse de croissance plus importante de *Fusarium oxysporum* non pathogène par rapport aux isolats pathogènes, donc son effet inhibiteur se traduit essentiellement par la compétition trophique pour les sources de carbone. Lemanceau et al (1992) ont montré que la réduction de la maladie provoquée par la souche WCS816 de *Fusarium oxysporum* f.sp *dianthi* est due à la compétition pour le carbone exercée par la souche Fo47 de *Fusarium in vitro*.

Même lorsque la synthèse de sidérophores est réprimée à la suite de l'enrichissement en fer du milieu de culture ou l'utilisation du mutant CK4, déficient en synthèse de Pyoverdines, les souches de *Pseudomonas fluorescens* continuent à exercer leur activité antagoniste à l'encontre des isolats de *Foa*. Ceci s'explique par l'aptitude des *Pseudomonas* à produire d'autres substances inhibitrices qui sont capables de limiter et même de stopper le développement de l'agent pathogène. Ces substances sont dans la majorité des antibiotiques tel que le 2,4-Diacéthylophloroglucinol (DAPG), l'acide phénazine-1-carboxylique (PCA), la Pyrrolnitrine (PRN) et la Pyolutéorine (PLT), le cyanure d'hydrogène (HCN) (Mavrodi et al, 2001; Raaijmakers et al, 2001; 2002; Notz et al, 2002,), des enzymes et des substances volatiles (Feussner et Wasternack, 2002; Shah, 2005).

Dans ce même sens, Raaijmakers et al (2001; 2002) ont signalé que dans la plupart des cas d'inhibition, le facteur déterminant est la production d'antibiotiques qui agissent directement sur l'agent pathogène. Dans ce contexte, les observations microscopiques réalisées dans notre expérimentation révèlent, des modifications sur les hyphes du champignon dans une zone distante de la colonie bactérienne (sans contact entre les deux protagonistes), et une inhibition de la germination des conidies du *Foa*. Ceci confirme le phénomène de distorsion de la croissance des hyphes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* -(changements de la direction de croissance des Hyphes et une croissance en boucle avec une forte augmentation du nombre de vacuoles dans les cellules)- observé en présence d'une souche de *Pseudomona*. Cela est dû essentiellement à l'effet de PCN synthétisé par cette souche bactérienne (Bolwerk et al, 2003).

Whipps (2001) a rapporté que certaines souches bactériennes ont la capacité d'excréter des métabolites, responsables à l'inactivation des facteurs de germination du pathogène, et même a démontré la capacité de certaines bactéries à parasiter et à dégrader les spores des pathogènes à travers la production d'enzymes lytiques. Selon Curl et True love (1986), Ce phénomène d'antibiose peut se manifester soit par une inhibition de la germination des spores des champignons « mycostase », soit par une lyse mycélienne « mycolyse ».

La souche CHAO utilisée dans nos essais, est considérée comme étant souche modèle, connue par sa production de multiples métabolites secondaires impliqués directement dans les activités de biocontrôle. En plus des sidérophores (pyoverdines, pyochelins et acide salicylique), elle produit aussi le cyanure d'hydrogène, la Pyrrolnitrine, le 2.4-déacetylphloroglucinol, et la pyoluteorine (Voisard et al, 1989; Defago et al, 1990; Keel et al, 1992). La production d'*hcn* compte pour une grande partie du pouvoir inhibiteur de la souche CHAO, de plusieurs agents pathogènes comme *Thielaviopsis basicola*, *Septoria tritici* et *Puccinia recondita* (Ramette et al, 2003). La souche S20, isolé à partir de sol d'une palmeraie algérienne se caractérise par sa production de métabolites antimicrobiens identifiés comme étant des dérivés phénaziniques (Benchabane, 2005).

Plusieurs études ont mis en évidence in vitro les propriétés antifongiques de 2.4-déacetylphloroglucinol produit par certains *Pseudomonas spp. fluonescents* (Fenton et al, 1992; Keel et al, 1992). L'introduction à faible dose d'une souche de *Pseudomonas fluorescens* capable de produire le DAPG, dans un sol conducteur, permet de contrôler la

maladie aussi bien que dans le sol suppressif (Thomashow et Weller, 1988). Dans le même sens les bactéries isolées à partir des sols suppressifs à *Thielaviopsis basicola* ont inhibées fortement l'agent pathogène *in vitro* et ont conféré une capacité de suppression lorsqu'elles sont inoculées dans un sol conducteur. Cette suppressivité des sols était directement corrélée à la densité de population de *Pseudomonas* portant les gènes de production de DAPG (Ramette et al, 2001).

Il faut noter que la pyolutéorine offre un contrôle négatif du *Fusarium oxysporum*, car l'acide fusarique produit par l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* a affecté négativement la production de *dapg* et l'activité antagoniste qui y est associée (Notz et al, 2002). De plus, au sein des diverses souches productrices de *dapg*, seulement celles qui produisent également le *Plt* sont sensibles à l'action de l'acide fusarique (Duffy et al, 2003).

Nos résultats montrent aussi que les intensités inhibitrices sont variables selon l'isolat fongique testé c'est-à-dire il y a une variabilité de comportement des différents isolats vis-à-vis l'activité antagoniste appliquée. Ceci confirme la diversité phénotypique des isolats de *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* observée dans la partie caractérisation et notée sur les prospections réalisées sur le terrain.

## Conclusion

D'après nos résultats des prospections réalisées dans les différentes zones bayoudées du sud-ouest algérien, nous constatons que le bayoud demeure une menace réelle dans ces régions phoénicienne et même pour les régions de l'Est qui semblent indemnes jusqu'à présent. D'ailleurs sa progression ne cesse d'évoluer et d'atteindre des palmeraies jusqu'à la indemne, dont le signalement du bayoud est récent. La gravité apparaît à travers les taux d'infection enregistrés variant de 5% à 42.4%.

Concernant la résistance des cultivars au bayoud, nous avons constaté que la notion du cultivar résistant reste à un niveau régional. Chaque région considère certaines variétés résistantes au bayoud, sachant que les variétés résistantes selon l'agriculteur sont les variétés sur lesquelles n'a jamais observé les symptômes de bayoud dans sa région, en ne prenant pas en considération son comportement dans les autres régions. Nous avons noté aussi une hétérogénéité de comportement des variétés vis-à-vis du bayoud entre les différentes régions; c'est-à-dire des variétés qui ne présentent aucun symptôme dans une région, sont considérées comme sensibles dans une autre région. Seule la variété Taquerboucht qui a montré une tolérance commune dans toutes les zones où est cultivée.

La sélection réalisée sur les isolats issus de différentes régions, a permis de constater un regroupement, après l'analyse multivariée, selon l'origine géographique et même selon l'origine d'isolement (sol ou végétal). D'ailleurs les isolats issus du sol se rapprochent des isolats issus des racines. En effet cette analyse a pu mettre en évidence des niveaux différentiels et notables, entre les isolats, concernant leur potentialité de sporulation et l'impact des différents paramètres étudiés. Il est à rappeler que ce facteur est déterminant, d'une part sur les potentialités d'adaptation du pathogène aux différentes conditions pédoclimatiques et d'autre part sur les spectres de dissémination de la maladie.

À travers les essais de biototoxicité et d'inoculation de plantules, nous remarquons que les isolats du sol sont moins virulents que ceux isolés de racines ou de rachis. Aussi, la durée d'apparition des symptômes est variable selon les isolats. Ceci dénote peut être des comportements pathologiques différents.

La caractérisation phénotypique préliminaire a pu permettre de repérer des groupes d'isolats s'avérant proches en termes de comportement vis-à-vis des différents tests réalisés, ce qui peut être une information utile pour la réalisation d'une caractérisation moléculaire complémentaire de *Foa*, pour mieux connaître la diversité de notre champignon et pour mettre en place des programmes de lutte intégrée vis-à-vis cette maladie, notamment un programme d'amélioration génétique basé sur la sélection des cultivars résistants à tous les groupes de bayoud existants, qui pourraient être cultivés dans différentes régions bayoudées.

Par ailleurs, en se basant sur les données bibliographiques et sur nos résultats, nous ne pouvons pas exclure totalement la possibilité de variabilité pathogéniques notamment celle relative aux potentialités de sporulation et de dissémination, malgré que les études menées jusqu'à présent, au Maroc et en Algérie sur le pouvoir pathogène n'ont pas permis de révéler l'existence de races physiologiques dans les populations de *F.o.albedinis* à cause de l'hétérogénéité du matériel végétal (issu de la graine) utilisé dans les tests d'inoculation.

---

Donc pour cette forme spéciale (*albedinis*), le test doit être réalisé sur des clones du palmier dattier homogènes, ce matériel ne peut être fourni qu'avec la micropropagation.

Les difficultés de réaliser des tests de pouvoir pathogène fiables, ainsi que la méconnaissance actuelle des systèmes géniques impliqués dans l'expression du pouvoir pathogène, imposent le recours aux techniques récentes de biologie moléculaire qui permettent d'évaluer la diversité génétique des populations du parasite. en plus des études fondamentales en marquage moléculaire. De l'autre côté, l'analyse de la diversité génétique de la plante-hôte, le palmier dattier peut aider considérablement dans l'étude de la diversité du pathogène, ainsi dans l'établissement des programmes d'amélioration génétique de cette espèce pour lutter contre cette maladie, et l'étude de l'interaction Hôte-pathogène.

Nos résultats des tests antagonistes démontrent que les trois souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et CK4) et l'isolat non pathogène de *Fusarium oxysporum*, montrent des activités antagonistes appréciables sur les isolats de *Fusarium oxysporum f.sp albedinis*, dans les différents milieux solides et liquides testés, ainsi que dans le sol. Cette activité étudiée sur les différents paramètres de développement mycélien, de germination conidienne et d'élongation des tubes germinatifs, semblent similaires entre les trois souches de *Pseudomonas fluorescens*, même lorsque la synthèse de sidérophores est réprimée à la suite de l'enrichissement en fer du milieu, ce qui confirme l'aptitude des *Pseudomonas* à produire d'autres substances inhibitrices qui sont capables de limiter et même de stopper le développement de l'agent pathogène. Ces tests ont mis en évidence aussi une variabilité de comportement des différents isolats de *Fusarium oxysporum f.sp albedinis* vis-à-vis les différents tests d'antagonismes microbiens.

Les résultats observés dans les tests antagonistes dans le sol, suggèrent que les souches bactériennes utilisées, peuvent participer à la composition d'un sol suppressif au bayoud, notamment la souche locale S20 isolée à partir du sol d'une palmeraie indemne de la maladie. Cette souche a montré une activité antagoniste comparable à celle de la souche modèle CHAO. Par ailleurs, l'existence des sols résistants au bayoud signalés au Maroc et en Algérie, peut aider à rechercher des nouveaux micro-organismes antagonistes; ce qui présentera un grand intérêt dans la mesure où il sera possible de prévoir l'évolution du bayoud lors d'infestation accidentelles des sols.

## Références bibliographiques

- Abahmane L, 1998. Micro propagation par tissues d'inflorescence du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) : un outil efficace pour la sauvegarde des géotypes rares. *Al Awamia* 2 (1): 47-60.
- Abawi G S and Lorbeer JW, 1965. Cultural variability and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. *Phytopathology*, 55, 1051.
- Alfano J R and Collmer A , 2004. Type III secretion system effector proteins: double agents in bacterial disease and plant defense. *Annu Rev Phytopathol* , 42:385-414.
- Allaker RP , Lloyd DH and Noble WC , 1989. Studies on antagonism between porcine skin bacteria. *J Appl Bacteriol*, 66(6): 507-514.
- Al-Salih A and Al-Jarrah A, 1987. Chromosomes number of a date palm male: Cultivar Ghannami Akhdar. *Date Palm J*, 5 (2): 128–137.
- Amir H, Amir A et Riba A, 1996. Rôle de la microflore dans la résistance a la fusariose vasculaire induite par la salinité dans un sol de palmeraie. *Soil Eiol. Biochem*, Vol 28 (1): 113-122.
- Anonyme, 2007. Les ressources phylogénétiques un patrimoine à conserver et à améliorer, INRA Maroc 2007.
- Armstrong GM and Armstrong JK, 1975. Reflections on the wilt *Fusarium*. *Ann Rev. Phytopathology*, 13:95-103.
- Armstrong GM and Armstrong JK, 1981. *Formae speciales and races of Fusarium oxysporum causing wilt diseases in Fusarium: diseases, biology and taxonomy*, Edited by Nelson PE, Tousson TA and Cook RJ, The Pennsylvania State University Press: 391-399.
- Auwah T et lorbeer JW, 1988. Nature of cultural variability in *Fusarium oxysporum* f. sp. *Apii* Race 2. *Phytopathology*, 78: 385-389.
- Baaziz M and Bendiab K, 2007. Genetic diversity of date palm and the impact of micropropagations techniques . Fourth Symposium on Date Palm, King Faisal University, Saudi Arabia, 5-8 May.
- Baker P, Lamers JG, Bakker AW, Marugg JD, Weisbeek PJ and Schippers B, 1986. The role of siderophores in potato tuber yield increase by *Pseudomonas putida* in a short rotation of potato. *Neth J Plant Pathol* 92: 249–256.
- Baker, K. F. and Cook R., J. (1988) *Biological Control of Pathogens*. San Francisco, W. H. Greeman & Co. 433 p.
- Barakat A, Tran Han D, Benslimane AA, Rode A, and Bernardi G, 1999. The gene distribution in the genomes of pea, tomato and date palm. *FEBS Letters* 463: 139-142.
- Beckman CH, 1987. *The Nature of Wilt Diseases of Plants*. Ed, Society, T. A. P. St. Paul, Minnesota, USA: 124-12.

- Belguedj M, 1996. Caractéristiques des cultivars de dattiers du Nord est du Sahara Algerien. ITDAS, INRAA, Algérie, 168p.
- Belguedj M, 2002. Caractéristiques des cultivars de dattiers dans les palmeraies du sud-est algérien. Revue Recherche Agronomique 1: 289.
- Ben Abdallah A, 1990. La phoeniciculture. Options Méditerranéennes A 11: 105-120.
- Ben Abdallah A, Stiti K, Lepoivre P, and Du Jardin P, 2000. Identification de cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par l'amplification aléatoire d'ADN (RAPD). Cahiers Agricultures, 9: 103 -107.
- Benchabane M, 2005. Caractérisation des effets d'antagonisme microbienne et de promotion de la croissance végétale de souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents. Thèse Doctorat d'état, FSB-UTHB, Alger, 235p.
- Bendiab K, Baaziz M, Brakez Z and Sedra MH, 1998. Correlation of isoenzyme polymorphism and bayoud-disease resistance in date palm cultivars and progeny. Euphytica 65: 23- 32.
- Benizri E, Boudoin E and Guckert A, 2001. Root colonisation by Plant Growth Promoting Rhizobacteria . Biocontrol science and technology 5 (11): 557-574.
- Benjama El Filali, Benzine A, Allaoui M, Nour S et Boussak Z, 1996. La palmeraie dattier marocaine: Evaluation du patrimoine phénicicole. Fruits 1: 247-259.
- Bennaceur M, Benkhalifa A et Bouguedoura N, 2007. Ressources génétiques du palmier dattier en Algérie. Sémin. Intern. biodiversité, environnement et santé, 12-14 nov., El Tarf.
- Bennaceur M, Lanaud C, Chevallier MH and Bounaga N, 1991. Genetic diversity of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) from Algeria revealed by enzymes markers. Plant Breeding, 107: 56 – 69.
- Bensaid F, 2006. Etude de l'effet des *Pseudomonas* spp. fluorescents et de l'isolat FO47 de *Fusarium Oxysporum* non pathogène dans la lutte biologique vis-a-vis des fusarioses vasculaires. Mémoire de magister, département d'agronomie, université de Blida. 90P.
- Benssedik F, Saka H, Moussaoui B et Yakhou S, 2000. Etude de la microflore tellurique de quelques palmeraies bayoudées et indemnes de bayoudh et recherche d'antagonistes vis à vis du *Fusarium oxysporum* f.sp.albedinis . Recherche Agronomique (INRAA), Alger; 6: 69-75.
- Bolwerk A, Lagopodi AL, Wijfjes AH, Lamers GE, Chin A, Lugtenberg BJ and Bloemberg GV, 2003. Interactions in the tomato rhizosphere of two *Pseudomonas* biocontrol strains with the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. Mol. Plant Microbe Interact, 16: 983-993.
- Booth C, 1985. The Genus *Fusarium*. Kew, Surrey, Great Britain: Commonwealth Mycological Institute, 9p.
- Bouguedoura N, Michaux FN, and Bompar JL, 1990. Comportement in vitro de bourgeons axillaires de type indéterminé du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Can. J. Bot, 68 (9): 2004–2009.
- Bouguedoura N, 1991. Connaissance de la morphogénèse du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), Etude in situ et in vitro du développement morphogénétique des appareils végétatif et reproducteur, Thèse de Doctorat. U.S.T.H.B. Alger, 201 p.

- Bouizgarne B, Ouhdouch Y, Bouteau F and Elhdrami I, 2004. Electrophysiological responses to fusaric acid root hairs from seedlings of date dalm-susceptible and resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Phytopathology*, 152: 321- 324.
- Bounaga N, 1970. Quelques aspects de la physiologie d'une souche de *Fusarium oxysporum* .f.sp.albedinis, agent causal de la maladie du Bayoud. *Bull.Sos.Hist. Afr.Nord.*, 60 :137-183.
13. Bounaga, N. et Djerbi, M., Pathologie du palmier dattier. Option Méditerranéennes CIHEAM-IAMM, 1990, Série A, n° 11, pp : 127-132.
- Brac de la Perrière RA et Benkhalifa A, 1989. Identification des cultivars de dattiers (phoenix dactylifera L) du sud-ouest algérien. *Pante Genetic ressource Newsletter*, 78/79: 13-19.
- Brac de la Perrière RA, Benkhalifa A, 1991a. Progression de la fusariose du palmier dattier en Algérie. *Sécheresse*, 2 : 119- 128.
- Brac De la Perrière RA et Bounaga N,1991 . Etude du verger phaenicicole dune palmeraie traditionnelle (Béni-Abbes, sud-ouest algrien): Repartition spatiale des cultivars en relation avec la fusariose. *Rev. Rb. Amelior. Prod. Agr. Milieu Aride*, 3: 81-90.
- Bulit J, Louvet J, Bouhot D, et Toutain G, 1967. Recherches sur les Fusarioses: Travaux sur le Bayoud, fusariose du Palmier dattier en Afrique du Nord. *Ann. Phyt.* 18 (2):213-239.
- Bull CT, Duffy C, Voisard G, Defago C, Keel and Haas D, 2001. Characterization of spontaneous *gacS* and *gacA* regulatory mutants of *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strain CHAO. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 79: 327-336.
- Chao CT and Krueger RR, 2007. The date palm (phoenix dactylifera L.): Overview of Biology, Uses, and Cultivation. *HORTSCIENCE*, VOL 42 (5): 1077-1082
- Correll JC, 1991. The relationship between forms specials, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 81: 1061-1064.
- Creelman RA and Mullet JE, 1995. Jasmonic acid distribution and action in plants: regulation during development and response to biotic and abiotic stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 92:4114–4119.
- Curl EA and Truelove B, 1986. *The rhizosphere*. Springer-Verlag, New York. 288 p.
- Defago G, Haas D, Berling CH, Burger U, Keel C, Voisard C, Wirthner P, Wuthrich B, 1990. Suppression of black root rot of tobacco and other root diseases by strains of *Pseudomonas fluorescens*: potential applications and mechanisms. In: *Biological control of soil-borne plant pathogens* .D Hornby, ed., CAB Int: 93-108.
- Défago G and Keel C, 1995. Pseudomonads as biocontrol agents of diseases caused by soilborne pathogens in: *Benefits and Risks of Introducing Biocontrol Agents*. H. M. T. Hokkanen and J. M. Lynch, eds. University Press, Cambridge, U.K: 137-148.
- Di PietroA, García-Maceira FI, Megleczy EY and Roncero MI, 2001. A MAP kinase of the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum* is essential for root penetration and pathogenesis. *Mol Microbiol* 39: 1140-1152.

- Djerbi M, 2003. *Fusarium oxysporum f.sp.albedini*. OEPP/EPPO Bulletin, 33 : 245–247
- Djerbi M, Aouad L, El Filali H, Saaidi M, Chtioui A, Sedra MH, Allaoui M, Hamdaoui T et Oubrich M, 1986. Preliminary results of selection of high quality Bayoud resistant clones among natural date palm population in Maroc, in Proceedings of the Second Symposium on the Date Palm, Saudi Arabia: 383-399.
- Djerbi M, 1990. Méthodes de diagnostic du bayoud. OEPP/EPPO Bulletin, 20: 607-613.
- Djerbi M, 1982. Bayoud disease in North Africa: history, distribution, diagnosis and control. Date Palm Journal, 2:153-198.
- Djerbi M, 1988. Les maladies du palmier dattier Projet régional de lutte contre le bayoud. Rab 84/018, Alger, 130 p.
- Djerbi M, El Ghorfi A, et El Idrissi Ammari MA, 1985. Etude du comportement du henné (*Lawsonia inermis* L) et la luzerne (*Medicago Sativa*) et des quelques espèces de palmacées à l'égard du Foa, agent causal du bayoud. Annals inst. Natu. Rech. Agro. Tunisie, 58 :1-11.
- Dossa C, 1993. Variabilité de la morphologie et du pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum Schlecht. f. sp. Elaeidis* Toovey, agent de la fusariose du Palmier à huile. Ph.D. thesis. Université Montpellier II, Montpellier, France.
- Drira N and Benbadis A, 1985. Multiplication végétative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par réversion en culture *in vitro* d'ébauche florale de pieds femelle. J. Plant Physiol, 119: 227–235.
- Duffy BK and Défago G, 1999. Environmental factors modulating antibiotic and siderophore biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains. Appl. Environ. Microbiol, 65(6): 2429-2438.
- Duffy B, Schouten A, and Raaijmakers JM, 2003. Pathogen self-defense: mechanisms to counteract microbial antagonism. Annu. Rev. Phytopathol., 41: 501-538.
- Elad Y and Baker R, 1985. Influence of trace amounts of cations and siderophore-producing pseudomonads on Chlamydo-spore germination of *Fusarium oxysporum*. Phytopathology, 75: 1047-1052.
- El Fakhouri R, Lotfi F, Sedra MH and Lazrek HB, 1996. Production et caractérisation chimique des toxines secrétées par *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*, agent causal du Bayoud. Al Awamia, 93: 81-92.
- El Hadrami A, El Idrissi-Tourane A, El Hassni M, Daayf F, and El Hadrami I, 2005. Toxin-based in-vitro selection and its potential application to date palm for resistance to the bayoud fusarium wilt. C. R. Biologies, 328: 732–744.
- El Hadrami I, El bellaj M, Daayf F, Clerivet A and Macheix JJ. 1998. Interaction palmier dattier-fusarium oxysporum albedinis, agent causal du bayoud : Réponse du métabolisme phénolique à des infections racinaires très localisées et relations avec la résistance des cultivars. 2nd International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-2).
- El Hadrami I and El Hadrami A, 2009. Breeding date palm in breeding plantation tree crops: Tropical species, Springer New York: 191-216.

- El Hassni M, El Hadrami A, Daayf F, Cherif M, Ait Barka E and El Hadrami I, 2007. Biological control of Bayoud disease in date palm: selection of microorganisms inhibiting the causal agent and inducing defense reactions. *Environmental and Experimental Botany*, Vol 59 (2): 224-234.
- Elias KS, Zamir D, Lichtman-Pleban T and Katan T, 1993. Population structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: Restriction fragment length polymorphisms provide genetic evidence that vegetative compatibility group is an indicator of evolutionary origin. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 6: 565-572.
- El Idrissi – Tourane A, Romas T, El Bellaj M and El hadroni I, 1996. importance des phérolamides et des polyamines des racines du palmier dattier dans la résistance / sensibilité au bayoud. *Polyphénols communications*, 2 : 371 – 372.
- El Modafar C and El Boustani E, 2000. Relationship between cell wall susceptibility to cellulases and pectinases of *Fusarium oxysporum* and susceptibility of date palm cultivars to the pathogen. *Biologia Plantarum*, 43: 571-576.
- El Modafar C and El Boustani E, 2001. Cell wall-bound phenolic acid and lignin contents in date palm as related to its resistance to *Fusarium oxysporum*. *Biologia Plantarum*, 44: 125-130.
- El Modafar C and El Boustani E, 2002. Contribution des polyphénols aux mécanismes de défense biologique des plantes, in *Biopesticides d'origine végétale*. Regnault-Roger C., Philogène B., Vincent C. (eds), Lavoisier Tech & Doc: 169-185.
- El Modafar C, Tantaoui A and El Boustani E, 1999. Time course accumulation and fungitoxicity of date palm phytoalexins towards *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Journal of Phytopathology*, 147: 477-484.
- El Modafar C, Tantaoui A, El Boustani E, 2000a. Effect of caffeoylshikimic acid of date palm roots on activity and production of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* cell wall-degrading enzymes. *Jornal. Phytopathol*, 148: 101-108.
- El Modafar C, Tantaoui A and El Boustani E, 2000b. Changes in cell wall-bound phenolic compounds and lignin in roots of date palm cultivars differing in susceptibility to *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Jornal. Phytopathol*. 148: 405-411.
- Emery T, 1967. Isolation, characterization, and properties of fusarinine, a hydroxamic acid derivative of ornithine. *Biochemistry*, 4: 1410-1417.
- Emery T, 1975. Biosynthesis and mechanism of action of hydroxamate-type siderophores. In *Microbial iron metabolism*, Neilands JB (Ed.), Academic Press, New York and London: 107-122.
- Fakir S, Carbonnier J, Birouk A, 1992. Analyse du polymorphisme enzymatique et protéique des cultivars maricains du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) in *Complexes d'especes, flux de genes et ressources genetiques des plantes*. Actes Colloq Int. Lavoisier, Paris: p 645.
- FAOSTAT, 2007: <http://faostat.fao.org> .
- Fenton AM, Stephens PM, Crowley J, O'Callaghan M and O'Gara F, 1992. Exploitation of gene(s) involved in 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthesis to confer a new biocontrol capability to a *Pseudomonas* strain. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58: 3873-3878.

- Fernandez D and Tantaoui A, 1994. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis: A tool for rapid characterization of *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* isolates? *Phytopathol. Mediterr.*, 33: 223-229.
- Fernandez D, Iourd M, Ouinten M, Tantaoui A and Geige JP, 1995. Le bayoud du palmier dattiers. *Phytoma protection des végétaux*, 469: 36-39.
- Feussner I and Wasternack C, 2002. The lipoxygenase pathway. *Ann. Rev. Plant Biol.*, 53: 275-297.
- Glick BR, Patten CL, Holguin G and Penrose DM, 1999. Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria. Imperial College Press, London: 180-248.
- Gordon TR and Martyn, 1997. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 35:111-128.
- Gordon TR y Okamoto D, 1992. Population structure and the relationship between pathogenic and nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 82: 73-77.
- Hannachi S, khitri D, benkhalifa A et Brac de la perrière RA, 1998. Inventaire variétale de la palmeraie algérienne sélection et impression. Anep Roniba, Algérie 225p.
- Hamama L Cornee N, Leclerc V, Marionnet F, Javouhey M and Letouze R, 2003. Date palm (phoenix dactylifera) offshoot identification by PCR-ISSR markers. *Acta Hort* 616: 453-457.
- Henni JC, Boisson E et Geiger JP, 1994. Variabilité de la morphologie chez *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. *Phytopath. mediterr.*, 33: 51-58.
- Henni JE, Fortas Z et Geiger JP, 1998. Etude de la compatibilité végétative chez des souches de *Fusarium oxysporum* isolées dans la région Ouest de l'Algérie. *Phytopath. Mediterr.*, 37 : 69-74.
- Hussein EH, Adawy SS, Samer Ismail EM and El-Itriby A.H, 2005. Molecular characterization of some egyptian date palm germplasm using RAPD and ISSR markers. *Arab J. Biotech.*, 8: 83-98.
- Iavicoli A, Boutet E, Buchala A and Métraux JP, 2003. Induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* in response to root inoculation with *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *Mol. Plant Microbe Interact*, Vol.16 (10): 851-858.
- Jacobson DJ and Gordon TR, 1991. *Fusarium oxysporum f. sp. melonis*, a case study of diversity within a forma specialis. *Phytopathology*, 81: 1064–1067
- Jonsthorpe A, and Booth C, 1983. *Plant pathologist's pocket book*. 2nd ed Commonwealth. Mycological Institute, Kew Surrey, England. 439p.
- Katan T and Di Primo P, 1999. Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*, *Phytoparasitica*, 27: 1–5.
- Katan T, 1999. Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytoparasitica*, 27: 1–14.
- Keel C, Schnider U, Maurhofer M, Voisard C, Laville J, Burger U, Wirthner P, Haas D and Défago G, 1992. Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: Importance of the bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol. *Mol. Plant. Microbe Interact*, 5: 4-13.

- Keel C and Défago G, 1997. Interactions between beneficial soil bacteria and root pathogens: mechanisms and ecological impact. In: Multitrophic interactions in terrestrial system, GangeAC, Brown VK, eds. Oxford: Blackwell Science: 27–47.
- Keel C, Welter DM, Natsch A, Defago G, Cook RJ and Thomashow LS, 1996. Conservation of the 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthesis locus among fluorescent *Pseudomonas* strains from diverse geographic locations. *Appl Environ Microbiol*, 62: 552-563.
- Kim HJ, Tamanoue Y, Jeohn G, Iwamatsu A, Yokota A, Kim Y, Takahashi T and Takahashi K, 1997. Purification and Characterization of an Extracellular Metalloprotease from *Pseudomonas fluorescens*. *J. Biochem*, Vol. 121 (1): 82-88.
- Kim MS, Kim YC and Cho BH, 2004. Gene expression analysis in cucumber leaves primed by root colonization with *Pseudomonas chlororaphis* O6 upon challenge inoculation with *Corynespora cassiicola*. *Plant Biol*. Mar-Apr, 6(2):105-108.
- King EO, Ward MK and Raney D E, 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *JLab Clin Med.*, 44: 301-307.
- Kistler HC, 2001. Evolution of the Host specificity in *Fusarium oxysporum* in *Fusarium*: Paul E. Nelson Memorial Symposium: 70-96.
- Larbaoui A, 2003. Etude des mécanismes d'action des *Pseudomonas* spp fluorescents dans l'amélioration de la protection biologique des plantes par induction de résistance systémique vis à vis des fusarioses vasculaires. Thèse Magistère. Univ Blida, 94p.
- Lemanceau P, Alabouvette C, Meyer JM, 1986. Production of fusarinine and iron assimilation by pathogenic and non-pathogenic *Fusarium* in Iron siderophores and plant diseases .TR Swinburne, ed. Plenum press, New York: 251-253.
- Lemanceau P, Bakker P, Dekogel WJ, Alabouvette C, Schippers B, 1992. Effect of pseudobactin 358 production by *Pseudomonas putida* WCS358 on suppression of fusarium wilt of carnations by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58: 2978–82.
- Leslie John F and Summerll A, 2006. The *Fusarium* laboratory Manuel. Blackwell Publishing, USA, 387 p.
- Loutfi K and El Hadrami I, 2004. Phoenix dactylifera L. (date palm) in Biotechnology of fruit and nut crops. Ed. R.E. Litz, Tropical Research and Education Center, University of Florida, USA: 144-156.
- Louvet J, Toutain G, 1973 . Recherches sur les Fusarioses, Nouvelles observations sur la Fusariose du Palmier dattier et précisions concernant la lutte. *Ann. Phytopath.* 5: 35-52.
- Maire R, 1933. Etudes sur la flore et la vegetation du Sahara central. *Mem. soc. hist. nat. Afrique du nord*, 5-272.
- Malençon, G, 1934. Nouvelles observation concernant l'étiologie du bayoud C.R.Acad.Sci.,Paris, 19 :1259 – 1262.
- Malençon, G, 1947. Mission d'étude dans les oasis du territoire d'Ain sefra et l'annexe du Tidikelt concernant une maladie du palmier dattier (Mai– juin 1946).*Inst. Algérie*, 2 : 139 – 158.

- Malençon G, 1950. Le bayoud. Maladie fusarienne du palmier dattier en Afrique du Nord. *Fruits*, 5 :279 – 289.
- Marlatt, ML, Correll JC, Kaufmann P, and Cooper PE. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in the United States. *Plant Disease*, 80: 1336-1342.
- Mavrodi, DV, Bonsall RF, Delaney SM, Soule MJ, Phillips G and Thomashow LS, 2001. Functional analysis of genes for biosynthesis of pyocyanin and phenazine-1-carboxamide from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *J. Bacteriol.*, 183:6454- 6465.
- Mazzola M, David M, Granatstein DC, ElfvingKMand Yu-Huan G, 2002. Cultural management of microbial community structure to enhance growth of apple in replant soils. *Phytopathology*, 92: 1363–1366.
- Mazzola M, 2002. Mechanism of natural soil suppressiveness to soil-borne diseases. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81: 557-564.
- McSpadden Gardener, BB and Fravel DR, 2002. Biological control of plant pathogens: Research, commercialization, and application in the USA. Online: *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2002-0510-01-RV: <http://www.apsnet.org /online/ feature/ biocontrol/top.html>.
- Mendgen K, Hahn M and Deising H, 1996. Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 34:367-386.
- Mes JJ, Van DoomJ, Roebroek EJA, Van Egmond E, Van Adjk J and Boonekamp PM, 1994. Restriction fragment length polymorphisms, races and vegetative compatibility groups within a worldwide collection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*. *Plant Pathol.*, 43: 362-370.
- Mes JJ, Weststeijn EA, Herlaar F, Lambalk JJM, Wijbrandi J, Haring MA and Cornelissen JC, 1999. Biological and Molecular Characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* divides race 1 isolates into separate virulence groups. *Phytopathology*, 89: 156-160.
- Meyer JM, Abdallah MA, 1978. The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties. *J Gen Microbiol* 107:319–328
- Munier P, 1973. Le Palmier dattier: Techniques agricoles et productions tropicales. *Maison Neuve & Larose*, Paris, 221p.
- Nash SM and Snyder WC, 1962. Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root rot *Fusarium* in field soils. *Phytopathology*, 52: 567-572.
- Nelson PE, Tousson TA y Marasas WFO, 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, Pringle et Scheffer, 74-76.
- Nixon W and Furr J, 1965. Problems and progress in date breeding. *Ann. Date Growers Inst.*, 42: 2–5.
- Notz R, Maurhofer M, Dubach H, Haas D and Defago G, 2002. Fusaric acidproducing strains of *Fusarium oxysporum* alter 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthetic gene expression in *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in vitro and in the rhizosphere of wheat. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68: 2229-2235.

- O'Sullivan DJ and O'Gara F, 1992. Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. Involved in suppression of plant root pathogens. *Microbiol. Rev.*, 56: 662-676.
- Ongena M, Jacques P, Delfosse P and Thonart P, 2002. Unusual traits of the pyoverdinin-mediated iron acquisition system in *Pseudomonas putida* strain BTP1. *Biometals.*, 15(1):1-13.
- Quinten M, 1996. Diversité et structure génétiques des populations algériennes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent de la fusariose vasculaire (Bayoud) du palmier dattier. Thèse PhD, Université Montpellier II, Montpellier, 170p.
- Péreau-Leroy P 1958. Le palmier dattier au Maroc. Ministère de l'Agriculture, Institut Franc Rech Outremer, Paris, 142 p.
- Quenzar B, Trifi M, Bouachrine B, Hartmann C, Marrakchi M, Benslimane A and Rode A, 2001. A mitochondrial molecular marker of resistance to bayoud disease in date palm. *Theor Appl Genet* 103: 366–370.
- Raaijmakers JM, Vlami M and de Souza JT, 2002. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81: 537-547.
- Raaijmakers JM, Bonsall F and Weller DM, 1998. Natural plant protection by 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas* spp. in take-all decline soils. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 11: 144-152.
- Raaijmakers M and Weller DM, 2001. Exploiting genotypic diversity of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas* spp.: characterization of superior root-colonizing *P. fluorescens* strain Q8r1-96. *Appl Environ Microbiol*, 67: 2545-2554.
- Raaijmakers JM, Welter DM and Thomashow LS, 1997. Frequency of antibiotic-producing *Pseudomonas* spp. in natural environments. *Appl Environ Microbiol*. 63: 881-887.
- Ramette A, Moenne-Loccoz Y, and Defago G, 2001. Polymorphism of the polyketide synthase gene *phlD* in biocontrol fluorescent pseudomonads producing 2,4-diacetylphloroglucinol and comparison of *PhlD* with plant polyketide synthases. *Mol Plant Microbe Interact.*, 14: 639-652.
- Ramette A, Frapolli M, Defago G and Moenne-Loccoz Y, 2003. Phylogeny of HCN synthase-encoding *hcnBC* genes in biocontrol fluorescent pseudomonads and its relationship with host plant species and HCN synthesis ability. *Mol Plant Microbe Interact.*, 16: 525-535.
- Ramos T, El bellaj M, El idrissi-Tourane A, Daayf F, and El hadrami I, 1997. Phenolamides in the rachis of palms : Components of the defense reaction of the date palm towards *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, the agent causal of bayoud. *J. Phytopathology*, 145: 487-493.
- Rapilly F, 1968. Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Ann Épiphyt.*, 19 (n° HS): 1-102.
- Rhouma A, 1994. Le palmier dattier en Tunisie: Le patrimoine génétique. Arabesques Editions et Créations, INRAT-CRPh, GRIDAO-France, PNUD/FAO/RAB/88/024, 254 p.
- Rhouma A, 2005. Le palmier dattier en Tunisie, le patrimoine génétique volume 2. IPGRI, INRAT, FEM-UNDP, 255 p.

- Rodríguez-Gálvez E , Mendgen K , 1995. Cell wall synthesis in cotton roots after infection with *Fusarium oxysporum*. The deposition of callose, arabinogalactans, xyloglucans, and pectic components into walls, wall appositions, cell plates and plasmodesmata. *Planta*, 197(3): 535-45.
- Rosewich UL, Pettway RE, Katan T and Kistler HC, 1999. Population genetic analysis corroborates dispersal of *Fusarium oxysporum f. sp. radialis-lycopersici* from Florida to Europe. *Phytopathology*, 89: 623-630.
- Saaïdi M, 1990. Amélioration génétique du palmier dattier Critères de selection, techniques et résultats. Options Méditerranéennes, Série: A (11)-1990- Les systèmes agricoles oasiens: 133-154.
- Saaidi M, 1992. Comportement aux champs de 32 cultivars de palmier dattier vis-à-vis du bayoud : 25 ans d'observations. *Agronomie*, 12 : 259-370.
- Saaidi M, Toutain G, Bannerot H and Louvet J, 1981. La selection du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) pour la resistance au Bayoud. *Fruits*, 36: 241-249
- Scher FM, Baker R .1982. Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of suppressiveness to *Fusarium-wilt* pathogens. *Phytopathology*, 72, 1567-1573.
- Sedra MH, El Filali H, Benzine A, Allaoui M, Nour S et Boussak Z, 1996. La palmeraie dattiere marocaine: Evaluation du patrimoine phenicicole. *Fruits* 1: 247-259
- Sedra MH, El Filali H et Frira D, 1993. Observations sur quelques caractéristiques phenotypiques et agronomiques du fruit des variétés et clones du palmier dattier selectionnés. *Al Awamia*, 82: 105-120.
- Sedra MH, Lashermes P, Trouslot P, Combes MC, and Hamon S, 1998. Identification and genetic diversity analysis of date palm (*Phoenix dactylifera L.*) varieties from morocco using RAPD markers. *Euphytica*, 103: 75-82.
- Sedra MH, 1995. Triage d'une collection de genotypes de palmier dattier pour la resistance au Bayoud cause par *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*. *Al Awamia*, 90: 9-18.
- Sedra. M H, 2000. Culture du palmier dattier et caractéristique des principales variétés mauritanienne. Edition OADA, 276 p.
- Sedra MH, 2003. Le bayoud du palmier dattier en Afrique du nord. Publication du bureau sous régional de la FAO pour l'Afrique du nord (SNEA) en protection des plantes. 124p.
- Selvaraj MS, Ohman U, Quarless DE, Hassett R, Wozniak DJ, 1998. Phosphorylation-independent activity of the response regulators AlgB and AlgR in promoting alginate biosynthesis in mucoid *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.*, 180: 956-968.
- Shah J, 2005. Lipids, lipases, and lipid-modifying enzymes in plant disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 43: 229-260.
- Sneh B, Dupler M, Elad Y and Baker R, 1984. Chlamyospore germination of *Fusarium oxysporum f. sp. cucurumerinum* as affected by fluorescent and lytic bacteria from a *Fusarium* suppressive soil. *Phytopathology*, 74: 1115-1124.
- Snyder W and Hansen N, 1945. The species concept in *Fusarium* with reference to *Discolor* and other sections. *American Journal of Botany*, 32: 657- 666.

- Snyder WC and Hansen HN, 1940. The species concept in *Fusarium*. American Journal of Botany, 27: 64–67.
- Takehara T, Kuniyasu K, 1994. Use of nitrate-nonutilizing mutants in ecological studies of *Fusarium* diseases, I. Formation of nit mutants from some formae speciales of *Fusarium oxysporum*. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn., 60: 699-704.
- Tantaoui A, Quinten M, Geiger JP and Fernandez D, 1996. Characterization of a single clonal lineage of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* causing Bayoud disease of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Morocco. Phytopathology, 86: 787–792.
- Tantaoui A and Fernandez D, 1993. Comparaison entre *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Fusarium oxysporum* des sols de palmeraies par l'étude du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP). Phytopathol. Medite., 32: 235-244.
- Thomashow LS and Weller DM, 1988. Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. J. Bacteriol., 170: 3499-3508.
- Tirichine M, 1991. Caracteristiques des palmeraies du M'Zab et de Metliti - Ressources genetiques du palmier dattier, comportement vis-a-vis du Bayoud; Communication presentee au Seminaire de la Genetique du Palmier Dattier, Adrar, Decembre 1990, In: Bulletin du Reseau Maghrebien de Recherche sur la Phoeniculture et la Protection du Palmier Dattier (PNUD/FAO), Vol 1(3) : 7-10.
- Toutain G, 1965. Note sur l'épidémiologie du bayoud en Afrique du Nord. Al Awamia, 15: 37-45
- Trifi M, Rhouma A and Marrakchi M, 2000. Phylogenetic relationships in tunisian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) germplasm collection using DNA amplification fingerprinting. Agronomie, 20: 665-671.
- Umemura K, Tanino S, Nagatsuka T, Koga J, Iwata M, Nagashima K and Amemiya Y, 2004. Cerebroside elicitor confers resistance to *Fusarium* disease in various plant species, Phytopathology, 94: 813-818.
- Voisard C, Keel C, Haas D and Défago G, 1989. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. EMBO. J., 8: 351-358.
- Warcup JH, 1950. The ecology of soil fungi. Trans. Br. Mycol. Soc., 34: 376-399.
- Weller DM, Raaijmakers JM, McSpadden Gardener RB and Thomashow LS, 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. Annu. Rev. Phytopathol., 40: 309-348.
- Whipps JM, 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. J. Exp. Bot., 52: 487-511.
- Yoo SJ, Watanabe H, Kobayashi K, Ogoshi A and Kodama F, 1993. Vegetative compatibility grouping of formae speciales of *Fusarium oxysporum* pathogenic to the Liliaceae. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 59:3-9.
- Zaid, A. and Tisserat, B. 1983. Morphogenetic responses obtained from a variety of somatic explant tissues of date palms. Bot. Marg. 96:67-73.

- Zaid A, 2002. Date palm cultivation. FAO plant production and protection paper, 156, Rev. 1, 318 pages: <http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4360E/y4360e00.htm#Contents>.
- Ziouti A, El Modafar C, El Mandili A, El Boustani E et Macheix JJ, 1996. Identification des acides caféoylshikimiques des racines du palmier dattier, principaux composés fongitoxiques vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedenis*. Journal of Phytopathology, 144: 197-202.
- Ziouti A, El Modafar C, Fleuriet A, El Boustani E and Macheix JJ, 1996. Phenolic compounds in date palm cultivars sensitive and resistant to *Fusarium oxysporum*. Biologia Plantarum, 38: 451-457.