

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE EL HARRACH - ALGER

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en sciences Agronomiques
Option : Phytopathologie et Amélioration de la résistance des plantes aux maladies

***Caractérisation de la variabilité biologique
et pathologique de *Fusarium oxysporum*
f.sp *albedinis* (Killian et Maire) W. L.
Gordon et essais de méthodes de lutte « in
vitro ».***

Présenté par :

KADRI Yasser

D. de thèse : M^{me} LOUANCHI M. Maître de conférences INA.

Co directeur : M^r KEDAD A. Chargé de cours INA.

Année Universitaire 2007-2008

Devant le jury d'examen : President : M^rBOUZNAD Z. Professeur INA. Examineurs : Mr GUEZLANE
A. Maître de conférences INA. Mr OUINTEN M. Maître de conférences Université Amar Telidji
Laghouat.

Table des matières

Dédicace . . .	5
Remerciement : . . .	6
Résumé . . .	7
Summary . . .	8
كصالخ . . .	9
Liste des abréviations : . . .	10
1. INTRODUCTION . . .	11
2. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE . . .	13
2.1. LA culture du Palmier Dattier : . . .	13
2.1.1. Quelques données botaniques et biologiques concernant le palmier dattier : . . .	13
2.1.2. Aires de culture du palmier dattier : . . .	14
2.1.3. Mode de propagation du palmier dattier : . . .	14
2.1.4. Densité et durée d'exploitation des plantations : . . .	14
2.2. Importance du PALMIER DATTIER dans le monde et en Algérie : . . .	15
2.2.1. Importance économique de la production dattière : . . .	15
2.2.2. Intérêt du palmier dattier : . . .	15
2.3. Diversité génétique des cultivars : . . .	16
2.4. Contraintes de la culture du palmier DATTIER : . . .	16
2.4.1. Ravageurs du palmier dattier : . . .	17
2.4.2. Maladies parasitaires : . . .	17
2.5. Caractérisation et identification de L'AGENT CAUSAL DU BAYOUD : . . .	20
2.5.1. Caractérisation culturelle et morphologique du <i>F.o.a.</i> : . . .	20
2.5.2. Caractérisation du <i>F.o.a.</i> par des méthodes biochimiques et moléculaires : . . .	20
2.5.3. Test du pouvoir pathogène : . . .	20
2.5.4. Caractérisation du <i>F.o.a.</i> par la compatibilité végétative : . . .	21
2.6. STRATEGIES DE LUTTE CONTRE LA BAYOUD : . . .	21
2.6.1. Mesures prophylactiques : . . .	21
2.6.2. Lutte culturale : . . .	22
2.6.3. Lutte chimique : . . .	22
2.6.4. Lutte génétique : . . .	22
2.6.5. Lutte biologique : . . .	22
3. MATERIELS ET METHODES . . .	24
3.1. MATERIELS . . .	24
3.1.1. Matériel végétal . . .	24
3.1.2. Matériel fongique . . .	24
3.1.3. Milieux de culture : . . .	25
3.2. METHODES . . .	25
3.2.1. Isolement des souches : . . .	26
3.2.2. Purification et conservation des souches de <i>F.o.a.</i> : . . .	26

3.2.3. Caractérisation culturelle et morphologique des isolats du <i>F.o.a.</i> : . . .	26
3.2.4. Test du pouvoir pathogène : . . .	27
3.2.5. Caractérisation des isolats du <i>F.o.a.</i> par la compatibilité végétative : . . .	28
3.2.6. Essai <i>in vitro</i> de l'antagonisme de <i>T. harzianum</i> à l'égard des isolats de <i>F.o.a.</i> : . . .	30
3.2.7. Essai <i>in vitro</i> de l'effet antimicrobien de substances phytochimiques à l'égard des isolats de <i>F.o.a.</i> : . . .	30
4. RESULTATS ET DISCUSSION . . .	33
4.1. Caractérisation culturelle et morphologique des isolats du <i>F.o.a.</i> : . . .	33
4.1.1. Caractéristiques de croissance en culture des isolats du <i>F.o.a.</i> : . . .	33
4.1.2. Croissance mycélienne radiale : . . .	35
4.1.3. Morphologie et mensuration des spores des isolats de <i>F.o.a.</i> : . . .	37
4.1.4. Analyse en composantes principales des variables des caractéristiques culturelles des isolats : . . .	40
4.2. Test du pouvoir pathogène de quelques isolats De F.O.A. : . . .	45
4.2.1. Comportement des cultivars Tgaza et Takerboucht à l'égard de quatre isolats de <i>F.o.a.</i> : . . .	45
4.2.2. Pouvoir pathogène des quatre isolats de <i>F.o.a.</i> : . . .	48
4.3. Caractérisation des isolats du <i>F.o.a.</i> par la compatibilité végétative : . . .	49
4.3.1. Isolement des mutants "nit" : . . .	49
4.3.2. Caractérisation des mutants : . . .	49
4.3.3. Confrontation des mutants : . . .	50
4.4. ESSAI <i>IN VITRO</i> DE L'Antagonisme de <i>Trichoderma harzianum</i> à l'égard de QUELQUES isolats de <i>F.o.a.</i> : . . .	53
4.5. Essai <i>in vitro</i> de l'Effet antimicrobien de substances phytochimiques à l'égard de quelques souches de <i>F.o.a.</i> : . . .	56
4.5.1. Effet antimicrobien des huiles essentielles d' <i>Ammoides verticillata</i> : . . .	56
4.5.2. Effet antimicrobien des extraits de <i>Citrullus colocynthis</i> : . . .	58
5. CONCLUSION GENERALE . . .	63
6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES . . .	64
Annexe . . .	69
Annexe 1: . . .	69
Annexe 2 : . . .	70
Annexe 3 : . . .	71

Dédicace

« Je dédie ce modeste travail à toutes Ma famille et à tous ceux qui m'ont Soutenus dans les pires moments »

Remerciement :

Ce travail a été réalisé dans les laboratoires de phytopathologie de l'I.N.R.A.A. d'Adrar et le Laboratoire de recherche de Mycologie du Département de Botanique de l'I.N.A et le Laboratoire des produits naturels de l'université abou bakr bel kaid de Tlemcen.

Mes remerciements s'adressent à Madame LOUANCHI M., Maître de conférence à l'institut National Agronomique d'El Harrach (Alger), ma directrice de thèse pour toute l'aide et l'intérêt qu'elle a porté à mon travail. Pour ces conseils et ces encouragements, à qui j'exprime toute ma reconnaissance.

Je remercie vivement Monsieur KEDAD A., d'avoir accepté d'être co-promoteur et pour son aide et ces conseils, nombreux et constructifs. Son soutien, qui a été des plus encourageants, à qui j'exprime toute ma gratitude et ma reconnaissance.

Mes remerciements s'adressent à Monsieur le professeur BOUZNAD Z. à l'institut National Agronomique d'El Harrach (Alger), d'avoir accepté de présider et de juger ce modeste travail.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur GUEZLANE A., Maître de conférences INA, et à Monsieur OUINTEN M. Maître de conférences à l' Université Amar Telidji Laghouat,, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail. Algérie

Je remercie vivement :

Monsieur MOUSSAOUI ABDELLAH Maître de conférence de l'Université de Bechar, et Monsieur Itsouri Kadour de l'institut National Agronomique d'El Harrach, pour leurs aides précieuses.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Résumé

La fusariose est une maladie qui présente une menace sérieuse pour le palmier dattier en Algérie .des prospections ont été effectuées dans différentes régions du sud ouest Algérien.

Le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*., champignon responsable de la maladie du bayoud a été isolé essentiellement de la wilaya d'Adrar.

Les isolats étudiés ont été identifiés par test de pathogénicité et l'étude de la compatibilité végétative. Le résultat confirme les travaux antérieurs réalisés à l'INA El-Harrach.

La souche de *Trichoderma. harzianuma* présenté une activité antagoniste importante

L'huile essentiel d' *Ammoides verticillata* ou nunkha a eu un effet un effet inhibiteur de la croissance mycélienne des isolats *F.o.a.in vitro*.

L'extrait brut de *Citrullus colocynthis*ainsi que des fractions saponosides et glucosides extraits à partir de graines de *C colocynthis*présentent un effet inhibiteur de la croissance mycélienne des isolats *F.o.a. in vitro*.

Mots clés : Palmier Dattier, caractérisation, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, Variabilité, compatibilité végétative, *Trichoderma. harzianum* , *Ammoides verticillata*, *Citrullus colocynthis*.

Summary

The scab is a disease which presents a serious threat to date palms in Algeria. Surveys have been conducted in different regions of south-west Algeria. The *Fusarium oxysporum* f. *SP. albedinis.*, fungus responsible for the disease bayoud was isolated mainly wilaya of Adrar.

Isolates were studied by test identifies pathogenicity and studying the compatibility vegetative. The result confirms previous work. The strain of *Trichoderma. harzianum* presented a major antagonist activity. The essential oil of *Ammoides verticillata* or nunkha has had an adverse effect inhibitor growth mycélienne isolates *F.o.a. in vitro.* The extract crude *Citrullus colocynthis* and fractions saponosides and glycosides extracted from seeds of *C colocynthis* have an inhibiting effect on growth mycélienne isolates *F.o.a. in vitro.*

Keywords: Palm Dattier, characterization, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, variability, compatibility vegetative *Trichoderma. harzianum*, *Ammoides verticillata*, *Citrullus colocynthis*.

تصالخ

البيوض هو المرض الذي يشكل تهديدا خطيرا على اشجار النخيل في الجزائر. وقد اجرىته عمليات المسح و التثقيف في مناطق مختلفة من جنوب غرب الجزائر.

و *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*، هو الفطر المسبب لمرض البيوض حيث تم عزل عدة افراد من التوليفه و لقيه اذرار.

تم درس هذا الفطر من قبل اختبار بعض الامراض و دراسة مدى توافق النباتية. النتيجة المتحصل عليها تؤكد نتائج الأعمال السابقة.

- *Trichoderma harzianum* كان له اثر سلبي مانع النمو الفطر *F.o.a.*

- *Ammoides verticillata* او *nunkha* مع الزيوت الأساسية كان له اثر سلبي مانع لنمو الفطر *F.o.a.*

- الممتطون الخام *Citrullus colocynthis* و المركبات *glycosides* و *saponosides* المستخرجه من بذور *Citrullus colocynthis* كان لها تأثير سلبي على نمو

هذا الفطر *Fusarium oxysporum f. SP. albedinis*

الكلمات الرئيسية : النخيل، تحديد الخطأص . *Fusarium oxysporum f. SP. albedinis* ،
التنوع الجيني. والتوافق النباتي . *Trichoderma harzianum* . *Ammoides verticillata* .
Citrullus colocynthis .

Liste des abréviations :

- PDA : Potatoes Dextrose Agar
- PDA ac : Potatoes Dextrose Agar acidifier
- CDA : Czapek's Dextrose Agar
- CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
- CV : Compatibilité Végétative
- F.o.a. : *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*.
- GCV : Groupe de Compatibilité Végétative
- I.N.R.A.A : Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie.
- KPS15 : Milieu de base de (KClO₃)= 15g, Pomme de terre et Saccharose.
- MM : Milieu Minimum.
- Nit : Mutant nit résistant au chlorate et ne présentant pas de type sauvage sur Milieu Minimum.

1. INTRODUCTION

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) constitue l'élément fondamental de l'écosystème oasien. L'importance économique de la production du dattier est loin d'être négligeable ; estimée à plus de deux millions de tonnes (Badji, 1990). Les palmeraies permettent la subsistance d'une population dont les moyens d'existence reposent entièrement sur leur exploitation. La datte est l'aliment de base des populations des régions sahariennes. Dans ces dernières, la consommation est très élevée et peut atteindre 150 à 180 kg/personne/an. (O.N.U.A.A., 1990).

L'Algérie qui compte environ sept millions et demi (7 500 000) de palmiers dattiers produisant annuellement 370 000 tonnes, est le septième pays producteur de dattes dans le monde et le neuvième pays exportateur (ANONYME, 2003). Par ailleurs, la production de dattes occupe la première place des exportations hors hydrocarbures. Indépendamment de son importance économique avérée, la culture du palmier dattier joue un rôle primordial dans l'équilibre du développement des systèmes agraires oasiens et dans le maintien d'une sécurité alimentaire.

La culture du palmier dattier n'a cessé de se dégrader au Maghreb et ceci dès le début du XIX^{ème} siècle à cause d'une maladie vasculaire appelée communément "bayoud" dont l'agent causal est un champignon *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* (Killian et Maire) W. L. Gordon (= *F.o.a.*). Celui-ci est à l'origine de la destruction de plus de 10 millions et 03 millions de palmiers respectivement au Maroc et en Algérie (Djerbi, 1982). Devant la gravité des dégâts et le danger permanent de contamination des palmeraies de l'est du pays, il a été nécessaire de prendre des mesures afin de protéger les régions phœnicicoles indemnes et de développer les recherches sur les méthodes de lutte et les procédés de reconstitution des plantations des oasis infectés (BADJI, 1990).

Des stratégies de lutte ont été développées mais la plus prometteuse semble être l'utilisation de cultivars résistants au bayoud, parmi les ressources génétiques du palmier dattier ou par la sélection de nouveaux cultivars (Saaidi et al., 1979). Cependant, celle-ci doit s'inscrire dans le cadre d'un programme de lutte raisonnée tenant compte de la diversité des cultivars, l'amélioration des méthodes prophylactiques et des pratiques culturales et la recherche de substances biotiques ou chimiques permettant l'inhibition de l'agent causal du bayoud.

Ces études doivent prendre en considération le *F.o.a.* et notamment la variabilité génétique intraspécifique qui pourrait exister au sein de ses populations.

Pour cela différents critères permettent d'identifier clairement la forme spéciale de ce pathogène ainsi que la structure de ses populations.

La situation du moment, et la gravité du problème nous a amené à définir plusieurs objectifs :

D'une part, l'identification et la caractérisation d'une collection de 20 isolats, obtenus à partir de prélèvements réalisés dans plusieurs oasis des régions du Touat, Gourara et Tidikelt. Les critères utilisés pour cette étude portent sur une caractérisation morphologique et culturale, une étude de la compatibilité végétative et un test du pouvoir pathogène.

D'autre part, des essais ont été entrepris dans le cadre de la lutte biologique par l'utilisation *in vitro* d'un agent antagoniste *Trichoderma harzianum* et d'extraits de plantes afin de tester l'efficacité de ces derniers sur la croissance mycélienne du *F.o.a.*

2. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

2.1. LA culture du Palmier Dattier :

Originnaire des bords du Golfe Persique, le palmier dattier s'est largement répandu au Moyen orient et en Afrique du Nord et constitue la ressource biologique à la base de l'agriculture oasienne (Toutain et Louvet, 1974). Le palmier dattier de par la place qu'il occupe dans l'agriculture saharienne constitue la principale ressource des 2,2 millions d'habitants des régions sahariennes de l'Algérie.

2.1.1. Quelques données botaniques et biologiques concernant le palmier dattier :

Le palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L., est une monocotylédone pérenne appartenant à la famille des *Arecaceae* et à l'ordre des *Arecales*. Il peut atteindre une hauteur de 30 mètres et possède un tronc cylindrique ou stipe qui porte une couronne de feuilles appelées palmes. Ces dernières sont pennées et mesurent 4 à 7 mètres de longueur. Elles comportent deux parties :

- Le pétiole entouré à sa base par un feutrage est une gaine très développée
- Le limbe constitué de folioles dans les deux tiers supérieurs est épineux à la base.

Le palmier dattier est une plante dioïque. Les inflorescences mâles et femelles appelées spadices sont enveloppées d'une grande bractée membraneuse ou spathe. L'inflorescence résulte du développement des bourgeons axillaires qui sont situés à la base des palmes au niveau de la couronne. Les inflorescences mâles sont plus courtes que celles femelles. Les fleurs mâles possèdent 6 étamines tandis que celles femelles comportent trois carpelles indépendants dont un seul se développe pour former le fruit. Chez les arbres fruitiers comme chez toutes les plantes supérieures, il existe des mécanismes qui contrôlent et orientent les phénomènes de la production sexuée. Certains mécanismes favorisent, autorisent ou interdisent l'union entre parents mâles et femelles. Pour une espèce ou un cultivar particulier, tous les pollens n'ont donc pas la même capacité de fécondation (Hugard, 1978).

Les fruits du palmier dattier ou dattes sont regroupées en régime. Ce sont des baies à chair sucrée dont la couleur d'abord orange vire au brun à maturité. Le mésocarpe est fibro-charnu, l'endocarpe uni à la graine est membraneux. Les dattes ont une forme allongée pouvant atteindre jusqu'à 5 cm de longueur. Elles renferment un noyau également allongé de 2 à 3 cm de longueur qui constitue la graine. Cette dernière possède un embryon circulaire et un albumen corné formé de matière cellulosique (Abdellah, 1990).

La fécondation du palmier dattier qui est toujours croisée permet d'assurer le maintien d'une diversité génétique appréciable. La pollinisation se fait habituellement par le vent (anémophile). Il est à remarquer que dans les régions phœnicicoles, La pollinisation artificielle en phœniciculture est connue depuis très longtemps : en Mésopotamie et en Egypte, plusieurs millénaires avant notre ère (Munier, 1958). La pollinisation artificielle peut être réalisée selon une méthode traditionnelle ou de manière mécanisée (Toutain, 1967 ; Enaimi et Jafar, 1980 ; El Bekr, 1972 ; Munier, 1973).

2.1.2. Aires de culture du palmier dattier :

Le palmer dattier est présent au niveau des cinq continents. Si nous reportons sur un planisphère les zones de culture du dattier dans le monde, nous constatons que c'est la partie sud du bassin méditerranéen qui a l'apanage de la phoeniciculture avec une extension marquée vers les pays du golfe persique. Les limites extrêmes s'étendent sensiblement entre '10" de latitude Nord (Somalie) et le 39" de latitude Nord (Elche en Espagne ou Turkmenistan). Les zones les plus favorables sont comprises entre le 24" et le 34" de latitude Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, Egypte, Irak, etc...). Aux Etats-Unis la culture s'étend du 33" au 35" parallèle. Il faut noter qu'il n'existe que des surfaces négligeables de dattiers dans l'hémisphère Sud (Australie, Amérique du Sud...). Le palmier dattier offre de larges possibilités d'adaptation, c'est une espèce thermophile ayant une activité qui se manifeste à partir d'une température de + 7 à + 10°C selon les cultivars et les conditions climatiques locales. La température de 10°C est généralement considérée comme le zéro de végétation (Munier, 1973). L'intensité maximale de végétation est atteinte à des températures dépassant 30°C se stabilise ensuite et commence à décroître vers 38-40°C (Nixon et al., 1978).

2.1.3. Mode de propagation du palmier dattier :

La propagation du palmier dattier se réalise par les voies asexuée (= végétative) et sexuée.

Le palmier dattier appartenant à une espèce très largement hétérozygote et dioïque, sa multiplication sexuée produit des plantes très hétérogènes. Les populations issues de semis sont composées pour moitié de plantes mâles et pour moitié de plantes femelles. Cette voie de multiplication par semis bien qu'elle fut à la base de l'existence des palmeraies et des variétés, dut être abandonnée il y a fort longtemps pour céder sa place à la multiplication par voie végétative par des rejets ou jebbars. La reproduction par graine est longue, elle ne permet en effet d'obtenir des sujets productifs qu'au bout d'une dizaine d'années. Cependant, ce mode de propagation permet d'obtenir parfois des phénotypes intéressants et reste une voie importante aussi bien pour les sélectionneurs que pour les études biologiques et physiologiques. Chaque palme, même à l'état d'ébauche, axile un bourgeon. Ce sont les bourgeons axillaires se trouvant à la base du stipe qui se développe pour donner des rejets, essentiellement au cours des premières décades de la vie du palmier dattier. L'utilisation des rejets pour multiplier le palmier dattier étant la seule méthode utilisée par les phoeniciculteurs, des recherches et de nombreuses expérimentations ont, par conséquent, été effectuées. La multiplication du palmier dattier par rejet s'avère un mode de propagation très limité en raison du nombre restreint de rejets formés (Barret, 1973 ; Munier, 1973 et Toutain, 1967).

2.1.4. Densité et durée d'exploitation des plantations :

La durée de vie du palmier dattier peut dépasser 70 ans mais la période maximale d'exploitation en milieu oasien est en moyenne de 50 ans.

La densité de plantation du palmier dattier doit être la résultante de plusieurs facteurs à savoir :

Le cultivar et son développement : La Deglet Nour est établie à 100 pied/ha (10 X 10).

L'éclairage ou la lumière : Pour des palmiers isolés, bien éclairés, les rendements paraissent supérieurs.

La région et son climat :

- Dans les oasis du Touat et le Gourara, 500 palmiers par hectare.
- Dans le Mzab, 350 palmiers par hectare.
- Au Sud du Sahara en Mauritanie, 200 à 277 pied/ha.
- En zone Sahélienne, 238 pied/ha.
- Dans les anciennes palmeraies (non alignées), la densité peut dépasser 500 pied/ha cela a un effet direct sur les rendements du palmier qui deviennent très faibles.

La mécanisation de la culture et les cultures sous-jacentes : ce facteur est pris en considération pour le choix d'une densité de plantation du palmier dattier (Barret, 1973 ; Munier, 1973 et Toutain, 1967).

2.2. Importance du PALMIER DATTIER dans le monde et en Algérie :

2.2.1. Importance économique de la production dattière :

La production mondiale de dattes s'est élevée en 2002 à plus de 6 millions de tonnes. L'Egypte et l'Iran sont les pays leaders ; ils couvrent le tiers de la production mondiale.

L'Algérie est classée au 7^{ème} rang avec une production annuelle de 370 000 tonnes. Celle-ci occupe une place importante dans les exportations hors hydrocarbures. En effet, la production de dattes occupe la première place des exportations hors

hydrocarbures. En outre, l'Algérie est placée au 9^{ème} rang des pays exportateurs de dattes. La superficie phoenicicole algérienne couvre environ deux millions de km². Il a été recensé huit cents cultivars dans une population comportant six à dix millions de palmiers dattiers. La diversité variétale est importante dans les oasis traditionnelles où les agriculteurs laissent pousser des plants issus de semis. Par contre, dans les aires de culture intensive on compte beaucoup moins de cultivars. En outre, la répartition des cultivars à travers les zones phoenicicoles dépend directement des conditions bioclimatiques tolérées par chaque cultivar. C'est ainsi que les dattes de la variété Deglet Nour collectées à Tolga ou à Biskra sont de très bonne qualité par rapport à celles du Mzab qui sont généralement plus sèches et plus petites (Anonyme, 2003).

2.2.2. Intérêt du palmier dattier :

La culture du palmier dattier représente une spéculation de subsistance extrêmement importante dans la plupart des régions désertiques. Indépendamment de la valeur énergétique des dattes, plus de 130 usages de ces dernières ont été identifiés auprès des populations oasiennes. Le palmier dattier a eu de tout temps une place privilégiée dans l'existence et le développement des oasis. Ceci s'explique essentiellement par des raisons agro- économiques. En effet le palmier dattier est particulièrement bien adapté aux fortes chaleurs d'été qui caractérisent ces déserts. La température moyenne annuelle s'y situe

entre 20 et 25°C, avec une saison très chaude de mai à octobre (température moyenne 28°C) et un hiver frais (température moyenne 13°C).

La datte ne mûrit correctement et complètement que si la somme des températures (température moyenne mensuelle moins 18°C multipliée par le nombre de jours de chaque mois considéré), durant la période de fructification (environ 180 jours en Afrique du Nord) dépasse en moyenne 1 500°C (1 800°C pour la variété 'Deglet Nour'). Seules, ces régions garantissent, normalement, la chaleur suffisante pour faire face à cette contrainte. Dans les oasis situées hors de ce contexte climatique (oasis côtières de Tunisie, de Libye, d'Égypte et de Palestine, oasis de Marrakech, oasis d'Elche), les dattes sont de moins bonne qualité ou, sinon, se pose le problème de leur maturation et de leur conservation. La datte présente également un intérêt alimentaire et économique essentiel. C'est un fruit qui se conserve bien, permettant une consommation étalée d'une saison à l'autre. De plus, les sous produits variés du palmier dattier constituent, dans un environnement désertique particulièrement pauvre en matière première végétale, une ressource précieuse. Enfin, le port de l'arbre permet le développement de sous cultures variées, protégées de la rigueur du macroclimat (Ferry et *al.*, 1993).

2.3. Diversité génétique des cultivars :

Des critères phénotypiques ont été utilisés dans plusieurs pays pour l'identification des variétés cultivées : Iraq (ElBekr, 1972), Arabie Saoudite (El Houti et *al.*, 1995), Soudan (Zim et *al.*, 1981), Égypte, Tunisie (Ben Salah, 1993) et Algérie où plus de 1300 cultivars ont été répertoriés (Hannachi et *al.*, 1998 ; Belguedj, 2002). En plus de ces variétés identifiées, les cultivars issus des francs qui constituent une catégorie non encore identifiée représentent environ 1 à 10% du nombre de palmiers dattiers dans une oasis. Au niveau de cette catégorie qui est très riche en diversité, les pieds mâles ou "dokkars"

occupent une place prépondérante. Ces derniers subissent une érosion génétique dramatique puisque seuls les francs femelles appelés communément "khalt" ou "degla" sont sélectionnés et multipliés. Ainsi, en Algérie, la variété Deglet Nour représente la moitié des palmiers cultivés. D'autres variétés qui possèdent des caractéristiques intéressantes comme la résistance au bayoud (Takerboucht), la précocité (Ferrana, Chikh Mhammed, Warglya), la grosseur des dattes (Deglet Talmine) et la productivité (Deglet Jdir) sont également multipliées (Hannachi et *al.*, 1998).

La majorité de ces cultivars a fait l'objet de recherches sur l'évaluation de la diversité génétique à l'aide de marqueurs biochimiques et moléculaires corrélés à des caractéristiques intraspécifiques. Les marqueurs RAPD (= **R**andom **A**mplification of **P**olymorphic **D**NA) révèlent de faibles polymorphismes et ne permettent pas de distinguer des groupes clairement distinctes (Sedra et *al.*, 1998 ; Zaher et Baaziz, 2006).

2.4. Contraintes de la culture du palmier DATTIER :

La culture du palmier dattier est soumise à des contraintes abiotiques (sécheresse, salinité, désertification) ou biotiques (ravageurs animaux, champignons phytopathogènes, ... etc.).

En plus de ces contraintes, plus de 30% des palmiers ont dépassé l'âge de production en Algérie (Messar, 1996).

2.4.1. Ravageurs du palmier dattier :

La nature particulière du palmier et ses exigences climatiques font de la palmeraie un biotope spécial qui est peu favorable au développement des insectes en général. Cependant, ceux que l'on rencontre se sont acclimatés à ces conditions extrêmes (Munier, 1973).

2.4.1.1. "Bou faroua" (*Oligonychus afrasiaticus*) Mc Gr. :

La présence de cet acarien communément appelé "Bou faroua" en Algérie, "Ghobar" au Maghreb, "Taka" en Mauritanie, "Goubar" en Irak sur les dattes est révélée par la présence de toiles soyeuses blanches ou grisâtres qui retiennent le sable et la poussière rendant les dattes immangeables. Il est présent dans toute la zone subéquatoriales où pousse le palmier dattier depuis la Mauritanie jusqu'au golfe Persique. Une autre espèce *Oligonychus pratensis* Banks est présente aux U.S.A. Dans toutes les régions où sévit cet acarien, la lutte est réalisée par le poudrage au soufre (Munier, 1973 ; Bounaga et Djerbi, 1990).

2.4.1.2. "Cochenille blanche du palmier dattier" (*Parlatoria blanchardi*) Targ. :

Cette espèce appelée communément "cochenille blanche du palmier dattier" et désignée localement sous les noms de "Djereb", et "Sem" en Algérie, de "Nakoub" et "Guelma" au Maroc et de "Rheifiss" en Mauritanie est le principal ennemi de la datte aussi bien par les dommages importants qu'elle cause que par son extension géographique. Cette cochenille se nourrit de la sève de la plante et injecte une toxine qui altère la chlorophylle. Les dattes envahies sont arrêtées dans leur développement. Généralement, elles se dessèchent sans atteindre leur complète maturité, leur aspect devient défectueux. Ces dégâts peuvent entraîner la perte de la moitié de la récolte. (Munier, 1973).

2.4.1.3. La pyrale de la datte (*Myelois ceratoniae*) Zeller :

Les pyrales de la datte notamment le vers de datte. C'est l'insecte qui cause le plus de problèmes d'infestation des dattes, préjudiciables à l'exportation, notamment pour la Deglet Nour. Des études ont été entreprises pour lutter contre cet insecte essentiellement par Mr Dhouibi Mohamed à l'INA de Tunisie et beaucoup de résultats ont été obtenus (ABDELLAH, 1990).

2.4.2. Maladies parasitaires :

Les recherches entreprises sur les maladies du palmier dattier demeurent encore peu nombreuses non pas à cause de leur faible incidence économique, mais plutôt à cause des difficultés rencontrées dans l'étude et le contrôle de celles-ci (Munier, 1973 ;Djerbi et al., 1986).

2.4.2.1. Le "Khamedj" (*Mauginiella scaetae*):

Le Khamedj ou pourriture de l'inflorescence : c'est une pourriture qui est due à un champignon. Cette maladie atteint les inflorescences et peut causer beaucoup de dégâts. On lutte contre cette maladie par des produits cupriques (ABDELLAH, 1990).

2.4.2.2 La pourriture du bourgeon ou “belâat” :

C'est une maladie peu fréquente qui a été signalée pour la première fois en Algérie par Maire et Malencon en 1933 et qui est souvent liée à de mauvaises conditions de drainage. Elle se caractérise par un blanchissement des palmes du coeur et par une pourriture humide à progression rapide. L'agent causal de la maladie est *Phytophthora* sp. Celui-ci appartient à la famille *Pythiaceae*, à l'ordre *Pythiales*, à la classe *Oomycetes*, au phylum *Oomycota* et au règne *Stramenopila* (= *Chromista*). Au point de vue lutte, il est recommandé de détruire par le feu les sujets malades ainsi que le drainage des sols gorgés d'eau et la suppression des cultures intercalaires. Les traitements cupriques et le manèbe ont donné des résultats intéressants (Djerbi et al., 1986).

2.4.2.3. La maladie des feuilles cassantes :

dont l'agent causal n'est pas encore déterminé et qui attaque l'arbre lui-même.

2.4.2.4. La maladie du dessèchement du bout des palmes :

maladie en cours d'étude et qui attaque l'arbre lui-même.

2.4.2.5. La trachéomycose du palmier dattier ou “Bayoud”:

Le “bayoud” est la maladie fongique la plus grave du palmier dattier. L'agent causal de cette maladie est *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*(Killian et Maire) W. L. Gordon (= *F.o.a.*). Celui-ci est un champignon anamorphique appartenant à l'ordre *Hypocreales*, à la classe *Sordariomycetes* au phylum *Ascomycota* et au règne *Fungi*.

– Origine et distribution géographique du bayoud :

Le bayoud est très répandu sur le palmier dattier au Maroc et en Algérie. Il est apparu au Maroc dans la vallée du Drâa au nord de Zagora vers 1870, puis il s'est introduit en Algérie par les oasis frontalières de Béni Ounif en 1898, Béchar et Béni Abbès en 1908 pour atteindre les régions du Touat, du Gourara et du Tidikelt. Le bayoud qui est actuellement présent dans les oasis centrales et occidentales (TOUTAIN, 1965 ; BENZAZA et al., 1970 ; BROCHARD et DUBOST, 1970a, DUBOST, 1972) a atteint Metlili en 1950, Ghardaïa en 1965 et El-Goléa en 1978 où il a été éradiqué (DUBOST et KADA, 1975 ; DJERBI, 1982). La progression du bayoud du sud-ouest vers le sud-est constitue une menace pour les oasis des Zibans (Biskra, Touggourt) et ceux de la frontière tunisienne. L'aire de dispersion du bayoud s'étend actuellement au sud ouest algérien, au Maroc, à la Mauritanie et à l'Egypte (dont un matériel infecté provenant de ce pays a été intercepté en Espagne). La fusariose du *Phœnix canariensis* Hort. Ex Chabaud qui est similaire du point de vue symptomatologique à celle du *P. dactylifera*, a été signalée en France, en Italie, au Japon, en Californie, aux îles Canaries et en Floride. Elle est provoquée par un agent différent du *F.o.a.* par ces caractéristiques pathologiques et culturelles ainsi que par sa compatibilité végétative. Certains auteurs en font une *forma specialis* différente du *F.o.a.* (Djerbi et al., 1986 ; SEDRA et DJERBI, 1986 ; DJERBI et al., 1990).

– Importance économique du bayoud :

Le bayoud aurait détruit plus des deux tiers des palmeraies marocaines, soit 10 millions d'arbres en un siècle. Une enquête menée dans la vallée du Drâa, au Maroc en 1981, a révélé que sur 2 millions de palmiers dattiers, 165 574 ont été tués (Djerbi et al., 1986). En

Algérie, plus de 3 millions de palmiers dattiers sont morts dans les régions du Tidikelt, du Touat et du M'Zab (Brochard et Dubost, 1970b ; Dubost et Kada, 1974). Dans la plupart des oasis infestées, le bayoud a fait disparaître les meilleures variétés de renommée mondiale tel que Berni et Idrar au Maroc et Deglet Nour dans le sud ouest algérien au profit de cultivars peu productifs et de mauvaise qualité (Saaidi, 1979 ; Djerbiet *al.*, 1986).

- Symptomatologie du Bayoud :

Les premiers symptômes de la maladie apparaissent sur une ou plusieurs palmes de la couronne moyenne. Leurs folioles prennent un aspect plombé, se dessèchent progressivement de bas en haut et se replient vers le rachis (aspect de plume mouillée).

Le dessèchement se poursuit de l'autre côté, en progressant cette fois de haut en bas en sens inverse ; la palme complètement desséchée prend alors une couleur blanchâtre d'où le nom arabe de "bayoud" (du mot arabe "abiad" qui signifie blanc et qui se réfère au blanchiment des palmes des arbres malades) donné à la maladie. Une longue nécrose brune longitudinale parcourt le rachis de la palme atteinte, (voir annexe 2). Elle correspond au passage du mycélium dans les vaisseaux du rachis. Rapidement, d'autres palmes, souvent proches des premières présentent à leur tour les mêmes symptômes. A un stade avancé de la maladie, les palmes atteintes meurent et restent pendantes le long du stipe. La maladie progresse vers les palmes du centre pour atteindre le coeur de l'arbre qui meurt quand le mycélium atteint le bourgeon terminal. L'évolution de la maladie est plus ou moins rapide, de quelques mois à plusieurs années. Une coupe longitudinale du stipe d'un palmier malade montre une coloration brun rougeâtre des tissus conducteurs (Djerbi, 1990).

- Morphologie, biologie et épidémiologie de l'agent causal du bayoud :

Le *F.o.a.* est un champignon tellurique qui produit un mycélium hyalin et cloisonné. Ce dernier est fin et régulier dans les jeunes cultures et présente en cultures âgées des cellules hypertrophiées en chaîne, d'aspect globuleux rappelant des chlamydospores. La reproduction asexuée se réalise par des microphialides et des macrophialides qui produisent respectivement des microconidies et des macroconidies. Les microphialides, produisent des microconidies, (voir annexe3). Les macrophialides, forment des macroconidies, (voir annexe 3). Le *F.o.a.* se conserve dans le sol ou dans les fragments de palmiers infectés. Il pénètre directement par les racines du palmier et se localise dans les faisceaux ligneux. Là, elles germent et donnent des filaments mycéliens qui traversent la cloison et qui forment des microconidies.. Certaines plantes cultivées dans les palmeraies comme *Lawsonia inermis* L. (henné), *Medicago sativa* (luzerne) et *Trifolium* sp. qui sont des porteurs sains peuvent également héberger le *F.o.a.* (DJERBI et *al.*, 1985).

La dissémination du *F.o.a.* peut se réaliser par les rejets, les particules de terre ou par les porteurs sains contaminés provenant de zones infectées ainsi que par les morceaux de rachis infectés et par les eaux d'irrigation. Dans une palmeraie, la dissémination de la maladie s'effectue par contact entre les racines saines et celles infectées. L'étendue de cette dispersion dépend des pratiques culturales (fertilisation, irrigation, ... etc.) et des conditions climatiques favorables au développement de la maladie. En général, les conditions favorables à une croissance rapide du palmier dattier favorisent aussi le développement de la maladie. La température de croissance optimale du *F.o.a.* se situe entre 21 et 27°C. Cette croissance est inhibée à 7°C et au-delà de 37°C (BOUNAGA, 1985). Un pH égal à 5 favorise la croissance du *F.o.a.* Les sols salins semblent inhiber la croissance des populations de *F.o.a.* (Amir et Riba, 1990 ; Brac de la Perriere et BOUNAGA, 1995).

2.5. Caractérisation et identification de L'AGENT CAUSAL DU BAYOUD :

L'identification de l'agent causal en se basant uniquement sur les symptômes internes ou externes ne constitue pas un diagnostic fiable. Cette identification doit reposer sur la caractérisation culturelle et morphologique de l'agent causal, sur l'identification des cultures pures par des méthodes moléculaires, sur le test du pouvoir pathogène, sur la compatibilité végétatif et sur l'utilisation de marqueurs moléculaires.

2.5.1. Caractérisation culturelle et morphologique du *F.o.a.* :

Le *F.o.a.* peut être reconnu par ses caractéristiques culturelles sur les milieux PDA (gélose, pomme de terre-dextrose) et CDA (gélose Czapek.Dox). Sur le milieu PDA, le *F.o.a.* présente un aspect culturelle stable ce qui permet de le différencier des *F. oxysporum* saprophytes. Cet aspect, appelé forme sauvage, est caractérisé par un mycélium fin et frisé, ras, grasseux, de couleur rose saumon et de croissance lente. La forme sauvage est souvent obtenue à partir de fragment de rachis provenant de palmiers infectés (Chettab et al., 1978 ; Djerbi et al., 1985 ; Sedra et DJERBI, 1985 ; Cherrab, 1989).

2.5.2. Caractérisation du *F.o.a.* par des méthodes biochimiques et moléculaires :

L'identification du *F.o.a.* est actuellement réalisable par la PCR (= Polymerase Chain Reaction). Celle-ci permet de différencier le *f.o.a.* des autres *formae speciales* de *F. oxysporum* ainsi que des souches saprophytes. Une paire d'amorce (TL3-FOA28) a été mise au point pour le diagnostic du *F.o.a.* en culture pure. Les séquences des amorces sont 3'-GGTCGTCCGACAGATATACCGGC-5' (TL3) et 3'-ATCCCCGTAAAGCCTGAAGC-5'. Les isolats qui produisent un amplicon de 400 pb doivent être identifiés comme étant du *F.o.a.*

Les marqueurs biochimiques par l'analyse des profils isoenzymatiques ont été utilisés pour caractériser les populations de *F.o.a.* (Bosland et Williams, 1987). En Algérie, ces marqueurs ont permis de mettre en évidence une diversité intraspécifique d'une collection d'isolats prélevés à partir de palmiers atteints de différentes palmeraies d'Algérie (Bennaceur et al. 1991).

Des marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ont été utilisés sur une large collection d'isolats de *F.o.a.* provenant de différentes palmeraies marocaines et algériennes avec différentes sondes moléculaires (ADN mitochondrial du *F.o. f.sp.* conglutinans, élément transposable Fot1 de *F. o. f.sp.* melonis cloné dans pUC19) . Les résultats ont montré un très faible polymorphisme et ont suggéré une origine monoclonale du *F.o.a.* ainsi que la propagation d'une même souche virulente qui serait à l'origine de l'ensemble des foyers dans les palmeraies marocaines et algériennes. En utilisant les marqueurs RAPD, des résultats similaires avaient été obtenus au niveau des palmeraies algériennes (OUINTEN, 1996) et marocaines (Tantaoui et al., 1996).

2.5.3. Test du pouvoir pathogène :

L'inoculation artificielle de plantules de palmier dattier doit se faire à un stade dit réceptif qui correspond généralement à une durée de 3 mois après la mise en germination des graines. Les tests du pouvoir pathogène sont réalisés sur des plantules de palmier dattier par inoculation artificielle de l'agent suspecté. Si la mortalité des plantules dépasse le taux de 20%, on peut assumer qu'il s'agit du *F.o.a.* Ce taux constitue le seuil minimal nécessaire pour caractériser d'une manière sûre le *F.o.a.* (Dubost et Kada, 1974 ; Watson, 1974 ; Saaidi, 1979).

2.5.4. Caractérisation du *F.o.a.* par la compatibilité végétative :

La compatibilité végétative permet de différencier les diverses *formae speciales*, d'étudier les relations qui existent entre les isolats de la même *forma specialis* et de rechercher des corrélations avec le pouvoir pathogène. Le principe de la caractérisation par compatibilité végétative est basée sur l'utilisation de mutants spontanés incapables d'assimiler l'azote nitrique (mutants nit) mais susceptibles de compléter leurs déficiences dans un mycélium hétérocaryotique. La sélection des mutants s'effectue sur des milieux additionnés de chlorate qui peut être transformé par la nitrate réductase en chlorite qui représente une substance toxique. Sur ces milieux, il se développe un mycélium chlorate résistant lié à la mutation de l'un des gènes impliqués dans la voie d'assimilation des nitrates où le chlorate n'est plus réduit en chlorite et le nitrate est réduit en nitrite. Un tel mutant transféré sur un milieu azoté contenant du nitrate de sodium, peut se développer soit comme la souche sauvage avec un mycélium aérien abondant et dense ; ce sont des mutants chlorate-résistant capables d'utiliser les nitrates, soit sous forme de filaments fins et épars ; ce sont des mutants *nit* utilisés pour la différenciation de groupes de compatibilité végétative ou VCG (= "vegetative-compatibility grouping"). La sélection de tels mutants s'effectue sur des milieux additionnés de chlorate. Cet ion est un analogue structural du nitrate qui peut être transformé par la nitrate réductase en chlorite, substance toxique pour ce champignon (Daayf, 1993). Seul se développe un mycélium chlorate résistant, cette résistance est liée au fait que sous l'effet d'une mutation intervenue dans l'un des gènes impliqués dans la voie d'assimilation des nitrates, le chlorate n'est plus réduit en chlorite. Cette même mutation a également pour effet la réduction du nitrate en nitrite (Assigbetse, 1994).

2.6. STRATEGIES DE LUTTE CONTRE LA BAYOUD :

Les moyens de lutte contre le *F.o.a.* s'apparentent à ceux qui sont préconisés contre les autres fusarioses. Ils se limitent à des mesures prophylactiques et à des méthodes de lutte culturale, chimique, génétique et biologiques.

2.6.1. Mesures prophylactiques :

Ces mesures visent principalement à éviter ou à retarder l'introduction du *F.o.a.* dans les régions saines par la sensibilisation des producteurs et par des contrôles phytosanitaires (Louvet, 1991). Elles consistent à l'interdiction de transport de terre et d'utilisation de rejets provenant des zones contaminées (Dubost et Kada, 1975).

Si un foyer est détecté dans une région saine, une éradication par arrachage et une incinération des palmier atteints ainsi qu'une désinfection du sol par fumigation ont été

préconisés (O.E.P.P/E.P.P.O, 1990 ; C.A.B./E.P.P.O, 1997). Les mesures prophylactiques accompagnées d'opération d'éradication ralentissent la maladie mais ne pourront jamais l'arrêter (DJERBI, 1982).

2.6.2. Lutte culturale :

Les pratiques culturales permettent de diminuer l'activité du pathogène dans le sol et de favoriser les défenses naturelles du palmier en agissant sur les fumures. Dans les parcelles contaminées, les cultures de plantes telles que le henné qui nécessite une irrigation abondante favorable au développement du *F.o.a.* sont à éviter (Bulit et al., 1967).

2.6.3. Lutte chimique :

Elle consiste en l'utilisation des fongicides systémique à action endothérapique et de certains fumigants à action éradiquante. C'est ainsi que les fongicides systémiques qui se sont révélés efficaces *in vitro* ont des effets délétères pour le sol (Bounaga, 1980). En outre, leur utilisation coûteuse et inefficace *in vivo* conduit souvent à l'apparition de nouvelles souches du pathogène (DJERBI et al., 1986). La désinfection des sols par des fumigants comme la chloropicrine ou le bromure de méthyle ou la combinaison des deux a été envisagée pour l'éradication des premiers foyers de bayoud à El-Goléa (Frederix et Denbrader, 1989) et dans certaines palmeraies de Ghardaïa. Cette méthode d'éradication se heurte à plusieurs problèmes. En effet elle est très coûteuse et peut entraîner des déséquilibres au niveau de la microflore du sol et une pollution des nappes phréatiques superficielles (Brac de la Perriere et al., 1995 ; Louvet, 1991).

2.6.4. Lutte génétique :

Cette lutte vise à sélectionner des cultivars et des clones résistants à cette maladie et de bonne qualité dattière. Cette sélection va de paire avec la multiplication rapide du matériel sélectionné par la culture *in vitro* (BULIT et al., 1967 ; DJERBI, 1982, LOUVET et TOUTAIN, 1973 ; SAAIDI, 1979). La sélection de palmiers se fera par deux approches : parmi les populations naturelles ou parmi celles issues de croisements contrôlés. C'est ainsi que la première approche a permis de sélectionner, parmi 2,7 millions de palmiers au Maroc, 2337 têtes de clone dont 1057 ont été installées à Zagora et Errachidia (Maroc) ; le même programme réalisé en Algérie a permis de sélectionner quelques centaines de cultivars installés à Adrar (DJERBI, 1990).

2.6.5. Lutte biologique :

Parmi les méthodes de lutte biologique a l'égard du *F.o.a.*, on peut signaler l'immunisation, qui est basée sur le principe de l'inoculation préalable d'une plante par une autre espèce de champignon. L'inoculation artificielle de la *forma specialis lentis* qui est non pathogène pour le palmier dattier a permis d'induire une plus grande résistance des plantules suite à une seconde inoculation avec le *F.o.a* (Sedra et Djerbi, 1986 ; Sedra, 1990 ; 1995).

Des sols résistants au bayoud ont été identifiés au Maroc et en Algérie; les mécanismes de la résistance de ces sols peuvent être du type biotique ou abiotique. Plusieurs auteurs ont essayé de sélectionner des souches microbiennes antagonistes vis-à-vis des pathogènes

telluriques en vue de limiter leur progression ou de les éradiquer dans le sol (Cook et Baker, 1983).

Plusieurs agents antagonistes à l'égard du *F.o.a.* ont été testés et sélectionnés. Les critères de choix pour la sélection de ces antagonistes sont leur adaptation aux conditions arides et en particulier à la dessiccation, leur pouvoir compétitif élevé vis à vis de *F.o.a.* et leur capacité d'assimiler plus rapidement les mêmes substrats que le pathogène (Alabouvette et al., 1983 ; Amir et al., 1985 ; AMIR, 1991). Deux espèces de *Trichoderma* Pers. [*T. harzianum* Rifai et *T. hamatum* (Bonord.) Rifai] sont souvent utilisées pour lutter contre *Verticillium dahliae* Kleb. et les *Fusaria* telluriques. En effet, les espèces de *Trichoderma* peuvent produire des antibiotiques solubles comme la trichodermine, l'alaméthicine, la suzukacilline, la trichozianine et l'acétaldehyde qui exercent une action antibiotique (phénomène d'antibiose) à l'égard des champignons pathogènes telluriques (Davet, 1983). En outre, certaines espèces de *Trichoderma* peuvent exercer une action fongistatique à distance sur les jeunes hyphes (*T. viridae* Pers.) ou inhiber la formation de structures de conservation comme les sclérotés (*T. harzianum*) (Vincent, 1992).

Enfin les espèces de *Trichoderma* peuvent exercer leur pouvoir inhibiteur par la compétition pour un site ou pour un substrat nutritif. Les substances naturelles d'origine végétale ont longtemps été utilisées de manière empirique contre les bio-agresseurs. L'utilisation d'extraits végétaux offrent plusieurs avantages écologiques comme par exemple l'utilisation de formulations spécifiques (biopesticides d'origine végétale) ou mixtes (association avec des pesticides organiques de synthèse) et la stimulation des réactions de défense des plantes. Ce dernier avantage constitue une nouvelle perspective pour la protection des plantes. C'est ainsi que parmi les molécules élicitrices, la laminarine présente dans les algues marines (*Laminaria digitata*) induit une protection contre plusieurs pathogènes sur différentes cultures. C'est dans ce contexte que nous avons essayé d'étudier l'effet des extraits chimiques de deux plantes (*Ammoïdes verticillata* et *Citrullus colocynthis*) sur le *f.o.a.* *L.A. verticillata* ou nunkha semble avoir un remarquable pouvoir antimicrobien. L'étude qualitative et quantitative de l'huile essentielle d'*A. verticillata* a permis d'identifier 6 composés terpéniques : le thymol (36,39%), le limonène (16,80%), le carvacrol (13,31%), le terpinène (10,53%), le pinène (2,31%) et le géraniol (1,10%) (Mekadder, 1995).

3. MATERIELS ET METHODES

3.1. MATERIELS

3.1.1. Matériel végétal

3.1.1.1. Cultivars de palmier dattier :

Le test du pouvoir pathogène des isolats de *F.o.a.* a été réalisé sur les plantules des cultivars Tgaza et Takerboucht qui sont respectivement connus pour la sensibilité et la résistance au bayoud. Les plantules de palmier sont obtenues à partir d'un semis de graines de ces deux cultivars. Le semis a été réalisé sous serre à la station de recherche d'Adrar de l'INRAA (= Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie).

3.1.1.2. Substances végétales :

Des huiles essentielles et des extraits bruts appartenant respectivement à deux plantes *Ammoides verticillata* ou nunkha et *Citrullus colocynthis* ou coloquinte ont été utilisées pour tester leur efficacité *in vitro* à l'égard des isolats de *F.o.a.* En ce qui concerne le *C. colocynthis* nous avons également testé l'effet des fractions saponosides et glucosides extraites à partir de ses graines. Les huiles essentielles d'*A. verticillata* ainsi que les fractions saponosides et glucosides nous ont été aimablement fournies par le Laboratoire des produits Naturels de l'Université Belkaid Aboubakr de Tlemcen.

3.1.2. Matériel fongique

3.1.2.1. Isolats de *F.o.a.* :

Les isolats de *F.o. a.* utilisés ont été obtenus à partir de rachis infectés que nous avons collectés lors de prospections réalisées en 2001 et 2002 dans les palmeraies d'Adrar, In Salah et d'Aoulef. Ces isolats ont été conservés à la mycothèque du Laboratoire de Phytopathologie de la station de recherche d'Adrar. Les codifications utilisées pour la désignation des différents isolats comportent trois lettres et un chiffre. Les trois lettres correspondent à l'abréviation *F.o.a.* de l'anamorphe *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* alors que le ou les chiffres qui suivent ont été choisis aléatoirement (Tableau I).

3.1.2.2. Souche de *Trichoderma harzianum* :

La souche de *T. harzianum* que nous avons utilisée nous a été aimablement fournie par le Laboratoire de Mycologie de l'Université Belkaid Aboubakr de Tlemcen. Cette souche a été isolée à partir d'un échantillon de sol de la willaya de Tlemcen.

Elle a été repiquée et conservée sur un milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) dont la composition est indiquée dans l'annexe.

DESIGNATION LOCALITES DES ISOLATS	ANNEES D'ISOLEMENT	CULTIVARS WILLAYATE	
F.o.a. 1 Foggart Ezzwa (Ain salah)	2001	Tamanrasset	Tinaoer
F.o.a. 2 Igosten (Ain salah)	2001	Tamanrasset	Tinaoer
F.o.a. 3 Hanou (Ain salah)	2001	Tamanrasset	Ferana
F.o.a. 4 Sahla fgnia (Ain salah)	2001	Tamanrasset	Tgaza
F.o.a. 5 Gafou (Ain salah)	2001	Tamanrasset	Degla kahla
F.o.a. 6 Gafou (Ain salah)	2001	Tamanrasset	Agaz
F.o.a. 7 Timokten (Aoulef)	2001	Adrar	Tgaza
F.o.a. 8 Adgha (Adrar)	2002	Adrar	Tgaza
F.o.a. 9 Mehdia (Timmy)	2002	Adrar	Tgaza
F.o.a. 10 Bouda (Adrar)	2002	Adrar	Aramou
F.o.a. 11 Mehdia (Timmy)	2002	Adrar	Tilamsou
F.o.a. 12 Tillien (Adrar)	2002	Adrar	Tgaza
F.o.a. 13 Tillien (Adrar)	2002	Adrar	Tgaza
F.o.a. 14 Tillien (Adrar)	2002	Adrar	Tgaza
F.o.a. 15 Tillien (Adrar)	2002	Adrar	Tgaza
F.o.a. 16 Adgha (Adrar)	2002	Adrar	Tgaza
F.o.a. 17 Mehdia (Timmy)	2002	Adrar	Tgaza
F.o.a. 18 Bouda (Adrar)	2002	Adrar	Tgaza
F.o.a. 19 Tsabit (Sbaa)	2002	Adrar	Tgaza
F.o.a. 20 Ouled aroussa (Timmy)	2002	Adrar	Tgaza

Tableau I Désignation, années d'isolement et origines des isolats du F.o.a.

3.1.3. Milieux de culture :

L'isolement et la conservation des isolats du *F.o.a* et de la souche antagoniste de *T. harzianum* ainsi que le test du pouvoir pathogène, la caractérisation morphologique et culturale du *F.o.a* et les confrontations de celui-ci avec l'agent antagoniste ont été réalisés sur le milieu de culture PDA.. La croissance radiale a été réalisée sur deux milieux de culture PDA et CDA (Czapek's Dextrose Agar). En ce qui concerne la compatibilité végétative, nous avons utilisé le milieu chlorate KPS15 et le milieu MM enrichi d'une solution d'oligoéléments. La composition de tous les milieux cités ci-dessus est indiquée dans l'Annexe.

3.2. METHODES

3.2.1. Isolement des souches :

Des morceaux de rachis présentant les symptômes typiques du bayoud ont été défoliés, puis désinfectés avec un coton imbibé d'alcool éthylique et passés rapidement sous la flamme d'un bec benzen afin d'éliminer les parasites de faiblesse et les saprophytes superficielles. Les morceaux de rachis sont ensuite découpés en petits fragments de 3 à 5 mm de longueur à l'aide d'un sécateur, plongés dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5% pendant 5 minutes, rincés à deux reprises dans de l'eau distillée stérile et enfin séchés entre deux papiers filtres préalablement stérilisés. Ils sont finalement déposés à raison de 5 fragments par boîte de Pétri contenant le milieu PDA acidifié (pH 4,5) à l'aide d'une solution

3.2.2. Purification et conservation des souches de *F.o.a.* :

Des suspensions de 10^4 à 10^6 spores par millilitre dans de l'eau distillée stérile sont préparées à partir de cultures de *F.o.a.* âgées de 15 jours. Après agitation de ces suspensions, on prélève 0,5 ml de chacune de ces dernières que l'on ensemence en stries dans des boîtes de Pétri contenant un milieu à base d'eau gélosée à 2%. Les cultures sont incubées pendant 48 heures à la température ambiante (18-25°C) et sous une lumière artificielle continue. Les spores germées sont ensuite repérées à l'aide d'une loupe binoculaire. Un explantât calibré de 5 mm abritant la spore germée est prélevé puis déposé dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Les cultures monospores sont ensuite mises à incuber pendant 7 jours à la température ambiante (18-25°C) et sous une lumière artificielle continue. Les isolats, une fois purifiés, sont conservés à une température de 4°C dans des tubes inclinés contenant un milieu PDA.

3.2.3. Caractérisation culturelle et morphologique des isolats du *F.o.a.* :

La caractérisation culturelle et morphologique des isolats du *F.o.a.* a porté essentiellement sur les caractéristiques de croissance radiale en culture ainsi que sur la morphologie et les mensurations des microconidies et des macroconidies.

3.2.3.1. Caractéristiques de croissance en culture :

Les caractéristiques de croissance en culture des isolats de *F.o.a.* ont porté sur l'observation à l'oeil nu et à la loupe binoculaire de la forme, de la couleur et de l'aspect du mycélium sur des cultures âgées de 7 jours et incubées sur milieu PDA à la température de (18-25°C) et sous une lumière artificielle. La croissance radiale du mycélium des isolats a été réalisée sur deux milieux de culture PDA et CDA. A partir de chaque isolat obtenu par culture monospore, nous avons prélevé à l'aide d'un emporte pièce et à la périphérie de chaque colonie un disque de 4 mm de diamètre que l'on place au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu de culture PDA. Les cultures ainsi obtenues sont mises à incuber pendant 6 jours à une température de (18-25°C) et sous une lumière artificielle continue.

Des mesures Quotidiennes du diamètre moyen de la culture mycélienne permet de déterminer la croissance radiale des colonies selon la formule suivante (RAPILLY, 1968) :

$$L = (D - d)/2$$

L = croissance linéaire.

D = diamètre de la culture.

d = diamètre de l'explant.

La vitesse moyenne de croissance linéaire peut être calculée selon la formule suivante :

$$V_m = (C_1 + C_2 + \dots + C_n)/N.$$

V_m = vitesse moyenne.

C_1 à C_n = croissances mycéliennes journalières.

N = nombre de jours.

3.2.3.2. Mensuration des spores :

Les mensurations des spores des isolats de *F.o.a.* ont été réalisées par la mesure de la longueur et du diamètre des microconidies et des macroconidies. Les micro- et les macroconidies ont été prélevées à partir de cultures réalisées sur milieu PDA et âgées de 7 jours incubé à la température ambiante (18-25°C) et sous une lumière artificielle continue. Des suspensions de spores dans de l'eau distillée stérile sont préparées. Une goutte de chaque suspension est déposée sur une lame porte objet puis recouverte par une lamelle. Les mesures de la longueur des conidies sont ensuite effectuées à l'aide d'un microscope photonique préalablement étalonné. Pour chaque isolat, les mesures ont été réalisées sur un échantillon de 100 spores. Les résultats obtenus ont été soumis à une analyse de la variance de la taille des micro- et des macroconidies à l'aide du logiciel XLSTAT. Cette analyse permettra de déceler les différences qui existent entre les isolats et de les classer en groupes homogènes selon le test de Fisher « *F* ».

3.2.3.3. Analyse en composantes principales des caractéristiques culturelles des isolats :

Une analyse en composantes principales a été effectuée à l'aide du logiciel XLSTAT afin de d'étudier les corrélations qui peuvent exister entre les facteurs étudiés (mensurations des micro- et des macroconidies, croissance radiale mycélienne, ... etc) et de déceler les variations qui peuvent exister entre les isolats étudiés.

3.2.4. Test du pouvoir pathogène :

Le test du pouvoir pathogène de 4 isolats : *F.o.a.* 1, *F.o.a.* 6, *F.o.a.* 9 et *F.o.a.* 12 a été réalisé sur les plantules des cultivars Tgaza (sensible) et Takerboucht (résistante) obtenues à partir de semis de graines.

Les isolats ont été choisis sur la base de leur vitesse de croissance mycélienne. En effet, il existe une forte corrélation entre l'agressivité du pathogène et sa vitesse de croissance mycélienne.

3.2.4.1. Réalisation du semis :

Afin d'éliminer les agents de pourriture présents au niveau de l'épicarpe, les graines destinées au semis sont d'abord trempées dans de l'eau bouillante jusqu'à ce que celle-ci se

refroidisse. Ces dernières sont ensuite placées dans des sachets en polyéthylène de 9 cm de diamètre et 20 cm de profondeur perforés à la base et contenant un mélange de sable et de tourbe (1/1 pour chaque constituant) préalablement stérilisé pendant 2 heures à 120°C. En vue de faciliter les inoculations artificielles, on dispose à la périphérie de chaque sac deux graines diamétralement opposées. Quatre répétitions ont été réalisées pour chaque cultivar. Les plantules issues de la germination des graines ont été irriguées régulièrement tous les 2 jours. Elles ont été traitées avec une solution de bénomyl pour éviter certaines attaques fongiques. Ces traitements ont été arrêtés deux semaines avant l'inoculation.

3.2.4.2. Méthode d'inoculation artificielle :

Des suspensions de spores ont été préparées à partir de colonies des quatre isolats de *F.o.a.* âgées de 15 jours et cultivées sur un milieu PDA à une température ambiante de (18-25°C) et sous une lumière artificielle continue. Des fragments de gélose sont prélevés au niveau de chaque colonie puis déposés dans des fioles Erlenmeyers contenant de l'eau distillée stérile. Après agitation, on prépare à l'aide d'une cellule Malassez des suspensions de 10^6 spores par millilitre.

L'inoculation artificielle des plantules issues de semis a été réalisée selon la méthode décrite par Sedra (1990). Elle a été effectuée au stade une feuille et demie qui est considérée comme le plus réceptif au *F.o.a.* (Dubost et Kada, 1974). Afin d'accéder au système racinaire des plantules, des perforations ont été réalisées à travers le film de polyéthylène des sachets. Trois millilitres d'inoculum ont été apportés à l'aide d'une pipette au niveau des racines de chaque plantule.

3.2.4.3. Dispositif expérimental et notations :

L'essai du test du pouvoir pathogène a été réalisé sous des conditions contrôlées dans une serre en verre de la station de l'INRAA d'Adrar selon un dispositif en bloc aléatoire avec quatre répétitions. Dix plantules de chacun des cultivars ont été inoculées par les quatre isolats : *F.o.a.* 1, *F.o.a.* 6, *F.o.a.* 9 et *F.o.a.* 12 ce qui nous donne un total de $4 \times 2 \times 4 \times 10$ soit 320 plantules. Un témoin inoculé à l'eau distillée stérile a été réalisé pour chacun des deux cultivars. Des notations hebdomadaires ont été effectuées à partir de la première semaine après l'inoculation et se sont prolongées jusqu'à la 15^{ème} semaine.

3.2.5. Caractérisation des isolats du *F.o.a.* par la compatibilité végétative :

Afin de confirmer l'identification des isolats, la compatibilité végétative des mutants nit a été réalisée sur les 20 souches de *F.o.a.*

3.2.5.1. Principe de la compatibilité végétative :

La méthode utilisée consiste à confronter des mutants déficients pour l'assimilation des nitrates. Le *F.o.a.* possède une enzyme (nitrate réductase) qui réduit les nitrates en nitrites et qui décompose le chlorate en chlorite. Celle-ci inhibe sa croissance. Les isolats de *F.o.a.* ayant perdu la faculté de synthétiser cette enzyme sont appelés mutants "nit" et sont incapables de réduire les nitrates et ne peuvent croître que sur un milieu minimal MM car la seule source d'azote est le nitrate. La souche de référence que nous avons utilisée est

le *F.o.a.* 9 car c'est le premier isolat dont l'identification a été confirmée par le test du pouvoir pathogène. .

3.2.5.2. Recherche des mutants pour l'assimilation de l'azote :

Pour chaque l'isolat de *F.o.a.* 9 cultivé initialement sur milieu PDA plusieurs fragments de gélose de 2 mm³ contenant le mycélium sont transférés en masse sur un milieu contenant le milieu chlorate KPS15 dont la composition est indiquée dans l'Annexe. Au bout de 5 à 15 jours, des secteurs mycéliens bien individualisés apparaissent et sont supposés être des secteurs résistants au chlorate. Tous ces secteurs sont transférés sur un milieu minimal MM enrichi d'une solution d'oligoéléments (voir Annexe).

L'ensemble des secteurs va se développer en mutants "nit" de référence issus de l'isolat *F.o.a.* 9. A ce stade, il s'agit de vérifier si les secteurs obtenus sur milieu MM correspondent bien à des mutants "nit" et de déterminer à quel type de mutants "nit" il s'agit, "nit 1", "nit 3" ou "nit M" (Tableau II).

CROISSANCE SUR DIFFERENTES SOURCES D'AZOTE		
TYPES DE MUTANTS	NITRITE	NITRATE HYPOXANTHINE
Nit 1	+	-
+		
Nit 3	-	-
+		
Nit M	+	-
-		

Tableau II Caractérisation des mutants "nit" sur des milieux complémentés avec différentes sources d'azote

Pour chaque mutant "nit", 3 explants de 1 mm³ prélevées côte à côte sur le même secteur du même mutant "nit" sont déposées et repiquées chacune dans 3 boîtes de Pétri contenant le milieu MM. Pour chaque boîte, la source d'azote est différente, nitrate (NO₃), nitrite (NO₂) ou hypoxanthine. Chaque mutant "nit" de référence va subir la même manipulation. Après 5 à 7 jours d'incubation, les mutants "nit" seront caractérisés sur la base de leur croissance sur les différents milieux et seront caractérisés en "nit 1" ou "nit 3" ou "nit M". Les mutants présentant un mycélium aérien et dense sur les 3 milieux sont considérés comme des mutants "crun" et ne sont pas pris en considération. Les mutants "nit M" ont été utilisés systématiquement comme testeurs dans les croisements car ils se complémentent régulièrement avec les mutants nit3 et nit1.

3.2.5.3. Test de compatibilité végétative :

Les mutants nit M obtenus à partir de l'isolat de référence *F.o.a* 9 sont confrontés aux mutants "nit 1" et "nit 3" sur le milieu MM. La formation d'un mycélium dense et abondant entre les deux mutants "nit" du même isolat permet d'indiquer qu'ils sont complémentaires. Les meilleures combinaisons sont obtenues entre les mutants "nit M" et "nit 3". Par la suite un mutant de chaque isolat de *F.o.a.* est confronté séparément avec "nit 1" et "nit 3" considéré comme testeurs. L'incubation a été réalisée dans les mêmes conditions citées précédemment. La formation d'hétérocaryons est notée au bout de 7, 14 et 21 jours.

3.2.5.4. Confrontation des mutants :

Tous les isolats de la collection sont cultivés sur milieu chloraté. Les secteurs résistants au KClO₃ obtenus sont repiqués sur milieu minimal MM pour obtenir les mutants "nit". Chacun de ces derniers est caractérisé par repiquage dans les trois milieux MM dont l'unique source d'azote est soit le nitrate, le nitrite ou l'hypoxanthine. Tous les mutants "nit M", "nit 1" et "nit 3" ainsi obtenus sont confrontés aux mutants "nit" de la souche de référence *F.o.a.* 9. Les "nit M" de référence sont utilisés dans un test de complémentation avec un "nit 1" et "nit 3" de chacun des autres isolats sur le milieu MM.

De petits explants de 1 mm³ sont repiqués à 5 cm l'un de l'autre. Cette distance favorise le développement d'une réaction très rapide. La réaction positive est traduite par l'apparition au bout de 5 à 10 jours au niveau de la zone de contact d'un mycélium aérien, épais et dense entre les deux explants qui représentent l'hétérocaryon.

3.2.6. Essai *in vitro* de l'antagonisme de *T. harzianum* à l'égard des isolats de *F.o.a.* :

Une souche de *T. harzianum* provenant d'un échantillon de sol de la willaya de Tlemcen a été confronté aux quatre isolats (*F.o.a.* 1, *F.o.a.* 6, *F.o.a.* 9 et *F.o.a.* 12) utilisés lors de l'étude du pouvoir pathogène.

Deux implants l'un appartenant à *T. harzianum*, l'autre à l'un des isolats de *F.o.a.* sont placés à une distance de 2 cm l'un de l'autre dans une boîte de Pétri contenant 18 ml d'un milieu PDA acidifié. Les implants de *T. harzianum* ont été prélevés à la périphérie de cultures âgées de 6 à 7 jours sur un milieu PDA. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque isolat de *F.o.a.* Un témoin ne comportant pas d'implant de *T. harzianum* a été effectué pour chaque isolat de *F.o.a.* Les cultures sont incubées à une température de (18-25°C) sous une lumière artificielle continue.

Pour apprécier le degré d'inhibition de la croissance mycélienne, des mesures du diamètre des colonies de chacun des isolats de *F.o.a.* sont réalisées toutes les 24 heures.

3.2.7. Essai *in vitro* de l'effet antimicrobien de substances phytochimiques à l'égard des isolats de *F.o.a.* :

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* et des extraits bruts de *Citrullus colocynthis* ont été testés à l'égard des isolats *F.o.a.* 1, *F.o.a.* 6, *F.o.a.* 9 et *F.o.a.* 12.

3.2.7.1. Effet antimicrobien de l'huile essentielle d'*A. verticillata* à l'égard de quelques isolats de *F.o.a.* :

L'étude de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle d'*A. verticillata* à l'égard des quatre isolats de *F.o.a.* a été réalisée par un test d'efficacité sur l'inhibition de la croissance radiale.

– Préparation de l'émulsion contenant l'huile essentielle d'*A. verticillata* :

Une solution comportant 90 ml d'eau distillée et 2,5 ml de Tween 80 est stérilisée à 120°C pendant 20 minutes dans un autoclave. Afin d'obtenir une émulsion stable, on ajoute un millilitre d'huile essentielle sous des conditions stériles à 9 ml de la solution précédemment préparée. A partir de cette solution mère, on réalise des dilutions. Dans des tubes à essais contenant chacun 13,5 ml de milieu de culture gélosé en état de fusion, on ajoute 5 ml de la solution mère ou les diverses dilutions de celle-ci de façon à obtenir des concentrations en huile essentielle de 10^{-1} à 10^{-4} . Le mélange est coulé dans des boîtes de Pétri.

– Test d'efficacité :

Le test d'inhibition a été réalisé par la méthode dite de contact qui consiste à préparer un milieu de culture à base de la matière à tester et de mesurer la croissance de chacun des isolats de *F.o.a.* cultivé sur ce milieu. Après solidification, des explantats de chacun des isolats sont ensemencés à la surface du milieu. Les boîtes sont mises à incuber à une température de (18-25°C) et sous une lumière artificielle continue pendant 7 jours. Pour chaque isolat, on réalise trois répétitions. Les notations sont réalisées en mesurant la croissance radiale.

3.2.7.2. Effet antimicrobien des extraits de *Citrullus colocynthis* à l'égard des isolats du *F.o.a.* :

L'effet antimicrobien des extraits bruts de *C. colocynthis* ainsi que celui des fractions saponosides et glucosides de ces derniers ont été testés sur les isolats de *F.o.a.*

– Effet antimicrobien des extraits bruts de *C. colocynthis* à l'égard des isolats du *F.o.a.* :

L'effet antimicrobien des extraits bruts de *C. colocynthis* a été testé à l'égard des 20 isolats de *F.o.a.* cultivés sur un milieu de culture PDA acidifié (pH = 4,5) pendant 5 jours sous une température de 30°C et sous une lumière artificielle continue.

• Préparation du milieu à base d'extrait brut de *C. colocynthis* :

L'extrait brut de la coloquinte est préparé par trempage de 240 g de l'épicarpe des fruits dans 1600 ml d'eau distillée soit une concentration de 150 mg/ml. On prélève de cet extrait brut 0,5 ml, 1 ml, 2,5 ml, 3 ml, 4 ml et 5 ml que l'on additionne à un milieu PDA acidifié en surfusion de façon à atteindre 20 ml. Le milieu PDA acidifié additionné par les différentes volumes est ensuite coulé dans des boîtes de Pétri.

• Test d'efficacité :

Le test d'efficacité a été réalisé par la méthode de contact direct. Une fois le milieu PDA solidifié, les boîtes sont ensemencées à raison d'un explant de 0,6 cm de diamètre de

chacun des isolats de *F.o.a* incubé pendant 5 jours à 30°C et sous une lumière artificielle continue. Pour chaque isolat on réalise trois répétitions. Les témoins sont ensemencés sur un milieu PDA acidifiés ne contenant pas les différents volumes de l'extrait brut. Les notations sont réalisées par la mesure de la croissance radiale. Cette méthode permet également de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) qui est définie comme étant la plus faible concentration de la substance qui donne une inhibition totale de la croissance.

- Effet antimicrobien des fractions saponosides et glucosides extraites à partir de graines de *C. colocynthis* :

L'effet antimicrobiendes fractions saponosides et glucosides extraites à partir de graines *C. colocynthis* a été également testé sur 4 isolats (*F.o.a.* 1, *F.o.a.* 6, *F.o.a.* 9 et *F.o.a.* 12). Ces fractions ont été purifiées par le Laboratoire des produits Naturels de l'Université Belkaid Aboubakr de Tlemcen. A partir d'une solution de 1 mg/ml de chacune de ces deux fractions, on prélève 0.25 ml, 0.5 ml, 1 ml que l'on additionne à un milieu PDA acidifié en surfusion. Le test d'efficacité des fractions saponosides et glucosides a été réalisé comme précédemment.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Caractérisation culturelle et morphologique des isolats du *F.o.a.* :

La caractérisation culturelle et morphologique des isolats du *F.o.a.* a porté essentiellement sur les caractéristiques de croissance en culture ainsi que sur la morphologie et les mensurations des microconidies et des macroconidies.

4.1.1. Caractéristiques de croissance en culture des isolats du *F.o.a.* :

Les caractéristiques culturelles des isolats de *F.o.a.* sur milieu PDA ont porté sur l'aspect du mycélium, la couleur et la croissance des colonies (Tableau III).

ISOLATS COLONIES	COULEUR	ASPECT DU MYCELIUM DES COLONIES	CROISSANCE DES
<i>F.o.a. 1</i>	Rose	Fin et frisé	7,85
<i>F.o.a. 2</i>	Blanche	Fin et frisé	9,14
<i>F.o.a. 3</i>	Rose	Fin et frisé	8,86
<i>F.o.a. 4</i>	Rose saumon	Fin et frisé	11,71
<i>F.o.a. 5</i>	Rose saumon	Fin et frisé	9,00
<i>F.o.a. 6</i>	Rose saumon	Fin et frisé	9,14
<i>F.o.a. 7</i>	Rose saumon	Fin et frisé	8,29
<i>F.o.a. 8</i>	Rose saumon	Fin et frisé	11,86
<i>F.o.a. 9</i>	Rose	Fin et frisé	10,28
<i>F.o.a. 10</i>	Rose saumon	Fin et frisé	9,71
<i>F.o.a. 11</i>	Rose	Fin et frisé	12,14
<i>F.o.a. 12</i>	Rose saumon	Fin et frisé	12,00
<i>F.o.a. 13</i>	Rose	Fin et frisé	12,00
<i>F.o.a. 14</i>	Rose saumon	Fin et frisé	9,00
<i>F.o.a. 15</i>	Rose saumon	Fin et frisé	8,42
<i>F.o.a. 16</i>	Rose	Fin et frisé	10,43
<i>F.o.a. 17</i>	Blanche	Fin et frisé	9,86
<i>F.o.a. 18</i>	Rose saumon	Fin et frisé	11,86
<i>F.o.a. 19</i>	Rose saumon	Fin et frisé	9,71
<i>F.o.a. 20</i>	Blanche	Fin et frisé	9,296

TABLEAU III *Caractéristiques culturelles des 20 isolats de F.o.a. .*

D'une manière générale, les isolats ont exhibé un mycélium fin et frisé. La couleur des colonies qui s'est montrée variable permet de classer les isolats en trois groupes homogènes (Fig. 1) :

- Groupe 1. Colonies roses : *F.o.a. 1, F.o.a. 3, F.o.a. 9, F.o.a. 11, F.o.a. 13, F.o.a. 16.*
- Groupe 2. Colonies rose saumon : *F.o.a. 4, F.o.a. 5, F.o.a. 6, F.o.a. 7, F.o.a. 8, F.o.a. 10, F.o.a. 12, F.o.a. 14, F.o.a. 15, F.o.a. 18, F.o.a. 19.*
- Groupe 3. Colonies blanches : *F.o.a. 2, F.o.a. 17, F.o.a. 20.*

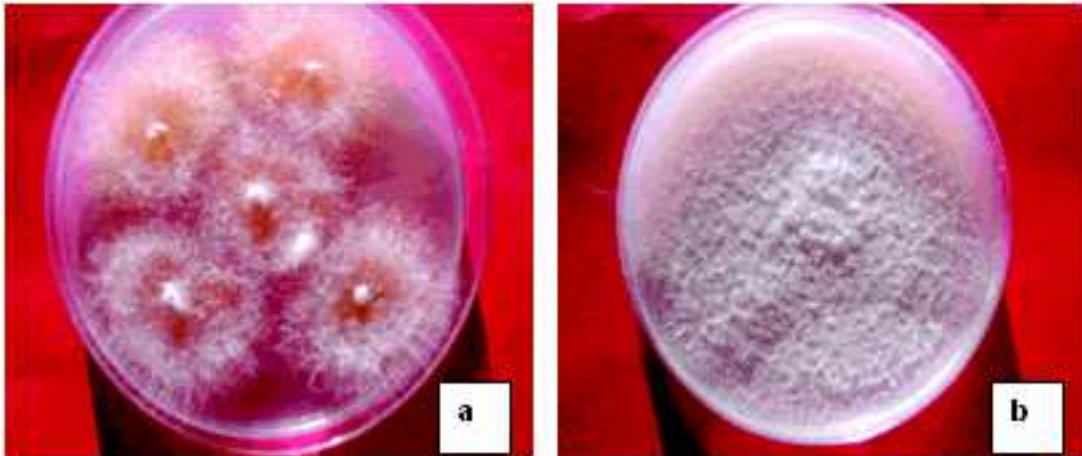


Figure 1 Aspect du mycélium et couleur des colonies.

(a) Colonies montrant un mycélium fin et frisé et une coloration rose saumon. (b). Colonie montrant une coloration blanche du mycélium.

L'aspect morphologique du mycélium au niveau des isolats semble être typique du *F.o.a.* En effet, cet aspect fin et frisé est conforme à celui décrit par les auteurs (DJERBI et *al.*, 1985 ; SEDRA et DJERBI, 1985). La plupart des isolats ont exhibé une coloration rose saumon caractéristique du *F.o.a.* Cependant, six (*F.o.a.* 1, *F.o.a.* 3, *F.o.a.* 9, *F.o.a.* 11, *F.o.a.* 13 et *F.o.a.* 16) et trois isolats (*F.o.a.* 2, *F.o.a.* 17 et *F.o.a.* 20) ont respectivement montré une coloration rose et blanche.

Cette variabilité au niveau de la coloration des colonies a été constaté par plusieurs auteurs (CHETTAB et *al.*, 1978 ; SEDRA et DJERBI, 1985 ; CHERRAB, 1989) qui ont remarqué que les cultures fraîchement isolées sont rose saumon alors que celles maintenues sur milieu synthétique virent souvent au rose, pourpre, pêche ou violet.

4.1.2. Croissance mycélienne radiale :

Les croissances mycéliennes radiales estimées au bout de 3, 5 et 7 jours d'incubation des 20 isolats de *F.o.a.* sur les deux milieux de culture PDA et CDA sont indiquées dans le Tableau IV.

Caractérisation de la variabilité biologique et pathologique de *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (Killian et Maire) W. L. Gordon et essais de méthodes de lutte « in vitro ».

MILIEU PDA		MILIEU CDA			
ISOLATS Crois. radiale	Vt de crois.	Crois. radiale			
		Vt de crois.			
Durée d'incubation		3	5	7	7
F.o.a. 1				21	31
55	7.13		11	28	35
4.83					
F.o.a. 2				24	34
94	8.13		11	28	36
6.33					
F.o.a. 3				26	32
82	7.88		11	26	36
6.2					
F.o.a. 4				38	52
82	11.33		28	48	74
F.o.a. 5				17	34
83	7.6		11	25	36
8.13					
F.o.a. 6				26	40
94	9.2		18	32	36
7.06					
F.o.a. 7				11	28
98	6.46		21	38	55
7.6					
F.o.a. 8				34	50
93	11.13		38	48	66
10.13					
F.o.a. 9				12	31
72	7.88		11	32	52
6.33					
F.o.a. 10				16	36
88	8		11	36	52
7.28					
F.o.a. 11				38	68
85	12.73		28	58	78
10.8					
F.o.a. 12				35	63
94	12.13		20	36	70
8.4					
F.o.a. 13				42	68
94	12.93		17	41	65
8.2					
F.o.a. 14				22	38
63	8.08		20	34	56
7.33					
F.o.a. 15				14	33
59	7.06		14	32	55
6.73					
F.o.a. 16				32	45
73	10		23	36	56
7.88					
F.o.a. 17				17	50
99	9.46		19	42	64
8.33					
F.o.a. 18				28	54
93	11		22	48	66
9.88					
F.o.a. 19				30	44
88	9.46		25	54	75
10.28					
---				---	---
8.2				22	36
F.o.a. 14				34	58
93	8.08		20	34	58
7.33					
F.o.a. 15				14	33
59	7.06		14	32	55
6.73					
F.o.a. 16				32	45
73	10		23	36	56
7.88					
F.o.a. 17				17	50
99	9.46		19	42	64
8.33					
F.o.a. 18				28	54
93	11		22	48	66
9.88					
F.o.a. 19				30	44
88	9.46		25	54	75
10.28					
F.o.a. 20				35	49
65	10		14	39	65
7.88					

Tableau IV Croissances mycéliennes radiales (en mm) au bout de 3, 5, 7 jours d'incubation et vitesse de croissance (mm/jour) des 20 isolats de *F.o.a.* sur les milieux de culture PDA et CDA.

Les vitesses de croissance ont été calculées au bout de 7 jours d'incubation sous une température de (18-25°C) et sous une lumière artificielle continue. Cette durée correspond au remplissage de toute la surface des boîtes de pétrie par les isolats qui ont une croissance rapide.

La croissance radiale des isolats s'est montrée plus rapide pour la majorité des isolats, sur le milieu de culture PDA que sur le CDA.

- Les vitesses de croissance maximales, sur milieu PDA, 12.93 mm/j et 12.73 mm/j sont exhibées respectivement par les isolats *F.o.a. 13* et *F.o.a. 11*.
- La vitesse de croissance minimale, sur milieu PDA, 6.46 mm/j est exhibée par l'isolat *F.o.a. 7*.
- La vitesse de croissance maximale, sur milieu CDA, 10.8 mm/j est exhibée par l'isolat *F.o.a. 11*, alors que celle minimale 6.46 mm/j est observée par l'isolat *F.o.a. 1*.

L'analyse de la variance pour le paramètre croissance mycélienne radiale des isolats mesurée au bout de 7 jours d'incubation sur les milieux PDA et CDA sous une température ambiante (18-25°C) et sous une lumière artificielle continue, a montré des différences significatives entre les isolats [$F_{\text{obs}} (5,23) > F_{0.05} (2,17)$] et également entre les deux milieux de culture [$F_{\text{obs}} (30,49) > F_{0.05} (4,38)$] (Tableau V).

SOURCE DE VARIANCE	SCE	DDL	CARRE MOYEN	F	PROB
ISOLATS	5,23	0,00036	3190,5	19	167,93
MILIEUX	980,1	30,89	2,516	1	4,38
ERREUR	32,16		610,9	19	
TOTAL			4781,5	39	

Tableau V Analyse de la variance pour les deux facteurs (isolats et milieux de culture PDA et CDA)

Le test F réalisé sur la base de la croissance radiale mycélienne, permet de classer les isolats de *F.o.a.* en 4 groupes :

- Groupe 1. Isolats dont la croissance mycélienne radiale est relativement rapide : *F.o.a.* 11, *F.o.a.* 12, *F.o.a.* 13, *F.o.a.* 8, *F.o.a.* 18, *F.o.a.* 4.
- Groupe 2. Isolats dont la croissance mycélienne radiale est rapide : *F.o.a.* 16, *F.o.a.* 9, *F.o.a.* 17, *F.o.a.* 19, *F.o.a.* 10.
- Groupe 3. Isolats dont la croissance mycélienne radiale est moyennement rapide : *F.o.a.* 20, *F.o.a.* 6, *F.o.a.* 2, *F.o.a.* 14, *F.o.a.* 5, *F.o.a.* 3.
- Groupe 4. Isolats dont la croissance mycélienne radiale est moyennement lente : *F.o.a.* 15, *F.o.a.* 7, *F.o.a.* 1.

4.1.3. Morphologie et mensuration des spores des isolats de *F.o.a.* :

Tous les isolats de *F.o.a.* ont produit un mycélium hyalin, cloisonné, fin, montrant des macrophialides et des microphialides qui différencient respectivement des macroconidies (Figs. 2a et b) et des microconidies (Figs. 2c et d). Sur les cultures âgées, on remarque la présence de chlamydo-spores (figs. 2e et f). Les mensurations des micro- et des macroconidies (moyenne des longueurs et des diamètres) réalisées sur un échantillon de 100 spores.

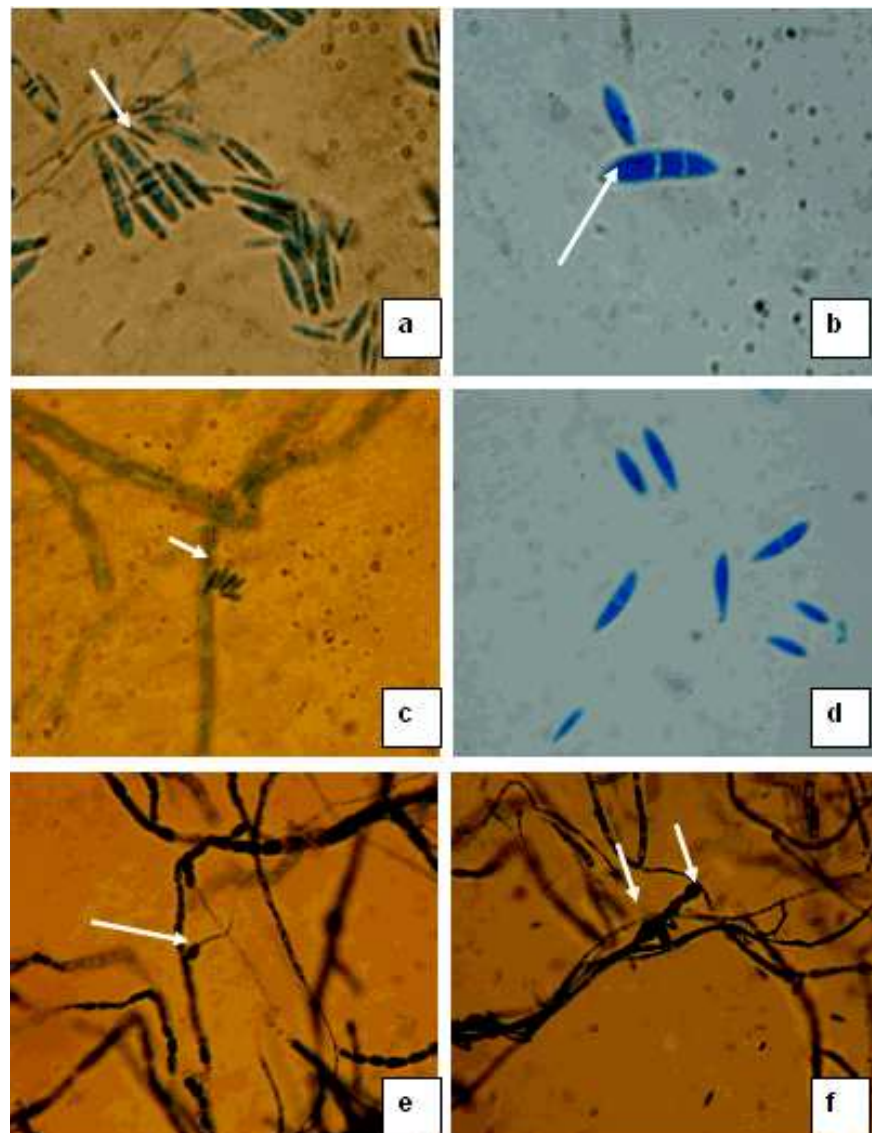


Figure 2 Fructifications asexuées du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*.

(a) Macrophialides (flèche) produisant des macroconidies. (b) Macroconidies montrant des septations (flèche). (c) Microphialides (flèche) produisant des microconidies. (d) Microconidies. (e) Chlamydospores intercalaires (flèche) produites sur le mycélium. (f) Chlamydospores terminales et intercalaires (flèches) produites sur le mycélium.

L'analyse de la variance des mensurations des conidies montre une différence non significative selon le test de Fisher au seuil de 5% (Tableau VI). Il ne semble pas exister une variabilité concernant les mensurations de la moyenne des longueurs et des largeurs des microconidies et des macroconidies des 20 isolats de *F.o.a.*

SOURCE DE VARIANCE	SCE	DDL	CARRE MOYEN
$F_{\text{observé}}$	PROB F_{critique}		
ENTRE LES LIGNES	581.574258	19	30.61
	1.097	0.421	2.168
ENTRE LES COLONNES	2477.71447	1	2477.71
	88.79	1.36	4.38
ERREUR		530.182327	19
27.90			
TOTAL		3589.47	39

Tableau VI Analyse de la variance des mensurations des spores des isolats du *F.o.a.*

Afin de rechercher l'existence d'une variabilité entre les isolats de *F.o.a.*, nous avons tenu compte de la taille des spores (longueur x largeur) ainsi que du rapport entre la taille des macroconidies et celle des microconidies (Tableau VII). Le rapport de la taille des macro- et des microconidies met en évidence quatre groupes homogènes d'isolats :

- Groupe 1 renfermant les isolats suivants *F.o.a.* 12, *F.o.a.* 11, *F.o.a.* 15, *F.o.a.* 13, *F.o.a.* 2 et *F.o.a.* 6 où les macroconidies ont une taille 4 fois plus grande que celle des microconidies.
- Groupe 2 comportant les isolats *F.o.a.* 3, *F.o.a.* 17, *F.o.a.* 16 et *F.o.a.* 1 où les macroconidies ont une taille 3 fois plus grande que celle des microconidies.
- Groupe 3 rassemblant les isolats *F.o.a.* 10, *F.o.a.* 7, *F.o.a.* 8, *F.o.a.* 20, *F.o.a.* 19 dont la taille des macroconidies est 2,5 fois plus grande que celle des microconidies.
- Groupe 4 comportant les isolats *F.o.a.* 9, *F.o.a.* 14, *F.o.a.* 4, *F.o.a.* 18, *F.o.a.* 5 dont la taille des macroconidies est 2 fois plus grande que celle des microconidies.

DES SPORES ISOLATS	TAILLE GLOBALE	
	RAPPORT	
	MICROCONIDIES	MACROCONIDIES
F.o.a.1		21,82
3,2	6,75	
F.o.a.2		29,43
4,0	7,37	
F.o.a.3		33,00
3,8	8,74	
F.o.a.4		11,99
1,8	6,63	
F.o.a.5		14,80
1,7	8,48	
F.o.a.6		34,38
4,0	8,84	
F.o.a.7		21,82
2,5	8,77	
F.o.a.8		22,75
2,5	9,20	
F.o.a.9		18,71
2,1	8,00	
F.o.a.10		18,44
2,8	5,82	
F.o.a.11		27,59
4,7	5,91	
F.o.a.12		32,16
4,8	6,77	
F.o.a.13		31,77
4,3	7,37	
F.o.a.14		15,55
2,1	7,41	
F.o.a.15		30,11
4,8	6,50	
F.o.a.16		26,85
3,7	7,35	
F.o.a.17		31,08
3,7	8,41	
F.o.a.18		13,04
1,8	7,30	
F.o.a.19		14,88
2,3	6,51	
F.o.a.20		17,63
2,3	7,45	
F.o.a.15		30,11
2,1	6,50	
F.o.a.16		26,85
4,8	7,35	
F.o.a.17		31,08
3,7	8,41	
F.o.a.18		13,04
3,7	7,30	
F.o.a.19		14,88
1,8	6,51	
F.o.a.20		17,63
2,3	7,45	
2,3		

Tableau VII Taille des microconidies et des macroconidies et rapport de leur taille.

4.1.4. Analyse en composantes principales des variables des caractéristiques culturelles des isolats :

L'analyse en composantes principales des caractéristiques culturelles (croissance mycélienne radiale des isolats et mensurations des spores) montre l'existence (Tableau VIII) :

- D'une corrélation positive entre la longueur des macroconidies d'une part et leur largeur et leur taille d'autre part : plus la largeur des macroconidies est grande plus leur longueur et leur taille le sont également.
- D'une corrélation positive entre les croissances mycéliennes sur les deux milieux PDA et CDA.
- D'une corrélation positive entre la largeur des microconidies et leur taille : plus ces conidies sont larges et plus leur taille est importante.

D'une corrélation négative entre la vitesse de croissance radiale mycélienne sur milieu CDA et la taille des microconidies : plus la vitesse de croissance est rapide moins la taille des microconidies est grande.

	Microconidies		Macroconidies			Milieux	
			Rapport				
	PDA	L ¹	L ¹	I ¹	I ¹	T ²	T ²
	CDA						
Macroconi.							
L	1		0,687	0,869	0,115	-	
0,065	0,271		0,741		-0,117	-0,011	
I	0,687	1		0,953	0,077	-	
0,212	0,099	0,898		0,039	-0,024		
T	0,869	0,953	1		0,094	-	
0,167	0,174	0,907		-0,011	-0,008		
Microconi.							
L	0,115	0,077	0,094	1		-	
0,133	0,215	-0,004	0,211		0,066		
I	-0,065	-0,212	-0,167	-0,133	1		
	0,464	-0,378	-0,203	-0,143			
T	0,271	0,099	0,174	0,215	0,464		
1		-0,238	-0,181	-0,436			
Rapport							
	0,741	0,898	0,907	-0,004	-0,378		
-0,238	1		0,096	0,164			
Milieux							
PDA	-0,117	0,039	-0,011	0,211	-0,203	-	
0,181	0,096	1		0,679			
CDA	-0,011	-0,024	-0,008	0,066	-0,143		
-0,436	0,164	0,679	1				

Tableau VIII Corrélations entre les différentes variables utilisées pour la caractérisation culturale et morphologique des isolats du *F.o.a.*

L¹, I¹ = longueur et largeur exprimées en µm

T² = taille exprimée en µm²

Les chiffres en caractères gras représentent les valeurs significatives (hors diagonale) au seuil alpha=0,050 (test bilatéral)

Les corrélations pouvant exister entre les différentes variables étudiées nous ont permis de définir quatre principaux axes ayant les valeurs les plus élevées (Tableau IX). Les pourcentages sont expliqués par quatre principaux axes (facteurs) qui doivent avoir des valeurs propres supérieures à 1 (Fig. 3).

	F2	F1
	F4	F3
Macroconidies		
L ¹		0,451
-0,168		0,090
0,102		
L ¹		0,495
-0,048		-0,015
0,033		
T ²		0,517
-0,095		0,029
0,076		
Microconidies		
L ¹		0,066
0,043		0,652
-0,591		
L ¹		-0,160
-0,370		0,243
0,649		
T ²		0,023
-0,506		0,482
0,078		
Rapport		0,501
0,125		-0,169
0,036		
Milieux		
PDA		0,029
0,498		0,439
0,216		
CDA		0,038
0,549		0,229
0,398		

Tableau IX Valeurs propres des facteurs extraits de l'analyse en composantes principales.

- L¹, l¹ = longueur et largeur exprimées en µm
- T² = taille exprimée en µm²

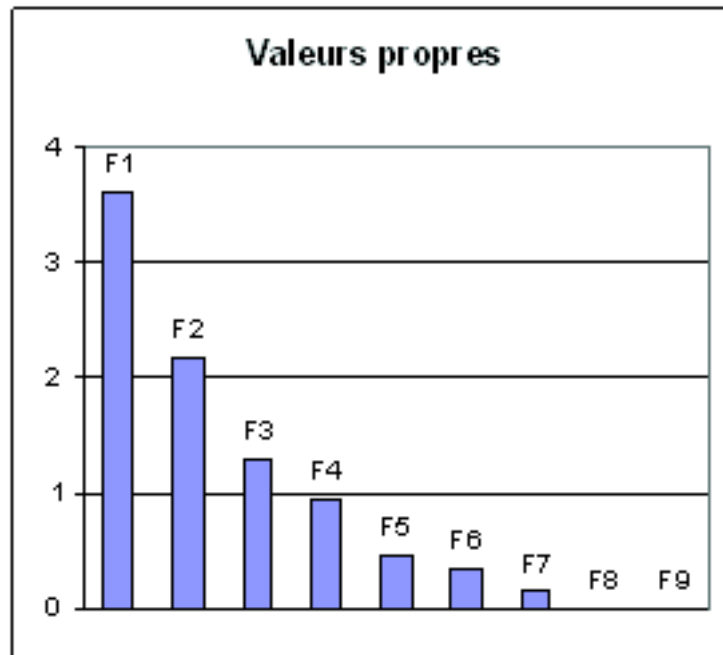


Figure 3 Valeurs propres des facteurs extraits de l'analyse en composantes principales

Le premier axe sera défini par les variables longueur, largeur, taille et rapport des macroconidies. Cet axe représentera donc la taille des macroconidies. Le second axe est déterminé par les variables taille des microconidies et vitesse de croissance mycélienne sur les deux milieux PDA et CDA. Il représentera la croissance mycélienne sur les deux milieux et la taille des microconidies. Le troisième axe sera défini par les variables longueur, taille des microconidies et vitesse de croissance mycélienne sur le milieu PDA. Il représentera donc la taille des microconidies et la croissance mycélienne sur le milieu PDA. Le quatrième axe est déterminé par les variables longueur et largeur des microconidies. Il représentera donc la taille des microconidies.

Les variables taille des macroconidies et des microconidies et croissance mycélienne définies par les axes 1 et 2 sont indiquées dans le plan 1-2 (facteurs 1 et 2). Ce plan sera donc retenu pour la suite de l'étude. Les plans 1-3 et 1-4 définis par les axes 3 et 4 ne seront pas pris en considération car ils représentent les mêmes variables déterminées dans le plan 1-2. Celui-ci fournit le maximum d'information avec 64,22% de la variation totale. La variable largeur des microconidies détermine négativement l'axe 1 qui est lui-même défini positivement par l'ensemble des autres variables (Fig. 4).

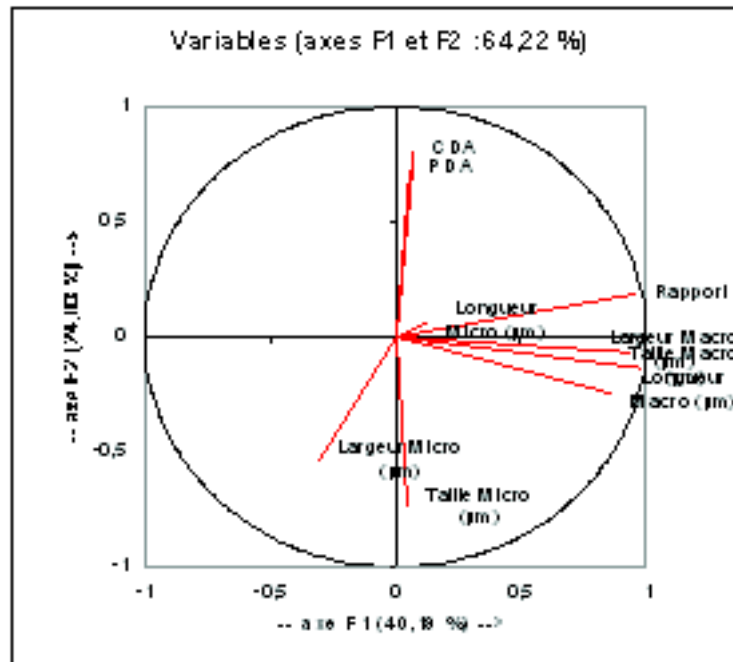


Figure 4 Cercle de corrélation des variables biologiques de l'analyse en composantes principales

Selon les pourcentages de variation, le plan 1-2 laisse apparaître six groupes d'isolats (Fig. 5).

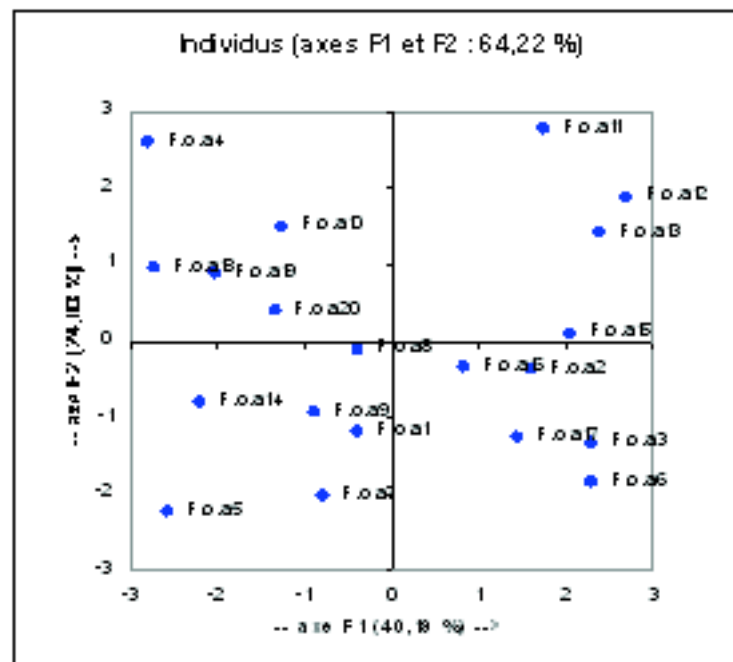


Figure 5 Projection des isolats de *F.o.a* dans le plan défini par les axes 1 et 2 de l'analyse en composantes principales

Groupe 1 : Il renferme les isolats *F.o.a.* 11, *F.o.a.* 12, *F.o.a.* 13. Il est déterminé positivement par les tailles des macroconidies (axe 1) et des microconidies ainsi que que par la vitesse de croissance mycélienne. Il est caractérisé par des macroconidies

et des microconidies relativement grandes et par une vitesse de croissance mycélienne élevée.

- Groupe 2 : Il comporte les isolats *F.o.a.* 17, *F.o.a.* 3, *F.o.a.* 6. Il est déterminé positivement par la taille des macroconidies (axe 1) et négativement par celle des microconidies et par la croissance mycélienne. Les isolats de ce groupe se caractérisent par des macroconidies relativement grandes.
- Groupe 3 : Il est constitué par les isolats *F.o.a.* 20, *F.o.a.* 19, *F.o.a.* 18, *F.o.a.* 10, *F.o.a.* 4. Il est déterminé positivement par la croissance mycélienne et la taille des microconidies (axe 2) et négativement par celle des macroconidies. Les isolats de ce groupe présentent une vitesse de croissance mycélienne relativement élevée.
- Groupe 4 : Il comporte les isolats *F.o.a.* 14, *F.o.a.* 9, *F.o.a.* 1, *F.o.a.* 7 et *F.o.a.* 5. Il est déterminé négativement par la taille des microconidies.
- Groupe 5 : Il comporte les isolats *F.o.a.* 16, *F.o.a.* 2 et *F.o.a.* 15. Il est déterminé positivement par la taille des macroconidies (axe1).
- Groupe 6 : Il comporte un seul isolat *F.o.a.* 8. Il est défini négativement par la taille des macroconidies.

L'analyse en composantes principales révèle des variations entre les isolats. Ces variations concernent les critères : taille des microconidies et des macroconidies et vitesse de croissance mycélienne radiale. Cette analyse a permis de mettre en évidence six groupes d'isolats.

La caractérisation culturale et morphologique des isolats du *F.o.a.* reste indispensable pour l'identification de cette forme spéciale de *Fusarium oxysporum* Schlttdl. Cependant, elle demeure insuffisante pour l'évaluation de la diversité génétique des populations du *F.o.a.* Les marqueurs biochimiques (BOUNAGA, 1985) et moléculaires (RFLP et RAPD) (TANTAOUI et *al.*, 1996) développés pour l'analyse des populations de *F.o.a.* au Maghreb, pourraient permettre d'approfondir la caractérisation de la diversité génétique de ce pathogène dont les populations semble appartenir à une seule lignée clonale qui a pu prendre naissance au Maroc et qui a atteint les palmeraies algériennes.

4.2. Test du pouvoir pathogène de quelques isolats De F.O.A. :

L'étude du pouvoir pathogène de quatre isolats *F.o.a.* 1, *F.o.a.* 6, *F.o.a.* 9 et *F.o.a.* 12, a été réalisée sur des plantules appartenant à deux cultivars dont l'un Tgaza est sensible au bayoud l'autre Takerbouch est résistant. Chacun des isolats sélectionnés représente l'un des groupes défini sur la base de la vitesse de la croissance radiale. En effet, il semble exister une corrélation entre la vitesse de croissance et le pouvoir pathogène des isolats.

4.2.1. Comportement des cultivars Tgaza et Takerbouch à l'égard de quatre isolats de *F.o.a.* :

Les premiers symptômes du flétrissement vasculaire se sont manifestés au bout de la 3^{ème} et de la 5^{ème} semaine respectivement pour Tgaza et Takerbouch. La mort des plantules est

survenue au bout de la 5^{ème} et la 8^{ème} semaine respectivement pour Tgaza et Takerbouch (Tableau X).

L'évolution de la mortalité des plantules des Tgaza et Takerbouch montre (Fig. 6) :

- Une sensibilité élevée des plantules de Tgaza qui s'est traduite par une période d'incubation (= période de latence) courte par rapport à celle de Takerbouch ainsi que par une mortalité élevée des plantules au bout de la 15^{ème} semaine.
- De très faibles différences du pouvoir pathogène des quatre isolats de *F.o.a.* qui ne permettent pas de déceler leur niveau d'agressivité.

ISOLATS						
DUREE <i>F.o.a.6</i> (en semaines)		<i>F.o.a.9</i>		<i>F.o.a.1</i>		<i>F.o.a.12</i>
Tg	Tk	Tg	Tg ¹	Tk	Tk ²	
1			0		0	
0	0		0		0	
0	0					
2			0		0	
0	0		0		0	
0	0					
3			0		0	
0	0		0		0	
0	0					
4			0		0	
0	0		0		0	
0	0					
5			3		0	
6	0		4		0	
4	0					
6			8		0	
11	0		6		0	
9	0					
7			13		0	
14	0		11		0	
13	0					
8			16		2	
19	5		14		0	
17	2					
9			19		4	
23	9		19		2	
20	4					
<hr/>						
10			22		4	
27	11		21		5	
21	5					
11			26		8	
29	13		22		8	
24	9					
12			30		9	
31	13		25		11	
28	12					
13			32		11	
33	15		30		12	
30	13					
14			34		11	
38	15		35		14	
36	14					
15			40		12	
40	16		40		14	
40	14					
<hr/>						
33	15		30		12	
30	13					
14			34		11	
38	15		35		14	
36	14					
15			40		12	
40	16		40		14	
40	14					

Tableau X Mortalité des plantules des cultivars Tgaza et Takerbouch après inoculation artificielle par les isolats *F.o.a.1*, *F.o.a.6*, *F.o.a.9* et *F.o.a.12*.

Tg¹ = Cultivar Tgaza, Tk² = Cultivar Takerbouch

Le taux de mortalité en fonction du temps (Fig. 7) indique une évolution linéaire pour Tgaza (taux de mortalité = 3,3841, semaines - 11,5, avec R2 = 99,43 %) et logarithmique

pour Takerbouch (Taux de mortalité = 19,846, semaines - 38,781, avec $R^2 = 97,91\%$). La mort des plantules de Takerbouch inoculées par les 4 isolats ne s'est manifestée qu'au bout de la 3ème semaine après le démarrage de la mortalité des plantules de Tgaza. Cette période de latence beaucoup plus courte chez Tgaza indique une plus grande sensibilité de celle-ci à l'égard des quatre souches de *F.o.a.*

L'analyse de la variance (cf. Tableaux XI et XII) montre des différences significatives entre les deux cultivars et confirme l'existence d'une plus courte durée d'incubation (= période de latence) pour les plantules de Tgaza par rapport à celles de Takerbouch. Ceci confirme les observations sur le comportement variétal de ces deux cultivars à l'égard du *F.o.a.* constatées par d'autres auteurs (HANNACHI et al., 1998 ; BELGUEDJ, 2002).

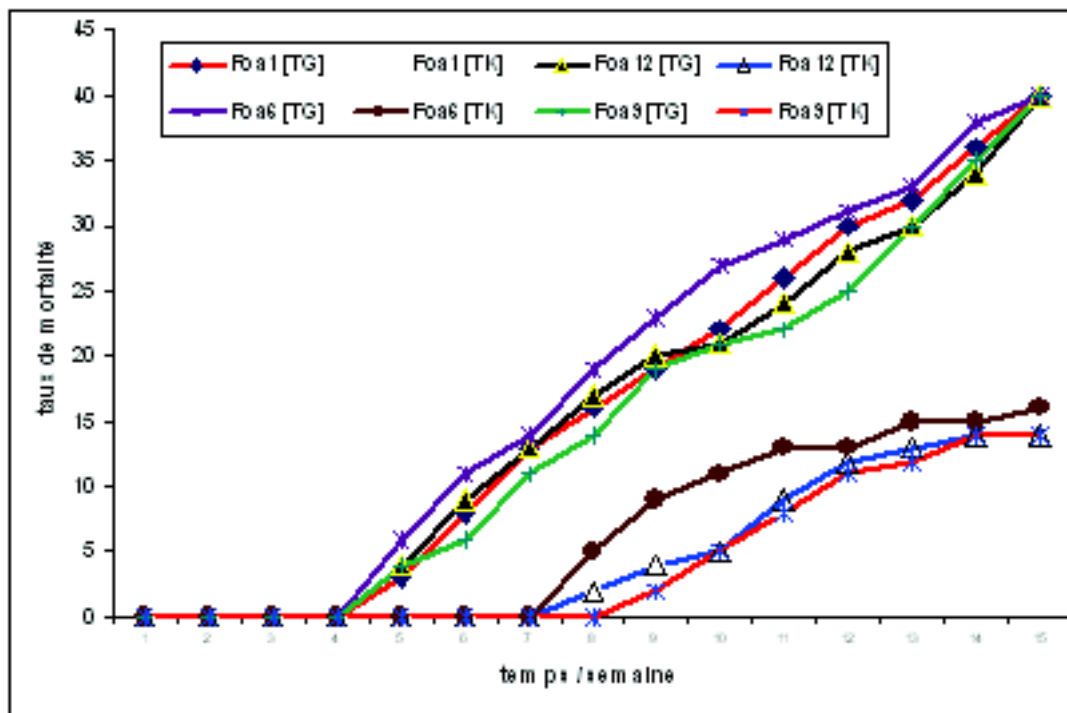


Figure 6 Mortalité des plantules de Tgaza et Takerbouch après inoculation par les quatre isolats de *F.o.a.*

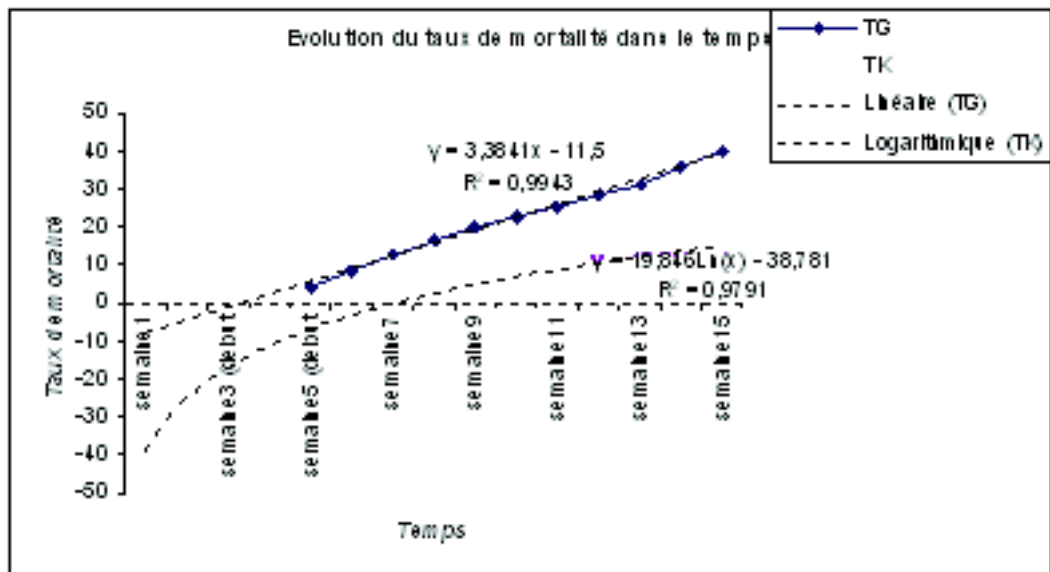


Figure 7 Taux moyen de mortalité des plantules des cultivars Tgaza et Takerbouch après inoculation artificielle par les quatre isolats de *F.o.a.*

4.2.2. Pouvoir pathogène des quatre isolats de *F.o.a.* :

Les quatre isolats de *F.o.a.* inoculés artificiellement aux plantules des deux cultivars Tgaza et Takerbouch ont permis d'extérioriser les symptômes typiques d'un flétrissement vasculaire (bayoud), ce qui confirme, avec les caractères morphologiques et culturaux, l'identité de la forme spéciale *albedinis*. L'isolat *F.o.a.* 6 semble être le plus agressif puisqu'il présente les taux de mortalités des plantules les plus élevées pour les deux cultivars (Tableau X, Fig. 6).

L'analyse de la variance de la mortalité des plantules des deux cultivars Tgaza et Takerbouch montre qu'il existe des différences significatives entre les 4 isolats (Tableaux XI et XII). Le test F permet de classer sur la base du taux de mortalité les quatre isolats de *F.o.a.* : *F.o.a.* 6; *F.o.a.* 9, *F.o.a.* 12, et *F.o.a.* 1.

SOURCE DE VARIANCE	SCE	DDL	CARRE MOYEN
$F_{\text{observé}}$	PROB F_{critique}		
SEMAINES		10923,93	14
780,281		496,041	6,53
ISOLATS		68,18	3
22,728		14,449	1,31
ERREUR		66,07	42
1,573			
TOTAL		11058,18	59

Tableau XI Analyse de la variance du taux de mortalité des plantules de Tgaza

SOURCE DE VARIANCE	SCE	DDL	CARRE MOYEN
$F_{\text{observé}}$	PROB F_{critique}		
SEMAINES		1827,1	14
130,51	77,31	2,49	1,94
ISOLATS		50,85	3
16,95	10,04	4,10	
2,83			
ERREUR		70,9	42
1,69			
TOTAL		1948,85	59

Tableau XII Analyse de la variance taux de mortalité des plantules de *Takerbouch*

Pour tous les isolats, les taux de mortalité ont atteints 20% au bout de la 6^{ème} semaine pour Tgaza et entre la 10^{ème} et la 11^{ème} semaine pour *Takerbouch*.

Ces résultats permettent de confirmer la caractérisation des isolats de *F.o.a.* puisque le taux de mortalité de 20% constitue le seuil minimal nécessaire pour caractériser ce champignon (DUBOST et KADA, 1974 ; WATSON, 1974).

4.3. Caractérisation des isolats du *F.o.a.* par la compatibilité végétative :

Afin de compléter l'identification des isolats de *F.o.a.*, un test de compatibilité végétative a été réalisé. Pour la recherche des mutants "nit", tous les isolats de *F.o.a.* ont été cultivés sur le milieu sélectif KPS 15 additionné de 15 g/l de $KClO_3$. L'isolat *F.o.a.* 9 a servi comme souche de référence car c'est le premier dont l'identification a été confirmée par le test du pouvoir pathogène.

4.3.1. Isolement des mutants "nit" :

Les cultures réalisées sur le milieu KPS ont montré des colonies minces, rasantes, à croissance restreinte. A la périphérie de ces dernières, on constate malgré la présence du chlorate dans le milieu KPS 15, l'individualisation de secteurs mycéliens qui sont résistants au chlorate. Le nombre de ces secteurs varie d'un isolat à l'autre (Figs. 8a, b, c, d). Afin d'isoler les mutants résistants au chlorate, les apex du mycélium de ces secteurs repiqués sur milieu minimal MM développent des colonies minces, fines dont la croissance radiale est rapide (Fig. 8e).

4.3.2. Caractérisation des mutants :

La caractérisation des différents types de mutants a été réalisée sur le milieu sélectif minimal MM additionné de différentes sources d'azote : nitrate (NO₃), nitrite (NO₂) et hypoxanthine. Plusieurs types de mutants "nit 1", "nit 3" et "nit M" ont été ainsi obtenus à partir de culture sur milieu sélectif chlorate. Le mycélium de ces mutants se présente sous la forme de filaments fins et épars. La fréquence de ces types de mutants varie d'un isolat de *F.o.a.* à l'autre (Tableau XIII). Certains isolats n'ont donné aucun mutant comme *F.o.a.* 3, *F.o.a.* 5 et *F.o.a.* 7. D'autres isolats ont montré une absence de mutants du type "nit 1" comme *F.o.a.* 8, *F.o.a.* 9 et *F.o.a.* 20. La fréquence des différents types de mutants est variable ; elle est de 54,03% pour "nit M", de 31,57% pour "nit 3" et de 14,38% pour "nit 1".

4.3.3. Confrontation des mutants :

La confrontation des isolats de *F.o.a.* a été réalisée avec la souche de référence *F.o.a.* 9. Deux isolats sont dits végétativement compatibles, lorsque, sur le milieu minimal MM; leurs mutants complémentaires forment au niveau de la zone de confrontation un mycélium abondant qui suggère la formation d'un hétérocaryon (Figs. 9a, b). Ces deux isolats sont alors considérés comme appartenant au même groupe de compatibilité végétative VCG (= "vegetative-compatibility grouping") (Figs. 9c, d, f). Par contre, deux isolats sont dits végétativement incompatibles, lorsque sur le milieu minimal MM, il n'y a pas d'appariement, c'est-à-dire de formation d'un mycélium hétérocaryotique par fusion. Ces deux isolats sont alors considérés comme appartenant à deux groupes distincts de compatibilité végétative (Fig. 9e).

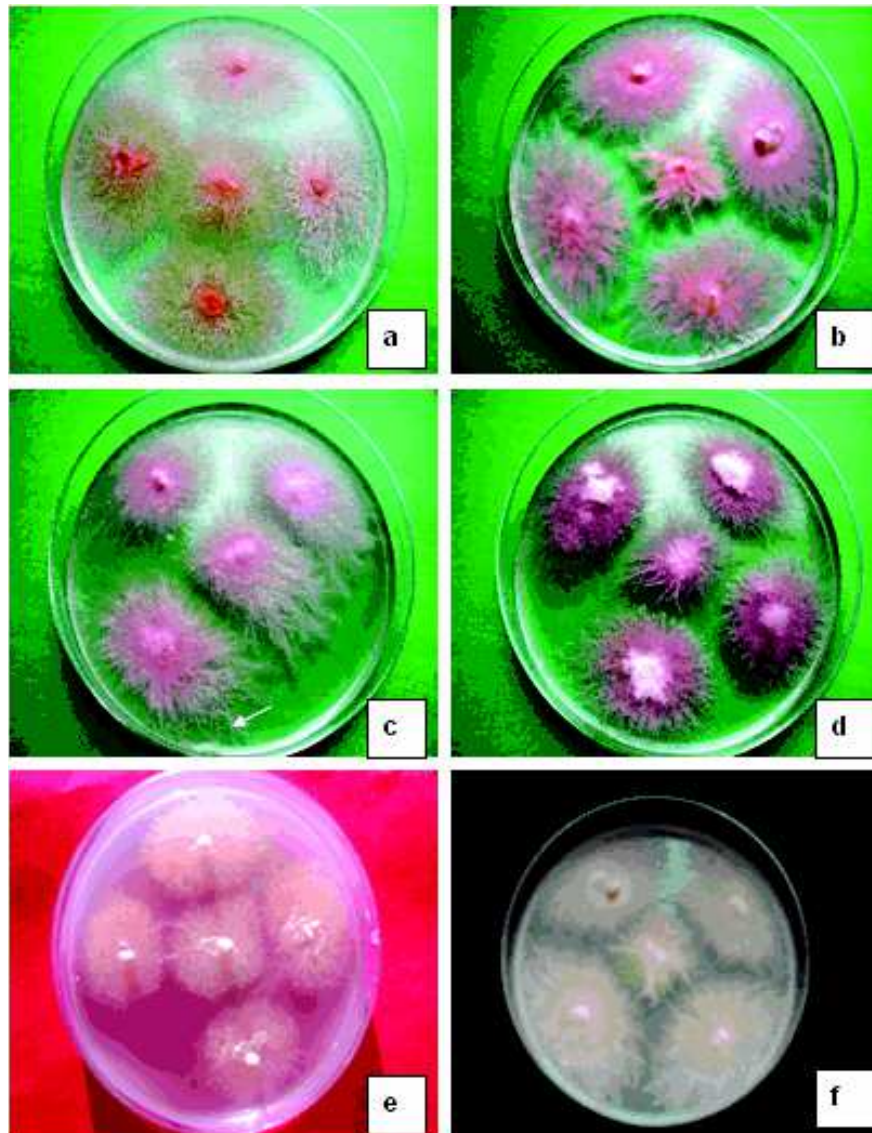


Figure 8 Test de compatibilité végétatif.

(a), (b), (c) et (d) Aspect des secteurs mycéliens des isolats de *F.o.a.* cultivés sur milieu sélectif KPS15 enrichi de chlorate de potassium. (e) Aspect du mycélium des isolats de *F.o.a.* cultivés sur milieu minimum MM. (f) Aspect du mycélium d'une culture témoin.

FREQUENCE DES MUTANTS			
ISOLATS	Nit 3		Nit 1
	Nit M		
<i>F.o.a. 1</i>		5	1
<i>F.o.a. 2</i>	4	9	1
<i>F.o.a. 3</i>	7		
<i>F.o.a. 4</i>			
<i>F.o.a. 5</i>		2	
<i>F.o.a. 6</i>	3		
<i>F.o.a. 7</i>			
<i>F.o.a. 8</i>		1	1
<i>F.o.a. 9</i>	8		
<i>F.o.a. 10</i>			
<i>F.o.a. 11</i>		8	
<i>F.o.a. 12</i>	15		
<i>F.o.a. 13</i>		5	
<i>F.o.a. 14</i>	13		1
<i>F.o.a. 15</i>		7	
<i>F.o.a. 16</i>		10	3
<i>F.o.a. 17</i>		2	
<i>F.o.a. 18</i>		12	2
<i>F.o.a. 19</i>		15	
<i>F.o.a. 20</i>		8	4
<i>F.o.a. 21</i>	7	4	2
<i>F.o.a. 22</i>		2	
<i>F.o.a. 23</i>	9		6
<i>F.o.a. 24</i>		4	
<i>F.o.a. 25</i>	6		3
<i>F.o.a. 26</i>		9	
<i>F.o.a. 27</i>	7		7
<i>F.o.a. 28</i>		8	
<i>F.o.a. 29</i>	8		7
<i>F.o.a. 30</i>		3	
<i>F.o.a. 31</i>	4		3
<i>F.o.a. 32</i>		7	
<i>F.o.a. 33</i>	14		
<i>F.o.a. 34</i>		6	
<i>F.o.a. 35</i>	12		
TOTAL		90	41
FREQUENCE (%)		154	14,28
	31,27		54,03

Tableau XIII Fréquence des mutants “nit” des isolats de *F.o.a.* obtenus sur milieu chlorate.

Le mutant “nit M” de la souche de référence *F.o.a. 9* a été confronté avec les mutants “nit 1” et “nit 3” des isolats de *F.o.a.* Dans tous les cas, il s’est développé une réaction de confrontation positive entre le mutant “nit M” de la souche de référence *F.o.a. 9* et la plupart des isolats de *F.o.a.* indiquant par là la formation d’un mycélium hétérocaryotique. Ceci suggère la présence d’une compatibilité végétative entre les isolats qui semble appartenir à un même groupe et confirme l’appartenance de tous les isolats à la forme spéciale *albedinis* de l’espèce *Fusarium oxysporum* Schltdl. (TANTAOUI et BOISSON, 1991).

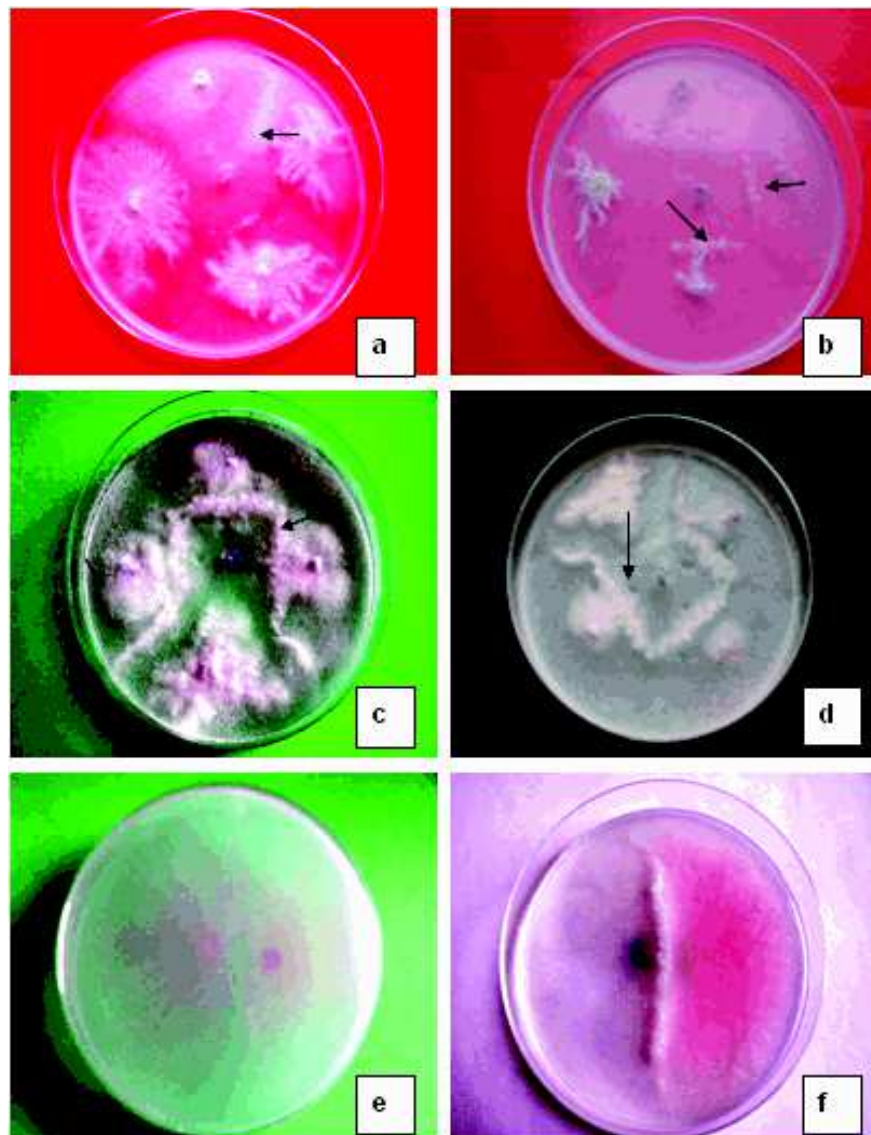


Figure 9 Confrontation des mutants.

(a) et (b), (c) et (d) Evolution de la formation d'hétérocaryons entre les mutants "nit" des isolats de *F.o.a* (Réaction positive entre isolat appartenant aux mêmes groupes de compatibilité végétative). (e) et (f) Réactions de confrontation entre les mutants "nit" des isolats de *F.o.a* : (e) réaction nulle entre deux isolats de *F.o.a*, (f) réaction positive entre deux isolats de *F.o.a*.

4.4. ESSAI *IN VITRO* DE L'Antagonisme de *Trichoderma harzianum* à l'égard de QUELQUES isolats de *F.o.a* :

La souche de *T. harzianum* a été confronté aux 4 isolats de *F.o.a.* : *F.o.a.* 1, *F.o.a.* 6, *F.o.a.* 9, *F.o.a.* 12 qui ont été sélectionnés sur la base de la vitesse de la croissance radiale mycélienne.

La croissance relative de ces quatre isolats confrontés à la souche de *T. harzianum* est exprimé par le rapport R qui correspond au diamètre de la culture de l'isolat cible confronté sur celui de la culture témoin de ce même isolat.

La souche *T. harzianum* exerce une action inhibitrice sur les quatre isolats de *F.o.a.* Cette inhibition s'est manifestée entre 24 et 72 heures d'incubation pour l'ensemble des isolats et s'est accentuée au cours du temps. Au delà de 72 heures, l'inhibition est presque totale car la croissance des isolats est presque nulle (Figs. 10 et 11).

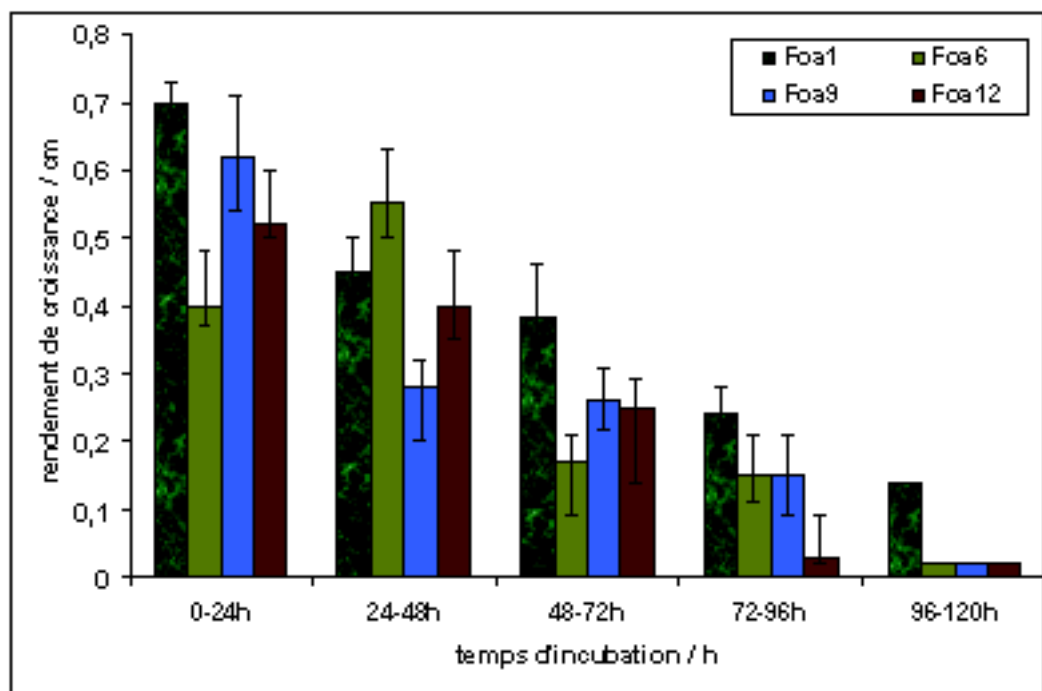


Figure 10 Action inhibitrice de la souche de *T. harzianum* à l'égard des quatre isolats de *F.o.a* exprimée par le rendement de la croissance

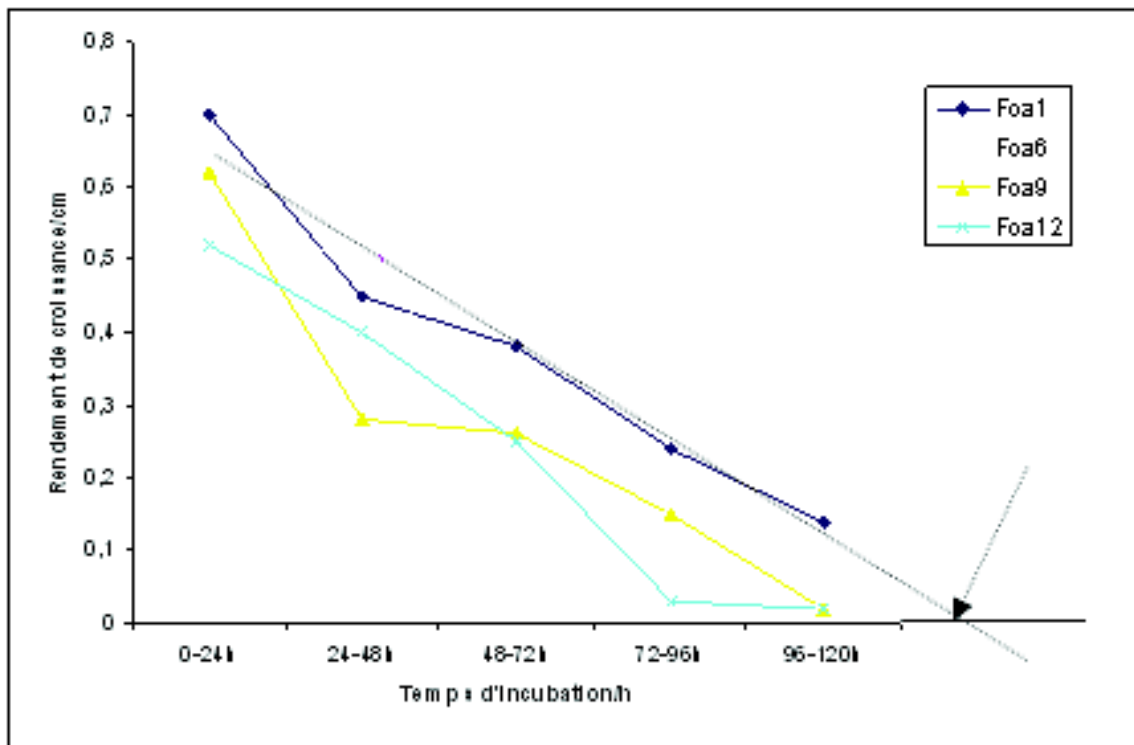


Figure 11 Evolution de l'action inhibitrice de la souche de *T. harzianum* à l'égard des quatre isolats de *F.o.a* exprimée par le rendement de la croissance en fonction du temps

Les rendements de la croissance exprimés en cm décroissent dans le temps. Ces rendements sont représentés pour chacun des isolats par les courbes (figure 11).

La sensibilité de la souche antagoniste de *T. harzianum* augmente au cours du temps. Au bout du 5^{ème} jour, les isolats *F.o.a.* 6, *F.o.a.* 9 et *F.o.a.* 12 sont inhibés (Fig. 11). Seul l'isolat *F.o.a.* 1 semble montrer une certaine résistance à l'égard de l'action inhibitrice de *T. harzianum* et ceci jusqu'au bout du 6^{ème} jour (Fig. 11). L'isolat *F.o.a.* 6 exhibe une résistance à l'égard de l'action inhibitrice de *T. harzianum* jusqu'au deuxième jour.

L'aspect des cultures des isolats de *F.o.a.* confrontés avec la souche de *T. harzianum* est indiqué par la figure 12.

La souche *T. harzianum* semble exercer un effet antagoniste à l'égard des quatre isolats de *F.o.a.* Cet effet antagoniste du *T. harzianum* à l'égard des champignons phytopathogènes a été remarqué par plusieurs auteurs (DAVET, 1983 ; VINCENT, 1992).

L'analyse d'un plus grand nombre d'isolats ainsi que l'utilisation des filtrats de culture de l'agent antagoniste permettraient de confirmer ces résultats *in vitro* et d'initier une étude *in situ*.

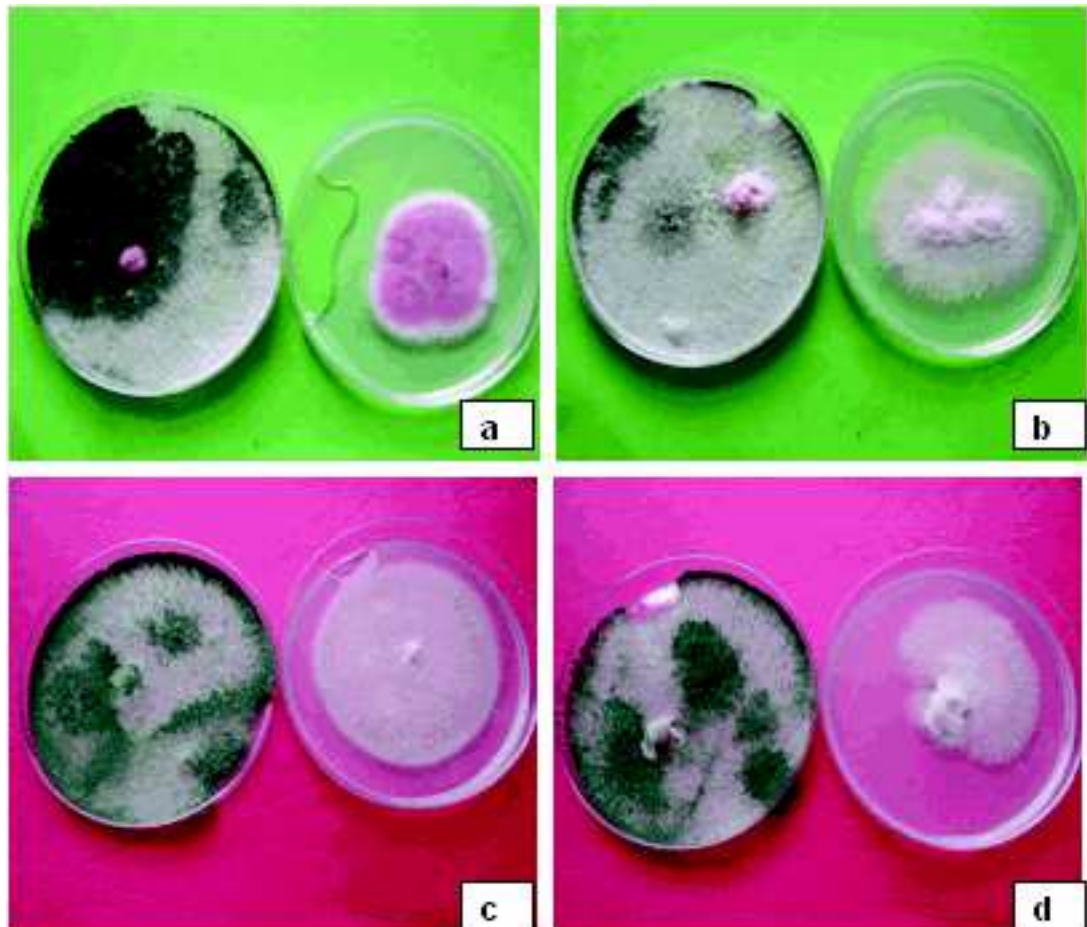


Figure 12 Confrontation de la souche de *T. harzianum* avec les quatre isolats de *F.o.a.*

(a) à gauche : confrontation de la souche de *T. harzianum* avec l'isolat *F.o.a.* 1, à droite : isolat *F.o.a.* 1 non confronté. (b) à gauche : confrontation de la souche de *T. harzianum* avec l'isolat *F.o.a.* 12, à droite : isolat *F.o.a.* 12 non confronté. (c) à gauche : confrontation de la souche de *T. harzianum* avec l'isolat *F.o.a.* 9, à droite : isolat *F.o.a.* 9 non confronté. (d) à gauche : confrontation de la souche de *T. harzianum* avec l'isolat *F.o.a.* 6, à droite : isolat *F.o.a.* 6 non confronté.

4.5. Essai *in vitro* de l'Effet antimicrobien de substances phytochimiques à l'égard de quelques souches de *F.o.a.* :

L'effet inhibiteur de substances biologiques extraits de deux espèces végétales, *Ammoides verticillata* et *Citrullus colocynthis*. a été testé *in vitro* sur les isolats de *F.o.a.*

4.5.1. Effet antimicrobien des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* :

La croissance des isolats est inhibée par la solution mère et par la solution de l'extrait brut dilué à 10^{-1} . Les isolats *F.o.a.* 6 et *F.o.a.* 9 manifeste une légère croissance mycélienne à partir de la dilution 10^{-3} (fig. 13).

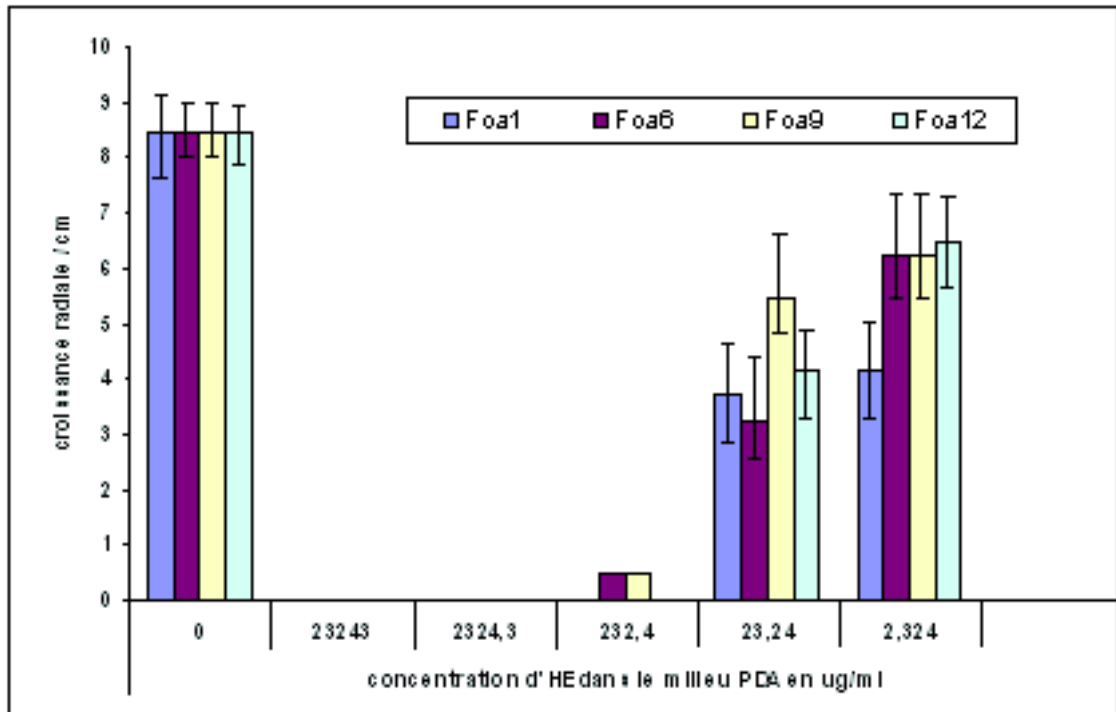


Figure 13 Effet antimicrobien des huiles essentielles d'*A. verticillata* à l'égard des 4 isolats de *F.o.a.*

La concentration optimale nécessaire à l'inhibition totale de la croissance mycélienne des isolats se situe entre 2324,3 et 232,43 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ d'huiles essentielles (Fig. 13). Afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), des dilutions supplémentaires ont été réalisées entre 10^{-2} et 10^{-3} . La dilution 1/600 correspondant à 38,74 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ d'huiles essentielles est égale à la concentration minimale inhibitrice (Fig. 14). L'effet inhibiteur des huiles essentielles d'*A. verticillata* serait due à la présence dans ces derniers de composés terpéniques (MEKADDER, 1995).

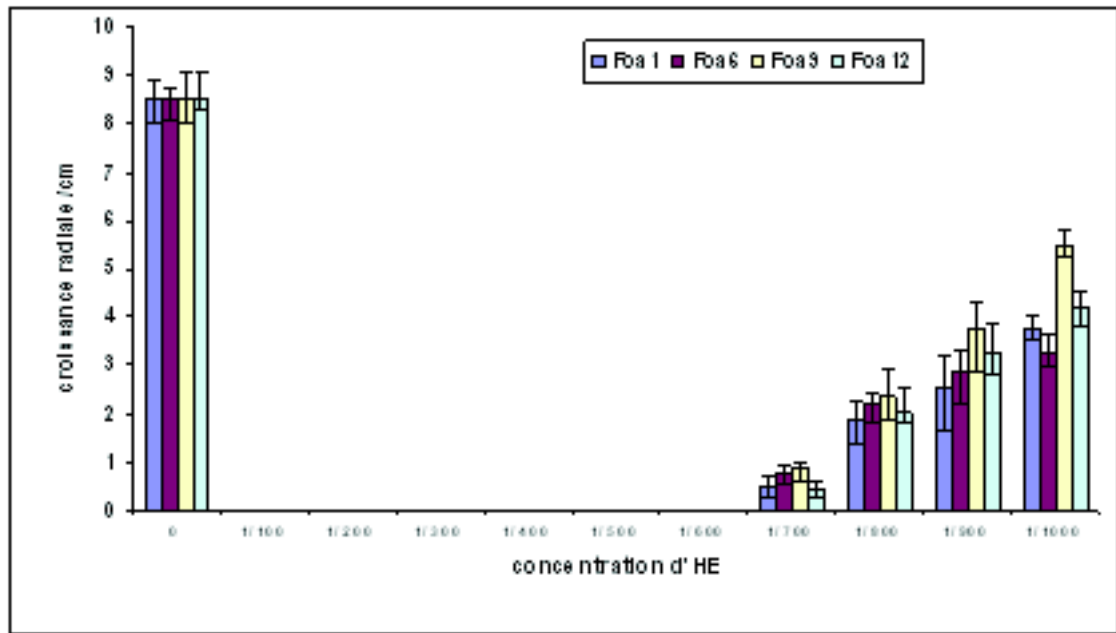


Figure 14 Concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles d'*A. verticillata*

4.5.2. Effet antimicrobien des extraits de *Citrullus colocynthis*:

L'effet antimicrobien des extraits bruts de *C. colocynthis* ainsi que celui des fractions saponosides et glucosides extraits des graines ont été testés sur les isolats de *F.o.a.*

4.5.2.1. Effet antimicrobien des extraits bruts de *C. colocynthis* à l'égard des isolats du *F.o.a.* :

L'effet des extraits bruts a été testé sur la croissance mycélienne des 20 isolats de *F.o.a.* incubés à une température de 28°C et sous une lumière artificielle continue, sur un milieu de culture PDA contenant différentes concentrations de l'extrait brut de *C. colocynthis*/ml de PDA (Tableau XIV). Les mesures de la croissance mycélienne ont été réalisées au bout de 5 jours qui représentent le temps au bout duquel le mycélium des cultures témoins a colonisé toute la boîte de Pétri. La croissance mycélienne de tous les isolats est totalement inhibée à partir des concentrations 18,75 mg/ml, 22,5 mg/ml, 30 mg/ml et 37,5 mg/ml. sauf pour les isolats *F.o.a.* 6 et *F.o.a.* 9 qui ont montrés une très faible croissance mycélienne de 0,5 cm à la concentration de 18,75 mg/ml. Tous les isolats ont montré une croissance mycélienne à la concentration de 7,5 mg/ml. L'isolat *F.o.a.* 9 a donné la croissance mycélienne la plus élevée.

L'analyse de la variance sur la base de l'effet des différentes concentrations des extraits de *C. colocynthis* sur la croissance mycélienne montre des différences significatives [$F_{obs} (5,39) > F_{0.05} (1,65)$] (Tableau XV). Il existe également des différences significatives entre les différentes concentrations utilisées [$F_{obs} (10,13) > F_{0.05} (2,17)$].

La croissance mycélienne se comporte différemment d'une dose d'extrait à une autre. Il est clair que la différence des doses de l'extrait brut de l'épicerpe de la coloquinte induit une variation dans la croissance mycélienne, ce qui nous permet de conclure que: l'extrait

brut de l'épicarpe de *C.colocynthis* joue un rôle d'inhibiteur pour la croissance mycélienne de *F.o.a*. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est de 18,75 mg/ml pour la totalité des isolats de *F.o.a*. sauf pour *F.o.a.6* et *F.o.a.9*. La croissance mycélienne de la totalité des isolats de *F.o.a*. utilisés est inhibée à 22,5 mg/ml.

ISOLATS	CONCENTRATIONS				
	37,5	18,75	22,5	37,5	7,5
<i>F.o.a.1</i>	0		2	3,76	
	0		0	0	
<i>F.o.a.2</i>			8	2,7	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.3</i>			8	2,8	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.4</i>			7	2,7	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.5</i>			1	3,2	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.6</i>			25	3,25	
	0,5		0	0	
<i>F.o.a.7</i>			8	2,4	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.8</i>			2	3,3	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.9</i>			25	5,5	
	0,5		0	0	
<i>F.o.a.10</i>			3	2,7	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.11</i>			9	2,8	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.12</i>			5	4,2	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.13</i>			5	2,7	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.14</i>			8	2,8	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.15</i>			8	3,1	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.16</i>			1	2,7	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.17</i>			9	3,1	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.18</i>			2	2,5	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.15</i>			8	3,1	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.16</i>			1	2,7	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.17</i>			9	3,1	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.18</i>			2	2,5	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.19</i>			1	2,7	0
	0		0	0	
<i>F.o.a.20</i>			1	3,3	0
	0		0	0	

Tableau XIV L'effet de différentes concentrations des extraits bruts de *C. colocynthis*(en mg/ml de PDA) sur la croissance mycélienne (en cm) des 20 isolats de *F.o.a*.

SOURCE DE VARIANCE VAL. CRIT.	SCE	DDL	CARRE MOYEN	F _{observé}	PROB
LIGNES			1478,74	20	
	73,93	5,39	1,58		1,65
COLONNES			834,01	6	
	139,00	10,13	4,73	2,17	
ERREUR			1645,69	120	
	13,71				
TOTAL			3958,45	146	

Tableau XV Analyse de la variance L'effet de différentes concentrations des extraits bruts de *C. colocynthis* sur la croissance mycélienne

D'après le tableau XIV, on peut dire que la concentration minimal inhibitrice (CMI) est de 18,75mg/ml pour les 20 isolats sauf pour les isolats *F.o.a.* 6 et *F.o.a.* 9 qui est de 22,5 mg/ml.

4.5.2.2. Effet antimicrobien des fractions saponosides et glucosides extraites à partir de graines de *C. colocynthis* :

L'effet des fractions saponosides et glucosides extraites à partir de graines de *C. colocynthis* a été testé sur la croissance mycélienne des isolats *F.o.a.* 1, *F.o.a.* 6, *F.o.a.* 9 et *F.o.a.* 12.

L'effet inhibiteur de la fraction saponoside sur la croissance mycélienne est proportionnel à la concentration. Plus celle-ci augmente plus la croissance mycélienne des isolats est inhibée (Fig. 15 et 16).

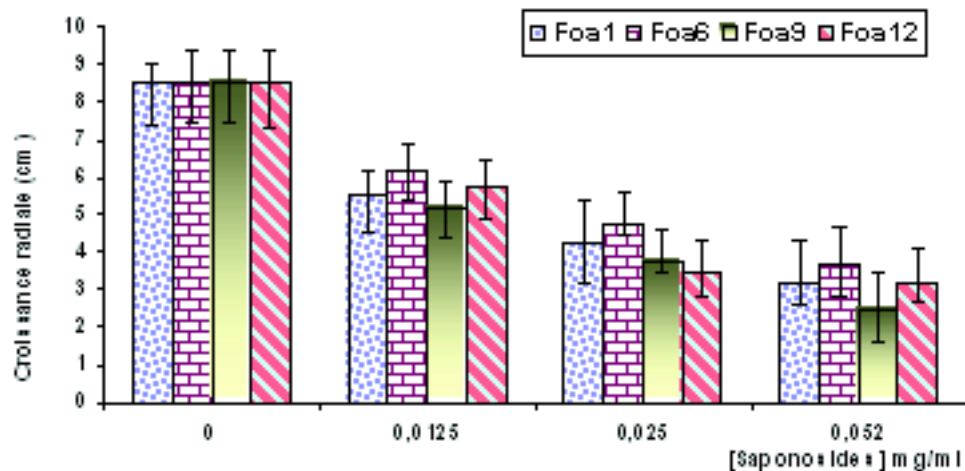


Figure 15 Effet de la fraction saponoside sur la croissance mycélienne de quatre isolats de *F.o.a.*

Les croissances mycéliennes exprimées en cm des quatre isolats décroissent avec l'augmentation de la fraction saponoside. Les croissances mycéliennes sont représentées pour chacun des isolats par les courbes suivantes :

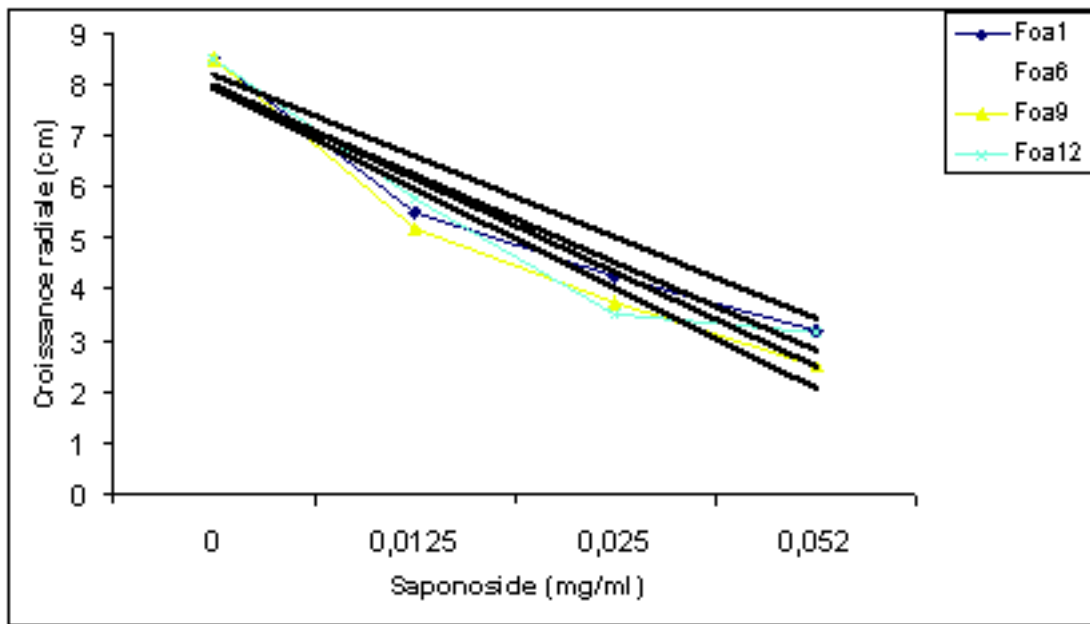


Figure 16 Evolution de l'action inhibitrice de différentes concentrations de la fraction saponoside sur la croissance mycélienne des quatre isolats de *F.o.a*

L'effet inhibiteur de la fraction gluconoside sur la croissance mycélienne est également proportionnel à la concentration. Plus celle-ci augmente plus la croissance mycélienne des isolats est inhibée (Fig. 17 et 18). L'effet inhibiteur sur la croissance mycélienne de la fraction gluconoside semble moins important comparé à celui de la fraction saponoside

Les extraits bruts et les fractions saponoside et gluconoside de *C. colocynthis* semblent exercer un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne des quatre isolats de *F.o.a* sélectionnés sur la base de leur vitesse de croissance radiale mycélienne. Les résultats obtenus ne permettent pas de privilégier l'efficacité de l'une des fractions saponoside ou gluconoside. En effet ces deux fractions ont eu des effets comparables sur l'inhibition de la croissance mycélienne. Ceci pourrait s'expliquer par la faiblesse du nombre d'isolats ou des concentrations utilisés.

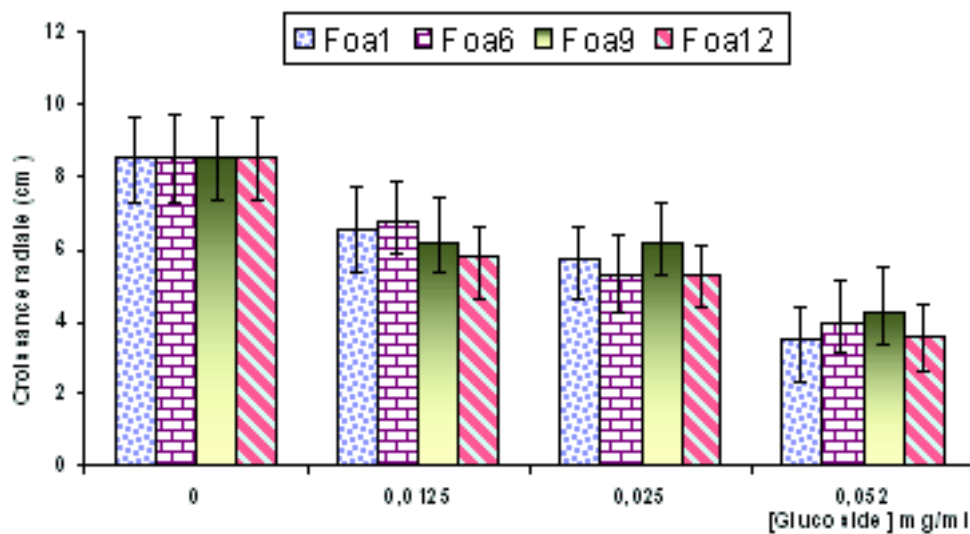


Figure 17 Effet de la fraction gluconoside sur la croissance mycélienne de quatre isolats de *F.o.a.*

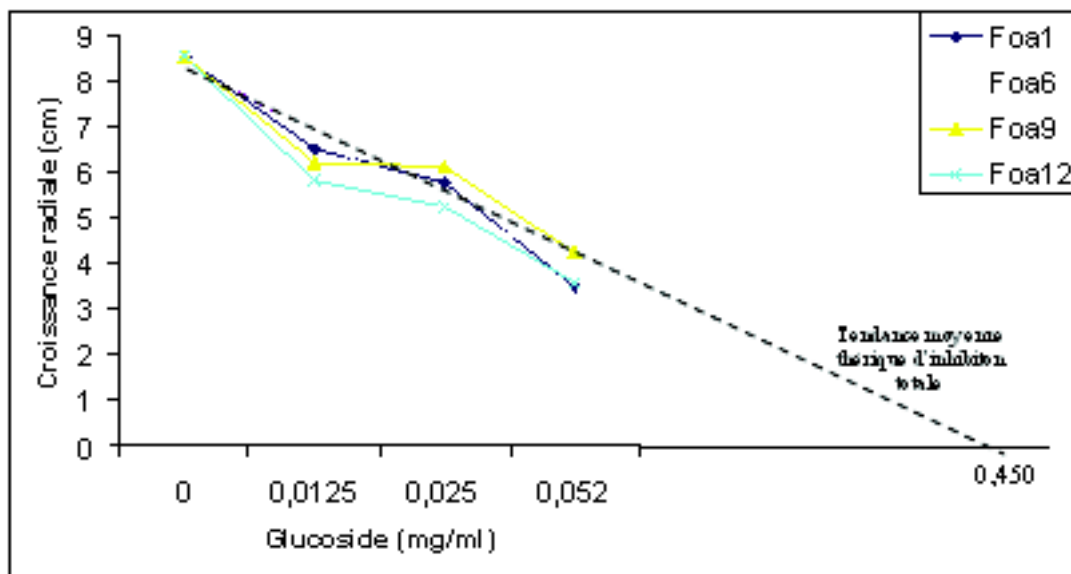


Figure 18 Evolution de l'action inhibitrice de différentes concentrations de la fraction gluconoside sur la croissance mycélienne des quatre isolats de *F.o.a.*

5. CONCLUSION GENERALE

Le "bayoud" est une maladie qui continue à causer des dégâts importants dans les palmeraies du centre et du sud ouest algérien. Cette maladie est provoquée par le *F.o.a.* Les stratégies de lutte contre ce dernier reposent sur des bases de lutte intégrée. Dans le cadre de ce travail, deux principaux thèmes ont été développés : le premier concerne l'identification et la caractérisation d'une collection de 20 isolats de *F.o.a.* obtenus à partir des palmeraies des régions du Touat, Gourara et Tidikelt, le second a été orienté vers l'utilisation de tests *in vitro* de l'effet antagoniste du *T. harzianum* et de l'effet inhibiteur de composés biologiques d'espèces végétales en vue de développer une méthode de lutte biologique contre le *F.o.a.*

L'étude des caractères morphologique et culturaux, du pouvoir pathogène et de la compatibilité végétative des 20 isolats de *F.o.a.* collectés lors de prospections réalisées en 2001 et 2002 dans les palmeraies d'Adrar, In Salah et d'Aoulef a été réalisée en vue d'identifier avec exactitude la forme *albedinis*.

La caractérisation morphologique et culturelle a porté sur l'aspect des cultures, la taille des spores et la vitesse de croissance mycélienne. Les 20 isolats présentent des caractères morphologiques et culturelles typiques de l'espèce *F.o.a.* Une variabilité intraspécifique a pu être observée et pourrait être confirmée par l'utilisation de marqueurs plus performants tels que les marqueurs biochimiques et moléculaires. La sélection d'isolats particuliers a été réalisée sur la base des résultats obtenus lors de l'analyse de la croissance mycélienne et la morphologie.

Le test du pouvoir pathogène de 4 isolats : *F.o.a.* 1, *F.o.a.* 6, *F.o.a.* 9 et *F.o.a.* 12 inoculés artificiellement à des plantules de deux cultivars Tgaza et Takerboucht respectivement sensibles et résistantes montrent des différences dans l'agressivité des souches et dans le comportement des deux cultivars. Le test du pouvoir pathogène confirme l'appartenance des isolats de *Fusarium oxysporum* à la forme spéciale *albedinis*. L'analyse du pouvoir pathogène sur un plus grand nombre d'isolats inoculés à un matériel végétal génétiquement homogène obtenu à partir de vitro-cultures permettrait d'avoir une idée plus précise sur l'agressivité des souches et sur leur variabilité génétique.

La caractérisation des isolats par la compatibilité végétative montre que tous les isolats de *F.o.a.* appartiennent au même groupe de compatibilité et de ce fait à la forme *albedinis*.

L'anamorphe *T. harzianum* a montré *in vitro* un effet inhibiteur à l'égard de quatre isolats de *F.o.a.* (*F.o.a.* 1, *F.o.a.* 6, *F.o.a.* 9 et *F.o.a.* 12). Un effet inhibiteur a été également observé en présence d'extraits végétaux. C'est ainsi que les huiles essentielles d'*A. verticillata* semblent exercer à une concentration minimale de 38,74 mg/ml un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne des quatre isolats de *F.o.a.* L'effet inhibiteur des extraits bruts de *C. colocynthis* s'est montré variable à l'égard des quatre isolats de *F.o.a.* Les concentrations minimales inhibitrices de ces extraits bruts ont varié entre 18,75 mg/ml et 22,50 mg/ml selon les isolats. La concentration minimale inhibitrice des fractions saponoside et glucoside a été respectivement établie de manière théorique à 0,11 mg/ml et 0,45 mg/ml.

6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABDELLAH B A. 1990. CIHEAM. Option Mediterranean's. la phoeniciculture, inrat, ser. A/ n°= 11, 1990, Les systèmes agricoles Oasiens.
- Alabouvette C., Lamenceau P. et Steinberg C. 1983. Recent advances in the biological control of *Fusarium* wilt. *Pestir. Science* 37 : 365-373.
- ASSIGBETSE K., FERNANDEZ D., DUBOIS M-P., and J-P GEIGER
-1994-« Differentiation of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* races on cotton by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Phytopathology* 84: 622-626..
- Amir H. 1991. Interaction entre populations du genre *Fusarium* dans les sols sahariens. Déterminisme de l'aptitude des souches non pathogène à limiter l'expression de la fusariose vasculaire. Thèse de doctorat es-sciences de l'Université de Dijon.
- Amir H., Benaceur M., Laoufi Z., Amir A. et Bounaga N. 1985. Le palmier dattier et la fusariose. XIII. Contribution à l'étude de l'écologie microbienne du sol de deux palmeraies sahariennes atteintes de Bayoud. *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 22 : 313-330.
- Amir H. et Riba O. 1990. Influence de la salinité des sols des palmeraies sur les *Fusarium*. II. Action des sels de sebkha sur l'évolution dans le sol de deux souches de *F. oxysporum* pathogènes. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*,27, 147-158.
- Anonyme. (2003). Fiche produit : Dattes. *Fruit Trop.* 101, 8.
- Badji B. 1990. Influence de différent amendement sur le développement de deux souches pathogène de *Fusarium oxysporum* dans le sol de palmeraie. Thèse Magistère. USTHB. Alger.
- BARRET H.C., 1973. Date Breeding and improvement in North America. In : *Fruit Var. J*, 27, pp. 50-55.
- Belguedj M. 2002. Les ressources génétiques du palmier dattier, caractéristiques des cultivars de dattiers dans les palmeraies du Sud est Algérien. Editions de l'Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie, 289 pp.
- Bennaceur, M., Lanaud, C., Chevallier, M. H., et Bounaga, N. 1991. Genetic diversity of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) from Algeria revealed by enzymes markers. *Plant Breeding* 107 : 56-69.
- Ben Salah M. 1993. Description phénopomologique de treize variétés de palmier dattier des oasis tunisiennes : 1- *Partie végétative*. *Revue des Régions Arides*, 5/93, 3-22.
- Benzaza H.B.; Brochard P.; Dubost D. et Hethener P. 1970. Progression du bayoud en Algérie et résultats des prospections entreprises. In : *Proceedings du Congrès Maghrébin d'Agronomie Saharienne*.
- Bosland, P.W. et Williams P.H. 1987. An evaluation of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozyme polymorphism, vegetative compatibility, and geographic origin. *Can. J. Bot.* 65 : 2067-2073.

- BOUNAGA N. 1980. Le palmier-dattier et la fusariose. VII. Action de quelques mercapto-2-azoles ribosylés sur la croissance *in vitro* du *Fusarium oxysporum* fsp *albedinis* (Killian et Marie) Gordon. *European Journal of Phytopathology*, 98, 210-217.
- BOUNAGA N. 1985. Contribution à l'étude de *Fusarium oxysporum* fsp *albedinis*, (Killian et Marie) Gordon, agent de la fusariose du palmier dattier. Thèse de Doctorat Es-Science. Université Houari Boumediene, Alger, 159 p.
- BOUNAGA N. et DJERBI M. 1990. Pathologie du palmier dattier. *CIHEAM-IAMM*, 11, 127-132.
- BRAC DE LA PERRIERE R.A. et BOUNAGA N. 1995. Prospect for integrated control of bayoud in Algerian plantation. *Corp Protection*, 14(3), 27-235.
- BROCHARD P. et DUBOST D. 1970a. Observations sur de nouveaux foyers de bayoud dans le département des oasis (Algérie). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle d'Afrique du Nord*, 60, 185-193.
- BROCHARD P. et DUBOST D. 1970b. Progression du bayoud dans la palmeraie d'In-Salah (Tidikelt, Algérie). *Al Awamia*, 35, 143-153.
- BULIT J., LOUVET J., BOUHOT D. et TOUTAIN G. 1967. Recherches sur les fusarioses I : Travaux sur le bayoud, Fusariose de palmier dattier en Afrique du nord. *Ann. Epiphy*, 18, 213-239.
- CABI/EPPO. 1997. *Fusarium oxysporum f sp albedinis*. Data sheets on quarantine pests for the European and Mediterranean plant protection Organization. 2nd Edition, 758-763.
- CHATTAB N., DUBOST D. et KADA A. 1978. Remarques sur l'identification du *Fusarium oxysporum f sp albedinis* agent de la fusariose vasculaire du palmier dattier. *Bulletin d'Agronomie Saharienne*, 1, 38-53.
- CHERRAB M. 1989. Caractérisation morphologique et biochimique du *Fusarium oxysporum f sp albedinis* et autres formes spéciales. D.E.S. Université de Marrakech, Maroc, 75.p.
- COOK R.J et BAKER K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. American psychopathological society Editions. St. Paul. 539p.
- DAAYF F. 1993. La verticilliose du cotonnier. Pouvoir pathogène et diversité génétique de *Verticillium dahliae*, réactions de la plante à l'infection. Thèse de doctorat, Univ. Montpellier, France. p. 202.
- DAVET P. 1983. Les *Trichoderma* – Exemple de champignons antagonistes d'agents pathogènes. Faune et Flore auxiliaire en Agriculture. ACTA, Paris, 193- 205.
- DJERBI M. 1982. Bayoud disease in North Africa. history, distribution, diagnosis and control. *Date Palm Journal*, 1, 153-197.
- DJERBI M. et SEDRA M.II. et EL IDRISSE M.A. 1985. Caractéristiques culturales et identification du *Fusarium oxysporum f sp albedinis*. *Annales INRA. de Tunisie*, 58(1), 1-8.
- DJERBI M., AOUAD L., FILALI H., SAAIDI M., CHTIOUI A., SFDRA M.H. ALLAOUI M et HAMD AOUI T. et OUBRICH M. 1986. Preliminary results of selection of high quality bayoud resistant clones among natural date palm population in Morocco. In

- Proceedings of the Second Symposium on the Date Palm. Saudi Arabia, 3-6 mars 1986, 383-399.
- DJERBI M. 1990. Méthodes de diagnostic du bayoud Bulletin OEPP, 20, 607-613.
- DJERBI M. et FREDERIX M.J.J. et DENBRADER K. 1990. New method of identification of *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis*. On the basis of vegetative compatibility. Proceedings of the Eighth congress of the Mediterranean phytopathological Union. Agadir. Morocco. 512p.
- DUBOST D. 1972. Bayoud disease in Algeria, history and diagnosis. In: Proceedings of the First International Seminar and Workshop on Bayoud, Alger, Algérie, 83-92.
- DUBOST D. et KADA A. 1974. Etude expérimentale de l'inoculation de jeunes plantules de palmier dattier par *Fusarium oxysporum*. Bulletin d'Agronomie Saharienne, 1, 21-37.
- DUBOST D. et KADA A. 1975. Le bayoud à Ghardaïa. Bulletin d'Agronomie Saharienne, 3, 29-61.
- EL BEKR A. 1972. Le palmier dattier : Passé et Présent et nouveautés dans son agronomie industrie et commerce. Editions El Ani, Bagdad, Irak, 1050 p.
- ENAIMI J.H., JAFAR A., 1980. La physiologie et la morphologie du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Ed. Université El Basra et université d'Agronomie (Iraq), 257 p.
- EL HOUTI S, JIWAN-SIDHU S et QABAZARD H. 1995. Studies on the physico-chemical characteristics of date fruits of five UAE cultivars at different stage of maturity. Arab Gulf Journal of Scientific Research, 13(3), 553-569.
- FERRY M., GRENIER D. 1993 Le palmier dattier dans l'agriculture d'oasis des pays méditerranéens = Date palm cultivation in oasis agriculture of Mediterranean countries Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, 1993. 260 p. (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens ; n. 28). Journées Internationales d'Elche sur le Palmier Dattier dans L'Agriculture d'Oasis des Pays Méditerranéens, 25-27 Apr 1995, Elche (Spain)
- FREDERIX M.J.J. et DEN BRADER K. 1989. Résultats des essais de désinfection des sols contenant des échantillons de *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis*. Rapport du projet FAO/PUND/RAB/88/024, 11-24.
- HANACHI S, BENKHALIFA A., KHTIRI D et BRAC DE LA PERRIERE R.A. 1998. Inventaire variétal de la palmeraie algérienne. Editions du Commissariat au Développement de l'agriculture saharienne. Unité de recherche sur les zones arides de l'Université Houari Boumediene, 223 p.
- HUGARD J., 1978. Origine du pollen et variétés pollinisatrices. In : Le Fruit Belge, 381, pp. 11-32.
- LOUVET J. et TOUTAIN G. 1973. Recherches sur les fusarioses. VIII. Nouvelles observations sur la fusariose du palmier dattier et précisions concernant la lutte. Annales de Phytopathologie, 5, 35-52.
- LOUVET J. 1991. Que devons nous faire pour lutter contre le bayoud. Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides. Ed. Paris, France, 337-346.

- MEKADDER A. 1995. Contribution à l'étude qualitative et qualitative de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (Nounkha) de la région de Tlemcen et de son pouvoir antimicrobien. Mémoire d'Ingéniorat, Institut de Biologie. Université de Tlemcen.
- MESSAR E.M. 1996. Le secteur poenicicole Algérien ; Situation et perspectives à l'horizon 2010. CIHEAM-IAMZ, 28, 23-44.
- MUNIER P. 1973. Le palmier dattier. Editions Maisonneuve et La rose, Paris, 221p.
- NIXON (W.R.), CARPENTER (J.B.), 1978. Growing dates in the United States. In : Agri. Info. Bull, 207, pp. 21-23.
- O.E.P.P/ EPPO. 1990. Specific quarantine requirements. Technical documents, N°1008.
- O.N.N.U.A. 1990. Contrôle du Bayoud du Palmier-dattier : Rapport intermédiaire. PNUD. Rome, 1-40.
- OUINTEN M. 1996. Diversité et structure génétiques des populations algériennes de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent de fusariose vasculaire (bayoud) du palmier dattier. Thèse de Doctorat de l'Université Montpellier II.
- RAPILLY F. 1968. Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Annales Epiphyties, Editions INRA Paris. 19, Hors série, 102 p.
- SAAIDI M. 1979. Contribution à la lutte contre le bayoud, fusariose vasculaire du palmier-dattier. Thèse de Doctorat d'Université de Dijon, France, 210p.
- SEDRA M.H. 1990. Study to some Moroccan palm grove soils receptivity to *Fusarium* wilt. Interest of some study factors. In Proceedings of the 8th Congress of Mediterranean Phytopathology Union, 27 octobre-3 novembre 1990, Agadir, Morocco, 517.
- SEDRA M.H. 1995. Développement saprophytique du *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* dans différents sols de palmeraies et activité antagoniste de quelques micro organismes sur son comportement. Al Awamia. 82. pp.53-71.
- SEDRA M. H. et DJERBI M. 1985. Mise au point d'une méthode d'identification in vitro du *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis*, agent causal du bayoud. Annales de INRA de Tunis, 58(2), 1-12.
- SEDRA M.H. et DJERBI M. 1986. Comparative study of morphological characteristics and pathogenicity of two *Fusarium oxysporum* causing the vascular wilt disease of date palm (Bayoud) and Canary Island palm. In: Proceedings of the Second Symposium on the Date Palm, Saudi Arabia, 359-365.
- SEDRA M.H., LASHERMES P., TROUSLOT P., COMBES M.C. et HAMON S. 1998. Identification and genetic diversity analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) varieties from Morocco using RAPD markers. Euphytica, 103, 75-82.
- TANTAOUI A. et BOISSON C. 1991. Compatibilité végétative d'isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* et des *Fusarium oxysporum* de la rhizosphère du palmier dattier et des sols des palmeraies. Phytopathol. Mediterr., 30, 155-163.
- TANTAOUI A., OUINTEN M., GEIGER J.P. et FERNANDEZ D. 1996. Characterization of a single clonage lineage of *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* causing Bayoud disease of date palm in Morocco. Phytopathology, 86, 787-792.

- TOUTAIN G. 1965. Note sur l'épidémiologie du Bayoud en Afrique du nord. *Al Awamia*, 15, 37-45.
- TOUTAIN G., 1967. Le palmier dattier. Culture et production. In : *Al Awamia*, 25, pp. 83-151.
- TOUTAIN G et LOUVET J. 1974. Lutte contre le bayoudh. IV. Orientations de la lutte au Maroc. *Al-Awamia* 53, 114-162
- VINCENT C. 1992. Lutte biologique. Editions Quebec- Gaetan, 4-15.
- WATSON A G. 1974. Pathogenicity test for identification of *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis*. *Bulletin d'Agronomie Saharienne*, 1, 37-38.
- ZAHER H. et BAAZIZ M. 2006. Contribution à l'étude de l'identification des pieds mâles et femelles chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) par l'utilisation des marqueurs moléculaires RAPD. In *Proceedings du Congrès international de Biochimie-Génomique et Protéomique*, Agadir, Maroc, 9-12 mai 2006, 69-72.
- ZIM A., NOUR M.A. et AHMED A.R. 1981. Physico-chemical composition of common Sudanese date cultivars and their suitability for jam-making date palm. *Date Palm Journal*, 1(1), 99-106.

Annexe

Annexe 1:

Milieu PDA (Potatoes Dextrose Agar):

- Pomme de terre 200 g
- Glucose (dextrose) 20 g
- Eau distillée 1000 ml

Milieu CDA (Czapek's Dextrose Agar):

- Saccharose 30 g
- NaNO₃ 2 g
- KH₂PO₄ 1 g
- MgSO₄.7H₂O 0.5 g
- KCL 0.5 g
- FeSO₄.7H₂O 0.01 g
- Agar 15 g
- Eau distillée.q.s.q 1000 ml

Milieu KPS15 :

- Chlorate de potassium (KCLO₃) 15 g
- Pomme de terre 200 g
- Saccharose 20 g
- Agar 15 g
- Eau distillée. q. s. p 1000 ml

Milieu minimal MM :

- Saccharose 30 g
- NaNO₃ 2 g
- KH₂PO₄ 1 g
- MgSO₄.7H₂O 0,5 g
- Kcl 0,5 g
- FeSO₄.7H₂O 0,008 g
- Solution d'oligo-element* 0,2 ml
- Agar 15 g
- Eau distillée.q.s.p 1000 ml

Solution d'oligo-éléments*:

- Acide citrique 5 g

- $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 5 g
- $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 4.75 g
- $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ 1 g
- $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.25 g
- $MnSO_4 \cdot H_2O$ 50 mg
- H_4BO_4 50 mg
- $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 50 mg
- Eau distillée.q.s.p 95 ml

Annexe 2 :



Les folioles se dessèchent de bas en haut



La palme prend une couleur blanche



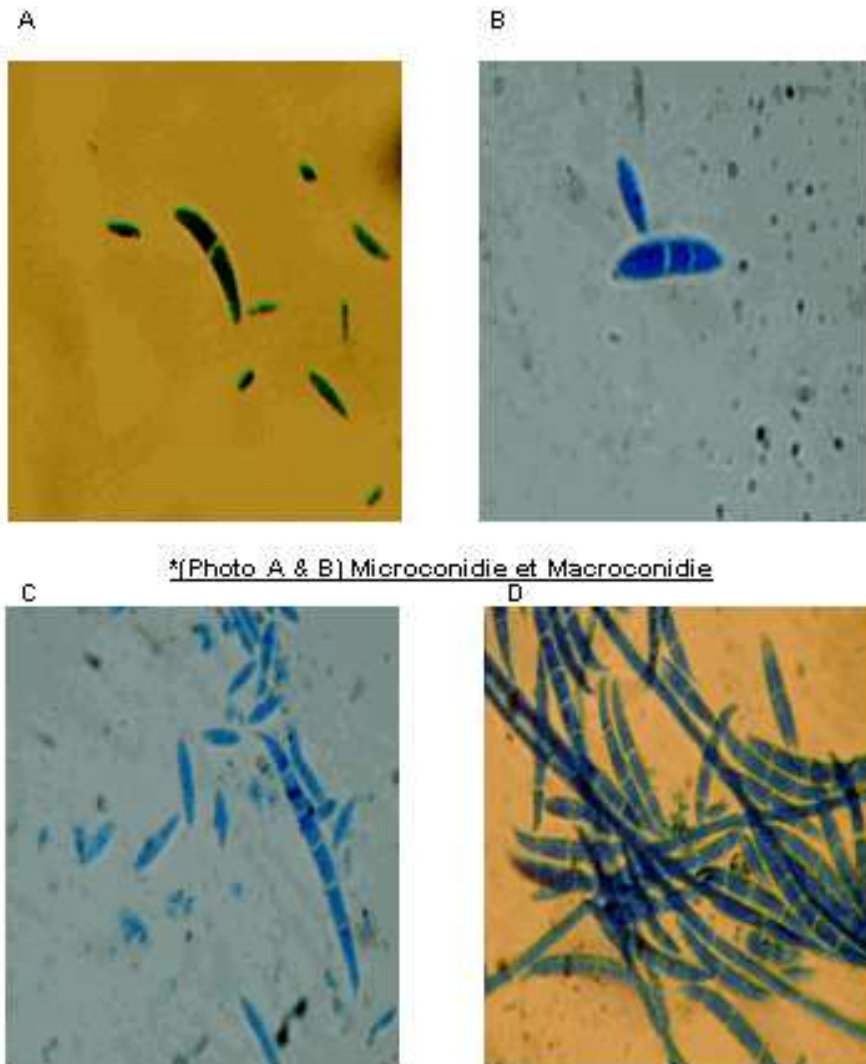
Palmiers Bayoudés morts



Jeune Palmier bayoudé

Figure 19 : Symptômes du Bayoud observés sur le Palmier Dattier à Adrar.

Annexe 3 :



*[Photo A & B] Microconidie et Macroconidie

*[Photo C] Microconidie et Macroconidie

*[Photo D] Macroconidie

Figure 20 : Aspect de Micro conidies et de Macro conidies du F.o.a.