

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

**UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS
DE MOSTAGANEM**



**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET
DE LA VIE**

DÉPARTEMENT D'AGRONOMIE

**THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES
FILIERE : SCIENCES AGRONOMIQUES**

Spécialité : Phytopathologie

Présentée par :

Mr BENLARBI Larbi

Contribution à l'étude de *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis*
agent causal de la fusariose vasculaire du palmier dattier et
moyens de lutte.

Soutenu publiquement le : 09.06.2019

Devant les Membres du Jury :

Président	Pr. CHADLI Rabah	Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.
Directeur de thèse	Pr. BELLAHCENE Miloud	C. Universitaire D'Ain Témouchent
Co-directeur de thèse	Pr. DJIBAOUI Rachid	Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.
Examineur	Pr. YUCEF BENKADA Mokhtar	Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.
Examineur	Pr. MOUSSAOUI Abdellah	Université TAHRI Mohamed de Bechar
Examineur	Pr. MAKHLOUFI Ahmed	Université TAHRI Mohamed de Bechar

Année Universitaire : 2018/2019

DEDICACES

Avec l'aide de Dieu tout puissant, j'ai pu accomplir cette modeste thèse que je dédie :

- *A la tendre lumière éternelle de ma vie à ma mère.*
- *A mon Cher Père.*
- *A ma fleur de vie.*
- *A mes petits, Karam, Riyan et Aicha.*
- *A mes frères et Sœurs, a Khadidja et Hemi.*
- *A toute ma famille, Chadli et Benlarbi.*
- *A mes collègues et amis.*
- *A tous ceux qu'on aime.*

REMERCIEMENTS

Mes vifs remerciements sont adressés plus particulièrement : A mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur BELLAHCENE Miloud, du Centre Universitaire BOUCHAIB Belhadj d'Ain Témouchent, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour m'avoir accordé sa confiance. Ses compétences, ses précieux conseils, sa disponibilité et sa gentillesse à mon égard ont contribué au bon déroulement de ce travail de recherche. J'ai trouvé en lui un directeur toujours disponible et ouvert.

Ma profonde gratitude va à Monsieur le Professeur DJIBAOUI Rachid de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem qui a accepté d'être Co promoteur qu'il trouve ici ma considération et l'expression de ma profonde reconnaissance pour ses contributions.

Il m'est particulièrement agréable de pouvoir exprimer mes vifs et sincères remerciements à Monsieur CHADLI Rabah Professeur et directeur de laboratoire de Protection et Valorisation des Ressources Marines et Littorales et Systématique Moléculaire. A la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant la présidence du jury.

Mes remerciements à Monsieur le Professeur BENKADA Youcef Mokhtar de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pour avoir accepté d'être examinateur de cette thèse, et je le remercie, de même que pour sa participation au Jury.

Mes remerciements vont également au Professeur MOUSSOUI Abdellah Directeur de Laboratoire de valorisation des ressources végétales et sécurité des aliments dans les zones semi arides du sud-ouest Algérien et doyen des enseignants de biologie à l'Université TAHRI Mohamed de Béchar, pour la gentillesse et la patience qu'il a manifestées à mon égard durant cette thèse, pour son aide, pour ses conseils, et pour la patience qu'il a consacré à ce travail ses nombreuses responsabilités, et aussi pour m'avoir fait l'honneur de participer au Jury de soutenance et d'examiner cette modeste contribution.

Un grand merci au Professeur MAKHLOUFI Ahmed, Doyen de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université TAHRI Mohamed de Béchar, frère et ami pour tous ces aides et encouragements, pour sa gentillesse, pour m'avoir si bien épaulé lors de mes stages et expérimentations et pour avoir accepté d'être examinateur de cette thèse, qu'il trouve ici tous le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier Professeur Jesus Gonzalez Diaz pour m'avoir bien accueilli au sein de son laboratoire « Laboratorio 7 » IUBO de ULL de Tenerife Espagne qu'il trouve ici ma reconnaissance pour toutes ces aides scientifiques pour la caractérisation chimique des extraits goudroniques. Je le remercie également pour la pertinence et la qualité de ses remarques, ses corrections et ses conseils. Ses qualités en tant que chimiste chevronné.

Je remercie Madame le Professeur Corinne VANDER WAUVEN, pour son aide précieuse, pour ses encouragements, pour sa gentillesse, pour son accueil chaleureux, pour avoir mis à ma disposition les moyens nécessaires pour le bon déroulement de mon stage au sein de son laboratoire LABIRIS ULB, Belgique et pour avoir contribué avec toute son équipe

notamment Mr Bertrand CORNU à faire de mon court séjour à Bruxelles une grande réussite de pratique en biologie moléculaire et un souvenir inoubliable.

Je tiens vivement à remercier Docteur MEBARKI Lakhdar maitre de conférences à l'Université TAHRI Mohamed de Bechar pour ces multiples aides surtout ces contribution à la rédaction de l'article. Qu'il soit assuré de ma respectueuse et très sincère gratitude. Je tiens aussi à exprimer mon profond respect au Docteur BOULENOUAR Ali maitre de conférences à l'Université de TAHRI Mohamed de Bechar et à Monsieur AKERMI Moulay M'hamed, maitre-assistant à l'Université de TAHRI Mohamed de Bechar, sans oublier Monsieur BELLOUFA Ahmed maitre-assistant à l'Université TAHRI Mohamed de Béchar pour ces aides en partie statistiques Qu'ils trouvent ici mes sincères remerciements et mon profond respect.

Je suis également reconnaissante envers tous mes collègues enseignants et chercheurs de la biologie de l'Université de Béchar, Je tiens également à remercier tous le personnel administratif de la faculté.

Enfin, ces remerciements ne seraient pas complets sans mentionner toutes les personnes qui me sont chères et qui m'ont accompagnée et soutenue tout au long de ses années, je pense plus particulièrement à ma mère ma famille et mes enfants.

A toute personne qui trouve joie en ce document.

Merci à tous !!!!!

Contribution à l'étude de *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* agent causal de la fusariose vasculaire du palmier dattier et moyens de lutte.

Résumé

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est le pilier des écosystèmes oasiens. Par sa présence dans ces zones désertiques, permis le maintien de diverses formes de vies animales et végétales. Le Bayoud une fusariose vasculaire causée par un champignon phytopathogène *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* (FOA) menace l'existence de cette culture en ces régions arides.

La présente étude vise principalement à la caractérisation de l'agent de la fusariose vasculaire du palmier dattier par des outils biomoléculaires et la recherche de molécules bioactives issues de la pyrolyse de 3 bois contre le FOA pour un essai de lutte biologique.

11 isolats de FOA ont été collectés à partir de 9 clones de dattier sur 10 oasis du sud-ouest Algérien. L'identification et l'analyse moléculaire par PCR avec les marqueurs spécifiques FOA (TL3-FOA28) et (BIO3-FOA1) a montré que tous les isolats sont génétiquement identiques et appartiennent tous au FOA. L'analyse des séquences a permis la construction d'une bibliothèque de clones de *Fusarium oxysporum albedinis*. Les 11 isolats de FOA ont subis une autre caractérisation biomoléculaire par marqueurs PCR (LROR /LR3) et des séquençages ont été réalisés dont les séquences et leurs numéros d'accès GenBank sont : L2Fb1 (MG209822.1), L2Fb2 (MG209823.1), L2Fb4 (MG209824.1), L2Fb6 (MG209825.1), L2Fb10(MG209826.1), L2Fb15 (MG209827.1), L2Fb18 (MG209828.1), LAFO1 (MG209829.1), LAFO2 (MG209830.1), LAFO3 (MG209831.1), LAFO4 (MG209832.1), LAFO5 (MG209833.1),LAFO 10 (MG209834.1), LAFO 12 (MG209835.1), LAFO 15 (MG209836.1), LAFO 16 (MG209837.1). L'analyse de ces séquences a permis la construction d'une bibliothèque de clones L'analyse de ces banques de gènes révèle un degré de polymorphisme plus élevé que prévu dans GenBank à partir des séquences disponibles, une séquence d'une espèce distincte *Fusarium inflexum* (U34548.1) c'est regroupé avec les séquences de *Fusarium oxysporum*.

La fabrication en laboratoire de goudron végétale issu par pyrolyse du bois d'*Acacia raddiana*, *Jeniperus oxycedrus* et *Jeniperus phoenicea* à donner des rendements très variés, ces goudrons sont utilisés comme source des molécules anti FOA, Les résultats d'activité antifongique révèlent que les échantillons des goudrons (T1, T2) inhibent totalement la croissance des isolats du pathogène de *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* testés respectivement à 6.33mg/ml et 6.81mg/ml.

L'autobiographie a permis de révéler 3 molécules anti FOA, Les techniques CG/MS et RMN ont permis de caractériser 3 diterpènes : Acide Pimarique (PA), Acide Abiétique (DA) et Acide Dehydroabiétique (DHA), l'étude leurs CMI est très intéressante et révèle des valeurs presque pharmacologiques 21ug/ml pour PA, 16.8ug/ml pour DA et 9ug/ml DHA.

L'essai de lutte biologique en sol avec ces molécules à révéler une forte capacité de limiter la germination des spores de FOA voir les détruire totalement pour une dose de 1.55 % de DHA durant 2 mois de traitement.

Mots-clés : Palmier dattier, *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis*, Goudrons, autobiographie, acide Dehydroabiétique,

ملخص

يعد نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) الدعامة الأساسية للنظم الإيكولوجية للواحات. من خلال وجودها في هذه المناطق الصحراوية، تسمح بالحفاظ على الأشكال المختلفة من الحياة الحيوانية والنباتية. إلا إن البيوض مرض الذبول الوعائي الناجم عن الفطريات المسببة للأمراض النباتية الفيزاريوم أو أكسيسبوروم ن ف البيدينييس يهدد تواجد هذا الصنف في هذه المناطق القاحلة.

تهدف هذه الدراسة بشكل رئيسي إلى تشخيص عامل ذبول الفيزوزاريوم الوعائي لنخيل التمر بواسطة أدوات البيولوجيا الجزيئية والبحث عن جزيئات نشطة بيولوجيًا ناتجة عن الانحلال الحراري لثلاثة أخشاب ضد FOA لإجراء اختبار المكافحة البيولوجية.

تم جمع 11 عزلة من FOA من 9 أصناف من التمر في 10 واحات من الجنوب الغربي للجزائر. أظهرت عملية التشخيص وتحليل البيولوجيا الجزيئية بواسطة PCR باستخدام علامات (FOA (TL3-FOA28) و- (FOA1) أن جميع العزلات متطابقة وراثيًا وجميعها تنتمي إلى FOA. سمح تحليل التسلسل ببناء مكتبة لاستنساخ الفيزاريوم أو أكسيسبوروم ن ف البيدينييس.

خضعت 11 عزلة من FOA لتوصيف جزيئي حيوي آخر بواسطة PCR باستخدام علامات (LROR / LR3) وتم تنفيذ تحليل التسلسل الذي تسلسله وأرقام الوصول الخاصة بهم في GenBank هي: L2Fb1 (MG209822.1), L2Fb2 (MG209823.1), L2Fb4 (MG209824.1), L2Fb6 (MG209825.1), L2Fb10 (MG209826.1), L2Fb15 (MG209827.1), L2Fb18 (MG209828.1), LAFO1 (MG209829.1), LAFO2 (MG209830.1), LAFO3 (MG209831.1), LAFO4 (MG209832.1), LAFO5 (MG209833.1), LAFO 10 (MG209834.1), LAFO 12 (MG209835.1), LAFO 15 (MG209836.1), LAFO 16 (MG209837.1).

سمح تحليل هذه المتواليات ببناء مكتبة لاستنساخ حيث يكشف تحليل هذه البنوك الوراثية عن درجة تعدد الأشكال أعلى من المتوقع من المتواليات المتاحة في GenBank، سلسلة من الأنواع المتميزة *Fusarium inflexum* (U34548.1) يتم تجميعها مع تسلسل *Fusarium oxysporum*.

الإنتاج المختبري للقطران النباتي الناتج عن الانحلال الحراري لأكاسيا راديانا و جنيبيروس أو أكسيسبوروس و جنيبيروس فيونيسي اعطى عوائد متنوعة للغاية، وأستخدم هذه القطران كمصدر لجزيئات مضادة لـ FOA، كما كشفت نتائج النشاط المضاد للفطريات أن العينات T1، T2 تمنع تمامًا نمو العزلات الممرضة للفيزاريوم أو أكسيسبوروم ن ف البيدينييس المختبرة عند تراكيز 6.33 ملغ / مل و 6.81 ملغ / مل، على التوالي. بينت عملية الكشف الذاتي عن 3 جزيئات مضادة لـ FOA، وقد استخدمت تقنيات CG/MS و NMR لتشخيص 3 ديتيربينات وهي: حمض البيماريك (PA)، وحمض الأبيتيك (DA)، وحمض ديهيدروأبيتيك (DHA). وكشفت تقنية الحد الأدنى من التركيز المثبط عن نتائج مثيرة للاهتمام للغاية تقارب القيم الدوائية (PA) 21 مكغ / مل، (DA) 16.8 مكغ / مل و (DHA) 9 مكغ / مل.

كشفت اختبار المكافحة البيولوجية في التربة باستخدام هذه الجزيئات عن قدرة فعالة على الحد من نمو جراثيم FOA وتدميرها تمامًا بجرعة قدرها 1.55% من DHA خلال شهرين من العلاج.

الكلمات المفتاحية: نخيل التمر، *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis*، البيولوجيا الجزيئية، القطران، الكشف الذاتي، الحد الأدنى من التركيز المثبط، حمض الأبيتيك، حمض ديهيدروأبيتيك، المقاومة البيولوجية.

Abstract

The date palm (*Phoenix dactylifera* L.) is the pillar of oasis ecosystems. Through its presence in these desert areas, it has allowed the maintenance of various forms of animal and plant life. Bayoud vascular fusarium disease caused by a phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* (FOA) threatens the existence of this crop in these arid regions.

This study aims to characterize the agent of date palm vascular fusarium disease using biomolecular tools and to investigate bioactive molecules from 3 woods pyrolysis against FOA for an biological control test.

11 FOA isolates were collected from 9 date clones in 10 oases of southwest Algeria. The identification and molecular analysis by PCR with FOA-specific markers (TL3-FOA28) and (BIO3-FOA1) showed that all isolates are genetically identical and all belong to FOA. The sequence analysis allowed the construction of a library of *Fusarium oxysporum albedinis* clones. The 11 FOA isolates underwent another biomolecular characterization by PCR markers (LROR /LR3) and sequencing was performed whose sequences and GenBank access numbers are: L2Fb1 (MG209822.1), L2Fb2 (MG209823.1), L2Fb4 (MG209824.1), L2Fb6 (MG209825.1), L2Fb10(MG209826.1), L2Fb15 (MG209827.1), L2Fb18 (MG209828.1), LAFO1 (MG209829.1), LAFO2 (MG209830.1), LAFO3 (MG209831.1), LAFO4 (MG209832.1), LAFO5 (MG209833.1), LAFO 10 (MG209834.1), LAFO 12 (MG209835.1), LAFO 15 (MG209836.1), LAFO 16 (MG209837.1).The analysis of these gene banks reveals a higher degree of polymorphism than expected in GenBank from the available sequences, and a sequence of a distinct species *Fusarium inflexum* (U34548.1) is grouped with the *Fusarium oxysporum* sequences.

The laboratory production of vegetable tar from pyrolysis of *Acacia raddiana* wood, *Jeniperus oxycedrus* and *Jeniperus phoenicea* has given very varied yields, these tars are used as a source of anti-FOA molecules. Antifungal activity results reveal that tar samples (T1, T2) totally inhibit the growth of *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* pathogen isolates tested at 6.33mg/ml and 6.81mg/ml respectively.

Autobiography has revealed 3 anti-FOA molecules, GC/MS and NMR techniques have characterize 3 diterpenes: Pimaric acid (PA), Abietic acid (DA) and Dehydroabietic acid (DHA), the results of their MIC are very interesting and reveal almost pharmacological values 21ug/ml for PA, 16.8ug/ml for DA and 9ug/ml for DHA.

The biological control test in soil with these molecules revealed a strong ability to limit the growth of FOA spores or destroy them completely for a dose of 1.55% DHA in 2 months of treatment.

Keywords : Date palm, *Fusariumoxysporum* f sp *albedinis*, Biomolecular, Tar, autobiography, MIC, Abietic acid, Dehydroabietic acid, biological control.

Publication et communications

Ce travail a fait l'objet des publications et communications suivantes :

PUBLICATIONS INTERNATIONALES :

1- **Larbi Benlarbi**, Miloud Bellahcene, Lakhdar Mebarki, Corinne Vander Wauven, Bertrand Cornu, Abdellah Moussaoui.

Pathogenic and molecular detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* isolates from different areas in southwest Algeria. Trop J Pharm Res Vol 17(8), 2018.

Publication indexée dans les bases de données suivantes : **Thomson Reuters (web knoweldge)** La revue scientifiques indexées dans le Web of Science (WOS) de Thomson Reuters (avec Impact Factor).

2- **Larbi Benlarbi**, Ahmed Makhloufi, Bouziane Tarfaya, Miloud Belahcene, Abdellah Moussaoui, N. Makhloufi, H. Bensafi, Ali Boulanouar et Lakhder Mebarki.

Biological activities of *Olea europea sylvestris* Tar, growing wild in South west of Algeria Int.J.Curr.Microbiol. Sci (2014) 3(8) 771-777.

Communications Internationales Affichées et Orales :

Communications affichées

1-Séminaire international MESMAP-2 The Second Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, Antalya, Turkey du 22 au 25 Avril 2015. BIOLOGICAL ACTIVITIES OF SOME VEGETABLES TARS, MADE IN SOUTH WEST OF ALGERIA.

2- Séminaire international XIX Semana Científica “Antonio González”, Tenerife, Espagne du 06 au 09 Octobre 2015. Actividades Anti-Foa de Alquitrans Vegetales del Sur-Oeste de Argelia.

3- Séminaire international XIX Semana Científica “Antonio González”, Tenerife, Espagne du 06 au 09 Octobre 2015. Actividades Biológicas de los Alquitrans de Juniperus Phonicia, de la Región de Bechar, Sur-Oeste de Argelia.

4- Séminaire international ICAB Conférence International sur l'Agriculture et la Biotechnologie à Bizerte, Tunisie 2015 du 02 au 03 Novembre 2015. Analyses physicochimiques de trois goudrons végétaux.

5- Séminaire international SIB-1 1er Séminaire International de Biologie : Bioressources et Sécurité des Aliments, Béchar, Algérie du 06 au 08 Décembre 2015. Analyses physicochimiques de trois goudrons végétaux commercialisés du sud-ouest Algérien et essai d'estimation de leurs activités antimicrobiennes

Communications Orales

6- Séminaire international SIB-1 1er Séminaire International de Biologie : Bioressources et Sécurité des Aliments, Béchar, Algérie du 06 au 08 Décembre 2015. Analyses physicochimiques de trois goudrons végétaux commercialisés du sud-ouest Algérien et essai d'estimation de leurs activités antimicrobiennes

7- Séminaire international SNAS-2016 Séminaire National sur les Agrosystèmes Sahariens : Biodiversité, Valorisation et Préservation, Adrar, Algérie du 07 au 08 Novembre 2016. Bioautographie et activités antifongique et antifusarienne de certains goudrons végétaux du sud-ouest Algérien.

8- Séminaire international sur MESMAP-3 The Third International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, Girne-Turkish Republic of Northern Cyprus, du 13 au 16 Avril 2017. Autobiography and Antifusaric Activity of Two Vegetal Tars of South West Algeria.

Table des Matières

DEDICACE	I
REMERCIEMENTS	II
RESUMES	III
PUBLICATIONS	IV
Table des matières	V
Liste des abréviations	VI
Liste des figures	VII
Liste des tableaux	VIII
Introduction générale	01

Première Partie : Synthèse bibliographique **Chapitre 1 : La plante hôte (Le palmier dattier)**

	Page
I.1. Palmier dattier	03
1.1. Taxonomie	03
1.2. Origine et répartition géographique du palmier dattier	03
1.2.1. Origine du palmier dattier	03
1.2.2. Répartition du palmier dattier	05
A. Dans le monde	05
B. En Algérie	05
1.3. Conditions écologique du dattier	07
1.4. Morphologie et phénologie du palmier dattier	07
1.4.1. Racines	07
1.4.2. Tronc (le stipe)	09
1.4.3. Couronne ou Frondaison	09
1.4.4. Palmes	09
1.4.5. Organes floraux	10
1.5. Fructifications	11
1.6. Méthodes de multiplication du palmier dattier	12
1.6.1. Multiplication par semis	12
1.6.2. Multiplication par rejet	13
1.6.3. Multiplication par culture in vitro	13
1.7. Composition de la datte	13
1.8. Données agronomique du dattier	14
1.9. Diversité génétique du dattier	14
1.10. Importance de la culture du palmier dattier dans le monde et en Algérie	17
1.11. Contraintes de la culture du palmier dattier	18
La Cochenille blanche	18
Le Ver de dattes	18
Le Boufaroua	18
La Maladie des feuilles cassantes	18
Le "Bayoud"	19

Chapitre 2 : L'Agent pathogène (*Fusarium oxysporum*)

II.1 Agent pathogène du Bayoud	20
II.1.1 Taxonomie	20
2 Morphologie, biologie et épidémiologie de FOA	21
3 Production de toxines chez FOA	24
II.2 La fusariose vasculaire du palmier dattier	25
1 Origine et distribution géographique du Bayoud	25
2 Symptomatologie du Bayoud	27
3 Importance des dégâts du Bayoud	29
4. Mécanismes de défense et de résistance du palmier dattier	29
II.3 Notions de cultivars résistants	31
II.4 Stratégies de lutte contre le Bayoud	31
1 Mesures prophylactiques	31
2 Techniques culturales	32
3 Lutte chimique	32
4 Lutte génétique	32
5 Lutte biologique	33

Chapitre 3 : Les plantes médicinales et goudron végétales

III.1. Généralité sur les plantes médicinales et goudrons végétales	35
III.2. Définition d'une plante médicinale	36
III.3. Domaine d'application des plantes médicinales	36
III.4. Plantes utilisées pour l'extraction de goudron végétale	36
4.1. <i>Juniperus oxycedrus</i>	36
1.1. Description et Habitat	36
1.2. Description botanique	36
1.3. Usage	37
4.2. <i>Juniperus phoenicea</i>	37
2.1 Description	38
2.2. Description botanique	38
2.3. Utilisation	39
4.3. <i>Olea europaea</i>	39
4.3.1. Description botanique	40
3.2 Utilisation	41
4.4. <i>Acacia raddiana</i>	41
4.4.1 Généralité	42
4.2-Répartition géographique	42
4.3-Taxonomie	43
4.4-Description botanique	44
4.5-Intérêts d' <i>Acacia raddiana</i>	44
III.5 Goudron végétal	44
III.5.1 Définition	45
III.5.2 Extraction du goudron végétal	45
1 Extraction par distillation per descensum	45
2 Distillation per ascensum	45
3 Fours de distillation	46

4 Propriétés physicochimiques du goudron végétal	47
5 Composition chimique de goudron végétal	47
6 Utilisation de goudron végétal	48
7 Utilisations en médecine vétérinaire	49
8 Utilisations en médecine humaine	49
9 Utilisations en fabrication des produits cosmétiques et pharmaceutiques	50

Deuxième partie : Matériel et méthodes

IV-Matériels et méthodes	52
IV.1-matériels fongique	52
1.1 Prélèvement du matériel végétal	52
1.2 Isolement de l'agent pathogène	54
1.3 Clonages des isolats	54
1.4 Caractérisation morphologique d'isolats	55
1.5 Conservation des souches	55
1.6 Test de pouvoir pathogène	55
IV.2 Analyses moléculaires des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i>	57
2.1 Isolats fongiques	57
2.2 Extraction d'ADN	57
2.3 Amplification par PCR	57
2.4 Construction de bibliothèques de clones, séquençage d'ADN et analyse de séquences	58
IV.3 Extraction du goudron végétal	59
3.1 Rendement de goudron végétal	59
3.2 Préparation des extraits de goudron végétal	60
IV.4 Détermination des caractéristiques physico-chimiques des goudrons	60
4.1 les caractéristiques physiques et chimiques	60
1.1 La teneur en eau	60
1.2 L'indice de réfraction	61
1.3 Densité relative à 20°C	61
4.2 les caractéristiques physiques et chimiques	62
4.2.1 pH	62
IV.5 L'analyse chromatographique	62
5.1 Chromatographie sur couche mince préparatoire (CCM prép.)	62
5.2 Chromatographie en phase liquide (CPL)	63
IV.6 L'essai de la bio autographie	64
IV.7 Détermination des structures chimiques	65
7.1 Spectrométrie de masse	65
7.2 Détermination des structures chimiques par RMN	66
IV.8 L'étude de l'activité antifongique	67
8.1 Méthode de contact directe	67
8.2 L'étude de la concentration minimal d'inhibition « CMI »	68
8.3 Détermination de la CMI par Méthodes M38-A2 de micro dilution du bouillon	68
a) Préparation de la suspension de spores	69
b) Préparation des solutions mère d'extraits et fractions	69
c) Procédure	69
IV.9 Essai de lutte biologique in vivo	70
IV.10 Effet des molécules bioactives sur la dynamique des population FOA	70
IV.11 Analyses Statistiques	72

Troisième Partie : Résultats et discussions

I. Collection de souches	74
I.1.1 Répartition géographique de la maladie	74
I.1.2 Mise en évidence de l'agent pathogène	74
I.1.3 Identification du <i>Fusarium oxysporum</i> à partir des isolements	74
I.1.3.1 Symptomatologie	74
I.2. Caractéristiques culturales et morphologiques de l'agent causal	76
I.2.1 Caractères Macroscopiques	76
I.2.2 Caractères Microscopiques	77
I.3 Pathogénicité des isolats étudiés	79
II. Analyses moléculaire des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i>	81
II.1 Caractérisation génotypique	81
II.2 polymorphisme de l'ARNr	82
III. Extraction de goudrons végétales	87
III.1 Résultats du rendement	87
III.2 Rendement de goudron végétal et des extraits de ce goudron	89
III. 3 Résultats des caractéristiques physico-chimique des goudrons végétaux :	90
III.3.1 Caractéristiques physiques	91
III.3.1.1 Teneur en eau :	91
III.3.1.2 Indice de réfraction	91
III.3.1.3 Densité relative	92
III.3.2 Caractéristiques chimiques	92
III.3.2.1 pH	92
IV.1 Résultat de l'analyse chromatographique	93
IV.2 Résultat de l'activité antifongique	97
IV.2.1 Résultat de la méthode de contact directe	97
IV 2.2 Taux d'inhibition (indice antifongique)	99
IV.2.3 Etude de la concentration minimal d'inhibition « CMI »	101
V.1 Résultat de l'essai de la bio autographie	104
V.2.1 Séparation et purification des composés actifs	106
V.2.2 Caractérisation et détermination de structure des composés actives	108
V.2.3 Détermination de la structure des composés	108
VI. Détermination de la CMI par Méthodes M38-A2 de micro dilution du bouillon	104
VII. Résultats de l'essai de la lutte biologique in vivo	118
VIII. Résultats des Analyses Statistiques	122
Discussion générale	127
Conclusion et Perspectives	131
Références Bibliographiques	135
Annexes	
Travaux Personnels	

Liste Abréviations

%	Pourcentage
°C	Degré Celsius
µg	Microgramme
AcOEt	Acétate d'Ethyle
ADN	Acide désoxyribonucléique
AR	<i>Acacia raddiana</i>
C.A.B.I	Centre international pour l'agriculture et les biosciences
CCM	Chromatographie sur couche mince
CDA	Czapex Dox Agar
CDAa	Czapex Dox Agaracidifié
DA	Acide Abiétique
DHA	Acide Dehydroabiétique
DO	Densité Optique
DSMO	Diméthylsulfoxyde
ED	Eau distillée
FOA	<i>Fusarium oxysporum f sp albedinis</i>
JO	<i>Jeniperus oxycedrus</i>
JP	<i>Jeniperus phonicea</i>
M	Molaire
MEB	Microscope électronique à balayage
mg	Milligramme
min	Minutes
ml	Millilitre
mM	milli molaire
MS	Matière sèche
Nm	Nanomètre
O.E.P.P	Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection desPlantes
P/p	Rapport poids / poids
p/v	Rapport poids / volume
PA	Acide Pimarique
PDA	Potato Dextrose Agar
PDA	Potatoes Dextrose Agar
PDAa	Potatoes Dextrose Agar acidifié
PDB	Potatoes Dextrose Broth
PR	protéines PR
RAPD	Random Amplification of Polymorphic Deoxyribonucleic acid
rf	Rapport frontal
t/mn	Tours par minute
UF	Unité fongique
UFC	Unité formant une colonie
UV	Ultra-violet
v/v	Rapport volume / volume
VDN	Variété déglet nour
VR	Virulence relative
YES	Yeast Extract Sucrose

Liste des Figures

	Page
Figure 01 : gauche - Palmier dattier sacré dans l'ère sumérienne et babylonienne. A droite - Adam et Eve avec un palmier dattier entre eux.	04
Figure 02 : Carte de répartition géographique du palmier dattier dans le monde	06
Figure 03 : Les Oasis algériennes.	06
Figure 04 : Présentation schématique du palmier dattier.	08
Figure 05 : Schéma d'une palme.	10
Figure 06 : Représentation schématique des fleurs mâle et femelle.	11
Figure 07 : Coupe longitudinale d'une datte et du noyau.	12
Figure 08 : Catre de diversité variétale de la palmeraie Algérienne.	15
Figure 09 : Organisation morphologique du FOA.	22
Figure 10 : Organes de reproduction asexuée de FOA au MEB.	22
Figure 11 : Cycle infectieux de <i>Fusarium oxysporum</i>	23
Figure 12 : Répartition géographique du Bayoud en Algérie.	26
Figure 13 : Les symptômes externes du Bayoud.	28
Figure 14 : Aspect des fruits du <i>Juniperus oxycedrus</i>	37
Figure 15 : Aspect du <i>Juniperus phoenicea</i>	40
Figure 16 : Aspect <i>Olea europeae</i>	40
Figure 17 : fleurs de l'espèce <i>Acacia raddiana</i>	43
Figure 18 : Distillation per descensum.	46
Figure 19 : Distillation per ascensum	46
Figure 20 : Four à goudron végétal.	47
Figure 21 : Carte de Répartitions des localités échantillonnées.	52
Figure 22 : Isolement du FOA	53
Figure 23 : Germination des graines, Injection des spores du FOA Test de pathogénicité (durant 2 mois)	54
Figure 24 : Dispositif d'extraction de goudron végétal.	58
Figure 25 : Chromatographie sur couche mince préparative.	62
Figure 26 : Chromatographie en phase liquide (CPL), de Sephadex® LH-20	63
Figure 27 : Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) Dispositif utilisé à IUBO de ULL Tenerife Espagne.	65
Figure 28 : La plaque 96 puits pour la détermination des paramètres CMI et CMF	68
Figure 29 : : Essai de lutte biologique <i>in vivo</i> : Traitement de sol (1) et quantification de population de FOA (2)	71
Figure 30 : Types morphologiques de thalles de <i>Fusarium oxysporum</i> f sp <i>albedinis</i>	76
Figure 31 : Aspects microscopique des différents types de spores rencontrées chez le FOA (Gr: X400)	77
Figure 32 : Gels d'agarose à 1,5 % montrant les produits PCR des isolats d'ADN des souches de Fusarium.	83
Figure 33 : Analyse phylogénétique moléculaire par la méthode du maximum de vraisemblance	85
Figure 34 : Resultats d'extraction par perolyse.	88
Figure 35 : Rendement d'extractions des goudrons et des huiles végétaux.	89
Figure 36 : Rendement des extraits du goudron d' <i>Acacia raddiana</i>	89
Figure 37 : Valeurs des indices de réfractions	92
Figure 38 : Résultat de chromatogrammes du T1 (Visible et sous UV a 265 nm)	94
Figure 39 : Résultat de chromatogrammes du T2 (Visible et sous UV a 265 nm)	94

Figure 40 : Résultat de la méthode de contact directe des Témoins, T1, T2 et T3 sur FO3	98
Figure 41 : Résultat de la méthode de contact directe des Témoins, T1, T2 et T3 sur 2Fb	98
Figure 42 : Résultat de la méthode de contact directe des Témoins, T1, T2 et T3 sur FO36	98
Figure 43 : Taux d'inhibition de la souche FO3 a différentes concentrations de T1 et T2	99
Figure 44 : Taux d'inhibition de la souche FO36 a différentes concentrations de T1 et T2	100
Figure 45 : Taux d'inhibition de la souche 2Fb a différentes concentrations de T1 et T2	100
Figure 46 : Effet de T1 a différentes concentrations sur FO3 avec une CMI=0.136mg/ml	103
Figure 47 : Effet de T2 a différentes concentrations sur FO3 avec une CMI=0.084mg/ml	103
Figure 48 : Effet de T1 a différentes concentrations sur 2Fb avec une CMI=0.272mg/ml	103
Figure 49 : Effet de T2 a différentes concentrations sur 2Fb avec une CMI=0.168mg/ml	103
Figure 50 : Effet de T1 a différentes concentrations sur FO36 avec une CMI=0.090mg/ml	103
Figure 51 : Effet de T2 a différentes concentrations sur FO36 avec une CMI=0.084mg/ml	103
Figure 52 : Résultats de la Bioautographie.....	105
Figure 53 : analyse CCM des sous-fractions de l'extrait.	106
Figure 54 : analyse CCM des sous-fractions molécules actifs de l'extrait.	107
Figure 55 : Résultat de l'analyse CCM des sous-fractions, molécules actifs de la CCM préparative	107
Figure 56 : Résultat d'analyse par CG/SM (Aligent 6890N/VG AutoSpec) du premier composé antiFOA.	109
Figure 57 : Résultat d'analyse par CG/SM (Aligent 6890N/VG AutoSpec) du deuxième composé antiFOA.	110
Figure 58 : Résultat d'analyse par CG/SM (Aligent 6890N/VG AutoSpec) du troisième composé antiFOA.	110
Figure 59 : Structure du composé 1, l'acide Abiétique.	111
Figure 60 : spectre de masse CG/SM (Aligent 6890N/VG AutoSpec) du composé 2.	111
Figure 61 : spectre de RMN du ¹ H dans le cdcl ₃ du composé 2.....	112
Figure 62 : Structure du composé 2, l'acide Pimarique.	112
Figure 63 : A - spectre de RMN du ¹ H dans le cdcl ₃ du composé 3 B - spectre de masse (CG/SM et SM-ESI) du composé 3.	113
Figure 64 : Schéma de l'oxydation et de la dégradation des acides abiétanes.	114
Figure 65 : Structure du composé 3, l'acide Dehydroabiétique (DHA).	114
Figure 66 : Microplaque avec la suspension de Spores FOA-composé après incubation, et détection de la croissance par l'essai colorimétrique (INT).	116
Figure 67 : Suivi de la dynamique des populations de FOA pendant 59 jours, en sols traités avec différentes concentrations en DHA.	119
Figure 68 : Suivi de la dynamique des populations de FOA pendant 59 jours, en sols traités avec différentes concentrations en PA.	120
Figure 69 : Suivi de la dynamique des populations de FOA pendant 59 jours, en sols traités avec différentes concentrations en DA	120

Figure 70 : Probabilité d'interférence de l'ordre de 0.05 entre les résultats relatifs aux calculs de la persistance des spores du FOA dans le sol en présence des 3 composés testés	124
Figure 71 : Evaluation de l'effet global de quatre concentrations relatives à trois composés (Acide Dehydroabiétique Acide Pimarique Acide Abiétique)	125

Liste des Tableaux

	Page
Tableau 01 : Classification du Palmier dattier.....	03
Tableau 02 : Composition de la pulpe de datte fraîche Deglet-Nour.....	13
Tableau 03 : La composition minérale de datte sèche.....	14
Tableau 04 : Index des cultivars Algériens	16
Tableau 05 : Production mondiale des dattes.....	17
Tableau 06 : Situation de la Fusariose du palmier dattier dans les communes d'Algérie	27
Tableau 07 : Taxonomie de plante <i>Juniperus oxycedrus</i>	37
Tableau 08 : Taxonomie de <i>Juniperus phoenicea</i>	39
Tableau 09 : Taxonomie d' <i>Olea europaea</i>	41
Tableau 10 : Taxonomie de plante <i>Acacia raddiana</i>	44
Tableau 11 : Composition du goudron végétal.....	48
Tableau 12 : Origines géographiques des isolats de <i>Fusarium</i> étudiés.....	57
Tableau 13 : Amorces utilisées pour l'identification moléculaire des isolats <i>Fusarium oxysporum f. sp. albedinis</i>	58
Tableau 14 : Origines géographiques des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i>	75
Tableau 15 : Rendements en (%) des goudrons et des huiles essentielles des plantes étudiées, obtenus par pyrolyse	87
Tableau 16 : Résultats de la séparation des composants par CCM de partie goudrons d' <i>Acacia raddiana</i>	95
Tableau 17 : Résultats de la séparation des composants par CCM de partie goudrons de <i>Juniperus oxycedrus</i>	95
Tableau 18 : Résultat de la méthode de contact directe.....	97
Tableau 19 : Résultat de la concentration minimal d'inhibition pour (T1).....	102
Tableau 20 : Résultat de la concentration minimal d'inhibition pour (T2).....	102
Tableau 21 : Résultat de la concentration minimal d'inhibition pour les 3 molécules bioactives par Méthodes M38-A2 de micro dilution	116
Tableau 22 : Les niveaux de significations pour les différents niveaux de concentrations (%) de traitement durant le traitement.	123
Tableau 23 : Comparisons multiples des moyennes de Tukey Niveau de confiance de 95 %	124

Introduction générale

Introduction générale

La présence des agents phytopathogènes dans l'environnement peuvent causer des dommages sévères, qu'il s'agisse des bactéries, champignons ou virus, les dégâts peuvent atteindre la destruction totale des cultures à l'instar du Bayoud, causée par *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis* sur palmier dattier.

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) joue un rôle essentiel dans le développement et l'équilibre des oasis sahariennes. En Algérie, ses dattes sont exportées, vendues sur les marchés nationaux ou utilisées comme aliments de base par les populations locales. En outre, il crée un microclimat qui permet à d'autres arbres fruitiers et aux cultures vivrières de s'épanouir à son ombre. La production mondiale de dattes est estimée à près de 7.6 millions de tonnes répartis sur les cinq continents, mais les peuplements les plus importants se trouvent au Moyen-Orient et en Afrique du Nord (Gros-Balthazard, et al., 2013).

L'Algérie et le Maroc sont actuellement les pays les plus concernés par la fusariose vasculaire du palmier dattier ou Bayoud. La maladie est provoquée par un champignon tellurique : *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Cette grave maladie, apparue tout d'abord au Maroc, a touché au début du 20^{ème} siècle, la quasi-totalité des palmeraies marocaines (Toutain, 1965). On estime qu'elle a détruit dans les deux pays (Maroc et Algérie) plus de douze millions de palmiers dattier (Tantaoui et al., 1995). Depuis, de nombreuses palmeraies de l'ouest Algérien sont atteintes. Elle a ensuite atteint la région du M'Zab et menace les importantes plantations produisant des dattes d'exportation (variété Deglet-Nour) à l'est du pays. La progression de cette maladie est inévitable au stade actuel, car malgré les mesures prophylactiques sévères qui sont observés, il est impossible de contrôler les déplacements d'individus dans une aussi vaste région que le Sahara.

Actuellement, le Bayoud a atteint les régions de Ouargla, Oued Righ, le Souf et les Zibans, connues par l'omniprésence du cultivar Deglet Nour, réputé sensible à cette fusariose. L'ampleur de ce risque est accrue, ces dernières années, par l'orientation prononcée vers des plantations monovariétales basées sur ce cultivar (Khene et al., 2015).

A cet égard, les chercheurs sont de plus en plus à la recherche d'alternatives moins dangereuses, comme l'exemple des pesticides d'origine végétales plus respectueuses de la santé des êtres humains et de l'environnement. Ces bio-pesticides répondent aux exigences

économiques, toxicologiques et écologiques. Cette forme de bioprotection consiste en l'utilisation d'extraits végétaux pouvant contrer la croissance des agents phythopathogènes. Des études dans ce sens ont abouti à des résultats satisfaisants (Ajouz, 2009 ; Biabiany .; 2012). L'utilisation des extraits de végétaux doués d'activités antifongiques est actuellement parmi les voies intéressantes pour réduire les pertes dues aux agents pathogènes et permet de remplacer les composés chimiques de synthèse (fongicides). C'est dans ce contexte que nous avons entrepris notre étude afin de trouver des solutions permettant de pallier à ce fléau.

Dans un premier temps, nous avons réalisé des prospections dans différentes oasis. Ces prospections avaient pour objectifs, de localiser les foyers de la maladie et de confirmer l'identité de l'agent causal sur la base des symptômes de la maladie et des caractéristiques morphologiques des isolats obtenus à partir des palmiers dattier en voie de dépérissement. Cette étude aboutit à la mise en évidence de l'agent pathogène responsable du Bayoud et à l'obtention d'une collection de *Fusarium oxysporum* f.sp. *oxysporum* (FOA).

Le deuxième volet de la thèse consiste principalement à caractériser au niveau biomoléculaire et étudier le pouvoir pathogène des isolats de FOA. Nous avons complété cette étude par des tests d'évaluation des propriétés antifongiques des extraits de trois espèces végétales. Enfin, cette étude est achevée par une pré-identification des molécules responsables de cette activité.

Le manuscrit de la thèse comprend trois chapitres avec une introduction, une conclusion générale et quelques perspectives.

Le premier chapitre fait une synthèse bibliographique sur l'état des connaissances sur l'agent pathogène (*Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*), l'hôte (*Phoenix dactylifera*), la maladie (le Bayoud) ainsi que les trois espèces végétales.

Le second chapitre consacré au matériel et méthode présente l'origine du matériel biologique et décrit avec précision tous les protocoles expérimentaux.

Le troisième chapitre regroupe les résultats et leur discussion. Enfin, le manuscrit s'achève par la présentation des références bibliographiques et les annexes.

Chapitre I : La plante hôte
Le palmier dattier

I.1.Palmier dattier

I.1.1.Taxonomie

Les palmiers ont été définis comme "Principes plantarum" par Linnée, à cause de leur port majestueux et leur épaisse couronne de feuilles, représentant une des plus grandes familles d'angiospermes monocotylédones et comprenant environ 2500 espèces, réunies en 215 genres. Ils peuvent également être appelés Arecaceae ou Palmae, (Tableau 1).

Les Arecaceae comprennent des plantes très importantes pour l'économie humaine comme le cocotier, *Cocos nucifera*L., à cause de ses substances alimentaires : graisses, huile, vin, lait de coco. Le palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L., a également une grande importance, surtout dans l'économie des pays du Maghreb, car il produit une grande quantité de fruits comestibles (Hilgeman, 1972).

Tableau 1 : Classification du Palmier dattier (Dransfield et Uhl, 1986)

Classification classique	
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Ordre	Arecales
Famille	Arecaceae
Genre	<i>Phoenix</i>
<i>Phoenix dactylifera</i> L., 1734	
Classification phylogénétique	
Ordre	Arecales
Famille	Arecaceae

I.1.2.Origine et répartition géographique du palmier dattier

I.1.2.1. Origine du palmier dattier

Depuis les hautes antiquités, le palmier dattier était considéré comme symbole de vigueur et de providence, il fut appelé l'arbre des phéniciens dont-il tire le nom Phoenix (Figure 1), le palmier dattier appartient à la famille des Arecaceae, l'une des plus importantes familles des monocotylédones et des plus anciennes Angiospermes du monde.

Le palmier dattier, arbre providence des régions désertiques, est principalement localisé dans l'hémisphère Nord entre les parallèles 10° à 35°, notamment aux abords du Golfe Persique, en Afrique du Nord et en Asie ainsi qu'en Amérique.

Le palmier dattier ou *Phoenix dactylifera* L. est l'arbre fruitier par excellence du désert saharien où il joue à la fois un rôle économique grâce à la production des dattes qui constituent la base de l'alimentation humaine et animale, et un rôle écologique puisqu'il confère sa structure à l'oasis.

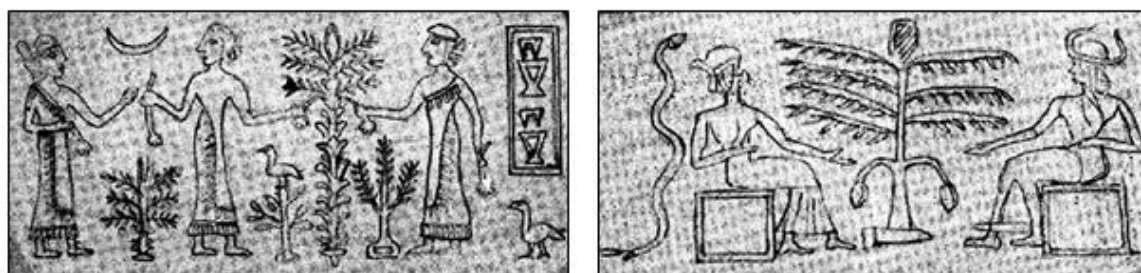


Figure 1 : gauche - Palmier dattier sacré dans l'ère sumérienne et babylonienne. A droite - Adam et Eve avec un palmier dattier entre elles (Benlarbi, 2009).

L'ancêtre sauvage de cette espèce se distribuait sur la frange méridionale chaude et sèche du Proche Orient, sur le Nord - Est du Sahara et le Nord du désert d'Arabie. Sa morphologie et ses exigences climatiques sont les mêmes que celles du Dattier cultivé. La seule différence réside dans la taille des fruits, qui est plus petite avec une pulpe très réduite et indigeste (Bouguédoura, 1991). Le Palmier Dattier cultivé est le résultat de l'hybridation de plusieurs *Phoenix*, et l'origine des formes cultivées doit se situer dans la zone marginale septentrionale ou orientale du Sahara (Munier, 1973).

Sur le plan botanique l'idée d'un ancêtre sauvage du palmier dattier a été émise la première fois par Werth (1933) qui refusait la pluralité des ancêtres en raison de la stabilité des formes des organes floraux du Palmier Dattier cultivé dans toutes les régions du monde (Munier, 1973).

L'ancêtre sauvage de cette espèce se distribue sur la frange méridionale chaude et sèche du Proche Orient, sur le Nord Est du Sahara et le Nord du désert d'Arabie. Sa morphologie et ses exigences climatiques sont les mêmes que celles du Dattier cultivé ; la seule différence réside dans la taille des fruits, taille plus petite avec une pulpe très réduite et indigeste (Bouguédoura, 1991). L'analogie des formes sauvages avec les arbres cultivés les a fait classer par les Botanistes avec *Phoenix dactylifera*. Actuellement, elles sont mêlées aux formes

domestiques. La domestication du palmier dattier sauvage remonte à environ 3700ans avant J.C. Il a fait partie de la production alimentaire de la période Chalcolithique avant l'âge de bronze (Bouguedoura, 1991). Les vestiges du palmier dattier révélés dans le site archéologique de Hili en péninsule d'Oman (Cleuzio et Constantini, 1982)valident l'existence des oasis depuis 3000 ans avant J.C. la domestication et la sélection naturelle ont amélioré la qualité et la taille du fruit.

Selon Munier (1973), le Palmier Dattier cultivé est le résultat de l'hybridation de plusieurs *Phoenix* et l'origine des formes cultivées doit se situer dans la zone marginale septentrionale ou orientale du Sahara.

I.1.2.2. Répartition du palmier dattier

A. Dans le monde : la culture du palmier dattier est concentrée dans les régions arides au sud de la méditerranée et plus accentuée dans la frange méridionale du Proche-Orient depuis le sud d'Iran à l'est jusqu'à la côte atlantique de l'Afrique du nord de l'ouest (Figure 2). La phéniciculture fut introduite dans d'autres régions du monde. En Europe, l'Espagne reste le seul pays de ce continent qui produit de dattes principalement la célèbre palmeraie d'Elche à l'ouest d'Alicante.

L'introduction du palmier dattier aux Etats Unis d'Amérique fut en XVIII siècle avec l'importation des variétés Algériennes notamment DegletNour et de variétés d'Irak (Hilgeman, 1972)dont les principaux centres de production se situent en Californie, Arizona et au Texas (Bouguedoura, 1991).Le palmier dattier est cultivé dans d'autres pays du monde mais à des échelles plus faibles le cas du Mexique, Argentine et en Australie.

B. En Algérie : La culture du palmier dattier occupe toute les régions situées sous l'atlas saharien depuis la frontière marocaine à l'ouest jusqu'à la frontière tuniso-libyenne à l'est et elle s'étend depuis la limite du sud de l'atlas saharien jusqu'à Reggane à l'ouest, Tamanrasset au fond du sud et Janet à l'est, (Figure 3). Cependant, les principales régions productrices demeurent celles de l'Est, indernes du Bayoud et qui concentrent toute la production de la variété DegletNour. Ce sont principalement les palmeraies de l'oued Rhir et des Ziban, d'Oued Souf, de la cuvette d'Ouargla et du M'Zab. A l'ouest, ce sont les palmeraies de l'Oued Saoura, du Touat, du Gourara et du Tidikelt. (Figure 2),(Bouguedoura, 1991).

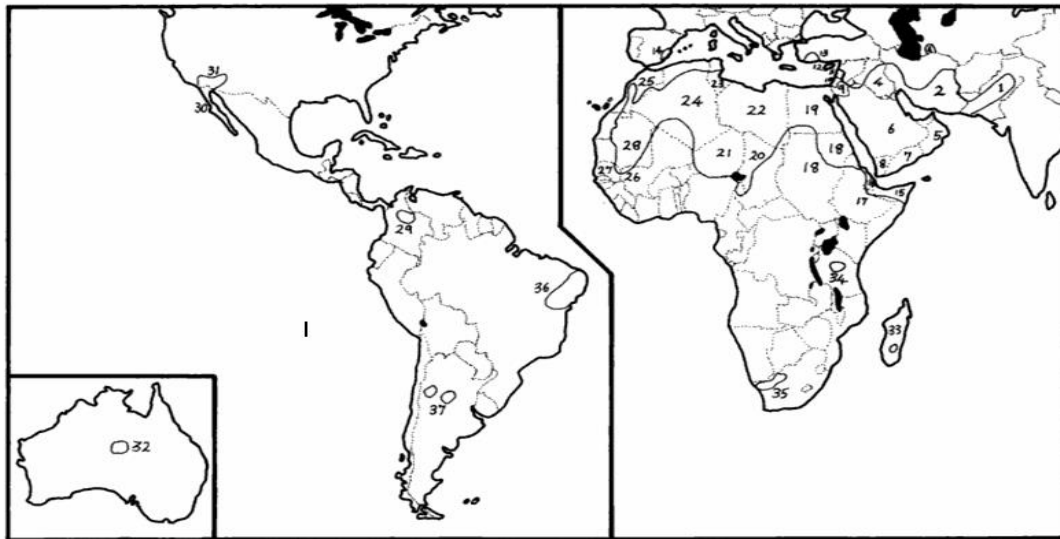


Fig. Répartition géographique de palmier dattier dans le monde Northern Hemisphere: 1 Pakistan, 2 Iran, 3 U.S.S.R., 4 Iraq, 5 Oman, 6 Saudi Arabia, 7 Democratic Yemen, 8 Yemen, 9 Jordan, 10 Israel, 11 Lebanon, 12 Cyprus, 13 Turkey, 14 Spain, 15 Somalia, 16 Djibouti, 17 Ethiopia, 18 Sudan, 19 Egypt, 20 Chad, 21 Niger, 22 Libya, 23 Tunisia, 24 Algeria, 25 Morocco, 26 Mali, 27 Senegal, 28 Mauritania, 29 Colombia, 30 Mexico, 31 USA, Southern Hemisphere: 32 Australia, 33 Madagascar, 34 Tanzania, 35 South Africa, 36 Brazil, 37 Argentina

Figure2 : Carte de répartition géographique du palmier dattier dans le monde (Bouguedoura, 1991).

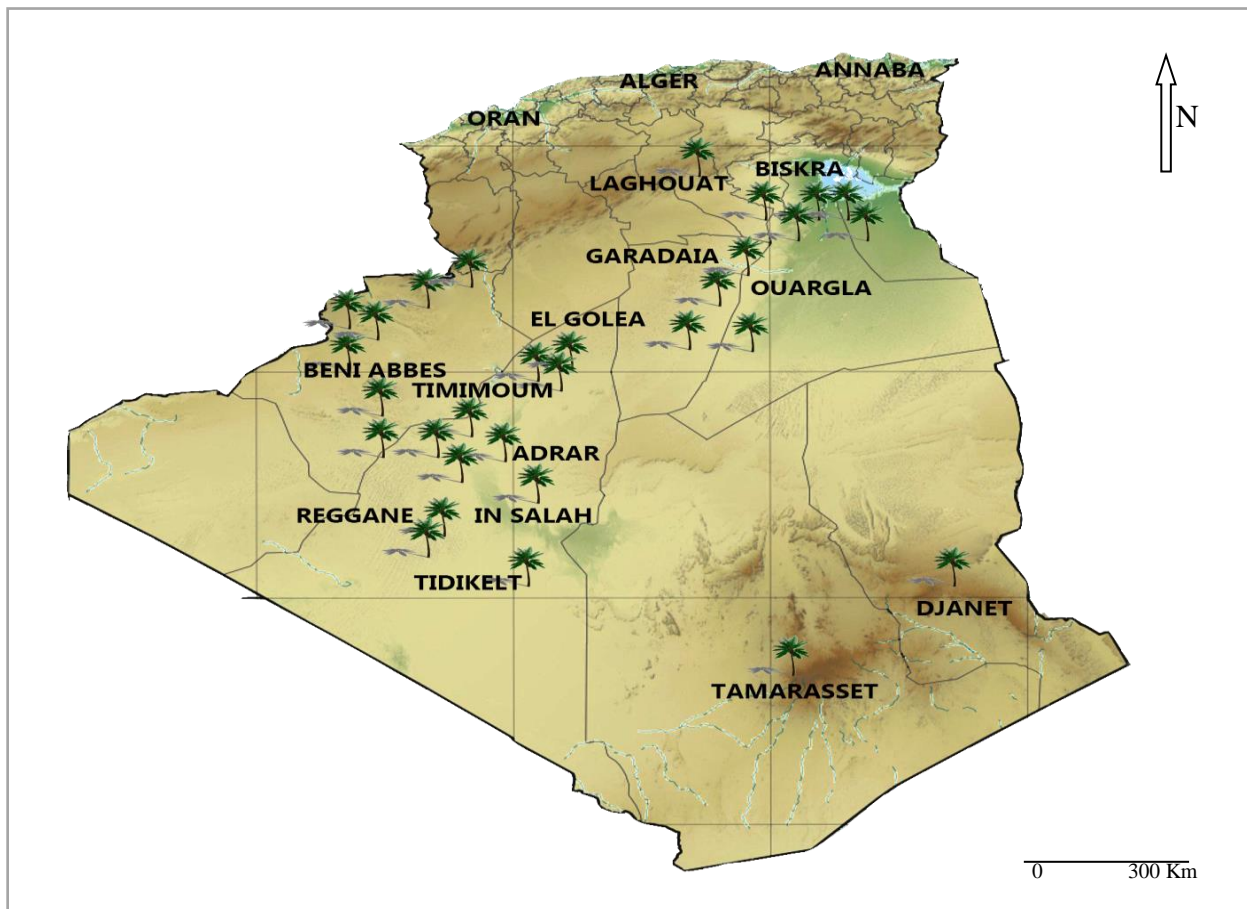


Figure 3 : Les Oasis algériennes (Boulanouar, 2015)

I.1.3. Conditions écologique du dattier

Le palmier dattier est une espèce thermophile mais qui supporte des températures de -15°C selon le cultivar, l'activité végétative se manifeste à partir de 7 à 10°C et elle atteint son intensité maximale de végétation entre 30 et 37° C (Munier, 1973). Le Palmier Dattier est une espèce héliophile. C'est pourquoi les plantations sont établies à une densité qui permet un bon éclairage des plants et donc une bonne maturation des dattes. Le Dattier est sensible à l'humidité de l'air pendant la floraison et la fructification. Une forte humidité diminue la transpiration des dattes qui de ce fait ne mûrissent pas.

Les meilleures dattes sont récoltées dans les régions où l'humidité de l'air est moyennement faible (40 %). Même si le palmier préfère les sols légers, il s'accommode de tous les sols des régions arides et semi arides qu'ils soient ingrats ou bons. Cependant son comportement diffère selon le type de sol dans lequel il est planté. En sol léger, sa croissance est plus rapide qu'en sol lourd. La floraison est aussi plus précoce et la récolte est de meilleure qualité.

C'est également une espèce très tolérante au sel. La concentration extrême de la solution de sel est donc 15 %. Au-delà de 30 % le Dattier dépérit. C'est pourquoi il faut réaliser un système efficace de drainage dans les sols à haute concentration en sels ou dans le cas d'irrigation avec des eaux saumâtres. Il est nécessaire, pour assurer une bonne production dattière d'assurer une irrigation permanente. Les besoins en eau sous cette forme est estimée à 40 L/h répartis de façon périodique. Le coefficient d'irrigation et sa périodicité doivent tenir compte du type de sol et de la période de l'année.

I.1.4. Morphologie et phénologie du palmier dattier

I.1.4.1. Racines

Le système racinaire du dattier est fasciculé. Les racines ne se ramifient pas et n'ont relativement que peu de radicelles. Le bulbe, ou plateau racinal, est volumineux et émerge en partie au-dessus du niveau du sol. Le système radical présente quatre zones d'enracinement :

Zone I

À racines respiratoires, la zone I est localisée au pied du dattier, comporte de nombreuses racines adventives aériennes qui peuvent se développer à partir de la région

basale du tronc. Les racines souterraines restent localisées dans la couche superficielle du sol et ne dépassent pas 0.20 à 0.25m de profondeur.

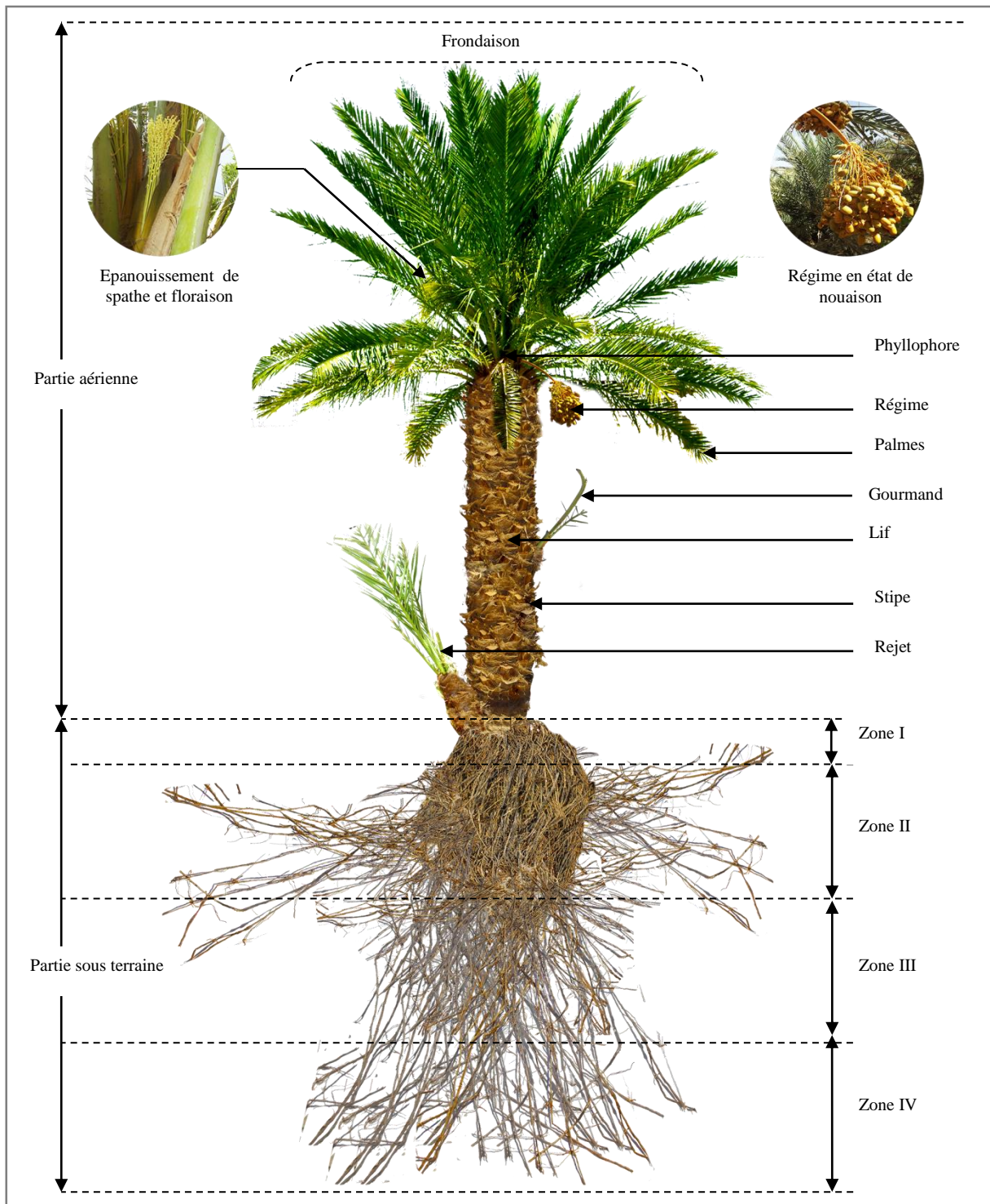


Figure 4 :Présentation schématique du palmier dattier (Boulanouar, 2015)

Zone II

À racines de nutrition, très étendue surtout en culture unique avec la plus forte proportion de racines de système.

Zone III

À racines d'absorption, c'est une zone plus ou moins importante selon le mode de culture et la profondeur du niveau phréatique.

Zone VI

Cette zone peut être très réduite et se confond avec la précédente lorsque le niveau phréatique se trouve à faible profondeur, (Bouguedoura, 1991).

I.1.4.2. Tronc (le stipe)

C'est un stipe généralement cylindrique, il peut présenter des zones de rétrécissement résultant de défaut de nutrition ayant entraîné le développement anormal du bourgeon terminal. Ces rétrécissements correspondent à des périodes de sécheresse, de froid où peuvent résulter des accidents divers. Chez les jeunes sujets, le tronc est recouvert à la base des pétioles des anciennes palmes et dans les interstices par une bourre fibreuse : le fibrillum.

Le stipe ne se ramifie pas mais le développement des gourmands ou des rejets peut donner naissance à des pseudo ramifications et peut atteindre ou dépasser 20m de hauteur (Bouguedoura, 1991).

I.1.4.3. Couronne ou Frondaison

L'ensemble des palmes vertes forme la couronne du palmier. On dénombre de 50 à 200 palmes chez un arbre adulte. Les palmes vivent de trois à sept ans, selon la variété et le mode de culture.

On distingue :

- La couronne basale, avec les palmiers les plus âgés ;
- la couronne centrale, avec les palmes adultes ;
- les palmes du cœur, avec les non ouvertes, dites « en pinceau », et les palmes n'ayant pas encore atteint leur taille définitive.

Les palmes sont émises par le bourgeon terminal ou « phyllophore ». Les premières palmes, celles du cœur non ouvertes en pinceau, peuvent être dénombrées à l'œil nu. (Munier, 1973).

I.1.4.4 Palmes

Ce sont des feuilles composées et pennées. Les folioles sont régulièrement disposées en position oblique le long du rachis, isolées ou groupées, pliées longitudinalement en gouttière.

Les segments inférieurs sont transformés en épines, plus ou moins nombreuses et longues, (Fig. I.5).

Les palmes sont issues du bourgeon terminal. Chaque année en apparaît de 10 à 20, jusqu'à 30. Les jeunes palmes sont d'abord de grandes feuilles entières à nervations pennées, pliées sur elle-même, et en se développant le limbe se déchire aux plissements, et chaque élément se sépare pour former une feuille composée. Un palmier adulte en bon état de végétation peut avoir de 100 à 125 palmes actives (Munier, 1973).

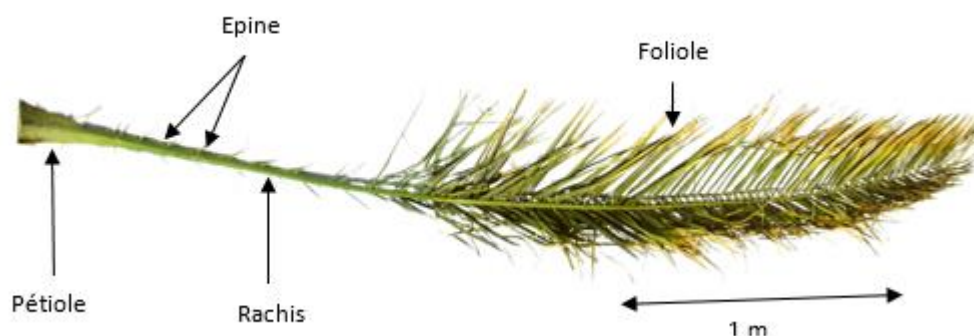


Figure5: Schéma d'une palme (originale)

I.1.4.5. Organes floraux

Le palmier dattier est une espèce dioïque et porte des inflorescences mâles ou femelles, appelées spadices, enveloppées d'une très grande bractée membraneuse, la spathe. Les fleurs femelles ont trois carpelles indépendants, dont un seul se développe pour former la datte. La pollinisation se fait par le vent (anémophilie), cependant en culture, le nombre réduit de palmiers mâles (en Algérie, où ils sont appelés *dokkars*, on en compte souvent un pour 100 pieds femelles) nous oblige à pratiquer une pollinisation artificielle, (Munier, 1973).

Les inflorescences du palmier dattier naissent du développement de bourgeons axillaires situés à l'aisselle des palmes dans la région coronaire du tronc.

Les fleurs du dattier sont déclinées, unisexuées, pratiquement sessiles. Leurs pédoncules sont très courts, elles sont portées par des pédicelles rassemblés en épi composé, le spadice, enveloppé d'une grande bractée membraneuse entièrement fermée.

La fleur femelle est globulaire, de 3 à 4 mm de diamètre. Elle comporte un calice court, cupuliforme, à trois pointes, formée de trois sépales soudés, une corolle constituée de trois pétales ovales et arrondis, et de six étamines avortées ou staminodes (Munier, 1973).

La fleur mâle légèrement allongée, est constituée d'un calice court et cupuliforme tridenté, formé également de trois sépales soudés, d'une corolle formée de trois pétales légèrement allongés et se terminent en pointe, de six étamines disposées sur deux verticilles.

Le calice et la corolle des fleurs mâles et femelles sont de couleur blanc ivoire, mais le calice des fleurs femelles est légèrement bordé de vert,(Figure 6)(Bouguedoura, 1991).

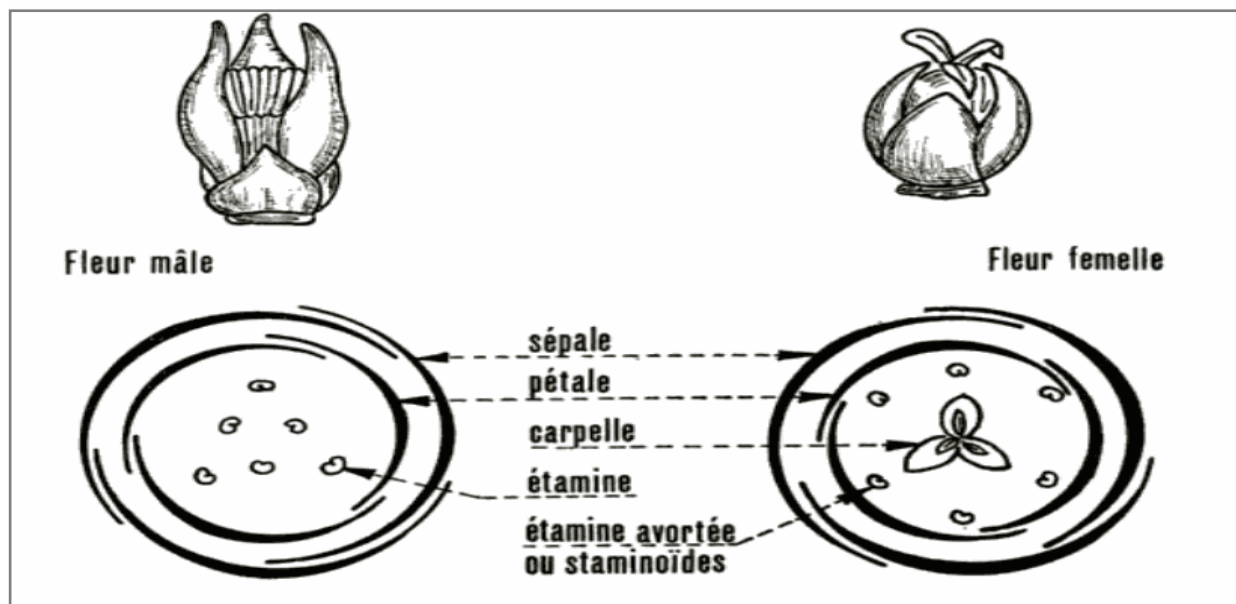


Figure6: Représentation schématique des fleurs mâle et femelle (Munier, 1973).

I.1.5. Fructifications

Le fruit du palmier dattier, la datte, est une baie contenant une seule graine, appelée noyau. La datte est constituée d'un mésocarpe charnu, protégé par un fin péricarpe. Le noyau est entouré d'un endocarpe parcheminé, il est de forme allongée, plus ou moins volumineux, lisse et pourvu de protubérances latérales en arêtes ou ailettes, avec un sillon ventral. L'embryon est dorsal, sa consistance est dure et cornée (Munier, 1973).

La couleur de la datte est variable selon les espèces : jaune plus ou moins claire, jaune ambré translucide, brun plus ou moins prononcé, rouge ou noir, sa consistance est également variable, elle peut être molle, demi-molle ou dure (Figure 7).

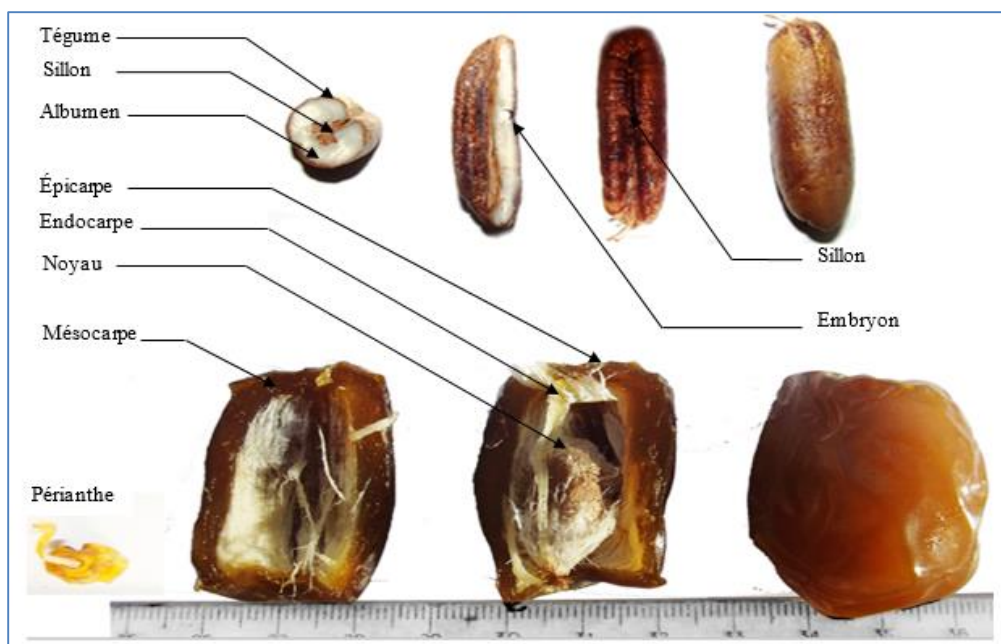


Figure7: Coupe longitudinale d'une datte et du noyau (Boulanouar, 2015).

I.1.6. Méthodes de multiplication du palmier dattier

I.1.6.1. Multiplication par semis

Le Palmier dattier est une espèce dioïque. Le nombre chromosomique habituellement rapporté est celui de $2n = 36$, (Benkhalifa, 1989). Ce nombre est variable selon les cultivars et même entre les arbres mâles et les arbres femelles, (Al.Salih, 1987a, 1987b), issue du croisement entre deux arbres hétérozygotes, bien que (Zaid, 1989 et Bouguedoura, 1991) signalent que seul le mâle est hétérozygote et que le pied femelle est homozygote récessif. La graine est donc un organe absolument incontrôlable sur le plan génétique. Ceci d'autant plus que l'arbre mâle est inconnu dès le départ. La multiplication par graine donne par conséquent une population composée de 50 % de pieds mâles et 50 % de pieds femelles. Une grande partie de cette population s'avère différente de la variété femelle dont les graines sont issues. En effet, il faut seulement un arbre mâle pour 50 arbres femelles, et si l'on veut créer des palmeraies nouvelles, ce mode de multiplication n'est pas le plus rentable. Pour éliminer les arbres mâles inutiles, il faut attendre cinq à huit années pour que la floraison soit initiée et ainsi reconnaître le sexe. Il se pose donc le problème de la différenciation entre le mâle et la femelle chez le palmier dattier, (Djerbi, 1991).

Cependant, la méthode de multiplication par semis malgré ses inconvénients, est utilisée pour obtenir de nouveaux cultivars qui peuvent se révéler d'excellente qualité. Leur mise en culture sur terrains infestés de bayoud permet de sélectionner par la suite les cultivars résistants.

I.1.6.2. Multiplication par rejet

C'est la voie de propagation végétative la plus stable et la plus efficace. En effet, elle permet de conserver intégralement les aptitudes du pied mère en ce qui concerne le sexe, la qualité du fruit, la précocité, l'aptitude à rejeter. Les rejets sont donc la copie conforme du pied mère. Ils sont produits pendant la phase de jeunesse de l'arbre (Bouguedoura, 1982) et leur nombre varie selon le cultivar. Certains cultivars algériens ne donnent que de un à trois rejets, d'autres produisent jusqu'à trente rejets, c'est le cas de DegletNour. En moyenne, il y a douze rejets par arbre,(Beauchesne,1988).

Notons enfin que le Dattier produit également ce qu'on appelle communément des gourmands et qui sont tout simplement des petits rejets non racinés, car situés loin du sol. Ces gourmands peuvent être aussi utilisés de la même façon que les rejets, mais il semble d'après certains auteurs, (Toutain, 1966) que la rhizogénèse soit difficile à provoquer et par conséquent le taux de reprise n'est pas élevé. Le seul facteur limitant pour cette méthode est la faiblesse du nombre de rejets produits.

I.1.6.3. Multiplication par culture in vitro

Afin de pallier aux insuffisances des méthodes traditionnelles, de nombreux chercheurs de pays phoenicicoles ou non se sont tournés vers les méthodes basées sur la culture in vitro.(Badawy et *al.*,2005). La multiplication rapide du Palmier dattier par les techniques de culture "in vitro" constitue l'unique voie pouvant apporter une solution dans un délai raisonnable. La production de vitro plants indemnes de Fusarium, permettant ainsi d'éviter la dispersion de la maladie, (Djerbi, 1988).

I.1.7. Composition de la datte

Le tableau suivant représente la composition de la datte.

Tableau 2: Composition de la pulpe de datte fraîche Deglet-Nour (Devshony, 1992).

Constituants	(%) du poids à l'état frais
Eau	23
Protéines	1.5
Sucres totaux	72
Saccharose	36.1
Glucose	10.4
Fructose	9.6
Cellulose	7.20
Lipides	0.05
Cendres	1.9

La datte ne contient pas seulement que des sucres et des protéines mais également des vitamines à des quantités appréciables tels que les vitamines B6 et C. La datte contient une source appréciable d'éléments minéraux (Tableau 3).

Tableau3: La composition minérale de datte sèche (Devshony, 1992).

Eléments minéraux	Pour 100g de datte sèche
Sodium	0.017
Potassium	0.3
Magnésium	0.036
Phosphore	0.07
Calcium	0.1
Fer	0.016

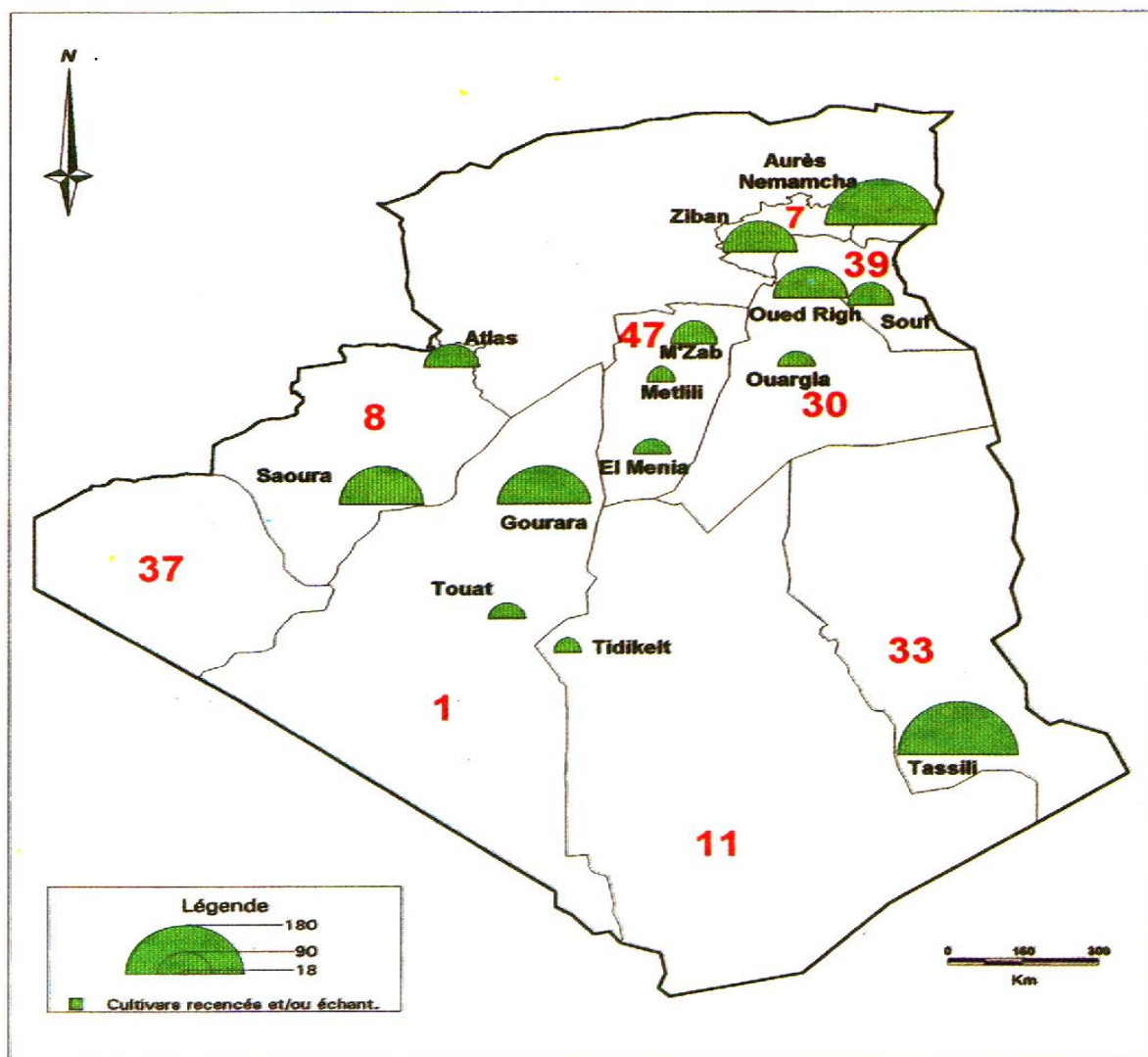
I.1.8. Données agronomique du dattier

La durée de vie du palmier dattier peut dépasser 100 ans mais la période d'exploitation en milieu oasien est en moyenne de 70 ans. Cette limite d'exploitation est souvent due à la difficulté d'entretenir des palmiers dont les tissus du stipe sont détériorés présentant un très faible diamètre (30 à 35 cm) et une hauteur très importante (plus de 15 mètres).

I.1.9. Diversité génétique du dattier

Dans certaines anciennes palmeraies conduites selon le mode traditionnel, les agriculteurs laissent pousser des palmiers issus de graines dont ne sont connus ni le sexe, ni la qualité. Les palmiers femelles, de production dattière qualitativement et quantitativement acceptable, sont multipliés par récupération et plantation des rejets qu'ils produisent (C'est ainsi que la majorité des cultivars connus a été sélectionnée et constitue actuellement des clones de quelques centaines de pieds). La distinction entre cultivars se fait, essentiellement, en se basant sur la vigueur du palmier et la morphologie des fruits, (couleur et mensurations) et des palmes (couleur et longueur de la palme ainsi que la taille et l'insertion des épines sur celle-ci). Certains cultivars peuvent être identifiés grâce à des critères biochimiques (Bennaceur *et al.*, 1991). L'aire phoénicicole algérienne couvre deux million de kilomètres carrés. Huit cents cultivars ont été recensées pour une population de (6-10) millions de

palmeiers dattiers (Benkhalifa, 1993). 1300 clones ont été recensées contre plus 900 en Algérie (Figure 8).



Source : BD/CDARS/ Résultats de numérisation et de traitement thématique.

Figure I.8: Catre de diversité variétale de la palmeraie Algérienne

Figure 8 : Carte de diversité variétale de la palmeraie Algérienne (Hannachi *et al.* 1998)

La diversité génétique est plus importante dans les oasis traditionnelles par contre les aires de cultures intensive du palmier compte beaucoup moins de variétés (Figure 8) (Benkhalifa, 1993 ; Bennaceur *et al.*, 1991 et Brac de la Périère et Bounaga, 1991).

Les dattes de la variété DegletNour de l'Algérie, (ou Tolga à Biskra) sont de très bonne qualité (Ouinten, 1996) alors que celles, de la même variété, provenant du M'zab sont généralement plus sèches et plus petites, donc de qualité nettement inférieure. Le tableau 4 nous présente les principales variétés Algériennes du palmier dattier.

Tableau 4 : Index des cultivars Algériens répertoriés (Brac de la Perrière *et al.*, 1998).

1 ABBED	27 CHEDDAKH	53 KENTA	79 TAQERBUCHT
2 ABDEL' AZZEZ	28 CHERKA	54 KENTICHI	80 TART AGA
3 ADAM FIGIG	29 CHIKH	55 KHADAJI	81 TATI WATNUH
4 AJINA	30 DEGLA BAYDA	56 KHADRAYA	82 TAWDANT
5 ALI WRACHED	31 DEGLET NOOR	57 KHUDRI	83 TAZERZAYT
6 AMMERI	32 DEGLET TALMIN	58 KNUN	84 TGAZZA
7 ASSYAN	33DEGLET ZEY AN	59 KSEBBA	85 THURI
8 UKCHET	34 DFAR LGAT	60 LITIMA	86 TICHERWIT
9 AGAZ.	35 FEGGUS	61 LJUZI	87 TIMAHWAK
10 AGHAMMU	36FELY ACHY A	62 LULU	88 TIMBEDDA
11 AGHARES	37 FOI 'ALI	63 MA'TUG	89 TIMBUZERI
12 AWARIDJ	38 GATTAR	64 MCHARRET	90 TIMEDWEL
13 AZERZA	39 GHARS	65 MECH DEGLA	91 TIMJUHART
14 BAJMIL	40 CHAZI	66 MEJHUL	92 TIMLIHA
15 BAMEKHLUF	41 GUERN GHZAL	67 MENCHAR	93 TINDUKKEN
16 BAYD HMAM	42 HALWA	68 MES'UDIA	94 TINGHIMEN
17 BAYDIR	43 HAM RAYA	69 MIZID	95 TINHUD
18 BENFTIMI	44 HARCHAYA	70 SAB'A BEMIA	96 TINISIN
19 BENI QBALA	45 HART AN	71 SAFRAYA	97 TINNAQOR
20 BENZAGHEZ	46 HMIRA	72 SOKRIYA	98 TINNASER
21 BESR HLU	47 HORRA	73 TADDELA	99 TINUJDEL
22BEZZUL LKHADEM	48 HUGBALES	74 T ADMAMA	100 TIT M ELET
23 BU'RUS	49 ILEM FEDHID	75 T AFEZWIN	101 TIWRAGHIN LHORRA
24 BUFE'A	50 IN T AKUST	76 T AKARMUST	102 TSIGHABET
25 BUHLES	51 NESTENIF	77 AMESRIT	103 WARGLIYA
26 UZRUR	52 JIHEL	78 ANTBUCHT	

I.1.10. Importance de la culture du palmier dattier dans le monde et en Algérie :

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 joue un rôle primordial sur le plan économique, grâce à la

production de la datte, fruit et sous-produits (pâte, farine, sirop, vinaigre, levure,), qui sont la base de l'alimentation humaine et animale de ces régions.

Le nombre de palmiers dans le monde peut être estimé à plus de 100 millions d'arbres répartis essentiellement au Proche-Orient et en Afrique du Nord (FAO, 2007). L'Algérie a un effectif de plus de 16 millions de palmiers, dont plus de 4 millions de la variété Deglet-Nour (Ministère de l'Agriculture, 2006).

La production de dattes génère une importante activité commerciale et constitue une source de devises appréciables pour les pays producteurs. Cette production est principalement localisée dans les régions arides du nord de l'Afrique (Egypte, Algérie, Libye, Maroc, Tunisie, Soudan) et du sud-ouest de l'Asie (Iran, Arabie Saoudite, Iraq, Pakistan, Emirats Arabes Unis, Oman, Yémen, Qatar, Bahreïn, Jordanie).

Le rendement moyen mondial pour l'année 2004 était estimé à 5.353.090 tonnes et de 58,264 q/ha pour l'année 2005 provenant de 34 pays (FAO, 2004 ; FAO, 2007). Bien qu'une partie de la production mondiale de la datte soit autoconsommée, il existe un grand marché d'exportation estimé à 512.829 tonnes, notant que la France et l'Inde, sont les plus grands importateurs de dattes (FAO, 2004). Avec cette production mondiale, le palmier dattier compte parmi les principales productions fruitières tropicales et subtropicales.

Tableau 5 : Production mondiale des dattes (FAO, 2007).

Pays	Quantité de production (1000 tonnes)	(%)
Monde	5 087	100%
Méditerranée	2 075	41%
Egypte	1 170	23%
Iran	997	20%
Arabie Saoudite	970	19%
Algérie	516	10%
Pakistan	497	10%
Soudan	328	6%
Libye	181	4%
Chine	130	3%
Tunisie	125	2%
Maroc	48	1%

La production annuelle de dattes en Algérie est de 516.293 tonnes dont 230.000 tonnes sont exportées, il s'agit de la variété Deglet Nour, elle représente à elle seule 2,43 millions de

pieds, soit 47% de l'effectif total (Ministère de l'Agriculture, 2006). Les principales pays et régions productrices de dattes sont signalés en Tableau 5.

En plus de l'importance économique que revêt la phœniciculture, celle-ci joue également un rôle social car elle assure une certaine stabilité aux populations des Oasis (la datte et ses sous-produits constituent, le plus souvent, la base alimentaire humaine et animale). Par ailleurs, cette culture assure un rôle écologique. En effet, le palmier dattier constitue l'élément fondamental de l'écosystème oasien, en freinant l'avancée du désert tout en créant sous son couvert un microclimat favorable au développement de nombreuses cultures sous-jacentes (arbres fruitiers, céréales, légumes...) (Tirichine, 1997 ; Battesti, 2005).

I.1.11. Contraintes de la culture du palmier dattier :

La culture du palmier dattier est confrontée à plusieurs contraintes abiotiques (sécheresse, stress salin) qui sont principalement dues au fait qu'il se développe sous des conditions désertiques hostiles. De plus, il est aussi confronté à plusieurs contraintes biotiques correspondant aux ravageurs du dattier. Les ravageurs du dattier s'attaquent à la plante elle-même et aux dattes sur pied, ou même entreposées. Certains ravageurs engendrent souvent des pertes économiques importantes sur la production de dattes. Parmi ces déprédateurs, on peut citer :

- **La Cochenille blanche** (*Parlatoria blanchardi* Targ) qui colonise les différentes parties du palmier (palmes, hampes florales, fruits, ...) et forme un encroûtement qui peut recouvrir de grandes surfaces, empêchant la respiration et la photosynthèse; la conséquence est un vieillissement rapide et une mort prématurée.
- **Le Ver de dattes** (*Ectomyelois ceratoniae* Zeller) qui infeste les dattes sur pied en plein champ et la prolifération se poursuit ensuite en entrepôts. Les chenilles issues des œufs pénètrent dans les fruits et donnent des dattes véreuses.
- **Le Boufaroua** (*Olygonychus afrasiaticus*), un acarien qui attaque surtout les dattes, leur donne un aspect rugueux, recouvert de toile et une couleur rougeâtre. Les fruits deviennent impropres à la consommation (Munier, 1973).
- Une nouvelle maladie appelée "**Maladie des feuilles cassantes**" à laquelle se trouve confronter le palmier dattier commence à prendre des proportions alarmantes. Cette maladie dont la cause demeure encore indéterminée a été découverte en Tunisie (Takrouni et al., 1988; Triki et al., 2003). Par la suite, elle a été signalée en Algérie dans les régions d'Adrar et du M'zab (Djerbi, 1983). Récemment, sa présence a été confirmée avec certitude dans la région de Biskra (Saadi *et al.*, 2006).

- Le "**Bayoud**" est la principale maladie cryptogamique qui attaque le palmier dattier, elle est causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albendis* (Foa). Elle a causé des dégâts importants dans les palmeraies marocaines et algériennes (Djerbi, 1988; Fernandez *et al.*, 1995).

Chapitre I.I : L'Agent pathogène

Le Fusarium oxysporum

II.1 Agent pathogène du Bayoud :

Le genre *Fusarium* est représenté par plusieurs espèces qui sont cosmopolite et peuvent coloniser différents milieux l'eau, l'air et le sol ; elles parasitent les plantes et infectent les parties aériennes et souterraines. Ces espèces sont fréquentes et responsables de la totalité des nécrose racinaires (Nelson et *al.*, 1983).

Le parasite responsable du Bayoud a été isolé pour la première fois en 1921, mais identifié seulement en 1934 par Malençon. Il s'agit d'un champignon imparfait, FOA spécifique du dattier, forme spécialisée de l'espèce *F. oxysporum* très commune dans les sols sous tous les climats. En conditions naturelles, les racines de certaines plantes (henné, luzerne, orge) cultivées en association avec les dattiers peuvent héberger le pathogène sans montrer de symptômes externes. Ces plantes sont considérées comme des porteurs sains (Fernandez et *al.*, 1995).

II.1.1 Taxonomie:

Le genre *Fusarium* appartient au phylum des Deutéromycètes (champignons imparfaits), car la plupart des espèces étaient d'abord décrites sur la base de caractères morphologiques et une reproduction sexuée n'a pas été observée. Ces formes imparfaites (anamorphes) sont caractérisées par un mycélium septé et la production de conidies hyalines généralement unicellulaires sur des conidiophores libres ; elles sont classées dans le groupe des Moniliales (Lepoivre, 2003). De plus, *Fusarium* produit des macroconidies composées de 2 à plusieurs cellules. Leur forme recourbée typique avec une cellule apicale plus ou moins pointue est un des critères d'identification des représentants du genre ; dans beaucoup d'espèces on observe une cellule basale en forme de pied (Seifert, 2001). La production de métabolites secondaires et notamment de toxines (mycotoxines et phytotoxines) est courante parmi les *Fusarium*, et le profil de ces composés peut être utilisé pour la classification des espèces (Thrane, 2001).

Des formes sexuées (téléomorphes) ont été maintenant observées pour certaines espèces de *Fusarium*. Elles font toutes partie des Ascomycètes, de la famille des Nectriales et notamment des genres *Gibberella* et *Nectria* (Seifert, 2001).

Ainsi, *Fusarium oxysporum* est considéré comme ascomycète bien que le stade sexuel n'est pas encore déterminé. Il est proposé d'être plutôt proche du groupe téléomorphique *Gibberella* que *Nectria* (Di Pietro *et al.*, 2003, Michielse et Rep, 2009). Au sein de l'espèce *F. oxysporum*

on distingue plus de 120 formes spéciales en fonction de leur pathogénicité sur des plantes hôtes (Ramírez-Suero, 2009).

Selon Debourgogne (2013), La nouvelle classification taxonomique du genre *Fusarium* basée sur la phylogénie moléculaire est la suivante :

Règne : *Fungi*

Division : *Ascomycota*

Classe: *Sordariomycetes*

Sous-classe : *Hypocreomycetidae*

Ordre : *Hypocreales* **Famille :** *Nectriaceae* **Genre :** *Fusarium*

II.1.2 Morphologie, biologie et épidémiologie de FOA:

Les souches de FOA isolées du rachis de palmes infectées présentent une morphologie caractéristique : thalle de couleur rose saumon et mycélium frisé. Par contre, celles provenant du sol, de racines de palmiers et de certaines plantes de culture associées (Luzerne, Henné) considérées comme porteurs sains présentent une morphologie variée (Djerbi et *al.*, 1985 et Djerbi, 1985).

La reproduction du Foa se fait exclusivement par voie asexuée qui se réalise par des microphialides et des macrophialides qui produisent respectivement des microconidies et des macroconidies (Figure 9 et Figure 10). Les microphialides, en forme de bouteille, sont implantées perpendiculairement sur le mycélium et produisent d'une manière endogène plusieurs microconidies, généralement unicellulaires, parfois bicellulaires, hyalines, globuleuses ou allongées avec des dimensions variables (3-15 x 3-5 μm). Les macrophialides, beaucoup plus grandes que les microphialides, forment des macroconidies qui sont falciformes, peu nombreuses, présentant 3 à 5 cloisons et mesurant 20-35 x 3-5 μm . Dans les cultures âgées et dans le sol, le FOA différencie sur le mycélium ou sur les macroconidies des chlamydospores qui sont sphériques, intercalaires ou terminales et dont le diamètre varie de 6 à 20 μm (Djerbi, 1983 ; Sedra, 2006).

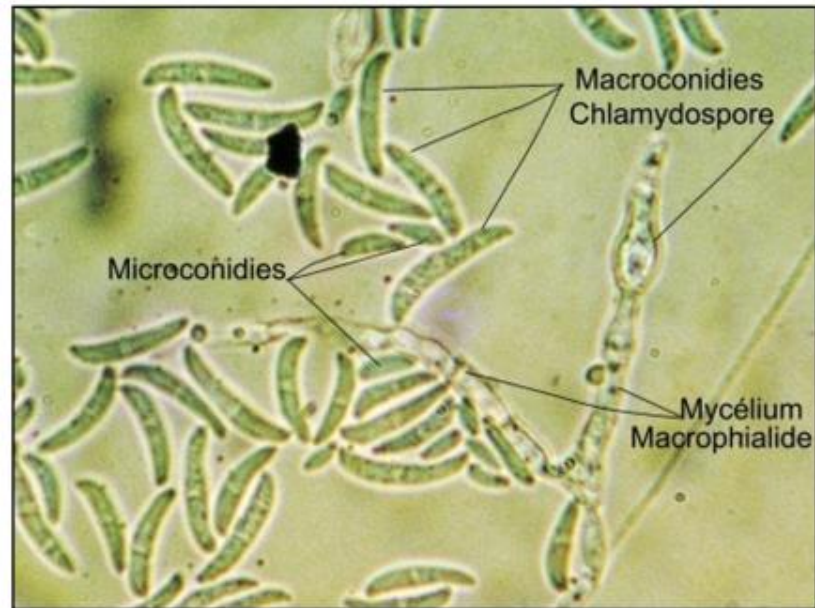


Figure 9 : Organisation morphologique du FOA (Benlarbi, 2009).
Aspects microscopique des différents types de spores rencontrées chez le FOA.

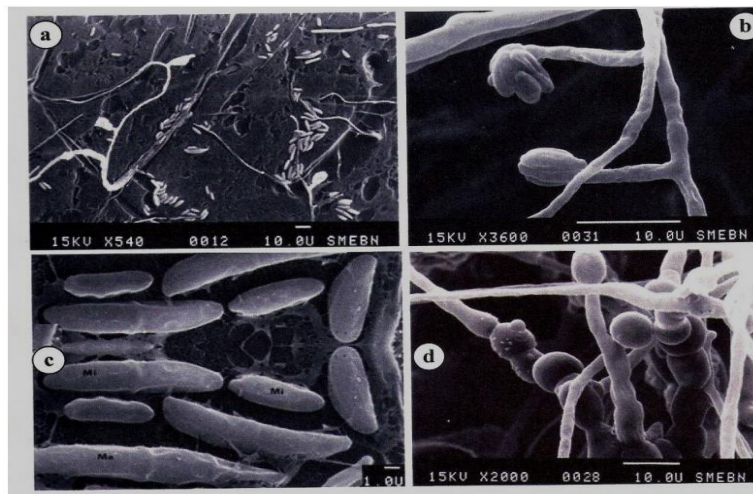


Figure 10 : Organes de reproduction asexuée de Foa au MEB (Rahmania, 2000).
a : mycélium et microconidies ; b : microphialides ; c : micro et macroconidies
(Ma : macroconidies ; Mi : microconidies) ; d : chlamydo-spores formées à partir d'articles mycéliens.

Les chlamydospores se conservent dans le sol et sur des débris végétaux pendant plusieurs années même en l'absence de l'hôte. Dès que les conditions deviennent favorables, les chlamydospores germent et pénètrent dans les racines, une fois le mycélium pénétré dans la racine, il se croit de façon dirigée vers le cylindre central et le xylème, à partir desquels le

mycélium atteint la tige. Dans les vaisseaux, le mycélium produit des microconidies qui sont transportées vers le haut par la sève. Quand ce mouvement est empêché par une paroi transversale, les microconidies germent, le tube germinatif pénètre dans la paroi et la formation de microconidies reprend de l'autre côté de la paroi. La mort de l'arbre intervient lorsque le champignon atteint avec ses toxines le bourgeon terminal. Au cours de sa progression, FOA s'échappe du xylème et colonise le parenchyme environnant par un mycélium inter et intracellulaire, c'est ce qui donne plus tard la coloration brune rougeâtre caractéristique des arbres malades (Figure 10). Après la mort de l'arbre, le mycélium continue à se développer dans les tissus morts et forme de nombreuses chlamydo-spores dans les cellules du sclérenchyme (Louvet, 1977 ; Nelson, 1981).

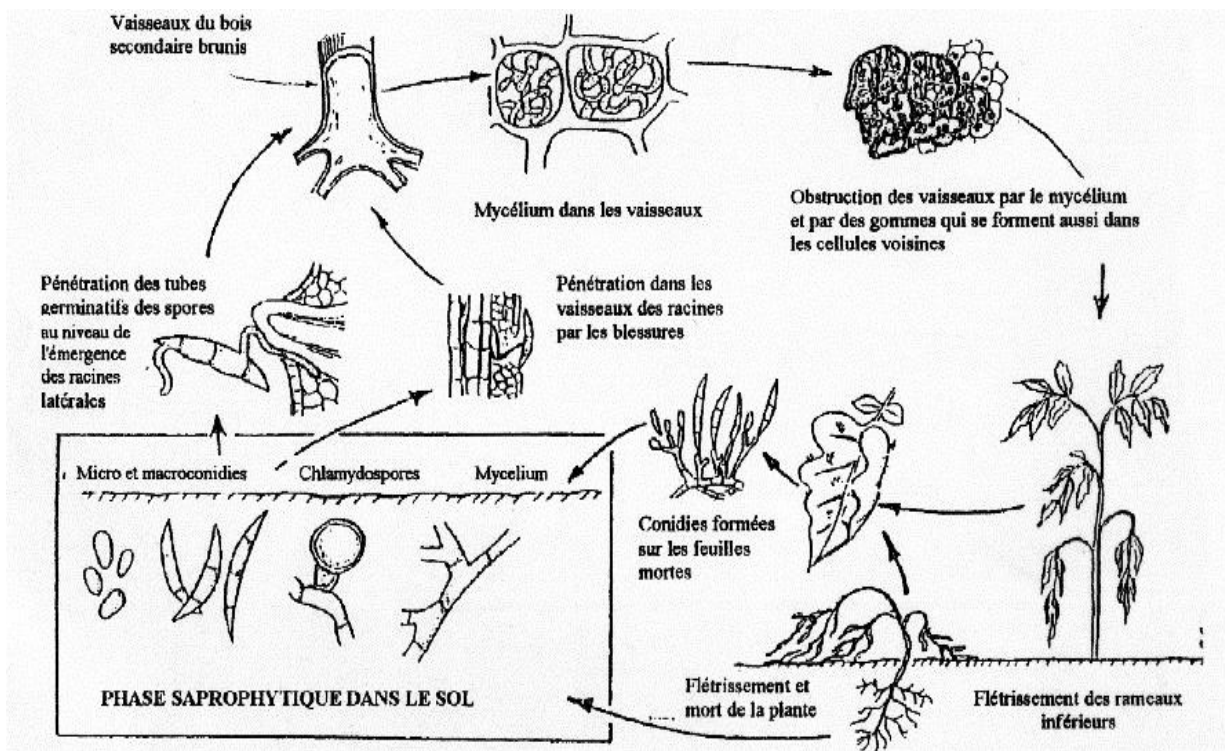


Figure 11 : Cycle infectieux de *Fusarium oxysporum* (Agrios, 1970).

Le FOA se dissémine par les rejets, les particules de terre ou par les porteurs sains contaminés provenant de régions 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 (Figure 11). 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. Les semences et les fruits ne semblent pas intervenir dans la dissémination de ce pathogène (Louvet et Toutain, 1973 ; Sedra, 2003).

II.1.3 Production de toxines chez Foa:

Plusieurs études ont montré le pouvoir mycotoxinogène du FOA. Dans ce sens, a été montré que l'extrait brut du filtrat du FOA contient une quarantaine de produits différents (Moukhliiss, 1987) tels que les dérivés des acides fusariques. De même, le filtrat de culture du parasite a permis la distinction de trois fractions F1, F2 et F3 avec plus de 50 mg/l pour chacune (Sedra et *al.*, 1993 ; El Fakhouri et *al.*, 1996). Ces fractions sont thermostables et leur spécificité a été évaluée (Sedra et Lazrek, 2011). La fraction F2 s'est révélée la plus toxique sur le palmier (Sedra et *al.*, 1993). Selon Sedra (2013), la présence de ces nouvelles toxines n'a jamais été signalée dans les filtrats des cultures du FOA. D'autres substances toxiques (sous-fractions H3, H4 et H5 dans la fraction F2) autres que l'acide fusarique ont été mises en évidence (Amraoui et *al.*, 2005 ; Sedra et *al.*, 2008 ; Sedra et Lazrek, 2011). Ce pathogène produit également plusieurs phytotoxines peptidiques en plus de l'acide fusarique et ses dérivés (Sedra, 1995b ; El Fakhouri et *al.*, 1996). De plus, il existe une corrélation entre la sporulation, la croissance du champignon et la production quantitative des toxines. L'analyse chromatographique (HPLC) montre que les souches saprophytes du *F. oxysporum* ne produisent pas ces toxines produites par FOA (Sedra, 1997). Ces toxines peuvent être utilisées en sélection *In Vitro* pour distinguer le matériel résistant et sensible au Bayoud, utilisant les petites plantules issues de graines, ou de culture des tissus (vitroplants) ou fragments de jeunes feuilles détachées (Sedra et *al.*, 1993, 1998b; El Fakhouri et *al.*, 1996; Sedra et Lazrek, 2011).

II.2 La fusariose vasculaire du palmier dattier :

II.2.1 Origine et distribution géographique du bayoud:

Le palmier dattier, comme toute espèce végétale, est sous la menace de divers ravageurs et maladies parasitaires, fongiques, bactériennes, à mycoplasmes, et non parasitaires (Laville, 1973; Brun et Laville, 1965; Djerbi, 1988), mais la maladie connue sous le nom de Bayoud, trachéomyose due à un champignon appartenant à l'espèce *Fusarium oxysporum* provoquant un dépérissement irréversible du palmier dattier et, par conséquent, des dégâts considérables et définitifs. Le Bayoud sans conteste constitue la maladie la plus grave du palmier dattier.

Il est difficile, voire impossible de préciser la date et le lieu de la première apparition du Bayoud. Les témoignages des agriculteurs s'accordent cependant sur le fait que cette maladie a été observée pour la première fois dans la vallée- du Draâ, au Maroc, avant 1870. Les palmeraies bordant l'oued du Draâ auraient été ravagées par le Bayoud à cette époque (Malençon, 1934). Depuis, le Bayoud s'est propagé vers l'ouest de proche en proche et a atteint Fom El Hassan, en 1960. La progression du Bayoud vers l'Est a été plus spectaculaire. Dès 1898, la maladie fut signalée dans les palmeraies de Figuig, au Maroc, et Beni Ounif, en Algérie (Figure 12).

Mises à part les palmeraies de Ouarzazate et de Marrakech, toutes les palmeraies marocaines ont été infestées par le Bayoud. D'une manière générale, la progression du Bayoud, dans les palmeraies marocaines et jusqu'à la palmeraie de Beni Ounif en Algérie, s'est faite de proche en proche, en suivant les vallées. Cependant, dans les palmeraies du Sahara central, en Algérie, Bayoud s'est propagé en effectuant des bonds désordonnés de région en régions géographiquement parfois très éloignées (700 km en quatre ans, entre Beni Ounif et Foggaret El Arab, 300 km en douze ans, entre Béchar et Fatis, et 700 km en huit ans, entre In Salah et Metlili (Toutain, 1965).

Depuis 1965, date de contamination de Ghardaia, la vallée du M'zab constitue le front avancé du Bayoud dans le sens Ouest-Est, en Algérie. La dernière mise à jour de la carte de répartition de la maladie dans les palmeraies algériennes date de 1991, suite à sept années de prospections minutieusement entreprises (Brac De La Perrière et Benkhalifa, 1991) (Tableau 6). Ce travail a permis de compléter certains rapports sur l'incidence de la maladie et de mettre en évidence des confusions entre le Bayoud et certaines altérations ayant d'autres origines (physiologiques, sécheresse).

Au Maroc, les pertes en palmiers ont été estimées à plus de 10 millions d'individus depuis

l'apparition de la maladie, ce qui représenterait les deux tiers des palmiers Productifs. En Algérie, le chiffre de trois millions d'arbres détruits, a été avancé. Nous n'avons malheureusement pas pu avoir accès à des documents d'enquête pour confirmer ces données. Il reste néanmoins certain que le Bayoud a été, et demeure, la maladie la plus destructrice du palmier dattier dans ces deux pays.

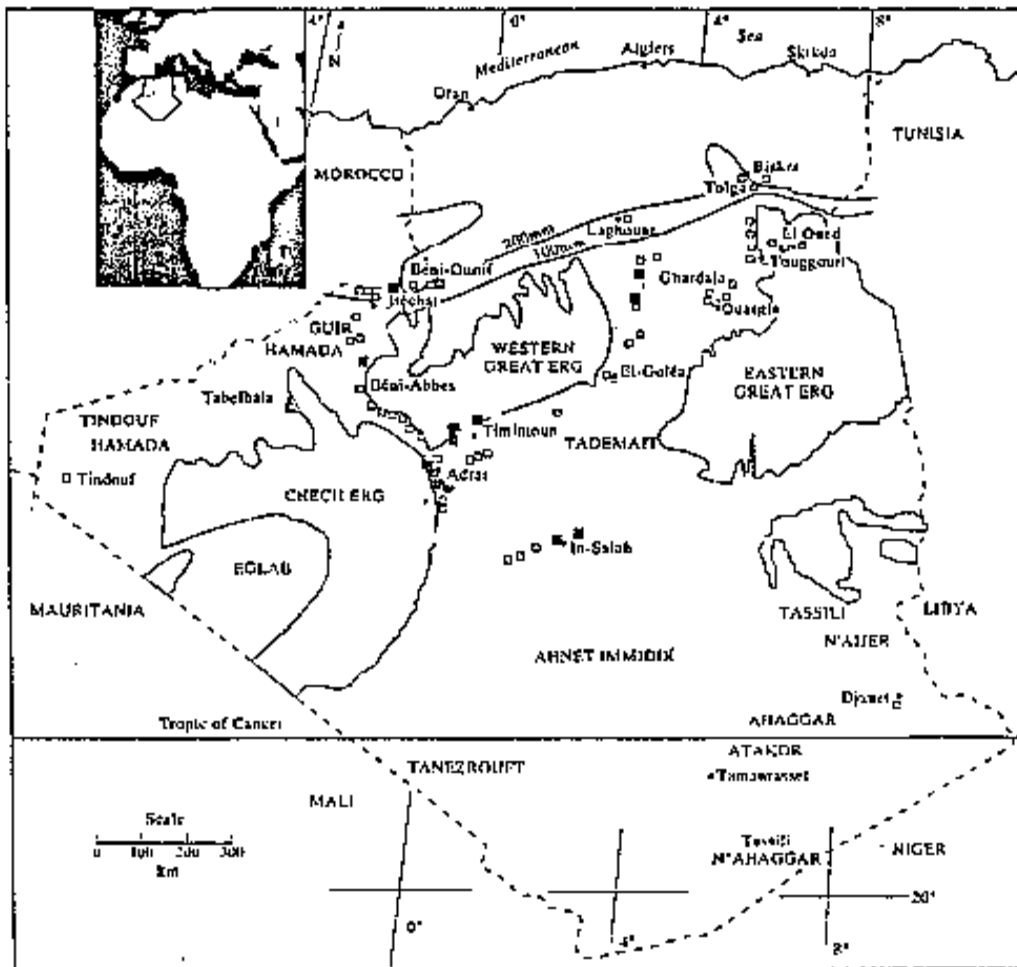


Figure 12 :Répartition géographique du Bayoud en Algérie. □ Oasis non infectées ■ : oasis avec un seul foyer primaire ■ oasis infectées avec foyers primaires ■ oasis avec foyer localisés ● El oasis fortement infectées (Brac, de la Perrière *et al.*, 1995).

Le Bayoud fut observé pour la première fois vers 1870 dans la vallée du Draa au nord de Zagora et il a ensuite progressé vers l'Ouest et surtout vers l'Est en suivant les cordons des palmeraies (Pereau-Leroy, 1958) (Figure 12). En 1898, ce fléau atteint les palmeraies de Figuig et Béni Ounif situées côte à côte des deux côtés de la frontière algéro-marocaine (Pereau-Leroy, 1958). Entre 1920 et 1950, la maladie a contaminé les palmeraies du Sud

algérien, puis durant la période 1960-1978, elle a gagné des palmeraies du centre de Sud algérien, la région de Mزاب et El Goléa (Djerbi,1982).

Tableau6 : Situation de la Fusariose du palmier dattier dans les communes d'Algérie (Brac de La Perriere et Benkhelifa, 1991)

Commune	Localité atteinte	Date d'apparition	Etat de la fusariose	Commune	Localité atteinte	Date d'apparition	Etat de la fusariose
Béni-Ounif	Béni-Ounif	1898	Généralisée	Ouled ahmed Timi	Z.Sidi Belori	1950	Généralisée
	Fendi	1985	Foyers primaire		Mahdia	1967	foyers localisée
Boukais	Boukais	1940	foyers localisée	Mansouria	1978	Généralisée	
Lahmer	Lahmer	1940	foyers localisée	Bouzane	1978	foyers localisée	
Béchar	ouakda	1940	foyers localisée	Tamantit	1946	Généralisée	
Taghit	Taghit	1923	foyers localisée	Zaouiet Kounta	Azouza	1978	foyers localisée
	Z.Fougania	1907	Généralisée	I,zeghmir	Baoundji	1962	foyers localisée
Igli	Abouhou	1960	foyers localisée	Sali	Tinnouret	1986	foyers localisée
	Touzdit	1970	Généralisée	Reggane	Ennfis	1962	foyers localisée
	Ferme	1984	Foyers primaire	Taarabet	1947 ou 1962	foyers localisée	
	Chakour			Tinouleft	1972	foyers localisée	
Béni Abbès		1908	foyers localisée	Z,Reggane	1973	foyers localisée	
Talemin	Taghouzi	1942	foyers localisée	Aoulef	Aoulef Laarab	1960	foyers localisée
	neaama	1960	foyers localisée	Aoulef chorfa	1980	Généralisée	
	Takiaht	1975	foyers localisée	Timoukten	1950	Généralisée	
Charouine	Ajdir	1912	Généralisée	Mghier	1955	Généralisée	
Ouled Aissa	Yakou	1980	foyers localisée	Talsour	1958	Généralisée	
Ouled said	Kali	1950	Généralisée	In salah	Barka	1943	Généralisée
	Ouled said	1970	foyers localisée	Sahela	1950	Généralisée	
	Hadj Guelman	1986	foyers localisée	Sillafen	1900	Généralisée	
Kaser laddour Sidi mansour		1920	Généralisée	Hainoun	1910	foyers localisée	
Tinarkouk	Fatis	1912	Généralisée	Foggara	1914	Généralisée	
	Tabelkoza	1970	foyers localisée	Kibira			
Timimoune	Macine	1978	foyers localisée	Hassi Gara	1975	Foyers primaire éradiqué	
	Ghiat	1979	foyers localisée	Metilt	1935	Généralisée	
		1980	Généralisée	Bounoura	1970	foyers localisée	
	Azeldkour	1984	foyers localisée	beni Iguen	1988	Foyers primaire	
	Tarouaya	1985	foyers localisée	El Ayeuf	1967	foyers localisée	
Bouda	El Mansour	1877	Généralisée	Ghardaia	Ghardaia	1965	Généralisée
	Ben Draaou	1970	Généralisée	Melika	1980	foyers localisée	
Adrar	Ouzina	1950	Généralisée	Dayet bendahoua	1972		
	Tililane	1968	Foyer localisée				

La maladie a été découverte aussi dans les palmeraies mauritaniennes à Adrar et à Tagant, respectivement en 1995 et 2002 (Sedra, 1995a, 1999a, b, 2003). Les derniers foyers déclarés au Maroc en 1996 sont situés dans la Vallée de Ait Mansour (région de Tafraoute) (Sedra, 1996).

II.2.2 Symptomatologie du bayoud:

Le diagnostic symptomatologique du bayoud peut se faire selon les aspects externes et internes. Selon Zaid et *al.*, (2002), Le Bayoud attaque aussi bien les jeunes palmiers que les sujets adultes de même que leurs rejets basaux. Les premiers symptômes de la fusariose du palmier dattier apparaissent sur une ou plusieurs palmes de la couronne moyenne. Leurs folioles prennent un aspect plombé, se dessèchent progressivement de la base vers l'apex et se

replie vers le rachis (aspect de plume mouillée) (Figure 13). Le dessèchement se poursuit de l'autre côté, en sens inverse, en progressant cette fois de haut en bas; 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 (Djerbi, 1990). Une longue nécrose brune longitudinale parcourt le rachis de la palme atteinte. 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. À 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 cœur de l'arbre qui meurt quand le mycélium atteint le bourgeon terminal (Djerbi, 1990). L'évolution de la maladie peut varier de quelques mois à plusieurs années et elle dépend essentiellement des conditions culturales et du cultivar (Djerbi, 1988; Fernandez et *al.*, 1995).

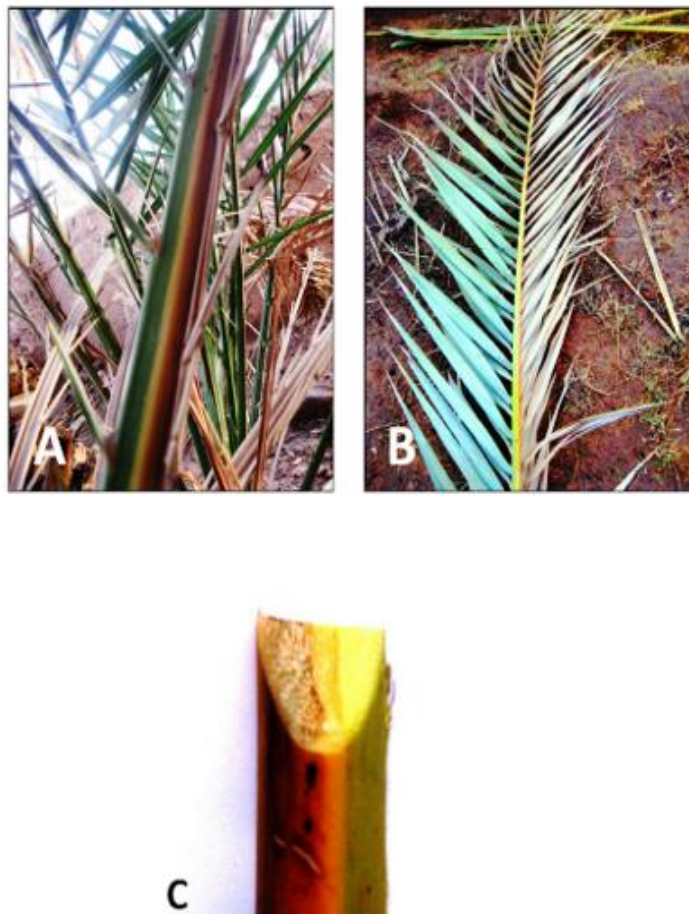


Figure 13 : Les symptômes externes du Bayoud (A) et (B) début du dessèchement et blanchiment unilatérale d'une palme (début de l'aspect typique plume mouillée) en (C) Les symptômes internes coupe transversale d'un rachis, le brunissement et dessèchement des vaisseaux. (Benlarbi, 2009).

Une coupe longitudinale du stipe d'un palmier malade montre une coloration brun rougeâtre des tissus conducteurs (Djerbi, 1990). Si on déracine un palmier malade, on ne voit qu'un petit nombre de racines malades, rougeâtres, il y a donc continuité des symptômes vasculaires qui existent depuis les racines jusqu'aux feuilles apicales du palmier. Les symptômes ne sont pas signalés sur pédoncules, fleurs ou fruits (Djerbi, 1988; Fernandez et *al.*, 1995; Sedra, 2003).

II.2.3 Importance des dégâts du bayoud:

Le Bayoud est la maladie la plus destructive et la plus menaçante dans les pays maghrébins. En effet, cette maladie a détruit plus de 10 millions de palmiers au Maroc et plus de 3 millions en Algérie incluant surtout les variétés et les cultivars vigoureux et productifs et dont la datte s'avère de grande valeur commerciale. En effet, pendant 50 ans environ, l'effet destructeur de cette menace au Maroc a conduit à une réduction au 1/10 de l'effectif de la variété « Mejhoul » et une disparition de deux cultivars Idrar et Berni. En outre, le Bayoud a non seulement entraîné une érosion génétique dans la population hôte mais aussi une accélération du phénomène de désertification et de l'exode rural des phoéniculteurs vers les grands centres urbains. Devant cette situation alarmante de l'extension de la maladie et vu l'importance des dégâts qu'il a occasionnés, le Bayoud devient un ennemi majeur de la culture du palmier dattier dans le monde (Sedra, 2013).

II.2.4. Mécanismes de défense et de résistance du palmier dattier:

Dans leur environnement, les plantes sont confrontées à des micro-organismes pathogènes tels que des virus, des bactéries, des oomycètes ou encore des champignons. Toutefois, les plantes résistent efficacement à leurs agresseurs et développent rarement des symptômes sévères de maladies. En plus des barrières constitutives, les plantes ont su mettre en place des mécanismes complexes impliquant la reconnaissance et la réponse aux signaux émis suite à l'invasion des pathogènes. Cette reconnaissance déclenche des mécanismes de défense qui convergent généralement vers la réaction hypersensible (Mittler et *al.*, 1996), le renforcement des parois cellulaires (Shmele et Kaus, 1990), la production des formes actives d'oxygène (Doke et *al.*, 1996) et la synthèse des phytoalexines et des protéines PR (Tardif et Pelletier, 2003). Ces réponses sont souvent associées à une résistance systémique acquise ou à une résistance systémique induite (Métraux et *al.*, 2002).

Cependant, l'induction de la résistance systémique implique, dans la plupart des cas, le détournement du métabolisme de la plante vers la mise en place des réactions de défense « très fortes » et amplifiées par rapport à ce qui est réellement exigé en réponse à un premier contact avec un agent pathogène. Cet arsenal de défense développé, étant trop consommateur

d'énergie, affecte inévitablement la croissance et la productivité de plusieurs plantes (Heil, 2002 ; Walters et Heil, 2007).

Les mécanismes impliqués dans la défense du palmier dattier contre Foa ne sont pas bien établis malgré les nombreux efforts investis dans ce sens. Ceci est en partie dû à la complexité de ce pathosystème mais aussi au fait que la plupart des travaux ont été réalisés sur des plantes provenant des graines ou « seedlings ». Ces seedlings présentent une forte hétérogénéité concernant leur comportement vis-à-vis du pathogène même si elles sont issues de plantes mères reconnues sensibles ou résistantes (Dihazi, 2012).

Malgré ces difficultés, différentes approches d'études ont été adoptées pour comprendre les mécanismes de défense et de résistance du palmier dattier contre FOA :

- La comparaison des palmiers dattier infectés avec des palmiers sains,
- La comparaison des cultivars sensibles et résistants en absence de toute infection,
- La comparaison des réactions de défense des deux types de cultivars, sensibles et résistants, après leur inoculation par l'agent pathogène (Dihazi, 2012).

Selon El Modafar (2010), la résistance du palmier dattier à la maladie du Bayoud est liée à des mécanismes de défense multifactorielle, dont certains sont constitutives et d'autres sont induites de novo. En fonction de leur rôle dans la stratégie de défense de la plante hôte, ces mécanismes peuvent être classés en deux types :

- Mécanismes mécaniques (renforcement des parois cellulaires par la lignine et les phénols pariétaux...) qui limitent l'action des enzymes secrétées par Foa et qui interviennent dans la dégradation de la paroi cellulaire chez le palmier dattier ;
- Mécanismes chimiques (protéines de défense et des phytoalexines, acides caféoylshikimiques, L'accumulation des dérivés de la coumarine notamment le propyl-7-aesculetin et l'hydroxy-5-propyl-7-aesculetin...) dont le rôle est d'inhiber la croissance du Foa et d'empêcher la synthèse de ses enzymes hydrolytiques (pectinolytiques, cellulolytiques et protéolytiques).

La résistance du palmier dattier à la maladie du Bayoud dépend aussi des facteurs de pathogénicité de Foa qui peuvent être distingués comme suit (El Modafar, 2010) :

- Synthèse d'enzymes dégradant la paroi cellulaire et permettent la pénétration et la colonisation du Foa dans les tissus de la plante hôte ;
- Sécrétion de protéine suppresseur qui supprime le déclenchement des mécanismes de défense chez les cultivars sensibles ;
- Excrétion des toxines impliquées dans le développement des symptômes de la

maladie.

II.3 Notions de cultivars résistants:

Selon Fernandez et *al.*, (1995), un inventaire du comportement des variétés traditionnelles a été réalisé à partir d'enquêtes sur le terrain ou d'essais en parcelles infestées naturellement. Il a été observé qu'une variation pratiquement continue de la sensibilité au Bayoud depuis des variétés totalement résistantes jusqu'aux plus sensibles comme la Bou Feggous, pratiquement disparue du Maroc. Toutefois, un classement a été établi qui sépare les variétés en trois catégories : résistante, tolérante et sensible. Les variétés tolérantes sont difficiles à caractériser. Certains arbres présentent des symptômes de Bayoud mais sont capables de survivre plusieurs années, contrairement aux palmiers de variétés sensibles. D'autres semblent sains, mais le parasite peut être isolé de leurs racines, ce qui n'est jamais le cas chez les plants résistants.

Dans ce contexte, plusieurs recherches ont montré que tous les cultivars nord-africains de qualité sont sensibles (Deglet Nour, Ghars, etc.). Certains cultivars ont une bonne résistance (Bou Sthammi noir, Bou Sthammi blanc, Tadment, Iklane, Sair Laylet, Bou Feggous ou Moussa au Maroc et Takerbucht en Algérie) mais, parmi ces cultivars, seuls Sair Laylet et Takerbucht sont de qualité acceptable, quand même inférieure à celle de Deglet Nour ou Mejhoul (Toutain et Louvet, 1974; Saaidi,1979).

II.4 Stratégies de lutte contre le bayoud:

La stratégie de lutte contre le Bayoud s'articule sur les approches complémentaires suivantes : l'arrêt ou du moins le ralentissement de la progression de la maladie, la sélection de cultivars et de clones résistants au Bayoud et de bonne qualité dattière et la multiplication rapide du matériel sélectionné par la culture "*in vitro*" et sa diffusion (Louvet et Toutain, 1973 ; Saaidi,1979).

II.4.1 Mesures prophylactiques:

Ce sont des moyens de lutte préventifs indispensables dont l'objectif vise principalement à empêcher ou à retarder l'introduction du Foa dans les régions saines par la sensibilisation des producteurs et par des contrôles phytosanitaires (Louvet, 1991). Ces mesures s'appliquent à des zones ou des pays encore indemnes de bayoud en vue d'assurer leur protection, elles n'ont par contre aucun intérêt pour les régions phœnicicoles déjà atteintes par cette maladie. (Djerbi, 1988). En effet, elles consistent à surveiller de manière stricte le mouvement de tout échange de matériels (terre, rejets, machine ou outil de travail) au sein d'une même palmeraie

et entre palmeraies distinctes (Ouinten,1996).Siun foyer est détecté dans une région saine, une éradication par arrachage et une incinération des palmiers atteints ainsi qu'une désinfection du sol par fumigation ont été préconisés (OEPP, 1990 ; CABI/OEPP, 1997). Les mesures prophylactiques accompagnées d'opérations d'éradication ne feront que ralentir la maladie mais ne pourront jamais l'arrêter (Djerbi,1988).

II.4.2 Techniques culturales:

Les techniques culturales contre les fusarioses vasculaires, consistent à éviter les conditions favorisant la croissance de l'agent pathogène. La maladie est moins présente en conditions d'irrigation réduites, ainsi que dans les sols à pH alcalin, riches en calcium et potassium, pauvres en phosphore et magnésium et dont l'azote est sous forme nitrique plutôt qu'ammoniacal (Waltz et Johnes, 1981 ; Ollaguier et Renard, 1976). Dans les parcelles contaminées, il faut éviter les cultures du henné et de la luzerne qui nécessitent une irrigation abondante favorable à l'expansion de la maladie, et qui sont des porteurs sains de l'agent pathogène, Foa (Bulit et *al.*, 1967). Le contact souterrain entre les arbres voisins doit être évité, par l'application des méthodes modernes de plantation et d'irrigation des palmiers dattiers (Louvet, 1991).

II.4.3 Lutte chimique:

L'objectif des techniques chimiques est surtout l'éradication des nouveaux foyers détectés dans les zones saines (Djerbi, 1988). Procédant à la fumigation (et/ou solarisation) du sol contaminé après la délimitation du foyer avec une marge de sécurité suffisante. Cette activité nécessite d'abord l'arrachage et l'incinération des arbres sur place. L'utilisation du bromure de méthyle et de la chloropicrine semble donner de bons résultats (Fredericks et *al.*, 1988). Un essai a déjà été mené à El-Goléa, en 1978, avec succès puisque le bayoud n'y a pas été rencontré jusqu'à ce jour, et dans certaines palmeraies de Ghardaïa (Sedra, 2003). Cependant, cette méthode d'éradication se heurte à plusieurs problèmes. En effet elle est très coûteuse ainsi que l'utilisation répétée de ces produits de synthèse risque d'engendrer des problèmes d'environnement et de santé humaine et animale.

II.4.4 Lutte génétique :

La lutte génétique par l'utilisation des variétés résistantes du palmier est jusqu'à présent le moyen le plus privilégié pour combattre le bayoud. La diffusion des variétés résistantes existantes a été très limitée à cause de leurs médiocres qualités des dattes qui n'a pas de valeur

commerciale désirée par les producteurs. Des programmes d'amélioration, consistent à créer de nouveaux clones de Palmier dattier, résistants au Bayoud et de haute qualité par croisements contrôlés ont été développés. A partir des milliers de plantules issues de ces croisements, quelques centaines de plants femelles résistants et appartenant à une dizaine de variétés de bonne qualité fruitière ont été obtenus. Ces stratégies ont pu être développées notamment grâce à la mise au point, récente chez le palmier dattier, de la culture *in vitro* qui permet d'obtenir, à partir d'un individu, un grand nombre de plants génétiquement identiques (Djerbi, 1991 ; Fernandez, 1995).

Cependant, l'introduction et la multiplication des cultivars résistants se heurtent à deux types de contraintes fréquemment rencontrées : la mauvaise adaptation aux conditions pédoclimatiques locales et la production d'une datte ne correspondant pas au standard du marché (Robert et Benkhalifa, 1991). Ainsi qu'au Maroc, des palmiers qui ont été considérés résistants se sont avérés sensibles 8 à 10 ans après leur plantation (Bounaga et Djerbi, 1990). De même, malgré son intérêt, le cultivar Takerbucht, confirmé pour sa résistance, ne pourra convenir partout ; très tardif, il n'arrive pas à maturité dans les palmeraies de la wilaya de Béchar, au nord de Béni-Abbès et sa datte ne peut se substituer à celles de Tinnaser ou Aghamu pour la commercialisation vers l'Afrique sub-saharienne (Robert et Benkhalifa, 1991).

II.4.5 Lutte biologique :

La lutte biologique par l'utilisation des antagonistes ou des substances naturelles connaît un regain d'intérêt grandissant en raison des risques potentiels de la lutte chimique sur l'environnement et sur la qualité et les perspectives nouvelles qu'offre cette approche pour la culture biologique.

En ce qui concerne le palmier dattier, la stratégie de lutte via l'utilisation des microorganismes est appuyée par l'existence de sols répressifs empêchant le développement de la maladie du Bayoud (Sedra et Rouxel, 1989 ; Oihabi et *al.*, 1992). Cette répression a été attribuée aux microorganismes antagonistes du Foa, notamment le genre *Pseudomonas* (Maslouhy, 1989) ou *Bacillus* (Chakroune et *al.*, 2008) ou des champignons du genre *Aspergillus* ou *Penicillium* (Chakroune et *al.*, 2008). Il a été aussi montré que l'inoculation des racines de palmier dattier par des souches hypoagressives de Foa (El Hassni et *al.*, 2004) ou leur mycorhization (Jaiti et *al.*, 2008) sembleraient améliorer la résistance du palmier contre son pathogène. Ces modalités de lutte sont susceptibles d'induire les réactions de

défense du palmier dattier contre son pathogène et pourraient constituer une alternative efficace et non polluante de contrôle de la maladie de Bayoud.

D'autre part, la découverte des potentialités élicitrices des produits naturels à base de plantes contribuera davantage au développement de nouvelles stratégies de bio-contrôle qui pourraient être envisagée pour solutionner, pour le moins en partie, le problème du bayoud ; exemple, Le produit Stifénia est une poudre élaborée à partir des graines de fenugrec (*Trigonella foenumgraecum* L.), ce produit naturel a été testé pour la première fois chez le pathosystème palmier dattier-FOA. L'apport du produit sous forme de poudre a conduit, après 60 jours de prétraitement, à une accumulation massive des isomères de position de l'acide caféoylshikimique accompagnée de la néosynthèse d'un dérivé de l'acide sinapique connu comme une phytoalexine caractéristique de la racine du dattier (El Hadrami et al., 1997). Le traitement des plantes par l'acide jasmonique aussi se traduit par la mise en place de zones de nécrose localisées (réaction d'hypersensibilité) similaires à celles observées chez des plantes résistantes au FOA. Cette réaction est associée à la stimulation de nombreuses réactions de défense notamment l'accumulation du peroxyde d'hydrogène, la peroxydation des lipides membranaires et l'activation des peroxydases et des polyphénol oxydases (Jaiti et al., 2004). Les produits naturels ont montré aussi un effet inhibiteur *In Vitro* sur la croissance du FOA (Boulenouar, 2011) et sur son pouvoir de germination et de sporulation, ainsi que sur sa densité dans le sol (Simoussa et al., 2010 ; Mebarki et al., 2013).

*Chapitre III: Les Plantes
Médicinales Et Goudron végétales*

III.1. Généralité sur les plantes médicinales et goudrons végétales

La plante est un organisme vivant, marque son identité par des spécificités morphologiques, à l'origine de la classification botanique, mais aussi biochimiques, liées à des voies de biosynthèses inédites, représentant l'intérêt de l'usage des plantes médicinales (Jean, 2010). L'Afrique dispose d'une diversité importante de plantes médicinales (Dibong, 2011). En effet, sur les 300000 espèces végétales recensées sur la planète plus de 200000 espèces se trouvent dans les pays tropicaux d'Afrique et ont des propriétés médicinales (Lougbeignon, 2015), ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (Zeghad, 2009).

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles.

Le groupe consultatif de l'OMS qui a formulé cette définition affirme également qu'une telle description permet de distinguer les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les composants ont été établis scientifiquement des plantes considérées comme médicinales, mais qui n'ont pas encore fait l'objet d'une étude scientifique consciencieuse. Nombre de plantes sont employées en médecine traditionnelle depuis de nombreuses années.

Certaines semblent efficaces, bien qu'il n'existe pas assez de données scientifiques (études en double aveugle) pour le confirmer. L'expression « drogues brutes d'origine naturelle ou biologique » est utilisée par les pharmaciens ou les pharmacologues pour désigner les plantes ou les parties de plantes qui ont des propriétés médicinales.

Une définition des plantes médicinales devrait inclure les cas suivants :

- 1) Plantes ou parties de plantes à usage médicinal dans des préparations galéniques (décoctions infusion, etc.), comme l'écorce de bourdaine.
- 2) Plantes utilisées pour l'extraction de substances pures soit pour usage médicinal direct ou pour l'hémi synthèse de composés médicinaux (par exemple hémi synthèse d'hormones sexuelles à partir de la diogénise obtenue de tubercules de *Dioscorea*);
- 3) Aliment, épices et plantes de parfumerie à usage médicinale comme le gingembre.
- 4) Plantes microscopiques (champignons, actinomycètes) employées pour l'isolement de produits pharmaceutiques, en particulier d'antibiotiques. On peut citer l'ergot du seigle (*Claviceps purpurea*) ou *Streptomyces griseus*. Plantes à fibres, comme le coton, le lin, le

jute, utilisées pour la préparation de pansements chirurgicaux (Abayomi, 2010).

Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Zeghad, 2009).

III.2. Définition d'une plante médicinale :

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française note comme une «drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisées en l'état, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais. L'expression drogue végétale ou plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments (Mohammedi, 2006).

III.3. Domaine d'application des plantes médicinales :

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. Parmi ces composés, on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires, qui sont surtout illustrés en thérapeutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche chez les plantes trouve des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse.

III.4. Plantes utilisées pour l'extraction de goudron végétale

III.4.1. *Juniperus oxycedrus* :

III.4.1.1. Description et habitat :

Le cade est le nom provençal de *Juniperus oxycedrus* var. *oxycedrus*, encore appelé cèdre piquant. Son nom qui vient du grec « Oxus » qui signifie pointu, piquant et « Cedrus » qui désigne le cèdre faisant certainement à la ressemblance entre les feuillages. Le *Juniperus oxycedrus* synonyme du genévrier de cade « Araar » en arabe.

Le genévrier oxycèdre est une espèce originaire de la région méditerranéenne II atteint dans les montagnes méridionales l'altitude de 1000 mètres (Boubkeri et al.,2014).

III. 4.1.2. Description botanique :

Le *Juniperus oxycedrus* (genévrier cade, Takka, Tikka) est un arbrisseau ou arbuste dressé de 1-8 m, à bourgeons écailleux, à ramules obtusément triangulaires ; feuilles très

étalées, verticillées par 3 et disposées sur 6 rang, toutes linéaires en alène à pointe fine et piquante, articulées, non décurrentes, marquées de deux sillons blanchâtres séparées par la nervure médiane en dessous, à carène obtuse et non sillonnées en dessous ; fleurs dioïques ; fruits rouges et luisants à la maturité, subglobuleux, assez gros que les feuilles (8-10 mm) (Boullard,2001).

La taxonomie de l'espèce est résumée en tableau suivant :

Tableau 7: Taxonomie de plante *Juniperus oxycedrus* (Evans, 1989).

Embranchement	Spermaphytes
Sous- Embranchement	Gymnospermae
Classe	Vectrices ou conifères
Ordre	Coniférales
Famille	Cupressacées
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>J. oxycedrus</i>
Nom commun	genévrier oxycèdre ou cadier
Nom vernaculaire	Taga – عرعار (enAlgérie)

III.4.1.3. Usage :

On en extrait l'huile de cade, utilisée pour ses vertus cicatrisantes, toujours très appréciée comme antiseptique et désinfectant. Elle est fréquemment associée à divers produits tels que les shampooings. Elle constitue un traitement local d'appoint du psoriasis et des dermites séborrhéiques. Elle sert aussi à soigner les sabots des chevaux.

Les feuilles sont anti diarrhéiques, cette huile a été généralement appliquée en dermatologie humaine et vétérinaire pour traiter l'eczéma chronique et d'autres cancers de la peau (Bouhlal et Meymadier, 1988).

Le bois peut être utilisé en menuiserie pour la fabrication des portes et des fenêtres, ainsi que des artefacts et l'industrie des statues.

L'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* a multiple usages contre les affections de la peau, elle aide à la pousse et fortifie les cheveux.

En médecine traditionnelle, cette plante est utilisée dans le traitement de diverses maladies tel que l'hyperglycémie, l'obésité, la tuberculose, la bronchite, et la pneumonie. Elle est également utilisée sous forme de décoction pour le traitement des troubles gastriques et

comme un analgésique buccal. Les baies du genévrier oxycède sont diurétiques, stimulantes et vermifuges. Par ailleurs, la gomme de l'arar est utilisée en médecine interne pour arrêter la diarrhée chronique et le menstruel, Les feuilles sont utilisées sous forme de décoction pour soigner le diabète, diarrhée et rhumatisme. Le mélange des feuilles et des cônes est utilisé comme hypoglycémiant. Les feuilles séchées et réduites en poudre peuvent guérir les affections broncho-pulmonaires et diurétiques (Bellakhdar,1997).

En outre, par la distillation sèche du bois de *Juniperus oxycedrus*, on obtient un produit acre et caustique nommé huile de cade ou goudron végétal considéré comme produit antiseptique et parasiticide (Boullard,2001)



Figure 14 : Aspect des fruits du *Juniperus oxycedrus* (SFE, 2019)

III. 4.2. *Juniperus phoenicea* :

III. 4.2.1 Description :

Le Genévrier de Phénicie, Genévrier de Lycie ou Genévrier rouge (*Juniperus phoenicea*) est un arbrisseau de la région méditerranéenne, où il pousse dans les lieux rocailloux, surtout sur le calcaire. Il se distingue du genévrier cade, qui a le même habitat, par ses feuilles en écailles et non en aiguilles. Appelé également *zimba* (en chaoui) ou *araar* au Maroc et en Algérie, cet arbre constitue, au côté du cèdre, la principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès (Algérie), notamment dans le sud de ce massif (régions de Maafa, Beni Fodhala, etc.) .

III. 4.2.2. Description botanique :

Le Genévrier de Phénicie ou genévrier rouge (*J. phoenicea*) est un arbrisseau touffu ou un arbuste de 1 à 3 m de hauteur mais pouvant atteindre cependant jusqu'à 8 à 10 mètres.

Au jeune âge, certaines feuilles sont en aiguilles et d'autres en écailles très petites, très imbriquées, opposées, formant le feuillage vert persistant de l'arbre après les premières années. Le fruit globuleux devient rouge et luisant à maturité.

Cette espèce est indifférente au substrat ; elle est présente en bioclimat surtout semi-aride et aride en ambiance nettement continentale se contentant de précipitations comprises entre 200 et 400 mm. La taxonomie de l'espèce est résumée en tableau suivant :

Tableau 8 : Taxonomie de *Juniperus phoenicea* (Quezel et Santa, 1962).

Embranchement	Spermaphytes
Sous -Embranchement	Gymnospermae
Classe	conifères
Ordre	Coniférales
Famille	Cupressacées
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Juniperus phoenicea</i> L.

III. 4.2.3. Utilisation :

C'est une plante médicinale qui a démontré son effet bénéfique sur les coliques et autre gastrites, Cette espèce est très utilisée en médecine traditionnelle. Les feuilles sont utilisées sous forme de décoction pour soigner le diabète, la diarrhée et le rhumatisme alors que les fruits séchés et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès. Les feuilles sont utilisées contre les maladies broncho-pulmonaires et comme un diurétique (Bellakhder, 1997).

Le mélange des feuilles et cônes a été utilisé comme un hypoglycémiant oral Il a été démontré que les huiles essentielles des feuilles et des cônes possèdent une activité antimicrobienne. L' α -pinène, qui est le composé majoritaire de l'huile de *Juniperus phoenicea*, présente plusieurs activités biologiques : il est antibactérien, anti-inflammatoire, antiviral, expectorant, sédatif, herbicide, insectifuge, et aromatisant (Mazari ,2008).



Figure 15 : Aspect du *Juniperus phoenicea* (SFE, 2019)

III. 4.3. *Olea europaea*:

III. 4.3.1. Description botanique :

L'olivier est un arbre à feuillage persistant de longue vie, généralement plus de 500 ans, mais des arbres plus âgés de 2000 ans ont été enregistrés, est un arbuste ou un arbre de taille petite à moyenne de 5 à 10 m de hauteur, atteignant parfois 18m.

L'olivier sauvage est un arbrisseau toujours vert et vivace qui croît spontanément dans les bois méditerranéens. Ses rameaux sont épineux et de section presque carrée.

Les feuilles sont simples, ovales, persistantes et opposées ; elles sont blanches argentées à la face inférieure, vert grisâtre à la face supérieure. Elles sont plus petites que celles de l'olivier cultivé.



Figure 16 : Aspect *Olea europaea* (SFE, 2019)

Les fleurs, petites et blanches, à quatre pétales, sont réunies en grappes dressées. Les fruits, olives, sont des drupes ovoïdes, vertes puis noires à maturité, à noyau dur fusiforme

Ses fruits sont également plus petits, avec une faible épaisseur de pulpe, et ils donnent donc peu d'huile. De par sa faible hauteur, les fruits de l'oléastre sont facilement consommés par les animaux : la dissémination des noyaux est zoochore (Guerrero *et al*, 2016).

La taxonomie de l'espèce est résumée en tableau suivant :

Tableau 9 : Taxonomie d'*Olea europaea* (Cronquist, 1981).

Embranchement	Magnoliophyta
Sous-embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Scrophulariales
Famille	Oleaceae
Genre	<i>Olea</i> L.
Espèces	<i>Olea europaea</i> L.
Sous-espèces	<i>Olea europaea</i> L. ssp. <i>Sativa</i> Hoffm. et Link (= <i>O. europaea</i> L. ssp. <i>Europaea</i>). <i>Olea europaea</i> L. ssp. <i>Oleaster</i> Hoffm. et Link (= <i>O. europaea</i> L. ssp. <i>sylvestris</i> Miller)

III.4.3.2 Utilisation:

L'huile d'oléastre semblerait avoir des effets surs :

- La fluidité et la finesse de l'huile d'oléastre sont les caractéristiques principales de celle-ci. Elle pénètre profondément dans les muscles et les vaisseaux sanguins en les assouplissant.
- Elle est recommandée souvent dans le traitement des maladies liées à la mauvaise circulation du sang, les maladies cardiovasculaires.
- L'absorption régulière par voie orale de l'huile d'oléastre élimine le mauvais cholestérol (LDL) par l'assouplissement de la paroi des vaisseaux sanguins produisant ainsi une régulation de la tension artérielle.
- Un effet positif sur le rhume et les affections pulmonaires.
- L'application par onction sur les articulations osseuses a donné des résultats positifs dans les traitements des affections liées aux rhumatismes, à l'arthrite et à l'arthrose.

- La souplesse des vaisseaux sanguins empêche le glucose de s'y cumuler, évitant ainsi aux malades diabétiques les interventions chirurgicales ophtalmologiques et rénales.
- L'administration par voie rectale suivie d'absorption par voie orale a révélé des résultats positifs sur les affections hémorroïdales.
- Une goutte d'huile d'oléastre dans l'œil améliore la vision.
- Selon Goodyer (2000), l'huile d'oléastre est astringente, elle diminue les maux de tête et la chute des cheveux (alopécie). Elle est utilisée contre les maladies cutanées parasitaires, comme rince-bouche pour les gencives et calme les douleurs dentaires. (Gherbi, 2014).

III.4.4. *Acacia raddiana*:

III.4.4.1 Généralité :

Acacia est un genre de la sous famille de *Mimosoidae*, cosmopolite et très riche en espèces ; en effet, 1250 espèces ont été identifiées dont la majorité sont originaires d'Australie et seules 134 espèces sont africaines. Les écosystèmes semi arides de l'Afrique tropicale sont constitués, par des broussailles épineuses et des savons où les espèces d'*acacia* sont dominantes. La liste de l'*acacia* africain comprend d'autres :

Acacia abyssinica Hochst.ex Benth ; *Acacia abyssinica subsp.abysinia Hochst.ex Benth.*; *Acacia albida*; *Acacia amythephylla Steud.ex A.Rich.*; *Acacia asak (Forssk.)Willd.*; *Acacia drepanolobium*; *Acacia hecatophylla Steud.ex A.Rich* ; *Acacia lahai Steud.et Hochst.ex Benth.*; *Acacia nilotica var.tomentosa (Gonakier ou Gonakié)*; *Acacia oerfota(Forssk.)Schweinf*; *Acacia polyacantha subsp.campylacantha (Hochst.ex A.Rich.)Brenan*; *Acacia senegal*; *Acacia sieberiana DC.*; *Acacia seiberiana var.Woodii (Burt-Davy) Keay et Brenan* ; *Acacia tortilis(Forssk.)Hayne* ; *Acacia tortilisvar.spirocarpa(Hochst.ex A.Rich.) Brenan*; *Acacia tortilis subsp.raddiana*; *Acacia venosa Hochst.ex Benth* (Lahdachit et al., 2015) .

Acacia tortilis est l'une des 135 espèces d'acacias africains, souvent appelée « épine parapluie » pour sa couronne de propagation caractéristique, largement répandue dans les régions arides et semi-arides d'Afrique (Leonid et al., 2012). *Acacia tortilis*, un membre du genre *Acacia*, selon la littérature peut être divisé en quatre sous-espèces (Leonid et al., 2012) :

- *Tortilis(Forssk) Haynesubsp.tortis*.
- *Tortilissubsp.spirocarpa(riche)*.

➤ *Tortilis subsp. hétéracanthe* (Burchell).

➤ *Tortilis subsp. raddiana* (Savi) Brenan.



Figure 17 : fleurs de l'espèce *Acacia raddiana* (Photo originale)

Dans le Sahara algérien, l'espèce *Acacia raddiana* (nom local : Talh), est connu pour ses avantages polyvalents et utilisé comme plante médicinale pour le traitement de divers maladies (maladies pulmonaire, affection oculaires, ictère et anti diarrhéique), fournir de la nourriture et un abri pour de nombreux animaux du désert et est une source majeure de alimentation du bétail et des bois de chauffage (Cheriti et *al.*, 2010).

III. 3.4.2-Répartition géographique :

Acacia raddiana est une espèce typiquement africaine (Nianguiri, 2010), se rencontre dans trois aires régionales distinctes :

- Nord du Sahara : Maroc, Algérie, Tunisie, Libye et Egypte.
- Sud du Sahara : Toute la zone Sahelo-Soudanaise, notamment la Mauritanie, le Sénégal, le Mali, le Niger, le Burkina, le Tchad et le Soudan (Figure 17).
- En zone tropicale humide (Nigeria et Cameroun), elle s'étend jusqu'à la République Centrafricaine (Karoune, 2016).

L'Algérie appartient aux zones à écosystème fragiles (zones arides et semi arides) (Ouahbi et Jaafari, 1997). L'*Acacia raddiana* se trouve sur les axes d'eau temporaire représentés par les oueds ou l'humidité est suffisante pour favoriser l'installation d'un sol

plus profond et plus riche en éléments fins (Limon et agriles) (Karoune ,2016).

Il est localisé essentiellement dans la Saoura ou il représente les répliques d'une savane désertique. Au Sahara nord occidental le parallèle de Béchar (31°30' de latitude) constitue sa limite supérieure. Par contre, ces peuplements font défaut dans tout le Sahara septentrional. Il convient tout fois signaler l'existence de cet arbre dans l'oued qui entaillent versant méridional du Tademaït et sur le versant Nord occidental. Sa répartition est limitée au nord par les températures minima et peut supporter jusqu'à -7°C à +10°C. La tranche pluviométrique est très faible (0 à 120mm) (Karoune, 2016).

Tableau 10 : Taxonomie de plante *Acacia raddiana*

Embranchement	Spermaphytes
Sous- embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Résidées
Famille	Fabacées
Genre	<i>Acacia</i>
Espèces	<i>Tortilis</i>
Sous-espèces	<i>Raddiana</i>

III.3.4.4-Description botanique:

Acacia tortilis Sub sp raddiana est une espèce ligneuse de 4 à 18 m de hauteur, et atteignant occasionnellement jusqu'au 21 m les jeunes rameaux et feuilles sont glabres ou pseudo glabres de même que les gousses ; l'écorce fissurée est de couleur grise à noir (Brenan et al., 1959).

III. 3.4.5-Intérêts d'*Acacia raddiana* :

Les *Acacias* sont reconnus pour leurs potentiels élevés de production de la biomasse et leur bois est généralement considéré comme un bon combustible avec une haute valeur calorifique. En effet, certaines d'*Acacia* fournissent un charbon de bois de très bonne qualité, surtout *A.tortilis ,subsp raddiana* qui a un pouvoir calorifique de 4500 Kcal /Kg et utilisée dans les locomotives, les bateaux à vapeur et les petites industries. L'espèce d'*Acacia raddiana* est très riche en tanins, communément appelés poly phénols, les tanins sont des composés phénoliques à usage multiples (adhésifs, teintures, tannage ...).

Dans le passé, les tanins sont également très utilisés dans l'industrie du cuir (tannage des peaux) et pour le cachetage des voiles (imperméabilisation). Ils ont utilisés comme produits de teintures naturels qui donnent des teintes brillantes et vives, Par ailleurs, *Acacia* est fondamentalement reconnue comme l'une des sources les plus productives de tannins condensés de haute qualité utilisés pour la production d'adhésifs imperméables dans les produits reconstitués du bois , ainsi que dans la protection des cordes, la teinture des tissus etc.. (Benbrahim,2014).

III.5 Goudron végétal :

III.5.1 Définition :

On appelle goudron végétal ou huile de cade le liquide sombre et insoluble dans l'eau obtenu par distillation destructive de certains végétaux : le pin d'Alep, l'acacia et le genévrier, etc. (Dorvault, 1994). Par ailleurs, le goudron végétal est un liquide visqueux, brunâtre, ayant la consistance d'une huile épaisse et très dense. Il est inflammable, sa saveur est acre, amère et caustique et de densité allant de 0,95 et 1,03 à 20°C. Selon (AFNOR, 1988) l'Association Française de Normalisation, les huiles de cade doivent avoir une densité comprise entre 0,9 à 1 à 20°C. Ainsi, les goudrons réunissent la plupart des espèces moléculaires fondamentales telles que : des acides, des phénols, des hydrocarbures parafiniques ou aromatiques (Bardeau, 2009).

III.5.2 Extraction du goudron végétal :

L'extraction du goudron se fait par pyrogénéation (distillation sèche). La distillation sèche est une carbonisation qui dissocie, par la chaleur seule, les substances végétales en produits résiduels et produits distillés (Porte, 1994). Elle est utilisée pour séparer les produits chimiques liquides contenus dans des matériaux solides. Il existe deux type de distillation : per descensum et per ascensum.

III.5.2.1 Extraction par distillation per descensum :

Le bois est placé dans une fosse qui sera chauffé à une température d'environ 200°C. Le goudron s'exsuda du bois ainsi et recueilli à l'extrémité de la fosse dans une cuve (Figure 18).Il s'écoule tout d'abord un liquide aqueux de couleur brun rougeâtre puis celui-ci devient plus épais et plus foncé (Chuyen, 1985). Cette méthode est utilisée dans les anciens fours. En dernier lieu une décantation d'une durée de huit jours au minimum permettait de récupérer le liquide surnageant : le goudron (Lucas, 2000 ; Demarle, 2001).

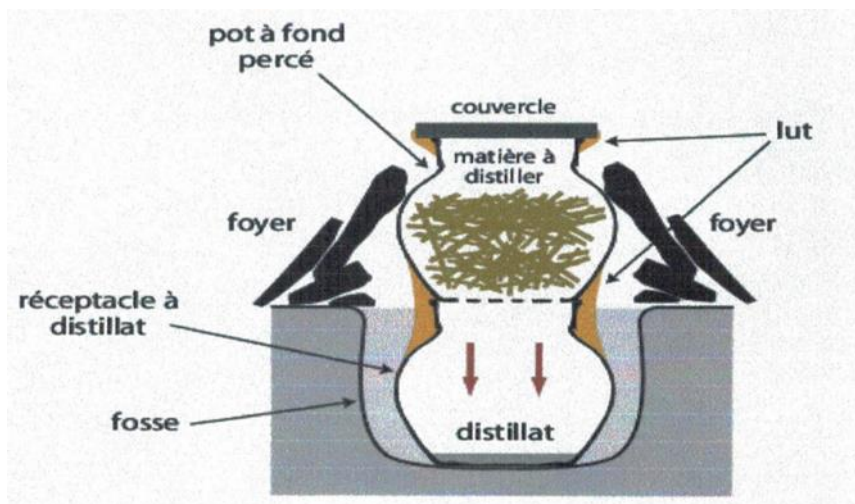


Figure 18 : Distillation per descensum (Thomas, 2011).

III.5.2.2 Distillation per ascensum :

Dans ce mode de distillation sèche, la cuve de distillation est chauffée à une température de 400 C°. L'évaporation commence et grâce à une plaque métallique, la vapeur est refroidie puis récupérée dans un récipient de condensation (Figure 19). Le liquide condensé reste dans la cuve de décantation une dizaine de jours jusqu'à la formation de trois couches : eau, mélange goudron eau et goudron (Porte, 1994 ; Demarle, 2001).

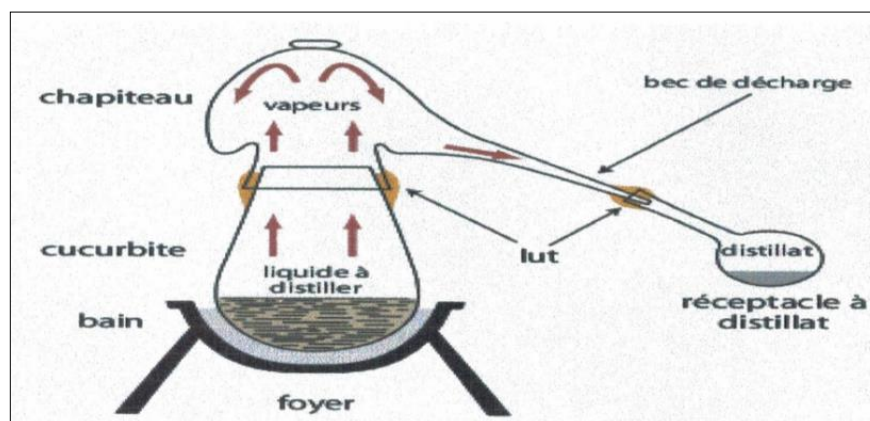


Figure 19 : Distillation per ascensum (Thomas, 2011).

III.5.3 Fours de distillation :

Autrefois, les fours étaient des constructions massives faites de pierres sèches et recouvertes de terre. Le four est constitué d'une grande fosse centrale, d'environ deux mètres

de profondeur sur un mètre de diamètre, qui joue le rôle d'une chambre de chauffage (Figure 20). C'est autour de celle-ci que l'on allumait un feu afin d'avoir un chauffage maximal d'environ 250°C ; cette température permet une exsudation du goudron sans que celui-ci ne s'enflamme (Port, 1994). Cependant, Il existe plusieurs types d'architecture de fours de distillation, mais le principe reste le même.

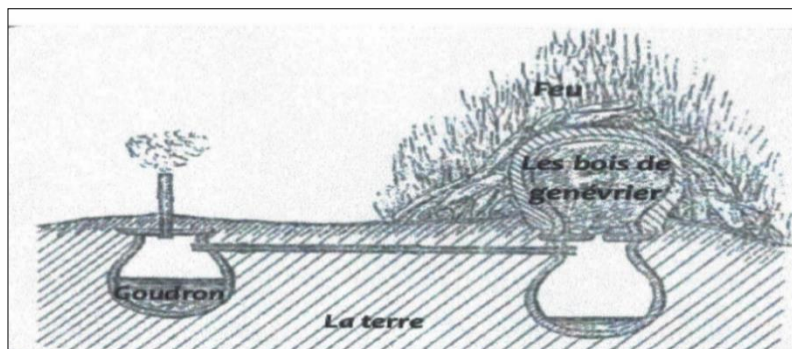


Figure 20 : Four à goudron végétal (Belliot, 2007)

III.5.4 Propriétés physicochimiques du goudron végétal :

De couleur noire ou brunâtre, le goudron végétal vrai est un liquide très épais et homogène, son odeur est piquante, avec une densité importante. Cette dernière n'est pas un critère d'identification car elle varie en fonction du mode de préparation. En effet, elle sera plus importante si le taux de phénol est plus élevé ; celui-ci ne doit cependant pas dépasser 40% (Demarle, 2001).

Lorsque l'on mélange de l'eau et du goudron végétal, il se forme des globules remontant lentement à la surface. Le goudron végétal est insoluble dans l'eau, mais partiellement soluble dans l'alcool 90° ; par contre il est soluble dans l'éther, le benzène, le chloroforme et l'acide acétique cristallisé ; il est miscible aux graisses, aux huiles et à la vaseline (Dorvault, 1994).

III.5.5 Composition chimique de goudron végétal :

Le goudron végétal se caractérise par :



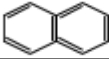
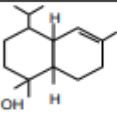
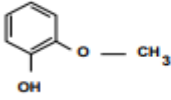
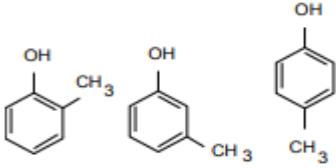
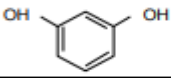
- Une proportion élevée d'hydrocarbures dont le benzène, le toluène, le naphthalène, le méthyl-naphthalène, le phénanthrène et surtout le cadinène ;
- un alcool sesquiterpénique : le cadinol ;
- Des phénols dont le gaïacol de formule $C_7H_8O_2$ (2-méthoxyphénol), le crésol et la résorcine (benzène-1,3-diol) ;
- Des acides pyrolytiques dont l'acide acétique, majoritaire (Lucas, 2000).

La composition du goudron végétal (Tableau 11) varie en fonction de la durée de pyrolyse.

Toutefois, une des caractéristiques de goudron végétal est la présence d'un sesquiterpène bicyclique : le cadinène de formule $C_{15}H_{24}$. Plusieurs isomères sont présents dont le principal est le β -cadinène. Les autres isomères sont le γ -cadinène, le γ -2 cadinène et le γ -1 cadinène. Le cadinène, extrait de goudron végétal par distillation, se présente sous la forme d'un liquide incolore, peu odorant et fluide (Chalchat et al., 1988).

Le cadinol, alcool sesquiterpénique ($C_{15}H_{26}O$) est très abondant dans le goudron végétal ; il est partiellement détruit au cours de la pyrolyse (Hamba, 1982).

Tableau 11 : Composition du goudron végétal (Hamba, 1982).

Nom	Formule brute	Formule développée
Benzène	C_6H_6	
Toluène	$C_6H_5CH_3$	
Naphtalène	$C_{10}H_8$	
Cadinène	$C_{15}H_{24}$	Mélange de 3 isomères
Cadinol	$C_{15}H_{26}O$	
Gaïacol	$C_7H_8O_2$	
Crésol	C_7H_8O	
Résorcine	$C_6H_6O_2$	

III.5.6. Utilisation de goudron végétal :

Le goudron végétal, au cours des siècles, des multiples applications. La première utilisation du goudron fut l'enduit et le calfeutrage des coques de bateaux (Dorvault, 1994).

Le goudron végétal est connu dans tout le « Maghreb » pour son utilisation ancestrale dans la conservation de l'eau et contre les maladies de la peau. Il est utilisé comme une sorte de tannage sur la peau des caprins maintient l'eau de l'autre saine et propre (Pipet, 1986).

De nombreux auteurs relèvent le grand pouvoir antiseptique de goudron en application locale sur la peau chez l'homme et les animaux. Le goudron végétal est possède des vertus pharmacologiques nombreuses, les plus certaines sont observées en dermatologie humaine et vétérinaire.

III.5.7. Utilisations en médecine vétérinaire :

Le goudron végétal, par ses propriétés antiseptiques, antiparasitaires et acaricides, fut employée en médecine vétérinaire jusqu'au dix-neuvième siècle, le goudron végétal était employé contre la gale, les teignes, et l'eczéma des animaux (Porte, 1994).

Le goudron végétal fut utilisé contre l'eczéma des chiens ou des chats ou encore des chevaux et des bovins. Lorsque des animaux présentaient des symptômes de gale, une pommade base de goudron végétal était appliquée sur les zones touchées par les acariens en alternance avec une Pommade l'oxyde de zinc (Chuyen, 1985).

Le goudron végétal était parfois employé dans les fissures des sabots des équidés et dans une affection que l'on appelle « piétin » chez le mouton, sorte de pyodermite végétant détruisant le plancher du sabot, aujourd'hui, les vétérinaires y ont encore parfois recours lorsque les thérapies modernes ont échoué (Porte, 1994).

III.5.8. Utilisations en médecine humaine :

A côté de la médecine vétérinaire, le goudron végétal fut largement employé en médecine humaine. A partir du dix-neuvième siècle, le goudron végétal fut, du fait de ses actions kératolytique et antiprurigineuse majoritairement employée dans le cadre du traitement du psoriasis sous forme d'onguents et de pommades. Les médecins avaient remarqué que ses applications avaient l'avantage de ne pas produire d'irritation de la peau saine (Chuyen, 1985).

Son champ d'application était large car il pouvait être prescrit aussi bien dans le traitement de maladies pulmonaires que pour des douleurs dentaires ou certaines maladies oculaires, la gale, les teignes, mais aussi la pelade, les alopecies pityriasís et séborrhéiques l'eczéma et le psoriasis (Porte, 1994).

Il fut également utilisé en usage interne, dans le cadre de traitement des lithiases biliaires, de néphrites chroniques mais surtout en tant qu'anti-helminthique, chez les enfants qui présentaient une affection vermineuse (Lucas, 2000). Elle constituait également un bon traitement pour les eczémas notamment les eczémas se compliquant d'impétigos.

Le goudron végétal permet d'assainir l'épiderme et de soulager le prurit dans le cadre de traitement des états desquamatifs séborrhéiques du cuir chevelu, elle constituait également un bon traitement pour les eczémas notamment les eczémas se compliquant d'impétigos (Porte, 1994).

III.5.9. Utilisations en fabrication des produits cosmétiques et pharmaceutiques :

Autrefois, le goudron végétal était utilisé, en cosmétologie, par les femmes de la campagne afin d'obtenir une chevelure luisante.

Aujourd'hui, le goudron végétal est employé dans certaine marque des shampooings commercialisés. Il est conseillé dans le traitement du psoriasis du cuir chevelu, des croûtes de lait et en association aux traitements médicaux. Il est donc indiqué aussi bien chez les adultes que chez les enfants ou nourrissons, il permet de diminuer les démangeaisons et les irritations. Le goudron végétal est utilisé aussi dans des solutions dermatologiques à application cutanée, Il est conseillé dans le traitement du psoriasis et des dermites séborrhéiques. Le goudron végétal n'est que peu présent dans les shampooings il est largement substitué par l'huile essentielle de cade. (Porte, 1994).

La partie expérimentale

Matériel et méthodes

IV-Matériels et méthodes

IV.1-matériels fongique

IV.1.1 Prélèvement du matériel végétal

Pour l'isolement du matériels fongique a partir des oasis en (Figure 21), la procédure normalisée consiste à stériliser en surface des morceaux de tissu vasculaire décoloré provenant de racines, de rachis ou de tiges dans de l'éthanol à 50% pendant une minute. Les rincer ensuite dans de l'eau et les incuber à 20–25° C sur milieu gélosé (Djerbi, 1990). Les *Fusarium* spp. Sont très instables en culture, en particulier sur les milieux riches comme le (PDA). Il est donc nécessaire d'isoler et de cultiver les isolats de *Fusarium* sur des milieux peu nutritifs, comme le milieu SNA (synthetic nutrient-poor agar). Les autres milieux, comme le (CDA) et le milieu PDA doivent être utilisés uniquement pour l'observation des caractéristiques macroscopiques en culture, telles que la couleur (EPPO, 2003).

Les souches de *Fusarium oxysporum* f sp. *albedims* utilisées dans ce travail ont été isolées à partir de palme ou racine présentant les symptômes typiques du Bayoud. L'isolement des souches à partir du rachis a été réalisé comme suit : l'échantillon est flambé à l'alcool, débarrassé des tissus externes et la partie centrale est divisée en petits cubes que l'on dépose sur milieu PDA contenant du sulfate de Streptomycine (Figure 22 A). Au bout de 4 à 5 jours, des filaments mycéliens se développent et forment un thalle de morphologie particulière (Figure 22 B). L'observation microscopique d'un prélèvement effectué à la surface du thalle permet de vérifier l'appartenance des isolats à l'espèce *Fusarium oryспорum* (microconidies rassemblées en fausses têtes à partir de monophialides courtes et chlamydozores formées isolément ou par deux). Après purifications les souches sont conservées en tubes, sur milieu PDA.

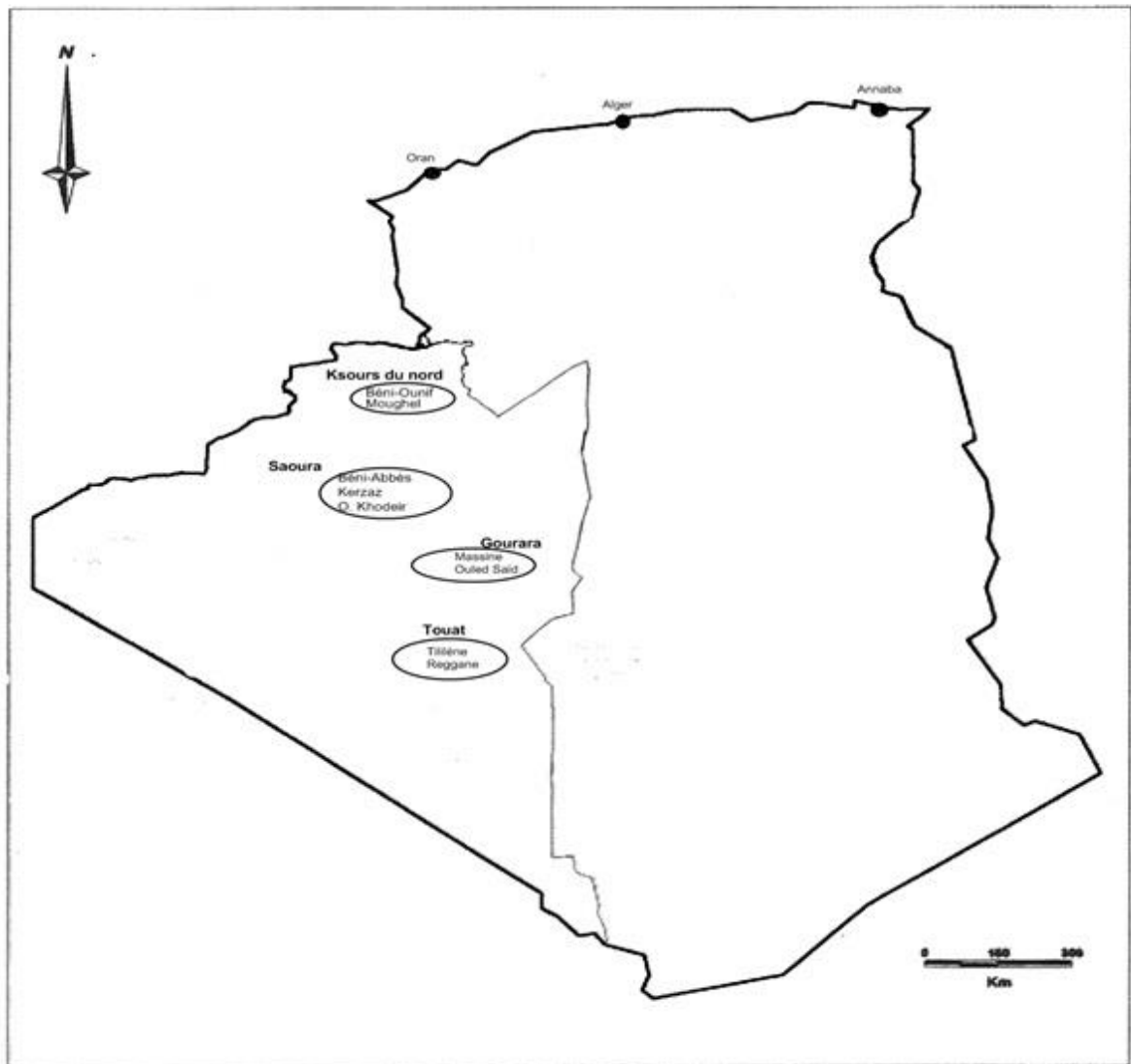


Figure 21: Carte de Répartitions des localités échantillonnées.

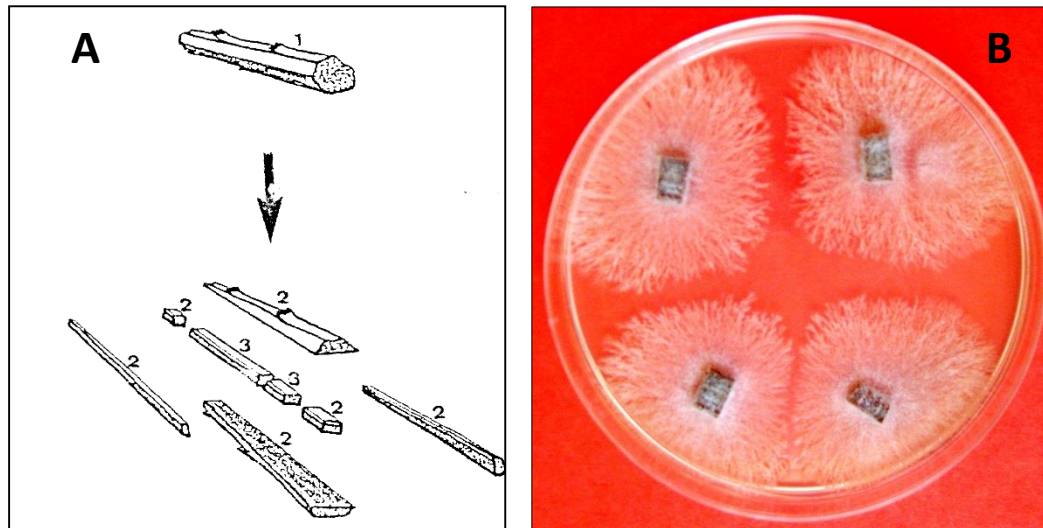


Figure 22 : Isolement du *Foa* : en (A) le schéma des parties à éliminer (1&2) et les parties à utiliser (3) pour l'isolement de l'agent pathogène FOA. En (B) photographie montrant le développement du FOA sur milieu PDA à partir de matériel végétal infecté.

IV.1.2 Isolement de l'agent pathogène (*Fusarium oxysporum* f sp *albedinis*)

Afin d'isoler l'agent pathogène, des fragments de rachis provenant d'un palmier dattier malade portant les symptômes du bayoud sont prélevés. Le matériel vivant recueilli (rachis) doit être utilisé aussi frais que possible.

Dans le cas d'organismes endophytes, ce qui est le cas du *F.o.a*, la surface de l'organisme végétal est stérilisée. Les fragments de rachis sont ensuite découpés en petits morceaux et ceux-ci sont répartis sur un milieu de culture (PDA ou CDA) (Iarpen *et al*, 1992).

IV.1.3 Clonages des isolats

Après la purification du champignon sur le milieu PDA. Le Clonage est effectué par isolement monospore qui permet l'obtention d'un matériel génétiquement homogène pour éviter les variations et de conserver le type sauvage mais également de régénérer à partir seulement des cultures atypiques, facilitant ainsi une identification rapide et précise de l'agent causal du Bayoud (Djerbi, 1990).

La manipulation est réalisée dans des conditions aseptiques dans une enceinte à flux lumineuse selon les étapes suivantes :

- Etalement d'1 ml d'une suspension contenant 1000 spores sur la surface du milieu PDA

- Prélèvement, après 24 heures d'incubation sous le microscope au grossissement 4X ou encore mieux sous la loupe binoculaire, des jeunes tubes germinatifs des conidies, un à un sur un milieu de culture à base de PDA après 6 jours d'incubation à une température ambiante les colonies issues des monospores sont examinées et leur type morphologique est caractérisé.

IV.1.4 Caractérisation morphologique d'isolats

Les variations portées sur des caractères culturaux (aspect du mycélium aérien, pigmentation du thalle, la présence de microconidies et de chlamydo-spores, leur caractéristiques, biométrie (taille, cloisonnement, forme,... etc.)

IV.1.5 Conservation des souches

Après l'isolement et purification grâce à la culture monosporale, les souches sont conservées et maintenues dans des tubes stériles contenant du PDA en 4°C après incubation préalable à 25°C pendant 3 jours.

IV.1.6 Test de pouvoir pathogène

Ce test de pouvoir pathogène des cultures pures peut être utilisé comme alternative au test de PCR. La méthode est simple du point de vue technologique mais nécessite beaucoup de temps (Djerbi, 1990). Des plantules de *Phoenix. dactylifera* issues de semis sont cultivées dans des conditions exemptes de maladie dans des sacs en polyéthylène transparent (Figure 23 A). Le champignon ne doit pas avoir été stocké sur milieu PDA ou autre milieu riche. Le champignon doit être transféré du SNA au PDA (solide ou liquide) à 25 °C et une suspension de 10^6 spores par mL doit être préparée après une semaine. La suspension de spores est pulvérisée sur les racines des plantules (Figure 23 B) au stade deux feuilles (âgées d'environ trois mois).



Figure 23 : Germination des graines, Injection des spores du FOA Test de pathogénicité (durant 2 mois)

Les premiers symptômes sont visibles après 3 semaines (Figure 23 C). Le taux de mortalité est noté à intervalle régulier pendant 2 mois après l'inoculation. Outre cette inoculation, deux inoculations témoins sont incluses, l'une avec un isolat pathogène de *F. oxysporum f. sp. albedinis* et l'autre avec un isolat non pathogène de *F. oxysporum*. Le test de pouvoir pathogène est valide si la mortalité finale dépasse 20% pour l'isolat pathogène connu et aussi pour l'isolat étudié, et que les plantules inoculées avec l'isolat non pathogène ne présentent pas de signe de maladie. Le palmier dattier est génétiquement variable à cause de sa nature dioïque, et il faut donc utiliser au moins 50 plantules dans le test de pouvoir pathogène (O.E.P.P/E.P.P.O, 2003).

II.2 Analyses moléculaires des isolats de *Fusarium oxysporum*:

IV.2.1 Isolats fongiques

Un total de 11 isolats de *Fusarium oxysporum* provenant du rachis de palmiers dattiers infestés dans différentes régions du sud-ouest de l'Algérie ont été utilisés dans cette étude (Tableau 12). Les isolats ont été déposés au Laboratoire de valorisation des ressources végétales et de sécurité alimentaire dans les zones semi-arides, au sud-ouest de l'Algérie, à l'Université Tahri Mohamed de Bechar. Algérie. Toutes les cultures étaient dérivées d'une seule culture de spores et maintenues sur gélose dextrose de pomme de terre (PDA) avant leurs utilisations.

Tableau12 : Origines géographiques des isolats de *Fusarium* étudiés

N°	Code des Isolats	Region	Oasis	Variété du dattier
1	FO6	Touat	Waina	Tgaza
2	FO4	Touat	Oulad Aroussa	Tilmssou
3	FO36	Touat	Mehdia	Tgaza
4	FO4b	Touat	Tililane	Adam
5	FO3	Saoura	Mazer	Khalet
6	2Fb	Saoura	Beni Abbes	Hemira
7	F4b2	Saoura	Mazer	Feggous
8	F2Pd	Saoura	Beni Abbes	Toumliha
9	F2Pd2	Touat	Mehdia	Tinaceur
10	FTin	Touat	Oulad Aroussa	Degla Baida
11	FO3b	Gourara	Oulad Aissa	Tgaza

II.2.2 Extraction d'ADN

Les cultures ont été cultivées dans 100 ml de bouillon dextrose de pomme de terre sur un agitateur orbital (150 tr/min) à 25 °C pendant 7 jours. L'ADN génomique a été extrait par lyse thermique (Zhang, et al. 2010).

IV.2.3 Amplification par PCR

Toutes les réactions PCR ont été réalisées avec DreamTaq Green polymerase (ThermoFisher). Les amorces utilisées pour les différents amplificateurs sont énumérées dans le tableau 13. Le thermocycleur a été programmé comme suit : première étape à 94 °C pendant 2 min, suivie de 35 cycles de 94 °C pendant 30 s, 55 °C pendant 30 s, 72 °C pendant 1 min, et une dernière étape d'extension à 72 °C pendant 5 min. Les produits PCR ont été résolus par électrophorèse sur un gel d'agarose à 1,6 % contenant la souche Midori Green Advance DNA Strain (Nippon Genetics Europe GmbH) et visualisés sur un transilluminateur UV (Gardes, et al. 1991).

Tableau13 : Amorces utilisées pour l'identification moléculaire des isolats *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*.

Nom de l'amorce	Séquence d'amorce	Taille du fragment d'ADN amplifié (bp)	Référence
ITS1	5'- TCCGTAGGTGAACCTGCGG	600	(White TJ et al, 1990)
ITS4	5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC		
LROR	5'- ACCCGCTGAACTTAAGC	550	(Raja HA, et al. 2017)
LR3	5'- CCGTGTTTCAAGACGGG		
FOA1	5'- CAGTTTATTAGAAATGCCGCC	204	(Fernandez D et al. 1998)
BIO3	5'- GGCGATCTTGATTGTATTGTGGTG		
FOA28	5'- ATCCCCGTAAAGCCCTGAAGC	400	(Fernandez D et al. 1998)
TL3	5'- GGTCGTCCGCAGAGTATACCGGC		

IV.2.4 Construction de bibliothèques de clones, séquençage d'ADN et analyse de séquences.

Les produits d'amplification PCR obtenus avec les amorces LROR/LR3) ont été clonés dans le plasmide commercial pJET1.2, en utilisant le kit de clonage CloneJET PCR (ThermoScientific) conformément au protocole du fabricant. Le mélange de ligature a été utilisé pour transformer les cellules chimiquement compétentes d'*Escherichia coli* XL1bluepar choc thermique. Les cellules transformées ont été sélectionnées sur des plaques en L avec 100 µg/mL d'ampicilline. Les colonies ont été cueillies et striées sur le même support. Une procédure simple de PCR sur colonie a été utilisée pour contrôler la présence de l'insert attendu.

La réaction PCR a été réalisée avec le mélange DreamTaq Green PCR (ThermoFisher) dans lequel une petite partie de la colonie de la plaque a été mélangée avec les amorces spécifiques au plasmide pJET1.2 fd et pJET1.2 rv. Les conditions de PCR étaient conformes à celles recommandées par le kit de clonage CloneJET. La taille de l'insert a été vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose. Après purification, les produits PCR de la longueur prévue ont été envoyés à Genewiz (Angleterre) pour être séquencés sur les deux brins avec les amorces pJET1.2fd et pJET1.2rv. Les séquences obtenues à partir des clones ont été assemblées et alignées dans MEGA7 (Kumar S, et al 2016). Le même emballage a été utilisé pour d'autres analyses phylogéniques.

Les séquences et leurs numéros d'accès GenBank (entre parenthèses) étaient : L2Fb1(MG209822.1), L2Fb2 (MG209823.1), L2Fb4 (MG209824.1), L2Fb4 (MG209824.1), L2Fb6(MG209825.1), L2Fb10 (MG209826.1), L2Fb15 (MG209827.1), L2Fb18 (MG209828.1), LAFO1 (MG209829.1), LAFO2 (MG209830.1), LAFO3 (MG209831.1), LAFO4(MG209831.1), LAFO4 (MG209832.1), LAFO5 (MG209833.1), LAFO 10 (MG209834.1), LAFO 12 (MG209835.1), LAFO 15 (MG209836.1), LAFO 16 (MG209837.1).

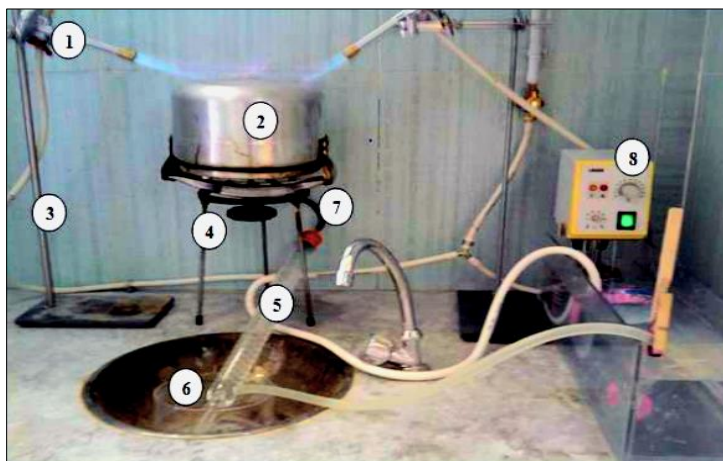
IV.3 Extraction du goudron végétal :

L'extraction de goudron végétal dans le laboratoire se fait à l'aide d'un dispositif composé d'une cocotte inversée contient le bois de l'arbrisseau, porté sur un support, la hauteur était de quarante centimètres. Au-dessus et autour duquel est placé des becs bunsen, la cocotte est chauffée afin de pouvoir faire carboniser son contenu, il exigeait six heures de chauffage.

Le réfrigérant est placé avec la cocotte par un tuyau et un cristalliseur pour récupérer le goudron. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière première chargée dans la cocotte.

L'extraction par ce dispositif est une méthode simple et semblable à la méthode traditionnelle. Après extraction le produit brut obtenu est laissé 2 à 3 heure au repos au bout duquel il se s'épare en 3 couches : eau, boue goudronneuse (partie huileuse) et goudron végétal.

Les bois utilisés pour ces extractions durant ces expérimentations sont : *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus phoeniceae* et *Acacia raddiana*.



Légendes :

- 1) Bec bunsen
- 2) Une cocotte inversé
- 3) Support pour les becs bunsen
- 4) Support pour la cocotte
- 5) Réfrigérant
- 6) Cristalliseur.
- 7) Sortie d'extrait
- 8) Bain thermostatique

Figure 24 : Dispositif d'extraction de goudron végétal.

IV.3.1 Rendement de goudron végétal

Le rendement est le rapport entre la masse de l'extrait obtenu après l'extraction et la masse du matériel végétal à traiter (Behidj B, et al,2013).

Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

Où :

R % : rendement de l'extrait.

m : masse de l'extrait obtenu après extraction.

M : masse du matériel végétal à traiter.

$$R\% = \left(\frac{m}{M}\right) \times 100$$

IV.3.2 Préparation des extraits de goudron végétal :

L'acétate d'éthyle, le dichlorométhane et hexane ont été utilisés en tant que solvants organiques avec leurs polarités différentes pour la préparation en suivi les étapes suivantes :

- En mélange 10 g de goudron végétale avec 10g de silicate de gel dans une boîte de pétri en verre, ensuite lissé la poudre séchée à l'abri de l'humidité et de la lumière durant 24h.
- La filtration sous vide est utilisée pour séparer rapidement un mélange hétérogène. On branche un tube de caoutchouc relié à une pompe à vide sur l'embout latéral de la fiole à vide. On installe un entonnoir Büchner sur la fiole à vide en s'assurant que le tout est bien étanche. Puis, on dépose dans entonnoir Büchner un papier filtre et la poudre qu'on a préparée sur un coton stérile, ensuite versant 500ml d'hexane.
- L'évaporation : Cette une opération qui fait suite à l'épuisement, elle a été réalisée à l'aide d'un Rota-vapor. Ce principe permet d'éliminer par évaporation de solvant en un temps très court, environ une demi-heure et avec récupération totale de solvant (Bensegueni ,2001).Une série de filtration et d'évaporation a été réalisé pour le solvant récupéré (trois fois).
- Après la récupération de l'extrait hexanique dans un flacon en verre, on laisse la poudre séchée cette méthode a été réalisé pour l'acétate d'éthyle puis le dichlorométhane. (Chaque solvant3 rotations), la fin en récupéra 3 extraits :

(L'extrait hexanique, l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait dichlorométhane).

II.4 Détermination des caractéristiques physico-chimiques des goudrons :

II.4.1 les caractéristiques physiques et chimiques :

II.4.1.1 La teneur en eau :

La teneur en eau est déterminée par séchage dans une étuve. La déshydratation est effectuée sur 3 échantillons de la même partie de la plante. Ces échantillons sont exposés dans une étuve à une température de 103°C +/- 2°C pendant 2h. À la sortie de l'étuve, on pèse le matériel végétal. On refait l'opération jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Gazli et Talbi, 2013)

La valeur de l'humidité a été calculée par la formule suivante :

Où :

a : Poids de l'échantillon.

b: Poids de l'échantillon séché.

H% : Taux d'humidité' exprimé en pourcentage.

$$H\% = \frac{(\text{poids a} - \text{poids b})}{\text{poids a}} \times 100\%$$

La matière sèche (MS) est donnée par l'équation suivante :

$$MS \% = \frac{P_b - P}{P_a - P} \times 100$$

Où :

MS% : La matière sèche en pourcentage ;

P0 : poids de vase de tare vide.

Pa : poids de vase de tare + échantillon avant séchage en gramme ;

Pb : poids de vase de tare + échantillon après séchage en gramme ;

MF : pourcentage de matière fraîche

Teneur en eau = MF% - MS %

$$\text{Teneur en eau} = MF\% - MS\%$$

II.4.1.2 L'indice de réfraction :

L'indice de réfraction est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans le goudron végétal maintenue à une température constante (AFNOR, 1988).

Il est mesuré à l'aide d'un réfractomètre, dans lequel on introduit quelques gouttes d'eau distillée considérée comme étalon sur le prisme. Ces gouttes sont essuyées et remplacées par quelques gouttes de goudron végétal, puis on réalise la lecture.

La correction à 20°C est effectuée par le biais de la formule suivante :

$$I_{20} = I_t + 0,00045(T - 20^\circ\text{C})$$

Où :

I₂₀ : Indice de réfraction à 20°C.

I_t : Indice à la température ambiante ou de mesure.

T : Température ambiante.

IV.4.1.3 Densité relative à 20°C :

Pour mesurer la densité relative (D₂₀) de nos échantillons, nous avons procédé au calcul du rapport de la masse volumique de l'extrait à la masse volumique de l'eau distillée (AFNOR, 1988).

Mode opératoire :

- Pesé 5ml de chaque échantillon (le goudron végétal et l'eau distillée) dans une balance analytique en enregistrant la masse volumique qu'on a obtenue.
- Calcule le rapport de la masse volumique de 5 ml de goudron végétal à la masse volumique d'eau distillée à la même température.

Où :

D₂₀ : La densité relative à 20°C.

P1 : la masse volumique de goudron végétal.

$$D_{20} = \frac{P1}{P2}$$

P2 : la masse volumique de Peau distillée.

IV.4.2 les caractéristiques physiques et chimiques :

IV.4.2.1 pH :

Le pH donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité du milieu, il est déterminé à partir de la quantité d'ions d'hydrogènes libres (H⁺) contenue dans l'extrait.

Mode opératoire :

Pour mesurer le pH de nos échantillons, nous avons utilisé un papier pH, ou on trempe l'électrode du pH-mètre dans le bécher de l'échantillon, on laisse stabiliser un moment, puis on note le pH. Avant chaque mesure, on rince l'électrode avec de l'eau distillée. Le résultat est donné directement sur l'afficheur de l'appareil pH-mètre où par virage de couleur sur le papier pH.

IV.5 L'analyse chromatographique

L'analyse chromatographique permet de séparer les constituants d'un mélange fixé sur un support appelé phase stationnaire (un gel de silice déposé en couche mince sur une plaque d'aluminium), il est entraîné par un solvant approprié (phase mobile ou éluant) qui migre par capillarité sur la plaque (Claverie et al. 2008). Les constituants du mélange se séparent par migration différentielle : chacun d'eux est d'autant plus entraîné par l'éluant qu'il est plus soluble dans celui-ci et moins adsorbé sur la phase stationnaire. Après migration les taches doivent être révélées ; c'est la détection qui peut se faire soit :

- ✓ Pulvérisation d'un réactif caractéristique
- ✓ Par observation à la lumière UV (265) si la plaque de silice comporte un indicateur de fluorescence

Mode opératoire

- ✓ **Préparation des éluant (les phases mobiles) :** Préparer trois phases mobiles de polarités différentes :
 - **Phase polaire (neutre) :** Acétate d'éthyle / Méthanol / Eau (80 :10 :10)
 - **Phase mobile intermédiaire (acide) :** Chloroforme / Acétate d'acétate / Acide formique (50 :40 :10)
 - **Phase non polaire (basic) :** Benzène / Ethanol / Ammoniaque (90 :10 :1)
- ✓ **Préparation de la cuve :**

L'atmosphère de la cuve doit être saturée en vapeur d'éluant. Ceci impose d'avoir une cuve bien fermée et préparée un certain temps à l'avance.

- ✓ **Les Plaques de CCM :**
 - La couche d'adsorbant est fragile, éviter de mettre les doigts sur les plaques.

- Repérer à l'avance l'emplacement où seront effectués les dépôts. Pour cela, tracer un léger trait de crayon parallèle au bord inférieur de la plaque à une distance de 1 cm. Les dépôts seront effectués sur cette ligne, à 0.5 cm du bord de la plaque et espacés de 1cm.
- Poser 100mg d'échantillons sur les plaques de CCM dans un 1 cm de la bande et développés sans délai pour minimiser la possibilité de changer la photo-oxydatif
- ✓ **Elution :**
 - Disposer la plaque dans la cuve, le dépôt doit être au-dessus du niveau de l'éluant.
 - Éviter de déplacer la cuve ou de la faire vibrer pendant l'élution.
 - Quand le front de l'éluant arrive à 0.5cm du bord supérieur, retirer doucement la plaque, marquer au crayon le niveau atteint par le front de l'éluant (hauteur H).
 - Sécher la plaque à l'air ou éventuellement au sèche-cheveux pour évaporer entièrement l'éluant
- ✓ **Révélation :**
 - La révélation aux UV (265 nm) permet de mettre en évidence sous forme de taches sombres des substances qui absorbent les UV, elle nécessite l'emploi de plaques particulières comportant un révélateur UV.
 - Mesurer les hauteurs h de migration des différentes tâches et calculer les rapports frontaux :

IV.5.1 Chromatographie sur couche mince préparatoire (CCM prép.)

Principe : Le principe est identique à la chromatographie sur couche mince mais dans un but de purification.

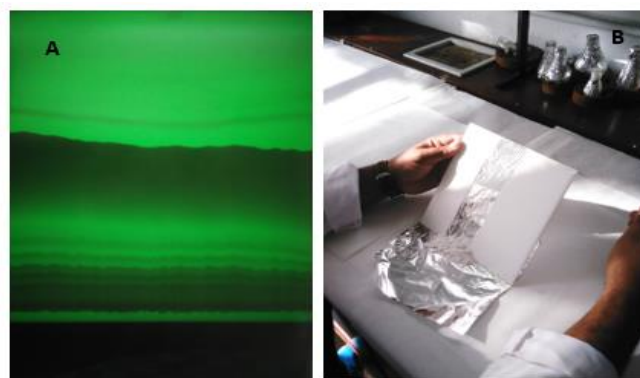


Figure 25 : Chromatographie sur couche mince préparatoire (A : CCM prép. Sous UV 265 nm
B : récupération de la fraction bioactive).

Matériel : - Cuve en verre munie d'un couvercle étanche - Plaque de silice sur un support en verre : SIL G200, épaisseur 2 mm - Micro-seringue - Eluant

Mode opératoire : La cuve de migration est partiellement remplie du mélange de solvants choisi comme phase mobile afin qu'elle soit saturée en vapeur d'éluant ce qui facilite et améliore la migration. Une ligne de dépôt est tracée à 2 cm du bord, l'échantillon est déposé le long de la ligne de dépôt, puis la plaque est mise en contact avec la phase mobile dans la cuve jusqu'à migration de la phase mobile à 1,5 cm du bord supérieur de la plaque. Après avoir séché la plaque, la partie contenant le composé voulu est récupéré, mise en suspension, puis centrifugée pour séparer le composé de la silice. Ensuite, le solvant est éliminé par évaporation, pour obtenir un produit sec.

IV.5.2 Chromatographie en phase liquide (CPL)

Principe : On utilise une colonne en verre équipée d'un fritté de verre et d'un robinet. La colonne est remplie d'une phase stationnaire qui peut être de la silice ou du Sephadex®. Un mélange de composés est placé en haut de la colonne. Selon la nature de l'éluant et du contenu de la colonne, certaines molécules sont plus facilement éluées que d'autres et la séparation des composés du mélange est ainsi permise (Figure 24 B). Matériel : - Silice 60 (Macherey-Nagel) 0,063-0,2 mm ou Sephadex® LH-20 - Sable de Fontainebleau - Eluant - Collecteur Büchi 684



Figure26: Chromatographie en phase liquide (CPL), de Sephadex® LH-20

Mode opératoire : Cette chromatographie est réalisée dans une colonne en verre. La taille et le diamètre de la colonne sont déterminés en fonction de la masse et du degré de pureté de l'échantillon à fractionner. Lorsqu'il n'y a pas de fritté de verre dans le bas de la colonne, du coton hydrophile est placé au fond de la colonne pour servir de filtre afin d'éviter les pertes de

phase stationnaire. La silice ou le Sephadex® est mis en suspension dans le premier éluant puis coulé dans la colonne. Le premier mélange de solvant est ensuite élué sur la colonne jusqu'à ce que la silice ou le Sephadex® soit tassé et stabilisé. L'extrait à fractionner est dissout dans le premier mélange de solvants puis déposé sur la colonne sous forme sèche ou liquide à l'aide d'une pipette. Quand la phase stationnaire est de la silice, on ajoute du sable de Fontainebleau pour éviter les perturbations du dépôt de l'extrait lors de l'éluion. L'éluion des composés par différents mélanges de solvants successifs est alors réalisée en veillant à ne jamais laisser la colonne s'assécher. Les fractions sont alors récoltées dans des tubes à essai. Le suivi de l'éluion des composés se fait sur CCM.

IV.6 L'essai de la bio autographie

Les chromatogrammes ont été séchés à la température ambiante sous un courant d'air pendant une nuit pour enlever le solvant restant. Des cultures de champignons ont été cultivées sur pomme de terre dextrose agar (PDA) pendant 3-5 jours. Les cultures ont été transférées dans le bouillon PDB avec un écouvillon stérile.

Les plaques de CCM développés étaient pulvérisées avec une suspension concentrée contenant 10^6 cellules / ml de champignons qui se développent activement. Les plaques ont été pulvérisés jusqu'à leurs humidité totale, incubées pendant une nuit puis aspergés de 2 mg / ml par une solution du violet p-iodo-nitrotétrazolium et ré incubé pendant une nuit ou plus 35°C dans une chambre propre à 100% d'humidité relative dans l'obscurité totale.

L'expression des résultats se fait par apparition des zones blanches indiquant la présence de composés qui inhibé la croissance des champignons testés.

IV.7Détermination des structures chimiques

La détermination des structures chimiques se fait par spectrométrie masse (MS), et résonance magnétique nucléaire (RMN).

IV.7.1Spectrométrie de masse

Cette technique repose sur deux éléments fondamentaux : \rightarrow La possibilité, par différentes méthodes, de fragmenter une molécule en différents ions, positifs ou négatifs, de rapports m/z (masse/nombre de charges élémentaires) différents. \rightarrow La détection de ces fragments. Là encore, différentes techniques existent (déflexion par champ magnétique, filtre de masse quadripolaire, trappe ionique, temps de vol) mais leur nature influe essentiellement sur la précision des résultats. Chaque molécule peut être caractérisée par un profil de fragmentation pour une technique de fragmentation donnée. De plus, il est possible qu'il se forme un ion

moléculaire (M^+ par exemple) ou pseudo moléculaire ($[M+H]^+$), indiquant la masse de la molécule étudiée. Les techniques d'ionisation que nous avons utilisées dans notre étude : → L'electrospray-ionspray (SM-ESI) : la solution contenant la substance à analyser est introduite dans la source via un capillaire à la sortie duquel un champ électrique intense est appliqué, ce qui entraîne la nébulisation de la solution à pression atmosphérique. → L'ionisation chimique à pression atmosphérique (CG Agilent 6890N et SM-VG AustoSpec) : les échantillons liquides sont directement introduits dans un nébuliseur pneumatique. Sous l'effet d'un jet d'air ou d'azote, le liquide est transformé en fin brouillard. Un chauffage assure la désolvatation des composés. Ces derniers sont ensuite ionisés chimiquement à pression atmosphérique, dont les conditions suivantes :

- Température à l'injection : 250°C
- Temps initial : 50°C (5 minutes).
- 100°C 10°C/min durant 15 min.
- 200°C 10°C/min durant 15 min.
- 250°C 5°C/min durant 5 min.

Nous avons utilisé, pour plusieurs produits au Laboratoire d'Application de Spectrométrie de Masse de l'Université de la Laguna de Tenerife ULL en Espagne.

IV.7.2 Détermination des structures chimiques par RMN

La Résonance Magnétique Nucléaire ou RMN est une technique d'analyse spectroscopique non destructive permettant d'accéder à la structure des molécules. Elle exploite les propriétés magnétiques des atomes en les soumettant à de forts champs magnétiques. L'absorption d'énergie obtenue est enregistrée, intégrée et transformée en un signal de résonance puis en spectre de RMN.



Figure 27 : Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) Dispositif utilisé à IUBO de ULL
Tenerife Espagne

Les particules atomiques doivent avoir un spin nucléaire non nul pour pouvoir être observées en RMN. Lorsqu'elles sont placées dans un champ magnétique, elles peuvent prendre plusieurs orientations. Des spectres RMN monodimensionnels (^1H et ^{13}C) et bidimensionnels (COSY, HMBC, HSQC) peuvent être réalisés. Ces spectres apportent des informations différentes et complémentaires qui permettent de déterminer la structure des molécules.

En ce qui concerne le spectre du proton (RMN ^1H), divers paramètres sont à observer et analyser :

- Le déplacement chimique (δ) : la position des signaux dans le spectre exprimé en Hz ou en ppm qui donne une idée du type de groupement auquel appartient le proton correspondant à ce signal.
- L'intégration : l'air sous la courbe d'un pic proportionnelle au nombre de protons qui résonnent à cet endroit.
- La multiplicité du signal : le nombre de protons voisins du proton considéré.

Les spectres RMN sont enregistrés sur un spectromètre de type Bruker Avance 500. Les échantillons sont dissouts dans des solvants deutérés.

IV.8 L'étude de l'activité antifongique

Deux méthodes différentes sont employées pour l'évaluation de l'effet antifongique des différents goudrons : méthode de contact direct et calcul de la concentration minimale inhibitrice.

IV.8.1 Méthode de contact direct

Mode opératoire :

- ✓ On prélève 13,5ml de milieu PDA et on a ajouté 1,5 ml d'extrait de goudron et bien agiter avec « le vortex ».
- ✓ Couler le mélange dans une boîte Pétri.
- ✓ L'ensemencement est réalisé à l'aide d'une pipette stérile, l'inoculum (Solution sporale) est mise sur la gélose au niveau de chaque boîte.
L'ensemencement est ainsi réalisé.
- ✓ Incuber les boîtes de Pétri à 25°C pendant 7 jours.

IV.8.2 L'étude de la concentration minimal d'inhibition « CMI »

- ✓ On ajoute des quantités précises de l'extrait avec le milieu PDA et bien mélange à l'aide d'un agitateur « vortex » pour l'obtention des concentrations bien définies
- ✓ Couler le mélange en boîte pétri.
- ✓ A l'aide d'une pipette stérile, imbibé dans inoculum, on procède à un ensemencement par stries sur la gélose au niveau de chaque boîte. L'ensemencement est ainsi réalisé.
- ✓ Incuber les boîtes de Pétri renversées est faite à 25°C pendant 7 jours.

IV.8.3 Détermination de la CMI par Méthodes M38-A2 de micro dilution du bouillon

La méthode de la macrodilution « Dilution en milieu liquide » est décrite selon les normes de Standardisation Américaine de la Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI, ou le protocole est décrit dans la référence M27-A3 pour les levures (CLSI-Clinical, 2008a.) et M38-A2 pour les champignons filamenteux (CLSI-Clinical, 2008b). Nous définissons les paramètres utilisés dans l'évaluation de l'activité antifongique. La détermination de l'activité antifongique a été effectuée en évaluant la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration fongicide minimale (CMF), appelée également (MLC) concentration minimale létale. CMI (mg/L) = la plus faible concentration minimale d'antifongique inhibitrice qui donne une réduction visible de la croissance de l'inoculum / Témoin. CMF (mg/L) = la plus faible concentration minimale concentration minimale fongicide d'antifongique qui tue $\geq 99,9\%$ de l'inoculum. Le système repose sur un indicateur colorimétrique d'une réaction d'oxydation-réduction (la croissance fongique change la couleur du support du bleu au rose). La détermination des paramètres était basée sur la lecture visuelle ou la lecture visuelle par fois facilitée par logiciel (système Vizion(r)) l'incubation à 25-28 °C. Le panneau a l'avantage d'être prêt à l'emploi, facile à réaliser, rapide et rapide, et l'emballage individuel permet de tester une plaque à la fois. La méthode donnée de bons résultats en termes de reproductibilité et de concordance avec les méthodes de référence pour d'autres antifongiques. On a signalé que la méthode produisait des CMI plus élevés, comparativement à la méthode du CCRS, pour tous les médicaments. En ce qui concerne les champignons filamenteux, une forte corrélation avec la méthode M38-A2 (CLSI). La méthode a montré une forte corrélation avec le CCRS pour détecter les isolats résistants et peut aider à surveiller l'émergence d'isolats présentant une sensibilité réduite aux agents antifongiques.

Les CMI et CMF ont été déterminées par la méthode de micro-dilution en milieu liquide, dans des microplaques de 96 puits (Santos et Hamdan, 2005).

a) Préparation de la suspension de spores

Les suspensions de spores ont été préparées à partir de cultures âgées de 10 jours, incubées à 30°C sur milieu CDA. Les colonies fongiques ont été immergées avec 5ml d'eau physiologique stérile et la surface de culture a été grattée doucement à l'aide d'une anse stérile. La suspension obtenue a ensuite été filtrée à l'aide d'un papier filtre qui retient les fragments de mycélium et laisse passer les spores. Des dilutions successives ont permis d'ajuster le nombre de spores à environ 10^6 UFC/ml.

b) Préparation des solutions mère d'extraits et fractions

L'extrait/ fraction (16,4 mg) a été dissout dans 400ul de DMSO diméthylsulfoxyde, puis le volume de la solution a été complété à 2 ml pour une concentration finale d'extrait/fraction de 8192 ug/ ml.

c) Procédure

Des dilutions en série de deux des solutions d'extraits et fractions ont été effectuées dans chaque puit. Pour se faire, 100 ul de bouillon de (PDB) supplémenté à un extrait/fraction (8192ug/ml) ont été introduits dans un puit. 100 ul de PDB supplémenté à l'inoculum y ont été ajoutés pour donner une concentration de 4096 ug/ml. 100 ul de cette dernière solution a été prélevée et additionnée à 100 ul de PDB contenant l'inoculum pour donner une concentration de 2048 ug/ml et ainsi de suite jusqu'à la plus petite concentration (32 ug/ml). Trois essais ont été réalisés pour chaque concentration, et trois contrôles ont été effectués :

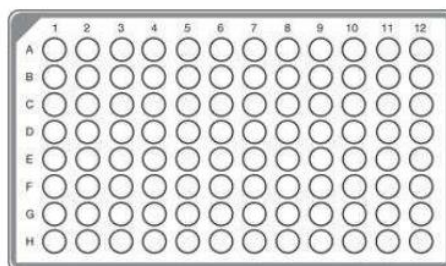


Figure 28 : La plaque 96 puits pour la détermination des paramètres CMI et CMF

Le contrôle stérile (PDB), le contrôle négatif (PDB et inoculum). Les plaques ont ensuite été recouvertes de parafilm dans des conditions aseptiques, puis incubées à 30 °C pendant 7 jours. Au terme de cette période, l'inhibition de la croissance des dermatophytes a été vérifiée par ajout de 25 µl de para-iodonitrotétrazolium (INT) 0,3M dans chaque puit (Eloff, 1998), suivi d'une incubation à 30°C pendant 2 heures. La CMI a été définie comme la plus petite concentration d'extrait/ fraction pour laquelle il n'ya pas eu apparition d'une coloration rose après ajout d'INT.

IV.9 Essai de lutte biologique in vivo :

IV.9.1 Effet des molécules bioactives sur la dynamique des population FOA

Le but de cette partie est l'étude de l'effet des biomolécules caractérisées dans le chapitre précédant sur la dynamique d'une population de FOA à l'aide de la technique en milieu sol amende, une suspension sporale d'espèces de *Fusarium oxysporum* f sp. *albedinis* est additionnée au sol préalablement stérilisé afin d'estimer sa capacité de se multiplier sur ce sol en contact direct avec les molécules anti-fusariques. Ces tests visent à déterminer d'une part l'efficacité des molécules bioactives et d'autre part à valoriser ces dernières comme moyen de lutte vis-à-vis de l'agent causal du Bayoud.

a) Le principe de la technique

Le suivi de la dynamique des populations de FOA est réalisé dans un sol provenant de la région de Saoura, naturellement infesté. Il est ensuite contaminé par une concentration de spores de FOA. Le sol est préalablement traité avec différentes concentrations de molécules bioactives précédemment citées. Il s'agit de l'acide Abiétique (DA), l'acide Pimarique (PA) et l'acide Dehydroabiétique (DHA). Le suivi est effectué par extraction et quantification des populations de FOA. L'extraction et la quantification sont réalisées successivement chaque 7 jours (semaine) sur une période de 2 mois.

b) Origine du sol

Le sol utilisé est un sol oasien naturel provenant d'un jardin « Bent Omrane » de l'oasis de Béni Abbes naturellement infestée par l'agent de la fusariose vasculaire du palmier dattier FOA. L'échantillon de sol est prélevé à partir d'une couche superficielle allant de 5 à 20 cm de profondeur. Le sol est traité de la même manière pour tous les essais. Il est préalablement séché à température ambiante pendant une semaine, tamisé à l'aide d'un tamis de 5 mm de diamètre et stérilisé à une température de 120°C pendant 02 heures. Le sol est ensuite

humidifié par de l'eau distillée stérile, afin d'obtenir les conditions optimales à la croissance de *FOA*.

c) Traitements

Cinq traitements ont été réalisés dont, quatre concentrations d'amendement de sol en AA (Molécules bioactive) et un témoin sont testés pour les 3 molécules anti *FOA*. Parmi ces traitements :

Traitement 1 : (AA + DMSO) à 0.1% ; Traitement 2 : (AA + DMSO) à 0.4 %

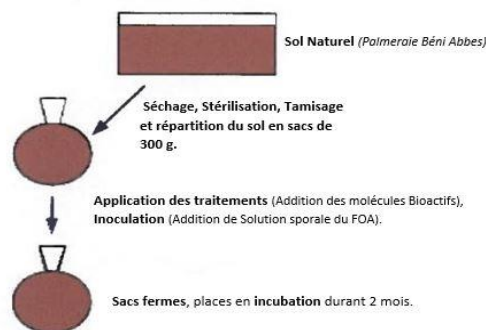
Traitement 3 : (AA + DMSO) à 1.0 % ; Traitement 4 : (AA + DMSO) à 1.4 %

Traitement 5 (témoin positif inoculé) : (Eau + DMSO).

Pour chaque traitement une concentration de 10^6 spores/ml en inoculum de spores de *FOA* est testée. Les souches étudiées sont l'espèce FO36 et 2Fb. Les résultats sont obtenus par comptage du nombre de colonies de *FOA* sur milieu CDA après 7 jours d'incubation à 28°C, et sont exprimés en nombre d'UFC (UF) de *FOA* par boîte de Petri, en comparaison avec le témoin. Le nombre de CFU est transformé en Log (CFU+1) afin de normaliser les données pour les analyses statistiques.

d) Mode opératoire

1) Traitement du sol



2) Extraction et numération de la population de *FOA*

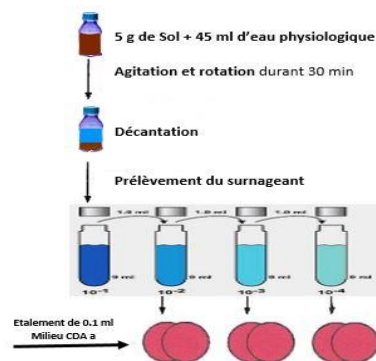


Figure 29 : Essai de lutte biologique *in vivo* : Traitement de sol(1) et quantification de population de *FOA*(2)

Trois essais sont mis en place de façon parallèle pour l'étude des 3 molécules anti-*FOA* précédemment caractérisées. (Les traitements de sol concernent les 3 acides caractérisés respectivement : (DA), (PA) et (DHA)).

Le comptage du nombre total de colonies fongiques de *FOA* exprimé en UF, est réalisé tous les 7 jours après incubation à 28°C. Les résultats sont exprimés en nombre d'UF de *FOA* par gramme de sol.

IV.11 Analyses Statistiques

Les résultats obtenus sont ensuite traités à l'aide d'analyses statistiques, dont l'analyse de variance ANOVA suivie d'un test de comparaisons multiples de Tukey, réalisé à l'aide du logiciel Excel 2016 ainsi que le logiciel R v.3.5.

Résultats et discussions

I. Collection de souches

I.1.1 Répartition géographique de la maladie

Les prospections effectuées dans les différentes régions du Sud-ouest algérien ont permis d'observer les symptômes typiques de la fusariose du palmier dattier et de localiser les foyers de la maladie. La maladie était présente dans la majorité des zones prospectées. L'ensemble des observations réalisées a permis de représenter toutes les situations épidémiologiques du Bayoud dans ces régions :

- Ancienne contamination mais foyers limités,
- Ancienne contamination mais foyers généralisés,
- Contamination récente mais foyers limités,
- Contaminations récente mais foyers généralisés.

I.1.2 Mise en évidence de l'agent pathogène

Dans le but de constituer une collection d'isolats de *FOA* représentative des populations fusariennes, plusieurs échantillons de rachis et de racines présentant les symptômes de la maladie ont été prélevés de façon à représenter toutes les situations épidémiologiques du bayoud précédemment citées. Les échantillons sont collectés puis analysés au laboratoire. L'ensemble des échantillons proviennent de 9 oasis sur 4 régions et représente 12 clones de palmier dattier dont un Khalet (Palmier issue de germination spontanée de noyau de datte).

I.1.3 Identification du *Fusarium oxysporum* à partir des isolements

Les cultures purifiées sont bouturées en boîte de Pétri sur de l'eau gélosée. Les colonies de *FOA* sont ensuite conservées sur milieu PDA en tube à essai pour la caractérisation macroscopique et microscopique du thalle. Les isolements mycologiques nous a permis d'obtenir systématiquement, des colonies présentant les caractéristiques du *FOA*. Par ailleurs, nous avons pu isoler le *FOA* à partir de différents clones de palmier dattier. D'après les caractéristiques morphologiques des *Fusarium*, 24 isolats de *FOA* ont été obtenu à partir d'échantillons de rachis et de racines de palmier infecté (Tableau 14).

I.1.3.1 Symptomatologie

Les formes spéciales de *F. oxysporum* sont des champignons parasites de plantes. Chaque forme spéciale est un agent causal de la fusariose vasculaire d'une plante comme (la

tomate, le melon, le palmier dattier...). *F. oxysporum* f.sp. *albedinis* est l'agent responsable de la fusariose du palmier dattier (Bayoud). La première manifestation de la maladie est le dessèchement et le blanchiment d'une ou de plusieurs palm(s) au niveau de la couronne moyenne. La maladie vasculaire est caractérisée par un flétrissement des plantes dû à l'envahissement des vaisseaux du xylème par le pathogène. Le dépérissement de la palme progresse du bas vers le haut, arrivé à l'extrémité, le dessèchement se poursuit sur l'autre moitié de la palme depuis l'extrémité jusqu'à la base. Avec le temps, les symptômes caractéristiques du Bayoud apparaissent sur d'autres palmes puis l'attaque se généralise à l'ensemble du palmier qui dépérit et meurt.

Tableau 14 : Liste, origine géographique et cultivar à partir duquel ont été isolées chacune des souches de FOA

N°	Code des isolats	Région	Oasis	Dattier clone
1	FO3	Saoura	Mazer	Khalet
2	F4b2	Saoura	Mazer	Feggous
3	F3b2	Saoura	Mazer	Feggous
4	F3b3	Saoura	Mazer	Khalet
5	2Fb	Saoura	Béni-Abbès	Hemira
6	F2Pd	Saoura	Béni-Abbès	Toumliha
7	F2PK	Saoura	Béni-Abbès	Khalet
8	3FB	Saoura	Béni-Abbès	Adem
9	FB4	Saoura	Béni-Abbès	Toumliha
10	FO6	Touat	Waina	Tgaza
11	W13	Touat	Waina	Aghamou
12	FO36	Touat	Mehdia	Tgaza
13	F2Pd2	Touat	Mehdia	Tinaceur
14	F2Pd3	Touat	Mehdia	Degla Baida
15	FO4	Touat	Oulad Aroussa	Tilmsou
16	FTin	Touat	Oulad Aroussa	Degla Baida
17	FTi	Touat	Tililane	Deglet Talmine
18	FO3b	Gourrara	Oulad Aissa	Tinaceur
19	FG1b	Gourrara	Oulad Saïd	Tinaceur
20	FG2b	Gourrara	Aghlad	Degla Baida
21	FOG	Gourrara	Kali	Degla Baida
22	BO3	K.du nord	Beni-Ounif	Feggous
23	BO9	K.du nord	Beni-Ounif	Khalet
24	FEN1	K.du nord	Fendi	Feggous

I.2 Caractéristiques culturelles et morphologiques de l'agent causal

La caractérisation de la morphologie est appréciée, dans un premier temps et dans un but descriptif, entre divers isolats. Sur milieu gélosé PDA, le thalle est formé d'un mycélium dense relativement ras et d'aspect plus ou moins cotonneux.

L'étude des caractéristiques culturelles des isolats de *FOA* ou de leur clone a révélé la présence de plusieurs morphotypes différents. Les thalles des isolats de *FOA* obtenus sont caractérisés par les morphotypes suivants : duveteux, ras muqueux, cotonneux, ras sénescents. Les différents morphotypes sont illustrés par la Figure 30. Cette étude montre que les morphotypes varient d'une souche à l'autre et peuvent ainsi évoluer d'un type à l'autre. A travers cette étude, le morphotype ras muqueux semble être le plus dominant parmi les thalles de *FOA* obtenus. La présence de différents morphotypes chez le *FOA* a été également signalée par plusieurs auteurs (Tantaoui et Boisson, 1991 ; Dossa, 1993 Henni *et al.*, 1994 ; Fernandez *et al.*, 1994).

I.2.1 Caractères Macroscopiques

La figure ci-dessous illustre les différents morphotypes rencontrés chez nos souches de *FOA* dont le morphotype ras muqueux est dominant pour les souches pathogènes.

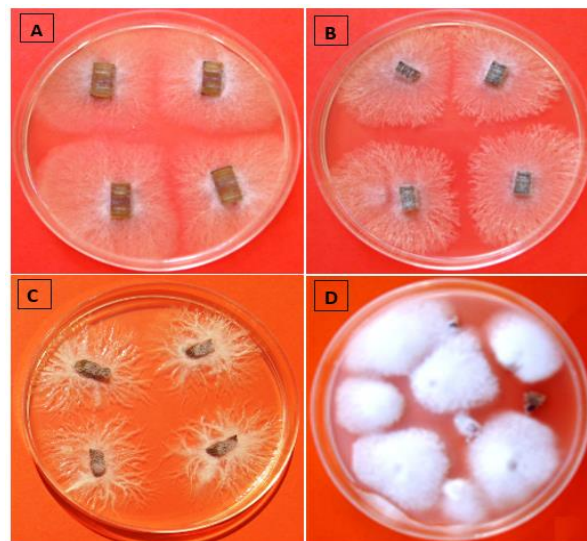


Figure 30: Types morphologiques de thalles de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Pathogène): Morphotype Duveteux (A et B), Ras muqueux bouclé (C), Cotonneux (D).

I.2.2 Caractères Microscopiques

Les observations au microscope photonique des isolats ont montré les caractères microscopiques propres au *Fusarium oxysporum*. Elles sont caractérisées par la présence abondante de microconidies unicellulaires ou bicellulaires, de petite taille (3-15 μm x 3-5 μm), de forme ovoïde à ellipsoïde ; de macroconidies de tailles variables (20-35 μm x 3-5 μm). Ces spores sont regroupées sous forme de fausses têtes sèches à l'extrémité de macrophialides (Figure 31). Les chlamydospores (connues pour être des structures de résistance entourées d'une paroi épaisse ornementée, de formes ovales, résultent de la condensation du contenu des hyphes ou des macroconidies. Sur les hyphes, les chlamydospores peuvent être intercalaires ou terminales. Il est à signaler, que les cultures fongiques de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* ne présentent pas d'organes massifs tels que les sclérotes, les macrosporodochies et les pionnotes. On a observé aussi que le filament mycélium est hyalin, sept et uninuclé. Il présente des cellules hypertrophiées en chaîne en culture âgée, d'aspects globuleux. Enfin, le mycélium de la culture âgée apparait globuleux comme une chlamydospore. Tous ces caractères correspondent à la description culturelle et morphologique de *FOA*.

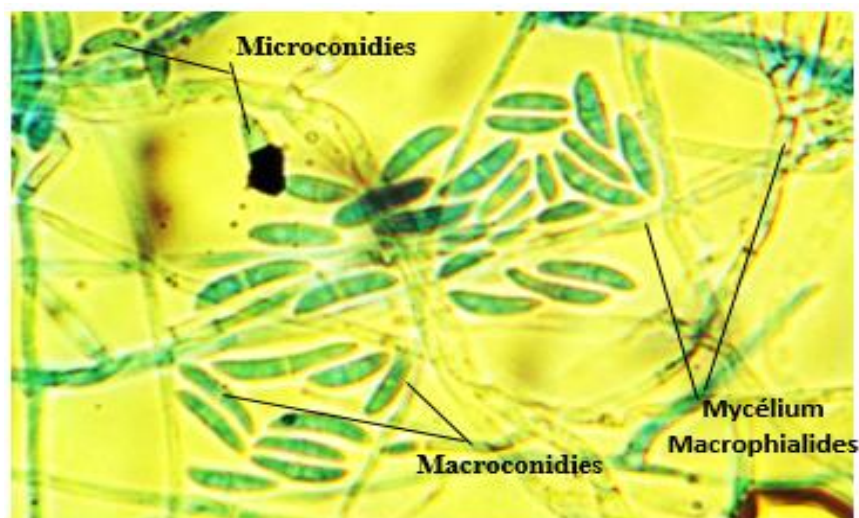


Figure31 : Aspect microscopique des différents types de spores rencontrées chez le *FOA* (Gr: X400)

Discussion

Nous avons décrit plus haut, les caractères morphologiques (micro et microscopiques) permettant d'identifier l'espèce *F. oxysporum*, et nous avons mentionné l'absence d'autres caractères moins spécifiques tels que les organes massifs. Selon certains auteurs, la stabilité morphologique d'une souche de *FOA* fraîchement isolée de plante fusariée est conditionnée par deux facteurs : le mode de propagation en culture pure et l'âge des cultures utilisées pour la multiplication (Dossa, 1993). Néanmoins, la présence de certains de ces caractères est probablement liée à des facteurs externes tels que la composition du milieu de culture, l'âge de la culture-mère et le vieillissement du thalle.

Ce travail nous a permis de montrer que le *FOA* et l'agent de la fusariose vasculaire du palmier dattier dans les régions prospectées. Par ailleurs, son degré de gravité et sa répartition dans certaines régions prospectées semble toutefois peu alarmant. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par (Tantaoui et Boisson, 1991 ; Fernandez *et al.*, 1994).

Différentes techniques de lutte vis-à-vis de cette maladie ont été décrites, certaines relevaient de la lutte chimique, d'autres font appel à des techniques physiques, en particulier la solarisation et enfin à des pratiques culturales différentes (Essaroui et Sedra et 2007).

Au-delà des aspects purement pathologiques, but principal de nos prospections, nous avons constaté qu'environ 20 à 30% des palmiers prospectés étaient constitués d'arbres âgés ou qui présentaient des symptômes de vieillissement ou encore qui ne bénéficiaient pas de pratiques culturales adéquates. Nous avons constaté également la rareté du personnel compétent apte à diriger les opérations de culture et le manque de soins adaptés à la culture du palmier. Il ne faut pas oublier aussi que la variété Deglet-Nour reste la plus sensible à la fusariose que les autres variétés.

Nos observations ont laissé apparaître la nécessité absolue de sensibiliser les propriétaires des parcelles de dattiers, les simples phoeniculteurs, et tout ceux qui s'activent dans le domaine des dattes et leurs culture à l'étiologie de cette trachéomycose, afin d'envisager l'application de mesures prophylactiques adéquates au moment opportun et d'encourager des études sur le comportement variétal (Ferry, 1993 ; Saker et Daddi Bouhoun, 2007 ; Sedra, 2012)

En conclusion, la fusariose vasculaire du palmier dattier est considérée comme une maladie très grave pouvant provoquer le dépérissement total du palmier. Etant donné l'absence de traitements chimiques ou biologiques contre cette trachéomycose, seuls les mesures de lutte prophylactique pratiquées au moment opportun permettraient de réduire les conséquences de la maladie (Sedra, 2012).

La constitution de la collection de *FOA* nous a permis de poursuivre ses études sur la pouvoir pathogène et la caractérisation moléculaire, qui sera étudiée à l'aide d'outils moléculaire tels que la PCR. Parallèlement, nous avons essayé d'étudier les propriétés physico-chimique, chromatographiques et biologiques de goudrons végétales. Cette étude devrait servir à l'évaluation et à la sélection d'un biopesticide d'origine végétale.

I.3 Pathogénicité des isolats étudiés

Les tests de pouvoir pathogène ont été réalisés en serre à Béchar sur de jeunes plants de palmier dattier au stade deux feuilles. Les plants montrant des symptômes externes sont considérés fusariés. Les inoculations ont pour but essentiel de vérifier le pouvoir pathogène des différents isolats de *Fusarium oxysporum*. Les résultats ont révélés que tous les isolats de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* testés se sont montrés pathogènes et sont ainsi identifiés parmi les autres isolats de *F. oxysporum* obtenus à partir de palmiers dattiers. Les tests d'inoculation par les spores de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* ont montré que la plante fleurit entièrement, se dessèche et meurt, un à deux mois après inoculation. Il apparaît que les jeunes plants de palmier dattier ne sont totalement prédisposés à l'attaque du *F.O. albedinis* qu'à partir du stade où les deux feuilles sont assez bien développées, ce qui correspond à deux mois d'âge dans nos conditions d'essai.

Les tests sur plants de palmier dattier ont montré que les 24 isolats de *FOA* étaient pathogènes. Cependant, des symptômes typiques de flétrissement vasculaire du palmier dattier ont été observés chez des semis inoculés avec une suspension conidienne (micro et macroconidies) de chaque isolat (OEPP/EPPO, 2003).

Le test de pathogénicité a donné un taux de mortalité 30% dont la totalité des semis inoculés présentaient des symptômes de brunissement des racines, suivi de l'enroulement (du roulage) des feuilles, du flétrissement et de la mort des semis. Ainsi, le test a validé les procédures d'isolement et les critères de sélection (Quinten, 1996 ; OEPP/EPPO, 2003 ; Benlarbi, 2009).

Cette observation va dans le sens de ce qui a été rapportés par certains travaux qui signalent que les isolats d'un matériel végétal atteint de la fusariose sont les plus agressives par conséquent, les isolats étaient très probablement des *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (OEPP/EPPO, 2003 ; Djekiref et al. 2018).

Discussion

Ces résultats montrent clairement que, dans les limites de l'expérimentation, le pouvoir pathogène chez *F. oxysporum* f.sp. *albedinis* reste plus ou moins stable. Il ne dépend pas de l'origine culturale, ni de l'âge des cultures ou du mode de leur obtention (clonage, bouturage). Les isolats de FOA testés de différentes origines géographiques ne présentent pas de pouvoir pathogène différents. Etant donné la diversité des origines géographiques des isolats étudiés, on peut raisonnablement, admettre que les populations de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* ne diffèrent pas entre elles par leur pouvoir pathogène (Sedra,1994). On peut en conclure qu'il n'existe pas de relation entre la morphologie d'un thalle tel qu'il se présente *in vitro*, et le pouvoir pathogène (Djekiref et al. 2018).

En effet, l'infection artificielle est souvent réalisée dans des conditions très différentes de celles où se déclare la maladie au champ. D'autre part, le pouvoir pathogène des champignons en générale n'est pas toujours facile à évaluer. Plusieurs interactions entre la plante, le pathogène et l'environnement entrent en ligne de compte pour déterminer la gravité des symptômes observés (El-ghorfi., 1987). Bulit et al (1967) ont classaient les isolats de *F. oxysporum*, isolées à partir d'un palmier dattier, en trois catégories ; selon l'importance des symptômes qu'elles provoquaient *in vitro* sur les plantules de l'espèce hôte (*P. dactylifera* L.) : isolats de FOA agressives (à pouvoir pathogène élevé) ; isolats de FOA peu agressives (à pouvoir pathogène faible) ; isolats de FOA non agressives (à pouvoir pathogène "nul" ; n'appartenant plus donc à la forme spéciale *albedinis*). D'ailleurs, Molot et Mas (1975), ont mis en évidence l'influence de la température sur le pouvoir pathogène de *F. oxysporum* f.sp. *melonis*. Ils ont constaté que les températures les plus favorables à la croissance mycélienne du champignon *in vitro* se situe entre 24 à 26°C ne correspondant pas à celles qui entraînent les symptômes les plus graves (18 à 22°C). Selon d'autres auteurs, le degré d'agressivité peut se manifester plus ou moins nettement selon le stade auquel la plante est inoculée.

Même si ce test nous montre une différence nette d'agressivité inter isolats, exprimé par la fluctuation des taux de mortalité des plantules inoculées, ces résultats restent non déterminantes quant à l'existence de races au niveau de la forme spéciale *albedinis*. A ce niveau, divers facteurs dont dépend le test de pathogénicité le rendrait trompeur dans le cas du palmier dattier. Par ailleurs, les techniques d'analyse du pouvoir pathogène devront être développées pour permettre, d'une part, l'évaluation précise du pouvoir pathogène des souches de *FOA* et, d'autre part, rechercher l'éventuelle existence de races chez la forme spéciale *albedinis*.

Des résultats analogues à ceux que nous avons observés ont été également rapportés par plusieurs auteurs chez les plants de palmier dattier (Benlarbi, 2009 ; Yezli, 2010 ; Djekiref et al. 2018).

II. Analyses moléculaire des isolats de *Fusarium oxysporum*

II.1. Caractérisation génotypique

Les tests d'identification traditionnelle basés sur des essais minutieux morphologiques et culturels ne donnent pas souvent de résultats précis et fiable pour la détermination précise des espèces fongiques. Ces dernières années, plusieurs techniques moléculaires d'analyses de fragments d'ADN sont utilisées avec succès sur différents microorganismes (Juzan et al., 2012). Toutes ces techniques sont basées sur une amplification par PCR de l'ADN des microorganismes. Le mélange de fragments de produits PCR est ensuite analysé par les méthodes basées sur les séquences nucléotidiques des fragments (Reynier et Malthiery, 1996)

Onze isolats de notre collection ont fait l'objet de cette étude. La confirmation de leur identification a été réalisée par PCR suivi d'un séquençage. Une bonne amplification par PCR de la région ITS a été obtenue pour tous les isolats de *Fusarium* étudiés. Sur la base des données obtenues à partir de l'électrophorèse sur gel d'agarose, les amplifications des régions ADNr de onze (11) isolats de *Fusarium oxysporum* par les amorces universelles ITS1 et ITS4 a permis l'obtention d'un fragment d'une taille de 600 pb et n'a révélé aucune différence de taille entre les isolats (Figure 32 A). Les séquences utilisées dans cette étude pour identifier les isolats correspondent aux séquences ITS1 et ITS2, régions complètes ; la partie 5' du gène (18S, 5,8S) et la séquence de l'extrémité 3' du gène (28S). Dans le cadre

de la recherche des ressemblances génétiques, chaque séquence des isolats a été comparée aux séquences de la banque de données (NCBI – GenBank). Par ailleurs, l'amplification par PCR des isolats à l'aide des amorces LROR/LR3 a généré un fragment d'ADN de 550 pb pour l'ensemble des isolats étudiés (Figure 32 B). Nous avons ensuite amplifié l'ADN de nos isolats à l'aide d'amorces spécifiques (TL3-FOA28) à la forme spéciale *albedinis*. L'utilisation de ce couple d'oligonucléotides et la PCR ont permis l'amplification d'un fragment d'ADN d'environ 400 pb (Figure 32 C). Ce fragment n'est amplifié que chez les *FOA*. Cette analyse a permis le regroupement des isolats de *FOA* sans passer par l'inoculation expérimentale et l'observation des symptômes.

Dans cette étude, l'amplification par PCR avec les paires d'amorces universelles spécifiques des champignons (ITS1/ITS4) a été obtenue à partir de préparations d'ADN de l'ADN des 11 isolats de *Fusarium* et des bandes claires ont été observées sur le gel (Figure 31). L'amplification a donné un produit d'environ 600 pb, comme prévu). De plus, l'analyse par PCR à l'aide d'amorces LROR/LR3 a été un succès pour tous les isolats et a montré un produit de la taille désirée (550 pb). Ces amorces amplifient un fragment d'environ 550 bp (amorces non incluses) dans le gène de l'ARN des champignons 28S (Vilgalys, 1990).

II.2 Polymorphisme de l'ARNr

Deux isolats, 2Fb et FO36, ont été retenus pour une analyse plus approfondie. Les deux isolats proviennent de deux sites différents et ont été isolés indépendamment l'un de l'autre. De petites bibliothèques du domaine 5' de la grande sous-unité rRNA ont été construites en clonant le produit PCR d'une taille de 550 pb obtenu avec des amorces LROR/LR3 dans le plasmide commercial pJET1.2 (ThermoFisher).

Les 18 clones de l'isolat 2Fb et 16 clones de l'isolat FO36 ont été séquencés. Le nombre de clones semble probablement trop petit pour une analyse complète du polymorphisme du domaine. Pourtant, l'alignement des séquences et la construction subséquente d'arbres phylogénétiques ont fourni des informations précieuses sur la diversité du domaine. Sept (07) clones de l'isolat FO36, et onze (11) de l'isolat 2FB avaient les mêmes séquences nucléotidiques (moins de 3 différences entre 2 séquences), confirmant ainsi leur rapprochement génétique, il s'agit des clones suivants :

LAFO 3, LAFO 4, LAFO 6, LAFO 7, LAFO 8, LAFO 10, LAFO 11, L2FB 1, L2FB 3, L2FB 5, L2FB 7, L2FB 8, L2FB 9, L2FB 11, L2FB 12, L2FB 13, L2FB 16, L2FB 17.

Certaines séquences représentent un pourcentage de similarité de 100 % par rapport aux séquences des *F. oxysporum*, d'autres sont très très proches et représentent 99,4 % et ne diffèrent que d'une à trois nucléotides par rapport aux séquences de plusieurs *Fusarium oxysporum* comme *F. oxysporum f. sp. cumini* F11, *F. oxysporum f. sp. dianthi* Fod001, et *F. oxysporum f. sp. lycopersici* 4287 (Figure 33). Seuls deux représentants de ce groupe de séquences homologues sont représentés dans l'arbre phylogénétique : LAFO10 (MG209834.1) et L2FB1 (MG209822.1).

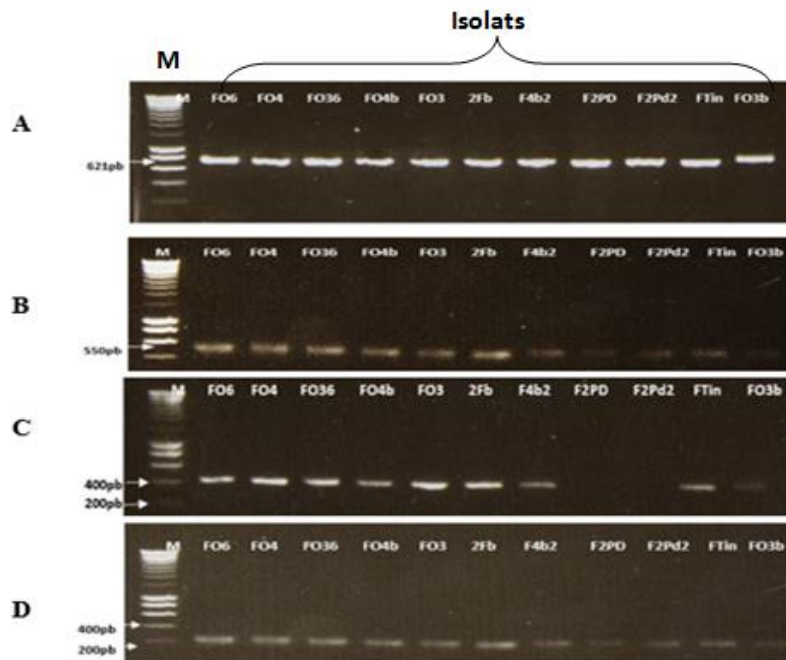


Figure 32 : Gels d'agarose à 1,5 % montrant les produits PCR de l'ADN des isolats de *Fusarium*. A : Produits PCR obtenus avec les amorces universelles ITS1/ITS4 (contrôle positif) ; B : Produits PCR avec le paire d'amorces LROR/LR3 ; C : Produits PCR avec les amorces spécifiques de *FOA* (TL3-FOA28) et D : (BIO3-FOA1).

La séquence majoritaire des deux isolats étudiés correspond totalement à leur affiliation à l'espèce *Fusarium oxysporum*. Les neuf autres séquences de FO36 ainsi que les cinq séquences de 2Fb se sont montrées toutes uniques et divergeaient du premier groupe de séquences. L2FB10 (MG209826.1), L2FB2 (MG209823.1), L2FB4 (MG209824.1), LB6

(MG209825.1), L2FB18 (MG209828.1), L2FB15 (MG209827.1), LFO15 (MG209836.1), LFO16 (MG209837.1), LFO1 (MG20982525).1), LFO12 (MG209825.1), LFO2 (MG209825.1), LFO5 (MG209825.1) et LFO9 (MG209825.1) se sont révélées très proches des 18 premières séquences, mais avec une séquence légèrement moins conservée.

Aucune de ces séquences n'était identique. Par conséquent, il y a un polymorphisme clair dans le marqueur amplifié par l'amorce LROR/LR3.

Aucune séquence comparable de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* n'est disponible dans GenBank. Pourtant, plusieurs séquences de *F. oxysporum* sont disponibles dans la banque de données. La diversité révélée par les deux isolats de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* suivait la diversité des autres formae speciales de *F. oxysporum*. Par exemple, deux séquences de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* 4287 ont été trouvées entre les séquences FO36 et 2Fb. D'autre part, une séquence d'une espèce distincte de *F. inflexum* (U34548.1) regroupée avec l'un des groupes de séquences de *F. oxysporum*.

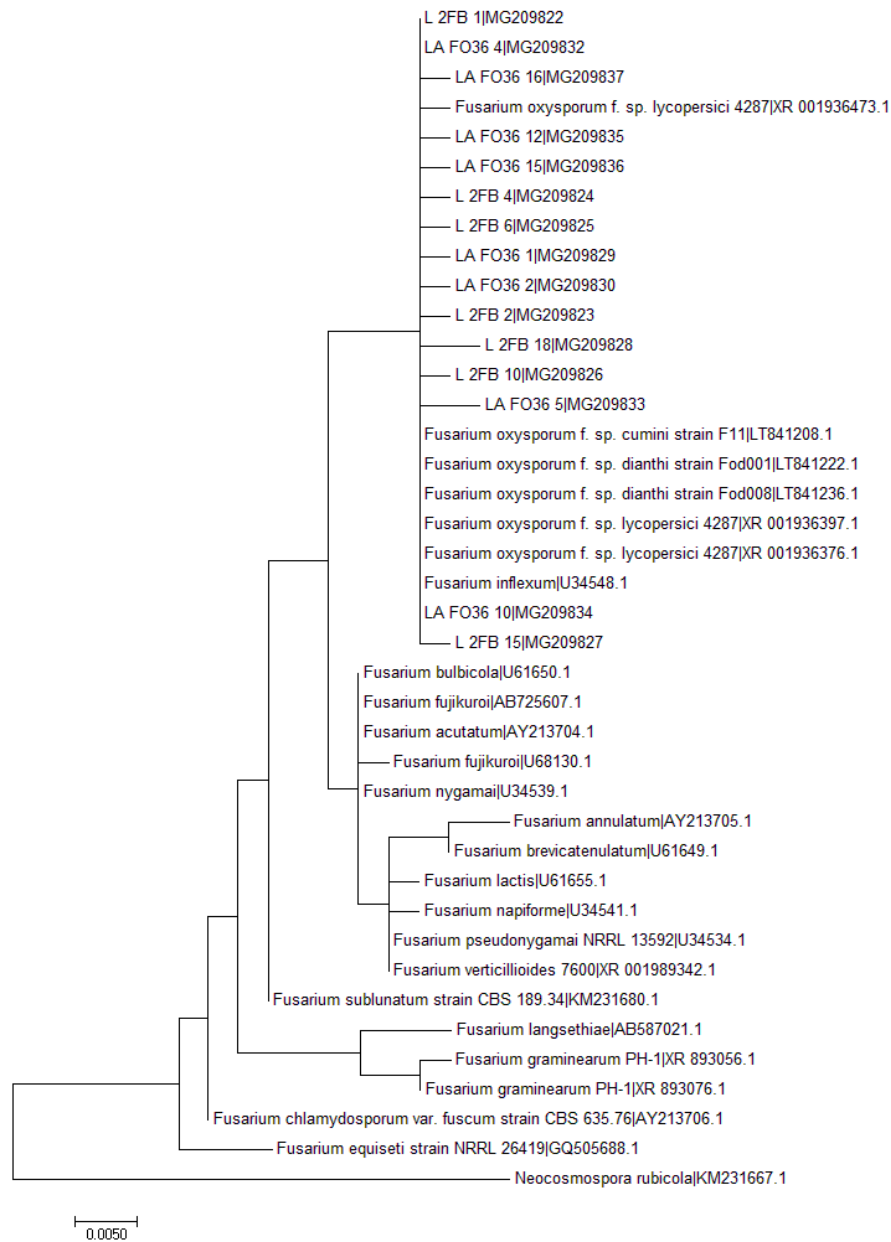


Figure 33 : Arbre phylogénétique basé sur l'analyse des séquences d'ARNr, montrant les relations entre les isolats de *Fusarium oxysporum* et les souches-types des espèces de *Fusarium*. Analyse phylogénétique par la méthode du maximum de vraisemblance (I.R. Labiris ULB Belgique).

Discussion

La classification des champignons phytopathogènes est historiquement basée sur de nombreux caractères morphologiques et biologiques observables. L'identification des champignons filamenteux est effectuée par la comparaison d'un grand nombre de critères. Dans le cas des *Fusarium*, l'examen des macroconidies permet à identifier rapidement le

genre et en fonction de la forme et de la septation des macroconidies, les différentes espèces peuvent être déterminées.

L'histoire de l'évolution a été déduite en utilisant la méthode du maximum de vraisemblance basée sur le modèle Tamura-Nei. L'arbre dont la probabilité de logarithme est la plus élevée (-1024,7729) est indiquée (Figure 33). Les arbres initiaux pour la recherche heuristique ont été obtenus automatiquement en appliquant les algorithmes Neighbor-Join et BioNJ à une matrice de distances par paires estimées à l'aide de l'approche de la probabilité composite maximale (MCL), puis en sélectionnant la topologie avec une valeur de probabilité logarithmique supérieure. L'arbre est dessiné à l'échelle, la longueur des branches étant mesurée en nombre de substitutions par site. L'analyse a porté sur 60 séquences de nucléotides. Tous les postes comportant des lacunes et des données manquantes ont été éliminés. Il y avait un total de 418 positions dans l'ensemble de données final. Des analyses évolutives ont été effectuées dans MEGA7.

Des techniques basées sur l'analyse de l'ADN ont été développées pour comprendre la diversité génétique et la phylogénie des espèces de *Fusarium* (Arif *et al.*, 2008). La présence de nombreuses formae spéciales de *F. oxysporum* peut être détectée par PCR (Tantaouiet *al.*, 1996 ; Plyler, 1999). Des oligonucléotides spécifiques ont été développés pour l'identification rapide des pathogènes par PCR (Fernandez *et al.*, 1998). Ces oligonucléotides spécifiques ont donc constitué d'excellents outils de caractérisation de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis*. A l'aide de la PCR, ces oligonucléotides ont confirmé que les isolats appartenaient à l'espèce *F. oxysporum* f. sp. *albedinis*.

Les échantillons d'ADN ont également été amplifiés à l'aide des paires d'amorces spécifiques de *FOA* (TL3-FOA28) et (BIO3-FOA1) (Fernandez *et al.*, 1998). Ces paires d'amorces donnent des produits de 400 et 204 pb, respectivement. Deux isolats n'ont pas été amplifiés avec la paire d'amorces TL3-FOA28 (F2PD et F2Pd2). Tous ont donné une amplification avec les autres paires d'amorces spécifiques à *FOA*. Il ressort de cette analyse que les onze (11) isolats étudiés appartenaient à l'espèce *F. oxysporum* et à la forme spéciale *albedinis* (*F. oxysporum* f. sp. *albedinis*). Cette technique donc s'est constituée un outil de discrimination efficace pour identifier la forme spéciale de *F. o. albedinis*.

Cependant, seuls deux représentants de ce groupe de séquences homologues sont représentés dans l'arbre phylogénétique : LAFO10 (MG209834.1) et L2FB1 (MG209822.1).

La séquence majoritaire des deux isolats correspond totalement à leur affiliation à l'espèce *Fusarium oxysporum*.

Pour séquencer certains gènes fongiques une combinaison d'amorces est utilisée : SSU = NS1, NS2, NS3 et NS4 ; LSU = LROR, LR3, LR3R et LR6 (Raja et al., 2017) dont justifier notre intérêt pour l'emploi de l'amorce LROR/LR3. Notre travail concorde avec plusieurs études visant l'identification moléculaire des souches fongiques (Lynn, 2008 ; Breuil, 2006)

En conclusion les résultats basés sur le domaine 5'du gène de l'ARNr de la grande sous-unité indiquent un polymorphisme similaire dans deux isolats de différentes régions du sud-ouest d'Algérie. L'analyse de petites banques de gènes a révélé que le degré de polymorphisme est plus élevé que prévu à partir des séquences disponibles dans GenBank : 12 séquences uniques et une séquence principale. C'est beaucoup plus que le nombre de séquences introduit dans GenBank pour d'autres souches individuelles de *F. oxysporum*. Cela peut entraîner une certaine confusion en ce qui concerne l'identification des souches de *Fusarium* lorsqu'elles sont basées sur ce domaine limité. Il convient de noter qu'une séquence hautement analogue à l'une des *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* peut être obtenue à partir d'une espèce différente, le cas de l'espèce de *F. inflexum* (U34548.1).

III. Extraction de goudrons végétaux

III.1 Résultats des rendements

Le résultat de calcul des rendements obtenus lors de nos extractions des trois arbrisseaux par pyrolyse sont reportés dans le tableau 14.

Tableau 15 : Rendements en (%) des goudrons et des huiles essentielles des plantes étudiées, obtenus par pyrolyse

Rendements	<i>Acaccia raddiana</i>	<i>Juniperus oxycedrus</i>	<i>Juniperus phoenicea</i>
Goudron	0,703 %	0,549 %	0,542 %
Huiles	1,480 %	1,703 %	1,786 %

Les rendements d'extraction calculés par le rapport de la quantité de goudron ou d'huiles extraites sur la quantité de matière végétale (Tableau 15), sont exprimés en pourcentage. Au vu des résultats ci-dessus, on note tout d'abord, une importante variation des rendements en goudron entre l'espèce *Accacia raddiana* et les deux autres espèces analysées. Nous constatons ainsi que l'espèce *Accacia* enregistre le rendement le plus élevé avoisinant

0,703 %. De même, les rendements en goudron des deux espèces de *Juniperus oxycedrus* et *phoeniceae* rapprochent entre eux, et sont de l'ordre de 0,549 et 0,542 respectivement. Tandis que les résultats des rendements en huiles, montrent que les deux espèces de *Juniperus* sont très proches par rapport à ceux obtenus chez l'espèce d'*Acacia raddiana*. Les rendements en huiles enregistrés sont de l'ordre de 1,480, 1,703 et 1,786 % respectivement pour *Accacia raddiana*, *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea*. Les caractéristiques organoleptiques portant essentiellement sur la couleur et l'odeur des goudrons de ces trois arbrisseaux montrent qu'ils ont une odeur spécifique, connue chez l'huile de cade « Guetrane » et présentent une couleur noirâtre.

L'extraction des goudrons des trois arbrisseaux par la technique de distillation sèche (Pyrolyse) (Figure 34), nous a permis d'avoir des rendements variables qui sont déterminés par rapport au matériel végétal. Il est de l'ordre de (0,703 %) pour la partie goudron d'*Acacia raddiana* (T1), de (0,549%) pour la partie goudron de *Juniperus oxycedrus* (T2) et de (0.542 %) pour la partie goudron de *Juniperus phoenicea* (T3) ; alors que pour les parties huileuses d'*Acacia raddiana* (H1), *Juniperus oxycedrus* (H2) et *Juniperus phoenicea* (H3), les rendements sont de l'ordre de (1,48%), (1, 703%) et (1.786) respectivement. Les goudrons extraire des trois arbrisseaux possèdent une odeur spécifique (l'odeur connue de l'huile de cade « Guetrane ») ; ils sont de couleur noirâtre.

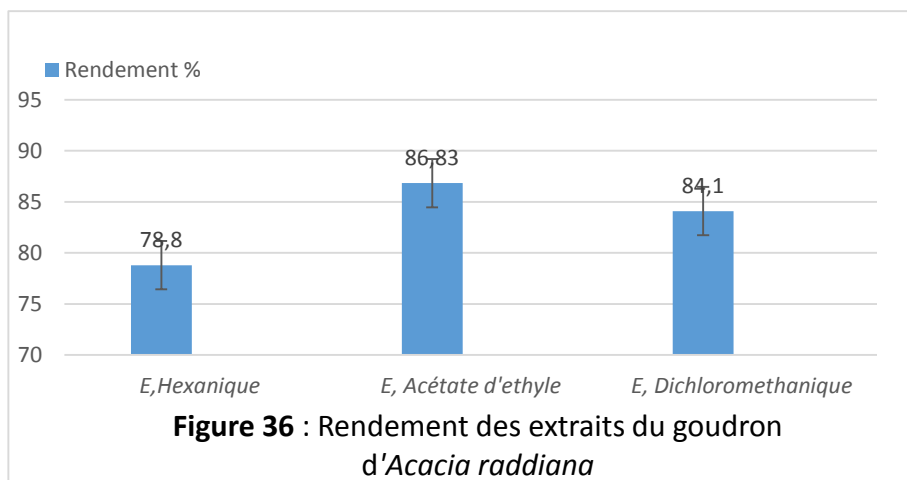
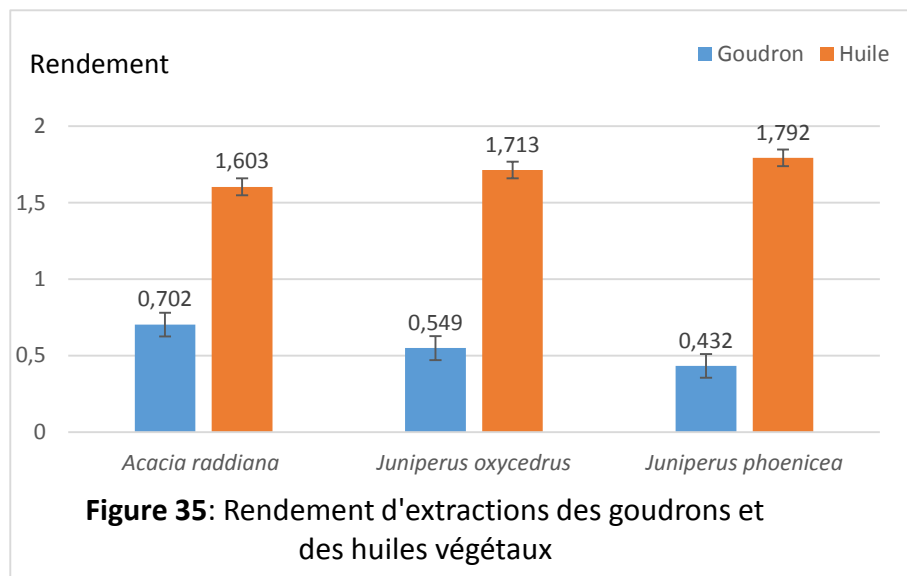


Figure 34 : Résultats de l'extraction par pyrolyse, A : Phases huileuse et goudroneuse, B : Aspect du goudron, C : Etat du bois après pyrolyse.

III.2 Rendement de goudron végétal et des extraits de ce goudron

Extraction du goudron à partir d'*Acacia raddiana* a été effectuée par distillation sèche. Les résultats obtenus, montrent que le rendement de goudron végétal de cette espèce végétale est de l'ordre de (0,94%), et le résultat de l'extrait hexanique, l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait dichloro-méthanique sont 78.80%, 86.83%, 84.10% successivement. De ces résultats, nous constatons que le rendement de l'extrait d'acétate d'éthyle est légèrement supérieur alors que cette technique donne pratiquement les mêmes rendements par rapport à l'extrait hexanique ce qui corrobore avec les travaux de Terfaya, (2015).

Ce résultat (Figure 35 et 36) est similaire à celui à obtenir du bois de plante de *Juniperus oxycedrus* de la région de Sebdou à Tlemcen (0.549%), *Juniperus phoenicea* (0.542



%) de la région de Béchar (Terfaya, 2015). Pour de l'extrait hexanique, et l'extrait

dichlorométhane les résultats sont inférieurs à ceux obtenus du bois de plante de *Juniperus oxycedrus* de la forêt de Tirni région de Sebdo à Tlemcen sont 98%, 98.68% successivement.

Cependant, il reste difficile de comparer nos résultats avec ceux de la littérature, car le rendement n'est que relatif et semble être lié aux propriétés des plantes ainsi qu'à l'origine géographique, aux conditions environnementales, à la durée du stockage, à la période de la récolte et aussi aux méthodes d'extraction appliquées, le rapport poids de la plante / volume du solvant et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée.

Discussion

Les rendements d'extraction obtenus pour l'espèce *Acacia raddiana* et l'espèce *Juniperus oxycedrus* sont du même ordre de grandeur que ceux figurant dans la littérature, par contre ceux de *Juniperus phoeniceae* s'avèrent très variables. Il est à signaler que les rendements en goudron et en huiles essentielles sont très fluctuants ; ceci est vraisemblablement dû à l'âge de l'espèce, à la durée et au mode d'extraction. Le fait que plusieurs paramètres d'extraction (durée, technique et partie de la plante utilisées) ne sont pas souvent similaires à ceux employés lors de nos expériences, nous met dans l'incapacité d'effectuer une comparaison rigoureuse et fiable avec les données de la bibliographie.

Les huiles et les goudrons végétaux sont accessibles par différents procédés, à partir des différents organes de l'espèce végétale. Ces composés végétaux représentent un intérêt économique considérable par leurs applications dans différents domaines. La composition chimique de ces composés confère à ces dernières un moyen efficace et incontestable dans le domaine la lutte biologique (biopesticide). Pour l'obtention, des goudrons et des huiles végétales, nous avons eu recours à la méthode de la pyrolyse. L'expérience a montré que les meilleurs rendements étaient obtenus par cette technique. Le choix de cette technique repose sur sa similarité avec celle utilisée chez les producteurs artisanaux locaux de goudrons

III. 3 Résultats des caractéristiques physico-chimiques des goudrons végétaux

Les propriétés physico-chimiques tels que : le pouvoir rotatoire, l'indice de réfraction, le teneur en eau, l'acidité constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité des huiles végétaux. Ces essais sont déterminés selon un protocole précis.

III.3. Caractéristiques physiques

Les goudrons végétaux sont caractérisés par leurs propriétés physiques (teneurs en eau, indice de réfraction et densité relative, ...) ainsi que leurs propriétés chimiques dont le plus courant est l'indice d'acide ou le pH.

III.3.1.1 Teneur en eau

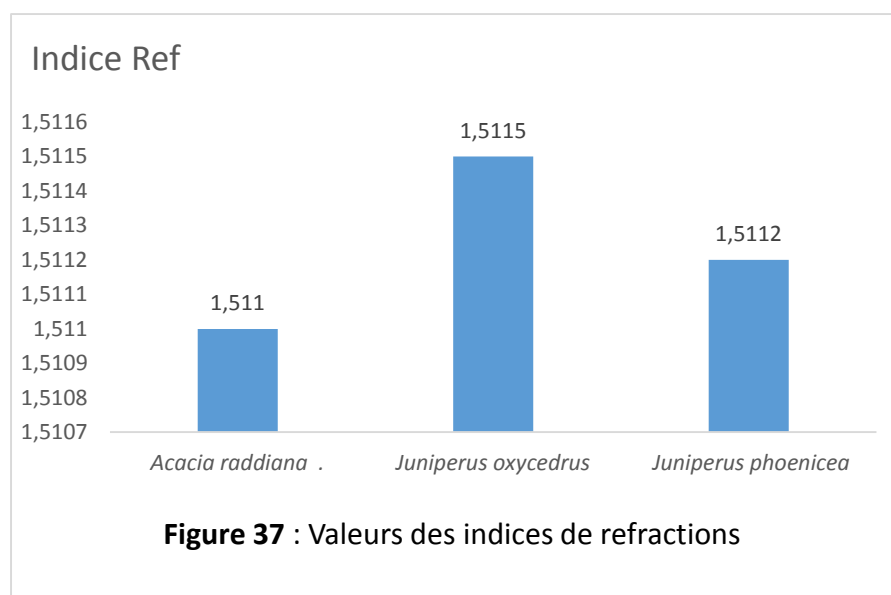
C'est la perte en masse subite par l'échantillon après chauffage. Les échantillons de goudrons végétaux sont séchés jusqu'à une masse constante à une température de 103°C +/- 2°C. La différence de masse avant et après séchage sert de mesure pour la teneur en matière sèche et en eau. Ces teneurs sont exprimées en pourcentage de masse (Abdessemed,2010).

Le résultat de la teneur en eau du bois d'*Acacia raddiana* est de 36 %. La teneur matière en sèche est de 64%. Ces résultats présentent une valeur goudron de l'espèce *Juniperus oxycedrus* (34,78%) goudron de *Juniperus phoenicea* (36.34%).

III.3.1.2 Indice de réfraction

Seules les substances susceptibles de réfracter les rayons lumineux sont concernées par la détermination de cet indice. L'indice de réfraction symbolisé par n ... est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence du rayon lumineux dans l'air et le sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré. Cet indice est déterminé à 20°C et rapporté à la raie D du sodium (589 et 589.6= 589 nm). D'où la notion de l'indice de réfraction provient du phénomène de réfraction qui désigne le changement de direction de la lumière au passage d'un milieu à un autre (Philippe, 2010). Elle permet d'identifier une espèce chimique et de contrôler sa pureté, de déterminer la composition d'un mélange (fraction molaire). (Edith et Gabrielle, 2004).

Pour mesurer l'indice de réfraction, en utilisant le réfractomètre d'ABBE. On a trouvé (Figure 37) un indice de réfraction égal à (1.676), cette valeur est légèrement supérieure à celles obtenues avec différents goudrons végétaux : d'*Acacia raddiana* (1,5110), goudron de *Juniperus oxycedrus* (1.5115) et goudron de *Juniperus phoenicea* (1.5112).



III.3.1.3 Densité relative

C'est le rapport entre la masse d'un certain volume d'huile à 20°C et la masse volumique d'eau distillée à la même température (Maurice, 1965). La densité relative du goudron végétal du bois d'*Acacia raddiana* à 20°C est égale à (1.154). Les travaux de Wilber, (2001) rapportent que le goudron végétal est caractérisé par une densité allant de 0.980 à 1.055 (Boubkeri *et al.*, 2014).

III.3.2 Caractéristiques chimiques

III.3.2.1 L'indice d'acide ou le pH

L'évaluation de la qualité des goudrons est reliée à la détermination de leurs caractéristiques physiques. En effet, le pH est un des paramètres critiques pour évaluer la qualité des produits obtenus, il définit la concentration en ions H⁺ mesurant l'acidité d'une solution selon de la concentration en ion H₃O⁺ (Andre, 2002). Afin de mesurer le pH de notre goudron végétal, nous avons utilisé le papier pH.

Les résultats de la détermination de ce paramètre physique ont montré que le pH de notre échantillon avoisine 5,2, ce qui signifie que ce goudron est légèrement acide.

(On a obtenu un pH est de 5,2 donc légèrement acide). Ces résultats sont légèrement inférieurs avec ceux obtenus par (Makhloufi et Safi, 2013) chez la plante *Juniperus oxycedrus* de région de Béchar pH (5.66).

Discussion

Afin de déterminer le degré de pureté et la qualité de nos composés, nous avons fait appel à la détermination des paramètres physiques et chimiques. Les résultats de calcul de ces propriétés varient d'une espèce à une autre. Cependant, elles correspondent plus ou moins à ceux retrouvées dans la littérature (Makhloufi et Safi, 2013) et (Tarfaya, 2015). Les résultats obtenus des analyses physico-chimiques indiquent que les échantillons analysés se trouvent dans les fourchettes de références établies par les normes AFNOR. Selon Gildo, (2006), ces paramètres physicochimiques sont influencés par les conditions édaphiques et climatiques, et sont également influencés par les conditions de culture des plantes.

La détermination des propriétés physico-chimiques est une étape nécessaire mais non suffisante pour caractériser les huiles végétales. Il est donc nécessaire de la compléter par des analyses chromatographiques.

IV.1 Résultat de l'analyse chromatographique

Diverses techniques analytiques sélectives et sensibles sont utilisées pour le profil métabolique des extraits de plantes. Les techniques chromatographiques sont les plus utilisées.

Dans le but de séparer les constituants des goudrons T1 et T2, l'extraction est réalisée à l'aide de divers solvants organiques. Dans le but de séparer et savoir les compositions du goudron de différentes espèces végétales, On a réalisé des extractions par différents solvants pour effectuer une séparation par chromatographie sur couche mince.

Nous avons effectué une chromatographie sur couche mince avec l'extrait brut issu de l'extraction par l'acétate d'éthyle. La phase organique obtenue est analysée. Le système de solvant de migration utilisé est l'acétate d'éthyle. Après une révélation des plaques CCM par un procédé physique (radiation UV à 265 nm). Les taches sont colorées et rendues visible et facilement observable sur la plaque. Les figures 38 et 39 présentent les résultats de la chromatographie et permettront de calculer le rapport frontal(Rf). Les tableaux 15 et 16 illustrent les résultats des valeurs de rapports frontaux (Rf).

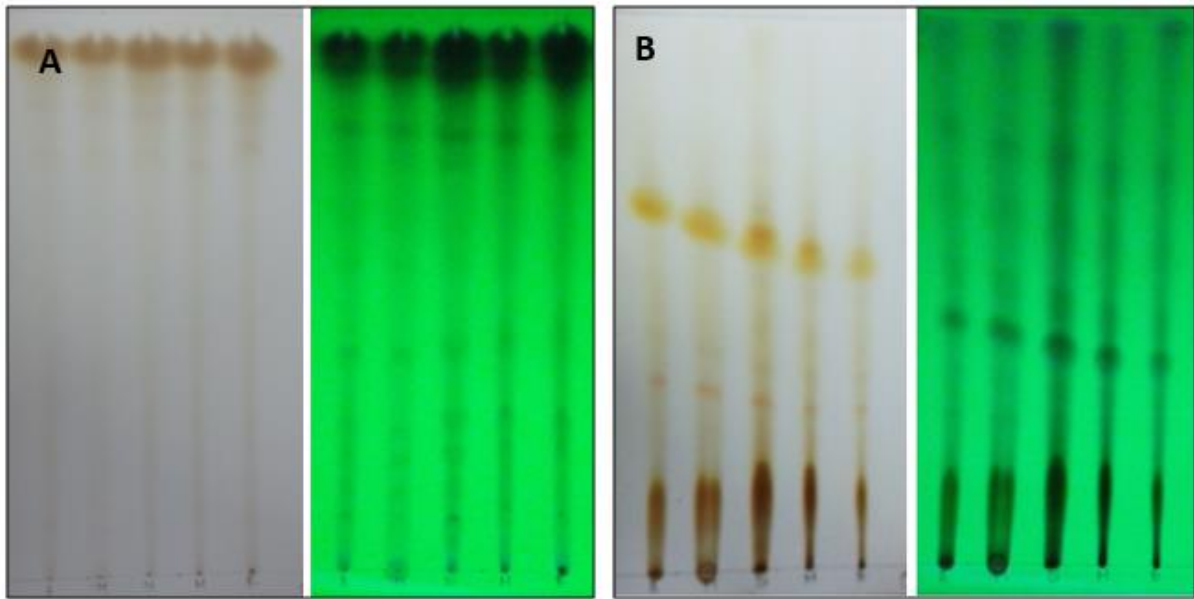


Figure 38 :Chromatographie sur couche mince de l'extrait brut T1 (Visible et sous UV à 265 nm) ; A : la phase polaire, B : phase non polaire

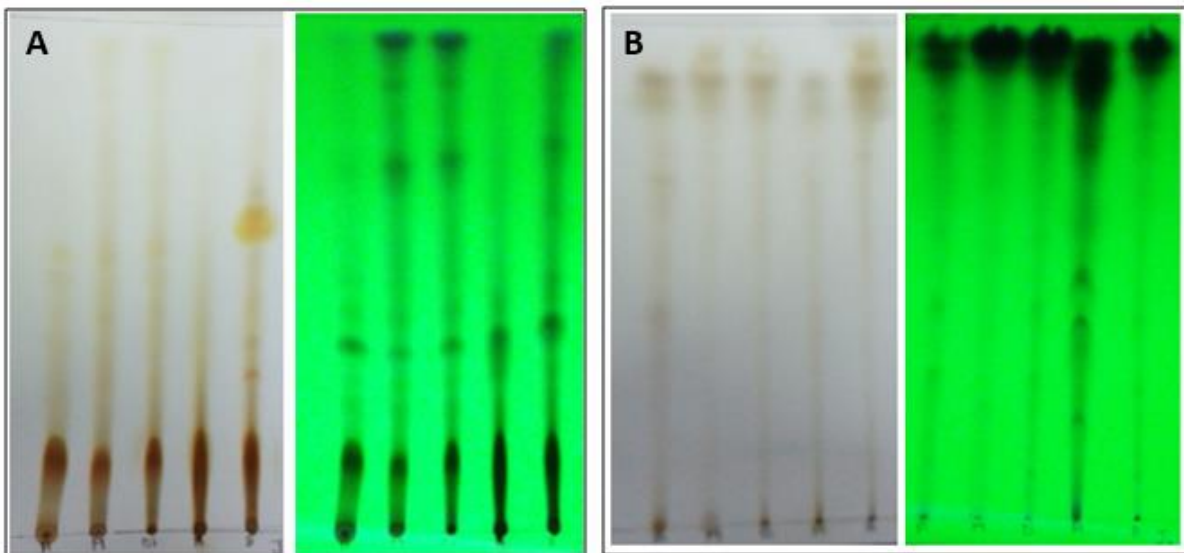


Figure 39:Chromatographie sur couche mince de l'extrait brutT2 (Visible et sous UV a 265 nm) ; A : la phase polaire, B : phase non polaire

Tableau 16 : Résultats de la séparation des principaux composants de la partie goudrons de l'espèce *Acacia raddiana* par la méthode CCM.

	E.methanolique	E.dichloromethanique	E.hexanique	Brute
Polaire	0,086- 0,135 0,189- 0,254 0,378- 0,702 0,724- 0,778 0,897- 0,935	0,097- 0,054-0,151 0,2- 0,254- 0,4- 0,724 0,767- 0,935	0,113- 0,216 0,275- 0,410 0,551- 0,729 0,767-0,891	0,108- 0,216 0,259- 0,432 0,756- 0,886 0,940- 0,156
Intermédiaire	0,621- 0,724 0,851- 0,897	0,551- 0,594- 0,724 0,778-0,837- 0,891	0,594- 0,718 0,783- 0,832 0,897	0,621- 0,718 0,786- 0,840 0,929
Non polaire	0,151- 0,254 0,313- 0,421 0,497- 0,627 0,745	0,156- 0,313- 0,394 0,464- 0,594- 0,729 0,967	0,302- 0,367 0,448- 0,578 0,708- 0,151	0,135- 0,178 0,356- 0,421 0,708- 0,967 0,556

Tableau 17 : Résultats de la séparation des principaux composants de la partie goudrons de l'espèce *Juniperus oxycedrus* par la méthode CCM.

	E.methanolique	E.dichloromethanique	E.hexanique	Brute
Polaire	0,205- 0,956 0,908	0,054- 0,086- 0,270 0,405- 0,551- 0,729 0,891- 0,956	0,189- 0,378 0,459- 0,583 0,729- 0,935 0,875	0,086- 0,135 0,254- 0,2 0,378 – 0,729 0,897- 0,945
Intermédiaire	0,772- 0,843 0,886- 0,940	0,583- 0,724- 0,783 0,837- 0,918	0,556- 0,778 0,827	0,578- 0,729 0,778- 0,832 0,929
Non polaire	0,124- 0,237 0,362- 0,421 0,486- 0,713 0,864- 0,956	0,140- 0,237- 0,362 0,421- 0,486- 0,713 0,864-0,957	0,162- 0,302 0,432- 0,378	0,156- 0,259 0,313- 0,394 0,475- 0,745 0,957

L'analyse de la plaque CCM montre la présence de **192** spots. 103 pour la partie goudron d'*Acacia raddiana*(T1) sachant que :

- ✓ **L'extrait acétonique** : 9 spots dans la phase polaire, 4 spots dans la phase intermédiaire et 7 spots dans la phase non polaire.
- ✓ **Extrait méthanolique** : 10 spots dans la phase polaire, 4 spots dans la phase intermédiaire et 7 spots dans la phase non polaire.
- ✓ **Extrait dichlorométhanique** : 9 spots dans la phase polaire, 6 spots dans la phase intermédiaire et 7 spots dans la phase non polaire.

- ✓ **Extrait hexanique** : 9 spots dans la phase polaire, 5 spots dans la phase intermédiaire et 6 spots dans la phase non polaire.
- ✓ **Extrait brute** : 8 spots dans la phase polaire, 5 spots dans la phase intermédiaire et 7 spots dans la phase non polaire.

Et 89 spots pour la partie goudron du *Juniperus oxycedrus*(T2) :

- ✓ **Extrait acétonique** : 6 spots dans la phase polaire, 7 spots dans la phase intermédiaire et 7 spots dans la phase non polaire.
- ✓ **Extrait méthanolique** : 3 spots dans la phase polaire, 4 spots dans la phase intermédiaire et 8 spots dans la phase non polaire.
- ✓ **Extrait dichlorométhanique** : 8 spots dans la phase polaire, 5 spots dans la phase intermédiaire et 8 spots dans la phase non polaire.
- ✓ **Extrait hexanique** : 7 spots dans la phase polaire, 3 spots dans la phase intermédiaire et 4 spots dans la phase non polaire.
- ✓ **Extrait brute** : 8 spots dans la phase polaire, 5 spots dans la phase intermédiaire et 5 spots dans la phase non polaire.

Au vue de ces résultats (Tableau 16 et 17) et en comparaison à d'autres travaux, nous pouvons citer les travaux de (Safi et Makhloufi, 2013) qui ont montré la présence de 76 spots dont 33 pour le goudron de *Juniperus oxycedrus* et 43 pour le goudron d'*Acacia raddiana*. De même, les travaux de (Ghazli et Talbi, 2013) ont montré la présence de 106 spots.

Par ailleurs, les travaux de (Keum, 2007) ont montré que le goudron végétal contient environ deux cent vingt molécules dont les constituants majeurs sont les mono terpènes, les sesquiterpènes ou les diterpènes.

IV.2 Résultat de l'activité antifongique des extraits de goudrons

L'une des caractéristiques de certains goudrons végétaux et leur capacité à ralentir et/ou d'inhiber l'activité et la croissance des champignons phytopathogènes. Dans cette optique, nous avons réalisé la méthode de contact directe pour évaluer l'activité antifongique.

IV.2.1 Résultat de la méthode de contact directe

Le tableau 18 représente les résultats de l'activité antifongique des différents extraits de goudrons (T1), (T2) et (T3) respectivement d'*Acacia raddiana*, de *Juniperus oxycedrus* et de *Juniperus phoenicea* à des concentrations initiales bien définies sur cinq isolats fongiques de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* choisis au hasard. D'après les résultats, nous constatons que les extraits T3, T2 et T1 ont manifesté un pouvoir inhibiteur vis-à-vis de la croissance mycélienne des *Fusarium oxysporum*. Cette fongitoxicité est totale avec les extraits T1 et T2.

Tableau 18 : Résultats de la méthode de contact directe.

<i>Concentrations (mg/ml)</i> <i>Souches (cm)</i>	<i>Témoin</i>	<i>T3</i> 8.29	<i>T2</i> 6.81	<i>T1</i> 6.33
F4b2	6.1	5.6	0	0
2Fb	6.1	4.4	0	0
FO3	7	5.2	0	0
FGb3	6.9	5	0	0
FO36	6	5.4	0	0

Cette méthode a permis de sélectionner les extraits végétaux présentant des activités antifongiques intéressantes vis-à-vis des isolats testés. Les résultats de cette méthode ont montré que parmi les trois extraits végétaux testés, deux extraits (T1 et T2) se sont révélés très actifs vis-à-vis des cinq *Fusarium* testés, dont la croissance mycélienne est totalement inhibée. Cette activité est très homogène. D'ailleurs, cette activité est assez répandue chez certains goudrons végétaux (Tané, 2006). En revanche, en présence de l'extrait T3, la croissance mycélienne est légèrement inhibée, le diamètre varie entre 44 et 56 mm. De même, Il a été signalé que certains genres de champignons phytopathogènes possèdent la capacité de synthétiser des enzymes qui inactivent certains extraits de végétaux en modifiant sa structure chimique. A l'inverse, d'autres travaux ont montré que des extraits végétaux pouvant réduire efficacement la croissance mycélienne des champignons phytopathogènes

Les Figures ci-dessous (40, 41 et 42) illustrent les résultats de cette méthode.

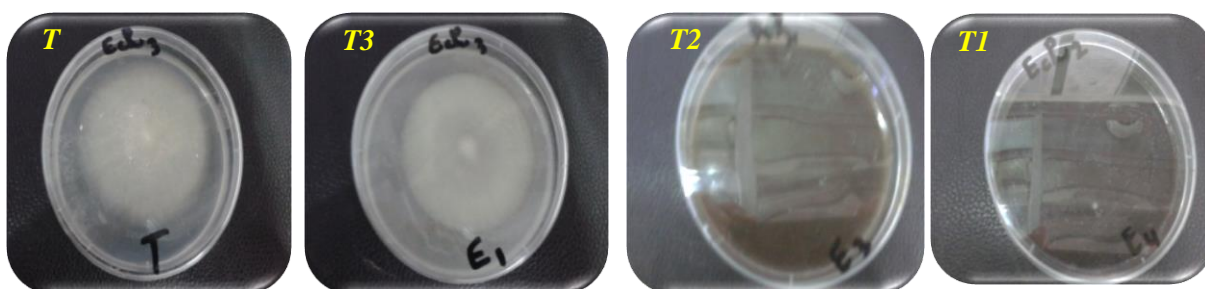


Figure 40: Résultat de l'activité antifongique des extraits sur l'isolat *FO 3*.

T : témoin ; T3 : extrait 3 ; T2 : Extrait 2 ; T1 : extrait 1

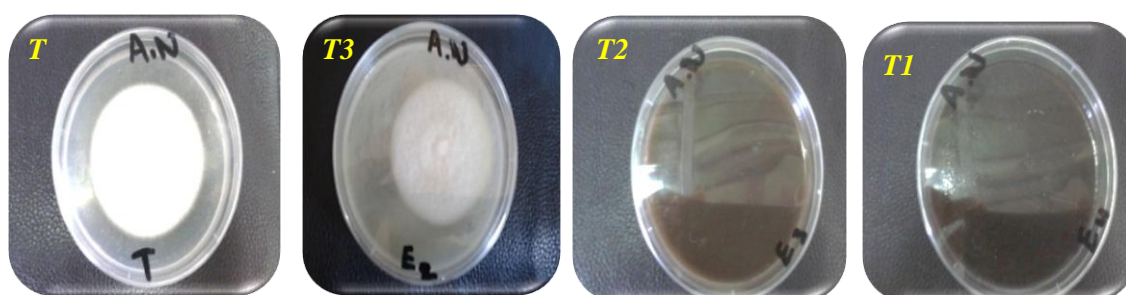


Figure 41: Résultat de l'activité antifongique des extraits sur 2Fb.

T : témoin ; T3 : extrait 3 ; T2 : Extrait 2 ; T1 : extrait 1

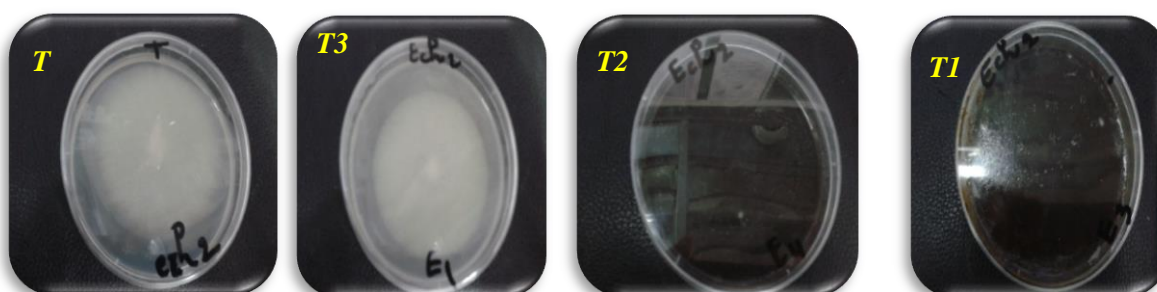


Figure 42: Résultat de l'activité antifongique des extraits sur *FO36*

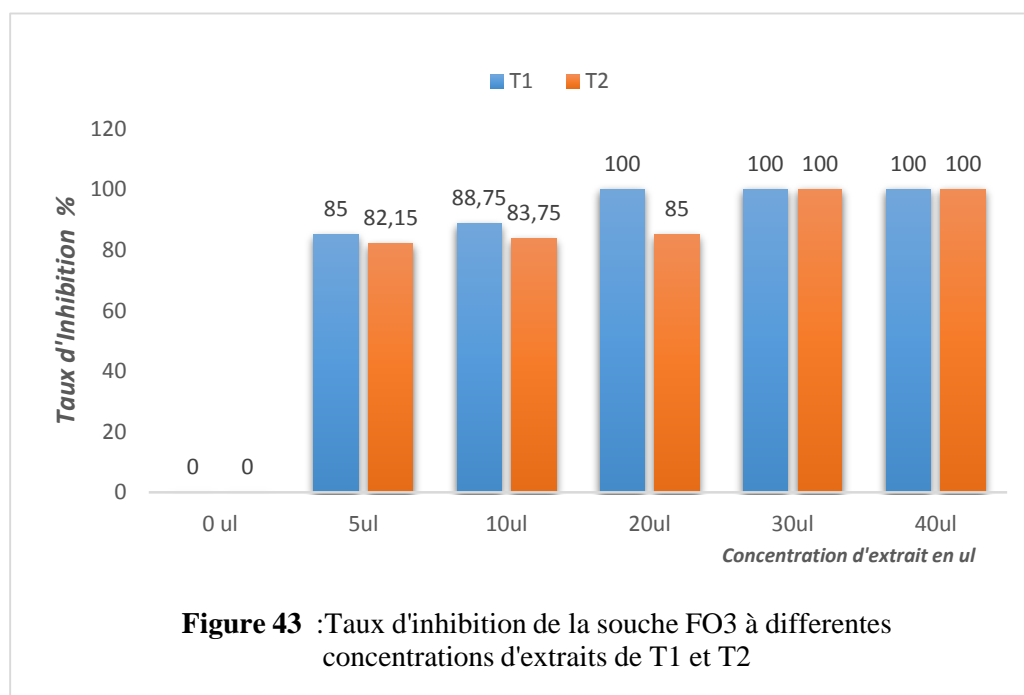
T : témoin ; T3 : extrait 3 ; T2 : Extrait 2 ; T1 : extrait 1

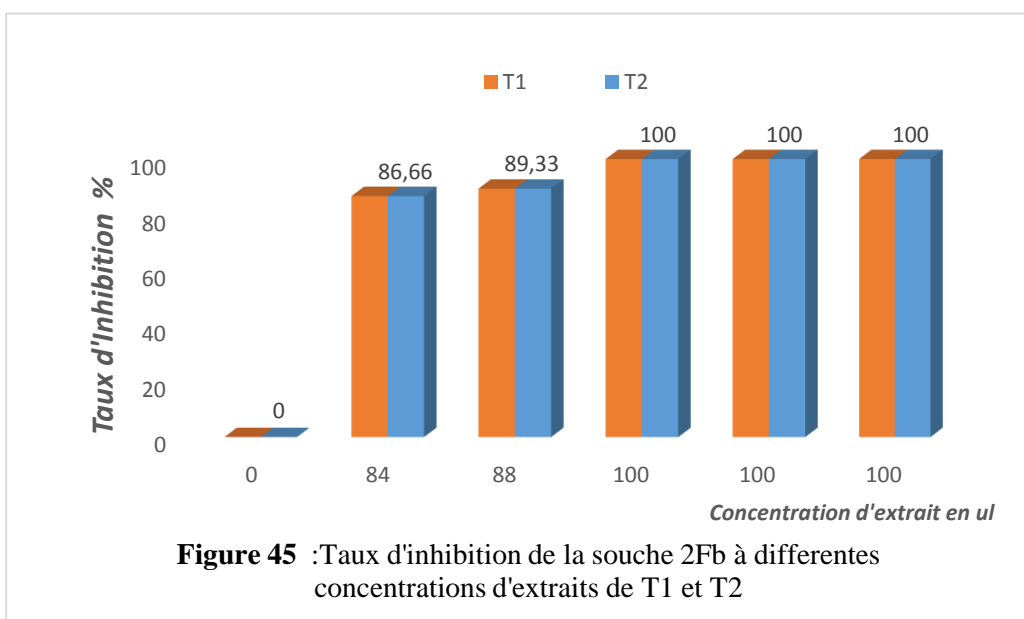
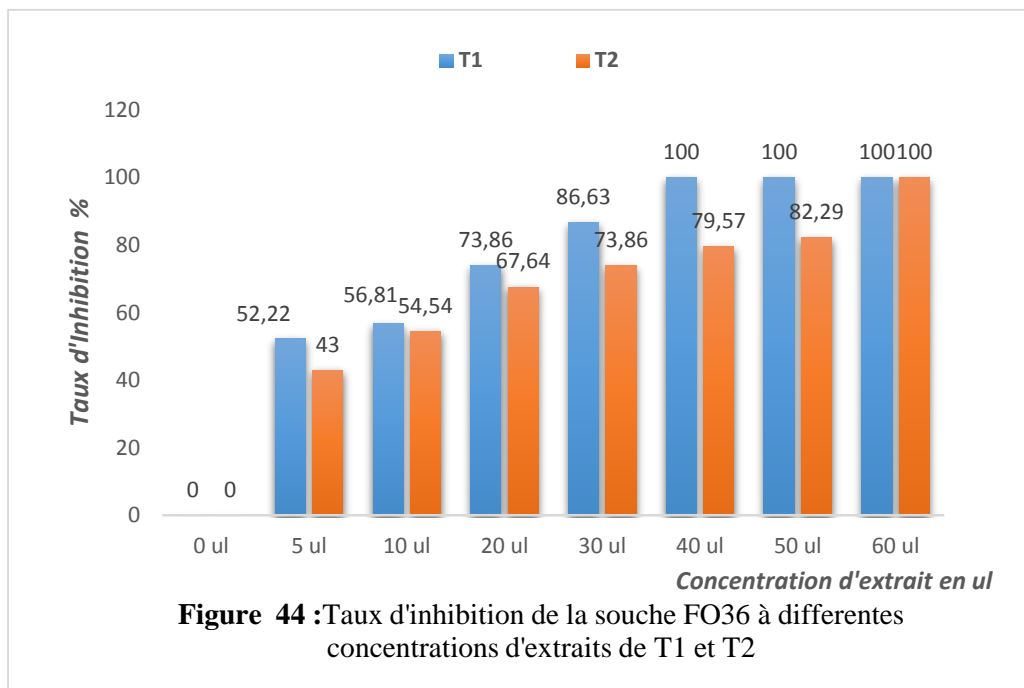
Les deux extraits végétaux (T1 et T2) présentant une importante activité antifongique ont été retenus pour la suite de notre travail. Afin de comparer et de confirmer l'activité antifongique de ces deux extraits, nous avons effectué différentes concentrations. Ces dernières varient de 5 à 40 μ l. Ce test consiste à calculer le taux d'inhibition de la croissance mycélienne.

IV.2.1 Le taux d'inhibition (indice antifongique)

Les résultats illustrés par les figures 43, 44 et 45 montrent que les extraits sélectionnés précédemment ont montré une importante activité antifongique quelle que soit la concentration testée. Nous avons tout d'abord constaté que l'isolat de *Fusarium* FO 36 s'est révélé moyennement sensible aux extraits de T1 et T2 avec les concentrations de 5 et 10 μ l, alors que ce taux d'inhibition a atteint 100% en présence des concentrations de 40, 50 et 60 μ l avec l'extrait T1. En revanche, les tests sur les isolats de *Fusarium*, FO 3 et 2 Fb ont montré une forte activité en présence des extraits T1 et T2 avec différentes concentrations. Le taux d'inhibition de ces deux isolats de *Fusarium* varie entre 82 et 100 %. Ces résultats confirment également ceux obtenus avec la méthode de contact directe. Nous pouvons conclure que les extraits végétaux T1 et T2 présentaient une activité antifongique très intéressante vis-à-vis des isolats de *Fusarium*. Cette activité est plus ou moins variable selon les concentrations testées.

Les figures ci-dessous représentent les résultats de taux d'inhibition, d'après ces résultats on remarque que lorsqu'on augmente la concentration du goudron le taux d'inhibition de la souche fongique augmente. Alors que le taux d'inhibition de la souche FO3 (Figure 43) et de





100% a concentration 20µl pour T2, et de 100% à concentration 30µl pour T2, ainsi que 2Fb (Figure 45) a un taux d'inhibition total a la concentration 20µl pour T1 et T2, et on voit que le taux d'inhibition total de la souche FO36 (Figure 44) est à la concentration 40µl pour le goudron T2 et de 60µl pour le goudron T1.

Discussion

Nous avons essayé par les deux techniques précédemment citées de mettre en évidence l'activité antifongique des extraits végétaux vis-à-vis des isolats de *Fusarium* pathogènes. Il ressort de cette étude que la technique de contact directe donne uniquement une idée générale de l'activité antifongique des extraits. En revanche, les activités antifongiques des extraits sont mieux exprimées sur différentes concentrations d'extraits testées. Cette dernière a permis une meilleure visualisation et une bonne appréciation de l'activité antifongique, compte tenu du fait que, c'est une méthode où la concentration utilisée est précise. On peut évaluer l'efficacité de l'extrait sur la souche utilisée si le taux d'inhibition est supérieur ou égal à 50% (Kpemissi Amana, 2007).

On pourrait donc supposer que la méthode de contact directe est une technique préliminaire pour l'étude de l'activité antifongique des extraits végétaux surtout lorsqu'il s'agit d'une importante collection de souches à tester. Cette technique devrait être complétée par d'autres techniques. A la lumière de ces résultats, nous pouvons dire que ce travail avait pour but de sélectionner la ou les extraits de végétaux ayant une activité antifongique importante afin de les expérimenter pour une production d'un bio-pesticide.

IV.2.3 Détermination de la concentration minimal d'inhibition « CMI »

Ce test a pour objectif de déterminer les valeurs des paramètres antimicrobiens dont la concentration minimale inhibitrice (CMI). Cette concentration est définie comme étant la plus faible concentration de l'extrait capable d'inhiber toute croissance visible du germe. Les résultats obtenus sont illustrés dans les tableaux 18 et 19. Ces résultats nous renseignent sur la concentration minimale inhibitrice (CMI) des deux extraits végétaux testés. Dans l'ensemble, les résultats sont très intéressants et confirment notre observation précédente. Au vu des résultats obtenus, nous remarquons que les deux extraits testés ont un effet inhibiteur envers la croissance mycélienne de toutes les souches fongiques de *FOA* testées et ceci à des concentrations allant de 0,021 à 0,408 mg/ml par rapport au témoin. En présence de l'extrait T2, on note une sensibilité accrue des souches 2Fb, FO3 et FGb3 à une CMI avoisinant 0,084 mg/ml. En revanche pour ces mêmes souches fongiques et en présence de l'extrait T1, la CMI varie de 0,090 à 0,136 mg/ml. Cependant, la souche F4 b2 s'est révélée la moins sensible aux différentes concentrations testées et cela quel que soit l'extrait, avec des CMI plus ou moins

élevées, dont la CMI est de l'ordre de 0,498 mg/ml en présence de l'extrait T1, et elle est d'environ 0,379 en présence de l'extrait T2. Par ailleurs, en présence de la souche FO36, nous avons constaté une inhibition plus ou moins marquée avec une CMI correspondant à 0,168 et 0,272 mg/ml en présence des extraits T2 et T1 respectivement. En comparaison entre les deux extraits végétaux. Nous pouvons conclure que l'étude de l'activité antifongique a montré que les différentes concentrations testées des deux extraits végétaux avaient une activité relativement importante vis-à-vis de toutes les souches fongiques testées. Cependant, l'extrait T2 manifeste un pouvoir inhibiteur plus intéressant que celui de T1. Cette fongitoxicité est probablement due à la qualité des molécules de l'extrait testé.

Les tableaux 19 et 20 renseignent sur la CMI observée de la souche fongique en présence des deux extraits T2 et T3 qui donne une activité antifongique.

Tableau 19 : Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'extrait (T1)

Concentration (mg/ml) / Souche	T1										
	Témoin	0.022	0.045	0.090	0.136	0.181	0.227	0.272	0.317	0.320	0.408
F4b2	5.6	3.2	2.5	2.3	1.95	1.85	1	0.5	0.45	0.4	CMI
2Fb	3.25	1.1	0.4	CMI	0	0	0	0	0	0	0
FO3	4	0.7	0.65	0.6	CMI	0	0	0	0	0	0
FGb3	3.75	0.6	0.45	CMI	0	0	0	0	0	0	0
FO36	4.4	2.5	2	1.45	1.15	0.9	0.75	CMI	0	0	0

T1 réagit positivement sur toutes les souches fongiques FOA testées avec CMI 0.090mg/ml pour 2Fb et FGb3 et de 0.136mg/ml pour FO3 et de 0.272 mg/ml pour FO36 et pour F4b2 0.409 mg/ml.

Tableau 20 : Valeurs des concentrations minimales inhibitrices de l'extrait (T2)

Concentration (mg/ml) / Souche	T2										
	Témoin	0.021	0.042	0.084	0.126	0.168	0.211	0.253	0.295	0.337	0.379
F4b2	5.6	2.5	2.3	2.2	1.35	1	0.84	0.6	0.45	CMI	0
2Fb	3.25	0.2	0.1	CMI	0	0	0	0	0	0	0
FO3	4	0.6	0.45	CMI	0	0	0	0	0	0	0
FGb3	3.75	0.5	0.4	CMI	0	0	0	0	0	0	0
FO36	4.4	2.1	1.9	1.15	6	CMI	0	0	0	0	0

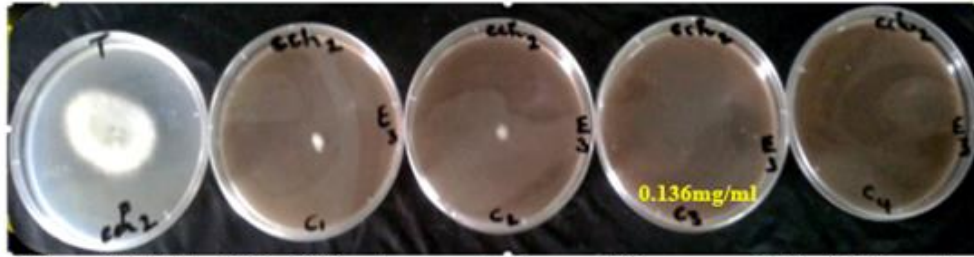


Figure 46 : Effet de T1 a différentes concentrations sur FO3 avec une CMI = 0.136mg/ml

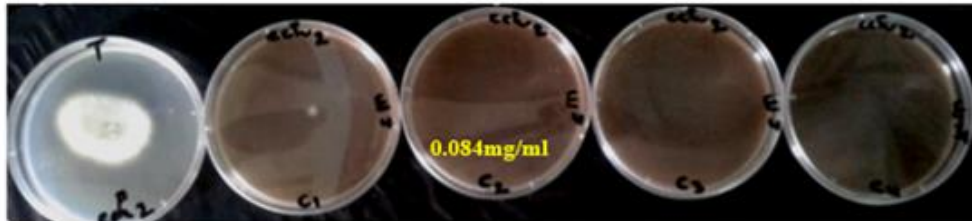


Figure 47 : Effet de T2 a différentes concentrations sur FO3 avec une CMI = 0.084mg/ml

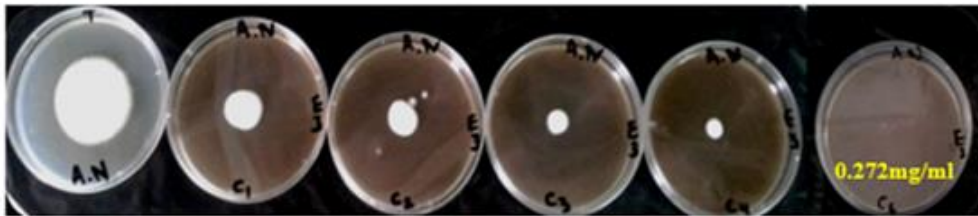


Figure 48 : Effet de T1 a différentes concentrations sur 2Fb avec une CMI = 0.272mg/ml

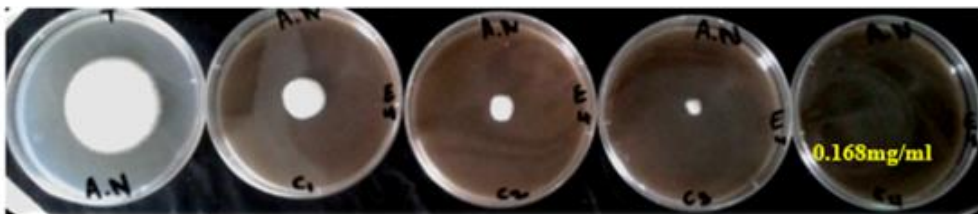


Figure 49 : Effet de T2 a différentes concentrations sur 2Fb avec une CMI = 0.168mg/ml

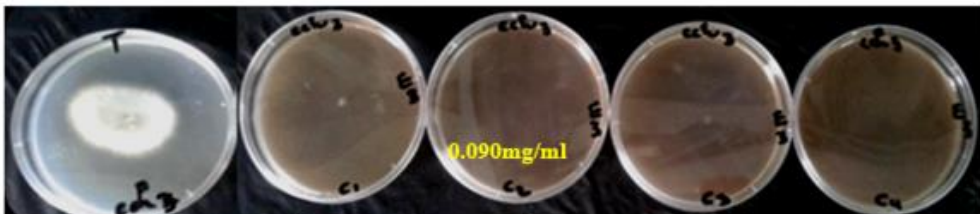


Figure 50 : Effet de T1 a différentes concentrations sur FO36 avec une CMI = 0.090mg/ml



Figure 51 : Effet de T2 a différentes concentrations sur FO36 avec une CMI = 0.084mg/ml

T2 réagit positivement sur tous les souches fongiques avec CMI 0.084mg/ml pour FO3 (Figures 46 et 47), 2Fb et FGb3 et de 0.168 mg/ml pour FO36 et 0.337mg/ml pour F4b2, L'extrait T1réagit positivement sur toutes les souches fongiques testées avec CMI 0.090mg/ml pour 2Fb(Figures 48 et 49)et de 0.136mg/ml pour FO3 et de 0.272 mg/ml pour FO36 (Figures 50 et 51). Suite aux résultats obtenues T1présent un grand pouvoir antifongique contre le FOA.

V.1.Détection des composés antifongiques par bio autographie

La bioautographie appartient à un grand groupe de méthodes de dépistage pour la détection de l'activité biologique. Les méthodes de diffusion et de dilution sont également utilisées. Il existe trois grandes techniques de bio autographie :

- La bioautographie de contact : où les plaques de CCM sont mises en contact, pendant un certain temps, avec le milieu de culture. Les composés antimicrobiens sont transférés de la plaque CCM au milieu de culture, à ces endroits de transfert sont observées des zones d'inhibition.
- La bioautographie d'immersion : où une géloseensemencée est appliquée sur la plaque CCM. Cette technique peut être considérée comme un hybride de bioautographie directe et de contact (Rahalison, 1991).
- La bioautographie directe : dans ce cas les micro-organismes poussent directement sur les plaques de chromatographie sur couche mince. C'est cette technique que nous avons utilisée pour détecter les composés antimicrobiens du goudron végétale.

Nous avons effectué une chromatographie sur couche mince avec l'extrait brut des végétaux testés issu de l'extraction par l'acétate d'éthyle. La phase organique obtenue est analysée. Le système de solvant de migration utilisé est (Hexane/Acétate d'Ethyle 1 : 1 ; v/v) (Figure 52). Il s'agit d'une technique qui permet la détection de composés antimicrobiens au sein d'un extrait de plante (Rahalison, 1991).

Les résultats obtenus par l'analyse chromatographique ont permis d'observer des zones blanches au niveau la plaque CCM à des rapports frontaux précis respectivement pour les extraits cités en deuxième partie de la thèse. La méthode préconisée nous a permis de réaliser une bonne séparation de l'extrait et de collecter les fractions, permettant d'isoler les tâches responsables de l'activité biologique. Les résultats obtenus sont illustrés par le

chromatogramme représenté par la figure 52. Nous pouvons ainsi déduire que ces tâches constituent les molécules responsables de l'inhibition de la croissance des *FOA*.

Il est à signaler que cette méthode a été largement utilisée par plusieurs chercheurs, (Shai *et al.*, 2008 ; Mahlo *et al.* , 2010 ; Patra *et al.*, 2012). De même, les travaux de Soro, (2012) par bio autographie ont démontré l'existence de molécules qui inhibait la croissance de la souche de *Fusarium oxysporum*.

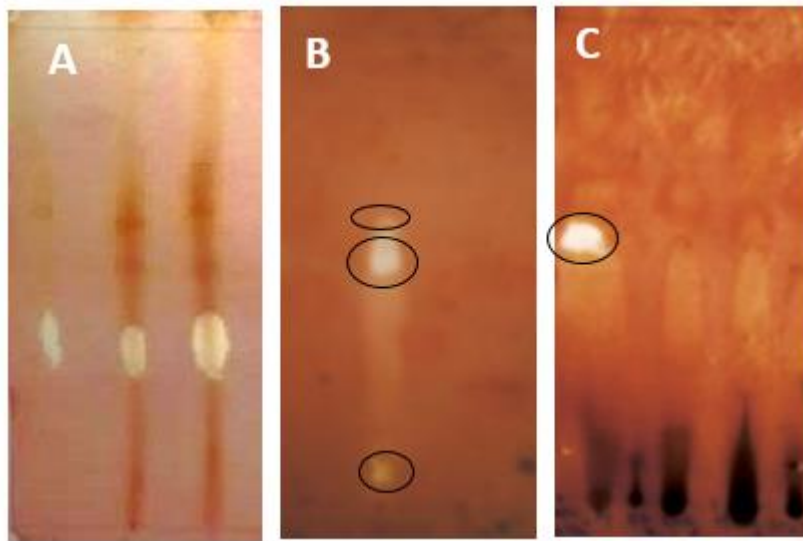


Figure 52 :Résultats de laBioautographie de **A** : l'extrait (Hexane/Acétate d'Ethyle 1:1) **B** : de l'extrait d'acétate d'Ethyle **C** : Apres séparation et purification du composé actif

La bio autographie est une technique de laboratoire visant à mettre en évidence les substances qui affectent les taux de croissance des microorganismes dans des mélanges complexes dont il est difficile de les séparer pour leurs faibles quantités et leurs. La méthode est basée sur l'activité biologique de ce composé qui peut être antibactérienne, antifongique, anti-tumorale ou anti protozoaire.

Parmi les principaux domaines d'application de la technique de bio autographie, nous pouvons citer :

- La recherche de nouvelles substances antibiotiques et de nouveaux composés actifs en étudiant les activités biologiques des substances provenant de plantes, des micro-organismes ou de la chimie combinatoire.

- L'étude des antibiotiques et d'autres composés biologiquement actifs dans les eaux usées, l'eau potable, des liquides organiques et des aliments.
- Le contrôle de qualité des médicaments antibiotiques.
- La détection et la détermination de la toxicité (par exemple, les aflatoxines) ou de la phototoxicité (par exemple des furocoumarines) des composés (Boulanouar, 2011)

V.2.1 Séparation et purification des composés actifs

Parmi les extraits végétaux testés, l'extrait T1 nous a particulièrement intéressés pour sa forte activité antifongique. A cet effet, l'extrait (Hexane/Acétate d'Ethyle 1 :1) a été choisi pour le fractionnement de l'extrait végétal.

A la lumière des résultats biologiques obtenus (Figure 52). L'extrait (Hexane/Acétate d'Ethyle 1 :1) a été choisi pour être fractionné. Une première étape de séparation est réalisée sur la totalité de l'extrait Hexane/Acétate d'Ethyle. Pour ce faire, nous avons utilisé deux colonnes en verre de 17 cm de longueur et de 4.5 cm de diamètre, remplies avec de Silica gel. L'élution a été réalisée par de l'eau, ensuite par une succession de mélanges de solvants eau-méthanol avec un pourcentage croissant de méthanol (H₂O 100% à MeOH 100%). Des fractions de 250 ml ont été recueillies, puis évaporées à sec afin d'être analysées par CCM et regroupées ensuite pour être refractionnés si nécessaire. Ce fractionnement a abouti à l'obtention de plusieurs fractions comme le montre la figure 53.

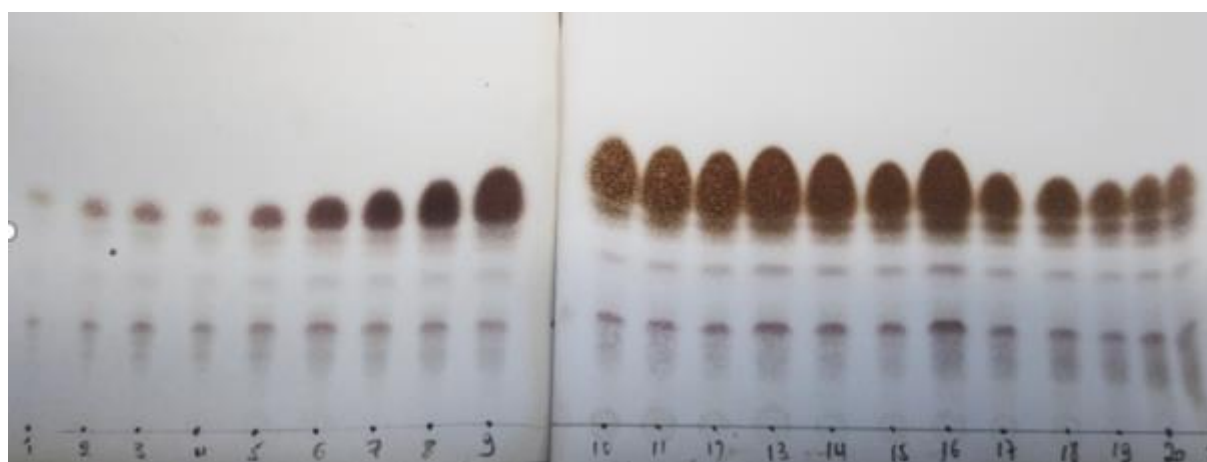


Figure 53 : Analyse par CCM des sous-fractions de l'extrait (Hex /AcOEt)

Suite aux résultats de la technique CCM, plusieurs groupements de tubes sont réalisés, le mélange (15-16) présente un trouble, une séparation par cristallisation est réalisée pour l'échantillon GI (15-16) puis un essai de caractérisation par RMN est réalisé.

Afin de poursuivre la séparation et l'isolement des composés actifs, les autres fractions (7-8), (17-19), (21-24) ont été également séparées puis purifiées. Nous avons utilisé une colonne en verre de 80 cm de longueur et 5 cm de diamètre, remplies avec de Sephadex® LH-20. La phase mobile utilisée correspondait à (Hex/DCM/MeOH, 2 :1 :1) pour chaque étape, des CCM ont été réalisées. Pour l'ensemble de ces fractions, plusieurs composés communs ont été présents.

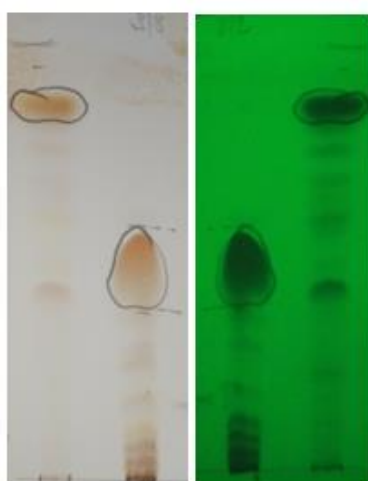


Figure 54 : Analyse CCM des sous-fractions molécules actifs de l'extrait. (AcOEt)
A droite observer sous UV a 265nm.

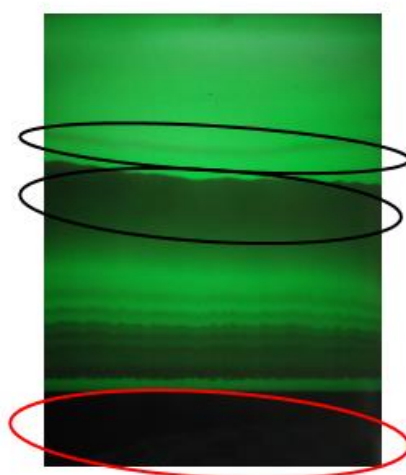


Figure 55 : Résultat de l'analyse CCM des sous-fractions, molécules actifs révélées par CCM préparative observée sous UV 265 nm

Pour l'extrait d'acétate d'éthyle, la séparation est réalisée directement sur colonne en verre de 80 cm de longueur et 5 cm de diamètre, remplie avec de Sephadex® LH-20 et suite aux résultats de bioautographie (Figure 52 C) et le facteur de rétention (Rf) correspondant, plusieurs tubes sont regroupés et concentrés (6-29). Pour certaines des sous-fractions, nous avons réalisé une étape de purification par chromatographie sur couche mince préparative (Figure 55).

Il est à signaler que la séparation et la purification de ces molécules ont été répétées plusieurs fois, cela est dû à la présence de mixture avec d'autres molécules notamment les deux autres molécules bioactives.

V.2.2 Caractérisation et détermination de structure des composés actifs

Afin d'établir une identification rigoureuse et dans le but de confirmer les résultats de la chromatographie, nous avons fait appel aux moyens d'analyse spectroscopique à savoir : RMN et CG/SM. Ces 3 composés bioactives seront sujets d'analyses RMN et CG/SM pour leurs caractérisation et détermination de leurs structures chimiques voir aussi le test de leurs pouvoir anti-FOA directement *in vitro* et *in vivo*.

V.2.3 Détermination de la structure des composés

Les trois sous fractions isolées et purifiées sont le composé 1 de couleur blanchâtre orangée, alors que le composé 2 et le composé 3 sont de couleur marron verdâtre.

Ces trois sous fractions ont été dissoutes en DCM pour leur passage au CG/MS. L'analyse nous a révélé les chromatogrammes illustrés par les Figure 56, 57 et 58.

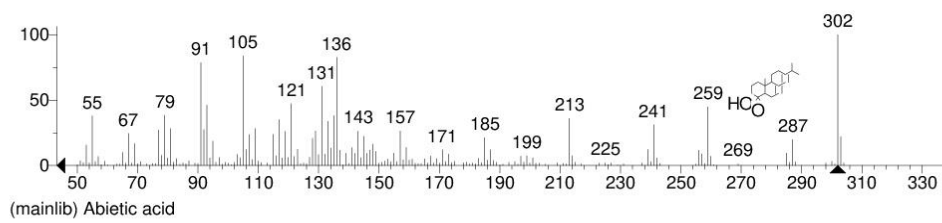
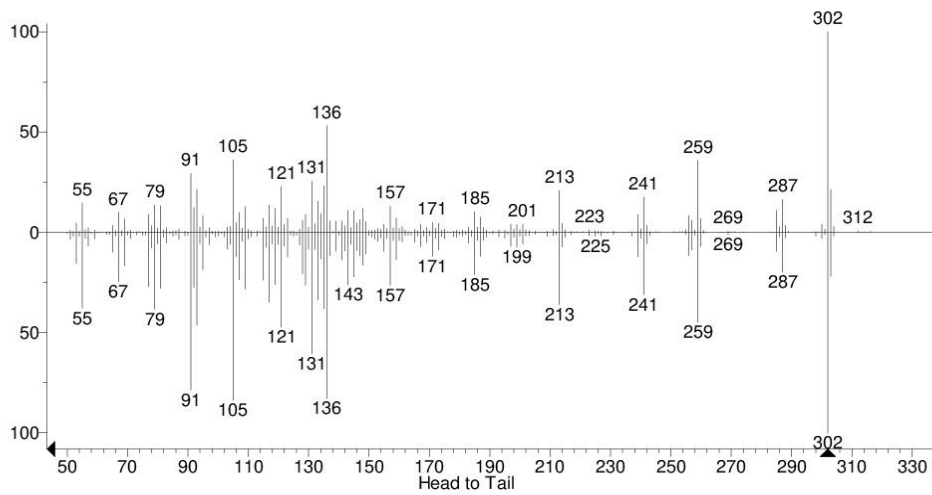
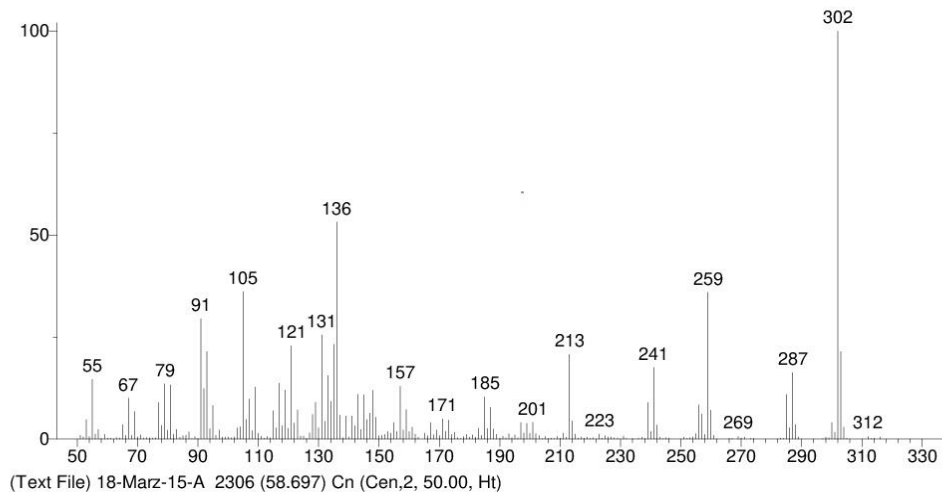


Figure 56 : Résultat de l'analyse par CG/SM (Aligent 6890N/VG AutoSpec) du 1^{er} composé antiFOA.

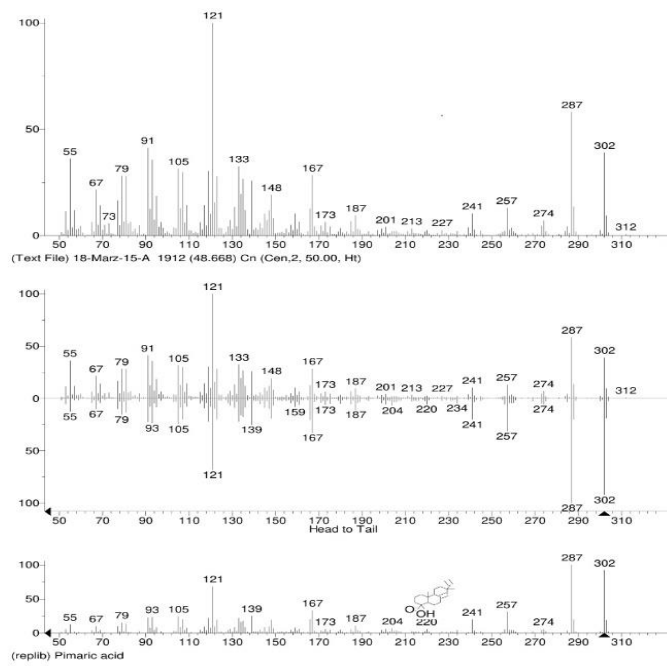


Figure 57 : Résultat de l'analyse par CG/SM (Aligent 6890N/VG AutoSpec) du deuxième composé antiFOA.

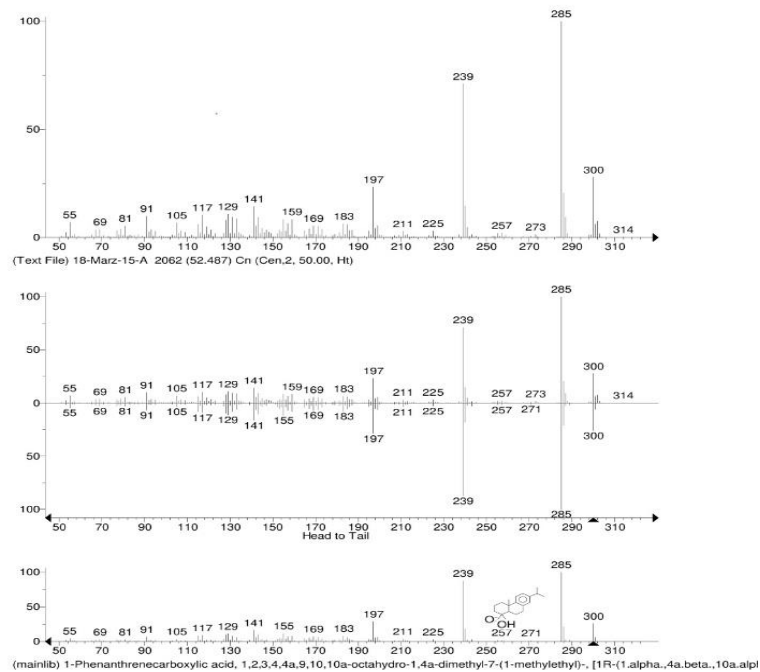


Figure 58 : Résultat de l'analyse par CG/SM (Aligent 6890N/VG AutoSpec) du troisième composé anti-FOA.

En tenant compte des résultats de l'analyse par CG / SM, le composé 1 a été identifié comme étant de l'acide Abiétique, dont la structure est représentée par la figure 59.

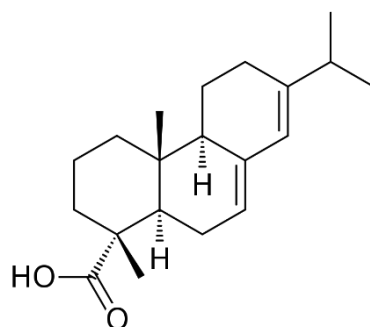
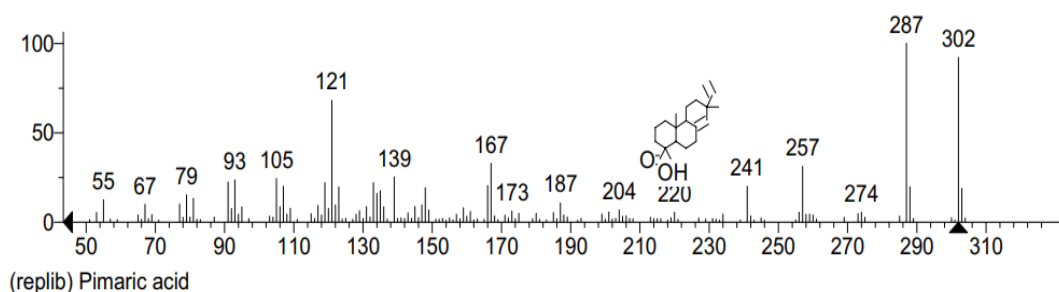


Figure 59 : Structure du composé 1 « l'acide Abiétique »

L'acide abiétique, appelé aussi acide abiétinique ou sylvitique) est un di terpène qui se trouve dans la résine d'une multitude de conifères (ex. le sapin, pins, épinettes, ...). Il fait partie de la famille des acides résiniques et est à la base de la famille des abiétanes. Ces conifères connus pour leurs productions de colophane (gemme) et de résine dont l'acide abiétique. Même si l'autobiographie a montré une bonne activité anti-FOA de ce composé, selon la règle de cinq de Lipinski, l'acide abiétique se classe parmi les composés ayant très peu de propriétés bioactives. En 2001, Fernandez a signalé que l'acide abiétique présente une activité anti inflammatoire. Il est important de mentionner qu'une synergie entre ces composés (acides résineux) isolés, soit également possible (Mercier, 2013). Il est à signaler aussi que ces résines de plantes (Colophane) se transforment au cours du vieillissement des végétaux. En effet, Dizapo et Pepe, (1990) ont signalé que l'acide abiétique peut se transformer en acides déhydroabiétique et déhydro-déhydro-abiétique.

Figure 60 :
Spectre de masse



CG/SM (Aligent 6890N/VG AutoSpec) du composé 2.

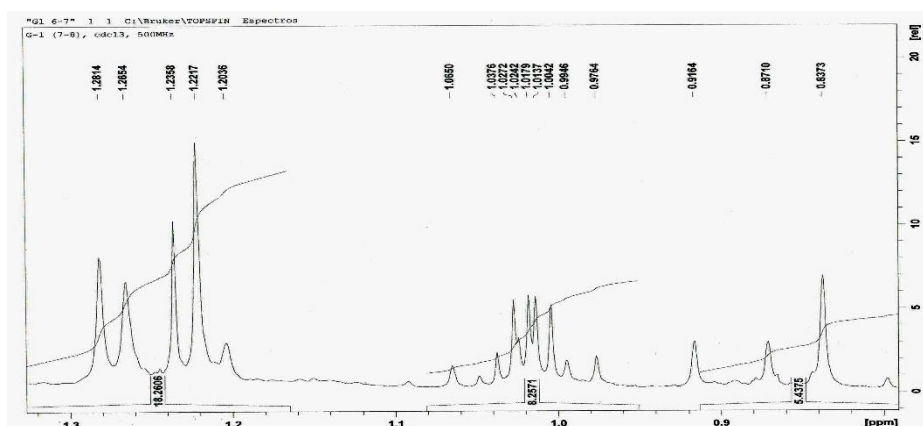


Figure 61 : Spectre RMN du ^1H dans le cdcl_3 du composé 2.

Le composé 2 a été identifié comme étant de l'acide Pimarique, dont la structure est représentée par la figure 62.

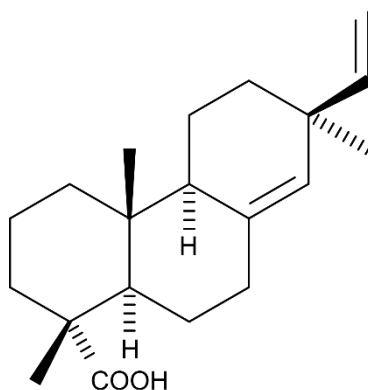


Figure 62 : Structure du composé 2 « l'acide Pimarique ».

L'acide Pimarique est un acide résiniques diterpène tricyclique. Ce composé est le résultat d'une déshydratation de l'acide abiétique, avec lequel on le trouve généralement mélangé, comme dans la colophane. Il est soluble dans l'éthanol, l'acétone et l'éther éthylique.

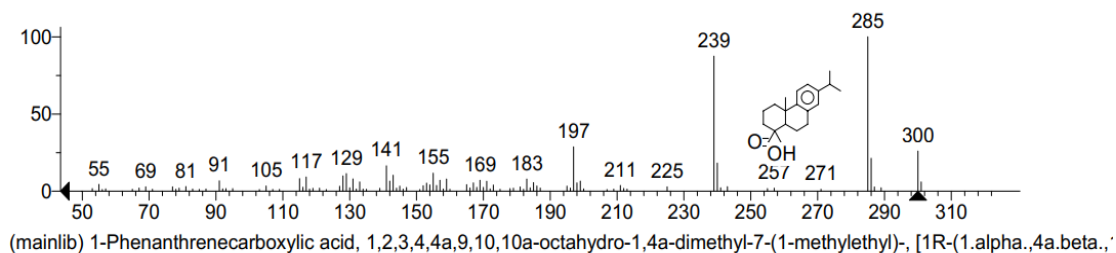
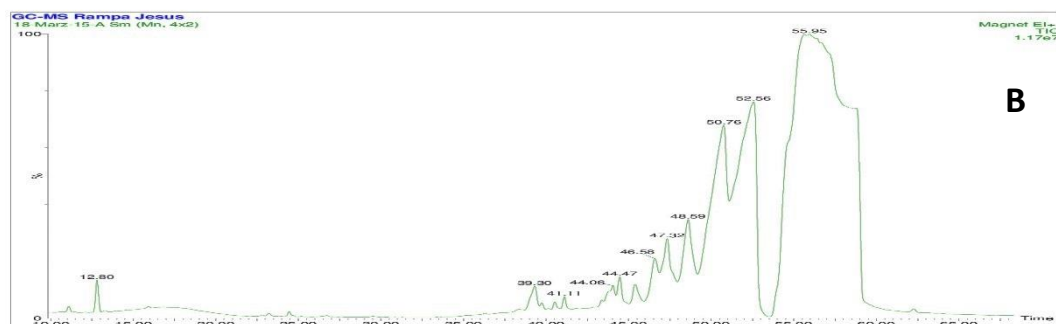
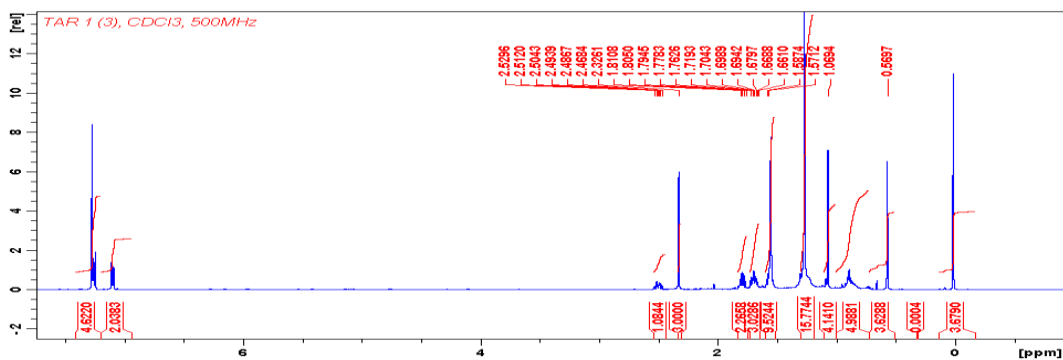


Figure 63 : A – Spectre RMN du ^1H dans le cdcl_3 du composé 3.

B - Spectre de masse (CG/SM et SM-ESI) du composé 3.

Nous avons réalisé plusieurs spectres RMN. Ces spectres présentent de mixture (Figure 63). Cela nous a amené à réaliser plusieurs répétitions du protocole de purification. Malgré cela, nous nous sommes retrouvés dans une situation délicate et difficile à expliquer. Par ailleurs, selon (Mathe *et al.*, 1990), les acides résineux ne sont que les résultats d'une transformation d'acides abiétanes, comme cela est indiquée par la figure 64.

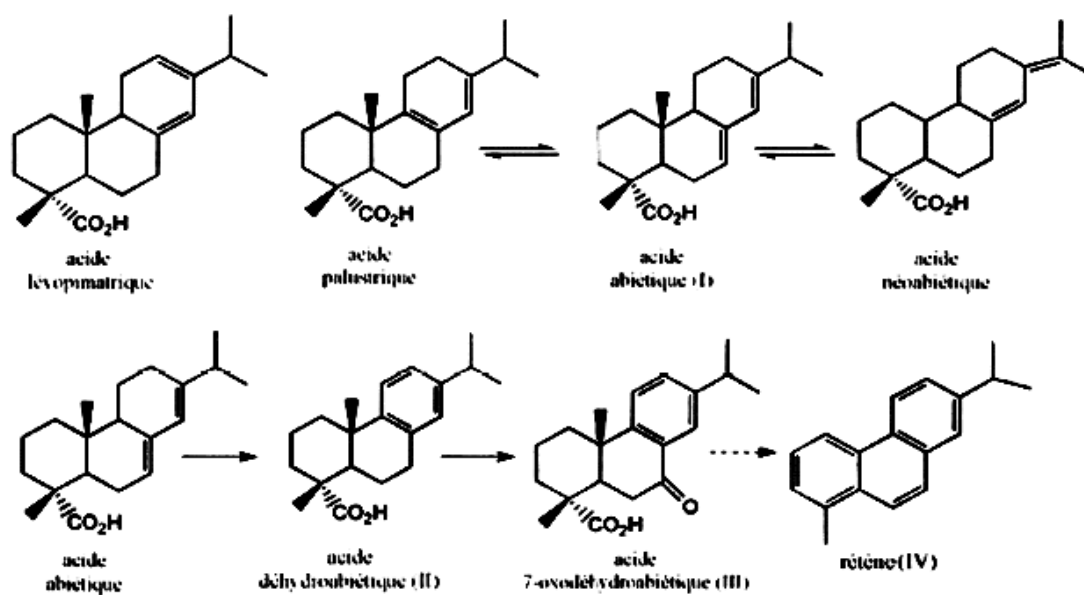


Figure 64 : Schéma de l'oxydation et de la dégradation des acides abiétanes (Mathe, 2003)

L'identification de ce composé dans un mélange ne pose pas de problème particulier lorsque l'on possède des quantités relativement importantes d'échantillons. Ces quantités très faibles soumises à l'examen physico-chimique font que dans ces conditions, la détection de l'acide abiétique n'a jamais été véritablement réalisée d'autant plus que l'infime quantité de sous fractions issues de l'étape d'isolement et purification, ces sous fractions sont généralement constituée d'un grand nombre de composés différents. Enfin, le composé 3 a été identifié comme étant de l'acide Dehydroabiétique, dont la structure est représentée par la figure 64.

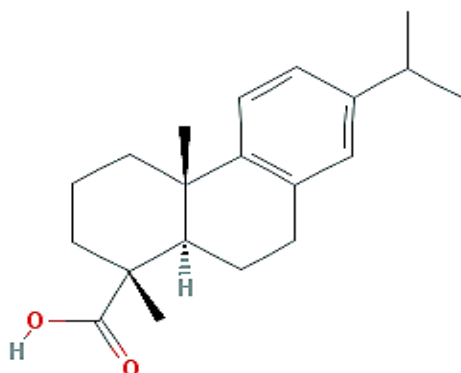


Figure 65 : Structure du composé 3 « l'acide Dehydroabiétique (DHA) ».

Les diterpénoïdes d'abiétane sont des constituants majeurs des résines de conifères qui ont des applications industrielles et médicales importantes. Cependant, leur fonction dans les plantes et leurs mécanismes antifongique est mal connu. Les biotransformations sont des méthodes utiles pour la production de produits chimiques médicinaux et agricoles à la fois actifs et non actifs, ou de produits naturels inactifs. L'Acide Dehydroabiétique semble être un des exemples de produit naturel antifongique. Il est bien connu que les di terpènes ont un large spectre d'activité antimicrobienne (bactéries et champignons)(Chaturvedi *et al.*, 2012 ; Tapia *et al.*, 1996).L'hydroxylation microbienne de l'acide abiétique et de l'acide dehydroabiétique par *Fusarium oxysporum* et *F. moniliforme* conduit à la détermination de la structure du nouveau métabolite antimicrobien(Figure 63) (Chaturvedi *et al.*,2012).La Dehydroabietinal est un puissant activateur de la résistance systémique chez certains agents phytopathologies, alors que l'acide abiétique s'est montré un inducteur efficace de la résistance systémique contre les agents phytopathogènes du tabac et de la tomate (Chaturvedi *et al.*, 2012). Un nouveau composé, qui est de l'acide 1 β -hydroxydéhydroabiétique, a été obtenu par transformation microbienne de l'acide Dehydroabiétique, en utilisant des cultures de *Fusarium oxysporum* et de *F. moniliforme* montrant une importante activité antimicrobienne (Tapia *et al.*, 1997).

Selon la littérature, les acides résiniques oxydés (7-céto, 7-hydroxy acide Dehydroabiétique, 13-hydroxypodocarpa-8, 11,13-trien-18-oic acide) sont classés parmi les composés ayant une action fongistatique. Le Dehydroabiétique est une molécule présentant un grand intérêt pour développer une stratégie de lutte contre la fusariose du palmier dattier en raison de sa transformation à d'autres molécules souvent douées de pouvoir antimicrobien. De même, l'acide abiétique et le Dehydroabiétique peuvent aussi conduire à développer le SAR (système de résistances aux maladies acquises) chez certaines plantes vis-à-vis des agents phythopathogènes (ADAM, 2009).

VI. Détermination de la CMI par Méthodes M38-A2 de micro dilution du bouillon

Pour la détermination de la CMI, nous avons utilisé la méthode de la microdilution « Dilution en milieu liquide » décrite selon les normes de Standardisation Américaine de la Clinical and Laboratory Standars Institute CLSI.Cette méthode nous a permis de confirmer l'efficacité de nos molécules purifiées et identifiées.

Donc, cette méthode a permis d'élucider le pouvoir anti-*FOA* de chaque molécule après purification (Figure 66). Les valeurs peuvent confirmer et être confrontées aux valeurs de CMI à base des extraits seulement.

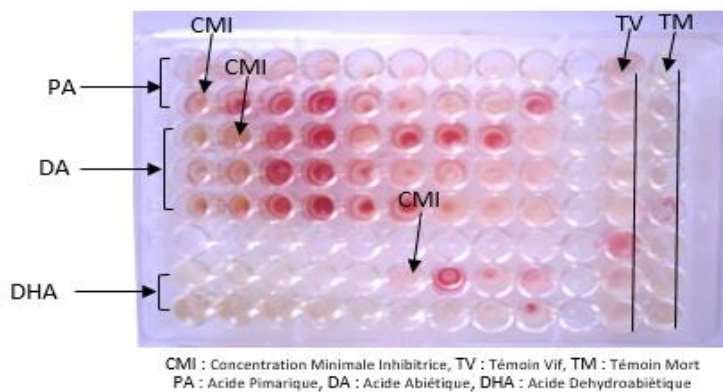


Figure 66 : Microplaque avec la suspension de spores de *FOA* - composé après incubation et détection de la croissance par l'essai colorimétrique (INT).

Tableau 21: Résultat de la concentration minimal d'inhibition pour les 3 molécules Bioactives par Méthodes M38-A2 de micro-dilution

	CMI en µg/ml		
	PA	DA	DHA
F4b2	84,25	67,4	40,8
2Fb	21	16,8	9
FO3	21	16,8	13,6
FGb3	21	16,8	9
FO36	42	33,6	27,2

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice, PA : Acide Pimarique,
DA : Acide Abiétique, DHA : Acide Dehydroabiétique

Les résultats de la méthode de micro-dilution sont illustrés dans le tableau 20. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec l'acide Dehydroabiétique et les souches 2Fb et FGb3 avec une CMI de 9ug/ml (Tableau 21) alors que notre acide présente une valeur de 27.2 ug/ml pour la souche FOA36, une CMI élevée par rapport au lot du DHA de 40.8 ug/ml est présentée pour la souche F4b2.

Il est à signaler que l'acide Pimarique a présenté la plus faible des activités pour toutes les souches par rapport aux DA et DHA. L'évaluation antifongique *in vitro* a révélé que les composés isolés et purifiés présentaient divers degrés d'activité vis-à-vis des cinq isolats de *Fusarium* testés.

Discussion

Depuis quelques décennies, l'utilisation des moyens chromatographiques et spectroscopiques pour l'identification des composés a investi avec force les domaines de la recherche, de l'industrie chimique et agroalimentaires, des laboratoires médicaux et des sciences de l'environnement (pollution) (Rouessac et Rouessac, 1997). Ces méthodes qui sont venues en complément aux méthodes chimiques classiques, ont produit un bouleversement dans le domaine de l'analyse chimique. En effet, l'identification des composés chimiques est devenue très accessible et très fiable par la facilité d'emploi et l'efficacité de ces techniques. Cette fiabilité devient d'autant plus imposante lorsqu'il s'agit de déceler le nombre important de composés contenus dans les huiles. Pour notre part et dans le cadre de ce chapitre, nous avons fait appel à des techniques chromatographiques et spectroscopiques pour identifier

Nous avons tenté d'établir la composition chimique des composés en mettant en œuvre les chromatographiques, chimiques et spectroscopiques. La synergie de ces trois méthodes a permis d'identifier et caractériser nos 3 molécules bioactives dont la littérature a révélé leurs efficacités antimicrobiennes toute fois, alors que c'est la première fois qu'on utilise ces molécules pour qualifier leurs pouvoirs anti-FOA.

L'acide Dehydroabiétique isolés du résidu non volatil d'huile essentielle d'orange présentait une activité antifongique contre les espèces phytopathogènes et les contaminants alimentaires ont montré une activité fongicide importante contre *Geotrichum candidum*, qui n'est pas inhibée par le fongicide commercial à large spectre Benomyl (méthyl-1-[butylcarbamoyle]-2-benzimidazolecarbamate) (Vargas *et al.*, 1999). Le DHA a exercé une activité antifongique importante contre deux souches avec une CMI de 9ug/ml une valeur très

intéressante qui est très proche de la CMI de 7,8 ug/ml, des médicaments de référence amikacine et kétoconazole. Nos résultats concordent parfaitement avec les travaux de Wen gu en 2014 avec des dérivés de Dehydroabiétique.

VII. Résultats de la lutte biologique *in vivo*

Les résultats de l'activité antifongique *in vivo* sont exprimés par le comptage du nombre de colonies de *FOA* sur milieu CDA après incubation pendant à 28°C, Chaque 7 jours durant 60 jours des sols traités par des composés actifs (Acide Pimarique, Acide Abiétique et Acide Dehydroabiétique).

Les résultats ont permis de constater que tous les traitements ont enregistré une augmentation très marquée des populations de *FOA* durant la première semaine. En revanche, entre la deuxième et la troisième semaine d'incubation, une diminution de la population de *FOA* est enregistrée pour tous les traitements testés et en présence de différentes concentrations de la molécule bioactive. Il est signalé que même pour le traitement recevant la plus faible dose en (PA), le nombre de la population fusarienne dans le sol reste significativement inférieur à celle du sol témoin. Cela suppose que les traitements en composés actifs ont un effet suppressif sur les populations de *FOA* à partir du quatorzième jour. Par ailleurs, on a observé que les populations des témoins se maintiennent constantes jusqu'au dernier jour de l'expérimentation.

Nous pouvons conclure que les traitements ont un effet plus ou moins différent sur l'évolution des populations des deux isolats de *FOA* en fonction de la dose introduite du composé actif. Après quatre semaines d'incubation, nous avons constaté que la régression rapide de la population fongique s'est ralentie pour passer à une phase presque stationnaire en présence des trois composés avec les concentrations de 0.10% et 0.40%. Tandis que, en présence des concentrations 1.0% et 1.4%, la régression continue à une allure très lente. De même, pour ces composés testés, en présence de la concentration de 0.10%, la population de *FOA* a tendance d'augmenter voir se maintenir avec un taux très proche à celui du témoin.

Il est à signaler qu'en présence de l'acide Pimarique (PA), une légère progression de la population *FOA* s'est manifestée au cours de l'expérience et cela jusqu'au 59^{ème} jour de l'expérimentation. Par contre, la dose 0.4% de PA a permis le maintien de la population

constante durant les 3 dernières semaines de l'expérimentation, avec une très légère augmentation de la population *FOA* au cours de la dernière semaine.

Les résultats des traitements avec les concentrations 1% et 1.4% ont permis de montrer que ces dernières ont tendance à réduire considérablement la population fongique. En effet, nous avons remarqué que le traitement en présence du composé DHA à 1.4%, la population du *FOA* est totalement détruite à partir de la sixième semaine (Figure 67 et 69), alors que le composé DA a permis le maintien de la population fongique à son plus faible taux. Enfin, le composé PA (Figure 68) a également permis le maintien de la population à un niveau plus ou moins faible mais plus important que les traitements avec les deux composés, l'acide DHA et le DA.

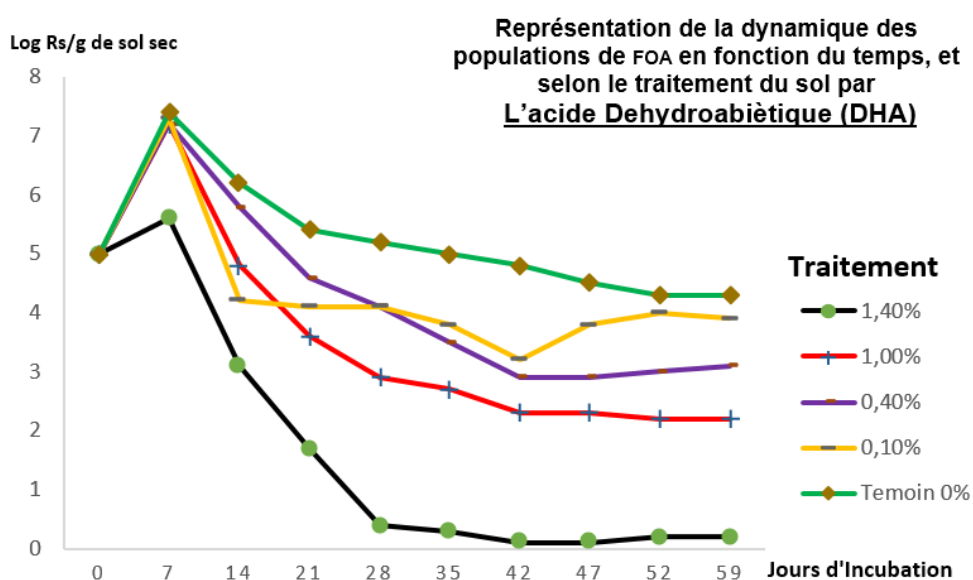


Figure 67 : Suivi de la dynamique des populations de *FOA* pendant 59 jours, en sols traités avec différentes concentrations de DHA.

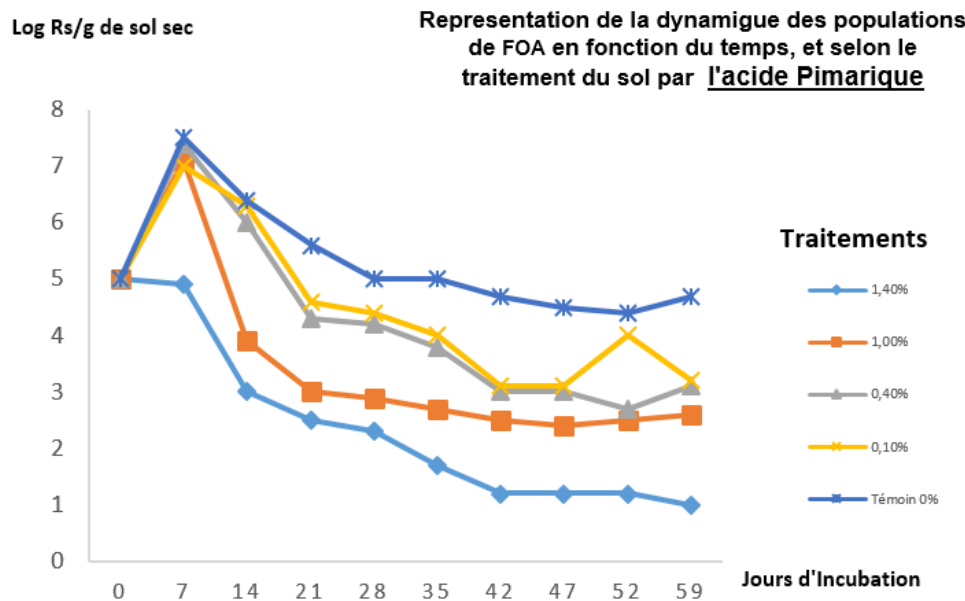


Figure 68 : Suivi de la dynamique des populations de FOA pendant 59 jours, en sols traités avec différentes concentrations de PA.

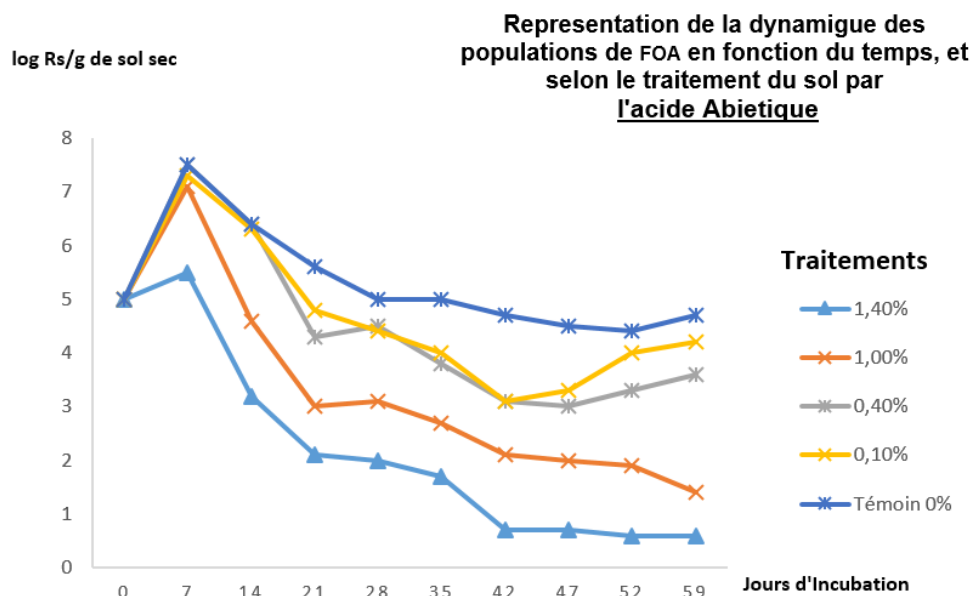


Figure 69 : Suivi de la dynamique des populations de FOA pendant 59 jours, en sols traités avec différentes concentrations de DA.

Discussion

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est une culture économiquement importante. Elle est cultivée dans plusieurs régions du monde (Hamad, 2015). Sous une menace pesante du Bayoud, causée par un champignon d'origine tellurique *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* c'est la maladie la plus destructive des dattiers en Afrique du nord. Il n'existe toujours aucun traitement fiable à ce fléau. C'est dans ce contexte que nous avons entrepris ce travail, afin d'apporter une contribution et essayer de proposer une méthode de lutte. La méthode étudiée consiste à introduire une dose d'inoculum précise de *FOA* dans un sol oasien naturel désinfecté puis soumis à des traitements par différentes molécules ayant montrées une importante activité *in vitro*. Le suivie de l'évolution de cette population de pathogène par des dénombrements de colonies pour une période de 2 mois a permis de calculer le taux de survie est de développer une appréciation sur l'aptitude et l'efficacité des molécules performantes dans le but de les utilisées ultérieurement comme biocides.

Selon la littérature, une population de *Fusarium* introduite dans un sol désinfecté se multiplie pour atteindre une densité maximale variable selon le sol considéré (Coutaudier, 1989). Il est vraisemblable que le niveau de l'inoculum de départ peut influencer l'installation et la réceptivité du sol à la maladie ; toutefois chaque sol désinfecté et inoculé avec une dose plus élevée d'inoculum correspond à une capacité limitée de réceptivité qui peut se référer aux conditions abiotiques de ce sol (Amir, 1991).

A la lumière de ces résultats, nous pouvons conclure que les trois composés testés révèlent une activité anti *FOA* non négligeable. Les traitements de sol avec les molécules actives séparément ont un effet suppressif sur les populations de *FOA* à partir du quatorzième jour. Les populations des sols témoins se maintiennent constantes jusqu'au dernier jour de l'expérimentation avec un taux semblable au début du suivi de cette dynamique.

Pour la concentration 0.10% aux différents composés actifs la population de *FOA* a tendance de se maintenir avec un taux avoisinant celui du témoin. La dose 0.4% maintiens la population constante durant 3 dernières semaines avec une très légère augmentation de la population *FOA* en fin d'expérimentation. Les traitements 1% et 1.4% réduisent considérablement la population fongique *FOA*.

Plusieurs auteurs ont signalé que l'inoculum fongique une fois introduit dans un sol de palmeraies diminue fortement alors que dans certaines situations, l'inoculum pathogène tant à disparaître voir même impossible à le détecter par la technique de dénombrement (Amir, 1988 ; Amir, 1989). Ce phénomène est assez général pour plusieurs sols oasiens alors que l'interprétation de cet événement peut être lié aux caractères pédologiques des sols de ces palmeraies.

D'ailleurs, l'utilisation des fongicides contre les *Fusarium* pathogènes a révélé une gamme importante mais à des doses qui restent assez élevées de l'ordre 250 ppm pour plusieurs marques commerciales de fongicides : Baiclean® (Oligosaccharin), Uniform® (Azoxystrobin and Metalaxyl-M) et Cidely® Top (Difenoconazole and Cyflufenamid) (AbuQamar, 2019), alors que la dose efficace obtenue par le traitement à base d'DHA reste largement inférieure à la valeur suscitée. Ce résultat permettra de mieux valoriser ce composé. De même, il est à signaler qu'une lutte biologique à base d'un biopesticide d'origine végétal repose essentiellement sur des actions intégrées.

Donc, il faut tout d'abord s'assurer de l'efficacité du biopesticide dans les différents niveaux de la forme du pathogène ainsi que son action sur les types de spores (micro et macrospores) ainsi que l'état végétative de l'espèce. Pour une lutte intégrée, il serait souhaitable de confirmer tout d'abord l'action de ce composé sur le pouvoir de germination et sur la croissance mycélienne et d'autre part, confirmer son action *in situ*. A ce stade, ces molécules considérées comme performantes peuvent faire l'objet d'une étude plus approfondie dans l'espoir d'obtenir un principe actif efficace ayant un intérêt important pour la culture et le maintien de cette arbre prodigue pour le sahara algérien. Cette partie est endosser d'un essai de suivi statistique pour une meilleure valorisation des résultats.

VIII. L'analyse statistique :

Les résultats statistiques montrent les effets de concentration en molécules bioactives ainsi que les effets séparés de ces composés. Les résultats planche I (Annexes 4.1) sont bien séparés il ne sera pas nécessaire d'utiliser une MANOVA et de se résumer à une simple ANOVA. Les 5 intervalles de confiances pour l'hypothèse 0 même si les valeurs de

concentration des molécules bioactives ne sont pas paramétrées, la différence entre 2 concentrations n'est la même augmentation de concentration des composés n'est pas identique. Donc chaque concentration n'appartient pas mix autres concentrations. Pour la planche 2 (Image géométrique des concentrations) les paramètres de l'étude (Concentrations, composés...) sont nettement séparés au niveau de la boîte à moustaches qui donne 0.5 une augmentation interaction de 50 %.

La ligne droite indique que l'ensemble des composés ont un comportement typique pour les régressions des spores de FOA qui convoité légèrement une distribution normale, l'existence d'une linéarité en D (Annexe 4) indique la plus faible est plus fort en expression des résultats, en plus le présent modèle de linéarité est conforme au modèle de Welsh de 1980.

En forme algébrique E montre une régression significative donc une inhibition claire en nombre de spores de FOA et synchronisées avec l'augmentation de concentration des 3 molécules bioactives dans le sol durant le traitement.

Tableau 22 : Caractérisation de l'effet du facteur concentration de substances testées sans tenir en compte de leurs natures biochimiques

Combinaisons	Estimate	Std.Error	t.value	Pr (> t)	Niveau de signification
Intercepte axe. y c0	4.5667	0.2494	18.307	5.09E-09	***
Concentrationc0.1%	-0.8	0.3528	-2.268	0.04675	*
Concentrationc0.4%	-1.3	0.3528	-3.685	0.00421	**
Concentrationc1%	-2.5	0.3528	-7.087	3.35E-05	***
Concentrationc1.4%	-3.9667	0.3528	-11.244	5.37E-07	***

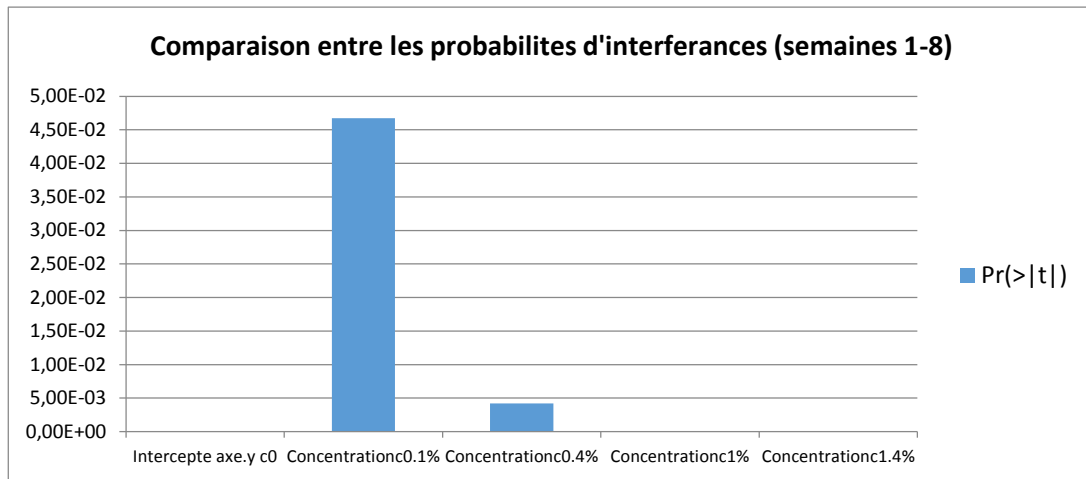


Figure 70 : Probabilité d'interférence de l'ordre de 0.05 entre les résultats relatifs aux calculs de la persistance des spores du FOA dans le sol en présence des 3 composés testés

En Figure 70 avec une certaine probabilité d'interférence de l'environ 0.05 entre les résultats relatifs aux calculs de la persistance des spores du FOA dans le sol en présence des 3 composés testés avec des concentrations graduées de 0 à 4 (non paramétrique), les résultats en aval sont statistiquement bien séparés les uns des autres et ne nécessitent pas une ANOVA approfondie.

La formule sur le logiciel R nécessite l'établissement d'une structuration des données pour une ANOVA à un seul facteur soit par la confrontation des variations du facteur concerné avec leurs résultats où l'hypothèse nulle repose sur le principe de l'homogénéité et l'indifférence entre les éléments engendrant l'univers du test statistique (Tableau 23), soit par la dérivation mono factorielle à partir d'un modèle linéaire multifactoriel ou un similaire comme les modèles de la régression logistique.

Tableau 23: Comparaisons multiples des moyennes de Tukey Niveau de confiance 95%

Combinaison	Diff	Lwr	Upr	P Adj
c0.1%-c0%	-0.8	-1.960985	0.36098467	0.2317725
c0.4%-c0%	-1.3	-2.460985	-0.13901533	0.0271276
c1%-c0%	-2.5	-3.660985	-1.33901533	0.000251
c1.4%-c0%	-3.966667	-5.127651	-2.805682	0.0000042
c0.4%-c0.1%	-0.5	-1.660985	0.66098467	0.631297
c1%-c0.1%	-1.7	-2.860985	-0.53901533	0.0049244
c1.4%-c0.1%	-3.166667	-4.327651	-2.005682	0.0000325
c1%-c0.4%	-1.2	-2.360985	-0.03901533	0.0421095
c1.4%-c0.4%	-2.666667	-3.827651	-1.505682	0.0001456
c1.4%-c1%	-1.466667	-2.627651	-0.305682	0.0131446

L'acide Pimarique montre graphiquement l'allure d'une courbe logarithmique typique, ce qui peut être expliqué une tendance à la stabilité de la part de ce composé (Acide Pimarique). Les deux autres molécules semblent d'être similaire du point de vue effet avec une légère efficacité en activité anti fusarique remarquée avec le composé l'acide Dehydroabiétique avec taux de régression en nombre UFC fongiques de l'ordre de 2,97. Pour la même période l'acide Dehydroabiétique peut éliminer statistiquement les spores d'*FOA* dans le sol a une concentration plus de traitement préalable de 1.55%, malgré l'apparence de la courbe de l'acide Abiétique (Figure 71) peut éliminer statistiquement les spores à un traitement plus élevé de 0.12%.

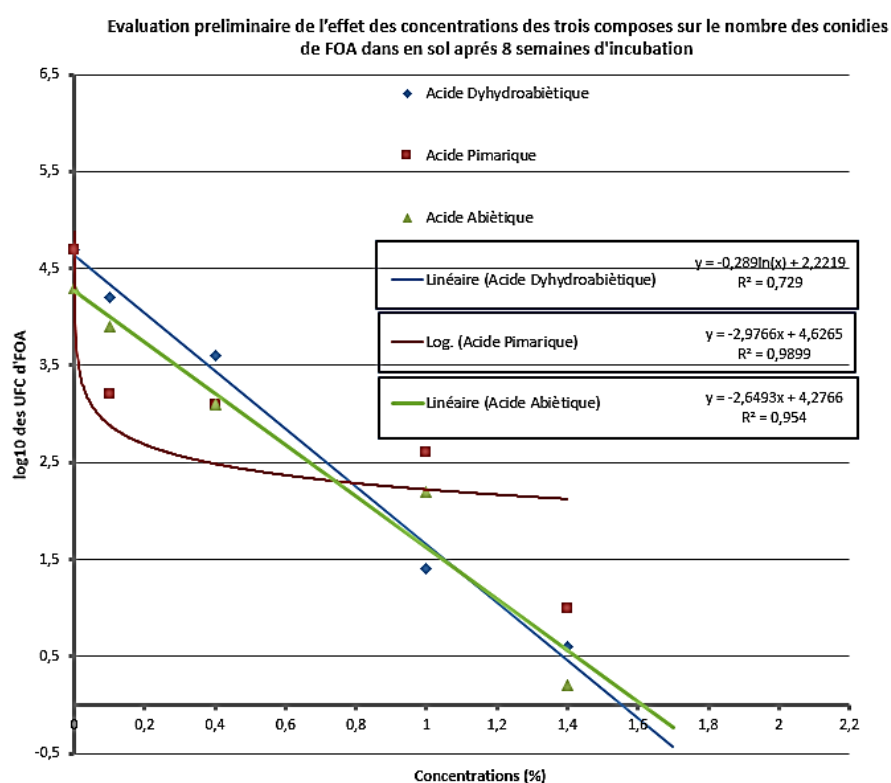


Figure 71: Evaluation de l'effet global de quatre concentrations relatives à trois composés (Acide Dehydroabeitique Acide Pimarique Acide Abiétique)

Discussion Générale

*Conclusion Générale et
Perspectives*

Conclusion générale et perspectives

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera*), occupe une place de choix dans le commerce international ; elle génère des revenus importants pour les pays producteurs. La pression parasitaire exercée sur les palmeraies peut se traduire par des pertes importantes. L'un des parasites du palmier est un champignon imparfait (*Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*) responsable de la maladie vasculaire, appelée Bayoud. Cette maladie est aujourd'hui parmi les pressions parasitaires affectant cette culture.

La recherche de moyens de lutte contre la maladie du Bayoud (ou fusariose vasculaire du palmier dattier) n'a abouti jusqu'à ce jour à aucun traitement efficace, la lutte chimique en particulier s'étend révélée inadéquate. Le recours aux substances naturelles suscite un intérêt croissant dans la recherche.

Au cours de cette étude, nous avons effectué des isollements à partir des palmiers dattier présentant les caractéristiques de la maladie. Le *FOA* est le plus fréquemment isolé à partir des différents échantillons analysés. L'identification des isolats a été effectuée en premier lieu par une caractérisation morphologique, en se basant sur des observations macroscopiques et microscopiques. L'identification morphologique et culturale est nécessaire et très importante avant d'appliquer d'autres méthodes d'identification. Depuis quelques décennies, des méthodes d'identification basées sur des outils moléculaires ont vues leurs preuves et se sont imposées par leur rapidité et leur fiabilité. Ces techniques sont majoritairement basées sur l'ADN. L'amplification par PCR, de régions spécifiques est une méthode puissante pour l'analyse ciblée d'une espèce de champignon phytopathogène. L'étude moléculaire basée sur la comparaison de séquences ITS de l'ADNr a permis de constater que la comparaison des espèces de *Fusarium oxysporum* pathogènes présente une homologie de 99 et 100% avec les séquences du GENE BANK. Les résultats de la caractérisation moléculaire à confirmer l'appartenance de nos isolats à *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. par PCR spécifique avec les paires d'amorces (FOA1/BIO) et (FOA/TL3). Un séquençage sur la base des produits d'amplification PCR obtenus avec les amorces LROR/LR3 a permis la construction de bibliothèques de clones, séquençage d'ADN dont on a ajouté 16 nouvelles séquences en GeneBank.

Les extraits végétaux testés à des doses moyennement acceptables ont donné des résultats prometteurs tout en limitant le développement mycélien et la sporulation des isolats

de FOA par contact direct. Les isolats testés présentaient une haute sensibilité vis-à-vis des doses appliquées des deux extraits végétaux. Les tests *in vivo* ont montré également que les traitements appliqués préventivement manifestent une importante efficacité, dont aucune manifestation des symptômes n'est apparue sur les plants traités par voie racinaire (résultats non publiés encore).

Le présent travail apporte des données encourageantes sur l'application des extraits naturels comme biopesticides remplaçant ainsi les produits chimiques de synthèse.

Afin d'identifier le support moléculaire responsable des activités antifongiques des extraits végétaux, l'analyse chromatographique CG/MS et l'étude de l'RMN de l'extrait a révélé la présence des composants phénoliques dont les activités biologiques sont très étudiées dans la littérature comme L'acide abiétique et l'acide Pimarique sont des diterpènes. Ils font partie de la famille des acides résiniques et est à la base de la famille des abiétanes. De plus, l'analyse a dévoilé la présence de l'acide Dehydroabiétique qui à donner d'excellent résultats en lutte biologique contre le FOA.

Au terme de ces travaux, les résultats auxquels nous sommes parvenus nous permettent d'affirmer que ces extraits ont des potentialités phytosanitaires intéressantes vouées à une lutte biologique plus efficace et respectueuse à l'environnement phéniculture.

En vue de poursuivre les investigations sur le sujet, les points suivants pourraient être pris en considération :

- Reprendre les tests de l'évaluation *in vivo* de la toxicité des extraits végétaux, avec la mise au point de protocole approprié qui puisse refléter au mieux les conditions les plus réelles possibles,

- Déterminer les doses optimales des extraits utilisés en sol et relation les compositions physicochimiques des sols de phéniculture, l'amendement des sols par substances favorisant l'action de nos extraits végétaux et molécules bioactives.

- Reprendre les tests *in vivo* sur plants pour vérifier et mieux évaluer l'effet des extraits végétaux, par multiplications des essais sur les cultivars sensibles au Bayoud.

Caractérisation de la ou les molécules actives par d'autres techniques plus appropriées et plus probantes notamment MS/LC adaptée à ce genre de molécules.

-Développement de technique d'utilisation de ces extraits sur les dattiers atteints par le Bayoud, essentiellement les injections en stipe,

-Etudier les propriétés antifongiques des extraits végétaux et leurs mécanismes d'actions sur le FOA, confirmer ou infirmer l'action conjuguée de plante et l'extrait.

-Il est apparent que le protocole utilisé en lutte biologique pour le contrôle de FOA ne permet pas d'éliminer définitivement le Bayoud d'où l'intérêt de poursuivre la recherche en vue d'établir une meilleure situation de traitement qui éliminé totalement l'agent du Bayoud avec préservation et protection maximale des dattiers.

Une meilleure connaissance et utilisation de ces extraits et molécules actives permet la réduction de l'emploi des fongicides néfastes et polluants des sols agraires.

References

Bibliographique

Références Bibliographiques

- Abayomi, 2010.** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Nouvelle édition. Les Editions Karthala 152: 1-8
- Abdessemed ,2010** Etude de l'activité biologique des extraits du fruit. Magister en Biologie, Option : Biochimie appliquée, Université de Batna2
- Adam Akram, 2009.** Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxygénase par des rhizobactéries non-pathogènes. Thèse Doc. Univ. Liège Belgique.
- AFNOR.** 1988. Recueil de normes françaises. Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés. 4ème édition, Paris. P 533.
- Agrios N. 1970.** Plant pathology. Ed. Academic Press. New York
- Ajouz S., 2009.** Estimation du potentiel de résistance de *Botrytis cinerea* à des biofongicides. Thèse Doc. Université D'Avig non.
- Al Salih, A. Al Najjar N. R. and Al Mashhadani, A. N. 1987a** A study on the chromosome number of two specific female date palm cultivars. Date Palm Journal.
- Al Salih, A., Hussain, N. and A. Al-Jarrah 1987 b** Chromosome number of a Date Palm Male : Cultivar Ghannami Akhdar. Date Palm J 5 (2) : 128-133.
- Amraoui H, Lazrek HB, Sedra MH. 2005** Chromatographic characterization and phytotoxic activity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* and saprophytic strain toxins. J Phytopathol 153:203–20
- Arif M, Zaidi NW, Haq QMR, Singh US. 2008.** Genetic variability within *Fusarium solani* as revealed by PCR fingerprinting based on ISSR markers. Indian Phytopathol ; 61: 305–310.
- Badawy, Mohamed & Rabea, Entsar & M. Rogge, Tina & Stevens, Christian & Steurbaut, Walter & Höfte, Monica & Smaghe, Guy. 2005.** Fungicidal and Insecticidal Activity of O-Acyl Chitosan Derivatives. Polymer Bulletin. 54. 279-289.
- Bardeau F. 2009.** Les Huilles Essentielles. Fernand Lanore .P 95 **Beauchesne, 1988**
- Bashar, M. A. and Baharat, R. 1992.** Antifungal property of *Clematis gouriana* against some pathogenic root infecting fungi of chickpea. J. of Indian Bot Soc. 71: 307-308
- Bashar, M.A. and R. Baharat 1992.** Antifungal property of *Clematis gouriana* against some pathogenic root infecting fungi of chickpea. J. Indian Bot. Soc., 71(1-4): 307-308.
- Battesti V. 2005.** Jardins au désert, Évolution des pratiques et savoirs oasiens. Jérid tunisien. Éditions IRD, 1re éd., À travers champs, Paris, 440 p.
- Bellakhdar J. 1997.** La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle, Paris: Edition Ibis

- Belliot A .2007.** Huile de cade, goudron de houille, ichthyol : utilisations dermatologiques et cosmétiques. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Nantes, France.
- Ben Khalifa A. 1989.** Ressources génétiques du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) et la lutte contre la fusariose. Organisation de la variabilité des cultivars du palmier des palmeraies du Sud-ouest algérien. Thèse de magister, ENS Kouba, Alger
- Benkhelifa A.** 1993. Calcul d'un indice de diversité du palmier dattier dans les oasis Algériennes Colloques Internationnal de Phytogéographie tropicale. Paris,6-8 juillet.
- Benlarbi, 2009** Isolement et caractérisation du *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* du sud-ouest algérien thèse Magister. Université de Bechar.
- Bennaceur M.; Lanaud, C.; Cevallier M.H. et Bounaga N. 1991.** Genetic diversity of date palm (*Phoenix dactylifera* L. from Algeria revealed by enzyme markers. *Plant Breed.* 107 : 56-69.
- Biabiany M., 2012.** Recherche et développement d'extraits antifongiques issus de la flore guadeloupeenne. Thèse Doc. Université Lille.
- Boubakri, N. Ghoul, S., & Saffar, W. 2014.** Political Rights and Equity Pricing. *Journal of Corporate Finance.* 27. 10.1016/j.jcorpfin.2014.05.009.
- Bouguedoura N. 1991.** Connaissance de la morphogénèse du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) insitu et in vivo du développement morphologiques des appareils végétatives et reproducteurs. Thèse Doctorat USTHB,
- Bouguedoura N. 1991.** Connaissance de la morphogènes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*). Etude in situ et in vitro du développement morphogénétique des appareils végétatif et reproducteur. These de doctorat d'Etat, USTHB, Alger, 1991.
- Boulanouar A. 2015.** Bio écologie de l'entomofaune des différentes palmeraies de la région de la Saoura(Béchar) : Application a quelques espèces fréquentant la plante-hôte *Phoenix dactylifera* L.. Thèse Doc. Univ. Tlemcen. Algerie.
- Boulanouar N. 2011.** Substances Naturelles a visées antifongiques : Cas particulières des polyphénols. Thèse Doc. Univ. Oran Algerie.
- Boullard B. 2001.**Plantes médicinales du monde : croyances et réalités. P 290
- Bounaga N et Djerbi M. 1990.** Pathologie du palmier dattier. Options Méditerranéennes, Sér. A / n° 11, Les systèmes agricoles oasiens.
- Brac De La Perriere R. A., et Benkhalifa, A., 1991.** Progression de la fusariose du palmier dattier. *Sécheresse*, 2: 119-128.
- Brac De La Perriere R. A., et Bounaga, N., 1991.** Etude du verger phoenicicole d'une palmeraie traditionnelle (Béni-Abbes, Sud-Ouest algérein). Répartition spatiale des cultivars en relation avec la fusariose. *Rev. Rés. Amélior. Proo. Agr. Milieu Aride*, 3: 81-90
- Brac De La Perriere, R. A ; Hannachi S., Khitri. ; et Benkhelifa A. ; 1998.** Inventaire

varietal de la Palmeraie Algérienne. Anep (Rouiba). Pp225.

Brenan J.P.M., 1959 - Leguminosae - subfamily Mirnosoideae. In Flora of Tropical East Africa, London, 173 pp.

Breuil C., Lee S et. Kim J. J. 2006. Diversity of fungi associated with mountain pine beetle, *Dendroctonus ponderosae*, and infested lodgepole pines in British Columbia. Natural Resources Canada, Canadian Forest Service.

Bulit J, Louvet J, Bouhot D et Toutain G. 1967. Travaux sur les Fusarioses. I : Travaux sur le Bayoud, Fusariose Vasculaire du Palmier Dattier en Afrique du Nord. Ann. Epiphytes. 18 : 213-239

Bulit J. Louvet J., Bouhot D. et Toutain G., 1967. Recherches sur les fusarioses. I. travaux sur le bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier en Afrique du nord.- Ann.Epiphyt., 18 (2) : 213-239.

Chakroune K, Bouakka M, Lahlali R, Hakkou A. 2008. Suppressive effect of mature compost of date palm by-products on *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Plant Pathol. 7: 148-54.

Chalchat J.C., Garry R.P., Michet A. Chemical composition of the hexane fraction of empyreumatic wood oils from *Juniperus oxycedrus* and *Juniperus phoenicea*.L.

Chaturvedi Ratnesh , Barney Venables, Robby A. Petros, Vamsi Nalam, Maoyin Li, Xuemin Wang, Larry J. Takemoto and Jyoti Shah 2012. An abietane diterpenoid is a potent activator of systemic acquired resistance. The Plant Journal 71, 161–172

Chaturvedi Ratnesh, Barney Venables, Robby A. Petros, Vamsi Nalam, Maoyin Li, Xuemin Wang, Larry J. Takemoto and Jyoti Shah. 2012. An abietane diterpenoid is a potent activator of systemic acquired resistance. The Plant Journal (2012) 71, 161–172

Chuyen C. 1985. Sur la composition des essences de genévrier commun de l'oxycèdre et du goudron de cade. Thèse de doctorat en pharmacie. Marseille.

Claverie I., Panet M., Barbeau S. 2008. Biochimie, Wolters Kluwer France. P85

Cleuzio S. et Constantini L. , 1982 A l'origine des Oasis In la Recherche N°137 Paris

Clinical and Laboratory Standards Institute 2008. (formerly NCCLS). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi-approved standard, 2nd edn. CLSI document M38-A2. CLSI, Wayne, PA, USA,

Clinical and Laboratory Standards Institute 2008. (formerly NCCLS). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast; Approved Standard, 3rd edn. CLSI document M27-A3. CLSI, Wayne, PA, USA,.

Collet, I. (2018). Dépasser les éducations à : vers une pédagogie de l'égalité en formation initiale du personnel enseignant. Recherches féministes, 31(1), 179-197.

Côté R. et Otis C. 1989- Étude de la biodégradation de l'acide déhydroabiétique par *Bacillus psychrophilus* Biodegradation of dehydroabietic acid by *Bacillus psychrophilus* Revue des sciences de l'eau Volume 2, numéro 3, 1989

- Cronquist A. 1981.** An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York, USA. P 1262.
- Demarle E. 2001.** *Juniperus communis* L. et *Juniperus oxycedrus* L. : genévriers utiles Thèse de doctorat en pharmacie. Montpellier.
- Devshony, S., E. Eteshola and A. Shani, 1992.** Characteristics and some potential applications of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seeds and seed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69: 595-597
- Di Pietro A, Madrid M P, Caracuel Z, Delgado-Jarana J and Roncero MIG. 2003.** *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. *Molecular Plant Pathology*. 4:315-325.
- Dihazi A. 2012.** Interaction Palmier dattier - *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* : Induction des réactions de défense par l'acide salicylique et rôle de quelques microorganismes antagonistes de l'agent pathogène dans le contrôle de la maladie du Bayoud. Thèse de doctorat, Université Ibn Zohr, Agadir, Maroc.
- Djekiref L. , Belhamra M. et Cilas C., 2018.** Analyse de la structure génétique de différentes Populations de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, en lien avec les risques épidémiologiques. *Courrier du Savoir – N°26*, Mars 2018, pp213-222
- Djerbi M, Sedra MH Et El Idrissi Ammari MA. 1985.** Caractéristiques culturales et identification du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent causal du bayoud. *Annls. Inst. Natl. Rech. Agron. Tunisie*, 58, Note de recherche n. 1 : 1-8.
- Djerbi M. 1983.** Diseases of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.).F.A.O. Regional Project for Palm and Dates Research Centre in the Near East and North Africa. 106 p.
- Djerbi M. 1990.** Méthodes de diagnostic du bayoud. *Bulletin OEPP/EPPO*. 20: 607-613.
- Djerbi M. 1991.** Biotechnologie du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) : Voies de propagation des clones résistants au bayoud et de haute qualité dattière. *Options Méditerranéennes, Séries Séminaires*. 14 : 31-38.
- Djerbi M., 1982** -Bayoud diseases in north Africa. History, distribution, diagnosis and control. *Date palm journal*.2. pp.153-197.
- Djerbi M., 1990** -Méthodes de diagnostic du bayoud. *Bulletin OEPP*.20. pp.607-613.
- DJERBI, M. 1988.** Les maladies du palmier dattier. Projet régional de contre le Bayoud R/84/018.pp.127.
- Doke N, Miura Y, Sanchez LM, Park HJ, Noritake T, Yoshioka H, Kawakita K. 1996.** The oxidative burst protects plants against pathogen attack: mechanism and role as an emergency signal for plant bio-defence. *Gene*. 179: 45-51.
- Dorvault F. 1994.** L'officine. Vigot Ed , 23eme Ed Evreux.

Dossa C.. 1993. Variabilité de la morphologie et du pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *Elaeidis* Toovey agent de la fusariose du palmier à huile Montpellier : Université de Montpellier 2, 135 p.

Dransfield, J. and Baker W. (2016). Beyond Genera Palmarum: progress and prospects in palm systematics. *Botanical Journal of the Linnean Society*

Durand-Tardif M, Pelletier G. 2003. Apport de la biologie moléculaire et cellulaire et de la génétique à la protection des plantes. *C.R. Biologies.* 326 : 23-35

El Hassni M, J'Aiti F, Dihazi A, Ait Barka S, Daayf F, El Hadrami I. 2004.

ElFakhouri R, Lazrek, HB, Bahraoui E, Sedra MyH et Rochat H. 1996. Preliminary investigation on a peptidic toxins produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Phytopath. Mediter.* 35:11-15.

El-ghorfi A., 1987. Contribution à l'étude des porteurs sains du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent causal du bayoud ; fusariose vasculaire du palmier dattier. - Thèse D.E.S., Fac. Scien. Cadi Ayyadh, Marrakech, Maroc, 97 p.

ElHadrami I, Ramos T, El Bellaj M, El Idrissi-Tourane A and Macheix JJ. 1997. A sinapic derivative as induced defense compound of date palm against *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, the agent causing Bayoud disease. *J Phytopathol.* 145:329-333.

ElModafar C. 2010. Mechanisms of date palm resistance to bayoud disease: Current state of knowledge and research prospects. *Physiol Mol Plant Pathol.* 74: 287- 294

Enhancement of defense responses against Bayoud disease by treatment of date essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Thèse de Magistère En Biologie, Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen. Algérie. 105p.

Essaroui A. et Sedra My. H., 2007. Effet de la solarisation et du metan sodium sur les champignons telluriques et possibilités de lutte contre FOA agent causal du Bayoud du palmier dattier. *AL AWAMIA.* Pp121-122.

FAO. 2004. FAO stat data base, www.FAO.org

FAO. 2007. Les Principaux Pays Producteurs de Dattes. *FAOSTAT Agriculture.*

Fernandez D, Lourd M, Ouinten M, Tantaoui A et Geiger JP. 1995. Le Bayoud du palmier dattier. Une maladie qui menace la phoeniciculture. *Phytoma.* La défense des végétaux. n° 469.

Fernandez D, Quinten M, Tantaoui A, Geiger J, Bahoussi M, Langin T. 1998. Fot 1 Insertions in the *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* genome provide diagnostic PCR targets for detection of the date palm pathogen. *Appl Environ Microbiol;* 64: 633-636.

Ferry M. 1993. La crise du secteur phoenicicole dans les pays méditerranéens. Quelles recherches pour y répondre?. In : *Le palmier dattier dans l'agriculture d'oasis des pays*

méditerranéens . Zaragoza : CIHEAM, 1993. p. 129-156 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 28)

Frederix M.J.J et Denbrader K., 1989 -Résultats des essais de désinfection des sols contenant des échantillons de *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis*. FAO/PUND/RAB/88/024. Ghardaia. Algérie. pp. 11 -24.

Fusarium oxysporum f sp *albedinis*. Annales de LN.RA. de Tunisie.58.1. pp.I-8.

Gaceb-Terrak R, Rahmania F. 2010. Analyse des lipides et autres composés volatils de Deglet Nour, cultivar de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. *Acta Botanica Gallica* ; 157(1): 127-33.

Gagkaeva TY, Mattila, TY. 2004. Genetic diversity of *Fusarium graminearum* in Europa and Asia Eur. *J Plant Pathol*; 110: 551-562.

Gardes M, White TJ, Fortin JA, Bruns TD, Taylor JW. 1991. Identification of indigenous and introduced symbiotic fungi in ectomycorrhizae by amplification of nuclear and mitochondrial ribosomal DNA. *Can J Bot* ; 69: 180-190.

Gast, M. (1999). Encyclopédie berbère. Aix-en-provence: Edisud. pp 3170-3174.

Gottesman M.M., Fojo T. and Bates T.S.E., 2002. *Nat. Rev. Cancer* 2 p. 47.

Goudyer A. 2000. The greek herbal of Discorides, illustrated by Byzantine A. P 35-145.

Grey B.E., Steck T.R.. 2001. The Viable But Nonculturable State of *Ralstonia solanacearum* MayBe Involved in Long-Term Survival and Plant Infection. *Applied and Environmental Microbiology*, 3866-3872

Grishko V., Perov I., Shenderova O. Grichko V. Tyler T. Cunningham G. and McGuire G. 2007- *Diam Rel Mater* 1 :2098-2103.

Grishko V.V., Tarasova E.V., Ivshina I.B. 2013. Biotransformation of betulin to betulone by growing and resting cells of the actinobacterium *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 66, *Process Biochem.* 48. PP 1640–1644.

Grishko VV. Tarasova EV. Ivshina IB. 2013- Biotransformation of butulin to betulone by growing and resting cells of *Rhodococcus rhochrous* IEGM66. *Process* 48:1640-1644.

Gros-Balthazard M., Newton C., Ivorra S., Tengberg M. & Pintaud J.et C Terral J.-F., 2013 – Origines et domestication du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). *Revue d'ethnoécologie* (4) : 5-6.

Guerrero M., Wang DD., O'Neill W. 2016. Percutaneous alcohol septal ablation to acutely left ventricular outflow tract obstruction induced bytranscather mitral valve replacement. *Catheter Cardiovasc Interv* 88(6) :E191-7

Hamba A. 1982. Cadier et huile de cade (*Juniperus oxycedrus* L. et *Pix Cadi*). Thèse de doctorat en pharmacie. Montpellier.

Heil M. 2002. Ecological costs of induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology.* 5: 345-350.

Hoseini SS, Sauer MG. 2015. Molecular cloning using polymerase chain reaction an educational guide for cellular engineering. *Journal Biol Engring*; 9(1): 1-13.

- Jaiti F, Dihazi A, El Hadrami A, El Hassni M and El Hadrami I. 2004.** Effect of exogenous application of jasmonic acid on date palm defense reaction against *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. *Phytopath. Medit.* 43: 325-331.
- Jaiti F, Meddich A, Kassami M and El Hadrami I. 2008.** Effect of Arbuscular Mycorrhization on the accumulation of hydroxycinnamic acid derivatives in date palm seedlings challenged with *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. *J. Phytopathol.* 156: 641-646.
- Jayakumar N., Nwe N., Tokura S., Tamura, H. 2007.** Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials. *International journal of biological macromolecules.* 40. 175-81. 10.1016/j.ijbiomac.2006.06.021.
- jerbi M. 1988.** Les maladies du palmier dattier. Projet régional de lutte contre le Bayoud. FAO, (Rab/84/0/8), Alger, Algérie.
- Juzan L., Pernelle J.J. et Dabert P, 2012** Les outils de la biologie moléculaire pour l'analyse microbiologique des boues activées. *Sciences Eaux and Territoires : la Revue du IRSTEA, IRSTEA, 2012, p. 76 - p. 81.*
- Khene B. ; Senoussi A. ; Nouacer Y. et Cheham A., 2015.** Analyse du dispositif de lutte contre la tracheomycose du palmier dattier causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* dans la région de ghardaïa (algerie). *Revue des BioRessources Vol 5 (1) : 1-9.*
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2015.** MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol* 2016; 33(7): 1870-1874.
- Larpent -Gourgand M. et Sanglier J.1., 1992** -Biotechnologie. Principes et méthodes. Ed. Doin. Paris. pp.46-47.
- Lepoivre P, Busogoro JP, Etame JJ, El Hadrami A, Carlier J, Harelimana G, Mourichon X, Panis B, Riveros AS, Salle G, Strosse H and Swennen R. 2003.** Banana-*Mycosphaerella fijiensis* interactions. In: Jacome et al.: *Mycosphaerella leaf spot diseases of bananas: present status and outlook. Proceedings of the 2nd International workshop on Mycosphaerella leaf spot diseases, San José, Costa Rica, 20-23 may.* 151-159
- Li, R.Y., Wu, X.M., Yin, X.H., Liang, J.N., Li, M., 2014.** The natural product citral can cause significant damage to the hyphal cell walls of *Magnaporthe grisea*. *Molecules* 19, 10279–10290.
- 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. 1977.** Observations sur la localisation des chlamydospores de *Fusarium oxysporum* dans les tissus des plantes parasitées. *Travaux Dédiés à G. Viennot-Bourgin, INRA. Paris. France.* pp : 193-197
- Louvet J., 1991** -Que devons nous faire pour lutter contre le bayoud. *Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides. Paris. France.* pp.337-346.

Lucas E. 2000. Un produit d'avenir en thrapeutique dermatologique : le distillat moléculaire de cade. Thèse de doctorat en pharmacie. Montpellier.

Lynn Prewitt M., Diehl Susan V., McElroy Thomas C. et Diehl Walter J. 2008. Comparison of general fungal and basidiomycete-specific ITS primers for identification of wood decay fungi *FOREST PRODUCTS JOURNAL VOL. 58, NO. 4*

Mahlo S.M., McGaw L.J., Eloff J.N. 2010. Antifungal activity of leaf extracts from South African trees against plant pathogens. 29: P 1529-1533

Maslouhy A. 1989. Contribution à l'étude in vitro et in situ des antagonistes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent causal du Bayoud. Marrakech: Diplôme des Etudes Supérieures, Université Cadi Ayyad.

Mathe C., Archier P., Culioli G., et Vieillescazes C. 2003. Caractérisation chimique d'une résine naturelle en Egypte ancienne : Application un exemple de la collection Victor Loret. *Revue d Archéométrie,27,2003*

Mebarki L, Kaid Harche M, Benlarbi L, Rahmani A and Sarhani A. 2013. Phytochemical Analysis and Antifungal Activity of *Anvillea Radiata*. *World Applied Sciences Journal. 26 (2): 165-171.*

Mensah, A.Y., Houghton, P.J., Bloomfield, S., Vlietink, A., Berghe, D.V., 2000. Known and novel terpenes from *Buddleja globosa* displaying selective antifungal activity against dermatophytes. *J. Nat. Prod. 63, 1210–1213.*

Mercier, 2013, Métraux JP, Nawrath C and Genoud T. 2002. Systemic acquired resistance. *Euphytica. 124: 237-243.*

Metraux, Jean-Pierre & Nawrath, Christiane & Genoud, Thierry. (2002). Systemic acquired resistance. *Euphytica. 124. 237-243. 10.1023/A: 1015690702313.*

Ministère de l'agriculture, direction des statistiques agricoles et des enquêtes économiques. 2006. Agriculture par les chiffres.

Mittler R and Lam E. 1996. Sacrifice in the face of foes: pathogen-induced programmed cell death in plants. *Trends Microbiol. 4:10-15*

Mohammedi Z. 2006. Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles

Mokhlisse N. 1987. Contribution à l'identification et étude de la toxicité des différents constituants de la toxine sécrétée par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Thèse de 3ème cycle, Fec. Sc. Sémlalia, Univ. Cadi Ayyad, MarrakechMaroc.

Muffler K., Leipold D., Scheller M.C., Haas C., Steingroewer J., Bley T., Neuhaus H.E., Mirata M.A., Schrader J. and Ulber R. 2011, Biotransformation of triterpenes, *Process Biochem. 46. PP 1–15.*

Munier, P.1973 Le Palmier-dattier-Techniques agricoles et productions tropicales; Maison Neuve et Larose, 217pp; Paris.

- O.E.P.P./E.P.P.O.**, 1990 -Specific quarantine requirements .E.P.P.O. Technical documents n° 1 008
- O.E.P.P./E.P.P.O.**, 2003. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Protocoles de diagnostic pour les organismes. Réglementés PM 7/16. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 2003. 33 : 245–247
- Oihabi A, Hatimi A et Amir H.** 1992. Etude de la réceptivité au Bayoud de deux sols de palmeraies marocaines. *Phytopath Medit.* 31 : 19-27.
- Ollaguier M et Renard JL.** 1976. Influence du potassium sur la résistance du palmier à huile à la fusariose. *Oléagineux.* 31(5) : 203-209.
- Otis C. Turmel, M, Côté, V Lemieux C., Nucleic Acids Res.** 1997 Jul 1; 25(13): 2610–2619. doi: 10.1093/nar/25.13.2610
- Ouiten M.,** 1996 Diversité et structures génétique des populations Algériennes de *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* agent de la fusariose vasculaire (Bayoud) du palmier dattier Thèse doctorat. Univ, Montpellier II,
- palm seedling with an hypoaggressive *Fusarium oxysporum* isolate. *J. Phytopathol.*
- Palmero D, Rubio-Moraga A, Galvez-Patón, L, Nogueras J, Abato C, Gómez-Gómez L, Ahrazem O.** 2014. Pathogenicity and genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from corms of *Crocus sativus* Industrial. *Cropsand Products* 61: 186–192.
- Patra J.K., Gouda S., Sahoo S.K., Thatoi H.N.** 2012 .Chromatography separation, 1H NMR analysis and bioautography screening of methanol extract of *Excoecaria agallocha* L. from Bhitarkanika, Orissa, India . P 50-56
- Pipet C.**1986. Contribution à l'étude des goudrons utilisés en dermatologie et en cosmétologie, Thèse de doctorat en pharmacie, Paris.
- Plyler TR, Simone GW, Fernandez D, Kistler HC.** 1999. Rapid detection of the *Fusarium oxysporum* lineage containing the Canary Island date palm wilt pathogen. *Phytopathology*; 89: 407-413.
- Plyler, T.R., G.W. Simone, D. Fernandez, and H.C. Kistler.** 1999. Rapid detection of the *Fusarium oxysporum* lineage containing the canary island date palm wilt pathogen. *Phytopathology* 89:407–413.
- Porte L.** 1994. Fours à cade : fours à poix dans la Provence littorale, Ed Les Alpes de Lumière. P 3-26
- Press. pp : 272–274.
- Prima-Yufero Edouardo, Irasema Vargas, Isidora Sanz et Pilar Moya.** 1999. Antimicrobial and Antioxidant Compounds in the Nonvolatile Fraction of Expressed Orange Essential Oil. *Journal of Food Protection*, Vol. 62, No. 8, 1999, Pages 929–932
- Quezel P., Santa S.** 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et de régions désertiques méridionales, CNRS, tome1. P 38-39

Rahmania F. 2000. Contribution à la connaissance des relations hyto-cytophysique entre le palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L. et l'agent causal du Bayoud, *Fusarium oxysporum albedinis* (killian et laire) Gordon. Thèse doctorat d'état, USTHB, Alger, pp : 156

Raja HA, Miller AN, Pearce CJ, Oberlies NH. 2017. Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for Natural Products Research Community. *J Nat Prod*; 80(3): 756-770.

Raja Huzefa A. , Andrew N. Miller, Cedric J. Pearce, et Nicholas H. Oberlies., 2017 Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. *J Nat Prod.* 2017 Mar 24 ; 80(3) : 756–770.

Ramírez-Suero M. 2009. Etude de l'interaction de *Medicago truncatula* avec *Fusarium oxysporum* et du rôle de l'acide salicylique dans les interactions de la plante avec différents agents pathogènes et symbiotiques. thèse de doctorat, université de Toulouse.

Reynier P. et Malthièry Y., 1996. Progrès récents et application à l'étude des délétions de l'ADN mitochondrial. *Médecine/sciences* 1996 ; 12 : 1011-6

Robert A et Benkhalifa A. 1991. Progression de la fusariose du palmier dattier en Algérie. *Sécheresse.* 2(2) : 119-128

Saadi I, Namsi A, Ben Mahamoud O, Takrouni ML, Zouba A, Bové JM and Duran-Vila N. 2006. First report of the “Maladie des feuilles cassantes (MFC)” of date palms in Algeria. *Plant Pathology.* 55: 572

Saaidi M. 1979. Contribution à la lutte contre le Bayoud, Fusariose vasculaire du palmier dattier. Thèse d'Université, Université de Dijon, France. 140p

Saaidi, M. 1979. Contribution à la lutte contre le bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier. Thèse de Doct Univ Dijon, pp 140.

Saaidi,1979. Contribution à la lutte contre le bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier. Thèse de Dictorat, Université de Dijon, France.

Sabir SM. 2006. Genotypic identification for some *Fusarium sambucinum* strains isolated from Wheat in Upper Egypt World. *J Agri Sci* ; 2(1): 6-10.

Saker M. L. Et Daddi Bouhoun M. 2007. La Phéniciculture Algérienne : Situation Actuelle, Problèmes Poses Et Perspectives De Développement. Laboratoire de protection des écosystèmes des zones arides et semi arides. Université de Ouargla. 56 p.

Savluchinske-Feio S., Nunes L., Tavares Pereira P., M. Silva A., Roseiro J.C., Gigante B. et Marcelo Curto J. M. 2007. Activity of dehydroabiatic acid derivatives against wood contaminant fungi. *Journal of Microbiological Methods*, 70, pp.465–470

Schmele I and Kauss H. 1990. Enhanced activity of the plasma membrane localized callose synthase in cucumber leaves with induced resistance. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 37: 221–228.

Sedra M.H. et El Idrissi M.A., 1985-Caractéristiques culturales et identification du

Sedra M.Y.H., 1995 -Développement saprophytique du *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* dans différents sols de palmeraies et activité antagoniste de quelques microorganismes sur son comportement. *Al Awamia*. 82. pp.53-71.

Sedra MH, Lazrek HB, Lotfi F. et Rochat H. 1998b. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* toxin isolation and use for screening of date palm plants for resistance to the bayoud disease. *Acta Hort*. 513:81-90.

Sedra MH, Lazrek HB, Lotfi F. et Rochat H. 1998b. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* toxin isolation and use for screening of date palm plants for resistance to the bayoud disease. *Acta Hort*. 513:81-90

Sedra MH, Rouxel F. 1989. Résistance des sols aux maladies. Mise en évidence de la résistance d'un sol de la palmeraie de Marrakech aux fusarioses vasculaires. *Al Awamia*. 66: 35-54.

Sedra MH. 2015. Date Palm Status and Perspective in Morocco. In: Al-Khayri JM, Jain SM, Johnson DV, Eds. *Date palm genetic resources and utilization*. Dordrecht: Springer; pp 257–323.

Sedra MH. 1995b. Diversité et Agressivité des souches du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* dans les pays magrébins sur différents cultivars du palmier dattier - Nature de la résistance à la maladie et facteurs influençant cette résistance. Proc. Sémin. Régional sur le Bayoud, fusariose du palmier dattier, organisé par l'OADA. Rencontre des experts, Dégache, Tunisie, 23-27 Octobre. 33-50.

Sedra MH. 1997. Diversité et amélioration génétique du patrimoine phénicicole marocain. Proc. Sémin. National sur Ressources Phytogénétiques et développement Durable. Rabat, Maroc. pp : 283-308.

Sedra MH. 1999a. Identification et caractérisation des cultivars du palmier dattier en Mauritanie. Rapport de mission de consultation d'expert, 30/6/99-23/7/99, OADA.

Sedra MH. 2003. Le Bayoud du palmier dattier en Afrique du Nord. FAO, RNE/SNEA-Tunis. Edit. FAO sur la protection des plantes. Tunisie.

Sedra MH. 2006. La maladie du Bayoud du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.): apparition, extension, dégâts, conditions de développement, méthodes de diagnostic et de lutte, acquis, perspectives et recommandations pratiques. Broch. de vulgaris., Edit. OADA, Khartoum, Soudan.

Sedra MH. 2013. The Bayoud (Vascular Wilt) of Date Palm in North Africa: Situation, Research Achievements and Applications. ISHS. *Acta Hort*. 994 : 59-76

Sedra MH. 2013. The Bayoud (Vascular Wilt) of Date Palm in North Africa: Situation, Research Achievements and Applications. ISHS. *Acta Hort*. 994 : 59-76

Sedra My H. 2012. Guide Du Phoeniciculteur.(Mise en place et conduite des vergers phoenicicoles). INRA -Editions 2012. 168 p.

Sedra MyH, El Fakhouri R, Lazrek HB 1993 Recherche d'une méthode fiable pour l'évaluation de l'effet des toxines secrétées par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* sur le palmier dattier. *Al Awamia* 82:89–104

Sedra MyH, Lazrek HB, Amraoui H, Nour S 2008 Pathogen toxins of bayoud disease on date palm: in vitro selection and biological and specificity activities. In: 10th international *Fusarium* work-shop and *Fusarium* genomics workshop 2008. Alghero, Sardinia, Italy, Aug 30 to Sept 2, 2008

Sedra, MH. 2015. Date palm status and perspective in Mauritania In: Al-Khayri, J. M., S. M. Jain and D. V. Johnson (Eds.), *Date Palm Genetic Resources, Cultivar Assessment, Cultivation Practices and Novel Products*, Vol. 1. Africa and the Americas, Springer, Netherlands, Dordrecht : 225-268.

Sedra, My.H. ,1994. Mise au point d'une méthode pour l'évaluation rapide de la résistance au bayoud des plantules du palmier dattier issues de semis. *Al.Awamia*, 86: 21-41.

Seifert K. 2001. *Fusarium* and anamorph generic concepts. pp. 15 - 28 in: *Fusarium*. Summerell BA et al., eds. APS Press. St. Paul, Minnesota

SFE Société française d'ethnopharmacologie. 2019. <http://www.ethnopharmacologia.org/> consulté 09.06.2019.

Shai L.J., McGaw L.J., Masoko P., Eloff J.N. 2008. Antifungal and antibacterial activity of seven traditionally used South African plant species active against *Candida albicans*. 74 : P 677-684

Si Moussa L, Belabid L, Tadjeddine A, Bellahcene M and Bayaa B. 2010. Effect of Some Botanical Extracts on the Population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, the causal agent of bayoud disease in Algeria. *Arab. J. Pl. Prot.* 28:71-79

Simon U, Weiss M. 2008. Intragenomic variation of fungal ribosomal genes is higher than previously thought. *Mol Biol Evol*; 25(11): 2251-2254.

Singh MP. And Tripathi HS. 1993 effect of storage temperatures on the survival of *Botrytis cinerea* in chickpea seeds . *Indian Journal of Mycology and plant Pathology* 23 :177179.

Sinhg MP., Tripathi HS., 1993- Effect of storage temperatures on survivability of *Botrytis cinerea* in chickpea seeds *Indian Journal Mycol Plant Pathol* 23 :177-179

Smith R.A., Cokkinides V., Brooks D., Saslow D., Shah M., and Brawley O.W. 2011. *CA Cancer J. Clin.* 61 p. 8.

Soro D., Kone M.W., Kone D., Kamanzi K. 2012. Evaluation De L'activité Antifongique Par Bioautographie De Quelques Plantes Médicinales De Côte D'ivoire Contre Deux Formes Spéciales De *Fusarium oxysporum* .24(1)

Sparks. JR., Katz. IR. E Beile. PM. 2016- Assessing digital information literacy in higher education ; review of existing frameworks and assessment with recommendation for next generation assessment ETS Research Report Series (2), 1-33

Suhr KL and Nielsen PV 2003. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi *J. Appl Microbiol* 94 : 665-674

- Takrouni L., Rhouma A., Khoualdia O., Allouchi B., 1988** Observations préliminaires sur deux graves « maladies » d'origine inconnue du palmier dattier en Tunisie. *Ann. de l'Institut national de la recherche agronomique de Tunisie*, 61: 2-16.
- Tantaoui A, Ouinten M, Geiger JP, Fernandez D. 1996.** Characterization of a single clonal lineage of *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* causing bayoud disease of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Morocco Phytopathol*; 86: 787-792.
- Tantaoui A. et Boisson C., 1991.** Compatibilité végétative d'isolats du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et des *Fusarium oxysporum* de l'arhizosphère du Palmier dattier et des sols de palmeraies. *Phytopath. medit.*, 30, 155-163.
- Tantaoui A, Ouinten M, Geiger JP, Fernandez D 1996** Characterization of a single clonal lineage of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* causing bayoud disease of date palm in Morocco. *Phytopathology* 86:787–792
- Tantaoui, A., Ouinten, M., Geiger, J.P., Fernandez, D., 1996.** Characterization of a single clonal lineage of *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* causing Bayoud disease of date palm in Morocco. *Phytopathology*, 86 (7) : 787-792.
- Tapia Anibal A., Martha D. Vallejo, Silvia C. Gouiric, T. Gabriela E. Feresin, Pedro C. Rossomando And Daniel A. Bustos 1996.** Hydroxylation Of Dehydroabietic Acid By *Fusarium* Species. *Phytochemistry*, Vol. 46, No. 1, pp. 131-133, 1997
- Tapia, A.A., Vallejo, M.D., Gouiric, S.C., Feresin, G.8., Rossoman-do, P.C. & Bustos, D.A. 1997** Hydroxylation of dehydroabietic acid by *Fusarium* species. *Phytochemistry* 46,131-133
- Thomas ET., Magilvy JK., FAAN RN. 2011** Rigueur qualitative ou validité de la recherche en recherche qualitative. <https://doi.org/10.1111/j.1744-6155.2011.00283.x>
- Thrane U. 2001.** Developments in the taxonomy of *Fusarium* species based on secondary metabolites. pp. 29-49. In: *Fusarium*. Summerell BA et al., eds. APS Press. St. Paul.
- Tirichine, A., 1997.** Etudes des ressources génétiques du palmier dattier
- Toutain G., 1965** -Note sur l'épidémiologie du Bayoud en Afrique du nord. *Al Awamia*.15. pp.37-45
- Toutain, G, 1990.** Dollé V, Ferry M. Situation des systèmes oasiens en régions chaudes. *Options Méditerranéennes*. Ciheam 1990: pp 7-18.
- Toutain, G. 1965.** Note sur l'épidémiologie du bayouth en Afrique du Nord. *Al-Awamia*; 15: 37-45.
- Toutain, G. 1967** Le palmier dattier, culture et production. *Al Awamia* 25 (4): 23-151.
- Toutain, G., 1965.** Note sur l'épidémiologie du Bayoud en Afrique du Nord. *Al awamia*, 15 : 37-45.
- Triki M.A., Z A., Khoualdia O., BenMahamoud O., Takouni M.L., Garnier M., Bové J.-M., Montarone M., Poupet A., Flores R., Daros J. A., Fadda Z. G. N., Moreno P., Duran-Vila N., 2003** – Maladies des feuilles cassante or brittle leaf disease of date palms in Tunisia: biotic or abiotic disease. *Journal of plant pathology*, 85 (2) : 71-79.

- Ulubelen, A., Oksuz, S., Kolak, U., Bozok-Johansson, C., Voelter, W., 2000.** Antibacterial diterpenes from the roots of *Salvia viridis*. *Planta Med.* 66, 458–462.
- Vilgalys R, Hester M. 1990.** Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *J Bacteriol* ; 172: 4239-4246
- Walters D., Heil M. 2007. Costs and trade-offs associated with induced resistance. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 71: 3-17.
- Watson AG. 1974.** Pathogenicity test for identification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. *Bulletin d'Agronomie Saharienne* 1974; 1: 37-38.
- Watson, 1974** Pathogenicity test for identification of *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis*. *Bulletin d'Agronomie Saharienne*, 1, 37-38.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990.** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR protocols a guide to methods and applications*, 315–322. Academic Press, San Diego.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990.** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics In: *INNIS* (Innis M, Gelfand D, Sninsky J, White T.) (Ed.) *PCR Protocols a Guide to Methods and Applications* San Diego. Academic Press; p 315-322.
- Yezli W., 2010.** Etude morphologique, pouvoir pathogène et activité protéolytique chez *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Thèse Magistère. Université Oran 1 - Ahmed Ben Bella (Université Es-Sénia)
- Zaid A, Arias E J and Taher F. 2002.** Date Palm Global Network. Project Document.
- Zaid, A., & H. Hughes. (1989a):** *In vitro* acclimatization of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) plantlets: I. effect of polyethylene glycol on water stress. *Third Intern. Conf. of IPBNET.* p 43
- Zeghad N., 2009-** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de magister en biotechnologie végétale. Univ. Mentouri. Constantine: 18.
- Zhang X, Li M, Xiang T 2010.** Genetic Modification of MEOR Bacterium *Bacillus licheniformis* H Strain by Low Energy Ion Beam Irradiation. *Open Biotechnol. J.*, 4: 14-17.
- Zhang, YJ, Zhang S, Liu XZ, Wen HA, Wang M. 2010.** A simple method of genomic DNA extraction suitable for analysis of bulk fungal strains. *Lett Appl Microbiol*; 51: 114-118.

Annexes

Annexe A : Milieux de cultur

1-Milieu SNA **Spezieller** Nährstoffarmer Agar

KH ₂ PO ₄	1 g
KNO ₃	1 g
MgSO ₄ /7H ₂ O	0.5 g
KCl	0.5 g
Glucose	0.2 g
Sucrose	0.2 g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml

2-Milieu PDA (**Potatoes Dextrose agar**)

Pomme de terre (macération 500ml de filtrat)

200 g Sucrose 10 g

Agar 15 g

Eau distillée 1000 ml

3-Milieu CDA (**Czapek Dox Agar**)

Sucrose 30 g

KH₂PO₄ 1 g

KCl 0.5 g

MgSO₄ 0.5 g

FeSO₄ 0.01 g

NaNO₃ 3 g

Agar 15 g

Eau distillée 1000 ml

-(Czapek Concentre)

NaNO₃ 30 g

KCl 5 g

MgSO₄ 5 g

FeSO₄ 0.1 g

Eau distillée 100 ml

-Eau physiologique

NaCl 9 g

Eau distillée 1000 ml

-Lactophenol

Phénol pur cristallisé 20 g

Acide lactique 20 ml

Glycérol pur 20 ml

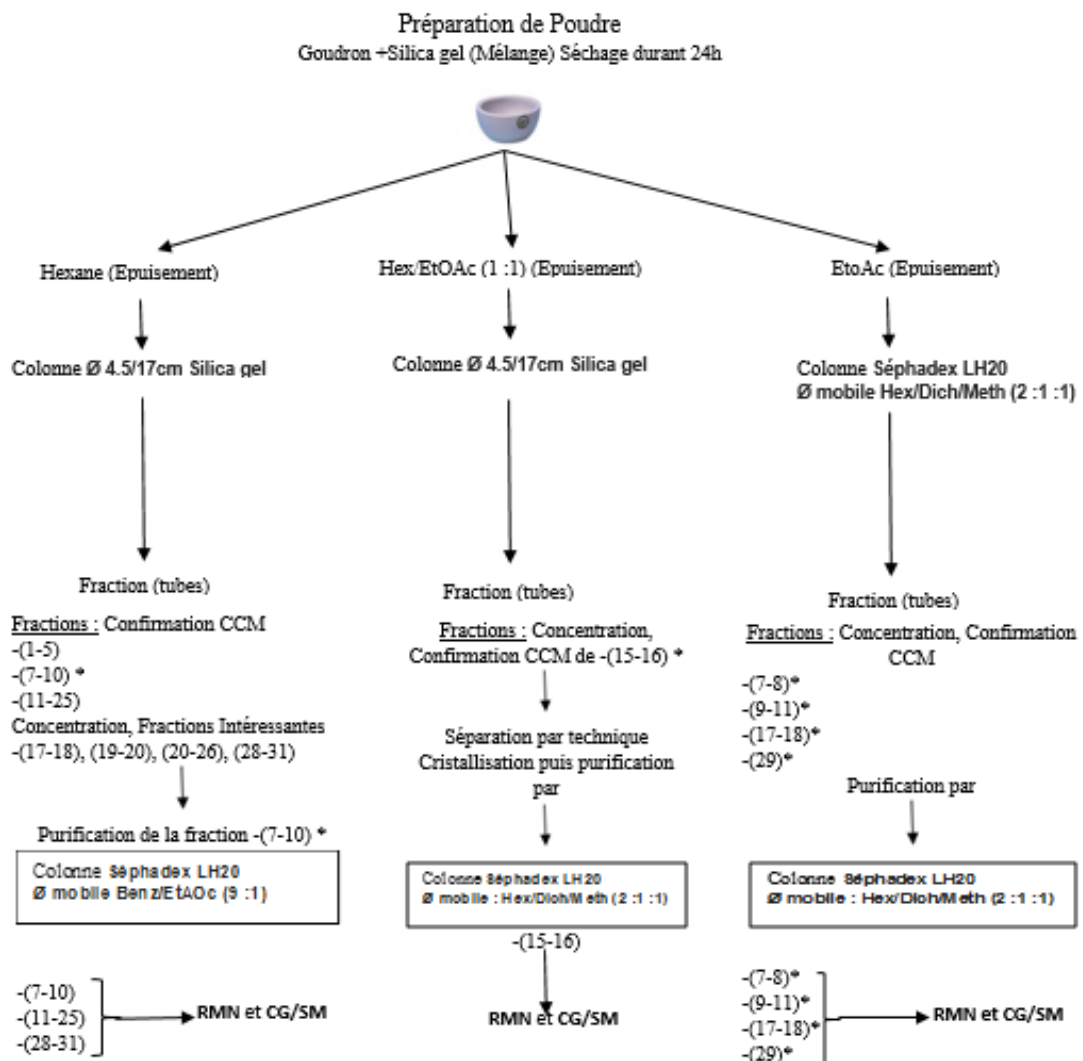
Eau distillée 40 ml

-Rose Bengal

Rose bengal 1g

Eau Distillée 200ml

Annexe B1 : Chimie, Isolement et purification des molécules

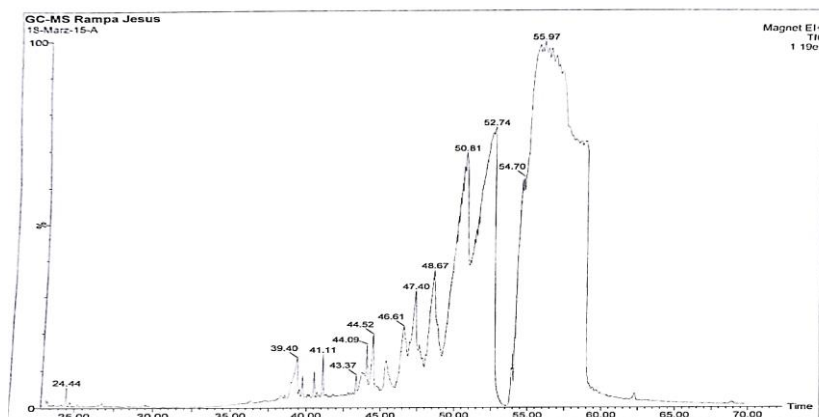
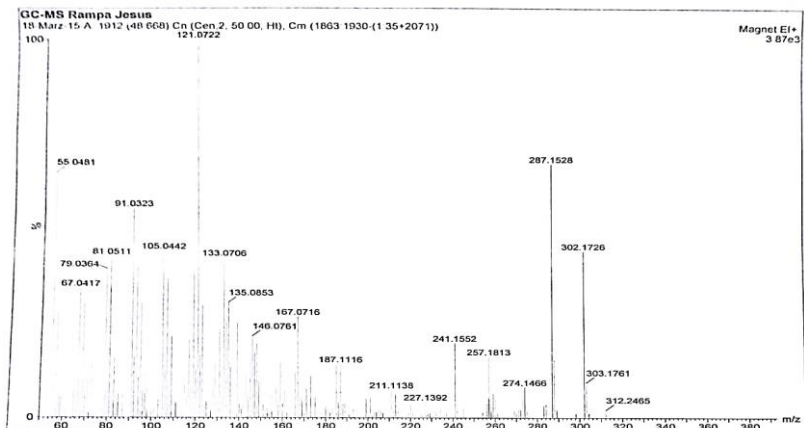
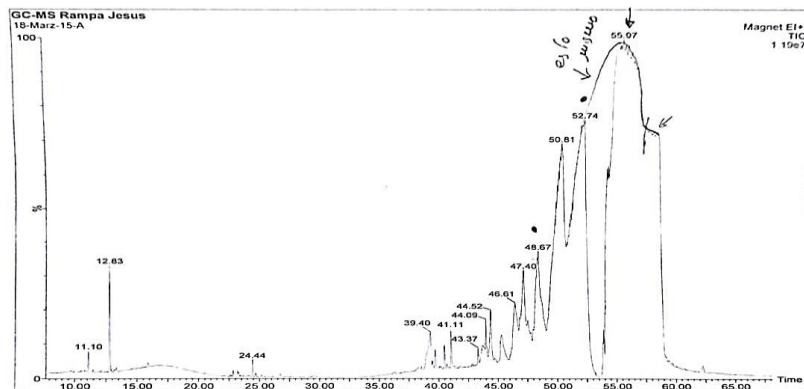


Annexe B2 :

Chromatographie en Phase gazeuse : Agilent 6890N, Spectrométrie de masse : VG AutoSpec

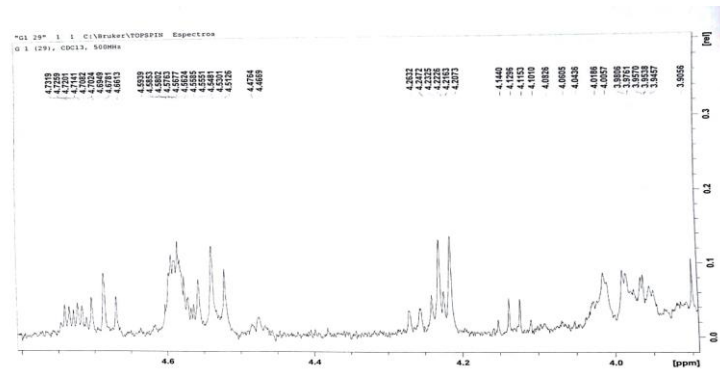
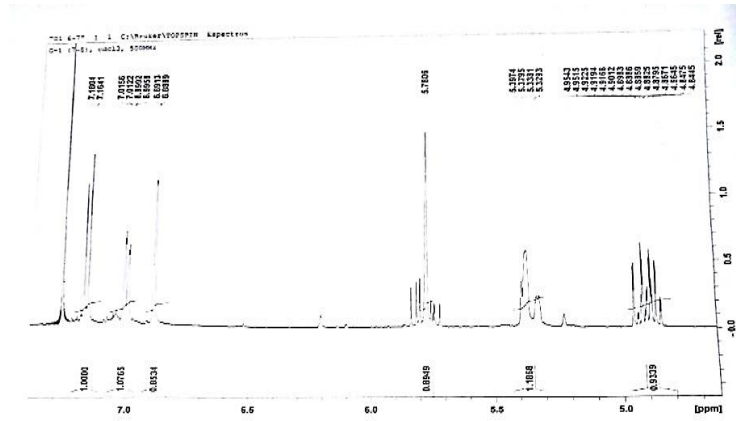
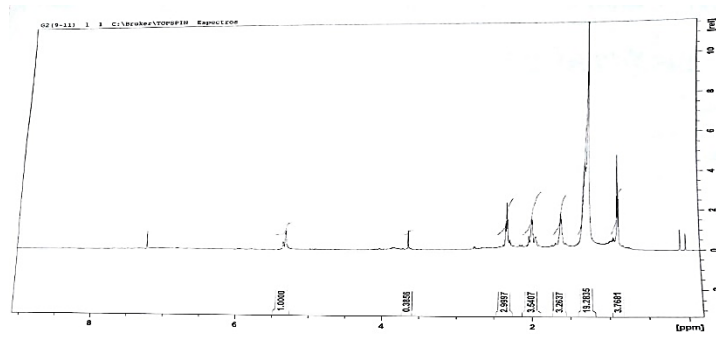
Conditions GC/MS :

- Température d'injecteur : 250°C
- Température d'initiation : 50°C (5 Minutes)
- 100°C (10°C/min) durant 15 minutes
- 200°C (10°C/min) durant 15 minutes
- 250°C (5°C/min) durant 5 minutes



GC-MS Rampa Jesus										Magnet E+									
18-Mar-15 A 1912 (48.656) Cn (Cen.2 50.00) Hl Cm (1863 1930 (1.35+2071))																			
No	Mass	Inten	%BPI	%IC	No	Mass	Inten	%BPI	%IC	No	Mass	Inten	%BPI	%IC					
1	53.0335	2.79e2	14.95	0.63	50	95.0295	6.09e1	1.55	0.07	109	114.0877	4.50e1	1.10	0.05					
2	54.0455	1.01e2	5.40	0.21	51	100.0241	1.70e1	0.44	0.02	110	114.0771	4.20e1	1.05	0.05					
3	55.0119	2.62e2	6.70	0.29	52	96.0328	5.93e1	1.52	0.06	101	114.0654	6.00e1	1.53	0.04					
4	56.0449	1.22e2	8.40	0.35	53	95.0384	2.83e2	7.31	0.31	102	114.0305	4.10e2	11.14	0.47					
5	56.0531	3.23e2	8.35	0.35	54	97.0409	2.33e2	6.81	0.25	103	110.0343	1.91e2	4.84	0.21					
6	56.0544	2.06e2	5.36	0.23	55	94.0484	2.94e2	7.60	0.32	104	117.0420	7.01e2	20.17	0.75					
7	57.0232	2.06e2	5.36	0.23	56	94.0484	2.94e2	7.60	0.32	105	118.0478	1.90e2	4.79	0.13					
8	57.0227	1.05e3	27.21	1.15	57	100.0196	5.13e1	1.33	0.05	106	121.0722	3.87e2	100.00	4.24					
9	58.0332	2.75e2	7.11	0.30	58	95.0384	2.83e2	7.31	0.31	107	120.0812	5.14e2	13.20	0.50					
10	59.0407	2.10e2	5.43	0.23	59	100.0196	5.13e1	1.33	0.05	108	122.0722	3.87e2	10.43	0.39					
11	60.0118	4.41e2	11.39	0.46	60	100.0331	4.20e1	1.05	0.05	109	122.0722	3.87e2	10.43	0.39					
12	61.0186	1.23e2	3.18	0.13	61	99.0517	7.00e1	1.90	0.08	111	124.0630	8.00e1	2.00	0.09					
13	62.0269	3.05e2	2.66	0.11	62	99.0517	7.00e1	1.90	0.08	112	124.0630	8.00e1	2.00	0.09					
14	66.0336	1.03e2	2.66	0.11	63	99.0590	7.00e1	1.90	0.08	113	125.0151	8.00e1	2.00	0.10					
15	68.0460	3.45e2	9.33	0.38	64	100.0331	4.20e1	1.05	0.05	114	125.0151	8.00e1	2.00	0.10					
16	67.0417	1.31e3	33.80	1.43	65	99.0335	4.75e1	1.24	0.05	115	125.0151	8.00e1	2.00	0.10					
17	69.0564	1.06e3	30.03	1.27	66	100.0474	5.20e1	1.32	0.06	117	126.0817	1.47e2	3.78	0.16					
18	69.0258	4.85e1	1.25	0.05	67	100.0437	5.10e1	1.32	0.06	118	126.0817	1.47e2	3.78	0.16					
19	70.0533	3.09e2	8.40	0.33	68	100.0568	6.20e1	1.60	0.07	119	127.0340	1.05e2	2.71	0.11					
20	70.0610	2.07e2	5.35	0.23	69	100.0520	5.90e1	1.52	0.06	120	127.0340	1.05e2	2.71	0.11					
21	71.0241	3.18e2	8.24	0.35	70	100.0568	6.20e1	1.60	0.07	121	127.0340	1.05e2	2.71	0.11					
22	71.0241	3.18e2	8.24	0.35	71	100.0331	4.20e1	1.05	0.05	122	127.0340	1.05e2	2.71	0.11					
23	71.0769	3.06e2	13.08	0.55	72	100.0295	1.83e2	4.85	0.20	123	128.0340	1.06e2	3.02	0.14					
24	72.0352	4.50e1	1.16	0.05	73	100.0364	2.30e2	6.05	0.25	124	130.0455	5.43e2	14.03	0.59					
25	72.0352	4.50e1	1.16	0.05	74	105.0442	1.70e3	43.85	1.80	125	130.0455	5.43e2	14.03	0.59					
26	73.0114	5.23e1	1.35	0.06	75	100.0568	6.20e1	1.60	0.07	126	130.0455	5.43e2	14.03	0.59					
27	74.0114	5.23e1	1.35	0.06	76	107.0592	1.41e3	36.52	1.55	127	131.0555	6.07e2	15.93	0.61					
28	74.0210	7.30e1	1.85	0.08	77	100.0564	6.20e1	1.60	0.07	128	131.0555	6.07e2	15.93	0.61					
29	75.0168	4.50e1	1.24	0.05	78	100.0329	5.60e1	1.45	0.06	129	131.0555	6.07e2	15.93	0.61					
30	75.0168	4.50e1	1.24	0.05	79	100.0241	1.70e1	0.44	0.02	130	132.0523	2.93e2	7.57	0.32					
31	77.0215	8.37e2	21.62	0.92	80	110.0508	8.33e1	2.15	0.09	131	134.0774	1.06e3	28.97	1.10					
32	78.0284	2.24e2	6.19	0.25	81	110.0508	8.33e1	2.15	0.09	132	135.0823	1.17e3	30.23	1.12					
33	78.0284	2.24e2	6.19	0.25	82	110.0795	1.55e2	4.00	0.17	133	134.0774	1.06e3	28.97	1.10					
34	78.0364	2.06e2	5.79	0.25	83	110.0508	8.33e1	2.15	0.09	134	137.0741	4.00e1	1.27	0.05					
35	80.0427	3.40e2	9.78	0.37	84	111.0204	4.50e1	1.16	0.05	135	138.0923	5.11e2	13.21	0.56					
36	81.0358	2.01e2	5.62	0.22	85	111.0204	4.50e1	1.16	0.05	136	137.0827	8.00e1	2.25	0.10					
37	82.0572	3.65e2	9.43	0.40	86	111.0204	4.50e1	1.16	0.05	137	137.0827	8.00e1	2.25	0.10					
38	83.0286	1.03e2	2.86	0.11	87	112.0232	1.70e2	4.40	0.19	138	137.0827	8.00e1	2.25	0.10					
39	83.0286	1.03e2	2.86	0.11	88	111.0501	1.44e2	3.72	0.16	139	137.0827	8.00e1	2.25	0.10					
40	83.0286	1.03e2	2.86	0.11	89	112.0232	1.70e2	4.40	0.19	138	138.0923	5.11e2	13.21	0.56					
41	84.0719	1.06e2	2.73	0.12	90	112.0232	1.70e2	4.40	0.19	139	138.0923	5.11e2	13.21	0.56					
42	85.0442	3.36e2	9.43	0.40	91	112.0460	8.05e1	2.08	0.09	140	140.0939	1.40e2	3.63	0.15					
43	85.0442	3.36e2	9.43	0.40	92	113.0247	2.06e1	0.54	0.02	141	141.0939	1.40e2	3.63	0.15					
44	87.0234	2.62e2	6.77	0.29	93	113.0247	2.06e1	0.54	0.02	142	141.0939	1.40e2	3.63	0.15					
45	91.0323	2.13e2	5.73	0.24	94	113.0247	2.06e1	0.54	0.02	143	141.0939	1.40e2	3.63	0.15					
46	92.0387	6.32e2	16.82	0.67	95	113.0247	2.06e1	0.54	0.02	144	141.0939	1.40e2	3.63	0.15					
47	92.0470	1.63e2	4.52	0.18	96	113.0247	2.06e1	0.54	0.02	145	141.0939	1.40e2	3.63	0.15					
48	94.0532	4.06e2	10.48	0.44	97	114.0268	4.60e1	1.19	0.05	146	141.0939	1.40e2	3.63	0.15					
49	95.0234	2.70e1	1.47	0.06	98	114.0268	4.60e1	1.19	0.05	147	143.0551	4.24e2	10.30	0.40					
50					99					148									
51					100					149									
52					101					150									
53					102					151									
54					103					152									
55					104					153									
56					105					154									
57					106					155									
58					107					156									
59					108					157									
60					109					158									
61					110					159									
62					111					160									
63					112					161									
64					113					162									
65					114					163									
66					115					164									
67					116					165									
68					117					166									
69					118					167									
70					119					168									
71					120					169									
72					121					170									
73					122					171									
74					123					172									
75					124					173									
76					125					174									
77					126					175									
78					127					176									
79					128					177									
80					129					178									
81					130					179									
82					131					180									
83					132					181									
84					133					182									
85					134					183									
86					135					184									
87					136					185									
88					137					186									
89					138					187									
90					139					188									
91					140					189									
92					141					190									
93					142					191									
94					143					192									
95					144					193									
96					145					194									
97					146					195									
98					147					196									
99					148					197									
100					149					198									
101					150					199									
102					151					200									
103					152					201									
104					153					202									
105					154					203									
106					155					204									
107					156					205									
108					157					206									
109					158					207									
110					159					208									

Spectres RMN, C13



Annexe C : Résultats du traitement en vivo :

1- l'Acide Déhydroabietique

Résultats moyennes de la dynamique des populations de FOA en fonction du temps, et selon le traitement du sol par L'acide Dehydroabiétique

Concentrations

1,4	5	5,6	3,1	1,7	0,4	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2	
1	5	7,2	4,8	3,6	2,9	2,7	2,3	2,3	2,2	2,2	
0,4	5	7,2	5,8	4,6	4,1	3,5	2,9	2,9	3	3,1	
0,1	5	7,3	4,2	4,1	4,1	3,8	3,2	3,8	4	3,9	
0	5	7,4	6,2	5,4	5,2	5	4,8	4,5	4,3	4,3	
	0	7	14	21	28	35	42	47	52	59	Jours

2- l'Acide Abiétique

Résultats moyennes de la dynamique des populations de FOA en fonction du temps, et selon le traitement du sol par L'acide Abiétique

Concentrations

1,4	5	4,9	3	2,5	2,3	1,7	1,2	1,2	1,2	1	
1	5	7,1	3,9	3	2,9	2,7	2,5	2,4	2,5	2,6	
0,4	5	7,4	6	4,3	4,2	3,8	3	3	2,7	3,1	
0,1	5	7	6,3	4,6	4,4	4	3,1	3,1	4	3,2	
0	5	7,5	6,4	5,6	5	5	4,7	4,5	4,4	4,7	
	0	7	14	21	28	35	42	47	52	59	Jours

3- l'Acide Pimarique

Représentation de la dynamique des populations de FOA en fonction du temps, et selon le traitement du sol par L'acide Pimarique

Concentrations

1,40%	5	5,5	3,2	2,1	2	1,7	0,7	0,7	0,6	0,6	
1,00%	5	7,1	4,6	3	3,1	2,7	2,1	2	1,9	1,4	
0,40%	5	7,5	6,4	4,3	4,5	3,8	3,1	3	3,3	3,6	
0,10%	5	7,3	6,3	4,8	4,4	4	3,1	3,3	4	4,2	
Témoin 0%	5	7,5	6,4	5,6	5	5	4,7	4,5	4,4	4,7	
	0	7	14	21	28	35	42	47	52	59	Jours

Annexe D : Etudes Statistiques

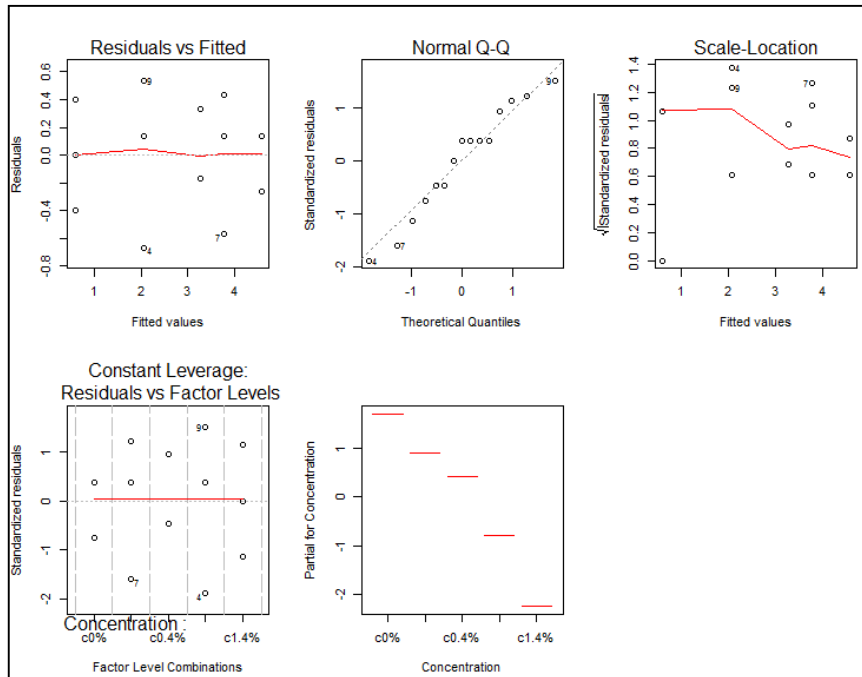


Figure 1: Caractérisation de l'effet du facteur concentration de substances testées sans tenir en compte de leur natures biochimiques

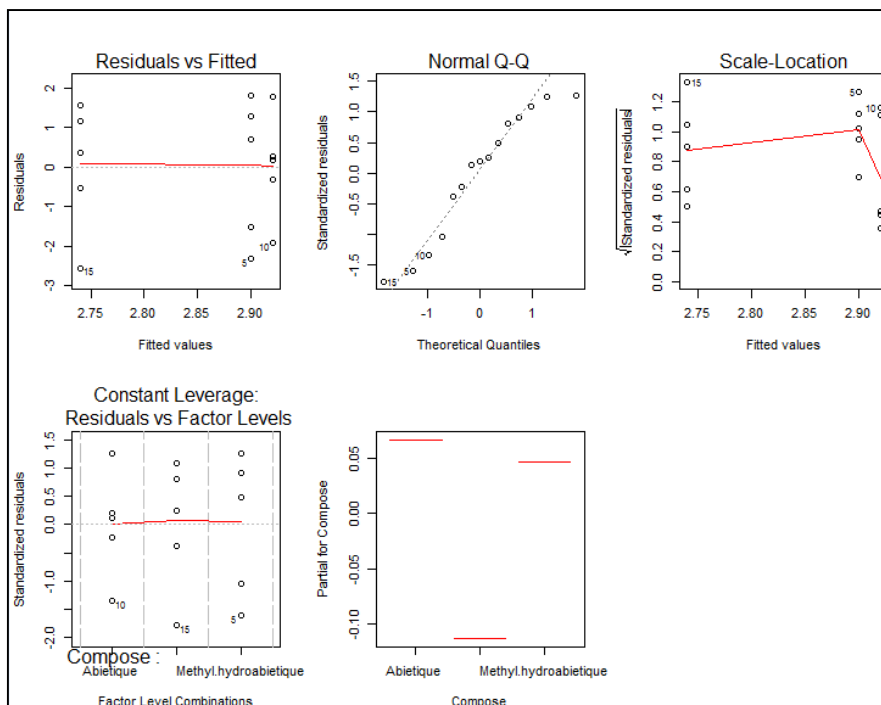


Figure 2: Caractérisation de l'effet du facteur 'compose' sans tenir en compte de la concentration