

SOMMAIRE

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Abréviations

Introduction.....01

Chapitre I: Revue bibliographique

1. Le palmier dattier.....03

1. 1. Présentation de la plante.....03

1. 2. Distribution géographique03

1. 3. L'origine.....06

1. 4. Structure générale d'un palmier dattier.....06

1.5. Position systématique.....07

1.6. Conditions écologiques.....08

1. 7. Importance économique du palmier dattier.....09

2. Généralité sur le genre *Fusarium*.....11

2. 1. Taxinomie.....11

2. 2. Écologie.....13

2. 3. Biologie de *Fusarium*.....14

3. L'espèce pathogène *Fusarium oxysporum*.....16

4. La fusariose vasculaire de palmier dattier18

4. 1. L'agent causal et colonisation de la plante hôte.....19

4. 2. Les symptômes de la maladie du Bayoud.....21

5. Morphologie de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*.....23

6. Activités enzymatiques.....	25
7. Utilisation des isoenzymes comme marqueurs moléculaire.....	25
8. Les protéines comme moyen d'identification.....	26
9. Moyens de lutte contre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i>	28
9.1. Mesures prophylactiques.....	28
9.2. La lutte chimique.....	28
9.3. Contrôle génétique.....	29
9.4. Lutte biologique.....	29

Chapitre II: Matériel et méthodes

1. Echantillonnage	31
2. Isolement des souches de <i>Fusarium</i> sp.....	32
2. 1. Conservation des isolats de <i>Fusarium</i> sp.....	35
3. Test du pouvoir pathogène.....	35
3. 1. Production de plantules de palmier dattier.....	35
3. 2. Préparation de l'inoculum.....	36
3. 3. Inoculation des plantules.....	36
4. Activités Enzymatiques.....	37
4. 1. Activité amylasique du <i>Fusarium</i> sp.....	37
4. 2. Activité cellulolytique du <i>Fusarium</i> sp.....	38
5. Etude de la variabilité isoenzymatiques et des protéines totales.....	38
5. 1. Dosage des protéines par la méthode de Bradford.....	39
5. 2. Electrophorèse d'isoenzymes.....	39
5. 2. 1. Préparation des gels de polyacrylamide et conditions de migration.....	40
5. 2. 2. Révélation des bandes électrophorétique.....	41

5. 2. 3. Analyse des zymogrammes.....	43
6. Test d'antagonisme <i>in vitro</i>	43
6. 1. Évaluation de la croissance mycélienne.....	44

Chapitre III: Résultats et discussion

1. Isolement du <i>Fusariums</i> sp.....	45
2. Description et identification des isolats de <i>Fusarium</i> sp.....	46
3. Test du pouvoir pathogène.....	49
4. Activités Enzymatiques	54
4. 1. Activité amylasique du <i>Fusarium</i> sp.....	54
4. 2. Activité cellulolytique du <i>Fusarium</i> sp.....	55
5. Corrélation entre la pathogénicité et les deux enzymes.....	58
6. Etude de la variabilité isoenzymatiques et des protéines totales.....	60
6. 1. Estérase.....	60
6. 2. L'acide phosphatase.....	61
6. 3. Analyse du cluster d'isozymes.....	63
7. Electrophorèse des protéines totales.....	64
7. 1. Analyse du cluster protéique	65
8. Test d'antagonisme <i>in vitro</i>	67
Discussion.....	69
Conclusion et perspectives.....	77

<i>Références bibliographiques</i>	79
--	----

Annexes

ABRÉVIATIONS

ACP	Analyse en composantes principales
AgNO₃	Nitrate d'argent
B1-Bn	Bandes
BSA	L'albumine de sérum bovin
DO	Densité optique
EST	Estérase
FAO	Organisation pour l'Alimentation et l'Agriculture
Foa	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i>
GYP	Glucose Yeast Peptone
HAc	Acide acétique
HCHO	Formaldéhyde
INPV	Institut National de la Protection des végétaux
K₂HPO₄	di-potassium mono-hydrogenphosphate
Mg Cl₂	Chlorure de Magnesium
MgSO₄	Sulfate de magnesium
MnCl₂	Le chlorure de manganèse
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
Na₂S₂O₃	Thiosulfate de Sodium
PAC	Phosphatase acide
PSA	Potato-Sucrose-Agar
SDS	Dodecyl Sulfate de Sodium
SNA	Synthetisches Nährstoffarmer Agar
TEMED	N,N,N',N'tétraméthyléthylènediamine
ZnSO₄	Sulfate de Zinc

ملخص

يعتبر الذبول الوعائي لنخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) الذي تسببه *Fusarium* شمال إفريقيا، مما أدى إلى اختفاء 20 مليون نخلة ، بما في ذلك ثلاثة ملايين من نخيل الجزائر، منذ ظهور هذا المرض سنة 1870.

مجموعة من العزلات تمثل تنوع *Foa* جمعت من واحات النخيل التي بها أعراض المرض إضافة إلى ثلاث عزلات تم جمعها من التربة المجاورة، استخدمت في هذه الأطروحة.

أولاً، كان التوصيف المظهري الذي أجري على 23 عزلة ناتجة عن العزل من عينات مختلفة، قادراً على تحديد مجموعة من العزلات متعددة الأشكال من حيث السلوك فيما يتعلق باختبارات التي أجريت. بالنسبة لجميع العزلات، لوحظت مظاهر مورفولوجية مختلفة، وهي: رقيق، قطني، رقيق مجعد وزغب مجعد، مع تباين في التصبغ بين العزلات.

وكشفت نتيجة اختبار الأمراض أن 20 عزلة من *Foa* كانت ممرضة وقادرة على إحداث أعراض البيوض في شتلات النخيل، مع معدل وفيات مختلف.

تم تحليل جميع العزلات من أجل تباين الإنزيم في نظامين إنزيمين: *estérase* (EST) وحمض *phosphatase* (PA) وتعدد الأشكال الكلي للبروتين باستخدام الترسيب الكهربائي للهلام بواسطة *polyacrylamide* وقد لوحظ تعدد الأشكال المظهرية في كل من نظم الانزيمات والبروتينات الكلية.

يشير تقييم التأثير التضادي لـ *Trichoderma longibrachiatum* إلى أن نمو *Foa* قد تم تثبيطه بواسطة هذا الخصم بأكثر من 60%.

الكلمات المفتاحية: *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*، تنوع، Bayoud، متشابهات الإنزيم ، المكافحة البيولوجية، الأمراض، الهجرة الكهربائية.

Résumé

La fusariose vasculaire du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa) est considérée comme l'une des maladies les plus graves, qui présente une menace permanente pour les palmeraies de l'Afrique du Nord, et entraîne la disparition de 20 millions de palmiers, dont trois millions de palmiers algériens, depuis sa parution en 1870.

Une collection des isolats représentatifs de la diversité des populations de Foa provenant de palmeraies symptomatiques et trois isolats collectés à partir de la rhizosphère ont été utilisés dans cette thèse.

Tout d'abord la caractérisation phénotypique réalisée sur les 23 isolats issus de différents échantillons, a pu repérer des groupes d'isolats polymorphes en termes de comportement vis-à-vis des différents tests réalisés.

Pour l'ensemble des isolats, différents aspects morphologiques ont été observés, il s'agit de type: duveteux, cotonneux, duveteux frisé et ras frisé, avec une variabilité dans la pigmentation entre les isolats.

Le résultat du test de pathogénicité a révélé que les 20 isolats de Foa étaient pathogènes et capables d'induire des symptômes de Bayoud, chez les plantules de palmiers dattiers, avec des pourcentages de mortalité variables.

Tous les isolats ont été analysés pour étudier la variabilité isoenzymatique dans deux systèmes: l'estérase (EST) et l'acide phosphatase, ainsi que le polymorphisme des protéines totales, en utilisant l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Le Polymorphisme phénotypique a été observé à la fois dans les deux systèmes isoenzymatiques et les protéines totales.

L'évaluation de l'effet antagoniste de *Trichoderma longibrachiatum*, indique que la croissance du Foa a été inhibée par cet antagoniste à plus de 60%.

Mot-clés: Algérie, Bayoud, Biodiversités, Electrophorèse, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, Isoenzymes, Lutte biologique, Pathogénicité.

Abstract

Fusarium wilt of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa), is considered as one of the most serious diseases, which presents a permanent threat to the palm groves of North Africa, and leads to the disappearance of 20 million palm trees, including three million in Algeria, since 1870.

A 20 representative isolates of Foa populations were isolated from symptomatic palm groves, in addition to three isolates collected from the rhizosphere, were used in this thesis.

First of all, the phenotypic characterization carried out on 23 isolates has led to identify groups of polymorphic isolates regarding the different tests performed.

For all the isolates, different morphological aspects were observed, such: cottony, fluffy curly and fluffy, with variability in the pigmentation between the isolates.

The result of the pathogenicity test revealed that the 20 isolates of Foa were pathogenic and able to induce Bayoud symptoms, in date palm seedlings, with a variable mortality rates.

All isolates were analyzed for isozymes variability with two enzymatic systems: esterase (EST) and acid phosphatase, and total protein polymorphism, using polyacrylamide gel electrophoresis. Phenotypic polymorphism has been observed in both isozymes systems and total proteins.

Evaluation of the antagonistic effect of *Trichoderma longibrachiatum* indicates that the growth of Foa was inhibited by this antagonist with more than 60%.

Keywords: Algeria, Bayoud, Biodiversity, Biological control, Electrophoresis, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, Isozyme, Pathogenicity.

Liste des figures

Figure	1:	Distribution de l'espèce <i>Phoenix</i> (Gros-Balthazard, 2013).....	04
Figure	2:	Représentation schématique du palmier dattier (Munier, 1973).....	07
Figure	3:	Evolution de la production mondiale de datte (en tonnes) (Dawson, 2017).....	10
Figure	4:	Principaux producteurs mondiaux (Dawson, 2017).....	10
Figure	5:	Les principaux systèmes taxinomiques du <i>Fusarium</i> (Nelson, 1991)..	13
Figure	6:	Terminologie pour décrire la morphologie du genre <i>Fusarium</i> (de Hoog <i>et al.</i> , 2011).....	16
Figure	7:	Cycle de <i>Fusarium</i> sp.: Illustration des différents modes d'action (Caron, 2000).....	18
Figure	8:	Répartition et extension du Bayoud en Algérie et en Afrique du nord (INPV, 2011).....	19
Figure	9:	Premiers symptômes typiques de la maladie de Bayoud.....	22
Figure	10:	Symptômes de la maladie de Bayoud; A: hémiplegie sur une palme; B: nécrose d'un rachis.....	23
Figure	11:	Palmeraie mortes dans les zones du Sud Oust (Adrar).....	23
Figure	12:	Caractéristiques microscopiques de Foa.....	24
Figure	13:	Carte présent les trois régions d'échantillonnage.....	31
Figure	14:	Palmier infecté par le Bayoud.....	32
Figure	15:	Rachis de palmiers dattiers défolié.....	33
Figure	16:	Symptômes internes de Bayoud.....	33
Figure	17 :	Fragments du rachis présentant les symptômes du Bayoud.....	33
Figure	18:	Germination des noyaux de dattes.....	36
Figure	19:	Plantules de palmier dattier âgés de 5 à 6 mois au stade de 2 feuilles avant leur inoculation artificielle	37
Figure	20:	Inoculation des plantules de palmier dattier par la suspension des spores où sont regroupées les racines jeunes.....	37
Figure	21:	Le développement de Foa sur milieu PSA à partir des rachis infecté.	45
Figure	22:	Quelques morphotypes de <i>Fusarium</i> sp. après la culture monospore.....	45
Figure	23:	Différents aspects morphologiques des isolats de <i>Fusarium</i>	47
Figure	24:	Observation microscopique des spores de <i>Fusarium</i> sp.....	48
Figure	25:	Plantules de palmier dattier au stade de deux feuilles après une semaine d'inoculation artificielle sous serre.....	50
Figure	26:	Résultat du test de pathogénicité.....	50
Figure	27:	Symptômes induits par Foa sur une jeune racine de palmier dattier.....	52
Figure	28:	Coupe histologique transversale réalisée sur une racine d'une plantule témoin.....	54
Figure	29:	Observation microscopique des coupes histologiques.....	54
Figure	30:	Activité amylasique chez Foa et <i>Fusarium</i> sp. du sol.....	56
Figure	31:	Activité cellulosique chez Foa et <i>Fusarium</i> sp. du sol.....	58
Figure	32:	Composantes principales calculées avec les corrélations.....	59
Figure	33:	Profils d'estérase isozyme de <i>Fusarium</i> sp.....	61
Figure	36:	Profils d'acide phosphatase isozyme de <i>Fusarium</i> sp.....	62

Figure 35:	Dendrogramme de similarités par distance chez 23 isolats de <i>Fusarium</i> sp. révélé par JMP pour l'estérase et l'acid phosphatase.	63
Figure 36:	Profils des protéines totales des isolats de <i>Fusarium</i> sp.....	65
Figure 37:	Dendrogramme de similarités par distance des protéines totales chez les 23 isolats de <i>Fusarium</i> sp. révélé par JMP	66
Figure 38:	Confrontation de <i>T. longibrachiatum</i> avec Foa.....	68

Liste des tableaux

Tableau 1: Répartition de production de datte par wilaya (SIDABTECH, 2017)...	05
Tableau 2: Téléomorphes de différentes espèces de <i>Fusarium</i> (Leslie et Summerell, 2006; Brown et Proctor, 2013).....	14
Tableau 3: Composition des gels d'électrophorèse (Leme <i>et al.</i> , 2013).....	41
Tableau 4: Enzymes et solutions de révélation utilisés dans cette étude (Skovgaard et Rosendahl, 1998; Koretsky, 2001; Leme <i>et al.</i> , 2013).....	42
Tableau 5: Description de vingt-trois isolats de <i>Fusarium</i> sp.....	49
Tableau 6: Pourcentages cumulés des plantules mortes par semaines et par isolats à partir du 15 ^{ème} jour suivant l'inoculation	51
Tableau 7: Analyse de la variance des nombres cumulés de plantules mortes....	52
Tableau 8: Comparaison des moyennes (\pm erreur-type) d'origine géographique sur le taux de mortalité, au moyen des moindres carrés	53
Tableau 9: Diamètre d'activité amylasique du <i>Fusarium</i> sp.....	55
Tableau 10: Diamètre d'activités cellulosiques du <i>Fusarium</i> sp.....	57
Tableau 11: Vecteurs propres.....	60
Tableau 12: Évaluation de la croissance mycélienne.....	67

Les plantes de végétation forestière ou agricole ont des importances essentielles dans la vie des être humains et des animaux, surtout pour les populations qui travaillent dans l'agriculture. Les produits agricoles, en particuliers, sont attaquées par plusieurs pathogènes provoquant une détérioration des rendements agricoles, ainsi que d'une décroissance économiques des pays.

Il s'agit notamment des genres de champignons telluriques, telle que les *Fusarium* qui sont capables d'infecter les racines de plantes sauvages et cultivées. A titre exemple des plantes touchées, on trouve le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) l'une des espèces les plus importantes de la famille des *Palmaceae* (El kinany *et al.*, 2017), qui appartient au plantes, emblématique du désert, fruitière, dioïque, tropicale d'intérêt écologique, économique et social majeur pour de nombreux pays des zones arides et semi-arides qui comptent parmi les plus pauvres du globe.

De plus, le développement de la phœniciculture permet de lutter durablement contre l'insécurité alimentaire dans les régions où la désertification est accélérée par les changements climatiques. En effet, le palmier dattier est largement cultivé pour ses multiples usages et ses services écosystémiques, en particulier pour ses fruits comestibles, et pour sa capacité d'adaptation aux conditions des climats arides les plus sévères, en créant au milieu du désert un microclimat favorable au développement de cultures sous-jacentes, constitue l'axe principal de l'agriculture dans les régions désertiques et permettant le développement de diverses formes de vie animale et végétale indispensables pour le maintien et la survie des populations du désert (Gros-Balthazard, 2013).

L'Algérie est un pays phœnicicole classé au 3^{ème} rang mondial et au premier rang dans le Maghreb pour ses grandes étendues de culture avec 166900 hectares, cette surface occupe toutes les régions situées sous l'Atlas saharien, depuis la frontière Tuniso-Libyenne Est jusqu'à la frontière Marocaine, avec environ 18605100 palmiers, localisée dans les oasis de Zibans, Souf, cuvette de Ouargla, vallée du Mzab, Touat...ect, dont le potentiel productif est de 9.641.680 9903600, soit 66 % avec sa production annuelle moyenne de dattes de 500 000 tonnes (SIDABTECH, 2017).

Malheureusement, cette plante est décimée durant les dernières années par la maladie dite fusariose vasculaire ou Bayoud causée par un champignon Ascomycète Imparfait, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa), peut-être en provenance du Maroc, cette maladie constitue une grave menace pour les palmeraies de l'Afrique du Nord.

Elle sévit actuellement au Maroc, au Sud et Sud-ouest Algérien et quelques localités de la palmeraie Mauritanienne (Oubella *et al.*, 2017). En effet, depuis son apparition en 1870 en Afrique du Nord, on estime qu'elle a entraîné la disparition de 20 millions de palmier, dont trois millions de la palmeraie Algérienne. Effectivement, le Bayoud provoque non seulement une réduction de la production des dates, la nourriture principale des humains et des animaux dans le désert, mais aussi un déséquilibre de l'écosystème des oasis (désertification, disparition des cultures sous-jacentes: céréales, fourrage, légumes et arbres fruitiers) (El Modafar, 2010).

Néanmoins, les études effectuées jusqu'à présent sur la fusariose vasculaire du palmier dattier n'ont pas abouti à un traitement efficace pour limiter les dégâts dus à cette grave maladie, à cause de la localisation très interne du parasite, et le manque de certaines données sur les interactions entre l'agent causal et leur hôte au moment de la colonisation (Ait Kettout et Rahmania, 2013; Lamari *et al.*, 2014). Les méthodes de lutte adoptées, généralement basées sur quelques essais de traitement chimique, et de l'incinération des foyers bayoudés, ces méthodes n'ont jamais ralenti la dissémination du Bayoud dans les palmeraies non affectées.

Durant les travaux de cette thèse, nous nous sommes intéressés dans un premier temps, de rechercher d'éventuelles variations morphologiques et pathogéniques sur une collection d'isolats issus des différentes palmeraies du Sud-ouest Algérien.

En deuxième lieu, d'étudier l'utilisation des isoenzymes et des protéines totales comme marqueurs moléculaire pour étudier la biodiversité phénotypique des isolats.

Enfin, la souche *Trichoderma longibrachiatum* a été utilisée *in vitro* comme antagoniste contre Foa, du point de vue du contrôle biologique.

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

UNIVERSITÉ DE
CÔTE D'IVOIRE
FACULTÉ DE
SCIENCE
DEPARTAMENT DE
INFORMATIQUE

1. Le palmier dattier

1.1. Présentation de la plante

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est une plante dioïque, monocotylédone, appartenant à la famille des *Arecaceae*, anciennement *Palmaceae* (Dransfield *et al.*, 2008b; Salem *et al.*, 2001), qui comprend 200 genres et plus de 2500 espèces, cette plante est cultivé depuis plus de 4000 ans, le genre comprend environ 14 espèces réparties dans le désert, zone tropicale et subtropicale du globe (Moussouni *et al.*, 2013; Gros-Balthazard, 2013; Al Antary *et al.*, 2015; El kinany *et al.*, 2017; Bentrads *et al.*, 2017). Il fut propagé en dehors de son aire de culture non seulement pour ses fruits mais aussi pour ses intérêts culturels et ornementaux (Figure 1).

La première description du palmier dattier est le fruit du travail du botaniste suédois Linné qui, en 1753, attribue le nom botanique de *Phoenix dactylifera* (Munier, 1973). Son nom de genre *Phœnix* dérive de Phoinix, nom donné à cette plante par les grecs de l'antiquité qui le considéraient comme l'arbre des phéniciens (un peuple à la peau de couleur rouge foncé, de tradition phoenicicole et originaire du pays de Pount ou corne de l'Afrique). Une autre origine du nom de *Phoenix* fait allusion à un oiseau mythique égyptien, le phénix, qui renaît de ses cendres après l'incendie, comme se régénère le palmier après le passage d'un feu (Ouennoughi et Dubost, 2005; Gros-Balthazard *et al.*, 2013).

Son nom d'espèce *dactylifera* comprend les mots latins *dactylus* signifiant doigt par référence à la forme des fruits semblables à des doigts et *fera* signifiant « je porte ». Cette appellation fait référence aux phéniciens, porteurs de dattes, qui auraient participé à la diffusion de la culture du palmier dattier au sein de la Mésopotamie (Djerbi, 1994; Chao et Krueger, 2007; Gros-Balthazard *et al.*, 2013). Toutefois, l'espèce *Phoenix dactylifera* L. se distingue des autres espèces du même genre par un tronc long et grêle et par des feuilles glauques.

1.2. Distribution géographique

Le palmier dattier est cultivé sur une vaste zone s'étendant du 44° parallèle Nord (SanRemo, Italie) jusqu'à 33° Sud (Petra, Australie). L'aire de

prédilection du palmier dattier se situe principalement entre le 24° et le 35° Nord, sur un patrimoine phoenicicole couvrant 1 264 611 ha, environ 98 % (soit 1 257 649 ha) correspondent aux zones arides et semi-arides d'Asie (67 %) et d'Afrique (31 %) (Hazzouri *et al.*, 2015; Bentradi *et al.*, 2017) (Figure 1), Ces régions sont composées essentiellement de pays arabo-musulmans (Arabie Saoudite, Bahreïn, Emirats, Iran, Iraq, Kuwait, Oman, Pakistan, Yémen, Algérie, Egypte, Libye, Maroc et Tunisie), dans lesquels se partagent la majeure partie de la production mondiale des dattes, estimé à 7 millions de tonnes en 2012. Les pays du Moyen-Orient et d'Asie mineure totalisent 67 % de la production totale suivi des pays d'Afrique du Nord avec 36 %, c'est une production à caractère traditionnelle et culturelle (Zaid, 2002; Chao et Krueger, 2007; FAOSTAT, 2009; El-Shafie, 2012).

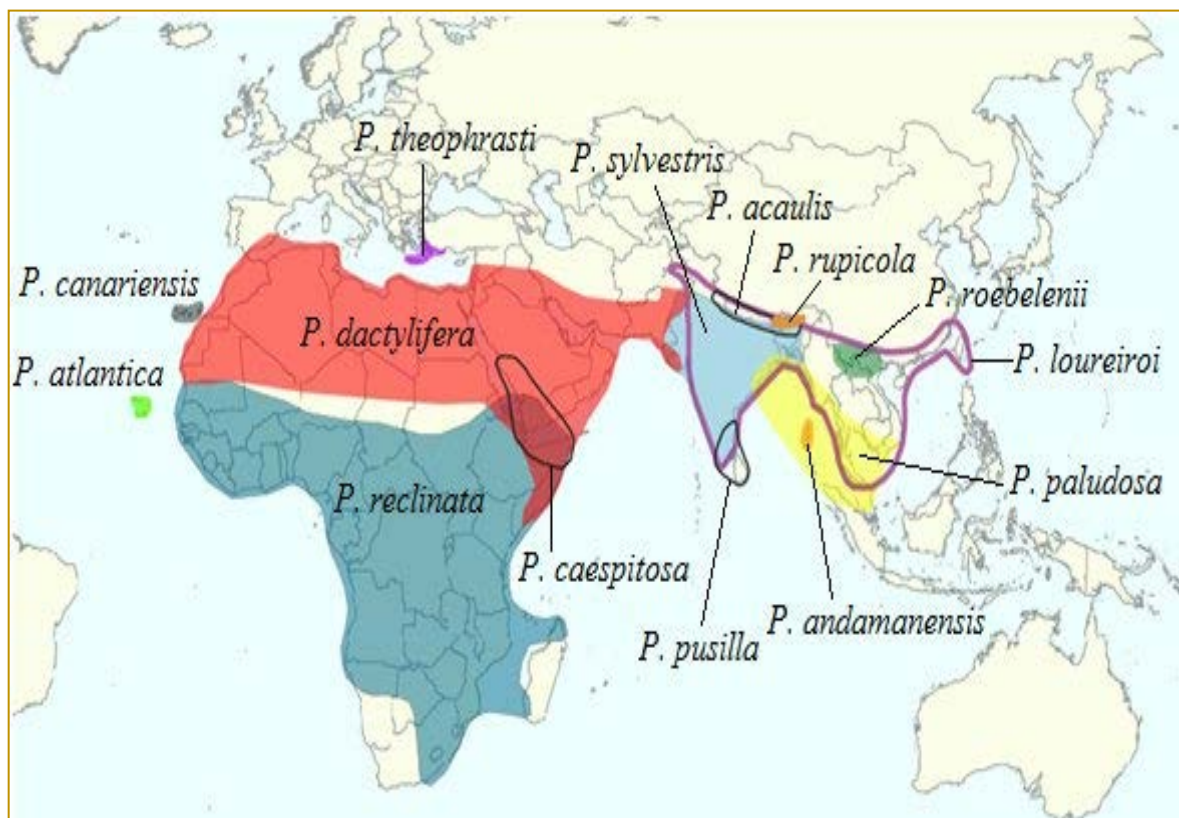


Figure 1: Distribution de l'espèce *Phoenix* (Gros-Balthazard, 2013; Gros-Balthazard *et al.*, 2013)

En Algérie, le palmier dattier (*Phoenix Dactylifera* L.) constitue la composante principale de l'écosystème oasien. Il est cultivé au niveau de 16 wilayas avec une

surface de 166900 hectares, occupe toutes les régions situées sous l'Atlas saharien, depuis la frontière Tuniso-Libyenne Est jusqu'à la frontière Marocaine Ouest, avec environ 18.605.100 palmiers, localisée dans les oasis de Zibans, Souf, cuvette de Ouargla, vallée du Mzab, Touat...ect, dont le potentiel productif est de 990000 tonnes, soit 66 % avec sa production annuelle moyenne de dattes de 500 000 tonnes (Tableau 1), cependant, 4 wilayas représentent 89% du patrimoine phoenicicole national: Biskra 41, 17 %, Adrar 9,19 %, El-oued 24, 98 % et Ouargla 13 %. Notons que dans ces régions sont produites les belles dattes, Deglet Nour et autres variétés commerciales: Ghars, Mech Degla, Degla Baida... (Quinten, 1996; Feliachi, 2005; Aberlenc-Bertossi, 2010; Anonyme, 2012a; SIDABTECH, 2017).

Tableau 1: Répartition de production de datte par wilaya (SIDABTECH, 2017).

Wilaya	Production (quintal)	Nombre de palmiers dattiers	Superficie (hectare)
Biskra	4077900	4315100	42910
El Oued	2474000	3788500	36680
Ouargla	1296300	2576600	21980
Adrar	910300	3799000	28330
Ghardaïa	565000	1246500	10850
Béchar	300500	1639800	14120
Tamanrasset	109400	688900	7000
Khenchela	68200	124400	770
Tébessa	20500	61800	820
Laghout	16200	37300	320
Illizi	15600	129100	1250
Batna	14000	28700	190
El Bayadh	10300	63900	640
Naama	10200	50600	510
Tindouf	8400	45200	430
Djelfa	6800	10100	100
Total	9903600	18605100	166900

1.3. L'origine

Pour nous concentrer sur le Sahara, l'histoire des oasis nous est assez mal connue, car en dépit de l'abondance des sites et de la longue occupation du Sahara au néolithique (12 000 - 4000 ans av. J-C), dans une phase beaucoup plus humide que l'actuelle, il n'existe pas d'évidence directe que l'agriculture y était alors vraiment pratiquée. L'opinion, diffusionniste, la plus courante est de supposer que l'oasis à palmier dattier fut inventée dans le golfe Persique, le centre présumé de domestication de cette plante.

L'origine géographique précise du palmier dattier paraît très controversée. Elle fait l'objet de plusieurs hypothèses. Selon Munier (1973), le palmier dattier résulterait de l'hybridation de plusieurs types de *Phoenix* et sa domestication aurait eu lieu dans la région orientale du Sahara. Cependant, des travaux de Zohary et Hopf (1988) ont rapporté l'existence d'un ancêtre sauvage du palmier dattier, qui serait localisé dans la région méridionale chaude et sèche du Proche Orient, au Nord Est du Sahara et au Nord du désert d'Arabie. La domestication du palmier dattier sauvage remonterait à environ 3700 ans avant J. C. Il a fait partie de la période Chalcolithique avant l'âge de bronze. Des vestiges de palmier dattier ont été mis en évidence dans le site archéologique de Hili dans la péninsule d'Oman qui révèle l'existence d'oasis depuis plus de 3000 ans avant J. C (Cleuzio et Constantini, 1982; Chao et Krueger, 2007; El-Shafie, 2012).

Des travaux plus récents ont montré que le palmier dattier proviendrait de la domestication d'une population sauvage de la même espèce (Cleuzio et Constantini, 1982; HAL, 2008; Mahmoudi *et al.*, 2008; Pintaud *et al.*, 2010).

1.4. Structure générale d'un palmier dattier

Phoenix dactylifera (Arecaceae), c'est un grand palmier de 10 à 30 mètres avec un stipe cylindrique, robuste, droit, sans ramification (Figure 2). Ce dernier porte une couronne de feuilles (palmes) et désignées sous le nom arabe « Djerid », ces dernières sont pennées finement divisées et longues de 4 à 7 mètres. Les inflorescences mâles et femelle appelées spadices sont enveloppées d'une très grande bractée membraneuse. Un palmier a une espérance de vie de

250 à 300 ans (Dransfield *et al.*, 2008b). En générale, la voie de multiplication la plus utilisé de palmier dattier est la voie végétative, grâce aux rejets produits à la base du stipe.

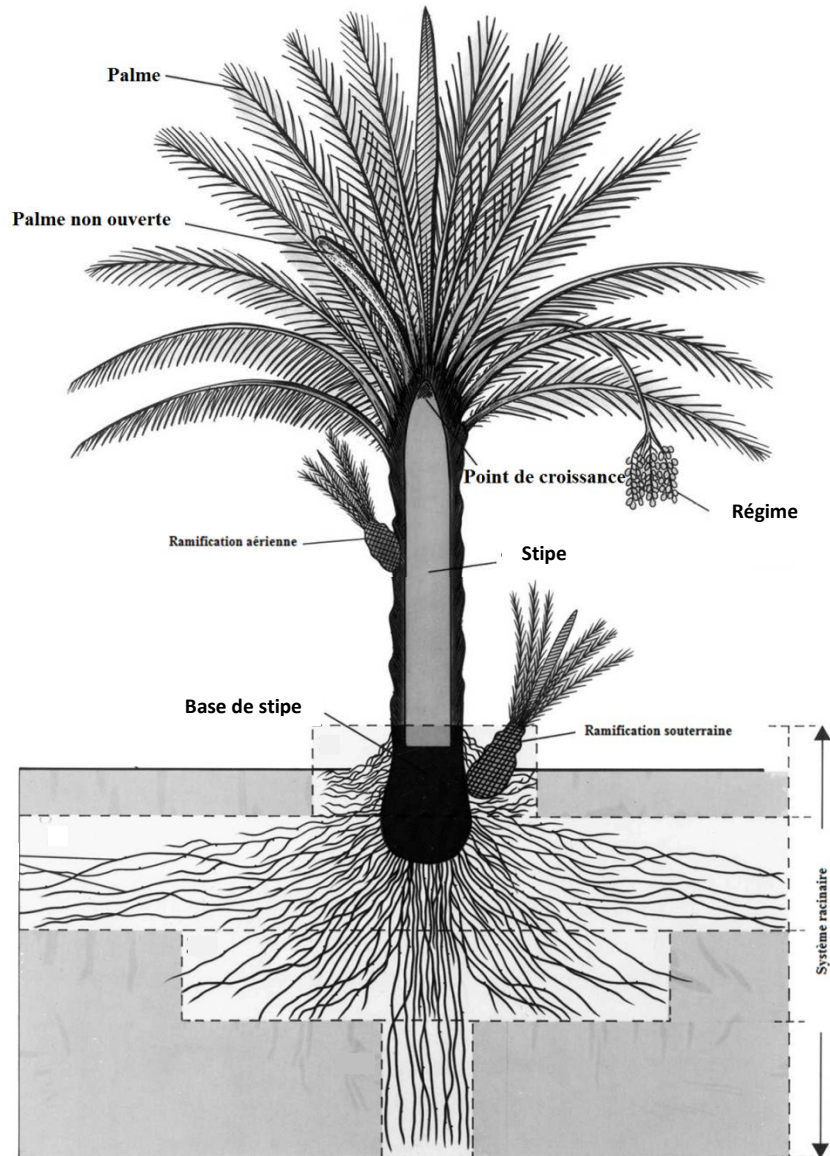


Figure 2: Représentation schématique du palmier dattier (Munier, 1973; Chao et Krueger, 2007)

1.5. Position systématique

La classification botanique du palmier dattier donnée par Feldman (1976) et Djerbi (1994) est la suivante:

Groupe : Spadiciflores

Embranchement : Angiospermes

Classe : Monocotylédones

Ordre : Palmales

Famille : *Arecaceae*

Sous-famille : *Coryphoïdaea*

Tribu : *Phoeniceae*

Genre : *Phoenix*

Espèce : *dactylifera* L.

1.6. Conditions écologiques

Le palmier dattier offre de large possibilité d'adaptation, c'est une espèce thermophile ayant une activité qui se manifeste à partir d'une température minimum de 7 à 10°C. L'intensité maximale de la végétation est atteinte à des températures dépassant 30°C et une forte luminosité, cette température se stabilise ensuite et commence à décroître vers 38 - 40°C. Mais le palmier dattier supporte sans dégâts de fortes et de basses températures de + 50°C à – 5°C (Munier, 1973; Chao et Krueger, 2007).

L'espèce préfère les sols légers, mais peut s'accommoder de tous les sols des régions arides et semi-arides. Toutefois, 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. Le dattier peut résister à des sécheresses prolongées, mais a cependant des exigences en eau pour la production dattière. Il est également très tolérant au sel, mais seulement sous forme de chlorures jusqu'à 22 000 ppm selon Gepts (1998). Les sulfates sont tout à fait toxiques (Jahiel, 1989). La concentration extrême de la solution de sel est de 15 %. Au delà de 30 % le dattier dépérit. C'est pourquoi il est nécessaire de réaliser un système efficace de drainage dans les sols à haute concentration en sels ou dans les cas d'irrigation avec des eaux saumâtres.

Les conditions optimales d'implantation sont d'un arbre tous les 6 à 8 mètres pour permettre un bon niveau d'éclaircissement des plantes et une bonne maturation des dattes.

1.7. Importance économique du palmier dattier

Le palmier fait partie d'une des trois familles les plus utilisées par l'homme après les *Poaceae* et *Fabaceae* (Aberlenc-Bertossi, 2012), est une composante essentielle de l'écosystème oasien des régions sahariennes et pré-sahariennes (Toutain *et al.*, 1990; Chakroune *et al.*, 2005), grâce à sa remarquable adaptation aux conditions climatiques, les valeurs nutritionnelles de ses fruits riche en acides aminés, vitamines, glucides et minéraux et les multiples utilisations de ses produits (Bokhary, 2010; Gros-Balthazard, 2013). Il permet la création d'un milieu typique favorable à la pratique d'autres cultures sous-jacentes (arboricoles, céréalières, maraîchères...), garantissant ainsi une certaine autonomie économique du milieu oasien (Chakroune *et al.*, 2005; Gros-Balthazard, 2013).

En outre, les diverses utilisations du palmier dattier et de ses produits dans la vie des habitants des oasis montrent le rôle primordial qu'il tient dans ces régions (Meunier, 1973).

La production mondiale en fruits des palmiers dattiers est variable mais a une grande importance économique. Selon la FAO, il existe 90 millions de palmiers dattiers dans le monde qui peuvent vivre 100 ans. Soixante-quatre millions de ces palmiers sont situés dans les pays arabes et produisent deux millions de tonnes de dattes chaque année. En 2014, la production mondiale était supérieure à 7.6 millions de tonnes (Figure 3).

L'Égypte est le premier pays producteur mondial de dattes avec environ 1 375 000 tonnes et 19 % de la production mondiale (El-Juhany, 2010; Dawson, 2017). Par contre notre pays exportées 200 000 tonnes, est classée au 3^{ème} rang mondial, environ 12 % de la production mondiale (Figure 4), avec des recettes d'exportation des dattes représentent 40 % du montant total des exportations agricoles algériennes. La production de dattes en Algérie a presque doublé passant de 600.096 tonnes en 2012 à environ 1.100.000 tonnes en 2017 (SIDABTECH, 2017).

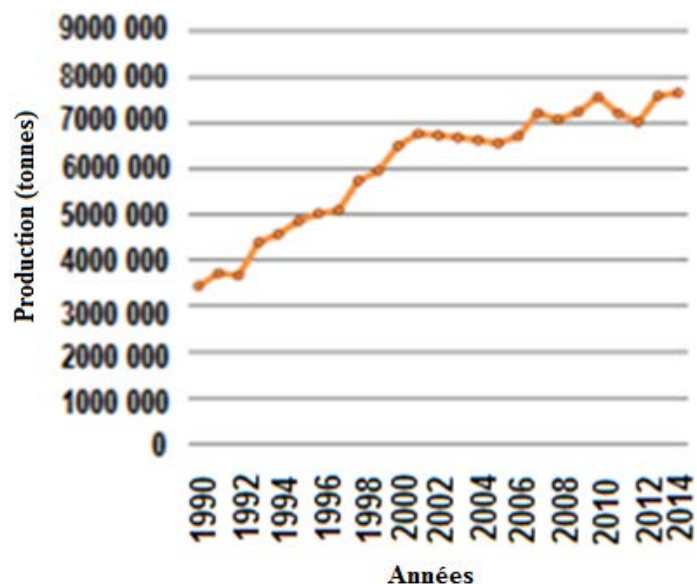


Figure 3: Evolution de la mondiale de datte (en tonnes) (Dawson, 2017)

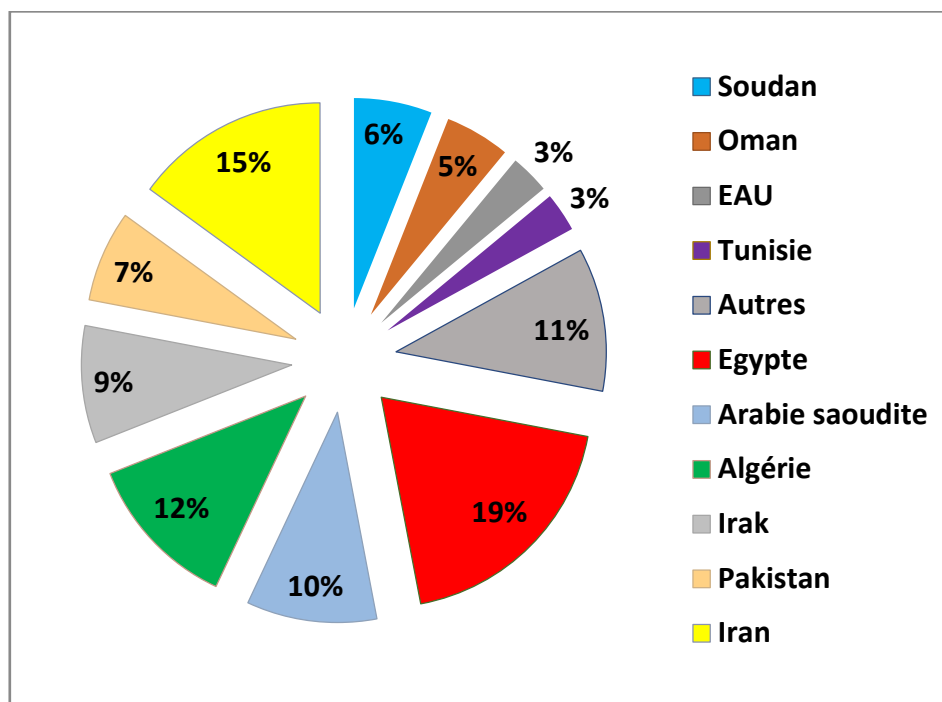


Figure 4: Principaux producteurs mondiaux de datte en 2014 (Dawson, 2017)

Malgré la grande importance de la culture de palmier dattier pour la population locale dans les zones désertiques, ainsi que l'économie nationale, plusieurs contraintes limitent l'extension de la culture du dattier. En Afrique du Nord, particulièrement au Maroc et en Algérie, il s'agit principalement de la maladie

du Bayoud, fusariose causée par le champignon *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, qui, depuis plusieurs décennies, décime les palmeraies.

2. Généralité sur le genre *Fusarium*

Les *Fusarium* est un genre de champignons microscopiques filamenteux fortement répandus dans l'environnement (Turcotte *et al.*, 2009; Nawar, 2016). Ce genre, décrit pour la première fois en 1809 (Hocquette *et al.*, 2005; Brown et Proctor, 2013; Tunarsih *et al.*, 2015). Il est économiquement très important et rassemble de nombreuses agents phytopathogènes de plus de 100 espèces végétales (Nucci *et al.*, 2007; Vujanovic *et al.*, 2006; Nurhazrati *et al.*, 2012), contaminent les céréales, les légumes, les arbres fruitiers et provoquant des maladies nommées fusarioses, impliqués généralement dans la pourriture des racines, tiges et fruits; ainsi, que la dégradation du système vasculaire (Leslie et Summerell, 2006; Tabuc, 2007), ce qui constitue une menace pour la santé des plantes, des animaux et la sécurité alimentaire (O'Donnell *et al.*, 2013; Ma *et al.*, 2013; Tunarsih *et al.*, 2015; Ogórek, 2016).

2.1. Taxinomie

La taxinomie en mycologie est donc en constante évolution suite aux données recueillies lors des différentes approches phylogénétiques. Ce remodelage des classifications s'applique également pour le genre *Fusarium* (Debourgogne, 2013). La taxonomie des *Fusarium* a longtemps été confuse et soumise à controverse, (Messiaen et Cassini, 1968), a cause de sa complexité, elle été constamment révisée et fait l'objet de nombreuses tentatives de classification aux cours de ces dernières années (Sever *et al.*, 2012) (Figure 5).

En 1809, de nombreux chercheurs ont été intéressés au diagnostic et l'identification des espèces de *Fusarium* responsables des maladies des plantes. Plus de 1000 espèces de *Fusarium* ont été décrites grâce à la publication de *Die Fusarien* par Wollenweber et Réintégration (1935), et qui ont été dans la plupart du temps isolé à partir des plantes malades. La taxonomie des espèces du genre *Fusarium* était en plein désarroi (Leslie et Summerell, 2006; Brown et Proctor, 2013).

Wollenweber et Reiking en 1935, ont consolidé tous ces taxons en 16 sections contenant 65 espèces, 55 variétés et 22 formes spéciales. La séparation en section reposait généralement sur des caractères culturels (Brayford, 1989; Brown et Proctor, 2013).

Les caractéristiques qui ont été utilisés pour séparer les sections sont: (i) la présence ou l'absence de microconidies, (ii) la forme des microconidies, (iii) la présence ou l'absence de chlamydo-spores, (iv) l'emplacement du chlamydo-spores (v) la forme des macroconidies, et (vi) la forme des cellules basales ou au pied des macroconidies (Nelson *et al.*, 1983).

Les taxons au sein des sections ont été divisés en espèces, variétés et formes spéciales basé sur : (i) la présence ou l'absence de sclérotés, (ii) le nombre de cloisons dans les macroconidies et (iii) la longueur et la largeur des macroconidies (Wollenweber et Reinking, 1935).

Messiaen et Cassini (1968) ont fondé leur système taxonomique basé sur des données de Snyder et Hansen (1940, 1941). Ils ont adopté l'utilisation de variétés botaniques au lieu de cultivars au niveau sous-espèce de *F. roseum*, *F. sambucinum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* et *F. avenaceum* (Messiaen et Cassini, 1968). En 1982, Gerlach et Nirenberg ont publié un atlas qui a décrit 78 espèces de *Fusarium* et 55 variétés et Nelson *et al.* (1983) ont reconnu 30 espèces avec 16 autres espèces classées comme insuffisamment documentées (Leslie et Summerell, 2006; Brown et Proctor, 2013). Leur système est considéré comme une mise à jour de système de celui de Booth (1971).

Le genre *Fusarium* appartient au phylum des Ascomycètes (champignons imparfaits, Fungi imperfecti), car la plupart des espèces étaient d'abord décrites sur la base de caractères morphologiques et une reproduction sexuée n'a pas été observée chez la plupart des espèces. 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; Lepoivre, 2003).

Des formes sexuées (téléomorphes) ont été maintenant observées pour certaines espèces de *Fusarium*. Elles font toutes partie des Ascomycètes, de la famille des *Nectriaceae* et notamment des genres *Gibberella* et *Nectria* (Seifert, 2001). Quelques exemples sont montrés dans le tableau 2.

Ainsi, *Fusarium oxysporum* est considéré comme ascomycète bien que le stade sexuel doive être encore trouvé. Il est proposé d'être plutôt proche du groupe téléomorphique *Gibberella* que *Nectria* (Di Pietro *et al.*, 2003; Michielse et Rep, 2009).

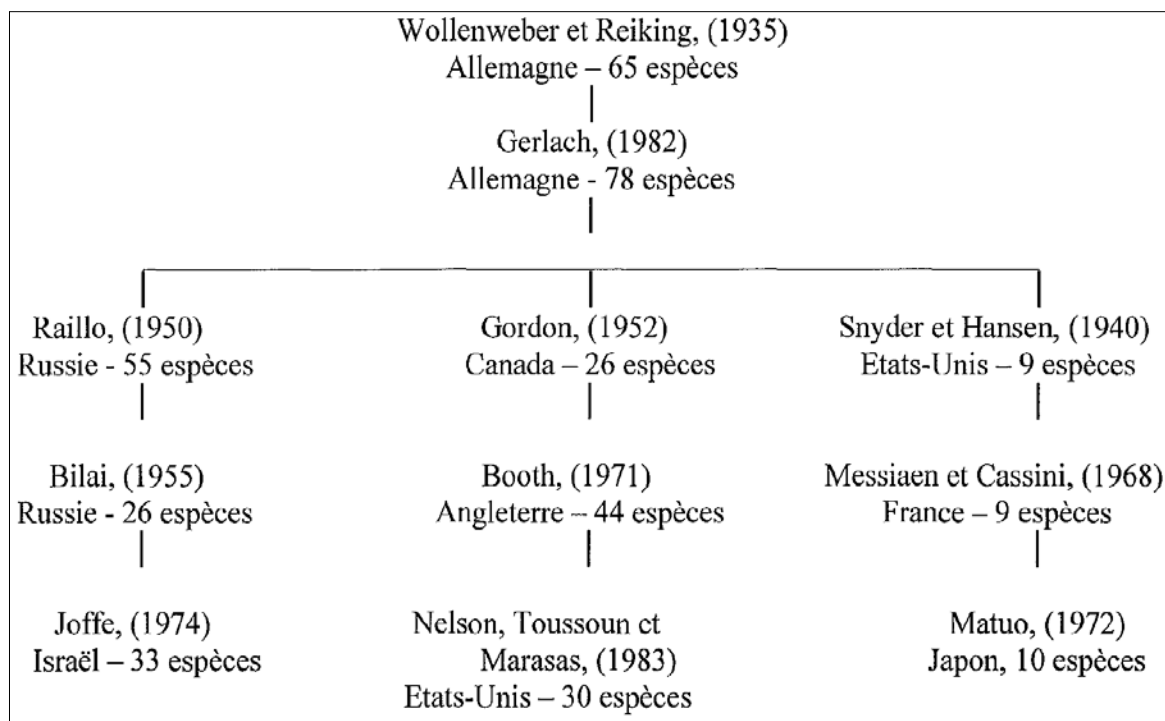


Figure 5: Les principaux systèmes taxonomiques du *Fusarium* (Nelson, 1990)

2.2. Ecologie

Les champignons appartenant au genre *Fusarium* sp. sont très fréquemment retrouvés au niveau du sol, des végétaux, de l'air et de l'eau. Leur répartition géoclimatique est aussi très diversifiée puisque ces champignons filamenteux existent tant dans les régions tempérées que tropicales, mais aussi dans des zones climatiques extrêmes telles que les déserts, les montagnes et les régions polaires (Dignani *et al.*, 2004). Récemment, l'équipe de Palmero a montré la

présence de plusieurs espèces de *Fusarium* (telles que *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. equiseti*, *F. dimerum* et *F. proliferatum*) dans la poussière atmosphérique et l'eau de pluie. Ces données expliquent la dispersion, parfois à longue distance, de ce pathogène par la pluie et le vent (Palmero *et al.*, 2011).

Tableau 2: Téléomorphes de différentes espèces de *Fusarium* (Leslie et Summerell, 2006; Brown et Proctor, 2013)

Espèces de <i>Fusarium</i>	Teleomorphe
<i>F. graminearum</i>	<i>Gibberella zea</i>
<i>F. fujikuroi</i>	<i>Gibberella fujikuroi</i>
<i>F. verticilloides</i>	<i>Gibberella moniliformis</i>
<i>F. avenaceum</i>	<i>Gibberella avenaceae</i>
<i>F. solani</i>	<i>Nectria haematacocca</i>
<i>F. acuminatum</i>	<i>Gibberella auminata</i>
<i>F. circinatum</i>	<i>Gibberella cicinata</i>
<i>F. pseudograminearum</i>	<i>Gibberella coronicota</i>
<i>F. lateritium</i>	<i>Gibberella baccata</i>

2.3. Biologie de *Fusarium*

Les champignons du genre *Fusarium* présentent un mycélium septé et incolore. En culture, les colonies présentent souvent des nuances roses, jaunes, rouges ou violettes. Les cellules conidiogènes se forment sur des hyphes aériens ou sur des conidiophores courts et densément branchés. Les conidies sont de trois types: macroconidies, microconidies et blastoconidies (Debourgogne, 2013; de Sain et Rep, 2015).

Les macroconidies sont le caractère culturel le plus important dans l'identification des espèces de *Fusarium*. Elle sont falciformes, avec plusieurs septa transverses, une extrémité apicale crochue et une base pédicellée, sont

produites en basipétale (croissance à partir de la base) par les monophialides ou les sporodochia (agrégats de conidiophores) et sont accumulées en masse (Figure 6).

Les microconidies ne sont pas toujours produites par toutes les espèces de *Fusarium*, sont ellipsoïdes, ovoïdes, subsphériques, pyriformes, claviformes ou allantoidiennes, généralement unicellulaires et présentent une base arrondie ou tronquée. Elles sont produites en séries basipétales sur des mono ou polyphialides et accumulées en petites têtes ou en chaînes (Figure 6).

Les blastoconidies sont produites séparément sur des cellules polyblastiques et présentent de 0 à 3 septa (Botton *et al.*, 1985; de Hoog *et al.*, 2011).

Les chlamydospores sont des formes de résistance, cependant, ils ne sont pas bien conservés sur le plan de l'évolution, et les espèces qui produisent des chlamydospores peuvent être très proches de celles qui n'en produisent pas. Sont de forme ronde d'une ou deux cellules, entourées d'une paroi épaisse plus ou moins pigmentée.

Elles sont observées au milieu des hyphes ou en position terminale, souvent en forme de paires, quelques fois en triplets (Figure 6), et rarement en forme rassemblée (Nelson *et al.*, 1983; Agrios, 2005; Leslie et Summerell, 2006; Brown et Proctor, 2013).

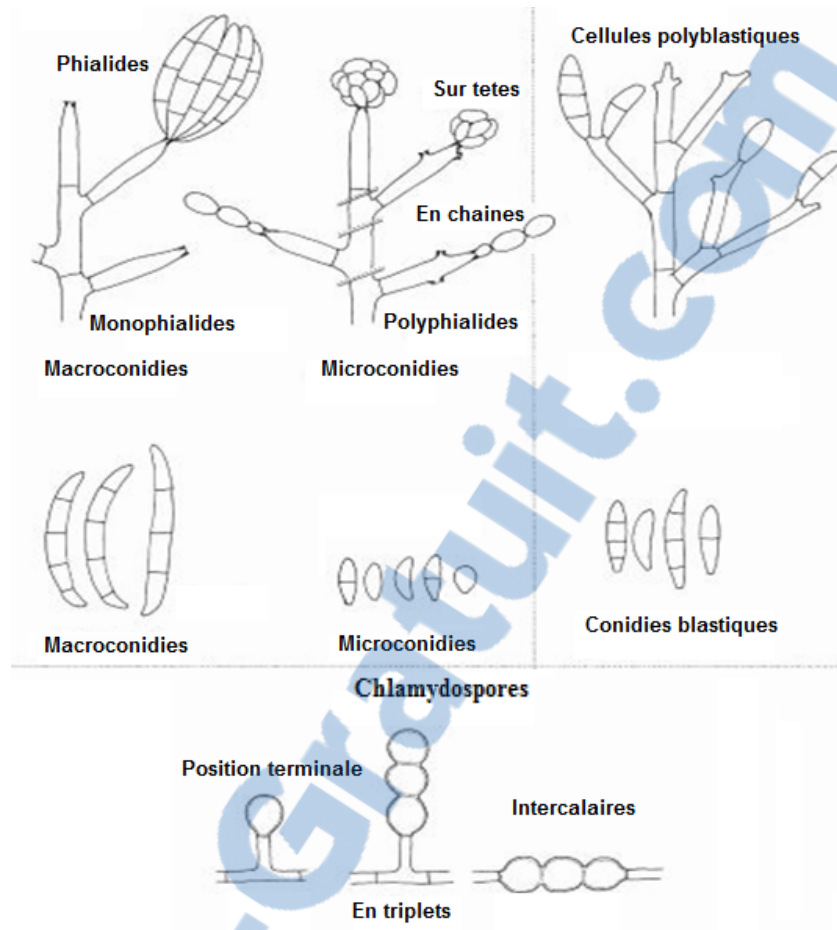


Figure 6: Terminologie pour décrire la morphologie du genre *Fusarium* (de Hoog *et al.*, 2011)

3. L'espèce pathogène *Fusarium oxysporum*

Cette espèce est la plus dispersée dans le monde et peut être trouvée dans la plupart des sols de l'Arctique, tropical, désertique et cultivées ou non (McMullen et Stack, 1984; Mandeel *et al.*, 1995; Chen et Swart, 2001). Bien que l'espèce soit classiquement retrouvée dans les sols, elle est également isolée d'endroits plus insolites: circuit d'eau d'hôpitaux, eau de mer, eau de rivière, eau du robinet, lentilles de contact ou nourriture (Hageskal *et al.*, 2006; Bevilacqua *et al.*, 2013; Babic *et al.*, 2015). Les *Fusarium oxysporum* phytopathogènes est l'une des espèces les plus importantes, sur la base économique et de son intérêt scientifique, compte tenu de ses nombreux hôtes et le niveau de perte qui peut entraîner.

Les formes spéciales de *Fusarium oxysporum* sont des agents pathogènes vasculaires provoquant souvent le flétrissement vasculaire, la fonte de semis et les pourritures des racines et/ou du collet (Dean *et al.*, 2012). Elle se distingue des autres espèces de *Fusarium* par la production de microconidies, qui sont en général nombreuses et rassemblées en fausse tête à partir de monophialides courtes (Burgess et Lidell, 1983; Leslie et Summerell, 2006; Brown et Proctor, 2013).

Par ailleurs, *Fusarium oxysporum* est placé dans la classe de Ascomycetes qui appartenant à la sous-classe des Hyphomycetes et à la famille des *Tuberculariaceae* (Assigbetse, 1993). Actuellement, au sein de l'espèce *Fusarium oxysporum* on distingue plus de 150 formes spéciales et races en fonction de leur pathogénicité sur des plantes hôtes (Armstrong et Armstrong, 1981, Elmer et Marra, 2015).

La différenciation des souches de *Fusarium oxysporum* et l'identification des formes spéciales sont très importantes pour pouvoir comprendre l'écologie des populations pathogènes et l'épidémiologie des maladies. De cette identification va également dépendre la mise en place de mesures de lutte adaptées, pour ce la, les tests de pathogénicité sur plantes reste permis les méthodes classiques qui permettent d'identifier la forme spéciale d'appartenance d'une souche (Leslie et Summerell, 2006). Cependant, les tests de pathogénicité sont très chronophages. Par exemple, un tel test prend entre 4 et 6 mois sur dattier des Canaries (*F. oxysporum* f. sp. *canariensis*), entre 8 à 12 mois sur palmier à huile (*F. oxysporum* f. sp. *elaeidis*) et entre 6 à 8 mois sur palmier dattier (*F. oxysporum* f.sp. *albedinis*) (Djerbi, 1990; Priest et Letham, 1996; Abadie *et al.*, 1998).

L'infection d'une plante par *Fusarium* peut avoir plusieurs origines soit biotique dans le cas d'un oiseau ou d'un insecte (Mongrain *et al.*, 2000) qui transporterait des spores et les dissémineraient dans la nature ou bien abiotique lorsque le vent ou la pluie permet la dissémination des spores dans la nature (Mongrain *et al.*, 2000) (Figure 7).

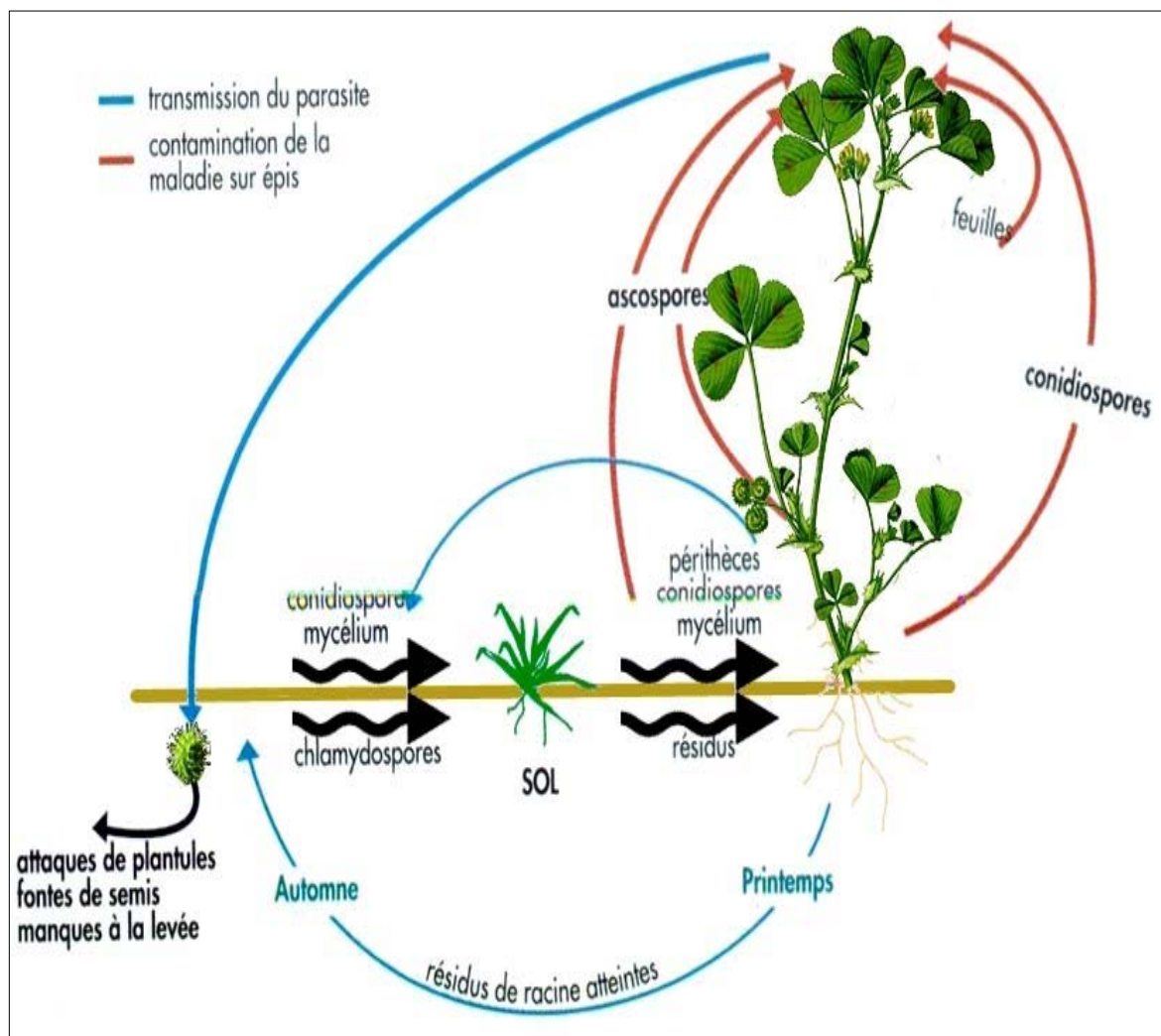


Figure 7: Cycle de *Fusarium* sp.: Illustration des différents modes d'action (Caron, 2000) modifiée

4. La fusariose vasculaire de palmier dattier

Depuis plus d'un siècle, un champignon tellurique, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Foa) peut-être en provenance du Maroc (Boussalah *et al.*, 2013) constitue une grave menace pour les palmeraies de l'Afrique du Nord (Abohatem *et al.*, 2011; El Hassni *et al.*, 2007; Mechta *et al.*, 2015). Il est l'agent de la maladie dite fusariose vasculaire ou Bayoud qui sévit actuellement au Maroc, au Sud et Sud-Ouest Algérien (Fernandez *et al.*, 1998; Freeman et Maymon, 2000; Boulenouar *et al.*, 2014; Siala *et al.*, 2016), et constitue une menace sérieuse pour



les plantations de palmiers d'autres pays tels que la Mauritanie et l'Argentine (Sedra, 2006; El Modafar, 2010; Sedra et Zhar, 2010) (Figure 8).

Le Bayoud a détruit les variétés les plus sensibles à la maladie et en particulier celles qui produisent des fruits de haute qualité et de grande quantité (Medjool, Deglet Nour, Bou Fegouss).

Le Foa figure sur la liste des organismes de quarantaines, seul l'abattage des palmiers infectés et leur incinération permet de lutter actuellement contre la propagation de l'infection. Face à une alarme croissante et devant l'état sanitaire de plus en plus dégradé des palmeraies, des recherches ont été entreprises pour la mise au point d'une méthode de lutte permettant de mieux cerner l'étendue des contaminations et d'éviter l'abattage (Ait Kettout et Rahmania, 2013).

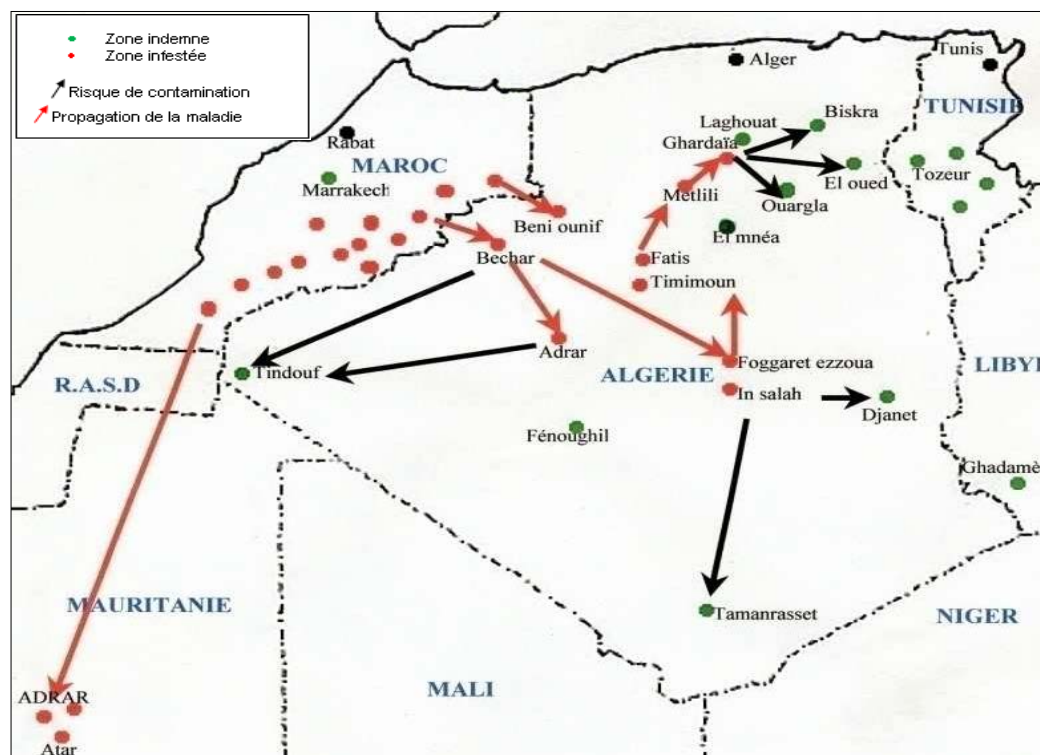


Figure 8: Répartition et extension du Bayoud en Algérie et en Afrique du Nord (INPV, 2011)

4.1. L'agent causal et colonisation de l'arbre hôte

L'organisme causal est un champignon microscopique qui appartient à la mycoflore du sol et nommé *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Foa) (Chakroune

et al., 2008; Sghir *et al.*, 2015), appartenant au phylum des Ascomycètes (champignons imparfaits). Ces formes imparfaites sont caractérisées par un mycélium septé et des conidies généralement unicellulaires situées sur des conidiophores; elles sont classées dans le groupe des Moniliales (Lepoivre, 2003).

L'hôte principal est le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), cependant le Foa attaque également le palmier canarien (*Phoenix canariensis*). Tous les cultivars de haute qualité du palmier dattier sont susceptibles (Mejhoul, Deglet Nour, Jihel, Bou Feggous, etc...). Certains cultivars ont montré une bonne résistance (Bousthammi noire, Iklane, SairLaylet, Takarbouch), cependant, parmi ces cultivars, seul SairLaylet est de qualité acceptable mais moins bonne que celle de Deglet Nour ou Mejhoul (Toutain et Louvet, 1974; Saaidi, 1979).

Le Foa a été aussi isolé à partir de certaines plantes cultivées sous les arbres du palmier dattier, c'est l'exemple du henné (*Lawsonia inermis*), de la luzerne (*Medicago* sp.) et du trèfle (*Trifolium* sp.) (Djerbi *et al.*, 1985a; Freeman et Maymon, 2000). Ces plantes qui sont des porteurs sains, ne montrent pas des symptômes de la maladie de Bayoud mais peuvent la transmettre à des palmiers sensibles (Djerbi *et al.*, 1986).

La maladie affecte les différents stades de croissance du palmier dattier, en attaquant aussi bien les palmiers matures que les plus jeunes et même les rejets. Le Foa est très inégalement réparti dans le sol, il a été isolé entre 0 et 30 cm de profondeur dans les sols des palmeraies infectées mais parfois il peut descendre jusqu'à 1 m (Tantaoui, 1998; Sghir *et al.*, 2016). Ce pathogène aurait dans le sol le même statut écologique qu'un saprophyte. Il est donc soumis, comme les autres germes telluriques, à certain moment avec ensemble d'interactions microbiennes qui déterminent sa prolifération (Lamari *et al.*, 2014), l'infection des palmiers par des Foa implique de nombreuses phases différentes.

La première phase est un contact entre le palmier dattier et le pathogène comprenant l'adhésion et la reconnaissance de surface, puis une deuxième phase consiste à la pénétration par les racines en cheminant la sève brute avec l'apparition des symptômes de la maladie et enfin, quand les mycéliums envahissant le bourgeon terminal du palmier, provoquant la mort de cette dernière

(Beckman et Roberts, 1995; El Hadrami *et al.*, 1998; Koretsky, 2001; El Hassni *et al.*, 2004; El Modafar, 2010).

Après la mort de l'arbre, le Foa persiste sous forme des chlamydospores dans les tissus de certains organes (racines, rachis, etc) (Louvet, 1977).

4.2. Les symptômes de la maladie du Bayoud

Les palmiers dattiers de tout âge peuvent être affectés, le premier symptôme externe de Bayoud s'observe sur les folioles ou les épines situées d'un côté d'une palme de la couronne moyenne, ces folioles se dessèchent progressivement et prend une couleur blanchâtre (Figure 09), selon un processus très particulier (Symptômes typiques) du bas vers le haut jusqu'au sommet de cette palme (Figure 10.A). Après qu'un côté a été affecté, le blanchiment commence de l'autre côté, progressant cette fois dans la direction opposée du haut de la palme à la base en sens inverse (Benabbes *et al.*, 2015b; Benzohra *et al.*, 2015).

Correspondant au passage du mycélium dans les vaisseaux vasculaire du rachis, une nécrose brune apparaît longitudinalement sur le côté dorsal du rachis et avance de la base au sommet de la palme (Figure 10.B), qui ressemblant à une plume mouillée, pend le long du tronc, ce processus peut prendre quelques jours à plusieurs semaines (Abdullah *et al.*, 2010; Dihazi, 2012). En effet, la palme est complètement desséchée et prend alors une couleur blanchâtre d'où le nom arabe de "Bayoud" donné à la maladie "abiad" qui signifie blanc et de la forme spéciale albedinis tiré du latin "albus" qui signifie blanc, qui se réfère au blanchiment des palmes des arbres malades (Djerbi, 1990). Ensuite, les palmes voisines présentent les mêmes symptômes; puis l'attaque se généralise à l'ensemble des palmes du centre pour atteindre le cœur de l'arbre qui meurt quand le mycélium envahissant le bourgeon terminal. Par conséquent, il provoque un dessèchement puis un dépérissement rapide entraînant la mort de palmier (Figure 11), après 6 mois à 2 ans du la première apparition des symptômes de la maladie, en fonction des conditions de croissance et du cultivar (Djerbi, 1988; El Hadrami *et al.*, 1998; Benzohra *et al.*, 2015).

Mais ces symptômes ne sont pas toujours aussi typiques, il est possible qu'ils se développent d'une façon différente. Il se peut, par exemple, que les folioles se

dessèchent de l'apex vers la base, des deux cotés à la fois (Symptômes atypiques).

La réalisation d'une coupe longitudinale du rachis d'un palmier malade montre une coloration brun-rougeâtre au milieu des tissus conducteurs (El Modafar *et al.*, 1998).

Le Foa est également très prolifique soit par le repiquage de rejets apparemment sains, soit par l'irrigation, soit par les vents de sables qui peuvent transporter des éléments végétaux (El Hadrami *et al.*, 1998; Bounaga et Djerbi, 2009).



Figure 9: Premiers symptômes typiques de la maladie de Bayoud (Boucenna-Mouzali *et al.*, 2018)

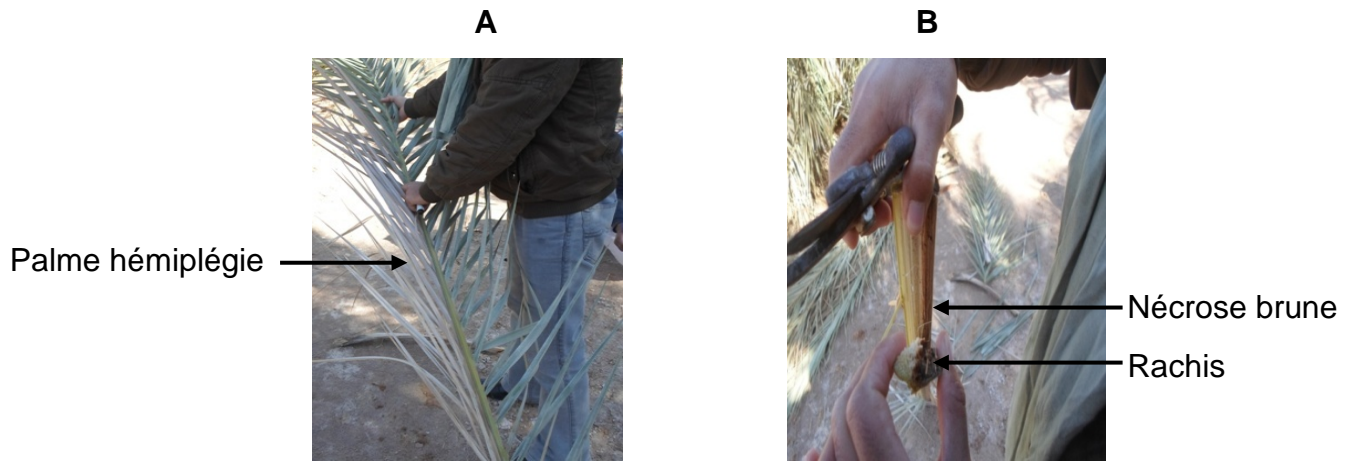


Figure 10: Symptômes de la maladie de Bayoud; A: hémiplégie sur une palme; B: nécrose d'un rachis (Photo prise par Sidaoui en 2015)



Figure 11: Palmeraie mortes dans les zones du Sud Oust (Adrar); (Photo prise par Sidaoui en 2015)

5. Morphologie de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*

Sur un milieu PSA, les colonies de Foa forment un mycélium aérien blanc, hyalin et cloisonné, qui devient plus tard rose ou violet (Benzohra *et al.*, 2015). La

multiplication asexuée se réalise par des microphialides et des macrophialides, qui produisent respectivement des microconidies et des macroconidies.

Les microconidies sont sphériques ou allongées, légèrement courbées, généralement unicellulaires, hyalines, de dimensions variables dans une même culture (3-15 x 3-5 µm).

Les macroconidies fusoides à falciformes, pointues aux deux extrémités, ayant généralement 3 à 5 cloisons, mesurent 20 à 35 x 3 à 5 µm (Abdullah *et al.*, 2010).

En fin, le parasite peut se conserver sur les débris des palmiers attaqués, les tissus des porteurs sains, et pendant de longues années, dans le sol à des profondeurs atteignant plus d'un mètre sous forme de chlamydozoïtes. Ces chlamydozoïtes sont intercalaires ou terminales, sphériques, isolées ou en chaînes courtes regroupant 2 à 4 chlamydozoïtes qui se forment soit sur le mycélium soit à partir des macroconidies dans les cultures âgées (Djerbi, 1988; Freeman et Maymon, 2000) (Figure 12).

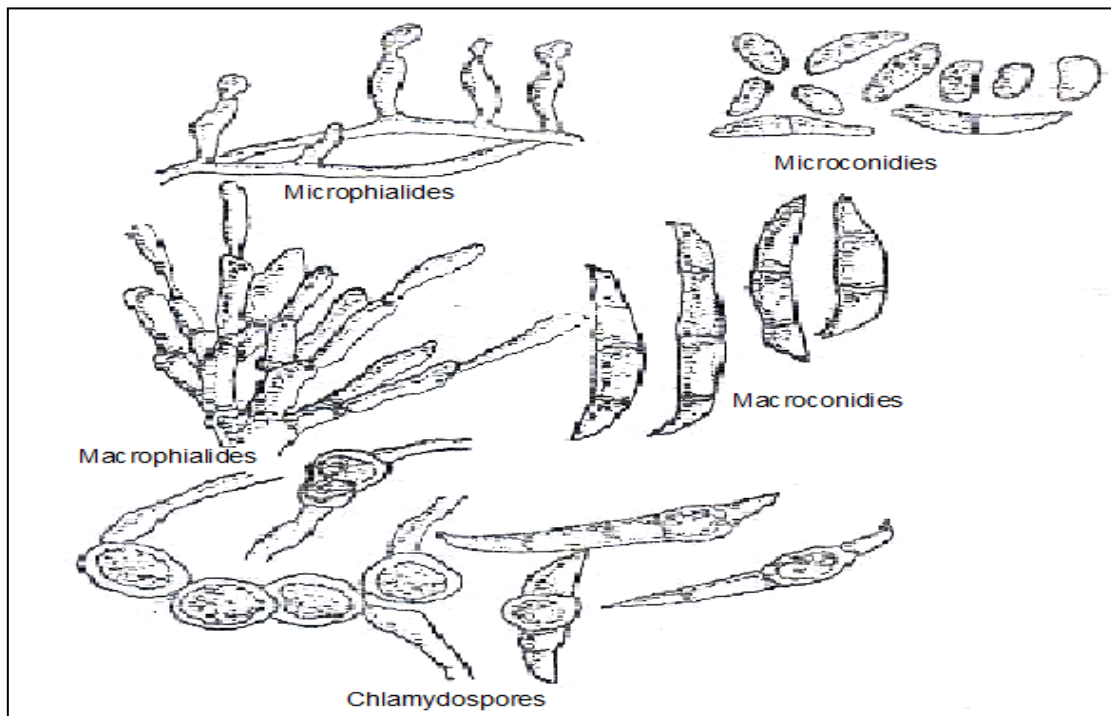


Figure 12: Caractéristiques microscopiques de *Foa* (Djerbi, 1988; Benzohra *et al.*, 2015)

6. Activités enzymatique

Naturellement, tous les champignons produisent un grand nombre d'enzymes pour décomposer les substrats complexes pour leur croissance (Saravanan *et al.*, 2012; Anbu *et al.*, 2017; Gopinath *et al.*, 2017). Les espèces *Fusarium oxysporum* ont produit plusieurs enzymes hydrolytiques, qui agissent sur les composants pectiques et cellulosiques des parois cellulaires des végétaux, et aident ces espèces à pénétrer et à coloniser les cellules racinaires de l'hôte (Lynd *et al.*, 2002; Rajeswari, 2014; Bedade *et al.*, 2017). Ces espèces utilisent les cellulases pour la décomposition de la cellulose qui est servir comme source de glucides, cependant, ces enzymes jouent un rôle dans la pathogenèse du flétrissement. Les enzymes cellulases, désignées C1 et C2 agissent sur les molécules cellulose insolubles pour produire des chaînes linéaires, qui sont attaqués par l'enzyme Cx, pour produire le cellobiose et le glucose (Husain et Dimond, 1960; Fisher, 1965; MacHardy et Beckman, 1981; Bedade *et al.*, 2017).

7. Utilisation des isoenzymes comme marqueurs moléculaire

Récemment, des techniques analytiques associées à la génétique et la biologie moléculaire ont été développées pour l'établissement des relations taxonomiques et phylogénétiques entre les organismes. Tels que, l'analyse d'isozymes qui est considérée comme une technique relativement économique et pratique, pour cette raison elle est largement utilisée dans la taxonomie fongique et la génétique moléculaire, (Micales *et al.*, 1992; Huss *et al.*, 1996; Guarro *et al.*, 1999; Laday *et al.*, 2001; Mohammadi *et al.*, 2004; Bhuvanendra *et al.*, 2010).

Le terme isoenzyme englobe les multiples formes moléculaires d'un enzyme donné, ces formes ont habituellement des propriétés enzymatiques similaires, catalysant toutes la même réaction (Micales *et al.*, 1986; Padmanaban *et al.*, 2013). Ces enzymes sont des marqueurs moléculaires codées par différents allèles ou locus génétiques distincts, possèdent souvent des profils de bandes différent par leurs mobilités électrophorétique, ces dernier sont transformé dans une matrice de valeurs binaires qui, avec des logiciels, produit des résultats comparatifs exprimés sous forme de similarité ou de matrices de corrélation

cophénétique et de phénogrammes (Skovgaard et Rosendahl, 1998; Boriollo *et al.*, 2003; Padmanaban *et al.*, 2013).

La différences de mobilités électrophorétique est due à des variations de la teneur en acides aminés de la molécule, qui dépend de la séquence des nucléotides dans l'ADN; ils constituent un moyen d'identification plus sûr et plus rapide des sous-espèces par rapport aux tests biologiques habituellement employés (Manicom *et al.*, 1990a; Arie *et al.*, 1998). L'étude du polymorphisme des marqueurs moléculaires a été initiée depuis une vingtaine d'années; Malgré cet avantage, l'application des techniques des isozymes dans les études sur les champignons phytopathogènes a été limitée jusqu'à présent.

La principale raison de l'utilisation limitée des isozymes pourrait être le faible niveau de polymorphisme observé dans divers taxons fongiques examinés, néanmoins, peu de connaissances ont été acquises concernant la variabilité génétique entre les formes spéciales ou les races de *Fusarium oxysporum*, la majorité de l'information étant basée sur l'observation des caractères de virulence (Ho *et al.*, 1985; Bosland, 1987; Aly *et al.*, 2003; Bhuvanendra *et al.*, 2010).

8. Les protéines comme moyen d'identification

Les protéines étant des produits de gènes, l'idée est venue de les utiliser pour détecter la variabilité génétique entre les individus (Bhuvanendra *et al.*, 2010). Ainsi, depuis une vingtaine d'années, l'analyse de leur polymorphisme a constitué une importante approche dans la classification des individus et par là dans l'identification et la différenciation des taxons spécifiques et subsécifiques des organismes, y compris les champignons (Glynn et Reid, 1969; Gill et Zentmyer, 1978; Bosland et Williams, 1987; Huss *et al.*, 1996; Nawar, 2016).

L'électrophorèse, qui constitue une technique rigoureuse d'analyse des protéines (Davis, 1964), est basée sur la propriété des molécules protéiques d'être chargées positivement ou négativement en fonction du point isoélectrique et du pH de la solution dans laquelle elles sont en solution. En créant un champ électrique dans une matrice, habituellement un gel d'amidon ou d'acrylamide, il est possible

de faire migrer les protéines le long du gel, les molécules étant attirées par la borne de charge inverse à leur charge électrique.

La variabilité des profils électrophorétique des protéines constitue l'expression de la variabilité génétique qui peut exister entre les individus d'une même population ou de populations différentes (Burges *et al.*, 1995; Laday *et al.*, 2001; Balali et Iranpoor, 2006).

Chez les champignons, il a été rapporté que les profils électrophorétique des protéines totales peuvent être utilisés comme critère d'identification des espèces d'un même genre. C'est le cas de *Fusarium* (Glynn et Reid, 1969; Ibrahim *et al.*, 2003; Nawar, 2016).

Ces protéines de formes, de masses moléculaires ou de points isoélectriques différents, résultent de variations dans la composition en acides aminés qui dépend elle-même de la séquence des nucléotides de leur gène respectif. Par conséquent leur mobilité électrophorétique est différente. Des manifestations génétiques et biochimiques sont à l'origine de ces molécules qui sont codées soit par des locus séparés codant pour un seul enzyme, soit par différents allèles à un même locus, chacun de ces locus ou allèles codant pour une version structurale différente de la chaîne polypeptidique (Micales *et al.*, 1986). Les phénotypes présentés par les zymogrammes peuvent être traduits en termes de génotypes, de gènes, d'allèles. Une proportion importante de gènes est polymorphe, c'est-à-dire qu'ils existent sous la forme de deux ou plusieurs allèles. Cependant, avec n'importe quelle espèce, quelques locus tendent à avoir une faible variation ou aucune variation parmi les individus; ces locus sont dits monomorphes (Micales *et al.*, 1986).

L'interprétation des profils de bandes en termes d'allèles spécifiques permet la détermination des ratios d'allèles exprimés en commun entre isolats fongiques. Ces rapports sont un excellent moyen de déterminer les relations phylogénétiques entre les organismes.

9. Moyens de lutte contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*

Selon les caractères épidémiques, infectieux et vasculaires du Bayoud, les orientations de lutte contre cette maladie s'apparentent à celles préconisées contre les autres fusarioses vasculaires connues. Ainsi, les efforts des différents services visent à atténuer, voire stopper la progression du Bayoud vers les régions indemnes en Algérie, notamment les régions de Touggourt, Biskra et El-oued où sont concentrées les 2/3 des palmeraies nationales avec une prédominance de la variété sensible à cette maladie (Deglet Nour).

De plus, la connaissance approfondie sur les interactions entre Foa et le palmier dattier permettrait d'adapter la lutte contre le pathogène à chaque situation. Quatre méthodes de lutte contre le Bayoud ont été adoptées:

9.1. Mesures prophylactiques

La tâche essentielle consiste à protéger les zones encore saines, et empêcher le mouvement de matériel végétal contaminé provenant d'une palmeraie infectée à un sain. Ce matériau se compose principalement de rejets, de fragments de palmiers, le fumier et le sol infecté, et les artefacts fabriqués à partir de ces matériaux. Législation empêchant le transport de matériel végétal contaminé d'un pays à un autre, ou d'une région à l'autre, a été adoptée par divers pays tels que l'Algérie, l'Égypte, l'Irak, la Libye, Mauritanie, Arabie Saoudite, Tunisie et USA (Djerbi, 1988).

9.2. La lutte chimique

Le contrôle chimique peut être réalisable en cas de détection précoce des sources primaires d'infection dans une zone saine. Dans ce cas, les techniques d'éradication doivent être utilisées: les palmiers sont déracinés et incinérés sur place, et le sol est alors traité avec du bromure de méthyle ou de la chloropicrine. En effet, le bromure de méthyle possède une forte capacité de pénétration dans le sol et lui assure une bonne stérilisation (Bounaga, 1980; Frederix et Den Brader, 1989), dans ce cas, la zone ainsi traitée est clôturée et reste interdite à la culture pendant une longue période. Mais cette méthode est très chère, polluante et son

efficacité n'est pas garantie. Malgré ces inconvénients, elle reste la seule méthode appliquée, surtout en Algérie (Benzohra *et al.*, 2015).

9.3. Contrôle génétique

Les seuls moyens productifs de contrôler la maladie de Bayoud réside dans la sélection des variétés résistantes a partir de:

- La sélection des variétés résistantes au Bayoud parmi de celles existante localement, tels que, Boustammi noire au Maroc et Takerbucht en Algérie.
- La sélection des clones résistants de haute qualité à partir du naturel population du palmier dattier (Djerbi *et al.*, 1986; Sedra et Zhar, 2010).

En outre, le succès actuel de la propagation du palmier dattier par culture *in vitro* le rendra possible de réhabiliter les palmiers détruits par Bayoud. Il sera également être possible de reconstituer les palmeraies actuellement menacé et créer une nouvelle date à l'aide de variétés résistantes de haute qualité. En effet, le génie génétique et la sélection assistée par les outils moléculaires sont autant de méthodes modernes susceptibles de contribuer d'une manière substantielle à la création de variétés résistantes au Bayoud, avec un bon potentiel de production, grâce au croisement contrôlé (Sedra, 1995; Sedra et Zhar, 2010; Benabbes *et al.*, 2015b).

9.4. Lutte biologique

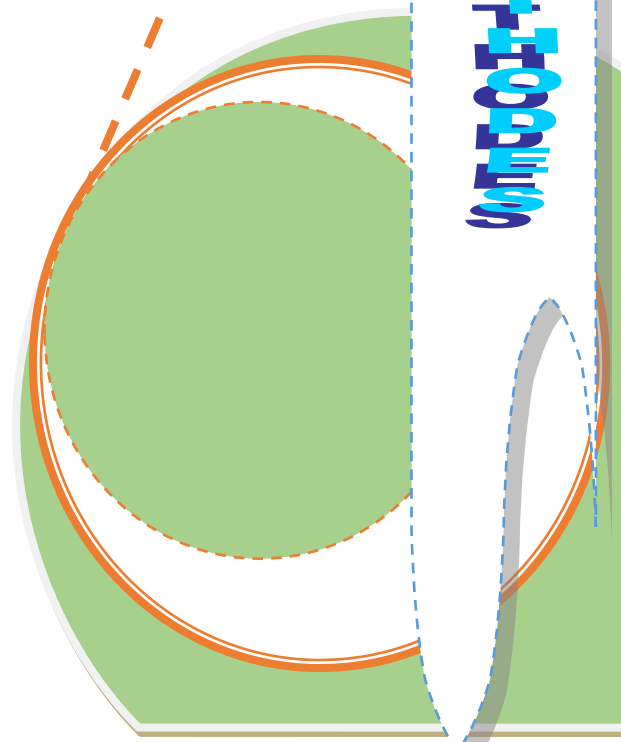
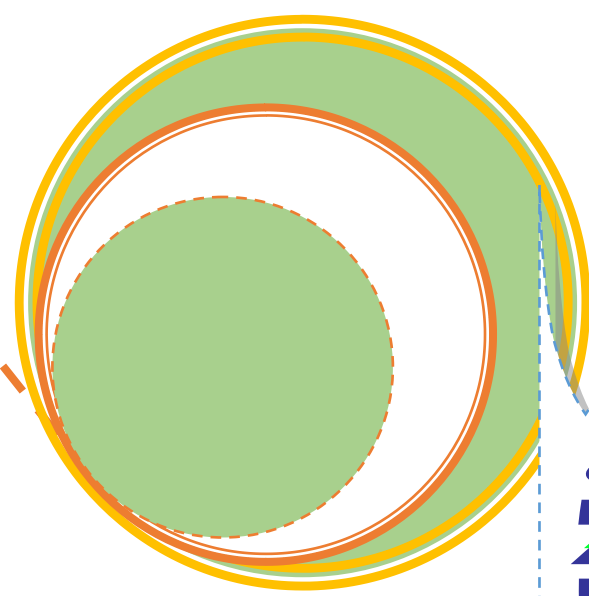
La lutte biologique se définit comme l'utilisation d'agents ou de produits naturels qui nuisent à des ravageurs de plantes ou à des microorganismes pathogènes de plantes. Cette définition inclut les macroorganismes (insectes, acariens, nématodes), les microorganismes (champignons, bactéries, virus) et les substances naturelles (extraits de plantes, huiles essentielles) (Directive européenne 2009/128/CE) (Souna *et al.*, 2012).

L'effet bénéfique des microorganismes dans la lutte contre les champignons pathogènes et la réduction de l'utilisation des pesticides est actuellement le domaine le plus intéressant pour les chercheurs prometteurs (Caron *et al.*, 2002). Pour cette raison, les espèces de *Trichoderma* ont une capacité antagoniste efficace, elles sont très interactives dans les racines, les sols et les milieux foliaires

(Kredics *et al.*, 2003; Reino *et al.*, 2008; Naguleswaran *et al.*, 2014). Certaines souches de cette espèce utilisées comme candidats potentiels pour le contrôle biologique des maladies des plantes, car elles colonisent les surfaces des racines et pénètrent dans l'épiderme, ce qui améliore la croissance racinaire, la productivité et la résistance au stress biotique et abiotique et l'assimilation des nutriments (Harman *et al.*, 2004; Naguleswaran *et al.*, 2014).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

UNIVERSITÉ DE
BORDJ



1. Échantillonnage

L'isolement des souches de *Fusarium* a été effectué à partir de rachis de palmiers dattiers, ces derniers présentent les symptômes de Bayoud ainsi que la rhizosphère proche de palmeraies infectées (Figure 13), et elles provenant de différentes oasis Algériennes (Adrar, Ghardaïa et Bechar). Les rachis ont été prélevés au niveau de la couronne moyenne des palmiers infectés. Les codifications utilisées pour la désignation des différents isolats collectés, comportent une lettre suivie de deux nombres et d'une lettre. La première lettre correspond à l'abréviation de la localité, les deux chiffres correspondent à l'année d'isolement alors que la dernière lettre indique le cultivar, pour ce qui concerne les souches de la rhizosphère sont nommés (E1, E2 et E3), Tableau 5.

En plus de notre collection, 5 autres échantillons nous ont été fournis par l'INPV (Institut National de la Protection des végétaux, station de Ghardaïa, Algérie).

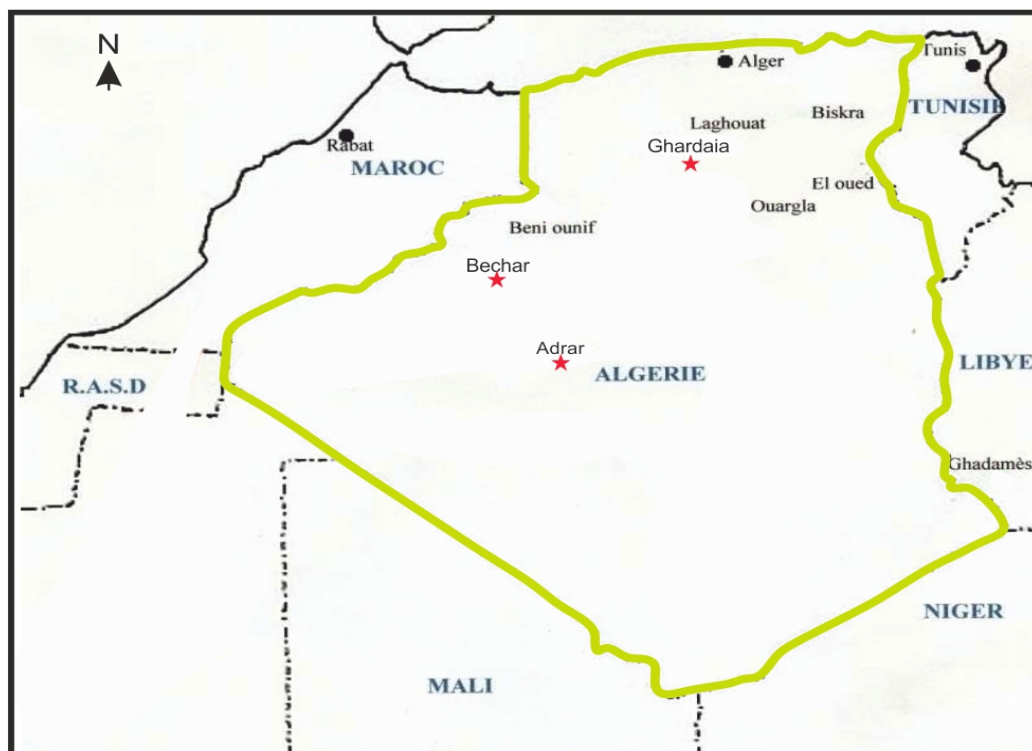


Figure 13: Carte présent les trois régions d'échantillonnage

2. Isolement des souches de *Fusarium* sp.

L'isolement des souches à partir du rachis a été réalisé comme suit : les rachis présentant les symptômes typiques du Bayoud (Figure 14), sont défoliés (Figure 15), découpés en petits morceaux à l'aide d'un sécateur (Figure 16: A et B), puis désinfectés avec l'hypochlorite de sodium 2% pendant 3 minutes et suivi de plusieurs rinçages avec de l'eau distillée stérile. Ils sont ensuite passés rapidement à la flamme afin d'éliminer les saprophytes puis trois à quatre fragments (Figure 17) sont déposés dans des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture Potato-Sucrose-Agar (PSA). Les boîtes préparées sont incubées à $27 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant sept jours. Après le développement des colonies fongiques, des opérations de purification ont été réalisées selon deux techniques : le repiquage successif et la culture monospore.



Figure 14: Palmier infecté par le Bayoud (Photo prise par Sidaoui, 2015)



Figure 15: Rachis de palmiers dattiers défolié (Photo pris par Sidaoui, 2015)

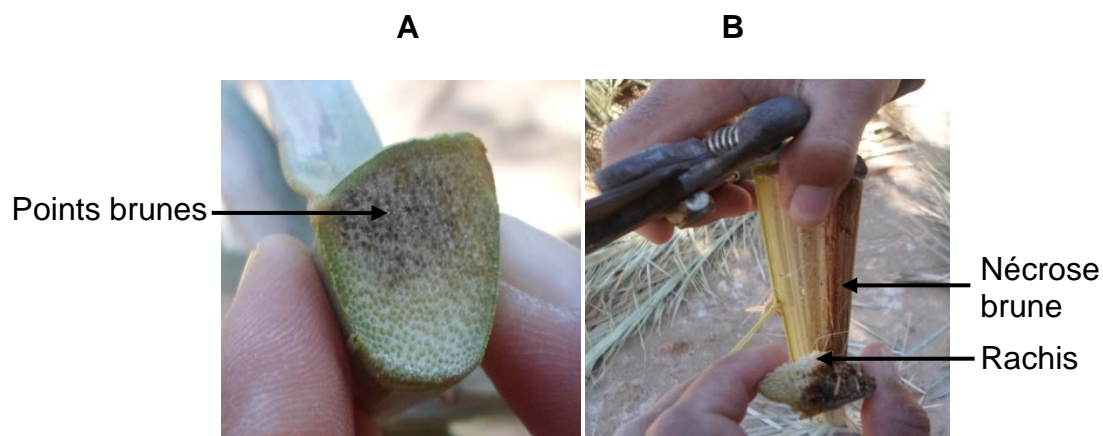


Figure 16: Symptômes internes de Bayoud ; A: points brunes correspond au passage de mycélium a travers les vaisseaux vasculaire; B: nécrose brune (Photos prise par Sidaoui, 2015)

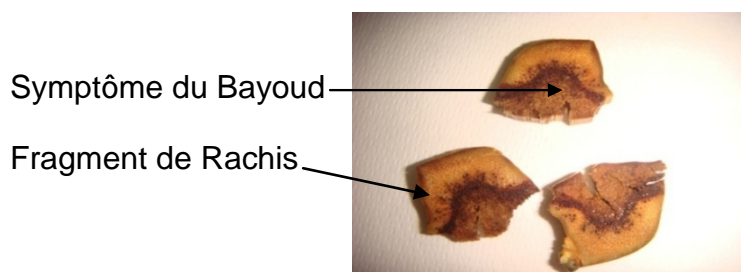


Figure 17: Fragments de rachis présentant les symptômes du Bayoud

La deuxième méthode d'isolement est réalisée de la manière suivante: à partir des échantillons de la rhizosphère des palmiers dattiers, nous avons appliqué la technique de suspensions-dilutions. En effet, un gramme de sol est introduit stérilement dans un tube contenant 9 ml d'eau distillé stérile que l'on agite au vortex. A partir de cette solution-mère, des dilutions au dixième ont été faites en série jusqu'à la dilution 10^{-6} , à partir de cette dernière, 0.1 ml est étalée sur des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture PSA, puis les incubées à $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Dès l'apparition des filaments autour des fragments et des grains de sol, des repiquages successives ont été réalisés sur le milieu PSA jusqu'à la purification des souches, suivi par une observation microscopique d'un prélèvement effectué à la surface du thalle, pour vérifier l'appartenance de nos souches au genre *Fusarium*. L'examen des macroconidies nous permet d'identifier rapidement le genre, et en fonction de sa forme et de sa septation, on peut déduire l'espèce. Après on passe à la recherche des autres formes telles que: les microconidies et les chlamydospores.

L'espèce *Fusarium oxysporum* est déterminé par les microconidies rassemblées en fausses têtes à partir de monophialides courtes et chlamydospores formées isolément ou par deux, en plus, d'autres caractères, à rechercher, inclus la nature de mycélium, la pigmentation, la vitesse de croissance...etc (Chen et Swart, 2001; Leslie et Summerell, 2006; Stenglein, 2009; Brown et Proctor, 2013).

Selon Booth (1971), l'obtention d'un matériel fongique, génétiquement homogène, est passé par la culture monospore, car *Fusarium oxysporum* reconnu par ses caractéristiques morphologiques issues par culture monospore (Leslie et Summerell, 2006). Dans cette thèse, on a utilisé la technique décrite par Aboul-Nasr et Abdul-Rahman (2014), modifiée de la manière suivante, 10 μl d'une suspension de spores préparée à partir des cultures de *Fusarium* sp. âgées de 7 jours, est étalé en stries dans des boîtes de Pétri contenant 5 millilitres du milieu agar 2% (Annexe 1). Ces dernières sont incubées pendant 24h à 48h à 25°C .

Les conidies à germination unique pourraient être observées à l'aide d'une loupe binoculaire ou une faible puissance du microscope puis prélevée aseptiquement et déposée séparément dans des boîtes contenant le milieu PSA et les incubées à 25°C pendant une semaine.

2.1. Conservation des isolats de *Fusarium* sp.

Après purification par la culture monospore, nos isolats ont été conservés par deux méthodes: la première consiste à repiquer l'isolat purifié en tube sur le milieu Synthetischies Nährstoffarmer Agar (SNA) incliné, puis les cultures sont maintenues à 25°C pendant deux semaines et conservées à 4°C pour favoriser leur viabilité.

La deuxième consiste à introduit aseptiquement avec un emporte-pièce quelques disques de 0,5 cm de diamètre prélevé d'une culture monospore dans un tube à essai contient l'huile de paraffine préalablement autoclavée. Les tubes sont ensuite conservés à 4°C jusqu'à leurs utilisation ultérieure.

3. Test du pouvoir pathogène

Pour la sélection des isolats agressifs du *Fusarium* sp. Nous avons utilisé des noyaux de datte de cultivars Deglet Nour, ces noyaux ont été semis pour donner des plantules qui seront ensuite inoculés par les isolats de *Fusarium* sp.

3.1. Production des plantules de palmier dattier

Les noyaux de palmier de cultiva Deglet Nour (issues de deux régions: Biskra et Ghardaïa), sont préalablement grattés pour éliminer les épiluchures qui persistent à leur surface. Ils sont ensuite trempés dans de l'eau de Javel à 12° chlorométrique pendant 10 minutes puis rincées à l'eau distillée stérile. Ils subissent alors un trempage de 20 minutes dans l'alcool à 95°. Après plusieurs rinçages à l'eau distillée stériles, les noyaux sont déposés dans des boîtes de Pétri en verre, tapissées avec du coton imbibé d'eau distillée stérile. Ces dernières sont ensuite placées dans une étuve à 38°C, pendant deux jours, ensuite la température est baissée à 28 °C pendant une à deux semaines. Lorsque la radicule atteint environ 3 à 5 cm, les noyaux germés (Figure 18), sont transférés dans des sachets transparents contenant du terreau stérile et placés dans une serre à conditions non contrôlées. Ils sont arrosés régulièrement avec de l'eau courante.



Figure 18: Germination des noyaux de dattes

3.1. Préparation de l'inoculum

Tous les isolats testés ont été préparés de la même façon: 6 boîtes de Pétri contenant le milieu SNA ont étéensemencées par des fragments issus de pré culture de *Fusarium* sp. Après 10 jours d'incubation à 27°C, 9 ml d'eau distillée stérile a été versé dans chaque boîte, dont la surface est gratté pour mettre au maximum de spores en suspension, cette dernière est ajustée à 10^6 spores.ml⁻¹ (Tshilenge-Djim *et al.*, 2004).

3.2. Inoculation des plantules

L'inoculation sous serre est effectuée au stade de deux feuilles (Djerbi, 1990), sans déterrer les plantules (Figure 19), en injectant à l'aide d'une seringue dépourvue d'aiguille (Tshilenge-Djim *et al.*, 2004) , 10 ml de la suspension de spore dans le fond du sachet où sont regroupées des jeunes racines (Figure 20), (Sedra, 1993). Cette opération est effectuée sans blesser les racines.

Dans ce travail, nous avons utilisé 25 plantules pour chaque isolat (Figure 21). En suite, nous avons débuté les notations dès l'apparition de la première signe de la maladie et nous les avons arrêtés au bout de 4ème semaines, quand le taux de mortalité provoqué par certaines souches avait atteint 100%.

L'isolat est considérée pathogène si le taux de mortalité des plantules dépasse le 20% en comparaison avec les plantes témoins, qui ne devraient présenter aucun symptômes (Djerbi *et al.*, 1985b; Djerbi, 1990; Karkachi *et al.*, 2014).

L'induction de la maladie et la reproduction des symptômes témoignent de l'appartenance des isolats inoculés à la forme spéciale *albedinis*. En fin d'essai,

et pour confirmer l'infection des jeunes plantules par *Foa*, nous avons jugé utile de réaliser des coupes histologiques transversales et longitudinales des racines après 20 jours d'inoculation (Annexe 2).



Figure 19: Plantules de palmier dattier âgés de 5 à 6 mois au stade de deux feuilles avant leur inoculation artificielle sous serre



Figure 20: Inoculation des plantules de palmier dattier par la suspension des spores où sont regroupées les racines jeunes

4. Activité Enzymatique

4.1. Activité amylasique du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*

La recherche de l'activité amylolytique de nos isolats a été réalisée sur un milieu à base d'amidon, selon la méthode décrite par Tatsinkou *et al.* (2005). Un explant de 0,5 cm de diamètre de chaque isolat est déposé au centre d'une boîte Pétri contenant le milieu PSA à pH 5, additionné d'amidon soluble à 1%. Les boîtes sont ensuite incubées à 30°C pendant 24 à 72h. Après incubation,

une solution de lugol est vaporisée sur la surface de la boîte, le fond du milieu apparaît bleu et des halos clairs apparaissent autour des colonies, témoins d'une activité amylolytique (Cowan, 1991; Gopinath *et al.*, 2005; Sunitha *et al.*, 2013; Ogórek, 2016; Gopinath *et al.*, 2017). Le diamètre des zones de lyse est mesuré pour les trois répétitions qui ont été réalisées.

4.2. Activité cellulosique du *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*

La technique la plus fiable pour mettre en évidence l'activité cellulase, est de montrer la capacité des isolats à assimiler la cellulose sur un milieu gélosé à base de cellulose dont la composition est la suivante: NaNO₃(2g), K₂HPO₄ (1g), MgSO₄.H₂O (1g), KC(10,5g), ZnSO₄.H₂O (0,005g), CuSO₄.5H₂O (0,001g), MnCl₂ (0,001g), Cellulose (carboxy-méthyl-cellulose) (2,5g), Agar (30 g), 1000 ml d'eau distillée, pH= 5 (Lekchiri *et al.*, 2013; Bedade *et al.*, 2017). Pour ce la on a déposé un explant de 0.5 cm de diamètre de chaque isolat au centre d'une boîte Pétri contenant le milieu à base de cellulose et incubées à 30 °C pendant 2 à 3 jours. Après incubation une solution de rouge Congo a été ensuite déversée dans chaque boîte, les boîtes ont été ensuite traitées par une inondation avec 1M de NaCl pendant 15 min. La dégradation de la cellulose est visualisée sous forme d'une zone claire autour de la colonie fongique (Tanaka *et al.*, 1980; Gopinath *et al.*, 2005; Sunitha *et al.*, 2013; Ogórek, 2016; Bedade *et al.*, 2017). Le diamètre de la zone autour des colonies est mesuré pour évaluer l'activité enzymatique de chaque isolat.

5. Etude de la variabilité isoenzymatiques et des protéines totales

➤ La culture liquide

La culture liquide est réalisée dans des fioles Erlenmeyer de 250 ml, contenant le milieu de culture Glucose Yeast Peptone (GYP) modifié, ce milieu est réparti en raison de 100 ml par erlen etensemencées par 6 disques de 8 mm de diamètre prélevés de la marge des colonies de nos isolats âgées de 7 jours sur milieu SNA (Nawar, 2016) modifiée.

Après dix jours d'incubations à température ambiante, le mycélium est récupéré par filtration sur une gaze, lavé à l'eau distillée stérile, essoré par papier absorbant. Il est ensuite broyé dans un mortier maintenu au froid dans de la glace, additionné du sable fin traité et du tampon phosphate (100 mM –

pH 7,1), jusqu'à l'obtention d'une pâte fine et homogène. Le broyat est récupéré dans des tubes puis centrifugés à 10000 g/min pendant 20 minutes à 4°C.

Le surnageant est réparti rapidement dans des tubes Eppendorf par fraction de 100 µl et stocké à - 20°C jusqu'à leur utilisation pour Mettre en évidence l'activité isoenzymatiques: Estérases et l'Acides Phosphatases.

Pour l'extraction des protéines totales, le mycélium transférer dans des tubes falcon et congelé à -20 °C pendant 24 h afin de faciliter la rupture des parois cellulaires, puis Réhydrater le dans une solution tris-glycine (3 g trizma + 14,4g glycine + 1 l d'eau distillé, pH 8,3), à raison de 1 ml de tampon par 500 mg de mycélium préparé. Homogénéiser le mélange avec une micro pipette ou une pipette pasteur. Clarifier le mélange par centrifugation à 10000 g pendant 40 minutes à 4 °C. Collecter le surnageant dans des tubes microcentrifuge. Le surnageant contient les protéines cytoplasmiques totales et peut être utilisé directement pour l'analyse (Badid *et al.*, 2001; Manikandan *et al.*, 2018).

5.1. Dosage des protéines par la méthode de Bradford

La concentration en protéines des isolats est déterminée selon la méthode de Bradford (Klavons et Bennett, 1986). Cette méthode utilise le principe de la formation de complexes entre le bleu de Coomassie et les résidus aromatiques des protéines. Les dosages s'effectuent sur 100 µl de l'échantillon plus 1 ml du réactif bleu brillant de Coomassie. Après quelques minutes d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 595 nm (Weckber et Cory, 1988). En parallèle, une solution de sérum albumine bovin (Sigma) de 2 mg/ml est utilisée comme protéine de référence pour élaborer la gamme d'étalonnage. Les densités optiques (Dos) obtenues pour la gamme permettent de déterminer la concentration en protéines de nos isolats (Annexe 3).

5.2. Electrophorèse d'isoenzymes

Pour étudier la variabilité isoenzymatique au sein de la forme spéciale *albedinis*, l'analyse isoenzymatique a porté sur tous les isolats de *Foa* présentés dans le tableau 5. Leurs pouvoirs pathogènes ont été testés au

préalable et leurs appartenances à la forme spéciale *albedinis* a été confirmée. Ainsi que les trois isolats de *Fusarium* sp.

L'électrophorèse des isoenzymes et des protéines totales est une technique qui permet de détecter et d'identifier un champignon particulier, elle est largement utilisée en taxonomie, mais son utilisation reste controversée bien que des études aient utilisé la différence dans les profils iso-enzymatiques pour résoudre les problèmes au niveau de l'espèce (Micales, 1986).

L'électrophorèse des systèmes enzymatiques en conditions non dénaturantes PAGE (Poly Acrylamide Gel Electrophoresis) est effectuée sur gels de polyacrylamide, selon un protocole adapté de celui de Laemmli (1970).

5.2.1. Préparation des gels de polyacrylamide et conditions de migration

Deux gels succèdent utilisés dans notre travail: un gel de concentration et un gel de séparation. Une solution d'acrylamide: bisacrylamide (29,2%: 0,8%) est diluée à 4% dans un tampon Tris-HCl pour le gel de concentration et à 12,5% pour le gel de séparation (Tableau 3). Les échantillons à analyser sont repris dans le tampon de charge, puis déposés dans les puits du gel à raison de 100 µl par puits.

La migration est effectuée en conditions non dénaturantes (absence de Sodium Dodécyl Sulfate -SDS-), dans une chambre froide à 4°C sous un ampérage de 50 mA et une tension de 200 V pendant 4h. Nous avons réalisé deux systèmes isoenzymatiques: Estérase (EST) et l'acide Phosphatase (PAC).

Tableau 3: Composition des gels d'électrophorèse (Leme *et al.*, 2013)

Composition du gel de séparation	
H ₂ O	3,35 ml
Tris-Hcl (1,5 M- pH 8,8)	2,5 ml
Acrylamide: Bisacrylamide (29,2% :0,8%)	04 ml
Persulfate d'ammonium (10%)	50 µl
TEMED(N,N,N',N'tétraméthyléthylènediamine)	30 µl
Composition du gel de concentration	
H ₂ O	6,02 ml
Tris-Hcl (0,5 M- Ph 6,8)	3,95 ml
Acrylamide: Bisacrylamide (29,2% :0,8%)	1,33 ml
Persulfate d'ammonium (10%)	50 µl
TEMED(N,N,N',N'tétraméthyléthylènediamine)	30µl
SDS (sodium dodécylsulfate)	0,1 ml

SDS est ajouter dans le cas SDS-PAGE

5.2.2. Révélation des bandes électrophorétique

À la fin de la migration, qui a duré 4 heures, les gels sont démoulés et déposés dans des bacs qui sont immergés avec des solutions de révélations (Tableau 4). La réaction enzymatique est à l'origine de l'apparition d'une ou plusieurs bandes colorées.

Ces enzymes sont rendues visible sur le gel par l'utilisation de substrats chromogènes ou fluorogènes qui donnent des produits colorés ou fluorescents après action de l'enzyme. La libération de naphthol permet, ensuite, sa combinaison à un « Azodye » (Fast Garent, Fast blue RR, ...) pour donner un précipité coloré. C'est le cas des Estérases et des Phosphatases (Balén *et al.*, 2004; Leme *et al.*, 2013; Gharbi *et al.*, 2015).

Tableau 4: Enzymes et solutions de révélation utilisés dans cette étude (Skovgaard et Rosendahl, 1998; Koretsky, 2001; Balen *et al.*, 2004; Leme *et al.*, 2013) modifiée

Enzyme	Ingrédients	Quantités
Esterase (EST) (EC.3.1.1.1)	Fast bleu RR	100 mg
	100 Mm Na-phosphate buffer Ph 7,1	100 ml
	α – Naphtyl Acetate 2% (Acétone)	1,5 ml
Acid phosphatase (PAC) (EC.3.1.3.2)	Fast Garnet GBC	50mg
	B- Naphtyl acide phosphate	50 mg
	0,2 M Acétate buffer pH = 5	100 ml

Pour la séparation des protéines totales, les échantillons à analyser sont repris dans le tampon de charge avec le SDS pour dénaturer les structures protéiques, puis incubés pendant 10 minutes à 94°C et ils sont déposés à raison de 100 μ l par puit.

Après migration la coloration des gels de polyacrylamide a été réalisée selon la méthode de Rabilloud (1988) modifiée.

La fixation du gel a été effectuée par une solution d'acide trichloracétique 12 %, pendant 45 minutes sous agitation puis est rincé dans une solution de méthanol 5 % pendant 20 minutes, deux fois. Le lavage est effectué avec de l'eau pendant 20 minutes et le gel est mis dans une solution de Na₂S₂O₃ (Sodium thiosulfate) 0,02 % pendant une minute. Le gel est lavé 2 fois 20 secondes avec de l'eau puis incubé dans une solution d'AgNO₃ (Nitrate d'argent) 0,2 %, formaldéhyde (HCHO) 75 μ l froid pendant 20 minutes à 4 (à préparer juste avant emploi). Le gel est ensuite rincé avec de l'eau 2 fois 20 secondes en ayant changé de chambre d'incubation puis il est développé dans une solution de Na₂CO₃ (Carbonate de soude) 3 %, HCHO 100 μ l, quelques grains de Na₂S₂O₃. Lorsque le développement est suffisant, la solution doit être rapidement enlevée pour pouvoir ensuite être rincée à l'eau et la réaction est arrêtée dans une solution HAc 5 % pendant 5 minutes puis dans une solution d'éthanol 5 % pendant 5 minutes.

5.2.3. Analyse des zymogrammes

Un zymogramme reproduisant les différents phénotypes ou électromorphes a été construit pour chaque système enzymatique étudié. Les profils de bandes des deux enzymes et de protéines totales est traités comme caractères phénotypiques de chaque isolat. Le polymorphisme phénotypique a été estimé en utilisant l'indice de similarité calculer par logiciel JMP. L'analyse des zymogrammes n'a tenu compte que de la présence et de l'absence des bandes qui sont considérées comme des caractères phénotypiques discriminants et indépendants. Pour chaque système enzymatique, toutes les positions des isozymes et des protéines totales de tous les isolats sont répertoriées, dans lesquelles 1 a été affecté à la présence d'une bande particulier et 0 à son absence dans le même gel (Mohammadi *et al.*, 2004; Leme *et al.*, 2013; Magda Elsayed et Modhi Obaidan, 2017). Ces positions sont caractérisées par des sites d'occupation Rf pour «Retardation factor » et numérotées de B1 à Bn où la position Bn correspondant à la bande dont la migration est la plus rapide, et B1, la plus faible. L'ensemble des données fournies par les deux systèmes enzymatiques constitue le « profil phénotypique » caractéristique de chaque isolat. Les isolats présentant le même phénotype appartiennent au même zymogrammes.

6. Test d'antagonisme *in vitro*

Nous avons utilisé dans ce test l'agent antagoniste *Trichoderma longibrachiatum*, ce dernier a été isolé à partir du sol dans la région d'Aïn sefra (wilaya de Naama) dans le Sud-ouest de l'Algérie. *T. longibrachiatum* a été identifié et séquencé par des méthodes moléculaires par M^{me} Haouhach sadika, doctorante au niveau du laboratoire de Microbiologie Appliquée, Université Oran 1 (Ahmed Ben Bella).

L'identification est faite au centre de recherche agricole espagnol-portugais, Université de Salamanque, Salamanque, Espagne.

L'antagonisme entre trois isolats de Foa (T15D, M15A1 et O15T) et *T. longibrachiatum* a été étudié par la méthode de confrontation directe décrite par Howell (2003), nous avons déposé diamétralement dans des boîtes de Pétri contenant 15 ml de milieu PSA, deux disques de 0,5 cm de diamètre de Foa et

T. longibrachiatum placé aux points opposés sur la même ligne diagonale à 1 cm de distance du bord. Les contrôles sont constitués uniquement par le pathogène.

6.1. Évaluation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne de *Foa* est évaluée en mesurant le rayon de la colonie tous les jours et ceci pendant sept jours. L'efficacité de *T. longibrachiatum* dans la suppression de la croissance radiale de *Foa* est calculée au dernier jour suivant l'incubation en utilisant la formule donnée ci-dessous:

$$C - T/C. 100$$

Où C est la croissance radiale du pathogène chez le témoin et T la croissance radiale du pathogène en présence de *T. longibrachiatum* (Asran-Amal *et al.*, 2010; Benabbes *et al.*, 2015b; Rashmi *et al.*, 2016; Toghueo *et al.*, 2016).

Enfin, toutes les données collectées à partir des expériences réalisées au laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA), ont été analysées statistiquement par la variance (ANOVA), ainsi que l'logiciel JMP SAS Pro (JMP®, Version <12>. SAS Institute Inc., 2015), au niveau du Laboratoire de Biotechnologie et Génétique Agroalimentaire et Santé, Faculté des Sciences et Techniques de Settat, Université Hassan 1er - Maroc, pour élaborer les dendrogrammes avec les tests de corrélation.

CHAPITRE III: RESULTATS ET discussion

Rapport-Gettuis.com



1. Isolement du *Fusarium* sp.

Après 7 jours d'incubation de notre échantillon, on a remarqué un développement des secteurs mycéliens, aux tours des fragments du rachis (voir la figure 21). Nous avons procédé à la purification des souches, suivie de culture monospore, qui présente une variation d'aspects cultureux chez les colonies de descendants, de quelques souches de *Fusarium* sp. illustré dans la figure 22, par rapport à ceux obtenus sur les différents milieux des mêmes isolats.

Trois autres champignons du sol, appartient au genre *Fusarium*, sont apparus au cours de nos isolations.

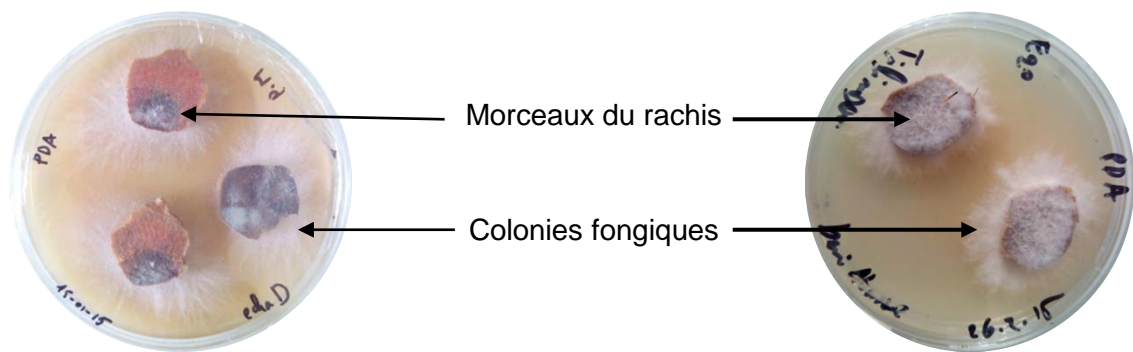


Figure 21: Le développement de Foa sur milieu PSA à partir des rachis infecté

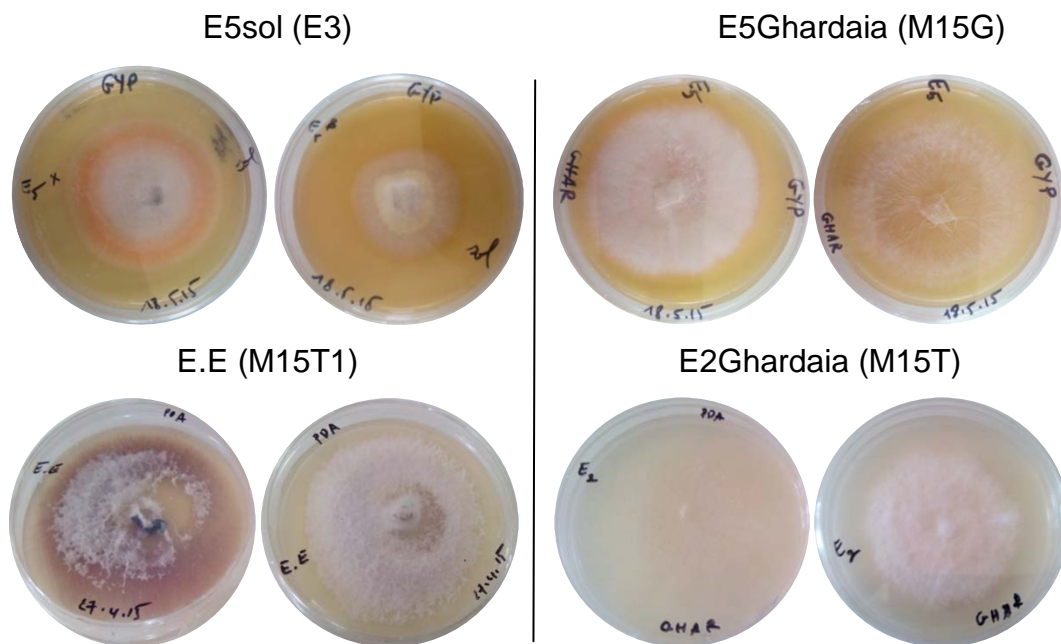


Figure 22: Quelques morphotypes de *Fusarium* sp. après la culture monospore

2. Description et identification des isolats de *Fusarium* sp.

Les isollements effectués à partir des rachis du palmier dattier présentent les symptômes typiques de Bayoud, ils nous permettent d'obtenir un total de 20 isolats; 50% provient des palmeraies d'Adrar, 40% des palmeraies de Ghardaïa et 10% provient des palmeraies de Bechar.

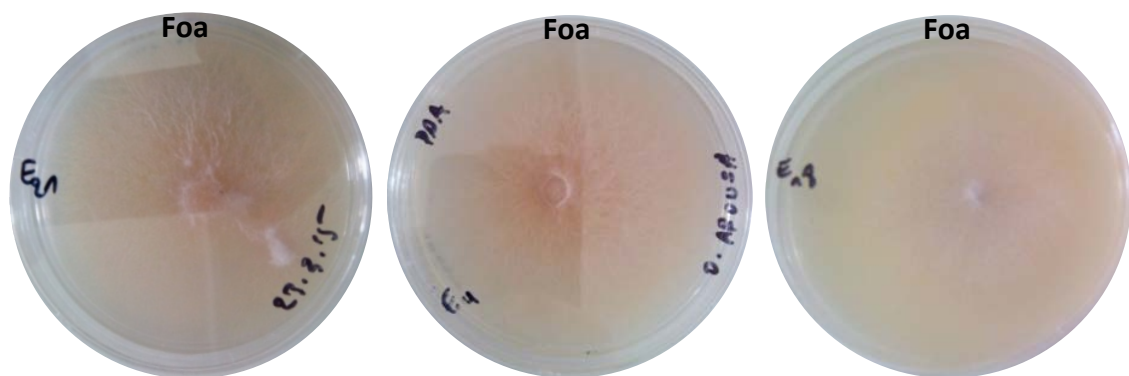
Alors que la rhizosphère nous a donné trois autres isolats, ces derniers appartiennent au genre *Fusarium* d'après l'observation microscopique préliminaire qu'on a réalisé.

Pour l'ensemble des isolats, différents aspects morphologiques ont été observés, il s'agit de types: duveteux, cotonneux, duveteux frisé et ras frisé, comme la figure (23) illustre. Ils présentent aussi, une croissance rapide de la plupart des isolats (3,5 à 6,4 cm après 5 jours) et une couleur variable entre les isolats (voir le tableau 5).

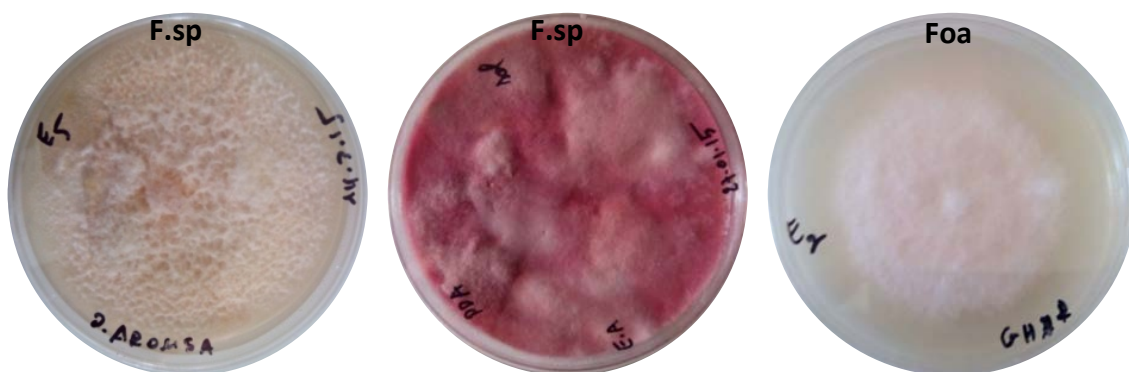
L'observation microscopique révèle que nos isolats isolés à partir des rachis, produisent trois types de conidies, à savoir les microconidies, les macroconidies et les Chlamydo-spore.

- Les microconidies étaient abondantes, petites, généralement unicellulaires, de forme globulaire, allongées. Elles sont produites seulement en fausses têtes sur de courts monophialides portés perpendiculairement aux filaments (Figure 24(A)).
- Les macroconidies peu nombreuses, pédiformes à bout pointu, courbées et cloisonnées, elles sont composées de 2 à 3 septates et rarement plus (Figure 24: B et D).
- Les Chlamydo-spore avec une position terminale ou intermédiaire (Figure 24(C)).

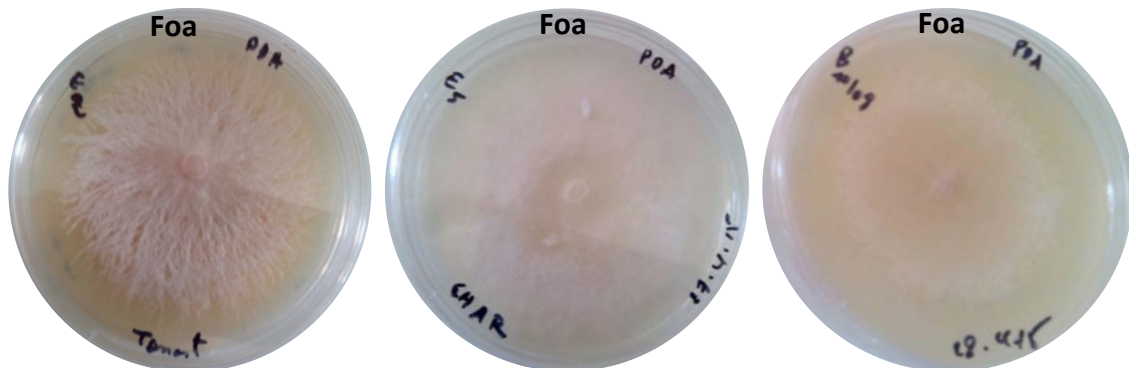
Un isolat de sol (E1) produit des macroconidies composées de 4 à 5 cloisons (Figure 24; F) et les deux autres isolats (E2 et E3) produisent les deux types de spores macroconidies et microconidies (Figure 24(E)).



Morphotypes ras frisé



Morphotypes cotonneux



Morphotypes duveteux

Figure 23: Différents aspects morphologiques des isolats;

Foa: *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*

F sp.: *Fusarium* sp.

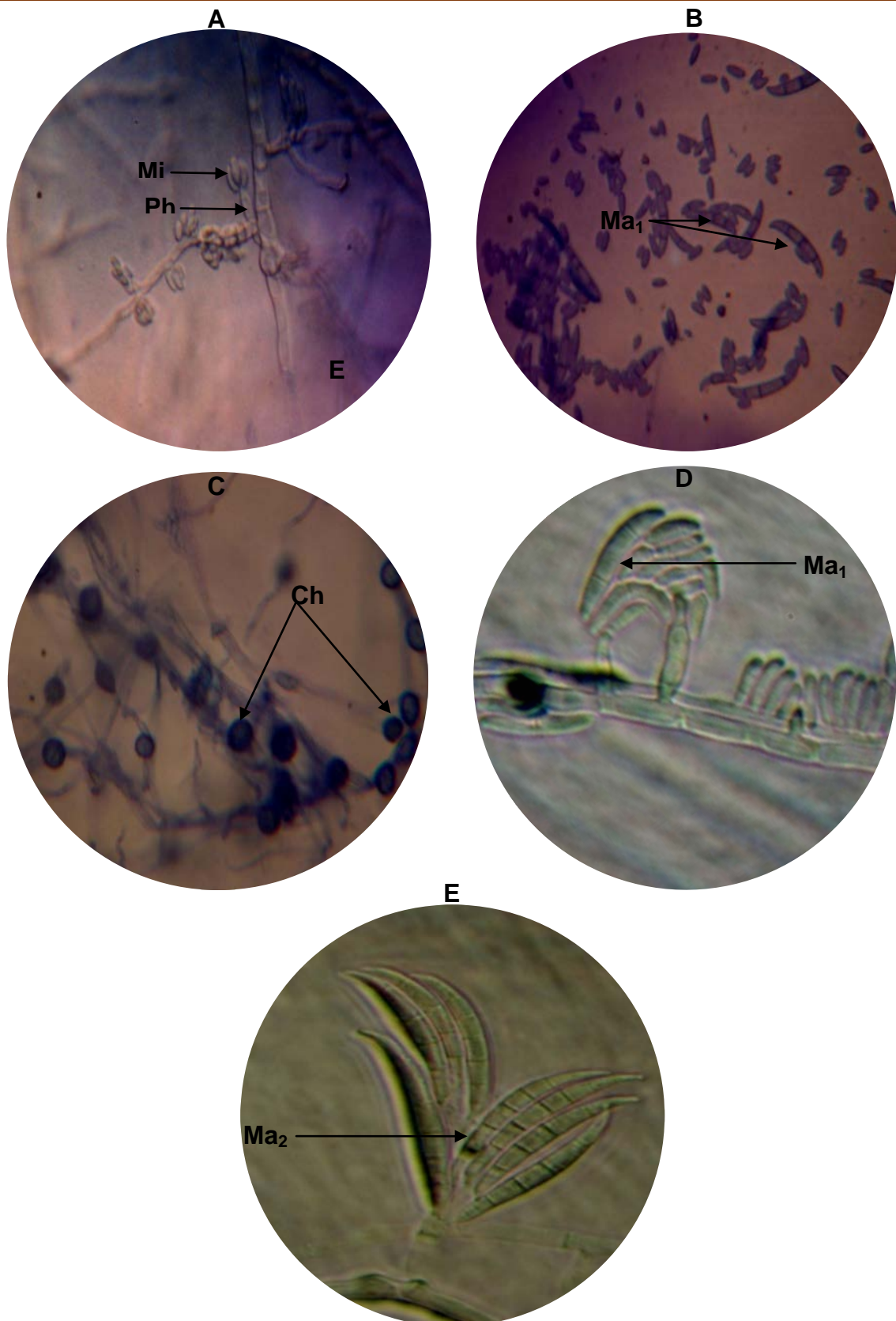


Figure 24: Observation microscopique des spores de *Foa* et *Fusarium* sp.
(x400)

Mi: Microconidies de *Foa* (A) ; **Ma1:** Macroconidies de *Foa* (B et D) ; **Ma2:** Macroconidies de *Fusarium* sp. (E) ; **Ch:** Chlamydospores ; **Ph:** Phialide

Tableau 5: Description de vingt-trois isolats de *Fusarium* sp.

Codes	Années	Cultivars	Localités	Régions	Morphotype	Couleur
M15A1	2015	Adala	Metlili	Ghardaïa	Cotonneux	blanc rosé
M15G	2015	Ghares	Metlili	Ghardaïa	Cotonneux	Blanc
M15D1	2015	Dagla	Metlili	Ghardaïa	Cotonneux	Blanc
E2	2015	Rhizosphère	Metlili	Ghardaïa	Cotonneux	Blanc
B15H	2015	Hmira	Beni Abbes	Bechar	Duveteux	Blanc
M15H	2015	Hmira	Mansor Bouda	Touat	Ras frisé	Blanchâtre
T15H1	2015	Hmira	Tillilène	Touat	Ras frisé	Rose saumon
A15T	2015	Tegaza	Adgha	Touat	Duveteux	Blanchâtre
E3	2015	Rhizosphère	Metlili	Ghardaïa	Cotonneux	Blanchâtre
T15H	2015	Hmira	Timmi	Touat	Duveteux	Blanc
M15T	2015	Timliha	Mansor Bouda	Touat	Duveteux	blanc rosé
M15T1	2015	Tazerzait	Metlili	Ghardaïa	Duveteux frisé	Blanc
B15F	2015	Feggous	Beni Abbes	Bechar	Ras frisé	blanc rosé
T15D	2015	Dagla	Tillilène	Touat	Ras frisé	Blanc
M15D	2015	Dagla	Metlili	Ghardaïa	Cotonneux	Blanchâtre
O15T	2015	Tilimsou	Ouled Aaroussa	Touat	Duveteux	blanc rosé
I08G	2008	Ghars	INPV	Ghardaïa	Ras frisé	Rose saumon
M15A2	2015	Adala	Metlili	Ghardaïa	Cotonneux	Blanchâtre
E1	2015	Rhizosphère	Mansor Bouda	Touat	Cotonneux	Rose
M15A	2015	Aghamou	Mansor Bouda	Touat	Duveteux	Blanchâtre
O15H	2015	Hmira	Ouled Ali	Touat	Duveteux frisé	Blanchâtre
O15D	2015	Dagla	Ouled Aaroussa	Touat	Cotonneux	Rose saumon
M15D2	2015	Dagla	Metlili	Ghardaïa	Cotonneux	Blanc

3. Test du pouvoir pathogène

Le taux moyen de germination des graines était de 98%. Deux semaines après inoculation, nous avons remarqué que les 20 isolats, isolés du rachis, ont reproduit les symptômes de la maladie sur les jeunes plantules comme le flétrissement, le jaunissement et le dépérissement de quelques feuilles et nous avons commencé les notations.

Le résultat de ce test montre que les 20 isolats de *Foa* ont révélés pathogènes. Le nombre de plantules détruites, permis les 25 inoculées par un

isolat de Foa, est compris entre 11 et 25 avec un pourcentage de mortalité varie de 44% à 100% chez les isolats de Ghardaïa, de 44% à 96% dans les isolats de Adrar, enfin, 96% à 100% chez les deux isolats de Bechar (B15F et B15H) respectivement.

Alors que les trois lots inoculés avec *Fusarium* sp. isolés du sol (E1, E2 et E3) aucun symptôme n'a été observé, donc ces isolats ne montrent aucune agressivité contre ces plantules. On comparaison avec les plantes témoins, qui sont demeurées saines après deux mois d'inoculation (Figure 26 ; Tableau 6).



Figure 25: Plantules de palmier dattier au stade de deux feuilles après une semaine d'inoculation artificielle



Figure 26: Résultat du test de pathogénicité (Gauche: plantes mortes après deux mois d'inoculation, à droite: plantes témoins)

Tableau 6: Pourcentages cumulés des plantules mortes par semaines et par isolats à partir du 15^{ème} jour suivant l'inoculation

Taux de mortalité en %					
Isolats	3 semaines	4 semaines	5 semaines	6 semaines	Total
M15A1	16	40	24	16	96
M15G	04	24	20	24	72
M15D1	12	20	28	20	80
E1	00	00	00	00	00
B15H	16	24	32	28	100
M15H	04	12	20	16	52
T15H1	12	28	16	20	76
A15T	16	32	20	16	84
E2	00	00	00	00	00
T15H	20	28	24	24	96
M15T	00	16	13	24	53
M15T1	16	24	32	08	80
B15F	20	32	24	20	96
T15D	28	20	28	24	100
M15D	12	32	24	24	92
O15T	00	12	20	12	44
I08G	24	20	20	28	92
M15D2	12	16	28	20	76
E3	00	00	00	00	00
M15A	04	12	20	08	44
M15A2	06	14	18	06	44
O15H	08	24	28	28	88
O15D	04	16	20	12	52
Témoin	00	00	00	00	00

Nous avons noté la présence d'une nécrose brune dans les racines des plantules inoculées, qui présente les symptômes de la maladie, cette nécrose est principalement basée sur la réponse de l'hôte à des réactions d'hypersensibilité tissulaire, confirmant la présence de Foa dans les racines infectées (Figure 27).

L'analyse de la variance (ANOVA) des ratios des plantules a montré qu'il n'y avait pas d'effet significatif d'origine géographique sur le taux de mortalité $P = 0,3042$ (Tableau 7).

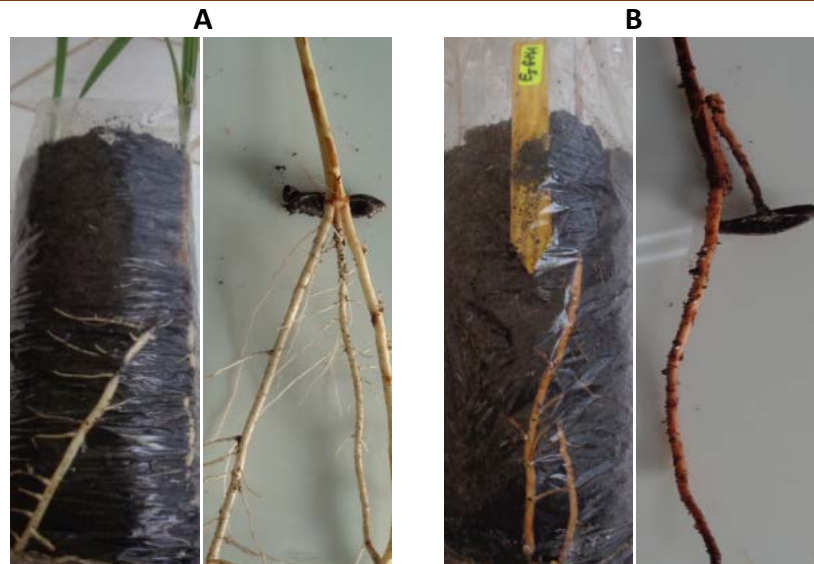


Figure 27: Symptômes induits par Foa sur une jeune racine de palmier dattier: Gauche: Racine avec un couleur normal " Contrôle " (A); Droite: Nécrose visible avec une couleur brune après inoculation (B).

Tableau 7: Analyse de la variance des nombres cumulés de plantules mortes.

Source	DF	Somme des carrés	Carré moyen	F Ratio	Prob > F
Origine géographique	2	940,63962	470,3198	1,2833	0,3042
Error	16	5864,0972	366,506		
C. Total	18	6804,7368			

Les 20 isolats de Foa testés ont été isolés à partir d'au moins huit cultivars de date provenant du Ghardaïa, Bechar ou Adrar. Les résultats obtenus ont montré qu'il n'existe pas de corrélation entre la pathogénicité des isolats et l'origine géographique de l'isolat ou du cultivar à partir duquel cet isolat a été isolé.

Les isolats provenant de Béchar présentent le taux de mortalité le plus élevé ($98,00 \pm 283\%$), tandis que ceux de Ghardaïa et Adrar montrent des taux de mortalité plus bas: $74,63 \pm 15,50\%$ et $75,56 \pm 22,84\%$ respectivement. De plus, le coefficient de variation (CV) de Bechar est de 2,89%, il explique l'homogénéité des isolats. D'autre part, le CV présente la plus forte variation au sein des isolats d'Adrar (30,23%) et de Ghardaïa (20,77%), en raison de l'hétérogénéité de ces deux origines (Tableau 8).

Tableau 8: Comparaison des moyennes (\pm erreur-type) d'origine géographique sur le taux de mortalité, au moyen des moindres carrés (Test t de l'étudiant).

Origine géographique	Taux de mortalité (%)		
	Gamme	Moyenne \pm SD	CV (%)
Bechar	96 - 100	98,00 \pm 2,83 a	2,89
Ghardaïa	52 - 92	74,63 \pm 15,50 a	20,77
Adrar	44 - 100	75,56 \pm 22,84 a	30,23

Les niveaux non reliés par la même lettre ne sont pas significativement différents à $P = 0,05$.

Permis les isolats testés, plusieurs entre elles présentent un thalle cotonneux morphologiquement différent de l'aspect typique des autres isolats. Cette différence morphologique nous a permis de constater que la perte de la morphologie dite typique ne semble pas affecter le pouvoir pathogène de l'isolat concerné. Par contre des isolats présentent une agressivité plus élevée 96% et 92% respectivement pour l'isolat M15A1 et M15D ont un thalle cotonneux.

L'induction de la maladie et la reproduction des symptômes témoignent de l'appartenance des isolats inoculés à la forme spéciale albedinis. En fin d'essai, et pour confirmer l'infection des jeunes plantules par Foa, nous avons jugés utile de réaliser des coupes histologiques transversales et longitudinales des racines après un mois d'inoculation.

Nos observations microscopiques relatives, à l'anatomie et à la morphologie (Figure 28), ainsi que les réactions histochimiques, dans les racines des jeunes plantules, ont tout d'abord permis de mettre en évidence et de confirmer les caractéristiques des structures anatomiques des racines, et de montrer ensuite que le périphérique de ces racines est caractérisé par des points bruns, résulte la sécrétion des polyphénols lors des réactions de défense contre Foa (Figure 29).

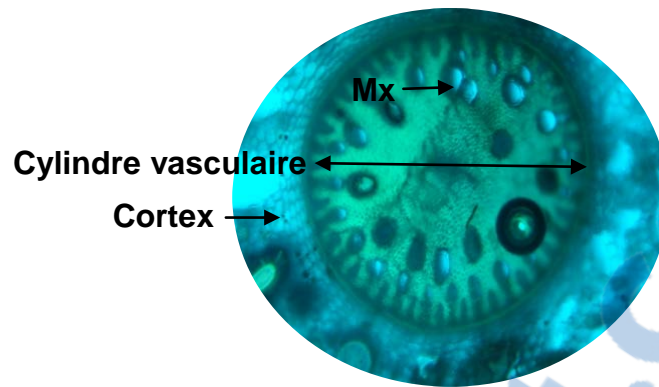


Figure 28: Coupe histologique transversale réalisée sur d'une racine d'une plantule témoin: **Mx**: métaxylème ; **CV** : Cylindre vasculaire

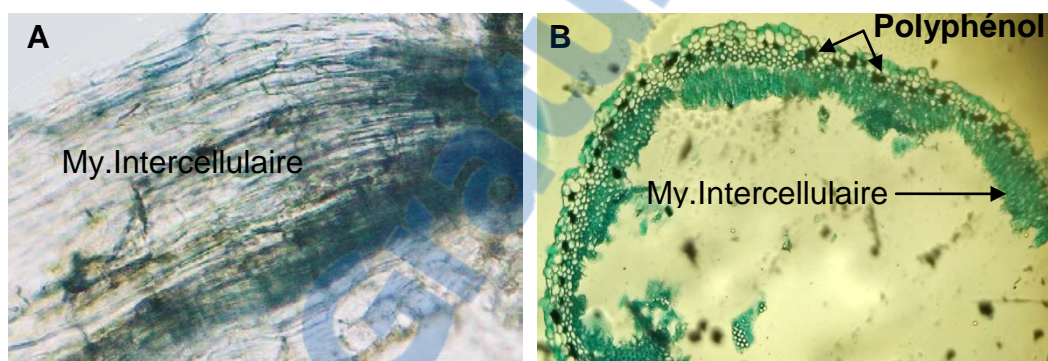


Figure 29: Observation microscopique des coupes histologiques. **A:** Coupe longitudinale montre le passage de Mycélium dans les vaisseaux conducteurs; **B:** Coupe transversale montre le Mycélium à travers l'écorce et occupation des espaces intercellulaires et la sécrétion des composés phénoliques lors des réactions de défense sur la périphérie racinaire

4. Test d'activité hydrolytique

4.1. Activité amylasique du *Fusarium* sp.

Parmi les 23 isolats, nous avons sélectionné les 20 isolats de *Foa* productrice d'amylase, qui ont été développés des zones de lyse (halo clair) sur le milieu sélectif, indiquant l'hydrolyse d'amidon. Cependant, les trois isolats (E1, E2 et E3) n'en possédant pas.

On a distingué une activité amylolytique variée entre les 20 isolats après la mesure de diamètre des zones formées, ou on a calculé l'activité moyenne des trois répétitions pour chaque isolat.

Nous avons enregistré une meilleure activité amylolytique pour l'isolat M15T1 (1,97 cm) suivi par les deux isolats B15H et T15D avec une activité

moyenne égale 1,63 et 1,57 cm respectivement, alors que, les plus faible activités ont été enregistré chez les trois isolats O15T, M15A2 et M15A avec les diamètres suivants 0,60, 0,63 et 0,87 respectivement. Puis nous avons corrélé les moyennes de cette activité avec la pathogénicité de chaque isolats (Tableau 9 ; Figure 30).

Tableau 9: Diamètre d'activité amylasique du *Fusarium* sp.

Isolats	Diametre1	Diametre2	Diametre3	Moyennes
M15A1	1,2	1,4	1,4	1,33
M15G	1,5	1,3	1,5	1,43
M15D1	1,2	1,5	1,4	1,37
E1	0	0	0	0,00
B15H	1,8	1,6	1,5	1,63
M15H	1,1	0,8	1	0,97
T15H1	1,3	1,6	1,5	1,47
A15T	1	1,3	1	1,10
E2	0	0	0	0,00
T15H	1,3	1,4	1,6	1,43
M15T	1,2	1	1	1,07
M15T1	2	1,8	2,1	1,97
B15F	1,4	1,7	1,5	1,53
T15D	1,7	1,5	1,5	1,57
M15D	1,1	1,3	1	1,13
O15T	0,6	0,8	0,4	0,60
I08G	1,6	1,3	1,5	1,47
M15D2	1,2	1,4	1,2	1,27
E3	0	0	0	0,00
M15A	1	0,8	0,8	0,87
M15A2	0,7	0,7	0,5	0,63
O15H	1,2	1	1,3	1,17
O15D	1,1	0,8	1,4	1,10

4.2. Activité cellulolytique du *Fusarium* sp.

L'activité enzymatique hydrolytique a montré que tous les isolats de *Foa* étaient capables de produire la cellulase, ainsi que les trois isolats (E1, E2 et

E3) du sol. La dégradation de cellulose après incubation est observée par le développement de zones de lyse (halo léger) sur le milieu sélectif. Nous avons noté qu'il existe une variation de la capacité des isolats à produire de la cellulase après la mesure des diamètres des zones de lyse (Tableau 10 ; figure 31).

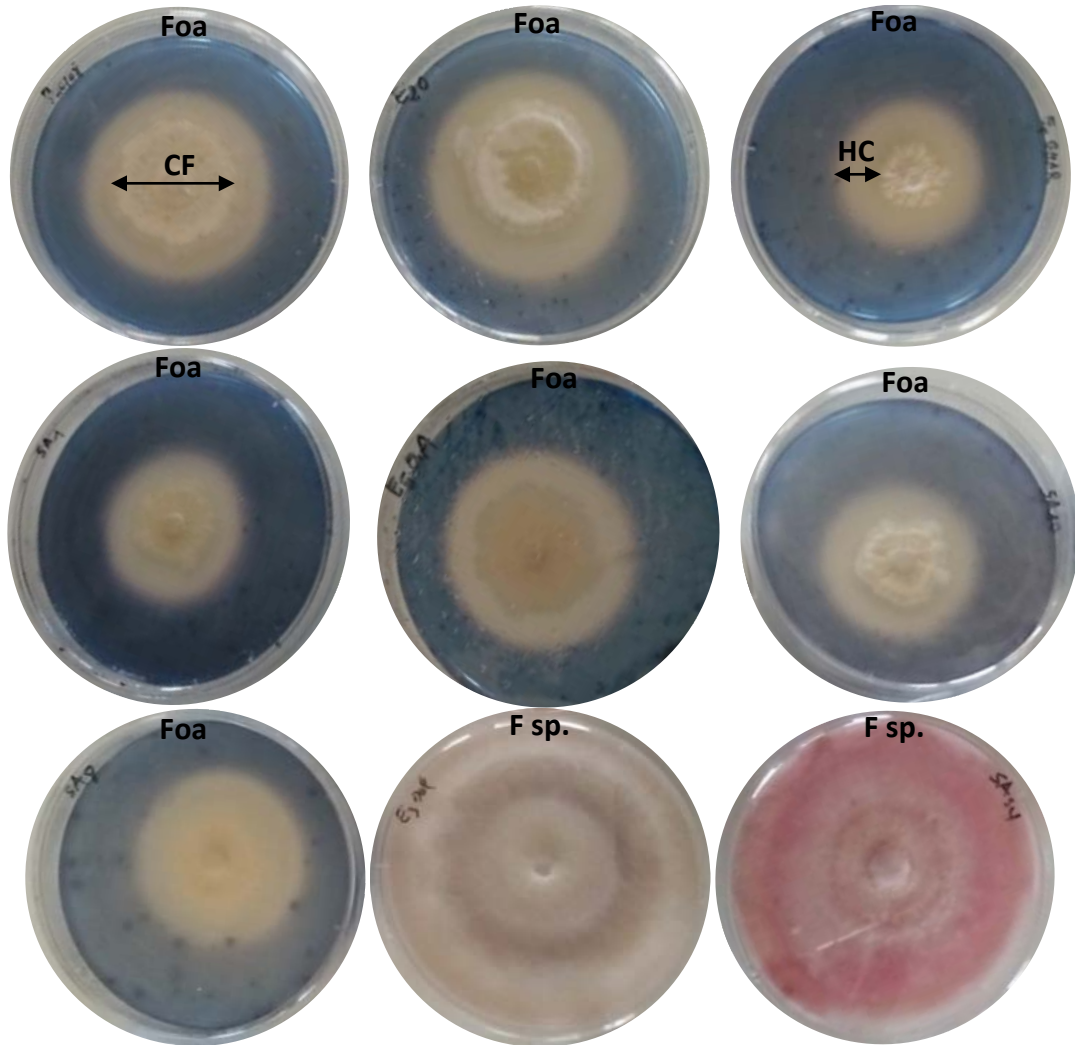


Figure 30: Activité amylasique chez *Foa* et *Fusarium* sp. du sol.

Foa: *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*

F sp.: *Fusarium* sp.

CF: Colonie fongiques

HC: halo claire

Tableau 10: Diamètre d'activités cellulosesques du 23 isolats

Isolats	Diamètre1	Diamètre1	Diamètre1	Moyennes
M15A1	4,4	4,2	3,9	4,17
M15G	3	2,7	3,2	2,97
M15D1	3,2	2,8	3	3,00
E1	2,4	3	2,7	2,70
B15H	4,7	4,3	4,5	4,50
M15H	3,1	2,8	2,7	2,87
T15H1	3,9	3,6	3,8	3,77
A15T	2,1	1,7	2,3	2,03
E2	3	2,5	2,8	2,77
T15H	3,4	3,4	3,6	3,47
M15T	2,2	2,5	2,3	2,33
M15T1	2	1,8	2,1	1,97
B15F	3,4	3,5	3,2	3,37
T15D	4,1	4,3	4,1	4,17
M15D	2,5	2,3	2,3	2,37
O15T	0,6	0,8	0,4	0,60
I08G	3,3	3	3,1	3,13
M15D2	3,2	3,4	4,2	3,60
E3	1,7	1,3	1,7	1,57
M15A	1	0,8	0,8	0,87
M15A2	3,1	3,3	3,5	3,30
O15H	2,9	3,4	3,3	3,20
O15D	4,1	3,8	4,4	4,10

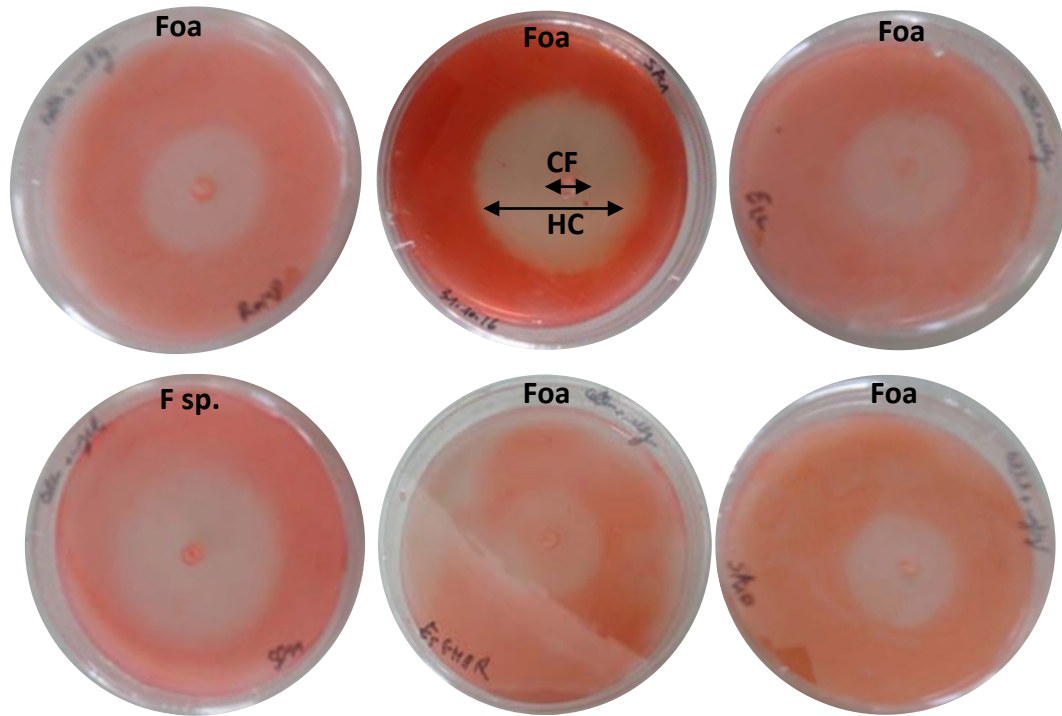


Figure 31: Activité cellulosique chez Foa et *Fusarium* sp. du sol.

Foa: *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*

F sp.: *Fusarium* sp.

CF: Colonie fongiques

HC: halo claire

5. Corrélation entre la pathogénicité et les deux enzymes

Nous avons remarqué qu'il y a une forte corrélation positive entre le taux de mortalité et l'activité amylolytique d'une part et une corrélation faible avec la cellulase d'autre part. A cet effet l'analyse en composantes principales (ACP) consiste à rechercher les axes qui représentent le mieux la corrélation des isolats dans l'espace multidimensionnel des trois paramètres (taux de mortalité, amylase et cellulase).

Nos résultats sont expliqués par deux composantes principales (Figure 32): La première composante principale (CP1 (74,80%)), est plus corrélée avec le taux de mortalité et l'activité d'amylase (Tableau 11), cela suggère que ces deux variables varient ensemble si l'on augmente, l'autre à tendance à augmenter. Cette CP1 peut être considérée comme mesure du taux de mortalité (0,63) et de l'activité d'amylase (0,62). La deuxième composante principale (CP2 (22,3%)), est fortement corrélée avec l'activité de cellulase (0,89) (Figure 32), elle augmente seulement avec l'augmentation de l'activité de

cellulase. Cette CP2 peut être considérée comme mesure de l'activité de cellulase (Tableau 11).

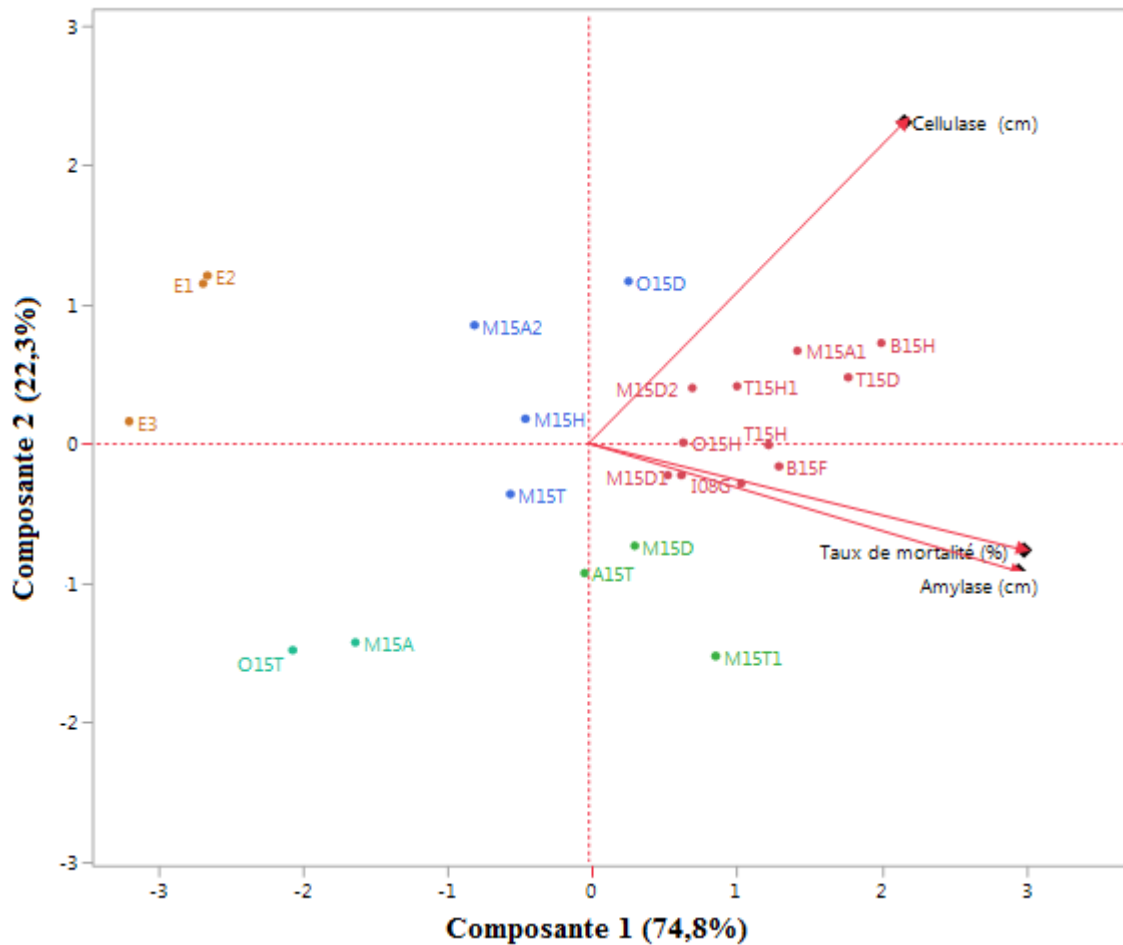


Figure 32: Composantes principales calculées avec les corrélations

On a remarqué que le groupe en rouge (M15D2, M15H1, T15H, O15H, B15F, M15D1 et I08G) montre des valeurs modérément élevées à élevées pour toutes les variables étudiées, notamment le sous-groupe M15A1, B15H et T15D, qui à la particularité d'avoir la plus grande valeur enregistrée en taux de mortalité, d'activité amylasique et cellulase. En ce qui concerne les trois isolats isolés du sol (E1, E2 et E3), ce groupe est caractérisé par un taux de mortalité et une activité d'amylase, qui est nul, mais une activité cellulase moyenne.

Tableau 11: Vecteurs propres.

	Axe principal 1	Axe principal 2	Axe principal 3
Taux de mortalité (%)	0,63	-0,29	-0,71634
Amylase (cm)	0,62	-0,35	0,69662
Cellulase (cm)	0,46	0,89	0,03970

6. Etude de la variabilité isoenzymatiques

Dans cette étude, un total de 23 isolats représentant 20 isolats de forme spéciales *albedinis* et 03 isolats de *Fusarium* sp. appartenait aux trois régions: Adrar, Ghardaïa et Bechar ont été comparés en termes de profil de protéines solubles totales et d'isozymes.

6.1. Estérase

L'analyse d'électrophorèse native PAGE des isozymes d'estérases dans nos isolats de *Fusarium*, enregistrées à l'aide de l'alpha-naphtylacétate et de bêta-naphtylacétate, a indiqué des estérases produites à partir de 10 locus. La couleur des bandes caractéristiques pour les isozymes d'estérases correspond à l'hydrolyse soit de l'alpha-naphtylacétate (noir) soit de l'acétate de bêta-naphtylacétate (un mélange de noir et de rouge). Le motif d'estérases du profil des isolats dans cette étude a montré la révélation de dix bandes nommées B1 à B10 correspondent a des estérases Est-1 à Est-10 apparaissant sur le gel après la migration avec une mauvaise résolution (Figure 33 (A)). Les estérases produites à partir des locus Est-3, Est-9 et Est-10 ont été observées sous forme de bandes fortement colorées.

Pour faciliter le traitement des données, on a élaboré un diagramme représentatif de ce résultat (Figure 33 (B)). Nous avons remarqué que les fractions d'estérase se déplacent à tous les niveaux à des vitesses différentes avec des mobilités relatives comprises entre 0,06 et 0,93 (Annexe 4).

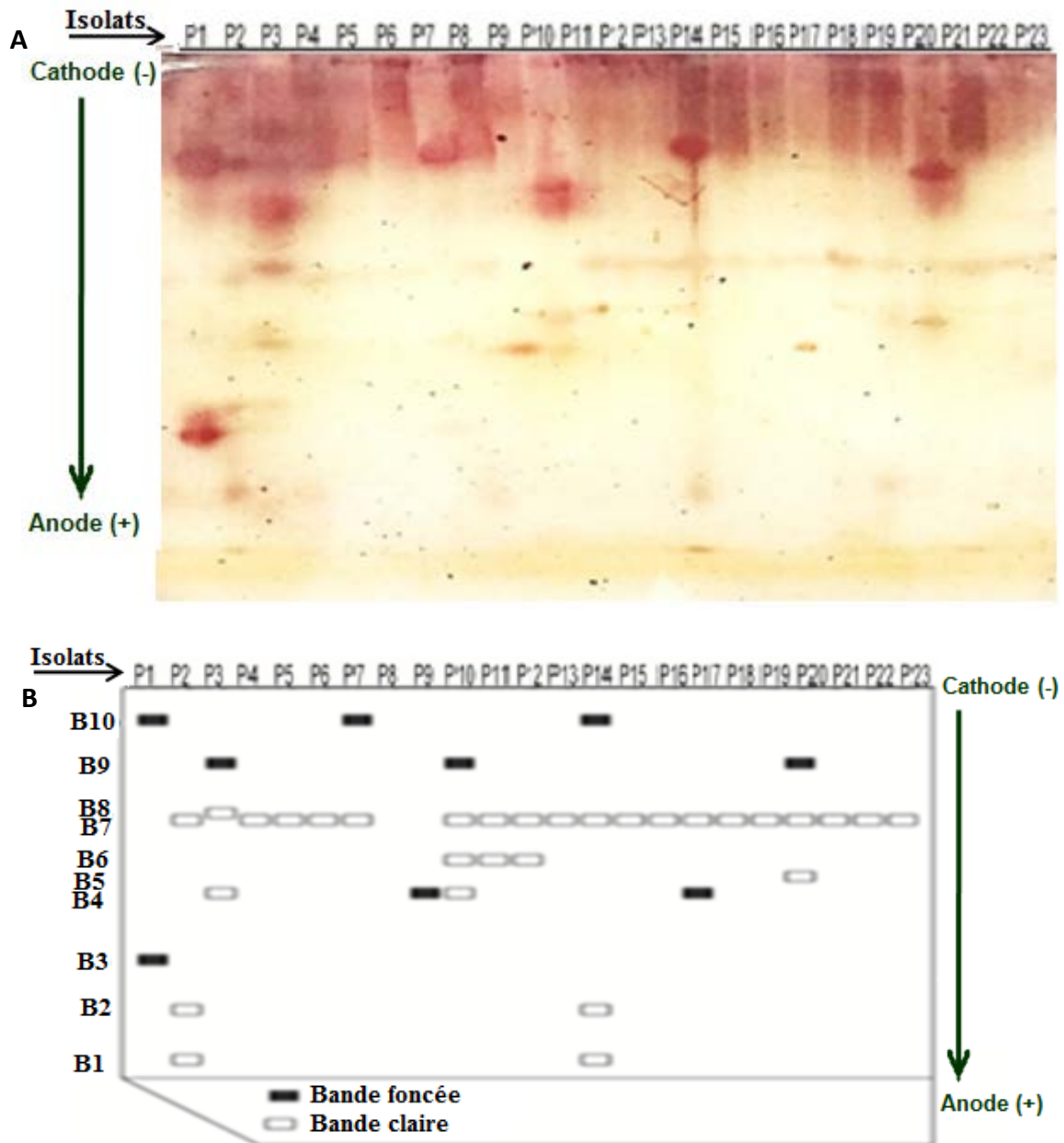


Figure 33: profils d'estérase de *Fusarium* .sp. (A); Diagramme représentatif (B); (P1-P23: isolats; B1-B10: Bandes)

6.2. L'acide phosphatase

La structure du profil isoenzymatique de l'acide phosphatase dans cette étude a montré les caractéristiques de la variabilité génétique de chaque isolat. La figure 36 montre une analyse PAGE native d'isozymes de l'acide phosphatase de mycélium des 23 isolats de *Fusarium*, représenté par 13 fractions composées par des bandes soit foncée soit claire bien séparées, avec des valeurs de mobilité relative variées de 0,02 à 0,96 (Figure 34).

Dans ce profil électrophorétique, deux fractions B12 et B13 ont été observées avec un déplacement lent et les autres ont eu un déplacement rapide vers la fronde de migration. En effet, la fraction d'acide phosphatase à déplacement lent B13 a été observée dans tous les isolats, avec intensité intense (bandes foncées), à l'exception de l'isolat P19 (E2), qui a une faible intensité (Bande claire). Tandis que, la deuxième fraction lente B12 présente uniquement dans les deux isolats P18 (M15A2) et P19 (E2). Dans les deux fractions rapides B6 et B7, les isolats P23 (M15D2), P2 (E2), P4 (E1), P5 (B15H) et P8 (A15T) étaient représentés par bande unique et le reste des fractions représentées par des bandes varie d'un isolat à l'autre (Figure 34 ; Annexe 5).

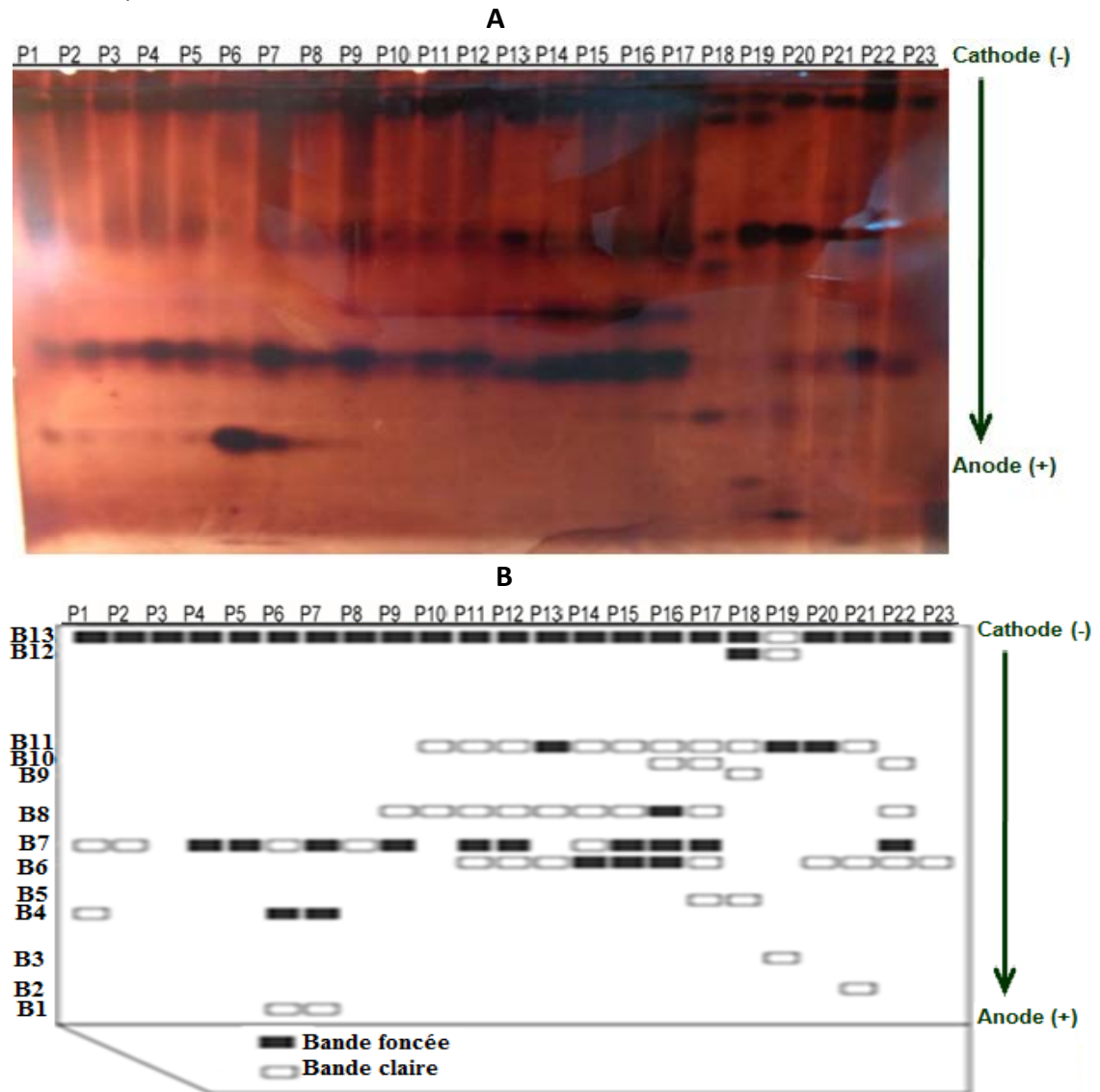


Figure 34: profils d'acide phosphatase de *Fusarium* .sp. (A); Diagramme représentatif (B); (P1-P23: isolats; B1-B13: Bandes)

6.3. Analyse du cluster d'isozymes

Une classification hiérarchique ascendante basée sur l'établissement d'une matrice au moyen du coefficient de similarité de Jaccard conjuguée à la méthode JMP a été utilisée pour schématiser les relations entre les isolats. Elle a conduit à la construction d'un dendrogramme illustré dans la figure 37. L'analyse de ce dendrogramme a montré que les 23 isolats formaient deux principaux groupes, A et B (Figure 35). Le groupe B se compose de deux sous groupes B1 et B2, le sous-groupe B2 formé par deux isolats représentatifs de *Fusarium* sp. (E3) et Foa (M15A) associés entre eux à 93,3%; le B1 formé au seuil de 94,9% par les deux isolats E1 et E2, ces derniers isolés du sol et correspondant au *Fusarium* sp.

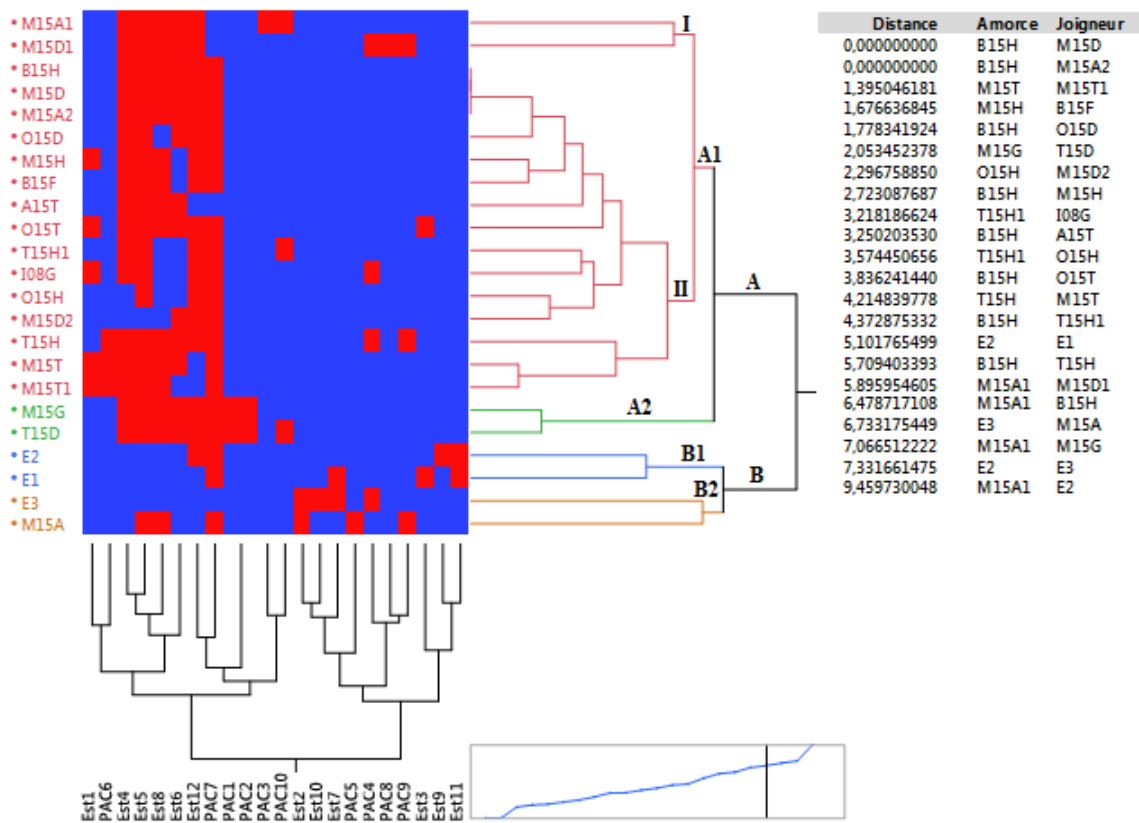


Figure 35: Dendrogramme de similarité par distance chez les 23 isolats de *Fusarium* sp. révélé par JMP pour l'estérase et l'acide phosphatases

Le groupe A se compose de deux sous groupes A1 et A2, le sous-groupe A2 regroupe deux isolats M15G et T15D représentatifs de la forme spéciale *albedinis* avec un taux de similarité de 98%. Les isolats du sous groupe A1 ont ensuite été divisés en deux sous-sous groupe I et II, le sous-sous-groupe I est

formé par deux isolats M15A1 et M15D1 associés entre eux à 94,11%, tandis que un ensemble de quinze isolats (B15H, M15H, B15F, M15D, O15T, M15A2, O15H, O15D, M15D2, T15H1, A15T, I08G, T15H, M15T et M15T1), originaires des trois régions prospectées, constitue le sous-sous groupe II qui est lui-même subdivisé en huit sous-groupes qui se regroupent à des niveaux allant de 94,3% à 100% entre les isolats de la forme spéciale *albedinis*.

A l'intérieur des sous groupes et des sous-sous groupes, certains isolats apparaissent très comparables (Figure 35), certains isolats apparaissent très proches génétiquement. C'est le cas des isolats M15D et B15H, M15D et M15A2 du sous-sous groupe II qui affichent un taux de similarité de 100%. C'est le cas aussi des isolats M15T, M15T1, M25H, B15F, qui s'associent au seuil de 99% dans le même sous-sous groupe II.

7. Electrophorèse des protéines totales

Au cours de cette étude nous avons conduit une expérimentation basée sur l'analyse des protéines totales extraites à partir de nos isolats. A ce sujet les protéines totales ont été soumises à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS, et on a obtenu les profils figurant dans la figure 36. D'après ces profils on a pu déceler une hétérogénéité des protéines par localisation et intensité, en utilisant les données fournies par l'observation de l'absence ou la présence de bandes communes dans les 23 isolats (Annexe 6). En effet, la bande B11 n'est présente que dans l'isolat P13 (E2), celles qui ne le sont pas présente que dans les trois isolats P12 (M15T1), P5 (B15H) et P22 (O15D), qui sont isolés des trois régions Ghardaïa, Bechar et Adrar respectivement (Figure 36).

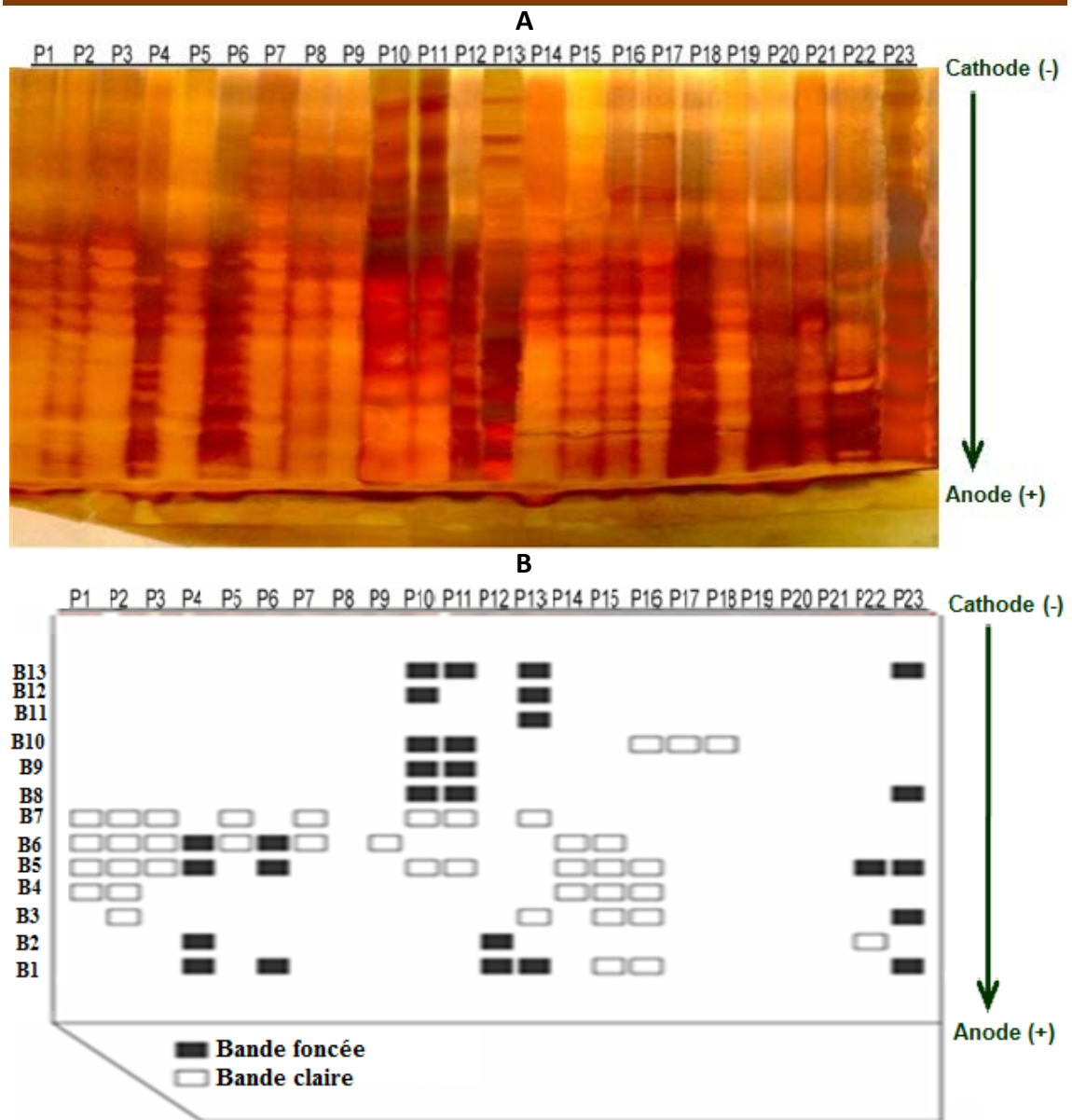


Figure 36: profils des protéines totales des isolats de *Fusarium* sp. (**A**); Diagramme représentatif (**B**); (P1-P23: isolats; B1-B13: Bandes)

7.1. Analyse du cluster protéique

Une classification hiérarchique ascendante basée sur l'établissement d'une matrice au moyen du coefficient de similarité de Jaccard conjuguée à la méthode JMP a été utilisée pour schématiser les relations entre les isolats. Elle a conduit à la construction d'un dendrogramme (Figure 37). L'analyse de ce dendrogramme a montré que les 23 isolats formaient deux principaux groupes, A et B (Figure 37).

Le groupe B se compose de deux sous groupes B1 et B2, le sous-groupe B2 formé par un seul isolat représentatif de *Fusarium* sp. (E2) isolés à partir

du sol; le B1 formé au seuil de 98% par les deux isolats T15H et M15T correspondant a la forme spéciale *albedinis*.

Le groupe A se compose de deux sous groupes A1 et A2, le sous-groupe A2 regroupe six isolats A15T, M15D, O15H, M15A, I08G et M15A2 représentatifs de la forme spéciale *albedinis* en plus de l'isolat E3 qui appartient au *Fusarium* sp. qui se regroupent avec un taux de similarité de 100%. Les isolats du sous groupe A1 ont ensuite été divisés en deux sous-sous groupe I et II, le sous-sous-groupe I est formé par septes isolats B15H, O15D, M15T1, M15H, M15D2, B15F et O15T associés entre eux à des niveaux allant de 95% à 98,5% entre ces isolats de la forme spéciale *albedinis*. Le sous-sous groupe II est formé par six isolats M15A1, T15D, M15D1, E1, T15H1, M15G, qui se regroupent à des niveaux allant de 95,5% à 100% entre ces isolats.

A l'intérieur des sous groupes et des sous-sous groupes, certains isolats apparaissent très proches génétiquement. C'est le cas des isolats A15T et M15D, M15A2 et I08G du sous groupe A2 qui affichent un taux de similarité de 100%. C'est le cas aussi des isolats M15H1 et E1 qui s'associent au seuil de 100% dans le sous-sous groupe II.

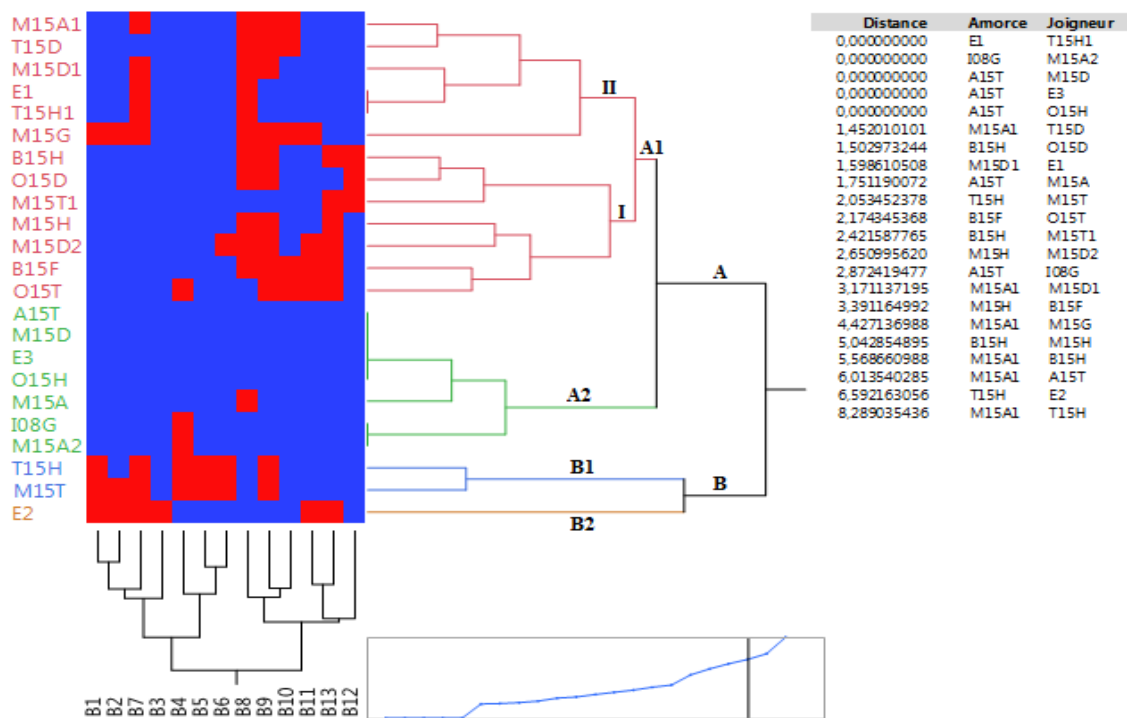


Figure 37. Dendrogramme de similarités par distance des protéines totales chez les 23 isolats de *Fusarium* sp. révélé par JMP

8. Test d'antagonisme *in vitro*

Le résultat de ce test a montré une croissance plus rapide de *T. longibrachiatum* par rapport aux isolats de Foa. Au bout de trois jours d'incubation, la boîte est totalement envahie par l'antagoniste, alors que les trois isolats de Foa n'occupent qu'une surface de 2,4 cm, 2,6 cm et 2,75 cm de diamètre pour M15A1, O15T et T15D respectivement; ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne de 63 %. Les témoins cultivés en absence de *T. longibrachiatum* occupant une surface d'environ 6,6 cm, 7,2 cm et 7,5 cm de diamètre. Après 7 jours d'incubation on a observé un arrêt total de la croissance de Foa et la formation d'une zone d'inhibition claire entre les deux colonies (Figure 38).

Le tableau 13 montre l'évaluation de la croissance mycélienne chez les trois isolats de Foa tous les jours jusqu'au 7ème jour.

Tableau 12: Évaluation de la croissance mycélienne

Isolats	T15D	M15A1	O15T	T1	T2	T3
1 Jour	0,2	0,1	0,1	.	.	.
2 Jour	0,8	0,3	0,5	.	.	.
3 Jour	1,5	1	1,7	.	.	.
4 Jour	2,5	1,2	2,2	.	.	.
5 Jour	2,55	2,2	2,5	.	.	.
6 Jour	2,65	2,4	2,58	.	.	.
7 Jour	2,75	2,4	2,6	7,5	6,6	7,2
R	63,33	63,63	63,88			

R = Taux d'inhibition; T1, T2 et T3 = Témoin après 7 jours d'incubation respectivement pour T15D, M15A1 et O15T.

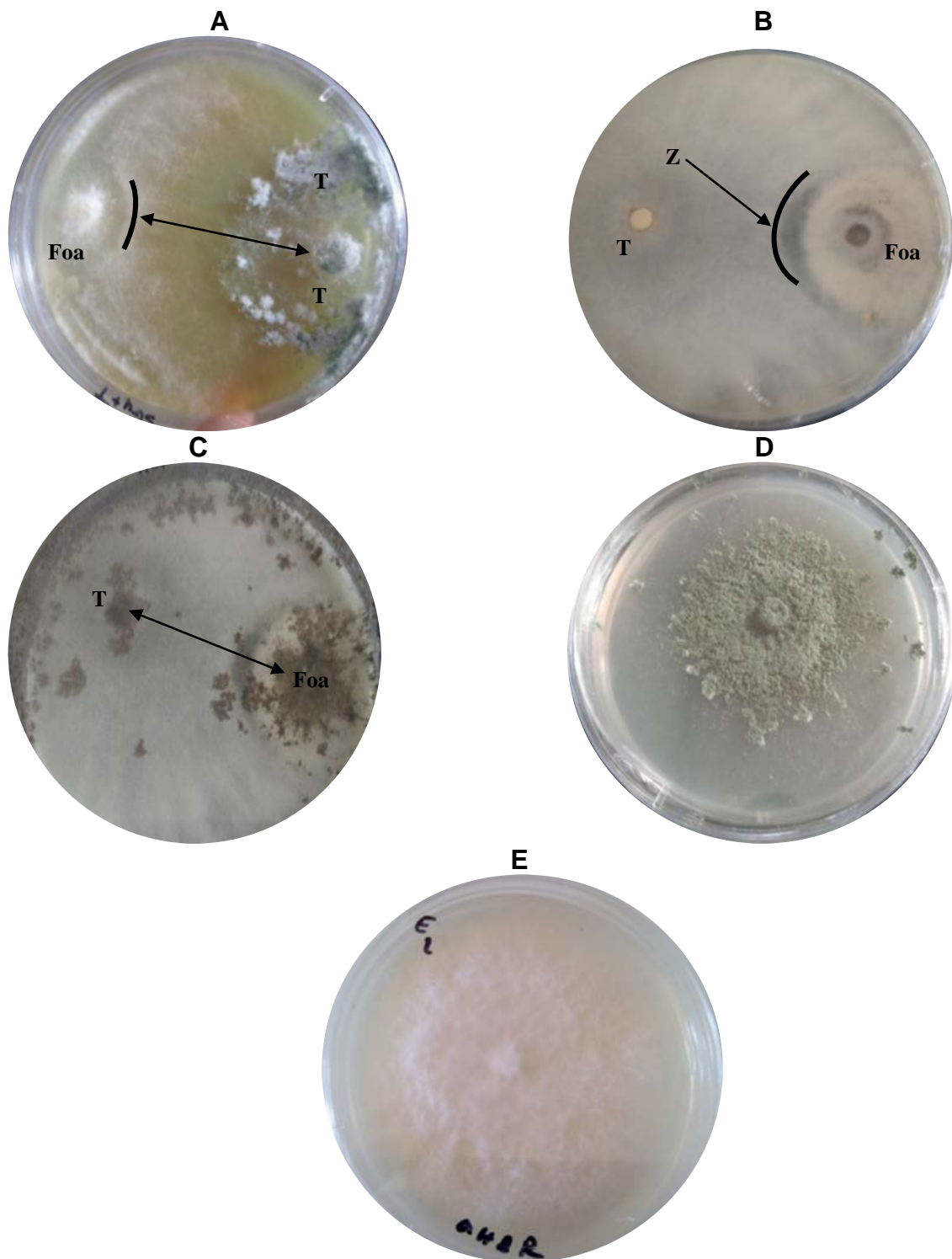


Figure 38: A: Foa confronté avec *T. longibrachiatum* (T) après trois jours; B: Zone d'inhibition (Z) après sept jours; C: *T. longibrachiatum* occupent toute la surface et libèrent ces spores sur la colonie de Foa; E: La colonie de *T. longibrachiatum*.; F: La colonie de Foa

L'identification des champignons filamenteux effectuée généralement par la comparaison d'un grand nombre de critères (Guarro *et al.*, 1999). Dans le cas des *Fusarium*, ce genre fongique hétérogène inclure différents variété de taxa ayant diverses caractéristiques écologiques, morphologiques et physiologiques (Vujanovic *et al.*, 2006). Les méthodes de diagnostic traditionnelles pour la détection et l'identification des espèces de *Fusarium* sont basées sur les caractéristiques morphologiques, y compris la taille et la forme de macroconidies, la présence ou l'absence de microconidies et les chlamydozspores, la couleur des colonies et la structure des conidiophores, observées sur des milieux sélectifs sous des conditions d'incubation spécifiques (Fravel *et al.*, 2003; Leslie et Summerell, 2006; Lievens *et al.*, 2008).

En plus, l'identification morphologique est un processus difficile et exige des connaissances considérables, ainsi qu'une expérience conséquente en particulier pour distinguer les espèces de *Fusarium* étroitement apparentées, car leurs caractéristiques morphologiques peuvent se chevaucher (El-Kazzaz *et al.*, 2008; Stenglein, 2009; Sever *et al.*, 2012). Certaines formes spéciales de *Fusarium oxysporum* ainsi que des races peuvent être identifiées par l'aspect morphologique des cultures, c'est le cas de la forme spéciale *albedinis* qui se distingue par son aspect arbustif et sporodochial stable (Djerbi *et al.*, 1985b).

Dans notre travail, l'étude morphologique de 20 isolats de Foa isolés de palmiers présentant les symptômes de Bayoud, a montré que tous les isolats produits des chlamydozspores et deux types de conidies, à savoir les micros et macros conidies, ces isolats présentaient une variabilité morphologique et pigmentaire selon les critères décrits par Leslie et Summerell, (2006). Les chlamydozspores sont intercalaires ou terminales, isolées ou en chaînes courtes regroupant 2 à 4 chlamydozspores qui se forment soit sur le mycélium soit à partir des macroconidies, ces chlamydozspores sont des formes de résistance et pourraient conserver dans le sol pendant une longue période. Ce résultat est similaire de celui rapporté par (Quinten, 1996; Djerbi, 1988; Freeman et Maymon, 2000; Karkachi *et al.*, 2014). Le même résultat a été publié par Manikandan *et al.*, (2018) qui ont signalé que, des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersic* produits des chlamydozspores et deux types de

conidies, micros et macros conidies, avec une variation dans les caractères macroscopiques.

Concernant la vitesse de croissance des isolats, elle est variée de 3,5 à 6,4 cm après 5 jours d'incubation et ceci est différent de celui rapporté par Bonde *et al.*, (2014) sur des isolats de *Fusarium equiseti* où ils ont trouvé que tous les isolats présentaient un taux de croissance similaire d'environ 7,1 à 9 cm après 6 jours d'incubation à 25 ± 2 ° C. Sumana et Devaki, (2014) ont rapporté que tous les isolats de *Fusarium oxysporum* présentaient des caractéristiques typiques sur le milieu PSA, avec une variation dans la croissance mycélienne, le diamètre et de la pigmentation des colonies.

Les tests de pathogénicité sont le seul moyen pour déterminer l'effet pathologique des souches fongiques présentes dans les plantes malades ou dans des échantillons de sol (Gupta *et al.*, 2009), cette pathogénicité au sein de l'espèce *Fusarium oxysporum* a conduit à la définition de formes spécialisées théoriquement inféodées, chacune à une plante hôte unique, ces formes sont morphologiquement identiques, mais ont parfois des spécificités parasitaires très étroites, malheureusement chez l'espèce *Fusarium oxysporum*, la variabilité de la pathogénicité a été peu étudiée (Henni *et al.*, 1994; Sghir *et al.*, 2016).

Actuellement, l'identification des isolats de *Fusarium oxysporum* pathogène est principalement basée sur des tests de pathogénicité (Lievens *et al.*, 2008). Dans notre travail le taux de mortalité élevé a été enregistré chez les plantules inoculées avec les 20 isolats de Foa, résultat confirmant leur appartenance à la forme spéciale *albedinis*, comparativement aux plantules inoculées par les trois isolats de *Fusarium* sp. isolé du sol et des plantules témoins. Ce taux est dépassé 70% pour la plupart des isolats, Ces résultats coïncident également avec celles rapportées par plusieurs auteurs qui mentionnent la pathogénicité des isolats de Foa vis-à-vis des plantules de palmiers dattiers (Mathéron et Benbadis, 1994; Karkachi *et al.*, 2014; Oubraim *et al.*, 2016), et de celle obtenus par Nelson *et al.*, (1981) et El-Kazzaz *et al.*, (2008) qui ont signalé que le genre *Fusarium* contient des champignons économiquement importants car il comprend de nombreuses espèces pathogènes qui causent une large gamme de maladies des plantes.

En ce qui concerne les symptômes de la maladie que nous avons enregistrés après le processus d'inoculation, est apparu sur les feuilles des plantules inoculées, sous forme de flétrissement avec une couleur jaune et ensuite ces feuilles sont séchées, ce qui conduit à la mort de ceux-ci et la plantule au plus tard. Ces symptômes étaient trouvés être similaires à ceux précédemment signalé pour la maladie de Bayoud (Sedra, 1998; Elhassan, 2016; Oubraim *et al.*, 2016).

Après l'analyse de la variance (ANOVA) des ratios des plantules mortes, nous avons montré qu'il n'y avait pas d'effet significatif d'origine géographique sur la pathogénicité des isolats testés, qui ont été isolés d'au moins huit cultivars de dattier provenant du Ghardaïa, Bechar ou Adrar. Les résultats obtenus ont montrent qu'il n'existe pas de corrélation entre la pathogénicité des isolats et l'origine géographique de l'isolat ou du cultivar à partir duquel cet isolat a été isolé, ce résultat est similaire a celui rapporté par Quinten, (1996) et Sedra, (1993) et de celui publié par Belabid et Fortas, (2002) sur des isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. En outre, Brennan *et al.*, (2003), ont rapporté que des isolats de *Fusarium* provenant de certaines régions d'Europe n'étaient pas capables de provoquer les mêmes niveaux d'infection dans différentes conditions agroécologiques. Donc même la variation environnementale, lors de la réalisation des tests de pathogénicité peut conduire à des résultats incompatibles (Bosland et Williams, 1987).

Il y a un consensus selon lequel la spécificité de l'hôte vrai n'existe pas chez les espèces de *Fusarium*, mais la variation de l'agressivité entre leurs isolats a été documentée (Miedaner *et al.*, 2004; Hudec et Muchová, 2010).

L'observation d'une nécrose brune dans les racines des jeunes plantules après inoculation c'est un indicateur du passage du mycélium de Foa dans les tissus vasculaires. Ces résultats correspondent à ceux publiés par Ait Kettout et Rahmania, (2013) qui ont montré que dans le palmier dattier, il est connu que l'infection des racines se fait aussi bien par le mycélium que par les conidies chez les jeunes plantules. Dans le même sens, Sedra (2006) et Khelafi *et al.*, (2006), signalent que l'activité toxique de Foa se manifeste par des nécroses 5 jours après immersion des feuilles détachées de Deglet Nour dans une solution de toxines de Foa (25 et 50 µg/ml). De même, Raju *et al.*, (2008) ont publié que

le flétrissement vasculaire est accompagné d'une pourriture racinaire ou de nécroses des racines et du collet quand il est associé à l'infection par l'espèce *Fusarium oxysporum* (Jimenez-Diaz et Trapero-Casas, 1988).

Et diffère de celle publiée par Renard (1970), qui a été observée des chlamydospores de *Fusarium oxysporum* sur le rhizoderme et dans les parties internes des racines du palmier à huile, 8 jours après l'inoculation.

Les nécroses observées chez les racines de plantules, sont dues généralement à la sécrétion de peroxidases par la plante après l'infection. Ces résultats coïncident avec l'explication de Ralph *et al.*, (2006) et de Asran–Amal et Mohamed (2014) qui ont démontré que les peroxydases sont classées parmi les enzymes liées à la défense et jouent un rôle crucial dans le degré de résistance de l'hôte. De même, Anupama *et al.*, (2014) ont enregistré une augmentation de peroxidases chez la tomate infectée.

Nous avons ensuite, observé que la périphérie de ces racines est caractérisée par des taches brunes, aboutissant à la sécrétion de composés phénoliques lors des réactions de défense contre Foa, et ceci après la réalisation des coupes histologiques. Sachant que, les composés phénoliques impliqués dans la résistance au Bayoud sont documentés (Ziouti *et al.*, 1992 ; El Hadrami *et al.*, 1996 ; Daayf *et al.*, 2003; El Hassni *et al.*, 2004).

L'analyse enzymatique a été la stratégie habituelle pour étudier la taxonomie et l'évolution des types pathogènes tels que les formes spéciales ou les races. Cependant, l'analyse isoenzymatique de *Fusarium oxysporum* n'a jusqu'à présent permis aucune relation claire entre le polymorphisme des isozymes et les formes pathogènes. L'utilisation d'isozymes dans des études sur *Fusarium* spp. a été beaucoup plus limitée, bien que plusieurs études récentes sur les espèces de *Fusarium oxysporum* aient été faites (Huss *et al.*, 1996; Arie *et al.*, 1998).

L'avantage particulier de l'électrophorèse des isozymes est la variation de mobilité relative, qui peut être directement liée à la variation allélique dans des gènes spécifiques codant pour des protéines spécifiques (Selander *et al.*, 1986). Dans notre travail, d'analyse des dendrogrammes des isozymes placent l'espèce *Fusarium* en deux groupes principaux A et B, chaque groupe

est subdivisé en sous-groupes, avec une similitude varie de 90,55 à 100% entre les vingt-trois isolats de *Fusarium* sp. Ces résultats suggèrent que les données sur les patrons d'estérase et d'acide phosphatase séparent clairement nos isolats à quelques exceptions près.

les résultats d'estérase, sont similaires à ceux obtenus par Ye et Wu (1985), Chen et Swart, (2001) et Aly *et al.*, (2003). Et de celui publié par Gupta *et al.*, (2009) qui ont trouvé une variabilité génétique dans les isolats de *Fusarium solani* pour l'isozyme Carboxylestérase. Et de Bhuvanendra *et al.*, (2010) qui ont rapporté un polymorphisme dans les isozymes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* a savoir, les peroxidases, superoxide dismutase, galactose dehydrogenase et 1,3 glucanase. En outre, des études sur les profils isozymes intra- et extracellulaires tel que les estérases, de *Fusarium oxysporum* ont été réalisées par Skovgaard et Rosendahl (1988) qui corrobore nos résultats selon lesquels l'isoenzyme peut être utilisée avec succès pour l'analyse de la variabilité génétique. Dans le même sens, Reddy et Stahmann (1972) et Laday et Szecsi (2001) ont conclu que les profils des isozymes, pourrait servir de base à l'identification des espèces et des formes spéciales des espèces de *Fusarium*.

Meyer *et al.* (1964) ont également examiné les profils de l'estérase et de la phosphatase dans des filtrats de culture de quelques formes *Fusarium oxysporum* et *Fusarium xylaroides* et ont indiqué que la différence semblait être caractéristique des taxons.

D'un autre côté, nos résultats sont différents de ceux publiés par Tantaoui *et al.*, (1996), qui ont démontré un manque de diversité génétique des isolats de Foa après amplification aléatoire de l'ADN polymorphe.

Un résultat de coupe nette a été détecté par les isoenzymes de la peroxydase et de la protéase dans la discrimination entre *Fusarium oxysporum* f. sp. *Nicotianae*. Cependant, aucune relation n'a été observée entre les profils d'isozymes et l'origine géographique ou la pathogénicité des isolats. Des études similaires ont été également rapportées par Bosland et Williams (1987). Alors que, Sumana *et al.*, (2014) ont enregistré une variabilité génétique dans les

isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *nicotianae* isolé dans les mêmes conditions géographiques et environnementales.

Les études liées à la production d'enzymes par un champignon phytopathogène sont compliquées, notamment en raison de la présence d'enzymes végétales et d'inhibiteurs d'enzymes microbiens, qui se produisent dans les plantes. En effet, l'activité enzymatique a été testée pour la première fois par Hankin et Anagnostakis (1975). Actuellement, la façon la plus pratique d'étudier la production d'enzymes par un champignon, est d'étudier leur production sur des milieux de croissance artificiels, qui ne contiennent aucun inhibiteur (Moreira *et al.*, 2005). Cependant, la production d'enzymes par des microorganismes *in vitro* par rapport à des conditions naturelles peut varier, par exemple, en raison du type de milieu de culture, qui ne dépendent pas du génotype d'un microorganisme (Yoshida *et al.*, 2014).

Les champignons phytopathogènes sont responsables de dégâts importants aux plantes et causent des pertes de rendement plus importantes que les bactéries et les virus (Sexton et Howlett, 2006), grâce à une large gamme d'enzymes hydrolytiques sécrétées lors de l'infection de plantes hôtes qui permettront aux cellules fongiques de pénétrer dans les cellules végétales hôtes en décomposant les parois cellulaires et en provoquant la pathogenèse chez la plante hôte. C'est le cas, par exemple, de l'espèce *Fusarium oxysporum* qui excrète des cellulases responsables de l'hydrolyse de la paroi cellulaire végétale (Cheilas *et al.*, 2000; Saravanan *et al.*, 2012; De Guadalupe Moctezuma-Zárate *et al.*, 2013; Rajeswari, 2014; Bedade *et al.*, 2017).

Les α -amylases (E.C.3.2.1.1) sont des hydrolases catalysent les liaisons α -1,4- glycosidiques dans l'amidon, en molécules plus petites, telles que le glucose, le maltose, etc... (Tallapragada *et al.*, 2017; Bedade *et al.*, 2017). Dans notre travail, il a été noté que tous les isolats de Foa produisent de la cellulase et de l'amylase, avec le développement d'un halo clair au tour des isolats, la production est variée entre les isolats selon les diamètres des zones de lyse. Ce résultat est comparable à ceux publiés par Sunitha *et al.* (2014), et celle d'Ogórek (2016), qui rapporte que 81% des souches fongiques produisent de la cellulase et 66,7% produisent de l'amylase.

Dans ce travail nous avons signalé que, tous les isolats ont été analysés par SDS-PAGE et analyse numérique. Les résultats ont montré une variation des niveaux d'expression des protéines entre les isolats. En effet, Les électrophorégrammes des isolats ont montré plusieurs fractions protéiques, avec des mobilités relatives variant entre les isolats. Cependant, la différence dans les profils protéiques de *Fusarium* sp. ont été signalés par plusieurs auteurs, qui ont étudié la morphologie du champignon et la diversité génétique entre les isolats de *Fusarium* sp. (Arie *et al.*, 1998; Bhuvanendra *et al.*, 2010; Sumana et Devaki, 2014; Manikandan *et al.*, 2018). De plus, Nawar (2016) a trouvé une hétérogénéité de protéines des espèces pathogène de *Fusarium*, par emplacement et intensité après leurs l'analyse par SDS-PAGE.

Tandis Que, Ho *et al.*, (1985) n'ont trouvé aucune variation dans les profils protéiques solubles entre les isolats pathogènes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* isolé en Afrique a partir du palmier à huile ainsi que des isolats non pathogènes de *Fusarium oxysporum* isolés des sols en Malaisie.

De plus, la comparaison des profils de protéines électrophorétiques a été considérée comme technique ayant une résolution taxonomique satisfaisante, qui peut être applicable au niveau des espèces, des sous-espèces (Boriollo *et al.*, 2003).

Le genre *Trichoderma* comprend des champignons filamenteux imparfaits avec des téléomorphes appartenant à l'ordre hypocreales de la division Ascomycota (Kredics *et al.*, 2003). *T. longibrachiatum* pousse rapidement sur un milieu de culture qui devrait être bénéfique lors de la confrontation. Nos résultats ont montré que l'utilisation de *T. longibrachiatum* réduit la croissance des trois isolats de Foa testés, avec un taux d'inhibition similaire (63%) et la formation d'une zone d'inhibition claire entre les deux colonies. Après 7 jours d'incubation, *T. longibrachiatum* envahit les colonies de Foa sur lesquelles il sporule. Si nous comparons nos résultats avec ceux publiés, il est proche de celui trouvé par Bekkar *et al.*, (2016), qui a démontré un taux d'inhibition allant de 66% à 86% de 23 isolats de *Trichoderma* contre Foa. Les mêmes résultats ont été trouvés par Souna *et al.*, (2012) qui ont rapporté que le Foa a été inhibé avec 65% par *T. harzianum*. Dans le même sens, l'efficacité de *Trichoderma* a également été déterminée par Suhaida et NurAinIzzati (2013), qui ont montré

que *T. harzianum* inhibait *F. proliferatum* avec un pourcentage d'inhibition de 73% et les zones d'inhibition étaient clairement observées entre les deux colonies. Cependant, l'envahissement du mycélium du pathogène par *T. longibrachiatum* a également été observé par Hibar *et al.*, (2005) en réalisant une confrontation directe sur PDA entre *T. harzianum* et *F. oxysporum* f. sp. *radicislycopersici* et ce au bout de six jours après l'inoculation, il ont montré que l'antagoniste *T. harzianum* a inhibé la croissance de *F. oxysporum* avec un taux d'inhibition supérieure à 65%. Un effet similaire a été enregistré par Toghueo *et al.*, (2016) lors de l'étude de l'antagoniste *Trichoderma* sp. qui pourrait exercer plus de 86% d'inhibition de la croissance de *Fusarium solani*.

Selon Noveriza et Quimio (2004), lorsque la valeur du pourcentage d'inhibition était supérieure à 60%, l'antagoniste était considéré comme un agent de lutte biologique prometteur. Toujours en relation avec la capacité des espèces de *Trichoderma* à inhiber la croissance de *F. oxysporum*, Dabir *et al.*, (2016), ont été enregistré un taux d'inhibition de 78% pour *Trichoderma* (ThTab). A cet effet, plusieurs souches de *Trichoderma* sp. ont été enregistrés comme agents de lutte biologique efficaces et utilisés commercialement dans la protection des végétaux (Nicolás *et al.*, 2014; Sghir *et al.*, 2016).

Conclusion générale et perspectives



Les défis de la culture du palmier dattier sont les problèmes phytosanitaires, qui entravent son développement et son extension. Considérant les dommages causés par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, chez les palmiers dattiers (*Phoenix dactylifera* L.).

Foa responsable de la fusariose vasculaire de cette essence, localement appelée Bayoud. Cette affection constitue un véritable fléau pour les zones phoenicicoles du Maroc, de l'Algérie, plus récemment de la Mauritanie où les pertes enregistrées sont considérables et ne cessent d'augmenter; elle menace sérieusement les palmeraies tunisiennes qui sont encore indemnes, et entraîne la disparition de 20 millions de palmiers, dont trois millions de palmiers algériens, depuis s'apparition en 1870.

Au cours de cette étude, nous avons effectué des isollements à partir des rachis de palmiers infecté par la maladie de Bayoud au niveau de trois régions Bechar, Adrar et Ghardaïa et de la rhizosphère près de ces palmiers. Les vingt isolats de Foa ont été isolés à partir des rachis, tandis que, les trois isolats de *Fusarium* sp. ont été isolés de sol.

L'identification morphologique est nécessaire et très importante, car elle est utilisée pour trier les isolats de *Fusarium* en petits groupes avant d'appliquer d'autres méthodes d'identification. Nos observations microscopiques caractérisent les 23 isolats morphologiquement, selon Leslie et Summerell, (2006) et Brown et Proctor, (2013). En complément à cette étude morphologique, nous avons procédé à l'étude de la pathogénicité pour confirmer l'appartenance de nos isolats à la forme spéciale *albedinis*.

Notre étude de pathogénicité était basée sur l'inoculation des plantules de palmiers dattiers avec une suspension de spores de *Fusarium* sp. nous a permis de constater en premier que les vingt isolats isolés du rachis appartient à la forme spéciale *albedinis*, après l'apparition des symptômes de Bayoud sur les plantules et la mort de ces plantules avec un taux de mortalité variable entre les 20 isolats. De plus, les trois isolats isolés du sol ne montrent aucune agressivité envers les plantules.

L'analyse de la variance (ANOVA) des ratios des plantules mortes, nous avons montré qu'il n'y avait pas d'effet significatif d'origine géographique sur la pathogénicité des isolats testés. Les résultats obtenus n'ont fourni aucune corrélation entre la

pathogénicité des isolats et l'origine géographique de l'isolat ou du cultivar à partir duquel cet isolat a été isolé.

La classification hiérarchique ascendante des deux systèmes isoenzymatiques (Estérase et l'acide phosphatase), et des protéines totales a fourni un polymorphisme phénotypique des isolats, et ceci après l'analyse des phonogrammes construits par le logiciel JMP.

Dans le but de lutter contre Foa, nous avons testé *in vitro* l'agent antagoniste *Trichoderma longibrachiatum*. En effet, les essais de confrontations entre Foa et *T. longibrachiatum* d'une façon directe sur le milieu PSA, ont révélé une inhibition de la croissance mycélienne du Foa avec un pourcentage d'inhibition de 63% après six jours d'incubation, ainsi *T. longibrachiatum* envahit complètement la colonie de Foa.

Les résultats obtenus lors de ce travail sont fort intéressants et mériteraient d'être complété par une étude *in vivo* afin de lutter contre Foa.

Les caractérisations phénotypique à repérer des groupes d'isolats après la réalisation de différent testes, et cela nécessite une caractérisation moléculaire de Foa, pour mieux connaître la diversité de notre pathogène.

Les agriculteurs doivent compter sur les bonnes pratiques de lutte culturale et aussi d'une sensibilisation sur les symptômes et les dégâts de cette maladie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

www.lesbibliothèques.fr

A

.....
Abadie, C., Edel, V. et Alabouvette, C. (1998). Soil suppressiveness to *Fusarium* wilt: influence of a cover-plant on density and diversity of *Fusarium* populations. *Soil Biol. Biochem*, 30: 643 - 649.

Aberlenc-Bertossi, F. (2012). La détermination du sexe du palmier dattier. *Diade newsletters*, 3: 1 - 8.

Aberlenc-Bertossi, F. (2010). Biotechnologies du palmier dattier. Actes du 3^e Séminaire du réseau AUF-BIOVEG « Biotechnologies du palmier dattier » Montpellier, 18-20 novembre 2008. IRD Éditions, France.

Aboul-Nasr, M.B. et Rageh Abdul-Rahman, M. (2014). A simple technique for single spore isolation of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium subglutinans*. *World Journal of Biology and Biological Sciences*, 2 (1): 021- 025.

Abdullah, S.K., Lopez Lorca, L.V. et Jansson, H.B. (2010). Diseases of date palms (*Phoenix dactylifera* L.), 9(2): 1 - 43.

Abohatem, M., Chakrafi, F., Jaiti, F., Dihazi, A. et Baaziz, M. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi limit incidence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albedinis* on date palm seedlings by increasing nutrient contents, total phenols and peroxidases activities. *The Open Horticulture Journal*, 4: 10 - 16.

Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. 5th Edition, Elsevier Academic Press, Amsterdam, 26-27: 398 - 401.

Ait Kettout, A. et Rahmania, F. (2013). Contribution à l'étude de l'activité toxique de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent causal du Bayoud. *Algerian journal of arid environment*, 3(1): 68 - 81.

Al Antary, T.M., Al-Khawaldeh, M.M. et Ateyyat, M.A. (2015). Economic importance of date palm *Phoenix dactylifera* L. (Liliopsida: Arecales: *Areaceae*) pests in Jordan Valley. *Brazilian Journal of Biological Sciences*, 2(3): 121 - 134.

Aly, I.N., Abdel-Sattar, M.A., Abd-Elsalam, K.A., Khalil, M.S. et Verreet, J.A. (2003). Comparison of multi-locus enzyme and protein gel electrophoresis in

the discrimination of five *Fusarium* species isolated from Egyptian cottons. Afr. J. Biotechnol, 2: 206 - 210.

Anbu, P., Gopinath, S.C. B., Arshad, M. K. Md., Chaulagain, B.P. et Lakshmipriya, T. (2017). Microbial Enzymes and Their Applications in Industries and Medicine 2016. BioMed Research International, 2017: 1 - 3.

Anonyme, (2012 a). Statistique agricole. Superficies et productions. Ministère de l'agriculture et du développement rural, série A: 17.

Anupama, N., Murali, M., Sudisha, J. et Amruthesh, K.N. (2014). Crude oligosaccharides from *Alternaria solani* with *Bacillus subtilis* enhance defense activity and induce resistance against early blight disease of Tomato. Asian Journal of Science and Technology, 5(7): 412 - 416.

Arie, S., Gouthu, S., Shimazaki, S., Kamakura, T., Kimura, M., Inoue, M., Takio, K., Ozaki, A., Yoneyama, K. et Yamaguchi, I. (1998). Immunological detection of endo polygalacturonase secretion by *Fusarium oxysporum* in plant tissue and sequencing of its encoding gene, nn. Phytopathol. Soc. Jpn, 64: 7 - 15.

Armstrong, G.M. et Armstrong, J.K. (1981). Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In *Fusarium: diseases, biology, and taxonomy*. (Eds. Nelson, P.E., TAT, Cook, R.J.), Pennsylvania State University Press, 391 - 399.

Asran-Amal, A., Moustafa-Mahmoud, S.M., Sabet, K.K. et El Banna, O.H. (2010). *In vitro* antagonism of cotton seedlings fungi and characterization of chitinase isozyme activities in *Trichoderma harzianum*. Saudi Journal of Biological Sciences, 17: 153 - 157.

Asran-Amal, A. et Mohamed, H.I. (2014). Use of phenols, peroxidase, and polyphenoloxidase of seed to quantify resistance of cotton genotypes to *Fusarium* wilt disease. Bangladesh J. Bot, 43(3): 353 - 357.

Assigbetse, K.B. (1993). Pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (Atk) SN. Et H. : Agent de la fusariose du cotonnier. Thèse de Doctorat. Université de Montpellier II, Paris: 23 - 28.

B

.....
Babic, M.N., Zalar, P., Ženko, B., Schroers, H.J., Džeroski, S. et Gunde-Cimerman, N. (2015). Candida and *Fusarium* species known as opportunistic human pathogens from customer-accessible parts of residential washing machines. *Fungal Biol*, 119: 95 - 113.

Badid, N., Moussaoui, A. et Belbraouet, S. (2001). Production de protéines d'organismes unicellulaires cultivés sur *Corn Steep Liquor* et évaluation nutritionnelle de la biomasse. *Rev. Energ. Ren: Production et Valorisation – Biomasse*, 11 - 28.

Balali, G.R. et Iranpoor, M. (2006). Identification and genetic variation of *Fusarium* species in Isfahan, Iran, using pectic zymogram technique. *Iran J. of Sci. and Techno*, 30: 91 - 102.

Balen, B., Krsnik-Rasol, M., Zadro, I. et Simeon-Rudolf, V. (2004). Esterase activity and isoenzymes in relation to morphogenesis in *Mammillaria gracillis* Pfeiff. Tissue culture. *Acta Bot. Croat*, 63 (2), 83 - 91.

Beckman, C.H. et Roberts, E.M. (1995). On the nature genetic basis for resistance tolerance of fungal wilt diseases. *Advances in Botanical Research*, 21: 35 - 77.

Bedade, D.K., Singhal, R.S., Turunen, O., Deska, J. et Shamekh, S. (2017). Biochemical characterization of extracellular cellulase from *Tuber maculatum* mycelium produced under submerged fermentation. *Appl Biochem Biotechnol*, 181: 772 - 783.

Bekkar, A.A., Belabid, L. et Zaim, S. (2016). Biocontrol of Phytopathogenic *Fusarium* spp. by Antagonistic *Trichoderma*. *Biopestic. Int*, 12(1): 37 - 45.

Belabid, L. et Fortas, Z. (2002). Virulence and vegetative compatibility of Algerian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. *Phytopathol. Mediterr*, 41: 179 - 187.

Bentrad, N., Gaceb-Terrak, R. et Rahmania, F. (2017). Identification and evaluation of antibacterial agents present in lipophilic fractions isolated from

sub-products of *Phoenix dactylifera*. Natural Product Research, 31(21): 2544 - 2548.

Benabbes, R., Iahmass, I., Souana, F., Chafi, A., El Youbi, M., Saalaoui, E., Hakkou, A. et Bouakka, M. (2015b). Confrontation of antagonistic fungi selected from the soil of the Figuig oasis to date palm *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Moroccan Journal of Biology, 12: 1 - 8.

Benzohra, I.E., Megateli, M. et Berdja, R. (2015). Bayoud disease of date palm in Algeria: History, epidemiology and integrated disease management. African Journal of Biotechnology, 14(7): 542 - 550.

Bevilacqua, A., Sinigaglia, M. et Corbo, M. (2013). Ultrasound and antimicrobial compounds: a suitable way to control *Fusarium oxysporum* in juices. Food Bioprocess Technol, 6: 1153 - 1163.

Bhuvanendra, K.H., Udaya, S.A.C., Chandra, N.S., Ramachandra, K.K., Shetty, H.S. et Prakash, H.S. (2010). Biochemical characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* isolates from India. African Journal of Biotechnology, 9(4): 523 - 530.

Bokhary, H.A. (2010). Seed-borne fungi of date-palm, *Phoenix dactylifera* L. from Saudi Arabia. Saudi Journal of Biological Sciences, 17: 327 - 329.

Bonde, S.R., Gade, A.K. et Rai, M.K. (2014). Genetic variations among ten isolates of *Fusarium equiseti* (Corda) Saccardo isolated from fruits and vegetables. Austin J Biotechnol Bioeng, 1(5): 1 - 5.

Booth, C. (1971). The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, London, England. The Eastern Press Limited, London and Reading: 160 - 192.

Boucenna-Mouzali, B., Gaceb-Terrak, R. et Rahmania, F. (2018). GC-MS Analysis of Cell Wall-Bound Phenolic Compounds and Lignin Quantification in Date Palm Cultivars that are Resistant or Susceptible to *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albedinis*. Arab J Sci Eng, 43: 63 - 71.

Boudeffeur, S. (2010). Étude histologique de la pénétration de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Hansen et Snyder) Gordon à travers les racines de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Mémoire de magister en sciences

agronomiques, Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El-Harrach (Alger), p: 39 -41.

Boulenouar, N., Marouf, N. et Cheriti, A. (2014). Direct bioautography for antifungal activity measurement "Case of Bayoud Disease". *PhytoChem & BioSub Journal*, 8(1): 33 - 37.

Bounaga, N. (1980). Le palmier dattier et la fusariose. VIII- action de quelques mercapto.2. azotes Ribosytes sur la croissance *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. *Phytopathol*, 98: 120 - 217.

Bounaga, N. et Djerbi, M. (2009). Pathologie du palmier dattier, unité de recherche sur les zones arides. Institut National de la Recherche Agronomique, El Harrach, Algérie.

Boussalah, N., Touzani, R., Souna, S., Himri, I., Bouakka, M., Hakkou, A., Ghalem, S. et El Kadiri, S. (2013). Antifungal activities of amino acid ester functional pyrazolyl compounds against *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* and *Saccharomyces cerevisiae* yeast. *Journal of Saudi Chemical Society*, 17: 17 - 21.

Boriollo, M.F.G., Rosa, E.A.R., Bernardo, W.L.C., Gonçalves, R.B. et Höfling, J.F. (2003). Electrophoretic protein patterns and numerical analysis of *candida albicans* from the oral cavities of healthy children. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 45(5): 249 - 257.

Bosland, P.W. et Williams, P.H. (1987). An evolution of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozymes polymorphisms, vegetative compatibility, and geographic origin. *Can. J. Bot*, 65: 2067 - 2073.

Botton, R., Breton, A., Fevre, M., Guy, P.H., Larpent, J.P. et Veau, P. (1985). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. *Biotechnologies*. Masson, p139 - 145. Esjardins, A.E. (2006). *Fusarium* Mycotoxins: Chemistry, Genetics and Biology (APS Press, St. Paul, Minnesota).

Burgess, L.W. et Liddell, C.M. (1983). Laboratory Manual for *Fusarium* Research. The University of Sydney, Sydney, Australia.

Burgess, T., Malajczuk, N. et Dell, B. (1995). Variation in *Pisolithus* based on basidiome and basidiospore morphology, culture characteristics and analysis of polypeptide using SDS-PAGE. *Mycol. Res*, 99:1913

Brennan, J.M., Fagan, B. et Van Maanen, A. (2003). Studies on *in vitro* growth and pathogenicity of European *Fusarium* fungi. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 577 - 587.

Brown, D.W. et Proctor, R.H. (2013). *Fusarium: Genomics, Molecular and Cellular Biology*. Caister Academic Press. orfolk, UK. 1 - 182.

C

.....

Caron, J., Laverdière, L., Thibodeauand, P.O. et Bélanger, R.R. (2002). Utilisation d'une souche indigène de *Trichoderma harzianum* contre cinq agents pathogènes chez le concombre et la tomate de serre au Québec, *Phytoprotection*, 83: 73 - 87.

Chakroune, K., Bouakka, M. et Hakkou, A. (2005). Incidence de l'aération sur le traitement par compostage des sous-produits du palmier dattier contaminés par *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. *Can. J. Microbiol*, 51: 69 - 77.

Chakroune, K., Bouakka, M., Lahlali, R. et Hakkou, A. (2008). Suppressive effect of mature compost of date palm by products on *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. *Plant Pathology Journal*, 7(2): 148 - 154.

Chao, C.C.T. et Krueger, R.R. (2007). The Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.): Overview of Biology, Uses, and Cultivation. *Hortscience*, 42(5): 1077 - 1082.

Cheilas, T., Stoupis, T., Christakopoulos, P., Katapodis, P., Mamma, D., Hatzinikolaou, D.G., Kekos, D. et Macris, B.J. (2000). Hemicellulolytic activity of *Fusarium oxysporum* grown on sugar beet pulp. Production of extracellular arabinanase. *Process Biochem*, 35: 557 - 561.

Chen, W.Q. et Swart, W.J. (2001). Genetic variation among *Fusarium oxysporum* isolates associated with root rot of *Amaranthus hybridus* in South Africa. *Plant Disease*, 85(10): 1076 - 1080.

Cleuzio, S. et Constantini, L. (1982). A l'origine des oasis. *La recherche*, 13 (137): 1180 - 1182.

Cowan, D.A. (1991). Industrial enzymes, p. 311 - 340. IN V. Moses, and R.E. Cape (ed.), Biotechnology, the Science and the Business, 2nd ed., Harwood Academic Publishers, United Kingdom, 186p.

D

.....

Daayf, F., El Bellaj, M., El Hassni, M., J'Aiti, F. et El Hadram, I. (2003). Elicitation of soluble phenolics in date palm (*Phoenix dactylifera*) callus by *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* culture medium. Environmental and Experimental Botany, 49: 41 - 47.

Dabire, T.G., Bonzi, S., Somda, I. et Legreve, A. (2016). Evaluation *in vitro* de l'activité antagoniste d'isolats de *Trichoderma harzianum* pers. Contre trois espèces fongiques pathogènes de l'oignon au Burkina Faso, 34(3): 313 - 322.

Davis, B.J. (1964). Disc electrophoresis II. Methods and application to human serum. Ann. New York Acad. Sci, 121: 404 - 427.

Dean, R., Van Kan, J.A.L., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Di Pietro, A., Spanu, P.D., et al. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Mol. Plant Pathol, 13: 414 - 430.

Debourgogne, A. (2013). Typage moléculaire du complexe d'espèces *Fusarium solani* et détermination de son mécanisme de résistance au voriconazole. Thèse doctorat, Université de Lorraine.

De Guadalupe Moctezuma-Zárate, M., Manuel Vargas-Morales, J., Cárdenas-González, J.F., Manuel Martínez-Juárez, V. et Acosta-Rodríguez, I. (2013). Induction of extracellular lytic enzymes by *Fusarium solani*. Advances in Microbiology, 3: 24 - 30.

De Hoog, S., Guarro, J., Gené, J. et Figueras, M. (2011). Atlas of Clinical Fungi.

De Sain, M. et Rep, M. (2015). The role of pathogen-secreted proteins in fungal vascular wilt diseases. Int. J. Mol. Sci, 16: 23970 - 23993.

Djerbi, M., Sedra, M.H. et El Idrissi Ammari, M.A. (1985b). Caractéristiques culturales et identification du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent causal du Bayoud. Ann. Inst. Nat. Rech. Agro. Tunisie, 58:1 - 8.

- Djerbi, M., El Ghorfi, A. et El Idrissi Ammari, M.A. (1985a).** Etude du comportement du henné *Lawsonia inermis* et de la luzerne *Medicago sativa* et quelques espèces de palmacées vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent causal du Bayoud. Annales de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie, 58: 1 - 11.
- Djerbi, M., Aouad, L., Filali, H., Saaidi, M., Chtioui, A., Sedra, M.H., Allaoui, M., Hamdaoui, T. et Oubrich, M. (1986).** Preliminary results of selection of high-quality Bayoud-resistant clones among natural date palm population in Morocco. In: Proceedings of the Second Symposium on the Date Palm, Saudi Arabia: 383 - 399.
- Djerbi, M. (1988).** Les maladies des palmiers dattiers: Le Bayoud (15 - 36). Rapport de Projet Régional de lutte contre le Bayoud (RAB/84/018).
- Djerbi, M. (1990).** Méthodes de diagnostic du bayoud Bulletin OEPP, 20: 607 - 613.
- Djerbi, M. (1994).** Précis de phéniculture, F.A.O, Rome. p 191.
- Dignani, M.C. et Anaissie, E. (2004).** Human fusariosis. Clinical Microbiology and Infection, 10: 67 - 75.
- 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 National. Université Ibn Zohr, Agadir. Maroc.
- Di Pietro, A., Madrid, M.P., Caracuel, Z., Delgado-Jarana, J. et Roncero, M.I.G. (2003).** *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus Molecular Plant Pathology, 4: 315 - 325.
- Dransfield, J., Uhl, N.W., Amussen, C.B., Baker, W.J., Harley, M. et Lewis, C.L. (2008b).** Genera *Palmarum*. The evolution and classification of palm. Royal Botanic Gardens, Kew publishing, Kew, UK.
- Brayfod, D. (1989).** Progress in the study of *Fusarium* and some related genera. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement, 47S - 60S.

E

.....

El Hadrami, I., Ramos, T. et Macheix, J.J. (1996). Caractérisation de nouveaux dérivés hydroxycinnamiques amines chez *Phoenix dactylifera* L.: relation avec le brunissement des tissus et la résistance des cultivars au Bayoud. *Polyphenols Comm*, 2: 341 - 342.

El Hadrami, I., Bellaj, M., Idrissi, A., J'Aiti, F., Jaafari, S. et Daayf, F. (1998). Biotechnologie végétales et amélioration du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), pivot de l'agriculture oasienne marocaine. *Cahiers Agriculture*, 7 (6): 463 - 468.

Elhassan, A.M. (2016). Isolation, Identification and Characterization of *Fusarium oxysporum*, the Causal Agent of *Fusarium* Wilt Disease of Date palm *Phoenix dactylifera* L. in Northern State, Sudan. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 5(8): 381 - 386.

El Hassni, M., J'Aiti, F., Dihazi, A., Ait Barka, E., Daayf, F. et El Hadrami, I. (2004). Enhancement of defence responses against Bayoud disease by treatment of date palm seedlings with an hypoaggressive *Fusarium oxysporum* isolate. *J. Phytopathology*, 152: 182 - 189.

El Hassni, M., El Hadrami, A., Daayf, F., Cherif, M., Ait Barka, E., El Hadram, I. (2007). Biological control of bayoud disease in date palm: Selection of microorganisms inhibiting the causal agent and inducing defense reactions. *Environmental and Experimental Botany*, 59: 224 - 234.

El-Juhany, L.I. (2010). Degradation of Date Palm Trees and Date Production in Arab Countries: Causes and Potential Rehabilitation. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(8): 3998 - 4010.

El-Kazzaz, M.K., El-Fadly, G.B., Hassan, M.A.A., El-Kot, G.A.N. (2008). Identification of some *Fusarium* spp. using Molecular Biology Techniques. *Egypt. J. Phytopathol*, 36: 57 - 69.

El kinany, S., Achbani, E.I.H., Haggoud, A., Ibijbjen, J., Belmalha, S., Rachidi, F., Echchgadda, G. et Bouamri, R. (2017). *In vitro* evaluation of

compost extracts efficiency as biocontrol agent of date palm *Fusarium* wilt. African Journal of Microbiology Research, 11(29): 1155 - 1161.

Elmer, W.H. et Marra, R.E. (2015). First report of crown rot of bloodroot (*Sanguinaria canadensis*) caused by *Fusarium oxysporum* in the United States. Crop Prot, 73: 50 - 59.

El Modafar, C., Tantaoui, A., Ziouti, A. et El Boustani, E. (1998). Effet des phénols solubles et pariétaux des racines de palmier dattier sur la production des enzymes hydrolytiques par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. XIX International Conference on Polyphénols, Lille: 455 - 456.

El Modafar, C. (2010). Mechanisms of date palm resistance to Bayoud disease: Current state of knowledge and research prospects. Physiological and Molecular Plant Pathology, 74: 287-294.

El-Shafie, H.A.F. (2012). List of arthropod pests and their natural enemies identified worldwide on date palm, *Phoenix dactylifera* L. Agric. Biol. J. N. Am, 3(12): 516 - 524.

F

.....
FAOSTAT. (2009). Crop Production 2008, Statistics Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Feldman, M. (1976). Taxonomic classification and names of wild, primitive, cultivated wheats. In: Simmonds, N.W. (ed). Evolution of plants. Longman, London, 120 - 128.

Feliachi, S. (2005). Transformation des produits du palmier dattier : potentiel et atouts, problématique, opportunités, thématique. Journée d'étude sur la transformation des produits du palmier dattier. Biskra, 6 - 7 Décembre 2005. ITDAS, Biskra, 82: 3 - 8.

Fernandez, D., Quinten, M., Tantaoui, A., Geiger, J.P., Daboussi M.J. et 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. Applied and Environmental Microbiology, 64(2): 633 - 636.

Fisher, K.D. (1965). Hydrolytic enzyme and toxin production by sweetpotato Fusaria. *Phytopathology*, 55: 396 - 397.

Fravel, D., Olivain, C. et Alabouvette, C. (2003). *Fusarium oxysporum* its biocontrol. *New Phytologist*, 157: 493 - 502.

Frederix, M.J.J. et Den Brader, K., (1989). Résultats des essais de désinfection des sols contenant des échantillons de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. FAO/PNUD/RAB /88/024. Ghardaia, Algérie.

Freeman, S. et Maymon, M. (2000). Reliable Detection of the Fungal Pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Causal Agent of Bayoud Disease of Date Palm, Using Molecular Techniques. *Phytoparasitica*, 28(4): 1 - 8.

G

.....

Gabe, M. (1968). Techniques histologiques. MASSON, Paris, 1113 p.

Gepts, P. (1998). PLB143: Evolution of crop plants. The crop of the day: The date, *Phoenix dactylifera* L. <http://agronomy.ucdvis.edu/gepts.5p>.

Gerlach, W. et Nirenberg, H. (1982). The genus *Fusarium* - a pictorial atlas. *Mitt. Biol. Bund. Land-Forst*, 209: 406 pp.

Gharbi, S., Karkachi, N., Chhiba, M., Kihal, M. et Henni, J.E. (2015). Comparison of *Ascochyta rabiei* isolates for cultural characteristics and isozyme. *International journal of biosciences*, 6: 30 - 39.

Gill, H.S. et Zentmyer, G.A. (1978). Identification of Phytophthora species by disc electrophoresis. *Phytopathology*, 68: 163 - 167.

Glynn, A.N. et Reid, J. (1969). Electrophoretic patterns of soluble fungal proteins and their possible use as taxonomic criteria in the genus *Fusarium*. *Can. J. Bot*, 47: 1823 - 1831.

Gopinath, S.C.B., Anbu, P. et Hilda, A. (2005). Extracellular enzymatic activity profiles in fungi isolated from oil-rich environments. *Mycoscience*, 46: 119 - 126.

Gopinath, S.C. B., Anbu, P., Arshad, M. K. Md., Lakshmipriya, T., Voon, C.H., Hashim, U. et Chinni, S. V. (2017). Biotechnological processes in microbial amylase production. *BioMed Research International*, 2017: 1 - 9.

Guarro, J., Gene, J. et Stchigel, A.M. (1999). Developments in fungal taxonomy, *Clin. Microbiol. Rev*, 12: 454 - 500.

Gupta, V.K., Misra, A. K., Gaur, R., Pandey R. et Chauhan, U.K. (2009). Studies of genetic polymorphism in the isolates of *Fusarium solani*. *Australian Journal of Crop Science*, 3(2): 101 - 106.

Gros-Balthazard, M. (2013). Hybridization in the genus *Phoenix*. *Emir. J. Food Agric*, 25 (11): 831 - 842.

Gros-Balthazard, M., Newton, C., Ivorra, S., Tengberg, M., Jean-Christophe, P. et Jean-Frédéric, T. (2013). Origines et domestication du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). *Revue d'ethnoécologie*, 4: 1 - 15.

H

.....

Hageskal, G., Knutsen, A., Gaustad, P., de Hoog, G. et Skaar, I. (2006). Diversity and significance of mold species in Norwegian drinking water. *Appl. Environ. Microbiol*, 72: 7586 - 7593.

HAL. (2008). Les jardins d'oasis : des natures en construction.

Hankin, L. et Anagnostakis, S.L. (1975). Use of solid media for detection of enzymes production by fungi. *Mycologia*, 67: 597 - 607.

Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. et Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews of Microbiology*, 2: 43 - 58.

Hazzouri, K.M., Flowers, J.M., Visser, H.J., Khierallah, H.S.M., Pham, G.M., Meyer, R.S., Johansen, C.K., Fresquez, Z.A., Masmoudi, K., Haider, N., El Kadri, N., Idaghdour, Y., Malek, J.A., Thirkhill, D., Krueger, R.R., Zaid, A. et Purugganan, M.D. (2015). Whole genome re-sequencing of date palms yields insights into diversification of a fruit tree crop. *Nat. Commun*, 6: 8824 -doi: 10.1038/ncomms9824: 1 - 11.

Henni, J.E., Boisson, C. et Geiger, J.P. (1994). Variabilité du pouvoir pathogène chez *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopercisi*. Phytopathol. Medit, 33: 10 - 16.

Hibar, K., Daami-Remadi, M., Khiareddine, H. et El Mahjoub, M. (2005). Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicislycopersici*. Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 9 (3): 163 - 171.

Ho, Y.W., Varghese, G. et Taylor, G.S. (1985). Protein and esterase patterns of pathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaidis* and *Fusarium oxysporum* var. *redolens* from Africa and nonpathogenic *F. oxysporum* from Malaysia. J. Phytopathol, 114: 291 -311.

Hocquette, M., Grondin, S. et Bertout, M.M. (2005). Les champignons des genres *Acremonium*, *Beauveria*, *Chrysosporium*, *Fusarium*, *Onychocola*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Scedosporium* et *Scopulariopsis* responsables de hyalohyphomycoses. Journal de Mycologie Médicale, 15: 136 - 149.

Howell, C.R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. Plant Dis, 87: 4 - 10.

Hudec, K. et Muchová, D. (2010). Influence of Temperature and Species Origin on *Fusarium* spp. and *Microdochium nivale* Pathogenicity to Wheat Seedlings. Plant Protect. Sci, 46(2): 59 - 65.

Husain, A. et Dimond, A.E. (1960). Role of cellulolytic enzymes in pathogenesis by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Phytopathology, 50: 329 - 331.

Huss, M.J., Campbell, C.L., Jennings, D.B. et Leslie, J.F. (1996). Isozyme variation among biological species in the *Gibberella fujikuroi* species complex (*Fusarium* Section *Liseola*)². Applied and Environmental Microbiology, 62(10): 3750 - 3756.

I

.....
Ibrahim, N.A., Mohmed, A.A.S., Kamel, A.A.E; Mohmed S.K. et Verreet, A.V. (2003). Comparison of multi-locus enzyme and protein gel electrophoresis

in the discrimination of five *Fusarium* species isolated from Egyptian cottons. African J. of Biotech, 2 (7): 206 - 210.

INPV. (2011). Institut National de la Protection des végétaux. Bulletin d'informations phytosanitaires n° 23. ISSN 1112-2536. P: 3.

J

Jahiel, M. (1989). Intérêt et particularités du palmier dattier dans les zones en cours de désertification: exemple du sud-est du Niger. D.E.A. USTL., Montpellier.

Jimenez-Diaz, R.M. et Trapero-Casas, A. (1988). Improvement of chickpea resistance to wilt and root rot diseases. In: Proceeding on present status and future prospects of chickpea crop production and improvement in the Mediterranean countries, 11 - 13, July, Zaragoza, Spain.

K

Kadiri, A. (2011). Etude histologique et cytochimique de l'effet d'*Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab., agent de l'antracnose sur les calcs de *Cicer arietinum* L. Mémoire de magister en Biologie. Université Oran 1, P: 30 -32.

Karkachi, N., Gharbi, S., Kihal, M. et Henni, J.E. (2014). Study of pectinolytic activity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* agent responsible for Bayoud in Algeria. International Journal of Agronomy and Agricultural Research (IJAAR), 5: 40 - 45.

Khelafi, H., Abed, F., Yatta, D., Djellal, L., Yakhou, M. S. et Sedra, M.H. (2006). Evaluation de mutants de la variété Deglet Nour de Palmier Dattier pour la résistance au Bayoud. Conférence régionale « Mutagenèse Induite et Biotechnologies d'Appui pour la Protection du Palmier Dattier contre le Bayoud». TCP/RAF/5/049, Algeria 17 - 18 June 06.

Klavons, J. et Bennett, R. (1986). Determination of methanol using alcohol oxidase and its application to methyl ester content of pectins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 34: 597 - 599.

Koretsky, L.S. (2001). The influence of *Fusarium oxysporum* infection and low temperatures on the activity of soybean esterase and PR proteins. ICEL. AGR. SCI, 14: 67 - 73.

Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F. et Nagy, E. (2003). Influence of Environmental Parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. Food Technol. Biotechnol. 41(1): 37 - 42.

L

.....

Laday, M. et Szecsi, A. (2001). Distinct electrophoretic isozyme profiles of *Fusarium graminearum* and closely related species. Syst. Appl. Microbiol, 24: 67 - 75.

Laday, M., Bagi, F., Mesterhazy, A. et Szecs, A. (2001). Isozyme evidence for two groups of *Fusarium graminearum*. Mycol. Res, 104(7): 788 - 793.

Laemmli, U.K. (1979). Cleavage of structural proteins during the assembly of bacteriophage T4. Nature, 227: 680 - 685.

Lamari, L., Bouras, N., Boudjella, H., Ould El Hadj-Khelil, A., Ould El Hadj Mohamed, D. et Sabaou, N. (2014). Influence de quelques souches bactériennes d'origine saharienne sur l'expression de la fusariose du lin et du palmier dattier. Algerian journal of arid environment, 4(2): 19 - 30.

Lekchiri, S., Moueqqit, M., Lekchiri, M. et Lekchiri, A. (2013). Mise en évidence d'une activité cellulase chez *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* induite par une nouvelle forme d'hydrocellulose purifiée. Rev. Microbiol. Ind. San et Environn, 7(1): 88 - 97.

Leme, A.C., Bevilaqua, M.R.R., Rhoden, S.A., Mangolin, C.A., Machado, M.F.P.S. et Pamphile, J.A. (2013). Molecular characterization of endophytes isolated from *Saccharum* spp. based on esterase and ribosomal DNA (ITS1-5.8S-ITS2) analyses. Genet. Mol. Res, 12 (3): 4095 - 4105.

Lepoivre, P. (2003). Phytopathologie: bases moléculaires de biologiques des pathosystèmes et fondement des stratégies de lutte. De Boeck & Presses Agronomiques de Gembloux (Eds.), Brussels, Belgium, 149 - 167.

Leslie, J.F. et Summerell, B.A. (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual. Copyright © 2006 Blackwell Publishing, 1ed.

Lievens, B., Rep, M. et Thomma, B.P.H.J. (2008). Recent developments in the molecular discrimination of formae speciales of *Fusarium oxysporum*. Pest Manag Sci, 64:781 - 788.

Louvet, J. (1977). Observations sur la localisation des chlamydospores de *Fusarium oxysporum* dans les tissus des plantes parasitées. Travaux Dédiés à G. Viennot Bourgin: 193 - 197. INRA, Paris, France.

Lynd, L.R., Weimer, P.J., Van Zyl, W.H. et Pretorius, I.S. (2002). Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology, Microbiology and Molecular Biology Reviews, 66(3): 506 – 577.

M

.....

Ma, L.J., Geiser, D.M., Proctor, R.H., Rooney, A.P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D.M., Manners, J.M. et Kazan, K. (2013). *Fusarium* pathogenomics. Annual Review of Microbiology, 67: 399 - 416.

MacHardy, W.E. et Beckman, C.H. (1981). Vascular wilt Fusaria: Infections and Pathogenesis. In *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*, (P.E. Nelson, T.A. Toussoun, & R.J. Cook, eds): 365 - 390. The Pennsylvania State University Press, University Park and London.

Mahmoudi, H., Hosseininia, G., Azadi, H. et Fatemi, M. (2008). Enhancing date palm processing, marketing and pest control through organic culture. Journal of Organic Systems, 3(2): 29 - 39.

Magda Elsayed, A.E. et Modhi Obaidan, A. (2017). Genetic variation of harmful (*Peganum harmala* L. et *Rhazya stricta* Decne) based on polymorphism in protein profile, soil analysis and internode anatomy. Nano Biomed. Eng, 9(2): 162 -168.

Mandeel, Q.A., Abbas, J.A. et Saeed, A.M. (1995). Survey of *Fusarium* species in an arid environment of Bahrain: II. Spectrum of species on five isolation media. Sydowia, 47: 223 - 239.

- Manicom, B.Q., Bar-Joseph, M., Kotze, J.M. et Becker, M.M. (1990a).** A restriction fragment length polymorphism probe relating vegetative compatibility groups and pathogenicity in *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. *Phytopathology*, 80: 336 -339.
- Manikandan, R., Harish, S., Karthikeyan, G. et Raguchande, T. (2018).** Comparative proteomic analysis of different isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* to exploit the differentially expressed proteins responsible for virulence on tomato plants. *Front. Microbiol*, 9: 1 - 13.
- Mathéron, B. et Benbadis, A. (1994).** Etude comparée de l'infection par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, de trois variétés de palmier dattier, l'une sensible (Deglet-Nour), les deux autres résistantes (Takerboucht et Tantabouchet). *Acta bot. Gallica*, 141: 719 - 730.
- McMullen, M.P. et Stack, R.W. (1984).** The effects of surface mining and reclamation on *Fusarium* populations of grassland sous. *Reclamation and Revegetation Research*, 2: 253 - 266.
- Mechta, N., AIT Kettout, A. et Rahmania, F. (2015).** *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Effets du milieu de culture sur la croissance mycelienne, la sporulation et la production de l'acide fusarique. *Algerian journal of arid environment*, 5(2): 82 - 90.
- Messiaen, C.M. et Cassini, R. (1968).** Recherches sur les fusarioses IV: La systématique des *Fusarium*. *Ann. Epiph*, 19: 387 - 454.
- Meyer, J.A., Garber, E.D. et Schaeffer, S.G. (1964). Genetics of phytopathogenic fungi. Xlf. Detection of esterases and phosphatases in culture filtrates of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium xylaroides* by starch gel electrophoresis. *Bot. Gaz*, 125: 298 - 300.
- Michielse, C.B. et Rep, M. (2009).** Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology*, 10 (3): 311 - 324.
- Miedaner, T., Schilling, A.G. et Geiger, H.H. (2004).** Competition effects among isolates of *Fusarium culmorum* differing in aggressiveness and mycotoxin production on heads of winter rye. *European Journal of Plant Pathology*, 110: 63 - 70.

Mohammadi, M., Aminipour, M. et Banihashemi, Z. (2004). Isozyme Analysis and Soluble Mycelial Protein Pattern in Iranian Isolates of Several formae speciales of *Fusarium oxysporum*. J. Phytopathology 152, 267 - 276.

Micales, J.A. (1986). The use of isozyme analysis in fungal taxonomy and genetics," Mycotaxon, 27: 405 - 449.

Micales, J.A., Bonde, M.R. et Peterson, G.L. (1992). Isozyme analysis in fungal taxonomy and molecular genetics. Fungal biotechnology. New York: Marcel Dekker, Inc, 4: 57 - 79.

Mongrain, D., Couture, L. et Comeau, A. (2000). Natural occurrence of *Fusarium graminearum* on adult wheat midge and transmission to wheat spikes. Cereal Research Communications, 28(1/2): 173 - 180.

Moussouni, S., Si-Dehbi, F. et Bouguedoura, N. (2013). Biogeography of the Date Palm (*Phoenix dactylifera* L., *Arecaceae*): Insights on the Origin and on the Structure of Modern Diversity. Acta Hort, 994: 19 - 38.

Munier, P. (1973). Le palmier dattier. Ed G-P Maisonneuve, la rose. Paris.

N

.....
Naguleswaran, V., Pakeerathan, K. et Mikunthan, G. (2014). Biological control: A promising tool for bulb-rot and leaf twisting fungal diseases in red onion (*Allium Cepa* L.) In Jaffna District. World Applied Sciences Journal, 31(6): 1090 - 1095.

Nawar, L.S. (2016). Phytochemical and SDS-dissociated proteins of pathogenic and nonpathogenic *Fusarium oxysporum* isolates. International Journal of ChemTech Research, 9(6): 165 - 172.

Nelson, P.E., Horst, R.K. et Woltz, S.S. (1981). *Fusarium* diseases of ornamental plants, p. 121-128. In P. E. Nelson, T. A. Toussoun, and R. J. Cook (eds.), *Fusarium: Diseases, Biology And Taxonomy*. Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania. (*oxysporum*).

Nelson, P.E., Toussoun, T.A. et Marasas, W.F.O. (1983). *Fusarium* species: An Illustrated Manual for Identification (Pennsylvania State University Press, University Park, PA).

Nelson, P.E. (1990). History of *Fusarium* systematic. The American Phytopathological Society, 81(9): 1045 - 1048.

Nicolás, C., Hermosa, R., Rubio, B., Mukherjee, P.K. et Monte, E. (2014). *Trichoderma* genes in plants for stress tolerance- status and prospects. Plant Science, 228: 71 - 78.

Noveriza, R. et Quimio, T.H. (2004). Soil mycoflora of black pepper rhizosphere in the Philippines and their *in vitro* antagonism against *Phytophthora capsici* L. Indonesian J. Agric. Sci, 5: 1 - 10.

Moreira, FG., Dos Reis, S., Costa MAF, De Souza CGM. Et Peralta, R.M. (2005). Production of hydrolytic enzymes by the plant pathogenic fungus *Myrothecium verrucaria* in submerged cultures. Brazilian Journal of Microbiology, 36(1): 7 - 11.

Nucci, M. et Anaissie, E. (2007). *Fusarium* Infections in Immunocompromised Patients. Clinical Microbiology Reviews, 20(4): 695 - 704.

Nurhazrati, M., Hafizi, R., Nor Azliza, I., Baharuddin, S. et Latiffah, Z. (2012). Diversity of *Fusarium* Species from Highland Areas in Malaysia. Tropical Life Sciences Research, 23(2): 1 - 15.

O

.....

O'Donnell, K., Rooney, A.P., Proctor, R.H., Brown, D.W., McCormick, S.P., Ward, T.J., Frandsen, R.J.N., Lysøe, E., Rehner, S.A., Aoki, T., Robert, V.A.R.G., Crous, P.W., Groenewald, J.Z., Kang, S. et Geiser, D.M. (2013). Phylogenetic analyses of RPB1 and RPB2 support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. Fungal Genetics and Biology, 52: 20 - 31.

Ogórek, R. (2016). Enzymatic activity of potential fungal plant pathogens and the effect of their culture filtrate on seed germination and seedling growth of garden cress (*Lepidium sativum* L.). Eur J Plant Pathol, 145: 469 - 481.

Oubella, K., Ouhmidou, B., Ait Chitt, M. et Moumni, M. (2017). Isolation and morphological identification of desert arbuscular mycorrhizal fungi from Errachidia region in Morocco. Int J Pharma Bio Sci, 8(3): 105 - 113.

Oubraim, S., Sedra, M.H. et Lazrek, H.B. (2016). A relationship between Bayoud disease severity and toxin susceptibility of date palm cultivars. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(1): 45 - 51.

Ouennoughi, M. et Dubost, D. (2005). Le voyage forcé des dattiers en Nouvelle-Calédonie, sécheresse, 16(4): 241 - 246.

P

.....
Padmanaban,V., Karthikeyan, R. et Karthikeyan, T. (2013). Differential expression and genetic diversity analysis using alpha esterase isozyme marker in *Ocimum sanctum* L. *Academic Journal of Plant Sciences*, 6(1): 01 - 12.

Palmero, D., Rodríguez, J.M., Cara, M., Camacho, F., Iglesias, C. et Tello, J.C. (2011). Fungal microbiota from rain water and pathogenicity of *Fusarium* species isolated from atmospheric dust and rainfall dust. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 38(1):13 - 20.

Pintaud, J.C., Zehdi, S., Couvreur, T., Barrow, S., Henderson, S., Aberlenc-Bertossi, F., Tregear, J. et Billote, N. (2010). Species delimitation in the genus *Phoenix* (*Arecaceae*) based on SSR markers, with emphasis on the identity of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.). p.267 - 286. In: O. Seberg, G. Petersen, A. Barfod and J. Davis (eds.), *Diversity, Phylogeny, and Evolution in the Monocotyledons*, Aarhus University Press, Denmark.

Priest, M. et Letham, D. (1996). Vascular wilt of *Phoenix canariensis* in New South Wales caused by *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathol*, 25: 110 - 113.

Q

.....
Quinten, M. (1996). Diversité et structure génétique des populations algérienne de *Fusarium oxysporum* agent de la fusariose vasculaire (Bayoud) du palmier dattier, Mémoire de doctorat, El Harrach, Alger, p: 52.

R

.....

Rabilloud, T.G., Carpentier, A. et Tarroux, P. (1988). Improvement and simplification of low-background silver staining of proteins by using sodium dithionite. *Electrophoresis*, 6: 288 - 291.

Rajeswari, P. (2014). Inhibition of Pectinolytic *Fusarium oxysporum*, *Pseudomonas fluorescens* on *Arachishypogaea* L. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 3(3): 2319 - 1473.

Raju, S., Jayalakshmi, S.K. et Sreeramulu, K. (2008). Comparative study on the induction of defense related enzymes in two different cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes by Salicylic acid, spermine and *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri*. *Australienne Journal of Crop Science*, 3: 121-140.

Ralph, S., Park, J.Y., Bohlman, N.J. et Mansfield, S.D. (2006). Dirigent proteins in conifer defense: gene discovery, phylogeny, and differential wound- and insect-induced expression of a family of DIR and DIR-like genes in spruce (*Picea* spp.). *Pl. Mol. Bio*, 60: 21 - 40.

Rashmi, S., Sudarshan, M. et Ram Sanmukh, U. (2016). The improvement of competitive saprophytic capabilities of *Trichoderma* species through the use of chemical mutagens. *Brazilin Journal of Microbiology*, 47: 10 - 17.

Reddy, M.N. et Stahmann, M.A. (1972). Isozyme patterns of *Fusarium* species and their significance in taxonomy. *Phytopathol. Z*, 74: 115 - 125.

Reino, J.L., Guerrero, R.F., Hernandez-Galan, R. et Collado, I.G. (2008). Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochem Rev*, 7: 89 - 123.

Renard, J.L. (1970). La Fusariose du palmier à huile: Rôle des blessures des racines dans le processus d'infection. *Oléagineux*, 11: 581 - 586.

S

.....

Saaidi, M. (1979). Contribution à la lutte contre le Bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier. Thesis, University of Dijon, France.

- Salem, A.O.M., Trifi, M., Sakka, H., Rhouma, A. et Marrakchi, M. (2001).** Genetic inheritance analysis of four enzymes in date-palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 48: 361 - 368.
- Saravanan, O., Muthuvelayudham, R. et Viruthagiri, T. (2012).** Enhanced production of cellulose from pineapple waste by response surface methodology. *Journal of Engineering*, 2013: 1 - 8.
- Sedra, M.H. (1993).** Remarques sur le pouvoir pathogène des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent de la fusariose vasculaire (Bayoud) de palmier dattier. *Al Awamia*, 83: 223 - 239.
- Sedra, M.H. (1995).** Problème phytosanitaire du palmier dattier en Mauritanie et proposition de moyens de lutte. Rapport, Réseau de recherche et développement du palmier dattier (BIFIAD FADES ACSAD/Syrie).
- Sedra, M.H., Lazrek, H.B., Lotfi, F. et Rochat, H. (1998).** Bayoud toxin isolation and use for screening of date palm plants for disease resistance. *Proceedings of the XXV International Horticultural Congress, Brussel Belgium*, 2 - 7.
- Sedra, M.H. (2006).** Le Bayoud en Afrique du Nord: Extension, particularités de la variabilité génétique des souches de l'agent causal et nouveaux clones marocains du palmier prometteurs pour combattre la maladie. Conférence régionale «Mutagenèse Induite et Biotechnologies d'Appui pour la Protection du Palmier Dattier contre le Bayoud».
- Sedra, M.H. et Zhar, N. (2010).** Genetic Variability Analysis of Populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, Causal Agent of Bayoud Disease of Date Palm and Other *Fusarium oxysporum* Using Molecular Techniques. *Acta Hort*, 882: 491 - 504.
- Seifert, K. (2001).** *Fusarium* and anamorph generic concepts. pp. 15 - 28 en: *Fusarium*. Summereli B. A et al., (eds). APS Press. St. Paul, Minnesota.
- Sever, Z., Ivic, D., Kos, T. et Milicevic, T. (2012).** Identification of *Fusarium* species isolated from stored apple fruit in Croatia. *Arh Hig Rada Toksikol*, 63: 463 - 470.

Selander, R.K., Caugant, D.A., Ochman, H., Musser, J.M., Gilmour, M.N. et Whittam, T.S. (1986). Methods of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. *APPL. ENVIRON. MICROBIOL.*, 51(5): 873 - 884.

Sexton, A.C. et Howlett, B.J. (2006). Parallels in fungal pathogenesis on plant and animal hosts. *Eukaryotic Cell*, 5: 1941 - 1949.

Sghir, F., Touati, J., Chliyeh, M., Mouria B., Touhami, A.O., Filali-Maltouf, A., El Modafar, C., Moukhli, A., Benkirane, R. et Douira, A. (2015). Effect of *Trichoderma harzianum* and endomycorrhizae on the suppression of *Fusarium* wilt in plants of two date palm varieties: Majhoul and Boufeggous. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry (IJAPBC)*, 4: 378 - 396.

Sghir, F., Touati, J., Mouria B., Touhami, A.O., Filali-Maltouf, A., El Modafar, C., Moukhli, A., Benkirane, R. et Douira, A. (2016). Variation in pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* on two cultures associated with date palm of Moroccan oasis. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*, 2(3): 56 - 68.

Siala, R., Ben Chobba, I., Vallaey, T., Triki, M.A., Jrad, M., Ayedi, I., Elleuch, A., Nems, A., Cerqueira, F., Cheffi, M., Gdoura, R., Drira, N. et Gharsallah, N. (2016). Analysis of the cultivable endophytic bacterial diversity in the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) and evaluation of its antagonistic potential against pathogenic *Fusarium* species that cause date palm Bayoud disease. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 4(5): 93 - 104.

SIDABTECH. (2017). Salon International de la Datte de Biskra, Biskra- Algérie, http://sidab.caci.dz/?page_id=1185.

Skovgaard, K. et Rosendahl, S. (1998). Comparison of intra- and extracellular isozyme banding patterns of *Fusarium oxysporum*. *Mycol. Res.*, 102 (9): 1077 - 1084.

Snyder, W.C. et Hansen, H.N. (1940). The species concept in *Fusarium*. *Am J Bot.*, 27: 64 - 67.

Souna, F., Himri, I., Benabbas, R., Fethi, F., Chaib, C., Bouakka, M. et Hakkou, A. (2012). Evaluation of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent against vascular fusariosis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Aust. J. Basic & Appl. Sci*, 6(5): 105 - 114.

Suhaida, S. et NurAinlzzati, M.Z. (2013). The Efficacy of *Trichoderma harzianum* T73s as a Biocontrol Agent of *Fusarium* Ear Rot Disease of Maize. *Int. J. Agric. Biol*, 15(6): 1175 - 1180.

Sumana, K. et Devaki, N.S. (2014). Morphological and biochemical variations of *Fusarium oxysporum* infecting fcv Tobacco in Karnataka. *International Journal of Agricultural Science and Research*, 4: 51 - 58.

Sumana, K., Punith, B.D. et Devaki, N.S. (2014). 1st report on molecular and biochemical variations among the populations of *Fusarium oxysporum* infecting tobacco in Karnataka, India. *Journal of Agricultural Technology*, 10(4): 931 - 950.

Sunitha, V.H., Nirmala Devi, D. et Srinivas, C. (2013). Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. *World Journal of Agricultural Sciences*, 9 (1): 01 - 09.

Stenglein, S.A. (2009). *Fusarium poae*: a pathogen that needs more attention. *Journal of Plant Pathology*, 91(1): 25 - 36.

T

.....

Tabuc, C. (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse UPSP de Mycotoxicologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Laboratoire Biologie Animale, IBNA Balotesti.

Tallapragada, P., Dikshit, R., Jadhav, A. et Sarah, U. (2017). Partial purification and characterization of amylase enzyme under solid state fermentation from *Monascus sanguineus*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. XXX, 1687 - 157X.

- Tanaka, M., Taniguchi, M., Morinaga, T., Matsuno, R. et Kamikubo, T. (1980).** Cellulase productivity of *Eupenicillium javanicum*. J Ferment Technol, 58:149 - 154.
- Tantaoui, A., Ouinten, M., Geiger, J. P. et 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. (1998).** Contribution à l'étude de l'écologie de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent causal du Bayoud. Densité de répartition de l'inoculum au sein du peuplement Fusarien. D.E.S, université Caddi Ayyad, Marrakech, Maroc.
- Tatsinkou, F.B., Taveai, F. et Ndjouenkeui, R. (2005).** Production and partial characterization of a thermostable amylase from ascomycetes yeast strain isolated from starchy soils. African Journal of Biotechnology, 4 (1):14 - 18.
- Thrane, U. (2001).** Developments in the taxonomy of *Fusarium* species based on secondary metabolites, p. 29 - 49. In B. A. Summereli, J. F. Leslie, D. Backhouse, W. L. Bryden, and L. W. Burgess (eds.), *Fusarium*: Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press, St. Paul, Minnesota. (9, 11, 12).
- Toghueo, R.M.K., Eke, P., Zabalgoceazcoa, I., Vázquez de Aldana, B.R., Nana, L.W. et Boyom, F.F. (2016).** Biocontrol and growth enhancement potential of two endophytic *Trichoderma* spp. from *Terminalia catappa* against the causative agent of Common Bean Root Rot (*Fusarium solani*). Biological Control, 96: 8 - 20.
- Toutain, G. et Louvet, J. (1974).** Lutte contre le Bayoud. IV. Orientations de la lutte au Maroc. Al Awamia, 53: 114 - 162.
- Tunarsih, F., Rahayu, G. et Hidayat, I. (2015).** Molecular phylogenetic analysis of Indonesian *Fusarium* isolates from different lifestyles, based on ITS sequence data. Plant Pathology et Quarantine, 5(2): 63 - 72.
- Turcotte, P.M.Sc., Bourgault Anne-Marie, M.D. et Couillard Michel, Ph.D. (2009).** Rapport des activités scientifiques 2007 et 2008 du Comité d'assurance qualité en microbiologie médicale.

Tshilenge-Djim, P., Munaut, F., Kalonji-Mbuyi, A. et Maraite, H. (2004). Caractérisation des *Fusarium* spp. associées au dépérissement du caféier Robusta en République Démocratique du Congo. *Parasitica*, 60(3-4):19 - 34.

V

.....

Vujanovic, V., Hamel, C., Yergeau, E. et St-Arnaud, M. (2006). Biodiversity and biogeography of *Fusarium* species from Northeastern North American Asparagus fields based on microbiological and molecular approaches. *Microbial Ecology*, 51: 242 - 255.

W

.....

Weckber, G. et Cory, J.G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia L 1210 cells *in vitro*, 40: 257 - 264.

Wollenweber, H.W. et Reinking, O.A. (1935). Die Fusarien, ihrebeschreibung, Schadwirkung, und Bekämpfung, Paul Parey, Berlin: 355.

Y

.....

Ye, H.Z. et Wu, G.Q. (1985). Polyacrylamide gel electrophoresis studies of the esterase patterns of *Fusarium* sp. causing head blight of wheat and barley," *Acta Phytopathol. Sinica*, 15: 87 - 94.

Yoshida, N., Fukushima, T., Saito, H., Shimosaka, M. et Okazaki, M. (2014). Cellulose and Xylan Degrading Enzymes of the Plant Pathogenic Fungus, *Fusarium oxysporum* SUF850. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53(7): 1829 - 1836.

Z

.....

Zaid, A. (2002). Date palm cultivation. FAO plant production and protection, paper, 156, Rev. 1, 318: <http://www.foa.org/docrep/006/y4360e/y4360e00.htm>.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ziouti, A., El Modafar, C., Fleuriet, A., El Boustani, E. et Macheix, J.J. (1992). Les polyphényles, marqueurs potentiels de la résistance du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) au *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. In: XVI International Conference in Association with the Royal Society of Chemistry. Groupe Polyphenol, Lisboa, Portugal: 346 - 349.

Zohary, D. et Hopf, N. (1988). Fruits trees and nuts in domestication of plants in the old world. Oxford Soc. Clarendon Press Publications, 146 - 149.

A decorative graphic on the right side of the page. It features two large, concentric circles at the top and bottom. The inner circles are light green with a dashed orange border, and the outer circles are a darker green with a solid orange border. A dashed orange line starts from the top left, passes through the top circle, and ends at the bottom right. A dashed blue line starts from the top right, passes through the top circle, and ends at the bottom right. The word 'ANNEXES' is written vertically in a stylized font along the right edge of the graphic.

ANNEXES

**A
N
N
E
X
E
S**

Annexe 1: Milieux de culture utilisé

- Milieux de culture PSA

PSA (Potato Sucrose Agar) (Sghir *et al.*, 2015).

Pomme de terre	200g
Sucrose	20g
Agar	15g

Le milieu est autoclave pendant 20 min à 121°C.

- Milieux de culture SNA

SNA (Synthetischer Nahrstoff Agar) (Leslie et Summerell, 2006).

KH ₂ PO ₄	1g
KNO ₃	1g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5g
KCl	0,5g
Glucose	0,2g
Saccharose	0,2g
Agar	15g

Composants pour 1L

Les composants sont mélangés puis le milieu est autoclavé pendant 20 min à 121°C.

- Milieux de culture GYP (modifié)

GYP (Glucose Yeast Peptone)

Glucose	2%
Extrait de levure	0.5%
Peptone	0.5%

Pour l'utilisation de GYP solide on ajoute 20g d'Agar avec ces composants.

Milieu WA (Agar 2%)

Agar	20g
Eau distillée	1000ml

Annexe 2: Mise en évidence de Foa dans les racines par études histologiques

a- Fixation

Après 20 jours d'inoculation des fragments racinaires sont prélevés puis trempés dans le F.A.A (Formol – Acide acétique - Alcool) pendant 48 h (Fig. 1), pour permettre leurs fixation et faciliter la réalisation des coupes au microtome. Ils sont ensuite conservés dans de l'éthanol à 70°.

Le F.A.A est composé de:

- 8 volumes d'éthanol à 70°
- 1 volume d'aldéhyde formique
- 1 volume d'acide acétique glacial

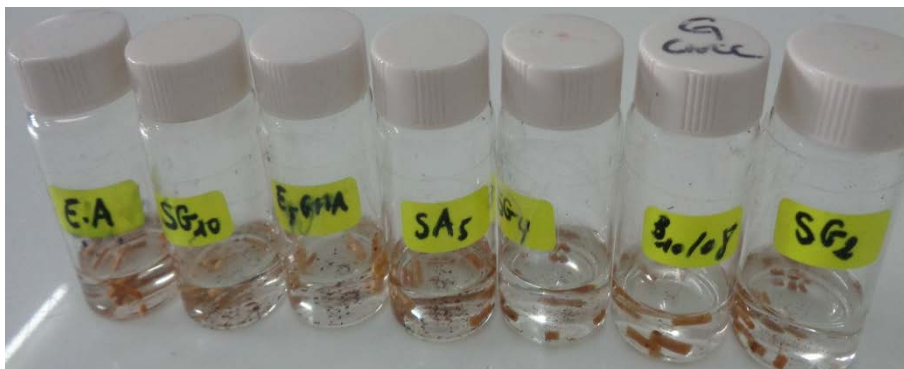


Figure 1: Fixation des fragments racinaires dans le F.A.A.

- Déshydratation

Elle est obtenue par le passage des échantillons dans des bains d'éthanol à des concentrations croissantes (95° - 95° - 100° - 100° - 100°) à intervalles de temps réguliers, une heure entre deux bains. Puis un passage dans du butanol pendant une nuit pour permet le ramollissement des organes.

- Imprégnation

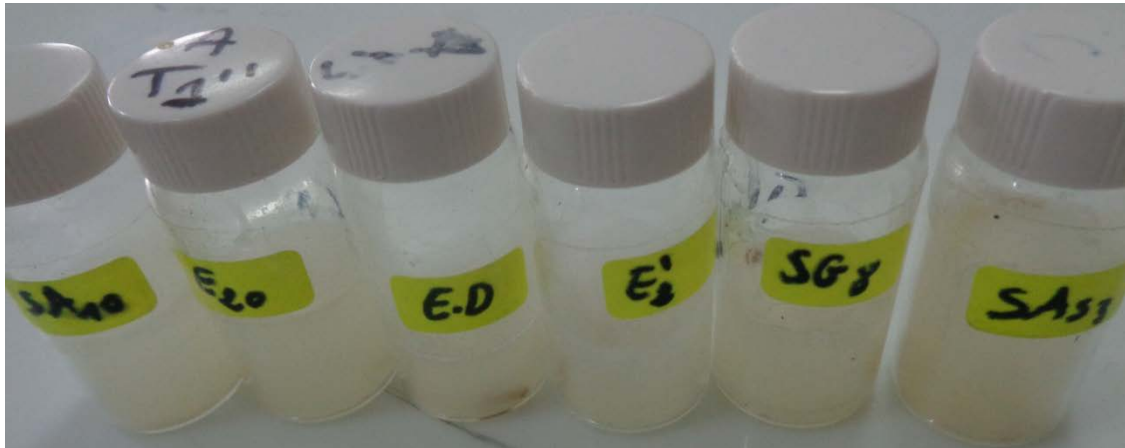
Elle a pour bute d'éliminer tout trace d'éthanol et permet une meilleure pénétration de la paraffine dans les tissus (Fig. 2). Par les étapes suivantes:

- . Toluène + Ethanol 100° (1/1) pendant 60 mn
- . Toluène pur pendant 60 mn
- . Toluène pur pendant 60 mn
- . Toluène + Paraffine pendant 60 mn à 56 °C
- . Paraffine pendant 60 mn à 56°C

. Paraffine toute la nuit.

Figure 2: L'imprégnation des fragments racinaires dans la paraffine

- Inclusion dans la paraffine



La mise en blocs se fait dans des cassettes associées a des moules métalliques (Figure 3). La paraffine est coulée à chaud, après un léger refroidissement de la paraffine au fond du moule, les fragments racinaires (0.5 cm de longueur) sont plongés selon le plan des coupes souhaité à l'aide d'une pince. Chaque organe est étiqueté, les blocs de paraffine sont ensuite séchés à température ambiante et démoulés (Figure 4).



Figure 3: Paraffine colée dans les blocs



Figure 4: Blocs de paraffine démoulés

- Confection et étalement des coupes

Les coupes sont effectuées à l'aide d'un microtome à une épaisseur de 7 à 11µm. Après avoir réalisé les coupes, les rubans de paraffine obtenus, sont collés sur des lames avec de l'eau gélatineuse à 1% sur une plaque chauffante à 45°C, ce qui permet la fixation des échantillons.

- Déparaffinage

Avant leur coloration les coupes doivent être débarrassées de la paraffine pour permettre la pénétration, des colorants dans les échantillons. Le déparaffinage se fait selon les étapes suivantes:

Toluène pur pendant	10 mn 3 fois
Alcool 100° pendant	10 mn 3 fois
Alcool 100° + formol (4/1) 05 mn	5mn
Rinçage à l'eau courante	

- Coloration et observation

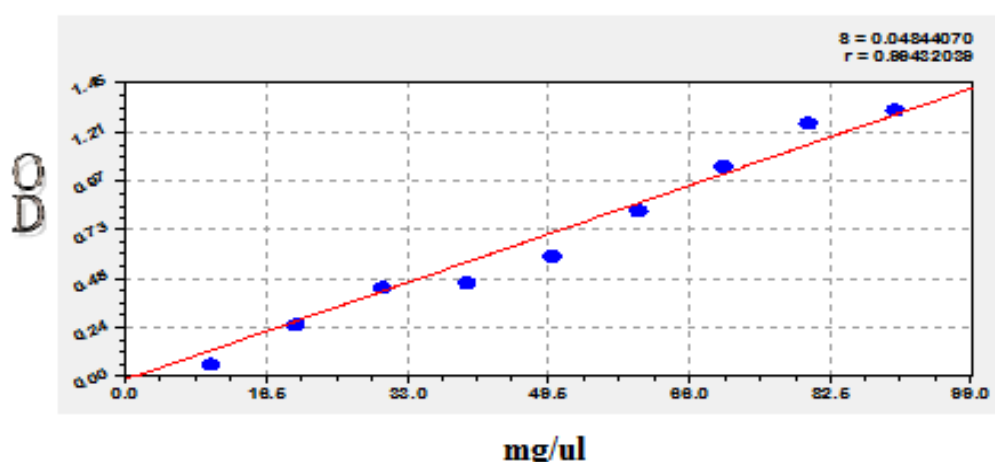
Les coupes sur lames sont colorées au bleu de Cotton sur une plaque chauffante à 45°C, puis passer à l'observation microscopique (Gabe, 1968; Boudeffeur, 2010; Kadiri, 2011).

Annexe 3: Dosage des protéines par la méthode de Bradford

Tableau 1: La courbe de la gamme d'étalonnage du dosage de Bradford

Tubes	1	2	3	4	5	6
SBA (µl)	200	200	200	200	200	200
E.D (µL)	100	100	200	300	400	500
R.B (ml)	1	1	1	1	1	1

BSA: Sérum albumine bovine; E.D: Eau distillée; R.B: Réactif de Bradford.



Courbe étalon pour le dosage des protéines

Annexe 4: Matrice des données pour l'estérase

Appellation		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Années	Cultivars	Localités	Régions
M15A1	P1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	2015	Adala	Metlili	Ghardaïa
M15G	P2	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	2015	Ghares	Metlili	Ghardaïa
M15D1	P3	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	2015	Dagla	Metlili	Ghardaïa
E1	P4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	2015	Rhizosphère	Metlili	Ghardaïa
B15H	P5	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	2015	Hmira	Beni Abbes	Bechar
M15H	P6	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	2015	Hmira	Mansor Bouda	Touat
T15H1	P7	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	2015	Hmira	Tillilène	Touat
A15T	P8	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	2015	Tegaza	Adgha	Touat
E3	P9	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2015	Rhizosphère	Metlili	Ghardaïa
T15H	P10	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	2015	Hmira	Timmi	Touat
M15T	P11	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	2015	Timliha	Mansor Bouda	Touat
M15T1	P12	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	2015	Tazerzait	Metlili	Ghardaïa
B15F	P13	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	2015	Feggous	Beni Abbes	Bechar
T15D	P14	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	2015	Dagla	Tillilène	Touat
M15D	P15	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	2015	Dagla	Metlili	Ghardaïa
O15T	P16	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	2015	Tilimsou	Ouled Aaroussa	Touat
I08G	P17	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	2008	Ghars	INPV	Ghardaïa
M15A2	P18	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	2015	Adala	Metlili	Ghardaïa
E2	P19	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2015	Rhizosphère	Mansor Bouda	Touat
M15A	P20	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	2015	Aghamou	Mansor Bouda	Touat
O15H	P21	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2015	Hmira	Ouled Ali	Touat
O15D	P22	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	2015	Dagla	Ouled Aaroussa	Touat
M15D2	P23	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	2015	Dagla	Metlili	Ghardaïa

Annexe 4: Matrice des données pour l'acide phosphatase

Appellation		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Années	Cultivars	Localités	Régions
M15A1	P1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2015	Adala	Metlili	Ghardaïa
M15G	P2	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2015	Ghares	Metlili	Ghardaïa
M15D1	P3	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	2015	Dagla	Metlili	Ghardaïa
E1	P4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2015	Rhizosphère	Metlili	Ghardaïa
B15H	P5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2015	Hmira	Beni Abbes	Bechar
M15H	P6	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2015	Hmira	Mansor Bouda	Touat
T15H1	P7	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2015	Hmira	Tillilène	Touat
A15T	P8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2015	Tegaza	Adgha	Touat
E3	P9	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2015	Rhizosphère	Metlili	Ghardaïa
T15H	P10	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	2015	Hmira	Timmi	Touat
M15T	P11	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2015	Timliha	Mansor Bouda	Touat
M15T1	P12	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2015	Tazerzait	Metlili	Ghardaïa
B15F	P13	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2015	Feggous	Beni Abbes	Bechar
T15D	P14	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	2015	Dagla	Tillilène	Touat
M15D	P15	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2015	Dagla	Metlili	Ghardaïa
O15T	P16	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2015	Tilimsou	Ouled Aaroussa	Touat
I08G	P17	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2008	Ghars	INPV	Ghardaïa
M15A2	P18	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2015	Adala	Metlili	Ghardaïa
E2	P19	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2015	Rhizosphère	Mansor Bouda	Touat
M15A	P20	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	2015	Aghamou	Mansor Bouda	Touat
O15H	P21	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2015	Hmira	Ouled Ali	Touat
O15D	P22	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2015	Dagla	Ouled Aaroussa	Touat
M15D2	P23	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2015	Dagla	Metlili	Ghardaïa

Annexe 6: Matrice des données pour Protéines totales

Isolats		B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13
M15A1	P1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
M15G	P2	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1
M15D1	P3	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
B15H	P4	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
E1	P5	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
M15H	P6	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
T15H1	P7	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
A15T	P8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M15A	P9	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
T15H	P10	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1
M15T	P11	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1
M15T1	P12	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E2	P13	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1
T15D	P14	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
B15F	P15	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
O15T	P16	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
I08G	P17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
M15A2	P18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
M15D	P19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E3	P20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
O15H	P21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
O15D	P22	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
M15D2	P23	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0

Morphological study and Characterisation of *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis*. by Isozymes systems

Sidaoui A¹., Karkachi N¹., Bertella A¹., Boudeffeur S²., Chhiba M³., Tebyaoui A³., El Goumi Y³., and Kihal M¹

Author's addresses: ¹ Laboratory of Applied Microbiology, Department of Biology. University of Oran 1 (Ahmed Ben Bella), Algeria ; ² INRA Adrar ; ³ Faculty of Science and Technology of Settat Hassan 1st University –Morocco.

Abstract— The characteristics of *Fusarium oxysporium f.sp. albedinis* (F.o.a) isolates were investigated using electrophoretic studies of isozymes systems (esterase and phosphatase). The morphological characteristics of the isolates were very variable to each other. The isoenzymes profiles revealed polymorphic bands or the data were subjected to analysis with the JMP method. The isolates were grouped into 2 main groups A and B, those last were divided into sub-groups. Nineteen (19) isolates creates the group A and four isolates (E1, E2, E3 and M15A) formed the group B. analysis of isozyme banding patterns were found to be a reliable marker technology, efficient and effective tools to find the genetic variability among isolates isolated in different geographical areas.

Keywords— Electrophoresis, *Fusarium oxysporium f.sp. albedinis*, genetic diversity, isozyme analysis.

1 INTRODUCTION

The *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (F.o.a) is a vascular pathogen that causes a vascular wilt of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) Or Bayoud, it represents the most serious problem for the cultivation of the date palm, particularly in North Africa, which leads to the deterioration of the crop and the lack of quality and this will reflect negatively on the economic and social life of the population of the region [1], [2]. In order to have a better understanding of genetic diversity at *Fusarium sp.*, we felt it necessary to explore other characterization tools that are the morphological study and pathogenicity test. In addition, we chose to study the isoenzyme polymorphism of two systems (esterase and acid phosphatase). Enzymes, encoded by different alleles, often have electrophoretic mobility in polyacrylamide gels. This is due to variations in the amino acid composition of the molecules, which depend on the nucleotide sequence of the DNA [3], [4]. The isoenzyme electrophoresis is used to detect and identify a particular fungus, and the discrepancy in the isoenzymatic profiles is used to solve problems located at the species [3].

The aim of this work is the study of the pathogenicity and isozyme polymorphism to determine variability among various isolates of *F. oxysporium f.sp albedinis* collected from different regions of Southern Algeria.

2 MATERIALS AND METHODS

A total of 23 isolates of *Fusarium* collected from three different regions (Adrar, Ghardaïa and Bechar) of the Southern Algeria were used in this study. Isolation of the pathogen was performed from the date palm rachis presenting the symptoms of bayoud and also from the rhizosphere around infected palms.

2.1 Morphological study

The study of the macroscopic characters of the isolates is based on the morphological description and on the pigmentation of the colony. The isolates were grown on potatoes sucros agar (PSA) medium at $25 \pm 2^\circ \text{C}$ for 7 days °. The microscopic study is carried out from the margin of older colony of seven days on the PSA medium. For best microscopic identification of the isolates, the culture on the blade was used to maintain the shape and mycelium structure.

2.2 Preparation of the sample extract

The isolates of *Fusarium* were grown on Glucose Yeast Peptone (GYP) medium liquid at $25 \pm 2^\circ \text{C}$ in 250 ml Erlenmeyer flasks on a shaker at 100 rpm for 10 days. Mycelia were recovered by filtration through gauze and washed with sterile distilled water, dried with paper towels. Then it is ground into fine paste using phosphate buffer (100 mM - pH 7.1), in a cold mortar and pestle kept in ice, in the presence of sterile sand. The mixture was transferred to centrifuge tubes and centrifuged at 10 000 g for 20 minutes at 4°C . The supernatant is rapidly distributed into Eppendorf tubes for each 100 µl and stored at -20°C until use.

2.3 Electrophoresis

A total of 23 isolates were then selected to form a collection for electrophoresis on polyacrylamide gel on the basis of the geographical origin.

The electrophoretic profile of the isoenzymes is representative of the structure of the genome of an organism may be used to differentiate between fungal species [5] or subspecies level [6]. The isozyme diversity is related to the expression of genes

encoding these enzymes are more or less independent of the environment; this approach provides a relatively neutral means for determining genetic variation [7]. Polyacrylamide gel electrophoresis was used for the separation of proteins and isozymes (estérase) band to identify some isolates of *Fusarium* [8]. The electrophoresis in polyacrylamide gel to separate proteins has been widely used for identification and classification of strains and species [6].

Proteins were separated on polyacrylamide gels according to the method of Laemmli [9]. Using dual vertical slab gel electrophoresis apparatus. The dimensions of the gels were 17.5 x 15 cm and 1.0 mm thick. The gel consisted of 10% for separating gel and 5% for stacking gel. The migration of protein is made in a cold room at 4 ° C under a 75 mA amperage and voltage of 180 V. We performed two isozymes systems: Esterase (EST) and acid phosphatase (CAP) (Table I).

2.3.1 Data Analysis

For the collection of isolates converged into one group, we need to collect all the data of each isoenzyme profile in a binary matrix where the number 1 indicates the existence of band and 0 means the absence of the latter [7]. For each enzyme system, All isoenzymes positions of all isolates is listed; these positions are numbered from 1 to n where position 1 corresponding to the band whose migration is the fastest, and n, the lowest. All the data provided by the two enzymatic systems is the "phenotypic profile" characteristic of each isolate.

TABLE I
The staining solution of isozymes

Enzyme	Ingredients	Quantity
Esterase	Fast bleu RR	100 mg
(EC.3.1.1.1)	100 Mm Na-phosphate buffer Ph 7.1	100ml
EST	α - Naphtyl Acetate 2% (Acetone)	1.5 ml
Acidphosphatase	B- Naphtyl acide phosphate	50mg
(EC.3.1.3.2)	Fast Garnet GBC	50 mg
PAC	0.2 M Acetate buffer pH = 5	100 ml

Mm = millimolar; M = molar; mg = milligram; ml = milli Liter

Strains with the same phenotype belong to the same zymodeme [10]. The dendrogram based on phenotypic estimated similarity coefficients were built JMP software.

3 RESULTS

3.1 Morphological study

The study of the macroscopic and microscopic aspect of isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp *albidenis*, it was based on the aspect and color of the mycelium, the macroscopic observation of isolates showing morphological variability about the appearance of colony in Petri dish. Different morphological aspects of our isolates were observed. These types are the cottony mycelium majority, with 43%, the

mucous ras type that represents 26%, the downy type that has 17% other isolates have a mucous mycelium having 13% of the collection. Different morphological aspects of the color of the mycelium of our isolates were observed. This is the White (39%), Whitish (21%), Salmon (21%), and Red (4%) [(Fig. 1) ; (Table II)], and fast growing for most isolates (3.5 to 6.4 cm after 5 days). The isolates were also macroconidia which are few, pediforme at the sharp end, they are curved and septate, usually 2 to 3 septates and rarely 5 (Fig. 1). Microconidia were abundant, generally single celled, globular shapes, elongated, produced only in false heads on short monophialides ported perpendicular to the filaments, finally the chlamyospores one terminal or intermediate position (Fig. 2).

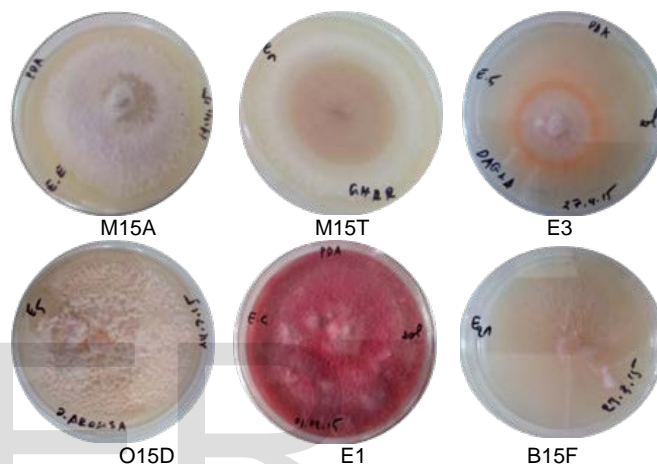


Fig. 1 Different morphological aspects and the color of mycelium of *Fusarium* sp. isolates cultured on culture medium PSA.

E3: Colony cottony and Mycelium Orange; M15T: Colony downy and Mycelium Salmon; M15A: Colony downy and Mycelium Whitish; B15F: Colony Mucous ras and Mycelium Salmon pink; E1: Colony cottony and Mycelium Dark pink and O15D: Colony cottony and Mycelium Whitish.

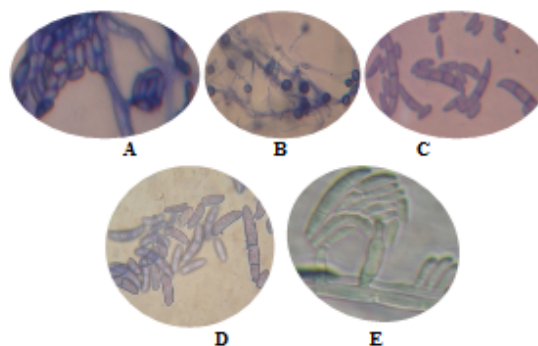


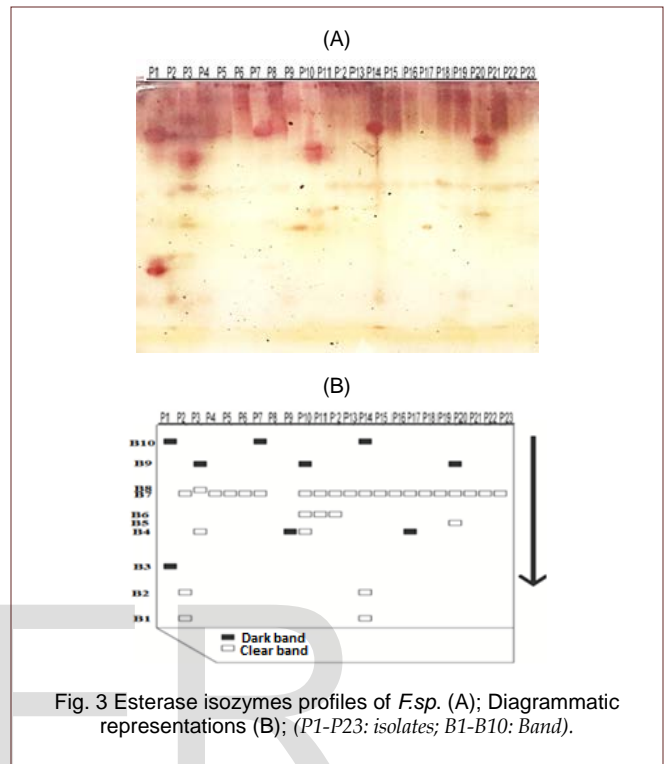
Fig. 2 Different forms of spores of *F. sp.*

A: Microconodia; B: Chlamydospore; C and D: Macroconidia; D: Macro and microconidia of *Fusarium* sp. isolated from soil.

TABLE II
 Description of twenty three isolates of *Fusarium.sp.*

Designation	Years	Cultivars	Localities	Regions	Morphotype	Color
M15A1	2015	Adala	Metlili	Ghardaïa	cottony	White
M15G	2015	Ghares	Metlili	Ghardaïa	cottony	White
M15D1	2015	Dagla	Metlili	Ghardaïa	cottony	White
E2	2015	Rhizosphère	Metlili	Ghardaïa	cottony	White
B15H	2015	Hmira	Beni Abbes	Bechar	downy	White
M15H	2015	Hmira	Mansor Bouda	Touat	Mucous	Salmon
T15H1	2015	Hmira	Tillilène	Touat	Mucous ras	Salmon pink
A15T	2015	Tegaza	Adgha	Touat	downy	White
E3	2015	Rhizosphère	Metlili	Ghardaïa	cottony	Orange
T15H	2015	Hmira	Timmi	Touat	Mucous ras	White
M15T	2015	Timliha	Mansor Bouda	Touat	downy	Salmon
M15T1	2015	Tazerzait	Metlili	Ghardaïa	Mucous	Salmon
B15F	2015	Feggous	Beni Abbes	Bechar	Mucous ras	Salmon pink
T15D	2015	Dagla	Tillilène	Touat	Mucous ras	Salmon
M15D	2015	Dagla	Metlili	Ghardaïa	cottony	Whitish
O15T	2015	Tilimsou	Ouled Aaroussa	Touat	Mucous ras	Salmon
I08G	2008	Ghars	INPV	Ghardaïa	Mucous ras	Whitish
M15A2	2015	Adala	Metlili	Ghardaïa	cottony	Whitish
E1	2015	Rhizosphère	Mansor Bouda	Touat	cottony	Dark pink
M15A	2015	Aghamou	Mansor Bouda	Touat	downy	Whitish
O15H	2015	Hmira	Ouled Ali	Touat	Mucous	White
O15D	2015	Dagla	Ouled Aaroussa	Touat	cottony	Whitish
M15D2	2015	Dagla	Metlili	Ghardaïa	cottony	White

zyme systems could serve as an indicator of genetic variability, identification and characterization of the pathogen [10]. The electrophoretic profile of acid phosphatase is represented by a diagram for a best interpretation of this result (Fig. 4(B)).



3.2 Electrophoresis

3.2.1 Esterase

After migration, electrophoresis shows the revelation of ten bands named B1 to B10 light pink or dark pink color appear on the gel, the esterase reacting with beta naphthyl acetate produces dark pink band and the reaction of alpha naphthyl acetate produces a clear band (Fig. 3(A)). A representative diagram of this result is elaborated to facilitate the processing of data (Fig. 3(B)). The Band migration is distributed almost on all different levels. The band went back migration on almost all levels. They show the relative mobility between 0.06 and 0.93. The heterogeneity of esterase zymogram gives a fairly good representation of the genetic complexity [11].

3.2.2 Acid phosphatases

Acid phosphatases (ACP, EC 3.1.3.2) are enzymes that catalysing the cleavage of phosphoric monoester bonds in organo-phosphorus compounds. ACPs are important for the absorption of phosphate in microorganisms and plants [12]. Many *Fusarium* species studied has been found to produce at least one or two ACPs: two ACPs in *F. moniliforme* [13]. In our isolates, the zymogram revealed a polymorphism (Fig. 4(A)) and the relative mobility values ranged from 0.02 to 0.96. Detected bands are well separated and exhibits polymorphism a very wearing for phosphatase acid to the population concerned. The total migration of twelve active polymorphic iso-

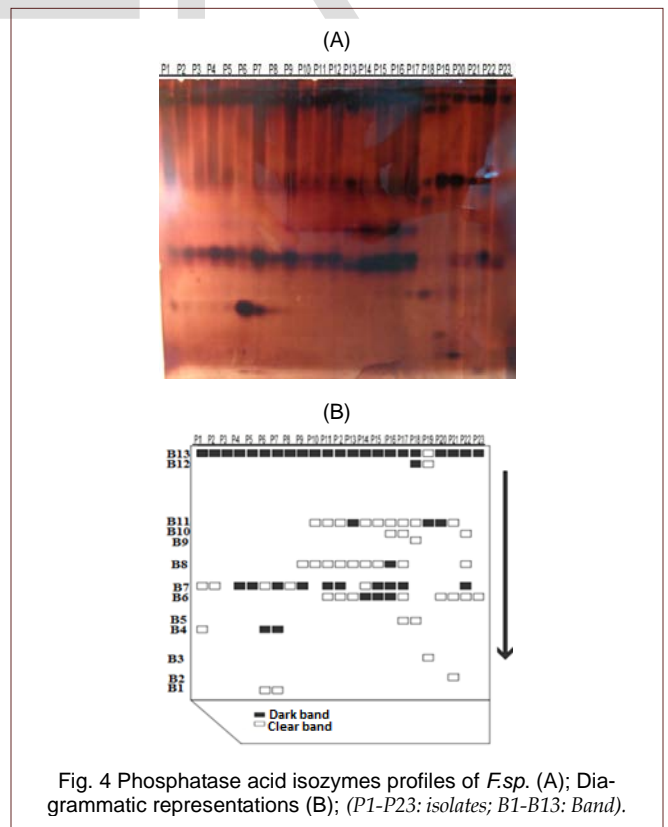


Fig. 4 Phosphatase acid isozymes profiles of *F.sp.* (A); Diagrammatic representations (B); (P1-P23: isolates; B1-B13: Band).

3.2.3 Isozyme Cluster analysis

Cluster analysis with the JMP method using genetic distances showed that all 23 isolates formed two main groups, A and B (Fig. 5). The subgroup I closed two isolates (M15A1 and M15D1) with a rate of 94.11% similarity, while fifteen isolates formed the subgroup II who is subdivided into fourteen sub-cluster with a rate of similarity ranged from 94.3% to 100% between *Fusarium* isolates of origin from the three regions (isolate B15H, M15H, B15F, M15D, O15T, M15A2, O15H, O15D, M15D2, T15H1, A15T, I08G, T15H, M15T and M15T1), two isolates (M15G and T15D) formed the sub-cluster A2 with a rate of similarity 98%. Isolates in the cluster B was further divided into B1 and B2. Two isolates (E1 and E2) formed the sub-cluster B1 with a rate of similarity 94.9%, these last from two regions and isolated from soil, when B2 trained by two isolates (E3 and M15A) with a rate of similarity 93.27%.

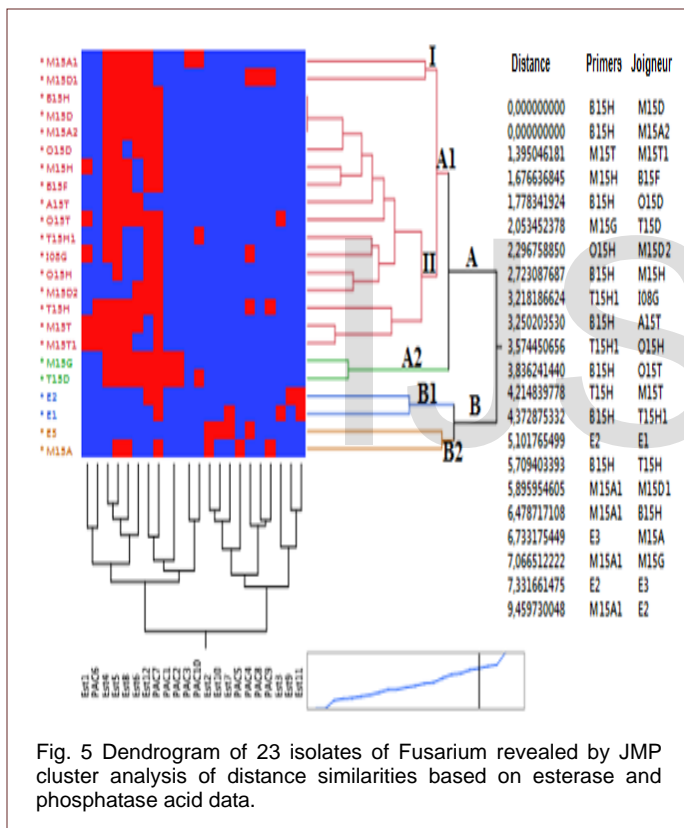


Fig. 5 Dendrogram of 23 isolates of *Fusarium* revealed by JMP cluster analysis of distance similarities based on esterase and phosphatase acid data.

4 DISCUSSION

The shape of microconidia produced on short phialides is one of the main characteristics defining the species of *Fusarium oxysporum* and is preferred in identification purpose. Morphological study of isolates has shown morphological and pigmentation variability, Similar studies were also reported by Karkachi et al., (2014) [14] for *F.o.a* with a difference in the result of pigmentation. Concerning the speed growth of isolates (3.5 to 6.4 cm after 5 days). he is different of which reported by Bonde et al., (2014) in the *Fusarium equiseti* or they find that All the isolates exhibited similar growth rate of about

7.1-9 cm after 6 days incubation at $25 \pm 2^\circ$ C. The clusters of isozyme analysis of data placed the *Fusarium* species into two main groups (A and B) and each one consists of several sub - groups. The similarity between the twenty-three isolates of *Fusarium* varies from 90.55 to 100%. With the formation of a phenotypic tree (constellation diagram) consists of five groups phylogenetic contains each isolates whose distance is close. These results suggested that esterase and phosphatase acid patterns data clearly separated our isolates with a few exceptions. These results of esterase, similar to those obtained by Aly et al., (2003) [7] and Ye and Wu (1985) [15]. Also, a clear cut result was detected by Peroxidase and Protease isozymes in discriminating between *Fusarium oxysporum* f. sp. *Nicotianae* (Sumana et al., 2014) [16]. However, no relationship was observed between isozyme patterns and geographic origin or pathogenicity of isolates. Similar studies were also reported by Bosland and Williams, (1987) [17]. While Sumana et al., (2014) [16].recorded a genetic variability in isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *nicotianae* isolated in the same geographic and environmental conditions.

5 CONCLUSION

Our results suggest a phenotypic variation among the isolates of *F.o.a* with the use of two isozymes systems. The polymorphic isozyme systems could serve as an indicator of genetic variability in *F.o.a* and in identifying and characterizing *F.o.a* isolates. As we have observed no correlation between the geographical origin and classification of isolates by isoenzymes.

REFERENCES

- [1] F. Jaiti, A. Meddich, and I. El Hadrami, "Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in the protection of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against bayoud disease. Physiological and Molecular Plant Pathology," vol. 71, 2007, pp. 166-173.
- [2] M. bohatem, F. Chakrafi, F. Jaiti, A. Dihazi, and M. Baaziz "Arbuscular Mycorrhizal Fungi Limit Incidence of *Fusarium oxysporum* f.sp. *albendinis* on Date Palm Seedlings by Increasing Nutrient Contents, total Phenols and Peroxidase Activities," vol.4, 2011, pp. 10-16.
- [3] J.-A. Micales, "The use of isozyme analysis in fungal taxonomy and genetics," *Mycotaxon*, vol. 27, 1986, pp. 405-449.
- [4] S. Rosendahl, and R. Sen, "Isozyme analysis of mycorrhizal fungi and their mycorrhiza," in Varma AK, Read DJ, Norris JR, eds. *Methods in microbiology : Experiments with mycorrhizae*. London: Academic Press UK 24, 1992, pp. 169-194.
- [5] W.H.P. Boshov, w.J. Swart, and Z.A. Pretorius "Isozyme characterisation of *Fusarium graminearum* isolates associated with head Blight of irrigated wheat in South Africa.,"
- [6] I.N. Aly, M.A. Abdel-Sattar, K.A. Abd-Elsalam, M.S. Khalil, and J.A.Verreet, "Comparison of multi-locus enzyme and protein gel electrophoresis in the discrimination of five *Fusarium* species isolated from Egyptian cottons", *Afr. J. Biotechnol*, vol. 2, 2003, pp. 206-210.
- [7] H. Bhuvanendra Kumar, A. C. Udaya Shankar, S. Chandra Nayaka, K. Ramachandra Kini, H. S. Shetty, and H. S .Prakash, "Biochemical characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* isolates from India. *African Journal of Biotechnology*," vol. 9(4), 2010, pp. 523-530.
- [8] M.K. El-Kazzaz, G.B. El-Fadly, M.A.A. Hassan, and G.A.N. El-Kot, "Identification of some *Fusarium* spp.," using Molecular Biology Techniques. *Egypt. J. Phytopathol*, vol. 36, 2008, pp. 57-69.

- [9] U.K. Laemmli, "Cleavage of structural proteins during the assembly of bacteriophage T4. Nature," vol. 227, 1970, pp. 680-685.
- [10] E. Serre, and M. Roux, "Pratique de la classification automatique," In J. A. Rioux ed, *Leishmania. Taxonomie et phylogénèse. Application éco-épidémiologique*. Montpellier, France, 1986, pp. 27-39.
- [11] S. Gharbi, N. Karkachi, M. Chhiba, M. Kihal, and J.E. Henni, "Comparison of *Ascochyta rabiei* isolates for cultural characteristics and isozyme," *International journal of biosciences*. Vol. 6, 2015, pp. 30-39.
- [12] J. Budi Hidayat, G Marilyn Wiebe, T Niels Eriksen, "Phosphate-limited continuous flow cultures of *Fusarium venenatum* A3/5 and production of acid phosphatase," *Enzyme and Microbial Technology* , vol. 40, 2007, pp. 902-907.
- [13] Yoshida H, Tamiya N. Acid phosphatase from *Fusarium moniliforme*: purification and enzymatic properties. *J Biochem* 1970;69:525-34.
- [14] N. Karkachi, S. Gharbi, M. Kihal, and J.E.Henni, "Study of pectinolytic activity of *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* agent responsible for bayoud in Algeria," *International Journal of Agronomy and Agricultural Research (IJAAAR)*, vol. 5, 2014, pp. 40-45.
- [15] H.Z. Ye, and G.Q.Wu, "Polyacrylamide gel electrophoresis studies of the esterase patterns of *Fusarium* sp. causing head blight of wheat and barley," *Acta Phytopathol. Sinica*, vol. 15, 1985, pp. 87-94.
- [16] K. Sumana, B.D. Punith, and N.S. Devaki, "irst report on molecular and biochemical variations among the populations of *Fusarium oxysporum* infecting tobacco in Karnataka, India", *Journal of Agricultural Technology*, vol. 10(4), 2014, pp. 931-950.
- [17] 17P.W. Bosland, and P.H.Williams, "An evolution of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozymes polymorphisms, vegetative compatibility, and geographic origin," *Can. J. Bot.* vol. 65, 1987, pp. 2067-2073.

IJSER

Résumé

La fusariose vasculaire du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa) est considérée comme l'une des maladies les plus graves, qui présente une menace permanente pour les palmeraies de l'Afrique du Nord, et entraîne la disparition de 20 millions de palmiers, dont trois millions de palmiers algériens, depuis sa parution en 1870. Pour l'ensemble des isolats, différents aspects morphologiques ont été observés, il s'agit de type: duveteux, cotonneux, duveteux frisé et ras frisé, avec une variabilité dans la pigmentation entre les isolats. Le résultat du test de pathogénicité a révélé que les 20 isolats de Foa étaient pathogènes et capables d'induire des symptômes de Bayoud, chez les plantules de palmiers dattiers, avec des pourcentages de mortalité variables. Tous les isolats ont été analysés pour étudier la variabilité isoenzymatique dans deux systèmes: l'estérase (EST) et l'acide phosphatase, ainsi que le polymorphisme des protéines totales, en utilisant l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Le Polymorphisme phénotypique a été observé à la fois dans les deux systèmes isoenzymatiques et les protéines totales. L'évaluation de l'effet antagoniste de *Trichoderma longibrachiatum*, indique que la croissance du Foa a été inhibée par cet antagoniste à plus de 60%.

Mot-clés:

Algérie; Bayoud; Biodiversités; Electrophorèse; *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albedinis*; Isoenzymes; Lutte biologique; Pathogénicité; Polymorphisme; *Trichoderma longibrachiatum*.