



*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de Biologie*

Laboratoire de valorisation des ressources végétales et sécurité alimentaire des zones
semi arides du sud ouest Algérien (VRVSA)



THÈSE

Présentée par M^r TERFAYA Bouziane

Pour obtenir le grade de

Doctorat en science Biologique

Option : Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments.

Thème

**Etude de l'activité antifusarienne (FOA) de *Juniperus
phoenicea* L de la région de Béchar; Essai *in vivo* sur trois
cultivars des palmiers dattiers.**

Soutenue le :

Devant le jury composé de

Président	→ Pr. CHAEBANE SARI Daoudi	Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
Directeur de thèse	→ Pr. MAKHLOUFI Ahmed	Université Tahri Mohamed Béchar
Co-directeur	→ Pr. ABDLOUAHID Djamel Eddine	Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
Examineurs	→ Dr. BELYAGOUBI Larbi	Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
	→ Dr. MEBARKI Lakhdar	Université Tahri Mohamed Béchar

Année universitaire: 2019-2020.

DEDICACE

.... Avec mes sincères sentiments et mon cœur chaleureuxJe dédie ce modeste travail A :

*L'âme sacré de Mon père **Mohamed** que je l'ai perdu et qui reste et resterais toujours présent dans mon cœur" الله يرحمك وجعلها في ميزان حسناتك » pour leur soutient morale et financière.; ma grande sœur "**KHADRA**" et à mes grandes parents et j'espère que le miséricordieux les accueillera dans son vaste paradis*

*Je remercie très spécialement ma famille grande et petite surtout ma femme ; **Amina** qui a toujours été là pour moi; sans oublié ma petite **Djohaina** et le plus adorable **Mohamed** « **Hamoudi** ». Spécialement dédicace pour **Pr: Makhloufi Ahmed et Pr Abdelouahid Djamel eddine** qui acceptent de m'aider et de m'encadré.*

Mes meilleurs amis et tous les ingénieurs de laboratoire de biologie, soit pédagogique ou de recherche.

Touts ceux qui ont contribué de près et de loin à finaliser ce modeste travail.

Remerciement

Au nom d'Allah le clément, le Miséricordieux.

Avant tout, nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

On trouve dans la tradition prophétique le hadith :

« **Celui qui ne remercie pas les gents, n'a pas remercié ALLAH** ».

Je tiens à exprimer mes profonds remerciements au Mr le Professeur **MAKHOULFI AHMED** de l'université Tahri Mohamed Béchar; pour la confiance qu'il m'a accordée ; sa contribution hautement distinguée dans la réalisation de ce travail me restera à l'esprit. Son sens d'appréciation scientifique, sa rigueur pour le travail bien fait, ses suggestions pertinentes dans la recherche et surtout sa disponibilité, ont permis, a maintes reprises, de clarifier mes pensées ; ainsi que Mr le Professeur **ABDELOUAHID Djamel eddine** pour l'aide compétente qu'il m'a apporté et pour son soutien ; sa rigueur et sa bienveillance.

Une très grande reconnaissance va au Mr le Professeur **CHAEBANE SARI Daoudi** , de l'université A.B.B de Tlemcen pour l'honneur qu'il nous fait de présider le jury de cette thèse et pour l'intérêt qu'il a bien voulu porter à notre travail.

J'adresse également mes sincères remerciements au Docteur Mr **BELYAGHOUBI Larbi** de l'université A.B.B de Tlemcen; d'avoir accepté de juger ce travail et d'apporter ces critiques tant constructives. Je remercie chaleureusement le Docteur **MEBARKI Lakhdar**. de l'U.T.M de Béchar , pour avoir bien voulu examiner ce travail et de contribuer par ces conseils tant souhaités.

Comme je remercie infiniment Le Professeur **MOUSSOUI Abdellah**; Directeur de Laboratoire de valorisation des ressources végétales et sécurité des aliments dans les zones semi arides du sud-ouest Algérien et enseignant chercheur de biologie à l'Université TAHRI Mohamed de Béchar, pour la gentillesse et la patience qu'il a manifestées à mon égard durant cette thèse, pour son aide, pour ses conseils, et pour la patience qu'il a consacré à ce travail ses nombreuses responsabilités.

Et comme rien ne vient de néant, je tiens à remercier aussi tous mes enseignants depuis la première année primaire jusqu'à la fin d'année de Doctorat et tous ceux qui m'ont eu de loin ou de près une influence quelconque sur le développement de mes neurones.

Je tiens aussi à témoigner ma gratitude et mon affection à tous ceux qui m'ont encouragé de différentes manières, qui m'ont accordé leur confiance et qui m'ont permis de me consacrer pleinement à mon travail. Ils se reconnaîtront. Y compris les enseignant(e)s ; Guenaia Abdelkader, Benyaegoub Elhacen ; Belarbi larbi, Akermi moulai; Bouyahiaoui Ahmed; M.Beloufa A, M. yaagoubi, M.Khaldi A, M.Bachir S, Gouri et toutes les enseignantes

Je ne saurais oublier de remercier messieurs et mesdames les enseignants de l'année théorique. Mes remerciements s'adressent également à mes collègues les enseignants de Béchar et de Tlemcen et les chercheurs pour leur collaboration scientifique, surtout Dr Chaouche Tarik ainsi que ma reconnaissance sincère pour les aides, l'accueil et la sympathie du personnel technique des laboratoires de recherche et pédagogique de biologie.

Pour ceux que je n'ai pas cités, les étudiants doctorants, Magisters, Masters et PFE, j'exprime toute ma gratitude pour leur soutien, les moments de partage et d'amitiés. Je tiens aussi à remercier tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

Enfin, un grand merci à ma famille; surtout ma femme qui m'a encouragé dans toutes mes entreprises et je tiens à leur dédicacer ce travail.....

Résumé

Ce travail s'intéresse à l'étude de l'activité anti-fusarienne *in vitro* et *in vivo* des extraits de bois (goudron végétal brut et ces fractions huileuses et godronneuses) de *Juniperus phonicea L.* poussant à l'état spontané dans la région de Rosfa Tayeba, Wilaya de Bechar.

En premier lieu, l'extraction par carbonisation donne un rendement de **0.542%** pour le goudron végétal (Guetrane) et **1.768%** de fraction huileuse. De plus, les analyses physicochimiques de ces deux extraits de *Juniperus phonicea L.*, montrent que le pH est acide il varie de : **3.25 à 4.02**, la densité entre **0.991 et 1.15**, la matière sèche entre **2,58% et 36,34%** et l'indice de réfraction: **1,3423 et 1.5112**-pour le goudron et l'huile respectivement.

L'étude *in vitro* du pouvoir antifongique du goudron brut, fraction huileuse et fractions godronneuses contre dix souches de *Fusarium oxysporum f sp albedinis* montre que:

❖ Les souches testées sont très sensible au goudron par rapport aux autres extraits. La souche **S03** est la plus sensible avec un diamètre d'inhibition de **19mm**. Tandis que, la fraction huileuse n'exerce aucun effet sauf pour les souches S06, S08, S09, S10 et S03 où la zone d'inhibition est de l'ordre de 12 mm.

❖ Pour la technique de contact direct on note une CMI de **0.005mg/ml** pour **S03**avec le goudron brute, suivie par **S06** et **S09** avec une CMI de l'ordre de **0.006mg/ml**. Pour fraction huileuse la souche **S03** est la plus sensible avec une CMI de **0.20mg/ml**, alors qu'elle est de l'ordre de **0.26mg/ml** pour **S01, S06** et **S08**. Or, pour les fractions godronneuses, la fraction **F02** est la plus efficace contre **S03, S06** et **S09** avec une CMI à partir de **0,006mg/ml**.

Par suite, on note que le goudron brut inhibe totalement la croissance mycélienne entre **0.005 et 0.039mg/ml** et entre **0.20 et 0.40mg/ml** pour la fraction huileuse. Tandis qu'il est entre **0,006-0,040mg/ml** pour les fractions godronneuses

Pour la **CMF** nous remarquons que le goudron végétal brut a exercé une grande activité contre les souches testées de **0.006-0.040mg/ml**. Or, la fraction huileuse a exercé une activité entre **0.26-0.42mg/ml**. Alors que les fractions godronneuses ; la CMF est de l'ordre de **0.008-0.042mg/ml**.

L'activité antifusarienne *in vivo* montre une activité très puissante de goudron contre le *Fusarium oxysporum f sp albedinis*. L'injection des plantules avec le goudron provoque la réparation des des tissus endommagés la et revivification des plantules infectées.

Mots clés : *Juniperus phonicea L.*, Goudron végétal, activité antifusarienne *in vivo*, *in vitro*.

المخلص

يهدف هذا العمل الى دراسة النشاط المضاد للفيزاريوم مخبريا وحيويا لمستخلصات الخشب (القطران الخام النباتي والزيت) لشجيرة (العرعار الفينيقي *Juniperus phoenicea L*) التي تنمو تلقائيا بمنطقة الرصيفة الطيبة ، ولاية بشار وذلك. أولاً ، بلغ مردود المستخلصات باستعمال التقطير الجاف الى 0.542% بالنسبة للقطران، 1.768% للزيت ، بينما أظهرت التحليلات الفيزيوكيميائية لهذين المستخلصين عن كثافة نوعية تراوحت ما بين 0.991 و 1.15 ، معامل الانكسار 1.5112 و 1.3423 ، اما الأس الهيدروجيني فكان حامضياً وتراوح ما بين: 3.25 و 4.02 . وكذا تراوحت نسبة المواد الجافة من 2.58% الى 36.34% بالنسبة للقطران والزيت على التوالي.

أظهر النشاط المضادة للفطريات للقطران الخام والمستخلصات الزيتية وكذا القطرانية مخبريا على عشرة سلالات فطرية من نوع فوزاريوم أوكسيسبوريوم على ما يلي:

بالنسبة للقطران ، السلالات التي تم اختبارها حساسة للغاية مقارنة بالمستخلصات الأخرى، فيما لوحظ إن السلالة S03 هي الأكثر حساسية بقطر تثبيط قدره 19 ملم ، في حين ان الجزء الزيتي ليس له أي تأثير باستثناء السلالات S06 و S08 و S09 و S10 و S03 حيث قدر قطر التثبيط بحوالي 12 ملم.

بالنسبة للنشاط المضاد للفطريات للقطران النباتي الخام ، بينت النتائج ان التركيز الأدنى التثبيطي للسلالة S03 هو 0.005 ملغم / مل ، يليه S06 و S09 مع تركيز ا دنى تثبيطي قدره 0.006 ملغم / مل . بالنسبة للمستخلص الزيتي ، فان السلالة S03 هي الأكثر حساسية مع تركيز ا دنى تثبيطي قدر ب 0.20 ملغم / مل ، في حين أنها تقدر ب 0.26 ملغم / مل بالنسبة لـ S01 ، S06 و S08 .

مقارنة مع المستخلصات القطرانية ، فإن المستخلص ف02 هو الأكثر فعالية ضد S03 و S06 و S09 مع تركيز ا دنى تثبيطي يبدأ من 0.006 ملغم / مل .

وعلى هذا الاثر ، لوحظ أن القطران الخام يمنع تماماً النمو الفطري في تركيز يتراوح ما بين 0.005 و 0.039 ملغم / مل وبين 0.20 و 0.40 ملغم / مل للمستخلص الزيتي . بينما يتراوح بين 0,006-0,040 ملغم / مل للمستخلصات القطرانية .

بالنسبة للتركيز الأدنى المبيدي للفطريات، نلاحظ أن القطران الخام له نشاطاً كبيراً ضد السلالات المجربة من 0,040-0,006 ملغم / مل . ومع ذلك ، أظهر المستخلص الزيتي نشاطاً ما بين **0.26-0.42** ملغم / مل . بينما للمستخلصات القطرانية فتبلغ حوالي **0.008-0.042** ملغم / مل .

أظهر الاختبار الحيوي عن فعالية عالية للقطران ضد الفطر الممرض ، مما سمح إلى تجديد للنسج التالفة للخيليات مما نتج عنه إعادة الحيوية لهاته الأخيرة .

الكلمات المفتاحية: العرعار الفينيقي ، القطران النباتي ، النشاط المضاد للفيزاريوم ، مخبرياً ، حيويًا .

Abstract

This work aimed to study the anti-fusarium activity *in vitro* and *in vivo* of wood extracts (raw vegetable tar and these oily and dilatory fractions) of *Juniperus phonicea L.* growing in wild Rosfa Tayeba region , wilaya of Bechar.

First, the extraction yield by carbonization is about **0.542%** for vegetable tar and **1.768%** for oily fraction. In addition, physicochemical analyzes of these two extracts of *Juniperus phonicea L.* ,show that the pH is acid: **4.02-3.25**, density: **1.15 -0.991**, dry matter:

36.34% -2.58% and the refractive index: **1.5112-1,3423** for tar and oil respectively.

The *in vitro* study against ten fungus of *Fusarium oxysporum f sp albedinis* of the antifungal power of raw tar, oily fraction and tar fractions shows that:

➤ The tested strains are very sensitive to tar compared to the other extracts.

The **S03** strain is most sensitive with an inhibition diameter of **19mm**. However, the oily fraction has no effect except for strains **S06, S08, S09, S10** and **S03** where the inhibition zone is about **12mm**.

➤ For the direct contact technique, the **MIC** is about **0.005mg/ml** for **S03** with raw tar, followed by **S06** and **S09** with a **MIC** of **0.006mg/ml**. For the oily fraction, **S03** strain is the most sensitive with an **MIC** of **0.20mg/ml**, compared to the order of **0.26mg/ml** for **S01, S06** and **S08**. The **F02** fraction is the most effective for the tar fractions against **S03, S06** and **S09** with a **MIC** from **0.006mg/ml**.

Subsequently, it is noted that crude tar completely inhibits mycelial growth between **0.005** and **0.039mg/ml** and between **0.20** and **0.40mg/ml** for the oily fraction. While it is between **0,006-0,040mg/ml** for tar fractions.

Antifusarium activity *in vivo* shows a very powerful tar activity against inoculated *Fusarium oxysporum f sp albedinis*. Tar injection of seedlings causes repair of damaged tissue and revival of infected seedlings.

Keywords: *Juniperus phonicea L.*, vegetable tar, antifusarian activity *in vivo*, *in vitro*.

Dédicace.....	I
Remerciement	II
ملخص.....	V
Résumé.....	VI
Abstract.....	VII
Table des matières.....	VIII
Liste des abréviations	X
Liste des figures.....	XI
Liste des photos	XII
Liste des tableaux	XIII
Liste des planches.....	XIV

Introduction générale

1

Partie I : Partie bibliographique.

Chapitre I : Généralité sur les palmiers dattiers

I.1. Introduction.....	3
I.2 Palmiers dattiers.....	3
I.2.1. Taxonomie.....	4
I.2.2. Origine et répartition géographique du palmier dattier	5
I.2.3. Conditions écologique du dattier.....	5
I.2.4 Morphologie et phénologie du palmier dattier.....	6
I.2.4.1. Racines	6
I.2.4.2. Tronc (le stipe).....	7
I.2.4.3. Couronne ou Frondaison	7
I.2.4.4 Palmes.....	8
I.2.4.5. Organes floraux	8
I.2.5. Fructifications.....	9
I.2.6 Cycle de développement.....	10
I.2.7 Multiplication	10
I.2.8. Diversité génétique du dattier	10
I.2.9 Répartition géographique du palmier dattier en Algérie.....	12
I.2.10 Situation de culture du palmier dattier en Algérie	12
I.2.11. Contraintes de la culture du palmier dattier	13

Chapitre II : Fusariose des palmiers dattiers

II.1 Introduction.....	14
II.2 Origine et historique.....	14
II.3 Agent causal de Bayoud « <i>Fusarium oxysporum f.sp albedinis</i> » (FOA).....	15
II.3.1 Taxonomie du FOA.....	16
II.3.2 Biologie de FOA.....	16
II.4 Mode d'infection du palmier par le parasite.....	18
II.5 Symptômes	18
II.5.1 Symptômes externes.....	18
II.5.2 Symptômes internes	20
II.6 Facteurs influençant la propagation du champignon pathogène	20

II.7 Méthodes de détection et d'inspection.....	20
II.7.1 Caractéristiques morphologiques et culturelles.....	20
II.7.2 Test de pouvoir pathogène.....	21
II.7.3 Identification de FOA par méthodes moléculaires.....	21
II.8 Impact économique.....	22
II.9 Lutte contre le Bayoud.....	22
II.9.1 Lutte chimique.....	22
II.9.2 Mesures prophylactiques.....	23
II.9.3 Lutte génétique.....	23
II.9.4 Lutte biologique	23
II.9.4.1 Compostage.....	24
II.9.4.2 Mycorhization.....	24

Chapitre III : Généralité sur le Genévrier de Phénicie

III.1 Introduction	26
III.2. Distribution mondiale.....	26
III.3. Description et classification systématique des cupressacées.....	27
III.4. Systématique du Genévrier de Phénicie.....	28
III.5. Description botanique du Genévrier de Phénicie.....	29
III.6. Utilisation de <i>J. phoenicea</i> L.....	29
III.7. Goudron végétal	30
III.7.1 Définition.....	30
III.7.2 Extraction du goudron végétal.....	31
III.7.2.1 Distillation <i>per descensum</i>	31
III.7.2.2 Distillation <i>per ascensum</i>	31
III.7.3 Fours de distillation.....	32
III.7.4 Propriétés physicochimiques du goudron végétal.....	32
III.7.5 Composition chimique de goudron végétal.....	32
III.7.6 Utilisation de goudron végétal.....	33
III.7.6.1 Utilisations en médecine vétérinaire.....	34
III.7.6.2 Utilisations en médecine humaine	34
III.7.6.3 Fabrication des produits cosmétiques et pharmaceutiques.....	35
III.7.6.4 Utilisations phytopharmaceutiques.....	35

Partie II: Partie Expérimentale

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1 Introduction	36
IV.2 Description de la zone d'étude	36
IV.3 Echantillonnage	37
IV.4 Extraction du goudron végétal	39
IV.5 Calcul de rendement	40
IV.6 Caractérisation physico-chimique du goudron végétal.....	41
IV.6.1 Détermination des caractéristiques physiques.....	41
IV.6.1.1 Détermination de matière sèche (MS).....	41
IV.6.1.2 Détermination de l'indice de réfraction.....	42
IV.6.1.3 Densité relative à t/20°C	42
IV.6.2 Détermination des caractéristiques chimiques.....	43

IV.6.2.1 Détermination de pH	43
IV.7 Analyse chromatographique du goudron végétal.....	43
IV.7.1 Fractionnement du goudron brut par chromatographie liquide sur colonne.....	43
IV.7.2 Chromatographie sur couche mince.....	44
IV.8. Souches fongiques.....	46
IV.8.1 Isolement de l'agent pathogène (<i>Fusarium oxysporum f sp albedinis</i>).....	47
IV.8.2 Clonage, purification et conservation des isolats.....	47
IV.8.3 Identification du FOA.....	48
IV.8.3.1 Technique de micro culture	48
IV.8.3.2 Identification moléculaire par la méthode de PCR.....	48
IV.8.4 Test de pouvoir pathogène.....	49
IV.9 Etude de l'activité anti-FOA.....	50
IV.9.1 Etude de l'activité anti-FOA <i>in vitro</i>	50
IV.9.1.1 Préparation des inoculums.....	50
IV.9.1.2 Méthode de disque.....	50
IV.9.1.3 Méthode de contact direct (croissance radiale sur milieu solide).....	50
IV.9.1.4 Activité anti FOA des fractions issue du goudron.....	52
IV.9.1.5 Détermination de la concentration minimale fongicide.....	52
IV.9.2 Etude de l'activité antifongique <i>in vivo</i>	53
IV.9.2.1 Provenance des cultivars des palmiers dattiers	53
IV.9.2.2 Variétés des palmiers dattiers étudiés.....	54
IV.9.2.3 Infection des plantules palmiers dattiers par le FOA.....	55
IV.9.3 Coupes histologiques.....	56
IV.9.3.1 Etapes préparatoires des racines	56
IV.9.3.1.1 Fixation des organes.....	56
IV.9.3.1.2 Déshydratation.....	56
IV.9.3.1.3 Imprégnation.....	57
IV.9.3.1.4. Inclusion à la paraffine	57
IV.9.3.1.5 Réalisation des coupes fines.....	57
IV.9.3.1.6 Déparaffinage.....	58
IV.9.3.1.7 Réhydratation.....	58
IV.9.3.2 Coloration des coupes.....	58
IV.9.3.2.1 Coloration par le Bleu de Cotton.....	58
IV.9.3.2.2 Coloration par le perchlorure de Fer.....	58
IV.9.3.2.3 Coloration par le Rouge Congo-Vert de Méthyle..... ..	58
IV.9.4 Montage et observations macro-microscopique.....	58
IV.9.5 Effet du goudron végétal sur la croissance du FOA <i>in vivo</i>	59

Chapitre V : Résultats &Interprétation

V.1 Extraction du goudron végétal.....	60
V.1.1 Rendement.....	60
V. 2 Caractérisation physico-chimique du goudron et la fraction huileuse.....	61
V. 2.1 Caractéristiques physiques.....	61
V. 2.1.1 Matière sèche (MS).....	61
V.2.1.2 Indice de réfraction	62
V.2.1.3 Densité relative à t/20°C.....	63

Table de matière

V. 2.2 Caractéristiques chimiques.....	63
V.2.2.1 pH.....	63
V.3 Analyse chromatographique du goudron végétal.....	64
V.3.1 Fractionnement par chromatographie liquide sur colonne.....	64
V.3.2 Chromatographie sur couche mince.....	65
V.4 Matériel fongique.....	66
V.4.1 Isolement et caractérisation macroscopique de l'agent pathogène.....	66
V.4.2 Caractérisation microscopique.....	67
V.4.3 Identification moléculaire des isolats par la méthode de PCR.....	68
V.4.4 Test du pouvoir pathogène.....	69
V.5 Etude de l'activité anti-FOA.....	70
V.5.1 Etude de l'activité anti-FOA <i>in vitro</i>	70
V.5.1.1 Méthode de disque.....	70
V.5.1.1.1 Méthode de disque du goudron brute.....	71
V.5.1.1.2. Méthode de disque de la fraction huileuse.....	72
V.5.1.1.3 Méthode de disque pour les fractions issues par CLc.....	73
V.5.1.2 Méthode de croissance radiale sur milieu solide.....	75
V.5.1.2.1 Méthode de contact direct du goudron végétal brute.....	75
V.5.1.2.2 Méthode de contact direct de la fraction huileuse.....	76
V.5.1.2.3 Méthode de contact direct des fractions chromatographiques	77
V.5.1.3 Méthode de diffusion en milieu liquide.....	80
V.5.2 Etude de l'activité anti-FOA <i>in vivo</i>	83
V.6 Coupes histologiques	84
V.6.1 Anatomie de la structure racinaire (racines non infectées « témoin »).....	84
V.6.2 Observations microscopiques et anatomie des racines infectées.....	86
V.6.2.1 Comportement des variétés sensible « Feggous » et tolérante « Hmira »	86
V.6.2.2 Comportement de la variété résistante " Tekerbouch ".....	89
V.6.3 Traitement des cultivars infectés par le goudron végétal.....	92
V.6.3.1 Comportement de la variété sensible « Feggous » et tolérante « Hmira »	92
V.6.3.2 Comportement des variétés résistante " Tekerbouch".....	93
Conclusion	98
Référence bibliographie	100
Annexes	

Liste des abréviations

J.p: Juniperus phonicea.

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

Tk : Tekrbouch.

T °C: température en degré Celsius.

V/V: Volume par volume.

PDA_a: Potato Dextrose Agar acidifié.

Pg : picogramme

PI : pourcentage d'inhibition.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

UF/g : Unité Fongique /g.

ACS : l'acide caféoylshikimique.

APC : acides p-coumarique.

APHB : acide p-hydroxybenzoïque.

AFE : acide férulique .

ASI : acide sinapique.

INRF : Institut national de la recherche forestière.

Liste des figures	Page
Figure I.1: Présentation schématique du palmier dattier	07
Figure I.2: Schéma d'une palme	08
Figure I.3 : Représentation schématique de la fleur mâle et femelle du palmier	09
Figure I.4: Coupe longitudinale d'une datte et du noyau.....	09
Figure I.5: Oasis algériennes.....	11
Figure II.1: Origine et extension du Bayoud en Afrique du Nord	14
Figure II.2 : Organisation morphologique du FOA.....	17
Figure II.3: Organes de reproduction asexuée de Foa au MEB.....	18
Figure II.4: Premiers symptômes du Bayoud	19
Figure II.5: Stade final de la maladie.....	19
Figure II.6 : FOA isolé à partir du rachis du palmier dattier sur milieu PDA.....	21
Figure II.7: <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i> .PCR spécifique avec deux paires d'amorces FOA28 et TL3.....	22
Figure III.1: Carte des groupes de végétations.....	26
Figure III.2: Classification détaillée de l'ordre des Cupressales.....	27
Figure III.3: <i>Juniperus phoenicea</i> L. des montagnes la région de Bechar.....	29
Figure III.4: Distillation <i>per descensum</i>	31
Figure III.5: Distillation <i>per ascensum</i>	31
Figure III.6 : Four à goudron végétal.....	32
Figure IV.01: Carte géographique situant la région de Rosfa Taieba commune de Béni Ounif wilaya de Béchar.....	37
Figure V.01: Rendement d'extraction du goudron et l'huile végétale de <i>J.phoenicea</i> L.	60
Figure V.02: Teneur en eau et matière sèche du goudron <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	61
Figure V.03: Teneur en eau et matière sèche de la fraction huileuse du <i>J. phoenicea</i> . L.....	61
Figure V.04: Indice de réfraction du goudron et leur fraction huileuse.....	62
Figure V.05: Densité relative du goudron et la fraction huileuse.....	63
Figure V.06: pH du goudron et leur fraction huileuse.....	63
Figure V.07: Diamètres des zones d'inhibition par la méthode de disques de goudron brute....	71
Figure V.08: Diamètres des zones d'inhibition par la méthode de disques de fraction huileuse..	72
Figure V.09: Diamètres des zones d'inhibition par la méthode de disques de fraction chromatographique F(02)	73

Liste des photos :

Photo I.1 : Oasis de Ksar de Béni ounif, Béchar	04.
Photo V.01: Résultats de l'extraction par pyrolyse.....	60
Photo V.02 : Choix de la phase mobile.....	64
Photo V.03 : Fractions obtenues par chromatographie sur colonne.....	65
Photo V.04: CCM du goudron brute; (A) sans révélation (B) avec révélation à UV	65
Photo V.05: CCM des fractions goudronneuses: (A) sans révélation (B) avec révélation à UV	65
Photo V.06: Aspect du FOA sur milieu PDA à partir de matériel végétal infecté.	66
Photo V.07: Observation microscopique du <i>Fusarium oxysporum</i>	67
Photo V.08: Gels d'agarose montrant les produits PCR de l'ADN des isolats de <i>Fusarium</i>	68
Photo V.09: Manifestation des symptômes externes sur les plantules inoculées par les isolats pathogènes et comparaison avec la plante Témoin.....	69
Photo V.10: Début d'installation des symptômes de fusariose.....	84
Photo V.11 : Coupe histologique de la racine de palmier dattier non infecté « saint ou témoin » au microscope optique	86
Photo V.12 : Détachement du cylindre central de l'écorce de la variété sensible et tolérante au microscope optique (X40).....	87
Photo V.13 : Envahissement de parenchyme cortical par le FOA et progression vers le cylindre centrale.....	87
Photo V.14 : Invagination des hyphes de FOA intra racinaire de la variété sensible et tolérante....	88
Photo V.15 : Comportement de variété sensible « Feggous » vis-à-vis du FOA.....	88
Photo V.16 : Comportement de variété tolérante « Hmira » vis-à-vis du FOA.....	89
Photo V.17 : Comportement de variété résistante « Tekerbouch » vis-à-vis du FOA.....	90
Photo V.18 : Revivification des plantules après traitement par le goudron végétal.....	92
Photo V.19 : Coupe histologique de variété sensible « Feggous » avant et après traitement par le goudron végétale.....	92
Photo V.20 : Coupe histologique de variété tolérante « Hmira » avant et après traitement par le goudron végétale.....	93
Photo V.21 : Coupe histologique de variété résistante « Tekerbouch » avant et après traitement par le goudron végétale.....	93

Liste des tableaux :

Tableau I.1: Inventaire variétal dans les trois régions phoenicicole d'Algérie..	12.
Tableau II.1 : Localisation de FAO dans certain régions de Saoura	15
Tableau III.1 : Caractères des principales espèces du genre <i>Juniperus</i>	28
Tableau III.2: Classification systématique de <i>Juniperus phoenicea</i>	28
Tableau III.3 : Composition du goudron végétal	33
Tableau IV.01 : Souches utilisées dans l'étude de l'activité antifongique	46
Tableau V.01 : Séparation CCM du goudron brute et les fractions obtenus par CLc	65
Tableau V.02: Caractéristiques des isolats de <i>Fusarium oxysporum albédenis</i> étudiés	67
Tableau V.03 : Résultat de la concentration minimal d'inhibition de la fraction huileuse de <i>Juniperus phoenicea</i> L	75
Tableau V.04 : Résultat de la concentration minimal d'inhibition de la fraction huileuse de <i>Juniperus phoenicea</i> L	76
Tableau V.05 : Concentration minimal d'inhibition de la fraction goudronneuse (F 02)	77
Tableau V.06: CMI et CMF des nos différentes extraits vis-à-vis les dix souches FOA	81

Liste des planches

Planche V.01: Méthode de disques de goudron végétal brute.....	71
Planche V.02: Effet de fraction huileuse par la méthode de disques.....	72
Planche V.03: Méthode de disques de fraction "02" issu par chromatographie sur colonne....	73
Planche V.04: Effet du goudron brute à différentes concentrations sur la souche FOA (S03).	75
Planche V.05: Effet de goudron brut a différentes concentrations sur la souche FOA (S06)..	76
Planche V.06: Effet de la fraction huileuse a différentes concentrations sur FOA (S03).....	77
Planche V.07: Effet de la fraction huileuse a différentes concentrations sur FOA (S06).....	77
Planche V.08: Effet de la fraction (F 02) a différentes concentrations sur FOA (S03).....	78
Planche V.09: Effet de la fraction (F 02) a différentes concentrations sur FOA (S06).....	78

Introduction Générale

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) joue un rôle essentiel dans le développement et l'équilibre des oasis sahariennes. En Algérie, ses dattes sont exportées, vendues sur les marchés nationaux ou utilisées comme aliments de base par les populations locales. En outre, il crée un microclimat qui permet à d'autres arbres fruitiers et aux cultures vivrières de s'épanouir à son ombre **(Benlarbi, 2019)**.

Avec les programmes d'investissement, la production des dattes augmente d'une année à l'autre. Selon le ministère de l'agriculture en 2015, la wilaya de Béchar, est la sixième Wilaya d'Algérie en nombre de palmiers et en production de dattes avec 1.639.800 de palmiers et 300.500 quintaux de dattes, mais la majorité de cette production de dattes est sèches et de faibles valeurs commerciales non valorisées. Selon les statistiques du Ministère de l'Agriculture et du développement Rural et de la pêche en 2017, le palmier dattier occupe en Algérie une superficie évaluée à 167.663 hectares, alors que les palmiers productifs sont estimés à 15,7 millions et ceux plantés à 18,53 millions **(Makhloufi, 2018)**.

La fusariose vasculaire du palmier dattier, maladie cryptogamique appelée 'Bayoud' est un véritable fléau des zones phoenicoles. Très probablement originaire de la vallée du Draa, au Maroc **(Sedra, 2004)**. La maladie a progressé en direction de l'Est et l'Ouest décimant les palmeraies marocaines et atteignant de nombreuses Oasis Algérienne **(Ben Khalifa et al., 2003)**. Leur extension progressive vers les régions produisant des dattes d'exportation (Deglet-Nour) à l'Est du pays, pose des problèmes sérieux à la fois écologiques et socio-économiques. De plus, la richesse de la phoeniculture Algérienne montre la nécessité à des projets ayant pour objet de sauvegarder et valoriser ce patrimoine des palmiers dattiers **(Laouar et al., 2019)**.

L'utilisation des extraits de végétaux doués d'activités antifongiques est actuellement parmi les voies intéressantes pour lutter contre les maladies fongiques. Le "Bayoud" est la principale maladie cryptogamique qui attaque le palmier dattier, elle est causée par *Fusarium oxysporum f. sp. albendis* (Foa). Elle a causé des dégâts importants dans les palmeraies marocaines et algériennes **(Fernandez et al., 1998)**.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est de valoriser le goudron végétal (Guetrane en arabe) de *Juniperus phoenicea L.*, poussant à l'état spontané dans la région de Béchar pour la lutte contre la fusariose vasculaire des palmiers dattier.

Le Genévrier de Phénicie, Genévrier rouge (*Juniperus phoenicea*) est un arbrisseau de la région méditerranéenne, où il pousse dans les lieux rocaillieux, surtout sur le calcaire. Il se distingue du genévrier cade, qui a le même habitat, par ses feuilles enécailles et non en aiguilles. Appelé également Zimba (en chaoui) ou Araar au Maroc et en Algérie, cet arbre constitue, au côté du cèdre, la principale couverture végétale dans les montagnes des Atlas Algériens, notamment

dans le sud de ce massif de la région des Aures dans l'Est et les montagnes des Ksour et Laamour dans l'ouest. Dans la région de Bechar, *Juniperus phoenicea* L. est assez répandue dans les montagnes de Bechar, Antar, Rosfa Tayeba et Grouz.

La présente thèse comprend deux parties avec une introduction, une conclusion générale. La première est une synthèse bibliographique répartie en trois chapitres, qui font rappels des généralités sur le genévrier de Phénicie dont fait partie la synthèse du goudron végétal, les palmiers dattiers et fusariose vasculaire des dattiers.

La deuxième partie consiste à présenter les protocoles expérimentaux et le matériel utilisé, puis les résultats obtenus et leurs discussions.

Chapitre I :
Généralité sur les palmiers dattiers

I.1 Introduction

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est une espèce dioïque, c'est-à-dire qu'il existe des palmiers femelles qui produisent les dattes et des palmiers mâles qui produisent les pollens, caractérisée par des feuilles pennées (APG II, 2003),

Dans le Sahara algérien, *Phœnix dactylifera* L. est le pilier des écosystèmes oasiens où il permet de limiter les dégâts d'ensablement, joue un rôle protecteur contre le rayonnement solaire intense pour les cultures sous-jacentes (arbres fruitiers, cultures maraîchères et céréales). Par sa présence dans ces zones désertiques, les diverses formes de vies animales et végétales, indispensables pour le maintien et la survie des populations, sont possibles. (Baaziz 1990; Barrow, 1998 ; Doveri et Baldoni, 2007).

Sur le plan socio-économique, il occupe une place de plus en plus importante dans l'économie nationale d'une part en tant que source de devises grâce à la production des dattes et leurs sous-produits (pâtes, farine, sirop, vinaigre, levure, alcool, confiserie,...) (Boulal, 2010). De plus ils créent un microclimat qui permet d'associer d'autres cultures sous-jacentes telles des cultures maraîchères, des céréales et des arbres fruitiers (Jaradat et Zaid, 2004). En assurant en partie la subsistance des sociétés agricoles traditionnelles du Sahara (Bouguedoura et al., 2008). Le patrimoine phoenicicole algérien est caractérisé par une grande diversité variétale (représenté par plus de 940 variétés). L'écosystème oasien traditionnel constitue un réservoir pour la diversité génétique de la culture de dattier qui se menace aujourd'hui à disparition pour des causes variables (ensablement, manque d'eau, vieillissement, la phoeniculture monovariétal ...etc) (Baaziz et Bendiab. 1994; Hannachi et al., 1998).

L'Algérie occupe la quatrième position parmi les pays producteurs de dattes dans le monde, pour la campagne 2013/2014 ; la production des dattes occupe une grande partie de la production agricole saharienne. Le potentiel en palmiers dattiers est passé de 11,67 millions en 2000 à 18,4 millions de palmiers en 2013. Selon l'Institut Technique de Développement de l'Agronomie Saharienne algérien en 2014, la production des dattes dépasse 1100.000 de tonne en 2017, toutes variétés confondues, dont plus de la moitié de cette production sont des dattes communes. Malheureusement uniquement 04 % de sa production est exportée (Laouar et al., 2019; Haddou et al., 2016).

I.2 Palmiers dattiers

Le palmier dattier est une monocotylédone nommée *Phoenix dactylifera* L par Carl Von Linné en 1734. *Phoenix* dérive de *Phœnix* un mot grec pour désigner le dattier. Le mot *dactylifera* dérive du grec *dactulos* qui signifie doigt, en relation avec la forme du fruit. Elle est pérenne de la famille des *Palmeaceae* adaptée à la vie dans les zones arides à conditions climatiques sévères. (Ben Khalifa et al., 2003).

Cet arbre est d'une importance capitale dans la vie économique et sociale des populations sahariennes (**Djerbi, 1994**). Les activités liées à la commercialisation des dattes fournissaient un emploi à presque un million d'habitants des oasis sahariens du sud ouest de l'Algérie et les récoltes de l'année suffisaient à elles seules à couvrir une grande partie de leurs dépenses. (**Photo I.1**).



Photo I.1 : Oasis de Ksar de Béni Ounif , Béchar (**originale 05/2019**).

I.2.1 Taxonomie

Le palmier dattier a été dénommé « *Phoenix dactylifera* L. » par LINNE en 1734, qui veut dire l'arbre du dattier "*Phoenix*" qui porte "fero" des fruits en forme de doigt "dactylus". Il dérive du Grec "Phoinix dactylos", car il est considéré comme l'arbre des Phéniciens avec des fruits en forme de doigt "daktulos". (**Peyron, 2000**).

Dans la classification de Martius et Blume, le palmier dattier est une monocotylédone qui appartient à la famille des Palmacées ou palmiers, à la sous famille des Coryphinées et au genre *Phoenix*. La famille des Palmacées compte 235 genres et 4000 espèces Le genre *Phoenix* compte 12 espèces. L'espèce *Phoenix dactylifera*, Linné 1753 est le palmier dattier (**Muriel et al., 2013**).

La place du palmier dattier dans le règne végétal est rappelée ci-dessous (**Djerbi, 1994**) :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Groupe	Spadiciflores.
Ordre	Palmale. ou Arecaceae
Familles	Palmaceae. ou Arecaceae
Sous famille	Coryfoïdées.
Tribu	Phoenicées.
Genre	<i>Phoenix</i> .
Espèce	<i>Phoenix dactylifera</i> L

Chevalier (1952), divise le genre *Phoenix* en douze espèces, toutes d'origine tropicale et subtropicale chaude de l'Afrique et de l'Asie. *Phoenix atlantica* Chev., appelé faux dattier, présente une proche ressemblance avec *Phoenix dactylifera* L.

I.2.2 Origine et répartition géographique du palmier dattier

Le palmier dattier est présent dans l'ancien (Moyen-Orient, Afrique du Nord) et le nouveau monde (continent américain). Son aire de culture s'étend de la vallée de l'Indus à l'Est jusqu'à l'océan Atlantique à l'Ouest.

(Munier, 1973) pense que la culture du *P. dactylifera* L a due être pratiquée en basse Mésopotamie vers 4000 – 4500 ans. Par la suite, la culture de cette espèce a progressé vers le nord de la Mésopotamie puis vers la région côtière du Plateau iranien pour atteindre finalement la vallée de l'Indus. Elle s'est étendue ensuite à l'Égypte puis à la Libye et le Fezzan d'où elle rayonna, d'une part, vers le Maghreb : Tunisie (Djerid), Algérie (Souf, Oued Rhir, Tidikelt et Saoura), Maroc (Tafilalet et vallée du Drâa) et Mauritanie (Adrar mauritanien et Aoudag-host et d'autre part vers le sud : Tassili N'Ajjer, Hoggar, Adrar des Iforas (Mali), Djado-Kaouar (Niger) et Borkou-Tibesti (Tchad).

I.2.3 Conditions écologique du dattier

Le palmier dattier est une espèce thermophile mais qui supporte des températures de -15°C selon le cultivar, l'activité végétative se manifeste à partir de 7 à 10°C et elle atteint son intensité maximale de végétation entre 30 et 37°C **(Munier, 1973 ; Haddouch, 1996)**. Le palmier dattier est une espèce héliophile. C'est pourquoi les plantations sont établies à une densité qui permet un bon éclairage des plants et donc une bonne maturation des dattes. Le dattier est sensible à l'humidité de l'air pendant la floraison et la fructification. Une forte humidité diminue la transpiration des dattes qui de ce fait ne mûrissent pas. Les meilleures dattes sont récoltées dans les régions où l'humidité de l'air est moyennement faible (40 %). Même si le palmier préfère les sols légers, il s'accommode de tous les sols des régions arides et semi arides qu'ils soient ingrats ou bons. Cependant son comportement diffère selon le type de sol dans lequel il est planté. En sol léger, sa croissance est plus rapide qu'en sol lourd. La floraison est aussi plus précoce et la récolte est de meilleure qualité. **(Horizon, 2010)**.

C'est également une espèce très tolérante au sel. La concentration extrême de la solution de sel est donc 15 %. Au-delà de 30 % le dattier dépérit. C'est pourquoi il faut réaliser un système efficace de drainage dans les sols à haute concentration en sels ou dans le cas d'irrigation avec des eaux saumâtres. Il est nécessaire, pour assurer une bonne production dattière d'assurer une irrigation permanente. Les besoins en eau est moyennement de l'ordre de 850 litre/irrigation/palmier/ans. Le coefficient d'irrigation et sa périodicité doivent tenir compte du type de sol et de la période de l'année **(Mihoub et al., 2016)**.

I.2.4 Morphologie et phénologie du palmier dattier

C'est un grand palmier de 20 à 30 m de haut, au tronc cylindrique (le stipe), portant une couronne de feuilles, les feuilles sont pennées divisées et longues de 4 à 7 m. (**Figure I.1**) L'espèce est dioïque et porte des inflorescences mâles ou femelles, les fleurs femelles aux trois carpelles sont indépendants, dont une seule se développe pour former la datte (le fruit). (**Munier, 1973**).

I.2.4.1 Racines

Le système racinaire du dattier est fasciculé. Les racines ne se ramifient pas et n'ont relativement que peu de radicelles. Le bulbe, ou plateau racinal, est volumineux et émerge en partie au-dessus du niveau du sol. Le système radical présente quatre zones d'enracinement : (**Figure I.1**)

Zone I

À racines respiratoires, localisée au pied du dattier, comporte de nombreuses racines adventives aériennes qui peuvent se développer à partir de la région basale du tronc. Les racines souterraines restent localisées dans la couche superficielle du sol et ne dépassent pas 0.20 à 0.25m de profondeur.

Zone II

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

Zone III

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

Zone VI

Cette zone peut être très réduite et se confond avec la précédente lorsque le niveau phréatique se trouve à faible profondeur, (**Boulanouar, 2015**).

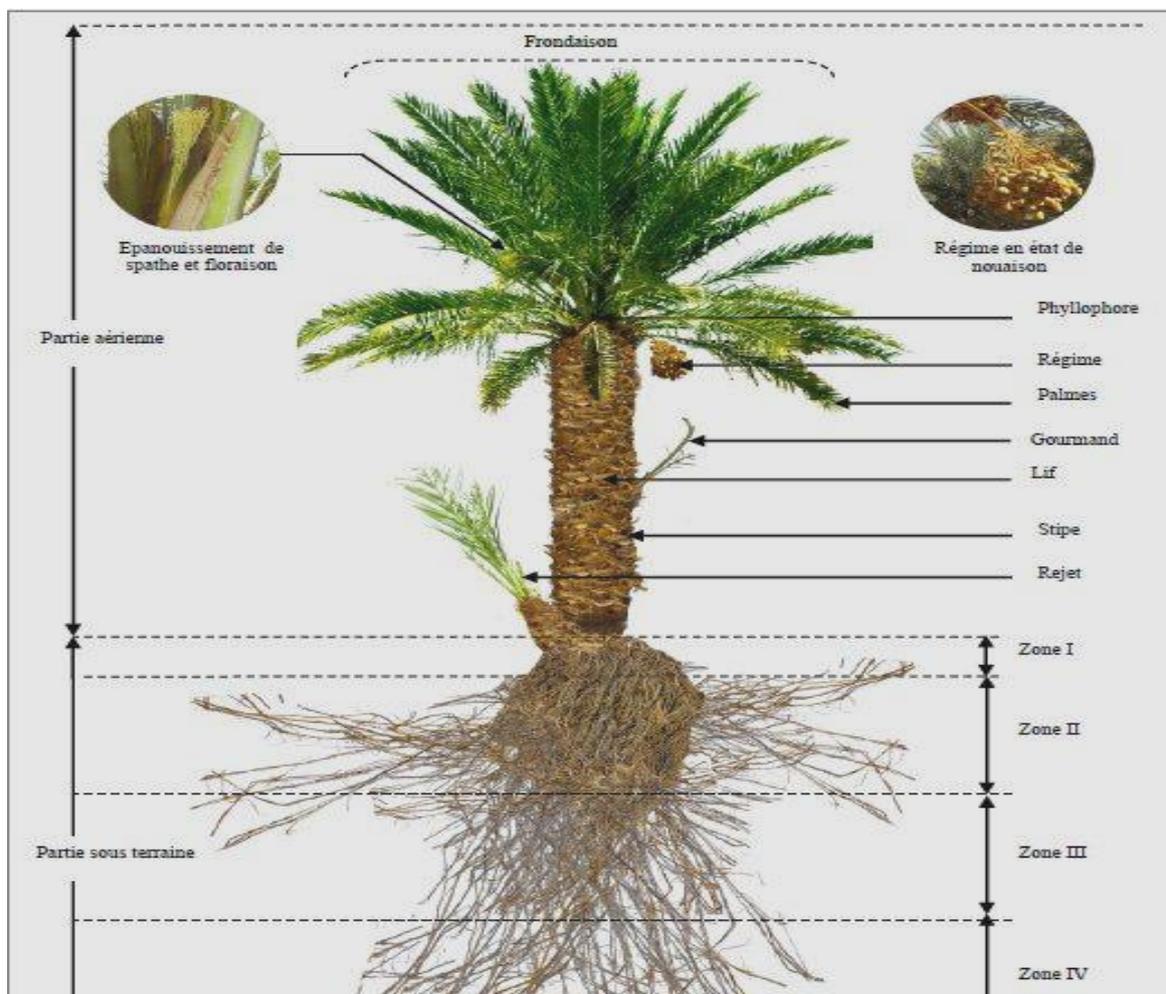


Figure I.1:Présentation schématique du palmier dattier (Boulanouar, 2015).

I.2.4.2 Tronc (le stipe)

C'est un stipe généralement cylindrique, il peut présenter des zones de rétrécissement résultant de défaut de nutrition ayant entraîné le développement anormal du bourgeon terminal. Ces rétrécissements correspondent à des périodes de sécheresse, de froid où peuvent résulter des accidents divers. Chez les jeunes sujets, le tronc est recouvert à la base des pétioles des anciennes palmes et dans les interstices par une bourre fibreuse : le fibrillum. Le stipe ne se ramifie pas mais le développement des gourmands ou des rejets peut donner naissance à des pseudo ramifications et peut atteindre ou dépasser 20m de hauteur (Bougedoura, 1991).

I.2.4.3 Couronne ou Fronaison

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

On distingue :

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

Les palmes sont émises par le bourgeon terminal ou « phyllophore ». Les premières palmes, celles du cœur non ouvertes en pinceau, peuvent être dénombrées à l'œil nu. (Peyron, 2000).

I.2.4.4 Palmes

Ce sont des feuilles composées et pennées. Les folioles sont régulièrement disposées en position oblique le long du rachis, isolées ou groupées, pliées longitudinalement en gouttière. Les segments inférieurs sont transformés en épines, plus ou moins nombreuses et longues, (Figure.I.2). Les palmes sont issues du bourgeon terminal. Chaque année en apparaît de 10 à 20, jusqu'à 30. Les jeunes palmes sont d'abord de grandes feuilles entières à nervations pennées, pliées sur elle-même, et en se développant le limbe se déchire aux plissements, et chaque élément se sépare pour former une feuille composée. Un palmier adulte en bon état de végétation peut avoir de 100 à 125 palmes actives (Peyron, 2000).



Figure I.2: Schéma d'une palme (Boulanouar, 2015)

I.2.4.5 Organes floraux

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

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

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

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

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

Le calice et la corolle des fleurs mâles et femelles sont de couleur blanc ivoire, mais le calice des fleurs femelles est légèrement bordé de vert,(**Figure.I.3**) (**Bougedoura, 1991**).

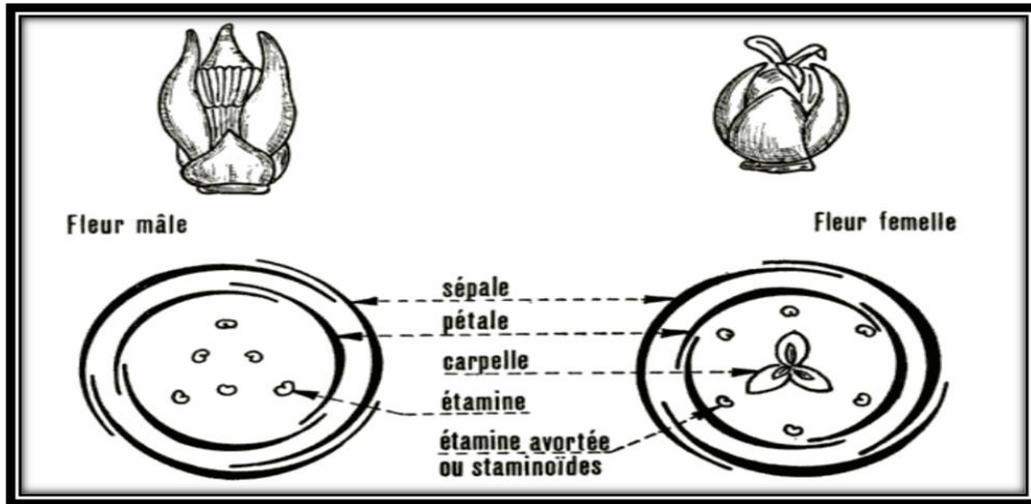


Figure I.3 : Représentation schématique de la fleur mâle et femelle du palmier (**Munier, 1973**).

I.2.5 Fructifications

Le fruit du palmier dattier, la datte, est une baie contenant une seule graine, appelée noyau. La datte est constituée d'un mésocarpe charnu, protégé par un fin péricarpe. Le noyau est entouré d'un endocarpe parcheminé, il est de forme allongée, plus ou moins volumineux, lisse et pourvu de protubérances latérales en arêtes ou ailettes, avec un sillon ventral. L'embryon est dorsal, sa consistance est dure et cornée (**Peyron, 2000**).

La couleur de la datte est variable selon les espèces : jaune plus ou moins claire, jaune ambré translucide, brun plus ou moins prononcé, rouge ou noir, sa consistance est également variable, elle peut être molle, demi-molle ou dure (**Figure I.4**).

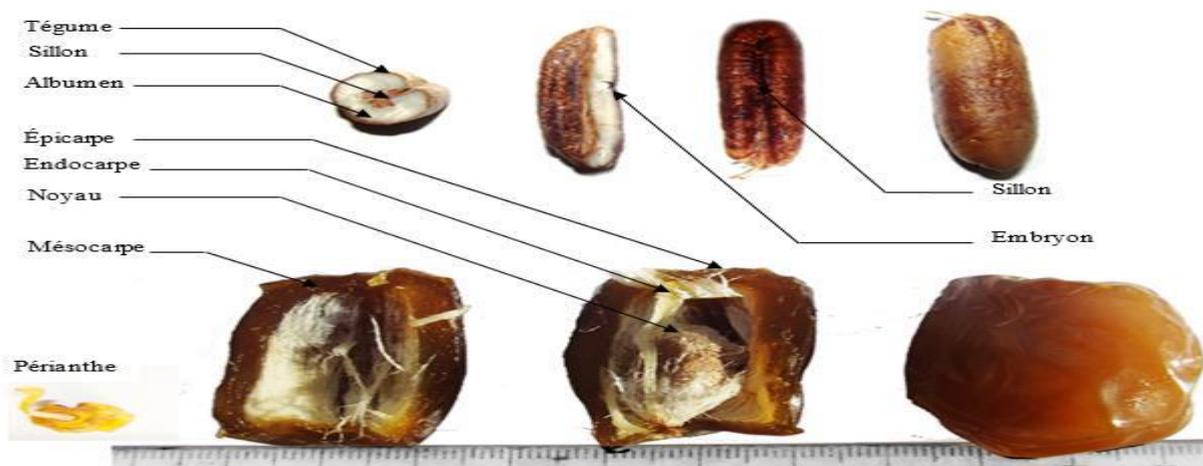


Figure I.4: Coupe longitudinale d'une datte et du noyau (**Boulanouar, 2015**).

I.2.6 Cycle de développement

Le palmier dattier en Algérie comporte généralement quatre phases :

- * Phase I jeune : Croissance et développement (5 -7ans).
- * Phase II juvénile : Période d'entrée en production (30ans).
- * Phase III adulte : Début de décroissance de production (60ans).
- * Phase IV de sénescence : Chute de la production (80ans et plus) (**Belguedj, 2002**).

I.2.7 Multiplication

On peut multiplier le *Phoenix dactylifera* L à partir des rejets produits à la base du stipe. C'est un moyen sûr de conserver l'espèce. L'opération s'avère assez facile à réaliser avec le bon outillage. Les graines fraîches germent rapidement, parfois quelques jours après le semis, le plus souvent 1 à 2 mois plus tard. Les jeunes plantes se développent assez lentement les trois premières années puis la croissance s'accélère grandement (comme pour la plupart des palmiers) compte tenu bien sûr de la taille finale de l'espèce. (**Frédérique et al., 2008**).

I.2.8 Diversité génétique du dattier

Dans certaines anciennes palmeraies conduites selon le mode traditionnel, les agriculteurs laissent pousser des palmiers issus de graines dont ne sont connus ni le sexe, ni la qualité. Les palmiers femelles, de production dattière qualitativement et quantitativement acceptable, sont multipliés par récupération et plantation des rejets qu'ils produisent (C'est ainsi que la majorité des cultivars connus a été sélectionnée et constitue actuellement des clones de quelques centaines de pieds). La distinction entre cultivars se fait, essentiellement, en se basant sur la vigueur du palmier et la morphologie des fruits, (couleur et mensurations) et des palmes (couleur et longueur de la palme ainsi que la taille et l'insertion des épines sur celle-ci). Certains cultivars peuvent être identifiés grâce à des critères biochimiques (**Bennaceur et al., 1991**). L'aire phoénicienne algérienne couvre deux million de kilomètres carrés. Huit cents cultivars ont été recensées pour une population de (6-10) millions de palmiers dattiers (**Benkhalifa, 1993**). 1300 clones ont été recensées contre plus 900 en Algérie. (**Figure I.5**).

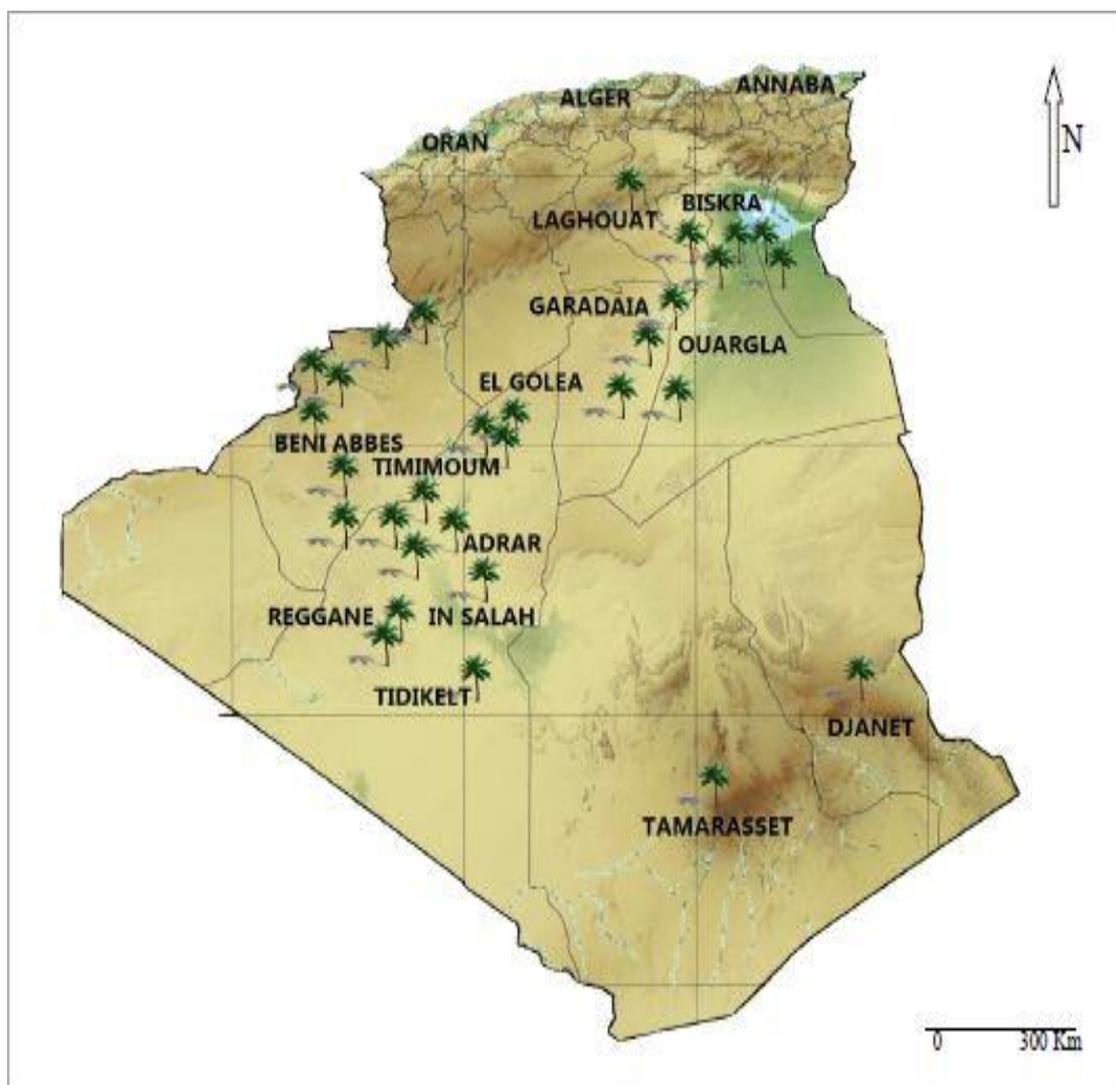


Figure I.5: Oasis algériennes (Boulanouar, 2015)

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

Les dattes de la variété Deglet Nour de l'Algérie, (ou Tolga à Biskra) sont de très bonne qualité (Absi, 2013) alors que celles, de la même variété, provenant du M'zab sont généralement plus sèches et plus petites, donc de qualité nettement inférieure. Le **tableau I.1** nous présente les principales variétés dans les régions phoenicicole d'Algérie.

Tableau I.1 : Inventaire variétal dans les trois régions phoenicicole d'Algérie. (Hannachi *et al.*, 1998).

Région		Cultivars les plus courants
Ouest	Atlas Saoura Gourara	Ghars, Asyan, Feggous, Feggous, Hartan, Cherka, Hmira, Deglet Talmine Hmira, Tinnaser, Takerbuch
	Touat Tidikelt	Tgazza, Aghamu, Takerbuch Tgazza, Takerbuch, Cheddakh, Aggaz
Centre	El-Menia	Timjuhart, Ghars, Timedwel
	M'Zab	Azerza, Ghars, Deglet Nour, Taddela
Est	Ouargla	Ghars, Deglet Nour, Degla Beida
	Oued Righ	Deglet Nour, Ghars, Degla Beida
	Souf	Deglet Nour, Ghars, Degla Beida, Mich Degla
	Zibans	Deglet Nour, Ghars, Degla Beida, Mich Degla Buzrur, Alig, Buhles, Mich Degla
	Aures Tassili	Tanghimen, Tabanist, Khadaji

I.2.9 Répartition géographique du palmier dattier en Algérie

La culture du palmier dattier occupe toutes les régions situées sous l'Atlas saharien soit 6000 ha depuis la frontière Marocaine à l'Ouest jusqu'à la frontière Est Tuniso-Libyenne. Du Nord au Sud du pays, elle s'étend depuis la limite Sud de l'Atlas saharien jusqu'à Reggane à l'Ouest, Tamanrasset au centre et Djanet à l'Est (Belaroussi, 2019). Le palmier dattier est cultivé au niveau de 17 wilayas seulement pour une superficie de 120 830 hectares (Messaid, 2007). La palmeraie algérienne héberge un matériel génétique très riche et diversifié avec 940 cultivars recensés (Hannachi *et al.*, 1998).

I.2.10 Situation de culture du palmier dattier en Algérie

L'Algérie est un pays phénicicole classe au sixième rang mondial (Makhoufi *et al.*, 2018) et au premier rang dans le Maghreb pour ses grandes et enduis de culture avec 160 000 ha et plus de 2 millions de jardins et sa production annuelle moyenne de dattes de 500 000 tonnes. Il est établi en plusieurs oasis réparties sur le Sud du pays où le climat est chaud et sec (zone saharienne). Sa culture s'étend depuis la frontière Marocaine à l'ouest jusqu'à la frontière tuniso-libyenne à l'est et depuis l'Atlas Saharien au nord jusqu'à Reggane (sud-ouest), Tamanrasset (centre) et Djanet (sud-est). (Benyagoub *et al.*, 2012).

Selon le ministère de l'Agriculture et du Développement rural, jusqu'au 11 novembre dernier l'Algérie exporte presque 15 000 tonnes chaque année dans tous les pays du monde via la France, c'est en effet là, qu'est acheminée 90% de la production algérienne pour être réexportée. Pourtant, ce sont les Algériens qui sont les véritables consommateurs d'une production annuelle, toutes variétés confondues, estimée à 200 000 tonnes. Un dattier, qui donne ses premiers fruits entre l'âge de 7 et 10 ans, est capable d'en produire jusqu'à 200 ans, voire beaucoup plus, fournit environ 35 kg de dattes par an, selon un expert Algérien (Messadi, 2013).

I.2.11 Contraintes de la culture du palmier dattier

La culture du palmier dattier est confrontée à plusieurs contraintes abiotiques (sécheresse, stress salin) qui sont principalement dues au fait qu'il se développe sous des conditions désertiques hostiles. De plus, il est aussi confronté à plusieurs contraintes biotiques correspondant aux ravageurs du dattier (Mahma, 2012 ; Atallaoui et al., 2017). Les ravageurs du dattier s'attaquent à la plante elle-même et aux dattes sur pied, ou même entreposées. Certains ravageurs engendrent souvent des pertes économiques importantes sur la production de dattes. Parmi ces déprédateurs, on peut citer :

- **La Cochenille blanche** (*Parlatoria blanchardi* Targ) qui colonise les différentes parties du palmier (palmes, hampes florales, fruits, ...) et forme un encroûtement qui peut recouvrir de grandes surfaces, empêchant la respiration et la photosynthèse; la conséquence est un vieillissement rapide et une mort prématurée (Ben chaabane et al., 2009).

- **Le Ver de dattes** (*Ectomyelois ceratoniae* Zeller) qui infeste les dattes sur pied en plein champ et la prolifération se poursuit ensuite en entrepôts. Les chenilles issues des œufs pénètrent dans les fruits et donnent des dattes véreuses. (Idder et al., 2009).

- **Le Boufaroua** (*Olygonychus afrasiaticus*), un acarien qui attaque surtout les dattes, leur donne un aspect rugueux, recouvert de toile et une couleur rougeâtre. Les fruits deviennent impropres à la consommation (Mahma, 2012).

- **Maladie des feuilles cassantes** à laquelle se trouve confronter le palmier dattier commence à prendre des proportions alarmantes. Cette maladie dont la cause demeure encore indéterminée a été découverte en Tunisie (Triki et al., 2003, Fki et al., 2010). Par la suite, elle a été signalée en Algérie dans les régions d'Adrar et du M'zab (Chabane et al., 2007). Récemment, sa présence a été confirmée avec certitude dans la région de Biskra (Saadi et al., 2006).

Le "**Bayoud**" est la principale maladie cryptogamique qui attaque le palmier dattier, elle est causée par *Fusarium oxysporum f. sp. albendis* (Foa). Elle a causé des dégâts importants dans les palmeraies marocaines et algériennes (Djerbi, 1991; Fernandez et al., 1995).

Chapitre II :
Fusariose des palmiers dattiers

II.1 Introduction

Le Bayoud ou Trachemycose du palmier ; C'est la plus grave et la plus dévastatrice qui provoque un dépérissement irréversible des maladies du palmier dattier, par conséquent, des dégâts considérables et définitifs (**Ouinten, 1996 ; Boulenouar, 2009**). Elle menace véritablement tous les pays producteurs de dattes. Ainsi le patrimoine du palmier dattier des régions phoenicicoles de l'Afrique du Nord, est attaqué depuis plusieurs décennies, particulièrement au Maroc et en Algérie. Elle semble être apparue durant le siècle dernier dans la vallée du Draa et s'est répandue vers l'ouest et l'est en suivant les cordons du palmier. (**El hadrami et al ., 2005**).

II.2 Origine et historique

Le Bayoud sévit uniquement en Afrique du Nord, dans toutes les grandes palmeraies du Maroc (sauf Ouarzazate et Marrakech) et dans la plupart de celles du centre, de l'ouest et du sud-ouest de l'Algérie (**Fernandez et al., 1995**)

Le Bayoud fut observé pour la première fois vers 1870 dans la vallée du Draa au nord de Zagora , puis il s'est introduit en Algérie par les oasis frontalières de Béni Ounif et Figuig en 1898. (**Figure II.1**). Béchar et Béni Abbès en 1908 pour atteindre les régions du Touat, du Gourara et du Tidikelt, Metlili en 1950, Ghardaïa en 1965 et El-Goléa en 1978 où il a été éradiqué. (**Benlarbi, 2019**).

La progression du Bayoud du Sud-Ouest vers le Sud-est constitue une menace pour les Oasis des Zibans (Biskra, Touggourt) et celle de la frontière tunisienne (**Amir et al ., 1996**).

Entre 1920 et 1950, la maladie a contaminé les palmeraies du Sud algérien, puis durant la période 1960-1978, elle a gagné des palmeraies du centre de Sud algérien, la région de Mzab et ElGoléa (**Djerbi, 1994 ; Benlarbi, 2009**). La maladie a été découverte aussi dans les palmeraies mauritaniennes à Adrar et à Tagant, respectivement en 1995 et 2002 (**Sedra, 2003**). Les derniers foyers déclarés au Maroc en 1996 sont situés dans la Vallée de Ait Mansour (région de Tafraoute) (**Sedra, 2004**).

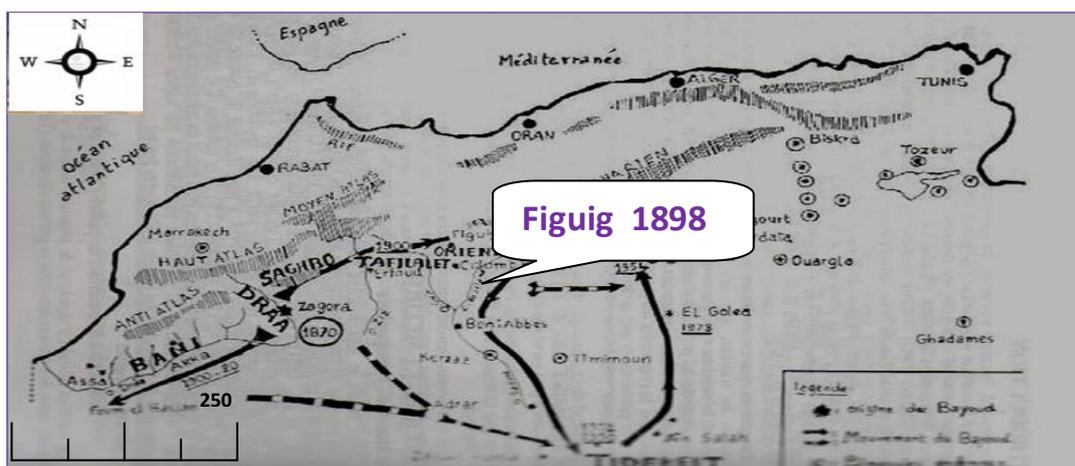


Figure II.1: Origine et extension du Bayoud en Afrique du Nord (**Ben khalifa, 2003**).

Tableau II.1 : Localisation de FAO dans certain régions de Saoura (Brac et Benkhalifa, 1991 ; INRAA / Juin 2006).

Commune	Localité atteinte	Date d'apparition	Etat de la fusariose
1. Beni-Ounif	Beni-Ounif	1898	Général
	Fendi	1985	Foyer primaire
2. Mogheul			
3. Boukais	Boukais	1940	Foyer localisés
4. Lahmar	Lahmar	1940	Foyer localisés
5. Béchar	Ouakda	1940	Foyer localisés
6. Meridja			
7. Kenadsa			
8. Abadla			
9. Erg Ferradj			
10. Mechaa H.B.			
11. Taghit	Taghit	1923	Foyer localisés
	Berrbi		
	Z.Faggania	1907	Général
12. Tabelbala			
13. Tindouf			
14. OumEl-Assel			
15. Igli			
	Abouhou	1960	Foyers localisés
	Touzdit	1970	Général
16. Beni-Abbes	Ferme Chakour	1884	Foyer primaire
		1908	Foyer localisés
17. Tamtert			
18. El-Ouata			
19. Kerzaz			
20. Timoudi			
21. Ouled Khodir			
22. Ksabi			

II.3 Agent causal de Bayoud « *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* » (FOA)

Le Bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier (*Phœnix dactylifera* L) causée par un champignon d'origine tellurique nommé *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (FOA) (Benkhalifa, 2003).

II.3.1 Taxonomie du FOA

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

Des formes sexuées (téléomorphes) ont été maintenant observées pour certaines espèces de *Fusarium*. Elles font toutes partie des Ascomycètes, de la famille des Nectriales et notamment des genres *Gibberella* et *Nectria* (**Bendiab et al., 1993; Lepoivre, 2003**).

Ainsi, *Fusarium oxysporum* est considéré comme ascomycète bien que le stade sexuel n'est pas encore déterminé. Il est proposé d'être plutôt proche du groupe téléomorphique *Gibberella* que *Nectria* (**Di Pietro et al., 2003, Michielse et Rep, 2009**). Au sein de l'espèce *F. oxysporum*, on distingue plus de 120 formes spéciales en fonction de leur pathogénicité sur des plantes hôtes (**Ramírez-Suero, 2009**).

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

Règne : Fungi

Division : Ascomycota

Classe: Sordariomycetes

Sous-classe : Hypocreomycetidae

Ordre : Hypocreales

Famille : Nectriaceae

Genre : *Fusarium*

Espèce: *Fusarium oxysporum*.

II.3.2 Biologie de FOA

Le *F.O. A* peut survivre dans le sol et sur des débris végétaux pendant plusieurs années en l'absence de son hôte. On le retrouve en faibles quantités jusqu'à 1 m de profondeur (10-75 propagules par gramme de sol), avec une répartition très hétérogène. A l'échelle d'un foyer, le Bayoud se propage de façon radiale ; il semble que la maladie puisse se transmettre par contact racinaire entre palmiers (**Fernandez et al., 1995**).

L'irrigation favorise aussi le développement de la maladie, mais on n'en connaît pas les mécanismes précis (plus grande diffusion du champignon dans le sol et/ou des spores dans les vaisseaux). Les cultures associées (porteurs sains) peuvent aussi contribuer à maintenir la population de FOA dans le sol. La dissémination d'une palmeraie à l'autre est due essentiellement au transport de rejets de palmiers ou de fragments (bois, palmes) hébergeant le champignon (**Bouakka et al.; 2004**).

Mais des facteurs autres que la transmission potentielle du parasite semblent être nécessaires à l'établissement du Bayoud. Ainsi, certains sols de palmeraie, en particulier ceux de Ouarzazate et de Marrakech, sont résistants; ils empêchent l'établissement du champignon dans le sol et/ou l'expression de son pouvoir pathogène (**Fernandez et al., 1995**).

Les souches de FOA isolées du rachis de palmes infectées présentent une morphologie caractéristique : thalle de couleur rose saumon et mycélium frisé. Par contre, celles provenant du sol, de racines de palmiers et de certaines plantes de culture associées (Luzerne, Henné) considérées comme porteurs sains présentent une morphologie variée (**Djerbi et al., 1985 et Djerbi, 1991**).

La reproduction du FOA se fait exclusivement par voie asexuée qui se réalise par des microphialides et des macrophialides qui produisent respectivement des microconidies et des macroconidies (**Figure II.2 et Figure II.3**). Les microphialides, en forme de bouteille, sont implantées perpendiculairement sur le mycélium et produisent d'une manière endogène plusieurs microconidies, généralement unicellulaires, parfois bicellulaires, hyalines, globuleuses ou allongées avec des dimensions variables (3-15 x 3-5 μm). Les macrophialides, beaucoup plus grandes que les microphialides, forment des macroconidies qui sont falciformes, peu nombreuses, présentant 3 à 5 cloisons et mesurant 20-35 x 3-5 μm . Dans les cultures âgées et dans le sol, le FOA différencie sur le mycélium ou sur les macroconidies des chlamydoconidies qui sont sphériques, intercalaires ou terminales et dont le diamètre varie de 6 à 20 μm (**Djerbi, 1983 ; Sedra, 2015**).

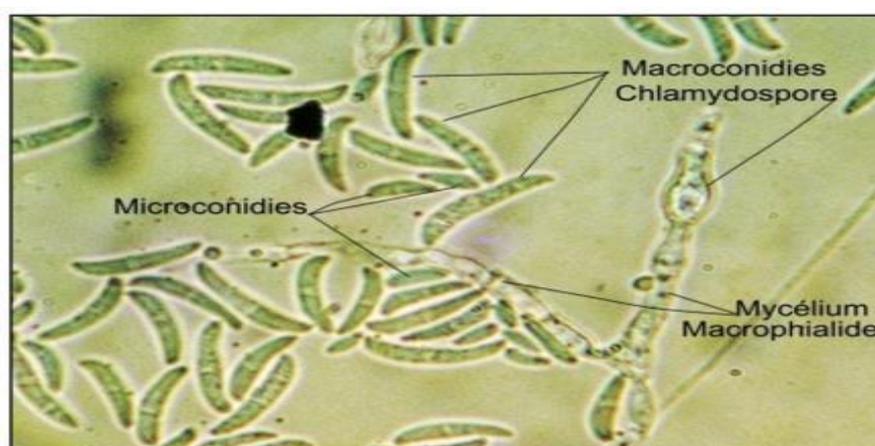


Figure II.2 : Organisation morphologique du FOA. X 40 (**Benlarbi, 2009**).

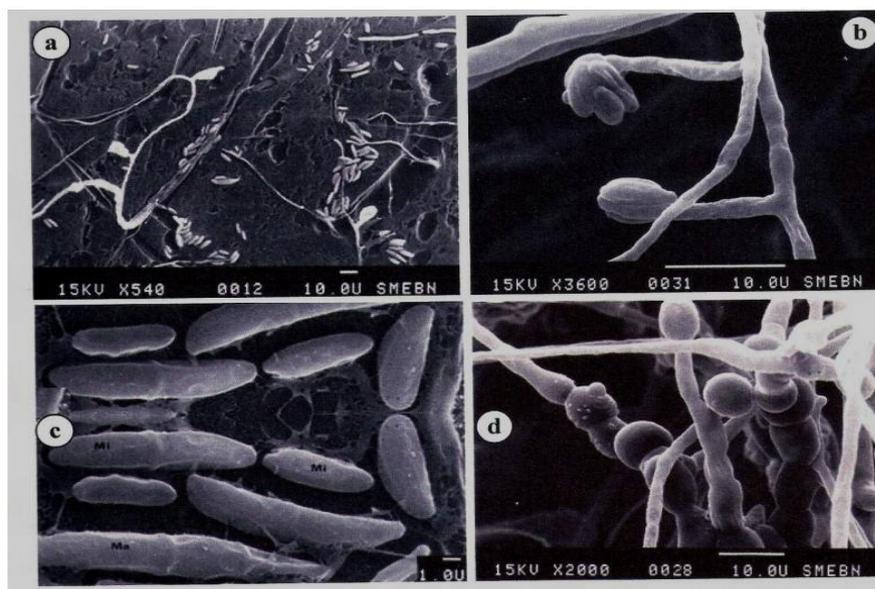


Figure II.3: Organes de reproduction asexuée de FOA au MEB (Rahmania, 2000).

a : mycélium et microconidies ; b : microphialides ; c : micro et macroconidies (Ma : macroconidies ; Mi : microconidies) ; d : chlamydospores formées à partir d'articles mycéliens.

II.4 Mode d'infection du palmier par le parasite

Les chlamydospores de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* germent dès que les conditions sont favorables et pénètrent directement par les racines du palmier pour se loger dans les faisceaux ligneux. La progression du champignon est ascendante et se réalise à la fois par le mycélium et par les microconidies. Le champignon fructifie, libère des conidies qui sont entraînées par le courant de la sève jusqu'au niveau des cloisons transversales des vaisseaux où elles sont arrêtées. Les conidies germent et donnent des filaments mycéliens qui traversent la cloison. Le mycélium poursuit son développement et forme de nouvelles microconidies qui sont entraînées à leur tour jusqu'à la cloison suivante; le phénomène se poursuit ainsi jusqu'à ce que le bourgeon terminal soit atteint entraînant ainsi la mort du palmier dattier. (Djerbi, 1983). Après la mort du palmier dattier, le mycélium continue à se développer dans le parenchyme de l'arbre et forme de nombreuses chlamydospores (Can et al, 2004).

II.5 Symptômes

L'infection du palmier dattier a lieu dans le sol, par les racines. Le champignon progresse des racines aux palmes en empruntant le système vasculaire (Djerbi, 1988).

II.5.1 Symptômes externes

Le premier symptôme externe de la maladie s'observe sur une palme de la couronne moyenne; cette palme prend un aspect plombé et se dessèche selon un processus très particulier. Les folioles ou les épines situées d'un côté de cette palme se dessèchent progressivement du bas vers le sommet, et se replient vers le rachis C'est l'attaque hémiplegique typique de la fusariose.

(**Figure II.4**) Lorsque tout ce côté est atteint, le dépérissement commence sur l'autre côté, de l'extrémité jusqu'à la base (**Djerbi, 1990**).

Ce dessèchement gagne ensuite les folioles du côté opposé, progressant cette fois de haut en bas, et toute la palme finit par se dessécher complètement et prend une couleur blanchâtre. Ce symptôme est à l'origine du nom de la maladie, « Bayoud » dérivant du mot arabe « abyed » qui veut dire blanc, et de la forme spéciale *albedinis* du *Fusarium oxysporum* responsable de la maladie, tiré du latin *albus* (blanc). Le côté dorsal du rachis est marqué d'une strie brune longitudinale, qui avance de la base vers l'apex de la fronde, et qui correspond au passage du mycélium dans les faisceaux vasculaires du rachis. Ensuite, la feuille va prendre une forme arquée, similaire à une feuille vivante, et pend le long du tronc.

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 la coloration brune apparaisse au milieu du rachis et que les folioles se dessèchent de l'apex vers la base, des deux côtés à la fois. Parfois, aussi, un jaunissement généralisé pourrait être repéré avant l'apparition des symptômes typiques. (**Djerbi, 1988**). La mort de l'arbre intervient en générale six à vingt quatre mois après l'apparition de premiers symptômes mais cette durée peut être plus ou moins longue selon les variétés de palmier et les conditions de culture (**Figure II.5**) (**Mahdi, 2011**).

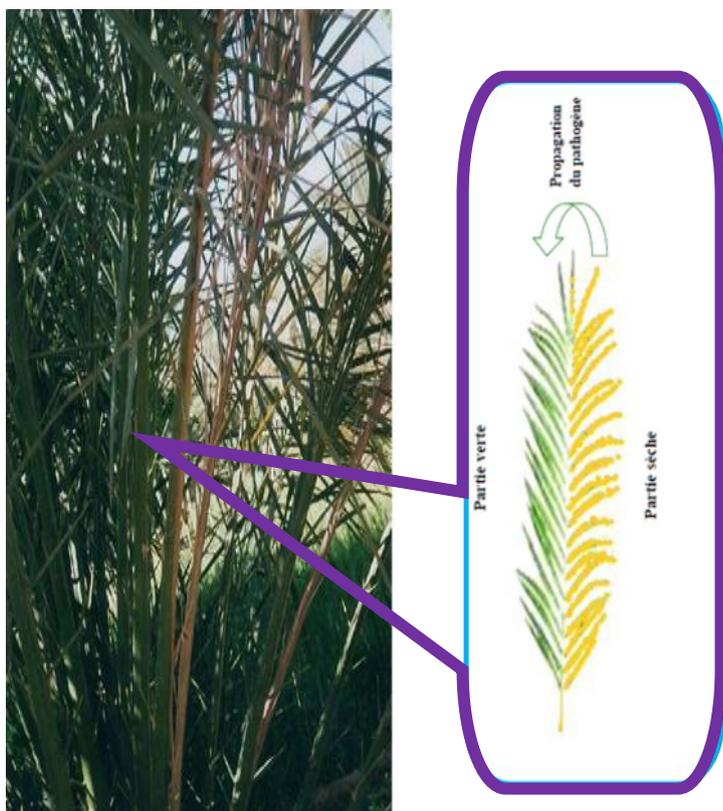


Figure II.4: Premiers symptômes du Bayoud (**Djerbi, 1988**).



Figure II.5: Stade final de la maladie. (**Djerbi, 1988**)

II.5.2. Symptômes internes

Le déracinement d'un palmier dattier malade permet d'observer un nombre réduit de racines malades rougeâtres, elles représentent la porte pour la pénétration du champignon. De plus, des coupes transversales au niveau du tronc, mettent en évidence une coloration brune rougeâtre des vaisseaux conducteurs, témoignant le passage du champignon le long du stipe (OEPP, 1994).

II.6 Facteurs influençant la propagation du champignon pathogène

En général, le FOA peut se disséminer par les rejets, les tissus des dattiers, le sol ou les porteurs sains comme la luzerne, (OEPP/EPPO, 2003).

Dans une palmeraie infectée, les facteurs qui interviennent de façon prépondérante dans l'extension des foyers de la maladie sont:

- La densité élevée des palmiers ;
- L'accumulation et la décomposition des déchets contaminés dans la palmeraie et le degré de l'entretien des parcelles ;
- La pratique de certaines cultures intercalaires comme la luzerne, le trèfle, les cultures maraîchères et le henné (El Ghorfi, 1987) ;
- L'irrigation abondante, la température (25°C-30°C) et la salinité élevée des eaux d'irrigation ;
- Des cultures monovariétales des palmiers sensibles au Bayoud (Hakkou et Bouakka, 2004).

II.7 Méthodes de détection et d'inspection

L'observation des symptômes typiques permet généralement d'identifier la maladie du Bayoud. Cependant, dans le cas des symptômes atypiques, l'identification de FOA peut être effectuée par différentes méthodes telles que les méthodes de caractérisation morphologique, de tests de pathogénécité, et par des méthodes moléculaires. D'autres méthodes, comme la technique de compatibilité végétative des mutants ne réduisant pas le nitrate (Nit) (Tantaoui et al, 1996).

II.7.1 Caractéristiques morphologiques et culturales

Le FOA peut être reconnu par ses caractéristiques morphologiques obtenue par culture monospore sur des milieux de cultures usuelles telles que le PDA (Figure II.6). Le champignon présente un aspect culturale stable sur ce milieu ce qui permet de le différencier des autres *F.oxysporum* (Hakkou et al ; 2011).

Cet aspect est appelé forme sauvage ou forme typique, elle est caractérisée par un mycélium fin frisé, ras, gras, de couleur rose saumon et de croissance lente. Il est souvent obtenu à partir de fragment de rachis provenant de palmier atteint de bayoud (Plyler et al., 1999). Il est souvent difficile de conserver cette forme sauvage, le FOA perd sa forme et présente un polymorphisme très marqué dès les premiers repiquages.

Pour éviter les variations, les cultures monospore permettent non seulement de conserver le type sauvage mais également de le régénérer à partir des cultures atypiques (**Sedra et Djerbi, 1985**). Mais il est important de signaler que la manipulation des techniques d'isolement monospore est délicate (**Pitt, 1972**), il est difficile de repérer une seule spore ainsi que son prélèvement.

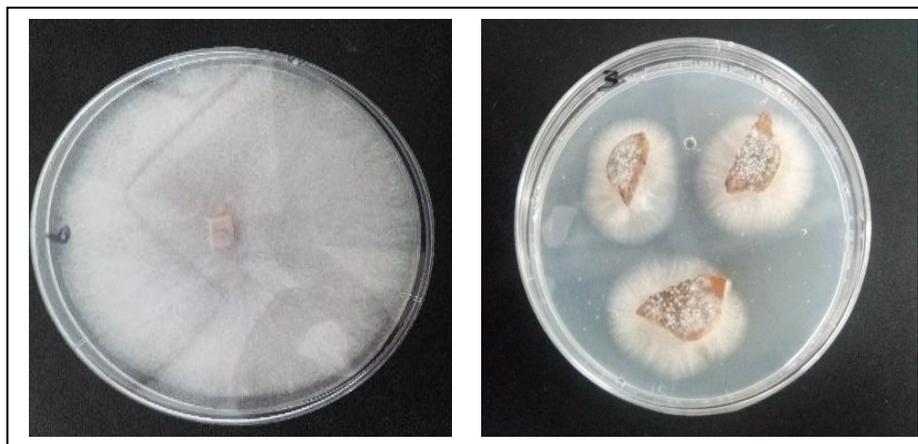


Figure II.6 : *Fusarium oxysporum fs albedinis* isolé à partir du rachis du palmier dattier sur milieu PDA (**Mezouari et al., 2019**) .

II.7.2 Test de pouvoir pathogène

Le test de pouvoir pathogène des cultures pures peut être utilisé comme alternative au test de PCR. Il est simple du point de vue technologique mais nécessite beaucoup de temps.

Le pouvoir pathogène de *F. oxysporum* sur différentes espèces de plantes a souvent conduit à la définition des formes spécialisées. Des travaux effectués sur ses agents dont la plupart sont responsables des maladies vasculaires, indiquent qu'ils sont le siège de variations portant notamment sur le pouvoir pathogène (agressivité et virulence). (**Djerbi, 1991**).

II.7.3 Identification de FOA par méthodes moléculaires

Fernandez et al., 1998 ont mis au point une paire d'amorces (TL3-FOA28) qui pourraient être utilisées comme sondes spécifiques pour le diagnostic de FOA par réaction de polymérisation en chaîne (PCR : Polymérase Chaîne Réaction) (**Figure II.7**).

Ce test permet de différencier l'agent pathogène du palmier dattier des autres *Fusarium oxysporum*, ainsi que des souches saprophytes. Les séquences d'amorces sont :

3'-GGTCGTCCGCAGACTATAACCGGC-5' (TL3) et 3' ATCCCCGTAAAGCCC-TGAAGC-5' (FOA28).

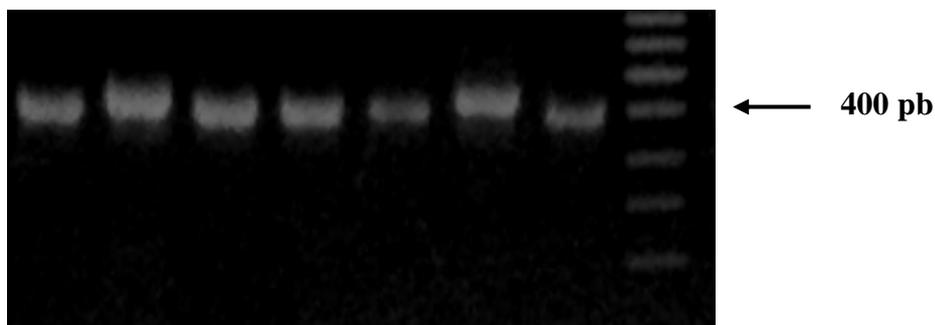


Figure II.7: *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. PCR spécifique avec deux paires d'amorces FOA28 et TL3. (Bendjima *et al.*, 2020)

II.8 Impact économique

Le Bayoud provoque chaque année la mort de 4,5 à 12% de la population phoénicienne des palmeraies infectées (Djerbi, 1986). Le Maroc, qui était un exportateur traditionnel des dattes, occupait le 3ème rang parmi les pays producteurs; actuellement, il importe des dattes pour satisfaire le marché national. Dans la plupart des oasis, plus de 50% des cultivars de bonne qualité dattière ont été détruits au profit de la prolifération des cultivars peu productifs produisant des dattes communes qui sont souvent impropres à la consommation humaine. On assiste aussi à la prédominance des khalts puisque cette catégorie représente plus de 47% de la population phoénicienne du Maroc (Harrak et Chetto, 2001). Ce phénomène entraîne la disparition progressive des cultivars de qualité reconnus mondialement et par voie de conséquence une forte réduction de la densité des palmiers puisque elle est passée de 350 à 50 palmiers par hectare (Saaidi, 1979; Djerbi *et al.*, 1986).

La maladie n'a pas seulement provoqué la perte d'un aliment de base pour les populations sahariennes, mais aussi, la perte d'une source de revenus et de devises indispensables à la vie quotidienne des oasisiens. Elle a réduit considérablement l'étendue des périmètres cultivés et a accéléré le processus de désertification.

II.9 Lutte contre le Bayoud

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. Quatre méthodes de lutte contre le Bayoud ont été adoptées sur le palmier dattier.

II.9.1 Lutte chimique

Il s'agit de l'utilisation des fongicides à action systémique ou endothérapique. Cette méthode est écartée, du fait que les possibilités pratiques d'utilisation de fongicides systématiques dans le cas des trachéomycoses sont très limitées. En plus, ces produits sont peu stables dans le sol et risquent de favoriser la sélection des souches. En les utilisant d'une façon répétitive et pendant de longues années, ces produits chimiques risquent de nuire à l'environnement (Soro *et al.*, 2011 ; Sedra, 2013).

II.9.2 Mesures prophylactiques

Ces mesures visant à protéger les zones encore saines sont appliquées sur le terrain. En effet (OEPP/EPPO, 1990) recommande aux pays phoenicicoles d'interdire l'importation du matériel en provenance des pays infectés comme:

- Le matériel végétal du palmier dattier (rejets, feuilles, etc).
- Le sol et les végétaux destinés à la plantation (avec racines, boutures) accompagnés de terre.
- des végétaux destinés à la plantation de henné (*Lawsonia inermis*) (excepté les semences).

L'Algérie (1942- 1949) et le Maroc ont mis en place des contrôles phytosanitaires internes qui empêchent le transport de rejets des régions contaminées.

Dans le cas de détection précoce d'un nouveau foyer de Bayoud dans une zone saine, l'éradication est le moyen de lutte utilisé. En effet, après la délimitation du foyer avec une marge de sécurité suffisante, les arbres sont arrachés et incinérés sur place, le sol est par la suite, stérilisé à la chloropicrine. Cette technique a été améliorée par l'utilisation d'un mélange de bromure de méthyle et de chloropicrine. Ces dernières années l'utilisation de chloropicrine fut totalement interdite vu son danger et sa faible efficacité. En effet, le bromure de méthyle possède une forte capacité de pénétration dans le sol et lui assure une bonne stérilisation. (Fravel *et al.*, 2003). 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 (Frederix et Den Brader, 1989 ; Sedra, 2006).

II.9.3 Lutte génétique

L'utilisation de variétés résistantes est une méthode efficace pour lutter contre la fusariose vasculaire. Parmi les 32 variétés marocaines testées dans les stations expérimentales d'Errachidia et de Zagora, seules six variétés ont montré une résistance totale au FOA. Il s'agit de Bousthami noire, Bousthami blanche, Iklane, Tadment, Sayre Layalet et Bouffaggousse ou Moussa. Une autre variété résistante (Boukhanni) a été retrouvée 20 ans plus tard (Sedra, 2013). Malheureusement, toutes ces variétés ont une qualité dattière faible, ce qui constitue un handicap à leur transplantation à grande échelle. D'autres travaux ont été effectués sur des clones résistants et de bonne qualité issues de semis naturels ou des croisements contrôlés tels que Ennajda (INRA-3014), INRA-1445, INRA-3003, Al-Amal (INRA-1443), INRA-3010, Al-Fayda (INRA-1447), Bourihane (INRA-1414) et Mabrouk (INRA-1394) qui ont été sélectionnés. Le clone Ennajda (INRA-3014), cultivé à grande échelle pour la reconstitution de la palmeraie marocaine, produit des fruits de bonne qualité acceptés par les phoeniciculteurs (Sedra, 2012).

II.9.4 Lutte biologique

La lutte biologique contre le bayoud nécessite la mise en œuvre d'une stratégie, aussi bien préventive que curative, de contrôle du champignon et de protection des vergers.

II.9.4.1 Compostage

Les caractéristiques biologiques du FOA et de son hôte le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*), rendent toute tentative de lutte très difficile. La lutte chimique est écartée suite à la fragilité de l'écosystème oasien et à son efficacité non garantie. Les mesures prophylactiques et la mise en quarantaine n'arrêtent pas la maladie. Comme la plupart des fusarioses, l'utilisation des variétés résistantes est la seule méthode efficace, mais dans le cas du dattier, la sélection n'est pas facile, en plus, la plupart des variétés sélectionnées résistantes produisent des dattes de faible qualité (Sedra, 2003).

L'existence dans la nature de sols résistants à la fusariose vasculaire des dattiers et l'isolement des micro-organismes qui ont montrés un effet antagoniste in vitro et in vivo vis-à-vis du FOA ont fait l'objet de quelques études en Algérie et au Maroc (Sabaou Bounagua, 1987; Louvet, 1991; Sedra et Maslohy, 1995; Sedra, 2006; Sedra, 2015).

Cette stratégie de lutte est très intéressante mais, elle reste sans application sur le terrain. Ces dernières années, le monde a accordé une place prépondérante à la qualité de l'environnement, à la pérennité des ressources naturelles et surtout à la réduction de l'utilisation des substances chimiques. Ceci conduit la communauté scientifique à se tourner vers la possibilité d'utiliser de façon rationnelle des composts. Ainsi, plusieurs recherches sont consacrées à la valorisation des composts en tant qu'outil de protection des cultures (Hoitink et al., 2001). Des composts issus de divers déchets qu'ils soient agricoles, industriels ou ménagers, ont montré leurs capacités à protéger les cultures contre de nombreux ennemis tels que des insectes, des nématodes, des champignons, des bactéries et des virus (Veeken et al., 2005).

II.9.4.2 Mycorhization

La mycorhization du palmier dattier constitue un axe important, puisqu'il intéresse aussi bien l'aspect physiologique de la plante (croissance et production) que l'aspect phytopathologique (contribution à la lutte contre le Bayoud). En effet la mycorhization est l'élément biologique utilisé par les plantes, en symbiose avec les champignons, pour le renforcement de la résistance aux agents pathogènes du sol et aux stress hydriques et salins (Chakroune et al., 2005; Sedra, 2012).

L'effet de l'endomycorhization par *Glomus intraradices* sur la croissance du palmier dattier et sur la résistance de ce dernier aux attaques du *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* sur différents substrats a été étudié. La mycorhization a amélioré la croissance des plantules d'environ 26%. La présence de l'agent pathogène a provoqué une chute de biomasse de 82,5%

avec un taux de mortalité de 100% alors que la présence de mycorhize a fait baisser ce taux mortalité à 55% (**Souna *et al.*, 2010**).

La mycorhization a permis d'améliorer la croissance des plantes du palmier dattier en améliorant l'alimentation hydrique et la nutrition minérale. Cette amélioration est due à une grande surface d'absorption que procure le développement du mycélium externe à l'endophyte, permettant ainsi une exploitation d'eau et d'éléments minéraux au-delà de la zone d'épuisement racinaire.

Elle est très marquée au niveau de la partie aérienne et pas dans la partie racinaire. On peut dire donc, que la mycorhization améliore la croissance de la partie aérienne en augmentant la surface de photosynthèse (le nombre de feuilles, la longueur, la biomasse verte) et par conséquent plus d'éléments nutritifs que le champignon mycorhizien peut utiliser. (**Chakroune *et al.*, 2008**).

Chapitre III :
Généralité sur le Genévrier de Phénicie

III.1 Introduction

Parmi les Conifères, la tribu des *Junipérées*, fait partie de la sous-famille des *Cupressacées*, ne comprend qu'un seul genre *Juniperus* (Stassi et al; 1996). Ils sont des éléments pionniers se développant dans des situations écologiques extrêmes et jouant un rôle appréciable dans la dynamique des groupements, pré forestiers surtout ils sont les seules essences résineuses pouvant constituer en montagne, dans les plus mauvaises conditions de sol et de climat . (Quezel et Medail, 2003).

Le genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) s'intercalent entre les formations steppiques des basses altitudes et forestières, et qui a un rôle écologique immense du fait qu'il se comporte comme une essence de forêt résistance à la désertification et à la pression de l'homme et de ses troupeaux (Taleb, 2007).

III.2 Distribution mondiale

Les Cupressacées sont les plus largement distribués de toutes les familles de gymnosperme, se produisant dans les habitats divers sur tous les continents excepté l'Antarctique. La majeure partie de la diversité générique est dans l'hémisphère méridional, mais le plus grand genre, *Juniperus*, est principalement nord-tempéré (Mansouri et al., 2011). Les genévriers ont une place non négligeable dans la végétation méditerranéenne, mais leur signification phytoécologie varie selon les groupes d'espèces (Quezel et Medail, 2003).

En Algérie, les cupressacées ne représentent que des essences forestières de protection, qui se localisent dans les régions septentrionales et se raréfient au fur et à mesure qu'on se déplace vers les zones désertiques (Institut national de la recherche forestière (INRF), 2012). Ce localisent dans le moyen et le grand Atlas, représentant la végétation forestière aux hautes altitudes (Figure III.1) (Boudy, 1950). Outre, Louni (1994) montre que le phénicie occupe les dunes maritimes en Oranie, les montagnes les plus sèches où il constitue des matorrals dans les Aurès et l'Atlas saharien.

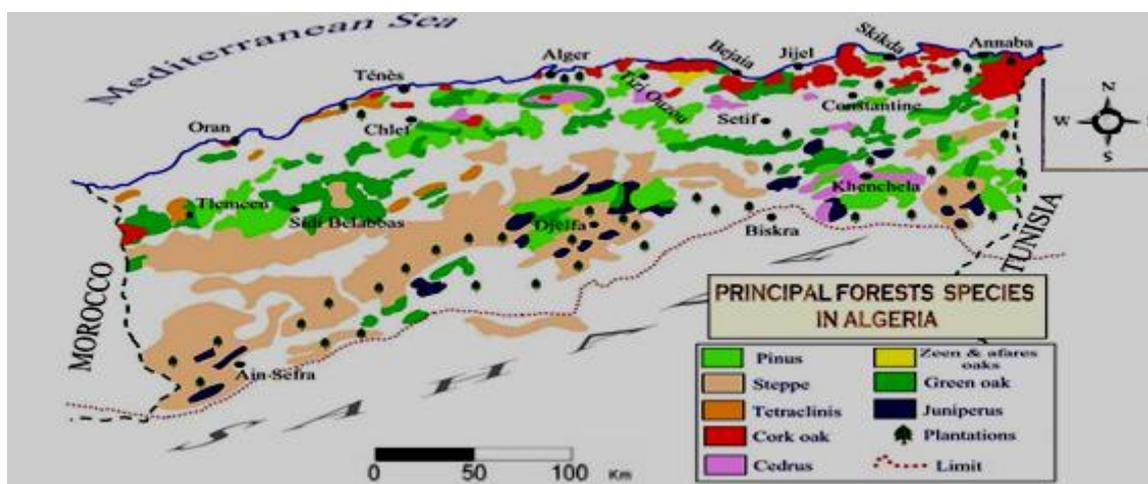


Figure III.1: Carte des groupes de végétations (INRF, 2012).

III.3. Description et classification systématique des cupressacées

Les Pinales ou Conifères sont des plantes-phanérogames-gymnospermes (avec graines nues non enfermées dans un fruit); des végétaux vasculaires à graines en cônes, d'où leur nom. Tous sont des plantes ligneuses se présentant surtout sous la forme d'arbres, quelques-unes d'entre elles étant des arbustes (Caron, 2013).

L'ordre des coniférales le plus important des gymnospermes, comprend sept familles: Araucariacées, Pinacées, Taxodiacees, Podocarpacees, **Cupressacées**, Cephalotaxacées, Taxacées (Collignon-Trontin, 2000); Trois d'entre elles présentent un intérêt particulier : les Pinacées (Abiétinées), les Taxodiacees (feuilles alternées) et les **Cupressacées** sensu stricto (feuilles opposées dans quatre rangs). Ces derniers sont des plantes très anciennes dont on trouve des traces dans les couches datant du Jurassique. Cette famille est plus cosmopolite avec dix genres dans chaque hémisphère (Enright et al., 1996).

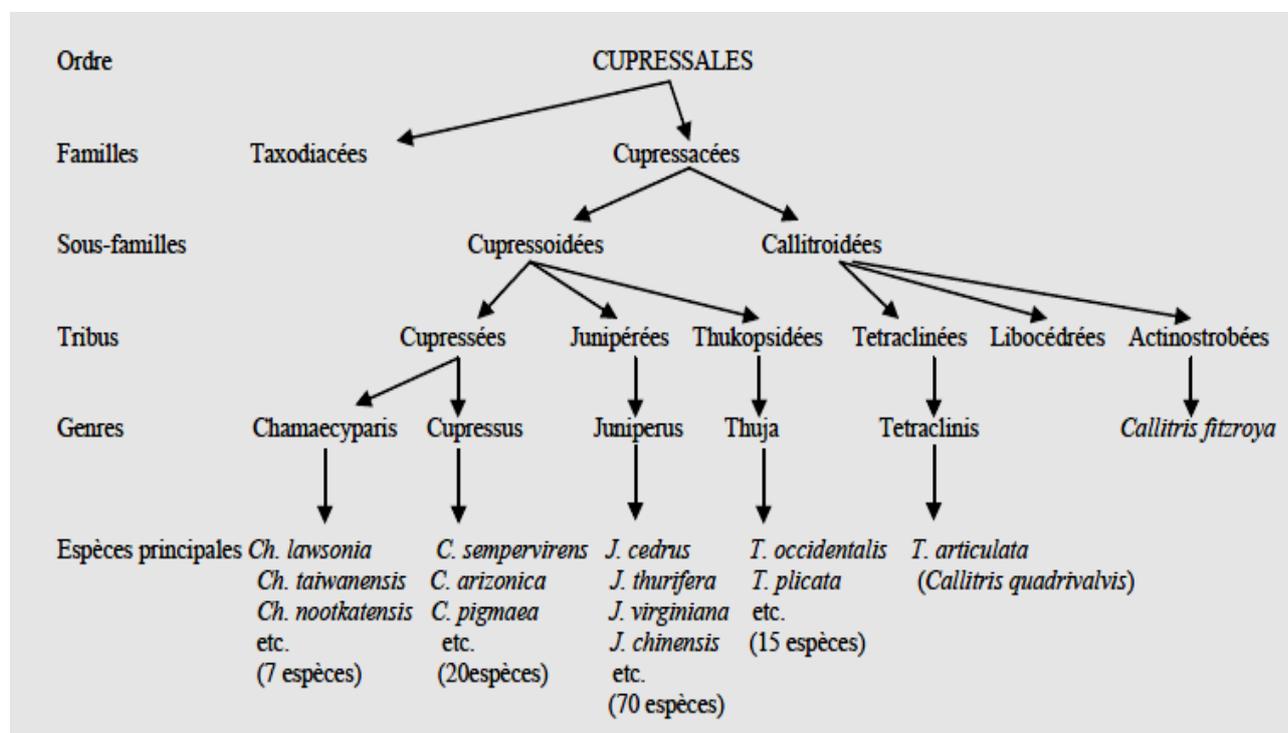


Figure III.2: Classification détaillée de l'ordre des Cupressales (Haluk & Roussel, 2000).

Les Cupressaceae ont longtemps été divisés en deux familles (Figure III.2), les Cupressaceae: *Cupressus*, le cyprès ; *Juniperus*, le genévrier et les *Taxodiaceae*. La floraison est généralement dioïque pour le genévrier de phénicie et monoïque pour celui de l'oxycèdre. (Tableau III.1). Les chatons mâles petits et jaunâtres, tandis que les chatons femelles formés d'écailles verdâtres, qui deviennent charnues et se soudent entre elles pour former des fruits appelés baies ou galbules (Meddour, 2010).

Tableau III.1 : Caractères des principales espèces du genre *Juniperus* (Debazac, 1991)

Espèce	Feuilles	Fruits	Port
<i>Juniperus communis</i>	aciculaires, une bandelette blanchâtre supérieure.	Ovoïde. 4-8mm ; vert glauque la 1 ^{ère} année puis bleu noirâtre à maturité	Variable : fastigié ou étalé
<i>Juniperus oxycedrus</i>	aciculaires, deux bandelettes blanchâtres supérieure.	Globuleux 6-10 mm vert pruneux; brun luisant à maturité.	Étalé
<i>Juniperus phoenicea</i>	Feuilles adultes squamiformes.	Globuleux 5-15 mm ; brun à maturité	Dressé, cime dense
<i>Juniperus thurifera</i>	Feuilles adultes squamiformes.	Subglobuleux 7-12 mm bleu noirâtre à maturité	Port dressé, fastigié
<i>Juniperus sabina</i>	Feuilles adultes squamiformes.	Ovoïde 5-8 mm vert pruneux la 1 ^{ère} année puis bleu noirâtre à maturité	Port couché

Les genres Genévrier (*Juniperus*) et Thuya (*Callitris*) sont les seuls représentants des cupressacées spontanées en Algérie. En outre, les Genévriers Oxycèdre et de Phénicie sont abondants dans le secteur saharo atlasique (monts des Ksours, Djebel Amour, monts des Ouleds Nail, monts des Zab). Les genévriers représentent des espèces pionnières peu exigeantes sur le plan écologique. Ce sont des arbres ou arbrisseaux très rameux, exploités pour le bois ou le feuillage, voire à des fins industrielles ou médicinales (Quézel, 1979).

III.4. Systématique du Genévrier de Phénicie

Le *Juniperus phoenicea* est une espèce, de la famille des *Cupressacées*, (Tableau III.2). Elle a été établie par le professeur Adams Robert de l'Université de Texas (USA). Adams a beaucoup travaillé dans les régions du Maroc, d'Algérie et de la Tunisie; surtout dans la région de l'Atlas du Maroc.

Tableau III.2: Classification systématique de *Juniperus phoenicea* (Adams, 2000).

Règne	plante
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Gymnospermae
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Cupressaceae
Sous-famille	Cupressoidea
Tribu	Juniperea
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Juniperus phoenicea</i> L
Nom commun	Genévrier rouge - Phénicie
Nom vernaculaire	Ara'ar

III.5. Description botanique du Genévrier de Phénicie

Le genévrier rouge ou le *Juniperus phoenicea* synonyme du « Araar » en arabe (Dumé, 2008) est un arbrisseau touffu ou un arbuste de 1-3m de hauteur mais pouvant atteindre jusqu'à 8-10m. Au jeune âge, certaines feuilles sont en aiguilles et d'autres en écailles très petites, très imbriquées, opposées, formant le feuillage vert persistant de l'arbre après les premières années. Son tronc est droit gris, son port est dressé, conique ou buissonnant arrondi (Figure III.3.A). Le feuillage est gris vert, glauque pourvu sur le revers de deux bandes de stomates plus foncées que la partie médiane. La floraison a lieu fin de l'hiver au printemps (février-avril) à l'aisselle des feuilles petites fleurs femelles globulaires. Le fruit globuleux devient rouge et luisant à maturité (Photo III.3.B). Cette espèce est indifférente au substrat ; elle est présente en bioclimat surtout semi-aride et aride en ambiance nettement continentale (Quézel et Medail, 2003 ; Zereg, 2011).

C'est un petit arbre dont les rameaux épais étaient utilisés par les charbonniers comme litières et pour confectionner les toits des abris en les recouvrant d'une couche d'argile.



Figure III.3: *Juniperus phoenicea* L. des montagnes la région de Bechar (Akermi et al., 2017)

III.6. Utilisation de *J. phoenicea* L.

Le genévrier de phénicie est très recherché pour ses vertus médicinales (affections respiratoire, hépatique et rénale), il est très diurétique et sudorifique (Lucas, 2000).

Les bois sont utilisés pour le chauffage et la fabrication du charbon du bois et du goudron végétal qui est pour traiter certains cas d'eczéma (Bellakhdar, 1997). L'utilise en inhalation contre l'asthme les maux de tête et les étourdissements (Seingue, 1985).

Les fruits de cette plante sont utilisés pour le traitement de la gale, la goutte, le rhumatisme, la syphilis et l'inflammation du nez. Elle est aussi bénéfique pour l'ulcère de l'estomac. **(Bellakhdar, 1997)**.

Les feuilles sont utilisées sous forme de décoction pour soigner le diabète, diarrhée et rhumatisme. Le mélange des feuilles et des cônes est utilisé comme hypoglycémiant. Les feuilles séchées et réduites en poudre peuvent guérir les affections broncho pulmonaires et diurétiques. Dans la médecine traditionnelle cet arbre est utilisé pour le traitement des coliques et autres gastrites et contre le diabète, la diarrhée et le rhumatisme et quelque problème digestifs. **(Keskes et al., 2014)**.

Les propriétés médicinales du genévrier justifient des modes d'administration variés, adaptés aux usages internes et externes, allant des frictions aux fumigations, en passant par les gargarismes, les poudres et les boissons diverses. Toutes les parties de la plante sont utilisées, mais de préférence les baies **(Stark et al., 2013)**.

Enfin, le genévrier fut grandement apprécié pour ses propriétés antiseptiques. L'huile de cade, ou goudron végétale; extraite par distillation du bois de *Juniperus*, fut d'une aide précieuse pour lutter contre les dermatoses et divers parasites (gale, teigne, herpès, eczéma, acné ou psoriasis) **(Bertaudière-Montes et Montès, 2004; Bhar et Balouk, 2011; Bouyahiaoui, 2017)**.

III.7 Goudron végétal

Les goudrons se définissent par leur mode d'obtention. En effet, ils sont produits à partir de combustibles portés à haute température. Il existe plusieurs types de combustibles tels que les végétaux (pin, hêtre, bouleau, cèdre et cade), la houille ou le schiste (origine pétrolifère). Ces différents combustibles donnent des goudrons de nature différente **(Dorvault, 1994)**.

On peut les classer plus précisément en 3 groupes :

- les goudrons de bois (goudron de pin, goudron de hêtre, huile de bouleau, huile de cèdre, huile de cade) ;
- les goudrons fossilifères (goudrons de houille) ;
- les goudrons sédimentaires (origine schisteuse, origine pétrolifère). **(Belliot, 2007)**.

III.7.1 Définition

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

III.7.2 Extraction du goudron végétal

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

III.7.2.1 Distillation *per descensum*

Le bois est placé dans une fosse qui sera chauffée à une température d'environ 200°C°. Le goudron s'exsudait du bois ainsi et recueilli à l'extrémité de la fosse dans une cuve (Figure III.4). Il s'écoule tout d'abord un liquide aqueux de couleur brun rougeâtre puis celui-ci devient plus épais et plus foncé (Chuyen, 1985). Cette méthode est utilisée dans les anciens fours. En dernier lieu une décantation d'une durée de huit jours au minimum permettait de récupérer le liquide surnageant : le goudron (Lucas, 2000 ; Demarle, 2001).

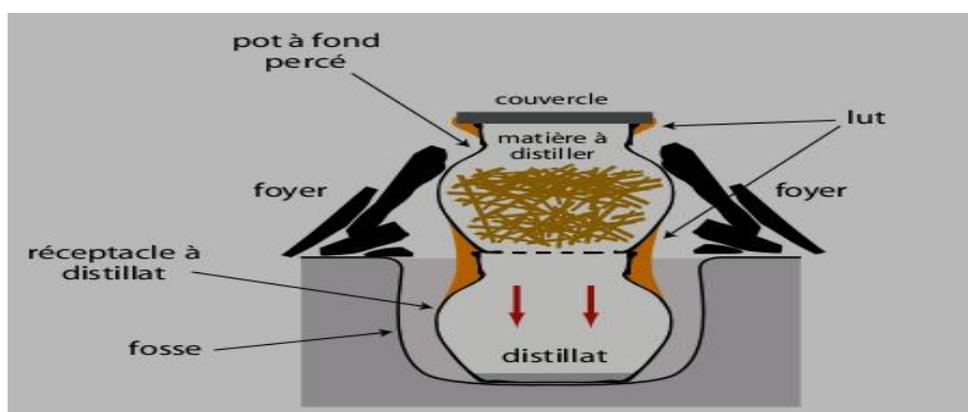


Figure III.4: Distillation *per descensum* (Thomas, 2011).

III.7.2.2 Distillation *per ascensum*

Dans ce mode de distillation sèche, la cuve de distillation est chauffée à une température de 400°C°. L'évaporation commence et grâce à une plaque métallique, la vapeur est refroidie puis récupérée dans un récipient de condensation (Figure III.5). Le liquide condensé reste dans la cuve de décantation une dizaine de jours jusqu'à la formation de trois couches : eau, mélange goudron-eau et goudron (Porte, 1994 ; Demarle, 2001).

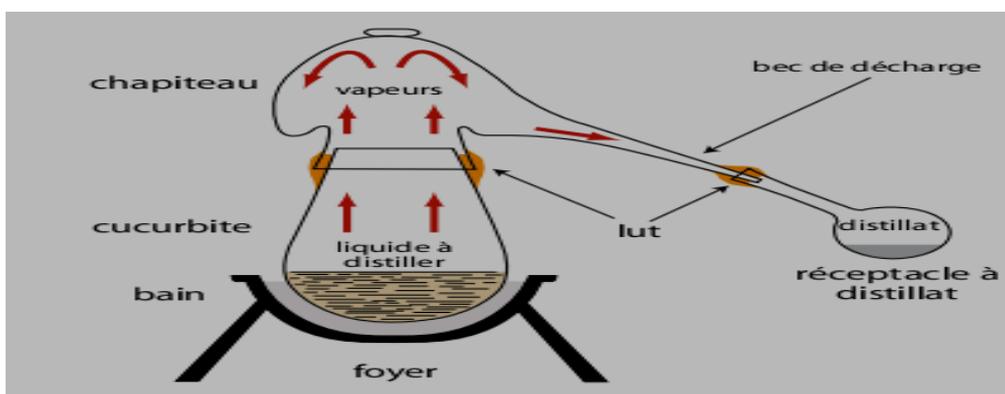


Figure III.5: Distillation *per ascensum* (Thomas, 2011).

III.7.3 Fours de distillation

Autrefois, les fours étaient des constructions massives faites de pierres sèches et recouvertes de terre. Le four est constitué d'une grande fosse centrale, d'environ deux mètres de profondeur sur un mètre de diamètre, qui joue le rôle d'une chambre de chauffage (**Figure III.6**) (**Belliot, 2007**). C'est autour de celle-ci que l'on allumait un feu afin d'avoir un chauffage maximal d'environ 250C° ; cette température permet une exsudation du goudron sans que celui-ci ne s'enflamme (**Port, 1994**). Cependant, Il existe plusieurs types d'architecture de fours de distillation, mais le principe reste le même.

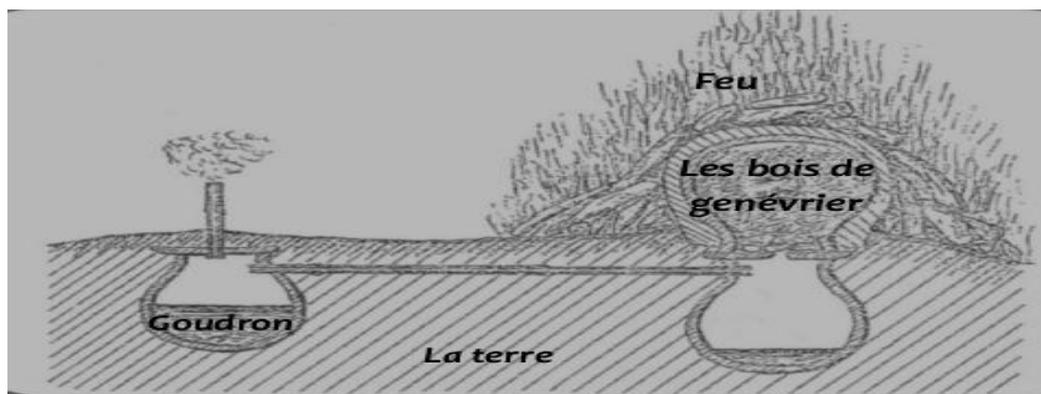


Figure III.6 : Four à goudron végétal (**Gast, 1999**).

III.7.4 Propriétés physicochimiques du goudron végétal

De couleur noire ou brunâtre, le goudron végétal vrai est un liquide très épais et homogène, son odeur est piquante, avec une densité importante. Cette dernière n'est pas un critère d'identification, car elle varie en fonction du mode de préparation.

En effet, elle sera plus importante si le taux de phénol est plus élevé ; celui-ci ne doit cependant pas dépasser 40% (**Demarle, 2001**).

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

III.7.5 Composition chimique de goudron végétal

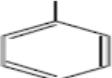
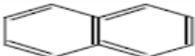
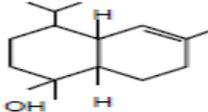
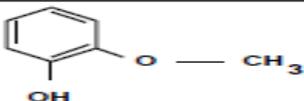
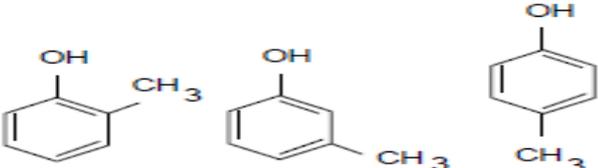
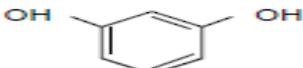
Le goudron végétal se caractérise par :

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

La composition du goudron végétal (**Tableau III.3**) varie en fonction de la durée de pyrolyse. Toutefois, une des caractéristiques de goudron végétal est la présence d'un sesquiterpène bicyclique : le cadinène de formule $C_{15}H_{24}$. Plusieurs isomères sont présents dont le principal est le β -cadinène. Les autres isomères sont le δ -cadinène, le γ -2 cadinène et le γ -1 cadinène. Le cadinène, extrait de goudron végétal par distillation, se présente sous la forme d'un liquide incolore, peu odorant et fluide (**Belliot, 2007**).

Le cadinol, alcool sesquiterpénique ($C_{15}H_{26}O$) est très abondant dans le goudron végétal; il est partiellement détruit au cours de la pyrolyse (**Bouyahiaoui, 2017**).

Tableau III.3 : Composition du goudron végétal (**Belliot, 2007**).

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

III.7.6 Utilisation de goudron végétal

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

Le goudron végétal est connu dans tout le « Maghreb » pour son utilisation ancestrale dans la conservation de l'eau et contre les maladies de la peau. Il est utilisée comme une sorte de tannage sur la peau des caprins maintient l'eau de l'outre saine et propre. (**Benlarbi, 2019**).

De nombreux auteurs relèvent le grand pouvoir antiseptique de goudron en application locale sur la peau chez l'homme et les animaux (**Dorvault, 1994**).

Le goudron végétal est possède des vertus pharmacologiques nombreuses, les plus certaines sont observées en dermatologie humaine et vétérinaire.

III.7.6.1 Utilisations en médecine vétérinaire

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

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

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

III.7.6.2 Utilisations en médecine humaine

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

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

Il fut également utilisé en usage interne, dans le cadre de traitement des lithiases biliaires, de néphrites chroniques mais surtout en tant qu'anti-helminthique, chez les enfants qui présentaient une affection vermineuse (**Lucas, 2000**).

Elle constituait également un bon traitement pour les eczémas notamment les eczémas se compliquant d'impétigos (**Dorvaultf, 1994**).

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

III.7.6.3 Fabrication des produits cosmétiques et pharmaceutiques

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

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

III.7.6.4 Utilisations phytopharmaceutiques

Il a été montré que le goudron végétal pouvait être un antiparasitaire important en phytopharmacie. Ainsi, le goudron végétal combat le Fusarium, corynéum, les rouilles, le lichen, et les pourridiés, les propriétés insecticides et ovicides sont illustrées par la destruction des pucerons, des charançons, des anthonomes, des scolytes et des lucanes, en résumé, le goudron végétal est utilisé, principalement l'hiver, dans le traitement des végétaux pour assurer la destruction des parasites **(Chuyen, 1985).**

Chapitre IV :
Matériel et Méthodes

IV.1 Introduction

Le règne végétal comprend des substances organiques de structure et d'utilisation variées. La flore saharienne connue par sa bio-résistance au climat aride est riche en espèces qui poussent à l'état sauvage. En effet, les plantes renferment des composants chimiques : les polymères, les tanins, les saponosides, les flavonoïdes, les extraits bruts et les essences végétales dites huiles essentielles ; d'autre part, les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substance et de composés naturels bioactifs. La majorité des espèces sont encore mal connues et largement sous exploitées (**Chehema et Youcef, 2009**).

La maladie du Bayoud est provoquée par *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (FOA), elle constitue la principale maladie qui affecte le palmier dattier dans les régions sud du Maroc et de l'Algérie. Son expansion a été responsable de la perte de plus des deux tiers d'arbres de palmier dattier. Face à l'impact socioéconomique de cette maladie et à fin de trouver une solution à ce problème.

Cette partie expérimentale se divise en deux parties :

- ✚ La 1^{ère} partie vise la valorisation du genévrier rouge (*Juniperus phoenicea* L), par l'extraction de goudron végétale et l'étude de leurs activités anti FOA *in vitro*;
- ✚ La 2^{ème} partie est consacré pour l'essai *In vivo* sur trois cultivars des palmiers dattiers à différents concentrations, l'effet du goudron vis-à-vis l'agent pathogène provoquant le bayoud.

IV.2 Description de la zone d'étude

Au sud ouest Algérien, la commune de Béni Ounif qui représente le point frontalier avec le royaume du Maroc; situé dans la région de la Saoura, à 110 km au nord-est de la wilaya de Béchar, à 145 km au sud-ouest d'Aïn Sefra. Elle s'étend sur une superficie de 16 600,00 km², une altitude de 830 m. l'échantillonnage se fait dans la zone de Rossfa Taieba, commune parmi les communes de Béni Ounif (**Figure IV.01**). de point de vue climatique, la région est semi aride, elle est sèche et chaude en été atteignant jusqu'à 50°C avec un moyen de 39.7°C, froide en hiver avoisinant -5°C avec un moyen de 2.6°C et l'humidité est faible (aux environs de 27%). La région est connue pour ses vents de sable fréquents. La précipitation moyenne annuelle est de 119 mm (**Mokhtari et al.,2008 ; Merzougui et al.,2019**).

La commune de Béni-Ounif est située sur le piémont sud-atlasique. Elle représente une transition entre l'Atlas Saharien au nord et la grande dépression qui descend vers le Sahara. Deux parties distinctes forment le relief :

La partie occidentale : Au nord se dresse la masse importante du Djebel Grouz orienté ouest-est d'une altitude de 1600 m, atteignant 1919 m à Djebel Ben-hariz, montagne très érodée, le piémont sud présent des pentes abruptes. Au niveau de Béni-ounif, elle est plus déchiquetée.

C'est la chaîne de Figuig (Djebel Mélias et djebel Tarhla). Ces montagnes forment une véritable barrière naturelle. A certains endroits, elle est traversée par des oueds qui forment percées ou Ghangs dont la plus importante est le Ghang de Figuig. (P.D.A.U, 2019)

A l'intérieur, au sud de ces montagnes, le relief devient uniforme et présente les caractéristiques d'une hamada.

La partie orientale : C'est une vaste dépression limitée au nord par l'Atlas Saharien. Elle est légèrement inclinée du nord au sud avec une altitude allant de 900 à 700m. Elle présente les caractéristiques de la hammada ; de couleur jaune ocre couverte de cailloutis. Elle est traversée par la vallée d'oued Namous qui la divise en deux : Hamadet Bet Touajine (Est); Hamadet El-Babouch (Ouest). (P.D.A.U, 2019).

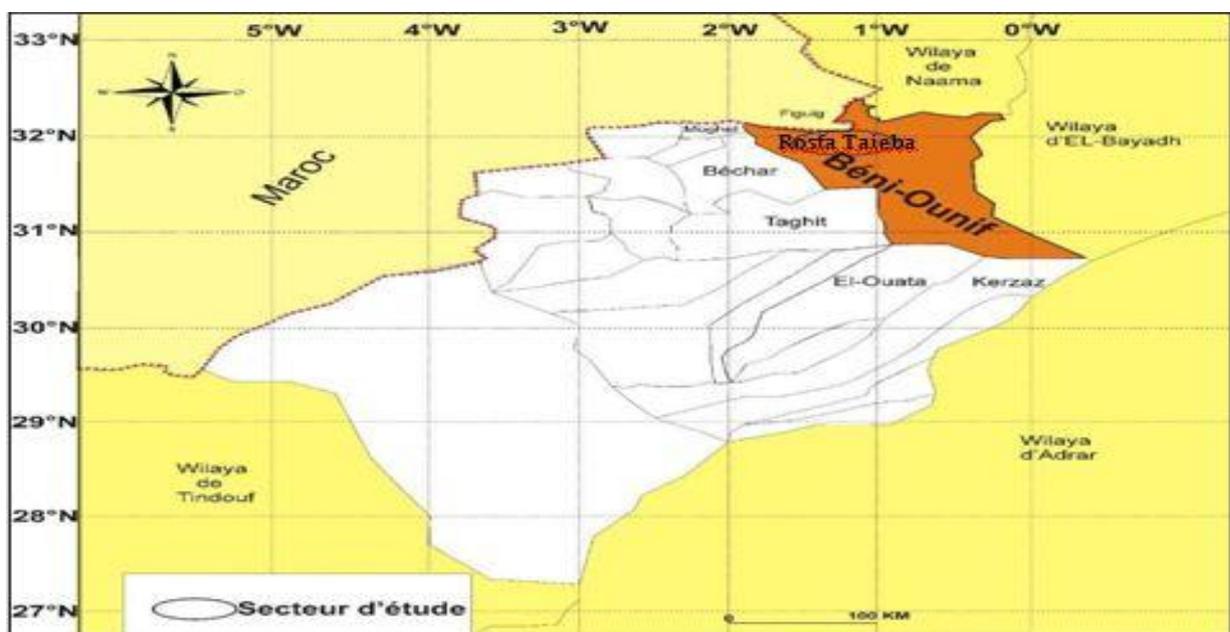


Figure IV.01: Carte géographique situant la région de Rosfa Taieba commune de Béni Ounif wilaya de Béchar. (Merzougui, 2020).

IV.3 Echantillonnage

Pour la réalisation de cette recherche on s'est basé sur la récolte de *Juniperus phoenicea* (Photo IV.01, 02), poussant à l'état spontané dans la région de Rosfa Taieba (wilaya de Béchar), une vingtaine kilomètres au nord ouest de la commune de Béni Ounif.

Par ailleurs, les critères de choix de la plante sont justifié par :

- ✚ Le fait que *Juniperus phoenicea* est abondant dans les montagnes de la région d'étude (Atlas Saharien) d'une part;
- ✚ D'autre part la connaissance des effets thérapeutiques de cette espèce par la population locale et les herboristes, qui continuent à le vendre pour différents usages : fumigation (Elbkhour), ingrédient pour préparer et conserver certaines denrées alimentaires traditionnelles (beurre (Smen) , dattes) , les coliques ,les diarrhées, pesticide naturel...

Etc. Ainsi, le remarquable effet antifongique de certains goudrons végétaux de certains espèces dans les travaux de **Makhloufi *et al.*, (2012)** et **Benlarbi *et al.*, (2014)**.



Photo IV.01: *Juniperus phoenicea* L. de la région de Rosfa Taieba (Wilaya de Béchar)
(Photo originale, 05/2019).



Photo IV.02: Feuilles et baie de *J. phoenicea* L. (Photo originale, 05/2019).

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes, il s'agit des troncs de l'arbrisseau (**Photo IV.03**) ; la récolte a été faite pendant les mois de Janvier et Février 2016. Le bois est coupé en petites bûchettes.



Photo IV.03: Branches de *Juniperus phonicea* L (**Photo originale, 2016**).

IV.4 Extraction du goudron végétal

L'extraction du goudron végétal dans le laboratoire se fait à l'aide d'un dispositif composé d'une cocotte inversé contient le bois de l'arbrisseau, porté sur un support, la hauteur était de quarante centimètres. Au-dessus et autour duquel est placé des becs bunsen, la cocotte est chauffée afin de pouvoir faire carboniser son contenu, il exigeait six heures de chauffage. Le réfrigérant est placé avec la cocotte par un tuyau et un cristalliseur pour récupérer le goudron. (**Photo IV.04**).

L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière première chargée dans la cocotte. L'extraction par ce dispositif est une méthode simple et semblable à la méthode traditionnelle. Après l'extraction le produit brut obtenu est abandonné 2 à 3 heure au repos au bout duquel il se sépare en 3 couches :

- ❖ Une fraction aqueuse ;
- ❖ Une fraction l'huileuse;
- ❖ Un goudron végétal.



Photo IV.04 : Dispositif d'extraction de goudron végétal (Photo originale, 2019).

- | | |
|----------------------------|---------------------------------|
| 1) un tuyau | 2) Support pour la cocotte |
| 3) une Bain thermostatique | 4) Bec bunsen |
| 5) Une cocotte inversé | 6) Support pour les becs bunsen |
| 7) Réfrigérant | 8) Cristalliseur. |

IV.5 Calcule de rendement

Le rendement d'extraction défini comme étant le rapport entre le poids de l'huile ou goudron extraite et le poids de la plante à traité (Behidj et al., 2013). Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rdt \%} = \frac{\text{P(B)}}{\text{P(A)}} \times 100$$

Où :

Rdt % : Rendement de l'extrait.

P(A) : Masse de la plante en gramme.

P(B) : Masse d'extrait en gramme.

IV.6 Caractérisation physico-chimique du goudron végétal

IV.6.1 Détermination des caractéristiques physiques

IV.6.1.1 Détermination de matière sèche (MS) (NF V 05-108,1970)

✓ Principe :

La matière sèche (MS) représente l'ensemble des substances organiques et inorganiques en solution ou en suspension, contenues dans l'échantillon. La détermination de matière sèche c'est une méthode d'étuvage qui consiste à tarer les verres de montre, puis effectuer un séchage d'une prise d'essai de chaque sous échantillon à une température de $102 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, dessécher de façon à obtenir un poids constant après plusieurs pesées consécutives, il faut refroidir avant pesée dans un dessiccateur contenant « Silica de gel » comme un desséchant. (**Linden et Lorient, 1994**).

✚ Mode opératoire :

- Placer des vases de tare avec couvercles enlevés dans l'étuve pendant 30 min à $102 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$;
- Les laisser refroidir dans un dessiccateur pendant 30 min ;
- Peser dans chaque vase de tare 1g d'échantillon;
- Peser les vases de tare avec les échantillons « M1» et les placer dans l'étuve réglée entre $103^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 3 à 4 heures ;
- Les retirer de l'étuve et les placer dans un dessiccateur pendant 25 min ;
- Après refroidissement peser l'ensemble « M₂ » ;
- Répéter les opérations de chauffage, de refroidissement et de pesée, mais avec des séjours successifs dans l'étuve d'une heure chacun, jusqu'à le poids constant.

✓ Expression des résultats :

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

Où :

MS% : La matière sèche en pourcentage ;

M₀ : poids de vase de tare vide.

M₁ : poids de vase de tare + échantillon avant séchage en gramme ;

M₂ : poids de vase de tare + échantillon après séchage en gramme ;

MF : pourcentage de matière fraîche.

$$\text{MS \%} = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \times 100$$

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

IV.6.1.2 Détermination de l'indice de réfraction (AFNOR, 1988)

✚ Principe :

La présente norme T 60-212-1984 reproduit intégralement la norme internationale ISO 6320-1983. L'indice de réfraction d'une substance, est le rapport de la vitesse de la lumière à une longueur d'onde définie dans le vide à sa vitesse dans la substance, C'est un nombre sans unité. Cet indice varie avec la longueur d'onde de la lumière incidente et avec la température. La notation est n^t où t est la température en degrés Celsius.

L'indice de réfraction, qui est en relation avec la composition chimique des constituants de l'huile, permet de mesurer leur pouvoir réfringent. C'est un nombre sans unité.

$$\text{IR \%} = \frac{\text{Vitesse de la lumière dans le vide}}{\text{Vitesse de la lumière dans la substance}}$$

Où :

IR : l'indice de réfraction.

✚ Mode opératoire :

A l'aide d'un réfractomètre convenable se fait la mesure de l'indice de réfraction de l'échantillon liquide à une température constante. Nous avons réglé le réfractomètre par la mesure d'indice de réfraction d'eau distillée qui doit être de 1,333 à 20°C, Il doit être préalablement nettoyé avec de l'alcool. L'extrait est placé au contact de l'une des faces d'un prisme, en regardant dans l'oculaire, réglé les deux zones (claire et obscure), et lire la valeur de l'indice de réfraction.

$$N^d_{20} = nt + 0.00045(t-20)$$

Où :

N^d_{20} : l'indice de réfraction a la température 20oC

nt : valeur de lecture à la température à laquelle a été effectuée la détermination.

t : la température à laquelle a été effectuée la détermination.

IV.6.1.3 Densité relative à t/20°C

✚ Principe :

La densité est un nombre sans dimension, cette méthode consiste à déterminer le rapport de la masse d'un volume donné du goudron à 20 °C et la masse d'un volume égal d'eau distillée à la même température (Ndiakama, 2005).

✚ Mode opératoire :

Pesé 5ml du chaque échantillon dans un balance analytique. C'est-à-dire la masse volumique de l'échantillon et l'enregistré puis faite le rapport de cette valeur et la masse volumique de 5ml d'eau distillé à la même température.

✓ Expression des résultats :

La densité relative d_{20} est donnée par la formule suivante :

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

D_{20} : la densité relative à 20°C.

$P1$: la masse volumique de goudron végétal.

$P2$: la masse volumique de l'eau distillée.

IV.6.2 Détermination des caractéristiques chimiques

IV.6.2.1 Détermination de pH : (NF V 05-108, 1970)

✚ Principe :

Le pH donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité du milieu, il est déterminé à partir de la quantité d'ions d'hydrogènes libres (H^+) contenue dans l'extrait.(Terfaya et al., 2017).

✚ Mode opératoire :

On trempe l'électrode du pH-mètre dans le bêcher de l'échantillon, on laisse stabiliser un moment, puis on note le pH. Avant chaque mesure, on rince l'électrode avec de l'eau distillée.

✓ Expression des résultats :

Le résultat de pH est donné directement par l'appareil. pH mètre.

IV.7 Analyse chromatographique du goudron végétal

IV.7.1 Fractionnement du goudron brut par chromatographie liquide sur colonne

A fin de comparer l'effet des fractions du goudron par rapport au brut, on a procédé une séparation du mélange (goudron brut) par chromatographie liquide sur colonne.

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe et l'autre mobile (Claverie et al., 2008; Hadeif, 2009).

Selon la technique mise en jeu, premièrement la séparation des composants entraînés par la phase mobile se fait par fractionnement sur colonne, selon la polarité des éluant ou bien de leur adsorption et de leur désorption successive sur la phase stationnaire, soit de leur différentes solubilité dans chaque phase (Edith et al., 1988).

Ensuite les fractions subit une autre chromatographie sur couche mince (CCM). Les substances les plus solubles dans la phase mobile se déplacent plus facilement que celles qui le sont moins (Audigié et al., 1995).

➤ **Mode opératoire :**

Le fractionnement de goudron végétal est réalisé à l'aide des solvants de polarité différente à savoir : l'éthanol, acétate d'éthyle, et l'hexane.

2 g de goudron végétale a été fractionné sur une colonne contenant le gel de silice en utilisant trois solvants (Photo IV.05). Les fractions sont éluées en gradient de polarité dont les solvants utilisés sont : l'éthanol, l'acétate d'éthyle et l'hexane pour obtenir des fractions en fonction de couleur.



Photo IV.05 : Fractionnement du goudron par chromatographie sur colonne (Photo originale, 2019).

Les fractions résultantes ont été ensuite séparées par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant une phase de migration (éthanol / acétate d'éthyle / hexane : v/v/v) et révélés sous la lampe UV. Les molécules exposées sont identifiées par calcul de Rf. Les fractions semblables ont été arrangées et évaporées à sec pour tester leurs activités sur les souches fongiques.

IV.7.2 Chromatographie sur couche mince

La méthode la plus utilisée pour séparer les constituants bioactifs des extraits est la chromatographie sur plaque, ou sur couche mince « CCM »

L'analyse chromatographique permet de séparer les constituants d'un mélange fixé sur un support appelé phase stationnaire (un gel de silice déposé en couche mince sur une plaque

d'aluminium), il est entraîné par un solvant approprié (phase mobile ou éluant) qui migre par capillarité sur la plaque (**Claverie et al., 2008**).

Les constituants du mélange se séparent par migration différentielle : chacun d'eux est d'autant plus entraîné par l'éluant qu'il est plus soluble dans celui-ci et moins adsorbé sur la phase stationnaire.

Après migration des spots doivent être révélées ; c'est la détection qui peut se faire soit :

- ❖ Pulvérisation par réactif caractéristique.
- ❖ Par observation à la lumière UV à 254 nm si la plaque de silice comporte un indicateur de fluorescence.

Mode opératoire :

➤ **Préparation de la plaque CCM :**

- La couche d'adsorbant est fragile, éviter de mettre les doigts sur les plaques.
- Les plaques CCM sont tout d'abord découpées selon les dimensions suivantes : 10cm de large et 20cm d'hauteur.
- Repérer à l'avance l'emplacement où seront effectués les dépôts. Pour cela, tracer un léger trait de crayon parallèle au bord inférieur de la plaque à une distance de 1 cm. Les dépôts seront effectués sur cette ligne, à 0.5 cm du bord de la plaque et espacés de 1cm.
- Poser 10 µl d'échantillons sur les plaques de CCM dans un 1 cm de la bande et développés sans délai. (**Kotze et Eloff, 2002**).

➤ **Elution :**

- Disposer la plaque dans la cuve, le dépôt doit être au-dessus du niveau de l'éluant ;
- Éviter de déplacer la cuve ou de la faire vibrer pendant l'élution ;
- Quand le front de l'éluant arrive à 0.5cm du bord supérieur, retirer doucement la plaque, marquer au crayon le niveau atteint par le front de l'éluant (hauteur H) ;
- Sécher la plaque à l'air ou éventuellement au sèche-cheveux pour évaporer entièrement l'éluant.

➤ **Révélation :**

- La révélation à UV (254nm) permet de mettre en évidence sous forme de taches visible;
- particulières comportant un révélateur UV ; (**Photo IV.06**).
- Mesurer les hauteurs h de migration des différents spots et calculer les rapports frontaux



Photo IV.06 : Cuve et plaques CCM. (Photo originale ,2019).

Enfin mesurant le rapport frontal par la formule suivante :

Rf : le rapport frontal.

h : hauteur atteinte par la tache.

H : hauteur atteinte par l'éluant.

$$\mathbf{Rf} = \frac{\mathbf{h}}{\mathbf{H}}$$

IV.8. Souches fongiques

Les souches choisies dans cette étude sont dix souches de *Fusarium oxysporum f.sp albedinis* (S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9, S10).

Le tableau ci-dessous englobe l'ensemble des souches fongiques et leurs origines.

Tableau IV.01 : Souches utilisées dans l'étude de l'activité antifongique.

Souches fongiques	Origines
FOA (S1), (S2), (S3), (S4), (S5) isolées à partir des rachis palmier dattier infectés de la région de Béni Ounif; collection de Mr Terfaya Bouziane .	Laboratoire pédagogique de biologie Kadi Hamid; Université Tahri Mohamed Béchar. (UTMB)
FOA (S6), (S7), (S8), (S9), (S10) isolées à partir des palmier dattier infectés de la région de Beni-abess collection de Dr Benlarbi Larbi .	Laboratoire de valorisation des ressources végétales et sécurité sanitaire dans les zones semi-arides (VRVSA) (UTMB).

IV.8.1 Isolement de l'agent pathogène (*Fusarium oxysporum f sp albedinis*)

Les souches de *Fusarium oxysporum f sp. albedinis* utilisées dans ce travail ont été isolées à partir de palme ou racine présentant les symptômes typiques du Bayoud. L'isolement des souches à partir du rachis a été réalisé comme suit : l'échantillon est flambé à l'alcool, on les coupe en petits fragments de 2 cm longitudinalement, et on les met dans l'eau de Javel à 2 % pour les désinfectés, puis on les rince plusieurs fois avec de l'eau distillée stérilisée pour éliminer les traces de l'eau de Javel, débarrassé des tissus externes et la partie centrale est divisée en petits cubes que l'on dépose sur milieu Potato Dextrose Agar (PDA) (**Annexe 1**), ce milieu est utilisé pour la maintient des souches en culture. Les boîtes sont incubées à 28 °C à l'obscurité pendant 7 jours (**Bounaga, 1985**). Ces conditions d'incubation sont toujours suivies, sauf dans des exceptions où elles seront signalées. (**photo IV.07 A,B**).

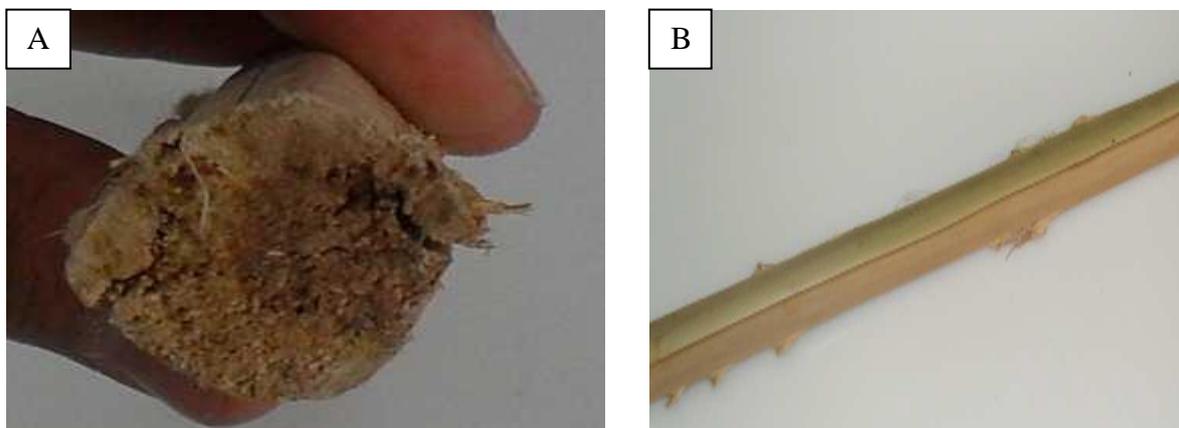


Photo IV.07: Manifestation des premiers symptômes internes (A) et externes (B) d'un rachis du palmier dattier atteint du bayoud. (**Photo originale, 2019**).

IV.8.2 Clonage, purification et conservation des isolats

La purification des souches est effectuée par isolement monospore qui permet l'obtention d'un matériel génétiquement homogène pour l'étude des variations morphologiques et pathogènes dans la descendance intra clonale des clones ainsi obtenus. Des fragments de cultures mycéliennes, comportant généralement de nombreuses conidies, sont prélevées stérilement à la marge d'une culture âgée de 7 jours et placés dans des tubes contenant 9 ml d'eau distillée stérilisée. Après agitation vigoureuse, une goutte de suspension de spores est étalée sur le milieu Agar 2 % (**Annexe 1**) contenu dans une boîte de Pétri. Les boîtes sont incubées à 28 °C à l'obscurité, et 24 heures plus tard, on prélève stérilement, à la loupe, des microconidies isolées (le thalle qui en est issu est donc génétiquement homogène), et on les repique dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA.

L'identification est réalisée pour assurer la pureté des moisissures qui fait essentiellement aux caractères cultureux (**Annexe II**). Ce sont les critères macroscopique tels, la vitesse de croissance, la texture, la couleur du thalle, la couleur de la culture et la présence d'un pigment diffusible, ainsi morphologique tel que l'étude microscopique du mycélium,

nature des organes différencies et l'étude biométrique. L'étude des caractères morphologique est réalisée par une méthode de scotch, et ces caractères sont confirmés par la technique de micro culture.

Pour conserver les isolats obtenus après purification, issues de culture monospore, on les maintient dans des tubes à visse stérilisé contenant soit le milieu PDA, soit le milieu Agar à 2 %. Les milieux sont inclinés pour agrandir la surface de culture. (Benlarbi., 2019).

IV.8.3 Identification du FOA

IV.8.3.1 Technique de micro culture (Harris et al., 1989)

Elle consiste à inoculer les spores des moisissures sur des lames menées de petits carrés de PDAa solidifiés et les recouvrir par des lamelles. Les spores sont ensemencées sur les limites périphériques du milieu pour leur fournir un potentiel d'oxygène élevé afin qu'elles puissent germer. L'ensemble est conditionné dans une chambre stérile et humide puis incubée { $25 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 3 à 5 jours. Après incubation, les lamelles auxquelles s'adhèrent le mycélium sont, transférées sur d'autres lames stériles contenant quelques gouttes de lactophénol pour l'observation microscopique aux grossissements $\times 10$, $\times 40$, $\times 100$.

IV.8.3.2 Identification moléculaire par la méthode de PCR

La réaction de PCR (Polymerase Chaine Reaction) ont été effectuées dans un volume total de 25 μl , le mélange réactionel est contient : 0,5 μm (chacun) des deux amorces, 10 mM dNTP, l'ADN de FOA, 6 μl d'eau free nucléique ,MgCl₂, MgSO₄, taq polymérase .

L'amplification se fait dans un thermocycleur (Photo IV.08.A). La réaction a été réalisée par un cycle de 4 minutes de dénaturation à 95°C suivi de 30 cycles comprenant 1 minute à 94°C , 1 minute à 36°C et 1 minute 30 à 72°C . Après amplification, un volume de 8 μL du mélange réactionnel est prise et on le met sur un gel d'agarose à 1 %, la séparation est réalisé par électrophorèse (100 volt/30 min) (Photo IV.08.B), on met un marqueur du taille comme un référence. Puis, visionnés sous les rayons UV à 260 nm .et photographiés par un système photographique. (Annexe III).

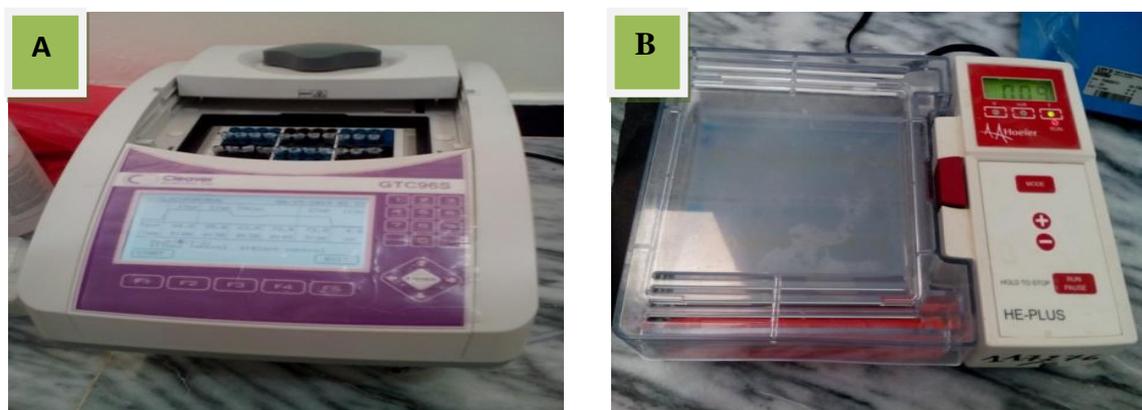


Photo IV.08 : Appareils utilisés dans le PCR (Photo originale; 2019)

(A) : Thermocycleur (T100 Thermocycler de Biorad); (B) : l'électrophorèse.

IV.8.4 Test de pouvoir pathogène

Des plantules de palmier dattier issues des graines sont cultivées dans des conditions exemptes de maladie. Un volume de 200 cm³ de la suspension de 10⁶ spores par ml de Foa âgées d'une semaine est déposé sur les racines de ces plantules au stade de deux feuilles. La souche est considérée pathogène si le taux de mortalité des plantules dépasse 20% en comparaison avec un témoin inoculé par une souche connue non pathogène. Ce test dure 3 à 8 semaines (**Djerbi, 1990**).

Des plantules de *Phoenix dactylifera* issues de semis sont cultivées dans des conditions exemptes de maladie dans des sacs en polyéthylène (**photo IV.09.A**). Le champignon ne doit pas avoir été stocké sur milieu PDA ou autre milieu riche. Le champignon doit être transféré du SNA au PDA (solide ou liquide) à 25 °C et une suspension de 10⁶ spores par mL doit être préparée après une semaine. La suspension sporale est pulvérisée sur les racines des plantules (**photo IV.09.B**) au stade deux feuilles (âgées d'environ trois mois).

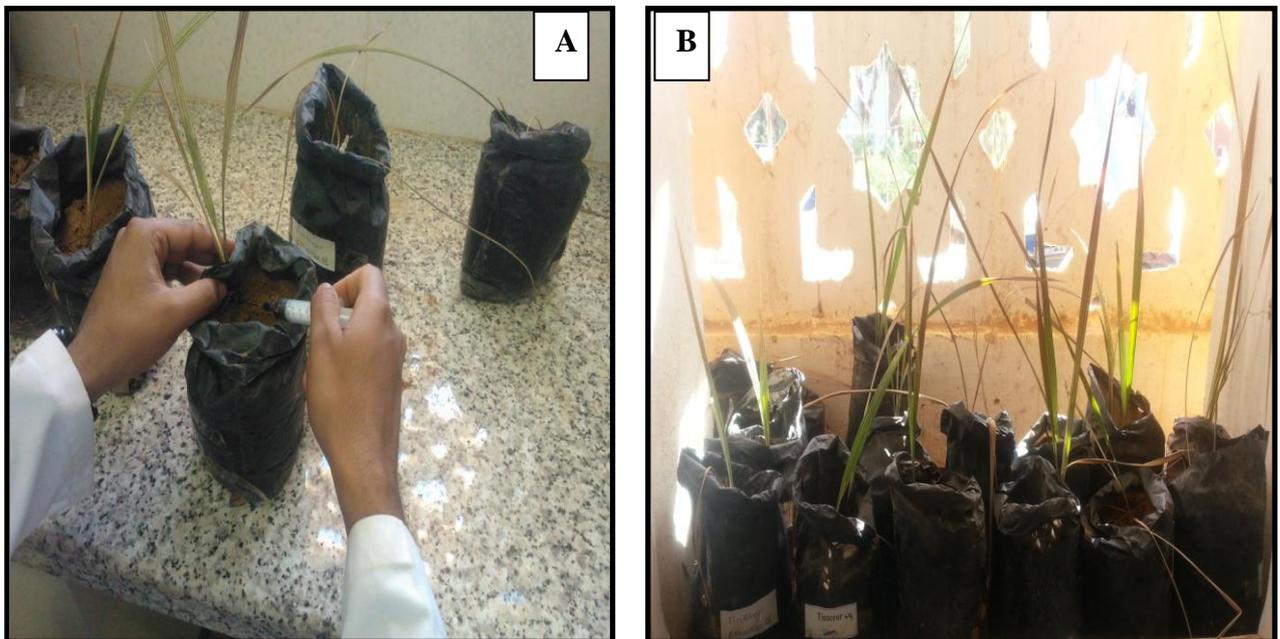


Photo IV.09: Injection des spores du FOA pour le test de pathogénicité (**Photo originale, 2019**).

Les premiers symptômes sont visibles après 3 semaines. Le taux de mortalité est noté à intervalle régulier pendant 2 mois après l'inoculation. Outre cette inoculation, deux inoculations témoins sont incluses, l'une avec un isolat pathogène de *F. oxysporum f. sp. albedinis* et l'autre avec un isolat non pathogène de *F. oxysporum*. Le test de pouvoir pathogène est valide si la mortalité finale dépasse 20% pour l'isolat pathogène connu et aussi pour l'isolat étudié, et que les plantules inoculées avec l'isolat non pathogène ne présentent pas de signe de maladie. Le palmier dattier est génétiquement variable à cause de sa nature dioïque, et il faut donc utiliser au moins 50 plantules dans le test de pouvoir pathogène (**Yezli, 2010**).

IV.9 Etude de l'activité anti-FOA

IV.9.1 Etude de l'activité anti-FOA *in vitro*

Cette partie a pour but de connaître le pouvoir antifongique de goudron végétal après avoir réalisé dans le laboratoire et leur essai à différentes concentrations contre le FOA.

IV.9.1.1 Préparation des inoculums

L'inoculum de moisissure est une suspension sporale préparé à partir l'ensemencement d'un disque de gélose de 6 mm de diamètre prévenant d'une culture de 7 jours dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. À l'aide d'une cellule malassez, on ne dépose une microgoutte sur la cellule de « malassez ». Le comptage du nombre de cellule par carré moyen se fait en respectant les caractéristiques de la lame utilisée (surface : 0,0025mm² ; profondeur : 0,200mm), tandis que le nombre de cellule doit être équivalent à 10⁶ UF/ml. (Makhloufi *et al.*, 2011).

IV.9.1.2 Méthode de disque

La méthode de diffusion à partir d'un disque a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne et antifongique. Appelé aussi méthode de Vincent dont des disques de papier Wattman n°1 (6 mm) de diamètre sont stérilisés dans des tubes à essai contenant de l'eau distillée puis séchés à l'étuve. Ces disques sont ensuite imbibés de 5µl de chaque extrait à tester. Par ailleurs, 15ml du milieu PDAa stérile (**Annexe 2**) est coulée dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre laissées refroidir.

Les milieux sont ensemencés en surface par 0.1 millilitres de l'inoculum (10⁶ UF/ml). La dernière étape consiste à déposer à l'aide d'une pince stérile à la surface de la gélose ensemencée par la souche à tester d'une boîte de pétri des disques imbibés de 5 µl de chaque extrait à testé, en présence des disques imbibés par une solution aqueuse (témoins négatifs). Les boîtes pétris ont ensuite été incubés à 27 °C pendant 5 à 7 jours. (Makhloufi *et al.*, 2012).

Des disques de cycloheximide commercialisée (à 10µg/ disque), qui ont été pris comme antifongique pour les témoins positifs. Les boîtes pétris ont ensuite été incubés à 27 °C pendant 5 à 7 jours. La mesure des diamètres des zones d'inhibition entourant les disques contenant les fractions à tester a été réalisée. (Ben abdallah *et al.*, 2019).

IV.9.1.3 Méthode de contact direct (croissance radiale sur milieu solide)

Une solution-mère de concentration de 10 mg/ml est obtenue par dissolution de 1 g de l'extrait sec (fraction goudronneuse ou huileuse) de la plante dans 100 ml de la solution 0.2% d'agar stérile. Des volumes de 0,01ml, 0,02 ml, 0,04 ml, 0.06 ml, 0.08ml, 1 ml (**Photo IV.12, A**); sont pris et complétés jusqu'à 15 ml par le milieu de culture en état de fusion pour observer l'activité antifongique du goudron et leur fraction huileuse ; la gamme des concentrations finales ainsi obtenues correspond à 0.0006 ml – 0.001mg/ml - 0.002mg/ml - 0.003mg/ml -

0.005mg/ml - 0.006mg/ml. Puis en faire l'ensemencement des inocula fongique (**Photo IV.12, B**). L'incubation se fait à 25°C pendant 5 à 7 jours. La CMI est la plus petite concentration d'extrait pour laquelle aucune croissance n'est visible comparativement au témoin sans extrait. (**Mezouari et al ., 2019 ;Bendjima et al.,2020**).

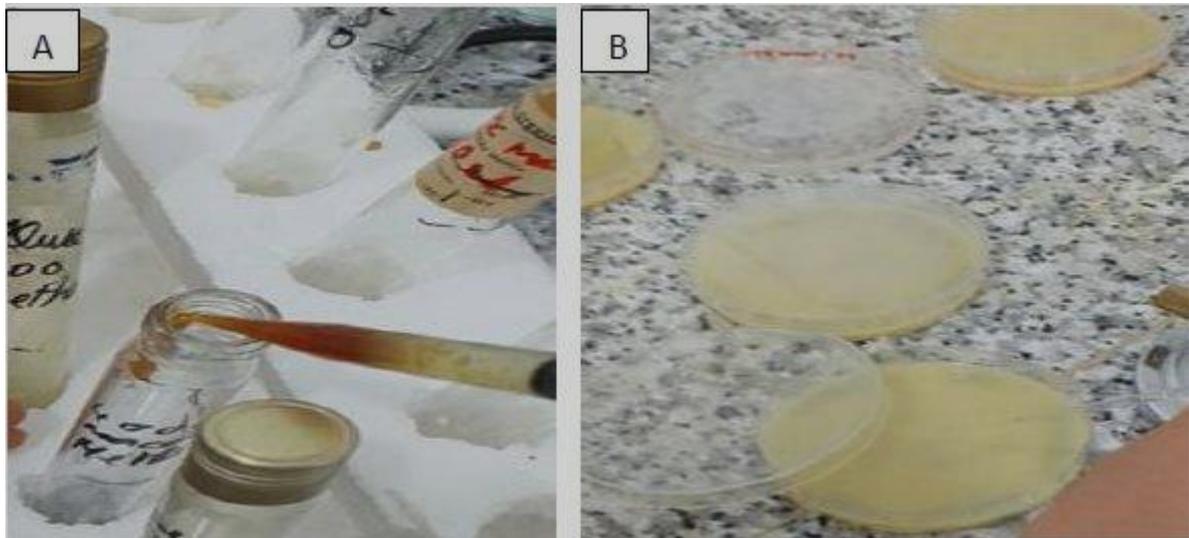


Photo IV.12: Méthode de contact direct sur milieu solide (**Photo originale ;2019**)

(A) L'ajout de l'extrait avec le milieu PDA, (B) L'ajout de la suspension sporale.

Mode opératoire :

- ✚ On ajoute des volumes de 0,01ml, 0,02 ml, 0,04 ml, 0.06 ml, 0.08 ml, 1 ml de goudron ou huile et complétés jusqu'à 15 ml par le milieu PDA_a ;
- ✚ Bien agiter à l'aide de « vortex » pour l'obtention des concentrations bien définies ;
- ✚ Couler le mélange dans une boite pétri ;
- ✚ A l'aide d'une pipette pasteur, les boites ont été inoculées par dépôt au centre d'une goutte à partir de suspension sporale sur milieu PDA ;
- ✚ L'ensemencement est ainsi réalisé ;
- ✚ Incuber les boites de pétri à 25°C pendant 5 à 7 jour ;

La lecture des résultats commence à partir de la 3eme journée d'incubation par les mesures de la croissance radiale des différentes concentrations par rapport au témoin (**Makhloufi et al., 2011 ; Mezouari et al ., 2019 ;Bendjima et al.,2020**).

La concentration minimale d'inhibition (CMI) est la plus petite concentration d'extrait pour laquelle aucune croissance n'est visible comparativement au témoin sans extrait.

Donc l'activité antifongique est déterminée par calcul des diamètres de la croissance radiale du champignon et ceci en comparaison avec des expériences témoins.

Le pourcentage d'inhibition de chaque extrait testé a été déterminé au 7^{ème} jour d'incubation. Ce dernier est calculé selon la formule suivante (**Muhizi, 2008 ; Makhloufi et al., 2011**).

Où :

Inh % : pourcentage d'inhibition.

DT : diamètre de témoin.

D : diamètre de l'expérience test.

$$inh \% = \frac{DT-D}{DT} \times 100$$

IV.9.1.4 Activité anti FOA des fractions issue du goudron

Les phases obtenues du goudron (Partie aqueuse, huileuse et goudron) fractionnées par chromatographie sur colonne de gel de silice. Cette étape consiste à diviser les trois phases sus-citées par adsorption liquide solide en cascade avec les solvants à différentes polarité; l'éthanol, l'acétate d'éthyle et l'hexane. Les aliquote de même couleur (**Photo IV.11**) sont rassemblés, concentrés au rotavapor et séchés sur MgSO₄.

Les fractions obtenues sont alors soumis à des tests d'activité anti FOA par les mêmes techniques utilisées pour le goudron brute de *Juniperus phoenicea* L.

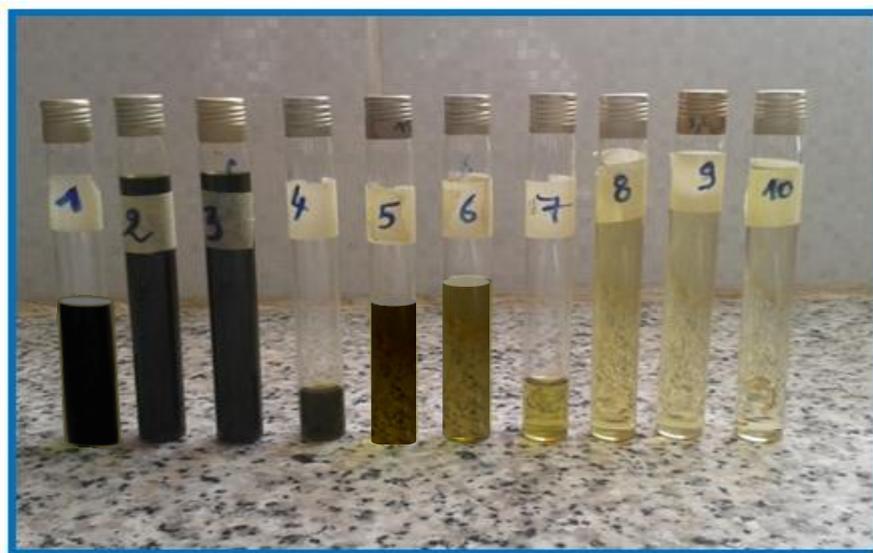


Photo IV.11: Fractions obtenues par chromatographie sur colonne de goudron.(**Photo originale, 2019**).

IV.9.1.5 Détermination de la concentration minimale fongicide

La concentration minimale fongicide (CMF) ou bien la méthode de contact direct sur milieu liquide est définie comme la plus faible concentration qui tue 99,9% de la concentration cellulaire finale. Pour la détermination de la concentration minimale fongicide, on a utilisé la méthode décrite par **Canton *et al*, 2003** et **Aouadhi, 2013**, les concentrations strictement supérieures à la CMI serviront pour la détermination de la CMF.

Il consiste à l'ajout de l'inoculum dans le milieu PDB (**Annexe 2**), puis on ajoute l'extrait selon les concentrations données.

Pour confirmer la CMI et établir la CMF, l'inoculum fongique est prélevé et additionné dans 50 ml de milieu PDBac , ensuite 10 µl de chaque bouillon d'extrait sont prélevés selon les concentrations données. Après, on ajoute l'inoculum fongique dans 50 ml de milieu PDBac. Comme témoin ; des flacons stériles sont préparés à base de milieu de culture PDBac et l'inoculum fongique seulement.

A la fin, une incubation se fait à 25 ° c pendant 14 jours.

Après 14 jours la biomasse mycélienne est filtrée puis séchée, une quantification de la biomasse dont le poids sec du mycélium est déterminé par la formule suivante :

$$P = P_1 - P_0$$

Où : P : le poids sec du mycélium ;

P₁ : le poids sec du mycélium avec le papier filtre ;

P₀ : le poids net du papier filtre .

IV.9.2 Etude de l'activité antifongique *in vivo*

IV.9.2.1 Provenance des cultivars des palmiers dattiers

Une opération de germination de plantules de palmier dattiers est réalisée comme la procédure suivante :

Les noyaux de palmiers dattiers des différentes variétés sont trempés pendant 24 h dans l'eau courante ensuite sont soigneusement nettoyer afin de débarrasser des épluchures qui sont adhérentes, à pour but de stimuler leur germination.

Celles-ci sont désinfectées par l'eau de Javel dilué. Elles sont rincées et disposées en ligne, tout en orientant leurs pores germinatifs vers le haut (**Photo IV.13**) dans des sachets de polyéthylène de 30 cm de profondeur contenant un mélange de terre et de sable fin (V/V). (Djerbi, 1983).



Photo IV.13 : Germination des graines de palmiers dattiers. (Photo originale, 2018).

Les noyaux sont arrosés régulièrement à l'eau de robinet et sont maintenus à une température et lumière ambiante, jusqu'à la formation de deux feuilles juvéniles par plantules.

Nous avons réalisé ces étapes au sein de la pépinière de la conservation des forêts de la wilaya de Béchar. (**Photo IV.14**).



Photo IV.14 : Obtention des plantules des palmiers dattiers. (**Photo originale, 2018**).

IV.9.2.2 Variétés des palmiers dattiers étudiés

Les variétés des dattes sont très nombreuses, seulement quelques unes ont une importance commerciale. Elles se différencient par la saveur, la consistance, la forme, la couleur, le poids et les dimensions (**Djerbi, 1994 ; Hanachi, et al., 1998 ; Belguedj, 2002**).

Dans ce travail ; on a basé sur trois cultivar de palmiers dattiers (**Photo IV.15, 16, 17**); une variété sensible « **Feggous** » datte molle ; une variété tolérante « **Hmira** » datte sèche et autre variété résistante « **Tekerbouch** » datte demi molle.



Photo IV.15 : Cultivar de palmiers dattiers Tekerbouch. (**Photo originale, 2018**).



Photo IV.16 : Cultivar de palmiers dattiers Hmira. (**Photo originale, 2018**).



Photo IV.17 : Cultivar de palmiers dattiers Feggous. (Photo originale, 2018).

IV.9.2.3 Infection des plantules palmiers dattiers par le FOA

Nous avons précédemment étudié l'infection du cultivar de palmiers dattiers par une suspension sporale de *Fusarium oxysporum fsp albedinis* ; à partir d'une souche virulente et le mettre dans une solution physiologique stérile.

Cette suspension doit être qu'elle est de l'ordre de 10^6 spores par ml « l'inoculum ».

En suite on injecte cette suspension via des racines des cultivars (**Photo IV.18, 19**). Les coupes histologiques sont réalisés dès le 5^{ème} jour après l'inoculation du FOA.



Photo IV.18 : Racines des cultivars de palmiers dattiers (Photo originale, 2018).



Photo IV.19: Injection de suspension sporale (Photo originale, 2018).

IV.9.3 Coupes histologiques

IV.9.3.1 Etapes préparatoires des racines

L'étude histologique des jeunes racines de palmier dattier est effectuée au microscope photonique, elle a pour but de la mise en évidence de l'invasion de l'agent pathogène des racines des trois variétés étudiées. La préparation du matériel végétal se fait en trois étapes essentielles :

IV.9.3.1.1 Fixation des organes

Elle consiste à immobiliser les structures cellulaires dans un état proche de l'état vivant (**Gabe, 1968**). Le fixateur utilisé est le F.A.A (Formaldéhyde - Acide acétique - Alcool), le F.A.A est composé de :

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

Les fragments racinaires sont trempés dans le F.A.A pendant 48H. Un passage sous vide pendant au moins 20 mn permet la décantation des organes en bas des piluliers. Cette observation confirme la bonne pénétration du fixateur dans les tissus cellulaires. Les organes sont ensuite conservés dans de l'éthanol à 70° (**Selmani, 2018**).

IV.9.3.1.2 Déshydratation

Elle se fait par passage dans des bains d'éthanol à des concentrations croissantes (70° - 95° - 95° - 100° - 100° - 100°) (**Photo IV.20**) à intervalles de temps réguliers, une heure entre deux bains. Du fait de l'état dur des fragments de racines du palmier dattier, un passage dans du butanol pendant une période d'au moins une nuit est souhaité. Le butanol permet le ramollissement des organes.



Photo IV.20 : Passage des racines des cultivars de palmier dattiers dans des bains d'éthanol.

(**Photo originale, 2018**).

IV.9.3.1.3 Imprégnation

Les fragments racinaires ainsi déshydratés sont placés dans du toluène qui permet d'éliminer des quantités infinitésimales d'éthanol restantes (**Photo IV.21**). Cette étape consiste à mettre les organes dans les bains successifs suivants :

- Toluène + Ethanol 100° (1/1) pendant 60 mn ;
- Toluène pur pendant 60 mn ;
- Nouveau Toluène pur pendant 60 mn. (**Selmani, 2018**)

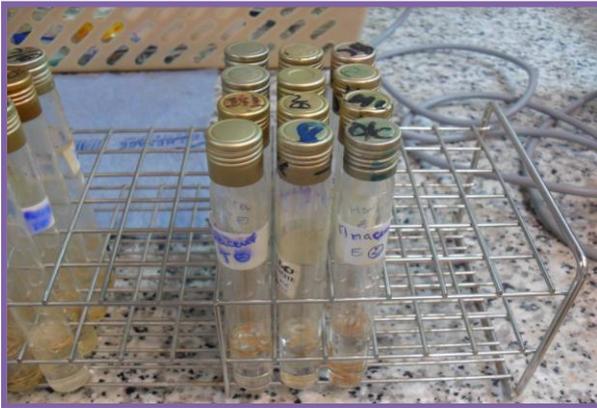


Photo IV.21 : Imprégnation des fragments racinaires des plantules. (**Photo originale, 2018**).

IV.9.3.1.4. Inclusion à la paraffine

La paraffine est coulée à chaud sur des moules métalliques qui s'associent à des cassettes en plastique servant à maintenir les blocs de paraffine. L'explant est plongé rapidement avec une pince préalablement chauffée, tout en orientant l'explant dans le sens de la coupe désirée. La polymérisation de la paraffine à température ambiante aboutit à l'obtention de blocs prêts à être coupés. (**Weather et al., 2001**).

IV.9.3.1.5 Réalisation des coupes fines

Les explants inclus dans les blocs de paraffine ont été coupés au microtome « Leica » (**Photo IV.22**) à une épaisseur de 7 μ m. Les rubans de coupes sont ensuite étalés sur des lames à l'aide de l'eau gélatineuse préalablement préparée (**Annexe II**) (**Selmani, 2018**).



Photo IV.22 : Microtome de type Leica. (**Photo originale, 2018**).

IV.9.3.1.6 Déparaffinage

Cette étape sert à éliminer toute la paraffine autour des tissus par le traitement des coupes dans des bains successifs de toluène pur à raison de 10 minutes chacun.

IV.9.3.1.7 Réhydratation

Elle est réalisée par un passage des coupes dans les bains suivants : - Trois bains d'éthanol 100°, pendant 10 mn. - Un bain de mélange éthanol 100° (4V) - formol (1V), pendant 50 mn. - Rinçage à l'eau courante, puis séchage sur plaque chauffante à 40°C. (Selmani, 2018).

IV.9.3.2 Coloration des coupes

IV.9.3.2.1 Coloration par le Bleu de Cotton (Philips et Hayman, 1970)

Les coupes sont passées dans une solution du KOH à 10%. Les flacons sont retirés et placés dans une étuve réglée à 90°C pendant 60 mn et ce, jusqu'au changement de la couleur des coupes. Un rinçage à froid s'en suit avec du KOH à 10%.

Un second bain au KOH 10% à 90°C est réalisé, par la suite un bain à l'acide lactique à 10% pendant 4 mn appliqué sur les rondelles de racines infectées est nécessaire pour neutraliser l'effet du KOH.

IV.9.3.2.2 Coloration par le perchlorure de Fer

Il colore les tanins en noire bleuâtre. (Bacha et al., 2000; Roger et al., 2001).

IV.9.3.2.3 Coloration par le Rouge Congo-Vert de Méthyle

Les coupes transversales et longitudinales des racines de trois variétés sensible, tolérante et résistante ayant subi la double coloration de routine : Vert de Méthyle, Rouge Congo. (Bacha et al., 2000).

IV.9.4 Montage et observations macro-microscopique

Les observations sont faites au microscope photonique ou électronique au laboratoire et on prend les photos aux différentes échelles. (Photo IV.23)



Photo IV.23 : Observations microscopique des coupes histologiques des plantules de palmier dattiers. (Photo originale, 2018).

IV.9.5 Effet du goudron végétal sur la croissance du FOA *in vivo*

Après la confirmation d'installation de l'agent pathogène "souche virulente" de cultivars de palmier dattier ; on va les traiter par le goudron végétal des arbrisseaux par des remèdes ou de préférence par voie injectable intraracinaire de volume 0.5 ml de goudron pure.

(Photo IV.24)



Photo IV.24 : Traitement par le goudron végétale des cultivars des palmiers dattiers infectés.

(Photo originale, 2018).

Chapitre V :
Résultats et Discussion

V.1 Extraction du goudron végétal

Les goudrons végétaux sont des produits résineux extraits par pyrolyse du bois ou de l'écorce. Le principe d'extraction est de faire exsuder la matière première en la soumettant à un traitement thermique direct; l'exsudat se transforme alors en goudron, huile et fraction aqueuse.

V.1.1 Rendement

Le rendement d'une extraction est la quantité du goudron ou d'huile récupérée dans la phase aqueuse rapportée à la quantité de matière première (bois de *Juniperus phoenicea* L) exprimé en pourcentage, et correspond au rendement moyen d'une substance. L'extraction par distillation sèche (pyrolyse), nous a permis d'avoir un rendement de l'ordre de (0,542%) pour la partie goudron et (1,48%) pour la partie huileuse (Figure V.01).

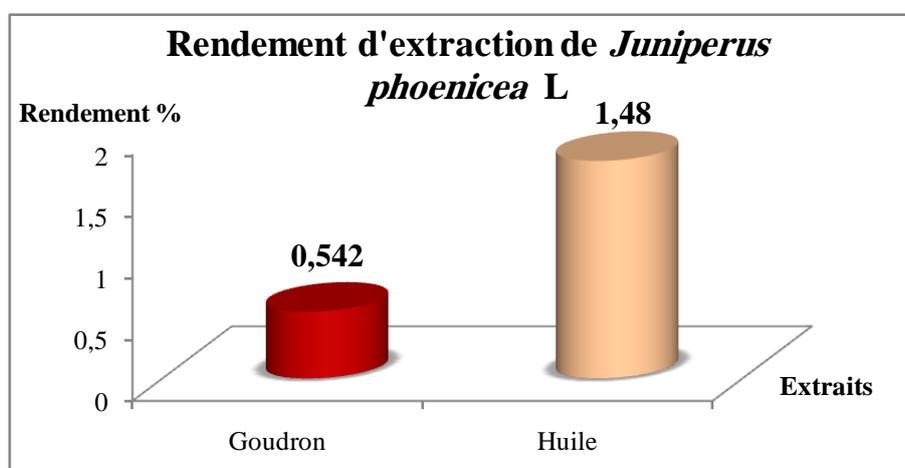


Figure V.01: Rendement d'extraction du goudron et l'huile végétale de *J.phoenicea* L.

Les caractéristiques organoleptiques portant essentiellement sur la couleur et l'odeur de goudron obtenu par pyrolyse ou distillation sèche, montrent qu'il a une odeur spécifique, connue chez l'huile de cade « Guetrane » et présente une couleur noirâtre (Photo V.01).



Photo V.01: Résultats de l'extraction par pyrolyse, A : Phases huileuse et goudroneuse, B : Aspect du goudron, C : Etat du bois après pyrolyse. (Photo originale, 2018).

Par ailleurs, la variation du rendement est sous l'influence de divers facteurs, entre autres, l'ensoleillement, la nature et les composants du sol, la température, l'altitude, le climat, la région de culture et la composition génétique des individus (Achak, 2006; Massei et al., 2006).

Toutefois, le rendement en goudron, restent plus élevés que ceux des genévriers rouges de la Grèce (0,21 %), de la sous-espèce *turbinata* d'Espagne (0,30 %), d'Égypte (0,36 %) et de la sous-espèce *eu-mediterranea* du Portugal (0,41 %) (El-Sawi et al., 2007; Adams et Boratynski, 2014). Cette variation dans le rendement peut être attribuée non seulement à la partie de la plante étudiée, mais également à l'emplacement géographique spécifique de cette espèce. (Cavaleiro et al., 2006).

V. 2 Caractérisation physico-chimique du goudron et la fraction huileuse

V. 2.1 Caractéristiques physiques

V. 2.1.1 Matière sèche (MS)

La matière sèche ressemble au résidu sec appelé parfois extrait sec. Il s'agit des matières restantes après séchage de l'échantillon à 105°C jusqu'à l'obtention du poids constante. La figure (Figure V.02 et V.03) représente respectivement la matière sèche et la teneur en eau du goudron et la fraction huileuse.

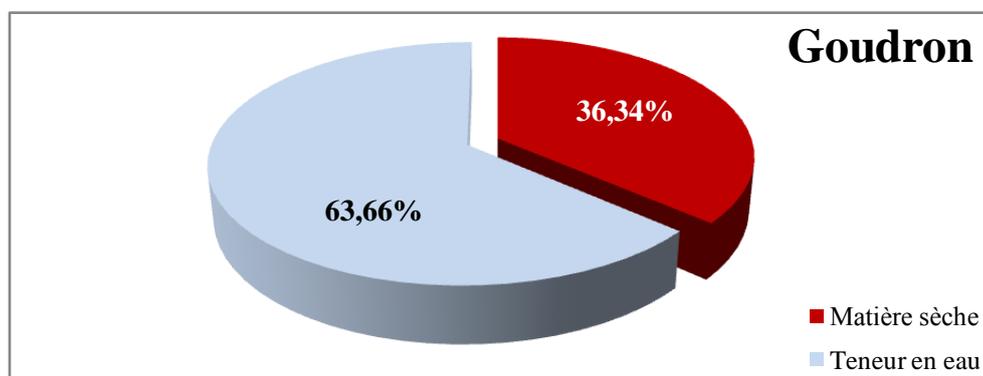


Figure V.02: Teneur en eau et matière sèche du goudron *Juniperus phoenicea* L.

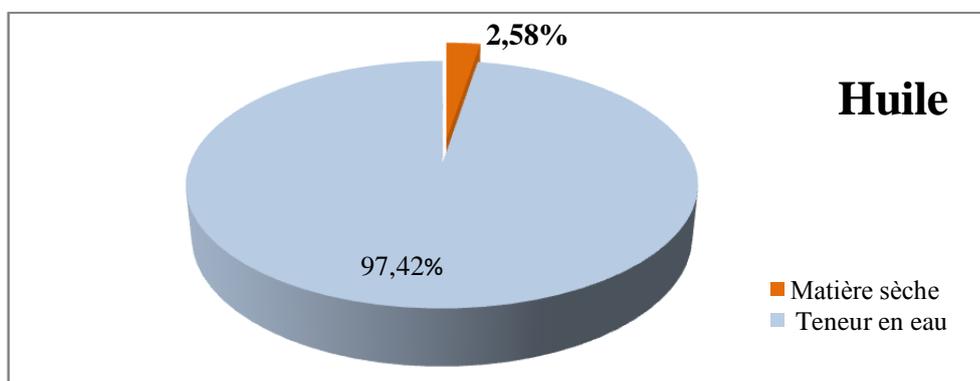


Figure V.03: Teneur en eau et matière sèche de la fraction huileuse de *J. phoenicea* L.

La matière sèche du goudron et la fraction huileuse du *J. phoenicea* L, laisse apparaitre que le goudron végétal présent une valeur plus élevé (**36,34%**) a celle de la fraction huileuse qui atteinte (**2,58%**). Cette différence est peut être due à la température d'ébullition, mode et durée d'extraction (fraction huileuses élu en premier lieu et goudron végétal en second lieu), période de récolte et le mode de séchage ainsi que l'origine des plantes étudiées (**Rohloff, 2002, Lee et al., 2003 ; Afssaps, 2008**). Elle aussi dépend d'un grand nombre de facteurs d'ordre naturel (génétique, localisation, maturité, sol, climat, lumière, etc.), ou technologiques (mode de culture, séchage, stockage) (**Figueredo, 2007**).

V.2.1.2 Indice de réfraction (IR)

Le phénomène de réfraction désigne le changement de direction de la lumière au passage d'un milieu à un autre. Ce du goudron de *Juniperus phoenicea* L. est de:**1,5112**, en revanche, sa fraction huileuse est de: **1,3423** (**Figure V.04**).

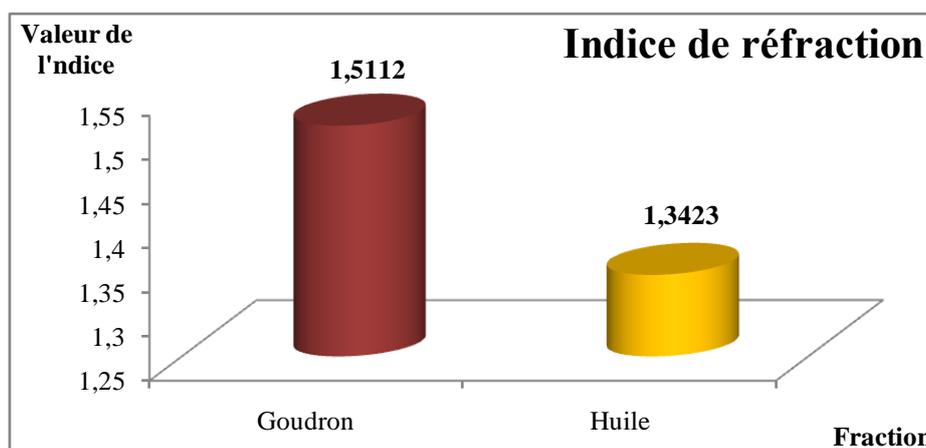


Figure V.04: Indice de réfraction du goudron et leur fraction huileuse.

Selon les travaux de **Wilbur, (2001)**, il montre que l'indice de réfraction de goudron végétal varie de (**1.510 à 1.530**), ce qui confirme notre résultat; en revanche, elle est de l'ordre de (**1.3850**) pour l'*Acacia tortilis subsp. raddiana* (**Mezouari et al., 2019**). Par contre la fraction huileuse présente une valeur inférieure à celle citée par la littérature (**Terfaya et al., 2017**).

Toutefois, cette valeur est proche à celles obtenues avec différents goudrons végétaux commercialisés au niveau de la wilaya de Béchar : Zazia (1,47), El Rawda (1,47), Huile de cade (1,51). (**Benlarbi, 2019**) et ce qui est synthétisé au laboratoire à partir du *Juniperus oxycedrus* (**Terfaya et al., 2017**) et *Olea europea sylvestris* (**Terfaya, 2015**). Par ailleurs, l'indice de réfraction varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé (**Boukhatem et al., 2010**).

V.2.1.3 Densité relative à $t/20^{\circ}\text{C}$

La densité d'une substance est le rapport de sa masse volumique à la masse volumique à celle de l'eau. Elle constitue un critère physique très important pour contrôler la qualité, elle peut facilement donner un aperçu sur la naturalité du produit ainsi que les tentatives de fraude adultération (Hellal, 2011).

Les résultats de la densité relative obtenue (Figure V.05) sont comme suite : (1,10) pour la partie goudronneuse, par ailleurs sa fraction huileuse est de l'ordre de (0,991).

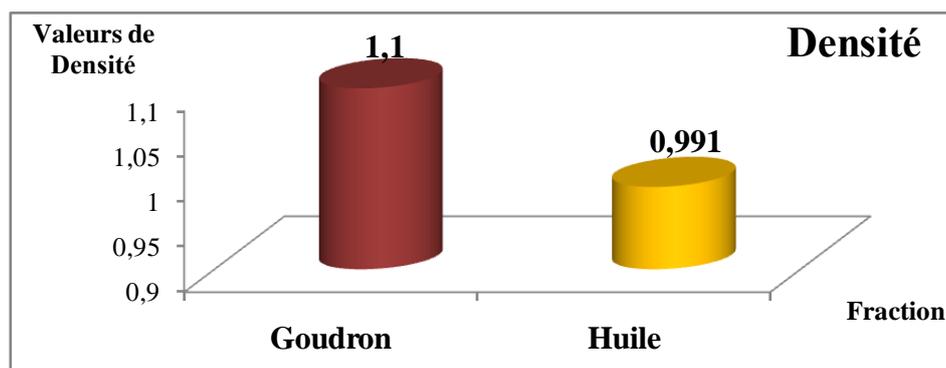


Figure V.05: Densité relative du goudron et la fraction huileuse.

Les valeurs marquées sont proche similaire à celles rapportés par les travaux de Wilbur. (2001), Terfaya et al. (2017) et Benlarbi. (2019) qui rapportent que le goudron végétal est caractérisé par une densité de (0.980-1.055), se qui confirme nos résultats.

En revanche, elle est de l'ordre de (1.15) pour *Acacia tortilis subsp. raddiana* (Mezouari et al., 2019); alors que les travaux de Jenner et al. (1964) sont en concordance avec nos résultat pour la fraction huileuse.

V. 2.2 Caractéristiques chimiques

V.2.2.1 pH

Le pH « Potentiel Hydrogène » est défini par la concentration en ions H^+ , il sert à mesurer l'acidité d'une solution. L'acidité d'une solution dépend de concentration en ion H_3O^+ . (Gavrilovic et al., 1996 ; Dumas et Gédéon, 2003). Le pH du goudron et sa fraction huileuse sont mentionnés dans la (Figure V.06).

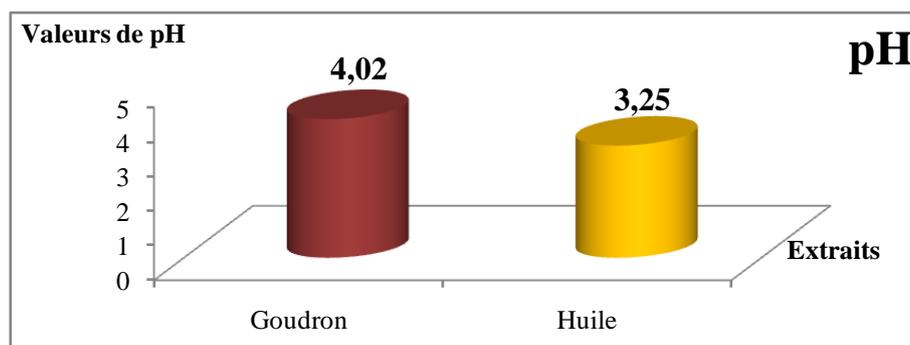


Figure V.06: pH du goudron et leur fraction huileuse.

Les pH obtenues montrent qui ont un caractère acide, (4.02) pour goudron et (3.25) pour la fraction huileuse.

Ce pH est légèrement inférieur aux résultats obtenus avec les trois goudrons commercialisés, dont ELRawda (5,75), Huile de cade (5,78) et Zazia avec une valeur légèrement acide (6,59). (Benlarbi *et al.*, 2015) et (5,2) pour *Acacia tortilis subsp. raddiana* (Mezouari *et al.*, 2019).

Nos résultats sont en concordance avec les travaux de Terfaya *et al.* (2017) pour le *Juniperus oxycedrus* et *Olea europea sylvestris* (Terfaya, 2015), tandis que les travaux de Makhloufi *et al.* (2014) exhibent que le pH de goudron végétal varié entre (5.75- 6.59).

V.3 Analyse chromatographique du goudron végétal

V.3.1 Fractionnement par chromatographie liquide sur colonne (CLC)

Dans le but de séparer et connaître les compositions du goudron ; on a effectué une chromatographie sur colonne et pour le choix de la phase mobile ; on a essayé des mélanges des solvants « éluant » différents les uns des autres selon le degré de polarité « polaire ; intermédiaire ; non polaire » ; éthanol, acétate d'éthyle et l'hexane, a des volumes bien précis. v/v/v ; « hexane 100 % » - « hexane 90 %, acétate d'éthyle 10% », « acétate d'éthyle 90%, hexane 10 % », « hexane 20 %, acétate d'éthyle 80% », « hexane 30 %, acétate d'éthyle 20%, éthanol 50% », « hexane 50 %, acétate d'éthyle 20%, éthanol 30% ».

De ce fait; le meilleur éluant « phase mobile » c'est celui qui nous a donné une bonne séparation des spots. (Photo V.02).

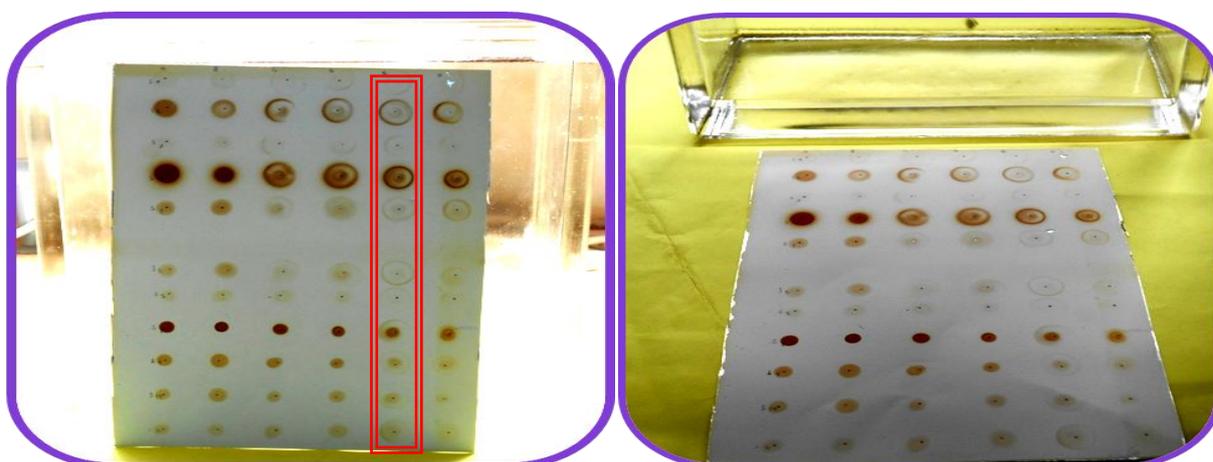


Photo V.02 : Choix de la phase mobile. (Photo originale, 2018).

De raison à la bonne séparation des spots ; on a choisit l'éluant numéro « 5 » qui est un mélange de l'hexane 30%, acétate d'éthyle 20%, éthanol 50 %.

Le goudron brut de *Juniperus phoenicea* L. a été soumis à une séparation chromatographie liquide (CL) sur colonne en utilisant le gel de silice comme phase stationnaire. La phase mobile est un mélange de solvants " l'hexane 30%, acétate d'éthyle 20%, éthanol 50 %".

Après élution, et selon la couleur, on a constaté la présence de trois fractions de couleurs distincts (**Photo V.03**).



Photo V.03 : Fractions obtenues par chromatographie sur colonne. (**Photo originale, 2018**).

V. 3.2 Chromatographie sur couche mince

Les fractions obtenues par la suite sont séparées ultérieurement sur chromatographie sur couche mince de gel de silice sur support en plastique et révélées sous la lampe UV à 254 nm.

Les taches sont colorés et sont visible (**Photo V.04, 05**); facilement observable sur la plaque, après le calcul des rapports frontale « R_f ». (**Tableau V.01**).

Tableau V.01 : Séparation CCM du goudron brute et les fractions obtenus par CLC.

Goudron végétale	N ^{bre} des spots	Rapport frontal (R_f)
Brute	05	0,340- 0,437-0,613 -0,864- 0,956.
Fraction 01	05	0,140- 0,337-0,413 -0,664- 0,896.
Fraction 02	07	0,215- 0,357-0,427-0,512 -0,678-0,778-0,829
Fraction 03	04	0,319-0,473-0,725- 0,910.

Les photos ci-dessous montrent la séparation des composants par CCM de goudrons brute et fractions goudronneuses de *Juniperus phoenicea* L. issues par CLC.

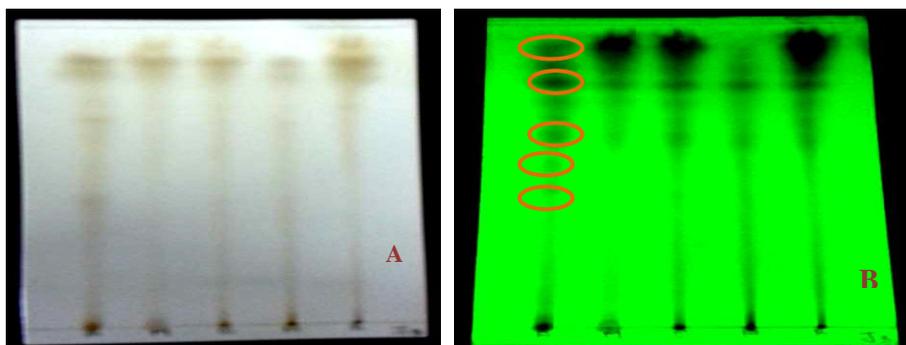


Photo V.04: CCM du goudron brute; (A) sans révélation (B) avec révélation à UV.

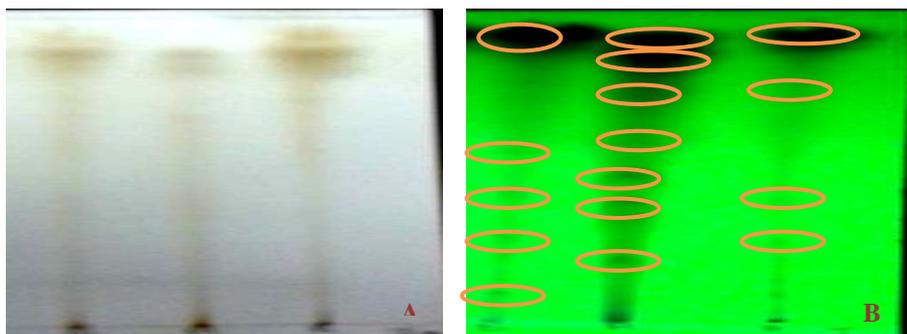


Photo V.05: CCM des fractions goudronneuses: (A) sans révélation (B) avec révélation à UV

D'après les résultats obtenus; la CCM du goudron brute, nous a permis de déceler vingt et un "21" spots; 05 du goudron brute et "16" spots répartis entre trois fractions goudroneuses bien distincts. Tandis que les travaux de **Makhloufi et al. (2014)** montrent la présence de 33 spots pour goudron *d'Olea europeae* et 43 spots pour goudron de *Juniperus oxycedrus*.

Par ailleurs, selon les travaux de **Keum et al. (2006)**, ils ont constatés que le goudron végétal contient deux cent vingt molécules, les constituants majeur sont mono, sesqui ou diterpenes

V.4 Matériel fongique

V.4.1 Isolement et caractérisation macroscopique de l'agent pathogène

Au bout de 4 à 5 jours, on a noté l'apparition des secteurs mycéliens aux extrémités des fragments, se développent et forment un thalle. Les cultures purifiées sont bouturées en boîte de Pétri sur l'eau gélosée. Les colonies sont ensuite conservées sur PDA en tube à essai pour la caractérisation macroscopique et microscopique. Par ailleurs, 10 isolats ont été obtenus à partir de rachis et de racines de palmier infecté (**ANNEX**) dont les caractéristiques culturelles ou de leur clone a révélé la présence de plusieurs morphotypes distincts (**Photo V.06**) : duveteux, ras muqueux, cotonneux, ras sénéscent. Ce qui montre que les morphotypes varient d'une souche à l'autre et peuvent ainsi évoluer d'un type à l'autre et que le morphotype ras muqueux semble être le plus dominant parmi les thalles obtenus qui a été également signalé par plusieurs auteurs (**Tantaoui et Boisson, 1991; Dossa, 1993; Fernandez et al., 1998 ; Hadjraoui et al., 2017**).

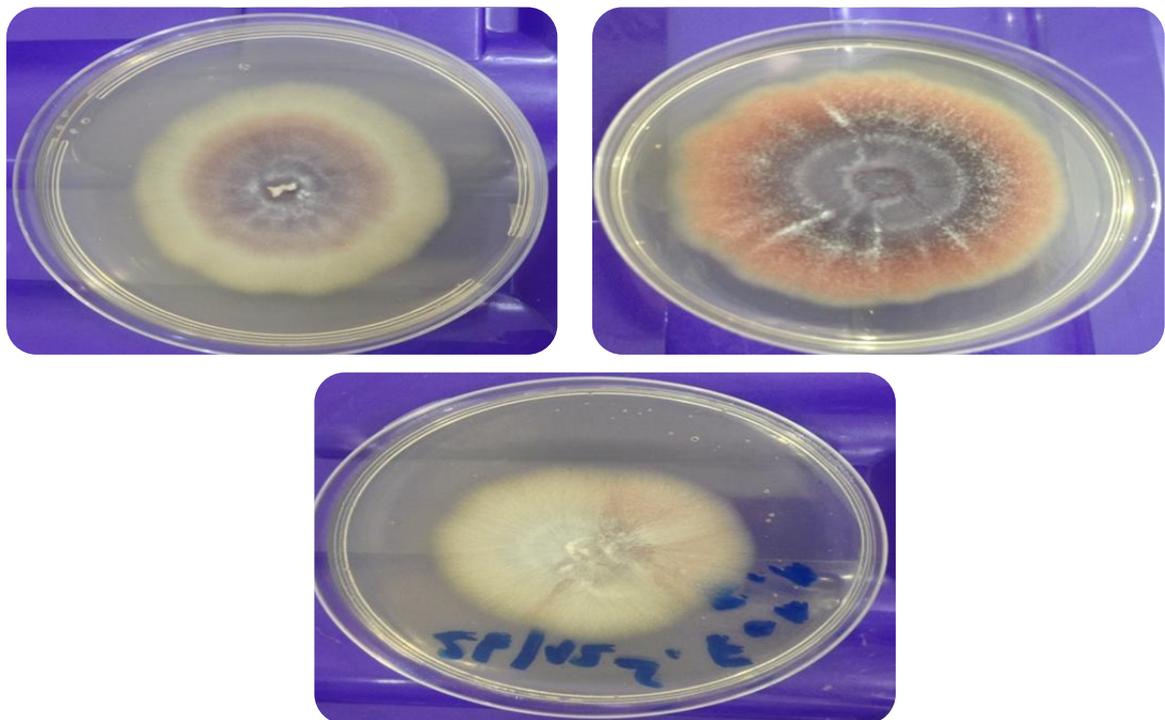


Photo V.06: Aspect du FOA sur milieu PDA à partir de matériel végétal infecté. (**Photo originale, 2019**).

V.4.2 Caractérisation microscopique

Les caractères microscopiques sont recherchés dans toutes nos souches purifiées avant de procéder au clonage. L'observation microscopique a montré la présence d'un thalle cloisonné avec de courtes monophialides sur lesquelles se trouvent des microconidies, ainsi que la présence de macroconidies et de chlamydozoospores. Ces caractéristiques, illustrées sur la **Photo V.07**, indiquent la présence de l'espèce *Fusarium oxysporum* dans les rachis infectés. Après purifications, les souches sont conservées en tubes, sur milieu PDA.

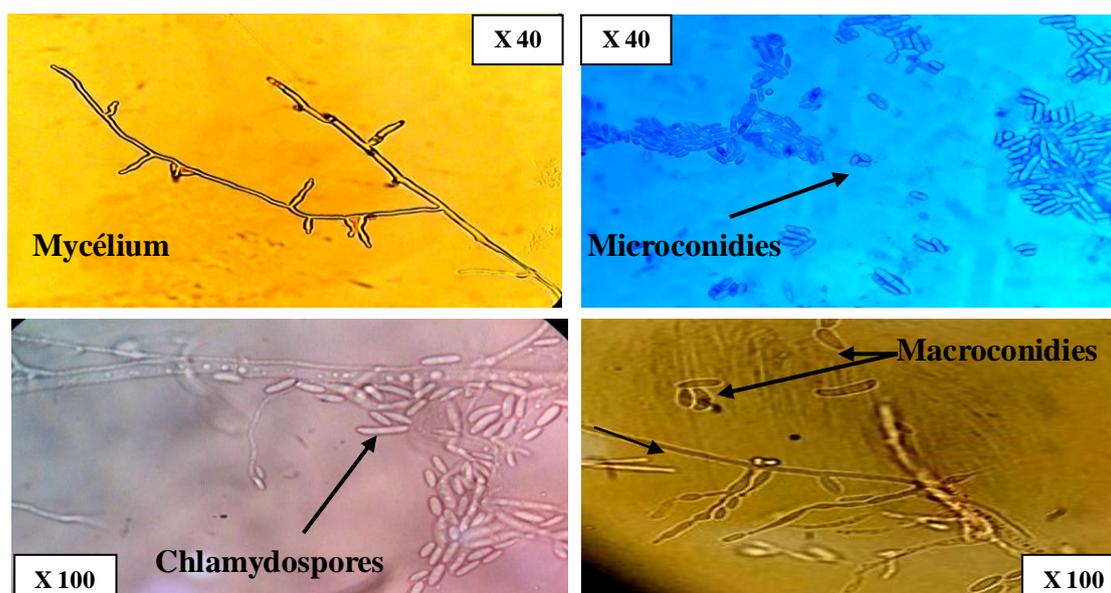


Photo V.07: Observation microscopique du *Fusarium oxysporum* (Photo originale, 2019).

Dix isolats de *Fusarium oxysporum* ont été collectés après l'isolement à partir des rachis infectés du palmier dattier, puis la culture monospore. Les origines des isolats, ainsi que, leurs morphotypes sont notées dans le **Tableau V.02**.

Tableau V.02: Caractéristiques des isolats de *Fusarium oxysporum albédenis* étudiés.

Isolats	Echantillon	Cultivar	Site	Morphotype	Pigmentation
FOA (S1)	Rachis	Feggousse	Béni Ounif	Ras muqueux	Blanchâtre orange
FOA (S2)	Rachis	Hmira	Béni Ounif	Cotonneux	Blanchâtre violète
FOA (S3)	Rachis	Tinaceur	Béni Ounif	Duveteux	Blanchâtre
FOA (S4)	Rachis	Toumliha	Béni Ounif	Ras muqueux	Orange
FOA (S5)	Rachis	Ghars	Béni Ounif	Ras muqueux	Marron
FOA (S6)	Rhizosphère	Hmira	Beni-abess	Cotonneux	Blanchâtre orange
FOA (S7)	Rhizosphère	Tinaceur	Beni-abess	Ras muqueux	Orange
FOA (S8)	Rachis	Feggousse	Beni-abess	Ras muqueux	Blanchâtre orange
FOA (S9)	Rachis	Toumliha	Beni-abess	Duveteux	Blanchâtre
FOA(S10)	Rachis	Ghars	Beni-abess	Cotonneux	Blanchâtre

Ce travail nous a permis de montrer que le FOA est l'agent de la fusariose vasculaire du palmier dattier dans les régions prospectées. Par ailleurs, son degré de gravité et sa répartition

dans certaines régions prospectées semble toutefois peu alarmant. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par (Tantaoui et Boisson, 1991 ; Fernandez *et al.*, 1995).

Ainsi, les caractères morphologiques (macro et microscopiques) permettant d'identifier l'espèce *F. oxysporum*, et nous avons mentionné l'absence d'autres caractères moins spécifiques tels que les organes massifs. Selon certains auteurs, la stabilité morphologique d'une souche de FOA fraîchement isolée de plante infectée est conditionnée par deux facteurs: le mode de propagation en culture pure et l'âge des cultures utilisées pour la multiplication (Dossa, 1993). Néanmoins, la présence de certains de ces caractères est probablement liée à des facteurs externes tels que la composition du milieu de culture, l'âge de la culture-mère et le vieillissement du thalle (Benlarbi, 2019).

La constitution de la collection de FOA nous a permis de poursuivre ses études sur la pouvoir pathogène et la caractérisation moléculaire, qui sera étudiée à l'aide d'outils moléculaire tels que la PCR. Parallèlement, nous avons essayé d'élaborer un biopesticide d'origine végétale, à base de goudron végétal.

V.4.3 Identification moléculaire des isolats par la méthode de PCR

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

D'après les résultats obtenues, l'amplification de l'ADN génomique par un couple d'amorces spécifique à FOA, TL3-FOA28, a révélé une bande spécifique qui a la taille de 400 pb. Concernant la bande spécifique de taille 200 pb, l'amorce couplée BIO3-FOA1 a révélé une bande spécifique (Photo V.08).

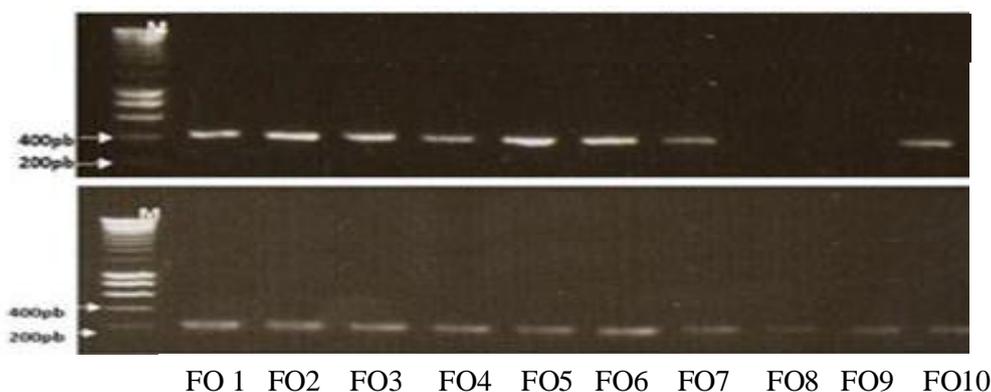


Photo V.08: Gels d'agarose montrant les produits PCR de l'ADN des isolats de *Fusarium*.

Dans cette étude, l'amplification par PCR avec les paires d'amorces universelles spécifiques des champignons a été obtenue à partir de préparations d'ADN de l'ADN des 10 isolats de *Fusarium* et des bandes claires ont été observées sur le gel (**Photo V.08**).

L'amplification a donné un produit d'environ 600 pb. De plus, l'analyse par PCR a été un succès pour tous les isolats et a montré un produit de la taille désirée (550 pb). Ces amorces amplifient un fragment d'environ 550 bp (amorces non incluses) dans le gène de l'ARN des champignons 28S (Vilgalys, 1990; Fernandez et al., 1998).

D'après les résultats obtenus; on peut conclure qu'elles sont significatifs et concordent avec les travaux de Mezouari et al. (2019) ; Benlarbi (2019) et Bendjima et al. (2020).

V.4.4 Test du pouvoir pathogène

Les tests de pouvoir pathogène ont été réalisés sur de jeunes plants de palmier dattier au stade deux feuilles. Les inoculations ont pour but essentiel de vérifier le pouvoir pathogène des différents isolats de *Fusarium oxysporum*. Les résultats du test ont montrés que les 10 souches de FOA isolées à partir des rachis infectés sont pathogènes et ils sont ainsi identifiés parmi les autres isolats de *F. oxysporum* obtenus à partir de jeunes plants témoins; vu les symptômes (**Photo V.09**) qu'ils ont été manifestés après \pm 30 jours de l'inoculation, par un jaunissement des feuilles, qui a commencé du bas vers le haut, suivi d'un flétrissement et rétrécissement, puis la mort totale des plantules. (OEPP/EPP0, 2003).



Photo V.09: Manifestation des symptômes externes sur les plantules inoculées par les isolats pathogènes et comparaison avec la plante Témoin. (**Photo originale, 2019**).

D'après les résultats obtenus, il apparaît que les jeunes plantules de palmier dattier ne sont totalement prédisposées à l'attaque du FOA qu'à partir du stade où les deux feuilles sont assez bien développées, ce qui correspond à deux mois d'âge dans nos conditions d'essai.

Le test de pathogénicité à donner un taux de mortalité de 30% dont la totalité des semis inoculés présentaient des symptômes de brunissement des racines, suivi de l'enroulement (du roulage) des feuilles, du flétrissement et de la mort des semis. Ainsi, le test a validé les procédures d'isolement et les critères de sélection (Ouinten, 1996; Benlarbi, 2019).

Cette observation va dans le sens de ce qui a été rapportés par certains travaux qui signalent que les isolats d'un matériel végétal atteint de la fusariose sont les plus agressives par conséquent, les isolats étaient très probablement des *Fusarium oxysporum* sp *albedinis* (OEPP/Eppo, 1994 ; Djekiref *et al.*, 2018).

En effet, l'infection artificielle est souvent réalisée dans des conditions très différentes de celles où se déclare la maladie au champ. D'autre part, le pouvoir pathogène des champignons en générale n'est pas toujours facile à évaluer. Plusieurs interactions entre la plante, le pathogène et l'environnement entrent en ligne de compte pour déterminer la gravité des symptômes observés (El-ghorfi, 1987). Bulit *et al.*, (1967) ont classaient les isolats de *F. oxysporum*, isolées à partir d'un palmier dattier, en trois catégories ; selon l'importance des symptômes qu'elles provoquaient *in vitro* sur les plantules de l'espèce hôte (*P. dactylifera* L.) : isolats de FOA agressives (à pouvoir pathogène élevé) ; isolats de FOA peu agressives (à pouvoir pathogène faible) ; isolats de FOA non agressives (à pouvoir pathogène "nul" ; n'appartenant plus donc à la forme spéciale *albedinis*). D'ailleurs, Molot *et Mas* (1975), ont mis en évidence l'influence de la température sur le pouvoir pathogène de *F. oxysporum* f.sp. *melonis*. Ils ont constaté que les températures les plus favorables à la croissance mycélienne du champignon *in vitro* se situe entre 24 à 26°C ne correspondant pas à celles qui entraînent les symptômes les plus graves (18 à 22°C). Selon d'autres auteurs, le degré d'agressivité peut se manifester plus ou moins nettement selon le stade auquel la plante est inoculée (Yezli, 2010).

V.5 Etude de l'activité anti-FOA

V.5.1 Etude de l'activité anti-FOA *in vitro*

L'une des caractéristiques de certains goudrons végétaux est leur capacité de ralentir et/ou d'inhiber l'activité et la croissance des champignons phytopathogènes.

Dans cette optique, nous avons réalisé la méthode de diffusion en milieu solide et la méthode de disque pour évaluer l'activité antifongique, la détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI) et la concentration minimale fongicide(CMF).

V.5.1.1 Méthode de disque

La méthode des disques est une technique permettant d'avoir une idée préliminaire sur la capacité d'un extrait à inhiber la croissance fongique.

En effet, l'activité antifongique se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance mycélienne autour du disque contenant l'extrait. La lecture s'effectue par la mesure du diamètre d'inhibition observé (Bssaibis *et al.*, 2009).

V.5.1.1.1 Méthode de disque du goudron brute

Sachant que le diamètre de la zone d'inhibition est dépendant soit à la sensibilité et ou à la résistance de chaque souche de FOA aux substances qui composent cet extrait; les résultats de l'activité antifongique pratiquant la méthode de disque du goudron végétal brute par rapport au témoin qui contient des disques de Cycloheximide "Cyclo" sont représentés dans la (Figure V.07).

Les résultats des zones d'inhibition sous l'effet des disques imbibés par le goudron brute, montrent qu'ils varient entre 9 à 19 mm.

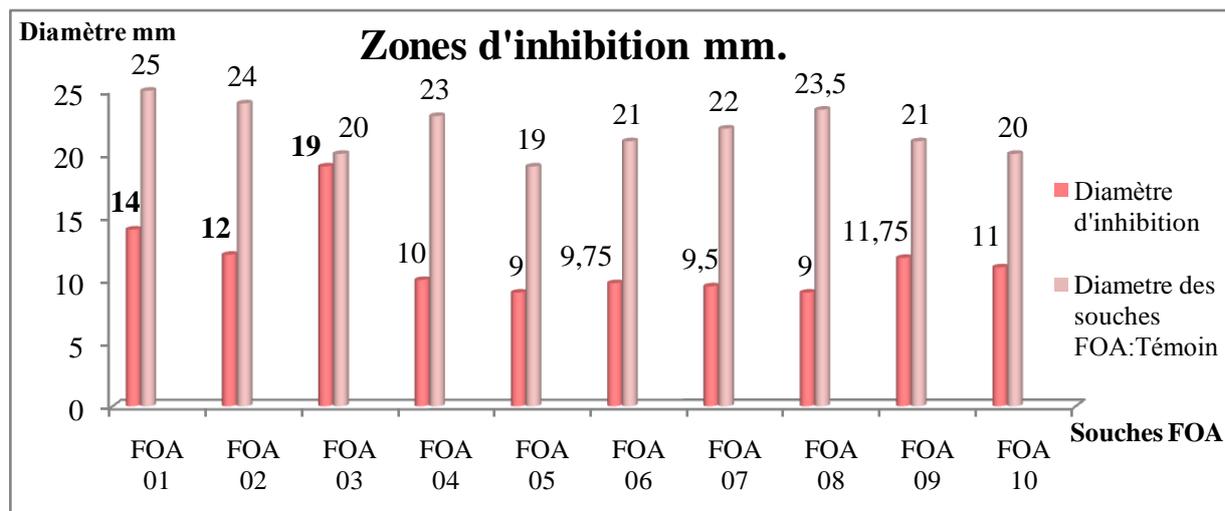


Figure V.07: Diamètres des zones d'inhibition par la méthode de disques de goudron brute.

D'après la représentation graphique, il ressort que les pourcentages d'inhibition ou la mesure des indices antifongiques nous a permis de constater que la sensibilité des souches testées vis-à-vis le goudron végétal a été variable d'une souche à une autre (S 01 à S 10).

Les résultats obtenus par la méthode de disques utilisant 5 μ l/disque du goudron végétal. Les zones d'inhibition varient entre 7 et 19 mm. La zone la plus élevée est celle de la souche (S03) (19mm). (Annexe III).

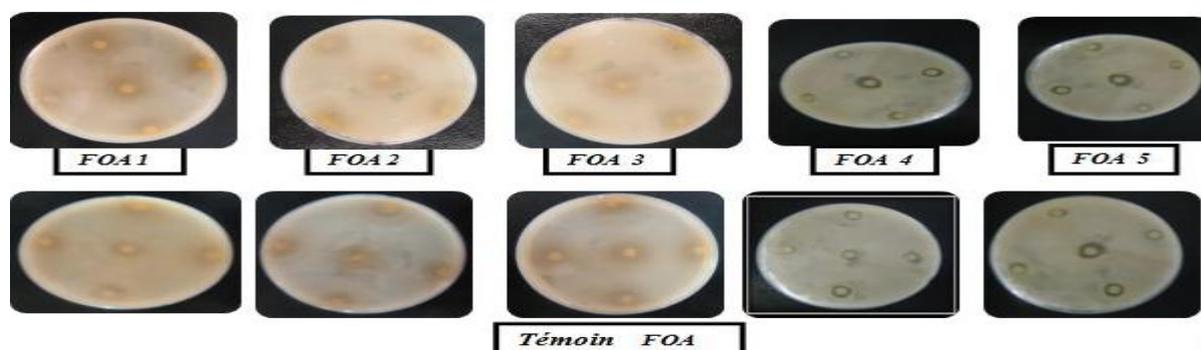


Planche V.01: Méthode de disques de goudron végétal brute.

Selon Ponce *et al.* (2003) et Moreira *et al.* (2005), la sensibilité des germes a été classée par le diamètre des halos d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour les diamètres moins de 8 mm ; sensible (+) pour les diamètres de 9 à 14 mm ; très sensible (++) pour les

diamètres de 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour les diamètres de plus de 20 mm.

De ce fait et en comparant avec les témoins, on peut conclure que toutes les souches ont des degrés de sensibilité remarquables; "S 03" est considéré comme la souche la plus sensible. (Planche V.01)..

V.5.2.1.2. Méthode de disque de la fraction huileuse

Les résultats de l'activité antifongique des fractions huileuse (5µl/disque) sont figurés dans la (Figure V.08).

Les résultats des zones d'inhibition sous l'effet des disques imbibés par les fractions huileuses, montrent qu'ils varient entre 6 à 12 mm.

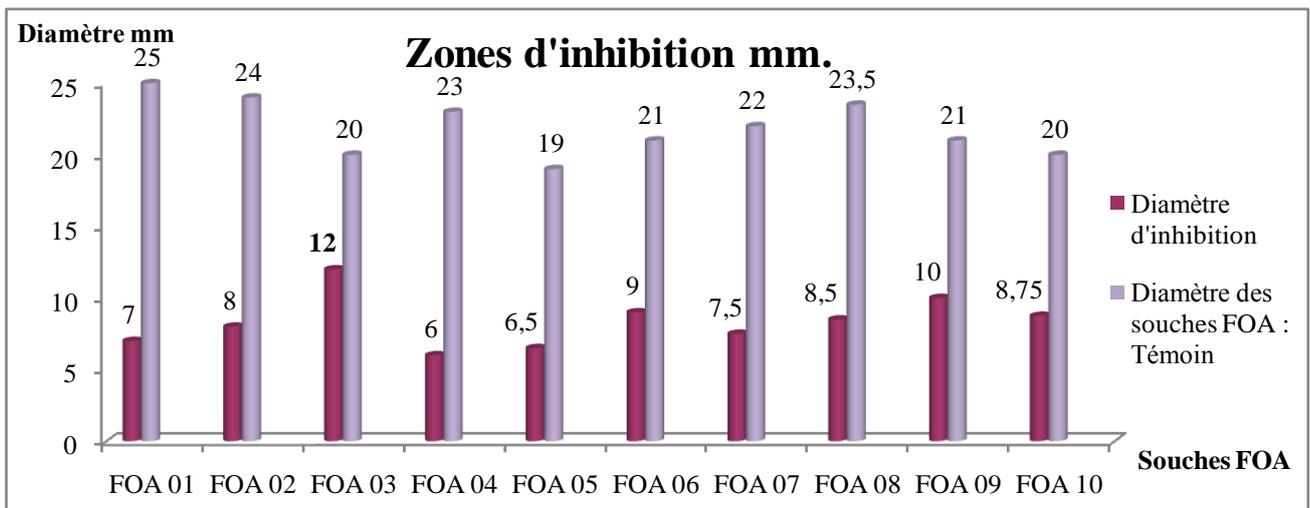


Figure V.08: Diamètres des zones d'inhibition par la méthode de disques de fraction huileuse.

Tenons en compte les travaux de Ponce *et al.* (2003) et Moreira *et al.* (2005) et comparant avec les témoins; on peut déduire que seulement les souches S 03, S 06, S08, S09, S10 qui ont exercés un effet inhibiteur variable; par contres, les autres souches sont considéré comme non sensibles puisqu'elles ont des diamètres moins de 8 mm.

La souche "S 03" est considéré comme la souche la plus sensible. (Planche V.02) (Annexe III).

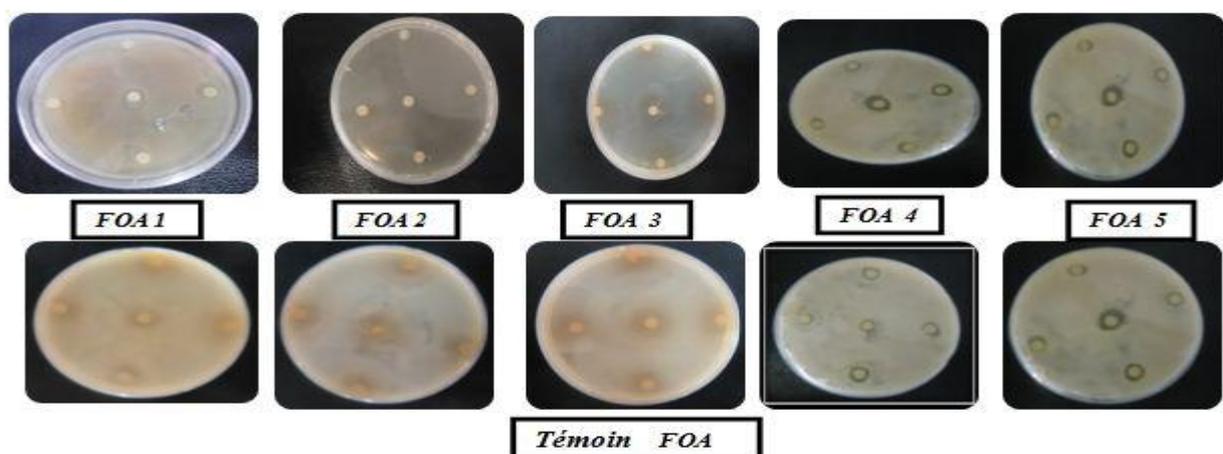


Planche V.02: Effet de fraction huileuse par la méthode de disques.

V.5.2.1.3 Méthode de disque pour les fractions issues par chromatographique liquide sur colonne

Les résultats de l'activité antifongique des fractions goudroneuses issus de chromatographie sur colonne avec une concentration de (5µl/disque) sont figurés dans la (Figure V.09). Elles révèlent que les trois fractions exercent un effet antifongique différent l'un de l'autre, (Annexe III). La deuxième fraction F(02) exerce un effet très significatif par rapport aux autres fractions ,avec un diamètre d'inhibition de l'ordre de 17mm.

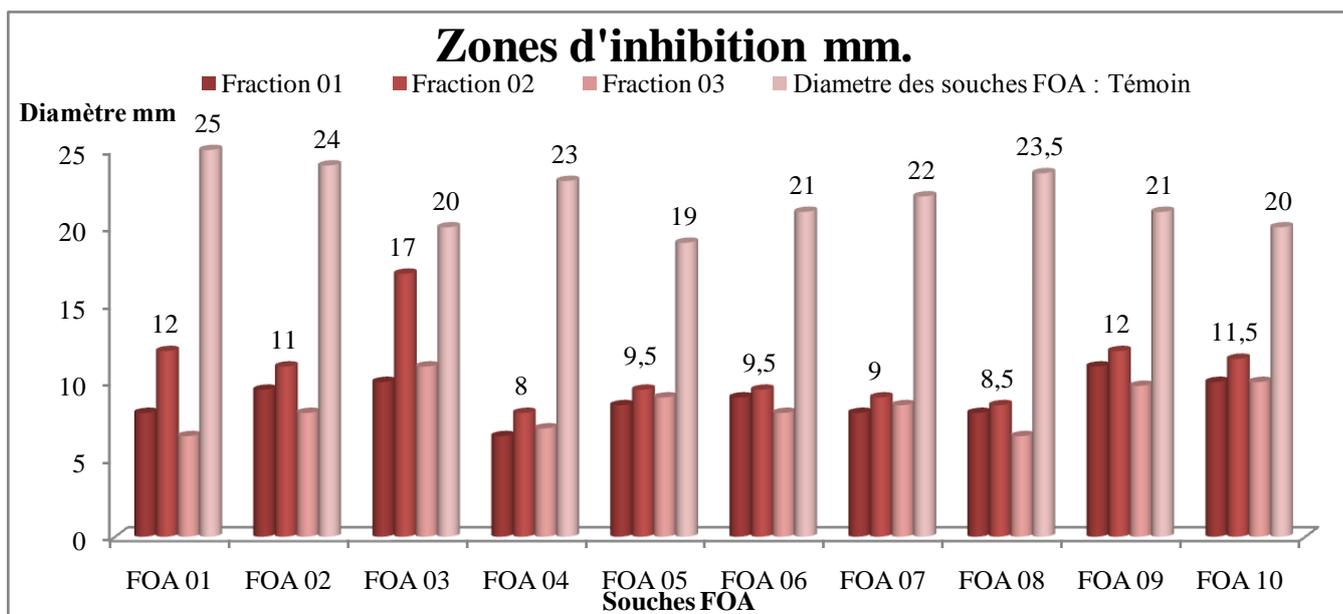


Figure V.09: Diamètres des zones d'inhibition par la méthode de disques de fraction chromatographique F(02).

La mesure des zones d'inhibition nous a permet de constater que la sensibilité des souches de FOA testées vis-à-vis les fractions goudroneuses a été variable d'une souche à une autre; et cela est très remarquable surtout pour la troisième souche "S 03" dont en considéré comme la souche la plus sensible. (Planche V.03) (Annexe III).

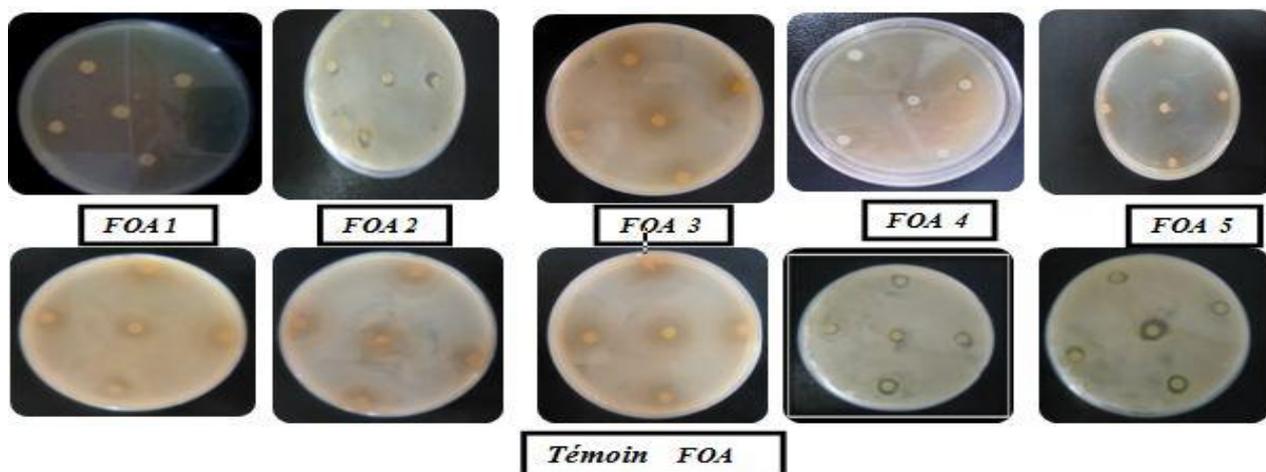


Planche V.03: Méthode de disques de fraction "02" issu par chromatographie sur colonne.

L'aromatogramme est une méthode inspirée de l'antibiogramme, il permet de déterminer l'activité inhibitrice de l'huile essentielle par mesure du diamètre d'inhibition, autour d'un disque imprégné de celle-ci, ou d'un produit à base d'huile essentielle (**Vincent, 1991**).

Les méthodes de disque sont intensivement employées pour étudier l'activité antibactérienne ou antifongique des substances naturelles et les extraits des plantes médicinales. Ces analyses sont basées sur l'utilisation des disques comme réservoirs contenant la solution des substances à examiner. Dans le cas des solutions avec une basse activité, une grande concentration ou volume est nécessaire, cependant la capacité des disques est limitée (**Gulcin et al, 2004**).

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé à effet antifongique en milieu solide dans une boîte de pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'activité antifongique sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition (**Cavallo et Mérens, 2007**).

En milieu solide, l'action antifongique du goudron végétal, la fraction huileuse testée et les fractions résultant par chromatographie sur colonne se traduit par l'apparition ou l'absence d'un halo d'inhibition autour des disques. Les activités anti-fusariennes des échantillons testés, révèlent que ces derniers possèdent une activité anti FOA vis-à-vis de l'ensemble des souches expérimentées avec une légère différence de sensibilité entre eux.

Nos résultats sont conformes à ceux obtenus par (**Mazari et al, 2010**), dans une autre étude en Algérie à base des extraits huileux de *J. phoenicea* et ils ont été examinés pour l'activité antifongique contre *Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum*. Ces résultats ont prouvé que les huiles essentielles ont modérément réduit la croissance de ces champignons. Après 7 jours d'incubation à 28 C°, il y a eu croissance de ces champignons dans les zones d'inhibition, ce qui nous conduit à déduire que l'effet de l'huile de *J.phoenicea* sur la souche fongique testée est fongistatique.

En effet **Hayouni et al (2007)** ont montré que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer sur l'activité antibactérienne et antifongique des composés phénoliques de *J.phoenicea*. La sensibilité des germes utilisés peut aussi être dû au fait que *J.phoenicea* utilisée durant notre étude est très riche en composés phénoliques qui peuvent exhiber une activité antimicrobienne et antifongique.

V.5.1.2 Méthode de croissance radiale sur milieu solide

Rappelons que la méthode employée est celle du contact direct. Elle consiste à additionner aseptiquement un volume donné de l'extrait naturel en complétant 15 ml de milieu de culture en état de fusion pour observer l'activité antifongique du goudron, fraction huileuse ou fraction issues de séparation chromatographique.

V.5.1.2.1 Méthode de contact direct du goudron végétal brute

Les moyennes de croissance mycélienne radiale journalière de nos 10 isolats de FOA incubés à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ sur le milieu PDA_a à triple d'essai sont indiquées dans le **tableau V.03** et les **planches V.04, et V.05**.

Tableau V.03 : Concentration minimal d'inhibition du goudron brute.

C (mg/ml) Souches	Témoin	0.0006	0.001	0.002	0.003	0.005	0.006	0.012	0.024	0.039
S 01	3.5 ± 03	3.2 ± 02	2.9 ± 01	2.6 ± 04	2.3 ± 03	1.2 ± 01	0.8 ± 02	0,3 ± 03	0	0
S 02	3.6 ± 04	3.2 ± 03	2.8 ± 01	2.1 ± 02	1.9 ± 03	1.1 ± 02	0,7 ± 01	0	0	0
S 03	3 ± 03	2.1 ± 02	1.5 ± 04	0,8 ± 03	0,2 ± 01	0	0	0	0	0
S 04	4.35 ± 02	4.1 ± 03	3.7 ± 01	3 ± 04	2.2 ± 02	1.4 ± 01	0,9 ± 03	0,5 ± 02	0,2 ± 03	0
S 05	4 ± 03	3.8 ± 02	3 ± 01	2.5 ± 03	1,9 ± 04	1.1 ± 03	0,7 ± 02	0	0	0
S 06	3.6 ± 02	3.2 ± 03	2.5 ± 02	1.6 ± 04	1,0 ± 03	0,5 ± 02	0	0	0	0
S 07	3.9 ± 03	3.1 ± 02	2.8 ± 04	2 ± 03	1.6 ± 02	1.2 ± 01	0,9 ± 03	0,4 ± 02	0	0
S 08	4,2 ± 02	3,9 ± 01	3,2 ± 03	2,7 ± 04	1,4 ± 03	0,8 ± 02	0,3 ± 01	0	0	0
S 09	3,7 ± 01	3,1 ± 03	2,7 ± 02	1,4 ± 02	0,8 ± 03	0,2 ± 01	0	0	0	0
S 10	4.40 ± 03	4.0 ± 02	3.6 ± 01	2,9 ± 03	2,3 ± 02	1,6 ± 03	1,2 ± 01	0,8 ± 02	0,4 ± 02	0

D'après les résultats illustrés dans le (**Tableau V.03**), le goudron brute a réagi positivement sur toutes les souches fongique de *Fusarium oxysporum fs albedénis* testées avec une CMI très significative de l'ordre de 0.005 mg/ml pour FOA (S03); 0.006 mg/ml pour FOA (S06) et FOA (S09); 0.012 mg/ml pour FOA (S02), (S05), (S08); 0.024 mg/ml pour FOA (S01) et FOA (S07); par contre une CMI de 0.039 mg/ml pour FOA (S04) et (S10).

Les planches ci-dessous montrent la CMI du goudron brut de *Juniperus phoenicea* L vis-à-vis deux souches (S03) et (S06). (Les autres souches sont détaillées dans l'Annexe).

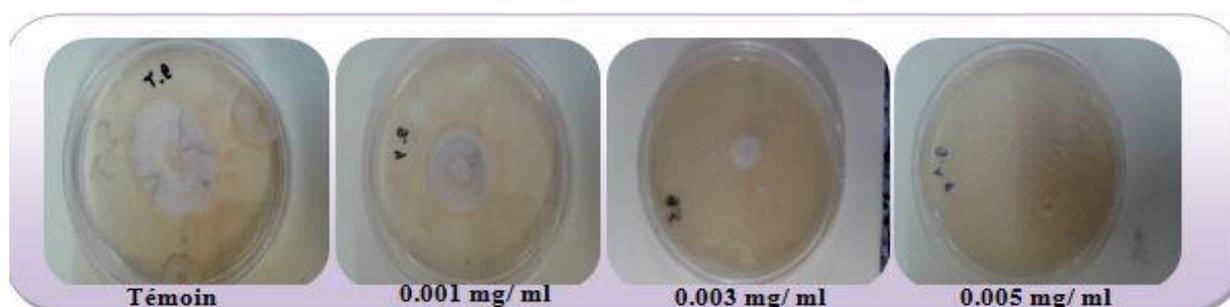


Planche V.04: Effet du goudron brute à différentes concentrations sur la souche FOA (S03).

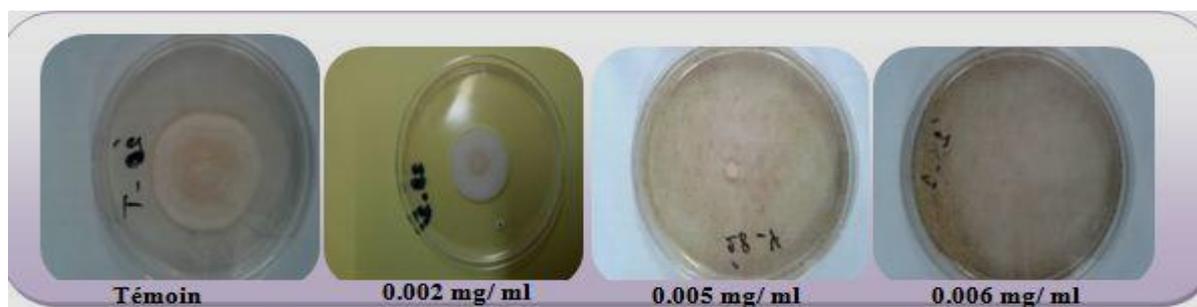


Planche V.05: Effet de goudron brut a différentes concentrations sur la souche FOA (S06).

V.5.1.2.2 Méthode de contact direct de la fraction huileuse

Les moyennes de croissance mycélienne radiale de nos 10 isolats de FOA incubés à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ sur le milieu de culture PDA_a à triple d'essai, sont indiquées dans le **tableau V.04** et représentées dans la **planche V.06,07**.

Tableau V.04 : Concentration minimal d'inhibition de la fraction huileuse de *Juniperus phoenicea* L.

C (mg/ml) Souches	Témoin	0.030	0.045	0.05	0.10	0.15	0.20	0.26	0.32	0.40
S 01	3.5 ± 03	3.3 ± 02	2.6 ± 01	2.2 ± 04	1,9 ± 03	0,8 ± 01	0,3 ± 02	0	0	0
S 02	3.6 ± 04	2,7 ± 02	2.1 ± 01	1,8 ± 02	1.5 ± 03	1.1 ± 02	0,9 ± 01	0,4 ± 02	0	0
S 03	3 ± 03	2 ± 02	1.4 ± 04	0,9 ± 03	0,5 ± 01	0,2 ± 03	0	0	0	0
S 04	4.35 ± 02	4.26 ± 03	4,05 ± 01	3,9 ± 04	3.2 ± 02	2,6 ± 01	1,9 ± 03	1,1 ± 02	0,7 ± 03	0
S 05	4 ± 03	3.4 ± 02	3,1 ± 01	2.7 ± 03	2,2 ± 04	1.8 ± 03	1,1 ± 02	0,7 ± 03	0	0
S 06	3.6 ± 02	3.3 ± 03	2.8 ± 02	2.3 ± 04	1,8 ± 03	1,1 ± 02	0,5 ± 03	0	0	0
S 07	3.9 ± 03	3.5 ± 02	2,9 ± 04	2,2 ± 03	1,9 ± 02	1.4 ± 01	1,1 ± 03	0,8 ± 02	0,2 ± 02	0
S 08	4,2 ± 02	3.7 ± 01	3,3 ± 03	2,9 ± 04	1,6 ± 03	1,1 ± 02	0,5 ± 01	0	0	0
S 09	3.7 ± 01	3.5 ± 03	2,75 ± 02	2.4 ± 02	2,1 ± 03	1,8 ± 01	1,4 ± 03	0,6 ± 02	0	0
S 10	4.40 ± 03	4.3 ± 02	3.9 ± 01	3,2 ± 03	2.7 ± 02	2.1 ± 03	1,8 ± 01	1,1 ± 02	0,8 ± 02	0

L'analyse des résultats illustrés dans le (**Tableau V.04**), montre que la fraction huileuse a réagi positivement sur toutes les souches de *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* testées, avec une variabilité entre les souches testées; "S 03" est la souche la plus sensible. (**Planche V.06**); (**Annexe III**).

Il est signalé aussi que la croissance mycélienne est réduite avec l'augmentation de la concentration en extrait huileux. Une CMI de l'ordre de 0.20 mg/ml pour FOA (S03); 0.26 mg/ml pour FOA (S01), FOA (S06) et FOA (S08), 0.32 mg/ml pour FOA (S02), (S05), (S09); par contre une CMI de 0.40 mg/ml pour FOA (S04), (S07) et (S10).

Les planches ci-dessous montrent les résultats de la CMI pour la fraction huileuse vis-à-vis deux souches (S02) et (S03). (Les autres voir Annexe).

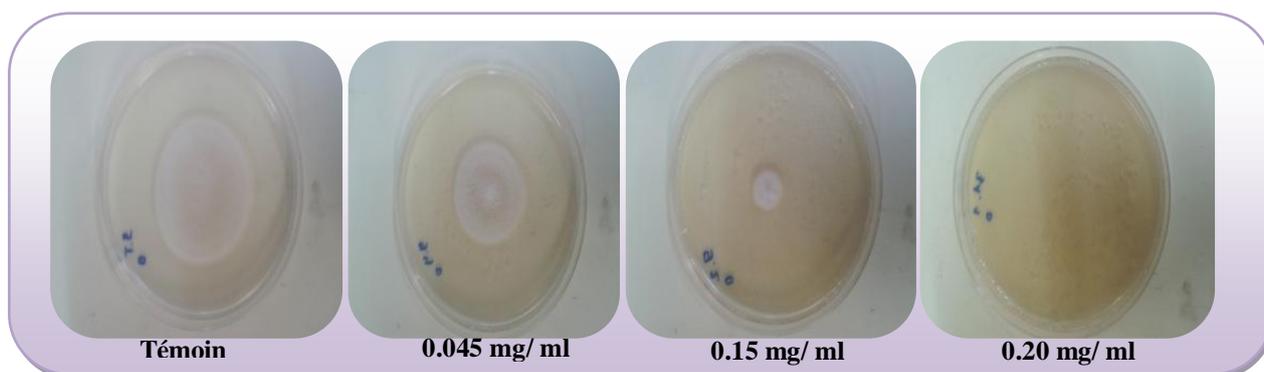


Planche V.06: Effet de la fraction huileuse a différentes concentrations sur FOA (S03).

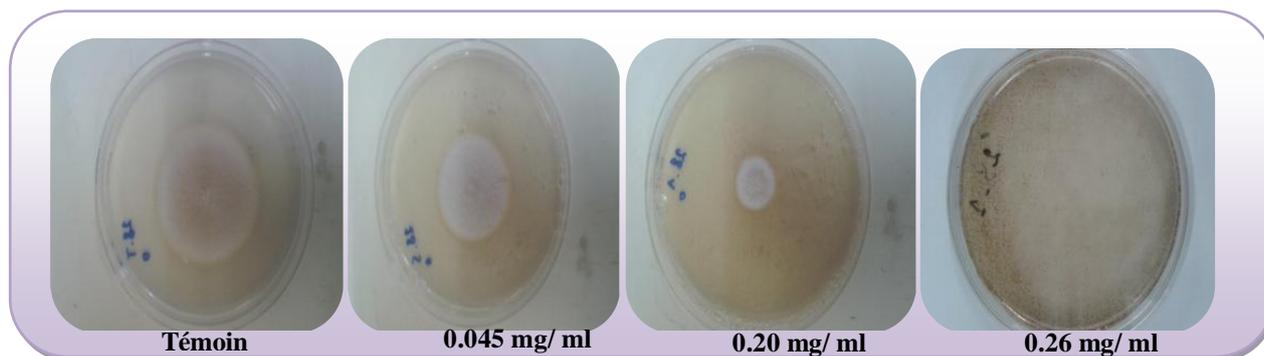


Planche V.07: Effet de la fraction huileuse a différentes concentrations sur FOA (S06).

V.5.1.2.3 Méthode de contact direct des fractions chromatographiques

Le fractionnement du goudron végétal par chromatographie sur colonne nous a permis d'avoir trois fractions organiques bien distincts; les moyennes de croissance mycélienne radiale pour la fraction goudronneuse (F 02) de nos isolats incubés à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ sur le milieu de culture PDA_a à triple d'essai, sont indiquées dans le **tableau V.05** et représentées dans la **planche V.08,09**.

Tableau V.05 : Concentration minimal d'inhibition de la fraction goudronneuse (F 02)

C (mg/ml) Souches	Témoin	0.001	0.002	0.003	0.005	0.006	0.008	0.015	0.025	0.040
S 01	3.5 ± 03	3.4 ± 02	3.1 ± 01	2.9 ± 04	2.4 ± 03	1.5 ± 01	0.9 ± 02	0,6 ± 03	0	0
S 02	3.6 ± 04	3.3 ± 02	2.7 ± 01	2.2 ± 02	1.8 ± 03	1.3 ± 02	0,8 ± 01	0	0	0
S 03	3 ± 03	2.7 ± 02	2.3 ± 04	1,4 ± 03	0,5 ± 01	0	0	0	0	0
S 04	4.35 ± 02	4.2 ± 03	3.8 ± 01	3,2 ± 04	2.6 ± 02	2.1 ± 01	1,4 ± 03	0,9 ± 02	0,7 ± 03	0
S 05	4 ± 03	3.5 ± 02	3,1 ± 01	2.6 ± 03	2,1 ± 04	1.5 ± 03	0,8 ± 02	0	0	0
S 06	3.6 ± 02	3.3 ± 03	2.6 ± 02	1.9 ± 04	1,2 ± 03	0,6 ± 02	0	0	0	0
S 07	3.9 ± 03	3.5 ± 02	2.9 ± 04	2,3 ± 03	1.9 ± 02	1.3 ± 01	0.8 ± 03	0,5 ± 02	0	0
S 08	4,2 ± 02	4,0 ± 01	3,5 ± 03	2.8 ± 04	1,6 ± 03	0,9 ± 02	0,4 ± 01	0	0	0
S 09	3.7 ± 01	3.3 ± 03	2.8 ± 02	1.9 ± 02	0,9 ± 03	0,6 ± 01	0	0	0	0
S 10	4.40 ± 03	4.1 ± 02	3.7 ± 01	3,1 ± 03	2.7 ± 02	2.1 ± 03	1,7 ± 01	0,9 ± 02	0,6 ± 02	0

D'après les résultats illustrés dans le **Tableau (V.05)**, la fraction goudronneuse (**F 02**) a réagi positivement sur toutes les *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* testées avec une CMI représentative de l'ordre de 0.006 mg/ml pour FOA (S03); 0.008 mg/ml pour FOA (S06) et FOA (S09), 0.015 mg/ml pour FOA (S02), (S05), (S08); 0.025 mg/ml pour FOA (S01) et FOA (S07); par contre une CMI de 0.040 mg/ml pour FOA (S04) et (S10).

Les planches ci-dessous montrent les résultats de la CMI pour la fraction goudronneuse (**F 02**) vis-à-vis deux souches (S03) et (S06). (Les autres voir Annexe).

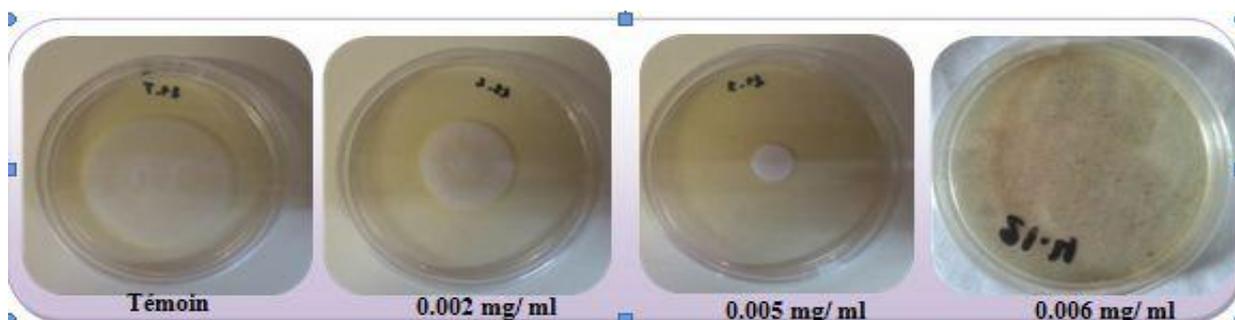


Planche V.08: Effet de la fraction (**F 02**) a différentes concentrations sur FOA (S03).

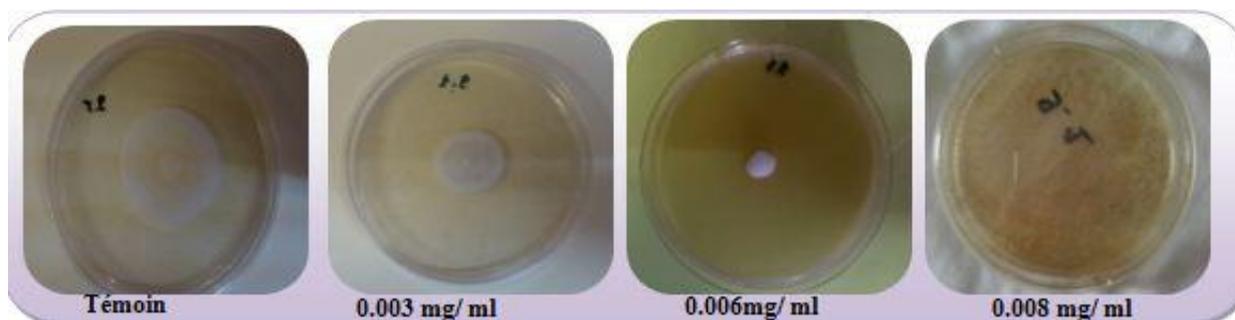


Planche V.09: Effet de la fraction (**F 02**) a différentes concentrations sur FOA (S06).

La gravité du phénomène de résistance des champignons aux antibiotiques de nombreux produits naturels ont été testés dans le but de détecter des substances antifongiques, sans effet néfaste et à faible cout économique (**Irkin et Korukluoglu, 2007; Veldhuizen et al., 2006**),

L'utilisation de goudron végétal dans les produits est souvent limité par effet indésirable comme l'odeur fort ; pour cette raison, il est nécessaire de déterminé la CMI de goudron végétal capable d'inhibé la croissance fongique sans altéré les caractéristiques du produit. (**Caillet et Lacroix , 2007**).

Ce test a pour objectif de déterminer les valeurs des paramètres antifongiques dont la concentration minimale inhibitrice (CMI). Cette concentration est définie comme étant la plus faible concentration de l'extrait capable d'inhiber toute croissance visible du germe.

Les résultats obtenus illustrés dans les (**Tableaux V.03, 04, 05**) nous renseignent sur la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits végétaux testés. Dans l'ensemble, les résultats sont très intéressants et confirment notre observation précédente. Au vu des résultats obtenus, nous remarquons que ces derniers ont un effet inhibiteur envers la croissance

mycélienne de toutes les souches fongique à des concentrations comprise entre 0,005 et 0,40 mg/ml, pour le goudron brute de *Juniperus phoenicea* L, c'est entre 0.005 et 0.039 mg/ml. Ce qui concerne la fraction huileuse de *Juniperus phoenicea* L, elle est de l'ordre de 0.20 et 0.40 mg/ ml.

Tandis que les fractions goudronneuses issus par chromatographie sur gel de silice sont inhibées à des concentrations entre 0,006 et 0,040 mg/ml.

En comparaison entre les différents extraits végétaux (goudron brute, fraction huileuse et fractions chromatographiques) ; nous pouvons conclure que l'étude de l'activité antifongique a montré que les différentes concentrations testées ces derniers avaient une activité relativement importante vis-à-vis de toutes les souches fongiques testées. Cependant, le goudron brute manifeste un pouvoir inhibiteur plus intéressant que celui de autres. Cette fongi-toxicité est probablement due à la qualité des molécules de l'extrait testé, vue leur odeur piquante.

De ce fait, nous avons constaté que le goudron végétal brut est concentré par rapport à la fraction huileuse ou les fractions du goudron; ceci est bien clair en comparant les concentrations inhibitrices en vers les souches de FOA testées.

Les résultats obtenus montrent que FOA (S03, S06, S09) sont les souches les plus sensibles avec une CMI à partir de 0,005 mg/ml. Plusieurs auteurs confirment l'effet antifongiques des goudrons de *Juniperus phoenicea*, d'*Accacia radiana* et *Olea europea* (Fauron, Moati et Donadiou, 1983 ; Mezouari *et al.*, 2019 ; Bendjima *et al.*, 2020).

Selon Akrouit *et al.* (2007) on peut déduire que l'effet du goudron végétal sur les souches fongiques testée est fongistatique ou fongicide à certaines concentrations, ceci peut être dû à une inhibition de la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures.

De même, Il a été signalé que certains genres de champignons phytopathogènes possèdent la capacité de synthétiser des enzymes qui inactivent certains extraits de végétaux en modifiant sa structure chimique. A l'inverse, d'autres travaux ont montré que des extraits végétaux pouvant réduire efficacement la croissance mycélienne des champignons phythopathogènes. (Benlarbi., 2019; Mezouari *et al.*., 2019 ;Bendjima *et al.*, 2020).

Le pouvoir antifongique du goudron végétal de *Juniperus phoenicea* L et leur fraction huileuse pourrait être attribué à la présence de composants antifongique classé dans la liste des constituants à activité antifongique (Duke., 2009 ; Salhi *et al.*, 2015) tels que: le myristicine, le curcumène, le caryophyllene, l'élémicine, le pinène, le terpinène et le terpinolène à différentes proportions.

L'évaluation de l'activité antifongique par la méthode de dilution en milieu solide a révélé l'inhibition de croissance des filaments pour la plupart des souches testées. Cela est dû à l'empêchement de la germination des conidies par les composés bioactifs soit du goudron végétal, leur fraction huileuse ou bien les extraits organiques *Juniperus phoenicea* L. La germination des conidies est la première étape essentielle dans la séquence d'opérations menant à l'établissement d'un tube germinatif et d'un hyphe. L'activité antifongique du goudron végétal ou fraction huileuse est à mettre en relation avec la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant. Ceci décompose la paroi cellulaire des conidies épaissie pour permettre l'apparition du tube digestif initial. Une fois que cet événement a lieu, il y a un équilibre entre les systèmes lytiques et synthétiques d'enzymes nécessaires pour la prolongation normale des hyphes. Un déséquilibre dans l'un ou l'autre système d'enzymes mène à l'inhibition et/ou à l'empêchement de croissance (McEwan, 1994).

Des études antérieures ont démontré la capacité de goudron végétal des différentes espèces; *Acacia raddiana*, *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus phoenicea* et *Olea europea sylvestris* à retarder et inhiber la croissance de diverses souches fusarienne y compris les FOA (Belarbi et al., 2019 ; Terfaya et al., 2019; Mezouari et al., 2019 ;Bendjima et al.,2020).

L'hypersensibilité des souche FOA S3 et S6 peut s'expliquer probablement par l'adaptation au milieu qui semble être sensible aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, et les extraits naturels (Balentine et al., 2006).

V.5.1.3 Méthode de diffusion en milieu liquide

La CMF est définie comme la plus faible concentration de l'antifongique qui tue 99,9% de la concentration cellulaire. Après la détermination de la CMI (durant 24h d'incubation à 35°C), les deux puits contenant les concentrations de substances antifongiques strictement supérieures à la CMI vont servir pour la détermination de la CMF.

En se référant aux résultats obtenus des CMI précédentes, nous remarquons bien clairement que le goudron végétal brute a exercé une grande activité contre les dix souches testées (Tableau V.06) avec des valeurs qui ont été obtenues à une gamme allant de 0.005 à 0.039 mg/ml pour la CMI, de 0.006 à 0.040 mg/ml pour la CMF.

Pour la fraction huileuse, nous constatons que cette dernière a exercé une activité claire et observable contre les dix souches testées, avec des valeurs qui ont été obtenues à une gamme allant de 0.20 à 0.40 mg/ml pour la CMI, de 0.26 à 0.42 mg/ml pour la CMF.

Alors que les fractions goudronneuse issus par chromatographie liquide sur colonne agissent aussi d'une façon accru contre les dix souches testées, avec des valeurs qui ont été obtenues à une gamme allant de 0.006 à 0.040 mg/ml pour la CMI, de 0.008 à 0.042 mg/ml pour la CMF.

La détermination des paramètres antifongiques (CMI et CMF) des nos extraits de *Juniperus phoenicea* L (goudron brute, fraction huileuse et fraction goudronneuse issus par chromatographie liquide sur colonne) a été effectuée seulement sur les souches ayant présenté une sensibilité par le test d'aromatogramme. Les résultats obtenus sont résumés dans le **Tableau V.06**.

Tableau V.06: CMI et CMF des nos différents extraits vis-à-vis les dix souches FOA.

Souches	Goudron brute				Fraction huileux				Fraction goudronneuse			
	CMI	CMF	CMF/CMI	Activité	CMI	CMF	CMF/CMI	Activité	CMI	CMF	CMF/CMI	Activité
FOA 1	0.024	0.039	1,62	Fongicide	0.26	0.32	1,23	Fongicide	0.025	0.040	1,6	Fongicide
FOA 2	0.012	0.024	2	Fongicide	0.32	0.40	1,25	Fongicide	0.015	0.025	1,66	Fongicide
FOA 3	0.005	0.006	1,2	Fongicide	0.20	0.26	1,3	Fongicide	0.006	0.008	1,33	Fongicide
FOA 4	0.039	0.040	1,02	Fongicide	0.40	0.42	1,05	Fongicide	0.040	0.042	1,05	Fongicide
FOA 5	0.012	0.024	2	Fongicide	0.32	0.40	1,25	Fongicide	0.015	0.025	1,66	Fongicide
FOA 6	0.006	0.012	2	Fongicide	0.26	0.32	1,23	Fongicide	0.008	0.015	1,87	Fongicide
FOA 7	0.024	0.039	1,62	Fongicide	0.40	0.42	1,05	Fongicide	0.025	0.040	1,6	Fongicide
FOA 8	0.012	0.024	2	Fongicide	0.26	0.32	1,23	Fongicide	0.015	0.025	1,66	Fongicide
FOA 9	0.006	0.012	2	Fongicide	0.32	0.40	1,25	Fongicide	0.008	0.015	1,87	Fongicide
FOA 10	0.039	0.040	1,02	Fongicide	0.40	0.42	1,05	Fongicide	0.040	0.042	1,05	Fongicide

Bercher et al. (1991) et **Éberlin (1994)** révèlent que lorsque le rapport CMF/CMI d'une substance est inférieur à 4, cette substance est jugée fongicide tandis qu'elle est dite \leq ou égal à quatre, elle est fongistatique si ce rapport est supérieur à quatre (> 4).

On observe aussi que l'augmentation de la concentration des extraits dans le milieu de culture, provoque la réduction de la biomasse fongique. La quantification de la biomasse fongique sur le milieu liquide a révélé que le goudron végétal brut possède en premier lieu, un effet antifongique mieux que les autres extraits testés. Ceci peut s'expliquer par la nature et la quantité des métabolites diffusés dans le milieu de culture (**Laoufi ,2012**).

Ces résultats rejoignent ceux de nombreux auteurs qui ont démontré que l'activité antifongique d'un extrait végétal est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et les effets synergiques entre ces derniers et les composés mineurs. (**Oussalah et al., 2006**).

Par ailleurs, une étude menée par **El-Sawi et al. (2007)**, a montré que l'huile du genévrier de Phénicie était active possédant un effet antibactérien et antifongique avec des valeurs de CMI allant de 0.15 à 12.34 mg/ml; ce qui confirme nos résultats.

Selon **Bouyahiaoui, (2017); Abdelli, (2017)**; quant à *J. phoenicea*, l'effet antifongique pourrait être dû aux terpènes β -phellandrène et α -pinène qui sont les constituants majeurs des huiles essentielles des feuilles et des baies mais aussi, à d'autres constituants présents à des concentrations plus ou moins importantes tels que limonène, α -phellandrène, p-cymène et myrcène. Ces composés s'avèrent être, en effet, des agents antimicrobiens et antifongiques très actifs

D'autre part, des composés présents en minorité dans chacune de nos huiles essentielles, pourraient également avoir une part de contribution à l'activité antifongique par synergie avec les composés majeurs (**Burt, 2004 ; Borugă et al., 2014, Hadji et al (2004), Mohammedi, 2013**).

Selon **Roy et al (2007)**, C'est possible que l'effet antifongique est lié à des métabolites secondaires qui se diffèrent par la nature des solvants utilisés, leurs polarités, la température, le temps et la méthode de l'extraction utilisée. Cette différence peut affecter la quantité des polyphénols et leurs effets biologiques.

Bien que les mécanismes associés aux activités antifongiques des extraits végétaux de *Juniperus phoenicea* ne soient pas entièrement compris (**Radaelli et al., 2016**) ; le nombre d'études à ce sujet a augmenté au cours de ces dernières décennies (**Lambert et al., 2001; Burt et al., 2007; Turgis et al., 2009**). Il semblerait que le mode d'action de la majorité des composés suscités est de rendre, de part leurs propriétés lipophiles, la membrane cytoplasmique bactérienne et fongique perméable. C'est le cas du thymol, myrcène, limonène et β -phellandrène, par exemple (**Cowan, 1999; Filipowicz et al., 2003; Veldhuizen et al., 2006 ; Gómez-Estaca et al., 2010**). Ces derniers peuvent en outre, désactiver les enzymes essentielles et perturber la fonctionnalité du matériel génétique, la production d'énergie et la synthèse des composants structuraux (**Conner et Beuchat, 1984; Davidson, 2001**). Le p-cymène semble également agir sur la membrane cellulaire mais avec un autre mécanisme; il s'accumule en grandes quantités et provoque l'expansion des phospholipides membranaires en augmentant les espaces par lesquels des fuites d'ions pourraient avoir lieu (**Ultee et al., 2002**). Les pinènes peuvent quant à eux, détruire l'intégrité cellulaire en inhibant la respiration et les processus de transport ionique. En outre, ils peuvent augmenter la perméabilité des mitochondries isolées chez les levures (**Uribe et al., 1985**). Par ailleurs, le thymol peut agir contre les champignons en altérant la morphologie des hyphes et en formant des agrégats, ce qui entraîne une réduction des diamètres des hyphes et la lyse de la paroi car il interagit avec la membrane fongique (**Soylu et al., 2007**).

L'étude de la sensibilité des champignons par ces méthodes, celle des disques et méthode de croissance radiale sur milieu solide et la CMF a clairement montré des différences entre ces dernières méthodes d'essai appliquées, aussi bien que nos extraits, sont bien réagissent contre les souches fongique de FOA testés; surtout beaucoup plus le goudron végétale brute qui ce place en premier lieu.

On pourrait donc supposer que la méthode de contact directe est une technique préliminaire pour l'étude de l'activité antifongique des extraits végétaux surtout lorsqu'il s'agit d'une importante collection de souches à tester. Cette technique devrait être compléter par d'autres techniques.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons dire que ce travail nous à permis de sélectionner la ou les extraits de végétaux ayant une activité antifongique importante afin de les expérimenter pour une production d'un bio-pesticide.

D'une manière générale la sensibilité aux antifongiques est due à l'affinité accru de l'ergostérol; principal constituant de la membrane fongique, et donc, à la formation des complexes insolubles responsables d'une altération de la perméabilité cellulaire. L'inhibition de la synthèse protéique par incorporation à l'ARN, et inhibition de la synthèse d'ADN, est un autre mécanisme de sensibilité des levures. (BOIRON, 1996).

Au terme de notre étude antifongique *in vitro*, les résultats préliminaires nous encourageant à passer dans notre projet à l'étape suivante beaucoup plus approfondie qui est l'étude de l'effet antifongique *in vivo* du goudron végétal; et leur essai sur des cultivars des palmier dattiers à différents gamme de sensibilité vis-à-vis le FOA avérées intéressantes et prometteuses.

V.5.1 Etude de l'activité anti-FOA *in vivo*

L'inoculation artificielle des cultivars des palmiers dattiers par le FOA est effectuée au stade deux feuille (Dubost et Kada, 1974; Saaïdi, 1979 ; Djerbi, 1990). Ce stade correspondant à la phase réceptive de la plantule car les tissus conducteurs sont différenciés.

L'inoculation des plantules se fait par injection d'un volume de la solution sporale de la souche "S03" hautement sensible et préalablement préparé et ajusté à 10^6 UF, dans l'écorce de la racine à 2 cm au dessous du collet à l'aide d'une seringue jetable. La durée de l'incubation de l'agent pathogène (FOA) dans l'hôte est deux semaines. Avant de passer à la réalisation des coupes histologiques, les plantules sont déterrées puis lavées délicatement.

D'après les résultats obtenus, toutes les souches ont reproduit les symptômes de la maladie sur les jeunes plantules et le taux de mortalité atteint 97%. Néanmoins, une variation nette de la réaction des plantules a été observée, accompagnée d'une fluctuation de l'aptitude des

10 souches à reproduire les symptômes. La mortalité des plantules est échelonnée dans le temps. Elle est nulle durant les 15 premiers jours de l'inoculation, puis atteint à la 9^{ème} semaine 79 à 97% pour les variétés sensibles (Feggous), 55 à 71% pour les variétés tolérantes (Hmira) et enfin 0 à 3% pour les variétés résistantes (Tekerbouch) (**Photo V.10**).



Photo V.10: Début d'installation des symptômes de fusariose (**photo originale, 2019**).

Les symptômes de flétrissement après l'inoculation artificielle apparaissent dès la 3^{ème} et la 4^{ème} semaine respectivement pour les variétés Hmira puis Feggous. Des symptômes occasionnels sont aussi observés sur les variétés Takerboucht, car il s'agit d'un matériel génétiquement hétérogène: (plantules issues de graines). Cette notion d'hétérogénéité est valable pour tous les cultivars utilisés. L'examen du système racinaire, montre que les racines des plantules des cultivars de Hmira et Feggous présentent les symptômes classiques du Bayoud après 9 semaines de l'inoculation (tâches nécrotiques de quelques mm² de diamètre, flétrissement).

Les dix souches se sont révélées toutes pathogènes (**Photo V.10**) mais à des niveaux d'agressivité variables. Les taux les plus élevés de mortalité ont été enregistrés avec les variétés Hmira et Feggous. Nous notons que parmi les souches ayant plus d'aptitude à reproduire les symptômes sur des plantules au stade de 2 feuilles celle de la souche "S03", qui est considéré comme hautement sensible.

Enfin des coupes histologiques sont réalisés et observation au microscope optique ou électronique à balayage l'installation de l'agent pathogène dans les racines des plantules juvéniles en perçant les parois cellulaires de l'écorce.

V.6 Coupes histologiques

V.6.1 Anatomie de la structure racinaire (racines non infectées « témoin »)

L'objectif est d'étudier la différenciation des tissus et d'avoir une idée sur les étapes de l'installation et de la progression du *Fusarium* dans les tissus racinaires. Les coupes transversales ont été réalisées sur les racines principales appartenant aux 3 variétés (Hamira, Feggous et

Tekerbouch). Deux zones racinaires distinctes sont particulièrement prises en considération : L'écorce et le cylindre central. Les coupes réalisées montrent de l'extérieur vers l'intérieur :

❖ **Ecorce :**

- Un Rhizoderme: C'est une couche de cellules superficielles dont les parois sont minces et cellulósiques ;
- Un subéroïde: C'est un tissu protecteur d'origine primaire, formé de 3 assises cellulaires dont les parois sont légèrement épaisses ;
- Un sclérenchyme : C'est un tissu de soutien d'origine primaire formé de plusieurs couches cellulaires. La taille des cellules augmente de la périphérie vers le centre.

Au niveau de l'écorce, on constate deux zones bien distinctes :

- ✚ zone externe formée de 3 à 4 assises de cellules dont les parois sont épaisses et lignifiées ;
- ✚ zone interne formée de 3 assises de cellules à parois plus ou moins fines.

La lignification dans ce cas est moins importante.

❖ **Parenchyme :**

C'est un tissu d'origine primaire dont lequel on distingue qu'il se divise en 3 niveaux :

- Une zone externe qui est composée de plusieurs assises cellulaires à parois minces et cellulósiques. L'augmentation du nombre des cellules est centripète ;
- Une zone moyenne formée de cellules dont les parois sont similaires à celles de la zone externe. Cette zone est caractérisée par la présence de nombreuses lacunes dont les dimensions sont importantes. Elle contient des amas arrondis de fibres à paroi lignifiée et parenchyme profond à petites cellules ;
- Une zone interne : C'est le parenchyme cortical le plus interne. La nature de ces parois est cellulósique et épaisse. Cette zone ne contient pas de lacunes.

❖ **Cylindre central :**

Il est réduit par rapport à l'écorce, il est caractérisé par la présence des tissus suivants :

- Le péricycle : c'est une assise de cellules à parois minces de nature pectocellulosique situé directement sous l'endoderme limitant le cylindre central vers l'extérieur (**Photo V.11**) ;
- Les tissus conducteurs : Ils sont bien différenciés et groupés en faisceaux de xylème et phloème. Les tissus conducteurs du phloème sont alternés avec les faisceaux du xylème et dont la différenciation est centripète ;
- Le parenchyme médullaire : Ce sont des cellules à parois peu épaisses et cellulósiques ;
- Un endoderme : C'est un tissu d'origine primaire, formé d'une seule assise de cellules ; il constitue l'assise la plus interne de l'écorce et dont les parois cellulaires sont lignifiées.

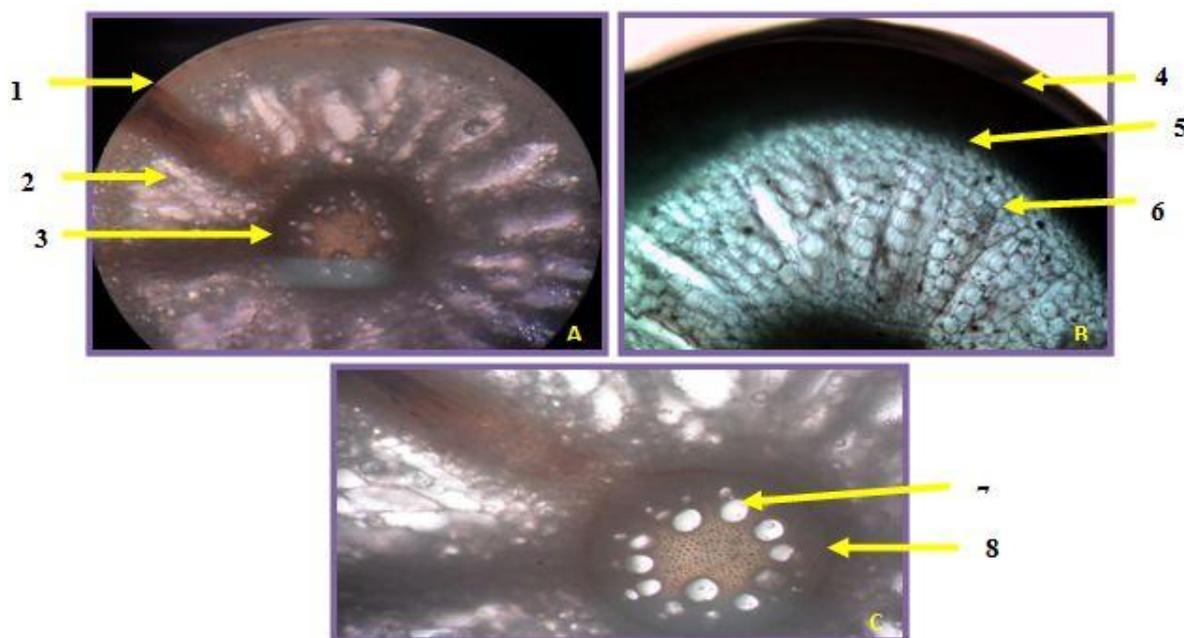


Photo V.11 : Coupe histologique de la racine de palmier dattier non infecté « saint ou témoin » au microscope optique ; A et B : X 20 ; C : X 40. (photo originale ; 2019).

1 : l'écorce ; 2 : parenchyme, 3 : cylindre central, 4 : Rhizoderme, 5 : subéroïde,
6 : sclérenchyme. 7 : tissus conducteurs, 8 péricycle.

V.6. 2. Observations microscopiques et anatomie des racines infectées

L'inoculation artificielle des différentes variétés nous a permis de suivre le mode de colonisation des racines par le FOA, son déplacement à l'intérieur des tissus conducteurs, son comportement ainsi que les modifications histologiques qui peuvent en découler.

Un mois après l'inoculation artificielle des plantules de Hmira et Feggous par une suspension conidienne de la souche préalablement sélectionnée "S03", nous avons observé une couleur brune à rougeâtre sur les racines. Ceci caractérise la présence du parasite à l'intérieur des cellules. Cette couleur prend naissance à partir de l'apex racinaire et des tissus jeunes puis progresse en direction du collet engendrant des nécroses caractérisées par leur couleur noire (Boudeffeur, 1989) (Photo V.12). Ceci expliquerait la progression du *Fusarium* d'une manière ascendante au niveau des plantules pour atteindre en dernier ressort le limbe et la partie épiphytque de la plantule. Ces symptômes sont accompagnés d'un rétrécissement de la surface foliaire, un enroulement ou un blanchiment des folioles. La plantule subit enfin un dessèchement des limbes puis finit par le dépérissement total.

V.6.2.1 Comportement des variétés sensible « Feggous » et tolérante « Hmira »

Après 10 jours de l'inoculation artificielle des plantules, l'observation des coupes histologiques montrent que le champignon est présent dans les racines des deux variétés (Hmira et Feggous) à des niveaux sensiblement différents. Ces observations permettent de noter que :

Après 24 heures de l'inoculation artificielle, un début de germination des microconidies à la surface des racines, a été observée sur certaines racines et sur d'autres la présence de filaments mycéliens sur la partie externe des racines.

Des modifications structurales ont été observées au niveau de la racine attaquée entraînant ainsi un ramollissement puis un brunissement suivi d'un détachement du cylindre central de l'écorce. (**Photo V.12**).

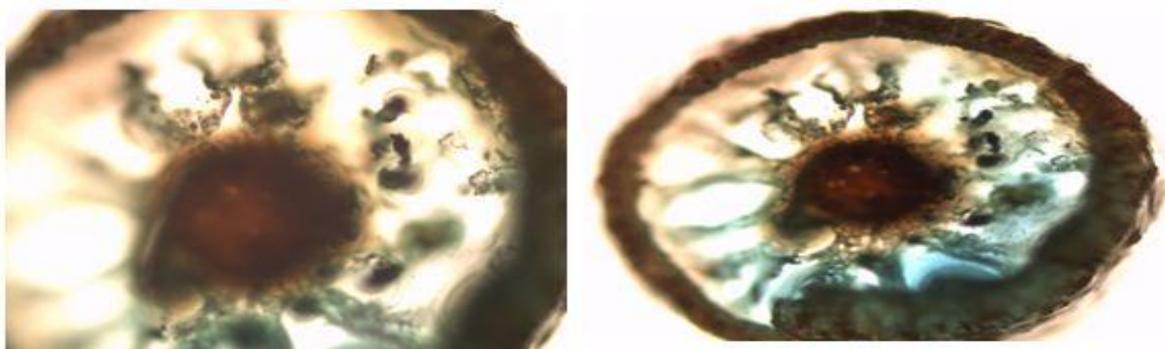


Photo V.12 : Détachement du cylindre central de l'écorce de la variété sensible et tolérante au microscope optique (X40). (**photo originale; 2019**).

Au dixième jour, des filaments mycéliens enchevêtrés sur certains sites d'infection ont été observés, confirmant la formation d'une crypte ou d'une invagination microcellulaire (**Photo V.13**).

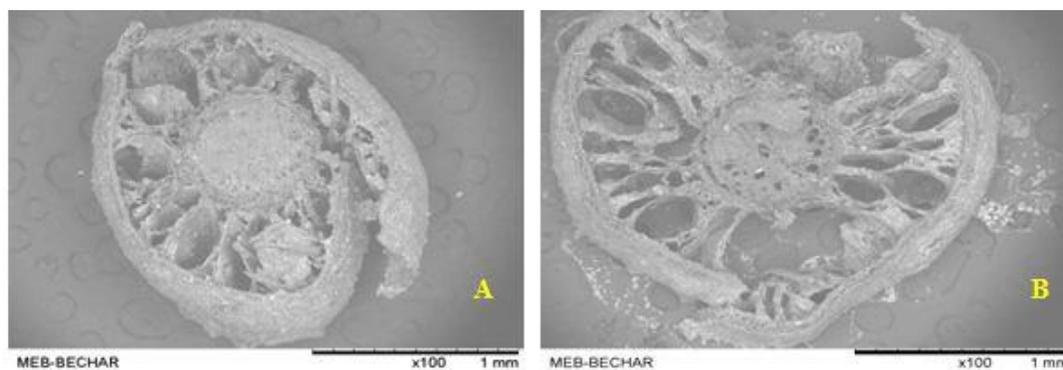


Photo V.13 : Envahissement de parenchyme cortical par le FOA et progression vers le cylindre centrale. A : variété tolérante « Hmira » ; B : variété sensible « Feggous ».

MEB X 100. (**photo originale; 2019**).

Nous avons constaté, après un mois de contact de l'inoculum avec les racines, la présence du mycélium dans l'écorce au niveau du parenchyme cortical ainsi que les lacunes. La pénétration serait induite par les invaginations exerçant une pression mécanique qui facilite leur insinuation dans l'écorce principalement par la voie intercellulaire notamment dans les méats et entre les cellules au niveau de la lamelle moyenne (**Photo V.14**). C'est à ce moment que le champignon commence à envahir le parenchyme cortical où s'installe le mycélium en produisant un réseau d'hyphes inter et intracellulaires qui sécrètent des enzymes lytiques et détruisent les cellules de l'hôte au fur et à mesure de leur progression vers le cylindre centrale.

A ce stade, le champignon a atteint l'endoderme. Il forme alors des agrégations intracellulaires de mycélium à la surface de l'endoderme.

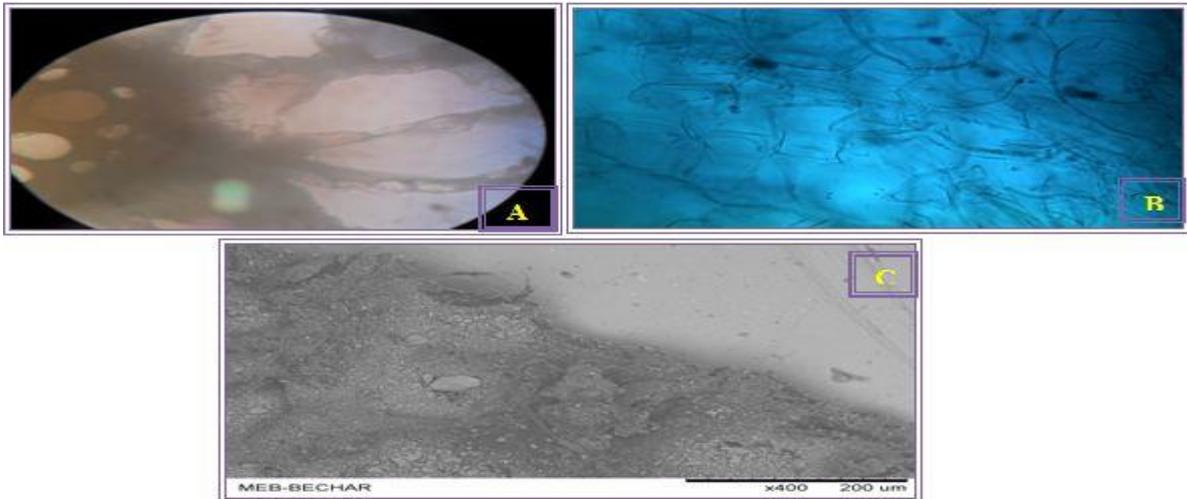


Photo V.14 : Invagination des hyphes de FOA intra racinaire de la variété sensible et tolérante. (photo originale; 2019).

A, B: Microscope photonique X 100, **C** : Microscope électronique à balayage X400.

Le parasite ne cesse alors de s'étendre dans les tissus touchés pour atteindre enfin le cylindre central, et plus particulièrement, les vaisseaux du xylème. Ainsi, au bout d'un mois de contact avec le *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis*, on note la formation de thylles, qui finissent par obstruer et coloniser les vaisseaux conducteurs du xylème. (Photo V.15, 16).

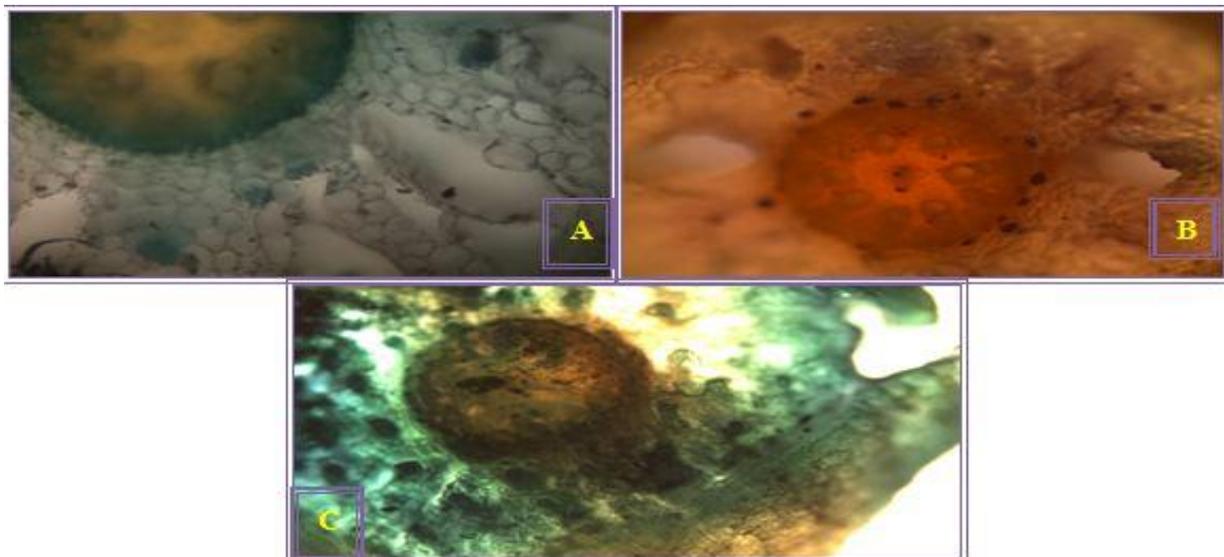


Photo V.15 : Comportement de variété sensible « Feggous » vis-à-vis du FOA. (photo originale; 2019).

A : coloration par bleu de Cotton X40; **B** : perchlorure de fer X20; **C** : Rouge Congo-Vert de Méthyle X20 « microscope optique ».

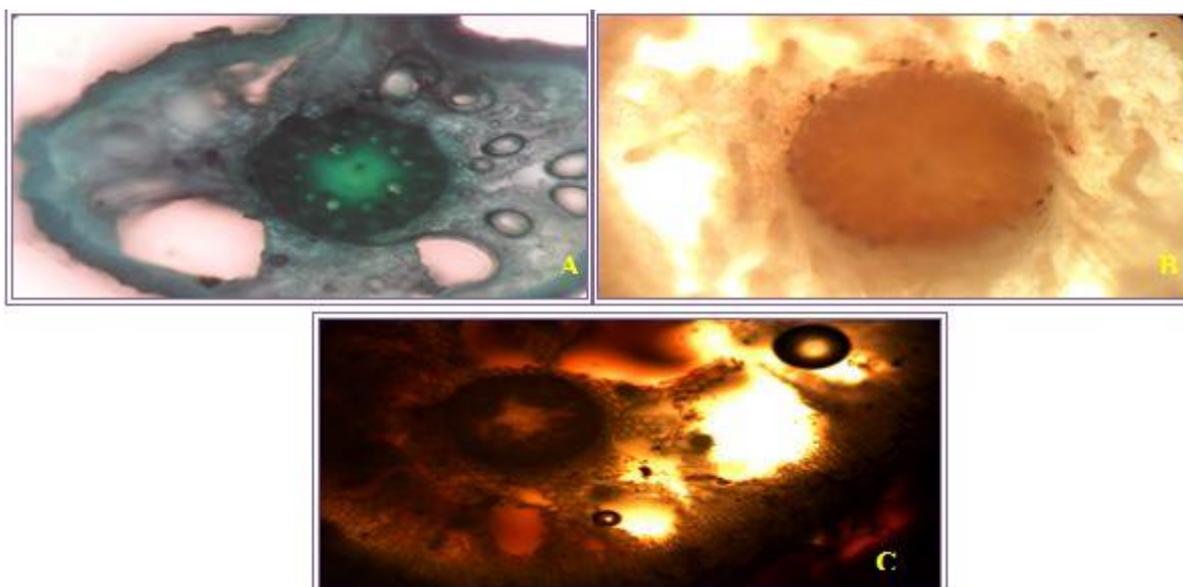


Photo V.16 : Comportement de variété tolérante « Hmira » vis-à-vis du FOA. (photo originale; 2019)

A : coloration par bleu de Cotton X20 ; **B** : perchlorure de fer X 40 ; **C** : Rouge Congo-Vert de Méthyle. X 20. « Microscope optique ».

Lorsque le champignon pénètre dans les vaisseaux conducteurs du xylème et du phloème, la plante hôte met en place une résistance impliquant des réactions de défense structurale totalement différentes de celles retrouvées dans la zone pré-vasculaire. Ces réactions que l'on peut détecter dans les vaisseaux du xylème incluent la formation de thalles, de bulles, d'un gel pectique et d'un tapissement riche en composés phénoliques. (Photo V.15, 16).

Enfin, l'observation des coupes histologiques des jeunes racines de deux variétés sensible (Feggous) et tolérante (Hmira) de différentes couleurs citées précédemment a confirmé de façon définitive la présence du FOA; l'agent causal du bayoud aux différents niveaux du système racinaire de ces deux variétés.

Ces observations sont soutenues par plusieurs auteurs comme les travaux de **Laville. (1962)**, **Boudeffeur. (2010)** et les travaux de **Gaceb-Terrak. (2010)** qui ont travaillé sur deux variétés réputés sensibles, tolérantes et résistante.

Renard. (1970) a trouvé des résultats concordants aux nôtres, en étudiant le rôle des blessures dans le processus de l'infection du palmier de l'huile par le *Fusarium*.

V.6.2.2 Comportement de la variété résistante " Tekerbouch "

L'observation macroscopique des racines des plantules de la variété Tekerbouch montre dans certains cas un brunissement sur les plus jeunes racines notamment au niveau de leurs apex.

Ce brunissement reste cependant, localisé sans progression vers le collet, contrairement aux variétés Hmira et Feggous. Aucun symptôme foliaire sur les limbes et les autres parties de la

plante n'a été observé. Les plantules de Takerboucht sont restées vivantes jusqu'à la fin de notre expérimentation sauf pour quelques rares exceptions.

L'observation sous microscope des coupes transversales de la variété résistante a permis de montrer que le champignon n'est seulement détecté que dans la zone prévasculaire.

Nous n'avons pas pu observer le FOA dans les vaisseaux du xylème ni dans le cylindre central. Comparativement aux autres variétés sensible et tolérante, Nous avons observé une production abondante de tannins (polyphénols) surtout au niveau du sclérenchyme racinaires des variétés inoculées. Cependant, la variété résistante Tekerbouch semble produire une quantité importante (couleur brun très intense) de polyphénols par rapport aux deux autres variétés (moins intense). (**Photo V.17**).

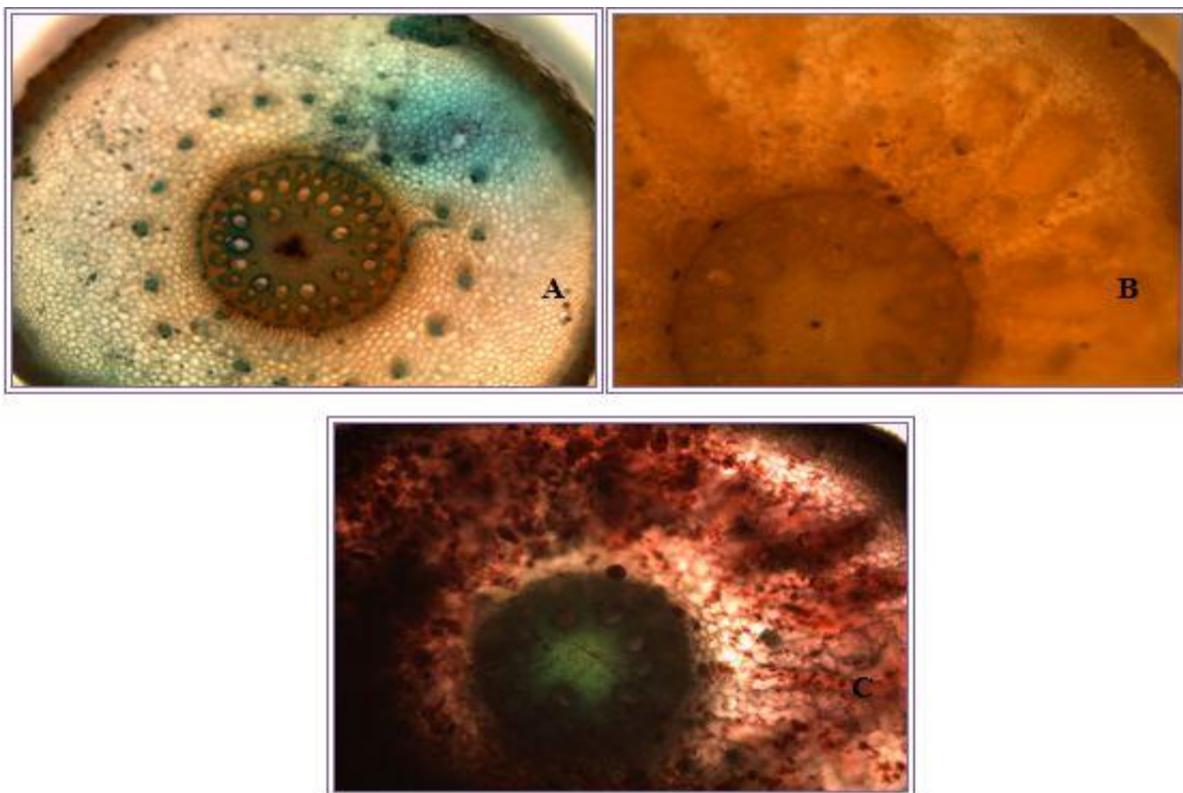


Photo V.17 : Comportement de variété résistante « Tekerbouch » vis-à-vis du FOA. .(photo originale; 2019).

A : coloration par bleu de Cotton X20 ; **B** : perchlore de fer X 20 ; **C** : Rouge Congo-Vert de Méthyle X 40. « Microscope optique ».

Cette abondante production témoigne une réaction de défense mise en œuvre par la plante infectée pour limiter, voire stopper la progression du champignon. Nous notons, que le vert de méthyle permet aussi de mettre en évidence l'abondance des composés polyphénoliques au niveau de l'exoderme et de l'endoderme.

L'élégante étude menée par **Hammerschmidt et Dann. (1999)** apporté que les polyphénols pouvaient s'accumuler au bon moment, au bon endroit, et à la bonne concentration pour combattre efficacement l'agent pathogène.

Les tests *in vitro* au fil des années ont montré que l'effet antifongique de ces polyphénols pouvait se manifester par l'inhibition de la germination des spores, de l'élongation du tube germinatif, et/ou de la croissance mycélienne (**Benhamou, 2009**).

A la lumière de ces résultats, nous avons constatés que les exsudats racinaires interviennent au moins partiellement dans le mécanisme de résistance du palmier dattier vis-à-vis du FOA. Néanmoins, ces exsudats forment une première barrière à la pénétration de l'agent pathogène. Cette réaction partielle que la plante ne réussit pas à mettre en place une stratégie défensive qui est due à une défaillance dans le codage du signal.

Lorsqu'un agent pathogène réussit à déjouer la première barrière défensive, et à partir du moment où il est détecté par la plante, se met en place un tout nouveau système de résistance ayant pour seul et unique objectif le confinement de l'agent pathogène dans les cellules attaquées que la plante est prête, dans certains cas, à sacrifier pour assurer sa survie. Ce la est confirmé par les travaux de (**Dixon et al. 2002; Torregrosa et al.,2004; Foster-Hartnett et al.,2007; Kamphuis et al.,2008 ; Benhamou,2009**).

Cette bataille acharnée, très coûteuse en termes d'énergie, est responsable de l'activation de plusieurs voies métaboliques pour :

- _ Renforcer les barrières externes comme la paroi afin de retarder voire empêcher la pénétration de l'agent pathogène ;
- _ Favoriser la création d'un environnement toxique au cas où le parasite parviendrait à franchir les barrières structurales nouvellement formées.

Nos résultats sont à rapprocher de ceux de **Molot. (1969)** qui a montré que ces substances extraites de spathes de maïs agissent comme des inhibiteurs de la croissance du parasite ; ils sont également en accord avec ceux d'**Assef. (1987)**. Ce dernier affirme que les acides phénoliques suivants: coumarique, benzoïque et cinnamique, à de faibles concentrations (0,1 -0,25 mg.mL⁻¹), inhibent fortement la croissance mycélienne du *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*.

Un travail similaire portant sur l'action d'un acide phénol (l'acide salicylique), (**Touam. (2006)**), a conduit à un résultat identique.

En plus des acides phénols benzoïques et cinnamiques étudiés, il y a chez le palmier dattier, des coumarines qui engagent une forte inhibition sur la croissance du pathogène, le parasite semble capable de contourner ces mécanismes moléculaires de résistance en les métabolisant, en les détoxifiant et probablement en les utilisant à son profit cela a été démontré par **Assef. (1987) ; Ziouti et al. (1996)**.

Nos résultats concordent avec les résultats obtenus par **Buxton. (1957)** et qui a démontré que la germination des spores du *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* est inhibée par les exsudats de la variété résistante. De même **Visser. (1964)** indique que les variétés résistantes inhibent la croissance de FOA.

V.6.3 Traitement des cultivars infectés par le goudron végétal

Au bout d'un mois de traitement ou injection de 0.01ml de goudron végétal de *Juniperus phoenicea* L dans les racines des cultivars infectés, et leur suivi journalier, les symptômes de revivification sont observés surtout chez les cultivars des palmiers dattiers sensibles et une disparition de flétrissement des plantules et elles sont devenue de couleur verte. (**Photo V.18**).



Photo V.18 : Revivification des plantules après traitement par le goudron végétal. (**photo originale; 2019**).

V.6.3.1 Comportement de la variété sensible « Feggous » et tolérante « Hmira »

Ce qui concerne l'anatomie et observation microscopique, nous avons remarqué un renouvellement des tissus altéré et détruite par le FOA. (**Photo V.19, 20, 21**).

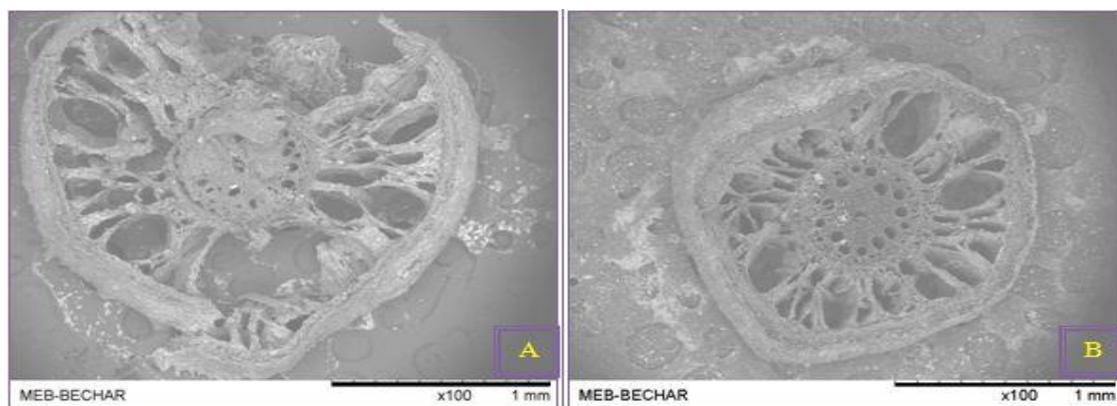


Photo V.19 : Coupe histologique de variété sensible « Feggous » avant et après traitement par le goudron végétale. (**photo originale; 2019**).

A : avant le traitement ; **B** : après le traitement. X100 MEB

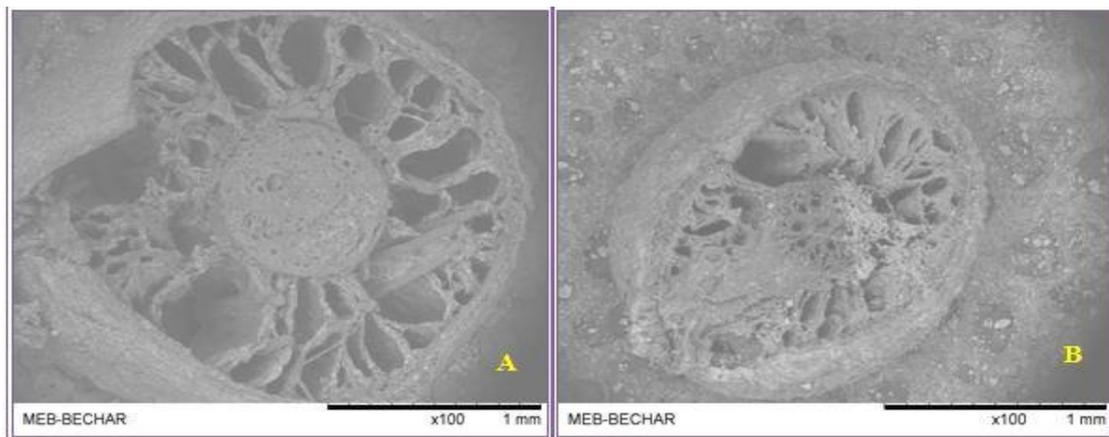


Photo V.20 : Coupe histologique de variété tolérante « Hmira » avant et après traitement par le goudron végétale. **(photo originale; 2019).**

A : avant le traitement ; **B :** après le traitement. X100 MEB.

V.6.3.2 Comportement des variétés résistante " Tekerbouch » :

Comme on a dit précédemment, la variété « Tekerbouch » est une variété résistante, donc la fusariose n'est présente que dans la partie de l'écorce et il ne peut pas envahir à l'intérieur.

(Photo V.21).

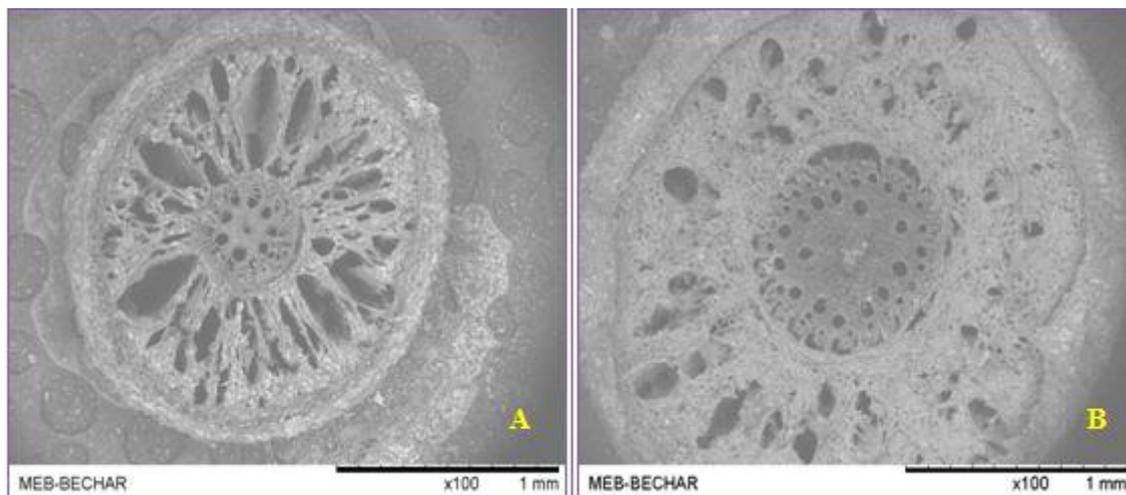


Photo V.21 : Coupe histologique de variété résistante « Tekerbouch » avant et après traitement par le goudron végétale. **(photo originale ;2019).**

A : avant le traitement ; **B :** après le traitement. X100 MEB.

Nous remarquons aussi une diminution de sécrétion des tanins et des polyphénols de raison de défense contre la fusariose. Cette diminution elle est due à l'activité du goudron végétale et grâce à ces constituant y compris des substances bioactifs ; ils jouent un rôle très important de protection des cultivars et leur défense vis-à-vis de l'agent pathogène de *Fusarium*.

A travers l'étude de l'activité anti-FOA *in vivo*; on constate que l'étude anatomique des racines montre que les résultats obtenus sont conformes à ceux obtenus par **Challam (1986)** et **Bouguedoura (1991)**. La seule différence anatomique réside dans le nombre des faisceaux conducteurs et l'épaisseur de racines qui peuvent changer. - la Culture des souches de F.o.a *in vitro* Grâce aux techniques classiques, une souche agressive a été sélectionnée. Il s'agit de la souche "S O3" qui a été utilisée dans les tests ultérieurs. En effet, les travaux récents ayant porté sur la caractérisation génétique basée sur les outils moléculaires de nombreuses souches de F.o.a, mettent en évidence une homogénéité génétique de ce matériel (**Amzelloug, 1999**). Ces travaux confirment l'existence d'une seule lignée génétique du parasite. Par ailleurs, les études menées sur le pouvoir pathogène n'ont pas permis de révéler l'existence de races dans les différentes populations étudiées de ce parasite (**Fernandez et al, 1995**). Ainsi, la mise en évidence d'une telle homogénéité génétique du parasite fournit de bons espoirs pour le succès d'une stratégie de lutte contre cette maladie notamment par le développement de variétés de palmier dattier résistantes. Dans notre cas, la différence entre les agressivités des souches sur les variétés étudiées est hautement significative, ce qui explique que ce matériel végétal est génétiquement hétérogène.

En ce qui concerne le comportement des racines inoculées par la souche de FOA, nous avons observé, après inoculation, que l'insinuation du *Fusarium* est plus accentuée au niveau des zones proches de l'apex radulaire. Dans cette zone, les tissus sont encore plus jeunes et la nature de leurs parois cellulaires est essentiellement constituée de pectine et de cellulose qui peut être aisément lysées par le champignon. (**Alabouvette, 1986**)

Bounaga (1975) a confirmé l'existence chez le FOA d'enzymes telles que les cellulases et les pectinases capables de dégrader la paroi pectocellulosique du palmier dattier. Dans le même ordre d'idées, **Walton (1994)** note la présence de plusieurs systèmes enzymatiques chez tous les microorganismes, qu'ils soient saprophytes ou pathogènes, contribuant à la dégradation des parois des plantes supérieures.

Nos résultats montrent par ailleurs, que les microconidies pouvaient se déplacer et reproduire des symptômes chez les plantules âgées plus de 2 feuilles. En effet, ces dernières disposent de plus de cloisons transversales considérées comme des barrières histologiques situées dans les vaisseaux conducteurs du xylème en voie de différenciation (**Bounaga, 1973**).

Malençon (1949) suggère que la progression du *Fusarium* découle de la nature de la maladie, cette dernière se fait de bas en haut, à travers les vaisseaux du xylème qui, au contact du parasite, s'obstruent plus ou moins par des thylls et de gommages. Dans notre cas, Nous avons fait les mêmes observations histologiques.

L'étude a révélé chez les variétés sensible et tolérante une concentration fusarique particulièrement importante dans le cylindre central par comparaison à l'écorce. Dans nos conditions expérimentales, nous nous sommes rendus compte que les symptômes réelles du Bayoud apparaissent à partir de la 4^{ème} semaine après l'inoculation des plantules, alors que les microconidies ont pu être détectées au niveau de certaines racines par la technique des coupes sériées, après seulement 24 heures pour Hmira et Feggous; ce qui corroborent les résultats obtenus par **Rahmania (2000)**. Aussi, il en résulte de l'infection des jeunes racines des modifications structurales qui présentent un ramollissement alors que le cylindre central se détache de l'écorce suivie de l'apparition d'un brunissement tissulaire. L'installation du FOA dans les racines du palmier commence au préalable au niveau des tissus de l'écorce, avant d'atteindre les parties centrales puis les organes aériens. Le parasite se multiplie rapidement dans le xylème et arrive à obturer les vaisseaux pour ralentir le flux de la sève (**Rahmania, 1982**).

Selon **Belarbi et Mangenot (1986)**, après 15 jours de l'inoculation artificielle d'une racine principale, dépourvue de pneumatodes et d'autres racines latérales portant des pneumatodes; l'infection a été constatée seulement dans le second cas. Le champignon est présent dans l'aérenchyme où il est étroitement appliqué sur les parois cellulaires. Le champignon traverse le cortex à la fois entre et dans des cellules. Les hyphes forment une couche épaisse au voisinage de l'endoderme subérisé où elles traversent souvent la paroi des cellules par les ponctuations pour arriver au cylindre central. Il envahit, par la suite, le système vasculaire, pour atteindre enfin les organes aériens du palmier dattier (**Rahmania, 1982**).

Belarbi et Mangenot (1986), **Matheron et Benbadis (1994)** ont constaté, en outre, que la pénétration s'effectue d'abord d'une façon horizontale puis verticale ascendante dès son arrivée dans le xylème. Dans notre cas, nous avons constaté que la progression horizontale du parasite est plus lente au fur et à mesure qu'on s'éloigne de l'apex radicaire. Ceci serait dû à la lignification et la subérification des parois. Par ailleurs, le parenchyme cortical riche en lacunes ainsi que sa nature pectocellulosique et l'épaisseur réduite de ses parois serait la cause de son envahissement par le FOA.

L'âge de la plantule présente aussi un effet sur la progression du champignon dans les tissus. En effet, **Dubost et Kada (1974)** ont révélé l'existence de trachéides qui constituent une barrière de nature histologique à la progression verticale du champignon chez les plantules au stade 1 feuille, alors qu'au delà du stade 2 feuilles, le système conducteur se différencie de plus en plus, les cloisons transversales tendent à disparaître et la circulation de la sève devient plus aisée, ce qui faciliterait l'ascension du champignon vers les parties supérieures de la plante.

Le FOA séjourne plusieurs heures dans l'écorce où il provoque une altération et une désorganisation totale des tissus du parenchyme cortical et gagne par la suite l'endoderme qu'il

traverse par la lyse de la lamelle moyenne. L'endoderme n'est pas considéré comme une barrière, le parasite se retrouve alors dans le cylindre central où il va proliférer dans les tissus du parenchyme médullaire. Bien que le champignon ait pu coloniser facilement la variété Feggous (sensible) et avec un degré moindre la variété Hmira (tolérante), les mêmes réactions de défense se produisent au contact de l'agent pathogène. De ce fait, la réaction la plus importante observée au cours de cette expérimentation demeure celle de la production de substances polyphénoliques. Cette production est induite par le FOA et aurait une relation avec la sensibilité ou la résistance d'une plante donnée vis-à-vis des fusarioses vasculaires (**Bensalem, 1991**).

Néanmoins, chez les variétés Feggous et Hmira, nous avons constaté que la progression du parasite ne semblait pas être gênée par les polyphénols de plus en plus abondants après la contamination. Chez la variété Takerboucht, nous avons remarqué une forte sécrétion de polyphénols après l'inoculation concomitante avec un blocage du champignon au niveau des tissus de l'écorce. Il reste à savoir, d'une part si la présence de ces polyphénols est réellement à l'origine de ce blocage, et d'autre part si la nature des polyphénols diffère d'une variété de palmier à une autre.

Levin (1971), confirma en que la qualité des polyphénols diffère d'une espèce à une autre et une différence variétale peut exister au sein d'une même espèce. Si de telles affirmations se vérifient chez le palmier dattier, elles ouvriront très certainement de nouvelles perspectives dans le domaine de la création variétale chez le palmier dattier visant à mettre en place des programmes de lutte génétique contre ce pathogène. Enfin, **Harchaoui (2007)** a confirmé une différence en polyphénols entre les différents cultivars de palmier dattier.

Le mécanisme de résistance aux fusarioses vasculaires est un phénomène complexe, il peut être résumé selon les résultats de nombreux auteurs : **Bounaga (1973)** relie la résistance d'une variété à la fréquence des cloisons transversales qui s'opposera certainement au parasite lors d'éventuelles ascensions. **Brochard (1974)** affirme que les exsudats racinaires des jeunes plantules peuvent inhiber *in vitro* la multiplication du FOA. Ceci a été confirmé par **Bennaceur (1981)** lorsqu'elle a inhibé la germination des microconidies par les exsudats racinaires issus d'une variété résistante. La résistance serait également stimulée par les sécrétions de phytoalexines (**Albersheim et Valent, 1978 ; Assef, 1987**), substances dont la production est induite après inoculation chez les variétés sensibles et résistantes ; et les phytoncides, substances qui existent chez la variété résistante.

El-hadrami et al. (1998) en comparant les cultivars inoculés, a révélé une accumulation plus rapide et importante des composés phénolamidiques induits dans les tissus des cultivars résistants par rapport aux cultivars sensibles. L'arrêt de la progression du parasite dans les tissus où l'inhibition de ses enzymes lytiques par ces composés a été mise en évidence *in situ* et *in*

vitro. Ce résultat paraît d'une importance majeure dans le mécanisme de résistance du palmier dattier vis-à-vis du *F.o.albedinis*.

Ziouti et al (1998) ont mis en évidence le rôle de l'acide caféoylshikimique (ACS) qui est un composé phénolique du palmier dattier dans la défense contre le Bayoud. Ce composé (ACS) est représenté par les acides p-coumarique (APC), p-hydroxybenzoïque (APHB), férulique (AFE) et sinapique (ASI) constituant l'essentiel des phénols liés aux différents constituants des parois cellulaires. L'ACS générerait des produits qui inhibent l'activité des enzymes protéolytiques, cellulolytiques et pectinolytiques produites par le FOA. Ceci concorde avec les résultats obtenus par **El-modafar et al. (1998)** qui ont montré que les variétés résistantes accumulent des teneurs élevées en acides caféoylshikimiques qui interviennent dans la défense du palmier dattier en inhibant la production d'enzymes hydrolytiques de FOA.

El-modafar et al. (1999), ont impliqué aussi les phytoalexines dans la résistance du palmier dattier à la fusariose en reliant la rapidité et l'intensité de leur accumulation à des doses fongitoxiques dans les premiers stades de l'infection, suggérant ainsi que les phytoalexines pourraient ainsi être utilisées comme marqueurs biochimiques de la résistance du palmier dattier au FOA.

De même, **El-modafar et al. (2000)** suggère que l'ACS génère des produits d'hydrolyse (notamment l'acide caféique) et des produits d'oxydation (quinones) qui inhibent l'activité des enzymes protéolytiques, cellulolytiques et pectinolytiques produites par le FOA dans le milieu de culture.

Par ailleurs, **Rahmania (2000)** suggère que la formation de thylls est généralement considérée comme un moyen par lequel les plantes résistent à une invasion fongique.

Cependant, **El-modafar et al. (2001)** ont révélé une activité et une induction différentielle plus importante et plus rapide de l'ammonia-lyase phenylalanine des racines chez la variété résistante de palmier dattier Boustami noire que chez la variété sensible Jihel.

Conclusion Générale

Le palmier dattier occupe une place de choix dans le commerce international. L'attaque parasitaire exercée sur les palmeraies peut se traduire par des pertes importantes; l'un de ces parasites est un champignon imparfait (*Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*) responsable de la maladie vasculaire, appelée Bayoud. La recherche de moyens de lutte contre cette maladie n'a abouti jusqu'à ce jour à aucun traitement efficace, la lutte chimique en particulier s'étend révélée inadéquate, de fait d'apparition des souches fongiques résistantes aux traitements chimiques pousse à la recherche d'alternatives plus efficaces et sûres. Le recours aux substances naturelles suscite un intérêt croissant dans la recherche.

A cet égard, notre travail consacré à l'activité anti FOA du goudron végétal extrait de bois de *Juniperus phonicea*.

En premier lieu, le goudron végétal (Al Ghutrane) a été extrait au laboratoire par une méthode comparable à celle utilisée traditionnellement appelée: carbonisation ou distillation sèche; où le rendement est de **0.542%** pour le goudron alors qu'il est de **1.768%** pour la fraction huileuse. De plus, l'étude physicochimique a permis de donner un aperçu globale sur ces deux extraits de bois de *Juniperus phonicea* (Al Ghutrane et fractions huileuse) respectivement, dont ils montrent que le pH est acide de **4.02-3.25**, une densité de **1.15-0.991**, la matière sèche est de l'ordre de **36,34%-2,58%** et un indice de réfraction de **1.5112-1,3423**.

Une partie de ce projet est consacrée à l'étude *in vitro* du pouvoir antifongique du goudron brute, fraction huileuse et fractions goudronneuses, ces extraits, ont montré :

❖ Une sensibilité variable des souches au goudron où la zone d'inhibition (**ZI**) la plus élevée est notée chez **S03** à **19mm**. Tandis que, pour la fraction huileuse sauf **S03**, **S06**, **S08**, **S09** et **S10** qui exercent un effet inhibiteur variable où toujours **S03** est la plus sensible avec un diamètre inhibition le plus élevé de **12mm** mais les autres sont considéré comme non sensibles. En fin, pour les fractions goudronneuses la **ZI** est notable pour **S03**. C'est en ce qui concerne la méthode de disque.

❖ Pour la technique du contact direct, on note une CMI significative de goudron brute qui est de l'ordre de **0.005mg/ml** pour **S03**, suivie par **S06** et **S09** de **0.006mg/ml**. Ainsi, la fraction huileuse signale toujours que la souche **S03** est la plus sensible par une CMI de **0.20mg/ml**, contre **0.26mg/ml** pour **S01**, **S06** et **S08**. Pour les fractions goudronneuses, la fraction **F02** a réagit significativement sur les souches testées où **S03**, **S06** et **S09** sont considérés comme les plus sensibles avec une CMI à partir de **0,006mg/ml**.

À la lumière des résultats obtenus, on note que l'effet inhibiteur de croissance mycélienne des souches testées set comprise entre **0.005-0.039mg/ml** pour le goudron brute et entre **0.20-0.40mg/ml** pour la fraction huileuse. Tandis que les fractions goudronneuses issues par

séparation par chromatographie sur gel de silice inhibent à des concentrations entre **0,006-0,040mg/ml**. De plus, nous avons constaté que le goudron végétal brut est plus efficace par rapport au deux autres fractions (huileuse et goudronneuses); ceci est bien clair en comparant CMI en vers les souches testées.

De plus, pour la **CMF** nous remarquons que le goudron végétal brut a exercé une grande activité contre les souches testées avec des valeurs allant **0.006-0.040mg/ml**. Or que la fraction huileuse, a exercé une activité claire et observable contre les souches testées de **0.26-0.42mg/ml**. Alors que les fractions goudronneuses agissent d'une façon accrue contre les dix souches testées de **0.008-0.042mg/ml**.

Au terme de notre étude, ces résultats préliminaires nous encourage à passer à une étape approfondie: l'activité antifusarienne *in vivo*; qui permet de voir une inoculation artificiel des cultivars distincts des palmiers dattiers par l'agent pathogène *Fusarium oxysoprum* fsp *albedinis* puis les traitées par le goudron végétale. Ce test montre une activité très puissante de goudron allons jusqu'a ce qu'il donne une revivification des tissus altérés des plantules infecté.

Enfin on conclue que l'activité de nos extraits répand à cette problématique, c'est à dire nous assurons que le goudron végétal possède une action fongicide typique, persistante et réelle. D'ailleurs, nos résultats ne constituent qu'une première étape dans la recherche des substances antifongique d'origine végétale. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mise en évidence. À savoir :

- ❖ La purification et l'identification des principes actifs des échantillons de goudron, par des méthodes plus performances (HPLC/SM et la RMN).
- ❖ Refaire les mêmes tests *in vitro* et *in vivo* pour chaque principe actif afin de cibler la marge moléculaire active.
- ❖ Evaluer les seuils de toxicité et d'efficacité en précisant la DE50 et la DL50.
- ❖ Production à l'échelle industrielle d'un produit BIO contre le FOA.

Références Bibliographiques

A

- Abdelli Wafae. (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat; science Biologiques ; spécialité Microbiologie Appliquée. Université Abdelhamid ibn badis Mostaghanem.
- Absi Rima (2013).** Analyse de la diversité variétale du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.): Cas des Ziban (Région de Sidi Okba).Thèse de magister en sciences agronomiques, option : Agriculture et environnement en régions arides. Université Mohamed Khider Biskra.
- Achak N. (2006).** Contribution à la valorisation des substances naturelles : Étude des huiles essentielles des cupressacées de la région Tensift Al Haouz-Marrakech. Thèse de doctorat en Science. Département de Chimie, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech. pp 275.
- Achat Sabiha . (2013).** Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Autre. Université d'Avignon,. Français. ffNNT : 2013AVIG0248f
- Adams R. P. (2000).** Systematics of *Juniperus* based on leaf essential oils and random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). *Biochemical Systematics and Ecology* 28. 515- 228.
- AFNOR. (1988).** Recueil de normes françaises. Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés. 4ème édition, Paris. P 533.
- Afssaps (Agence Française de sécurité sanitaire des produits de santé). (2008)** .Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles, contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétique contenant des huiles essentielles.
- Akermi Moulay M'hammed, Moussaoui Abdallah, Makhloufi Ahmed, Dalil Halima. (2017)** Phytochemistry, antimicrobial activities of the essential oils of the branches of *Juniperus phoenicea* in Bechar (Algeria). *Applied Biology in Saharan Areas* Vol. 1, N. 2, p. 1-7, December ISSN: 2571-9823 Available online at www.univ-bechar.dz/absa.
- Akrout A; Neffati M; Chemli R; Aouni M; Jerraya R; Dammak M. (2007)** Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L .Institut des régions arides, Médenine, TUNISIE, pp. 231-240.
- Alabouvette C. (1986).** *Fusarium* wilts suppressive soils from Châteaurenard region: A review of a 10 years study. *Agronomie*, 6: 273 – 284.
- Albersheim P. et Valent B.S. (1978).** Host-pathogen interactions in plants. Plants, when exposed to oligosaccharides of fungal origin, defend themselves by accumulating antibiotics. *The journal of cell Biology*, 78: 627-643.

Amir, H., Bennaceur, M., Laoufi, Amir, A. et Bounaga, N. (1995) .Contribution à l'étude de l'écologie microbienne du sol de 2 palmeraies sahariennes atteintes de Bayoud. Rev.Ecol.bio.sol.Paris, Vol 22, N° 3 : 313-330 .

Amir Hamid; Amir Atika et Amar Riba. (1996). Rôle de la microflore dans la résistance a la fusariose vasculaire induite par la salinité dans un sol de palmeraie. Soil Biology and Biochemistry. Volume 28, Issue 1, January, Pages 113-122.

Amzelloug A. (1999). Des espoirs pour anéantir le Bayoud. Le matin du Sahara et du Maghreb, N° 10 :322.

Aouadhi Chedia, Ghazghazi Hanene , Hasnaoui Brahim et Maaroufi Abderrazak. (2013) Comparaison de l'activité antifongique d'extraits méthanoliques de trois plantes collectées du nord-ouest de la Tunisie. Microbiol. Hyg. Alim.-Vol 25, N° 73 – juillet 2013.

APG II. (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for orders and families of flowering plants: APG II. *Bot. J. Linn. Soc.* 141:399-436.

Assef. G. M. (1987). La résistance chimique chez le palmier dattier au Bayoud: Thèse de Doctorat d'état. Université Aix Marseille. Saint Jérôme et Marrakech. 84 pages.

Atallaoui K, Benmehaia R, Djoudi A. (2017). Situation des palmeraies de Msila: production et contraintes. Revue Université de Ouargla. Volume 7 Numéro 2.

Audigié CL, Dupont G, Zonszain F (1995) Principes des méthodes d'analyse biochimiques, Doin Editeurs Paris tome 1, p 44.

B

Baaziz M. (1990).Contribution à l'étude des peroxydases du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Relations avec la résistance de la plante à la maladie du bayoud, fusariose

Baaziz M., Bendiab K. (1994). Amélioration génétique du palmier dattier assistée par les marqueurs biochimiques et moléculaires. In: Quel avenir pour l'amélioration des plantes ?. AUPELF-UREF, Ed John Libbey Eurotext, Paris, pp.413-422.

Bacha William J, Bacha Linda M. (2000). Color atlas of Veterinary Histology. Second Edition. William & Wilkins,

Balentine CW., Crandall PG., O'Bryan CA., Duong DQ., Pohlman FW. (2006). The preand post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. Meat Science. 73: 413-421.

Bardeau F. (2009). Les huiles essentielles. fernand. P 95.

Barrow S. C. (1998). A monograph of *Phoenix* L. (*Palmae: Coryphoideae*). Kew Bull. 53, part 3: 513-575.

- Behidj-Benyounes Nassima, DahmeneThoraya, Kehia Nesrine et Zereg Karima. (2013).** Effet antimicrobien de l'huile essentielle des sommités fleuries de la Menthe poivrée *Mentha x piperita* récoltée dans la région de Larbaa (Mitidja-Algérie). 1^{ier} Séminaire National sur: La Biotechnologie des molécules bioactives et pathologies cellulaires.
- Bellakhdar Jamal .(1997) .** Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc : la situation actuelle, les produits, les sources du savoir. Enquête ethnopharmacologique de terrain réalisée de 1969 à 1992. Thèse de doctorat de l'université de Metz. Spécialité" Science de la vie"
- Bellakhdar J. (1997).**La pharmacopée marocaine traditionnelle .Edition Ibis Press, p271-272,344.
- Belliot Anouck (2007).** Huile de cade, goudron de houille , ichthyol : utilisation dermatologique et cosmétique. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Nantes, France. **Consulté le 03.03.2014.**
- Ben abdallah R , Frikha D., Maalej S. ET Sassi S. (2019).** Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines. *In vitro* evaluation of the antibacterial and antifungal activities of marine algae . J.I. M. Sfax, N°31; Février 19 ; 38 - 44.
- Ben chaabane Samah, Abderahmane Bouain , Outhman Koualdia et Philippe Kreiter. (2009).** Impact des caractéristiques chimiques du sol sur la dynamique des populations de la cochenille blanche *Parlatoria blanchardi* Targ. (*Homoptera diaspidid*) et de ses prédateurs dans le sud tunisien. Revue des Régions Arides n°22 (1/2009) pp :19-32 .
- Benchabane M., Toua D., Bakour R. (2007).** Biocontrol of *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis* by *Pseudomonas fluorescens*. International conf, Montpellier 26-31 Août.
- Ben Khalifa A., Guerradi M., Tirichine A., Belguedj M et labгаа L. (2003).** Diagnostic des palmeraies : El atteuf, Metlili, Berriane, Beni Isguen. Guerrara, Melika, Ghardaia, Boulila, Daya, Mansoura, Zelfana, Sebseb, Bounoura.IPGRI et INRA Algérie.
- Belguedj M. (2002).**Caractéristiques des cultivars de dattiers dans les palmeraies du Sud-Est algérien. Revue Recherche Agronomique Annuelle 1 : 1-289.
- Benabid A. (2000).**Flore et écosystème du Maroc.EditionIbisPress.p50.
- Bendiab K., Baaziz M., Brakez Z., Sedra, MY H. (1993)** Correlation of isoenzyme polymorphism and bayoud disease resistance in date palme cultivars and progeny.Euphytica.65: 23-32.
- Bendjima Khadidja, Makhloufi Ahmed, Mezouari Amina, Makhloufi Khadidja (2020).** Antifungal activity of *Olea europaea* subsp. *sylvestris* tar against *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, the causal agent of Bayoud of the date palm in Southwest Algeria saheb Vol 10, No 2 90-94.

- Benhamou, N. (2009).** La résistance chez les plantes. Principes de la stratégie défensive et applications agronomiques. Éditions TEC & DOC - Lavoisier, Paris. 376 p.
- Benkhelifa A. (1993).** Calcul d'un indice de diversité du palmier dattier dans les oasis Algériennes Colloques Internationnal de Phytogéographie tropicale. Paris,6-8 juillet.
- Belarbi-Halli R. et Mangenot F. (1986).** Bayoud disease of date palm: Ultra structure of root infection through pneumatodes. Can. J. Bot. 64: 1703-1711.
- Belaroussi Mohamed EL Hafed . (2019).** Etude de la production du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) variété Deglet Nour : cas des régions de Oued Mya et Oued Righ. THESE Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat ès sciences Spécialité Sciences Agronomiques , Université Kasdi Merbah – Ouargla.
- Benlarbi Larbi, (2019).** Contribution à l'étude de *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* agent causal de la fusariose vasculaire du palmier dattier et moyen de lutte. Thèse de doctorat en science ; science agronomiques ; spécialité phytopathologie. Université Abdelhamid ibn badis Mostaghanem.
- Benlarbi L., Makhloufi A. Belhacene M. Moussaoui A. Ghazli I. Talbi I. Boulanoir A. Mebarki L, (2015).** Biological activities of some vegetables tars, made in south west of algeria. MESMAP-2. ANTALYA-TURKEY.
- Benlarbi L, A.Makhloufi, B. Terfaya, M. Belahcene, A.Moussaoui, N. Makhloufi, H. Bensafi, A. Boulanouar, and L. Mebarki. (2014).** Biological activities of *Olea europea sylvestris* Tar, growing wild in South west of Algeria. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci Volume 3 Number 8 pp. 771-777.
- Benaceur H M .(1981).** La fusariose du palmier dattier. Effets des exsudats racinaires sur le FOA. (Killian et Maire) Gordon. Thèse de doctorat "USTHB".
- Bennaceur M. , C. Lanaud , M. H. Chevallier, N. Bounaga.(1991).**Genetic Diversity of the Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) from Algeria Revealed by Enzyme Markers. Plant Breeding. Volume107, Issue1 August.Pages 56-69.
- Bensalem N. (1991).** Etude histologique du processus infectieux chez le couple Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* (Malencon) Snyder et Hansen, agent causal du Bayoud, Mém. 68p. Ing. I.N.A El- Harrach Alger.
- Benyagoub E, Boulanouar N, Cheriti A. (2012).** Dietary quality of semi-soft date var. Hmira and his excerpt "Robb", Nutrition & Health, Proceedings of the 1st International Congress, Hotel Sheraton of Oran (Algeria): Algerian Society of Nutrition SAN: pp.92.
- Berche P., Gaillard J.L., Simonet M. (1991).** Les bactéries des infections humaines. Éditeur Flammarion, Médecine et Sciences. Page 660.
- Bertaudière-Montes et Montès N. (2004).** *Le Genévrier*, éd. Actes Sud, *Le Nom de l'arbre*, 96 pp.

- Bessedik Fadila. (2006).** Contribution a l'étude des sols et de la microflore de la palmeraie du Touat en vue d'une lutte biologique contre la fusariose vasculaire du palmier dattier ; Thèse de magister en : sciences de la nature spécialité : Ecobiologie et amélioration végétale.
- Bezanger et Beau Quesne L. (1989).** Valeur médicinale des Flavonoïdes. Actualités pharmaceutiques n° 280. pp 70-74.
- Bhar H. et Balouk A. (2011).** Les Plantes Aromatiques et Médicinales: Ces plantes odorantes qui soulagent la douleur ; collaboration avec le Centre de Recherche Forestier et l'Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques.
- Boiron P. (1996)** Organisation et Biologie des Champignons. Collection et éditions Nathan, 128p
- Bonnet P.(1950).**The olive industry in France and North Africa. World Crops. 2, p : 205-208.
- Borugă O., Jianu C., Mișcă C., Goleț I., Gruia A.T., Horhat F.G.(2014),** *Thymus vulgaris* essential oil : Chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Medicine and Life*, 7(3), 56-60p.
- Bouakka M.; A. Hakkou. (2004).** Oasis de Figuig : L'irrigation et la fusariose vasculaire (Bayoud). EL AWAMIA, Vol 1 N. 1-2 : 27 - 46.
- Boudeffeur Saïd. (2010).** Etude histologique de la pénétration de *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (Hansen et Snyder) Gordon à travers les racines de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Thèse de magister en sciences agronomiques Option : Phytopathologie et amélioration de la résistance des plantes aux maladies ; Ecole Nationale Supérieure Agronomique D'EL-HARRACH (ALGER).
- Boudribila M.M. (2004).** Les anciens Amazighs avant les phéniciens : Mode de vie et organisation sociale. AWAL.n° 29, p :17-31.
- Boudy P. 1950** –Guide du forestier en Afrique du nord. Tome IV, Paris ,274-278.
- Bouguedoura N. (1991).** Connaissance de la morphogenèse du palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L. Développement morphogénétique des appareils végétatifs et reproducteurs. Thèse de Doctorat d'Etat. USTHB. 210 pages
- Bouguedoura N., A. Ibrahim, A. Ould Mohamed, M. Saker, and M. Trifi, (2008).** A paper presented at NEPAD Biotechnology Workshop “Challenges for North Africa and Promises for a Regional Integrated Program”, Ezzahra, Tunisia, in collaboration with the Tunisian Society of Microbiology, pp: 22-25.
- Boukhatem M., Hamaidi M., Saidi F., Hakim Y. (2010).** Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) Cultivé dans la plaine de Mitidja, Université Saad Dahleb de Blida, Algérie, nature et technologie, n°3, pp: 39-41.

- Boulal A., B. Benali, M. Moulay et A. Touzi. (2010).** Transformation des Déchets des Dattes de la Région d'Adrar en Bioéthanol', *Revue des Energies Renouvelables*, Vol. 13. N°3, pp. 455 – 465.
- Bouguedoura N. (1991).** Connaissance de la morphogènes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*). Etude in situ et in vitro du développement morphogénétique des appareils végétatif et reproducteur. Thèse de doctorat d'Etat, USTHB, Alger.
- Boulanouar A. (2015).** Bio écologie de l'entomofaune des différentes palmeraies de la région de la Saoura(Béchar) : Application a quelques espèces fréquentant la plante-hôte *Phoenix dactylifera* L.. Thèse Doc. Univ. Tlemcen. Algérie.
- Boulanouar N., A. Marouf R et A. Cheriti. (2009) ;** Le Bayoud: Symptômes et Lutte ; *Annales de l'Université de Béchar* N° 5 ; ISSN : 1112-6604.
- Bounaga N. (1975).** Germination de microconodies de *Fusarium oxysporum f.sp albedinis*. *Bull SocHis Afr Nord* 66 :39-44.
- Bounaga, N. (1985).** Contribution à l'étude de *Fusarium oxysporum f.sp albedinis* (Killian et Maire) Gordon, agent de la fusariose du palmier dattier. Thèse de Doctorat d'état. Univ. des Sciences et technologie « Houari Boumediene » Alger.
- Bouyahiaoui Ahmed. (2017).** Contribution à la valorisation des substances naturelles: Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas Algérien. Thèse de doctorat en science, microbiologie. Université Abdelhamid ibn badis Mostaghanem.
- Bouyahiaoui Ahmed; Fouad Bahria, Abderrahmane Romaneb, Martina Höferlc, Juergen Wannerd, Erich Schmidtc and Leopold Jirovetzc. (2016).** Antimicrobial Activity and Chemical Analysis of the Essential Oil of Algerian *Juniperus phoenicea*. *Natural Product Communications*. Vol. 11 No. 4 : 519 – 522.
- Brac de La Perriere R. A., et Bounaga, N. (1991).** Etude du verger phoenicicole d'une palmeraie traditionnelle (Béni-Abbes, Sud-Ouest Algérein). Répartition spatiale des cultivars en relation avec la fusariose. *Rev. Rés. Amélior. Proo. Agr. Milieu Aride*, 3: 81-90.
- Brochard P. (1974).** Sélection génétique du palmier dattier. *Bull. Agr. Sahar.* 2: 1 – 20.
- Bssaibis F., Gmira N. & Meziane M. (2009).** Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* W. Greuter. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* 3(1):44-45.
- Bulit J. Louvet J., Bouhot D. et Toutain G. (1967).** Recherches sur les fusarioses. I. travaux sur le bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier en Afrique du nord.- *Ann.Epiphyt.*, 18 (2) : 213-239.
- Burt S. (2004),** Essential oils: Antibacterial properties and potential applications in food: A review. *International Journal of Food Microbiology*, **94**(3), 223-253 p .

Burt S.A., van der Zee R., Koets A.P., De Graaff A.M., van Knapen F., Gaastra W., Haagsman H.P., Veldhuizen E.J.A. (2007). Carvacrol induces heat shock protein 60 and inhibit synthesis of flagellin in *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol*, **73**(14), 44484-44490p.



Caillet S., Lacroix M. (2007). Les huiles essentielles : leur propriété antimicrobienne et leur application potentiel en alimentaire. Laboratoire de recherche en science appliquée à l'alimentation. Université de Laval (Québec).

Can, C., S. Yucel, N. Korolev, and T. Katan. (2004). First report of crown and root rot of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in Turkey. *Plant Pathology* 53: 814-814.

Cannesan Marc-Antoine, Christophe Lecomte, Veronique Edel-Hermann, Agnès Langlois, Claude Alabouvette. (2018). Outil de détection de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* et biocontrôle de la Fusariose du cyclamen. *Innovations Agronomiques, INRA*, , 63, pp.373-383.

Canton E., Pema N., Viudes G., Gobernado M. and Espinel-Ingroff A. (2003) Minimum fungicidal concentration of amphotericin B for bloodstream *Candida* Species. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis* ; 45 :203-206.

Caron M. (2013). Les conifères, des végétaux datant de l'ère carbonifère. *Futura-Sciences*, 1–21.

Cavallo J.-D., Mérens A. (2007). Spectre d'activité antibactérien d'un antibiotique et catégorisation clinique Antibacterial spectrum of an antibiotic and clinical categorization; *Pathologie Biologie* 56 (2008) 300–304.

Cavaleiro C., E. Pinto, M.J. Gonçalves & L. Salgueiro, (2006). Antifungal activity of *Juniperus* essential oils against dermatophytes *Aspergillus* and *Candida* strains. *J. Appl. Microbiol.*, 6, 1333-1338.

Chabane D , Assani A, Bouguedoura N, Haicour R, Ducreux G .(2007) – « Induction of callus formation from difficult date palm protoplasts by means of nurse culture ». *C.R.Biologies*, 330 : 392-401.

Chakroune K., Bouakka, M., 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., M. Bouakka, R. Lahlali, A. Hakkou, (2008). Suppressive Effect of Mature Compost of Date Palm By-products on *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. *Plant Pathology Journal*.

Challam H. (1986). Contribution à la connaissance du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Etude anatomo-morphologique comparative des racines de quelques variétés de palmier dattier, D,E,S U.S.T.H.B, Alger.

Chehma . (2001). Valorisation des Sous-Produits du Palmier Dattier en Vue de leur Utilisation en Alimentation du Bétail. *Rev. Energ. Ren. : Production et Valorisation* p :59-64

Chehma Abdelmadjid et Youcef Fouzia. (2009). Variations saisonnières des caractéristiques floristiques et de la composition chimique des parcours sahariens du Sud-Est algérien ; Article de recherche Sécheresse; 20 (4) : 373-81.

Cheikh Aïssa A. (1991). Etude de l'efficacité du bromure de méthyle et de la chloropicrine sur *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis*. Bull. Rés. Maghr. Sur la phoeniculture et la protection du palmier dattier. 1(3): 17-24.

Chermat Sabah. (2013) . Etude phytosociologique et pastorale des djebels Youssef et Zdimm (Hautes plaines Sétifiennes). Thèse de Doctorat en Sciences ; Biologie Végétale ; Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Chevalier A. (1952). Recherches sur les Phoenix Africains. R. B.A. Mai-Juin.52.

Chuyen. (1985) ; La composition des essences de genévrier commun de l'*oxycedrus* et du goudron de cade. Thèse de doctorat en pharmacie. Marseille.

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

Collignon-Trontin A. M. (2000). Etude des variations moléculaires chez l'Epicéa commun (*Picea abies* (L.) Karst.) à l'aide de marqueurs RAPD. Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré, NANCY-I, 165p.

Cowan M.M. (1999), Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev*, **12**(4), 564-582p.

D

Davidson P.M, 2001, Chemical preservatives and naturally antimicrobial compounds. *In: Food Microbiology Fundamentals and Frontiers* (Edited by M.P Doyle., L.R Beuchat and T.J Montville), pp 593-628. *2nd edition, ASM Press, Washington.*

Debazac, E.F. (1991). Manuel des conifères. 2 e éd., ENGREF, Nancy.

Demarle. (2001). *Juniperus communis* L. et *Juniperus oxycedrus* L. genévrier utile thèse de doctorat en pharmacie. Montpellier.

Debourgogne Anne. (2013). Typage moléculaire du complexe d'espèces *Fusarium solani* et détermination de son mécanisme de résistance au voriconazole. Thèse de doctorat en Sciences de la Vie et de la Santé. l'Université de Lorraine.

- Di Pietro, A., Madrid, M.P., Caracuel, Z., Delgado-Jarana, J., Roncero, M.I.G. (2003).** *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus *Molecular Plant Pathology*, 4: 315-325.
- Djerbi M. (1983).** Diseases of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.).F.A.O. Regional Project for Palm and Dates Research Centre in the Near East and North Africa. 106 p.
- Djerbi M, Sedra MH Et El Idrissi Ammari MA. (1985).** Caractéristiques culturales et identification du *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*, agent causal du bayoud. *Annls. Inst. Natl. Rech. Agron. Tunisie*, 58, Note de recherche n. 1 : 1-8.
- Djerbi M. (1991).** Biotechnologie du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) : Voies de propagation des clones résistants au bayoud et de haute qualité dattière. *Options Méditerranéennes, Séries Séminaires*. 14 : 31-38.
- Djerbi M. (1994).** Précis de phoénici-culture. Ed .FAO : 191 p.
- Djerbi M. (1990)** -Méthodes de diagnostic du bayoud. *Bulletin OEPP*.20. pp.607-613.
- Djerbi, M. (1988).** Les maladies du palmier dattier. *Projet régional de contre le Bayoud R/84/018*.pp.127.
- Dixon, R.A., M.J. Harrison et N.L. Paiva. (2001).** The isoflavonoid phytoalexin pathway: from enzymes to genes to transcription factors. *Physiol. Plant.* 93 : 385- 392
- Dossa C. (1993).** Variabilité de la morphologie et du pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum Schlecht f. sp. Elaeidis Toovey* agent de la fusariose du palmier à huile Montpellier : Université de Montpellier 2, 135 p.
- Doveri S. Baldoni L. (2007).** Olive in Genome Mapping and molecular Breeding in plants. Ed C. Kole. Volume 4 : Fruits and Nuts, p : 253-264.
- Dorvault François. (1994)** .L'Officine, ou Répertoire général de pharmacie pratique . Édition Paris Asselin 1886.
- Dubost et Kada. (1974).**Experimental study of inoculation of young date palm seedlings with *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* (Kill. & Maire) Malencon. *Bulletin d'Agronomie Saharienne* 1974 Vol.1 No.2 19 pp.21-37 ref.15.
- Duke A.J. (2009).** Phytochemical and ethnobotanical database. Usdaars-Ngri, Belsville Agricultural research center.
- Dumas et Gédéon A. (2003).** L'indispensable en réactions ioniques en solution aqueuse, Editions Bréal.P 23.
- Dumé G. (2008).** Flore forestière française, Région Méditerranéenne.



- Éberlin T. (1994).** Les antibiotiques Classification, mode d'action, utilisation thérapeutique. Nathan, Paris. Page 88.
- Edith A., Robert M., Jean. U. (1988).** Chromatographie: Theorie.26 et 28 Janvier. Lycée louis vincent – METZ.
- El-ghorfi A. (1987).** Contribution à l'étude des porteurs sains du *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*, agent causal du bayoud ; fusariose vasculaire du palmier dattier. - Thèse D.E.S., Fac. Scien. Cadi Ayyadh, Marrakech, Maroc, 97 p.
- Enright N. J., Hill R. S., and Veblen T. T. (1996).** The southern conifers - An introduction. *Ecology of the Southern Conifers*. Washington, D.C., USA: Smithsonian Institution Press, pp. 1-9.
- EL-Hadrami I., EL Bellaj M., Daayf F., Clerivet A. et Macheix J. (1998)** .Interaction Palmier dattier - *Fusarium oxysporum albedinis*, agent causal du bayoud: réponse du métabolisme phénolique à des infections racinaires très localisées et relations avec la résistance des cultivars. 2nd International Electronic conference on synthetic Organic Chemistry (ECSOC-2) Septembre 1-30.
- El Hadrami Abdelbasset , Abdelmalek El Idrissi ; Tourane Majida El Hassni Foua Daayf. (2005).** Toxin-based *in-vitro* selection and its potential application to date palm for resistance to the bayoud *Fusarium wilt*. *Comptes Rendus Biologies* ;Volume 328, Issue 8, August 2005, Pages 732-744.
- EL Hassni M., EL Hadrami A., Daayf F., Ait Barka E., and EL Hadrami I. (2004).** Chitosan, antifungal product against *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* and elicitor of defense reactions in date palm roots. *Phytopathol. Mediterr.* 43, 195–204.
- EL-Modafar C., Tantaoui A. et EL Boustani E. (1999).** Cinétique d'accumulation et Fongitoxicité des Phytoalexines du Palmier dattier vis-à-vis de *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis*. *Journal of Phytopathology*, August.Vol. 147 issue 7-8 Page 477,
- EL-Modafar C., Tantaoui A. et EL Boustani E-S. (2001).** Differential induction of phenylalaline ammonia-lyase activity in date palm roots in response to inoculation with *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* and to elicitation with fungal wall elicitor. *J. Plant. Physio.*, Vol.158, N°6, pp.715-722(8).
- El-Sawi S.A., H.M. Motawae & A.M. Alib, (2007).** Chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea* L. grown in Egypt. *Afr. J. Trad. CAM*, 4 (4), 417-426.



Fauron Robert , Moatti Roger, Donadieu Yves. (1983). La phytothérapie thérapeutique différente Ed ; Maloine. ISBN 978-2-224-00870-3.

Fki Lotfi , W. Kiaa, N. Sahnoun, Neila Bouaziz, R. Masmoudi et Noureddine Drira .(2010) . Production de vitroplants de palmier dattier à l'échelle pilote ; Schémas de production et traitement des contraintes. p. 195-214

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

Fernandez D., Quinten M., Tantaoui A., Geiger J.P., Daboussi M.J. and Langin T. (1998). FOT1- specific insertion in *Fusarium oxysporum f.sp. Albedinis* genome provide useful PCR target for detection of the date palm pathogen. Applied Environmental Microbiology, vol. 64 N°2 : 633-636.

Figueredo G. (2007). Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (*Lamiaceae*) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de Doctorat. Université Blaise Pascal, France, 417p.

Filipowicz N., Kaminski M. Kurlenda J., Asztemborska M. (2003). Antibacterial and antifungal activity of *juniper berry* oil and its selected components. *Phytother Res*, **17**(3), 227-231p.

Foster-Hartnett D, Danesh D, Penuela S, Sharopova N, Endre G, Vandenbosch KA, Young ND, Samac DA (2007). Molecular and cytological responses of *Medicago truncatula* to *Erysiphe pisi*. *Mol Plant Pathol* **8**: 307-319.

Fravel, D., Olivain, C., Alabouvette, C. (2003). *Fusarium oxysporum* an dits biocontrol. *New pathologist* 157: 493-502.

Frédérique Aberlenc-Bertossi , Abdourahman Daher, Nathalie Chabrillange. (2008). La détermination du sexe chez le palmier dattier . Actes du 3e Séminaire du réseau AUF-BIOVEG « Biotechnologies du palmier dattier » Montpellier (France), 18-20 novembre.

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



Gaceb-Terrak Rabéa & Rahmania Fatma (2010). Analyse des lipides et autres composés volatils de Deglet Nour, cultivar de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. *Acta Botanica Gallica*, 157:1, 127-133, DOI: 10.1080/12538078.2010.10516194.

Gast M. (1999), « Goudron », Encyclopédie berbère, 21 | Gland – Hadjarjen, Aix-en-Provence, Edisud, p. 3170-3174.

Gavrilovic M., Maginot M.J. Wallach J. (1996). Manipulations d'analyse biochimique, Wolters Kluwer France.P2.

Gómez-Estaca J., López de Lacey A., López-Caballero M.E., Gómez-Guillén M.C, Montero P, (2010). Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiol*, 27(7), 889-896p.

Gulcin, I., Kufrevioglu, O.I., Oktay, M., Buyukokuroglu, M.E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology* 90, 205–215.



Haddouch M. (1996) Situation actuelle et perspectives de développement du palmier dattier au Maroc. *Options Méditerranéennes A* 28, 63-79.

Haddou M.; Babahani, S.; Idder, A. (2016). Conduite du palmier dattier Deglet Nour dans la région d'Ouargla. *Revue des Bioressources* . Dec2016, Vol. 6 Issue 2, p46-55. 10p.

Hadef Leila. (2009). Optimisation des paramètres de détection et de quantification par chromatographie liquide haute performance (hplc) résidus d'antibiotiques dans la viande. Thèse de Magister en médecine vétérinaire Option : hygiène alimentaire Spécialité : surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande.

Hadjraoui K, Haida W, Kerboub Y. (2017). Date palm diseases and pests (case of bayoud disease: vascular fusarium) *fusarium oxysporum f. sp. albedinis* in the wilaya of adrar. *Genetics and biodiversity journal. Gen. Biodv. J. 1(2):83-88*

Hajji H., Tallal I, Maafa I., Bentata F, El Alaoui Faris, F.E. Abdennebi , El Hakkou A, Chakroune K et Bouakka M. (2004). 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.

- Hajji H. , Tallal I. , Maafa I. , Bentata F. , EL Alaoui Faris F.E., Abdennebi EL. & EL Aissami A. (2016)**, Evaluation *in vitro* de l'activité antifongique de quatre plantes médicinales marocaines sur cinq champignons phytopathogènes . Revue Marocaine de Protection des Plantes, N° 10: 57-65.
- Hakkou A., Bouakka M. (2004)**. Oasis de Figuig: l'état actuel de la palmeraie et incidence de la fusariose vasculaire (Bayoud). Sécheresse 15(2), p. 147-58.
- Hakkou A., Khadija Chakroune, Mohammed Bouakka, Faiza Souna, Lurdes Cotxarrera; Marie Isabel Trillas. (2011)**. Effect of nitrogen sources on the composting of date palm (*Phoenix dactylifera*) by-products infected by *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*. Advances in Environmental Biology. 2011, 5(7) : 1638-1646
- Haluk J. et Roussel C. (2000)**. Caractérisation et origine des tropolones responsables de la durabilité naturelle des Cupressacées. Application potentielle en préservation du bois. *Annals of Forest Science*, 57, pp.819–829.
- Hammerschmidt, R. and Dann, E. K. (1999)**. *The role of phytoalexins in plant protection*. Novartis Foundation Symposium 223: Insect-Plant Interactions and Induced Plant Defence. Edited by D. J. Chadwick and J. A. Goode. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons.175-187.<https://doi.org/10.1002/9780470515679.ch12>.
- Hannachi S, Khitri D, Benkhalifa A, Brac de la Perrière RA. (1998)**. *Inventaire variétal de la palmeraie algérienne*. Alger : Agence nationale d'éducation et de publication (Anep).
- Harchaoui S. (2007)**. Chimiotaxonomique du palmier dattier des sujets sains. USTHB. Alger Thèse doc. d'état. 135p.
- Harris, A. W., Young, J. W., Bowell, E., Martin, L. J., Millis, R. L., Poutanen, M. et Zeigler, K. W. (1989)**. Photoelectric observations of asteroids 3, 24, 60, 261, and 863. *Icarus*, 77(1), 171-186.
- Harrak, H., Chetto., A. (2001)**. Valorisation et commercialisation des dattes au maroc. Edition INRA 2001, Marrakech, Maroc, Ed. Alwataniana, 222p.
- Hayouni EA., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M. (2007)**. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts . *Food Chemistry*, 10 :10-16.
- Henda Keskes, Kais Mnafgui , Khaled Hamden, Mohamed Damak, Abdelfattah El Feki, Nouredine Allouche. (2014)** . *In vitro* anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of *Juniperus phoenicea* L. leaves from Tunisia; Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine Volume 4, Supplement 2, July 2014, Pages S649-S655.

Hellal Z. (2011). Contribution à étude propriété antibactérienne et antioxydant des huiles essentielle extraite de citrus, application sur sardine (*serdina pichardus*). P54

Horizon. (2010). Les palmiers dattiers (*Phoenix Dactylifera L.*). Apport dans l'amélioration génétique de la variété. Options Méditerranéennes A 28,23-44.

Hoitink H. A. J., Krause M. S., Han D. Y. (2001). Spectrum and mechanisms of plant disease control with composts. In: Stoffela P. J. and Kahn B. A. (eds.), Compost Utilization in Horticultural Cropping Systems. Lewis, Pages: 263–273. Boca Raton, FL.



Idder Mohamed Azzedine. Idder-Ighili Hakima. Saggou Hayet. Pintureau Bernard .(2009). Taux d'infestation et morphologie de la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) sur différentes variétés du palmier dattier *Phoenix dactylifera* (L.). Cah Agric, vol. 18, n° 1, janvier-février.

Institut national de la recherche forestière (INRF) (2012). Les ressources génétiques forestières et les peuplements portes graines ». Ministère de l'agriculture et du développement rural. Alger.

Irkin R., Korukluoglu M. (2007). Control of *Aspergillus niger* with garlic, onion and leek extracts. African Journal of Biotechnology 6(4):384- 387.



Jaradat A. et Zaid A. (2004). Quality traits of date palm fruits, in a center of origin and center of diversity. *Food Agr. Environ.* 2: 208-217.

Jenner P. M., Hagan E. C., Taylor J. M., Cook E. L., Fitzhugh O. G. (1964). Food avourings and compounds of related structure. I. Acute oral toxicity. food cosmetics toxicol. P327–343.

Juzan L., Pernelle J.J. et Dabert P. (2012). Les outils de la biologie moléculaire pour l'analyse microbiologique des boues activées. Sciences Eaux and Territoires : la Revue du IRSTEA, IRSTEA, 2012, p. 76 - p. 81.

Kamphuis LG, Lichtenzveig J, Oliver RP, Ellwood SR. (2008). Two alternative recessive quantitative trait loci influence resistance to spring black stem and leaf spot in *Medicago truncatula*. BMC Plant Biol 8.



Keskes Henda, Mnafgui Kais, Hamden Khaled , Damak Mohamed, El Feki Abdelfattah Allouche Nouredine. (2014). *In vitro* anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of

Juniperus phoenicea L. leaves from Tunisia. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine Volume 4, Supplement 2, July 2014, Pages S649-S655.

Kotze M, Eloff JN. (2002). Extraction of antibacterial compounds from *Combretum microphyllum* (Combretaceae) S. Afr. J. Bot. 68:62-67.

Keum Young-Soo, Jong-Su Seo, Yuting Hu & Qing X. Li . (2006). Degradation pathways of phenanthrene by *Sinorhizobium* sp. C4 Applied Microbiology and Biotechnology volume 71, pages 935–941.



Laouiniz Salah Eddine. (2014). Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de *Phoenix dactylifera* L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf). Thèse de doctorat en sciences en: Chimie Industrielle Spécialité (Option): Génie chimique ; Université Mohamed Khider Biskra.

Lahlou N., K. Mouchid, T. Aboussaouira, N. Habti, L. Belghazi, K. Fellat-Zarrouk, A. Tantaoui-Elaraki, A. Rachidai & M.M. Ismaili-Alaoui. (2005). Étude de la cytotoxicité de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* : Essais biologiques variés. Les cahiers de la recherche, série A (6), 7-16.

Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P.J., Nychas G.J.E. (2001), A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91(3), 453-462p.

Lee K.W, Kim Y.J, Lee H.J et Lee C.Y. (2003). Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine, J Agric Food chem. p 51-7292.

Laouar Asma, Makhloufi Ahmed, Makhloufi khadidja. (2019). Microbiological and physicochemical attributes of two date cultivars Hmira and Feggous in Abadla, Bechar Oasis, South-West of Algeria. South Asian journal Exp Biol; 9 (5):207-213.

Laville E. (1962). Infestations expérimentales de jeunes plantules de palmier dattier par *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Fruits d'outre-mer, 17, 2, 88 – 90. (Abstr. Rev. Appl. Mycol. 42, 436).

Lepoivre P, Busogoro JP, Etame JJ, El Hadrami A, Carlier J, Harelimana G, Mourichon X, Panis B, Riveros AS, Salle G, Strosse H and Swennen R. (2003). *Banana-Mycosphaerella fijiensis* interactions. In: Jacome et al.: *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas: present status and outlook. Proceedings of the 2nd International workshop on *Mycosphaerella* leaf spot diseases, San José, Costa Rica, 20-23 may. 151-159.

Linden, G., & Lorient D. (1994). Valorisation alimentaire de la production agricole. Biochimie agro-industrielle.

- Louni D. (1994).** Les Forêts Algériennes. *Forêt méditerranéenne* XV(1):59–63.
- Louvet J. (1991).** Que devons nous faire pour lutter contre le bayoud. *Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides*. Paris. France. pp.337-346.
- Lucas E. (2000).** Un produit d'avenir en thérapeutique dermatologique : le distillat moléculaire de cade. Thèse de doctorat en pharmacie. Montpellier.
- Lucini E.I., Zunino M.P., López M.L., Zygadlo J.A. (2006).** Effect of Monoterpenes on Lipid Composition and Sclerotial Development of *Sclerotium cepivorum* Berk. *J. Phytopathol.* 154: 441–446.

M

- Mahdi Noureddine. (2011).** Essai de lutte biologique contre la fusariose vasculaire du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*). Mémoire de magister, science biologique. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou .
- Mahma Sid Ali. (2012).** Effet de quelques bio-agresseurs du dattier et impact des méthodes de lutte sur la qualité du produit datte. -Cas de la région de Ghardaïa- Thèse de Magister Spécialité : Protection des Végétaux Option : Zoophyathatrie. Université KASDI MERBAH –OUARGLA.
- Makhloufi A. et Abdelouahid Djamel eddine.(2011).** Etude de la qualité physicochimique et microbiologique de l'eau potable dans la ville de Béchar .sud ouest Algérie. 1er Séminaire International sur la Ressource en eau au Sahara : Evaluation, Economie et Protection, le 19 et 20 janvier 2011(Ouargla).
- Makhloufi A, L.Benlarbi , L.Mebarki, Akermi M.M . (2012).** Antimicrobial activities of essential oil and crude extracts from *artemisia herba-alba asoo*, growing wild in Bechar, south west of Algeria. - Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine – Volume 1 Issue 1, Makhloufi A et al. / GJRMI January 2012, 1-8 1.
- Makhloufi A., Safi H et Makhloufi N. (2014).** Contribution a l'étude de l'activité antimicrobienne des extrait de deux arbre de la région de Béchar et Tlemcen *Juniperus oxycedrus* et *Olea europaea sylvestis* . Mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'étude Supérieure Option Microbiologie .Université de Béchar.
- Makhloufi A, Belhadef M, Cherouili K, Fethi M. (2018)** Physico-chemical Analysis and Microbial Quality of Three Date Cultuvars Grown in Aoulef Oasis of Adrar Region. *Applied Biology in Saharan Areas* 2(1) :6-10.
- Malgorzata M., Krystina B., Katarzyna M., Daniel G., Dominik T., Jakov D., Adam B. (2003).** Morphological variability of *Juniperus phoenicea* (Cupressaceae) from three distant localities on Iberian peninsula, *acta societatis botanicorum poloniae*. p 71-78.

- Mansouri N., Statrani B., Ghanmi M., El ghadraoui L., Aafi A. et Farah A.(2010).** Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et de *Juniperus oxycedrus* du Maroc. *Phytothérapie* 8: 166-70
- Massei G., Watkins R. and Hartley Susan E. (2006).** Sex-related growth and secondary compounds in *Juniperus oxycedrus* macrocarpa. Elsevier, *Acta oecologica* 29: 135-140.
- Matheron B., Benbadis A. (1990).** Contribution à l'étude du bayoud, fusariose du palmier dattier. Etude du cultivar sensible Deglet-Nour. *Can. J. Bot* 68: 2054-2058.
- Mazari K., Bendinerad N., Benkhechi Ch. et Fernandez X. (2010).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *Cupressus sempervirens* . *Medicinal Plants Research*. **4(10)** : 959-964.
- Meddour R. (2010).** Bioclimatologie, phytogéographie et phytosociologie en Algérie exemple des groupements forestiers et préforestiers de la Kabylie Djurdjurèenne. Thèse de Doctorat, Université Tizi ouzou, Algérie, 461 p.
- Merzougui Fatima Zahra, Makhloufi Ahmed, Merzougui Touhami . (2019).** Hydro-chemical and microbiological characterization of Lower Cretaceous waters in a semi-arid zone Beni-Ounif syncline, South-West of Algerian. *Journal of water and land development*; Mars 2019, No. 40 (I–III): 67–80(40):67–80DOI: 10.2478/jwld-2019-0007 License CC BY-NC-ND Project: Valorisation of date an palm date .Water quality and traitement of waste water.
- Messaïd H. (2007).** Optimisation du processus D'immersion- Réhydratation du système dattes sèches-jus d'Orange. Mémoire du diplôme de Magister. Université M'Hamed BOUGUERA-Boumerdès.96p.
- Messadi F. (2013).** Production de dattes en Algérie : Une filière d'avenir. Alger. 2 pages.
- Messar E.M. (1996).** Le secteur phoenicicole algérien : Situation et perspectives.
- Meynadier, J. (1988).** Le cade en dermatologie. *Parfums, Cosmétiques et Aromes* 83, 73_ 82.
- Mezouari A., A. Makhloufi, K. Bendjima, L. Benlarbi, A. Boulanouar, K. Makhloufi and M.D. Jesús Gonzalez .(2019).** Antifungal activity of *Acacia tortilis subsp. raddiana* tar on *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*, the cause of Bayoud Disease of the date palm in Southwest Algeria. *Indian J. Agric. Res.*, 53(6): 713-717 Print ISSN:0367-8245 / Online ISSN:0976-058X.
- Mohammedi Z. (2013).** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université aboubekr Belkaid. Algérie. 170p.
- Molot P.M., Mas P.M. (1975).** Atténuation de la sensibilité du melon (Cucumismels) au *Fusarium oxysporum* SCHL. f.sp. *melonis* SN et HANS. II : Rôle de l'acide fusarique. *Annales phytopathologiques*, 6, 245-253.

Michielse, C.B., Rep, M. (2009). Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology* , 10 (3): 311-324.

Mihoub A. , Helimi S., Mokhtari S. et Halitim A. (2016). Appréciation d'une méthode pour l'estimation des besoins en eau d'une culture cultivée dans un milieu salin (cas du palmier dattier). . / *Revue Agriculture*. Numéro spécial 1 (2016) 189 – 197

Mokhtari A, Brahimi K, Benziada R. (2008). Architecture et confort thermique dans les zones arides. Application au cas de la ville de Béchar; *Revue des énergies renouvelables* .Vol 11,N°2 ,307-315 .

Moreira Rosa R, de Oliveira RB, Saffi J, Braga AL, Roesler R, Dal-Pizzol F, Fonseca Moreira JC, Brendel M, Pêgas Henriques JA.(2005). Pro-oxidant action of diphenyl diselenide in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* exposed to ROS-generating conditions. *Saccharomyces Genome Database (SGD)*. *Life Sci* 77(19):2398-411.

Muhizi, T. (2008). Synthèse d'aminosucres conduisant a des biocides d'origine naturelle. Thèse de doctorat. Inédite, École doctorale : sciences chimiques. Université bordeaux.

Munier P. (1973). *Le palmier dattier*. Paris : Maisonneuve et Larose,.

N

Nazik Mansouri , Badr Satrani , Mohamed Ghanmi , Lahsen EI Ghadraoui , Abdellatif Boukir & Abderrahman Aafi (2011) Effet de la provenance sur le rendement, la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des rameaux de *Juniperus phoenicea* L. du Maroc, *Acta Botanica Gallica*, 158:2, 215-224, DOI: 10.1080/12538078.2011.10516268.

Ndiakama Gedeon Bkulu . (2005). Etude de phénomènes d'agrégation moléculaire dans les bruts pétroliers. Thèse de Doctorat en Sciences de l'université de Metz Mention Chimie- physique

Norme Française. (1988). Graines oléagineuses - Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles - Méthode simplifiée. V03-909 Juin.

O

Ouafi-Harchaoui S. (2007). Chimiotaxonomique du palmier dattier des sujets sains. USTHB. Alger Thèse doc. d'état. 135p.

OEPP /EPPO. (Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes), (1994). Fiches informatives sur les organismes de quarantaine n° 70, *Fusarium oxysporum f.sp. Albedinis*. Bulletin 12 (1).

O.E.P.P/E.P.P.O. (2003). European and Mediterranean Plant Protection Organization. Protocoles de diagnostic pour les organismes. Réglementés PM 7/16. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 2003. 33 : 245–247.

Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. (2006). Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. Meat Sci. 73:236–244.

Ozenda. P. (1965). Flore du Sahara, Edition CNRS, Paris.

P

P.D.A.U (2019). Révision d'aménagement et d'urbanisme de la commune de Béni-Ounif.

Peyron Gilles. (2000). Guide illustré de formation: Cultiver le Palmier Dattier. Éd. CIRAD. Montpellier. 109 p.

Pipet C. (1986). Contribution à l'étude des goudrons utilisés en dermatologie et en cosmétologie, thèse de doctorat en pharmacie, paris.

Phillips, J.M. and Hayman D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55: 158-161.

Plyler TR, Simone GW, Fernandez D, Kistler HC. (1999). Rapid detection of the *Fusarium oxysporum lineage* containing the Canary Island date palm wilt pathogen. Phytopathology; 89: 407-413.

Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C.E., Roura S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie 36:679–684.

Portes L. (1994). « Fours à cade, fours à poix dans la Provence littorale », Les Alpes de Lumière, 104, Salagon, Mane, 56 p.

Q

Ouinten M. (1996). Diversité et structure génétique des populations algériennes de *Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis* agent de la fusariose vasculaire (Bayoud) du palmier dattier. Mémoire doctorat. Université Montpellier II, p.153.

Quézel P. (1979). La région méditerranéenne française et ses essences forestières. Signification écologique dans le contexte circumméditerranéen. Forêt médit, pp. 7-18.

Quezel P & Medail F. (2003). Ecologie et biogéographie de la forêt du bassin méditerranéen .Edition scientifiques et médicales Elsevier SAS .Paris, pp, 28-125,571.

R

Radaelli M., da Silva B.P., Weidlich L., Hoehne L., Flach A., da Costa L.A.M.A., Ethur E.M, (2016). Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against *Clostridium perfringens*. *Brazilian Journal of Microbiology*, **47**(2), 424-430p.

Rameau J.C., Mansion D., Dume G.(2008). Flore forestière française .Volume 3.Paris, 2421 p.

Ramírez-Suer.M.2009. "Etude de l'interaction de *Medicago truncatula* avec *Fusarium oxysporum* et du rôle de l'acide salicylique dans les interactions de la plante avec différents agents pathogènes et symbiotiques. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse (ENSAT).282p.

Rahmania F. (1982). Contribution à la connaissance de palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. et l'agent causal de la maladie de bayoud *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (killian et Maire) Gordon – aspects ultra structuraux de relation hôte parasite. USTHB Alger. 122p.

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

Renard Jean-Luc. (1970). La fusariose du palmier à huile. Rôle des blessures des racines dans le processus d'infection. *Oléagineux*, **25** (11) : 581-586.

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

Rhouma A. (1996) Le palmier dattier en Tunisie : un secteur en plein expansion. *Options Méditerranéennes A* 28, 85-104.

Rohloff J. (2002). Volatiles from rhizomes of *Rhodiola rosea* L. *Phytochemistry* 59, 655-661.

Roger Prat, Gilles Furelaud, Jean-Pierre Rubinstein. (2001). Colorations de cellulose et lignine
Publié le 01.10.01 planet-vie.ens.fr

S

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

Saaidi M. (1992). Comportement au champ de 32 cultivars de palmier dattier vis-à-vis du santé P:2.

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

- Sabaou Nasserline, Bounaga Nicole .(1987).** Actinomycètes parasites de champignons : étude des espèces, spécificité de l'action parasitaire au genre *Fusarium* et antagonisme dans le sol envers *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* (Killian et Maire) Gordon ; Canadian Journal of Microbiology, Vol. 33, N° 5 : pages 445-451. <https://doi.org/10.1139/m87-074>.
- Salhi Nasrine , Goumni Zahira Salhi Asma Mehani Mouna et Terzi Valeria. (2015).** Evaluation de l'activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de *Laurus Nobilis* L. sur la croissance mycélienne de *Fusarium Sporotrichoide*. ElWahat pour les Recherches et les Etudes Vol.8 n°2 (2015) : 34 – 44. ISSN : 1112 -7163.
- Sedra M.E. (1992).** Evaluation and selection of cultivars and clones of date-palm for resistance to the bayoud-disease. Arab J. Plant Prot 10 (2) : 155-160.
- Sedra, My H., Maslouhy, My A. (1995).** La fusariose vasculaire du palmier dattier (Bayoud). Action inhibitrice des filtrats de culture de six microorganismes antagonistes isolés à partir des sols de la palmeraie de Marrakech sur le développement *in vitro* de *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*. Al Awamia, 90: 1–8.
- Sedra My.H. (2001).** La maladie du Bayoud du palmier dattier (*Phoenix dactilyfera* L.), extension, dégâts, diagnostic et recommandations pratiques de prévention pour l'extension et le développement de la maladie, 2001. Brochure de vulgarisation N°4. (Réseau Arabe de Recherches et de Développement du Palmier-ACSAD-Syrie), 24 p.
- Sedra MH. (2003).** Le Bayoud du palmier dattier en Afrique du Nord. FAO, RNE/SNEA-Tunis. Edit. FAO sur la protection des plantes. Tunisie.
- Sedra, My.H. (2004).** Le Bayoud (fusariose vasculaire) du palmier dattier en Afrique du Nord. Situation actuelle et stratégies de lutte. Proceeding du 5ème Congrès de l'Association Marocaine de Protection des Plantes, Rabat, 30-31 mars 2004, p37-54.
- Sedra MH. (2006).** La maladie du Bayoud du palmier dattier (*Phoenix dactilyfera* L.): apparition, extension, dégâts, conditions de développement, méthodes de diagnostic et de lutte, acquis, perspectives et recommandations pratiques. Broch. de vulgaris., Edit. OADA, Khartoum, Soudan.
- Sedra MyH, Lazrek HB, Amraoui H, Nour S. (2008).** Pathogen toxins of bayoud disease on date palm: *in vitro* selection and biological and activities. In: 10th international Fusarium work-shop and Fusarium genomics workshop. Alghero, Sardinia, Italy, Aug 30 to Sept 2, 2008
- Sedra MH. (2013).** The Bayoud (Vascular Wilt) of Date Palm in North Africa: Situation, Research Achievements and Applications. ISHS. Acta Hort. 994 : 59-76
- Sedra My H. (2012).** Guide du Phoeniculteur.(Mise en place et conduite des vergers phoenicicoles). INRA -Editions 2012. 168 p.

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

Seifert K.A. (2001). *Fusarium* anamorphic generic concepts. In *Fusarium*. (EDs: summerell; B.A; Leslie J.F; Backhouse D; Bryden W.L; Burgess L.W);APS Press ;ST; Paul .USA, 15-28PP.

Seingue A. (1985). La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes, éditions Maisonneuve et la rose, deuxième version, Paris, pp215-216-221.

Selmani Chérifa. (2018). Thèse de doctorat. Contribution à la Préservation du Palmier Dattier : Etude de l'Androgenèse et de l'Organogenèse de Quelques Cultivars d'Intérêt. Université des sciences et de la technologie « Haouari Boumedien » ; Faculté des sciences biologiques.

Souna F., Ahmed Chafi, Khadija Chakroune, Imane Himri, Mohammed Bouakka, Abdelkader Hakkou, (2010). Effect of mycorrhization and compost on the growth and the protection of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against Bayoud disease. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture. 2010, 4(2) : 260-267.

Soro S. , K. Abo , D. Kone , K. Coffi , J. Y. Kouadio et S. Ake. (2011). Comparaison de l'efficacité antifongique de l'huile essentielle *d'ocimum gratissimum* L. et du fongicide de synthèse mancozebe contre le mycopathogene tellurique, *fusarium oxysporum f. sp. radices-lycopersici* en cultures de tomate (*lycopersicon esculentum mill.*) sous abri en côte d'ivoire. Agronomie Africaine 23 (1) : 43 - 52.

Soylu S., Yigitbas H., Soyly E.M., Kurt S. (2007), Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Applied Microbiology*, **103**(4), 1021-1030p.

Stark T., Dorah M. and Onesmo B. (2013). Ethnopharmacological Survey of Plants Used in the Traditional Treatment of Gastrointestinal Pain, Inflammation and Diarrhea in Africa: Future Perspectives for Integration into Modern Medicine. disponible sur : (<http://www.mdpi.com/2076-2615/3/1/158/>).

Stassi V., Havala., Loukis A ., Philianos S., Verykakidou .(1996).The antimicrobial activity of the essential oils of four *Juniperus* species growing wild in Greece .*flavour and fragrance* .Vol 11:71-74.

T

Taleb M.S. (2007). Biodiversité et dynamique des formations à *Juniperus thurifera*, *Juniperus phoenicea* et *Juniperus communis* au Maroc. Actes des IVes journées nationales de la biodiversité : biodiversité végétale », Tétouan, 29-34.

Tantaoui A. et Boisson C. (1991). Compatibilité végétative d'isolats du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et des *Fusarium oxysporum* de la rhizosphère du Palmier dattier et des sols de palmeraies. *Phytopath. medit.*, 30, 155-163.

Tantaoui A., Ouinten M., Geiger J.P. et Fernandez D. (1996). Characterisation of a single clonal lineage of *Fusarium oxysporum* f.sp. *Albedinis* causing Bayoud disease of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Morocco. *Phytopathology* 86: 787-792.

Terfaya Bouziane. (2015). Etude de l'activité antifusarienne des arbrisseaux (*Olea europaea sylvestris* ; *Juniperus oxycedrus*). Essai *in vivo* sur trois cultivars des palmiers dattiers. Thèse de magister. Option : Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments. Université Tahri Mohamed de Béchar.

Terfaya B., A.Makhloufi, A. Mekboul, L.Benlarbi, D. Abdelouahid .(2017). Antifungal Activity of *Juniperus oxycedrus* Tar; Growing Wild in North-west of Algeria. *Applied Biology in Saharan Areas* Vol. 1, N. 1, p. 33-36.

Thomas N. (2001). Étude technologique sur la pratique du feu dans les opérations de chimie, d'alchimie et de métallurgie dans l'antiquité, au moyen âge et jusqu'au a la période moderne, de DEA, université paris I panthéon-Sorbonne, p.251.

Thrane, U. (2001). Developments in the taxonomy of *Fusarium* species based on secondary metabolites. In : *Fusarium*. (Eds. Summerell B.A., Leslie J.F., Backhouse D., Bryden W.L. , Burgess L.W.), APS Press St. Paul, USA.

Torregrosa C, Cluzet S, Fournier J, Huguet T, Gamas P, Prosperi JM, Esquerre-Tugaye MT, Dumas B, Jacquet C (2004). Cytological, genetic, and molecular analysis to characterize compatible and incompatible interactions between *Medicago truncatula* and *Colletotrichum trifolii*. *Mol Plant Microbe Interact* 17: 909-920.

Triki M. A., Zouba A., Kouldia O., Ben Mahmoud O., Takrouni M. I., Garnier M., Bové J. M., Montarone M., Poupet A., Flores R., Daros J. A., Fadda Z. G. N., Moreno P., Duran Villa N. (2003). Maladie des feuilles cassantes or brittle leaf disease of date palms in Tunisia. Biotic or abiotic disease. *Journal of plant Pathology*, 85 (2) : 71-79.

Turgis M., Han J., Caillet S., Lacroix M. (2009), Antimicrobial activity of mustard essential oil against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhi*. *Food Control*, 20(12), 1073-1079p.

U

Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol*, 68(4), 1561-1568p.

Uribe S., Ramirez J., Peña A. (1985). Effects of beta-pinene on yeast membrane functions. *J Bacteriol*, **161**(3), 1195-1200.

V

Veeken A. H. M., Blok W. J., Curci F., Coenen G. C. M., Termorshuizen A. J. et Hamelers H. V. M. (2005). Improving quality of composted biowaste to enhance disease suppressiveness of compostamended, peat-based potting mixes. *Soil Biol. Biochem.*, **37**, 2131–2140.

Veldhuizen E.J.A., Hendriks H.G., Hogenkamp A., van Dijk A., Gaastra W., Tooten P.C., Haagsman H.P. (2006). Differential regulation of porcine beta-defensins 1 and 2 upon Salmonella infection in the intestinal epithelial cell line IPI-2I Vet. Immunol. Immunopathol. **114**:94–102.

Vilgalys R, Hester M. (1990). Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *J Bacteriol* ; **172**: 4239-4246

Vincent M.C. (1991). L'aromatogramme. Encyclopédie de médecine naturelle, phytothérapie, aromathérapie. **4**, Paris **6**.

W

Walton J.D. (1994). Deconstructing the cell wall. *Plant Physiology* **104**: 1113- 1118.

Weather P.R., Young B., Heath J.W. 2001, Histologie fonctionnelle. Quatrième édition. De Boeck université.

Wilbur J. (2001). Final Report on the Safety Assessment of *Juniperus Communis* Extract, *Juniperus Oxycedrus* Extract, *Juniperus Oxycedrus* Tar, *Juniperus Phoenicea* Extract, and *Juniperu Virginiana* Extract. P 41-56.

Y

Yezli Wassim. (2010). Étude morphologique, pouvoir pathogène et activité protéolytique chez *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedini*. Mémoire de Magister en Microbiologie Appliquée Option : Phytatrie et Phytopharmacie .

Z

Zereg S. (2011). Diagnostic écologique, mis en valeur et conservation des junipérais de *Juniperus phoenicea* de la région de Djerma (Nord_Est du parc national de Belezma, Batna). Mémoire en vue d'obtention de magistère en science agronomique. Université de Batna, Algérie.

Ziouti A., C. El-Modafar, A. Fleuriet, S. El-Boustani & J.J. Macheix. (1996). Phenolic compounds in date palm cultivars sensitive and resistant to *Fusarium oxysporum*. *Biol. Plant.*, **38** (3), 451-457.

Annexes

Annexe I

Identification des souches fongiques

1. Critères d'identification macroscopique :

L'aspect des colonies représente un critère d'identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses ; parfois certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre (l'absence ou pauvreté du mycélium aérien).

Le relief des colonies : il peut être plat ou plissé et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure).

La taille des colonies: Elle peut-être très variable en fonction des genres fongiques : petites colonies (*Cladosporium*) ou au contraire, colonies étendues, envahissantes (*Mucor*, *Rhizopus*).

La couleur des colonies est un élément très important d'identification ; les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, le crème, le jaune, l'orange, le rouge allant jusqu'au violet ou le bleue, le vert, le brun allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*).

Les structures de fructification : la présence ou l'absence, au centre de la colonie, des structures de fructification sexuée (cléistothèces) ou asexuée (pycnides) (**Botton et al., 1990**).

2. Critères d'identification microscopique (Technique de Micro culture):

Elle consiste à cultiver les moisissures sur des lames menées de petits carrés de PDA solidifié et les couvrir par des lamelles, ensuite les conditionner dans une chambre stérile et humide et les incuber à 25° C pendant 3 à 5 jours.après l'incubation , on effectué les observation des lames grâce à un microscope.

Après 2 à 3 jours d'incubation, sur des nouvelles lames stérile, on dépose 2 à 3 gouttes de lactophénol ou bleu de coton pour le gonflement du mycélium et faciliter l'observation microscopique des mycéliums collés sur la lame des morceaux de PDA (**Pitt, 2004**)

Aspect des colonies	Observation microscopique	Résultat d'identification
		<i>Fusarium sp.</i>

Composition des milieux de culture, solutions et réactifs

Eau physiologique :

Chlorure de sodium.....9g/l
L'eau distillée.....1000ml.

Milieu PDA :

Pomme de terre.....200 g/l.
Sucre.....20 g/l
Agar.....15 g/l.
Eau distillée.....1000ml.

Solution d'agar 0.2 %

Agar.....2g.
Eau distillée.....1000ml.

Acide lactique :

Acide lactique concentré.....25ml.
Eau distillée.....100ml

Resultats d'enquete sur l'utilisation de l'huile de cade

Les résultats d'enquête sont classés comme suit :

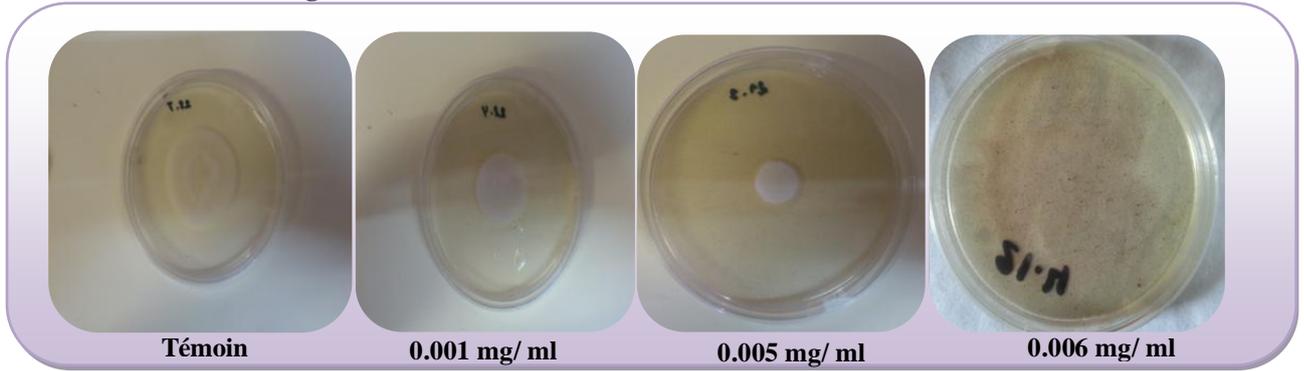
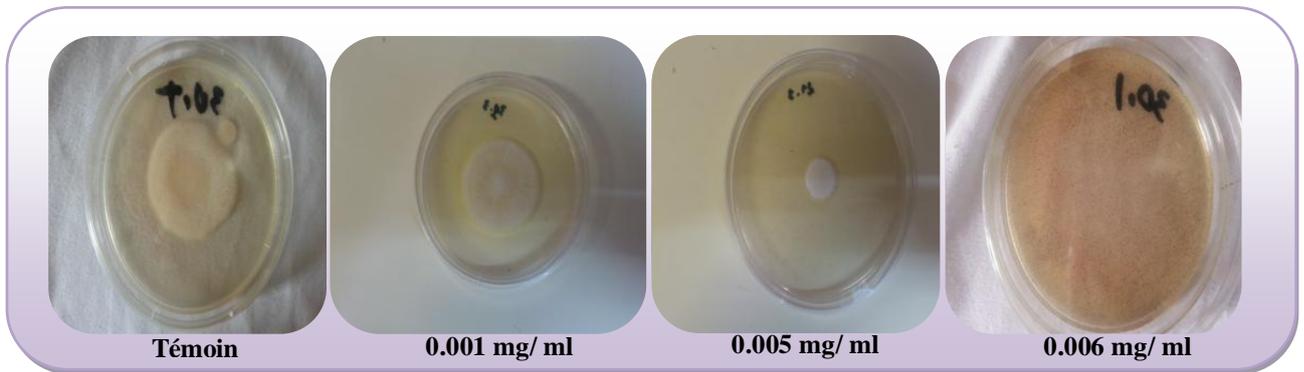
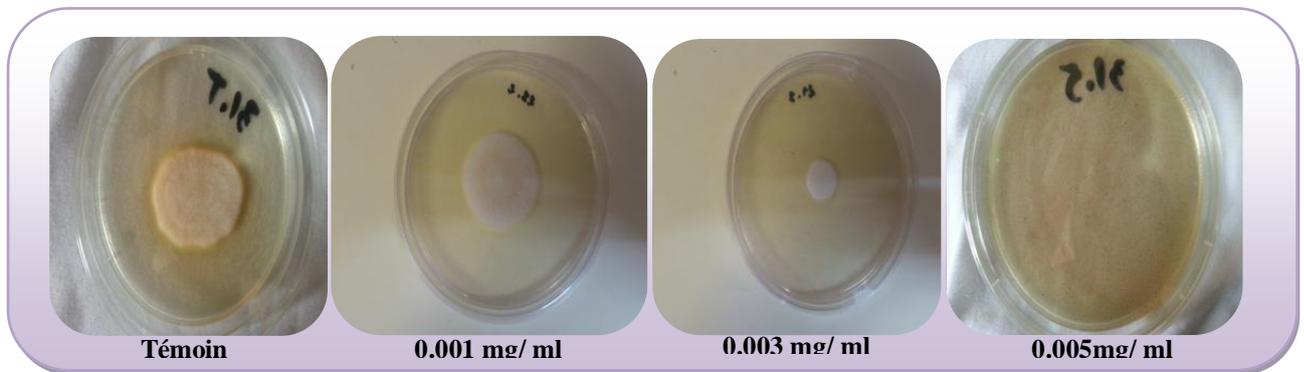
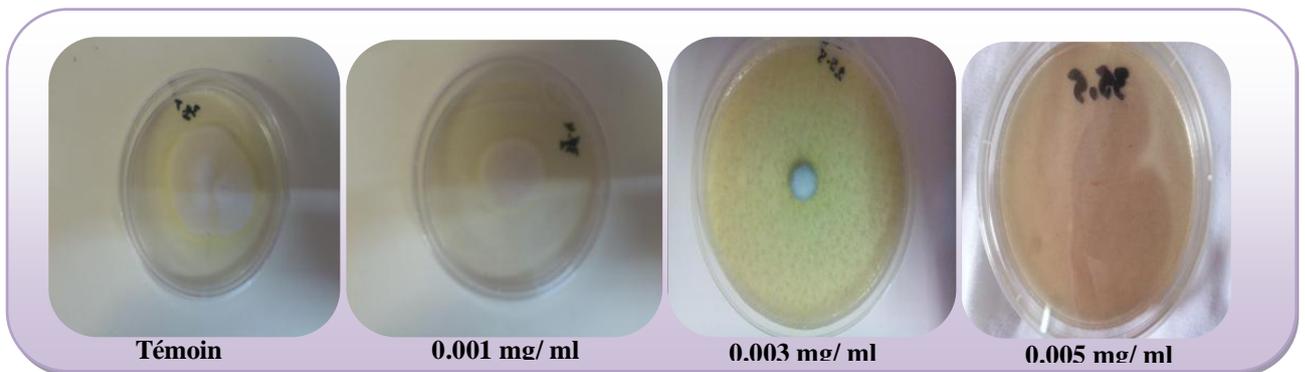
a. Catégorie des sexes : quelque soit l'âge, la catégorie des femmes montrent une meilleure connaissance que celle des hommes. L'huile de cades est connue sous le nom de "Gatrane".

Elle a plusieurs usages :

- Tannage des cuirs et au badigeonnage des jarres à eau ;

- Elle donne a l'eau un gout agréable, une bonne odeur et stimule l'appétit;
- Chasse les reptiles, les scorpions et les insectes ;
- Traitement de la gale, des dents, contre l'eczéma et psoriasis et empêche l'apparition des cheveux blancs ;
- prescrite aux malades souffrant de maux de tête et d'estomac, en particulier comme vermifuge chez les enfants en bas âge.

b. Catégorie des niveaux intellectuels : A l'exception des chimistes, des pharmaciens, des biologistes, des médecins, qui indiquent que l'huile de cade est un produit riche en molécules aromatiques. Ils signalent l'utilisation des huiles de cade comme antibactérien, antiseptique (urinaire, digestif, sanguin, et pulmonaire) et rentre dans la préparation de shampooings pour lutter contre la chute des cheveux et pour des maladies de cuir chevelu et dans la composition de nombreuses pommades et savons pour traiter certaines maladies dermatologiques tel que l'eczéma, psoriasis, ichtyoses, et névrodermites. Pour les jeunes, l'huile de cade a une bonne odeur et vivifiante, qu'on utilise pour rafraichir l'eau durant l'été qu'en hiver,

Annexe II**Effet de goudron à différentes concentrations sur la souche FOA :****Planche:** Effet de G a différentes concentrations sur la souche FOA (S01).**Planche:** Effet de G a différentes concentrations sur la souche FOA (S02).**Planche :** Effet de G a différentes concentrations sur la souche FOA (S04).**Planche :** Effet de G a différentes concentrations sur la souche FOA (S05).

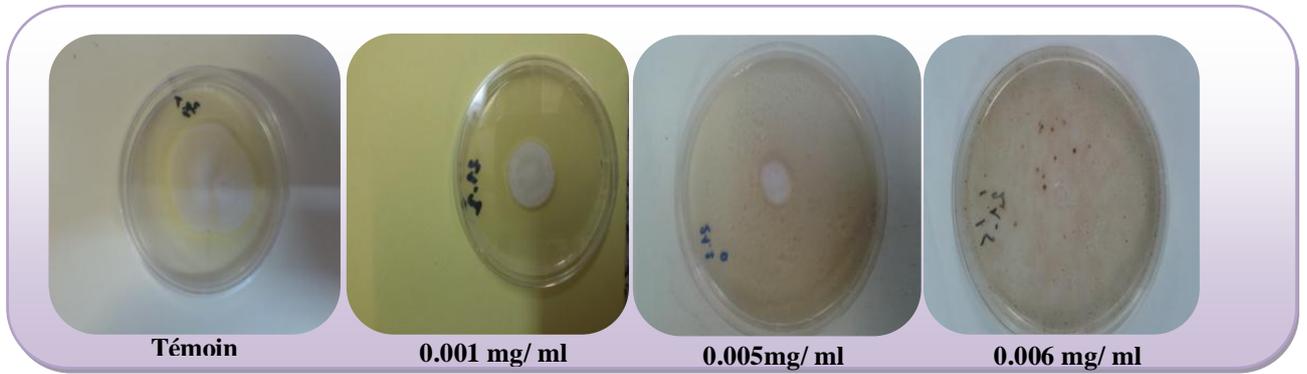


Planche: Effet de G a différentes concentrations sur la souche FOA (S07).

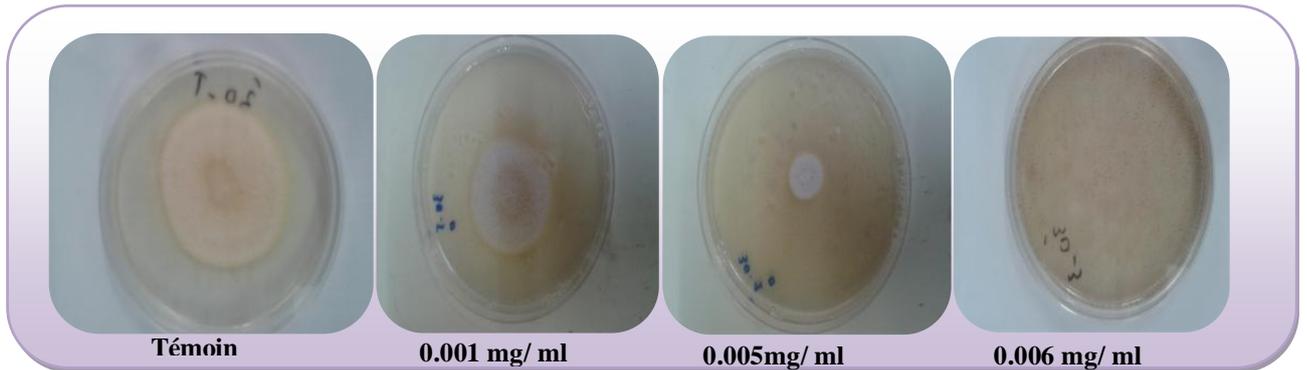


Planche: Effet de G a différentes concentrations sur la souche FOA (S08).

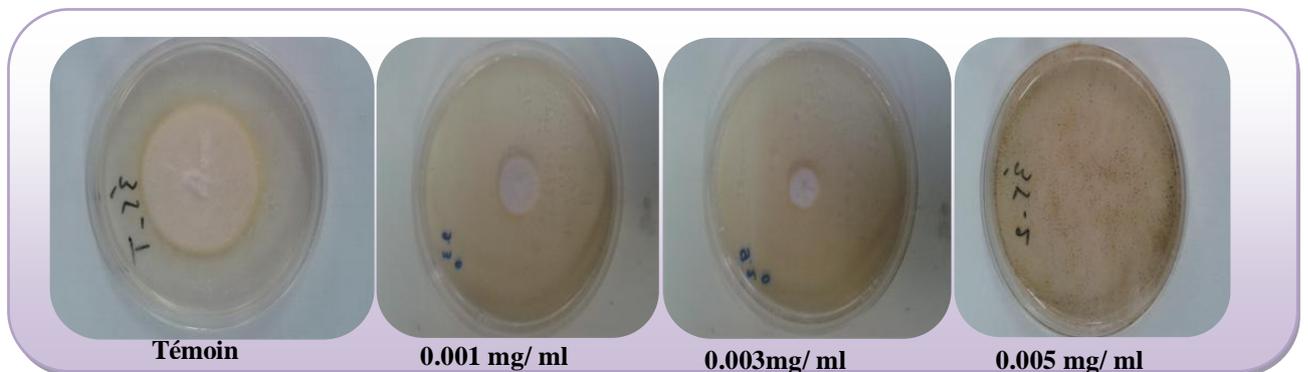


Planche : Effet de G a différentes concentrations sur la souche FOA (S09).

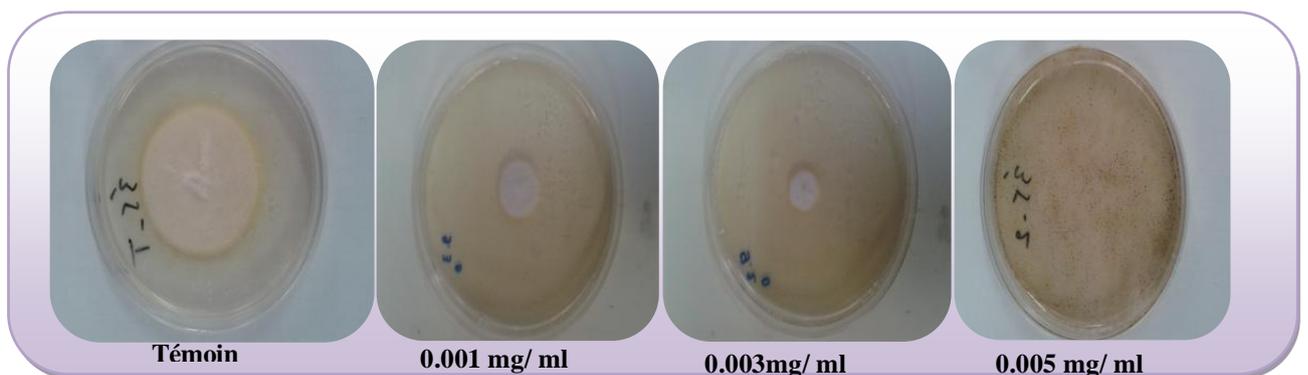


Planche : Effet de G a différentes concentrations sur la souche FOA (S10).

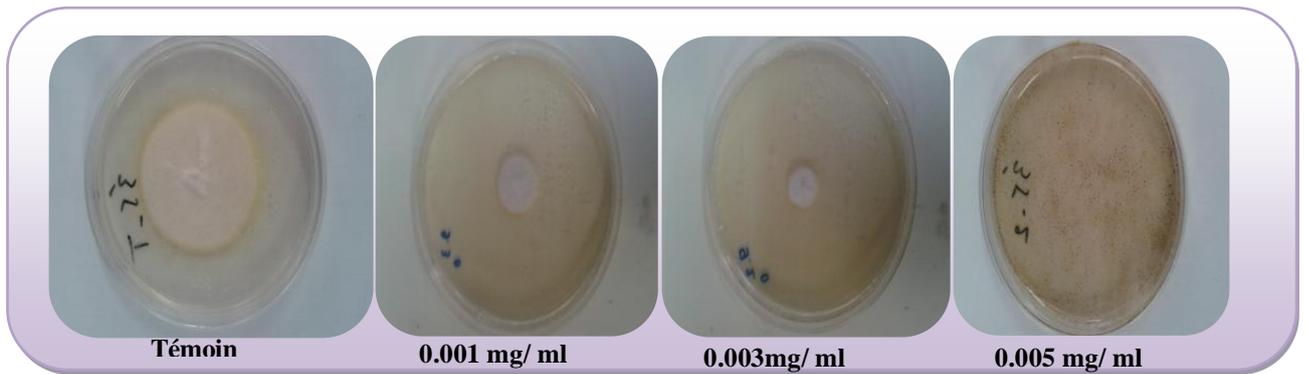


Planche : Effet de fraction huileux a différentes concentrations sur la souche FOA (S01).

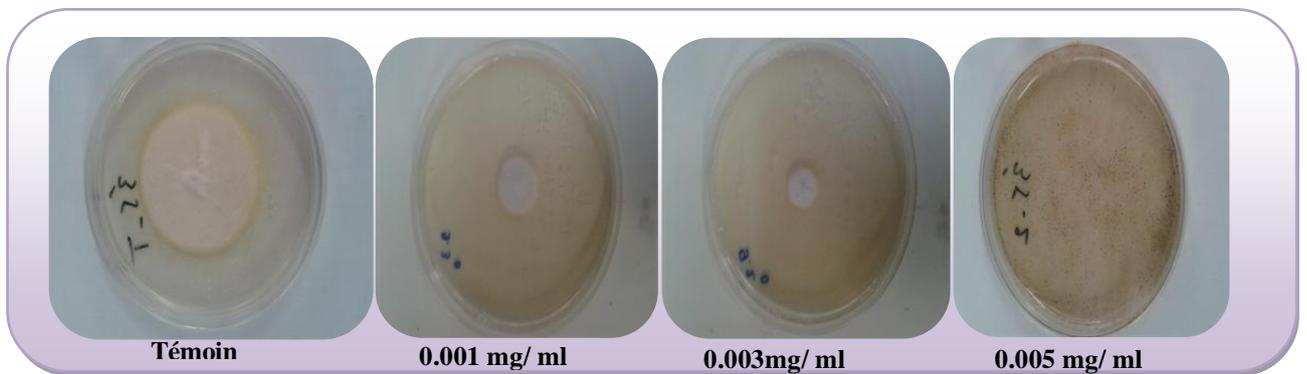


Planche : Effet de fraction huileux a différentes concentrations sur la souche FOA (S02).

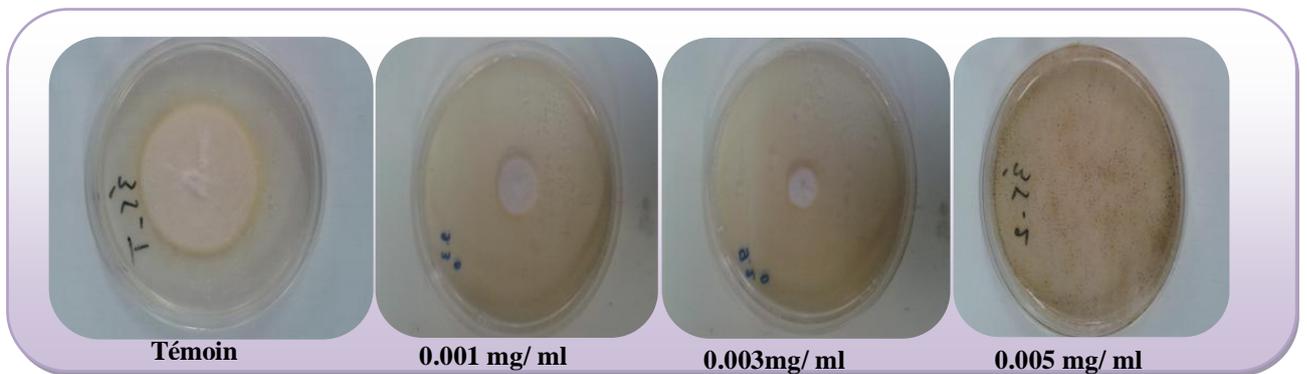


Planche : Effet de fraction huileux a différentes concentrations sur la souche FOA (S04).

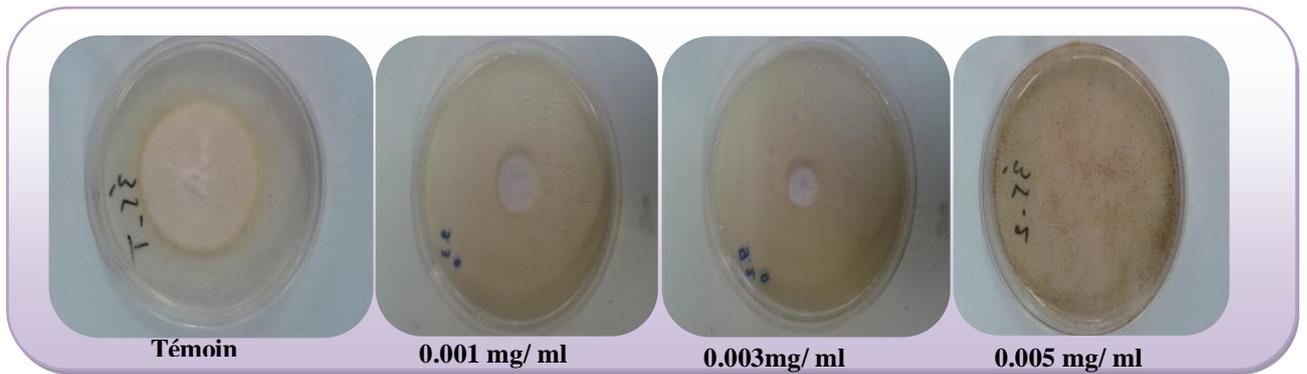


Planche : Effet de fraction huileux a différentes concentrations sur la souche FOA (S05).

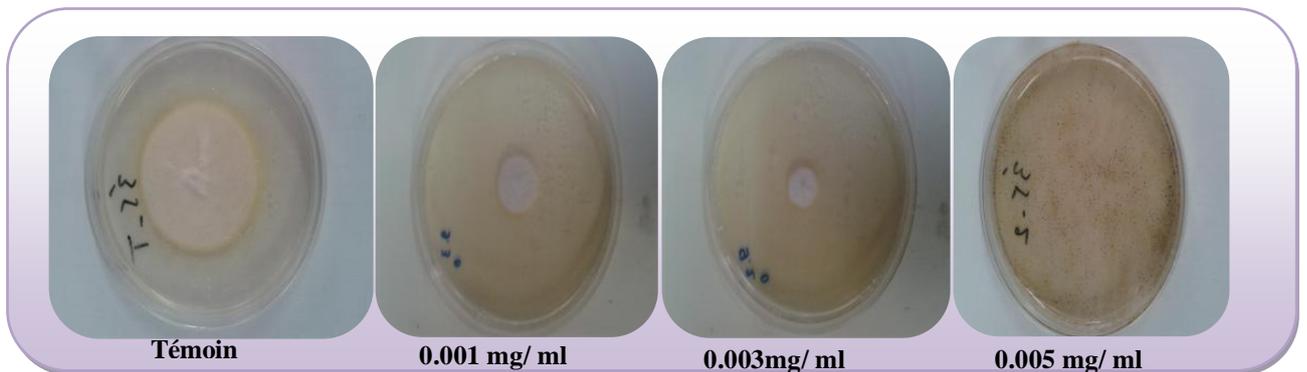


Planche : Effet de fraction huileux a différentes concentrations sur la souche FOA (S07).

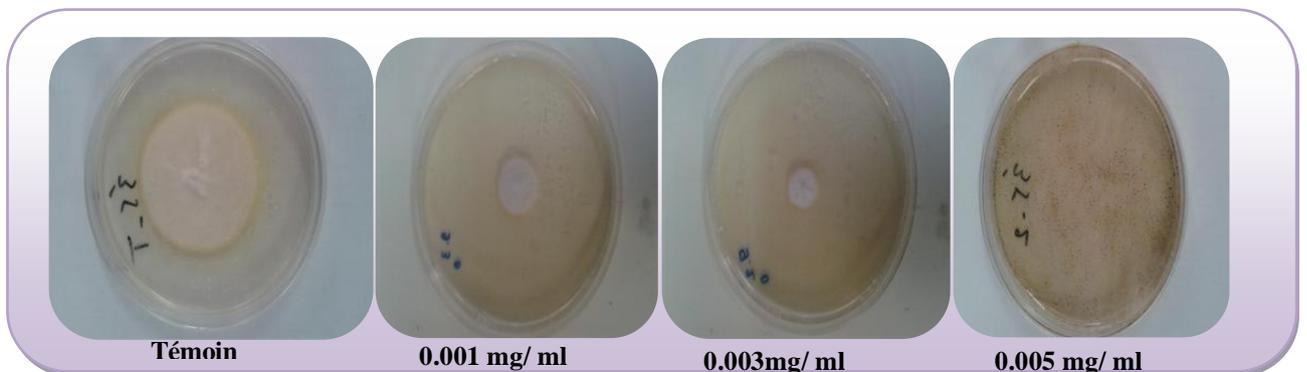


Planche : Effet de fraction huileux a différentes concentrations sur la souche FOA (S08).

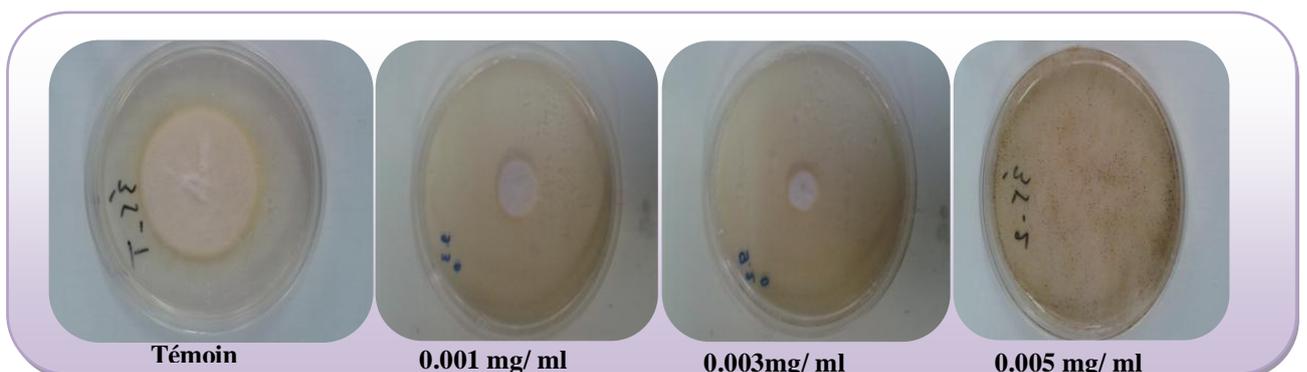


Planche : Effet de fraction huileux a différentes concentrations sur la souche FOA (S09).

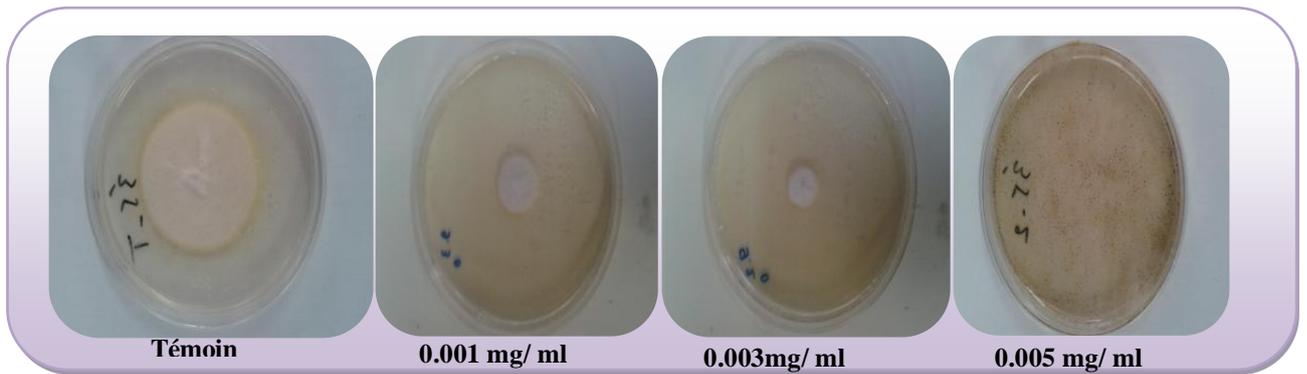


Planche : Effet de fraction huileux a différentes concentrations sur la souche FOA (S10).

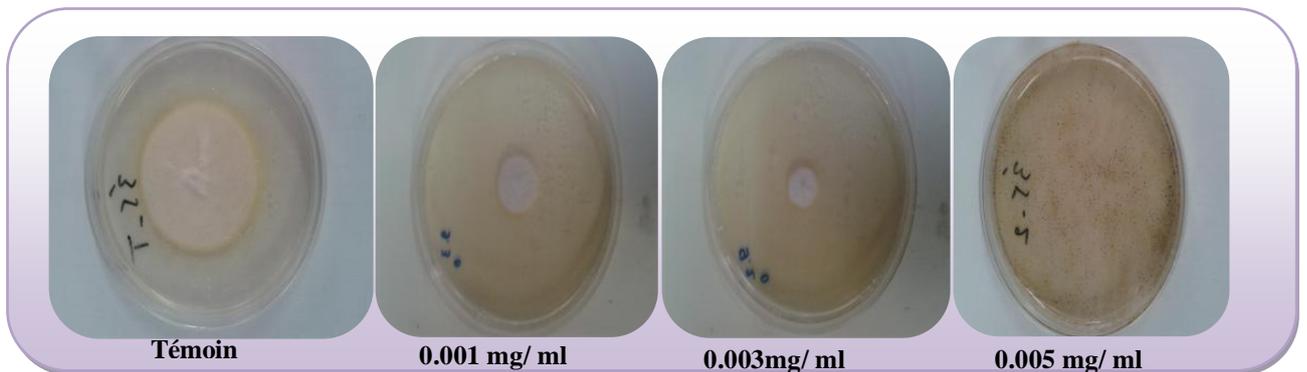


Planche : Effet de fraction goudron F2 a différentes concentrations sur la souche FOA (S01).

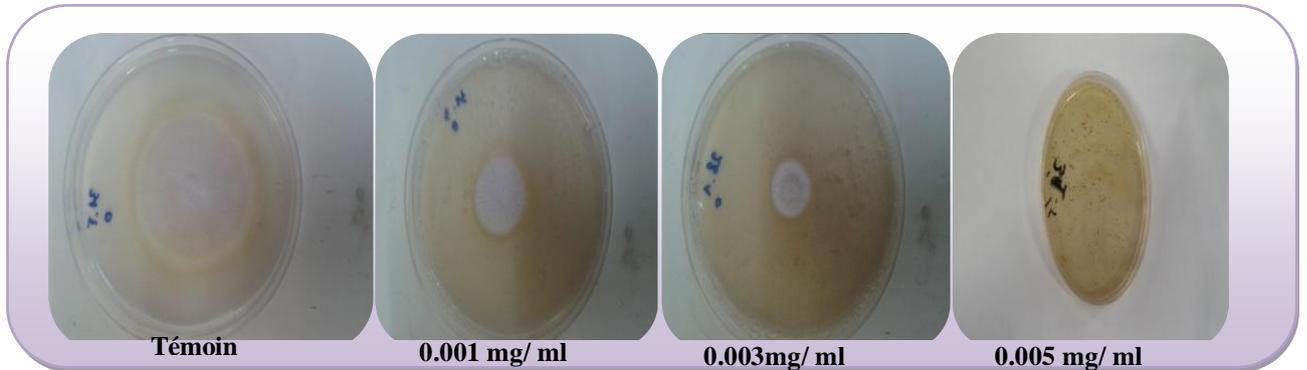


Planche : Effet de fraction goudron F2 a différentes concentrations sur la souche FOA (S02)

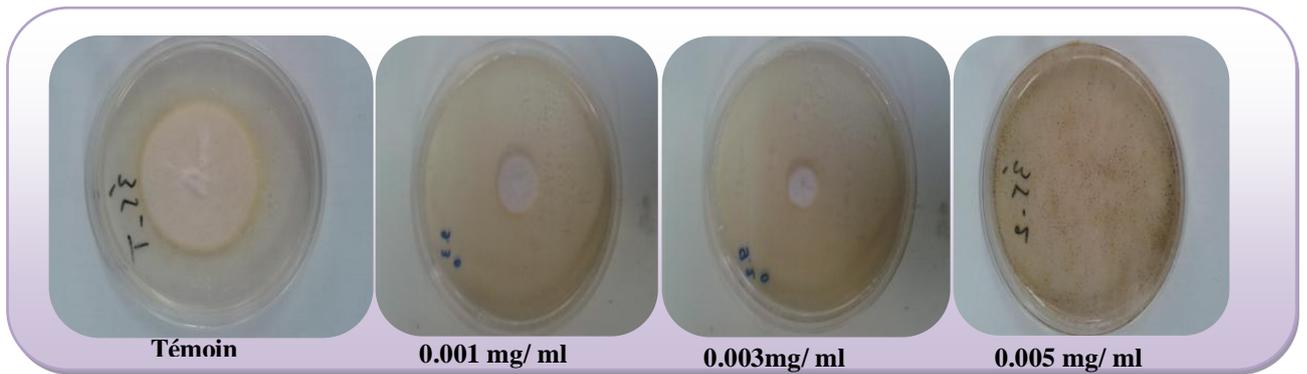


Planche : Effet de fraction goudron F2 a différentes concentrations sur la souche FOA (S04).

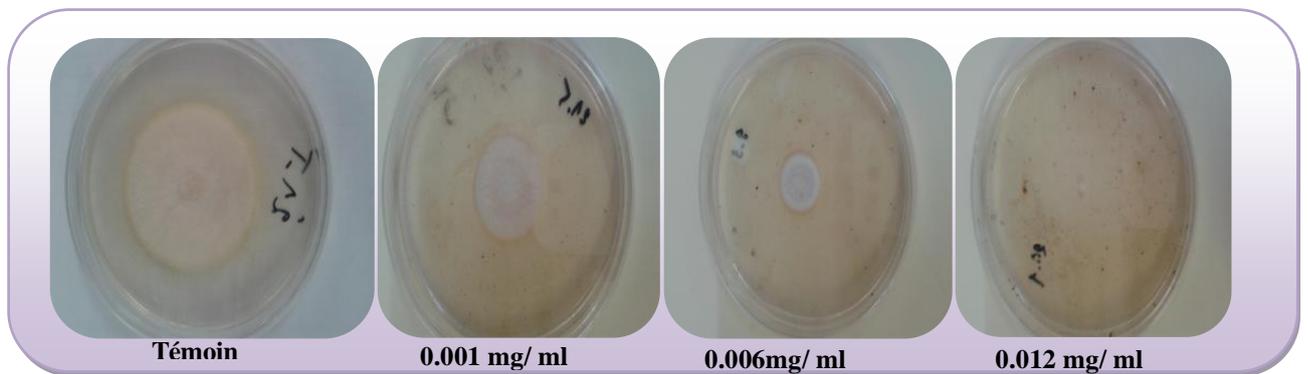


Planche : Effet de fraction goudron F2 a différentes concentrations sur la souche FOA (S05)

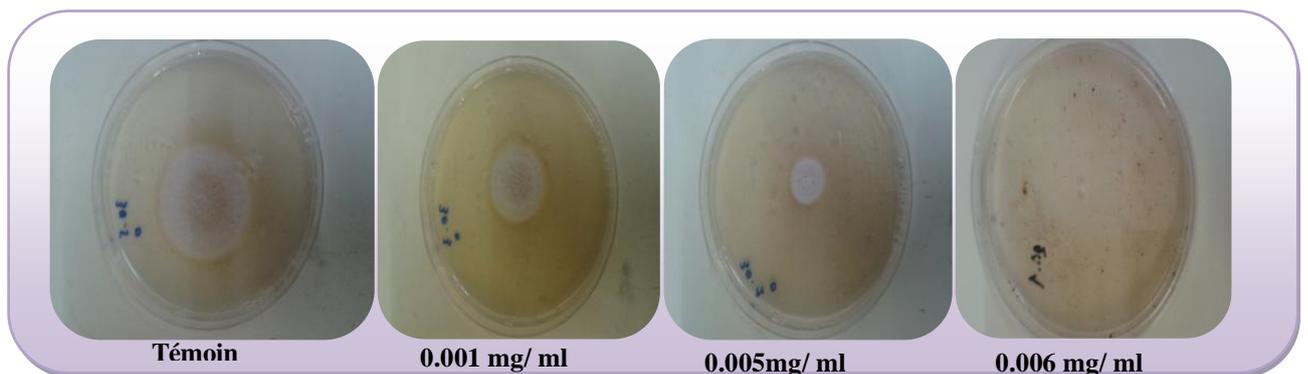


Planche: Effet de F2 a différentes concentrations sur la souche FOA (S07).

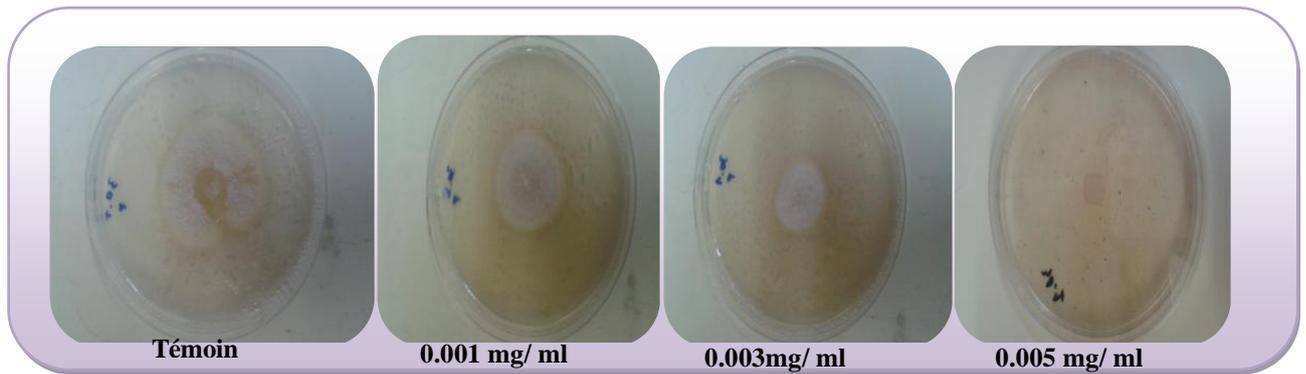


Planche : Effet de fraction goudron F2 a différentes concentrations sur la souche FOA (S08)

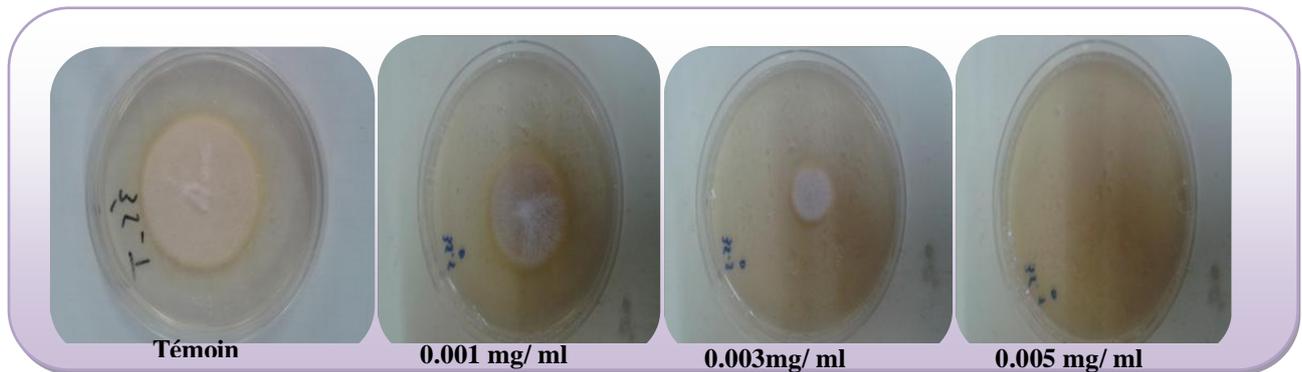


Planche : Effet de fraction goudron F2 a différentes concentrations sur la souche FOA (S09).

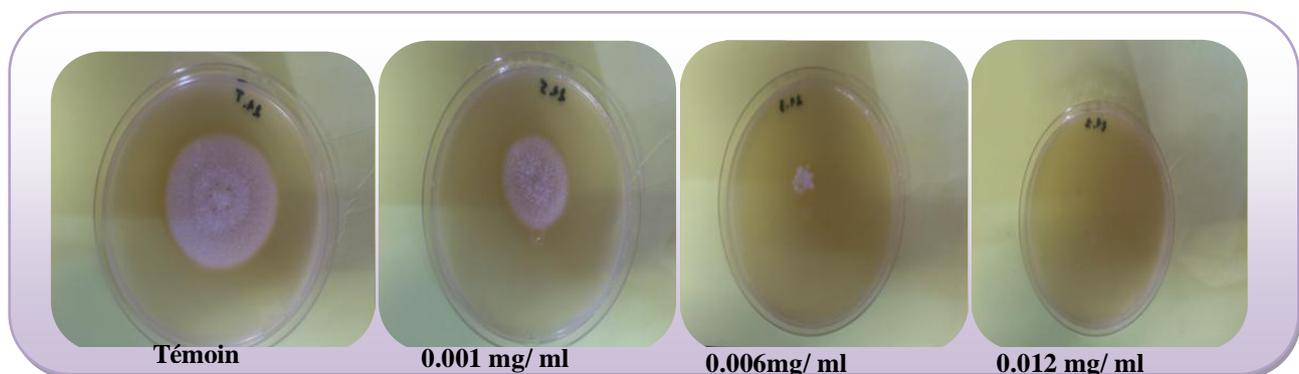
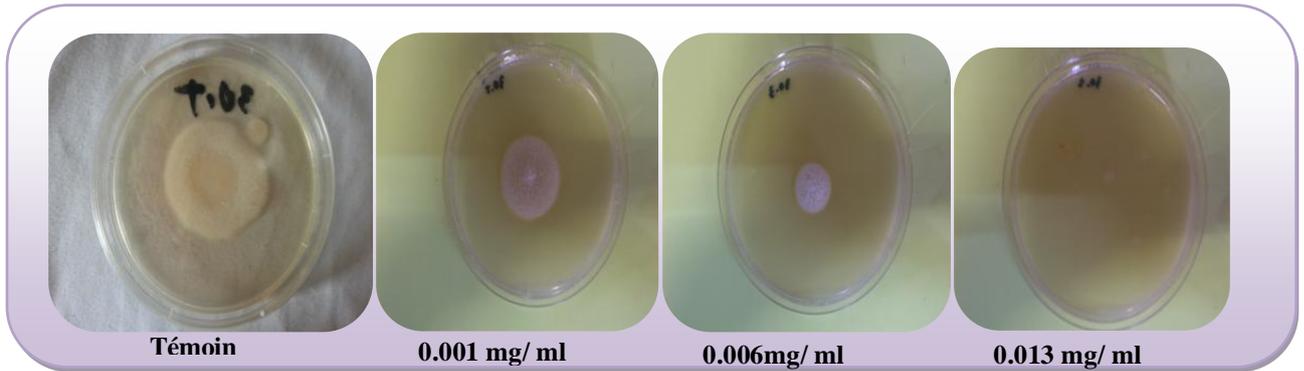


Planche : Effet de fraction goudron F2 a différentes concentrations sur la souche FOA



(S10)**Planche:** Effet de F1 a différentes concentrations sur la souche FOA (S01).

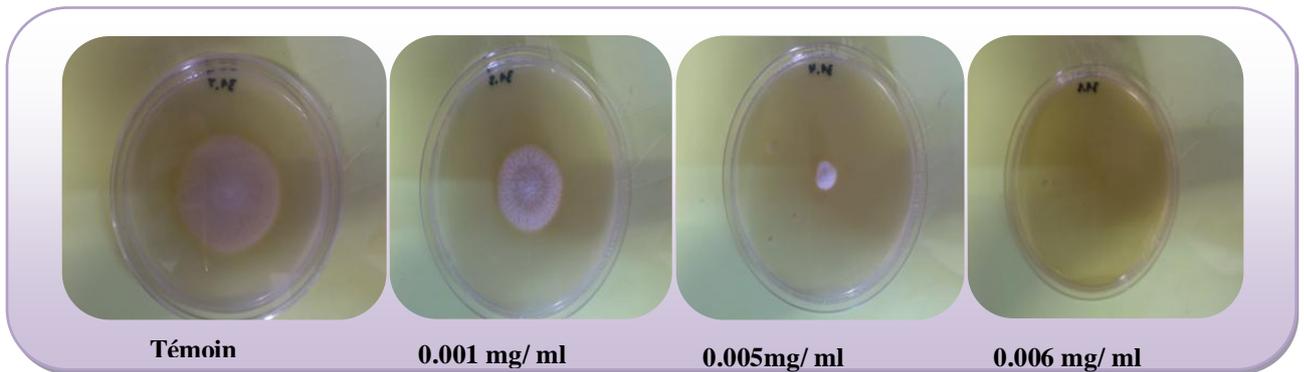


Planche: Effet de F1 a différentes concentrations sur la souche FOA (S02).

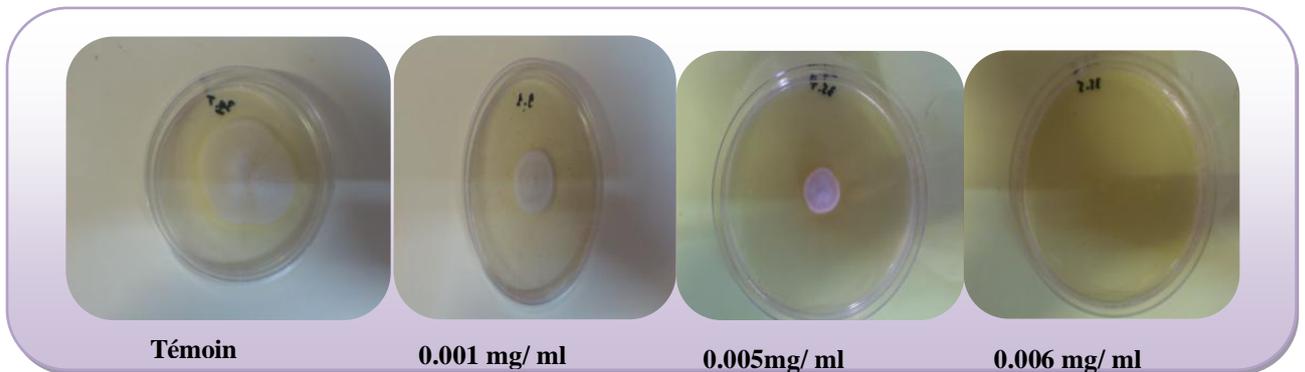


Planche: Effet de F1 a différentes concentrations sur la souche FOA (S03).

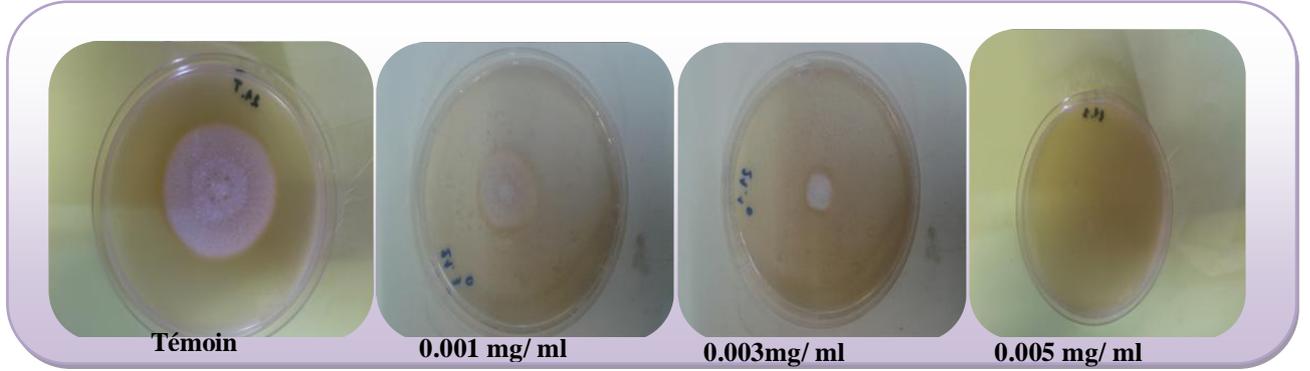


Planche: Effet de F1 a différentes concentrations sur la souche FOA (S04).

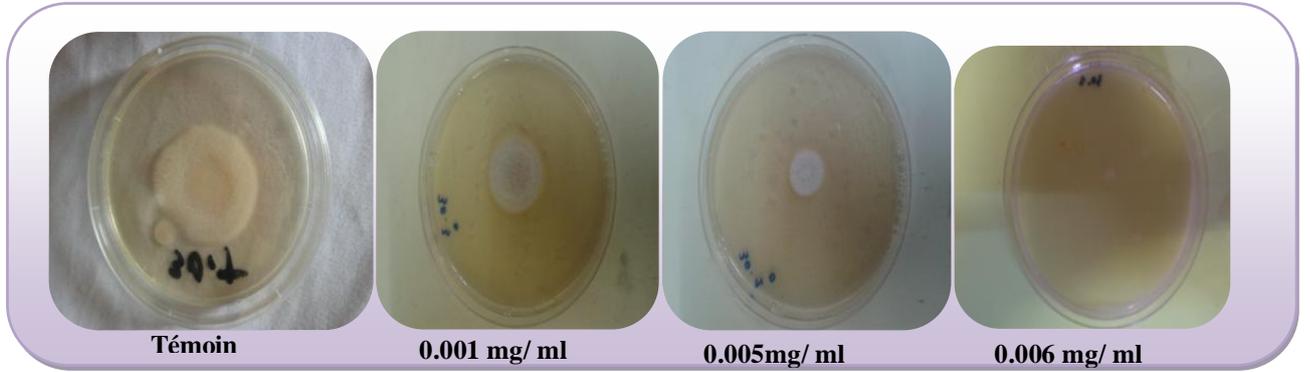


Planche: Effet de F1 a différentes concentrations sur la souche FOA (S05).

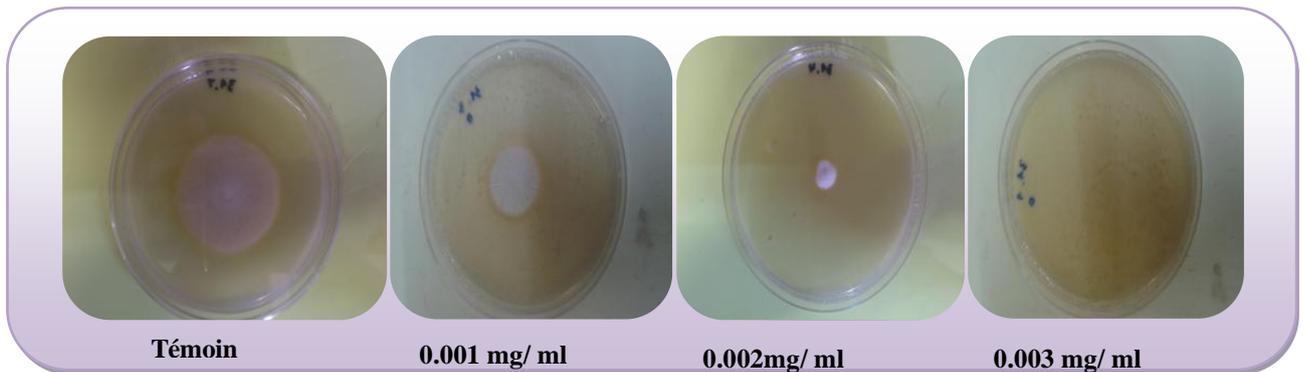


Planche: Effet de F1 a différentes concentrations sur la souche FOA (S06).

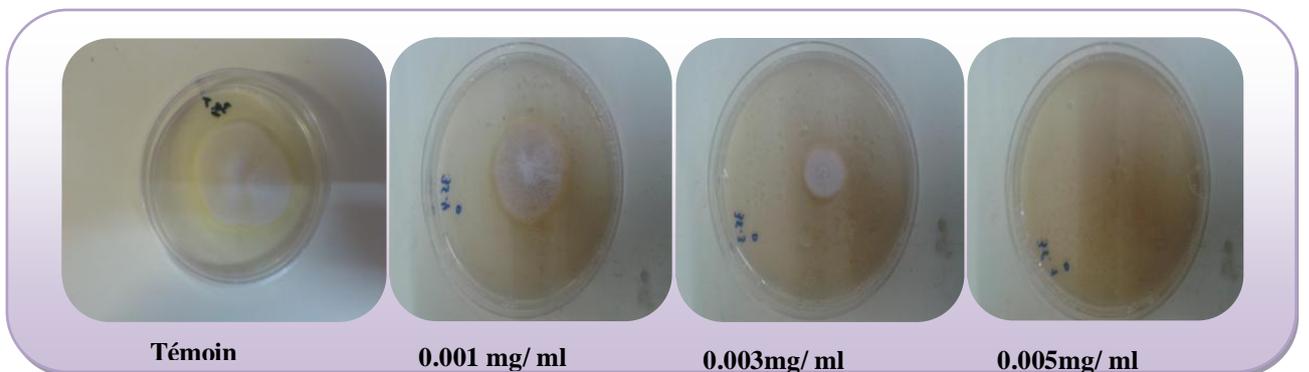


Planche: Effet de F1 a différentes concentrations sur la souche FOA (S07).

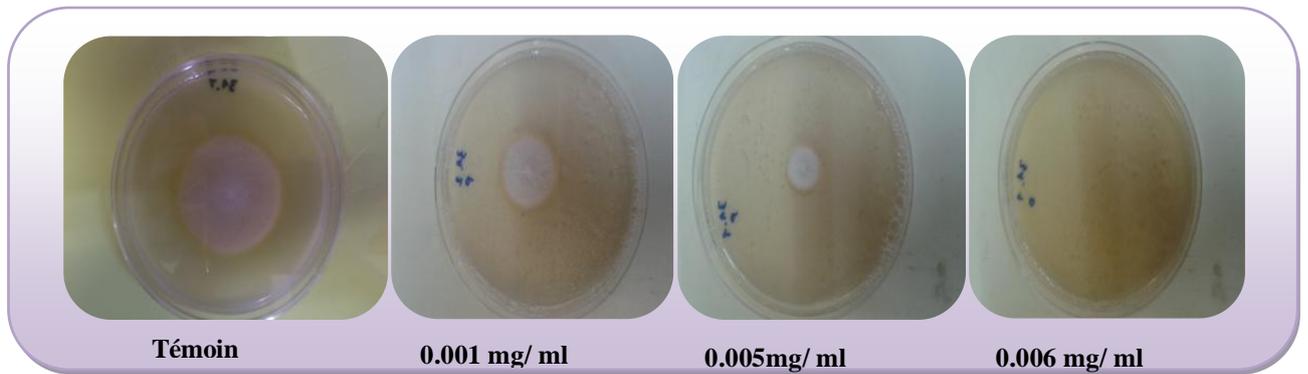


Planche: Effet de F1 a différentes concentrations sur la souche FOA (S08).

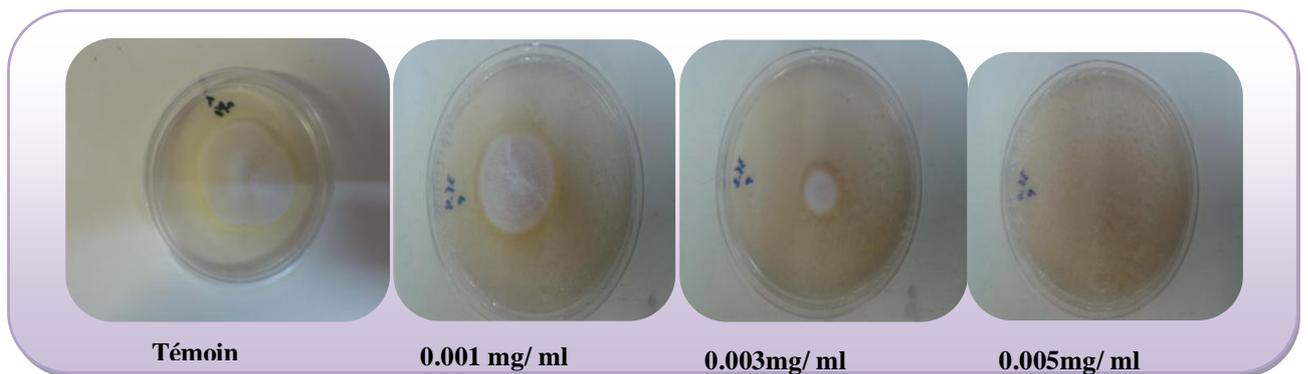


Planche: Effet de F1 a différentes concentrations sur la souche FOA (S09).

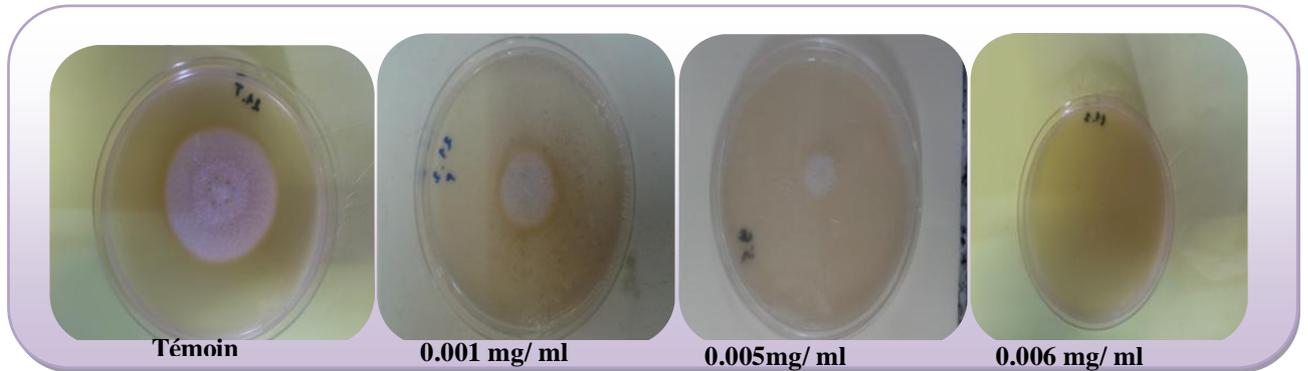


Planche: Effet de F1 a différentes concentrations sur la souche FOA (S10)

Annexe III**Tableaux de Pourcentage d'inhibition :**

C) souche	0.030	0.045	0.05	0.10	0.15	0.20	0.26	0.32	0.40
S 01	5,71	25,71	73,14	45,71	77,14	91,42	100	100	100
S 02	25	41,66	50	58,33	69,44	75	88,88	100	100
S 03	33,33	53,33	75	86,11	94,44	100	100	100	100
S 04	2,06	6,89	10,34	26,43	40,22	56,32	74,71	83,90	100
S 05	15	22,5	32,50	45	55	72,50	82,50	100	100
S 06	8,33	22,22	36,11	50	69,44	86,11	100	100	100
S 07	10,25	25,64	43,58	51,28	64,10	71,79	79,48	94,87	100
S 08	11,90	21,42	30,95	61,90	73,80	88,09	100	100	100
S 09	5,40	25,67	35,13	43,24	51,35	62,16	83,78	100	100
S 10	2,27	11,36	27,27	38,63	52,27	59,09	75	81,81	100

C) souche	0.0006	0.001	0.002	0.003	0.005	0.006	0.012	0.024	0.039
S 01	8,57	17,14	25,71	34,28	65,71	77,14	91,42	100	100
S 02	11,11	22,22	41,66	47,22	69,44	80,55	100	100	100
S 03	30	50	73,33	93,33	100	100	100	100	100
S 04	5,74	14,94	31,03	49,42	67,81	79,31	88,50	95,40	100
S 05	5	25	37,50	52,50	72,50	82,50	100	100	100
S 06	11,11	30,55	55,55	72,22	86,11	100	100	100	100
S 07	20,51	28,20	48,71	58,97	69,23	76,92	89,74	100	100
S 08	7,14	23,80	35,71	66,66	80,95	92,85	100	100	100
S 09	16,21	27,02	62,16	78,37	94,59	100	100	100	100
S 10	9,09	18,18	34,09	47,72	63,63	72,72	81,81	90,90	100

C (mg/ml) Souches	Témoïn	0.0006	0.001	0.002	0.003	0.005	0.006	0.012	0.024	0.039
S 01	3.5 ± 03	3.2 ± 02	2.9 ± 01	2.6 ± 04	2.3 ± 03	1.2 ± 01	0.8 ± 02	0,3 ± 03	0	0
S 02	3.6 ± 04	3.2 ± 02	2.8 ± 01	2.1 ± 02	1.9 ± 03	1.1 ± 02	0,7 ± 01	0	0	0
S 03	3 ± 03	2.1 ± 02	1.5 ± 04	0,8 ± 03	0,2 ± 01	0	0	0	0	0
S 04	4.35 ± 02	4.1 ± 03	3.7 ± 01	3 ± 04	2.2 ± 02	1.4 ± 01	0,9 ± 03	0,5 ± 02	0,2 ± 03	0
S 05	4 ± 03	3.8 ± 02	3 ± 01	2.5 ± 03	1,9 ± 04	1.1 ± 03	0,7 ± 02	0	0	0
S 06	3.6 ± 02	3.2 ± 03	2.5 ± 02	1.6 ± 04	1,0 ± 03	0,5 ± 02	0	0	0	0
S 07	3.9 ± 03	3.1 ± 02	2.8 ± 04	2 ± 03	1.6 ± 02	1.2 ± 01	0,9 ± 03	0,4 ± 02	0	0
S 08	4,2 ± 02	3,9 ± 01	3,2 ± 03	2,7 ± 04	1,4 ± 03	0,8 ± 02	0,3 ± 01	0	0	0
S 09	3,7 ± 01	3,1 ± 03	2,7 ± 02	1,4 ± 02	0,8 ± 03	0,2 ± 01	0	0	0	0
S 10	4.40 ± 03	4.0 ± 02	3.6 ± 01	2,9 ± 03	2.3 ± 02	1.6 ± 03	1,2 ± 01	0,8 ± 02	0,4 ± 02	0

Annexe

C (mg/ml) Souches	Témoïn	0.030	0.045	0.05	0.10	0.15	0.20	0.26	0.32	0.4 0
S 01	3.5 ± 03	3.3 ± 02	2.6 ± 01	2.2 ± 04	1,9 ± 03	0,8 ± 01	0.3 ± 02	0	0	0
S 02	3.6 ± 04	2,7 ± 02	2.1 ± 01	1,8 ± 02	1.5 ± 03	1.1 ± 02	0.9 ± 01	0,4 ± 02	0	0
S 03	3 ± 03	2 ± 02	1.4 ± 04	0,9 ± 03	0,5 ± 01	0,2 ± 03	0	0	0	0
S 04	4.35 ± 02	4.26 ± 03	4,05 ± 01	3,9 ± 04	3.2 ± 02	2,6 ± 01	1,9 ± 03	1,1 ± 02	0,7 ± 03	0
S 05	4 ± 03	3.4 ± 02	3,1 ± 01	2.7 ± 03	2,2 ± 04	1.8 ± 03	1,1 ± 02	0,7 ± 03	0	0
S 06	3.6 ± 02	3.3 ± 03	2.8 ± 02	2.3 ± 04	1,8 ± 03	1,1 ± 02	0,5 ± 03	0	0	0
S 07	3.9 ± 03	3.5 ± 02	2.9 ± 04	2,2 ± 03	1.9 ± 02	1.4 ± 01	1.1 ± 03	0,8 ± 02	0,2 ± 02	0
S 08	4,2 ± 02	3.7 ± 01	3,3 ± 03	2.9 ± 04	1,6 ± 03	1,1 ± 02	0,5 ± 01	0	0	0
S 09	3.7 ± 01	3.5 ± 03	2.75 ± 02	2.4 ± 02	2,1 ± 03	1,8 ± 01	1,4 ± 03	0,6 ± 02	0	0
S 10	4.40 ± 03	4.3 ± 02	3.9 ± 01	3,2 ± 03	2.7 ± 02	2.1 ± 03	1,8 ± 01	1,1 ± 02	0,8 ± 02	0

C) souche	0.001	0.002	0.003	0.005	0.006	0.008	0.015	0.025	0.040
S 01	2,85	11,42	17,14	31,42	57,14	74,28	82,85	100	100
S 02	8,33	25	38,88	50	63,88	77,77	100	100	100
S 03	10	23,33	53,33	83,33	100	100	100	100	100
S 04	3,44	12,64	26,43	40,22	51,72	67,81	79,31	83,90	100
S 05	12,5	22,50	35	47,50	62,50	80	100	100	100
S 06	8,33	27,77	47,22	66,66	83,33	100	100	100	100
S 07	10,25	25,64	41,02	51,28	66,66	79,48	87,17	100	100
S 08	4,76	16,66	33,33	61,90	78,57	90,47	100	100	100
S 09	10,81	24,32	48,64	75,67	83,78	100	100	100	100
S 10	6,81	15,90	29,54	38,63	52,27	61,36	79,54	86,36	100

C (mg/ml) Souches	Témoïn	0.001	0.002	0.003	0.005	0.006	0.008	0.015	0.025	0.040
S 01	3.5 ± 03	3.4 ± 02	3.1 ± 01	2.9 ± 04	2.4 ± 03	1.5 ± 01	0.9 ± 02	0,6 ± 03	0	0
S 02	3.6 ± 04	3.3 ± 02	2.7 ± 01	2.2 ± 02	1.8 ± 03	1.3 ± 02	0.8 ± 01	0	0	0
S 03	3 ± 03	2.7 ± 02	2.3 ± 04	1,4 ± 03	0,5 ± 01	0	0	0	0	0
S 04	4.35 ± 02	4.2 ± 03	3.8 ± 01	3,2 ± 04	2.6 ± 02	2.1 ± 01	1,4 ± 03	0,9 ± 02	0,7 ± 03	0
S 05	4 ± 03	3.5 ± 02	3,1 ± 01	2.6 ± 03	2,1 ± 04	1.5 ± 03	0,8 ± 02	0	0	0
S 06	3.6 ± 02	3.3 ± 03	2.6 ± 02	1.9 ± 04	1,2 ± 03	0,6 ± 02	0	0	0	0
S 07	3.9 ± 03	3.5 ± 02	2.9 ± 04	2,3 ± 03	1.9 ± 02	1.3 ± 01	0.8 ± 03	0,5 ± 02	0	0
S 08	4,2 ± 02	4,0 ± 01	3,5 ± 03	2.8 ± 04	1,6 ± 03	0,9 ± 02	0,4 ± 01	0	0	0
S 09	3.7 ± 01	3.3 ± 03	2.8 ± 02	1.9 ± 02	0,9 ± 03	0,6 ± 01	0	0	0	0
S 10	4.40 ± 03	4.1 ± 02	3.7 ± 01	3,1 ± 03	2.7 ± 02	2.1 ± 03	1,7 ± 01	0,9 ± 02	0,6 ± 02	0

Pour F1 :

'C) souche	0.0006	0.001	0.002	0.003	0.005	0.006
S01	5.71	11.42	20	34.28	65.71	100
S02	22.85	28.57	45.71	62.85	82.85	100
S03	36.66	46.66	73.33	100	100	100
S04	17.24	28.73	47.12	60.91	79.31	100
S05	5	42.5	62.5	80	100	100
S06	11.11	30.55	55.55	72.22	100	100

Pour F3 :

'C) souche	0.0006	0.001	0.002	0.003	0.005	0.006
S01	20	34.28	45.71	54.28	80	100
S02	11.42	22.85	43.28	48.57	77.14	100
S03	23.33	63.33	80	100	100	100
S04	12.64	33.33	44.82	65.51	83.90	100
S05	12.5	45	65	77.5	100	100
S06	22.22	36.11	66.66	77.77	100	100

Pour F3 :

'C) souche	0.0006	0.001	0.002	0.003	0.005	0.006
S01	8.57	17.14	25.71	34.28	65.71	88.57
S02	8.57	20	40	45.71	68.57	80
S03	16.66	36.66	43.33	60	73.33	86.66
S04	5.74	26.43	42.52	74.71	79.31	100
S05	5	32.5	62.5	85	100	100
S06	11.11	30.55	55.55	75	100	100

Pour H :

'C) souche	0.0003	0.001	0.002	0.003	0.005	0.006
S01	17.14	40	45.71	68.57	77.14	91.42
S02	20	37.14	51.42	68.57	80	88.57
S03	16.66	40	70	83.33	100	100
S04	17.24	33.33	49.42	60.91	79.31	100
S05	12.5	35	55	77.5	90	100
S06	13.88	27.77	52.77	63.88	86.11	100

Pour H :

' C) souche	0.0003	0.001	0.002	0.003	0.005	0.006
S01	34.28	48.57	74.28	91.42	100	100
S02	20	65.71	85.71	97.14	100	100
S03	6.66	43.33	73.33	93.33	100	100
S04	19.54	42.52	56.32	72.41	95.40	100
S05	20	45	67.5	100	100	100
S06	25	41.66	69.44	83.33	100	100

Pour H :

' C) souche	0.0003	0.001	0.002	0.003	0.005	0.006
S01	11.42	34.28	48.57	74.28	91.42	100
S02	17.14	54.28	68.57	85.71	97.14	100
S03	13.33	36.66	70	86.66	100	100
S04	14.94	37.93	51.72	70.11	86.20	100
S05	17.5	40	65	72.5	87.5	100
S06	19.44	38.88	63.88	86.11	100	100