

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID-TLEMCEN-



Faculté des sciences

De la nature et de la vie, et science de la terre et de l'univers

Département de Biologie

Mémoire

De fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

En biologie moléculaire et cellulaire

Option : Microbiologie.

Thème

Contribution à l'étudié de l'effet des extraits phénoliques des plantes et microorganismes antagonistes sur la croissance de deux champignons : *Verticilliumdahliae* et *Fusariumoxysporum*.

Présenté par :

M^{elle} Messaoudi Asmaa

Soutenu le 09-10-2013 devant le jury composé de :

Président: M^r BEGHAD C. M

Maitre de conférences

Examineur : M^{elle} KHOLKHAL.W

Maitre assistante A

M^{me} Soualem.Z

Maitre assistante A

Promotrice :M^{me} Bensalah .F

Maitre assistante A

Année Universitaire 2013/2014

Dédicace

Je dédie ce travail à mes parents qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout le long de mes études.

A :

Ma grande mère que dieu la garde pour nous

Mon très chères frère : Abdelhamide

Mes très chères sœurs : Amina et Meriem

Mes cousins et cousines

Toute ma famille

Toutes mes amies en qui j'ai toujours trouvent le soutien et le réconfort.

Toute la promotion de Microbiologie 2012-2013.

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à M^{me} BENSALAH F, Maître assistante à la faculté des sciences Université de Tlemcen, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle m'a accordé m'ont permis de réaliser ce travail.

Ce travail est réalisé au laboratoire des produits naturels (LAPRONA), nous remercions le directeur de laboratoire professeur CHAABANE SARI et M^{me} BELARBI qui nous ont facilité le travail dans le laboratoire LAPRONA.

J'exprime mes vifs remerciements à M^{me} SOUALEM, Maître assistante à la faculté des sciences Université de Tlemcen, d'avoir accepté de juger ce modeste travail et d'être parmi le jury

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à M^r BEGHADAD, Maître de conférences à la faculté de médecine Université de Tlemcen pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire

Je remercie M^{elle} KHOLKHAL, Maître assistante à la faculté des sciences Université de Tlemcen, d'avoir accepté de juger ce modeste travail et d'être parmi le jury.

Table de matières

Introduction

Synthèse bibliographique

I. La verticilliose

1-Définition	1
2-Facteurs favorisent le développement de ce champignon	1
3-Classification :	1
4-Oléiculture Algérienne de verticilliose	2
5-Symptômes de maladie	3
6-Cycle de développement de la <i>V. dahliae</i>	4
2-Fusariose.....	5
2-1-Définition	5
2-2- Identité	5
2-3-Classification.....	6
2-4- Les conditions favorables au développement.....	6
2-5-Symptômes	6
2-6-Habitat.....	7
2-7-Cycle de maladie.....	7
Chapitres N° 02.Les moyens de lutte	8
1-Les moyennes de lutte culturale.....	8
2-Les moyennes de lutte chimique contre <i>Verticillium</i> ont connu beaucoup de succès	8
3-Les moyennes de lutte physique	8
4- Les moyennes lutte biologique des plantes contre la verticilliose	9
5-Composés phénoliques.....	10
3-5.1_ Composés phénoliques de défense constitutifs.....	11
3-5.2-Composés phénoliques de défense induite.....	11
3-5.3-Classification des polyphénols.....	11
A- Les acides phénols.....	11

B- Les flavonoïdes.....	12
C-Définition des tannins.....	13
*Les types de tannins	14
3-6- Activité biologique de composés phénoliques.....	15
Chapitres N°03-Les trois plants étudiés	16
1-L'olivier.....	16
1-1-Historique	16
1-2-Classification botanique	16
1-4-Importance économique de l'oléiculture	17
1-4.1-L'oléiculture dans le monde	17
1-4.2-l'oléiculture en algérienne	18
1-4.3-l'oléiculture à Tlemcen	18
2-Figuiers de barbarie	18
2-1-Description botanique de la plante.....	18
2-2-Présentation de la plante	19
2-3-Habitat.....	19
2-4-Classification	20
2-5-caractérisation de la plante.....	20
2-6-Les composants de la plante.....	20
2-7- Domaine d'utilisation de la plante.....	21
3-Caroubier: <i>Ceratonia siliqua</i>	21
3-1-Taxonomie.....	21
3.2 : Description botanique de la plante.....	22
3-3 Importance économique du caroubier	23
3-3.1-Dans le monde	23
3-3-2- Dans Algérienne et Tlemcen	23
3-4-Composition chimique de la caroube.....	24

Matériels et méthodes

1*Purification de l'agent pathogène	25
2-Préparation des extraits des plants	25
3*Dégraissage.....	25
4*Extraction sélectives	26
4-1*Extraction des tanins.....	26
4-2* Extractions des flavonoïdes.....	26
4-3*Extraction des polyphénoliques.....	27
5*Etude du pouvoir antifongique des extraits des trois plants	28
6*Test antagoniste	29

Résultats et discussion

1*L'effet inhibiteur des extraits phénoliques des plantes sur la croissance de <i>V.dahliae</i> et <i>F.oxysporum</i>	31
1-1-L'effet des extrait phénolique de caroubier sur le <i>Verticilliudahliae</i>	31
1-2-L'effet des extrait phénolique de caroubier sur le <i>Fusariumoxysporum</i>	32
1-3-L'effet des extrait phénolique d'olivier sur le <i>Verticilliudahliae</i>	33
1-4-L'effet des extrait phénolique d'olivier sur le <i>fusariumoxysporum</i> :.....	34
1-5-L'effet des extrait phénolique de graines de figuier de barbarie sur le <i>Verticilliudahliae</i>	35
1-6-L'effet des extrait phénolique de graines de figuier de barbarie sur le <i>F.oxysporum</i>	36
2-Souches antagonistes fongiques	37
2-1-études du pouvoir antagoniste de <i>Trichoderma</i>	37
2-3-Souches antagonistes bactériennes.....	38
2-3-1-études du pouvoir antagoniste de Bacillus par la méthode de Co-culturing side by side.....	38

Conclusion

Annexes

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure 01: Distribution de la Verticilliose de l'olivier causée par <i>Verticilliumdahliae</i> à travers les régions Oléicoles en Algérie durant les années 2009, 2010 et 2011	03
Figure 02: les symptômes d'olivier	04
Figure 03: <i>Verticilliumdahliae</i>	05
Figure 04: Cycle de développement de la V. dahliae.....	05
Figure 05: Cycle de développement de maladies.....	07
Figure 06 : exemple de quelques acides phénols.....	12
Figure 07: différente classe de flavonoïde.....	13
Figure 08: arbre d'olivier.....	17
Figure 09: les oliviers du monde.....	19
Figure 10 : structure de figuier de barbarie.....	20
Figure11 : Les composants de la plante.....	23
Figure 12: L'arbre du caroubier	25
Figure 13: Centres d'origine et distribution du caroubier dans le monde.....	26
Figure 14: Distribution du caroubier en Algérie suivant les domaines.....	27
Figure 15 : Schéma de l'extracteur Soxhlet.	25
Figure 16 : méthode d'étude du pouvoir antifongique.....	31

Résultats et discussion

Figure 17: pourcentage d'inhibition de croissance de V,D en présence d'extrait de caroube ..	32
Figure 18: pourcentage d'inhibition de croissance de F,oxysporium en présence d'extrait de caroube.....	33
Figure 19: pourcentage d'inhibition de croissance de V, D en présence l'extrait d'olivier....	34

Figure 20: pourcentage d'inhibition de croissance de <i>F.oxysporium</i> en présence d'olivier....	34
Figure 21: pourcentage d'inhibition de croissance de V,D en présence l'extrait de figure.....	35
Figure 22: pourcentage d'inhibition de croissance de <i>F.oxysporium</i> en présence l'extrait de figuier.....	36
Figure23 : Diametre de croissance du <i>V.dahliae</i> confrontée avec <i>Trichoderma</i>	37
Figure24 : Diametre de croissance de <i>F.oxysporum</i> confrontée avec <i>Trichoderma</i>	37
Figure 25: confrontation entre <i>F.oxysporum</i> et <i>Bacillus</i>	38
Figure 26: confrontation entre <i>V.dahliae</i> et <i>Bacillus</i>	38.

Liste de tableaux

Tableau 01 : classification de <i>V.dahliae</i>	02
Tableau 02 : Activité biologique de composes phénolique	18
Tableau 03 : l'olivier dans le monde.....	20
Tableau 04 : distribution du caroubier dans le monde.....	26

Liste des abréviations

% : pourcentage

EtOH : alcool éthylique (éthanol)

F.oxysporum : **Fusarium oxysporum**

G : gramme

H : heure

HPLC : high performance liquid chromatography

N° : numéro

Sp : espèce

T.harzianum : *Trichoderma harzianum*

V/V : volume par volume

V.D : *Verticillium dahliae*

µl : Micro litre

Conclusion

Ce travail nous a permis de tester l'effet inhibiteur des extraits de composés phénoliques d'olivier, du caroube et grain de figuier de barbarie.

Les trois extraits utilisés ont réduit la croissance de *V.dahliae* et *F.oxysporum* à 100 µl. Les polyphénols totaux de l'olivier et du caroube se sont montrés les plus efficaces avec des taux d'inhibition de 79.62 et 81.48.

Les résultats intéressants ont été obtenus avec les tannins d'olivier avec un pourcentage d'inhibition de 74.5 sur *V.dahliae* et les tannins des grains de figuier de barbarie avec un pourcentage d'inhibition de 74.5 sur *V.dahliae*.

Les flavonoïdes sont montrés efficaces surtout ceux des grains de figuier et caroube avec des taux d'inhibition respectivement: 70.58 sur *V.dahliae* et 66.66 sur *F.oxysporum*.

D'autre part, des bactéries antagonistes ont été testées pour leur capacité à réduire ou inhiber la croissance de *V.dahliae* et *F.oxysporum*. Nos résultats étaient en accord avec les travaux antérieurs qui ont montré l'efficacité de *Bacillus subtilis*.

La souche fongique *Trichoderma* confrontée avec *V.dahliae* et *F.oxysporum* a envahi toutes les boîtes. L'inhibition peut se faire par la production des antibiotiques et des enzymes qui dégradent les parois cellulaires des agents pathogènes. Ces deux souches de *Bacillus* et *Trichoderma* peuvent être utilisées comme biopesticides.

Il serait intéressant de reprendre ce travail en utilisant les extraits d'autres plantes et en testant l'effet d'un large spectre de bactéries et de champignons et de les inoculer directement à des plantules infectées pour suivre l'évolution des symptômes et la réaction de la plante.

Chapitres 01 :les maladies fongiques :verticilliose et fusariose

I. La verticilliose

1-1-Définition :

Le champignon responsable de cette maladie se trouve dans le sol et pénètre dans l'arbre par ses racines puis progresse à l'intérieur de celui-ci véhiculé par la sève.(**Resende, 1996**).Il provoque des lésions dans le système vasculaire de l'olivier ce qui entraîne le dessèchement d'une partie de ses rameaux ou même de sa totalité puis flétrissements et des chloroses suivis de nécroses et de défoliation (**Fradin, 2006**).

1-2-Facteurs favorisent le développement de ce champignon :

Selon **Xiao; 1998**, les facteurs favorisant de développement de ce champignon sont:

- Précédent cultural et certaines adventices : solanacées, cucurbitacées, fruitiers à noyaux ou luzerne, chénopode, amarantes, morelle noire.
- Sol humide et températures douces autour de 20°C
- Variétés plus sensibles.
- Arbres vigoureux

1-3-Classification :

Le genre a été mis en évidence pour la première fois en 1816 par **Nées vonEsenbeck**.Basé sur la morphologie de ses conidiospores.(**Heffer, 1995**) L'espèce pathogène *dahliae*, dont la classification est présentée au tableau 1, a été décrite en 1913 par Klebahn après avoir été isolée d'un *Dahlia* (*Dahlia* sp.) atteint de verticilliose.

Le V. dahlia est la seule espèce de *Verticillium* dont l'isolat forme des microsclérotés. Cette caractéristique permet de le différencier des autres espèces, en particulier d'*albo-atrum*, l'autre principal agent pathogène du genre *Verticillium*(**Isaac, 1967**).

Verticilliumalbo-atrum est un champignon qui se développe dans les vaisseaux du xylème de la plante hôte engendrant l'obstruction des vaisseaux et par conséquent le flétrissement partiel ou total conduisant parfois à la mort de la plante infectée.(**Isaac, 1967**).

Tableau 1: Classification de *Verticillium dahliae*

Règne	Mycota
Division	Ascomycota
Subdivision	Sordariomycetes
Classe	Hypocreomycetidae
Ordre	Incertae sedis
Famille	Plectosphaerellaceae
Genre	<i>Verticillium</i>
Espèce	<i>dahliae</i>

1-4-Oléiculture Algérienne de verticilliose :

L'INPV a lancé depuis mars 2009 une enquête sur la verticilliose de l'olivier dont l'objectif est d'établir une cartographie sur la distribution de cette maladie à l'échelle nationale.

A ce jour, 32 wilayat ont été sillonnées avec un total de 501 sites prospectés soit une superficie totale de 4.147 ha durant les trois dernières campagnes agricoles.

Les analyses au laboratoire ont révélé un nombre de 28 cas positifs au niveau de 11 wilayas à savoir : Tlemcen, Relizane, Mostaganem, Mila, Médéa, Sétif, Constantine, Batna, Oum El Bouagui, TiziOuzou et Biskra.

Au cours des prospections réalisées, il a été constaté que la variété sigoise est plus sensible à la verticilliose et que les symptômes sont plus sévères sur les jeunes arbres.

(L'INPV, 2009).

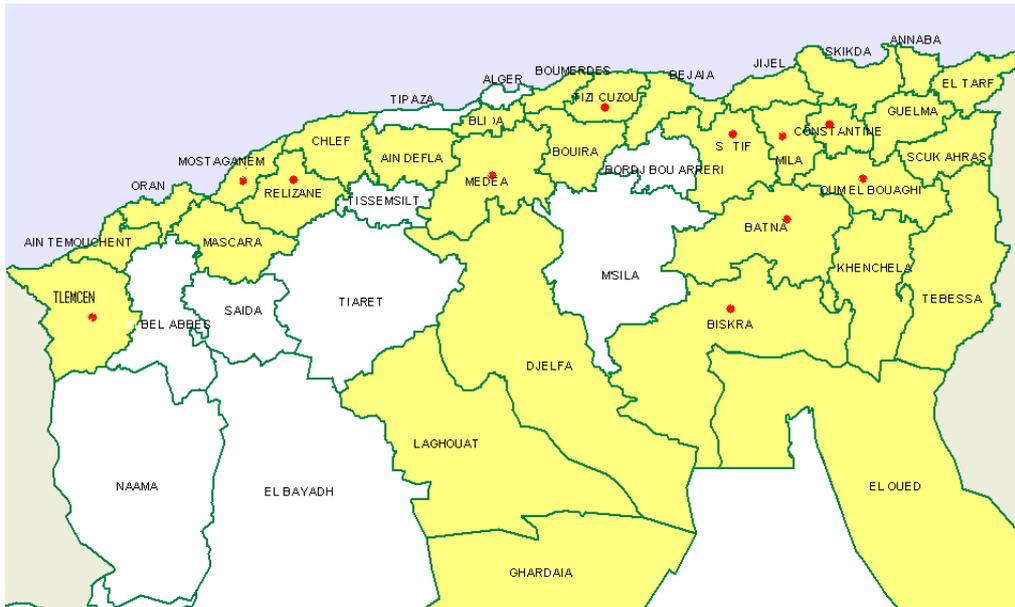


Figure 01: Distribution de la Verticilliose de l'olivier causée par *Verticillium dahliae* à travers les régions Oléicoles en Algérie durant les années 2009, 2010 et 2011 .

1-5-Symptômes de maladie : (Levin ;2003b)

Les symptômes sont très fréquents et graves les années humides ou dans les zones où le sol est excessivement humide en été. L'intensité de la maladie varie de saison en saison; les plantes atteintes une année peuvent sembler saines l'année suivante et pendant ensuite plusieurs années.

Les premiers symptômes sur feuilles apparaissent fin juillet ou début août sous forme d'un jaunissement des feuilles inférieures qui s'étend progressivement aux feuilles placées plus haut sur la tige; la plante n'est atteinte en entier qu'occasionnellement. Les feuilles inférieures se dessèchent, se flétrissent et peuvent chuter, alors que des zones nécrotiques cunéiformes peuvent se développer sur les feuilles supérieures.

Les tiges sont souvent renflées ("grosse tige") et peuvent paraître extérieurement marron et liégeuses.



Figure 02: les symptômes d'olivier.(Levin ;2003b)

1-6-Cycle de développement de la *V. dahliae* :

Les microsclérotos, qui survivent dans le sol plusieurs années, germent une fois stimulés par les exsudats racinaires.

Le champignon peut éventuellement pénétrer à l'intérieur des tissus racinaires par une blessure ou par une région d'élongation cellulaire, coloniser le cortex et atteindre les vaisseaux du xylème.

La formation de conidies et leur transport dans le système vasculaire entraîne une réaction de défense de la plante impliquant la production de composés qui bloquent le transport de l'eau dans le xylème.(Berlanger et Powelson, 2000).

Le blocage des vaisseaux du xylème par les composés de défense de la plante et le matériel fongique mène au flétrissement du plant (Berlanger et Powelson, 2000).Une fois celles-ci meurent et tombe ,le Verticillium retourne à la terre (Gillman,2005) par la libération des microsclérotos après la décomposition de la matière végétale dans le sol(Gomez,2001).

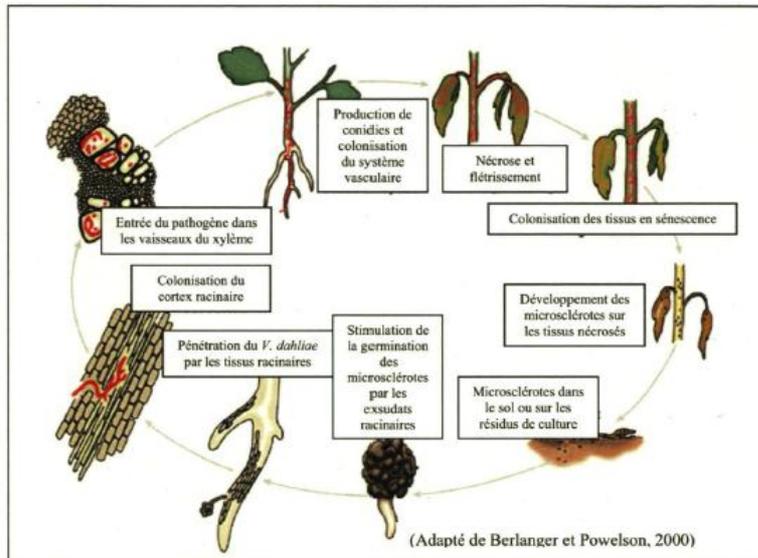


Figure 03: Cycle de développement de la *V. dahliae*. (Berlinger et Powelson, 2000).

2- la Fusariose

2-1-Définition :

Le Fusariose, maladie vasculaire causée par un champignon d'origine tellurique *Fusariumoxysporum*. C'est une espèce de champignon parasite de plantes. Comme tous les *Fusarium* il s'agit de la forme de reproduction asexuée d'un ascomycète, sont responsables de diverses maladies, la principale étant le flétrissement vasculaire caractérisée par un flétrissement des plantes dû à l'envahissement des vaisseaux du xylème par le pathogène. (Prandini ,2009).

2-2- Identité :(Bulit,1979)

Nom: *Fusariumoxysporum*Schlechtendalf.sp. *albedinis*(Killian & Maire) Malençon .

Synonymes:*Neocosmosporavasinfecta* Smith

Cylindrophoraalbedinis Killian &Maire

Fusariumalbedinis (Killian &Maire) Malençon.

Nomscommuns: bayoudh disease, *fusarium wilt* (anglais)

maladie du *bayoudh*(français)

2-3-Classification(Anaissie, 2001)

Règne : *Fungi*

Division : *Ascomycota*

Classe : *Sordariomycetes*

Sous-classe : *Hypocreomycetidae*

Ordre : Hypocreales

Famille : Nectriaceae

Genre: *Fusariumoxysporum*

2-4-Les conditions favorables au développement(Messiaen,1968)

Les conditions sont :

- Températures relativement fraîches : 18°C –20°C
- Un état physiologique fragile de la plante : stress hydrique (excès d'eau), ou climatique (températures basses), forte charge en fruits.

2-5-Symptômes :(Kochman,2003).

Les principaux symptômes sont :

- Brunissement des racines, de leur cylindre central et des vaisseaux situés au niveau du pivot et du collet;
- Chancre brun, légèrement déprimé se développant sur un seul côté du collet et de la tige, en forme de flamme;
- Système racinaire, brun et pourri, vaisseaux brun chocolat dans les parties basses de la tige.
- Brunissement des vaisseaux, des tissus corticaux, du pivot et du collet. Lésion brune rose s'étendant sur plusieurs centimètres au-dessus du collet.
- Flétrissement juste avant que les premiers fruits soient prêts à cueillir.
- Les feuilles hautes fanent avant les feuilles basses et il y a décoloration jaune ou doré.
- Les fruits n'ont pas leur brillance normale .

2-6-Habitat :

Ce champignon dispose d'une large répartition géographique mais est plus adapté aux climats tempérés. Il est présent dans les sols sous forme sporulée (**Diabaté,2010**)

2-7-Cycle de maladie:

Le champignon qui cause la persistance et se multiplie sur les résidus végétaux infectés, qu'il s'agisse de céréales, de graminées ou d'autres plantes, cultivées ou non, qui se trouvent dans le champ et dans les environs. Les spores de *Fusarium* se déposent sur les épis à la faveur du vent et des éclaboussures. Les plants sont sensibles à l'infection à partir de la floraison (apparition de l'épi) jusqu'au stade mi-pâteux, voire plus tard selon les caprices du climat. Les conditions les plus propices à l'infection sont des périodes de 48 à 72 heures de forte humidité et des températures de 24 à 30 °C. Des périodes plus longues d'humidité élevée combinées à des températures fraîches peuvent aussi provoquer l'infection. Les infections qui se produisent tôt dans la saison produisent parfois des spores qui, transportées par le vent, peuvent propager la maladie (**Louvet, 1970**).

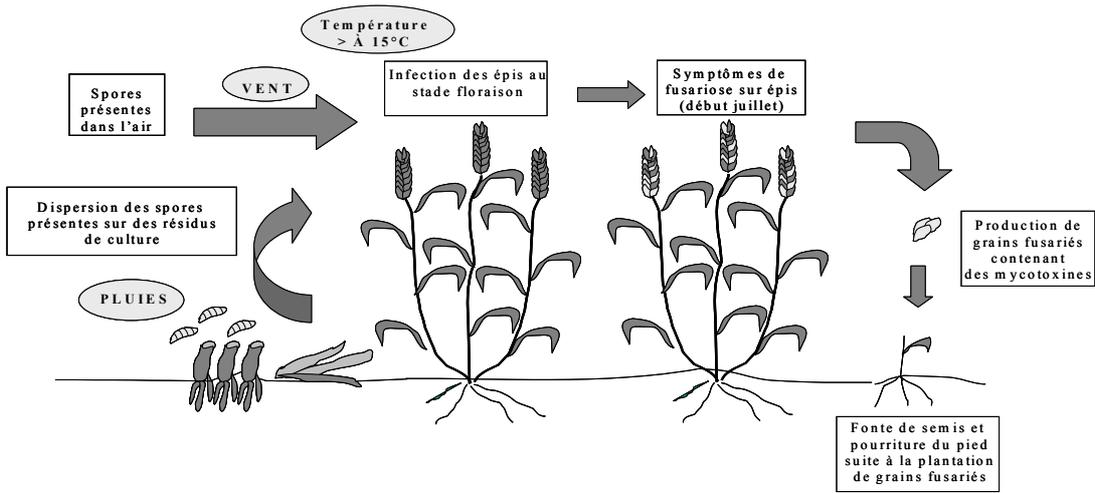


Figure 04: Cycle de développement de maladies(Chen, 1990).

Chapitres 02 : Les moyens de lutte contre *Verticilliumdahliae* et *Fusariumoxysporum*.

1-1-Les moyens de lutte culturale

Les rotations culturales avec des plantes non hôtes, essentiellement des céréales, ont été souvent utilisées. Leur rôle dans la diminution des propagules dans le sol a été rapporté par **Pullman & Devay, (1981)**. Cependant, leur efficacité est très discutée en raison du mode de conservation du champignon dans le sol sous forme de microsclérotés. Ces derniers ont une longévité de plusieurs années et peuvent contaminer les plantes adventices non hôtes, ce qui contribue à l'augmentation de l'inoculum dans le sol.

1-2-Les moyens de lutte chimique contre *Verticillium* ont connu beaucoup de succès :

Les fongicides à l'instar du benlate, du propiconazole et du paclobutrazol inhibent la croissance mycélienne du parasite et réduisent significativement la sévérité de la maladie en diminuant la population verticillienne à l'intérieur des tiges (**Erwin, 1981**). Néanmoins, les traitements chimiques ne constituent pas le remède idéal compte tenu des problèmes inhérents à l'environnement, à la toxicité des produits chimiques vis-à-vis de l'Homme et des animaux et à la possibilité d'apparition de pathotypes résistants aux fongicides. (**Benyacoub, 1993**)

La fumigation avec des biocides de synthèse est pratiquement la seule méthode économiquement viable pour les producteurs de l'olivier qui ont un problème de verticilliose (**Maas, 1998**). De plus, la fumigation permet de contrôler non seulement les agents pathogènes, mais également les mauvaises herbes et les nematodes (**Martin, 2003**). Cependant, la fumigation est une méthode coûteuse, difficile d'utilisation et comportant d'importants risques pour la santé humaine et l'environnement (**PAN Pesticides Database, 2008**).

1-3-Les moyens de lutte physique :

La solarisation des sols est une méthode efficace dans la réduction de l'inoculum de *Verticillium*. Elle consiste à couvrir le sol avec des bâches en polyéthylène pendant la période la plus chaude de l'année, de juin à août. Ainsi, les organes de conservation présents jusqu'à une profondeur de 30cm sont soumis à des températures pouvant atteindre 50°C. Les travaux de **Bourdos & Skoudridakis (1996)** sur la verticilliose démontrent l'efficacité de la méthode dans la lutte contre ces champignons vasculaires telluriques.

1-4- Les moyens lutte biologique des plantes contre la verticilliose : D'après la définition de **Cook et Baker (1984)** la lutte biologique consiste à réduire la densité et/ou l'activité pathogène (=le potentiel infectieux) en mettant en oeuvre un ou plusieurs organismes autres

quel'homme. Ces organismes incluent l'agent pathogène lui-même, la plante, les organismes antagonistes. Deux procédés de lutte ont été utilisés ; la prémunition et l'application d'organismes antagonistes à *Verticillium*. La prémunition correspond à l'état de protection que confère à la plante une souche hypo virulente dite souche prémunissant ou « inductrice » contre l'infection ultérieure par une seconde souche virulente dite souche « d'épreuve » (El Aissami, 1999)

Bien que dans le cas de la verticilliose, la prémunition a donné des résultats parfois spectaculaires, son utilisation dans la pratique agricole reste difficile.

Le recours aux microorganismes antagonistes reste une voie plus prometteuse et qui connaît actuellement un grand développement.

Durant ces dernières années, et dans le but de mettre au point un procédé de lutte contre la verticilliose d'une manière économique et sans inconvénients pour l'environnement, les phytopathologistes ont isolé de la rhizosphère un grand nombre de champignons et de bactéries antagonistes au *Verticillium*. (El Aissami, 1999)

-*Talaromyces flavus* est parmi les microorganismes bénéfiques les plus utilisés dans la bioprotection des plantes contre *Verticillium*. Il semble agir en sécrétant une enzyme, le glucose oxydase, qui serait responsable de l'inhibition de la germination des microsclérotés (Fravel, 1996).

-Les espèces du genre *Bacillus* et *Rhizobium* sp ont été sélectionnées pour leur pouvoir antagoniste envers *Verticillium*. L'évaluation in vitro de leur habilité à former des zones antagonistes autour des colonies du pathogène démontre que ces bactéries agissent par antibiose. Elles réussissent également à coloniser les tissus vasculaires de l'hôte en assurant sa protection (Regragui, 2005).

-Le champignon *Trichoderma harzianum* est un puissant antagoniste qui a été largement utilisé dans les programmes de lutte biologique contre les champignons phytopathogènes du sol. Effectivement, cet antagoniste s'est montré très efficace dans la lutte contre *Rhizoctonia solani*, *Botrytis*, *Pythium*, *Fusarium*, *Phytophthora*, et *Verticillium* et autres. (Lorito et al., 1993)

Les modes d'action antagoniste de *Trichoderma harzianum* : sont bien connus; compétition, mycoparasitisme, production de métabolites antifongiques, et d'enzymes cellulolytiques et chitinolytiques (Lorito et al., 1993). Par ailleurs, certaines souches de *Trichoderma* semblent exercer une action stimulatrice de la croissance des plantes en l'absence de tout agent pathogène. Cependant, Eastburn & Butler, (1991) ont montré que les

capacités saprophytiques de *Trichoderma harzianum* peuvent être affectées par des facteurs de l'environnement comme la température, l'humidité et le pH du sol.

En effet, cet antagoniste potentiel est capable de produire des substances volatiles ayant un effet soit fongistatique tel que l'acétaldéhyde soit fongicide comme les alkyles pyrones. De même, ce champignon produit des antibiotiques tels que la dermadine, la pénicilline, la trichothicine et les trichorzianines et des enzymes, cellulases et kinases, qui dégradent les parois cellulaires des agents pathogènes (Lorito et al., 1993).

1-5-les composés phénoliques

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales. Ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénoliques considérés.

Ces composés regroupent une multitude de molécules et représentent l'un des groupes les plus importants présents dans le règne végétal. (Dangles et al. 1992).

1-5-1-les composés phénoliques de défense constitutive

Les systèmes de défense préventifs sont des barrières préformées qui peuvent être de nature physique ou chimique.

Les défenses constitutives physiques constituent une barrière mécanique difficile à franchir par les micro-organismes pathogènes. Dans ce cas, la morphologie de la plante limite la progression des pathogènes. La cire, la cutine ainsi que la subérine sont des exemples de composés qui forment des structures physiques qui bloquent la pénétration ou empêchent efficacement la progression des micro-organismes parasites. (El Modafar ; 2002).

Les barrières chimiques sont généralement des molécules solubles naturellement toxiques vis-à-vis des micro-organismes et des champignons parasites. On appelle phytoanticipines, ces molécules constitutives de faible poids moléculaires qui présentent ce caractère antibactérien ou antifongique. (El Modafar ; 2002).

1-5-2-les composés phénoliques de défense induite :

Le terme phytoalexine désigne les métabolites secondaires de faible poids moléculaire formés par la plante suite à une infection et possédant, entre autre, une activité antimicrobienne marquée.

Les composés phénoliques de défense induits sont par définition des phytoalexines, cependant toutes les phytoalexines ne sont pas des composés phénoliques. Une grande variété de métabolites secondaires, dont de nombreux alcaloïdes et terpènes, répond à cette définition. La frontière n'est pas toujours claire et une dualité existe dans la terminologie entre

phytoalexine et phytoanticipine. On distingue deux groupes principaux de phytoalexinesphénoliques : les stilbènes d'une part et les flavonoïdes d'autre part.(**El Modafar ; 2002**).

1-5-3-Classification des polyphénols :(El Modafar ; 2002).

Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques avec ou sans autres fonctions (alcooliques, carboxyles...). Dans cette famille de molécules, se trouvent de nombreuses substances, qui peuvent se classer selon leur structure en trois groupes principaux:

A- Les acides phénols :

Les acides phénols, ou acides phénoliques, ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils se divisent en deux catégories :

Les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides (**Haslam 1994**). Exemple : l'acide gallique qui est un élément principal de la structure des tannins hydrolysables (**Figure05**).

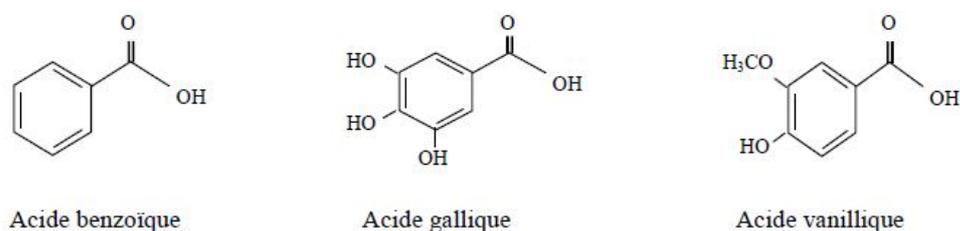


Figure 05 : exemple de quelques acides phénols.(**Bruneton 2009**).

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféïque, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide synaptique. (**Haslam 1994**).

B-Les flavonoïdes

L'appellation « flavonoïdes » rassemble une très large gamme de composés polyphénoliques formés par un squelette de base à 15 atomes de carbones. Ces composés représentent le groupe de composés phénoliques le plus diversifié : plus de 4000 flavonoïdes ont déjà été identifiés. (**Sarni-Manchado et Cheynier 2006**).

Le terme « flavonoïde » est dû à leur couleur jaune (= flavus en latin) qu'ils engendrent.

D'ailleurs, leurs fonctions principales chez les végétaux semblent être attribuées à leur coloration; au delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bêtaïnes.

Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties des végétaux supérieurs selon le type de l'espèce : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois...etc.(Mukesh ,2005).

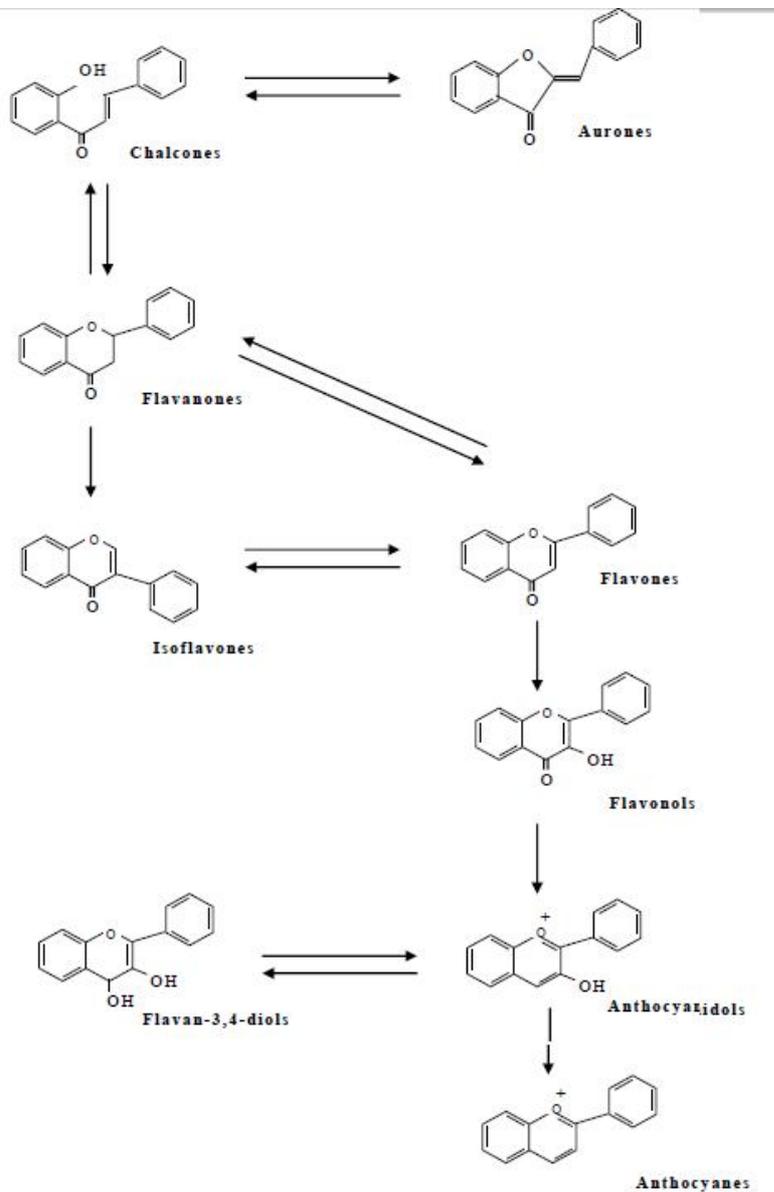


Figure 06: différente classe de flavonoïde.

C-Définition des tannins :

Les tannins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones. Ils ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines. Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités.

Les molécules de tannins se lient aux protéines par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes. Le poids moléculaire des tannins varie entre 500 et 2000 Dalton (3000 pour les structures les plus complexes). (Haslam,1994).

C-a-Les types de tannins :

Les tannins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes principaux :

Les tannins hydrolysables : sont des esters d'acide gallique qui se lient aux molécules de glucose. Plus précisément, un glucose se lie à plusieurs molécules d'acide gallique.

(Cheynier, 2006).

Les tannins condensés : proanthocyanidines : ce sont des composés phénoliques hétérogènes. Ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5 desoxy-3-flavonols et flavan-3,4-diols. **(Montenegro et al, 1976).**

Les composés phénoliques interviennent dans la défense des plantes vis-à-vis de *V. dahliae* et *F. oxysporum* sous trois formes ; **(ElModafar ; 2002).**

- Des formes solubles (phénols solubles, phytoalexines).
- Des formes insolubles (phénols pariétaux).
- Des formes polymérisées (lignine, proanthocyanidines).

Ces mécanismes peuvent être distingués en deux types, selon leur mode d'intervention dans la stratégie de défense de l'hôte : **(ElModafar ; 2002).**

- Mécanismes mécaniques (lignine, phénols estérifiés à la paroi) qui limitent l'action des enzymes hydrolytiques parasites (pectinases, cellulases) sur la paroi végétale de l'hôte.
- Mécanismes chimiques (phénols solubles, phytoalexines) qui inhibent la croissance et le développement du parasite

3-6- Activité biologique de composés phénolique :

Tableau 02 : Activité biologique de composés phénolique.

Composés phénoliques		Activité biologique
Ac. Phénols	Ac. cafeique Ac. salicylique	Antibactérienne Antifongique, antioxydante
Tanins	Tanin gallique Proanthocyanidine	Effet stabilisant sur le collagène, antioxydant, antidiarrhéique, effet antiseptique, effet vasoconstricteur
Flavonoïdes	Lutéoléine Catéchine Hespéridine Quercétine Naringénine	Antitumorale, anticarcinogène, anti-inflammatoire, antioxydante, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne, hypotenseur diurétique.
Coumarines	Dicoumarol	Anticoagulant, antioxydant, protectrice vasculaire et antioedémateuse

Chapitres 03 : Les trois plantes étudiées (olivier ; caroube ;figuier de barbarie)

1-L'olivier

1-1-Historique :

L'olivier (*Olea europaea* L.) est une espèce largement cultivée dans le bassin méditerranéen depuis la plus haute antiquité (**Remi Coutin, 2003**).

L'utilisation la plus connue de l'olivier est sans nul doute la production de l'huile d'olive utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques. (**Djamel, 2011**).

1-2-Classification botanique :

L'olivier appartient au genre OLEA, qui est constitué de 30 espèces différentes comme le troène, le lilas, le frêne, le forsythia... Cette famille est celle des oléacées, elle possède deux sous espèces :

-*olea europaea sylvestris* : l'olivier sauvage ou oléastre poussant spontanément dans la garrigue.

-*olea europaea sativa* : l'olivier cultivé qui possède de nombreuses espèces. (**Monique, 2008**).

1-3- Description botanique :

Son système racinaire est un chevelu très dense, il a ainsi un ancrage solide dans le sol qui lui permet de résister aux vents, à la sécheresse, à l'érosion par exemple.

Selon **Francisco, 2011**, son système aérien est composé de :

- Un tronc plus ou moins haut (de 50 centimètres à un mètre) chez les arbres taillés et cultivés pour que le ramassage soit plus aisé.
- Branches principales au nombre de 3 à 8 : celles-ci donnent sa forme à l'arbre.
- Branches secondaires.
- Rameaux porteurs qui assurent la fructification de l'année en cours.
- Drageons ou rejets ou éclats qui se développent à partir du collet et qui peuvent donner un nouvel arbre.



Figure 07: arbre d'olivier (Francisco ,2011).

1-4-Importance économique de l'oléiculture :

1-4.1-L'oléiculture dans le monde :

La culture de l'olivier représente une place importante dans l'agriculture de nombreux pays du Bassin Méditerranéen à la fois pour l'autosuffisance alimentaire et pour l'apport non négligeable en devises. L'intérêt de l'olivier ne se limite plus à la seule production de l'huile et l'olive de table, puisque le grignon et le noyau sont devenus une source importante de matière première alimentaire pour les animaux (Bellahcene,2002).

Tableau 03 : L'olivier dans le monde, 2006/07 (Yvette, 2009).

Surface totale plantée	9,5 millions hectares
Arbres en production	900 millions
Olives récoltées	14 millions tonnes
Huile d'olive produite	2,8 millions tonnes
Olives de table produite	1,8 millions tonnes

1-4.2-l'oléiculture en Algérie :

La plantation de l'olivier en Algérie est localisée à 80% dans les zones de montagnes et de piémonts avec une pluviométrie entre 350 et 900 mm. La superficie de l'olivier est passée de 165000 ha en 1999 à 312000 ha en 2008.

Grâce au Plan National de Développement Agricole et Rural (PNDAR). L'oliveraie de table est située essentiellement dans les plaines de l'Ouest, Wilaya de Mascara, Relizene et d'Oran, elle représente 18% environ de la superficie totale et est constituée de la variété Sigoise. (Kerbaoua, 2008).

1-4.3- l'oléiculture à Tlemcen :

De son côté, l'oliveraie de la wilaya de Tlemcen promet cette saison une récolte pouvant atteindre les 190 000 quintaux, avec un rendement moyen de 30 quintaux à l'hectare, d, selon les prévisions de la direction des services agricoles (DSA). Il est prévu ainsi une récolte de 90 000 quintaux d'olives de table et 100 000 quintaux destinés à la transformation pour la production de près de 12 600 hectolitres d'huile d'olive,. La campagne de récolte d'olives cible une superficie de 8 500 ha productifs, en plus de 230.000 oliviers disséminés à travers les champs et aux abords des routes (DSA, 2011).

2-Figuiers de barbarie :

2-1-Description botanique de la plante

Le Figuiers de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*), est une plante de la famille des Cactaceae. Cette famille est contenue environ 130 genres et près de 1500 espèces. (Singh, 2003)

C'est une plante arborescente qui peut atteindre de 3 à 5 mètres de haut. Elle est organisée en cladodes, de 30 à 40 cm de long sur 15 à 25 cm de large et de 1,5 à 3 cm d'épaisseur. Formés d'éléments charnus très épais, ovales et aplatis en forme de raquettes.

Les épines proprement dites, blanchâtres, sclérifiées, solidement implantées, sont longues de 1 à 2 cm. Ses fleurs jaunes en houpettes sur les fruits jeunes. Tombent avant que ses derniers n'atteignent la maturité. Son fruit est gros, jaune, orangé ou rouge. Entouré de minuscules piquants mais succulent à l'intérieur. (Oued zenatiet al, 1990).



Figure 08 : structure de figuier de barbarie(**Ramadan,2003**).

2-2-Présentation de la plante :(Oued et al,1990).

- Nom : figuier de barbarie
- Nom scientifique : *Opuntia ficus indica*
- Nom berbère : El hendi, sabara , karmoussnsarra
- Nom français : figuier de barbarie, le nopal,figuier d'inde
- Nom anglais : pricklypear

2-3-Habitat

Le Figuier de Barbarie est originaire du **Mexique**, cette plante pousse sur le continent Américain (du Chili au Canada en passant par le Mexique). Il a été importé par la suite sur de nombreux continents, et notamment sur le pourtour méditerranéen et en Afrique du Sud. Elle s'est répandue également dans l'hémisphère sud, notamment en Afrique du Sud, à Madagascar, à la Réunion et à l'île Maurice, en Inde et à Ceylan, ainsi qu'en Australie. En France, cette espèce est présente sur le pourtour méditerranéen ainsi qu'en Corse (**Ritz et al, 2012**).

2-4-Classification :

Selon (**Wallace et al, 1997**) le figuier de barbarie a été classé :

Règne	Plantae
Embranchement	Phanérogames
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales
Ordre	Caryophyllales
Famille	Cactaceae
Genre	<i>Opuntia</i>

Genre Espèce *Opuntia ficus indica*

2-5-caractérisation de la plante

La plante se caractérise par une remarquable adaptation à la sécheresse obtenue au fil du temps par la fantastique évolution de la structure de son organisme (APB et al, 1997).

2-6-Les composants de la plante

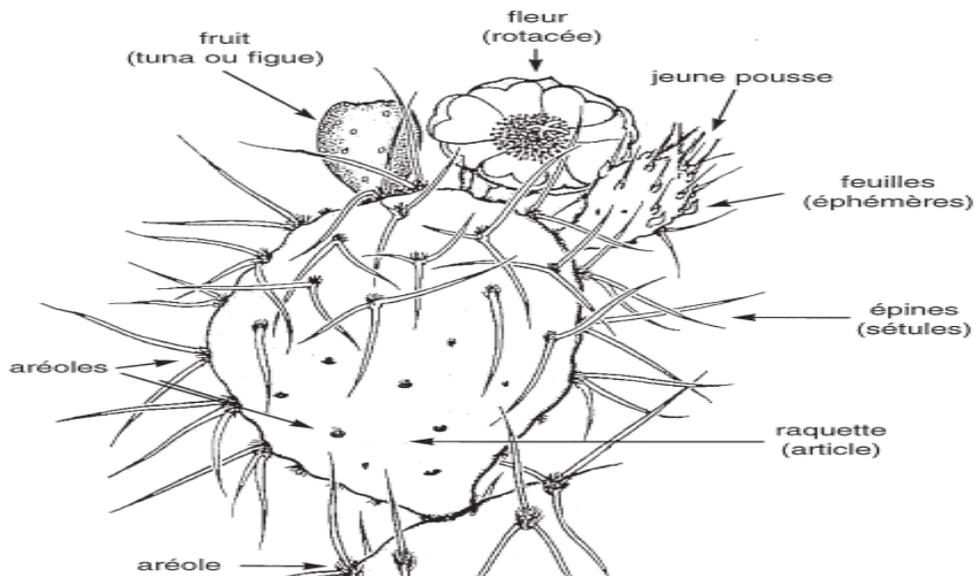


Figure 09 :Les composants de la plante (APB et al, 1997).

2-7- Domaine d'utilisation de la plante

2-7-1-En pharmacie :(Diacono et al, 1948)

La recherche médicale moderne redécouvre avec un intérêt grandissant la plante et ses propriétés. Elle étudie les molécules actives qui la composent et lui permettent de lutter efficacement contre Quelques-unes des affections les plus graves de notre temps : l'anxiété, l'artériosclérose, le cholestérol, le diabète, l'obésité, la spasmophilie, le stress.

- **Antidiabétique**

Des études scientifiques démontrent qu'absorbé avant le repas, le Nopal est un antidiabétique efficace dans des cas d'hyperlipidémie (ou de diabète sucré).

- **Obésité**

En captant et dissolvant les sucres et les graisses transitant par l'estomac et l'intestin, le Nopal contrarie voire empêche leur assimilation normale par l'organisme.

- **Nettoyage du colon**

Le Nopal contient des fibres alimentaires "solubles" facilitant le transit intestinal.

- **Cellulite**

Les protéines végétales dont le Nopal est abondamment pourvu aident le corps à éliminer l'excès aqueux de certains tissus cellulaires.

2-7-2-En Cosmétique :(APB et al,1997)

Pour soigner leurs mains malmenées par les rudes travaux auxquelles elles sont soumises, les Indiennes préparent du savon et des onguents à base de mucilage d'*Opuntia ficus indica*. Elles préservent de la même manière leur visage agressé par le soleil

3-Caroubier: *Ceratonia siliqua* L.

3-1-Taxonomie :

Le nom scientifique du caroubier, *Ceratonia siliqua* L. dérive du grec Keras (=corne) et de la latine siliqua désignant une siliqua ou gousse et faisant allusion à la dureté et à la forme du fruit (**Battle et Tous, 1997**). Le nom commun serait d'origine hébraïque : karuv. Le nom arabe. kharroub.

Le genre *Ceratonia* appartient à.

La famille : Fabacées.

Sous-famille : Césalpiniacées.

Classe : *Magnoliopsida*.

L'ordre : *Fabales* (Rosales).

Deux espèces du genre *Ceratonia* sont connues, *Ceratonia oreoithauma* et *Ceratonia siliqua* (**Tucker, 1992**).

3.2 :Description botanique de la plante

Le caroubier est un arbre ou arbuste sclérophylle, sempervirent, qui peut atteindre 7 à 20 m de hauteur et une circonférence à la base du tronc de 2 à 3 m . Il a une écorce lisse et grise lorsque la plante est jeune ; et brune et rugueuse à l'âge adulte. Son bois de couleur rougeâtre est très dur. Le caroubier peut vivre jusqu'à 200 ans (**Ait Chitt et al, 2007**).

C'est une espèce dioïque dont les fleurs sont initialement bisexuelles puis deviennent habituellement unisexuées au cours du développement floral (**Thomas, 1983**).

Les feuilles persistantes, de 10 à 20 cm long, se caractérisent par un pétiole sillonné sur la face interne et un rachis portant 8 à 15 folioles, opposées, de 3 à 7 cm, elles sont coriaces, entières, ovales à elliptiques, paripennées, légèrement échancrées de couleur verte (**Ait Chitt et al., 2007**).

Les fleurs sont verdâtres, de petite taille (6 à 16 mm de longueur), spiralées et réunies en un grand nombre pour former des grappes droites et axillaires l'aisselle desquelles elles se sont développées (**Battle et Tous, 1997**).



Figure 10: L'arbre du caroubier (Batlle et Tous, 1997).

3-3 Importance économique du caroubier :

3-3.1-Dans le monde :

Elle est originaire du Moyen-Orient, mais c'est un arbre essentiellement méditerranéen d'importance écologique, industrielle et ornementale indiscutable (Hariri et al., 2009). On l'encontre à l'état naturel principalement en Espagne, Portugal, Maroc, Grèce, Italie, Turquie, Algérie, Tunisie, Égypte, et Chypre. Il a été introduit aussi en Australie, en Afrique du Sud, aux États-Unis et en Amérique du Sud (Figure 11), (Sbay, 2006).

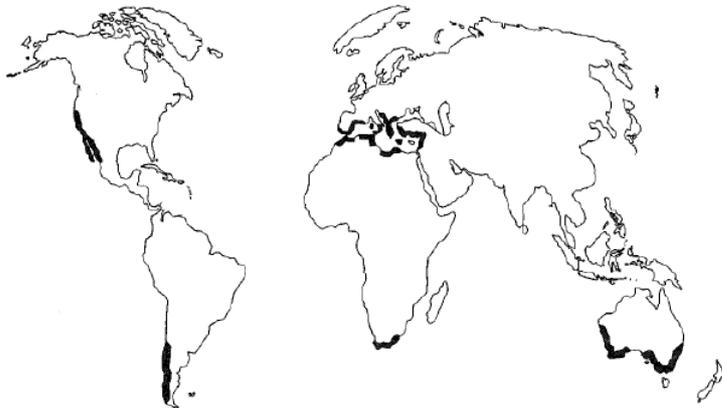


Figure 11: Centres d'origine et distribution du caroubier dans le monde (Batlle et Tous, 1997)

3-3-2- Dans Algérie et Tlemcen :

En Algérie, le caroubier est fréquemment cultivé dans l'Atlas Saharien et il est commun dans le tell (Que zel, 1962). On le trouve à l'état naturel en association avec l'amandier, *Olea Europea* et *Pistacia Atlantica* dans les étages semi-aride chaud, subhumide et

humide, avec une altitude allant de 100m à 1300m dans les vallons frais qui le protègent de la gelée ; avec une température de 5°C jusqu'à 20°C et une pluviométrie de 80mm à 600mm/an (**Rebour, 1968**).

Suivant ces critères climatiques ; on a établi l'aire de répartition du caroubier en Algérie et à Tlemcen dans les régions suivantes : Sidi M'djahed, Sebra, Henaya, Aïn Tellout, Sidi Abdli, Remchi, Ben Sekran, Aïn Youcef et de Beni Saf jusqu'à Marsat Ben M'hidi .

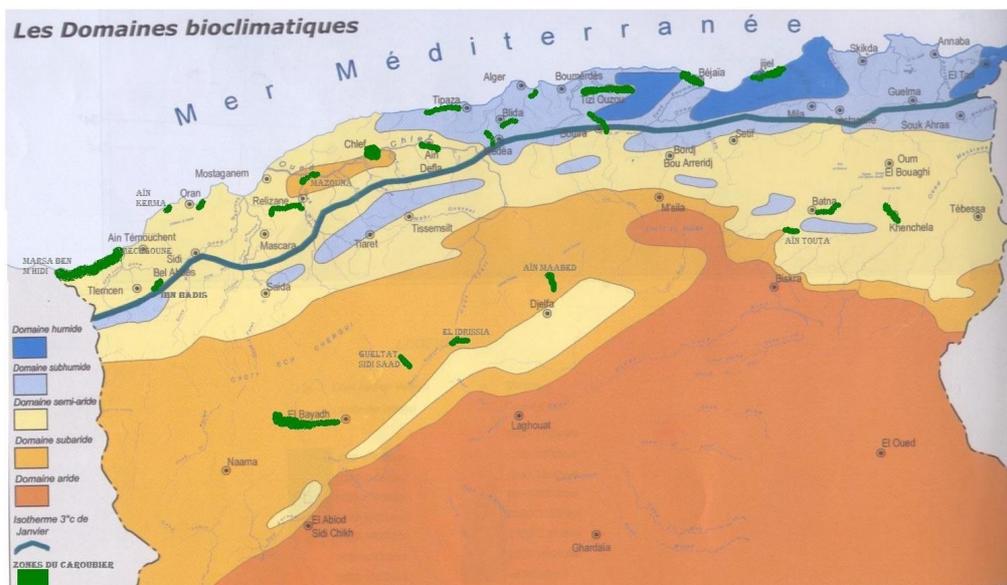


Figure 12: Distribution du caroubier en Algérie suivant les domaines. (**Rebour, 1968**).

3-4-Composition chimique de la caroube :

La pulpe et les graines sont les deux principaux constituants de la gousse du caroubier et représentent respectivement 90% et 10% de son poids total. Selon plusieurs auteurs, la composition chimique de la pulpe dépend en général, du cultivar, de l'origine et parfois de la période de récolte (**Albanell et al., 1991**).

Selon les travaux d'**Avallone et al., (1997)** ; **Bengoechea et al., (2008)**, la gousse de caroube est riche en hydrates de carbone et en fibres, elle contient une faible quantité de protéines et des teneurs négligeables en lipides ; quant à la teneur de la caroube en minéraux elle est appréciable.

La composition chimique de la graine a été évaluée par **Bouzouita et al., (2007)**, qui a démontré que la graine était pauvre en minéraux en fibres et en protéines, par contre elle contient une quantité appréciable de lipides.

1-Purification de l'agent pathogène :

Les deux souches *V.dahliae* et *F.oxysporium* utilisées font parties d'un collecteur de souche de laboratoire de Produits Naturels. Elles ont été isolées à partir de plants pathogènes. La purification des souches se fait par repiquage successif sur milieu PDA jusqu'à l'obtention de la souche pure.

L'incubation se fait à 25 °C pendant 5 à 7 jours.

2-Préparation des extraits de plantes :

Trois plants ont été utilisés : feuilles et tiges d'Olivier et graine de caroubier et graine du figuier de barbarie

3-Dégraissage

Le matériel végétal est tout d'abord broyé dans un broyeur électrique.

Le dégraissage des trois échantillons passant par les étapes suivantes :

-l'épuisement est réalisé dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, contenant 20g de l'échantillon séchées et broyées et en présence de l'éther de pétrole (**Figure 13**)

-L'ensemble a été porté à l'ébullition pendant 6h pour éliminer toutes les matières grasses et les chlorophylles constitutives.

20g d'échantillon



A soxhlet pendant 6h

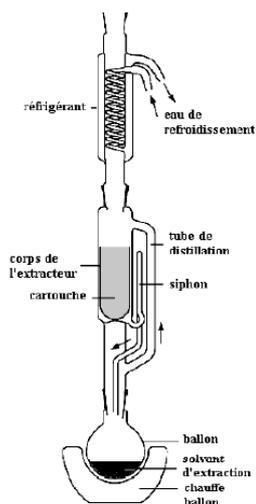


Figure 13: Schéma de l'extracteur *Soxhlet*.

4-Extraction sélectives :

Extraction de trois plantes (feuilles et tiges d'Olivier et graine de caroubier et graine du figuier de barbarie):

4.1-Extraction des tanins :

-5g de matériel végétal broyé et dégraissé en présence de 90ml d'eau distillé et 50ml d'acétone ; l'ensemble est porté a une macération a froid ($4C^0$) pendant 4 jours.

-Filtrer et extraire la solution deux fois avec 25ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides.

-décantier et extraire la phase aqueuse quatre fois avec 25ml d'acétate d'éthyle (AcOEt).

-Sécher la phase organique avec $MgSO_4$ ensuite faire évaporer le solvant à sec.

-Récupérer le résidu sec obtenu avec 3ml de méthanol.

4.2- Extraction des flavonoïdes :

L'extraction des flavonoïdes des plantes est réalisée par la méthode de Bekkara et al ,1998 «Fraction d'acétate d'éthyle et butanolique » :

-5g des raquettes sec et broyé est mis en contact avec 20 ml de méthanol pendant 24h . L'extrait méthanolique récupéré est ensuite évaporé a sec ($T=60\text{ C}^0$) par un rotavapeur type Buchi R-200 .Le résidu sec obtenu est partagé entre 50ml d'acétate d'éthyle et 50ml d'eau distillée chaude dans une ampoule à décanter .Après agitation et décantation des deux phases, la phase d'acétate d'éthyle est récupérée puis séchée par une évaporation rotatif. Le résidu sec est repris par 3ml du méthanol .

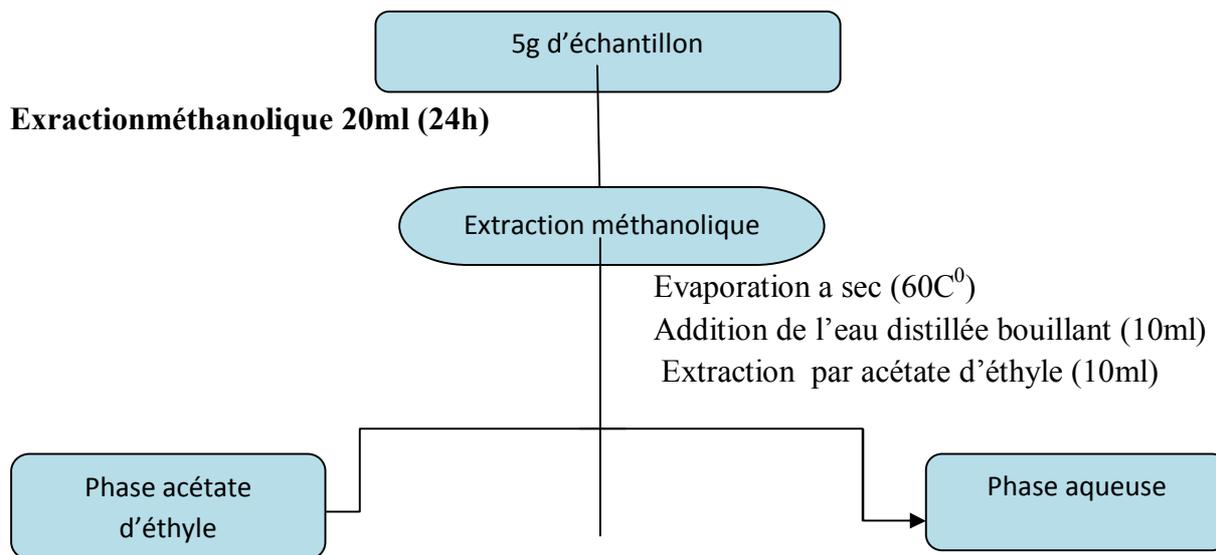


Figure 14 : schéma d'extraction des flavonoides(Bekkara et al ,1998).

4.3-Extraction de polyphénols:(Blahova et al ,2004)

L'extraction de polyphénols consiste a macérer a froid 20g de matériel végétal (sous forme de poudre dégraissée) dans une solution d'un mélange acétone/eau (70/30v/v), pendant 24h a 4C^0 pour empêcher l'action de polyphénoloxydases qui dégraderaient les composés phénoliques. L'acétone aqueuse est généralement le plus efficace par apport aux solvants les plus utilisés pour l'extraction des polyphénols.

5-Etude du pouvoir antifongique des extraits des trois plants :

Les extraits des trois plants ont été testés sur la croissance de *Verticilliumdahliae* et *F .oxysporum* .

5-1-Antifongigramme :

On teste la sensibilité des deux champignons par la méthode de dilution effectuée en milieu solide, l'antifongigramme (Burnichon et al, 2003).

L'antifongigramme est une technique qui permet de déterminer la sensibilité des champignons vis-à-vis des antifongiques.

On dépose un disque de mycélium au centre en surface du milieu PDA solide . Additionné au préalable d'une concentration connue d'Amphotericine B.

5-2-Pouvoir antifongique des extraits phénolique :

Afin de tester le pouvoir antifongique de nos extraits .Nous avons procédé à la méthode de contact décrit par **Fandohan , 2004** . Les extraits de tanins, flavonoïdes et phénols totaux ont été testés comme suit :

-Un volume de 100µl de l'extrait est additionné à 20 ml du milieu PDA en surfusion dans un tube à essai.

-Après agitation des tubes. Le milieu coulé dans des boites de pétri.

-L'incubation a été faite par le dépôt au centre de la boite d'un disque Mycélien d'environ 6mm de diamètre d'une pré-culture de 3 à 5 jours.

-Une boite de pétri contenant 20 ml du milieu PDA sans extrait inoculée.

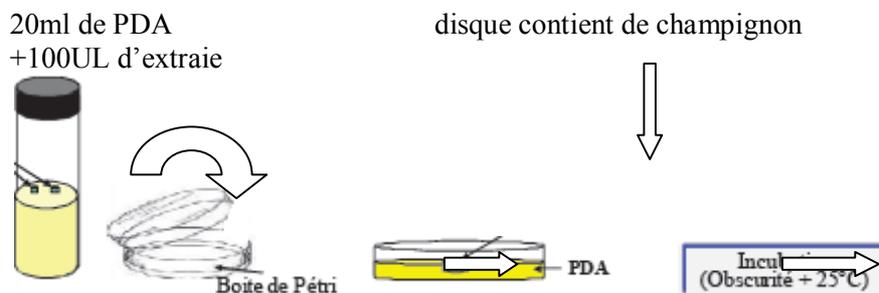


Figure 15: méthode d'étude du pouvoir antifongique (EL Hassani ,2007).

Après inoculation à 25C° pendant 3 à 5 jours. On a calculé l'indice Antifongique ou le pourcentage d'inhibition détermine par la formule de **Wang , 2005**

$$\text{Indice antifongique} = ((Dd - Da) / Db) \times 100$$

Da : diamètre de la zone de croissance de l'essai.

Db : diamètre de la zone de croissance du témoin.

6-Test antagoniste

Les trois souches bactériennes : *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Entérobactercloacea* d'origine de laboratoire de Produits Naturels et une souche fongique : *Trichoderma* ont été testés pour voir leur effet sur la croissance de *V.dahliae* et *F.oxysporum*.

Le pouvoir antagoniste des bactéries a été testé par la méthode de Co- Cultiringside by side sur milieu PDA, décrite par EL Hassani et al ,2007.

Chaque souche estensemencée par une strie sur le centre du milieu PDA. Après 48 h d'incubation, deux explants de V.D de 5mm de diamètre âge de 7 jours sont déposés sur les deux côtés de la strie de chaque bactérie à une distance de 2.5 cm.

Les boîtes témoinensemencées avec les disques du champignon seulement.

Les boîtes sont incubées à 25°C pendant 7j.

Le pouvoir antagoniste de *Trichoderma* a été étudié par méthode de conformation globale (Davet ,1979).

Les souches sontensemencées sous forme d'un explant de 5mm de diamètre sur le milieu PDA. Ensuite un explant de V.D de 5mm de diamètre âge 7 jours est déposé sur l'autre cote de l'explant antagoniste à une distance de 2.5 cm.

Les boîtes témoinensemencées avec les disques du champignon seulement.

Les boîtes sont incubées à 25 °C pendant 7 jours.

6.1-Conservation

Les souches bactériennes et fongiques ont été conservées a 4⁰C, dans la gélose nutritive inclinée pour les bactéries, et la gélose PDA acidifiée inclinée pour champignons.

6.2- Préparation de l'inoculum

- Bactéries : les souches sont revivifiées dans un bouillon nutritif à 37⁰C ±1C⁰ pendant 24h.
- Champignons : elles proviennent d'une culture de 5/7 jours en boîte de pétri contenant du milieu PDA acidifié.

1*Purification de l'agent pathogène :

Les deux souches *V.dahliae* et *F.oxysporium* utilisées font parties d'un collecteur de souche de laboratoire de produit naturelle. Elles ont été isolées à partir de plants pathogènes

La purification des souches se fait par repiquage successif sur milieu PDA jusqu'à l'obtention de la souche pure.

L'incubation se fait à 25 °C pendant 5 à 7 jours.

2-Préparation des extraits des plants :

Trois plants ont été utilisés : feuilles et tiges d'Olivier et graine de caroubier et graine du figuier de barbarie

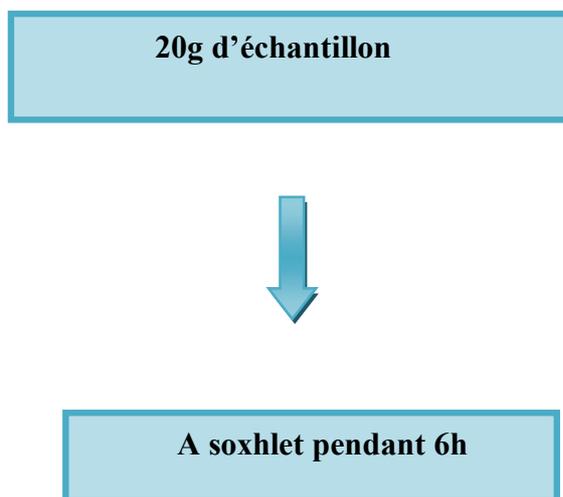
3*Dégraissage

Le matériel végétal est tout d'abord broyé dans un broyeur électrique.

Le dégraissage des trois échantillons passant par les étapes suivantes :

-l'épuisement est réalisé dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, contenant 20g de l'échantillon séchées et broyées et en présence de l'éther de pétrole (**Figure 13**)

-L'ensemble a été porté à soxhlet pendant 6h pour éliminer toutes les matières grasses et les chlorophylles constitutives.



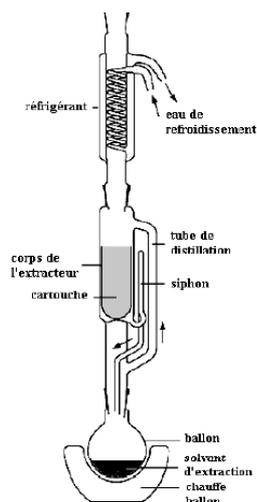


Figure 13: Schéma de l'extracteur Soxhlet.

4-Extraction sélectives :

Extraction de trois plantes (feuilles et tiges d'Olivier et graine de caroubier et graine du figuier de barbarie):

4.1-Extraction des tanins :

-5g de matériel végétal broyé et dégraissé en présence de 90ml d'eau distillé et 50ml d'acétone ; l'ensemble est porté a une macération a froid ($4C^0$) pendant 4 jours.

-Filtrer et extraire la solution deux fois avec 25ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides.

-décanter et extraire la phase aqueuse quatre fois avec 25ml d'acétate d'éthyle (AcOEt).

-Sécher la phase organique avec $MgSO_4$ ensuite faire évaporer le solvant a sec.

-Récupérer le résidu sec obtenu avec 3ml de méthanol.

4.2- Extraction des flavonoïdes :

L'extraction des flavonoïdes des plantes est réalisée par la méthode de Bekkara et al ,1998 «Fraction d'acétate d'éthyle et butanolique » :

-5g des raquettes sec et broyé est mis en contact avec 20 ml de méthanol pendant 24h . L'extrait méthanolique récupéré est ensuite évaporé a sec ($T=60 C^0$) par un rotavapeur type

Buchi R-200 .Le résidu sec obtenu est partagé entre 50ml d'acétate d'éthyle et 50ml d'eau distillée chaude dans une ampoule à décanter .Après agitation et décantation des deux phases, la phase d'acétate d'éthyle est récupérée puis séchée par une évaporation rotatif. Le résidu sec est repris par 3ml du méthanol .

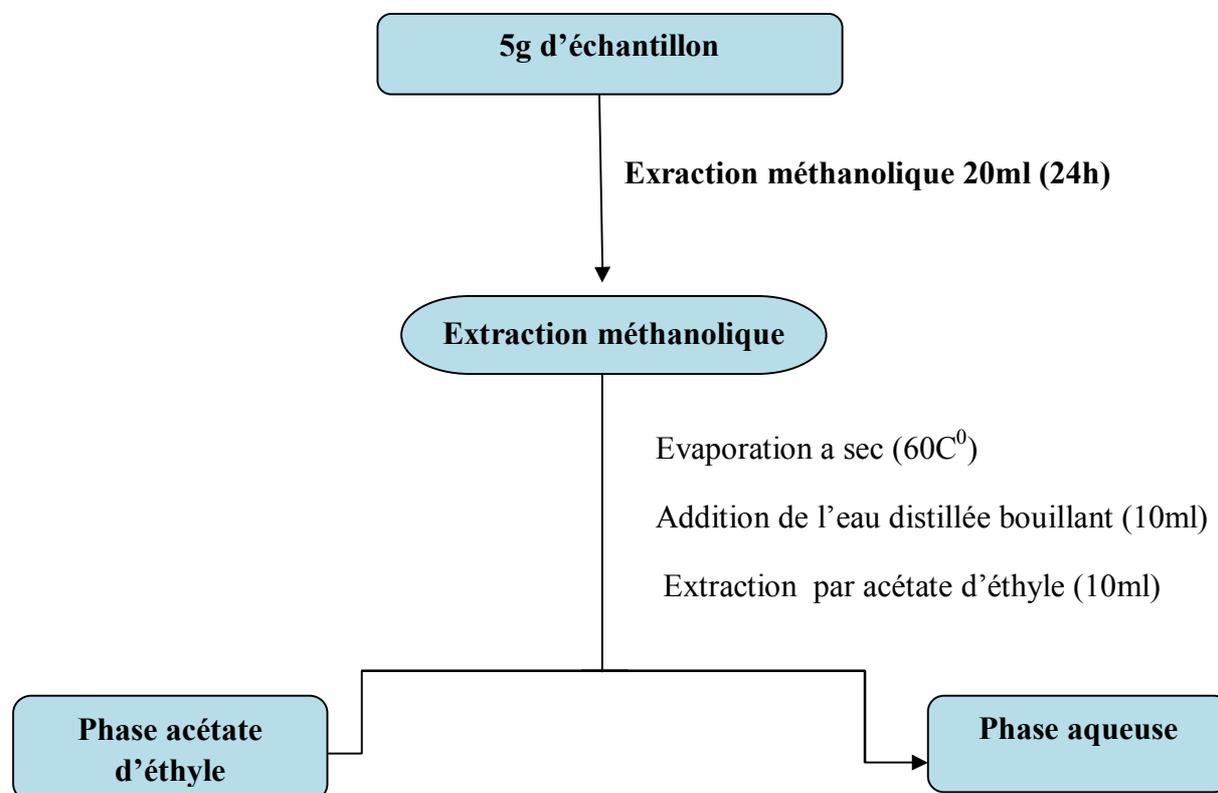


Figure 14 : schéma d'extraction des flavonoides (Bekkara et al ,1998).

4.3-Extraction de polyphénols:(Blahova et al ,2004)

L'extraction de polyphénols consiste a macérer a froid 20g de matériel végétal (sous forme de poudre dégraissée) dans une solution d'un mélange acétone/eau (70/30v/v), pendant 24h a 4C° pour empêcher l'action de polyphénoloxydases qui dégraderaient les composés phénoliques. L'acétone aqueuse est généralement le plus efficace par apport aux solvants les plus utilisés pour l'extraction des polyphénols.

5*Eude du pouvoir antifongique des extraits des trois plants :

Les extraits des trois plants ont été testés sur la croissance de *Verticillium dahliae* et *F.oxysporum*.

➤ Antifongigramme :

On teste la sensibilité des deux champignons par la méthode de dilution effectuée en milieu solide, l'antifongigramme (**Burnichon et al, 2003**).

L'antifongigramme est une technique qui permet de déterminer la sensibilité des champignons vis-à-vis des antifongiques.

On dépose un disque de mycélium au centre en surface du milieu PDA solide . Additionné au préalable d'une concentration connue d'Amphotericine B.

➤ Pouvoir antifongique des extraits phénolique :

Afin de tester le pouvoir antifongique de nos extraits .Nous avons procédé à la méthode de contact décrit par **Fandohan , 2004** . Les extraits de tanins, flavonoïdes et phénols totaux ont été testés comme suit :

-Un volume de 100µl de l'extrait est additionné à 20 ml du milieu PDA en surfusion dans un tube à essai.

-Après agitation des tubes. Le milieu coulé dans des boites de pétri.

-L'incubation a été faite par le dépôt au centre de la boite d'un disque Mycélien d'environ 6mm de diamètre d'une pré-culture de 3 à 5 jours.

-Une boite de pétri contenant 20 ml du milieu PDA sans extrait inoculée.

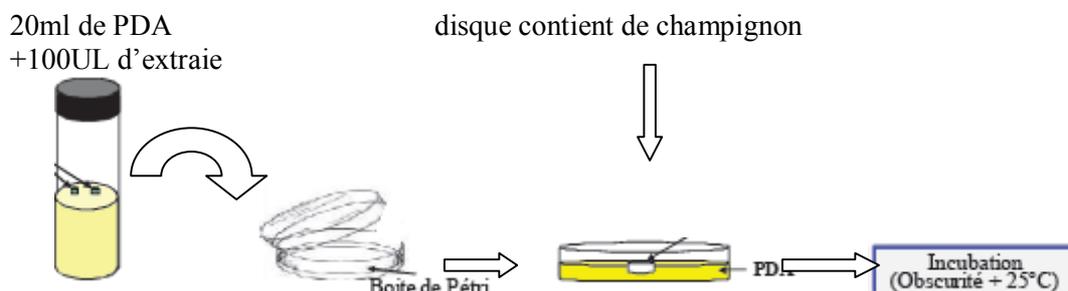


Figure 15: méthode d'étude du pouvoir antifongique (EL Hassani et al ,2007).

Après inoculation à 25C° pendant 3 à 5 jours. On a calculé l'indice Antifongique ou le pourcentage d'inhibition détermine par la formule de **Wang et al , 2005**

$$\text{Indice antifongique} = ((Dd - Da) / Db) \times 100$$

Da : diamètre de la zone de croissance de l'essai.

Db : diamètre de la zone de croissance du témoin.

6*Test antagoniste

Les trois souches bactériennes : *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Entérobacter cloacea* et une souche fongique : *Trichoderma* ont été testés pour voir leur effet sur la croissance de *V.dahliae* et *F.oxysporum*.

- Le pouvoir antagoniste des bactéries a été testé par la méthode de Co- Culturing side by side sur milieu PDA, décrite par EL Hassani et al ,2007.

Chaque souche estensemencée par une strie sur le centre du milieu PDA. Après 48 h d'incubation, deux explants de V.D de 5mm de diamètre âge de 7 jours sont déposés sur les deux cotés de la strie de chaque bactérie à une distance de 2.5 cm.

Les boîtes témoinensemencées avec les disques du champignon seulement.

Les boîtes sont incubées à 25°C pendant 7j.

- Le pouvoir antagoniste de *Trichoderma* a été étudié par méthode de conformation globale (Davet ,1979).

Les souches sontensemencées sous forme d'un explant de 5mm de diamètre sur le milieu PDA. Ensuite un explant de V.D de 5mm de diamètre âge 7 jours est déposé sur l'autre cote de l'explant antagoniste à une distance de 2.5 cm.

Les boîtes témoinensemencées avec les disques du champignon seulement.

Les boîtes sont incubées à 25 °C pendant 7 jours.

6.1-Conservation

Les souches bactériennes et fongiques ont été conservées a 4⁰C, dans la gélose nutritive inclinée pour les bactéries, et la gélose PDA acidifiée inclinée pour champignons.

6.2- Préparation de l'inoculum

- Bactéries : les souches sont revivifiées dans un bouillon nutritif à 37⁰C ± 1C⁰ pendant 24h.
- Champignons : elles proviennent d'une culture de 5/7 jours en boîte de pétri contenant du milieu PDA acidifié.

1-L'effet inhibiteur des extraits phénoliques des plantes sur la croissance de *V.dahliae* et *F.oxysporum* :

1-1-L'effet des extrait phénolique de caroubier sur le *Verticilliudahliae* :

Les résultats de l'effet des extraits de la caroube sur *Verticillim Dahliae* sont représentés dans la figure (16)

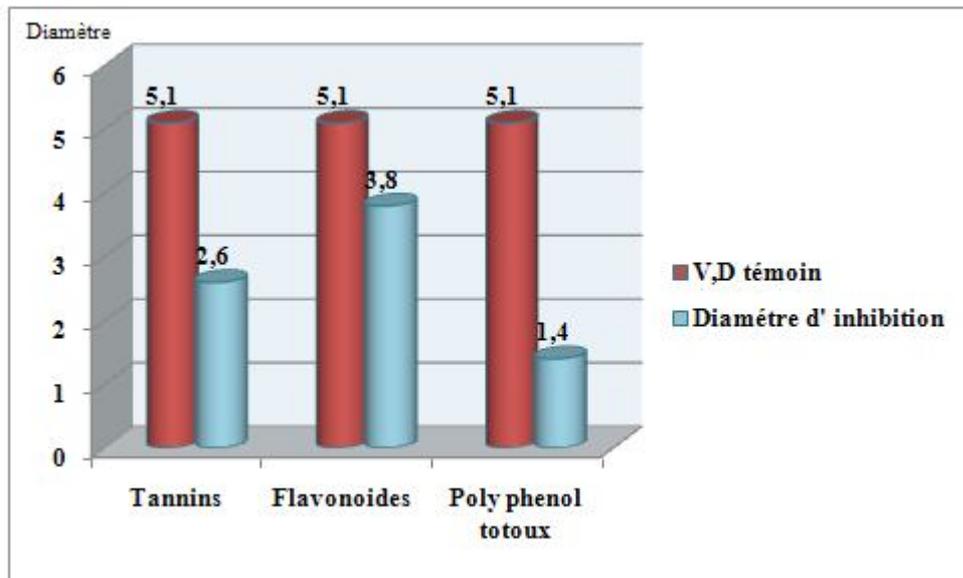


Figure 16 : Diamètre d'inhibition de croissance de V,D en présence d'extrait de caroube .

1-2-L'effet des extrait phénolique de caroubier sur le *Fusariumoxysporum* :

Les résultats de l'effet des extraits de la caroube sur *Fusariumoxysporum* sont représentés dans la figure (17)

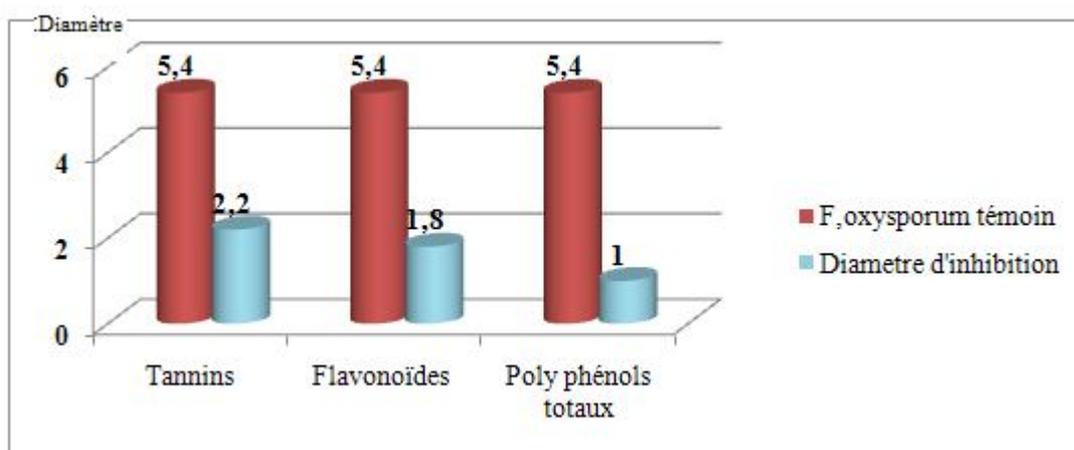


Figure 17:Diamètre d'inhibition de croissance de F,oxysporium en présence d'extrait de caroube.

Les résultats nous montrent que :

L'effet des polyphénols totaux sur la croissance de *V. dahliae* et *F. oxysporum* est meilleur que celui des flavonoïdes et tannins seuls, on peut penser qu'il y a un effet synergique entre tannins et flavonoïdes.

Les travaux de **Ben Hsouna et al., (1986)** ont montré que l'effet des polyphénols de la caroube possède une activité antibactérienne et antifongique.

D'après Celimene, 1999-Cowan, 1999, la toxicité des composés phénoliques envers les champignons est basée sur l'inactivation des enzymes fongiques.

Les extraits de *Ceratonia siliqua* sont des antifongiques naturels efficaces qui pourraient être utilisés par l'industrie des fongicides (Cowan, 1999).

1-3-L'effet des extraits phénoliques d'olivier sur le *Verticillium dahliae* :

Les résultats de l'effet des extraits d'olivier sur *V. dahliae* sont représentés dans la figure (18) :

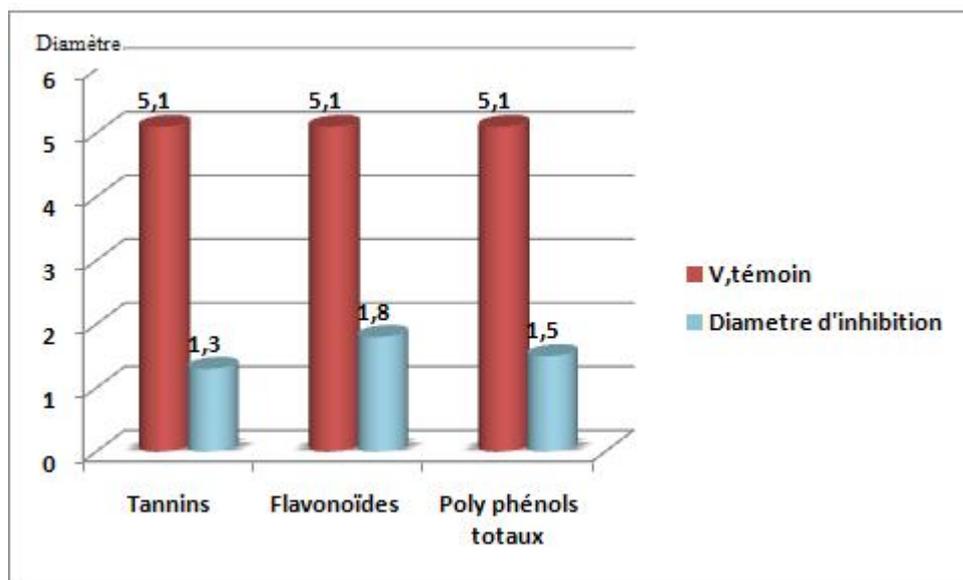


Figure 18: Diamètre d'inhibition de croissance de *V. D* en présence de l'extrait d'olivier.

1-4-L'effet des extraits phénoliques d'olivier sur le *Fusarium oxysporum*

Les résultats de l'effet des extraits d'olivier sur *F. oxysporum* sont représentés dans la figure (19).

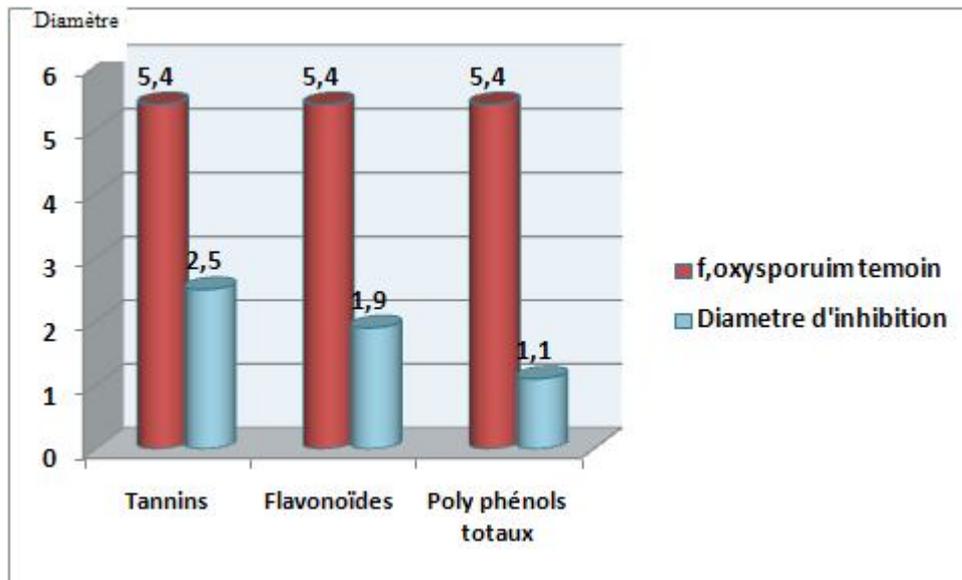


Figure 19: Diamètre d'inhibition de croissance de *F.oxysporium* en présence d'olivier.

L'effet des extraits d'olivier était remarquable sur les deux champignons, surtout l'effet des tannins sur *V.dahliae* (74.5%) et l'effet des polyphénols totaux sur *F.oxysporum* (79.62%)

Aganchiche en 2002 a prouvé le rôle des composés phénoliques de l'olivier dans l'inhibition de la croissance de *Verticilliumdahliae*.

Selon Chérif et al.(2007), les extraits peuvent inhiber les enzymes extracellulaires fongiques comme la cellulase, la xylase et la pectinase.

El Moudafar et El Boustani ont montré en 2002, que la fongitoxicité des polyphénols de l'olivier vis-à-vis du *Verticilliumdahliae* est signalé dans plusieurs interactions hôte-parasite et leur mode d'action peut se manifester chez le parasite par diverses altérations membranaires, l'inhibition de la chaîne respiratoire, de la biosynthèse d'ADN et d'ARN, de la synthèse des toxines et des enzymes parasitaires.

D'autre part, Gaceb et Rahmania en 2002 ont montré que les polyphénols jouent un rôle important dans la résistance du palmier dattier à la fusariose causée par *Fusariumoxysporium*.

1-5-L'effet des extraits phénoliques de graines de figuier de barbarie sur le *Verticilliumdahliae*

Les résultats de l'effet des extraits de graines de figuier de barbarie sur *V.dahliae* représentés dans la figure (20).

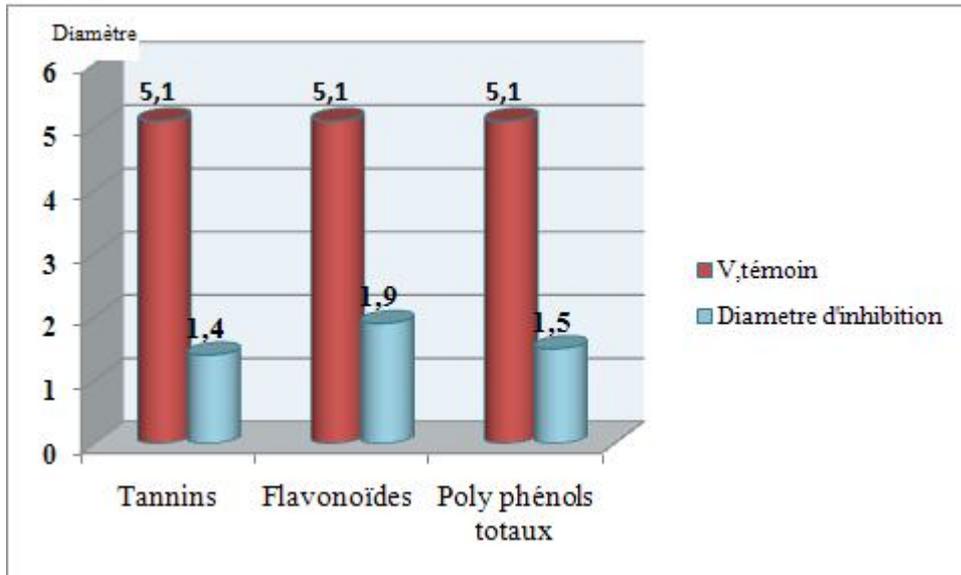


Figure 20: Diamètre d'inhibition de croissance de V,D en présence l'extrait de figue.

1-6-L'effet des extrait phénolique de graines de figuier de barbarie sur le *F.oxysporum*

Les résultats de l'effet des extraits de graines de figuier de barbarie sur *F.oxysporum* représentés dans la figure (21).

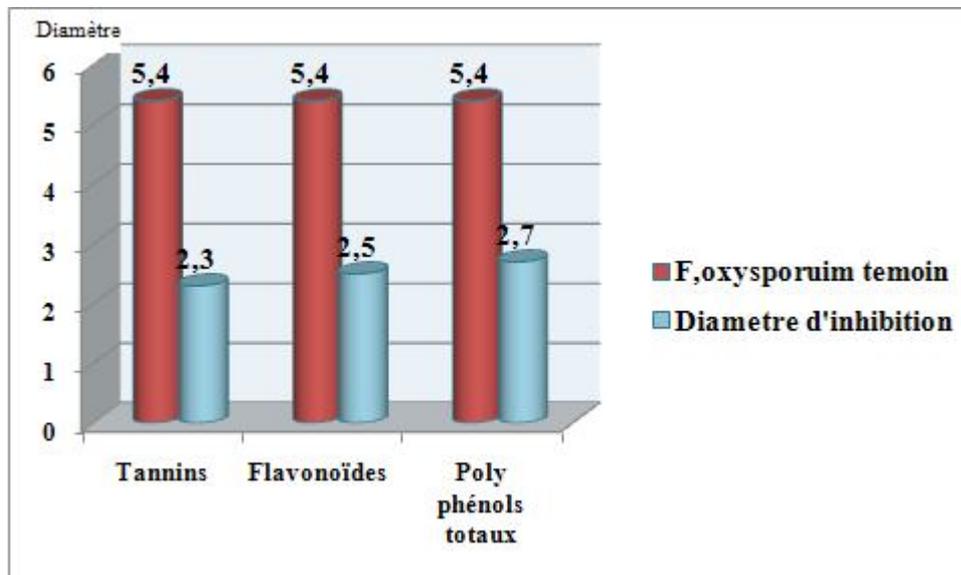


Figure 21: Diamètre d'inhibition de croissance de *F.oxysporium* en présence l'extrait de figuier.

L'effet des extraits du grain de figuier de barbarie sur *V.dahliae* est plus intéressant que sur le *F.oxysporum*. Les travaux de Maxuieil et Philips, 1990 montrent que les flavonoïdes d'extrait de grain de figuier de barbarie jouent un rôle important dans la plante tel que la défense et signalisation des composés phénoliques pour la reproduction, la pathogène et symbiose.

D'après Lamnour ,2002 ; les flavonoides sont capables de moduler l'activité de certain enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, possédant une multitude d'activités biologique notamment des propriétés antimicrobiennes et antifongiques.

Bi et al ,1997 montre que les tannins favorisent la régénération des tissus en cas des blessures superficielles ou de brûlures.

2-Souches antagonistes fongiques :

2-1-études du pouvoir antagoniste de *Trichoderma* :

Les résultats de l'effet antagoniste de *Trichoderma* avec *Verticillium dahliae* et *F.oxysporim* représenté dans le figure (22)et (23)

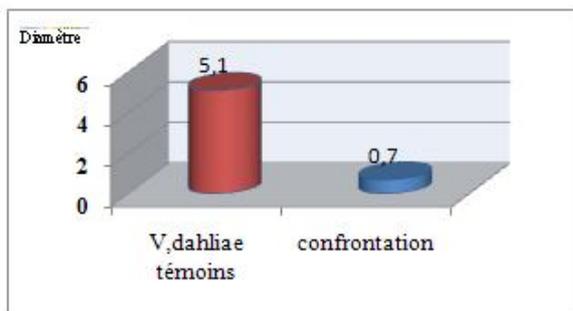


Figure 22: confrontation entre *V. dahliae* et *Trichoderma*

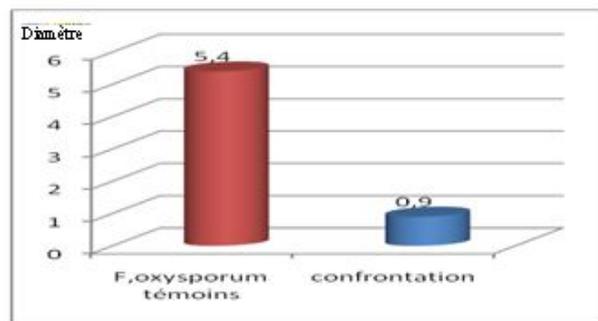


Figure 23: confrontation entre *F. oxysporum* et *Trichoderma*

Selon les diamètres de croissance de *Verticillium dahliae* témoin et en confrontation avec ceux de *Trichoderma*, ce dernier exerce une inhibition presque complète sur cet agent pathogène.

-Le champignon *Trichoderma harzianum* est un puissant antagoniste qui a été largement utilisé dans les programmes de lutte biologique contre les champignons phytopathogènes du sol. Effectivement, cet antagoniste s'est montré très efficace dans la lutte contre *Fusarium* (Essalmani & Lahlou, 2002), et *Verticillium* (Regragui & Lahlou, 2005).

Les modes d'action antagoniste de *Trichoderma harzianum* sont bien connus; compétition, mycoparasitisme, production de métabolites antifongiques, (Denis & Webster 1971 a et b ; Claydon et al., 1987) et d'enzymes cellulolytiques et chitinolytiques (Lorito et al., 1993). Par ailleurs, certaines souches de *Trichoderma* semblent exercer une action stimulatrice de la croissance des plantes en l'absence de tout agent pathogène (Windham et al., 1986 ;).

De même, ce champignon produit des antibiotiques tels que la dermadine, la penicilline, la trichothicine et les trichorzianines (Vial, 1989) et des enzymes, cellulases et chinases, qui dégradent les parois cellulaires des agents pathogènes (Lorito *et al.*, 1993). cet antagoniste potentiel est capable de produire des substances volatiles ayant un effet soit fongistatique tel que l'acétaldéhyde (Denis & Webster, 1971b) soit fongicide comme les alkyles pyrones (Claydon *et al.*, 1987).

2-3-Souches antagonistes bactériennes :

2-3-1-études du pouvoir antagoniste de *Bacillus* par la méthode de Co-culturing side by side.

Les résultats de l'effet antagoniste de *Bacillus* avec *Verticillium dahliae* et *F.oxysporum* représenté dans le figure (24)

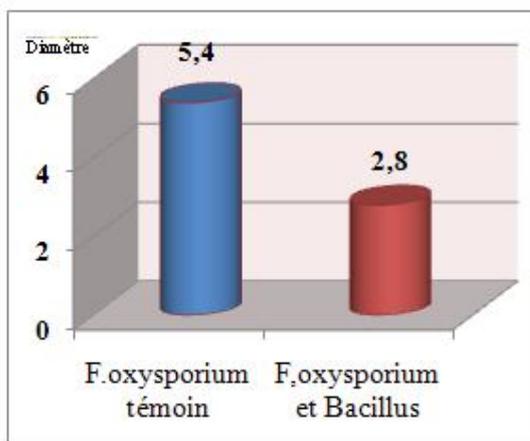


Figure 25: confrontation entre *F.oxysporum* et *Bacillus* .

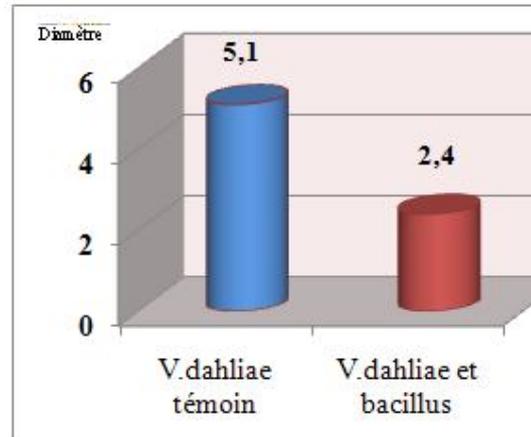


Figure 26:confrontation entre *V.dahliae* et *Bacillus*.

Le résultat montre que la souche de *Bacillus subtilis* inhibe la croissance de *verticilliumdahliae* avec un pourcentage de 54 ,9% et *F. oxysporium* avec un pourcentage de 47 ,05%.

L'utilisation de *Bacillus* a réduit considérablement la croissance de *Verticilliumdahliae*.

Le pouvoir antagoniste de cette bactérie a été signalé par Khodjibaeva *et al.*, 2008 sur le *Verticilliumdahliae* du cotonnier.

Selon Berg *et Ballin*, 2008, la capacité de *Bacillus subtilis* à inhiber la croissance de *Verticilliumdahliae* est due à des enzymes lytiques et sidérophores synthétisées dans le milieu capables de dégrader les hyphes du champignon.

Le pouvoir inhibiteurs des trois espèces : *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* et *Bacillus thuringiensis* sur *Fusariumoxysporum* a été signalé par El Hansi et al ,2007.

Nakova, 2003 a montré que des souches de *Bacillus* réduit la germination des microsclérotés de *Verticilliumdahliae* jusqu'à 50-60 %.

Des résultats ont été trouvés par Ramarathan et al, 2007, prouvant l'activité antagoniste de *Bacillus subtilis* sur la croissance de *Fusariumgraminearum*, en produisant la bacillomycine et la fengycine.

Il fait noté qu'il était difficile d'étudiée l'effet des deux souches *Entérobactérie* et *E. coli* sur la croissance des deux champignons à cause de contaminations.

1-l'effets des extraits phénolique de caroube sur le *V.dahliae* :

Tableau 01: pourcentage d'inhibition de *Verticilliumdahliae*.

Composes phénoliques	Tannins	Flavonoïdes	Poly phenoltotoux
V,D témoin	5,1	5,1	5,1
Diamétred' inhibition	2,6	3.8	1.4
PI %	49,01	74,5	

2-l'effets des extraits phénolique de caroube sur le *F.oxysporium* :

Tableau 02: pourcentage d'inhibition de *F.oxysporium*

Composes phénoliques	Tannins	Flavonoïdes	Poly phénols totaux
F.oxysporum témoin	5,4	5,4	5,4
Diamétred' inhibition	2,2	1.8	1
PI %	59,25	66,66	81,84

3- l'effet des extraits phénolique d'olivier sur le *V.dahliae* :

Tableau 03: pourcentage d'inhibition de *V.dahliae*.

Composes phénoliques	Tannins	Flavonoïdes	Poly phénols totaux
V,témoin	5,1	5,1	5,1
Diametred'inhibition	1,3	1,8	1,5
PI %	74.5	64.7	70.58

4-L'effet des extraits phénolique d'olivier sur le *F.oxysporum* :

Tableau 04: pourcentage d'inhibition de *F.oxysporum*

Composes phénoliques	Tannins	Flavonoïdes	Poly phénols totaux
<i>F.oxysporum</i> témoin	5,4	5,4	5,4
Diametred'inhibition	2,5	1,9	1,1
PI %	46.29	64.81	79.62

5-L'effet des extraits phénolique de grain de figuier de barbarie sur le *V.dahliae* :

Tableau 05:pourcentage d'inhibition de *V.dahliae*

Composes phénoliques	Tannins	Flavonoïdes	Poly phénols totaux
V,témoin	5,1	5,1	5,1
Diametred'inhibition	1,3	1,8	1,5
PI %	74.5	64.7	70.58

6-L'effet des extraits phénolique de grain de figuier de barbarie sur le *F,oxysporium* :

Tableau 06:pourcentage d'inhibition de *F,oxysporium*.

Composes phénoliques	Tannins	Flavonoïdes	Poly phénols totaux
<i>F,oxysporium</i> témoin	5,4	5,4	5,4
Diametre d'inhibition	2,3	2,5	2,7
PI %	57.4	53.7	50

Résumé

Les plantes font partie du vivant, elles respirent, se nourrissent, naissent et meurent. Les plantes sont, comme l'humain, composées de cellules. Les vecteurs de maladie, et la maladie elle-même ont les mêmes origines chez les plantes, que chez tout les autres être vivant: Les virus, les bactéries, les champignons, attaques de nuisible.

Vu le grand nombre de maladie possible chez les plantes, nous n'allons décrire que les plus connue ; Les maladies cryptogamiques, ou les maladies fongiques, ont des maladies causée à une plante par un champignon ou un autre organisme filamenteux parasite. Parmi ces maladies : la verticilliose et la fusariose.

La verticilliose, maladie vasculaire causée par un champignon tellurique appelé *Verticillium dahliae*. Constitue une menace sérieuse pour l'oléiculture en Algérie. Cette maladies risque de se propager rapidement en raison de la facilité de dissémination de l'agent pathogene et de sa longue survie dans le sol .Ce qui entraîne le dessèchement d'une partie de ses rameaux ou même de sa totalité puis flétrissements et des chloroses suivit de nécroses et de défoliation.

Fusariose, maladie vasculaire causée par un champignon d'origine tellurique *Fusarium oxysporum*, sont responsables de diverses maladies, la principale étant le flétrissement vasculaire caractérisée par un flétrissement des plantes dû à l'envahissement des vaisseaux du xylème par le pathogène.

Les extraits de trois plants : olivier, caroube et figuier de barbarie ont été testés sur la croissance de deux champignon :*Verticillium dahliae* et *Fusarium oxysporum*.les résultats ont montré .les polyphénols totaux de l'olivier et du caroube se sont les plus efficaces avec des taux d'inhibition 79.62 et 81.48.

Les résultats intéressent ont été obtenus avec les tannins d'olivier avec un pourcentage d'inhibition 74.5 sur *V.dahliae* et tannins les grains figuier de barbarie avec un pourcentage d'inhibition 74.5 sur *V.dahliae*.

les flavonoïdes sont montré efficace surtout ceux des grains du figuier et caroube avec des taux d'inhibition respectivement: 70.58 sur *V.dahliae*.et 66.66 sur *F.oxysporum* .

Les deux souches de *Trichoderma* et *Bacillus subtilis* utilisée ont réduit la croissance de *Verticillium dahliae* et *Fusarium oxysporum*, elles peuvent être utilisées dans la lutte biologique contre la verticilliose et fusariose.

Mots clés : *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporium* , extraits des plantes, microorganisme antagonistes.

- **Ait Chitt M., Belmir M. et Lazrak A., (2007)**, Production des plantes sélectionnées et greffées du caroubier. Transfert de technologie en Agriculture, N°153, IAV Rabat, pp.1-4
- **Albanell E., Caja G. and Plaixats J. (1991)**, Characterization of Spanish carob pod and nutritive value of carob kibbles, *Options Méditerranéennes* N°16, pp. 135- 136.
- **Amina Regragui,2005**, Contribution à l'étude de l'influence de la salinité sur le couple tomate –Verticillium : Conséquences physiologiques et impact sur la bioprotection des tomates contre la verticilliose, thèse de doctorat ;université de Mohamed 5 Rabat.pp :243-256.
- **-Anaissie, E. J., R. T. Kuchar, J. H. Rex, A. Francesconi, M. Kasai, F. M. C. Muller, M. Lozano-Chiu, R. C. Summerbell, M. C. Dignani, S. J. Chanock, and T. J. Walsh., , 2001** « Fusariosis associated with pathogenic Fusarium species colonization of a hospital water system: A new paradigm for the epidemiology of opportunistic mold infections. », dans *Clin Infect Dis.*, vol. 33 pages =1871-1878.
- **Antoine BLANCHARD & Flora LIMACHE, 2005**, Les stimulateurs des défenses naturelles des plantes (SDN). DAA Protection des plantes et environnement.
- **Avallone R, Plessi M., Baraldi M. and Monzani A. (1997)**, Determination of Chemical Composition of Carob (*Ceratonia siliqua*): Protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins, *Journal of food composition and analysis*, Vol.10, pp.166–172
- **Battle I., Tous J., (1997)**, Carob tree *Ceratonia siliqua* L., Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops., *Gatersleben: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Rome: International Plant Genetic Resources Institute* 17, pp. 92.
- **Bekkari A BEKKAR1 Ahmed Amine., ZAÏM1 S., BELABID1 L., BELLAHCENE2 M., LAZREG1 F., MALIK1 S.;2009**.Protection biologique des plantes contre les maladies fongiques par l'utilisation des microorganismes antagonistes.
- **Bellahcene M, Fortas .Z, BelabidL et Nicole4. M, 2002**, Importance et distribution de *Verticillium dahliae*, agent de la verticilliose de l'olivier en Algérie.*African journal of Biotechnology* vol4(9),pp :963-967.
- **Bengoechea B, A. Rome ro, A. Villanueva, G. Moreno, M. Alaiz, F. Millán, A. Gue rrero and M.C. Puppo, (2008)**, Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua* L.) germ proteins *Food Chemistry*, Vol. 107, N°2, pp. 675-683.

- **Ben Hsouna A., M. Trigui, S. Jaoua, (1986)**, Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of the ethyl acetate extract of endemic *Ceratonia siliqua* leaves
Journal of agricultural and food chemistry, vol. 34, N° 5, pp. 827-829.
- **BENYACOUB M., 1993**. Etude in vitro de l'antagonisme du *Stachybotris elegans* vis-à-vis du *Rhizoctonia solani* (GA3). Diplôme du grade Maître Es Sciences, Université Laval, 118p.
- **Berger C, 2012**, Olivier : insectes et maladies.
- **Berg G ,et Ballin G ,2008**. Bacterial antagonists to *verticillium dahliae* Kleb. Journal of phytopathology. 141(1) :99-110.
- **Berlanger, I. and M.L. Powelson. 2000**. Verticillium wilt. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-PHI-I-2000-0801-01.
- **Biaye Mamadou** ,these de doctora en pharmacie ,2002 ,action pharmacologique des tanins.
- **Blahovo E ,Brandsteterova E,Fabulova A,2004**. Isolation and determination of phenolic compounds of *Olea europea* : isolation of new tyrosol and hydroxytyrosol derivatives .Food Chemistry 95:562-565.
- **BOURBOS V.A. and SKOUDRIDAKIS M.T., 1996**. Solarization for the control of Verticillium wilt of greenhouse tomato. Phytoparasitica 24(4): 277-280.
- **Bouzid Nasraoui ,2006**. Les champignons parasites des plantes cultivées. Biologie, systématique, pathologie, maladies .Ed. centre de publication universitaire. Pp 79, 222, 286, 288, 289, 292.
- **Bouzouita N., A. Khaldi, S. Zgoulli, L. Chebil, R. Chekki, M.M. Chaabouni and P. Thonart, (2007)**, The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia Food Chemistry Vol. 101, N°4, pp. 1508-1515.
- **Bruneton J, 1999**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème Edition lavoisier, Paris : 1120.
- **Bruneton J, 1999**. Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. 4e Ed. Éditions médicales.

- **-Bulit, J.; Bouhot, D.; Louvet, J.; Toutain, G. (1967)** Recherches sur les fusarioses. I. Travaux sur le bayoudh fusariose vasculaire du palmier dattier en Afrique du Nord. *Annales des Epiphyties* 18, 213-239.
- **Celimene (C.C.), Micales (J.A.), Ferge (L.), Young (R.A.)** – Efficacy of pinosylvins against white-rot and brown-rot fungi. - *Holzforschung*, **1999**, 53(5), 491-497.
- **Chen, G.-H., J. L. Curtis, C. H. Mody, P. J. Christensen, L. R. Armstrong, and G. B. Toews.** 1994. Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on rat alveolar macrophage anticryptococcal activity in vitro. *J. Immunol.* **152**:724–734.
- **CLAYDON, MN., M. ALLAN, J.R. HANSON and A.G. AVENT, 1987.** Antifungal alkyl pyrones of *Trichoderma harzianum*. *Transactions of the British Mycological Society*, 88: 505-513.
- **Cowan (M.M.)** - Plant products as antimicrobial agents. - *Clin. Microbiol. Rev.*, **1999**, 12(4), 564-582.
- **DATNOFF, LE., S. NEMEC and K. PERNEZNY, 1995.** Biological Control of *Fusarium Crown and Root Rot* of Tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. *Biological Control* , 5: 427-431.
- **Davet P,1979** .Activité antagoniste et sensibilité aux pesticides de quelque champignons associées aux sclérotés du ‘*Sclerotinia minor* jugger .*Ann.Phytopathol.* 11(1) : 53-60.
- **DENNIS, C. & WEBSTER, J., (1971) a.** Antagonistic properties of species-group of *Trichoderma*.I. Production of non volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57, 25-39.
- **DENNIS, C., & WEBSTER, J., (1971) b.** Antagonistic properties of species-group of *Trichoderma*.II. Production of volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57, 41-48.
- **D’ERCOLE, N., P. NIPOTI, L. DI PILLO and F. GAVINA, 2000.** In vitro and in vivo Tests of *Trichoderma* spp. As a Biocontrol Agent of *Verticillium dahliae* kleb. In Eggplants. In : *Advances in Verticillium Research and Disease Management*, APS Press, pp: 260-263.
- **Diabaté S., Aké S., Kouamé K. R., Coulibaly O. A., N’guessan W. P. 2010.** Phenolic diversity in the defense reaction of oil palm against vascular wilt disease.*Agric.biol.J.N.Am.*1 (3) : 407-415.

- **DJENANE D, Yanguela G, Derriche F, Boiarab L, Roncales P, 2011**, Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. Paris, 2006, 300-398.
- **-Djerbi, M., 1982 a.** Le Bayoud en Algérie, Problème et Solution. F.A.O. Regional Projet for palm and Dates Research centre in the Near East and North. Africa, Baghdad Iraq, 45 .
- **Djerbi, M., 1982 b.** Bayoud disease in North Africa: history, distribution, diagnosis and control. Date palm Journal, 1 (2): 153-97.
- **DSA : les prévisions de la direction des services agricoles, 2011.**
- **Eastburn D, and Gubler,W . , 1992**, Effects of soil moisture and temperature on the survival of colletotrichum acutatum.plant Dis 76:841-842.
- **El Hassni M,El Hadrami A,Daayf F,Cherif M,Ait Barka, El Hadrami I,2007.**Biological control of bayoud disease in date palm:selection of microorganisms inhibiting the causal agent and inducing defense reaction.Environmental and Experimental Botany.59:225-230.
- **El Modafar C,El Boustani E ,Bouloyha B,2005.**Roles des polyphénols de l'olivier dans la défense viv-à-vis de Verticillium dahliae.Reponses des plantes aux stresses biotique :43.
- **El Modafar C; El Boustani E , Aganchich B, Rahioui B , Boulouha B ; 2002 ,** mécanismes biochimique impliqués dans la défense de l' olivier vis-à-vis de la verticilliose . thèse de doctorat ;université de Mohamed 5 Rabat.pp :296-312.
- **ERWIN D.C., 1981.** Chemical control in; Fungal disease of Plants. (Ed. M.E. Mace, AA. Bell and C.H. Beckman), pp563-594. Academic Press, NY.
- **Fradin (E.F.), Thomma (B.P.H.J.) -** Physiology and molecular aspects of Verticillium wilt diseases caused by V. dahliae and V. albo-atrum. - Mol. Plant Pathol., **2006**, 7(2), 71- 86.
- **Harborne JB.** Recent advances in chemical ecology. Nat. Prod. Rep. **1989**, 25 (7): 85-109.

- **Haslam E.** Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.* **1994**, 11: 41-66.
- **Hariri A, N.Ouis, Sahnouni F et D.Bouhadi (2009)**, mise en oeuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux a base des extraits de caroube, *rev. microbiol. ind. san et environn.* pp. 37-55.
- **Heffer, V. and R. Regan. 1995.** Verticilliumwilt of ash. *The Digger.* June: 48-49
- **Isaac, I. 1967.** Speciation in Verticillium. *Annual Review of Phytopathology* 5: 201-222.
- **INPV, 2009,** Le traitement d'hiver des arbres fruites et de la vigne.
- **Jouffret, J.P. Palleau; Coll. : F.Duroueix, A.Estragnat, V.Lecomte, E.Mestries, A.Penaud, C.Vogrincic, 26 octobre 2011,** Verticillium : une maladie très présente en 2011 dans Sud-ouest .
- **Khodjibaeva S ,Zolotilina G,Tashpulatov J,2008.**Microbial antagonists of Verticillium dahlia colonize cotton root system.*American Phytopathological Society*:579.
- **Klenow S. and Glei M. (2009),** New insight into the influence of carob extract and gallic acid on hemin induced modulation of HT29 cell growth parameters,. *Toxicology in Vitro*, Vol. 23, N° 6, pp. 1055-1061.
- **-Kochman, J.K., L.J. Swan, W. O'Neill and S. Bentley. 2003.** Detection, persistence and control of Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum in cotton seed in Australia. p. 185-190. In *Proc. Beltwide Cotton Conf.*, 6-10 Jan. 2003.
- **Levin AG, Lavee S, Tsrur (Lahkim) L (2003b)** Epidemiology and effects of Verticillium wilt on yield of olive trees (cvs. Barnea and Sour) irrigated with saline water in Israel. *Phytoparasitica* 31:333–343
- **LORITO, M., G.E. HARMAN, C.K. HAYES, R.M. BROADWAY, A. TRONSMO, S.L. WOO and A. DI PIETRO, 1993.** Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*: antifungal activity of purified endochitinase and chitinobiosidase. *Phytopathology*, 83(3): 302-307.
- **-Louvet, J.; Bulit, J.; Toutain, G.; Rieuf, P. (1970)** Le bayoudh, fusariose vasculaire du palmier dattier, symptômes et nature de la maladie, moyens de lutte. *Al-Awamia* 35, 161-182.
- **Maas, J.L. 1998.** *Compendium of Strawberry Diseases.* Second Edition. APS Press, St. Paul, MN, USA.

- **Martin, F.N. 2003.** Development of alternative strategies for management of soilborne pathogens currently controlled with methyl bromide. *Annual Review of Phytopathology* 41: 325-350.
- **Messiaen C.M. et Cassini R., (1968).** Recherches sur les Fusarium, La systématique des Fusarium, tome 19, p.396-454.
- **Misirli, A., Kuden, A., Demir, G., Gulcan, R. (2001)** GREMPA Seminar on pistachios and almonds = 11ème Colloque du GREMPA sur le pistachier et l'amandier. Zaragoza: CIHEAM-IAMZ 71-86.
- **Mohamed Kerbaoua, 2008,** L'intensification de L'oleiculture en Algérie.
- **Mohamed Fawzy Ramadan., 2003 .** *Oil cactus pear Opuntia ficus-indica L.* Université Mohammed V–Agdal, Faculté des Sciences, Département de Biologie, B.P. 1014 R.P.,Rabat, 29 :11-20.
- **Mukesh Nandave, S K Ojha and D S Arya, 2005,** protective role of flavonoids in cardiovascular diseases.
- **Naczki, M., &Shahidi, F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95–111.
- **Nakova M.B,2003.** Verticillium wilt on cotton Ecological disease management possibilities. *Journal of environmental protection and ecology* .Vol 4(1) :70-77.
- **-Pereau-Leroy, P., 1958.** Le Palmier dattier au Maroc. Min .Agric. Maroc, Service. Rech. Agron. et Inst Français Rech. Fruit Outre Mer, (I.F.A.C), 142 p.
- **-Prandini A, Sigolo S, Filippi L, Battilani P, Piva G, 2009.** Review of predictive models for Fusarium head blight and related mycotoxin contamination in wheat. *Food and Chemical Toxicology* 47(5), 927–931.
- **PAN Pesticides Database,** <http://www.pesticideinfo.org>. Page consultée le 22 février 2008.
- **Pawlowska AM, De Leo M, Braca A. Phenolics of Arbutus unedo L. (Ericaceae) fruits:** procyanidins of an Uncaria sp. from Peru. *Farmaco. Sci.* 1976, 31: 5227-35.
- **PULLMAN G.S. and DEVAY J.E., 1981.** Effect of soil flooding and paddy rice culture on the survival of verticillium dahliae and incidence of Verticillium wilt in cotton. *Phytopathology*, 71:1285-1289.
- **Que zel P. et S. Santa (1963),** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques

- méridionales (tome1), Editions du centre national de la recherches scientifique, pp.557.
- **Oued zenati., Dr.Kaddem Salah eddine.,1990.**Les plantes médicinales en Algérie , 3^{ème} édition page : 73.
 - **Rahmani M ,1999** ,Influence des ravageurs et des maladies de l' Olivier sur la qualite des huiles d' Olivier vierges .Institut agronomique et vétérinaire Hassan,pp :62-66.
 - **Ramarathnam R,Shen B, Chen W.G ,Dilantha F,Gao X,Teresa K,2007.**Molecular and biochemical detection of fengycin and bacillomycin D-producing *Bacillus* sp ,antagonistic to fungal pathogens of canola and whrat .Can J.Microbiol.53(7):901-911.
 - **Rebour H. (1968)**, fruits Méditerranéen.La maison rustique Paris, 330pp.
 - **REGRAGUI A. and LAHLOU H., 2005.** Effect of Salinity on in vitro *Trichoderma harzianum* Antagonism against *Verticillium dahliae*. Pakistan Journal of Biological Sciences 8 (6):872-876.
 - **Resende MLV, Flood J, Ramsden JD, Rowan MG, Beale MH, Cooper RM. 1996;**Novel phytoalexins including elemental sulphur in the resistance of cocoa (*Theobroma cacao* L.) to verticillium wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.) *Physiol Mol Plant Pathol.* 48:347–359.
 - **-Ritz C.M., Reiker J.,Charles G.,Hoxey P.,Hunt D.,Lowry M., Stuppy W.,Taylor N., 2012 .** Molecular phylogeny and character evolution in terete-stemmed Andean *Opuntias* Cactaceae Opuntioideae, 65 :668-681.
 - **Sarni-Manchado P, Cheynier V.** Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier .
 - **Sbay H. et M. Abourouh, (2006).** Apport des espèces à usages multiples pour le développement durable : cas du pin pignon et du caroubier, Centre de Recherche Forestière Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification, Rabat, pp.1-9
 - **-Sedra, My.H., 1995.** Problèmes phytosanitaires du palmier dattier en Mauritanie et propositions de moyens de lutte. Rapport de mission d'expertise effectuée en Mauritanie du 8 au 16 juin 1995. Réseau de recherche & développement du palmier dattier (BI, FIAD, FADES, ACSAD /Syrie.
 - **-Sedra, My.H., 1996.** Résultats de prospections effectuées dans la vallée Ait Mansour (Région de Tiznint-Taфраoute au sud du Maroc). Rapport de mission, INRA-Maroc.
 - **-Sedra, My.H. 1999a.** Identification et caractérisation des cultivars du palmier dattier en Mauritanie. Rapport de mission de consultation d'expert, 30/6/99-23/7/99, OADA.

- **-Sedra, My.H., 1999b.** Prospection et importance du bayoud en Mauritanie et action urgentes à prendre pour lutter contre la maladie. Rapport de mission de consultation FAO effectuée du 19/10/99 au 18/11/99 en République Islamique de Mauritanie et proposition de projet de lutte contre le bayoud dans ce pays. Projet de Développement des oasis, phase IIFAO/UFT/MAU/020/MAU'.
- **-Sedra, My.H. 2003.** Le bayoud du palmier dattier en Afrique du nord, FAO, RNE/SNEA-Tunis. Edition FAO sur la protection des plantes. Imprimerie Signes, Tunis, Tunisie, 125p.
- **Shohaib.T, M.Shafique, Dhanya.N, Madhu.C.Divakar ;2011,**importance of flavonoïdes in therapeutics ,Hygeia.J.D.Med.vol.3 (1), 2011, pp.1-18.
- **Singh, Gurbachan and Felker Peter. 1998.** Cactus: new world foods. *IndianFarming*. April-June, 26-31.
- **Sreenivasulu N., Grimm B., Wobus U., Weschke W.(2000):**Differentialresponse of antioxidant compoundsto salinity stress in salt-tolerant and saltsensitiveseedlings of foxtail millet (*Setariaitalica*).*Physiol. Plant.*, 109: 435–441.
- **Thomas V., Metha A.R. (1983),** Effect of phloroglucinol on shoot growth and initiation of roots in carob tree cultures grown in vitro., In Sen S.K., Giles K.L., (Eds.) Proc. Int. Plant Cell Cult. Crop Improvement, Calcutta India. New York and London. Plenum Press, pp. 451-457.
 - **-Toutain, G, 1965.** Note sur l'épidémiologie du Bayoud en Afrique du Nord. *Al awamia*, 15 : 37-45.
- **Tucker S. C. (1992).** The developmental basis for sexual expression in *Ceratonia siliqua* (Leguminosae:Cesalpinoideae: Cassieae), *Am. J. Bot.* Vol.79, N°3, pp. 367-327
- **VIAL, L., (1989).** Critères de qualité de la production d'un biopesticide à base de *Trichoderma harzianum* RIFAI. Mémoire. Ecole Nationale des Ingénieurs des Travaux Agricoles, Bordeaux .
- **-Wallace R. S., S. L. Dickie., 1997.** Systematic implications of chloroplast DNA sequences variation in the Opuntioideae. In D. R. Hunt and N. P. Taylor [eds.], *Studies in the Opuntioideae (Cactaceae)*, David Hunt, The Manse, Chapel Lane, Milborne Port Sherborne, UK: 9–24.
- **Walali.L.D, Prof.A.Skiredj et Prof.H.Elattir, 2003,** institut agronomique et vétérinaire Hassan 2, Rabat.

Windels CE (2000) , Infection patterns in barley and wheatspikes inoculated with wild-type and trichodienesynthase gene disrupted *Fusarium graminearum*. *Phytopathology* 90, 17-21.

- **WINDHAM, MT., Y.ELAD, R.A. BAKER, 1986.** Mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 76 (5): 518-521 .
- **WYMORE L.A. and BAKER R., 1982.** Factors affecting cross protection in control of Fusarium wilt of tomato. *Plant Disease*, 66(10): 908-910.
- **Xiao, C. L., K. V. Subbarao, K. F. Schulbach, and S. T. Koike. 1998.** Effects of crop rotation and irrigation on *Verticilliumdahliaemicrosclerotia* in soil and wilt in cauliflower. *Phytopathology* 88:1046-1055.
- **-Xu XM, Nicholson P, Ritieni A, 2007a.** Effects of fungal interactions among Fusarium head blight pathogens on disease development and mycotoxin accumulation. *International Journal of Food Microbiology* **119**, 67-71.
- **Yvette LAZZERI, 2009** , les defis de la mondialisation pour l'oléiculture mediterrannee.Lettre de veille du Chiheam 16,pp :8-10.
- **Zahour A, 1992:** Elément d'amélioration génétique des plantes Ed. Actes, 223p.