

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE BLIDA -1-



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE DES POPULATIONS ET DES  
ORGANISMES

Mémoire de Fin d'Etudes vue de l'obtention du diplôme de  
MASTER  
En Sciences Biologiques

*Option : génomique et Biotechnologie Végétale*

*Thème*

---

**Induction des composés phénoliques associés à la paroi cellulaire,  
des lignines et des enzymes de défense dans les racines de palmier  
dattier (*Phoenix dactylifera* L.) inoculées par *Fusarium  
oxysporum f. sp. albedinis*.**

---

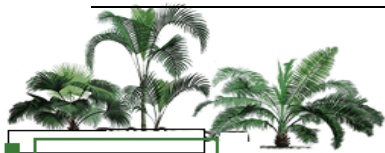
**Présenté par: BENHAMED MOHAMED HABIB**

Devant le jury composé de:

Mme FAIDI .H.	MAB	Université Blida 1	Présidente
Mme BOUCENNA-MOUZALI.B.	MAA	USTHB (Alger)	Promotrice
Mme ZERKAOUI .A.	MAA	Université Blida 1	Examinatrice

---

Universitaire : 2015-2016



# *Remerciement*

En premier lieu, je remercie DIEU le tout puissant de m'avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce projet.

Je souhaiterais adresser mes sincères remerciements à ma promotrice Mme BOUCENNA-MOUZALI B. Pour son aide, ses conseils prodigués tout au long de ce travail et pour ses qualités pédagogiques et scientifiques.

Je remercie Mme RAHMANIA Fatma Professeur à la Faculté des Sciences Biologiques (USTHB), qui a bien voulu nous accueillir au sein de son équipe au laboratoire de Recherche sur les Zones Arides (LRZA).

Je remercie chaleureusement Madame FAIDI H. qui m'a honoré en présidant ce jury, qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect.

Madame ZERKAOUI A. a bien voulu faire partie de ce jury, je lui témoigne toute ma gratitude. Ses critiques et ses remarques me seront d'une grande utilité.

Je tiens également à remercier Madame Ayadi chef d'option.

Je remercie mes professeurs qui m'ont fourni les outils nécessaires à la réussite dans mes études.

Enfin, mes profonds remerciements à tous ceux qui m'ont soutenu pendant la réalisation de ce projet.

# Dédicace

Je dédie ce travail à :

Ma chère \*MANI\* (رحمة الله عليها)

Mes grands-parents, Ma chère sœur \*asma\*

Mes tantes \*khemisa\*fatma\* رحمة الله عليهم جميعا

Mon grand-père أطال الله في عمره

Ma très chère mère pour son soutien, patience, encouragements et son amour.

Mon cher père pour les sacrifices qu'il a consentis pour mon éducation et ma formation.

Mes chers frères (Abdallah et Abdelkader) et sœurs (Messaouda, Khadija et Soumia) sans oublier ma petite chère \*Amoula\*.

Mme BOUCENNA-MOUZALI B. et toute sa famille.

Tous les membres de ma famille : tantes, oncles, cousins maternels et paternelles.

Mme la pharmacienne LANGOEUR.K. qui m'a encouragé et conseillé.

Mme la pharmacienne Manni .Y. qui m'a encouragé et conseillé.

Mes chers amis et camarades.

Tous mes enseignants.

*Benhamed M<sup>et</sup>. H.*

## Résumé

Ce mémoire de fin d'études propose l'Induction des composés phénoliques associés à la paroi cellulaire, des lignines et des enzymes de défense dans les racines de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) Inoculées par *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*.

Nous donnons la définition : des palmiers dattiers qui sont des ensembles essentiels de de l'écosystème oasien dans les régions sahariennes et présahariennes et qui comporte plusieurs variété (cultivars) . Les palmeraies sont menacées par plusieurs maladies, la plus redoutable étant la fusariose vasculaire appelée localement bayoud causée par un champignon tellurique dénommé : *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* et la différence entre ces types: sensible (ex degletNour) et résistant (ex : Takerbucht )

Pour cela nous avons fait des expériences, qui nous a permis d'avancer d'importantes connaissances dans la différence entre cultivars par leur contenu moléculaire, et une meilleure connaissance des mécanismes de résistance (constitutifs ou induits) par installations de barrières physiques (lignine), et chimiques (composés phénoliques).

## Abstract

This graduation proposes Induction phenolic compounds associated with the cell wall, lignin and defense enzymes in roots date palm (*Phoenix dactylifera L.*) Inoculated with *Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis*.

We give the definition of: date palms which are essential sets of the oasis ecosystem in the Saharan and pre-Saharan regions and comprises several variety (cultivar). The palm groves are threatened by several diseases, the most formidable being locally called fusarium wilt bayoud caused by a soil fungus called *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* and difference between these types: sensitive (eg DegletNour) and durable (eg: Takerbucht).

For this we have done experiments which allowed us to advance important knowledge in the difference between cultivars in their molecular content, and better knowledge of resistance mechanisms (constitutive or induced) by physical barriers facilities (lignin) and chemical (phenolic compounds).

## ملخص

أشجار نخيل التمر (*Phoenix dactylifera L.*) هي مجموعات أساسية من النظام البيئي فيالصحراء والمناطقشبه الصحراوية تضم عدة أصناف.تتعرضبساتين النخيل من قبل العديد من الأمراض حيث يعد مرض البيوض (*Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis*) من أخطر أمراض نخيل التمر في العالم , إلا هناك أصناف حساسة (مثل دقلة نور) و مقاومة (مثل تكربوشة)

لغرض فهم آلية دفاع شجر النخيل ضد هذا المرض قمنا بإجراء عدة تجارب التي سمحت لنا للمضي قدما لمعرفة الفرق بينالصنفين فيمهمة الدفاع ضد هذا المرضفي مضمونها الجزئي،ومعرفة أفضل آليات المقاومة من خلال مرافق الحواجز المادية (اللجنين)والكيميائية (المركبات الفينولية).

# SOMMAIRE

Remerciement

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....E

rror! Bookmark not defined.

## Chapitre 1. GENERALITES

### I. LE PALMIER

DATTIER.....Error! Bookmark not defined.

I.1. Historique.....Error! Bookmark not defined.

I.2. Taxonomie.....Error! Bookmark not defined.

I.3. Classificaion.....Error! Bookmark not defined.

I.4. Origine et répartition géographique.....Error! Bookmark not defined.

I.5. Morphologie du palmier dattier.....Error! Bookmark not defined.

I.5.1. Au stade plantule (Fig.1).....Error! Bookmark not defined.

I.5.2. Au stade adulte (Fig.2).....Error! Bookmark not defined.

I.6. Culture.....Error! Bookmark not defined.

I.7. Caractéristiques des cultivars : « Deglet-Nour » et Takerbucht » ..... Error! Bookmark not defined.

I.7.1. Deglet-Nour (DN).....Error! Bookmark not defined.

I.7.2. Takerbucht (TK).....Error! Bookmark not defined.

### II. LA FUSARIOSE VASCULAIRE

.....Error! Bookmark not defined.

II.1. Symptômes de la maladie :.....Error! Bookmark not defined.

II. 2. Agent causal.....Error! Bookmark not defined.

II.2.1. Position systématique.....Error! Bookmark not defined.

II.2.2. Mode de pénétration du champignon :.....Error! Bookmark not defined.

II.3. Lutte.....Error! Bookmark not defined.

II.3.1. Eradication.....Error! Bookmark not defined.

II.3.2. utilisation des variétés résistantes.....Error! Bookmark not defined.

### III. MECANISMES DE

DEFENSE.....Error! Bookmark not defined.

<b><u>III.1. La paroi cellulaire végétale (Fig.7)</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.1.1 Composition chimique de la paroi cellulaire :</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.1.2. La paroi primaire :</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.1.3. La paroi secondaire :</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.1.4. Rôle de la paroi cellulaire :</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.2. Les composés phénoliques</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.2.1. Classification</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.2.2. Rôles</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.3. Les lignines</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.3.1. Définition</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.3.2. Structure :</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.3.3. Biogenèse :</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.3.4. Rôle des lignines</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.4. Les peroxydases</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>III.4.1. Rôle des Peroxydase dans la défense des plantes</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.

## Chapitre 2. MATERIELS ET METHODES

**I. Matériels**.....Err  
or! Bookmark not defined.

<b><u>I.1. Matériel végétal</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>I.2. Matériel fongique</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.

## **II.**

**Méthodes**.....Error!  
Bookmark not defined.

<b><u>II.1. Obtention des plantules de palmier dattier</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>II.2. Obtention de l'inoculum</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>II.2.1. Préparation du milieu de croissance PDA</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>II.2.2. Ensemencement de la souche sur milieu PDA</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>II.2.3. Préparation de l'inoculum</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>II.3. Inoculation des plantules</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>II.4. Dosages biochimiques</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>II.4.1. Extraction et dosage des composés phénoliques pariétaux</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>II.4.3. Extraction et dosage des lignines :</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>II.4.4. Dosage enzymatique :</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b><u>II.5. Dosage des protéines :</u></b> .....	Error! Bookmark not defined.

## **Chapitre 3. RESULTATS ET DISCUSSION**

### **I. INTERPRETATION DES**

**RESULTATS.....Error! Bookmark not defined.**

**I.1. Observation des symptômes du bayoud sur les plantules inoculées..... Error! Bookmark not defined.**

**I.2. Dosages biochimiques .....Error! Bookmark not defined.**

**I.2.1. Quantification des composés phénoliques liés à la paroi....Error! Bookmark not defined.**

**I.2.2. Quantification des lignines .....Error! Bookmark not defined.**

**I.2.3. Dosage de la gaïacol peroxydase [POX : E.C. 1.11.1.7] .....Error! Bookmark not defined.**

### **II.**

**DISCUSSION.....Error!**

**Bookmark not defined.**

**II.1.Les composés phénoliques pariétaux.....Error! Bookmark not defined.**

**II.2.Lignine.....Error! Bookmark not defined.**

**II.3.L'activité de la Gaïacol Peroxydase.....Error! Bookmark not defined.**

**CONCLUSION.....Err**

**or! Bookmark not defined.**

### **REFERENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES.....Error! Bookmark not defined.**



## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Fig.1	Morphologie externe d'une plantule de palmier dattier ( <i>Phoenix dactylifera</i> L., issue de semis, au stade physiologique 3 feuilles.	<b>3</b>
Fig.2	Représentation schématique du palmier dattier.	<b>5</b>
Fig.3	Situation épidémiologiques du Bayoud du palmier dattier.	<b>6</b>
Fig.4	Symptômes externes du Bayoud sur cultivar sensible dans une palmeraie à Adrar.	<b>7</b>
Fig.5	Les différents types de spores produites par <i>Fusariumoxysporum f..s.palbedinis</i> .	<b>8</b>
Fig.6	Récapitulation des différents mécanismes de défense chez les plantes supérieures.	<b>9</b>
Fig.7	Paroi d'une cellule végétale d'une racine de bois.	<b>10</b>
Fig.8	Les trois principaux monomères naturels de lignines.	<b>13</b>
Fig.9	Schéma de la biosynthèse des lignines.	<b>14</b>
Fig.10	Formule générale de la lignine après polymérisation des monomères.	<b>15</b>
Fig.11	Grainesprégermées de palmier dattier, cultivar Takerbucht.	<b>17</b>
Fig.12	A: Culture de <i>Fusarium oxysporum f. sp.albedinis</i> ( <i>F.o.a</i> ) sur milieu PDA.B : microconidies de <i>F.o.a</i> au microscope photonique (Gx400).	<b>18</b>

Fig.13	Quelques étapes expérimentales. A : inoculation des plantules de palmier par injection, B et C : extraction à froid et dosage de l'activité peroxydasique, D, E et F : quelques étapes de l'extraction des lignines.	22
Fig.14	Symptômes du bayoud sur les plantules de palmier dattier du cultivar sensible Deglet nour.	23
Fig.15	Evolution de la teneur en composés phénoliques liés à la paroi dans les extraits de la paroi cellulaire des racines inoculées et témoins du cultivar sensible.	25
Fig.16	Evolution de la teneur en composés phénoliques liés à la paroi dans les extraits de la paroi cellulaire des racines inoculées et témoins du cultivar résistant.	25
Fig.17	Evolution de la teneur en lignines dans les extraits de la paroi cellulaire des racines inoculées et témoins du cultivar sensible.	26
Fig.18	Evolution de la teneur en lignines dans les extraits de la paroi cellulaire des racines inoculées et témoins du cultivar résistant.	27
Fig.19	Activité enzymatique gaïacol peroxydase des racines inoculées et témoins du cultivar sensible (DN).	28
Fig.20	Activité enzymatique gaïacol peroxydase des racines inoculées et témoins du cultivar résistant (TK).	29
Fig.21	Schéma des liaisons possibles (directes et par les composés phénoliques entre les polysaccharides pariétaux et la lignine).	30

### Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
<b>Tab.1</b>	Classification simplifiée des composés phénoliques	12
<b>Tab.2</b>	Teneurs en composés phénoliques liés à la paroi des cellules des racines inoculées et témoins des deux cultivars DN et TK.	24
<b>Tab.3</b>	Teneurs en lignines des parois cellulaires des racines inoculées et témoins des deux cultivars DN et TK.	26
<b>Tab.4</b>	Activité enzymatique gaïacol peroxydase en $\text{nmole min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ de protéines la paroi des cellules des racines inoculées et témoins des deux cultivars DN et TK.	28



## Introduction

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est l'élément essentiel de l'écosystème oasien dans les régions sahariennes et présahariennes. Cette espèce fruitière est connue pour sa tolérance aux conditions climatiques d'aridité extrême (Munier 1973). Cette espèce joue à la fois un rôle économique grâce à la production de dattes qui constitue la base de l'alimentation humaine et animale et assure par sa frondaison un recouvrement qui crée un climat favorable à la culture sous-jacente (arbres fruitiers, légumes et autres cultures vivrières).

Malheureusement, les palmeraies sont menacées par plusieurs maladies, la plus redoutable étant la fusariose vasculaire appelée localement bayoud causée par un champignon tellurique dénommé : *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* (Killian et Maire), qui pénètre dans les tissus xylèmes provoquant un dessèchement puis un dépérissement rapide, suivi de la mort chez les cultivars sensibles. En effet, le palmier dattier comporte plusieurs variétés (cultivars) très inégales par leur valeur économique. Quelques unes sont résistantes au Bayoud, c'est le cas en Algérie de la seule variété Takerbucht. Quant à la qualité des produits (datte) la meilleure variété Algérienne Deglet-nour est la plus sensible au bayoud.

Pour élucider la différence de comportement des cultivars vis-à-vis de l'infection par le champignon, plusieurs études cytologiques, histologiques et biochimiques, ont été entreprises par plusieurs chercheurs. Cependant, on ne connaît pas le mécanisme de résistances et toutes les recherches effectuées ne sont qu'au stade d'hypothèses. La résistance anatomique, la formation des papilles, la lignification des tissus corticaux, l'épaississement des parois et l'induction du métabolisme des phénylpropanoïdes sont des aspects de la résistance polygénique (Belarbi, 1986; El Modafar, 2010).

Lors d'une infection par un agent pathogène la plante va se défendre en augmentant la résistance mécanique de ses parois cellulaires grâce au dépôt de polymères tels que la lignine, l'accumulation de protéines de défense notamment des protéines PR (Pathogenesis-Related) et la synthèse de composés phénoliques. La paroi cellulaire constitue une barrière physique naturelle très efficace face aux agresseurs qui synthétisent des enzymes capables de la dégrader.

Dans le cadre d'un projet de recherche, L'un des objectifs de nos travaux vise à la compréhension des mécanismes régissant la relation entre le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) et l'agent causal du bayoud, *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (*F.o.a*).

Dans ce contexte, nous nous intéressons dans le présent travail à l'induction des composés phénoliques associés à la paroi cellulaire, des lignines et d'une enzyme, la guaiacol-peroxydase (GPX) et ce lors du processus infectieux.

Notre étude portera sur les racines de palmier dattier témoins et inoculées appartenant à deux cultivars Deglet-nour « sensible » et Takerbucht « résistante ».

# *Chapitre 1*

## ***GENERALITES***

## I. LE PALMIER DATTIER

### I.1. Historique

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est exploité puis cultivé depuis plusieurs millénaires au Moyen orient et dans le nord de l'Afrique (Munier 1973, Barrow 1998, Zohary *et al.* 2012). Connus depuis l'antiquité, il était considéré par les égyptiens comme un symbole de fertilité, utilisé par les grecs et les latins comme ornement lors des célébrations triomphales.

### I.2. Taxonomie

Le palmier dattier est dénommé *Phoenix dactylifera* L. par Linné en 1734. *Phoenix* dérive du mot phœnix nom de dattier chez les grecs qui le considéraient comme l'arbre des phéniciens, *dactylifera* vient du latin dactylus dérivant du grec daktulos qui signifie doigt en raison de la forme des fruits (Munier, 1973).

### I.3. Classification

La classification des plantes à fleurs revue par Cronquist (1991) établit pour le palmier dattier, l'ordre hiérarchique suivant :

Domaine : Eucaryotes  
Règne : *Plantae*  
Sous-règne: *Tracheobionta* / Trachéophytes  
Division : *Magnoliophyta* / Angiospermes  
Classe : *Liliopsida* / Monocots / Monocotylédones  
Sous-classe : *Arecidae*  
Ordre : *Arecales*  
Famille : *Arecaceae* / *Palmae*  
Sous-famille : *Coryphoideae*  
Genre et espèce : *Phoenix dactylifera* Linné (1753)

### I.4. Origine et répartition géographique

L'origine du dattier cultivé serait située dans l'ouest de l'Inde ou dans la région du golfe Persique.

L'aire de répartition du palmier dattier couvre les cinq continents. Primitivement, le palmier dattier était cultivé dans les zones arides et semi-arides du continent africain. Il fut propagé par la suite en dehors de ces aires, comme arbre fruitier et/ou d'ornement. Il fut introduit avant le XV<sup>ème</sup> siècle sur les côtes de l'Afrique orientale, au XVI<sup>ème</sup> siècle dans le continent américain, au XVII<sup>ème</sup> et XVIII<sup>ème</sup> siècle aux îles Comores, à Madagascar, au XIX<sup>ème</sup> siècle en Australie, et enfin en Afrique du sud.

Riche de plus de 940 cultivars, le palmier dattier retrouve en Algérie un climat saharien et présaharien favorable pour son développement et pour la maturité de ses fruits. Ainsi la culture du palmier dattier s'étend sur une surface de 100 000 hectares, en particulier au sud ouest, la Saoura: Béni Abbés, le Touat: Adrar, le Gourara: Timimoune, le Tidikelt: Reggane, le zibans: Biskra et le M'Zab:Ghardaïa (Belguedj, 2002)

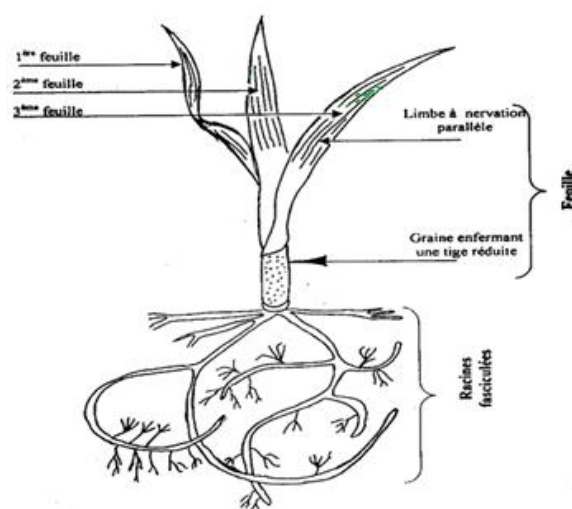
La production de dattes en Algérie varie chaque année en corrélation avec les aléas climatiques, les pratiques culturales et la région de culture. Elle a été estimée à plus de 848 000 Tonnes en 2013 (FAOSTAT, 2014).

### I.5.Morphologie du palmier dattier

Le palmier dattier est une monocotylédone arborescente et dioïque,sa morphologie change pendant son développement du stade plantule à l'âge adulte.

#### I.5.1. Au stade plantule (Fig.1)

Après germination la graine se développe pour donner une plantule dressé et autotrophe présentant une feuille cotylédonaire. A l'âge de six mois, elle présente 3 à 4 feuilles de 8 à 12 cm de long à limbe chlorophyllien émergées du méristème apical, la gaine de couleur blanche située à la base des feuilles entoure une tige réduite de 2 à 3 mm de haut qui est l'axe de la plantule. La tige aplatie se termine vers son extrémité inférieure par un système racinaire fasciculé. Les racines sont allongées horizontalement et verticalement dans le sol (Fig.1).



**Figure1.** Morphologie externe d'une plantule de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.)issue de semis, au stade physiologique 3 feuilles (Munier, 1973).

#### I.5.1. Au stade adulte (Fig.2)

Au stade adulte le palmier dattier présente des frondes très arquées divisées en folioles aplaties et repliées, elles se regroupent en couronne au sommet d'une tige dressée, creuse et non ramifiée elle prend le nom botanique de «stipe».

**Le stipe :** de plus de 20 mètres de haut, son élévation est environ 20 à 30 cm par an, elle s'effectue grâce à l'activité du méristème apical (Bougedoura, 1991). Le stipe contient des faisceaux cribro-vasculaires qui semblent reliés directement chaque racine à une palme bien déterminée. Il est couvert des cicatrices des anciennes palmes (Toutain, 1967).

**Les feuilles :** chez le palmier dattier trois sortes de feuilles sont produites au cours de sa vie : Les feuilles juvéniles, les feuilles semi juvéniles et les feuilles adultes ou palmes. (Bouguedoura, 1991). Les palmes sont des feuilles pennées, les pennes sont disposées régulièrement de part et d'autre d'un rachis. Les pennes inférieures sont transformées en épines.

**Le système racinaire :**Le système racinaire du palmier - dattier est de type fasciculé. Il est formé de plusieurs types de racines(Redaouia. et Talbi., 1996):

- Les racines de premier ordre sont sensiblement cylindriques sur toute leur longueur, leur extrémité conique ne présente jamais de poils absorbants, elles prennent toute naissance à la base du stipe.

- Les racines du deuxième ordre sont portées par les racines de premier ordre, elles ont une longueur variant entre 20 et 25 cm et un diamètre moyen de 3.5 mm, ces racines présentent la même morphologie et structure des racines de premier ordre.

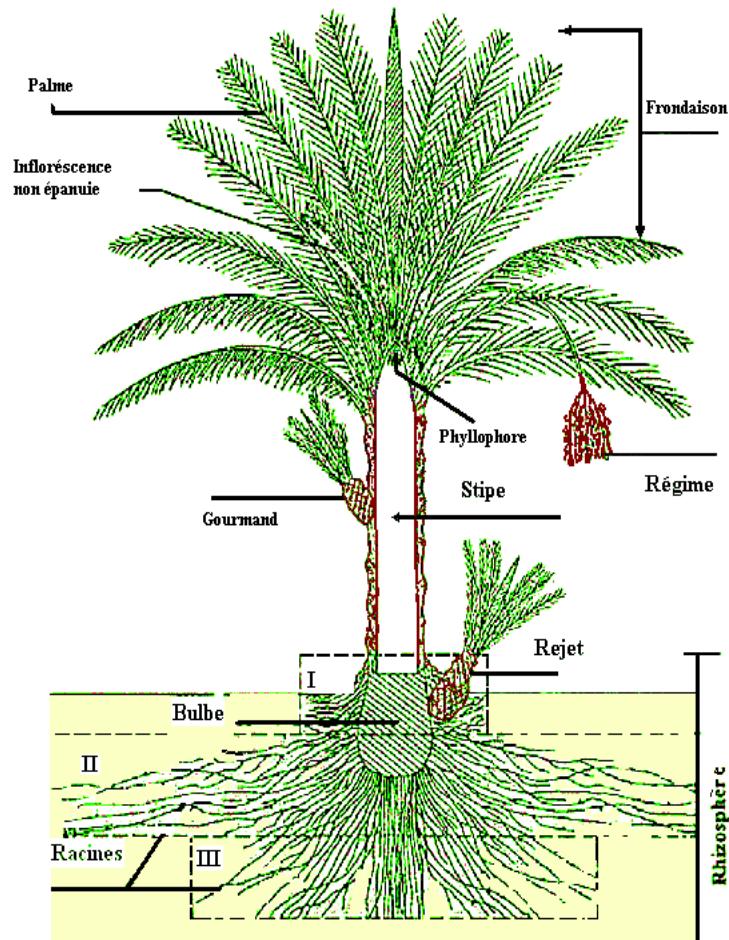
- Les racines du troisième ordre sont portées par les racines du deuxième ordre et ont un diamètre de 1 mm à 1.5 mm, ce sont des racines à croissance lente, courte et très abondante.

**Les inflorescences :** le palmier dattier est une plante dioïque, Dès l'âge de 3 à 4ans, les arbres commencent à fleurir. Les inflorescences mâles et femelles sont portées par des palmiers différents, et le pied femelle est le dattier au sens strict. Les inflorescences sont des grappes d'épis enfermées dans une spathe qui s'ouvre à maturité. La fleur trimère ne montre qu'un seul carpelle qui se développe pour donner le fruit (Rahmania, 2000).

**Le fruit:** le fruit du palmier dattier est appelé datte, c'est une baie, le mésocarpe est fibreux charnu et protégé par un fin épicarpe, il possède une seule graine de forme allongée, entourée d'un endocarpe fin.

**La graine :** la graine de forme oblongue est entourée d'un endocarpe membraneux, elle comporte un sillon ventral et renferme un embryon en position dorsale. L'albumen est dur et corné.





**Figure 2** : Représentation schématique du palmier dattier (Munier, 1973).

## I.6. Culture

La pollinisation se fait par le vent (anémophilie) dans la nature. En culture, le nombre volontairement réduit (par l'Homme) de palmiers mâles oblige à pratiquer une pollinisation artificielle, à la main. Dans les oasis algériennes ou tunisiennes, où ils sont appelés *dhokkar* (= mâle en arabe), on en compte souvent un pour 100 pieds femelles. La propagation des palmiers dattiers se fait par clonage : soit traditionnellement, par prélèvement de drageons ou rejets (qu'on appelle souvent en arabe *djebbar* ou *ghars* en Afrique du Nord), soit plus récemment par culture *in vitro*, afin de conserver les cultivars choisis.

## I.7. Caractéristiques des cultivars : « Deglet-Nour » et Takerbucht »

### I.7.1. Deglet-Nour (DN)

Deglet-Nour ou doigt de lumière, est le plus important et le plus répandu dans toutes les palmeraies du sud-est Algérien, ses dattes sont appréciées pour leur goût exquis. Ce cultivar est sensible à la maladie du « bayoud ».

Il est caractérisé par un stipe élancé de forme cylindrique, parfois vigoureux. Les palmes sont peu nombreuses, 70 palmes. La datte est de forme fuselée à ovoïde légèrement aplatie du côté périanthe, ses dimensions sont de l'ordre de 6 cm de long et 1,8 cm de large, la graine est de petite taille, pointue aux deux extrémités, sa surface est lisse brillante, et de couleur marron (Belguedj, 2002).

### I.7.2. Takerbucht (TK)

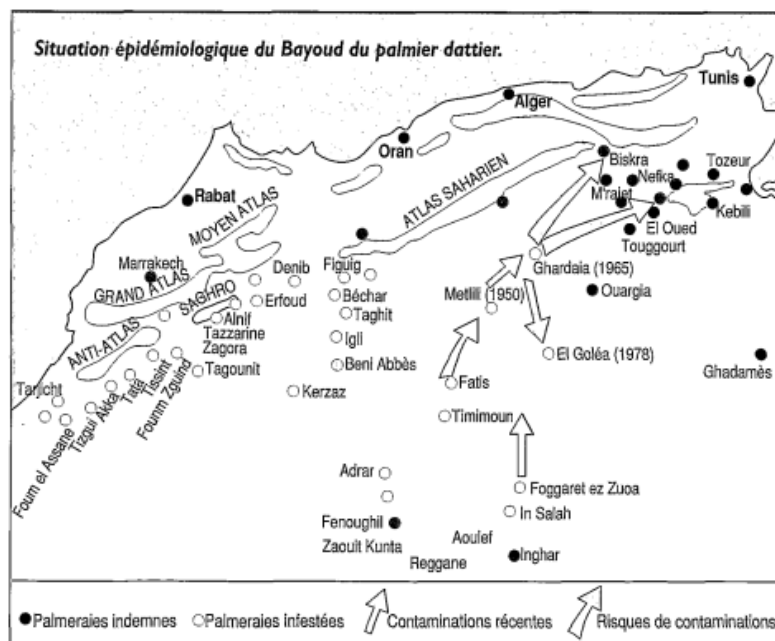
Takerbucht, est plutôt répandu dans toutes les palmeraies du sud-ouest Algérien. C'est un cultivar résistant, dont le fruit est commercialisé localement, caractérisé par des racines plus courtes et plus épaisses que celles de « Deglet Noir » (Bouguedoura, 1991). Ce cultivar présente un stipe de forme cylindrique, fin et élancé. Le nombre de palmes est d'environ 92 en moyenne par palmier dattier. Le fruit, une baie monosperme de forme arrondie, d'une taille moyenne de 3.5 à 4.5 cm de long et 1.8 à 2.2 cm de large, la graine présente une forme oblongue et une couleur brun clair (Belguedj, 1996).

## II.LA FUSARIOSE VASCULAIRE

La Fusariose vasculaire du palmier dattier (appelée communément bayoud) est une maladie cryptogamique provoquée par un champignon microscopique imparfait nommé *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*, (KILLAN et MAIRE) (GORDON).

En Algérie la maladie du bayoud est présente seulement dans les oasis occidentales et centrales ; De nos jours, elle décime les palmeraies du Maroc et du Sud-Ouest de l'Algérie (Djerbi, 1988), (Fig.3), elle sévit également en Mauritanie (Sedra, 2002).

Tous les cultivars nord africains de bonne qualité tel que (Deglet-nour) et (Mejhoul) sont sensibles au bayoud, certains cultivars résistants comme Bou Stammi noir, Bou Stammi blanc, Tadment au Maroc et Takerbucht en Algérie sont de qualité acceptable mais inférieure à celle de Deglet-nour et Mejhoul (Toutain et Louvet, 1974 ; Saaidi, 1979).



Phytoma - La Défense des végétaux - N° 469 - Février 1995

Figure 3 : Situation épidémiologiques du Bayoud du palmier dattier (Phytoma, 1995).

## II.1. Symptômes de la maladie :

Le premier signe de la maladie est observé sur une palme de la couronne moyenne. Cette palme prend un aspect plombé ou gris cendré puis se dessèche d'une manière caractéristique : les folioles situées d'un côté se dessèchent progressivement de bas en haut et se replient vers le rachis. Ensuite, le dessèchement se poursuit de l'autre côté, progressant cette fois de haut en bas, et toute la palme finit par se dessécher et prend une couleur blanchâtre (Louvet et al, 1970 ; Djerbi, 1990). Quelques temps après, les palmes voisines ne tardent pas à manifester la même succession de symptômes jusqu'à la mort de l'arbre (Djerbi, 1990).



**Figure 4 :** Symptômes externes du Bayoud sur cultivar sensible dans une palmeraie à Adrar  
A : Symptômes de la maladie sur un cultivar sensible ; B: Dépérissement et mort des palmiers de cultivar sensible ; C: Palme présentant les symptômes typiques de la maladie du bayoud

## II. 3. Agent causal

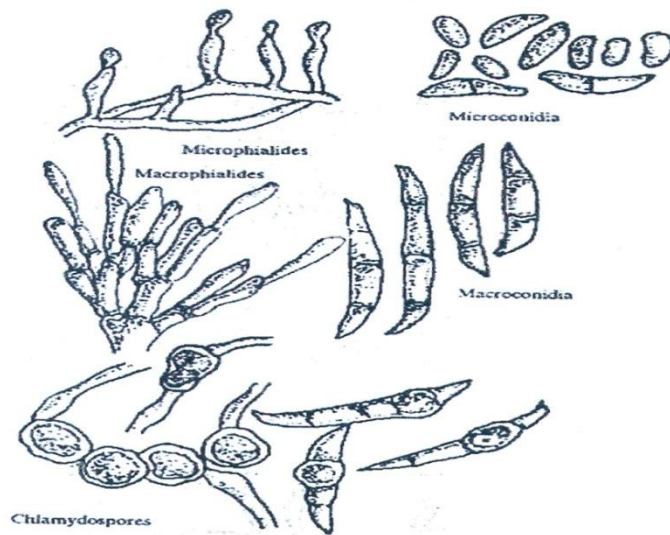
L'agent pathogène de la fusariose du palmier dattier '**Bayoud**' est un champignon microscopique qu'on isole à partir de palmiers dattiers atteints, on peut aussi l'isoler à partir du sol, il s'agit de *Fusarium oxysporum f.sp albedinis* (*F.o.a*)

Sous un microscope, les microconidies sont sphériques ou allongées et légèrement courbées. Elles sont unicellulaires. Les macroconidies sont, triseptés. Les chlamydospores sont soit isolés ou groupés par 2 ou 3 (**Fig. 5**) .

### II.3.1.Position systématique

Le *Fusarium oxysporum f.sp albedinis* (*F.o.a*) est un champignon microscopique, tellurique. Classification actuelle :

Domaine : Eucaryotes  
Règne : *Fungi* / Champignons  
Division : *Ascomycota* / Ascomycètes  
Classe : *Sordariomycota* / Sordariomycètes  
Sous-classe : *Hypocreomycetidae*  
Ordre : Hypocréales  
Famille : *Nectriaceae*  
Genre et espèce : *Fusarium oxysporum* Schlechtendal (1924)



**Figure 5.** : Les différents types de spores produites par *Fusarium oxysporum f.sp. palbedinis* (Djerbi, 1988).

### II.3.2. Mode de pénétration du champignon :

Plusieurs chercheurs (Belarbi 1986, Oihabi 1991) ont démontré que le *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*. pénètre par les racines de son hôte pour qu'il puisse établir une relation parasitaire, la pénétration et la progression du champignon à l'intérieur des tissus est rapide au niveau des zones proche de l'apex radulaire, car ces tissus sont encore jeunes et les parois cellulaires se constituent de pectines et de cellulose facilement hydrolysable par les pectinases et les cellulases qui sont fréquentes chez les Fusariae (Bounaga 1975). La progression du *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*. se réalise depuis les racines jusqu'aux palmes, dans les vaisseaux sous forme de filaments mycéliens et de microconidies entraînées par le mouvement ascendant de la sève brute.

## II.4. Lutte

### II.4.1. Eradication

L'éradication, par l'incinération des arbres atteints et le traitement du sol par les cartouches de Bromure de méthyle, est préconisée dans le cas de détection d'un foyer primaire de Bayoud dans une zone indemne. Cette technique, chère et délicate, nécessite des équipes spécialisées.

### II.4.2. utilisation des variétés résistantes

Des clones et des variétés de haute qualité et résistants au Bayoud, ont été sélectionnés et multipliés par la technique de culture *in vitro*; ce matériel est disponible dans plusieurs centres de recherche au Maroc, en France en Tunisie.

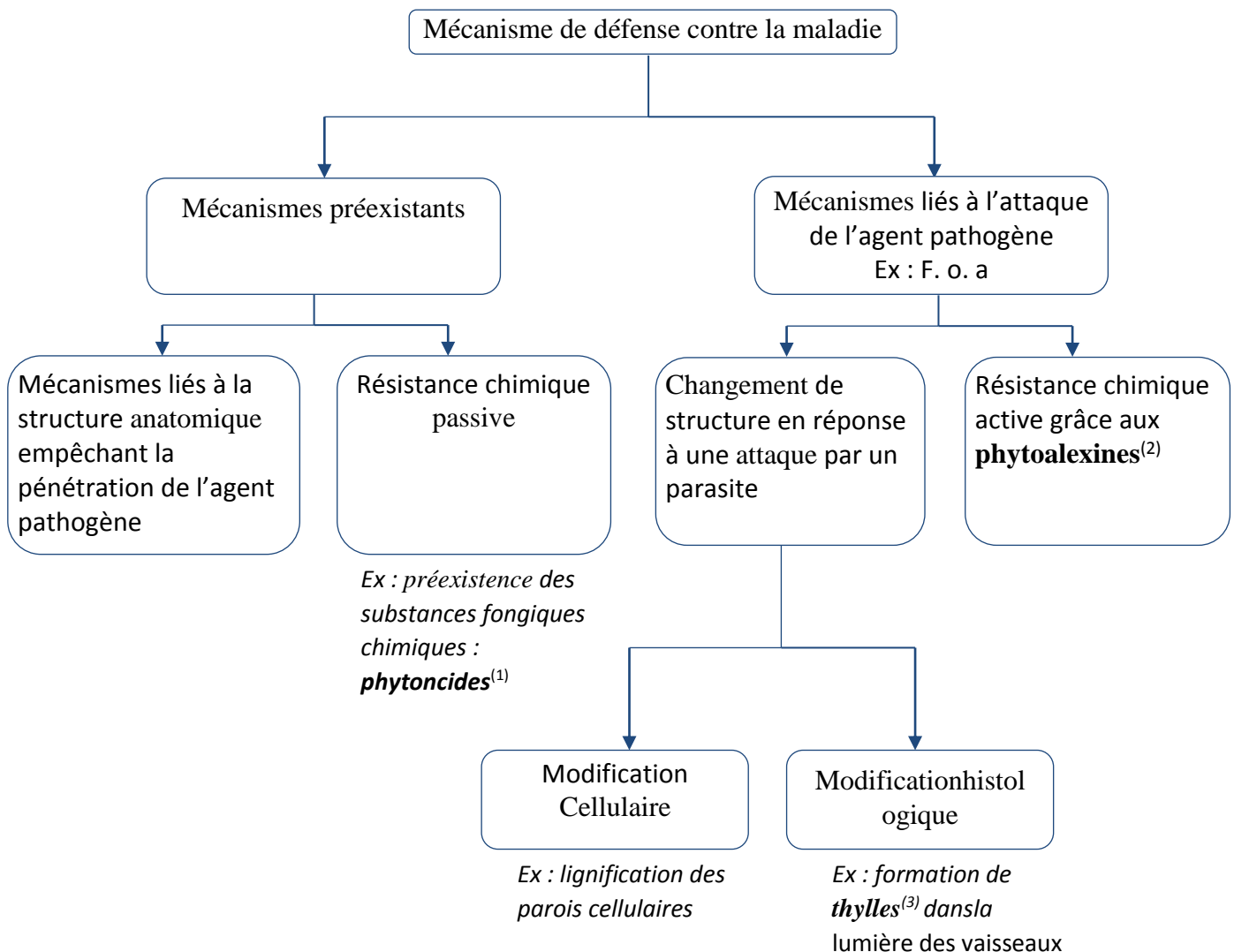
## III. MECANISMES DE DEFENSE

La plante réagit très tôt à la tentative d'invasion des agents pathogènes. Les mécanismes de défense induits chez le végétal se caractérisent par un bouleversement du métabolisme. On note ainsi la synthèse ou l'augmentation de la synthèse de molécules constitutives ou non de la plante, entraînant des modifications morphologiques visant essentiellement à empêcher ou à stopper la colonisation des tissus par le pathogène.

Plusieurs mécanismes de défense sont mis en place au moment de l'infection tels que :

- une réaction d'hypersensibilité qui se traduit par l'apparition de nécroses des tissus végétaux autour du site d'infection, ces nécroses sont dues à la mort de quelques cellules de l'hôte entourant les cellules infectées, induit une résistance locale.
- un renforcement de la paroi par lignification ou autre modification constitue une des premières étapes de la lutte contre les agressions, celui-ci limite la propagation du pathogène.
- une accumulation de certains peptides antimicrobiens tels que les thionines et les défensives.
- une induction des voies de synthèse des métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes

Nous résumons dans la Figure 6 les différents moyens de défense que présente une plante hôte au cours d'une invasion par des microorganismes.



**Figure 6:** Récapitulation des différents mécanismes de défense chez les plantes supérieures résumés par Aouane et Baha, 1989.

(1)**Phytoncides** : substances se trouvant en concentration suffisante chez les cultivars résistants, par contre, elles sont totalement absentes chez leur homologues sensibles. (ASSEF, 1987).

(2) **Phytoalexines** : substances à faible poids moléculaire synthétisées par l'hôte en réponse à l'agent pathogène (ASSEF, 1987), cas des acides phénols.

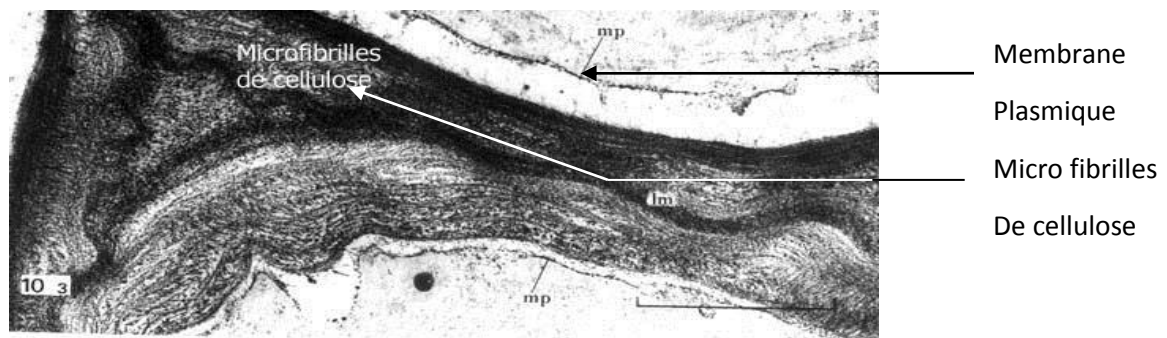
(3)**Thylle** : vésicule située sur la paroi de certains vaisseaux où s'amassent des matériaux de réserves ou d'excrétion (RAHMANIA, 1982).

### III.1. La paroi cellulaire végétale (Fig.7)

Les cellules des végétaux secrètent autour de leur membrane cytoplasmique une paroi rigide et résistante. elle leur confère des propriétés mécaniques particulières. La paroi s'oppose à la pression osmotique interne et assure la turgescence et le maintien de l'organisme. Pour sa plus grande part la paroi est de nature polysaccharidique.

#### III.1.1 Composition chimique de la paroi cellulaire :

La paroi cellulaire des végétaux est constituée de glucides (90% du poids de la matière sèche) et de protéines (10% du poids de la matière sèche). Les principaux constituants de la paroi sont : les pectines, hémicelluloses, cellulose, lignines et subérine.



**Figure 7** : Paroi d'une cellule végétale d'une racine de bois (GX 45000). (Roland,1990)

#### III.1.2. La paroi primaire :

Les parois primaires sont principalement constituées de polysaccharides, à savoir la cellulose, les hémicelluloses et les pectines, interagissant les unes avec les autres pour former ce qu'on appelle la matrice extracellulaire. Les polymères d'hémicellulose et de pectines sont synthétisés dans l'appareil de golgi, alors que la cellulose est générée au niveau de la membrane plasmique sous forme de micro fibrilles qui sont dispersées dans la paroi.

La paroi primaire est déformable de façon plastique grâce aux fibrilles de cellulose, extensible et élastique, en effet les jeunes cellules en croissance et en différenciation ne possèdent que la paroi primaire.

#### III.1.3. La paroi secondaire :

Lorsque la cellule atteint sa taille et sa forme définitive une deuxième série de couches formant la paroi secondaire se superpose à la paroi primaire. C'est une structure inextensible et faiblement hydromorphe (Guillaume, 2006).

La paroi secondaire est nettement plus épaisse que la paroi primaire, elle est principalement constituée de cellulose. Les fibrilles de cellulose sont présentes dans la paroi secondaire sous forme de micro fibrilles organisées selon une structure parallèle. L'orientation des fibrilles varie d'une couche à l'autre au sein de la paroi secondaire. Les espaces inter fibrillaires de la paroi secondaire peuvent être comblés par une incrustation de lignines : c'est la lignification. La lignification fait perdre à la paroi beaucoup de l'élasticité et de la plasticité d'origine et aussi de sa capacité de croissance, la paroi cellulaire gagne cependant sa rigidité (Luttge et al, 1992).

#### **III.1.4. Rôle de la paroi cellulaire :**

La paroi cellulaire chez les cellules végétales est indispensable, elle permet le transport de l'eau vers les vacuoles par osmose. Elle protège la cellule, maintient sa forme et prévient la perte ou l'absorption d'excès d'eau. La paroi cellulaire est aussi une barrière physique naturelle très efficace face aux agresseurs qui synthétisent des enzymes et composés capables de la dégrader. Lors d'une infection par un agent pathogène cette paroi va être renforcée par des dépôts de composés phénoliques (**acides phénoliques et lignines**), d'esters tels que la subérine, de polysaccharides tel que la callose et par l'accumulation de glycoprotéines riches en hydroxy -proline (HPGP) (Benhamou, 1996).

### **III.2. Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires largement distribués chez toutes les plantes vasculaires, ils sont très diversifiés avec environ 8000 structures phénoliques présentes dans tous les organes de la plante.

Les principales fonctions attribuées à ces composés chez les végétaux, sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV.

#### **III.2.1. Classification**

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants. Les polyphénols naturels sont de molécules simples, tels que les acides phénols, ou des composés hautement polymérisés comme les lignines.

Il existe différentes familles de composés phénoliques, notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les lignines et autres (**Tab.1**).

**Tableau 1:** Classification simplifiée des composés phénoliques (Harborne 1980).

Nombre de carbone (C)	Squelette	Composés
6	C <sub>6</sub>	Phénols simples et benzoquinones
7	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides phénols : acides benzoïques
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acétophénones et acides phénylacétiques
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides phénols : acides cinnamiques
		Coumarines et iso-coumarines
10	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones
13	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthones
14	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes et anthraquinones
15	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes et iso-flavonoïdes
18	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes et néolignanes
30	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Biflavonoïdes
N > 30	(C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Catécholmélanines
	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines
	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Tanins condensés

### III.2.2. Rôles

D'importants travaux de recherche ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques, comme la différenciation et la croissance cellulaire, l'organogenèse, la dormance des bourgeons, la floraison et la tubérisation.

Aussi la capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (Rees et Harborne, 1985). Il est certain que les composés phénoliques jouent un rôle dans la mise en place des mécanismes de défense car leur accumulation est généralement la plus importante chez les plantes résistantes. De plus, elle est préférentiellement localisée dans les tissus infectés, à leur proximité immédiate (Clerivet et El Modafar, 1994).

Les phénols issus du métabolisme des phénylpropanoïdes s'accumulent au niveau des parois végétales lors des réponses de défense comme les polymères phénoliques qui peuvent participer au confinement de l'agent pathogène à son site d'infection (Nicholson et Hammerschmidt, 1992).

Ziouti *et al.* (1998), ont étudié l'implication des composés phénoliques du palmier dattier dans la réaction de défense de cette plante contre le Bayoud, ils ont étudié aussi les résultats relatifs à l'effet de l'inoculation par l'agent pathogène sur la composition phénolique et sur les



enzymes d'oxydation des phénols. Ces composés pourraient contribuer dans la défense du palmier puisque l'insolubilisation des phénols tels que les acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques dans les parois cellulaires participe au renforcement et à la rigidification de celles-ci qui deviennent alors moins dégradables par les parasites (Tan *et al.*, 1992).

### III.3. Les lignines

#### III.3.1. Définition

Les lignines sont des composés phénoliques qui se déposent dans certaines cellules végétales, vaisseaux du bois, cellules scléreuses... à la fin de la formation des parois primaires et secondaires.

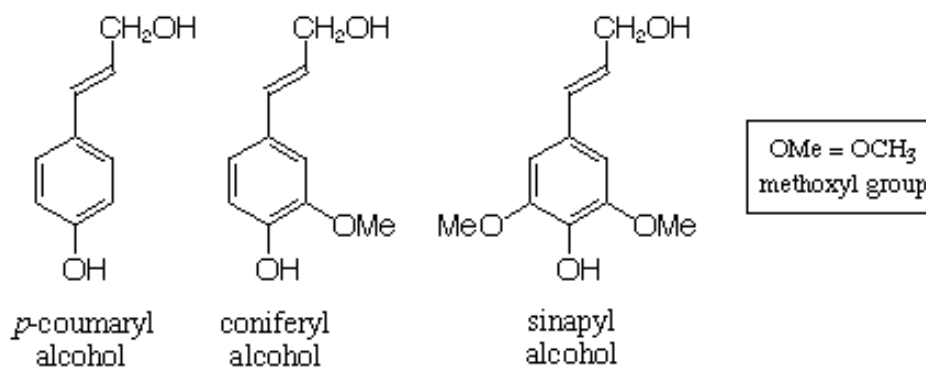
Les lignines sont après la cellulose le deuxième biopolymère synthétisé sur la terre. La biomasse cumulée entre la cellulose et les lignines représente environ 60 à 80 % de la biomasse totale. Les lignines sont colorées en jaunes, jaunes brun : la couleur brune de l'humus lui est due en grande partie (Guignard, 2000).

#### III.3.2. Structure :

Les lignines sont des polymères tridimensionnels provenant de la copolymérisation de trois alcools phényle propanoïque : l'alcool coumarylique, l'alcool coniférylique et l'alcool sinapylique (Monties, 1980). (Fig.8)

Les motifs C6 C3 renferment chacun un cycle qui porte un hydroxyl sur le carbone 4. Ils diffèrent par le degré de méthylation. La nomenclature de ces noyaux aromatiques est la suivante :

- Pas de substitution : cycle hydroxybenzoyl (H)
- Une substitution sur le carbone 3 : cycle gaiacyl (G)
- Deux substitutions sur le carbone 3 et 5 : cycle syringyl (S)



**Figure 8:** Les trois principaux monomères naturels de lignines.

### III.3.3. Biogenèse :

Le précurseur commun des monolignols est la phénylalanine à partir de ce dernier on aura la synthèse des alcools cinnamiques : **alcool p. coumarilyque**, **alcool coniferilyque**, et **l'alcool sinapylique**. ces trois monolignols sont les principaux constitutif de la lignine.

Au niveau du réticulum endoplasmique de la cellule en voie de lignification, trois séries de réaction se produisent (Fig9) :

- Désamination de la phénylalanine en cinnamate par une **phénylalanine amonia lyase (PAL)**.
- Hydroxylation et méthylation du noyau benzénique.
- Réduction du carboxyle en alcool.

Les monolignols transitent dans les vésicules du système membranaire puis franchissent la membrane plasmique par exocytose.

Parvenu au niveau des parois cellulaires, les monolignols, sous l'influence de **laccases** et de **peroxydase**, sont oxydés en radicaux libres.

Laccase, enzyme à base de cuivre produit directement des radicaux libres avec les phénols, mais avec les peroxydases il y a intervention d'une malate déshydrogénase.

Les monolignols à l'état de radicaux libres s'auto assemblent, plus ou moins au hasard ; suivant les conditions locales et sans intervention enzymatique, ce qui concoure à la variabilité des lignines (Fig.10).

Cette polymérisation *in situ* de la lignine s'accompagne de liaison de covalence avec les glycanes de la paroi : liaison éther entre les OH alcooliques et phénoliques, liaison ester entre les fonctions alcool des monolignols et les carboxyls des pectines elles facilitent le transfert des contraintes mécaniques (Guiniar, 2000).

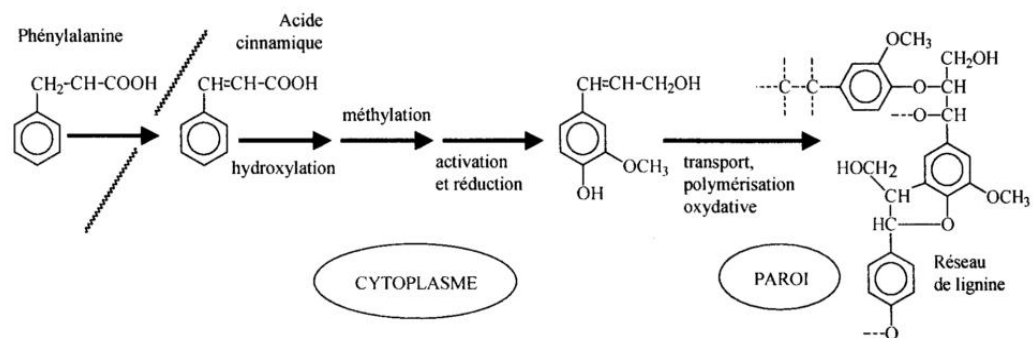
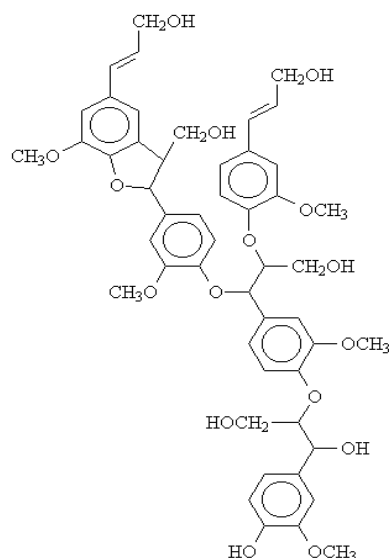


Figure 9: Schéma de la biosynthèse des lignines.



**Figure 10:** Formule générale de la lignine après polymérisation des monomères.

### III.3.4. Rôle des lignines

La lignine a un rôle de support mécanique en assurant la rigidité des cellules. Du fait de sa structure riche en noyaux Phényles et en chaînes carbonées, elle rend également les cellules imperméables à l'eau et permet donc le transport de solutés dans toute la plante par les tissus conducteurs. La lignine joue également un rôle dans les mécanismes de défense des plantes. Elle forme de façon constitutive une barrière mécanique et peut être aussi synthétisée de novo (vance et al., 1980).

La quantité et la composition de la lignine varient en fonction de l'appartenance taxonomique, de l'espèce végétale, des tissus considérés, des types cellulaires (et même de la partie de la paroi cellulaire considérée), du stade de développement, des conditions environnementales et des facteurs de stress. La composition et la quantité des lignines synthétisée varient également en fonction de la période de l'année et des contraintes physiques auxquelles peut être soumise la plante, telles que le vent ou la rencontre d'un obstacle. Ces dépôts constituent ce qu'on appelle les bois de réaction (Côté, 1977).

Les lignines sont difficilement attaquées par les prédateurs. L'augmentation locale de la lignification est le premier mécanisme mis en jeu par les plantes pour lutter contre l'invasion des champignons pathogènes. Seuls des bactéries et des champignons, comme les polypores, les armillaires, etc., sont capables d'assurer la lignolyse.

### III.4. Les peroxydases

L'activité gaïacol peroxydase [POX : EC.1.11.1.7] utilise le peroxyde d'hydrogène comme donneur d'électrons pour oxyder des composés phénoliques selon la réaction suivante:



Ces POX sont des hémoprotéines omniprésentes chez les eucaryotes et les procaryotes.

Elles présentent un large polymorphisme et sont codées par une famille de gènes issus de la duplication et de la diversification d'un gène parental, suivi de l'acquisition de nouvelles capacités enzymatiques (Tognolli et al. 1999).

La gaïacol peroxydase appartient à une classe de glycoprotéines localisées dans différents compartiments cellulaires (parois, mitochondries, membranes, cytosol, vacuoles) et est impliquée dans différents processus physiologiques et biochimiques, tels que le contrôle de la croissance des plantes et la lignification (El Mansouri et al. 1999), l'épaississement de la paroi cellulaire par le pontage des polysaccharides (Lin et Kao 1999), la réparation des blessures (Lagrimini 1991) et la défense contre les parasites (Alcázar et al. 1995).

Lors de la lignification, les peroxydases catalysent, en présence de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), la formation de radicaux phenoxy à partir des alcools qui seraient ensuite polymérisés (Baucher et al., 1998)

#### **III.4.1. Rôle des Peroxydase dans la défense des plantes**

Les peroxydases sont largement connues pour leur rôle central dans la défense des plantes hôte contre les pathogènes nécrotrophes ou biotrophes. Certaines peroxydases appartiennent à la sous-famille des PR-protéines 9, et sont susceptibles de limiter la propagation de l'infection en renforçant les parois des cellules végétales et en générant des ROS hautement toxiques aux agents pathogènes. L'activité peroxydase est induite par des champignons, des bactéries et des virus. Les peroxydases sont impliquées dans divers processus en liaison avec la défense des plantes, probablement en raison du nombre élevé des isoformes enzymatiques et aussi à la polyvalence des réactions catalysées par ces isoenzymes. Elles interviennent dans la réticulation des constituants de la paroi cellulaire, dans la synthèse de phytoalexines et dans le métabolisme des ROS.

## I. Matériels

### I.1. Matériel végétal

Pour effectuer notre travail, nous avons utilisé des plantules de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) appartenant aux cultivars Deglet – Nour (sensible au bayoud) et Takerboucht (résistant au bayoud). Les plantules ont toutes le même âge, chacune d'elles présente 2 à 3 feuilles juvéniles.

### I.2. Matériel fongique

Le matériel fongique utilisé est constitué d'un inoculum de *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (*Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*) préparé à partir d'une souche de référence N°: 26/ 01/ GH, provenant d'un palmier mâle Bayoudé, de la région de Metlili, Wilaya de Ghardaïa.

## II. Méthodes

### II.1. Obtention des plantules de palmier dattier

Les graines de palmier dattier des deux cultivars « Deglet-Nour » et « Takerbucht » sont mises à tremper pendant vingt quatre heures dans de l'eau à la température ambiante. Les graines sont ensuite grattées à l'aide d'un scalpel afin de les débarrasser du reste des téguments qui les recouvrent. Elles sont stérilisées dans une solution d'hypochlorite de sodium à 1% pendant 24h, elles sont ensuite rincées à l'eau. Les graines sont ensuite transférées dans des boîtes de Pétri stériles tapissées de papier filtre imbibé d'eau, ces boîtes sont placées dans une étuve à 28 °C. L'arrosage des graines se fait régulièrement pour garder l'humidité favorable à la germination.

Les graines prégermées (Fig.11) sont semées dans des pots contenant un mélange de 2/3 sable et 1/3 de terreau qui sert à enrichir le milieu en matière organique. L'arrosage des pots se fait régulièrement à l'eau de robinet.



**Figure 11:** Graines prégermées de palmier dattier, cultivar Takerbucht

## II.2. Obtention de l'inoculum

### II.2.1. Préparation du milieu de croissance PDA

Il existe différents milieux favorables au développement du *Fusarium* et à sa prolifération, mais le plus utilisé est le milieu Pomme de terre-Dextrose-Agar (PDA); qui est un milieu de croissance naturelle, sa composition est la suivante :

- 250 g de pomme de terre
- 10 g de dextrose
- 20 g d'Agar
- 1000 ml d'eau distillée.

La pomme de terre est épluchée, lavée et coupée en petits cubes puis cuite dans 250 ml d'eau distillée pendant 20 mn, le filtrat est récupéré et mélangé avec le glucose et l'agar.

Le tout est ajusté à 1000 ml avec de l'eau distillée.

Le milieu obtenu est stérilisé à l'autoclave à 120 °C pendant 20 mn. Il est ensuite coulé aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles.

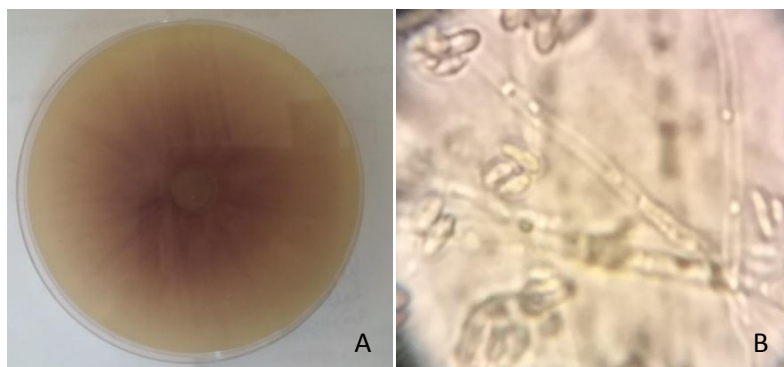
### II.2.2. Ensemencement de la souche sur milieu PDA

A l'aide d'une anse stérile, un fragment de milieu recouvert de mycélium est prélevé d'une boîte de Pétri contenant déjà la souche de *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* fragment est ensemencé sur milieu P.D.A et les boîtes sont incubées pendant 7 jours à 28 °C.

### II.2.3. Préparation de l'inoculum

Après 7 jours d'incubation du champignon, les boîtes de Pétri sont rincées avec de l'eau stérile, la suspension de spores ainsi obtenue constitue l'inoculum.

Le dénombrement des spores se fait au microscope photonique en utilisant la lame de Mallassez. Et en fonction du nombre de spores trouvé nous réalisons une dilution pour l'obtention d'une concentration de l'inoculum de l'ordre de  $10^6$  spores/ml, Cette concentration correspond à la concentration minimale et suffisante pour réussir l'infection et déclencher la fusariose vasculaire chez l'hôte, le palmier dattier (Saaidi *et al.*, 1981).



**Figure 12 :** A: Culture de *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (*F.o.a*) sur milieu PDA. B : microconidies de *F.o.a* au microscope photonique (Gx400)

### **II.3. Inoculation des plantules**

L'inoculation est réalisée sur les plantules de palmier, les parties supérieures des racines sont déterrées délicatement, et à l'aide d'une micro seringue, 10 µl de solution conidienne sont injectées au niveau de la racine à environ 1.5 cm du collet. Les plantules sont arrosées régulièrement à l'eau du robinet et sont maintenues à température et lumière ambiantes au laboratoire.

La durée d'incubation de l'agent pathogène (*Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*) dans l'hôte (plantule de dattier) est de 5 jours pour un premier lot de plantules, 9 jours pour un deuxième lot, 15 jours pour un troisième lot et de 25 jours pour un quatrième et dernier lot.

### **II.4. Dosages biochimiques**

Après 5, 9, 15, 25 jours d'inoculation des plantules de palmier dattier avec la souche de *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (26/ 01/ GH). nous avons réalisé des extractions à partir des racines inoculées et des racines non inoculées considérés comme témoins, afin d'effectuer les dosages suivants :

#### **II.4.1. Extraction et dosage des composés phénoliques pariétaux**

##### **II.4.1.1. Extraction**

Les racines de palmier dattier sont broyées au mortier (2mn) dans 1ml de méthanol aqueux (80%) à température ambiante, le broyat est repris par dans un tube Eppendorf fermé. Après centrifugation 2mn à 10000×g, le surnageant est gardé. Le culot est repris par 1ml de méthanol aqueux 80%, après 5mn au contact une autre centrifugation est réalisé à 10000×g pendant 5mn. Les deux surnageant sont mélangés dans un tube Eppendorf, ils correspondent à la fraction soluble ; les tubes sont stockés à 4°C, ils seront dosés ultérieurement. Le culot est utilisé pour extraire les composés phénoliques pariétaux.

Le culot récupéré précédemment est séché 48h dans une étuve à 60°C, le poids de matière sèche est alors mesuré.

Les acides phénoliques sont liés à la paroi par des liaisons esters (-CO-O-C-), pour les libérer il faut faire une hydrolyse alcaline (Campbell et Ellis, 1992). Le résidu sec est resuspendu dans une solution de NaOH 3M (1ml/10mg) et mis en agitation pendant 24h à la température ambiante. L'ajout du NaOH entraîne une saponification et permet d'extraire les composés phénoliques liés à la paroi. Le mélange est ensuite acidifié par l'ajout de HCl 3M (V/V), une centrifugation est effectué 10mn à 12000×g. Le surnageant est récupéré dans un Eppendorf et 1ml d'éther anhydre (diethylether anhydre) est ajouté afin de solubiliser les composés phénoliques libérés. La phase éther est soigneusement récupérée dans un nouveau tube après centrifugation, puis amenée à sec. Le résidu sec est repris dans 0,5ml méthanol 80%. Le dosage se fait au réactif de Folin-Ciocalteu .

##### **II.4.1.2. Dosage**

Le dosage des composés phénoliques se fait au réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965). Le réactif de Folin Ciocalteu et un acide de couleur jaune constitué par un mélange

d'acides phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Trease et al., 1987). La coloration bleue produite, dont l'absorption maximale à 765nm, est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon. Cette méthode est spécifique de la détermination des groupements oxydables des composés phénoliques. La concentration de ces composés est exprimée en acide gallique à l'aide d'un spectrophotomètre de type JENWAY 6305 UV/Vis.

**Gamme étalon** : une solution mère est préparée en diluant 0,2mg d'acide gallique dans 1mL d'eau distillée, les solutions des différents échantillons à doser et la gamme étalon sont préparées de la même manière et dans les mêmes conditions. Nous complétons 0,25mL de chaque dilution à 3mL avec de l'eau distillée stérile, nous ajoutons ensuite 0,125mL de réactif de Folin Ciocalteu, 3min plus tard, sont ajoutés 0,25mL d'une solution aqueuse de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à 20%. Les tubes sont mis au bain marie bouillant pendant 1min ; une heure après refroidissement, la densité optique est lue à 765 nm.

A 0,25mL de chaque extrait méthanolique, sont ajoutés 0,125mL de réactif de Folin Ciocalteu et 0,25mL de carbonate de sodium que l'on complète à un volume total de 3mL avec de l'eau distillée stérile. Les concentrations sont calculées à partir de l'équation d'une courbe étalon établie à l'aide de l'acide gallique (acide phénolique), les lectures sont faites par rapport à un témoin (eau distillée additionnée de réactifs) :

$$Y = 6,5594x \text{ et } R^2 = 0,991$$

#### II.4.3. Extraction et dosage des lignines :

La lignine est extraite selon la méthode de Bruce et West (1982). Les racines fraîches sont broyées dans du méthanol à 80% pour éliminer les lipides et les pigments. L'homogénat obtenu est filtré sur papier whatman n°4 et rincé avec du méthanol à 80% ; le résidu est séché dans une étuve à 60°C pendant 24 h.

Le résidu sec obtenu est utilisé pour la détermination de la quantité de lignines dans les racines de palmier dattier. 1ml de HC 1 (2N) et 0,5ml d'acide thioglycolique sont ajoutés respectivement à 50mg de résidu racinaire sec dans des flacons en verre à bouchons, les flacons sont ensuite placés au bain marie bouillant à 100°C pendant 4h.

Le mélange est ensuite centrifugé à 12 000g pendant 10 min, le culot obtenu est rincé avec 1ml d' $H_2O$  distillée et incubé dans 1 ml d'une solution de NaOH 0.5 N, le mélange est agité pendant une nuit à 25°C et centrifugé à 12 000 xg pendant 10 min. 1ml de HCl concentré est ajouté au surnageant, et les lignines dérivées à l'acide thioglycolique sont précipitées à 4 ° C pendant 4 h. Après centrifugation à 12 000 g pendant 10 min, le culot brun orangé est dissous dans 10 ml de NaOH 0,5 N. Il est à nouveau centrifugé et l'absorbance des dérivés de l'ATG dans le surnageant est mesurée au spectrophotomètre à 280 nm. Les résultats sont exprimés sous forme de l'augmentation de la  $A_{280}$  nm g-1 de résidu pariétal sec.



## II.4.4. Dosage enzymatique :

### II.4.4.1. Préparation de l'extrait enzymatique

La méthode adaptée afin d'obtenir l'extrait enzymatique du végétal est celle de Baaziz et al. 1994. Pour éviter la dégradation des activités enzymatiques toutes les opérations ont été faites à 4°C.

0,25g de racines sont broyées à froid à l'aide d'un mortier dans 1,5 ml de tampon Tris-HCl 5mM (pH 7,2) contenant du sucrose 0.25 M et du MgCl<sub>2</sub> 1mM. L'homogénat est centrifugé à froid à 9 000 g pendant 7 minutes (centrifugeuse sigma 3-16K). Le surnageant obtenu correspond à la fraction soluble de l'enzyme (cette fraction n'est pas dosé dans notre travail). Le culot est lavé 3 fois dans 1,5 ml de tampon Tris-HCl 5mM (pH 7,2) contenant 1% (v/v) de Triton X-100, le résidu est ensuite incubé pendant 30min dans 1,5 ml de tampon Tris-HCl 5mM (pH 7,2) contenant du NaCl 1M. Le surnageant obtenu après centrifugation constitue la **fraction ionique** de l'enzyme liée à la paroi. Elle sera utilisée comme extrait pour le dosage de l'activité gaïacols-peroxydase (GPX), ainsi que pour le dosage des protéines.

### II.4.5.2. Dosage de l'activité gaïacols-peroxydase (GPX)

L'activité gaïacol peroxydase (GPX) est déterminée selon la méthode de Fielding *et al.* (1978). Pour un volume final de 3 ml, le mélange réactionnel contient : 100 µl d'extrait enzymatique, 50 µl d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 0,03 %, 50 µl de gaïacol à 8mM et 2850 µl de tampon phosphate 0,1M (pH = 7,2). L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique. La réaction est déclenchée par l'ajout du peroxyde d'hydrogène. L'oxydation du gaïacol a été déterminée par la mesure de l'augmentation de l'absorbance à 470nm (A<sub>470</sub>) (spectrophotomètre Jenway 6305 UV/Vis), et ce pour un coefficient d'extinction linéique molaire  $\epsilon = 26,60 \text{ microM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

L'activité GPX est exprimée en nmole min<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup> de protéines.

Pour la quantification des mesures spectrophotométriques, la formule suivante est utilisée :

$$\Delta A_{436} / \text{min} \cdot 4 \cdot V_f$$

Act. =

$$\frac{\Delta A_{436} / \text{min} \cdot 4 \cdot V_f}{\epsilon \cdot V_s \cdot p}$$

Act : activité enzymatique en nmole/min/mg de protéines

$\epsilon$  : coefficient d'extinction linéique molaire en M

$\Delta$  : différence moyenne de l'absorbance

V<sub>f</sub> : volume finale du mélange réactionnel en ml  
V<sub>s</sub> : volume de l'extrait enzymatique en ml

L : largeur de la cuve de mesure en cm

P : teneur en protéine en mg

T : temps de lecture en min

#### 4. Dosage des protéines :

La concentration totale en protéines dans les racines des deux cultivars du palmier dattier est déterminée par la technique mise au point par Bradford (Bradford, 1976). Cette technique utilise le bleu de Coomassie qui a la propriété de s'adsorber sur les protéines de manière non spécifique et indépendamment de leur séquence. Cette adsorption s'accompagne d'une modification du spectre d'absorption de la molécule, qui est décalé vers le bleu.

On réalise une gamme étalon d'albumine de sérum bovin (BSA) dont on mesure l'absorption à 590 nm. Les concentrations sont calculées à partir de l'équation d'une courbe étalon établie à l'aide d'albumine de sérum bovin (BSA). La mesure de l'absorption du lysat cellulaire permet de déterminer la concentration en protéines totale de chaque préparation d'échantillon.



**Figure 13:** Quelques étapes expérimentales.

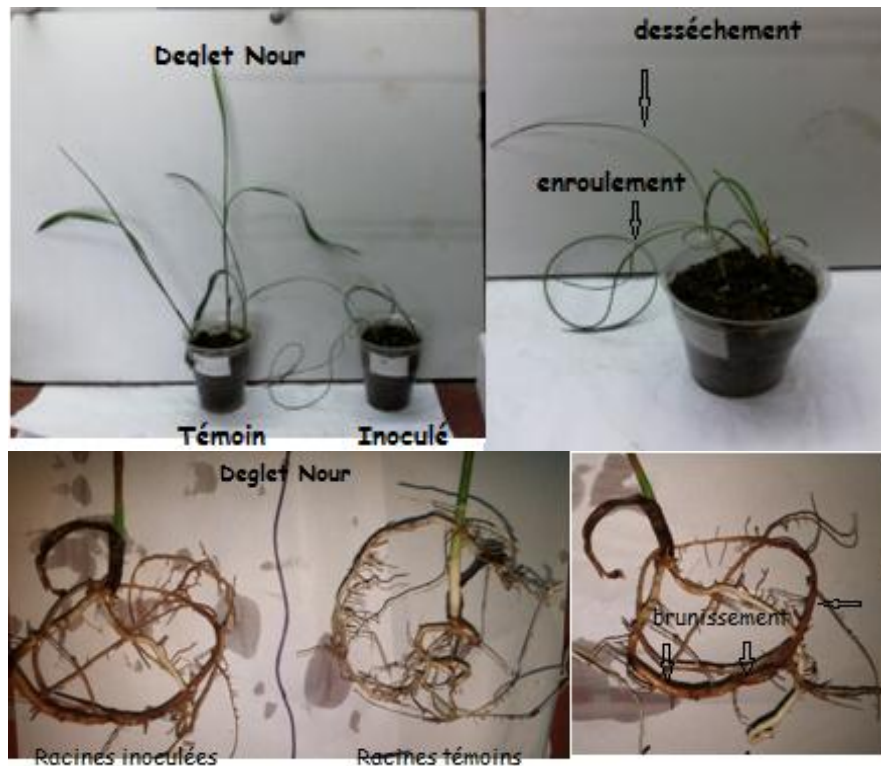
A : inoculation des plantules de palmier par injection, B et C: extraction à froid et dosage de l'activité peroxydasique, D, E et F : quelques étapes de l'extraction des lignines.

## I. INTERPRETATION DES RESULTATS

### I.1. Observation des symptômes du bayoud sur les plantules inoculées

L'apparition des symptômes de la maladie sur les plantules de palmier dattier du cultivar sensible Deglet Nour sont apparus au 15<sup>ème</sup> jour suivant l'inoculation. Ces symptômes sont apparus sur 50% des plantules de Deglet Nour inoculées par une souche virulente de *Fusarium oxysporum f.sp albedinis*, ils se caractérisent par l'enroulement des feuilles qui finissent par se dessécher et flétrir annonçant la mort de la plante.

L'observation des racines déterrées et rincées montre un ramollissement avec un brunissement se propageant sur une grande partie de la racine (Fig.14)



**Figure 14 :** Symptômes du bayoud sur les plantules de palmier dattier du cultivar sensible Deglet Nour.

### I.2. Dosages biochimiques

Les résultats présentés dans cette partie regroupent d'une part la quantification des composés phénoliques liés à la paroi ainsi que des lignines et d'autre part le dosage de l'activité d'une enzyme de défense, la gâiaacol peroxydase [POX : E.C. 1.11.1.7] .

### I.2.1. Quantification des composés phénoliques liés à la paroi

Les dosages des polyphénols à une longueur d'onde de 765nm, permettent de connaître la quantité en  $\mu\text{g}$  d'acide gallique par g de matière végétale sèche de composés phénoliques pariétaux dans les racines des deux cultivars au cours d'une cinétique d'infection. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant (Tab.2), chaque valeur avec son écart-type reportée dans le tableau correspond à la moyenne des teneurs des trois essais analysés.

Chez DN non inoculé (DNt)(Fig.15), les teneurs en composés phénoliques pariétaux sont de  $3,81\pm 1,15\mu\text{g g}^{-1}$  de MVS au 5<sup>ème</sup> jour, passent à  $3,91\pm 1,10\mu\text{g g}^{-1}$  de MVS au 9<sup>ème</sup> j,  $5,94\pm 2,51\mu\text{g g}^{-1}$  de MVS au 15<sup>ème</sup> J et  $6,20\pm 1,24\mu\text{g g}^{-1}$  de MVS au bout de 25 jours.

Après inoculation, nous notons une diminution des teneurs en ces composés déjà au 5<sup>ème</sup> jour ( $2,84\pm 0,89\mu\text{g g}^{-1}$  de MVS), une reprise légère au 9<sup>ème</sup> jour ( $3,91\pm 1,58\mu\text{g g}^{-1}$  de MVS) ensuite une forte diminution qui atteint 50% au 25<sup>ème</sup> jour, cette teneur est de  $3,10\pm 0,72\mu\text{g g}^{-1}$  de MVS par rapport à  $6,20\pm 1,24\mu\text{g g}^{-1}$  de MVS chez le témoin.

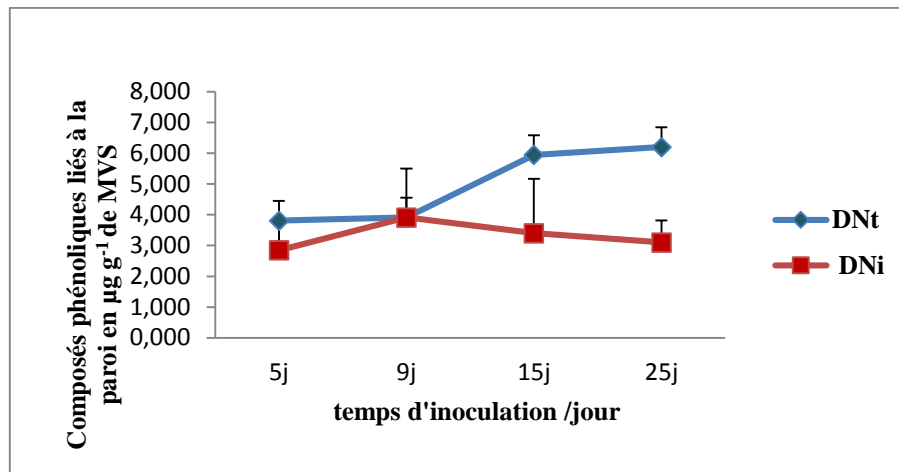
Le cultivar résistant TK(Fig.16) avant son inoculation, présente des teneurs en ces composés très proches de ceux du cultivar sensible DN, ces teneurs sont aux différents temps de dosage simultanément de ( $3,10\pm 0,84$  ;  $3,81\pm 0,40$  ;  $4,52\pm 0,54$  et  $7,87\pm 1,41$ )  $\mu\text{g g}^{-1}$  de MVS.

Après inoculation le cultivar résistant TK présente une réaction contraire à celle de DN. Une très forte accumulation en composés phénoliques pariétaux est retrouvée au 5<sup>ème</sup> jour, cette augmentation est de 2,5 fois ( $8,63\pm 0,88\mu\text{g g}^{-1}$  de MVS chez TKi (TK inoculé) par rapport à  $3,10\pm 0,84\mu\text{g g}^{-1}$  de MVS chez TKt (TK témoin)), elle est augmentée de 3 fois au 9<sup>ème</sup> j et continue à augmenter jusqu'au 25<sup>ème</sup> jour.

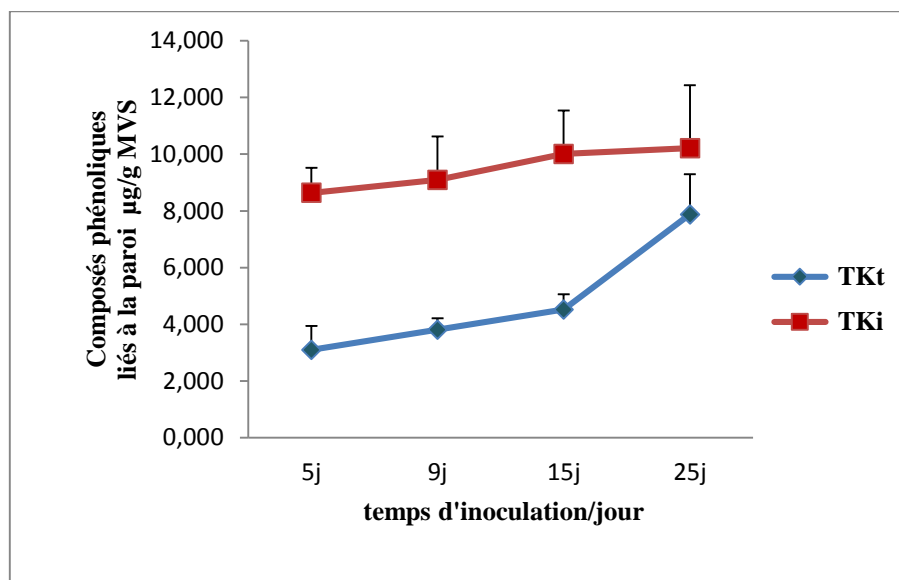
Les résultats obtenus montrent que les teneurs en ces composés sont semblables dans les deux cultivars DN et TK avant leurs inoculation par le *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*, ils présentent également la même évolution au cours du temps suivi. Après inoculation, une diminution en composés phénoliques est notée dans les parois cellulaires racinaires du cultivar sensible; par contre une augmentation très importante est notée chez le cultivar résistant.

**Tableau 2:** Teneurs en composés phénoliques liés à la paroi des cellules des racines inoculées (DNi et TKi) et témoins (DNt et TKt) des deux cultivars DN et TK.

Temps d'inoculation	Teneurs en composés phénoliques en $\mu\text{g g}^{-1}$ de MVS			
	DNt	DNi	TKt	TKi
5j	$3,81\pm 1,15$	$2,84\pm 0,89$	$3,10\pm 0,84$	$8,63\pm 0,88$
9j	$3,91\pm 1,10$	$3,91\pm 1,58$	$3,81\pm 0,40$	$9,09\pm 1,52$
15j	$5,94\pm 2,51$	$3,40\pm 1,76$	$4,52\pm 0,54$	$10,01\pm 1,53$
25j	$6,20\pm 1,24$	$3,10\pm 0,72$	$7,87\pm 1,41$	$10,21\pm 2,21$



**Figure 15** : Evolution de la teneur en composés phénoliques liés à la paroi dans les extraits de la paroi cellulaire des racines inoculées et témoins du cultivar sensible (DN).



**Figure16** : Evolution de la teneur en composés phénoliques liés à la paroi dans les extraits de la paroi cellulaire des racines inoculées et témoins du cultivar résistant (TK) .

### I.2.2. Quantification des lignines

Le dosage des lignines est réalisé au spectrophotomètre à 280 nm après extraction à l'acide thioglycolique. Les résultats sont exprimés sous forme de l'augmentation de l'absorbance,  $A_{280 \text{ nm}} \text{ g}^{-1}$  de résidu pariétal sec. Les résultats sont consignés dans et le tableau 3 et les Figures 17 et 18, Chaque valeur avec son écart-type correspond à la moyenne des lectures de DO des trois essais analysés.

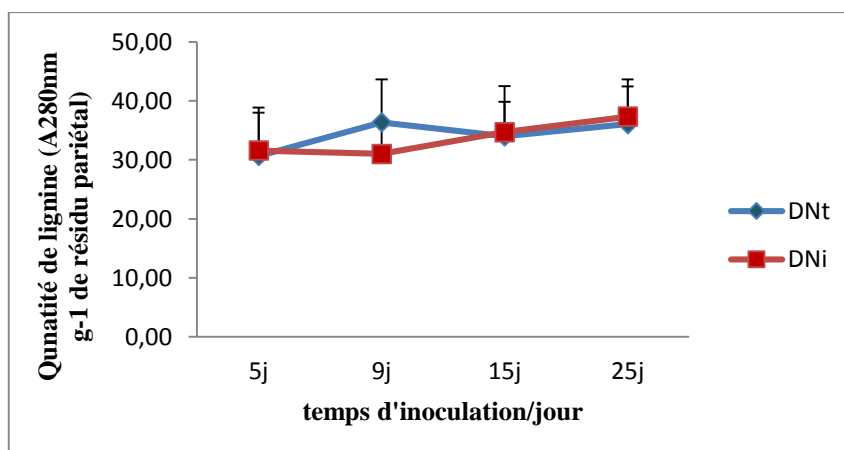
Les résultats obtenus montrent des valeurs très rapprochés en quantité de lignine contenues dans les parois des cellules racinaires des deux cultivars DN et TK avant leurs inoculation, ces valeurs varient entre  $30,67 \pm 6,45 A_{280 \text{ nm}} \text{ g}^{-1}$  de résidu pariétal et  $36,07 \pm 6,32 (A_{280 \text{ nm}} \text{ g}^{-1}$  de résidu pariétal) pour le cultivar sensible. Pour le cultivar résistant les valeurs sont presque

similaires à ceux de DN et varient entre  $33,20 \pm 9,40$  (A 280nm g<sup>-1</sup> de résidu pariétal) et  $40,07 \pm 3,56$  (A 280nm g<sup>-1</sup> de résidu pariétal).

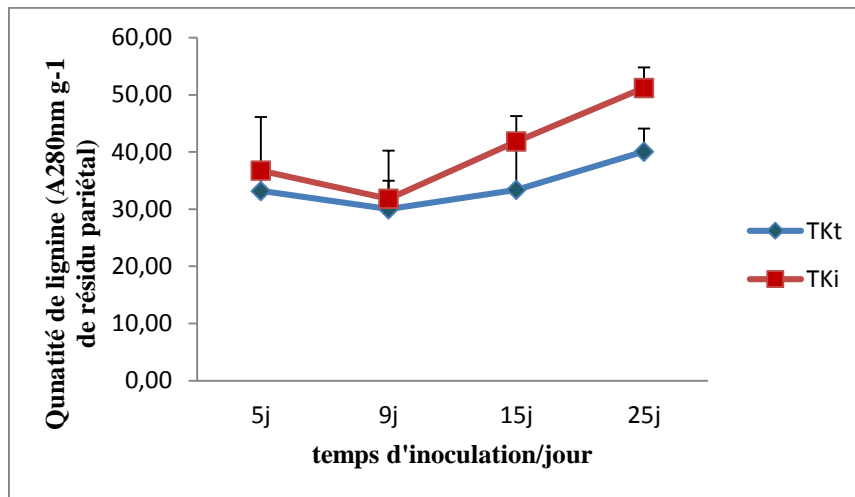
Après inoculation des plantules, nous notons une augmentation des quantités de lignines dans les parois des cellules des racines chez les deux cultivars, cette augmentation est non significative dans les parois racinaires du cultivar sensible, par contre une accumulation de lignine assez importante dans les racines du cultivar résistant est noté après inoculation. Dans ce dernier cultivar nous notons une augmentation au 5<sup>ème</sup> jour, au 9<sup>ème</sup> jour, au 15<sup>ème</sup> jour et au 25<sup>ème</sup> jour, respectivement de 36,73; 31,83; 41,83 et 51,23 (A 280nm g<sup>-1</sup> de résidu pariétal).

**Tableau 3:** Teneurs en lignines des paroi cellulaires des racines inoculées et témoins des deux cultivars DN et TK, avant inoculation (DNt et TKt) et après inoculation (DNi et TKi).

Temps d'inoculation	Teneurs en lignine A280nm g <sup>-1</sup> de résidu pariétal			
	DNt	DNi	TKt	TKi
5j	30,67±6,45	31,57±8,21	33,20±9,40	36,73±3,87
9j	36,37±5,93	31±7,27	30,00±8,39	31,83±4,99
15j	34±7,82	34,70±5,84	33,40±4,46	41,83±6,99
25j	36,07±6,32	37,33±6,39	40,07±3,56	51,23±4,04



**Figure 17 :** Evolution de la teneur en lignines dans les extraits de la paroi cellulaire des racines inoculées et témoins du cultivar sensible (DN).



**Figure18** : Evolution de la teneur en lignines dans les extraits de la paroi cellulaire des racines inoculées et témoins du cultivar résistant (TK) .

### I.2.3. Dosage de la gaïacol peroxydase [POX : E.C. 1.11.1.7]

Pour déterminer l'implication éventuelle des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les mécanismes de défense du palmier dattier contre le *F.o.a.*, l'activité d'une enzyme antioxydante a été étudiée par dosage spectrophotométrique dans les racines des deux cultivars au cours d'une cinétique d'infection. Il s'agit de la gaïacol peroxydase (POX). Trois dosages indépendants ont été faits avec à chaque fois 3 plantes. Les résultats, présentés dans le tableau 4 et les Figures 19 et 20 montrent que l'activité de cette enzyme varie chez les deux cultivars, DN et TK. Cette différence est notée avant même leur inoculation, après inoculation une réaction différente est aussi observée chez les deux cultivars en réaction à la présence du champignon dans les tissus racinaires.

Chez DNt, l'activité peroxyasique dans les parois racinaires est de  $6,74 \pm 1,93 \text{ nmole min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de protéines au 5<sup>ème</sup> jour d'inoculation, elle est au 9<sup>ème</sup> jour, 15<sup>ème</sup> jour et 25<sup>ème</sup> jour, respectivement de  $8,51 \pm 2,59$  ;  $9,02 \pm 2,44$  ;  $13,22 \pm 3,45 \text{ nmole min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de protéines.

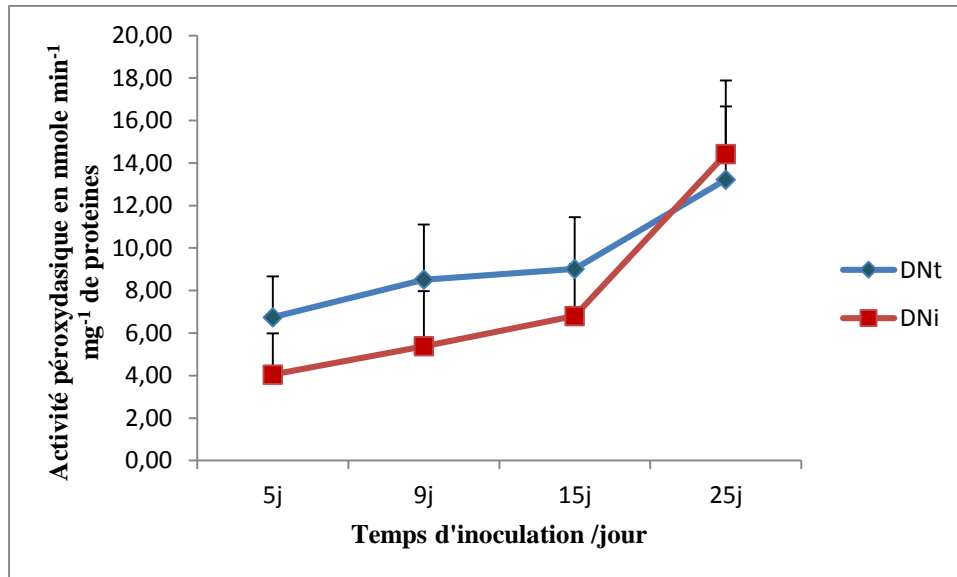
Dans les racines inoculées une diminution de l'activité POX est notée par rapport aux racines témoins, avec une légère reprise au 25<sup>ème</sup> jour .

L'activité POX dans les parois racinaires du cultivar résistant est très élevée avant même son inoculation, elle est de  $13,28 \pm 1,72 \text{ nmole min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de protéines au 5<sup>ème</sup> jour d'inoculation, elle est au 9<sup>ème</sup> jour, 15<sup>ème</sup> jour et 25<sup>ème</sup> jour, respectivement de  $12,41 \pm 3,62$  ;  $12,03 \pm 1,91$  ;  $18,72 \pm 2,26 \text{ nmole min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de protéines. Ces valeurs sont beaucoup plus élevées par rapport à celles obtenues chez le cultivar sensible.

Après inoculation de TK , L'activité POX augmente significativement déjà au 5<sup>ème</sup> jour d'inoculation, elle est de  $18,80 \pm 3,85 \text{ nmole min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de protéines, elle est stable au deux temps suivants pour augmenter presque au double au 25<sup>ème</sup> jour.

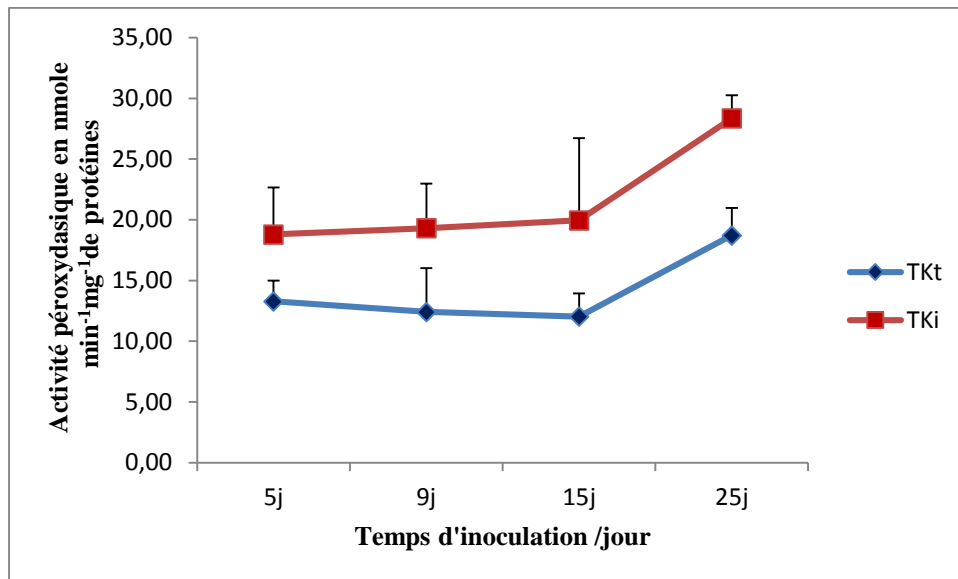
**Tableau 4 :** Activité enzymatique gaïacol peroxydase en  $\text{nmole min}^{-1}\text{mg}^{-1}$  de protéines la paroi des cellules des racines inoculées et témoins des deux cultivars DN et TK, avant inoculation (DNt et TKt) et après inoculation (DNi et TKi)..

Temps d'inoculation	Activité enzymatique gaïacol peroxydase en $\text{nmole min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ de protéines			
	DNt	DNi	TKt	TKi
5j	6,74±1,93	4,05±0,49	13,28±1,72	18,80±3,85
9j	8,51±2,59	5,38±1,80	12,41±3,62	19,31±3,66
15j	9,02±2,44	6,80±3,79	12,03±1,91	19,95±6,78
25j	13,22±3,45	14,43±2,59	18,72±2,26	28,35±1,90



**Figure 19 :** Activité enzymatique gaïacol peroxydase des racines inoculées et témoins du cultivar sensible (DN). Les valeurs indiquées correspondent aux moyennes de 3 répétitions





**Figure 20:**Activité enzymatique la gaïacol peroxydase des racines inoculées et témoins du cultivar résistant (TK).Les valeurs indiquées correspondent aux moyennes de 3 répétitions

## II. DISCUSSION

La paroi végétale constitue une barrière physique à la pénétration de nombreux agresseurs. Certains pathogènes parviennent à contourner cette barrière en développant différentes stratégies, la plus générale est la production d'enzymes hydrolytiques dégradant la paroi végétale (Walton, 1994). Les réactions de défense des plantes comprennent un ensemble de mécanismes visant à modifier et renforcer la paroi végétale afin qu'elle puisse échapper à la dégradation enzymatique générée par l'agent pathogène.

Dans le travail que nous avons réalisé, nous nous sommes intéressés à caractériser certains constituants de la paroi végétale des cellules racinaires de deux cultivars du palmier dattier, l'un sensible au *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (cultivar DN) et l'autre résistant (cultivar TK). Les dosages effectués nous permettent d'une part d'étudier leur rôle dans l'interaction palmier dattier-*Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*. et d'autre part de caractériser les mécanismes de résistance à la maladie du bayoud.

Les résultats que nous avons obtenus nous permettent de constater que pour :

### Les composés phénoliques pariétaux

Ces composés sont semblables dans les deux cultivars DN et TK avant leur inoculation par le *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*, ils présentent également la même évolution au cours du temps suivi. Après inoculation, une diminution en composés phénoliques est notée dans les parois cellulaires racinaires du cultivar sensible; ceci pourrait s'expliquer par le fait que le *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*, secrète des enzymes hydrolytiques responsables de

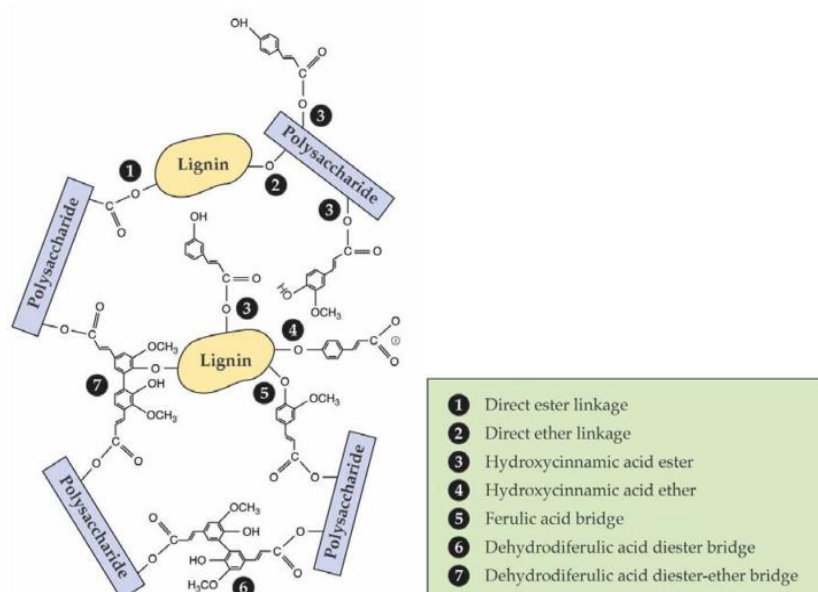
la solubilisation des composés pariétaux et donc une libération des composés phénoliques liés aux parois. Ceci corrobore le résultat rapporté par El Modafar et El Boustani (2000), décrivant la sécrétion d'enzymes lytiques, cellulases et pectinases par *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* lors de son interaction avec le palmier dattier.

Chez le cultivar résistant une augmentation très importante est notée après inoculation par le *F.o.a.* Il est admis que les composés phénoliques jouent un rôle dans la mise en place des mécanismes de défense car leur accumulation est généralement la plus importante chez les plantes résistantes. De plus, elle est préférentiellement localisée dans les tissus infectés, à leur proximité immédiate (Clerivet et El Modafar, 1994).

Les composés phénoliques pré-infectionnels et post-infectionnels peuvent être impliqués dans les phénomènes de réticulation, subérification et lignification visant notamment à limiter l'action des forces de compression et celle des hydrolases des parasites.

L'estérification des composés phénoliques aux parois permet d'établir des liaisons à l'intérieur de la matrice polysaccharidique mais aussi des liens entre les polysaccharides et la lignine (Fig. 21) (Iiyama et al., 1994). Ces liaisons rendraient les composés de la paroi moins accessibles aux enzymes de dégradation des agents pathogènes.

L'analyse cytologique de l'interaction de la tomate avec *Fusarium oxysporum* révèle des modifications physiques de la paroi lorsque les tissus sont prétraités avec un éliciteur. Ces modifications se traduisent par des dépôts importants de callose et de composés phénoliques et s'accompagnent de l'arrêt de la croissance de l'hyphe (Benhamou et Lafontaine, 1995). Il a également été montré que des suspensions cellulaires de persil traitées avec un éliciteur de *Phytophthora sojae* incorporent dans leur paroi les acides p-coumarique et férulique (Franke et al., 1998). De même, l'acide diférulique s'accumule dans des feuilles d'avoine inoculées avec un agent fongique. Ce dimère interviendrait dans le renforcement de la paroi végétale (Ikegawa et al., 1996).



**Figure 21.** Schéma des liaisons possibles (directes et par les composés phénoliques) entre les polysaccharides pariétaux et la lignine (Buchanan et al., 2001)

## **Lignine**

Les résultats obtenus montrent des valeurs très rapprochées en quantité de lignine contenues dans les parois des cellules racinaires des deux cultivars DN et TK avant leurs inoculation.

Après inoculation, nous notons une augmentation des quantités de lignines dans les parois des cellules des racines chez les deux cultivars, cette augmentation est non significative dans les parois racinaires du cultivar sensible DN, par contre une accumulation de lignine assez importante dans les racines du cultivar résistant TK est noté. Ces mêmes résultats sont retrouvés dans nos travaux antérieurs (Boucenna-Mouzali et Rahmania, 2005; Chettouh et al. , 2008).

Nos résultats corroborent parfaitement les travaux d'El Modafar et El Boustani (2001) et d'El Modafar (2010) qui montrent que l'inoculation expérimentale des racines du palmier dattier, par *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*. induit l'accumulation de ce polymère dans les parois du cultivar résistant « Bousthami Noir ».

L'accumulation de lignine en réponse à l'infection a été décrite chez plusieurs espèces (Benhamou et Lafontaine, 1995). De même, après infection de feuilles de blé, une synthèse accrue de lignine est observée au site de pénétration des champignons *Botrytis cinerea* et *Mycosphaerella pinodes*. La paroi est ainsi rendue plus résistante à la macération et permet l'arrêt de la croissance du champignon (Ride, 1983)

La lignine est un polymère phénolique, insoluble et très résistant aux enzymes de dégradation de la paroi sécrétées par les agents pathogènes. Elle est le principal composant responsable de la résistance vis-à-vis des enzymes de macération. Elle rend les parois cellulaires plus résistantes aux forces de pression mécanique ; il est généralement admis que la lignine augmente la résistance des parois aux forces compressives, Limite la diffusion des toxines et enzymes du parasite vers l'hôte et empêche le passage de l'eau et des substances nutritives de l'hôte vers le parasite.

### **L'activité de la Gaïacol Peroxydase**

Nos résultats montrent que l'activité de cette enzyme varie chez les deux cultivars. Cette différence est noté avant même leur inoculation, le cultivar résistant présente une activité très élevé par rapport au cultivar sensible, ce qui permet de confirmer l'association de la résistance au bayoud avec des taux élevés en peroxydases constitutives El Modafar (2010).

Après inoculation une réaction différente est observé chez les deux cultivars en réaction à la présence du champignon dans les tissus racinaires.

Chez TK , L'activité POX augmente significativement alors que chez DN une diminution est noté au cours des 15 premiers jours mais une tendance à reprendre une plus forte activité au 25<sup>ème</sup> jour.

L'un des rôles majeurs attribués aux peroxydases dans les processus de résistance est leur participation à la dernière étape de la synthèse des lignines dans les parois cellulaires. Lors de la lignification, les peroxydases catalysent, en présence de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), la formation de radicaux phenoxy à partir des alcools qui seraient ensuite polymérisés (Baucher et al., 1998).

Il a été démontré aussi qu'en réponse à un agent pathogène, les peroxydases peuvent également oxyder un grand nombre de composés phénoliques qui acquièrent alors des propriétés antimicrobiennes (Kobayashi et al., 1994).

## CONCLUSION

Notre travail a consisté à mettre en évidence, l'induction des composés phénoliques associés à la paroi cellulaire, des lignines et d'une enzyme, la galactinol-peroxydase (GPX) et ce lors du processus infectieux du palmier dattier par le *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*. Notre étude a porté sur les racines témoins et inoculées appartenant à deux cultivars Deglet-Nour « sensible » et Takerbucht « résistante ».

Selon nos résultats, nous retenons que :

Pour les composés phénoliques des quantités semblables dans les deux cultivars DN et TK avant leur inoculation par le *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*. Après inoculation, une diminution en composés phénoliques est notée dans les parois cellulaires racinaires du cultivar sensible; Chez le cultivar résistant une augmentation très importante est notée après inoculation par le *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*.

Pour les quantités de lignines, les valeurs sont très rapprochées dans les deux cultivars DN et TK avant leur inoculation. Après inoculation, nous notons une augmentation des quantités de lignines dans les racines des deux cultivars, cette augmentation est non significative pour le cultivar sensible DN, par contre une accumulation de lignine assez importante dans les racines du cultivar résistant TK est notée.

L'Activité peroxydasique varie chez les deux cultivars. La différence est notée avant même leur inoculation, le cultivar résistant présente une activité très élevée par rapport au cultivar sensible, ce qui permet de confirmer l'association de la résistance au bayoud avec des taux élevés en peroxydases constitutives.

Ce travail a permis d'avancer d'importantes connaissances dans la différence entre cultivars résistants et sensibles par leur contenu moléculaire, et une meilleure connaissance des mécanismes de résistance (constitutifs ou induits) par installations de barrières physiques (lignine), et chimiques (composés phénoliques).

Dans la plupart des pathosystèmes, les composés phénoliques sont associés aux réactions de défense passive et active de l'hôte. Cependant, la contribution relative de chacun des composés phénoliques ou groupes de composés phénoliques (constitutifs ou induits), pour l'expression de la résistance et leur interaction éventuelle avec d'autres réactions de défense demeure un problème essentiel. Malgré les approches moléculaires récemment développées, l'espoir d'augmenter la résistance des plantes aux maladies par la manipulation de leur métabolisme phénolique n'a pas encore réellement abouti.

En perspectives :

1- la recherche de nouvelles substances organiques naturelles peut mener vers de nouvelles perspectives pour mettre en place ou concevoir un moyen de lutte en utilisant des molécules naturelles pour induire la résistance (ou moyens de défense) des cultivars sensibles contre *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*, par des stimulateurs naturels, ce qui permettra le respect strict de l'environnement et la durabilité de l'écosystème oasien.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alcázar D.M., Egea C., Espín A., Candela ME., 1995. Peroxidase isoenzymes in defence response of *Capsicum annuum* to *Phytophthora capsici*. *PlantPhysiol*, 94: 736-742.
- Aouane A. et Baha N., 1989. Contribution à l'étude des polyphénols (flavonoïdes et acides phénols) du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. en rapport avec la fusariose. Diplôme des études supérieures, USTHB, 98p.
- Assef G.M., 1987. La résistance chimique du palmier dattier au bayoud. Thèse Doct. Sciences-Physiques, Univ. Aix-Marseille saint Jérôme et Marrakech, 175p.
- Baaziz M., Aissam F., Brakez Z., Bendiab, K., El Hadrami I. et Cheikh, R., 1994. Electrophoretic patterns of acid soluble proteins and active isoforms of peroxidase and polyphenoloxidase typifying calli and somatic embryos of two reputed date palm cultivars in Morocco. *Euphytica*, 76, 159–168
- Barrow S., 1998. A monograph of *Phoenix* L. (*Palmae* : *Coryphoideae*). *Kew bulletin*, 53 : 513-575.
- Baucher M., Monties B., Van Montagu M. & Boerjan, W., 1998. Biosynthesis and genetic engineering of lignin *Review of Plant Science*, 17: 125-197.
- Belarbi-Halli R., 1986. Ultra structure du pneumatode, son rôle dans la Fusariose du palmier dattier : Relation hôte – parasite. Thèse Docteur des sciences Université de Nancy I. 216p.
- Belguedj M., 1996. Caractéristiques des cultivars de dattier du Nord Est du Sahara Algérien. V1, pp67.
- Belguedj M., 2002. Caractéristiques des cultivars de dattiers dans les palmeraies du Sud-est algérien. Dossier 1 : les ressources génétiques du palmier dattier, INRA Algérie, 289p.
- Benhamou N. et Lafontaine, P. J., 1995. Ultrastructural and cytochemical characterization of elicitor-induced structural responses in tomato root tissues infected by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. *Planta*, 197: 89-102.
- Benhamou N., 1996. Elicitor-induced plant defense pathways. *Trends Plant Science*, 1:233-240.
- Boucenna-Mouzali B. et Rahmania F., 2005. Mise en évidence biochimique et histochimique de la lignification dans les plantules de palmier dattier inoculées par *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. 1<sup>er</sup> Colloque Euro-méditerranéen de biologie végétale et d'environnement, Annaba.
- Bouguedoura N., 1991. Connaissances de la morphologie du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. : étude *in situ* et *in vitro* du développement morphogénétique des appareils végétatif et reproducteur. Thèse de Doct. 3<sup>ème</sup> cycle, USTHB, Alger, 201p.

- Bounaga N., 1975. Comportement du *Fusarium oxysporum* F.s.p *albedinis*. (KILLIAN et MAIRE), GORDON, en présence de composés glucidiques. Thèse de Doctorat de 3<sup>ème</sup> cycle Université d'Alger.
- Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annals of Biochemistry*, 72: 248-254.
- Bruce R.J., West C.A., 1982. Elicitation of lignin biosynthesis and isoperoxidase activity by pectic fragments in suspension cultures of castor bean. *Plant Physiology*, 91: 889-897.
- Buchanan, B. B., Gruissem, W. & Jones, R. L. (2001). *Biochemistry & molecular biology of plants*. Edited by Buchanan, B. B., Gruissem, W., Jones, R. L. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland.
- Campbell M.M. et Ellis B.E., 1992. Fungal elicitor-mediated responses in pine cell cultures: cell wall-bound phenolics. *Phytochemistry*, 31, 737-742.
- Chettouh O., Belhadj L. et Kias N., 2008. Analyse biochimique des composés pariétaux dans les plantes de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) chez trois cultivars l'un résistant « Takerbucht » et deux sensibles « Deglet-Nour » et « Tgazza » au *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* agent du bayoud. Diplôme des études supérieures, USTHB, 78p.
- Clériveret A. et El Modafar C., 1994. Vascular modifications in *Platanus acerifolia* seedlings inoculated with *Ceratocystis fimbria*. fsp *platani*. *European Journal of Pathology*, 24:1-10.
- Cronquist A., 1991. The Evolution and Classification of Flowering Plants. *New Phytologist*, Vol. 117, (3), 513p.
- Díaz-Vivancos P., Rubio M., Mesonero V., Periago P.M., Ros Barcelo A., Martínez-Gómez P., et Hernández J.A., 2006. The apoplastic antioxidant system in *Prunus*: response to long-term plum pox virus infection. *Journal of Experimental Botany*, 57: 3813–3824.
- Djerbi M., 1988. Les maladies de palmier dattier. Projet régional de la lutte contre le bayoud. FAO/UNDP/RAB/84/018/Alger. Pp127.
- Djerbi M., 1990. Méthodes de diagnostic du bayoud du palmier dattier. Projet de la lutte contre le bayoud. FAO/PNUD/RAB/88/024. Pp607.
- El Houmaizi M. A., Saaidi M., Oihabi A. et Cilas C., 2002. Phenotypic diversity of date-palm cultivars (*Phoenix dactylifera* L.) from Morocco. *Genetic Resources and Crop Evolution* 49 (5) : 483-490.
- El Mansouri I., Mercado J.A., Domenech N.S., Alfaro F.P., Valpuesta V. and Quesada M.A., 1999. Biochemical and phenotypical characterisation of transgenic tomato plants overexpressing a basic peroxidase. *Plant Physiology*, 106: 355-362.
- El Modafar C., 2010. Mechanisms of date palm resistance to Bayoud disease: Current state of knowledge and research prospects. *Physiological and molecular plant pathology*, 74: 287-294

El Modafar C., Tantaoui A. and El Boustani E., 2000. Changes in cell wall-bound phenolic compounds and lignin in roots of date palm cultivars differing in susceptibility to *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Journal of Phytopathology, 148: 405-408.

El Modafar C., Tantaoui A. and El Boustani E., 2001. Differential induction of phenylalanine ammonia-lyase activity in date palm roots in response to inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* and to elicitation with fungal wall elicitor. Journal of Plant Physiology, 158 :715-722.

FAOSTAT, 2014 – <http://faostat3.fao.org/default.aspx>, consulté en JUIN 2016.

Fielding J.L. and Hall J.L., 1978. Biochemical and cytochemical study of peroxidase activity in roots of *Pisum sativum*. Distribution of enzymes in relation to root development. Journal of Experimental Botany, 28: 983-992.

Franke R., Fry S. C. and Kauss H., 1998. Low-molecular-weight precursors for defense-related cell wall hydroxycinnamoyl esters in elicited parsley suspension cultures. Plant Cell Rep. 17, 379-383.

Graham M.Y. et Graham T.L., 1991. Rapid accumulation of anionic peroxidases and phenolic polymers in soybean cotyledon tissues following treatment with *Phytophthora megasperma* sp. *glycinea* wall glucan. Plant Physiology, 97 : 1445-1455..

Guignard J.L., 2000. Biochimie végétale. 2<sup>ème</sup> éd. de l'abrégé Dunod (Paris). 274p.

Harborne J.B., 1980. Plant phenolics in Encyclopedia of Plant Physiology, Vol.8, Secondary Plant Products, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp:329-395.

Liyama K., Tuyet T.B. and Stone B.A., 1994. Covalent cross-links in the cell wall. Plant Physiology, 104: 315-320.

Ikegawa, T., Mayama S., Nakayashiki H. and Kato H., 1996. Accumulation of diferulic acid during the hypersensitive response of oat leaves to *Puccinia coronata* sp. *avena* and its role in the resistance of oat tissues to cell wall degrading enzymes. Physiological and Molecular Plant Pathology, 37, 245-256.

Kobayashi A., Koghuchi Y., Kanzaki H., Kajiyama S.L. and Kawazuki., 1994. A new type of antimicrobial phenolics produced by plant peroxidase and its possible role in the chemical defense systems against plant pathogens. Zeitschrift für Naturforschung, 49: 411-414.

Lagrimini L.M., 1991. Wound-induced deposition of polyphenols in transgenic plants overexpressing peroxidase. Plant Physiology, 96: 577-583.

Lin CC, Kao CH, 1999. NaCl induced changes in ionically bound peroxidase activity in roots of rice seedlings. Plant soil, 216: 147-153. Louvet et al, 1970 ;

Monties B., 1980. Polymères végétaux. Edition Gauthier Villard, Paris.

Munier P., 1973. Le Palmier dattier Techniques agricoles et productions tropicales, Maison Neuve & Larose, Paris.



Nicholson R L. and Hammerschmidt R., 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. - Annual Review of Phytopathology, 30: 369-389.

Oihabi A., 1991. Étude de l'influence des mycorhizes à vésicules et arbuscules sur le Bayoud et la nutrition du palmier dattier. Thèse de Doct. d'état, Univ. de Marrakech, 199p.

Rahmania F., 1982. Contribution à la connaissance du palmier-dattier, *Phoenix dactylifera* L. et de l'agent du bayoud, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Killian et Maire) Gordon. Aspects ultrastructuraux des relations hôte-parasite. Doct. Spéc. 3<sup>ème</sup> cycle, USTHB, Alger, 122p.

Rahmania F., 2000. Contribution à la connaissance des relations hysto-cytophysiologique entre le palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L. et l'agent causal du Bayoud, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Killian et Maire) Gordon. Thèse Doct. d'Etat, USTHB, Alger, 156p.

Redaouia F. et Talbi L., 1996. Etude histologique des racines du Palmier dattier «*Phoenix dactylifera* L.» en relation avec la symbiose endomycorhyzienne. Mémoire de DES (USTHB) Alger, 34p.

Ride J.P., 1983. Cell walls and other structural barriers in defense. In: Callow, J.A. (Ed.), Biochemical Plant Pathology. Wiley, Chichester, pp. 215–236.

Roland J.C., 1980. Ultra structure et texture des polysaccharides dans la paroi des cellules végétales. In Monties, p 47-48.

Saaidi M., 1979. Contribution à la lutte contre le bayoud, Fusariose du palmier dattier. Thèse de doctorat de l'Université de Dijon, 140p.

Saaidi M., Toutain G., Bennerot H. et Louvet J., 1981. La sélection du palmier dattier *Phoenix dactylifera* pour la résistance au Bayoud. Fruits, **36** (4), pp: 241-249.

Sedra M.H., 2002. Rapport du diagnostic des échantillons de palmes atteintes de bayoud en Mauritanie. Projet oasis, Mauritanie.

Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungsticacid reagents. Am J Enol Vitic 16:144-158

Tan K.S., Hoson T., Masuda Y. and Kamisaka S., 1991. Correlation between cell wall extensibility and the content of diferulic and ferulic acid in cell walls of *Oryza sativa* coleoptiles grown under water and in air. Physiol Planta, **72**, 397- 403.

Tognolli M, Overney S, Penel C, Greppin H, Simon P. 1999. A genetic and enzymatic survey of *Arabidopsis thaliana* peroxidases. Plant Peroxidase Newsletter, 14: 3-13.

Toutain G., 1967. Le palmier dattier culture et production (AL AWAMIA) pp83-151.

Toutain G. et Louvet J., 1974. Lutte contre le Bayoud. IV. Orientations de la lutte au Maroc. AlAwamia, 53: 114-162.

Trease E. et Evans W. C., 1987. in Karumi Y. Onyeyili P.A. and Ogugduaja V.O., 2004.

Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia*. *Journal of Medicine and Scintific*, 4(3): 179-182.

Vance C. P., Kirkt K. et Sherwood R.T., 1980 – Lignification as a mechanism of disease resistance. *Ann. Rev. phytopathol.* 18: 259-288.

Ziouti A., el Modafar C. et El-Boustani E., 1998- Rôle des composés phénoliques du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) dans sa défense contre le bayoud (*Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*). *Polyphenols* 98, pp: 457-458.

Zohary D., Hopf M. & Weiss E. 2012 – Domestication of plants in the Old World. 3e édition. New York, Oxford University Press, 264 p.( Zohary *et al.* 2012)