

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة البليدة 1

Université de Blida1



Faculté des sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Populations et des Organismes

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme Master 2 en :

Option : Génomique et Biotechnologie Végétale

Thème

Détermination de la dose de filtrat de culture de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* pour la sélection de mutants de palmier dattier

Présenté par :

Soutenu le : 08/10/2017

ZEMMOUCHI Fouzia

Devant le jury :

- Mme BENASSEL N.	Maître assistante A	BD1	Présidente
- Mme CHERIF H.	Maître de conférences B	BD1	Examinatrice
- Mme ABED F.	Chargée de recherche	INRAA	Promotrice
- Mme AYADI R.	Maître de conférences B	BD1	Co-promotrice

Promotion : 2016 / 2017.

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant qui m'a donné la force, la santé, la foi et de m'avoir permis d'arriver à ce stade.

C'est avec un grand plaisir que je réserve ces lignes en signe de gratitude et de reconnaissance à tous ceux et toutes celles qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail. Et qui pendant cette période de mémoire m'ont dirigée, soutenue, aidée et encouragée.

Tout d'abord, je tiens à exprimer ma gratitude et mes remerciements chaleureux à Mme Dj. YATTA, Directrice de la Division Biotechnologiques et Amélioration des plantes (INRAA), pour m'avoir accueilli dans son laboratoire.

J'exprime ma très grande gratitude et mes remerciements à ma promotrice, Mme F.ABED, Chargée de recherche à l'Institut National de Recherche Agronomique d'Algérie, pour la confiance et l'intérêt qu'elle m'a porté pour cette étude, m'a consacré, ses critiques constructives, sa rigueur scientifique et pour les documentations qu'elle m'a fournies qui m'ont été très utiles pour mener à bien ce travail.

Egalement mes remerciements s'adressent à ma Co-promotrice, Mme R.AYADI, pour ses conseils avisés et m'ont été précieux pour la rédaction du présent manuscrit, et qui ont été à chaque fois fructueux, sa contribution, son aide et ses orientations. Merci infiniment.

Mes vifs remerciements sont également adressés à l'ensemble des membres du jury, pour leur disponibilité et l'intérêt qu'ils ont accordé au présent travail :

À Mme N.BENASSEL, pour l'honneur qu'elle m'avoir fait de présider le jury.

À Mme H.CHERIF, pour m'avoir acceptée d'examiner et évaluer ce travail.

J'exprime aussi mes remerciements les plus s'insèrent à tout le personnel de la Division de recherche en Biotechnologie et Amélioration des Plantes de l'INRAA, en particulier Mr Med.s. YAKHOU, Mr S. BOUZAA, Mr N. BOUFIC et Mme C. BENHAFSI, pour leur accueil et l'aide. J'ai vraiment passé d'agréables moments en leur compagnie.

Mes remerciements vont également à Mr H. BACHIRI, pour son précieux aide, et pour la réalisation des analyses statistiques. Merci infiniment.

Mes remerciements s'adressent aussi à Mlle S. Ezzouaoui, pour le temps qu'elle m'a consacré et son aide, et pour sa gentillesse, et ses encouragements.

Mes vifs remerciements vont également à Mlle CHAKLAL. Khadidja et Mlle KHESSANI. Hanane, pour leur soutien et l'aide durant la période du stage. J'ai vraiment passé des moments inoubliables avec elles. Merci infiniment.

J'exprime aussi mes remerciements à tous les enseignants, mes collègues et mes amis du département de Biologie à l'université de Blida 1.

Enfin, je ne pourrais finir sans penser à ma famille dont l'affection, l'amour, le soutien et l'encouragement constants m'ont été d'un grand réconfort et ont contribué à l'aboutissement de ce travail, surtout ma cher tente, c'est grâce à elle, que j'ai pu poursuivre le chemin du savoir et de la lumière. Vous êtes notre mère, je dis tout simplement merci.

Dédicace

Je dédie ce travail tout d'abord

A mes deux parents qui m'ont soutenue tout au long de mes études,
qui ont partagés tous les moments de joie et également les moments
plus difficiles, qui n'ont jamais cessé de m'encourager et m'aider
dans mes études et dans la vie également.

Papa, maman, ma tante, Didi, je vous dis merci, et que Dieu vous
protège pour nous.

A mes frères Mohamed et Imaddine

A toute la famille Zemmouchi, Atek et Kadri

A mes chères cousines : Hassina, Nabila, Soumia et Zola

A mes chères amies : Asma, Bouchra, Faiza, Hanane, Imene, Lydia
Nassima et Sihem

A mes amis : Fatima, Soumia, Souhila et Raouf

A toute la promotion Génomique et Biotechnologie végétale

A tous ceux et toutes celles qui ont contribué de près

Ou de loin à l'avancement de ce travail

A tous ceux qui me sont chers A toute personne qui me connaît.

Fouzia

Liste des Abréviations

°C : degré Celsius.

Cm : Centimètre

DN : Deglet Nour.

ER : Enroulement.

FAO : Food and Agriculture Organization.

FE : Feuille Entière.

F.o.a : *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*.

f.sp : forme spéciale.

INRAA : Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie.

M : Mort (dessèchement total de la feuille).

ml : Millilitre.

mm : Millimètre.

MS : Murashig et Skoog (1962).

N : Nécrose.

PdA : Potato Dextrose Agar

pH : Potentiel d'hydrogène.

SR : Souche Référence.

% : Pourcentage.

Liste des figures

Figure 1 : La production mondiale de dattes en tonnes (FOA).....	6
Figure 2 : Evolution de la production totale de datte de l'Algérie en Qx.....	7
Figure 3 : Symptômes de la fusariose vasculaire du palmier dattier causée par <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Albedinis</i>	13
Figure 4 : Vitroplants de cultivars Deglet-Nour	24
Figure 5 : Filtrats de culture de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i>	24
Figure 6 : Obtention des feuilles détachées	27
Figure 7 : Microfiltration avec le microfiltre nalgene	29
Figure 8 : Stérilisation de solution de filtrat de culture à l'aide de la pompe sous-vide	29
Figure 9 : Disposition de matériels nécessaires pour l'expérimentation sous la hotte à flux laminaire	30
Figure 10 : schéma récapitulatif des différentes étapes de protocole expérimental.....	32
Figure 11 : Les symptômes observés lors de l'expérimentation	35
Figure 12 : Absenace des symptômes chez le témoin	35
Figure 13 : Quelques exemples de mesure de la longueur de la feuille entière et de la surface nécrosée des deux souches SR et F5 en (cm) après la mise en culture	36
Figure 14 : Evolution des symptômes via la toxine lors de la mise en culture	38
Figure 15 : Evolution de la surface nécrosée des deux souches	41
Figure 16 : Evolution de l'enroulement des feuilles de 7 doses calculé après un mois de culture.....	42
Figure 17 : Evolution de dessèchement total des feuilles des deux souches	44
Figure 18 : Courbe de pourcentage d'évaluation des feuilles nécrosées via la toxine F5	45
Figure 19 : Courbe de pourcentage d'évaluation des feuilles nécrosées via la toxine SR	46

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Les composants du milieu de germination du GMP pour 1L	26
Tableau 2 : Les composants et leurs concentrations du milieu Czepeck	28
Tableau 3 : Les volumes utilisés pour chaque dose en (ml)	31
Tableau 4 : Résultats de l'analyse factorielle de la variance pour apprécier l'effet des toxines de <i>Foa</i> sur les deux souches pour l'apparition de Nécrose	40
Tableau 5 : Résultats de l'analyse factorielle de la variance pour apprécier l'effet des toxines de <i>Foa</i> sur les deux souches pour l'enroulement des feuilles	42
Tableau 6 : Résultats de l'analyse factorielle de la variance pour apprécier l'effet des toxines de <i>Foa</i> sur les deux souches pour le dessèchement des feuilles	43
Tableau 7 : Pourcentage des feuilles nécrosées à partir de moyen général de nécrose de F5	45
Tableau 8 : Pourcentage des feuilles nécrosées à partir de moyen général de nécrose de SR	46

Le palmier dattier s'expose à des différents types de maladies telles que le Bayoud, qui est causé par un champignon appelé *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. La sélection des palmiers productifs nous a permis d'obtenir une bonne qualité dattière et une résistance à la maladie. La voie privilégiée de la sélection nécessite une méthodologie rigoureuse contre la menace des palmiers dattiers.

L'expérimentation nous a permis de révéler l'effet des toxines de filtrat de culture de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (*F.o.a*) sur les feuilles détachées de vitroplants de cultivar Deglet-Nour (sensible), étudiée durant un mois, cette expérimentation est réalisée sur deux souches de *F.o.a* : une souche de référence (SR) et une souche F5, afin de sélectionner la souche la plus agressive.

Après avoir mesuré la surface nécrosées et observer l'état des feuilles, on est passé à l'analyse statistique de la comparaison des moyennes et leurs écart-types et l'analyse de la variance à deux critères les toxines (F5 - SR) et les doses (0, 10, 20, 30,40, 50 et 60%), qui nous on montré à la fin une différence très hautement significative de la nécrose et une différence hautement significative de dessèchement des feuilles due au l'interaction de filtrat de culture de *F.o.a* avec les feuilles détachées.

On constate que l'effet le plus important des doses sur la nécrose est celui de la 60 %.

Enfin, les résultats présentés et discutés dans ce travail qui permet de mettre en évidence que la souche algérienne F5 est la plus agressive. Cette étude ouvre une voie de recherche intéressante permettant d'une part d'appliquer la dose 60 % de filtrat de culture de *F.o.a* sur les mutants de cultivars Deglet Nour pour voir la résistance de ces dernier au Bayoud et d'autre part d'envisager une application pratique dans la sélection *in vitro* des variétés résistantes.

Mots clés : Palmiers dattiers, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, filtrat de culture, Bayoud, mutants, doses.

The date palm is exposed to different types of diseases such as Bayoud, which is caused by a fungus called *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*. The selection of productive palms has allowed us to obtain a good date quality and a resistance to the disease. The preferred route of selection requires a rigorous methodology against the threat of date palms.

The experiment allowed us to reveal the effect of culture filtrate toxins *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (*F.o.a*) on detached leaves of Deglet-Nour cultivar (sensitive), studied for one month, this experiment is carried out on two strains of *F.o.a*: a reference strain (SR) and a strain F5, in order to select the most aggressive strain.

After measuring the necrotic surface and observing the condition of the leaves, we proceeded to the statistical analysis of the comparison of means and their standard deviations and analysis of the two-criteria variance toxins (F5 - SR) and the doses (0, 10, 20, 30, 40, 50 and 60%), which we have shown in the end a very highly significant difference in necrosis and a highly significant difference in leaf dryness due to the interaction of filtrate of *F.o.a* culture with loose leaves.

It is found that the most important effect of the doses on the necrosis is that of the 60%.

Finally, the results presented and discussed in this work highlight the fact that the Algerian strain F5 is the most aggressive. This study opens an interesting line of research allowing on the one hand to apply the 60% dose of *F.o.a* culture filtrate on Deglet Nour cultivars mutants to see the resistance of the latter to Bayoud and on the other hand to consider a practical application in the in vitro selection of resistant varieties.

Key words: Date palms, *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*, culture filtrate, bayoud, mutants, doses.

يتعرض نخيل التمر لأنواع مختلفة من الأمراض مثل البيوض الذي يسببه فطر يسمى *f.sp albedinis Fusarium oxysporum*. وقد أتاح لنا اختيار أشجار النخيل للحصول على نوعية جيدة ومقاومة للمرض. إن الطريق المفضل للاختيار يتطلب منهجية صارمة ضد خطر نخيل التمر.

سمحت لنا التجربة بالكشف عن تأثير ترشيح السموم *Fusarium oxysporum f.sp albedinis (F.o.a)* على أوراق منفصلة من صنف Deglet-Nour (حساس)، درس لمدة شهر واحد، أجريت هذه التجربة على سلالتين من *F.o.a*: سلالة مرجعية (SR) وسلالة F5، من أجل اختيار السلالة الأكثر عدوانية.

بعد قياس سطح النخر ومراقبة حالة الأوراق، انتقلنا إلى التحليل الإحصائي لمقارنة الوسائل وانحرافات المعيارية وتحليل سموم التباين ذي المعيارين (SR- F5) والجرعات (0، 10، 20، 30، 40، 50، 60%)، والتي أظهرت في النهاية انه يوجد فرق مرتفع جدا في النخر وفرق كبير في جفاف الأوراق بسبب تفاعل *filtrat de culture* مع الأوراق المنفصلة.

وجدنا أن أهم تأثير للجرعات على النخر هو عند نسبة 60%.

وأخيرا، فإن النتائج المقدمة والمناقشة في هذا العمل تسلط الضوء على حقيقة أن السلالة الجزائرية F5 هي الأكثر عدوانية. هذه الدراسة تفتح مسارا للبحث مثيرا للاهتمام يسمح من جهة لتطبيق جرعة 60% ترشيح *filtrat de culture* على صنف Deglet-Nour المسوخ لرؤية مقاومة هذا الأخير للبيوض وثانيا النظر في تطبيق عملي لاختيار أصناف مقاومة *in vitro*.

الكلمات المفتاحية: أشجار التمر، *Fusarium oxysporum f.sp albedinis*، *filtrat de culture*، البيوض، المسوخ، الجرعات.

TABLE DES MATIERES

Remerciements

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

ملخص

INTRODUCTION..... 1

Première partie : Synthèse bibliographique

I. Palmier dattier	3
I-1- Taxonomie et classification	3
I-2- Caractéristiques botaniques	3
I.2.1. Système racinaire	3
I.2.2. Stipe (tronc)	3
I.2.3. Palmes	4
I.2.4. Organes floraux	4
I.2.5. Le Fruit	4
I.2.6. Graines	4
I-3-Exigences écologiques du palmier dattier	5
I-4-Répartition géographique et Importance économique	5
I.4.1. Dans le monde	5
I.4.2. En Algérie	5
I.4.3. La production mondiale de dattes	6
I.4.4. La production en Algérie	7
I-5- Cycle de développement	7
I-6- Mode de multiplication chez le palmier dattier	8
I.6.1. Voies classiques de multiplication	8
I.6.1.1. Multiplication Sexuée (par semis)	8

TABLE DES MATIERES

I.6.1.2. Multiplication Asexuée (plantation des rejets)	8
I.6.2. Voies modernes de multiplication	9
I.6.2.1. L'organogenèse	9
I.6.2.2. L'embryogenèse somatique	10
I-7- Pathologie du palmier dattier	10
II. La maladie du Bayoud	11
II-1-Historique et progression de la maladie	11
II-2- L'agent pathogène	12
II-3- Symptômes de la maladie	13
II. 3.1. Symptômes externes	13
II.3.2. Symptômes internes	14
II-4- Pénétration dans le palmier dattier et progression du champignon	14
II-5- Epidémiologie	14
II-6- Moyens de luttés contre la maladie du « Bayoud »	15
II.6.1. Les mesures prophylactiques	15
II.6.2. Les techniques culturales	15
II.6.3. La lutte chimique	15
II.6.4. La lutte biologique	16
II.6.5. La lutte génétique	16
III. La sélection <i>in vitro</i>	16
III-1- La Technologie de culture <i>in vitro</i>	16
III.1.1. Conditions et composition des milieux	17
III.1.1.1. Sel minéraux	17
III.1.1. 2. Le sucre	17
III.1.1.3. Vitamines	17
III.1.1.4. Les compléments	18
III.1.2. Facteurs de milieu	18
III.1.2.1. Stérilisation du milieu.....	18
III.1.2.2. La température	19
III.1.2.3. L'éclairément	19
III.1.2.4. L'eau	19
III-2- Les méthodes utilisées dans la sélection variétale	19
III.2.1. Méthodes classiques	19

TABLE DES MATIERES

III.2.2. Les nouvelles méthodes	19
III-3- L'intérêt pratique des mutations provoquées par les radiations, dans l'amélioration des plantes cultivées	20
III-4- Sélection <i>in vitro</i> des plantes	21
<u>Deuxième partie : Matériels et méthodes</u>	
I- Matériel	23
I.1. Matériel biologique	23
I.1.1. Matériel végétal	23
I.1.2. Matériel fongique	24
I.2. Matériel non biologique	25
II- Méthodes	25
II.1. Stérilisation du matériel de laboratoire	25
II.2. Stérilisation des milieux de cultures	25
II.3. Préparation du milieu de culture solide	25
II.4. Repiquage	27
II.5. Obtention des feuilles détachées de vitroplants	27
II.6. Préparation de filtrat de culture	28
II.7. Condition de culture	29
II.8. Protocole d'expérimentation	30
II.9. L'analyse statistique	33
<u>Troisième partie : Résultats et discussion</u>	
I. Les résultats obtenus lors de l'expérimentation	34
II. Effet des doses de filtrat de culture de <i>F.o.a</i> sur les feuilles détachées	39
II.1. Réaction des feuilles en présence de filtrat de culture <i>F.o.a</i>	39
II.2. Effet de différentes doses de filtrat en fonction des souches	39
CONCLUSION.....	49
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	50
ANNEXES	

Introduction :

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est une monocotylédone dioïque pérenne native des régions chaudes et arides du monde, il est cultivée principalement au Moyen-Orient et en Afrique du Nord (**Munier 1973**).

Depuis des temps immémoriaux, cet arbre majestueux est connu comme “l’arbre de vie” à cause de son intégration incontournable dans la vie saharienne.

En effet, le palmier dattier constitue l’élément fondamental de l’écosystème oasien où il joue un rôle économique primordial, grâce à la production de dattes et de différents sous-produits (pâte, farine, sirop, vinaigre, levure, alcool, confiserie...) qui sont à la base de l'alimentation humaine et animale dans les régions sahariennes. En outre, il assure sur le plan social la stabilité des populations qui vivent dans ces régions (**Bouguedoura et al., 2015**).

La maladie la plus redoutable dans les palmeraies d’Afrique du Nord est la fusariose vasculaire du palmier dattier dénommée « Bayoud » causée par le *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (F.o.a). Elle fait partie des maladies d’origine tellurique contre lesquelles, il est difficile de lutter. La lutte génétique par l’utilisation des variétés ou cultivars résistants au Bayoud est le moyen préconisé pour lutter contre le bayoud (**Perreau-Leroy, 1958 ; Louvet et Toutain, 1973 ; Saaidi et al., 1981 ; Djerbi et al., 1986**). La sélection pour le caractère de résistance à la maladie, nécessite la mise au point de tests simples, rapides et complémentaires qui permettent de trier le matériel génétique résistant ou de confirmer sa résistance au stade plantule.

De nombreux résultats se sont accumulés sans que la maladie du bayoud ne soit éradiquée.

Les quelques variétés supposées résistantes se sont avérées de qualité commerciale peu intéressante mais elles restent importantes dans le cadre de leur utilisation dans la lutte contre le Bayoud. C’est pourquoi leur multiplication par voie biotechnologique principalement par embryogenèse somatique se poursuit.

Une autre approche se développe au sein des équipes de recherche ; c’est la création de variétés alliant la résistance et la bonne qualité dattière soit par mutagenèse soit par fusion de protoplastes. En effet, cette création n’est pas aisée par les voies classiques de croisements dirigés, la plante étant dioïque et hétérozygote.

C’est dans ce contexte que s’inscrit ce présent travail dans le cadre d’un projet de recherche de l’INRAA (Institut National de la Recherche Agronomique d’Algérie) en coopération avec l’AIEA (Agence Internationale de l’Energie Atomique) a eu comme objectif de combiner les cultures *in vitro* et les radiomutagenèses pour l’obtention de mutants de la variété Deglet Nour résistants, tout en conservant

sa qualité dattier. Des mutants sont alors obtenus et sont en voie d'évolution sur le terrain (**Abed et al., 2006**).

Afin de développer les tests d'évolution de la résistance, notre étude a pour objectif de déterminer la dose de filtrat de culture pour la sélection des plantules *in vitro* tout en utilisant des feuilles détachées. Cette méthode non destructives et permet de garder les plantules en vie. Elle est composée de deux parties à savoir:

- ✓ Etude de l'effet de différentes doses de filtrat de culture de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* sur les feuilles détachées de vitroplants.

- ✓ Etude de l'agressivité de deux souches de Foa sur les feuilles détachées de vitroplants de cultivars Deglet-Nour sensible. Afin de sélectionner la souche la plus agressive pour les études ultérieures,

I. Palmier dattier

I-1- Taxonomie et classification

Le palmier dattier a été dénommé par Linné en 1734 « *Phoenix dactylifera* L. », est appartient à l'une des plus grandes familles d'angiospermes monocotylédones, celle des *Palmaceae* ou *Arecaceae*, représentée par 200 genres et 2700 espèces, répartie en six sous-familles, qui permet de la placer au 14^{ème} rang après les graminées, les liliacées et les orchidées. Le genre *Phoenix* comprend 14 espèces réparties dans les régions tropicales et subtropicales de l'Ancien Monde (**Barrow, 1998; Govaert et Dransfield, 2005; Henderson, 2009**). Le dattier est la seule espèce de ce genre à être cultivée pour ses fruits (**Chowdhury et al., 2008; Newton et al., 2013; Littardi, 2015**).

La classification phylogénétique APG II (2003) et APG III (2009), rattache *Phoenix dactylifera* L. à l'ordre des Arécales inclus dans le clade des Commélinidées. Cet ensemble comporte environ 21000 espèces caractérisées par un marqueur chimique l'acide férulique, présent au niveau de la paroi pectocellulosique, des vaisseaux parfaits (**Dupont, 2007**).

I-2- Caractéristiques botaniques

I.2.1. Système racinaire

Le système racinaire du palmier dattier est fasciculé c'est-à-dire qu'il est disposé en faisceaux de racines plus ou moins riches en radicelles. Le bulbe ou plateau racinaire est volumineux et émerge en partie au-dessus du niveau du sol. Le système racinaire du palmier dattier (Figure 1/ annexe 1) présente quatre zones d'enracinement (**Munier, 1973 ; Djerbi, 1994**).

- Racines respiratoires (zone I) : ne dépassent pas 0.2 à 0.25 m de profondeur. Elles ont un rôle respiratoire.

- Racines de nutrition (zone II) : représentant la plus forte proportion des racines du système. Elles se situent entre 0.3 et 1.2 m de profondeur.

- Racines d'absorption (zone III) : elles sont plus moins importantes selon le mode de culture et la profondeur du niveau de la nappe phréatique.

- Racines absorption de profondeur (zone IV) : elles peuvent être importantes ou non, selon que le niveau de nappe est élevé ou non.

I.2.2. Stipe (tronc)

Au-dessus de sa partie basale, il est généralement de forme cylindrique pouvant atteindre ou dépasser une hauteur de 20 mètres. Son élongation se fait à partir de la partie coronaire par le bourgeon terminal ou phyllophore (**Munier, 1973**) (Figure 1/ annexe 1).

I.2.3. Palmes

Les palmes du palmier dattier sont composées, pennées et longues de 4 à 7 mètres, dont les folioles sont régulièrement disposées en position oblique le long du rachis (Figure 2/ annexe 1). Au cours de sa vie, le palmier dattier produit trois types de feuilles: les feuilles juvéniles, les feuilles semi-juvéniles et les feuilles adultes. Les palmes adultes demeurent actives durant trois à sept ans selon la variété et le mode de culture (**Bouguedoura, 1991; Peyron, 2000**).

I.2.4. Organes floraux

Les inflorescences du dattier sont issues du développement des bourgeons axillaires situés à l'aisselle des palmes de la région coronaire (Figure 3/ annexe 1). A son apparition, l'inflorescence est un spadice (sac conique), formé d'une enveloppe fibreuse et rigide de couleur marron claire (**Gasmi, 2012**).

Les fleurs du dattier sont portées par des pédicelles et selon le sexe, on peut distinguer deux types de fleurs (**Munier, 1973; Sedra, 2003**) (Figure 4/ annexe 1):

-Fleurs femelles : de forme globulaire avec un calice légèrement bordé en vert et une corolle de couleur blanc ivoire. La formule florale est comme suit : $(3S) + 3P + 6E + 3C$.

-Fleurs mâles : de forme légèrement allongée avec un calice et une corolle de couleur blanc ivoire. La formule florale est comme suit : $(3S) + 3P + 6E$.

En moyenne, un pied femelle peut produire une douzaine de spathes (**Munier, 1973**).

I.2.5. Le Fruit

Communément appelé *T'mar*. Il provient du développement d'un des carpelles après fécondation de l'ovule. Les fruits sont des drupes qui forment de longues grappes ou régimes. La datte est constituée d'une partie charnue, la chair ou pulpe et d'une graine (**Gasmi, 2012**).

Selon le type de datte, on peut distinguer des variétés à dattes molles, demi-molles ou sèches (**Munier, 1973**).

I.2.6. Graines

Comme le fruit, les dimensions ainsi que le poids de la graine varient en fonction de la variété, des conditions environnementales et culturelles du pied mère (**Zaid et al., 2002**).

La graine est de forme allongée de 2 à 3 cm de longueur, plus au moins volumineuse, lisse ou pourvue de protubérances latérales en arête ou en ailette, avec un sillon ventral. Sa consistance est dure, l'embryon est circulaire et l'albumen corné est formé de matière cellulosique (Figure 5/ annexe 1) (**Munier, 1973**).

I-3-Exigences écologiques du palmier dattier

Le palmier dattier est cultivé comme arbre fruitier dans les régions chaudes arides et semi-arides. Cet arbre s'adapte à de nombreuses conditions grâce à sa grande variabilité (**Gilles, 2000**).

Le palmier dattier offre de larges possibilités d'adaptation, c'est une espèce thermophile qui exige un climat chaud. C'est un arbre qui s'adapte à tous les sols. Il est sensible à l'humidité pendant la période de pollinisation et au cours de la maturation (**Munier, 1973 ; Ozenda, 2004**).

I-4-Répartition géographique et Importance économique

I.4.1. Dans le monde

Le palmier dattier est localisé dans l'hémisphère nord, là où les conditions climatiques le permettent. Un adage arabe évoque ces conditions climatiques et écologiques que la culture du dattier requiert: «le palmier dattier vit les pieds dans l'eau et la tête au soleil». Il nécessite en effet des températures élevées, une faible hygrométrie mais une humidité édaphique constante (**Zohary et al., 2012**).

L'aire de répartition du palmier dans le monde, couvre les cinq continents. La culture du palmier dattier s'étend depuis le sud de l'Iran à l'Est, jusqu'à la côte Atlantique de l'Afrique du Nord à l'Ouest. Cette culture est concentrée dans les régions arides et semi arides du continent Africain, où le palmier dattier forme la végétation caractéristique des oasis.

Les limites extrêmes de la distribution géographique sont entre les altitudes 10° Sud (Somalie) et 39° Nord (Espagne ou Turkménistan). Les secteurs les plus favorables pour cette culture sont situés entre 24° et 34° Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, Egypte, Irak, Iran, Arabie Saoudite, Soudan, ... etc.). Le palmier dattier se trouve aussi aux Etats-Unis entre 33° et 35° Nord, d'autres surfaces négligeables pour la culture du palmier dattier sont à l'hémisphère sud (Australie, Mexique, Argentine, ... etc.) (**Zaïd, 2002; Zohary et al., 2012**).

I.4.2. En Algérie

L'Algérie est un pays phoenicicole classé au sixième rang mondial et au premier rang dans le Maghreb pour ses grandes étendues de culture avec 165 378 ha et plus de 2 millions de kilomètres carrés et sa production annuelle moyenne de dattes fines exportables est de 500 000 tonnes (**Bouguedoura et al., 2010 ; Madr, 2014**).

En Algérie, le palmier dattier constitue la principale culture au Sahara algérien entre 25° et 35° latitude Nord. Elle s'étend du versant saharien de l'Atlas saharien au Nord, jusqu'à

Tamanrasset au Sud, depuis la frontière marocaine à l'Ouest jusqu'à la frontière tuniso-libyenne à l'Est.

Près d'un millier de cultivars a été inventorié en Algérie ce qui représente une diversité génétique assez importante. A ces cultivars, il faut ajouter un grand nombre de pieds francs ou « Khalts » qui poussent au hasard dans les oasis et qui représentent une source appréciable pour de nouvelles sélections de cultivars appréciables pour leurs dattes et pour leur résistance au bayoud (**Bougedoura et al., 2010 ; Bougedoura et al., 2015**).

1.4.3. La production mondiale de dattes

L'Egypte est le premier producteur mondial de dattes avec 1 465 030 T suivis de l'Iran et de l'Algérie. Malgré que la superficie du palmier dattier en Egypte est inférieure à celle de l'Algérie (44 037 ha Vs 165 348 ha en 2014). L'Egypte arrive à réaliser une production très importante par rapport à celle de l'Algérie (Figure 1).

L'Egypte est marquée par ces rendements exceptionnels, son rendement a atteint plus de 33 tonnes/ha en 2014, tandis que l'Algérie est classée parmi les pays à faibles rendements avec 5.6 tonnes/ha.

L'Arabie Saoudite a connu une chute considérable de sa production de dattes en 2014 par rapport à 2013 ce qui l'a classé derrière l'Algérie, en 4ème position. La production de dattes, du Maroc, d'Iraq et du Qatar a aussi baissé en 2014 par rapport à 2013. (**Anonyme, 2017**)

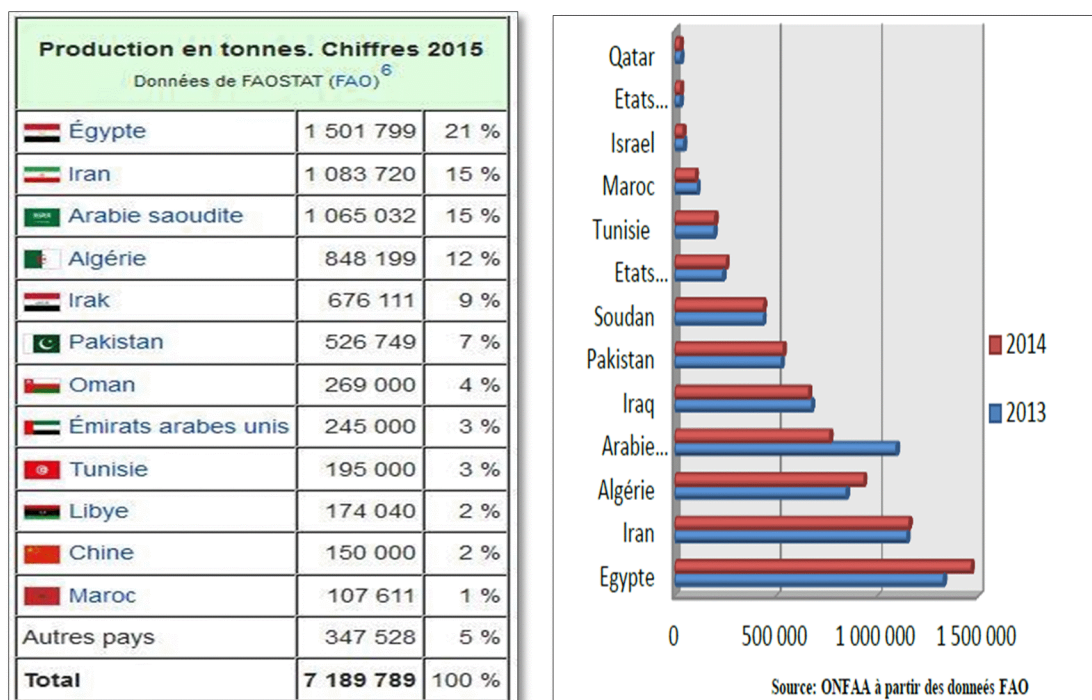


Figure 1: La production mondiale de dattes en tonnes (FAO)

I.4.4. La production en Algérie

Malgré que la production totale de dattes en Algérie ait constamment augmenté ces dernières années, l'exportation par contre a connu une importante fluctuation. C'est le constat établi dans le dernier rapport de l'Observatoire National des Filières Agricoles et Agroalimentaires (Onfaa) sur le commerce extérieur des dattes. » Après une hausse de 2009 à 2011, les exportations ont chuté pour connaître à nouveau une hausse à partir de 2013 afin d'atteindre les 31048,184 tonnes en 2016 », indique le rapport. (Imene, 2017).

La Deglet Nour a représenté 53% de la production totale de dattes en 2015. Avec 51% à Biskra, 31% à El-Oued et 13% à Ouargla.

Ces trois wilayas représentent, à elles seules, plus de la moitié de la production totale de datte en Algérie.

La production totale de dattes connaît un essor remarquable en Algérie, elle ne cesse d'augmenter depuis 2012 dont elle est passée de 600 096 de tonnes à presque 1 millions de tonnes en 2015. (Anonyme, 2017) (Figure 2).

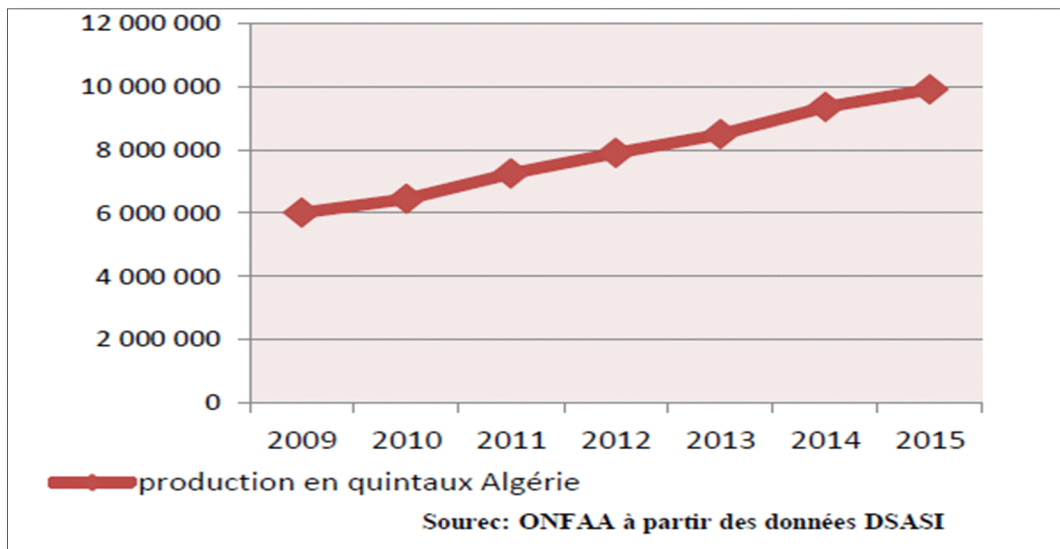


Figure 2: Evolution de la production totale de datte de l'Algérie en Qx

I-5- Cycle de développement

Le développement du palmier dattier se caractérise par trois phases distinctes :

- a- Une phase juvénile : durant ses 2 premières années, la plante porte des feuilles juvéniles sans produire des bourgeons axillaires.
- b- Une phase végétative : de la 3^{ème} année jusqu'à l'apparition de la première floraison. Chez un plant issu de semis, la première floraison peut survenir entre la 5^{ème} et la 8^{ème} année de

plantation alors que, chez un vitroplant, elle est plus précoce et se produit dès la 4^{ème} année, après émission d'une dizaine de palmes actives. Les palmiers portent des feuilles adultes à l'extérieur et des feuilles juvéniles au niveau de l'apex. Les feuilles adultes portent à leur aisselle une production très hétérogène de bourgeons axillaires de type stérile et de type végétatif à l'origine des rejets et des gourmands. **(Bouguedoura, 1991)**

c- Une phase reproductive : elle s'étend de la première floraison jusqu'à la fin de la vie de la plante. La majorité des palmes photosynthétiques portent des bourgeons axillaires inflorescentiels. Quelques rares bourgeons végétatifs fonctionnels (rejets ou gourmands) peuvent être produits. **(Ferry, 2003).**

I-6- Mode de multiplication chez le palmier dattier

I.6.1. Voies classiques de multiplication

La propagation du palmier dattier est réalisée traditionnellement soit par semis de graines (multiplication sexuée) ou par plantation des rejets (multiplication végétative) **(Abahmane, 2011).**

I.6.1.1. Multiplication Sexuée (par semis)

La multiplication sexuée par semis de graines issues de croisement (fécondation libre ou contrôlée) est la méthode la plus ancienne de propagation du dattier. Son avantage principal est qu'elle est simple dans la pratique et qu'elle agrandit la diversité génétique de l'espèce. Cette technique offre l'intérêt de maintenir un certain brassage génétique qui peut être à l'origine de génotypes de qualité et/ou adaptés à certains contextes écologiques particuliers. Elle est donc très utile dans les programmes d'amélioration classiques **(Munier, 1973 ; Aberlenc-Bertossi *et al.*, 2010 ; Al-Khalifah et Shanavaskhan, 2012).**

Cependant le palmier dattier étant une espèce dioïque très largement hétérozygote, sa multiplication sexuée engendre des descendants possédant des caractéristiques foncièrement différentes de celles du parent femelle (à multiplier), donc elle ne peut pas être utilisée pour propager des individus sélectionnés ou améliorés. De plus, les plantes issues de semis sont composées pour moitié de plantes mâles sans intérêt pour la production de dattes. En outre, l'absence de moyens pour déterminer le sexe avant l'âge adulte peut entraîner le développement de plantations désordonnées et hétérogènes **(Aberlenc-Bertossi *et al.*, 2010 ; Rajmohan, 2011 ; Al-Khalifah et Shanavaskhan, 2012).**

I.6.1.2. Multiplication Asexuée (plantation des rejets)

La multiplication végétative se fait par transplantation de rejets. Ces derniers se développent lentement à la base des palmiers, et sont produits en nombre limité, ainsi un

palmier ne produit durant toute sa vie que quelques dizaines de rejets (selon le cultivar) aptes à une bonne reprise (**Munier, 1973 ; Rajmohan, 2011**).

Les rejets appelés «*djebbars*», sont prélevés de la base du tronc et doivent avoir un diamètre d'au moins 30 cm avec un poids de 12 à 25 Kg (**Mezouane, 2012**). La séparation du rejet de son pied mère est une opération qui conditionne la reprise.

Cette technique de multiplication est donc considérée comme la plus stable et la plus efficace par les phoeniculteurs (**Cirad et Gret, 2002**).

I.6.2. Voies modernes de multiplication

Les voies modernes de multiplication reposent sur les cultures *in vitro* végétales (ou micropropagation) qui peuvent être définies comme suit : c'est la culture d'explants de plantes, sur milieu synthétique (liquide ou solide) dans des conditions stériles, un environnement contrôlé (température et photopériode) et un espace réduit (**Al-Ghamdi et al., 2002**). La micropropagation comprend trois étapes distinctes ayant chacune des conditions spécifiques (**Al-Khalifah et Shanavaskhan, 2012**):

- Etablissement d'une culture aseptique.
- Multiplication de la propagule.
- Durcissement et acclimatation des plantules.

Ces techniques reposent sur le fait que les cellules végétales sont totipotentes. Cette propriété fondamentale signifie que des cellules d'un tissu déjà spécialisées, donc différenciées, peuvent d'abord perdre cette spécialisation en revenant à un état méristématique, observé au niveau d'un cal (amas de cellules dédifférenciées) puis se différencier de nouveau pour redonner des cellules spécialisées d'un autre tissu (**Cornu et Boulay, 1986 ; Margara, 1989 ; Fehér, 2005**).

Par ailleurs, la multiplication *in vitro* du palmier dattier s'est faite pour la première fois par Ammar en 1977. La propagation *in vitro* du palmier dattier se fait essentiellement par deux techniques : l'organogenèse et l'embryogenèse somatique (**Al-Ghamdi et al., 2002 ; Sedra, 2003 ; Anjarne et al., 2005 ; Bekheet, 2013a**).

I.6.2.1. L'organogenèse

L'organogenèse est la formation de pousses adventives à partir d'un explant de plante (**Al-Khalifah et Shanavaskhan, 2012**) en utilisant un milieu de culture spécifique qui favorise l'initiation et la multiplication des bourgeons à partir de zones méristématiques préexistantes à la base des jeunes feuilles de rejets, jeunes inflorescences et bourgeons axillaires indifférenciés de palmiers dattiers adultes. Ces bourgeons évoluent en plantules

complètes qui sont transférées au champ après leur acclimatation (Sedra, 2003 ; Ait-Chitt, 2005 ; Anjarne *et al.*, 2005 ; Fki *et al.*, 2011).

L'organogenèse comprend quatre phases (Anjarne *et al.*, 2005 ; Khierallah et Bader, 2007 ; Bekheet, 2013b) :

- Initiation des bourgeons végétatifs.
- Multiplication des bourgeons.
- Elongation et enracinement des pousses.
- Acclimatation des jeunes plantules.

I.6.2.2. L'embryogenèse somatique

Cette technique est considérée comme le processus de régénération le plus efficace pour la micropropagation du palmier dattier (AL-Khayri, 2011). Un apport important de la technique des cultures *in vitro* à la biologie a montré que des cellules somatiques (à 2n chromosomes) pouvaient produire des structures comparables à des embryons, méritant l'appellation d'embryons somatiques (Margara, 1989; John et Smith, 2004). Les explants, provenant de la base de jeunes feuilles de coeurs de rejets ainsi que les inflorescences, sont cependant les plus utilisés (El Hadrami *et al.*, 1997).

Il existe deux voies d'embryogenèse somatique :

- L'embryogenèse somatique directe: elle s'opère à partir de cellules embryogènes individualisées au sein de l'explant primaire sans passage par le stade cal.
- L'embryogenèse somatique indirecte: elle est induite après une étape de multiplication cellulaire sous forme de cals embryogènes.

I-7- Pathologie du palmier dattier

Le palmier dattier, comme toute espèce végétale, se trouve sous la menace de diverses pathologies dues à des ravageurs (insectes ou acariens) ou à des parasites (champignons, bactérie, ou mycoplasmes). Parmi ces pathologies, on peut citer: la maladie de «Boufaroua», la maladie du «Djreb» et la pourriture de l'inflorescence mais la maladie la plus dévastatrice reste celle de la fusariose vasculaire appelée «Bayoud». Elle est causée par le champignon imparfait appartenant à l'espèce *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Djerbi, 1990).

Le bayoud est apparu dans la vallée du Drâa au Maroc vers 1870 et s'est propagé dans tout le territoire en détruisant 10 à 12 millions d'arbres en un siècle. Cette maladie a continué de progresser jusqu'en Algérie où elle a atteint les palmeraies des régions Metlili en 1950, Ghardaïa, en 1965 et El Goléa en 1978 en suivant un axe nord-sud où elle aurait décimé 3

millions d'arbres (**Djerbi, 1988; El Hadrami et al., 2005**). Actuellement les palmeraies de l'est de l'Algérie et de Tunisie sont menacées, d'autant plus que ce sont le centre de production de la variété Deglet Nour (très sensible au Bayoud). Cependant certains cultivars présentent une résistance au *F.o.a* tel que le cultivar Takerboucht (**Saadi, 1979**).

Différentes méthodes ont été préconisées, en vue de lutter contre le Bayoud, tel que la lutte culturale (**Tirichine, 2007**) et la lutte chimique (**Roger, 1990**), mais elles n'ont pas abouti à des résultats. Les mesures prophylactiques ont permis de ralentir la progression de la maladie sans l'arrêter définitivement. Enfin la lutte génétique (sélection des cultivars résistants) semble être la plus prometteuse (**Mahdi, 2011**).

II. La maladie du Bayoud

II-1-Historique et progression de la maladie

C'est vraiment difficile d'établir exactement la date, le lieu et les conditions dans lesquelles est apparue la maladie du « Bayoud ». Cependant, plusieurs auteurs, s'accordent sur l'origine Marocaine de la maladie (pays endémique), où elle a été observée pour la première fois dans la Vallée du Drâa, au nord du Zagora avant 1870, A cette époque, toutes les palmeraies qui bordaient l'Oued du Drâa ont été ravagées (**Malençon, 1934 ; Perreau Leroy, 1958 ; Toutain, 1965 ; Bulit et al., 1967 ; Djerbi, 1982**).

Depuis lors, le « Bayoud » progresse vers l'Ouest et atteint Foug El Hasan en 1960. Dès 1898, la maladie atteint les palmeraies de Figuig au Maroc et de Béni Ouenif en Algérie, puis Béchar en 1940, par la localisation de quelques foyers. Les palmeraies proches de ces centres sont atteintes à leur tour tel que Béni Abbès en 1908 et Taghit en 1923.

Entre 1940 et 1950, deux contaminations sont particulièrement importantes, la région d'In Salah et celle d'Adrar, respectivement vers 1943 et 1950 (**Brac De La Perriere et Benkhalifa, 1991**).

Enfin, et plus récemment, les palmeraies de Ghardaïa et d'El Goléa, sont contaminées à leur tour en 1965 et 1978 (**Djerbi, 1982 ; Brac De La Perriere et Benkhalifa, 1991**). Parallèlement, certaines palmeraies algériennes sont indemnes, notamment les palmiers de Kerzaz, de Timimoun et de la Station de Recherche de l'I.N.R.A. d'Adrar (**Brac De La Perriere et Benkhalifa, 1991**).

II-2- L'agent pathogène

L'agent pathogène (*Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis*), peut être isolé d'un palmier dattier infecté, à partir des rachis de palmes présentant les symptômes typiques du « Bayoud », en déposant, dans des conditions aseptiques, des petits fragments sur un milieu de culture à base de Pomme de terre ou sur un milieu sélectif (milieu Komada). Le *Fusarium oxysprum* f.sp. *albedinis* peut être isolé à partir de stipe ou de racine mais jamais de fruits (Malençon, 1950 ; Bulit et al., 1967 ; Ouinten, 1996) .

L'espèce *Fusarium oxysporum* peut infecter un grand nombre de plantes, souvent de façon très spécifique. Plus de 120 formes spéciales et races ont été ainsi identifiées, basées sur leur spécificité d'hôtes (O'Donnell et al., 2015), parmi lesquelles les formes spéciales *albedinis*, *lycopersici* et *ciceris* qui sont responsables, respectivement, de la fusariose vasculaire du palmier dattier, de la tomate et du pois chiche (Benzohra et al., 2015; El Komy et al., 2015; Jiménez-Díaz et al.,2015) (Figure 3).

Position systématique

La nouvelle classification taxonomique basée sur la phylogénie moléculaire selon (Debourgogne, 2013) est la suivante :

Règne : Fungi

Division : Ascomycota

Classe : Sordariomycetes

Sous-classe : Hypocreomycetidae

Ordre : Hypocreales

Famille : Nectriaceae

Genre : *Fusarium*



Figure 3: Symptômes de la fusariose vasculaire du palmier dattier causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albedinis*.

(A) sur l'arbre ; (B) sur folioles. Photos prises à Béchar, Algérie. (Benzohra *et al.*, 2015).

II-3- Symptômes de la maladie

II. 3.1. Symptômes externes

En général, les premiers signes de la maladie se manifestent par un dépérissement progressif, de la base vers l'extrémité, d'une ou plusieurs palmes au niveau de la couronne moyenne. Les folioles ou les épines situés sur le même côté de la palme se dessèchent et se replient contre la nervure principale (rachis), c'est l'attaque hémiplegique typique de la fusariose. Lorsque tout ce côté est atteint, le dépérissement commence sur l'autre côté, de l'extrémité jusqu'à la base (Bulletin OEPP/ EPPO, 2003).

En se desséchant, la palme fini par mourir et prend l'aspect d'une plume mouillée, avec une couleur blanchâtre, d'où le nom du « Bayoud », qui dérive du mot arabe « abyed » et qui veut dire blanc (Djerbi, 1990 ; Ouinten, 1996).

L'évolution du dessèchement sur les folioles s'accompagne par l'apparition d'une rayure brune longitudinale sur le rachis. Depuis, l'attaque se généralise sur la totalité des palmes du bourgeon terminal, entraînant ainsi la mort de l'arbre.

Le palmier dattier atteint, meurt 06 mois à 12 ans, après l'attaque par le *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et l'apparition des premiers symptômes de la maladie (**Bulletin OEPP/ EPPO, 2003**)

II.3.2. Symptômes internes

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

II-4- Pénétration dans le palmier dattier et progression du champignon

La pénétration du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* se fait au niveau du système racinaire, à travers les tissus très jeunes des radicelles proches de la coiffe ou bien à travers des ouvertures provoquées par diverses causes biologiques ou mécaniques (**Malençon, 1950**).

Le champignon traverse les parenchymes par voie inter puis intra cellulaire jusqu'à atteindre le cylindre central. Une fois arrivé dans les vaisseaux conducteurs du palmier dattier, le champignon s'installe et la progression est ascendante.

Par la suite, le champignon fructifie et libère des conidies qui sont entraînées par la sève montante. Arrivées et bloquées par les cloisons transversales des vaisseaux, les conidies sont arrêtées, elles germent et donnent naissance à des filaments mycéliens qui traversent la cloison. Le mycélium poursuit son développement et forme de nouvelles microconidies ; ce phénomène se poursuit jusqu'au sommet du palmier entraînant ainsi sa mort (**OEPP,1994**).

II-5- Epidémiologie

Le champignon est distribué inégalement dans le sol, présent entre 0 et 30 cm parfois jusqu'à plus de 1m de profondeur (**Tantaoui, 1989**). Il peut être alternativement saprophyte ou parasite (**Bounaga, 1985**). Il peut aussi se conserver pendant plusieurs années sous forme de chlamydospores, dans le sol, en absence de la plante hôte ou dans les tissus d'un palmier dattier infecté (**Louvet, 1977**).

La contamination s'effectue d'une manière régulière par le contact entre les racines malades et les racines saines entre les palmiers dattiers, ainsi, l'irrigation importante favorise l'expansion de la maladie.

La propagation de la maladie du « Bayoud » entre les palmeraies contaminées et celles indemnes, peut être assurée par la dispersion des conidies (**Laville, 1973**), principalement par l'échange du matériel végétal (rejets), du sol, d'outils ou de machines agricoles, ..., etc. (**Bulletin OEPP/ EPPO, 2003**). L'étendue de cette dispersion dépend aussi des pratiques culturales (fertilisation, irrigation,...) et des conditions climatiques (température, vent,...) (**OEPP, 1994**).

II-6- Moyens de luttés contre la maladie du « Bayoud »

II.6.1. Les mesures prophylactiques

Cette méthode est basée sur la protection des zones encore saines par l'interdiction d'importation du matériel en provenance des pays infectés (rejets, feuilles, etc.) (**Louvet, 1991**), ou par la mise en quarantaine de régions infectées (**Bulit et al, 1967**).

II.6.2. Les techniques culturales

Les techniques culturales contre les fusarioses vasculaires, consistent à éviter les conditions favorisant la croissance de l'agent pathogène. La maladie est moins présente en conditions d'irrigation réduites, ainsi que dans les sols à pH alcalin, riches en calcium et potassium, pauvres en phosphore et magnésium et dont l'azote est sous forme nitrique plutôt qu'ammoniacal (**Waltz et Johens, 1981 ; Ollaguiet et Renard, 1976**).

Dans les parcelles contaminées, il faut éviter les cultures du henné et de la luzerne qui nécessitent une irrigation abondante favorable à la maladie, et qui sont des porteurs sains de l'agent pathogène, *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis* (**Bulit et al., 1967**).

II.6.3. La lutte chimique

C'est l'utilisation des fongicides à action systémique ou endothérapique. L'application de ces fongicides a donné des résultats encourageants pour la lutte contre ce pathogène (*Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*), l'utilisation répétée de ces produits de synthèse entraîne souvent la pollution de l'environnement et l'apparition chez le parasite de nouvelles souches résistantes et plus virulentes (**Ozbaz et Newman, 2004**). De plus, leurs effets toxiques sont souvent signalés pour l'homme et l'animal (**Messiaen et Lafon, 1970**) et pour le déséquilibre biologique du sol.

II.6.4. La lutte biologique

Une autre alternative pour protéger les plantes contre les agents pathogènes est l'application des méthodes de bio-contrôle (**Azco' n-Aguilar et Bare, 1997**), par l'utilisation de différents micro-organismes doués d'activité antagoniste, conduisant à des phénomènes d'antibiose et d'hyperparasitisme.

Plusieurs chercheurs se sont intéressés aux micro-organismes antagonistes tels que les bactéries, les champignons et les actinomycètes, dans l'espoir de mettre au point un procédé de lutte efficace capable de limiter la gravité des fusariose (**Alabouvette et al., 1986**).

Parmi les bactéries utilisées en lutte biologique, on peut citer les *Pseudomonas fluorescens* et *Serratia marcescens*, et parmi les champignons, il existe les *Fusarium* non pathogènes et le *Trichoderma harzianum*.

Amir (**1991 a**) et Amir et Mahdi (**1993**), ont sélectionné des souches de *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum* non pathogène, pour leur pouvoir compétitif élevé et inhibiteur de deux formes spéciales : *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*.

Hibar et ses collaborateurs (**2005**), ont montré qu'il est d'intérêt primordial d'utiliser le *Trichoderma harzianum* en tant qu'agent de lutte biologique contre la fusariose vasculaire.

II.6.5. La lutte génétique

Elle est basée sur la recherche de génotypes à la fois résistants et de bonne qualité fruitière à partir des hybrides naturels (Khalts) ou à partir de croisements dirigés entre des mâles résistants et des femelles de bonne qualité. Des travaux de recherche sur les croisements dirigés ont fait l'objet de nombreux programmes de sélection (**Toutain et Louvet, 1974 ; Djerbi et al, 1985 ; Louvet et Toutain, 1973 ; Saadi, 1979, Jain, 2011, Abed, 2012**). Actuellement, les biotechnologies sont utilisées chez le palmier dattier comme étant une voie privilégiée pour établir une stratégie de préservation et d'amélioration de ce patrimoine phoenicicole telle que l'hybridation somatique et la radiomutagenèse (**Yatta et al, 2014**).

III. La sélection *in vitro*

III-1- La Technologie de culture *in vitro*

La culture *in vitro* est basée sur la mise en culture d'explant en milieu artificiel contrôlé, à l'abri de toutes contaminations.

Les premiers résultats intéressants de culture de tissus végétaux furent obtenus par **Gautheret et White (1934)**. Elles se font hors sol en conditions stériles et très contrôlées, dans

des flacons ou tubes fermés, sur des milieux synthétiques solides ou liquides. Ces derniers contiennent des sels minéraux, une source énergétique et des adjuvants (**Zryd, 1988**).

Quelle que soit la technique utilisée, les cultures in vitro requièrent des conditions très précises de milieux et d'environnement. Les conditions peuvent changer au cours de la culture, ce qui rend la maîtrise de la technique plus délicate (**Auge, 1989**).

Selon **Auge (1989)**, toute cellule végétale vivante, quelle que soit sa spécialisation, est capable de reproduire la plante entière dont elle est issue. C'est grâce à cette totipotentialité que la culture in vitro d'organe ou de tissus provoque la reprise des mitoses.

III.1.1. Conditions et composition des milieux

La réussite de la culture de tissus végétaux dépend de la composition chimique des milieux de culture utilisés ainsi que d'autres facteurs ambiants :

III.1.1.1. Sel minéraux

- Macroéléments : Il s'agit de six éléments minéraux présents à des concentrations élevées tel que l'azote (N), le calcium (Ca), soufre (S), phosphore (P), magnésium (Mg), et le potassium (K).
- Micro-éléments : Ce sont les oligoéléments, principalement : le fer (Fe), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le molybdène (Mo), le bore (B), le chlore (Cl), le cobalt (Co), et le nickel (Ni). Sont nécessaires à la plante qu'en faible concentration.

III.1.1.2. Le sucre

Dans le cas des tissus végétaux placés en culture in vitro, l'assimilation chlorophyllienne est nulle ou insuffisante pour assurer la survie et le développement de l'explant. L'adjonction des sucres (le plus souvent du saccharose) dans le milieu de culture est nécessaire pour fournir à l'explant une source de carbone (**Gauthert, 1959**).

III.1.1.3. Vitamines

L'emploi de diverses vitamines favorise fréquemment le développement des cultures in vitro, elle appartient surtout au groupe B, les plus courantes sont : la vitamine B1 (la thiamine-HCl), la vitamine B6 (la pyridoxine), la biotine, la pantothénate de calcium et le myo-inositol (**Gauthert, 1959**).

III.1.1.4. Les compléments

• Les acides aminés : aucun acide aminé n'est essentiel à la croissance des tissus *in vitro*, même si plusieurs sont utilisés dans les expérimentations. Ces acides aminés procurent aux tissus une source immédiate d'azote à assimilation plus rapide que l'azote inorganique fourni par le milieu. Par ailleurs les acides aminés peuvent intervenir en tant qu'agents chélates. Les principaux acides aminés dans les systèmes *in vitro* ont les fonctions suivantes :

- La glutamine stimule les racines,
- La L-arginine stimule les racines,
- La L-sérine est employée dans la culture de microspore,
- La L-cystéine est un agent réducteur (**Margara et piollat, 1982**).

• Les régulateurs de croissance : les régulateurs naturels de croissances des végétaux, appelés souvent hormones de croissance, se répartissent actuellement en cinq groupes : auxines, cytokinines gibbérélines, acides abscissiques, éthylènes (**Margara, 1989**).

Les facteurs de croissance suivants les auxines (AIA, AIB, AIP) et les cytokinines (la kinétine et la benzylaménopurine) sont des régulateurs de croissance indispensables au bon démarrage et à l'entretien des cultures de tissus végétaux *in vitro* (**Mazliak, 1999**).

Les cytokinines y sont impliquées en augmentant le nombre de cellules ; ceci fait en fonction de l'équilibre auxines /cytokinines qui détermine l'organogenèse (**Margara, 1989**).

• Agent solidifiant : l'agar-agar (gélose) est communément employé comme support gélosé pour la préparation des milieux solides et semi solides. Les avantages de l'agar-agar sont :

- Il forme avec l'eau un gel stable,
- Il n'est pas altéré par les enzymes végétales,
- Il ne réagit pas avec les constituants du milieu,
- Et il n'interfère pas avec la mobilisation des constituants du milieu (**Margara et Piollat, 1982**).

III.1.2. Facteurs de milieu

III.1.2.1. Stérilisation du milieu

Les conditions stériles sont obtenues par une désinfection des explants, une stérilisation du milieu de culture et des flacons ou tubes de culture. Les différentes opérations de mise en culture sont réalisées dans un environnement stérile obtenu par une hotte à flux laminaire

horizontal : cette technique consiste à propulser de l'air stérile vers les vitro plantes. Les conditions stériles sont primordiales à obtenir afin qu'aucun champignon ou bactérie ne vienne coloniser les milieux de culture, très favorables à leur prolifération, sous peine de nécrose de l'explant.

III.1.2.2. La température

L'analyse de la plupart des travaux de culture *in vitro* du palmier dattier indique que les températures idéales, sont 27° le jour et 22° la nuit, des températures supérieures augmenteraient le brunissement des explants en culture *in vitro* (Ait Chith, 1989).

III.1.2.3. L'éclairage

La qualité et l'intensité de la lumière jouent un rôle clé dans le phénomène morphogénétique. La lumière joue un rôle important dans l'embryogenèse somatique. (Armstrong et Green, 1986).

III.1.2.4. L'eau

L'eau est l'une des composantes chimiques du milieu de culture la plus importante, l'eau distillée est recommandée afin d'éviter l'apport d'impureté.

III-2- Les méthodes utilisées dans la sélection variétale :

III.2.1. Méthodes classiques :

- **Sélection massale** : Consiste à une épuration permettant de la population d'origine des individus indésirables et l'isoler de types intéressants présentant une homogénéité suffisante pour les cultivateurs (Rapusudant, 2002).

- **Sélection généalogique** : Consiste à faire une succession de fécondations dirigées suivies chaque fois d'une sélection. L'opération étant conduite jusqu'à l'obtention du caractère désirable. Cette méthode présente cependant l'inconvénient d'être longue et d'exiger l'analyse détaillée d'un très grand nombre des plantes (Christophe et Frederic, 2009).

III.2.2. Les nouvelles méthodes : L'amélioration d'une variété peut demander des dizaines d'années par les méthodes classiques, mais avec l'introduction des méthodes biotechnologiques, il est possible d'obtenir des variétés dans un laps de temps très court (de 2 à 3 ans) (Labbani, 2007).

- **La transgénèse** : Ou transfert de gènes, est l'addition d'un gène de virulence, appelé transgène. Mais aussi dans d'autre cas le remplacement d'un gène par son recombinaison homologue, et de le faire fonctionner dans un être vivant. L'organisme ou la cellule, qui reçoit alors l'ADN étranger, est susceptible de réagir en fonction de l'information génétique qui lui est transmise.

La cellule végétale est l'unité fondamentale dans le processus de la création d'une lignée des végétaux transgénique. Sa propriété de totipotence lui confère la capacité de régénérer une plante entière. En revanche, la paroi pectocellulosique, constitue un obstacle au transfert de gène, qui est contourné par l'utilisation des bactéries du genre *Agrobacterium* (transfert indirect) possédant un système naturel de transfert de gènes aux cellules végétales **(Vincent, 2001)**.

- **L'haplodiploïdisation** : Technique nouvelle permet la création de lignées haploïdes, ces lignées dont les gènes sont fixés, c'est-à-dire à l'état homozygote sont immédiatement disponibles pour la sélection. A partir des cellules gamétophytes males ou femelles, cette méthode permet donc d'accélérer la phase de fixation des produits de la recombinaison génétique. En effet en une année, on obtient une lignée pure équivalente à 10 années d'autofécondation **(Picard et De Buyser, 2004)**.

- **Mutagenèse** : des facteurs physiques et des agents chimiques peuvent être utilisés en vue de créer des mutants résistants à partir de variétés sensibles. Ce sont des mutations aléatoires qui peuvent aboutir à des plantes résistantes de bonne qualité dattière et productives. Peu de travaux existent chez le palmier dattier.

Les agents mutagènes physiques les plus utilisés sont des rayons X, des rayons Gamma et des rayons UV. Au laboratoire de physiologie végétale et d'amélioration des plantes de l'INRAA, les rayons Gamma sont utilisés pour l'obtention de mutations afin de sélectionner des variétés résistantes et de qualité. D'après Abed et Saka **(1999)**, des cals embryogènes de variétés Deglet Nour ont été exposés à des rayons Gamma émis par le Cobalt 60. Cette étude a permis de déterminer que 20 Gy était la dose optimale utilisée pour l'irradiation du palmier dattier. Des plantes sont obtenues et son en voie de sélection.

III-3- L'intérêt pratique des mutations provoquées par les radiations, dans l'amélioration des plantes cultivées :

Pour de nombreuses espèces cultivées il existe des variétés présentant beaucoup de caractères intéressants mais qui présentent un défaut (sensibilité aux maladies...). La méthode

d'amélioration classique consiste à faire une succession de croisement. Dans le cas où le caractère désirable est récessif, la méthode classique est longue et laborieuse, donc la production artificielle de mutation peut alors être plus rapide ; en effet, les mutations se produisant de façon indépendante, si la bonne se produit, le reste du génome est conservé (**Buscarlet, 1967**).

Les mutations induites par les rayons gamma, les rayons X, les neutrons ou les substances chimiques ont permis d'obtenir quelques grands succès dans le domaine de l'amélioration des plantes. Des mutants bénéfiques sont sélectionnés et utilisés par les phytogénéticiens depuis plus de 50 ans. A ce jour, la base de données (**FAO /IAE/Mutant Variety Database**) sur les variétés de mutants comprend près de 2500 variétés officiellement enregistrées de mutants de plus de 160 espèces végétales du monde entier (**FAO /IAEA, 2006**).

III-4- Sélection *in vitro* des plantes

Cependant, dans la nature, les parasites ne se manifestent pas chaque année de la même intensité dans un site donné. Afin de pouvoir assurer en permanence le criblage des individus résistants au sein des populations végétales, des méthodes ont été développées pour évaluer d'une manière reproductible en serre des différences de résistance d'un génotype vis-à-vis d'un agent pathogène (**El Hadrami et al., 2005**).

Pour le repeuplement des palmeraies dévastées par la fusariose du palmier dattier, il est indispensable d'utiliser que des cultivars ou clones présentant le maximum de garantie de résistance. Le recours à la production en masse des plants par culture *in vitro* et à la sélection des cultivars résistants a été préconisé depuis longtemps par plusieurs auteurs (**Pereau-Leroy, 1957,1958 ; Toutain, 1965 ,1973 ; Bulit et al., 1967 ; Louvet et Toutain , 1973 ; Saadi et al., 1981**).

La maîtrise de technique de micropropagation a permis la production d'un grand nombre de vitroplants appartenant à différentes variétés de palmier dattier (Deglet Nour, Tinacer, Taquerboucht et Tazerzait) qui sont actuellement dans leur site de culture et les premières fructifications de ces vitroplants se sont produites en 1995.

Afin de sélectionner des cultivars et des clones de palmier dattier résistants à la maladie du Bayoud, la sélection par culture *in vitro* permettrait d'évaluer leurs résistances par la maîtrise d'une technique utilisant le champignon, le filtrat de culture, ou bien la toxine de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et permettrait par la suite la multiplication rapide des plants résistants en grand nombre en un temps record.

❖ Sélection *in vitro* en utilisant le pathogène

L'utilisation des spores du pathogène comme agent sélectif, est une technique souvent utilisée particulièrement dans le cas où la production de toxine chez certains pathogènes n'est pas connue.

Plusieurs tentatives de sélection ont été faites en utilisant les pathogènes comme des agents sélectifs (Harrison *et al.*, 1983 ; Murakishi *et al.*, 1984). Holliday *et al.* (1979) ont rapporté une réduction de la croissance du pathogène sur des cals résistants, en comparaison avec des cals sensibles, et une corrélation entre le niveau de résistance au pathogène des tissus, et ceux de la plante adulte.

❖ Sélection *in vitro* par l'utilisation du filtrat de culture

C'est une sélection qui est basée sur l'utilisation de filtrat de culture du pathogène comme un agent sélectif. Cette méthode a été décrite par Behnk (1979), qui a utilisé, le filtrat de culture du pathogène *Phytophthora infestans*. Certains travaux ont montré un transfert de résistance des plantes à leurs descendances (Sacristam, 1982 ; Sacristam, 1985 ; Thanutong *et al.*, 1983), ou une corrélation significative entre la résistance des cals filtrats de culture et la résistance du génotype au pathogène (Tayoda *et al.*, 1984 ; Wilmot *et al.*, 1989)

L'utilisation des filtrats de culture des pathogènes dans la sélection *in vitro* est beaucoup plus pratique que l'utilisation du pathogène. Cependant, les filtrats de culture contiennent des toxines non-déterminées et la résistance ciblée pourrait être pour des composés phytotoxiques secondaires, des filtrats, ou pour des enzymes, ou la combinaison des deux. Les résultats devraient être comparés avec ceux utilisant des toxines purifiées, pour renoncer à la sélection pour les composants qui ne sont pas essentiels (El Hadrami *et al.*, 2005).

❖ Sélection *in vitro* en utilisant les toxines du pathogène

Une phytotoxine est une substance chimiquement efficace à faible concentration provoquant des désordres physiologiques. D'après Agrios (1978), une maladie est le résultat d'une toxine sécrétée par le pathogène. Selon Bender (1997), une toxine est le produit d'une interaction hôte – pathogène. Cependant la présence ou la quantité d'une toxine n'est pas toujours indicatrice de la capacité du pathogène à causer la maladie.

L'étude a été réalisée au niveau de la Division Biotechnologie et Amélioration des Plantes de l'Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA). Station expérimentale Mehdi Boualem (Baraki), pour des activités de recherches de l'équipe Palmier dattier qui s'est étalée du mois de Février au mois de Juillet 2017.

L'objectif de ce travail est la détermination de la dose de filtrat de culture de *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (*F.o.a*).

On a testé l'effet des toxines de filtrat de culture de (*F.o.a*) des deux souches, la souche SR (souche référence) et la souche GH1/F5 sur des feuilles détachées de cultivars Deglet Nour (DN) témoin sensible au Bayoud. Selon différentes doses (0,10, 20, 30, 40, 50 et 60%), qui consiste à tremper ces feuilles dans des tubes contenant les solutions des deux filtrats de culture séparément. Une feuille par tube et cinq répétitions par dose ont été testées. Dans le cas du témoin, les feuilles sont trempées dans de l'eau stérilisée. Les tubes portant les feuilles ont été placés dans la chambre de culture.

Des observations ont été effectuées pour contrôler l'apparition des nécroses sur les feuilles détachées de cultivar DN. Elles se manifestent généralement dans les 72 heures qui suivent l'expérience. Les résultats des paramètres durant la mise en culture sont :

- L'apparition des nécroses,
- L'enroulement de la feuille,
- Le dessèchement total de la feuille (mort).

I- Matériel

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Matériel végétal

Pour notre travail, on a utilisés des feuilles détachées des plantules de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) appartenant au cultivar Deglet-Nour (DN).

Ce témoin sensible au Bayoud et d'une excellente qualité de dattes, qui sont issues à partir de cals embryogènes non irradiés (figure 4).

Les vitroplants sont mis en culture dans le milieu GMP, après le repiquage de ces derniers, on prélève des feuilles détachées qui sont en bons états.



Figure 4 : Vitroplants de cultivars Deglet-Nour

I.1.2. Matériel fongique

Ce matériel fongique utilisé concerne le filtrat de culture du champignon *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Pour une suspension du champignon *F.o.a* autoclaver et filtrer.

Il est préparé préalablement au niveau du laboratoire de phytopathologie de l'INRAA.

Il s'agit de deux souches : la souche Algérienne dénommée (GH1/F5) provenant d'un palmier de la wilaya de Ghardaïa, et la souche de référence (SR) provenant des États-Unis. (figure 5).

Fournis par l'USTHB (Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene), et mise à la disposition du laboratoire de culture *in vitro* de l'INRAA.

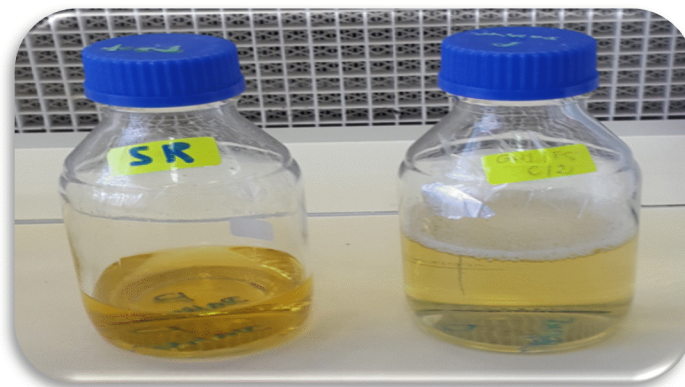


Figure 5 : Filtrat de culture de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*.

I.2. Matériel non biologique

Le matériel utilisé au laboratoire (l'appareillage, la verrerie ...etc.) est illustré en (Annexe 2).

II- Méthodes

II.1. Stérilisation du matériel de laboratoire

Le lavage de la verrerie (tubes à essai, bocaux, flacons,...), est effectué avec le détergent commercial (Isis) et le rinçage avec de l'eau courante (robinet), ensuite à l'eau distillée. Ce matériel est stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Les instruments utilisés dans le repiquage (scalpels, pinces...) sont stérilisés dans des boîtes de stérilisation à l'étuve à 180°C pendant 24 heures, puis dans le stérilisateur à billes avant chaque utilisation.

Le papier sur lequel les cultures sont préparées pour le repiquage est enveloppé dans du papier aluminium et stérilisé à l'étuve à 180 °C pendant 12 heures (Annexe 2).

II.2. Stérilisation des milieux de cultures

Le milieu de culture préparé est distribué dans des bocaux (70 ml par bocal de 250ml) à l'aide d'un distributeur automatique. Le pH du milieu est ajusté à 5.85 avec du NaOH (0.1N) ou HCL (0.1N) avant d'être stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

II.3. Préparation du milieu de culture solide

Le milieu utilisé lors de l'expérimentation, est mis au point par l'équipe du laboratoire de physiologie végétale de l'INRAA). C'est le milieu GMP pour les vitroplants (milieu de germination et de prolifération, solide) (Annexe 6). Il contient des éléments essentiels au développement des tissus végétaux qui sont : les éléments minéraux, les substances organiques, et le charbon actif. (Annexe 3).

Le saccharose et les autres additifs sont pesés sur une balance de précision. Les Macroéléments MS Modifié (40 mg/l), les Microéléments MS (10 mg/l) et le Fer (10 mg/l) sont prélevés à partir de solutions mères préalablement préparées (Annexe 3) et ajoutées aux autres additifs avec le sucre dans un récipient. La moitié du volume de milieu de culture à préparer est ajouté à la composition par de l'eau distillée. Le milieu est chauffé jusqu'à ébullition (90°C). Le volume qui reste du milieu est complété pour refroidir le milieu préparé. La vitamine Ms est ajoutée en dernier (tableau 1).

Tableau 1 : Les composants du milieu de germination du GMP pour 1L.

	Éléments	Dose
Partie organique	Saccharose	60g
	Phytigel	2g
	Charbon actif	200mg
Partie minérale (Solution mère)	Macro Ms modifié	40ml
	Micro Ms	10ml
	Fer Ms	10ml
Vitamine	Vitamine Ms	1ml

- **Les éléments minéraux**

Ils correspondent à ceux de **Muraschig** et **Skoog (1962)**, ils sont absorbés sous forme ionique.

-**Les macroéléments**: comme l'azote (N), et le phosphore (P) entrent dans la composition des protéines et des acides nucléiques. Le potassium (K), le magnésium (Mg), et le calcium (Ca) interviennent dans le maintien de l'équilibre ionique. L'ion K^+ règle la pression osmotique. Le Mg^{2+} entre dans la composition de la chlorophylle. Le Ca^{2+} est un antagoniste des ions K^+ et Fe^{2+} (Annexe 3).

-**Les microéléments**: appelés aussi oligo-éléments, jouent un rôle important dans les mécanismes enzymatiques. Les principaux d'entre eux sont le fer (Fe), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le cobalt (Co), le nickel (Ni), le bore (B). (Annexe 3).

- **Les éléments organiques**

-**Source de carbone**: le saccharose est ajouté à tous les milieux à des concentrations allant de 45 à 60 g/l. Ces sucres utilisés à des concentrations élevées, ont une forte action sur l'embryogenèse somatique de même que sur la rhizogenèse.

-**Acides aminés et autres additifs** : la glutamine et l'adénine sont ajoutées au milieu. Ils ont un effet sur la prolifération des cals et la germination des embryons somatiques.

-**Les vitamines** : il s'agit de la vitamine Ms pour le milieu GMP fournit à 1 mg/l dont l'effet à un apport suffisant sur la prolifération tissulaire.

-**Le charbon actif:** il permet d'absorber les composants phénoliques excrétés par l'explant et diffusés dans le milieu et qui provoquent le brunissement et l'inhibition de la croissance.

- **Agents gélifiants**

Ils permettent la solidification des milieux de cultures. La quantité de l'agent gélifiant tel que l'agar ou le phytigel, ajouté dans le milieu, joue un rôle dans l'évolution de culture.

II.4. Repiquage

Les repiquages sont effectués tous les deux mois, dans le but de renouvellement du milieu de culture solide, pour les embryons somatiques et les vitroplants. Nous devons vérifier d'abord s'il n'y a pas d'infection dans le bocal contenant les embryons somatiques ou bien les vitroplants à repiquer. Ensuite on fait sortir les embryons ou les vitroplants à l'aide d'une pince longue et les mettre dans un papier stérile (Papier peleur) à l'intérieur de la hotte. Puis, on élimine et on coupe tous les tissus ou feuilles nécrosés à l'aide d'un scalpel.

Les bocaux sont recouverts avec du papier aluminium stérile, scellés avec du parafilm pour assurer une protection contre les contaminations. Et on les place dans une chambre de culture où la température est de 28°C le jour et 22°C la nuit, avec une photopériode de 16h.

II.5. Obtention des feuilles détachées de vitroplants

Les vitroplants du cultivar Deglet-Nour ont été cultivés dans des bocaux contenant le milieu GMP pendant 2 mois puis repiqués pour obtenir les feuilles.

On coupe les feuilles à l'aide du scalpel, puis on submerge la partie coupée dans la solution de sélection en tube qui est préparée préalablement. On a sélectionné les feuilles qui sont en bonne état (figure 6).

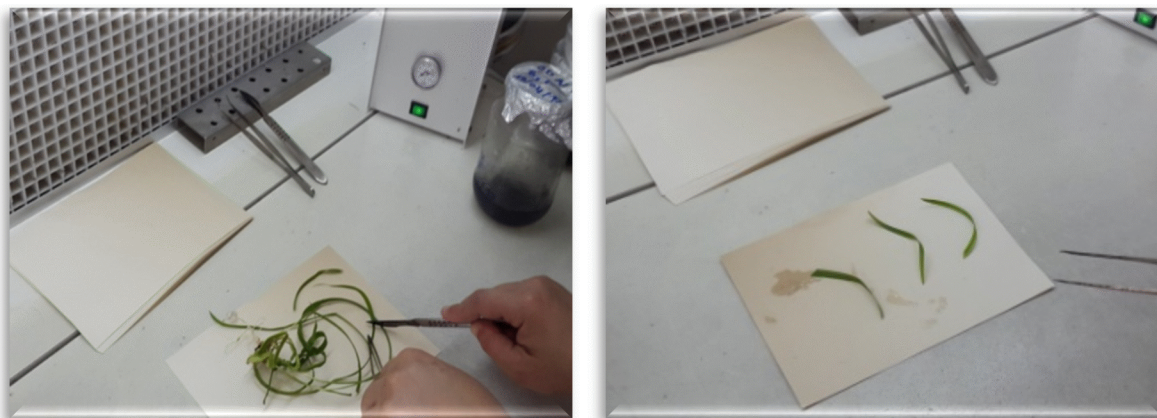


Figure 6 : Obtention des feuilles détachées.

II.6. Préparation de filtrat de culture

Les souches de *F.o.a* croissent dans le milieu PDA en obscurité pendant 7 jours à une température de 27°C. Plusieurs pièces de mycélium sont transférées dans des erlenmeyers de 250 ml contenant 150 ml du milieu Czapeck stérile (tableau 2).

Le milieu Czapeck qui s'est révélé comme étant le plus favorable à la sporulation de *F.o.a* et aux synthèses et excrétion de toxines.

On ajuste le pH à 4 et on ajoute une toute petite quantité du champignon Foa.

Tableau 2 : les composants et leurs concentrations du milieu Czapeck

Elément	Concentration en g/L
KH ₂ PO ₄	1
Na NO ₃	2
Mg SO ₄ , 7H ₂ O	0.5
Kcl	0.5
Fe SO ₄ , 7H ₂ O	0.1
Saccharose	30
Eau distillée	1000 ml

Les cultures sont mises sur un agitateur à 200 rpm (rotation par min), pendant 8 à 10 jours, à une température de 27°C.

Après 10 jours, les cultures contenant le mycélium et des spores sont filtrés à travers du papier filtre Whatman (Simple filtration consiste à éliminer les macromolécules), ensuite une microfiltration est réalisée à l'aide d'un microfiltre « nalgene » avec un diamètre de porosité 0.22µm (figure 7).

Le but de cette microfiltration est d'obtenir un filtrat stérile qui contiendra des toxines de *F.o.a* avec l'élimination totale des spores.

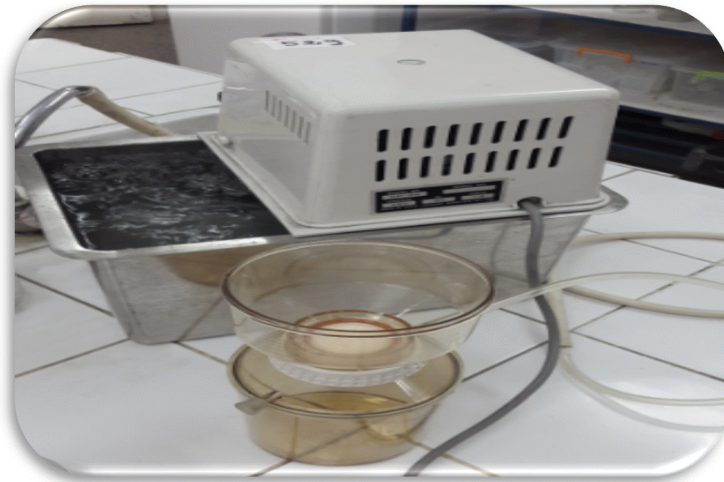


Figure 7: Microfiltration avec le microfiltre nalgene.

A l'aide d'une pompe sous-vide sous la hotte, on effectue une stérilisation de la solution de filtrat de culture qui contient les toxines (figure 8).

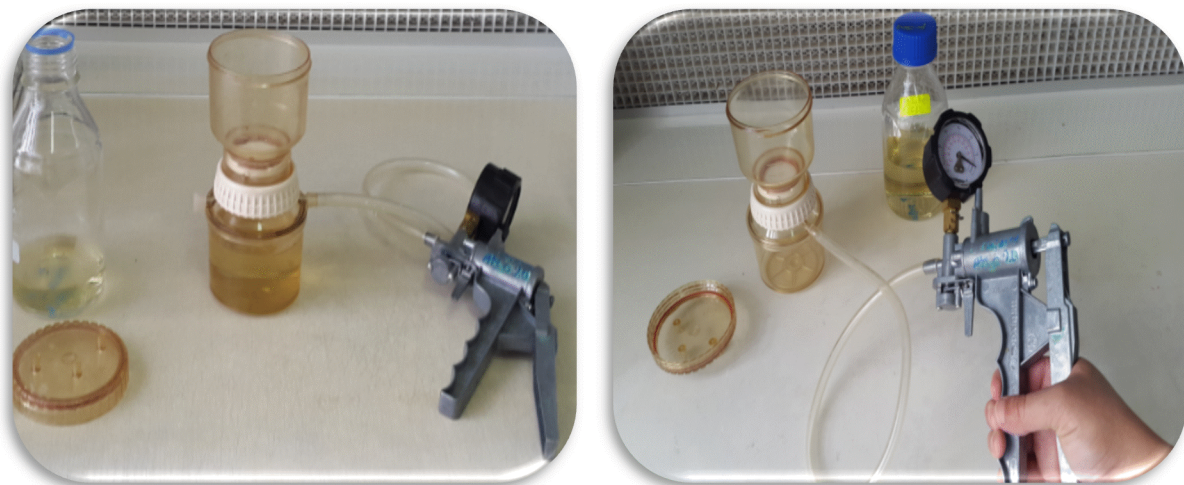


Figure 8 : Stérilisation de solution de filtrat de culture à l'aide de la pompe sous-vide.

II.7. Conditions de culture

Les tubes qui contiennent les feuilles détachées avec les différentes doses de filtrats de culture de *F.o.a* des deux souches SR et F5 sont mises en culture dans des tubes à essai contenant le milieu de sélection de filtrats de culture de *F.o.a*, pendant un mois (à l'intérieur de la chambre de culture à une température de $24^{\circ}\text{C} \pm 2$). Deux expériences sont réalisées, la

première est pour les doses 0,10,20 et 30% tandis que la deuxième est une suite de la première expérience pour les doses 40,50 et 60%.

II.8. Protocole d'expérimentation

L'expérimentation est prise en considération pour le but de déterminer la dose de filtrat de culture de *F.o.a* (SR et F5). Ensuite on compare entre les deux types de souches pour avoir l'agressivité de l'un des deux SR ou F5, pour la sélection des mutants de palmier dattier. L'expérimentation se déroule sous la hotte à flux laminaire (figure 9) pour éviter tous types de contaminations, puis la mise en culture dans la chambre de culture pendant un mois. A s'avoir :

- Cinq feuilles détachées par dose,
- Sept doses (0, 10, 20, 30, 40, 50 et 60%),
- Deux souches utilisées SR et F5.

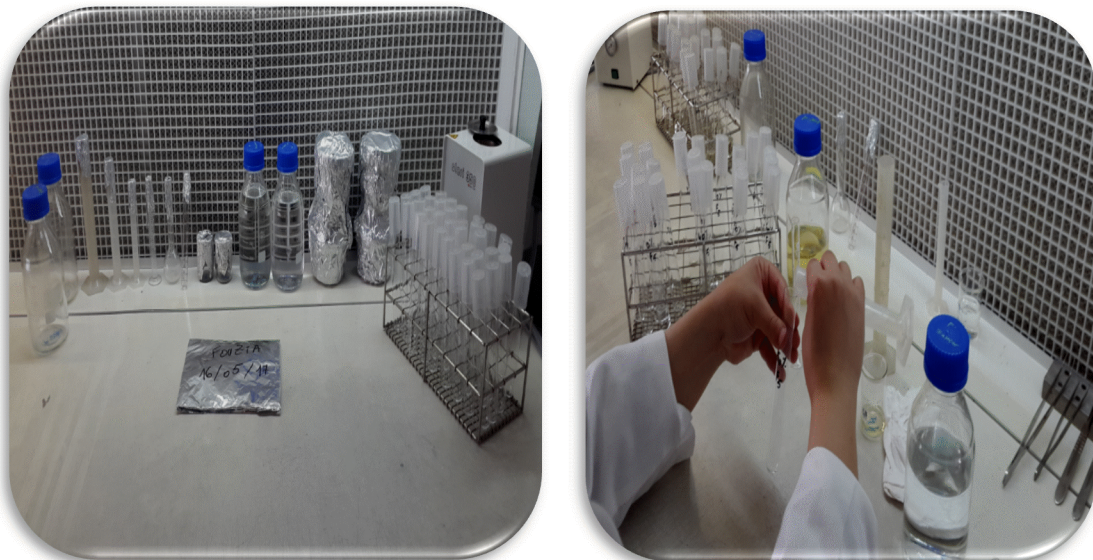


Figure 9 : Disposition de matériels nécessaires pour l'expérimentation sous la hotte à flux laminaire.

✚ Sous la hotte on prépare le volume de filtrat qui est préalablement stérilisé pour les doses 10, 20, 30, 40, 50 et 60 %, puis on ajoute de l'eau distillée (le volume de mélange pour chaque dose est égal à 25 ml). On le distribue dans cinq tubes uniformément (5ml par tube) sauf le témoin qui contient seulement de l'eau distillée, selon le tableau 3 :

Tableau 3 : les volumes utilisés pour chaque dose en (ml).

Le mélange	Les doses						
	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%
Volume de filtrat de culture Foa en (ml)	/	2.5	5	7.5	10	12.5	15
Volume de l'eau distillée en (ml)	25	22.5	20	17.5	15	12.5	10

✚ Repiquage des vitroplants de cultivar Deglet Nour sensible au Bayoud, et prélèvement des feuilles détachées, puis mise en place de ces derniers dans les tubes qui contiennent le milieu de sélection, et le déposé sur des portoirs, chaque souche à part.

✚ Mettre le dépôt des portoirs et la mise en culture dans la chambre de culture durant un mois. Des observations sont nécessaires pour contrôler l'apparition des nécroses qui se manifestent généralement dans les 72 heures qui suivent l'expérience. Ainsi que les caractères observés comme l'enroulement et le dessèchement total des feuilles.

✚ Le test de phytotoxicité a été déterminé par le calcul de surface nécrosée et les observations, après un mois à l'aide de papier millimétré, après rinçage des feuilles avec de l'eau du robinet et dessiccation à l'aide du papier absorbant. (Annexe 4).

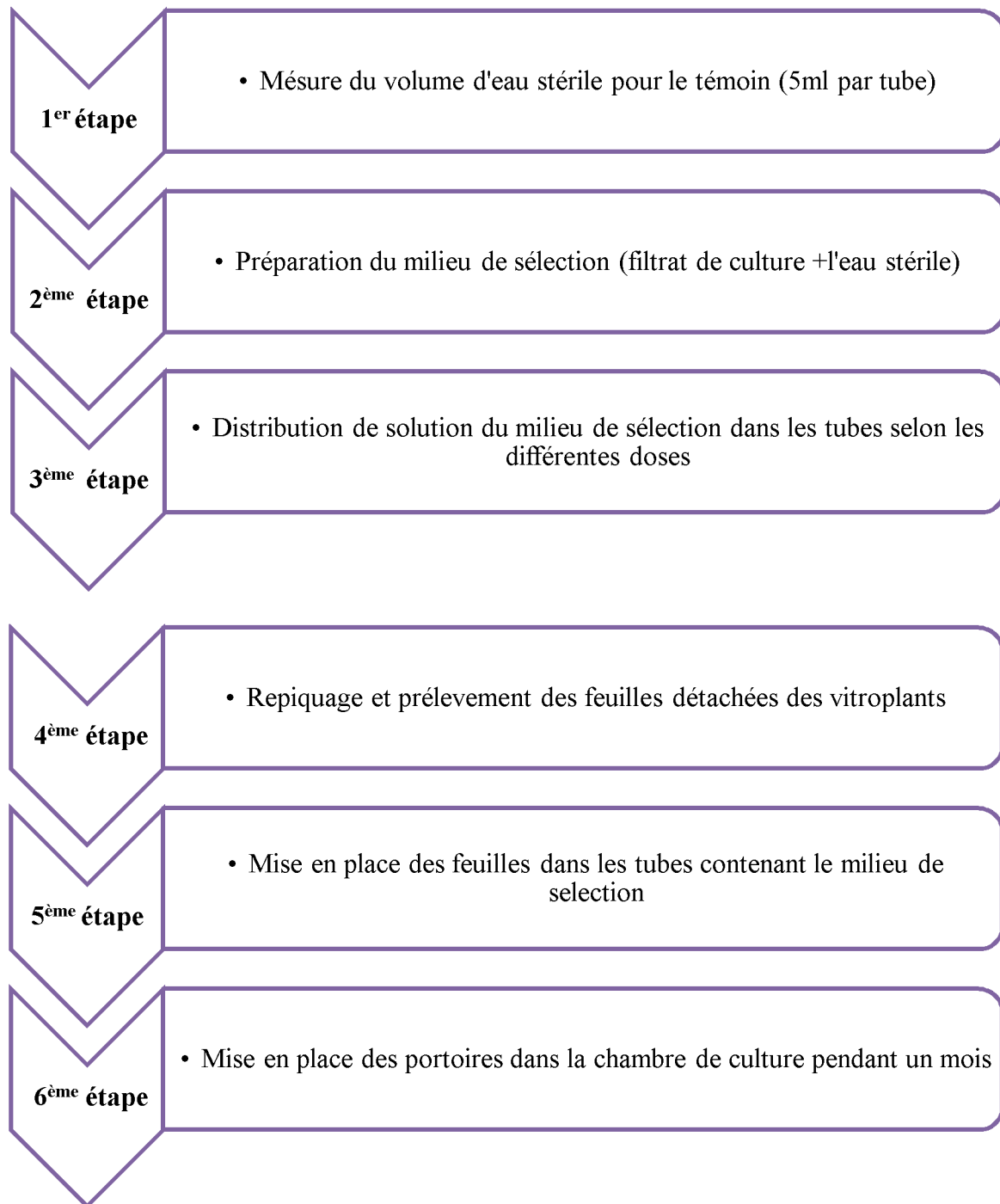


Figure 10 : Schéma récapitulatif des différentes étapes de protocole expérimentale.

II.9. L'analyse statistique

Pour mieux décrire les différentes variables (la nécrose, l'enroulement et dessèchement des feuilles). On procède au calcul de certains paramètres statistiques de base tels que la moyenne et l'écart-type, qui mesure la dispersion des données autour de la moyenne. Ces derniers ont été calculés en utilisant le logiciel EXCEL pour chacune des variables (la surface nécrosée, le nombre des feuilles enroulées et le nombre des feuilles desséchées ou mortes).

Pour la comparaison des moyennes des échantillons testés : si la différence entre elles est significative ou non. Nous aurons recours au test d'analyse de la variance à deux critères ou à deux facteurs de classification {doses : 0, 10, 20, 30, 40, 50 et 60(%) / souches F5et SR} en utilisant le logiciel Genstat Release 10.3.

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de graphes et d'histogrammes grâce au logiciel EXCEL.

Pour illustrer le type de l'éventuelle différence, on a utilisé les signes suivants :

- $P < 0,05$: * : Différence significative.
- $P < 0,01$: ** : Différence hautement significative.
- $P < 0,001$: *** : Différence très hautement significative.

I. Les résultats obtenus lors de l'expérimentation

Le but d'avoir recours à la culture *in vitro* du palmier est d'obtenir des plantules résistantes à la maladie du Bayoud qui est causée par le *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*.

Ce travail représente un essai de l'évolution de la résistance des plantules du cultivar Deglet Nour, en utilisant des concentrations allant de 10 à 60% de filtrat de culture de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, comme agent sélectif pour la résistance à la maladie du Bayoud.

Nous avons étudié l'effet des toxines des souches SR et F5, et l'agressivité de ces derniers pour déterminer la dose du filtrat de culture du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, qui sera utilisé par la suite sur les mutants de cultivar Deglet Nour.

Après avoir mis les feuilles détachées des vitroplants dans le milieu de sélection de filtrats de culture de *F.o.a* à différentes doses (0, 10, 20, 30, 40, 50 et 60%) pendant un mois. Nous réalisons que durant cette période, nous mettons l'expérience sous surveillance chaque 3 à 4 jours. Afin d'observer tout les différents changements qui se produisent au niveau des feuilles détachées de vitroplants du cultivar Deglet-Nour, dus à l'interaction de ces derniers avec les toxines de filtrat de culture.

Dans l'expérimentation nous constatons dès la première semaine les symptômes suivants:

- Une apparition de nécroses autour du site d'infection qui augmente en fonction du temps relatif à la dose de filtrats de culture,
- Au fil du temps, un enroulement de quelques feuilles, a été observé poursuivit par un dessèchement total qui résulte la mort de certaines feuilles.

Ces symptômes vont évolués au cours du temps de la mise en culture (figure 11).

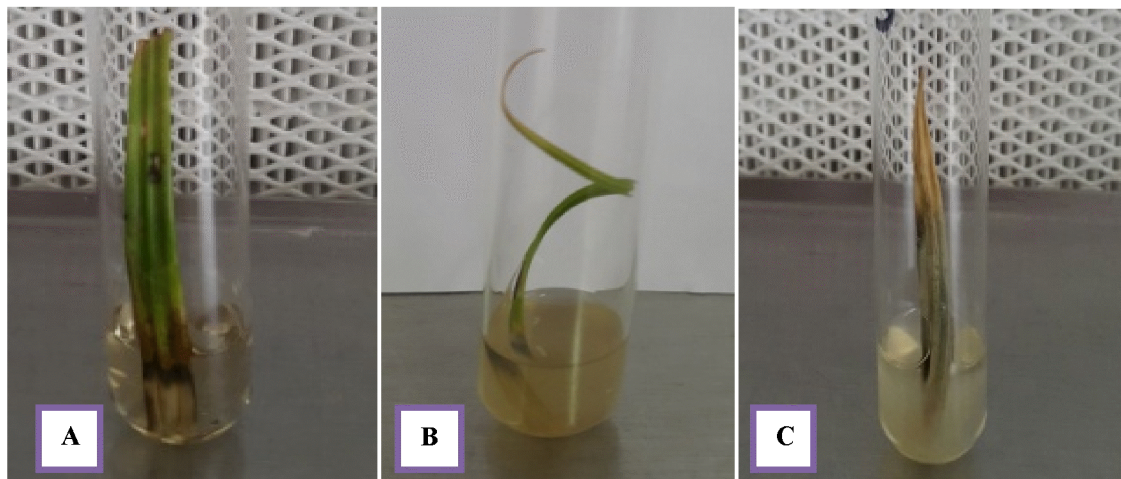


Figure 11: Les symptômes observés lors de l'expérimentation (A: Nécrose; B: Enroulement; C: Dessèchement total)

Ces symptômes varient selon le type de souches. En revanche, les témoins F5 ou SR ne présentent aucun symptôme pendant toute la durée de la mise en culture (figure 12).

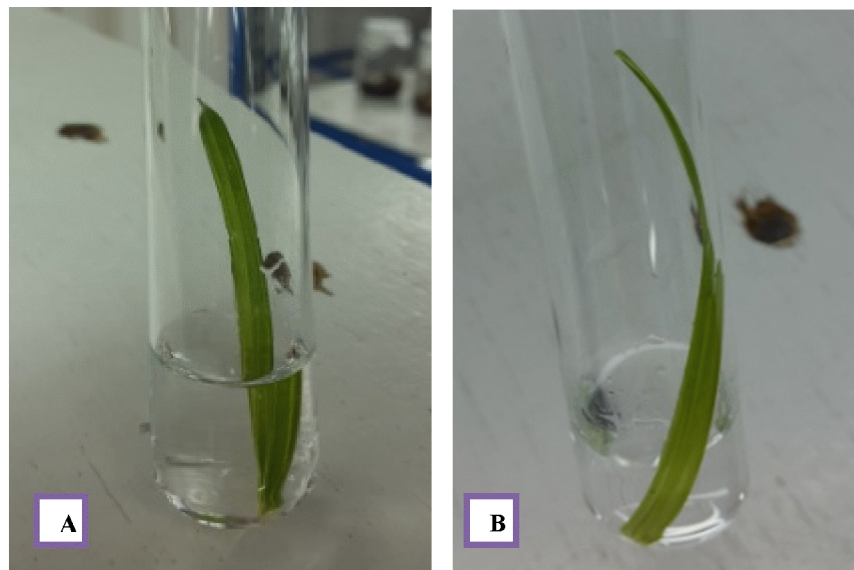


Figure 12: Absence des symptômes chez le témoin.

(A: 0% de F5; B: 0% de SR)

Sedra (2006) et Khelafi *et al.* (2006), signalent des nécroses 5 jours après immersion des feuilles détachées de vitroplants de Deglet Nour dans une solution FII de toxines de *F.o.a* (25 et 50 µg/ml). La taille de ces nécroses varie de 1 à 40 mm² et dépend de la concentration en toxines.

Le test de phytotoxicité qui consiste à calculer la surface nécrosée durant un mois, à l'aide de papier millimétré, a montré les résultats suivants (annexe 4). Les calculs sont présentés en (cm).

Aussi, en figure 13, nous montrons quelques photos prises lors de l'expérimentation.

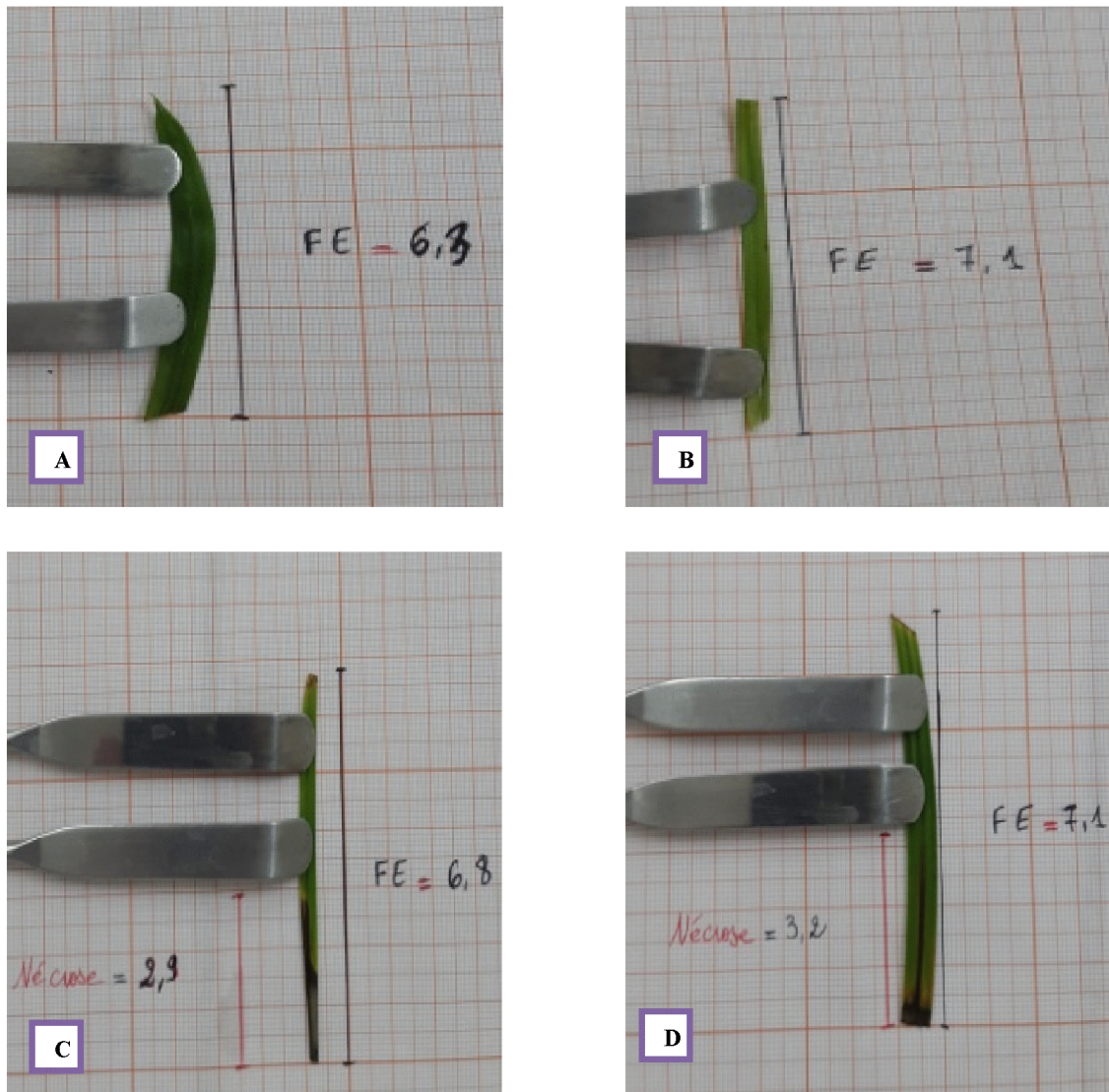


Figure 13: Quelques exemples de mesure de la longueur de la feuille entière et de la surface nécrosée des deux souches SR et F5 en (cm) après la mise en culture.

(A: La dose 0% de F5; B: La dose 0% de SR; C: La dose 40% de F5; D: La dose 50% de SR; FE: Feuille entier)

Les observations faites au cours de l'expérience ont permis d'avoir l'émergence et le développement des symptômes tel que l'apparition des nécroses qui provoque, par la suite l'enroulement des feuilles puis un dessèchement total, de ces dernières. (Figure 14)

En effet. Sedra (2006) il testant l'activité des toxines sécrétées par *F.o.a*, agent causal du Bayoud, a obtenu des résultats similaires. Cet auteur a montré que les symptômes de la maladie sont caractérisés par une nécrose, provoquant l'enroulement des feuilles puis un dessèchement total. Il note, néanmoins, que le début de l'apparition des symptômes a été plus précoce pour toutes les fractions toxiques, en particulier pour la fraction II (FII) chez le cultivar sensible Jihel.

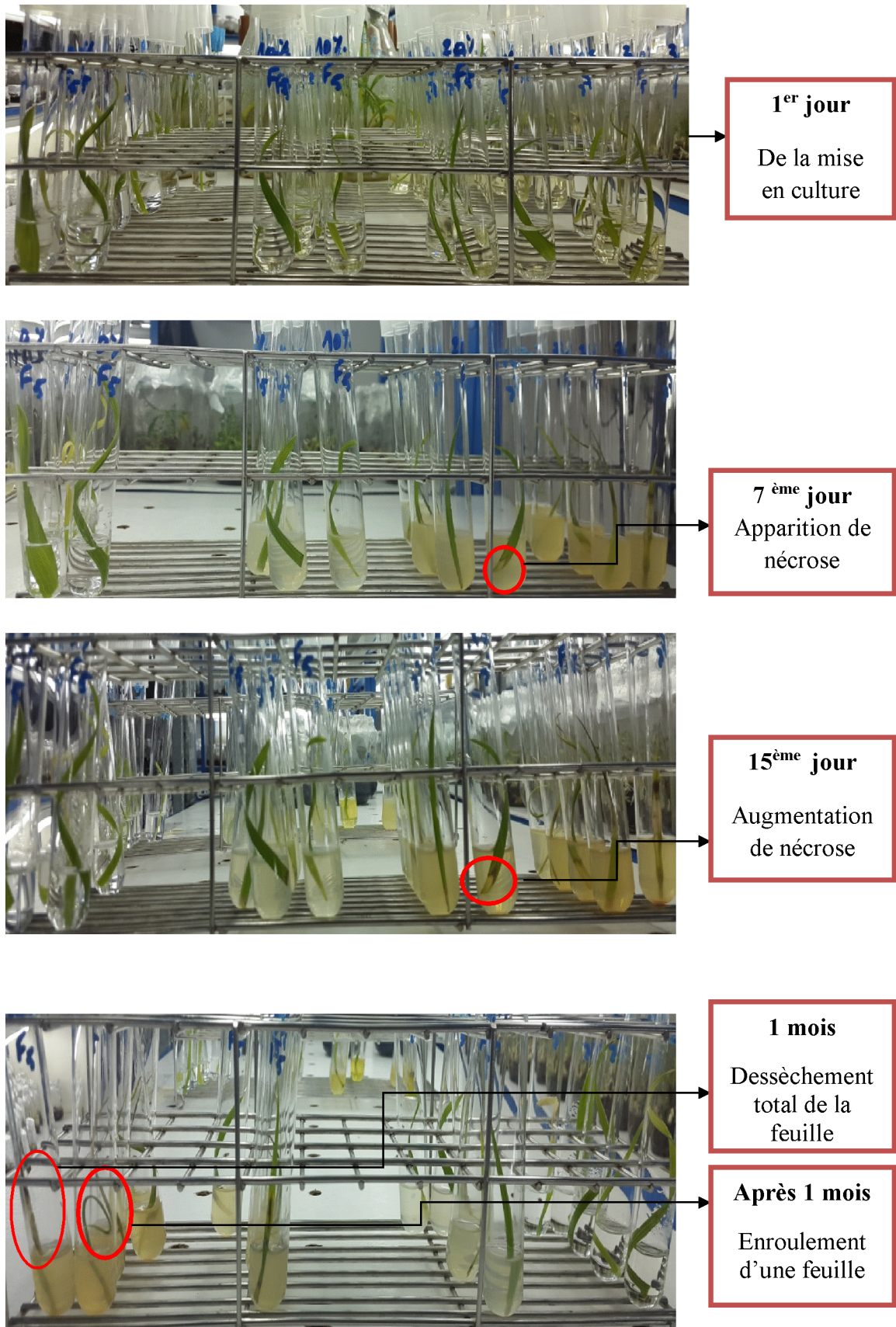


Figure 14: Evolution des symptômes via la toxine lors de la mise en culture.

I- Effet des doses de filtrat de culture de *F.o.a* sur les feuilles détachées

II.1. Réaction des feuilles en présence de filtrat de culture *F.o.a*

Les filtrats de culture qui sont préparés à différentes doses de 10 à 60%, excepté le témoin (0%) qui est dépourvu de filtrat ne contient que de l'eau stérilisée.

Les feuilles détachées sont mises en culture dans des tubes à essai contenant la solution de filtrat de culture. L'effet de filtrat de culture de *F.o.a* se traduit en premier lieu, par des nécroses, suivi par un enroulement et termine par le dessèchement total de la feuille pour certaines doses.

A partir du 3^{ème} jour de la mise en culture des feuilles sur le milieu de sélection contenant les diverses doses du filtrat, un début de nécrose est observé chez certaines feuilles en fonction des souches utilisées et des doses du filtrat de culture de *F.o.a*.

Dans ce travail, nous avons utilisé un seul type de matériel végétal qui est les feuilles détachées de vitroplants de cultivars Deglet-Nour sensible à la maladie du Bayoud cultivées en chambre de culture. L'utilisation de ce matériel présente une évaluation de l'effet des toxines de filtrats de culture semble délicate, étant donnée la diversité des symptômes provoqués par les toxines sur ce matériel et leur évaluation en fonction du temps.

Les testes menés sur les feuilles détachées paraissent plus rapides que ceux où les plantules ont été utilisées. Ils ont aussi l'avantage d'être moins encombrants et les symptômes observés sont basés sur l'enroulement des feuilles dû à l'absorption pétiolaires des substances toxiques (Pinon, 1984 ; Schipper, 1978).

II.2. Effet de différentes doses de filtrat en fonction des souches

Ce travail représente un essai d'évolution de la résistance des vitroplants de cultivar Deglet Nour, en utilisant des doses allant de 10 à 60% de filtrat de culture de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedenis*, comme agent sélectif pour la résistance à la maladie du Bayoud.

Des nécroses commencent à apparaître sur les feuilles à partir de la dose 10%. Le pourcentage de feuilles nécrosées varie entre le type de souches et en fonction des concentrations de filtrat testé.

L'analyse de la variance à deux critères : elle est effectuée après une durée d'un mois de culture à l'aide de logiciel Genstat Release 10.3 sur les paramètres d'évolution. Les résultats

sont présentés sous forme de tableaux. Après l'interprétation nous pouvons conclure quel est le paramètre le plus important dans cette étude.

Les résultats sont présentés dans les tableaux et les figures suivants:

Le paramètre de nécrose

Le tableau 4 résume les résultats de l'analyse factorielle de la variance calculés dans le but d'apprécier l'effet des toxines de *F.o.a* en fonction des doses testées (0, 10, 20, 30, 40, 50 et 60%) sur la nécrose de la feuille.

Tableau 4: Résultats de l'analyse factorielle de la variance pour apprécier l'effet des toxines de *F.o.a* sur les deux souches pour l'apparition de Nécrose.

Source de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	v.r	F Probabilité	Signification
Classe de bloc	4	3.9329	0.9832	1.54		
Dose (%)	6	88.6120	14.7687	23.09	<0.001	***
Toxine	1	34.1601	34.1601	53.41	<0.001	***
Dose %_ Toxine	6	15.7509	2.6251	4.10	0.002	**
Résiduel	52	33.2591	0.6396			
Total	69	175.7150				

Les résultats obtenus de l'analyse factorielle de la variance à deux critères (dose(%)-toxine) effectuée au seuil 5% ($p= 0.05$).

- Différence hautement significative (**), très hautement significative (***).
- Toxine F5 et SR.

Le tableau montre qu'il y a un effet significatif sur la dose et le type de toxine aussi sur l'interaction.

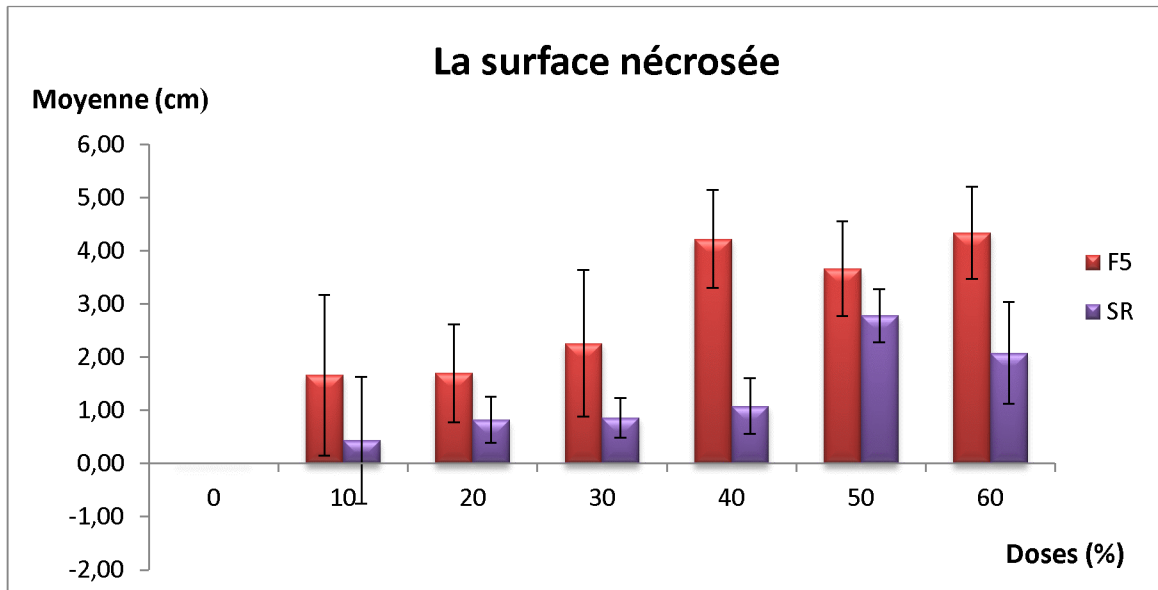


Figure 15: Evolution de la surface nécrosée des deux souches.

La figure 15, illustre l'effet du filtrat de culture des souches SR et F5 de *F.o.a* sur les feuilles détachées de vitroplants du cultivar sensible Deglet Nour. Chaque point correspond à la moyenne générale et l'écart-type de la surface nécrosée de 7 doses calculé après un mois de culture. La différence entre les deux souches de filtrat de culture de *F.o.a* Globalement, aux faibles doses 10, 20 et 30 % la moyenne de la surface nécrosés varie de 1.66 cm à 2.26 cm, puis elle augmente en fonction des doses jusqu'à 4.34 cm à la dose 60% chez la souche F5. En comparant avec la souche SR, la moyenne varie de 0.4 cm jusqu'à 2.78 cm. Par contre le témoin des deux souches ne présente aucune nécrose.

Le paramètre d'enroulement

Le tableau 5 résume les résultats de l'analyse factorielle de la variance calculés dans le but d'apprécier l'effet des toxines de *F.o.a* en fonction des doses testées (0, 10, 20, 30, 40, 50 et 60%) sur l'enroulement de la feuille.

Tableau 5: Résultats de l'analyse factorielle de la variance pour apprécier l'effet des toxines de *F.o.a* sur les deux souches pour l'enroulement des feuilles.

Source de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	v.r	F Probabilité	Signification
Classe de bloc	4	1.0571	0.2643	1.77		
Dose (%)	6	1.8000	0.3000	2.01	0.080	Ns
Toxine	1	0.0000	0.0000	0.00	1.000	Ns
Dose %_ Toxine	6	0.6000	0.1000	0.67	0.673	Ns
Résiduel	52	7.7429	0.1489			
total	69	11.2000				

Les résultats obtenus de l'analyse factorielle de la variance à deux critères (dose(%)-toxine) effectuée au seuil 5% ($p= 0.05$).

- Différence non significative (Ns),
- Toxine F5 et SR.

Le tableau montre qu'il ya une différence non significative sur les deux variantes dose et toxine même sur l'interaction.

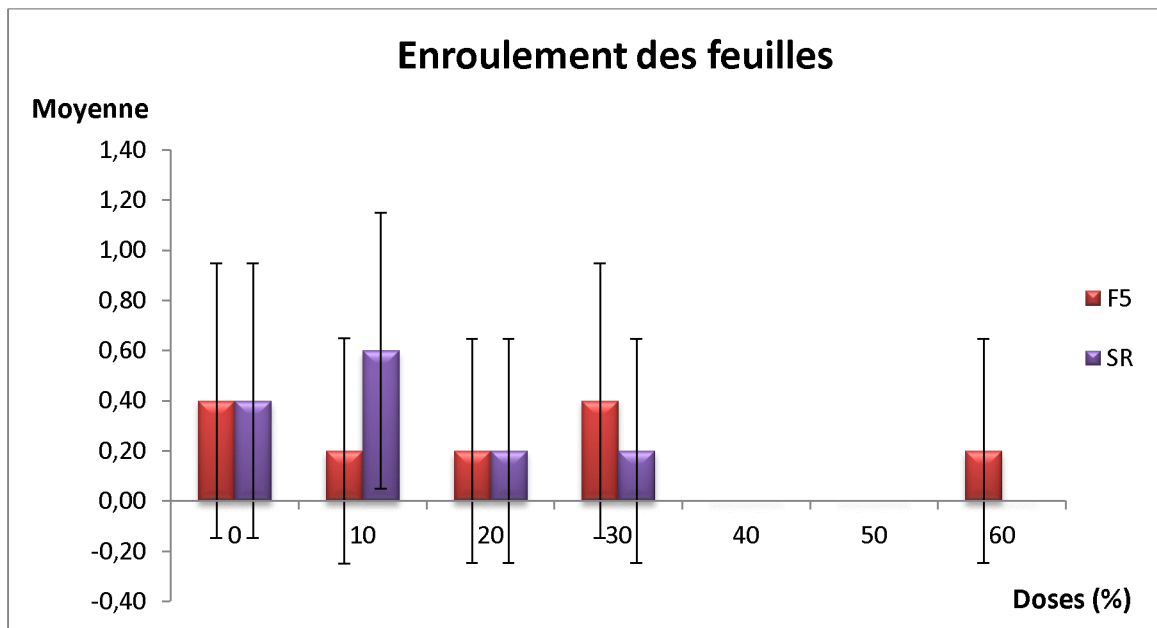


Figure 16: Evolution de l'enroulement des feuilles de 7 doses calculé après 1 mois de culture.

La figure 16, illustre l'Effet du filtrat de culture des souches SR et F5 de *F.o.a* sur les feuilles détachées de vitroplants du cultivar sensible Deglet Nour. Chaque point correspond à la moyenne générale et l'écart-type de l'enroulement des feuilles de 7 doses calculé après un mois de culture montre la différence entre les deux souches de filtrat de culture de *F.o.a*. Globalement, l'enroulement apparaît dans toutes les doses, sauf la dose 40 et 50 % en remarquant l'absence d'enroulement chez les deux souches, puis à la dose 60% les feuilles de la souche F5 sont enroulées.

Le paramètre de dessèchement total

Le tableau 6 résume les résultats de l'analyse factorielle de la variance calculés dans le but d'apprécier l'effet des toxines de *F.o.a* en fonction des doses testées (0, 10, 20, 30, 40, 50 et 60%) sur le dessèchement total de la feuille.

Tableau 6 : Résultats de l'analyse factorielle de la variance pour apprécier l'effet des toxines de *F.o.a* sur les deux souches pour le dessèchement des feuilles.

Source de variation	Degré de liberté	Somme des Carrés	Moyenne des carrés	v.r	F Probabilité	Signification
Classe de bloc	4	2.0857	0.5214	3.26		
Dose (%)	6	6.1714	1.0286	6.43	< 0.001	***
Toxine	1	0.2286	0.2286	1.43	0.237	Ns
Dose %_ Toxine	6	0.5714	0.0952	0.60	0.732	Ns
Résiduel	52	8.3143	0.1599			
total	69	17.3714				

Les résultats obtenus de l'analyse factorielle de la variance à deux critères (dose(%)-toxine) effectuée au seuil 5% ($p= 0.05$).

- Différence non significative (Ns), très hautement significative (***).
- Toxine F5 et SR.

Le tableau 6 montre qu'il ya une différence très hautement significative sur la dose c'est-à-dire il y a un effet de dose, et une différence non significative sur les toxines et sur l'interaction.

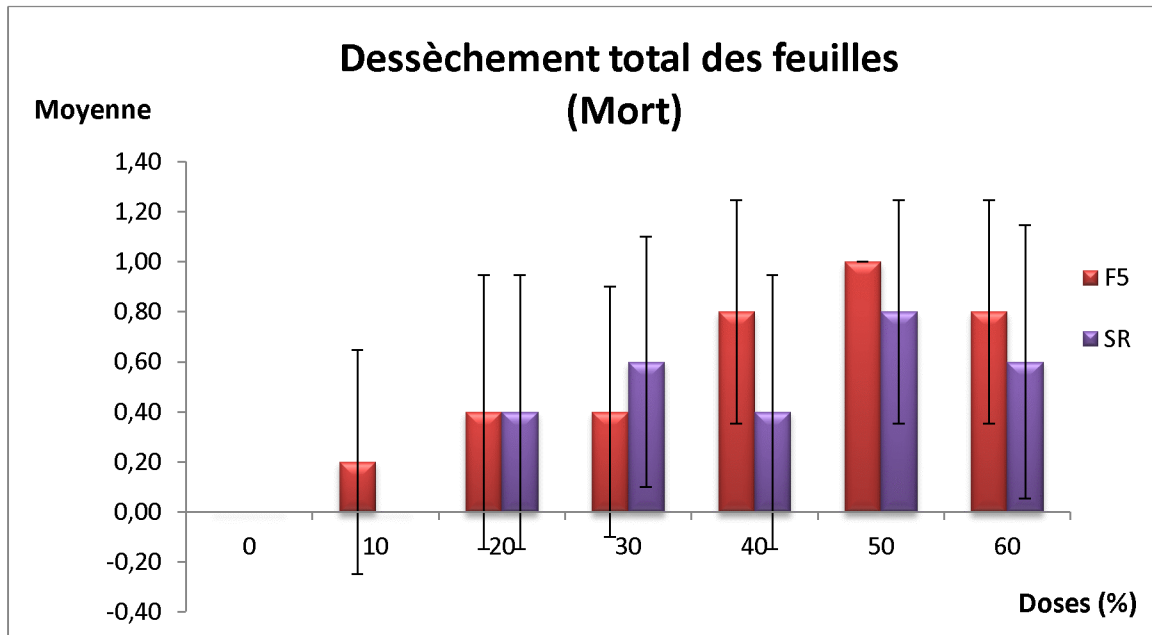


Figure 17: Evolution de dessèchement total des feuilles des deux souches.

La figure 17 montre le taux de moyen de mortalité en fonction de doses testées. Elle illustre l'effet du filtrat de culture des souches SR et F5 de *F.o.a* sur les feuilles détachées de vitroplants du cultivar sensible Deglet-Nour. Chaque point correspond à la moyenne générale et à l'écart-type de dessèchement total des feuilles de 7 doses calculé après 1 mois de culture.

Le taux de dessèchement total des feuilles est respectif à 0.2 à 1 pour la souche F5, et de 0.4 à 0.8 pour la souche SR. Une absence de mortalité est enregistrée chez la souche SR dans la dose 10%.

Ces résultats montrent que l'analyse factorielle de la variance pour apprécier l'effet des toxines de *F.o.a*, selon les doses, à l'apparition des nécroses, l'enroulement et le dessèchement total des feuilles a un effet important chez les deux souches, sur l'apparition des nécroses et sur le dessèchement total de la feuille (la mort) c'est les paramètres les plus représentatifs. Mais le plus important c'est le paramètre de nécrose. C'est pour cela, que nous sommes basés sur l'analyse de ce paramètre pour déterminer la dose de filtrat de culture de *F.o.a*, afin de l'appliquer sur les mutants de cultivar Deglet Nour.

Les résultats présentés sous forme de pourcentage de feuilles nécrosées (figures 18 et 19). L'analyse statistique des résultats est réalisée suivant un dispositif complètement aléatoire utilisant l'analyse de la variance à deux critères de variation: Dose(%)- Toxine. Elles

sont présentées sous forme de graphes et dans lesquels nous avons déterminé la dose optimale de filtrat de culture résistant au Bayoud.

Cas de F5

Le tableau 7 illustre le pourcentage des feuilles nécrosées de cultivar Deglet Nour sensible au Bayoud, aux différentes doses, à partir de moyenne générale de nécrose de la souche F5.

Tableau 7: Pourcentage des feuilles nécrosées à partir de moyenne générale de nécrose de F5.

Dose %	0	10	20	30	40	50	60
MG	0	1,66	1,7	2,26	4,22	3,36	4,34
% de feuilles nécrosées	0	33,2	34	45,2	84,4	73,2	88,6

MG: moyenne général; %: pourcentage.

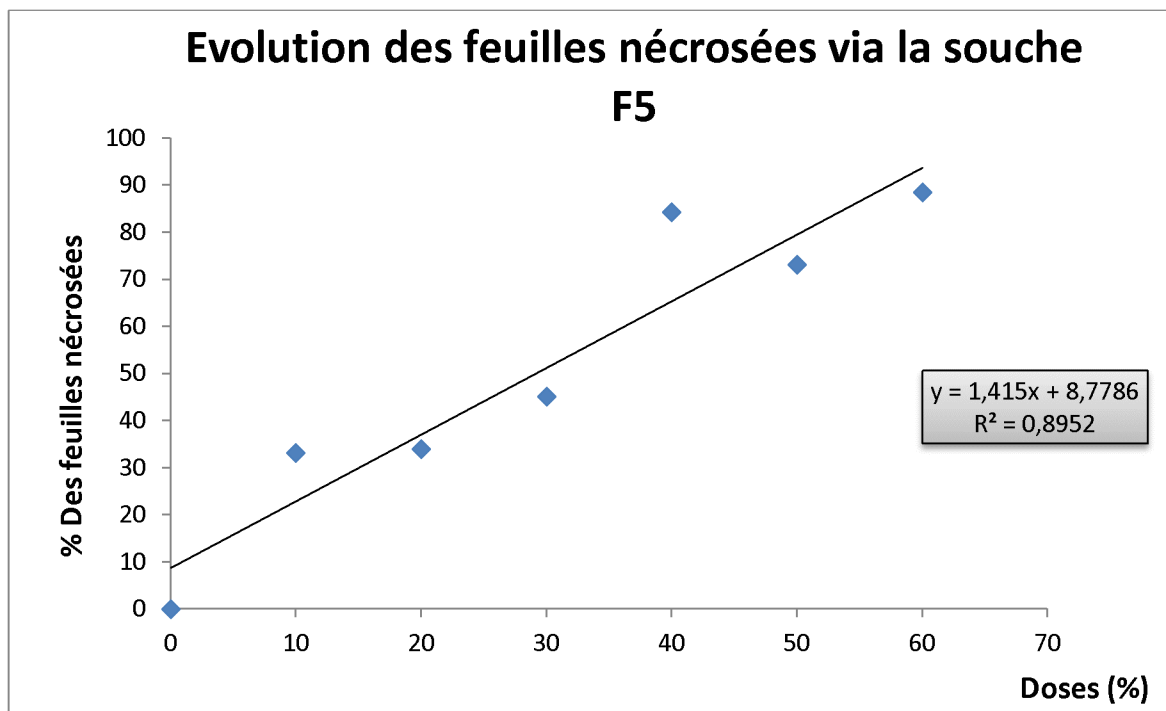


Figure 18: Courbe de pourcentage d'évolution des feuilles nécrosées via la toxine F5.

La figure 18, montre que le pourcentage des feuilles nécrosées varie selon les doses. En effet nous avons noté qu'à la dose 0% pas de feuilles nécrosées. C'est le témoin qui ne

présente aucun symptôme. Ce pourcentage augmente par rapport aux doses de plus en plus élevées jusqu'à la dernière à dose 60% où il a atteint le maximum de 88.6 %.

Cas de SR

Le tableau 8, révèle le pourcentage des feuilles nécrosées de cultivar Deglet Nour sensible au Bayoud, aux différentes doses, à partir de moyenne générale de nécrose de la souche SR.

Tableau 8: Pourcentage des feuilles nécrosées à partir de moyenne générale de nécrose de SR

dose %	0	10	20	30	40	50	60
MG	0	0,44	0,82	0,86	1,08	2,78	2,08
% de feuilles nécrosées	0	8,8	16,4	17,2	21,6	55,6	41,6

MG: moyenne général. % : pourcentage.

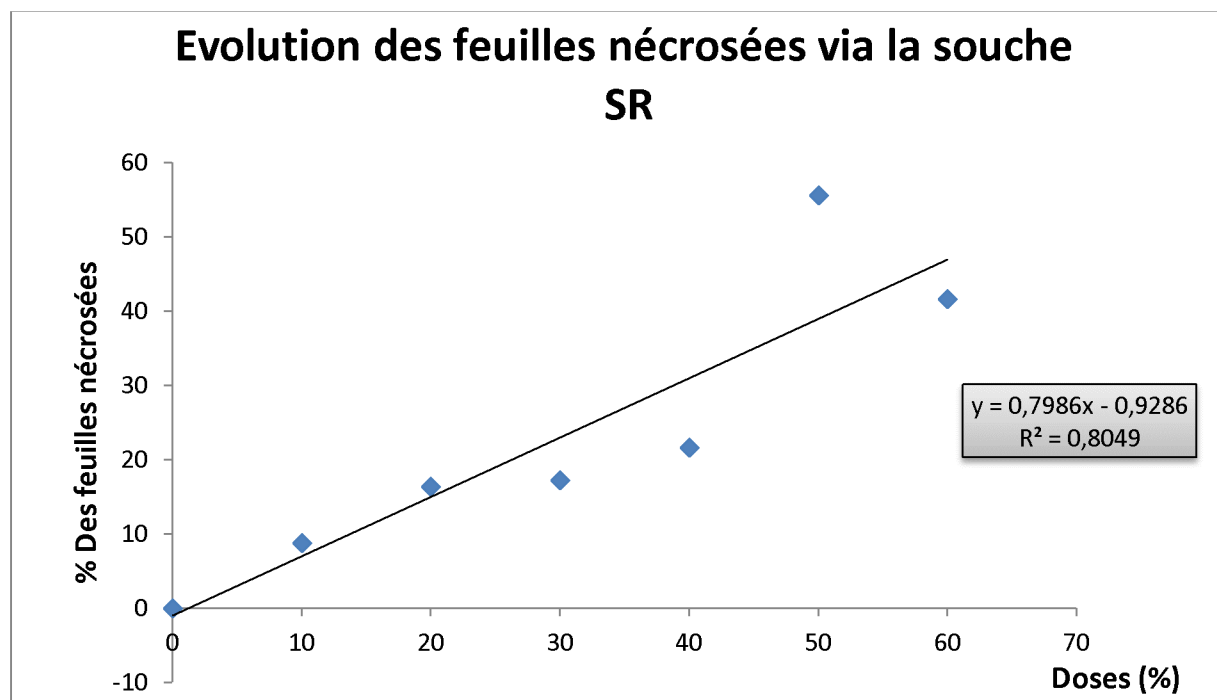


Figure 19: Courbe du pourcentage d'évolution des feuilles nécrosées via la toxine SR.

La figure 19 nous a permis de révéler que le pourcentage des feuilles nécrosées varié selon les doses. Pour la souche SR via la dose 0% pas de feuilles nécrosées, le témoin ne présente aucun symptôme.

Le pourcentage des feuilles nécrosées augment petit à petit, jusqu'à la dose 50 où on remarque une augmentation très élevée à 55,6%, et qui est un cas exceptionnel, cela est due à la contamination des tubes qui a causé la perturbation des mesures. En final, le pourcentage des feuilles nécrosées à la dose 60 est à 44.6%.

En résumé, l'application des différentes doses du filtrat de culture sur les feuilles détachées de cultivar Deglet Nour, a montré une variation de résultats qui varient entre les deux souches de *F.o.a.*

Ces résultats nous ont permis de révéler aussi que la souche F5 est plus agressive que la souche SR. Cette dernière manifeste un faible niveau d'agressivité. En effet selon le pourcentage des feuilles nécrosées, nous avons noté que le pourcentage chez la souche F5 qui est égale à 88.6%, est plus élevé que le pourcentage des feuilles nécrosées de la souche SR qui est égale 41,6%. En effet, Sedra (1993), a montré qu'il existe une variabilité dans l'agressivité des isolats.

D'après les calculs nous avons constaté que la dose de filtrat de culture qui a un effet sur les feuilles détachées est la dose 60% pour les deux souches F5 et SR.

Le teste étudié dans ce travail sur les feuilles détachées du cultivar Deglet-Nour sensible à la maladie du Bayoud et leurs interactions avec le filtrat de culture de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, qui est un agent sélectif, pour étudier la toxicité des souches. En parallèle dans les testes biologiques, plusieurs auteurs utilisent des plantes entières ou des parties de plantes pour étudier l'effet des toxines fongiques: Molot et al., (1984) ont utilisé les plantules d'asperge pour évaluer l'effet des toxines secrétées par *Rhizoctonia violacea*. Lemaire et al., (1984) ont aussi utilisé les plantules de la tomate pour étudier les toxines de *Pyrenochaeta lycopersici*. Pinon (1984) a utilisé particulièrement les feuilles des peupliers pour les toxines de *Hypoxyllum mammatum*.

L'effet des toxines de filtrat de culture sur les feuilles détachées des vitroplants de cultivar Deglet-Nour sensible montre une différence d'agressivités entre les souches utilisées. Les mêmes résultats ont été trouvés par plusieurs auteurs qui ont déclarés que, l'utilisation des toxines comme agents sélectifs est resté la méthode la plus adoptée pour contrôler certaines maladies des plantes causées par les agents pathogènes (Bhatt et al., 1988 ; Branchard, 1984 ; Brettell et al., 1980 ; Carlson, 1973 ; Daub, 1984 ; Darakov, 1995 ; Megneneau, 1994 ; Sacristam 1982 ; Sedra et al., 2008). Autres études ont montré que les toxines

peuvent être utilisées pour améliorer la résistance de certaines plantes aux agents pathogènes (**Svabova et Lebeda 2005**). Ces auteurs ont apporté ces applications qui aboutissent à des lignes résistantes dont la banane, l'œilletton, la vigne, la fraise et le blé et, actuellement, ces techniques sont un complément important aux méthodes classiques d'élevage.

Ce travail rentre dans le cadre d'un projet de recherche de coopération avec l'AIEA (Agence internationale de l'énergie atomique) et l'INRAA ayant pour objectif, l'amélioration génétique du palmier dattier vis-à-vis d'un stress biotique (*Fusarium oxysporum f.sp albedinis*) par radio-mutagenèse au Cobalt 60, pour l'obtention de mutants résistants et de bonne qualité.

C'est dans ce sens que notre expérimentation a été orientée à mettre en évidence l'effet de filtrat de culture de *Fusarium oxysporum f.sp albedinis* (*F.o.a*) sur les feuilles détachées de vitroplants de cultivar Deglet Nour sensible au Bayoud. Et de déterminer la dose de filtrat de *F.o.a* pour la sélection du mutant de palmier dattier.

Lors de notre expérimentation nous avons suivi l'effet des toxines de filtrat de culture de *F.o.a* sur les feuilles détachées pendant un mois de culture pour mesurer et observer :

- La surface nécrose,
- L'enroulement de la feuille,
- Et le dessèchement total de la feuille (mort).

L'expérimentation nous a montré qu'il existe une différence entre les paramètres d'évolution étudiés tel que la surface nécrosée, l'enroulement et le dessèchement des feuilles pour les deux souches SR et F5, après un mois de mise en culture.

L'analyse statistique nous a permis de révéler qu'il y a une différence significative sur la nécrose, et la courbe de pourcentage des feuilles nécrosées nous a montré que la souche F5 a un taux de nécrose qui est égale 88.6 % à la dose 60, qui est plus élevé par rapport au souche SR qui est égale 44.1% . Ce taux élevé de nécrose chez la souche F5 est lié à l'agressivité de cette dernière.

Ce travail est une étape indispensable pour l'évolution de l'ensemble des cultivars de palmier dattier vis-à-vis de la maladie. L'utilisation du filtrat de culture de *F.o.a*, comme outil alternative de la sélection pour évaluer les cultivars testés.

Quant aux perspectives de recherche, l'étude laisse apparaitre les orientations suivantes:

- Faire une sélection des mutants à la dose 60% et l'a comparée avec nos résultats,
- Confirmer la résistance des mutants vis-à-vis les filtrats de culture de *Fusarium oxysporum f.sp albedinis*,
- Rechercher les caractères de la qualité dattière des mutants.

A

- **Abahmane, L. 2011.** Date palm micropropagation *via* organogenesis. *In*: Jain, S. M., Al-Khayri, J. M., Johnson, D. V. (Eds.). Date palm biotechnology. Dordrecht, Springer Netherlands, 69-90.
- **Abed F., 2012.** Embryogenèse somatique chez quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) de trois régions du sud et évaluation de la conformité par les systèmes enzymatiques (peroxydases). Thèse de Magister ENSAE. Alger.
- **Abed F., Khelafi H., Yatta D., 2006.** Mutagenèse induite chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), Détermination des doses de toxine de F.o.a. Conf. Rég., Mutagenèse induite et biotechnologies d'appui pour la protection du palmier dattier. Alger.
- **Abed F., Saka H., 1999.** Efeet de différentes doses d'irradiation de COBALT 60 sur les cals embryogènes de Deglet Nour (*Phoenix dactylifera* L.). Recherche agro.N°5, pp : 73-80.
- **Aberlenc-Bertossi, F., Daher, A., Chabrilange, N. 2010.** La détermination du sexe chez le palmier dattier. *In*: Aberlenc-Bertossi, F. (Ed.). Biotechnologies du palmier dattier. Paris, IRD editions, 227-234.
- **Agrios GN., 1978.** Plant pathology. Academic Press. 2nd Ed. 703 p.
- **Ait-Chitt M., 1989.** Problèmes rencontrés en culture *in vitro* du palmier dattier, *phoenix dactylifera* L. par la technique d'organogenèse. Compte rendu du premier groupe de travail sur la multiplication rapide du palmier dattier par les techniques de culture *in vitro*. F.A.O. Marrakch : 9-12.
- **Ait-Chitt M., 2005.** Large scale micropropagation of date palm : The Moroccan experience. *In*: Boulanouar, B., Kradi, C. (Eds.). Actes du Symposium International sur le Développement Durable des Systèmes Oasiens, 08-10 mars. Erfoud, Maroc, 94-98.
- **Albouvette C., Couteaudier Y., Louvet J., 1986.** Recherches sur la résistance des sols aux maladies. X-comparaison de la mycoflore colonisant les racines de melons cultivés dans un sol résistant ou dans un sol sensible aux fusarioses vasculaires. 4, 735-740.

- **Al-Ghamdi, A. S., Al-Bahrany, A. M., Al-Khayri, J. M., 2002.** Evaluation of Date Palm Males Used in Pollination in Al-Hassa Area. FR-1024/238. King Faisal University, Al-Hassa, 30p.
- **Al-Khalifah, N. S. Shanavaskhan, A.E., 2012.** Micropropagation of Date Palms. Asia-Pacific Consortium on Agricultural Biotechnology (APCoAB) and Association of Agricultural Research Institutions in the Near East and North Africa (AARINENA), 54p.
- **Al-Khayri Jameel M., 2011.** Basal salt differ according to culture stage and cultivar in date palm somatic embryogenesis. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 7(1): 32-42.
- **Amir H., 1991 a.** Corrélation entre l'aptitude de différentes souches de *Fusarium* à limiter la fusariose vasculaire du lin, leur activité respiratoire et leur développement saprophytique dans un sol désinfecté. Can. J. Microbiol. 37 : 889-896.
- **Amir H., Mahdi N., 1993.** Liaisons entre les aptitudes écologiques de différentes souches de *Fusarium* et leur efficacité dans la protection de plantes de lin contre la fusariose vasculaire. Can. J. Microbiol. 39 : 234-244.
- **Anjarne M., Bougerfaoui M., Abahmane L., 2005.** Les Techniques de micropropagation du palmier dattier : principes et acquis de recherche. In: Boulanouar, B., Kradi, C. (Eds.). Actes du Symposium International sur le Développement Durable des Systèmes Oasiens, 08-10 mars. Erfoud, Maroc, 550-553.
- **Anonyme., 2017.** Rapport sur le commerce extérieur des dattes, onfaa.inraa.dz.
- **Auge R., 1989.** La culture in vitro et ses applications horticoles. Ed. France. 225 P.
- **Armstrong CL, Green C.E., 1986.** Establishment and maintenance of friable, embryogenic maize callus and the involvement of L.Proline. 164, pp : 207-214.
- **Azco' n-Aguilar C., Bare, J.M., 1997.** Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture : significance and potentials. Sci Hortic. 68 : 1-24.

B

- **Barrow S. 1998.** Amonograph of *Phoenix* L. (Palmae: Coryphoideae). Kew bulletin 53: 513-575.

- **Behnke M., 1979.** Selection of potato callus for resistance to culture filtrates of *Phytophthora infestans* and regeneration of resistant plants. *Theor. Appl. Genet.* 55. 69-71.
- **Bekheet, S., 2013a.** Direct Organogenesis of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) for Propagation of True-to-Type Plants. *Scientia Agriculturae*, 4(3), 85-92.
- **Bekheet, S., 2013b.** Date palm biotechnology in Egypt (Review article). *Applied Science Reports*, 3 (3), 144-152.
- **Bender CL., 1997.** Phytotoxines production in *Pseudomonas syringae*. P.125-141 in Stacey G and Keen NT (eds). *Plant microbe interactions*. Ed. Chapman ett Hall. Vol 3.
- **Benzohra, I.E., Megateli M., Berdja R., 2015.** Bayoud disease of date palm in Algeria: History, epidemiology and integrated disease management, 14(7): 542-550.
- **Bhatt PN., Selvapandiyam A., Tedford E., Mehta AR., 1988.** Host specific toxine from *Fusarium oxysporum* f.sp.nicotianae. in : Abstract of paper 5th international congress of plant pathology, Kyoto, Japan. Pp 1-22.
- **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 Doctorat. 3ème cycle, USTHB, Alger. pp. 201.
- **Bouguedoura, N., Bennaceur, M., Benkhalifa. A. 2010.** Le palmier dattier en Algérie : Situation, contraintes et apports de la recherche. *In: Aberlenc-Bertossi F. (Ed.) Biotechnologies du palmier dattier*. Paris, IRD editions, 15-22.
- **Bouguedoura, N., Bennaceur, M., Babahani, S., Benziouche, S. E., 2015.** Date Palm Status and Perspective in Algeria. *In: Al-Khayri, J. M., Jain, S. M., Johnson, D. V. (Eds.). Date Palm Genetic Resources and Utilization*. Dordrecht, Springer Netherlands, 125-168.
- **Bounaga N., 1985.** Contribution à l'étude de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent de la fusariose du palmier dattier. Thèse de doctorat d'état. Université des Sciences et de Technologie Houari Boumediène, Alger. 195 p.
- **Brac de la Perrière, R.A., Benkhalifa A., 1991.** Progression de la fusariose du palmier dattier. *Sécheresse*, 2 : 119-128.

- **Branchard M., 1984.** Application des vitro méthodes à la mise en œuvre de programme de sélections de plantes résistantes à la maladie. Agron 4 : 905-911.
- **Brettell Ris ., Ingram Ds., thomas E., 1980.** Selection of maize tissue cultures resistant to *Helminthosporium maydis* T-toxine. In : Ingram DS., Helgeson Jp (eds.) Tissue culture methods for plant pathologists. Blackwell, Oxford, pp 233-237.
- **Bulit J., Louvet J., Bouhot D., Toutain G., 1967.** Recherches sur les fusarioses. I- Travaux sur le bayoud , fusariose vasculaire du palmier dattier en Afrique du Nord. Ann. Epiphyt. 18 :213-239.
- **Bulletin OEPP/ EPPO., 2003.** Protocoles de diagnostic pour les organismes réglementés. *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Bulletin n° 33, 265-269. PM 7/16. 75016. Paris. France.
- **Buscarlet I., 1967.** L'énergie nucléaire au service de l'agriculture. Ecole nationale supérieur agronomique de l'université de Madagascar. pp : 202-203.

C

- **Carlson PS., 1973.** Methionine sulfoximine-resistant mutant of tobacco. Science 180 : 1366-1368.
- **Chowdhury M. S. H., Halim M. A., Haque F. & Koike M., 2008.** Traditionnal utilisation of wild date palm (*Phoenix sylvestris*) in rural bangladesh: an approach to sustainable biodiversity management. Journal of forestry research 19 (3): 245-251.
- **Christophe B., Fredric T., 2009.** Gènes, pouvoirs et profits, Recherche publique et régimes de production des savoirs de Mendel aux OGM. 127 p.
- **Cirad et Gret., 2002.** Mémento de l'agronome. Edit. Quae, 2002. ISBN 2876145227. 1691 p. CIRAD/ Centre de coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement France, GRET/ Groupe de Recherche d'Echanges Technologiques.
- **Cornu, D., Boulay, M., 1986.** La multiplication végétative: techniques horticoles et culture *in vitro*. Revue Forestière Française, 38, 60-68.

D

- **Darakov OB., 1995.** gametophyte selection of tomatoes for resistance to early blight disease. Sex Plant Repord 8 :95-98.
- **Daub ME., 1984.** A cell culture approach for the development of disease resistance : studies on the phytotoxine cercosporin. Hort Sci 19 : 382-387.

- **Debourgogne A., 2013.** Typage moléculaire du complexe d'espèces *Fusarium solani* et détermination de son mécanisme de résistance au voriconazole. Thèse de doctorat, Université de Lorraine, France.
- **Djerbi M., 1982.** Bayoud disease in North Africa : history, distribution, diagnosis and control. *Date palm Journal I. (2)* : 153-198.
- **Djerbi M., 1988.** Les maladies du palmier dattier. Ed. El Watan Printing Press Co. Beyrouth, 125 p.
- **Djerbi M., 1990.** Méthodes de diagnostic du Bayoud. In: Compte rendu de l'atelier sur le diagnostic et l'éradication du Bayoud. Ghardaïa 3-7 Juin 1989. Algérie (sous la presse).
- **Djerbi M., 1994.** Précis de Phoeniciculture. Rome, Ed. FAO, 191-1992 pp.
- **Djerbi M., El Ghorfi A., El Idrissi Ammari MA., 1985.** Etude du comportement du henné *Lawsoniainermiset* de la luzerne *Medicagosativa* et quelques espèces de palmacées vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent causal du Bayoud. *Annales de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie*, 58 : 1-11.
- **Djebri, M., Aouad, H., Filali, H., Saaidi, M., Chtioui, A., Sedra, My H., Allaoui, Hamdaoui, T., Oubrich, H., 1986.** Preliminary results on selection of high quality Bayoud resistant lines among natural date palm population in Morocco. P. 386-399. In the Proceeding of. The second symposium on date oalm. 3-6. March.1985, king faisal University, Saudi Arabia.
- **Dupont F., Guinard J L., 2007.** Botanique: Systématique moléculaire. Ed. Elsevier Masson, 285 p.

É

- **El Hadrami I., El Jaafari S., Daayf F., 1997.** Les biotechnologies végétales : intégration chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*), pivot de l'agriculture oasisienne. Cas du Maroc., In *Biotechnologies, Amélioration des plantes et sécurité alimentaires*, Actes des 6èmes Journées Scientifiques du Réseau Biotechnologies Végétales AUPELF.UREF. Centre universitaire d'Orsay, 571: 23-27.
- **El Hadrami A., El Idrissi-Tourane A., El Hassni M., Daayf F., et El Hadrami I., 2005.** Toxin-based *in vitro* selection and its potential application to date palm for resistance to the bayoud *Fusarium* wilt. *Plant Biology and Pathology*, C. R. Biologies, 328 : 732-744.

- **El Komy, M.H., Saleh, A.A., Eranthodi A., Molan, Y.Y., 2015.** Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato *Fusarium* wilt. *Plant Pathology Journal*, 31: 50–60.

F

- **Fehér, A., 2005.** Why somatic plant cells start to form embryos?. *In*: Mujib, A., Šamaj, J. (Eds.). *Somatic embryogenesis*. Heidelberg, Springer Berlin, 85-101.
- **Fki, L., Bouaziz, N., Kriaa, W., Benjemaa-Masmoudi, R., Gargouri-Bouزيد, R., Rival, A., Drira, N., 2011.** Multiple bud cultures of ‘Barhee’ date palm (*Phoenix dactylifera* L.) and physiological status of regenerated plants. *Journal of plant physiology*, 168(14), 1694-1700.
- **Ferry M., 2003.** Date palm axillary productions : morphogenesis and *in vitro* propagation. Book, the date palm : from tradition resource to green wealth, published by Emirate center for strategic study and research.
- **FAO/IAEA., 2006.** Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, International atomic Energy Agency, Vienna.

G

- **Gasmi A., 2012.** Le palmier dattier. Elaourassia Ed. Algérie, 288 p.
- **Gautheret R., 1959.** La possibilité de réaliser les cultures indéfinies des tissus de tubercules de carottes. *C.R. Acad. SCI.* 208. Pp .118-129.
- **Gilles P., 2000.** Cultiver le palmier dattier .Ed. CIRAS, 110 p.
- **Govaerts R., Dransfield J., 2005.** World checklist of palms. Kew, Royal Botanic Gardens, 240 p.

H

- **Henderson A. 2009.** Palms of Southern Asia. Princeton, Princeton University Press.
- **Hibar k., Daam-Remadi M., Khiareddine H., El-Mahjoub M., 2005.** Effet inhibiteur *in vitro* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. *Biotechnol. Agron. Sco. Environ.* 9 (3), 163-171.

- **Harrison, M.A., Mayo, M.A., 1983.** The use of protoplasts in plant virus research. In Helgenson, J.P., Deverall, B.J (Eds), use of tissue culture and protoplasts in plant pathology, academic Press, New York. PP: 67-137.
- **Holliday, M.J., Klamar, W.L., 1979.** Expression of disease reaction types in soybean callus from resistant and susceptible plants. *Phytopathology* 69. 576-578.

I

- **Imene., 2017.** Production de dattes : plus de 31000 tonnes exportées en 2016.

J

- **Jain, S.M., 2011 .**Radiation-Induced Mutations for Date Palm Improvement, *Date palm biotechnologies*, Springer, Dordrecht 762 ; 271-285.
- **Jiménez-Díaz, R.M., Castillo P., Jiménez-Gasco, M.d.M., Landa B., Navas-Cortés, J.A., 2015.** *Fusarium wilt* of chickpeas: Biology, ecology and management, *Crop Protection*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.023>.
- **John E., Smith., 2004.** *Biotechnology*, Cambridge University press. 37-38 p.

K

- **Khierallah, H. S., Bader, S. M., 2007.** Micropropagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) var. Maktoom through direct organogenesis. *In: Zaïd, A., Hegarty, V. (Eds.)*. Proceedings of the third International Date Palm Conference, Abu Dhabi, 19-21 February. Leuven. ISHS, 213-224.

L

- **Labrani Z., 2007.** Réorientation androgénétique des microspores de *Triticum turgicum*, *subsp. durum* (Desf) Husn. L'albinisme peut-il être partiellement maîtrisé ? 28p.
- **Laville E., 1973.** Les maladies du dattier. Pages 95-108. *In* Le palmier dattier. P. Munier. Edit. Maisonneuve et Larose, Paris, 221p.
- **Lemaire, J.M., Glandard A., Laterrat H., Conus M., Blanchard., 1984.** Mise en évidence d'une toxine chez *Pyrenochaeta Lycopersic Scheneider* et Gerlach, agent des racines liégeuses ou Corkey-root de la tomate et du Melon. *Rev .cyto. biol. Végét. Bot ., 7* : 193-204.

- **Littardi C., 2015.** Palm di Liguria. Economia, paessaggioe significato simboliconell'estrema Riviera di Ponente (secoli XIII-XX) 293 p.
- **Louvet J., Toutain J., 1973.** Recherches sur les fusarioses VIII. Nouvelles observations sur la fusariose du dattier et précisions concernant la lutte Ann. Phytopathol.5 : 35-52.
- **Louvet J., 1977.** Observations sur la localisation des chlamydospores de *Fusarium oxysporum* dans les tissus des plantes parasites. Travaux dédiés à G. Viennot-Bourgin, I.N.R.A., Société Française de Phytopathologie, Paris, 193-197.
- **Louvet J., 1991.** Que devons-nous faire pour lutter contre le Bayoud. In : Physiologie des Arbres et Arbustes en zones arides et semi-arides (Ed. by A. Riedaker, E. Dreyer, C. Pafadnam, H. Joly and G. Bory). Groupe d'étude de l'arbre, Jhon Libbey Eurotext, Paris, France. pp 337-346.

M

- **MADR (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural-Algérie), 2014.** Données macro-économiques : filière Phoeniciculture.
- **Mahdi N., 2011.** Essai de lutte biologique contre la fusariose vasculaire du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Mémoire de Magister Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- **Malençon G., 1934.** Nouvelles observations concernant l'étiologie du Bayoud. C. R. Acad. Sci. Paris, 19 : 1259-1262.
- **Malençon G., 1950.** Le bayoud maladie fusarienne du palmier dattier en Afrique du Nord. Fruits, 5 :279-286.
- **Margara J., 1989.** Bases de la multiplication végétative. Les méristèmes et l'organogenèse. E. INRA. Paris.
- **Messiaen, C.M., Lafon R., 1970.** Les maladies des plantes maraîchères. Edit. INRA. Paris. 431 p.
- **Mezouane L., 2012.** Contribution à l'étude bibliographique du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) Physiologie et écologie. Mémoire de DES Tizi-Ouzou.
- **Molot, P.M., Conus M., Cotta J., Ferriere H., 1984.** Mise en évidence d'une toxine dans les filtrats de culture de *Rhizoctonia violacea*. Relation entre la sensibilité des plantules d'asperge à cette toxine et aux contaminations par mycélium. Rev. Cytol. Biol. Végét. Bot., 7 : 205-207.

- **Munier P., 1973.** Le palmier dattier. Ed G-P Maisonneuve, la rose. Paris. DAWSON V H W., 1963- Récolte et conditionnement des dattes. FAO ROME. 221 p.

N

- **Newton C., Gros-Baltazard M., Ivorra S., Paradis L., Pintaud J.-C. et Terral J-F., 2013.** *Phoenix dactylifera* L. and *P. sylvestris* in Northwestern India: A glimpse into their complex relationship. *Palms* 57: 37-50.

O

- **O'Donnell K., Ward, T.J., Robert, V.A.R.G., Crous, P.W., Geiser, D.M., Kang S., 2015.** DNA sequence-based identification of *Fusarium*: Current status and future directions. *Phytoparasitica*, 43: 583-595.
- **OEPP., 1994.** Fiche informative sur les organismes de quarantaine. *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. n° 70 II/ A1. Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la protection des plantes. 1-6 p.
- **Ollagier M., Renard, J.L., 1976.** Influence du potassium sur la résistance du palmier à huile à la fusariose. *Oléagineux*. (31)5 : 203-209.
- **Ozbay N., Newman, S.E., 2004.** *Fusarium* crown and root rot of tomato and control methods. *Plant. Pathol. J.* 3, p. 9-18.
- **Ouinten M., 1996.** Diversité et structure génétique des populations algériennes de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent de la fusariose vasculaire (bayoud) du palmier dattier. Thèse de Doctorat. Sciences et Technique du Languedoc. Université de Montpellier II.

P

- **Pereau-Leroy P., 1957.** Recherche d'un test de sensibilité des variétés de palmier dattier à la fusariose. *Fruits*. 12 :53-56.
- **Pereau-Leroy P., 1958.** Le Palmier dattier au Maroc. Min .Agric. Maroc, Service. Rech. Agron. et Inst Français Rech. Fruit Outre Mer, (I.F.A.C), 142 p.
- **Peyron G., 2000.** Cultiver le palmier dattier. CIRAD- Montpellier-France, 110 p.
- **Pinon J., 1984.** Propriétés biologiques de la toxine d'*Hypoxyylon mammatum*, parasite des peupliers de la section Leuce. *Rev. Cytol. Biol. Végét.*, 7 : 271-277.

R

- **Roger C., 1990.** Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Ed. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, 285 p.

S

- **Saadi M., 1979.** Contribution à la lutte contre le Bayoud, Fusariose vasculaire du palmier dattier. Thèse Université de Dijon.
- **Saadi M., Toutani C., Bannerot H., Louvet J., 1981.** La sélection du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) pour la résistance au bayoud. Fruit. 4.36 :241-249.
- **Sacristam , D.M., 1982.** Resistance responses to *Phoma lingam* of plants regenerated from selected cell and embryogenic cultures of haploid *Brassica napus*. Theor. Appl. Genet. 61.193-200.
- **Sacristam D.M., 1985.** Selection for disease resistance in *Brassica* cultures. Heredita 3 (suppl). 57-63.
- **Schipper, A.L.JR., 1978.** A *hypoxylon mammatum* toxine responsible for canker formation in quaking aspen. Phytopathology 68 : 868-872.
- **Sedra, My. H., 2003.** Le palmier dattier base de la mise en valeur des oasis au Maroc: techniques phoénicoles et création d'oasis. Rabat, INRA Editions. 265p.
- **Sedra, My. H., 2006.** Bayoud disease on palm date (*Phoenix dactylifera* L.) : its appearance, losses, spread, development conditions, diagnostique and cotrol methods, achievement, prospects and practical recommendations. Regional Project research for early detection of bayoud disease on date palm and development of its control technologies. AOAD/Imprimerie Al-Watania, Al-Khartoum/Marrakech.
- **Sedra, My.H., Djerbi M., 1984.** Mise au point d'une méthode rapide et précise d'identification du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* agent causal du bayoud. Ann. Insti. Nat. Rech. Agr. Tunisie 58 (1985), 2 : 1-12.

T

- **Tantaoui A., 1989.** Contribution à l'étude de l'écologie du *Fusarium* in *Fusarium* wilt reference to section Martilla. American Jornal of Botany 28(9) : 738-742.

- **Tayoda H., Tanaka N., Hirai T., 1984.** Effects of the filtrate of *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici* on tomato callus growth and the selection of resistant callus to filtrate. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.50. 53-62.
- **Tirichine, H.S., 2007.** Essai de mise en évidence de la conformité génétique des vitro-plants du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par l'utilisation des marqueurs enzymatiques. Mémoire de DES. Université d'Oran Es-Sénia, 52 p.
- **Thanutong I., Furusawa M., Yamamoto M., 1938.** Resistant tobacco plants from protoplasts – derived calluses selected for their resistance to *Pseudomonas* and *Alternaria* toxins. Theor. Appl. Genet. 66.209-215.
- **Toutain G., 1965.** Note sur l'épidémiologie du bayoud en Afrique du Nord. AL Awamia 15 :37-45.
- **Toutain G., Louvet J., 1974.** Lutte contre le Bayoud. IV. Orientations de la lutte au Maroc. Al Awamia, 53: 114-162.

W

- **Waltz, S.S., Johnes, J.P., 1981.** Nutritional requirements of *Fusarium oxysporum* : Basis for a disease control system. In Nelson, R.J., et al., 340-349.
- **Wilmot, D.B, CD Nickell., J.M.Widholm, Gray LE., 1989.** Evaluation of soybean resistance to *Phialophora greggata* filtrate in tissue culture. Theor. Appl. Genet. 77. 227-232.

Y

- **Yatta D., F. Abed, B. Amara, M. S. Yakhou and F. Benhafsfi 2014.** The genomic DNA structure in somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix Dactylifera* L.) by flow cytometric, RAPD and AFLP analysis. e-Book Biotechnology & conservation of species from arid regions (Nova publisher inc 2014).p 241- 252.

Z

- **Zaïd A., 2002.** Date palm cultivation. Food and agricultural organization of the United Nations Rome, (en ligne) [URL:http://www.fao.org/docrep/006/y4360e/y4360e00.htm](http://www.fao.org/docrep/006/y4360e/y4360e00.htm).
- **Zaid, A., De Wet, P.F., Djerbi, M., Oihabi, A., 2002.** Diseases and pests of date palm. In: Zaid, A. (Ed.), Date Palm Cultivation. , 1st ed. Plant Production and

Protection, Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome, pp. 227-242.

- **Zohary D., Hopf M., Weiss E., 2012.** Domestication of plants in the Old World. 3ème édition. New York, Oxford University Press, 264 p.
- **Zrýd J.P., 1988.** Cultures de cellules, tissus et organes végétaux. Fondement théorique et utilisations pratiques. Ed Press. Polytechnique Romandes Suisse.

Annexe 1

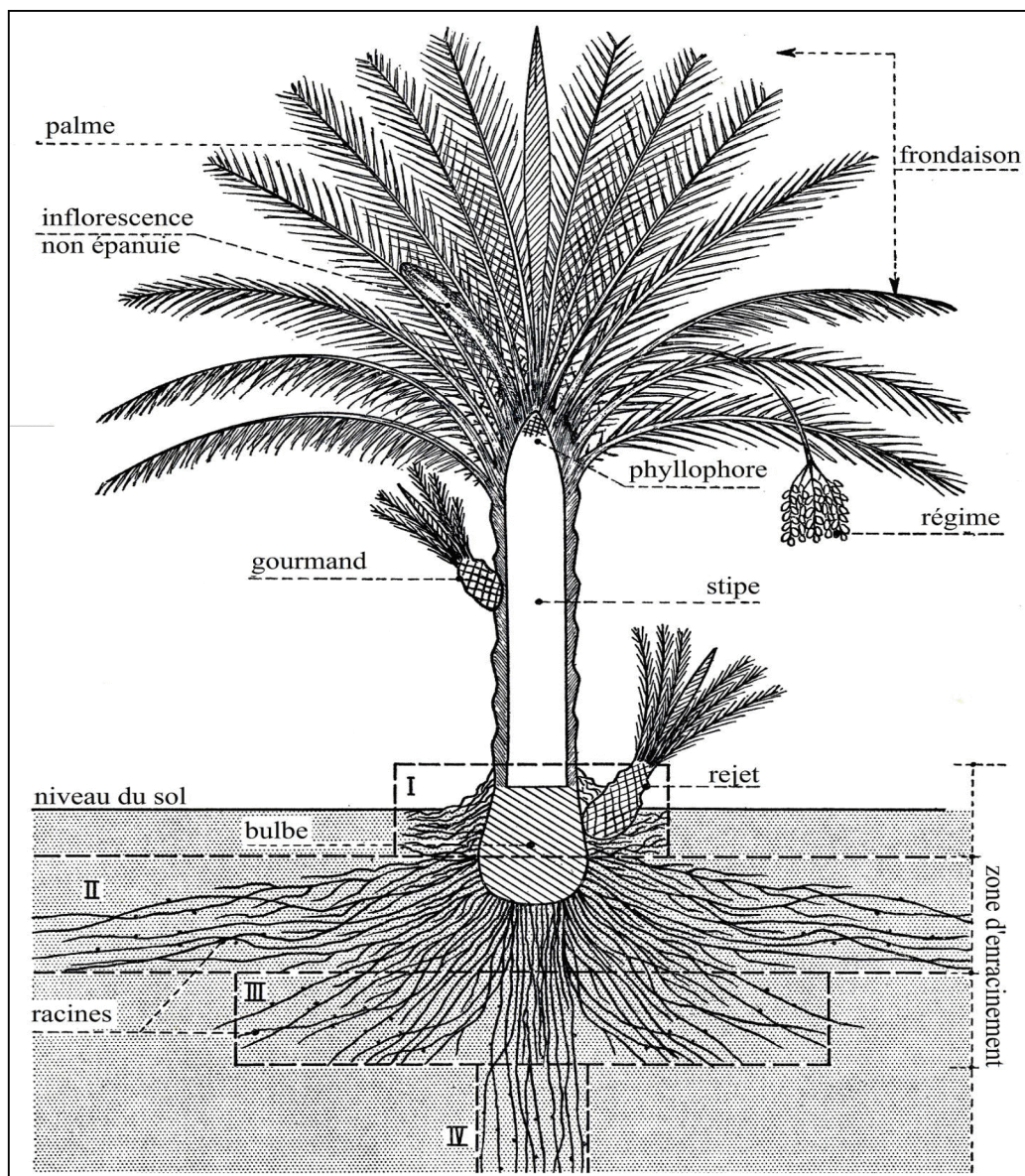


Figure 1 : Schéma d'un palmier dattier (Munier, 1973).

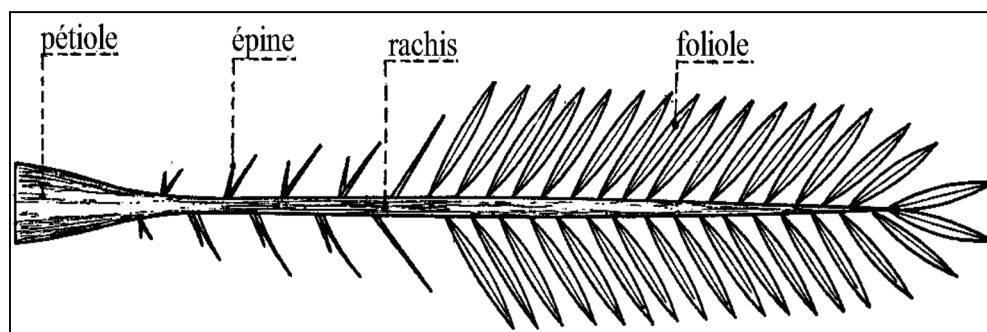


Figure 2 : Schéma d'une palme (Munier, 1973).

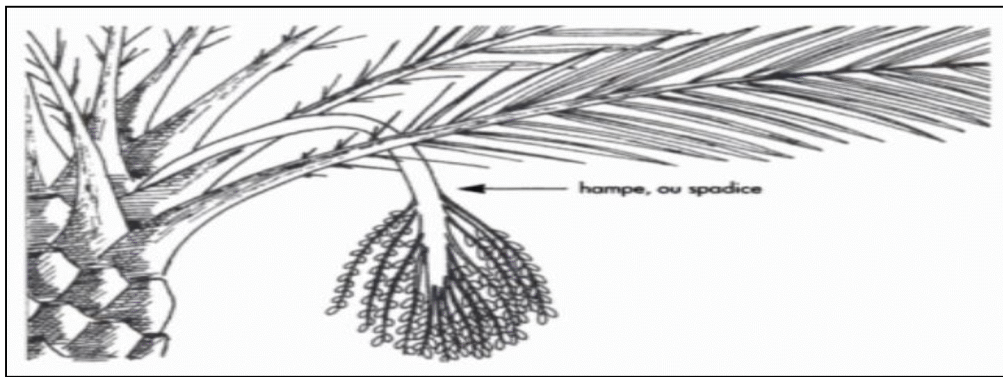


Figure 3 : Une inflorescence du palmier dattier (Peyron, 2000).

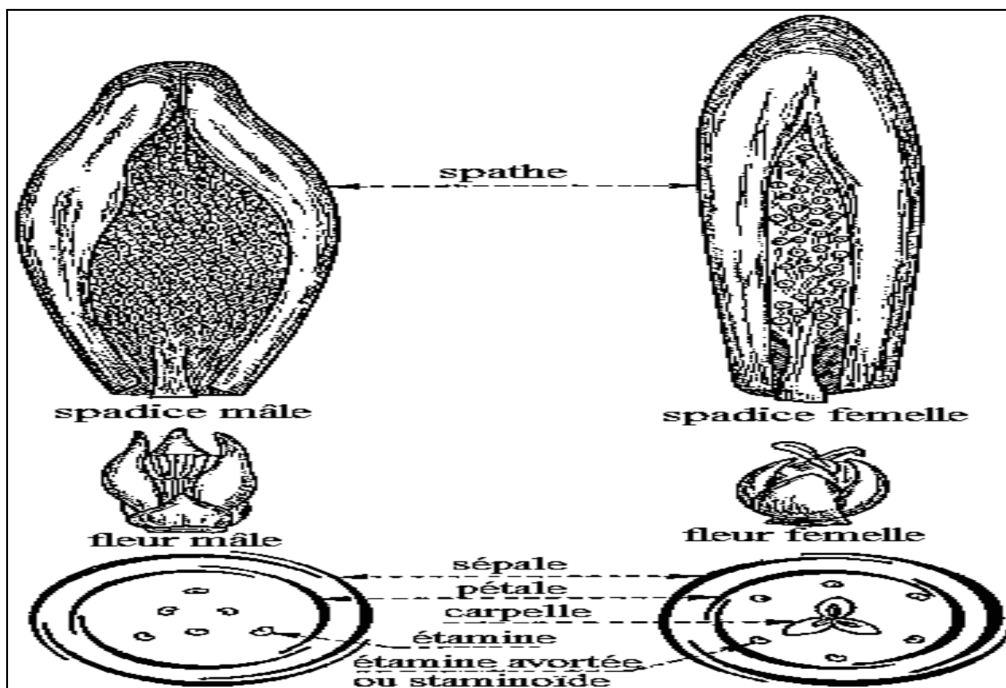


Figure 4 : Spathe mâle et spathe femelle (Munier, 1973).

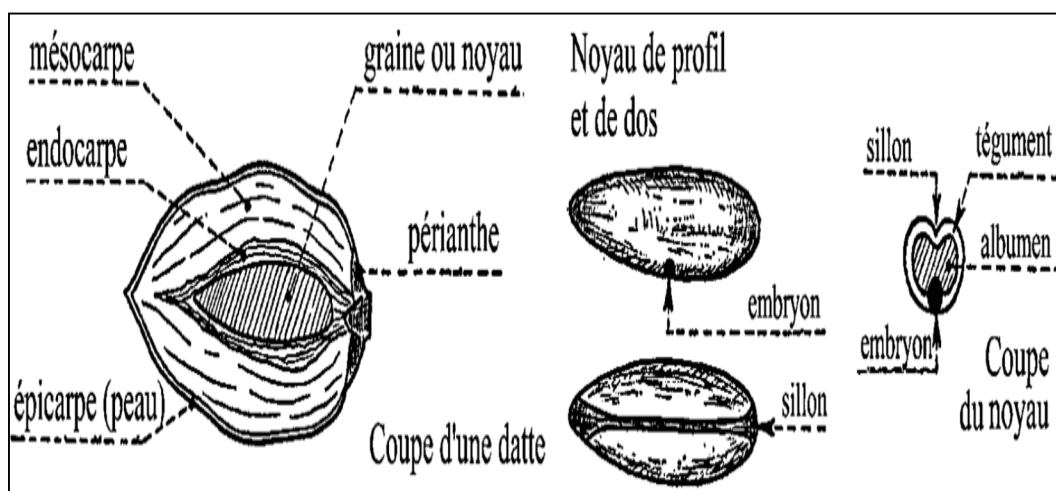
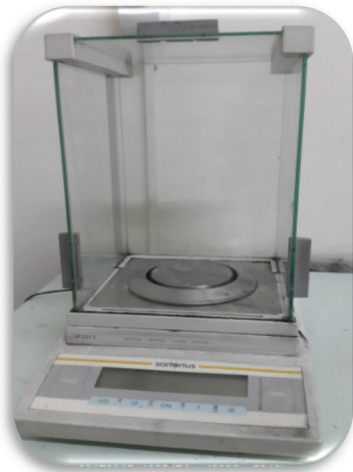


Figure 5 : Schéma d'une graine du dattier (Munier, 1973).

Annexe 2



-Balance de précision-



-Balance-



-Distributeur automatique-



-Stérilisateur à billes-



- Etuve-



-pH mètre-



-Autoclave-



-Plaque chauffante-



-Pinces et scalpels-



- Parafilm-



-Verreries-



-Hote à flux laminaire-



- Chambre de culture-



-vitamine MS, Thiamine (1mg/L)-



-NaOH , Hcl (1N)-

Annexe 3

Tableau 1: Les composants de la solution mère des Macro MS.

Produits	Concentration du milieu	(n) fois concentration	Concentration de la solution mère
KNO₃	1.9g/l	X25	45.5g
NH₄NO₃	1.65g/l	X25	41.25g
CaCl₂ ,2H₂O	0.44g/l	X25	11g
MgSO₄, 7H₂O	0.37g/l	X25	9.25g
KH₂PO₄	0.17g/l	X25	4.25g

Tableau 2: Les composants de la solution mère des Micro MS.

Produits	Concentration du milieu	(n) fois concentration	Concentration de la solution mère
H₃BO₃	6.2mg/l	X100	620mg
MnSO₄, 7H₂O	16.9mg/l	X100	1690mg
ZnSO₄, 7H₂O	8.6mg/l	X100	860mg
CuSO₄, 5H₂O	0.025mg/l	X100	2.5mg
CaCl₂, 6H₂O	0.025mg/l	X100	2.5mg
NaMoO₄, 2H₂O	0.25mg/l	X100	25mg
KI	0.83mg/L	X100	83mg

Tableau 3: Les composants de la solution mère Fer MS.

Produits	Concentration du milieu	(n) fois concentration	Concentration de la solution mère
Na₂ EDTA	0.03735g/l	X100	3.73g
FeSO₄, 7H₂O	0.02785g/l	X100	2.78g



Figure 6 : les solutions mères Macro MS, Micro MS, Fer MS.

Tableau 4 : Milieu de germination et prolifération GMP

Eléments	Quantité
Solutions mères de Murashig et Skoog	
Macro éléments	40 ml
Micro éléments	10 ml
Fer	10 ml
Vitamines MS :	
Thiamine/ acide nicotinique/pyridoxine	1 mg/l
Source de carbone	
Saccharose	60 g/l
Autres additifs	
KH ₂ PO ₄	100 mg/l
NaH ₂ PO ₄	170 mg/l
L-Glutamine	200 mg/l
Charbon actif	200 mg/l
Agar/Phytigel	7/ 2 g/l
Myoinositol	100 mg/l
pH=5.85	

Annexe 4

Tableau 5: Effet des toxines sur les feuilles détachées des vitroplants selon les doses 0, 10, 20 et 30%

Doses	0%				10%				20%				30%			
	FE	N	ER	M	FE	N	ER	M	FE	N	ER	M	FE	N	ER	M
SR	6.3	0	0	0	5.5	0.6	0	0	8.3	1.1	0	0	7.7	0.5	0	0
	8.4	0	1	0	8	0.3	1	0	5.7	0.6	0	0	6	0.7	0	1
	6.7	0	1	0	7.5	0.3	0	0	7.4	0.3	0	0	6.3	0.6	0	1
	6.4	0	0	0	6.2	0.3	1	0	7.5	0.7	0	1	8.2	1.4	1	1
	6.2	0	0	0	5.7	0.7	1	0	10.1	1.4	1	1	10.8	1.1	0	0
F5	7.5	0	0	0	7.1	0.6	0	0	7.4	1.2	0	0	6	4.1	0	1
	7.6	0	0	0	6.8	0.6	0	0	7.1	1.4	0	0	7.3	0.9	0	0
	11.1	0	1	0	6.4	1	0	0	9	1	0	0	7.8	3.3	0	1
	11.2	0	1	0	7.5	1.9	1	0	7.3	3.3	0	1	8	1.2	1	0
	5.8	0	0	0	7.7	4.2	0	1	8	1.6	1	1	9.5	1.8	1	0

0 : Absence ; **1** : Présence

FE : Feuille Entière

N : Nécrose

ER : Enroulement

M : Mort (Dessèchement total de la feuille)

Tableau 6: Effet des toxines sur les feuilles détachées des vitroplants selon les doses 40, 50 et 60%

Doses	40%				50%				60%			
	FE	N	ER	M	FE	N	ER	M	FE	N	ER	M
SR	7.2	1	0	0	7.1	3.2	0	0	5.6	1.2	0	0
	7	0.9	0	1	6.6	2.6	0	1	7	2.6	0	1
	7.2	2	0	0	7	2	0	1	7.2	0.9	0	0
	7.5	0.8	0	1	6.6	3.2	0	1	7	3	0	1
	8.2	0.7	0	0	6.7	2.9	0	1	6.2	2.7	0	1
F5	6.8	2.9	0	0	6.4	2.9	0	1	7.6	4.6	0	0
	6.5	4.4	0	1	6.4	2.8	0	1	8	3	1	1
	6	5.1	0	1	7	5	0	1	9.4	5.4	0	1
	6.7	3.7	0	1	7.7	3.6	0	1	7.9	4.2	0	1
	5.5	5	0	1	7.1	4	0	1	8.8	4.5	0	1

Annexe 5

Tableau 7 : Calcul de moyenne et écart type de la surface nécrosée

Nécrose	F5	SR	F5	SR
Dose(%)	Moyenne	Moyenne	Ecartype	Ecartype
0	0,00	0,00	0,000	0,000
10	1,66	0,44	1,515	0,195
20	1,70	0,82	0,921	0,432
30	2,26	0,86	1,383	0,378
40	4,22	1,08	0,925	0,526
50	3,66	2,78	0,898	0,502
60	4,34	2,08	0,870	0,958

Tableau 8 : Calcul de moyenne et écart type de l'enroulement de la feuille

Enroulement	F5	SR	F5	SR
Dose(%)	Moyenne	Moyenne	Ecartype	Ecartype
0	0,40	0,40	0,547	0,547
10	0,20	0,60	0,450	0,550
20	0,20	0,20	0,447	0,447
30	0,40	0,20	0,547	0,447
40	0,00	0,00	0,000	0,000
50	0,00	0,00	0,000	0,000
60	0,20	0,00	0,447	0,000

Tableau 9 : Calcul de moyenne et écart type de dessèchement total de la feuille

Mort	F5	SR	F5	SR
Dose(%)	Moyenne	Moyenne	Ecartype	Ecartype
0	0,00	0,00	0,000	0,000
10	0,20	0,00	0,447	0,000
20	0,40	0,40	0,547	0,547
30	0,40	0,60	0,500	0,500
40	0,80	0,40	0,447	0,547
50	1,00	0,80	0,000	0,447
60	0,80	0,60	0,447	0,547

Annexe 6



Figure 7 : Préparation du milieu de culture

- 1 : Peser des éléments.
- 2 : Ajouter des solutions mères.
- 3 : Ajuster avec de l'eau distillé (mettre la moitié de l'eau pour la cuisson).
- 4 : Faire cuire jusqu'à ébullition.
- 5 : Ajouter de la vitamine.
- 6 : Ajouter l'autre moitié de l'eau.
- 7 : Régler le pH à 5.58.
- 8 : Distribuer dans les bocaux.
- 9 : Autoclaver le milieu.