

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

**UNIVERSITE BLIDA I**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Biotechnologies

Mémoire de fin d'étude en vue d'obtention du diplôme de Mastère académique en Sciences  
de la Nature et de la Vie

**Option: Biologie des Interactions Plantes-Microorganismes**

**Thème**

**Isolement, sélection et identification de champignons  
endophytes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) et  
antagonistes à l'égard du *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*.**

**Présenté par:**

**Chaouch Meryouma**

**Jury:**

CHAOUIA. C	Maitre de conférences A	U. Blida I	Présidente
BERRAF. A	Maitre de conférences A	U. Blida I	Examinatrice
MOHAMED-MAHMOUD. F	Maitre Assistante	U. Blida I	Examinatrice
KRIMI. Z	Professeur	U. Blida I	Promotrice

**Promotion:  
2014/2015**

## DEDICACES

*C'est avec un très grand honneur que je dédie ce travail aux deux personnes qui se sont sacrifiés pour que je grandisse avec un savoir faire, qui m'ont appris à ne jamais baisser les bras, qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui, sans lesquels je n'y serais jamais parvenue et qui je ne remercierais jamais assez ;*

*Mes très chères ; maman et papa.*

*A la mémoire de ma grand-mère qui m'a toujours aimé et comblé par ses bénédictions,*

*Que dieu le tout puissant l'accueille dans son vaste paradis.*

*Je dédie aussi cette réalisation à:*

*Ma sœur Yasmine*

*Mes frères Sidahmed et Charif*

*Meryouma*

## REMERCIEMENTS

*Avant tout, nous remercions ALLAH de nous avoir donné le courage, la patience et la chance d'étudier et suivre, le chemin de la science*

*J'adresse mes remerciements les plus sincères à ma promotrice Pr. KRIMI Zoulikha, qui a guidé et surveillé le déroulement et l'exécution du travail de ce mémoire en me prodiguant tout aide possible, et en me consacrant beaucoup de son temps précieux, à qui je dois exprimer mon respect et ma reconnaissance.*

*Je tiens à exprimer ma très grande considération et mon profond respect reconnaissance à madame CHAOUIA. C, Maitre de conférences au département de Biotechnologie de l'université de Blida I pour l'honneur qu'elle me fait en présidant le jury de ce mémoire.*

*Mes vifs remerciements à madame Mohamed-Mahmoud. F pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail et pour son soutien et ses conseils qu'elle n'a cessée de prodiguer tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Mes sincères remerciements vont à madame BERRAF. A pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail et pour avoir concéder ses précieux aides et conseils.*

*Je ne saurai assez remercier madame AMMAME. S la responsable du laboratoire de phytopathologie pour son aide et ses encouragements ainsi que tous les membrse du laboratoire de phytopathologie.*

*Je remercie monsieur Laadjel. K et Guesmia.S pour leur facilitation et leur contribution à l'aboutissement du présent travail.*

*Meryouma*

## Liste des figures

**Figure 01:** Apparition de rejets à la base d'un palmier dattier

**Figure 02:** Desséchement progressif des folioles du bas vers le sommet

**Figure 03:** Coupe transversale d'une palme atteinte de fusariose

**Figure 04:** Généralisation de l'attaque à l'ensemble du palmier entraînant sa mort après l'attaque du bourgeon terminal

**Figure 05:** Spores du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* sous microscope optique

**Figure 06:** Incorporation du compost et des sous-produits du palmier dattier dans la région de Tolga-Biskra

**Figure 07:** Aspect des champignons mycorhiziens intra-racinaires

**Figure 09:** Localisation de la zone de prélèvement dans la région de Berriane, Ghardaïa

**Figure 10:** Méthode de dépôt des explants pour la technique d'antagonisme

**Figure 11:** Schéma représentatif de la méthode de calcul du pourcentage d'inhibition

**Figure 12:** Aspect des racines collectées

**Figure 13:** Variabilité de l'aspect et de la couleur des champignons isolés sur milieu PDA et Aga/eau

**Figure 14:** Taux d'isolats fongiques endophytes sur les deux milieux de cultures

**Figure 15:** Croissance mycélienne sur le milieu PDA de quelques isolats de la variété Elhorra

**Figure 16:** Croissance mycélienne de quelques souches pures de la variété Deglet Nour

**Figure 17:** Croissance mycélienne de quelques souches pures de la variété Azouzia

**Figure 18:** Croissance mycélienne de quelques souches pures de la variété Bentqbalala

**Figure 19:** Croissance mycélienne de quelques souches pures de la variété Mech Degla.

**Figure 20:** Croissance mycélienne de quelques souches pures de la variété Takerboucht

**Figure 21 :** Taux d'inhibition des souches isolées après les deux traitements vis-à-vis du F.o.a.

**Figure 22:** Interactions des isolats endophytes vis-à-vis du *F.o* f.sp *albedinis* analysés en milieu de culture gélosé

**Figure 23:** Croissance mycélienne des souches endophytes antagonistes et absence de sporulation

**Figure 24:** Observation microscopique des isolats de *Fusarium* sp

**Figure 25:** Observation microscopique de l'isolat du genre *Diaporthe* sp

**Figure 26:** Observation microscopique de deux isolats endophytes non sporulant

## Liste des tableaux

**Tableau 01:** Production dattière en 2010 en Algérie

**Tableau 02:** Inventaire variétal dans les trois régions phoenicicoles d'Algérie

**Tableau 03:** Consommation humaine annuelle des dattes dans les zones de production et dans les zones de non production au Maghreb

**Tableau 04:** Exemples de quelques composés bioactifs produits par les champignons endophytes

**Tableau 05:** Description des échantillons prélevés

**Tableau 06:** Dénombrement des isolats des variétés étudiées

**Tableau 07:** Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés de la variété Elhora

**Tableau 08:** Caractéristiques morphologiques des isolats endophytes purifiés de la variété Deglet Nour

**Tableau 09:** Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés de la variété Azouzia

**Tableau 10:** Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés de la variété bentqbala

**Tableau 11:** Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés de la variété Mech degla

**Tableau 12:** Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés de la variété Takerboucht.

**Tableau 13:** Taux d'inhibition des deux méthodes utilisées pour le test d'antagonisme

**Tableau 14:** Isolats présentant les caractéristiques du genre *Fusarium* et *Diaporthe*

## Liste des abréviations utilisées

APG	Angiosperm Phylogeny Group
qx	quintaux
ha:	hectare
F.o.a	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>albedinis</i>
OEPP	Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes
AMF	Arbuscular Mycorrhizal Fungi
PGPB	Plant Growth Promoting Bacteria
PGPF	Plant Growth Promoting Fungi
PDA	Potato Dextrose Agar
W.A	Agar-eau
Az	Azouzia
DN	Deglet Nour
MD	Mech Degla
H	Elhorra
Bq	Bentqbala
Tkr	Takerboucht
UV	Ultra-violet
DSE	Dark Septate Endophyte

## Résumé

### Isolement, sélection et identification de champignons endophytes du palmier dattier et antagonistes à l'égard du *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*

Notre travail a porté sur l'étude de la biodiversité des champignons endophytes du palmier dattier et leur interaction avec une souche pathogène de *Fusarium oxysporum* f.sp. *Albedinis* (Foa). L'isolement des champignons a été réalisé à partir de 5 variétés résistantes au bayoud ; Elhorra, Azouzia, Mech Degla, Takerboucht et Bentqbal et une sensible, en l'occurrence, la variété Deglet Nour.

Les résultats des isollements ont révélé que certains champignons endophytes isolés des différentes variétés présentent des ressemblances morphologiques alors que d'autres sont différents morphologiquement. La caractérisation macroscopique a permis de rassembler l'ensemble des isolats endophytes dans 27 morphotypes différents qui ont par la suite subi les tests d'antagonisme *in vitro* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*.

Le test d'antagonisme a été mené selon deux protocoles, le premier par dépôt en co-culture simultanée de l'endophyte et du Foa et le second par dépôt tardif du F.o.a, soit, 48 h après l'ensemencement du disque mycélien de l'endophyte. L'analyse des résultats a révélé que plus de 60% des isolats endophytes se révèlent antagonistes lors du dépôt tardif, alors que 25% seulement de ces mêmes isolats se sont montrés antagonistes envers le Foa lors de la co-culture simultanée. Les taux d'inhibition les plus significatifs sont représentés par ceux des souches de *Fusarium* sp et des *Diaporthe* sp isolées de la variété Elhorra.

L'observation microscopique couplée à l'identification par des clés de détermination a mis en évidence deux genres de champignons ; *Fusarium* et *Diaporthe*. Les autres isolats antagonistes n'ayant pas sporulé dans nos conditions de stress thermique et exposition des isolats à la lumière, ont été définis appartenir au groupe des DSE (Dark Septate Endophytes) et aux Mycelia sterilia, connus comme des groupes majeurs d'endophytes fongiques d'espèces végétales vivant en milieu aride.

Mots clés : Palmier dattier, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, endophyte, champignon, antagonisme.



## Abstract

### **Isolation, selection and identification of endophytic fungi of the date palm and antagonistic towards the *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis***

Our work focuses on the study of the biodiversity of endophytic fungi of the date palm and their interaction with *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* by isolating them from 5 varieties resistant to bayoud including Elhorra, Azouzia, Mech Degla, Takerboucht and Bentqbala and a very sensitive which is the Deglet Nour.

In total 27 endophytic fungi are isolated and tested *in-vitro* with respect to their antagonistic power towards the *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*, while two methods are performed, the first by simultaneous deposition and the second by depositing the F.o.a 48 hours after the endophyte.

The results have shown that 72.72% of the co-cultures showed a greater percentage inhibition than the first method, this could be due to the secretion of secondary metabolites by these endophytic isolates during the 48h of incubation.

The most significant inhibition rate is that of *Fusarium* sp and *Diaporthe* sp with  $p \geq 50\%$ . The co-cultures having a percentage  $p \geq 20\%$  suffer a possible identification. Two genera are identified, *Fusarium* sp and *Diaporthe* sp. As against 64.70% of endophytic antagonistic fungi have not been identified and are defined as DSE (Dark septate Endophytes) or sterile fungal mycelia.

Keywords: Date palm, *Fusarium oxy* f.sp *albedinis*, resistant varieties, endophyte antagonism.

# Sommaire

Introduction

## Chapitre I: Synthèse bibliographique

1. Le palmier dattier, caractéristiques et importance de la phœniciculture en Algérie
  - 1.1 Origines et répartition géographique dans le monde
  - 1.2 Position taxonomique et description botanique du palmier dattier
  - 1.3 Multiplication du palmier dattier
  - 1.4 Exigences climatiques et pédologiques du palmier dattier
  - 1.5 Le palmier dattier en Algérie
2. Etat phytosanitaire du palmier dattier dans le bas-Sahara et occurrence de la fusariose vasculaire (le bayoud) causée par *Fusarium oxysporum* fsp. *Albedinis*
  - 2.1 Systématique de l'agent causal de la fusariose vasculaire (*F o f.sp albedinis*).
  - 2.2 Symptômes, mode d'infection et dissémination de la maladie du Bayoud
  - 2.3 Les mesures de lutte contre la maladie du bayoud
3. Les endophytes et leurs interactions avec l'hôte
  - 3.1 Les associations bénéfiques liées aux endophytes
  - 3.2 Diversité des champignons endophytes
  - 3.3. Transmission et multiplication
  - 3.4. Interaction endophyte-hôte, actions physiologiques des champignons endophytes

## Chapitre II: Matériel et méthodes

1. Objectifs de l'étude
2. Présentation des régions d'études
3. Echantillonnage
4. Diagnostic au laboratoire
5. Analyse statistique des résultats

## Chapitre III: Résultats

## Chapitre IV: Discussion

## Conclusion générale

## Références bibliographiques

## Annexes



# ***Introduction***

## **Introduction**

De nombreuses palmeraies algériennes sont anéanties par la maladie du Bayoud, cette fusariose vasculaire, causée par un champignon du sol, le *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* est l'une des maladies les plus destructrices de *Phoenix dactylifera* en particulier dans les régions arides. Cette maladie progresse de palmeraie en palmeraie, et de l'Ouest vers l'Est, et menace actuellement les plantations de Deglet Nour de l'Oued Righ, des Zibans et du Souf. Elle a détruit plus de 3 millions de palmiers en Algérie, affectant surtout les cultivars productifs et d'intérêt commercial (El-Deeb et Arab, 2013 ; Mathron et Benbadis, 2013).

La lutte contre le Bayoud peut reposer sur des mesures de quarantaine strictes et la lutte chimique n'est envisageable que si on découvre précocement le point de départ d'une nouvelle infection dans une région saine.

Tous les efforts qui ont été déployés pour lutter contre cette maladie, n'ont permis d'élucider que quelques mécanismes de défense du palmier dattier mais aucun n'a apporté des mesures efficaces susceptibles de limiter les dégâts dus à cette maladie. La sélection de sujets résistants semble plus efficace pour lutter contre le Bayoud par rapport aux pratiques d'éradication des zones infectées ou l'anéantissement du pathogène lui-même (Dihazi et *al.*, 2012).

Des résultats prometteurs ont été obtenus par la sélection de cultivars résistants de haute qualité. Les variétés de palmier dattier résistantes à cette maladie sont très rares. D'après les travaux réalisés sur la résistance, celle-ci paraît être liée soit à la plante elle-même, soit aux interactions microbiologiques au niveau du sol.

La mycorrhization des palmiers dattiers pour contrôler les ravageurs et les maladies, semble souhaitable. Les champignons endophytes peuvent être bénéfiques dans la prévention des maladies par induction des mécanismes de défense de l'hôte ou en affectant directement les pathogènes des plantes (Asensio et *al.*, 2007).

Pour cela, l'étude sur les endophytes, présente un grand intérêt écologique, biologique et économique car ces habitants des tissus de la plante jouent un rôle essentiel dans la protection et la préservation des cultures (Ben Chobba et *al.*, 2013).

L'objectif de ce travail s'inscrit dans le cadre du développement de nouvelles stratégies de lutte contre la fusariose vasculaire du palmier dattier. Il repose sur l'isolement des champignons endophytes de 5 variétés de palmier dattiers résistantes au bayoud et une variété très sensible et d'évaluer *in-vitro* leur pouvoir antagoniste vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*. Les endophytes ayant un potentiel antagoniste, sont destinés à l'identification.



*Synthèse  
bibliographique*

## 1. Le palmier dattier, caractéristiques et importance de la phoeniculture en Algérie

### 1.1. Origines et répartition géographique dans le monde

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L), constitue l'espèce végétale, la plus anciennement cultivée. Sa plantation est intensive en Afrique méditerranéenne et au Moyen-Orient. Bien que largement cultivée, l'existence de la forme sauvage du palmier dattier n'est pas connue jusqu'à présent, on pense que son ancêtre est *phoenix reclinata* Jacq de l'Afrique tropicale, ou *Phoenix sylvestris* L.Roxb, d'inde, ou un hybride entre ces deux espèces (Ferry et al., 1998).

### 1.2. Position taxonomique et description botanique du palmier dattier

Selon l'APG II (2003) et l'APG III (2009), le palmier dattier a été dénommé *Phoenix dactylifera* par LINNE en 1734. Il appartient au règne végétal:

Domaine	<i>Eukarya</i>
Règne	<i>Plantae</i>
Classe	<i>Liliopsida</i>
Sous-classe	<i>Arecidae</i>
Ordre	<i>Arecales</i>
Famille	<i>Areaceae</i> ou <i>palmae</i>
Sous-famille	<i>Coryphoideae</i>
Tribu	<i>Phoeniceae</i>
Genre et espèce	<i>Phoenix dactylifera</i> L

Le genre *Phoenix* comporte au moins douze espèces, la plus connue est *dactylifera* dont les fruits " dattes " font l'objet d'un commerce international important (Espiard, 2002).

Le palmier dattier est une espèce arborescente, le tronc ou stipe est généralement cylindrique portant un bourgeon terminal qui assure sa croissance en longueur. Les feuilles sont disposées sur le tronc en plusieurs hélices et possèdent un pédoncule très large à la base appelé rachis. Les folioles sont disposées en position oblique, le long de la nervure centrale. Sa nature botanique particulière a renforcé l'originalité de son mode de culture. La floraison a lieu en

Mars et en Avril et la fécondation est artificielle, elle se pratique en secouant les inflorescences mâles sur les fleurs femelles épanouies. Les dattiers entrent en production à partir de l'âge de 10 ans et produisent encore après 75 ans avec un rendement moyen situé autour de 40 kg de fruits par arbre (Ferry et *al.*, 1998).

### **1.3. Multiplication du palmier dattier**

Deux voies de multiplication du palmier dattier sont répandues; soit à partir du semis ou de rejets.

La multiplication à partir de semis provoque une forte hétérogénéité d'où l'impossibilité d'obtenir des plants identiques et rend la reproduction longue; il faut environ dix années pour obtenir des palmiers productifs.

La multiplication par voie végétative se réalise grâce aux rejets (Dokar) qui naissent à la base du tronc quand l'arbre a atteint une quinzaine d'années (Figure 01). Ces rejets sont séparés du plant mère après trois ou quatre ans et sont mis en pépinière de manière à acquérir des racines, pour les transplanter de manière définitive, séparés de 9 ou 10 m les uns des autres. Ces caractéristiques de multiplication sont à l'origine de l'existence d'un patrimoine génétique très important, mais, cette voie de multiplication traditionnelle est loin d'être rapide et simple puisque le nombre de rejets produits est très variable selon les cultivars (Ferry et *al.*, 1998).





**Figure 01:** Apparition de rejets à la base d'un palmier dattier  
(Anonyme, 2012).

#### **1. 4. Exigences climatiques et pédologiques du palmier dattier**

La climatologie du palmier dattier est la plupart du temps de nature aride. Le dattier est une espèce thermophile mais qui résiste aux grandes fluctuations de température. Il peut supporter des températures élevées qui peuvent aller jusqu'à 56°C en été ; il peut également résister à des températures en-dessous de 0°C en hiver. Le point zéro de végétation du palmier dattier est de 7°C et son activité maximale est située à 32°C (Zaid et De Wet, 2002).

Le palmier dattier est une plante très résistante à la sécheresse grâce à son système racinaire développé pouvant aller en profondeur à la recherche de l'eau. Ces besoins en eau varient entre 15.000 et 20.000 m<sup>3</sup>/ha/an. Il peut croître sur tous les types de sols des régions désertiques et subdésertiques, en préférant les sols légers et meubles et tolérant des sols contenant jusqu'à 3 à 4 % de sel (Ozenda, 1977; Halle et *al.*, 1978).

## **1.5. Le palmier dattier 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 du palmier dattier. La superficie des écosystèmes oasiens occupés par le palmier dattier est évaluée à 160 000 ha et plus de 2 millions de vergers avec une production moyenne de 500 000 tonnes de dattes par an. Sa culture s'étend depuis la frontière marocaine à l'Ouest jusqu'à la frontière tuniso-libyenne à l'Est et depuis l'Atlas Saharien au Nord jusqu'à Reggane (Sud-Ouest), Tamanrasset (centre) et Djanet (Sud-Est) (Bouguedoura et *al.*, 2010).

D'après Buelguedj (2002), la palmeraie algérienne est constituée de plus de 11 millions de palmiers répartis à travers 09 wilayas sahariennes: Biskra, El-Oued, Ouargla, Ghardaïa, Adrar, Béchar, Tamanrasset, Illizi et Tindouf. Le palmier dattier se trouve également dans d'autres wilayas situées dans des zones de transition entre la steppe et le Sahara, considérées par rapport aux palmeraies sahariennes, de « marginales » (Tableau 01).

L'exportation dattière est estimée à 129 570 quintaux de dattes, constituant l'une des principales entrées en devises, après les hydrocarbures. Elle occupe le 6<sup>ème</sup> rang parmi les pays producteurs de dattes à l'échelle mondiale (Anonyme, 2007).

**Tableau 01: Production dattière en 2010 en Algérie (qx)  
(Belguedj, 2010).**

<b>Wilaya / Variétés</b>	<b>Deglet-Nour</b>	<b>Mech-Degla et analogues (sèches)</b>	<b>Ghars et analogues (molles)</b>	<b>TOTAL</b>
<b>Biskra</b>	1 442 895	789 881	381 309	<b>2 614 085</b>
<b>El-Oued</b>	1 060 130	359 366	377 335	<b>1796 830</b>
<b>Ouargla</b>	540 786	56 766	416 091	<b>1 013 643</b>
<b>Ghardaïa</b>	185 000	-	238 000	<b>423 000</b>
<b>Adrar</b>	-	821 194	-	<b>821 194</b>
<b>Béchar</b>	-	55 978	157 814	<b>213 792</b>
<b>Tamanrasset</b>	-	104 489	-	<b>104 489</b>
<b>Illizi</b>	763	6 046	9 093	<b>15 902</b>
<b>Tindouf</b>	-	240	5 760	<b>6 000</b>
<b>Totaux</b>	<b>3 229 574</b>	<b>2 193 960</b>	<b>1 585 401</b>	<b>7 008 935</b>

### **1.5.1 Diversité variétale du palmier dattier en Algérie**

Près d'un millier de cultivars a été inventorié et les trois régions principales de culture se distinguent sur le plan de la diversité génétique (Tableau 02) (Bouguedoura et *al.*, 2010).

**Tableau 02: Inventaire variétal dans les trois régions phoenicicoles d'Algérie  
(Bouguedoura et *al.*, 2010).**

Région	Nombre de cultivars	Cultivars les plus courants
<b>Ouest</b>		
Atlas	70	Ghares, Asyan, Feggus
Saoura	80	Feggus, Hartan, Cherka, Hmira, Deglet Talmine
Gourara	230	Hmira, Tinnaser, Taqerbucht
Touat	190	Tgazza, Aghamu, Taqerbucht
Tidikelt	60	Tgazza, Taqerbucht, Cheddakh, Aggaz
<b>Centre</b>		
El-Ménia	70	Timjuhart, Ghars, Timedwel
M'Zab	140	Azerza, Ghars, Deglet Nour, Taddela, bentqbala
<b>Est</b>		
Ouargla	70	Ghars, Deglet Nour, Degla Beida
Oued Righ	130	Deglet Nour, Ghars, Degla Beida
Souf	70	Deglet Nour, Ghars, Degla Beida, Mech Degla
Zibans	140	Deglet Nour, Ghars, Degla Beida, Mech Degla
Aures	220	Buzrur, Alig, Buhles, Mech Degla
Tassili	180	Tanghimen, Tabanis, Khadaji

La distribution des principaux cultivars montre une répartition Est-Ouest très marquée. A l'Est, le cultivar Deglet Nour, dont les dattes sont destinées à l'exportation vers les pays du Nord, continue à prendre de l'ampleur et frôle aujourd'hui les 50 % de la population des palmiers dattiers plantés (Bouguedoura et *al.*, 2010).

Les cultivars produisant des dattes sèches (Degla Beida, Tinnaser) sont exportés vers les pays d'Afrique subsaharienne, les dattes du cultivar Hmira sont exportées vers la Russie ou la Chine, et Tafezwin est exportable vers les pays d'Amerique du Sud. Les dattes du cultivar Bentqbala sont très renommées sur le marché local à Ghardaia (Est) et Agaz, les dattes produite au Tidikelt (Ouest), se commercialisent bien sur les marchés de Ouargla et de Ghardaia (Bouguedoura et *al.*, 2010).

### 1.5.2. Importances écologiques et socio-économiques du palmier dattier

Le potentiel phœnicicole mondial est évalué à plus de 105 millions de palmiers dattiers repartis dans les cinq continents, sur une superficie totale évaluée à plus de 1.127.440 ha. En Algérie les dattes fournissent d'une part un fruit dont les qualités alimentaires sont indéniables et constituent une source de revenus très appréciables pour plus de 100 000 familles du Sud avec 9 % des exportations agricoles et une multitude de sous produits à intérêt culinaire et artisanal (Tableau 03) (Bouguedoura et *al.*, 2010).

Le palmier dattier revêt un intérêt stratégique pour plusieurs raisons; écologique du fait de sa performance physiologique aux conditions extrêmes du milieu telle que l'aridité, la sécheresse et la salinité. D'autre part, un intérêt économique pour sa production dattière qui constitue la base de l'économie agricole saharienne. Un autre intérêt lui a été accordé est celui de la stabilité des populations de part son effet «oasis» permettant le développement d'une organisation agraire, sociale et culturelle (Anonyme, 2015).

**Tableau 03: Consommation humaine annuelle des dattes (Kg/habitant) dans les zones de production et dans les zones de non production au Maghreb (Greiner, 1998).**

Pays	Régions de production	Régions non productrices	Moyenne nationale
Algérie	30	5	7,1
Maroc	15	2	2,2
Tunisie	7,6	3,8	4,1

## **2. Etat phytosanitaire du palmier dattier dans le bas-Sahara et occurrence de la fusariose vasculaire (le bayoud) causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *Albedinis***

Malgré l'évolution enregistrée des palmeraies algériennes durant les deux dernières décennies en superficies et en production, le secteur reste confronté à un certain nombre de contraintes dont les plus importantes sont celles liées aux problèmes phytosanitaires de la culture (Mehaoua et Biche, 2008).

Les ravageurs les plus importants du palmier dattier sont: la cochenille blanche (*Parlatoria blanchardi* Targ); la pyrale de la datte ou (*Ectomyelois ceratoniae*), le Boufaroua (*Olygonichus afrasiaticus*) et le foreur des palmes (*Apate monachus*) (Dakhia et al., 2013).

Les maladies signalées sur le palmier dattier sont causées par: le 'Khamedj' ou pourriture des inflorescences (*Mauginiella scattae*); la pourriture du cœur ou blaât (*Phytophthora* sp); et surtout actuellement la maladie du Bayoud (*Fusarium oxysporum* f.s *albedinis* ou *Foa*) (Dakhia et al., 2013).

Les maladies parasitaires ont entraîné la dégénérescence des palmiers dattiers, une altération de la qualité du fruit et une baisse importante du rendement.

Ces répercussions ont induit une érosion génétique causée essentiellement par la maladie du bayoud. Il est à signaler que la généralisation du cultivar Deglet Nour afin d'augmenter les exportations a accentué l'érosion génétique et par la même, la maladie du bayoud du fait de la sensibilité de cette variété au *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (Bouguedoura et al., 2010).

### **2.1. Systématique de l'agent causal de la fusariose vasculaire (*Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*)**

La fusariose du palmier dattier ou Bayoud, est une maladie causée par un champignon microscopique appelé *Fusarium oxysporum* f.sp *Albedinis* (*F.o.a*). C'est la maladie la plus redoutable sévissant dans les palmeraies d'Afrique du Nord. Apparue vers 1870 dans la vallée du Draa au Nord de Zagora (Maroc), elle s'est propagée en Algérie et a gagnée par la suite la Mauritanie. Le Bayoud a détruit plus de 10 millions de palmiers au Maroc et plus de 3 millions en Algérie, affectant surtout les cultivars productifs et d'intérêt commercial (Kettout et al., 2006).

Systématique du F.o.a selon Alexopoulos and Blackwell, (1996).

Règne	<i>Fungi (Mycota)</i>
Division	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Hypocreomycetidae (Sordariomycetes)</i>
Ordre	<i>Moniliales</i>
Famille	<i>Tuberculariaceae</i>
Genre	<i>Fusarium</i>
Espèce	<i>Fusarium oxysporum</i>
Sous-espèce	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>albedinis</i>

## 2.2. Symptômes, mode d'infection et dissémination de la maladie du Bayoud

Le premier symptôme externe de la maladie s'observe sur une palme de la couronne moyenne qui prend un aspect plombé et se dessèche selon un processus très particulier. Les folioles ou les épines situées d'un côté de cette palme se dessèchent progressivement du bas vers le sommet (Figure 02 et 03) et se replient vers le rachis. Ce dessèchement gagne ensuite les folioles du côté opposé, progressant de haut en bas, et toute la palme finit par se dessécher complètement pour prendre à la fin une couleur blanchâtre. Ce symptôme est à l'origine du nom de la maladie, bayoud dérivant du mot arabe « abyed » qui veut dire blanc, et de la forme spéciale *albedinis* du *Fusarium oxysporum* responsable de la maladie, tiré du latin albus (blanc). Le côté dorsal du rachis est marqué d'une strie brune longitudinale qui avance de la base vers l'apex de la fronde, et qui correspond au passage du mycélium dans les faisceaux vasculaires du rachis.

Les mêmes symptômes apparaissent ensuite sur les palmes voisines, puis l'attaque se généralise à l'ensemble du palmier entraînant sa mort au bout de 6 mois à 2 ans (Figure 04). Les symptômes de cette maladie n'ont pas été jusqu'ici, signalés dans les fleurs ou les fruits (Djerbi, 1988).





**Figure 02:** Dessèchement progressif des folioles du bas vers le sommet (Dakhia, 2013)



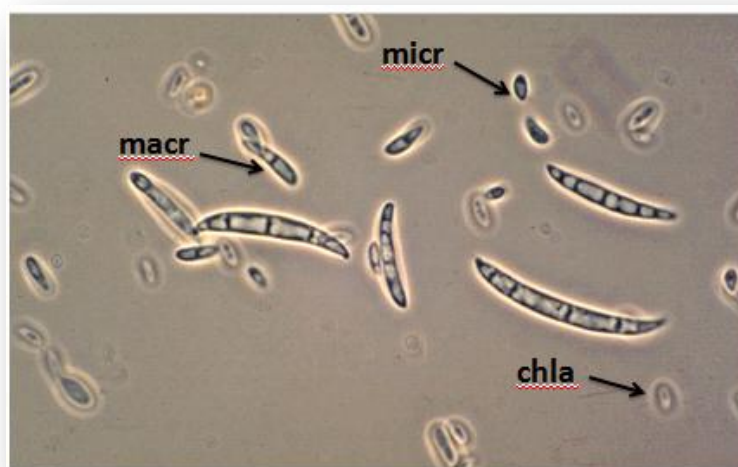
**Figure 03:** Coupe transversale d'une palme atteinte de fusariose (Benzohra et *al.*, 2015)



**Figure 04:** Généralisation de l'attaque à l'ensemble du palmier entraînant sa mort après l'attaque du bourgeon terminal (Bouguedoura et *al.*, 2012).



Les chlamydo-spores de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* germent dès que les conditions sont favorables et pénètrent directement par les racines du palmier pour se loger dans les faisceaux ligneux. La progression du champignon est ascendante et se réalise à la fois par le mycélium et par les microconidies (Figure 05). Le champignon fructifie, libère des conidies qui sont entraînées par le courant de la sève jusqu'au niveau des cloisons transversales des vaisseaux où elles sont arrêtées. Les conidies germent et donnent des filaments mycéliens qui traversent la cloison. Le mycélium poursuit son développement et forme de nouvelles microconidies qui sont entraînées à leur tour jusqu'à la cloison suivante. Les toxines produites par *F.o.a* sont impliquées dans la pathogénicité. Le phénomène se poursuit jusqu'à ce que le bourgeon terminal soit atteint entraînant ainsi la mort du palmier dattier. Après la mort du palmier dattier, le mycélium continue à se développer dans le parenchyme de l'arbre et forme de nombreuses chlamydo-spores (Djerbi, 1983 ; Kettout et *al* 2006).



**Figure 05:** Spores du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* sous microscope optique ( $\times 600$ );  
**micr:** microconidies, **macr:** macroconidies, **chla** : chlamydo-spores.

(El Hassni et *al*, 2004).

Le champignon *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* peut se disséminer par les rejets, le sol ainsi que d'autre espèces comme la luzerne, le henné et le trèfle provenant des zones infectées. Par contre, aucune transmission par les hampes florales, les semences ou les fruits n'a été signalée (Anonyme b, 2003).

D'après Hakkou et Bouakka (2004), dans une palmeraie infectée, les facteurs qui interviennent de façon prépondérante dans l'extension des foyers de la maladie sont la densité élevée des palmiers, l'accumulation et la décomposition des déchets contaminés dans la palmeraie et le degré d'entretien des parcelles. Par ailleurs, la pratique de cultures intercalaires comme les cultures maraîchères et le henné, l'irrigation abondante, la température entre 25°C et 30°C, la salinité élevée des eaux d'irrigation et les cultures monovariétales des palmiers sensibles au bayoud ont été signalés comme des facteurs aggravants l'incidence de la maladie.

### **2.3. Les mesures de lutte contre la maladie du bayoud**

#### **2.3.1. Les mesures prophylactiques, les sols suppressifs**

La meilleure solution consiste à protéger les palmeraies saines en empêchant leur contamination par la maladie. Cette mesure a donné des résultats satisfaisants, dans les palmeraies Tunisiennes, où la variété Deglet Nour a pu être, jusqu'ici, protégée. Cette méthode de lutte préventive consiste à empêcher par des mesures législatives, l'introduction de matériel végétal et de sol provenant des zones contaminées (Rhouma, 1996).

Les sols suppressifs de certaines palmeraies procurent une résistance de nature biotique ou abiotique. La résistance d'origine microbiologique est renforcée par la texture argileuse du sol. En Algérie, la salinité des sols est impliquée dans le mécanisme de résistance et l'existence de sols résistants empêchant l'établissement du champignon pathogène et/ou l'expression de son pouvoir pathogène, cette pratique a été démontrée pour un sol algérien de Beni Abbes (Sedra et Maslouhy, 1995 ; Riba et *al.*, 1998).

Les recherches sur la résistance des sols ont permis de détecter des microorganismes antagonistes au Foa, tels que les champignons: *Stachybotrys* sp; *Fusarium* et d'*Actinobacteria* (Sedra et Maslouhy, 1995).

#### **2.3.2. Les techniques culturales**

En absence de pratiques culturales appropriées, les palmiers dattiers restent fragiles, peu ancrés dans le sol et leur développement végétatif risque d'être compromis. Par ailleurs, les plantations alternant les cultivars sensibles et résistants sont susceptibles de limiter la

progression de la contamination, mais, elles ne permettent pas de la stopper (Daddi-Bouhoun et *al.*, 2008).

La multiplication à partir de semis peut constituer une méthode de lutte indirecte contre la fusariose vasculaire du palmier dattier, car elle permet l'obtention de clones résistants à la maladie et produisant des dattes de bonne qualité (Ferry et *al.*, 1998).

Aussi le recours à la multiplication végétative par rejet peut être pratiqué par le biais de la culture *in-vitro*, en particulier s'il s'agit de régénérer des palmeraies bayoudées (Ouamane et *al.*, (2008).

Plusieurs recherches sont consacrées à la valorisation des composts en tant qu'outil de protection des cultures car il constitue un sous-produit du palmier dattier et pourrait être une technique culturale efficace, capable de limiter la propagation de la maladie et de lutter contre la sévérité de la fusariose vasculaire dans les palmeraies des oasis (Figure 06). Son utilisation peut fournir un moyen de recyclage de tous les déchets agricoles afin de réduire les coûts de production des cultures végétales en diminuant les pertes associées aux maladies, l'utilisation des produits chimiques et la production d'aliments exempts de résidus chimiques (Chakroune et *al.*, 2008).



**Figure 06:** Incorporation du compost des sous-produits du palmier dattier dans la région de Tolga-Biskra (Photo originale, 2014)

### **2.3.3. Les moyens chimiques**

L'utilisation des produits chimiques, des fumigants comme le bromure de méthyle ou des pesticides tels que le bénomyl pour lutter contre le Foa en plein champs, apparaît contraignante et inefficace car, le champignon peut atteindre des profondeurs dans le sol sous forme de chlamydospores s'échappant ainsi au traitement chimique et leur application dans les oasis sahariens et écosystèmes fragiles, risquerait d'avoir des conséquences néfastes sur l'équilibre écologique (Fredericks et Denbrader, 1988). Cette méthode est écartée, du fait que les possibilités pratiques d'utilisation de fongicides systématiques dans le cas des trachéomycoses sont très limitées en plus, ces produits sont peu stables dans le sol et risquent de favoriser la sélection de souches résistantes (El Hadrami et *al.*, 2005).

### **2.3.4. Utilisation des variétés résistantes**

Selon Gaceb-Terrak et *al.*, (2006), le palmier dattier réagit à l'agression fusarienne par des systèmes de défense préexistants ou induits, en particulier par des mécanismes chimiques reposant essentiellement sur les composés phénoliques qui entraînent une forte action inhibitrice sur la croissance du *F.o.a.*

Comme la plupart des fusarioses, l'utilisation des variétés résistantes est la seule méthode efficace, mais dans le cas du dattier, la sélection n'est pas facile, en plus, la plupart des variétés sélectionnées résistantes produisent des dattes de faible qualité (Sedra et Maslouhy, 1995).

La recherche et l'identification précise de variétés et de génotypes résistants ont démarré au début des années 50. La création d'hybrides a été également engagée dès cette époque. La recherche s'est depuis poursuivie tant en Algérie qu'au Maroc. Une partie du programme d'hybridation contrôlée a été réalisée à partir du pollen produit dans le cadre des recherches d'amélioration génétique par rétrocroisement (Ferry et *al.*, 1998).

Les variétés du palmier dattier résistantes au Bayoud sont très rares parmi les 223 variétés recensées au Maroc, seuls six sont résistantes au Bayoud. En Algérie 940 cultivars ont été recensés, une seule variété a été reconnue très résistante "La Takerboucht" issue du sud ouest

du Sahara algérien (Adrar) elle n'a pas toutes les qualités requises pour produire des dattes d'exportation même si elle est appréciée dans sa région d'origine (Hannachi et *al.*, 1998).

Il existerait d'autres cultivars résistants en Algérie, comme Agaz, Tinasser et Tantabouchet qui permettraient une sélection fiable des sujets résistants. On trouve aussi d'autres variétés plus au moins importantes telles que la variété Ghars, Elhora, Degla Beida, et Mech Degla (Louvet, 1987 ; Djerbi, 1988).

### **2.3.5. La lutte biologique par utilisation de microorganismes et la pratique de la mycorrhization**

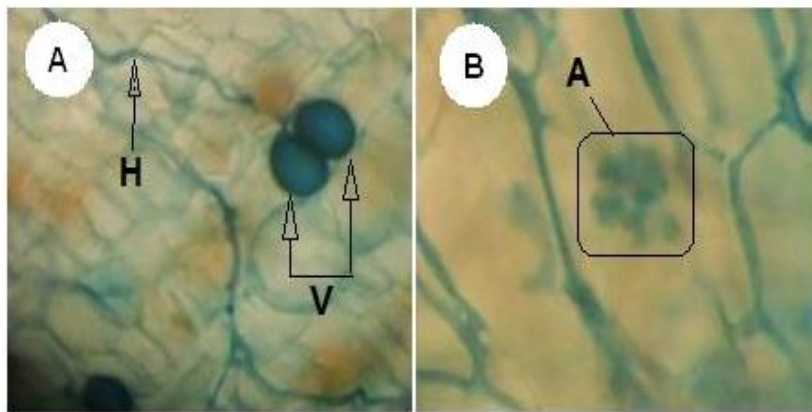
L'existence des sols suppressifs empêchant le développement de la maladie de Bayoud a été attribuée aux microorganismes antagonistes du F.o.a, notamment les genres *Pseudomonas*, *Bacillus* ou des champignons du genre *Aspergillus* et *Penicillium*. Il a été montré que l'inoculation des racines de palmier dattier par des souches hypoagressives de F.o.a ou leur mycorrhization améliore la résistance du palmier contre son pathogène (Coumans et *al.*, 2010). La mycorrhization est l'élément biologique utilisé par les plantes, en symbiose avec les champignons pour le renforcement de la résistance aux agents pathogènes du sol (Abohatem et *al.*, 2011).

Selon Souna et *al* (2010), l'effet de l'endomycorhization par *Glomus intraradices* sur la croissance du palmier dattier et sur la résistance de ce dernier aux attaques du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* sur différents substrats a montré une amélioration de la croissance des plantules d'environ 26%. La présence de l'agent pathogène a provoqué une chute de la biomasse de 82,5% avec un taux de mortalité de 100%, alors que la présence de la mycorrhize a fait baisser ce taux de mortalité à 55%.

Une inoculation des racines de *Phoenix dactylifera* L. par le champignon ectomycorhizien *Pisolithus tinctorius*, a été réalisée, six mois après l'inoculation, les racines des plantules du palmier dattier ont formé des mycorrhizes. Cette ectomycorhization pourrait être exploitée pour lutter contre la fusariose vasculaire du palmier en utilisant le *Pisolithus tinctorius* comme agent de lutte biologique (Zegaye et *al.*, 2012).

La mycorrhization des plants de palmiers par *Glomus intraradices* a montré une amélioration de la croissance des dattiers d'environ 26%. La présence de l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (F.o.a) a provoqué une chute de la biomasse de 82,5% avec un taux de mortalité de 100%, tandis que la présence de mycorhizes a provoqué une baisse de ce taux de mortalité de 55% (Souna et *al.*, 2010).

Selon Abohatem et *al.*, (2011), les plants de palmier dattier issus des graines de 'Jihel', un cultivar sensible à la maladie du bayoud, ont été soumis à l'inoculation de leurs racines avec un champignon mycorhizien à arbuscules (AMF) collecté dans le sud du Maroc. Les plantes colonisées par le champignon mycorhizien (85% des plantes traitées) produisent des structures intra-racinaires arbusculaires, vésiculaires et des hyphes typiques (Figure 07). Les mycorhizes à arbuscules peuvent limiter l'incidence du *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* sur les plants issus de semis de palmier dattier, en augmentant le contenu en nutriments, les phénols totaux et les activités des peroxydases.



**Figure 07:** A et B aspect des champignons mycorhiziens intra-racinaires **H**: hyphe, **V**: vésicules et **A**: arbuscule (Abohatem et *al.*, 2011)

### **3. Les endophytes et leurs interactions avec l'hôte**

#### **3.1. Les associations bénéfiques liées aux endophytes**

Les endophytes sont des micro-organismes présents dans la plupart des végétaux supérieurs (Christine, 2004). La définition la plus couramment utilisée pour décrire les endophytes est celle de Petrini (1991), qui les définit comme des micro-organismes vivants,



colonisant les tissus végétaux internes sans causer de dommages apparents chez l'hôte qui les héberge (Hyde et Soyong, 2008).

Beaucoup d'entre eux ont des effets bénéfiques sur les plantes, du fait qu'ils peuvent fournir des nutriments, contrecarrer les pathogènes et réduire les symptômes de stress. Leur action peut se traduire chez les arbres par une amélioration de la protection contre les maladies et les insectes déprédateurs (Bérubé, 2007; Sessitsch et *al.*, 2013).

Des associations bénéfiques avec d'autres micro-organismes existent à la fois pour diverses espèces bactériennes généralement appelées **PGPB** (Plant Growth Promoting Bacteria), ainsi que de divers champignons; désignées par **PGPF** (Plant Growth Promoting Fungi). Les associations PGPB et PGPF peuvent stimuler la croissance des plantes et / ou conférer aux plantes une meilleure résistance aux stress biotiques et abiotiques (Hirt, 2012).

Les champignons endophytes sont des organismes microscopiques qui vivent dans les feuilles, les rameaux, les troncs et les racines des arbres sans qu'on puisse en soupçonner la présence (Bérubé, 2007). Les champignons sont les micro-organismes les plus fréquemment isolés en tant qu'endophytes, ils peuvent croître de façon intra et/ou intercellulaire dans les tissus internes des plantes, sous l'assise des cellules épidermiques. Leur présence dans les tissus internes de la plante d'une manière asymptomatique laisse supposer que leurs relations avec l'hôte étaient d'ordre mutualistique ou symbiotique mais leur biodiversité suggère qu'ils peuvent être également des saprophytes (Moricca et Ragazzi, 2008; Pimentel et *al.*, 2011).

Il n'est pas surprenant que toutes les plantes soient considérées comme étant en symbiose avec les champignons mycorhiziques et/ou endophytes. Des preuves récentes indiquent que les champignons mutualistes (PGPF) contribuent de manière significative à l'adaptation des plantes face à des conditions de stress environnementaux y compris la sécheresse, la chaleur, l'action des pathogènes et même des conditions limitantes en nutriments (Brundrett, 2006).

### **3.2. Diversité des champignons endophytes**

La plupart des champignons endophytes appartiennent à l'embranchement des *Ascomycota*, cependant, certains ont été cités appartenir à d'autres taxons, tels que les *Deuteromycota*, *Basidiomycota*, *Zygomycota* et les *Oomycota*. Ils représentent un groupe très diversifié avec

une estimation de 1.5 millions d'espèces et une moyenne d'environ 50 espèces d'endophytes par plante, colonisant les multiples assises cellulaires des tissus (Saar et *al.*, 2001).

Ils ont été isolés à partir de toutes les plantes étudiées à ce jour, ceux allant des espèces ligneuses en zones tropicales et subtropicales, au palmier, aux Graminées marines et même à partir des lichens. (Li et *al.*, 2007; Oses et *al.*, 2008).

Plus de 90% des espèces de champignons endophytes n'ont pas encore été décrites et seulement 80.000 à 100.000 espèces ont été décrites en 2008. Seulement, l'utilisation de l'identification moléculaire pour faire la distinction entre les cultures stériles isolées au laboratoire ainsi que l'exploration de nouveaux environnements telles les forêts tropicales; qui pourraient révéler une grande diversité d'endophytes, ont et vont permettre l'identification de nouvelles espèces (Huang et *al.*, 2008 ; Zabalgozcoa, 2008).

### **3.3. Transmission et multiplication**

L'infection systémique provoquée par les champignons endophytes varie selon leur mode de transmission. Ils sont plus susceptibles d'être antagonistes à l'hôte en cas de transmission horizontale via des spores sexuées, et plus mutualiste lors de la transmission verticale (Saikkonen et *al.*, 1998).

Pour les endophytes non systémiques des plantes ligneuses, la transmission se fait horizontalement dans une zone locale très limitée, mais ils peuvent être trouvés aussi dans les graines, néanmoins la transmission verticale est rare (Saikkonen et *al.*, 1998).

Selon Ragazzi (2004), les endophytes sont déjà présents dans les semences avant la germination, leur transmission se fait par voie systémique des tissus de la plante mère.

Les champignons endophytes manifestent les deux modes de reproduction, le premier se fait par la croissance végétative des hyphes, qui est complètement interne, les hyphes du champignon sont transmis de la plante infectée vers la descendance via les graines et c'est le principal mode de transmission des champignons endophytes (Saikkonen et *al.*, 2010).



Le second se fait via des spores sexuées ou asexuées; ce groupe de champignons se transmet horizontalement. La reproduction sexuée nécessite des spores sexuées, elle est donc toujours horizontale, contrairement à la reproduction asexuée qui peut se faire soit verticalement via les graines, soit horizontalement par les spores ou les hyphes (Saikkonen et *al.*, 2004).

### **3.4. Interaction endophyte-hôte, actions physiologiques des champignons endophytes**

Les endophytes représentent un important réservoir de biodiversité dans les écosystèmes forestiers (Bérubé, 2007).

Ils possèdent différents modes de vie, donnant différentes interactions variables d'un endophyte à un autre et d'un hôte à un autre. Ces interactions dépendent des facteurs abiotiques, des interactions avec d'autres espèces, de la géographie et de la phylogénie.

Les endophytes mutualistes procurent à l'hôte de nombreux avantages, tels que la résistance aux stress biotique provoqué par des herbivores ou des parasites ou bien abiotiques comme la sécheresse et la salinité (Saikkonen et *al.*, 1998).

En retour, l'hôte procure à l'endophyte une protection contre la dessiccation, des éléments nutritifs, la photosynthèse et lui permet aussi en cas de transmission verticale, le passage à la prochaine génération (Zabalgoitia, 2008).

La tolérance aux maladies semble impliquer des mécanismes différents en fonction de l'endophyte. Ces endophytes affectent une variété de processus écologiques, physiologiques et biochimiques de la plante (Moricca, 2004; Hirt, 2012).

Il est important de souligner que les communautés microbiennes associées aux plantes comprennent également des bactéries, des champignons, des virus et des algues pouvant tous contribuer au bon déroulement de l'interaction plante-microorganisme, et donc, augmenter la complexité de ces interactions. D'après Rodriguez et *al.*, (2008), plusieurs *fungi* appartenant au groupe des **PGPF**, peuvent conférer à leurs plantes hôtes une tolérance à divers stress biotiques et abiotiques; occasionnés entre autres par, la sécheresse, la chaleur, les herbivores et les attaques de pathogènes.

Selon Hirt (2012), la souche endophyte de PGPF *Colletotrichum magna*, qui confère la résistance aux maladies, est corrélée à une augmentation des activités de la peroxydase et de la phénylalanine ammoniaque lyase et une augmentation des dépôts de lignine.

Les plantes possèdent un vaste arsenal inductible et constitutif de mécanismes de défense contre les agents phytopathogènes. Les obstacles structurels qui se renforcent rapidement lors du processus d'infection par des dépôts de cire, de lignine, de cellulose, des composés phénoliques et des protéines de la paroi cellulaire sont le type le plus performant de défense (Clay et Schardl, 2002).

Il a été démontré que les populations endophytes assurent un meilleur rendement par l'élimination du pathogène comme ce qui a été démontré lors d'une attaque par les nématodes, les insectes et aussi contre les champignons et bactéries phytopathogènes par la production d'antibiotiques et de molécules de défense (Strobel et Daizy, 2003).

#### **3.4.1. Protection contre les microorganismes phytopathogènes**

Les champignons endophytes peuvent être utilisés comme agents de biocontrôle, cette action peut être définie par la réduction de l'inoculum du pathogène, ou par l'inhibition de l'activité de l'agent pathogène (Döring, 2013 ; Martins et *al.*, 2013).

La production d'antibiotiques, la stimulation des mécanismes de défense de l'hôte, la concurrence pour la nourriture ou les sites de colonisation, et le mycoparasitisme sont les mécanismes utilisés par les endophytes pour inhiber les microorganismes pathogènes (Cao et *al.*, 2009).

- La stimulation des mécanismes de défense de l'hôte

Les micro-organismes peuvent stimuler les défenses des plantes, ce qui provoque une résistance de la plante contre les agents pathogènes. Des barrières structurales avec des appositions pariétales peuvent notamment se mettre en place, ainsi que l'induction de la synthèse des phytoalexines et des protéines PR (Pathogenesis-related proteins), suite à l'inoculation de la plante avec un endophyte, tel que démontré dans les travaux de Tan et Zhou (2001).

D'autres mécanismes sont impliqués dans la défense comme la stimulation du métabolisme oxydatif et la mort cellulaire rapide et localisée. Lors de l'inoculation de *Piriformospora indica*, un endophyte qui colonise les racines des plantes, une résistance contre deux champignons pathogènes vasculaires *Fusarium culmorum* et *Blumeria graminis* a été observée. La protection contre l'agent pathogène foliaire semble être produite par un

mécanisme de résistance induite, où s'est produite une réaction de défense impliquant la mort localisée des cellules hôtes (Waller et *al.*, 2005).

- La concurrence pour la nourriture ou les sites de colonisation

Arnold et *al.*, (2003) ont inoculé un mélange de six endophytes fréquemment isolés à partir des feuilles de jeunes plants de *Theobroma cacao* avant de les infecter avec *Phytophthora* sp; l'agent pathogène responsable de la maladie de la pourriture brune. Ils ont observé une réduction significative de l'incidence de la maladie et de ses effets néfastes sur les feuilles une fois inoculées avec les endophytes. Vu la différence de la sévérité de la maladie observée entre les feuilles inoculées et non inoculées de la même plante, l'induction d'un mécanisme de résistance de la part de la plante ne peut être impliqué. La protection dans ce cas, pourrait être le résultat d'une concurrence directe entre les endophytes et les agents pathogènes, comme la production d'une zone d'inhibition qui restreindrait l'entrée des autres champignons, ou bien l'occupation des sites disponibles pour l'infection.

- Le mycoparasitisme

Certains champignons endophytes peuvent être des mycoparasites; ils peuvent produire des enzymes dégradant les parois cellulaires, leur permettant de provoquer des pores dans la paroi des champignons phytopathogènes, d'extraire des nutriments et d'inhiber leurs croissance (Kim et *al.*, 2007; Cao et *al.*, 2009).

Lehtonen et *al.*, (2006) ont démontré que l'incidence la plus faible du virus de la jaunisse nanisante jaune de l'orge sur *Lolium pratense* inoculé par l'endophyte *Neotyphodium* par rapport aux plantes non infectées, est due à la présence d'alcaloïdes fongiques qui affectent la reproduction des pucerons vecteurs du virus.

- La production d'antibiotiques

Selon Wang et *al.*, (2007), certains champignons endophytes peuvent avoir une activité biologique à effet bactéricide sur les bactéries phytopathogènes. En effet, les extraits des cultures endophytes ont démontré une activité semblable à celle obtenue avec les champignons phytopathogènes.

Le champignon endophyte *Epichloë typhina* de *Phleum pretense* produit des sesquiterpènes jugés être des fongitoxiques contre le champignon pathogène *Cladosporium phlei*. De même, la cryptocine produite par l'endophyte *Cryptosporiopsis quercina* d'une plante médicinale *Tripterigeum wilfordii*, a montré une puissante activité contre *Pyricularia oryzae* agent de la pyriculariose du riz (Li et al., 2000).

### **3.4.2. Protection contre les herbivores et les insectes**

C'est en 1977 que Bacon et al., ont démontré pour la première fois la corrélation existant entre les champignons endophytes et la toxicité de leurs plantes hôtes sur les mammifères herbivores domestiques.

Plusieurs types de maladies peuvent atteindre les animaux qui se nourrissent de plantes fourragères infectées par des endophytes, en supprimant le système immunitaire et en causant des troubles de reproduction. Cette toxicose est due à un certains nombre de composés tels que l'acide lysergique, les amides et l'ergopeptine. Ces derniers sont produits par les champignons endophytes à de fortes concentrations, ont été trouvés colonisant les semences et les feuilles de ces mêmes plantes (Roberts et Andrae, 2004; Roberts et al., 2005).

Certains endophytes peuvent aussi protéger leurs hôtes contre les insectes en produisant des métabolites secondaires (Spiering et al., 2005).

La capacité des champignons endophytes à repousser les insectes et même à augmenter leurs taux de mortalité est corrélée avec leurs capacités de produire des toxines. A titre d'exemple *Acremonium lolii*, un endophyte de *lolium perenne*, produit une forte toxine lolitreme qui provoque la réduction des attaques d'insectes. Les toxines N-formilonine et paxiline produites par *Neotyphodium* sp, un endophyte d'*Echinopogum ovatus* tuent le charançon *Listronotus bonariensis* et autres insectes, ont également été décrites dans ce sens (Miles et al., 1998).

### **3.4.3. La tolérance aux stress abiotiques**

Tout au long de l'évolution, les plantes ont été confrontées à des conditions environnementales changeantes, les obligeant à s'adapter ou à succomber aux températures extrêmes, aux insuffisances d'eau et à des produits chimiques. Plusieurs études ont démontré

que les plantes associées à des champignons endophytes ont été plus tolérantes à la sécheresse, à la chaleur, à la toxicité des métaux et à une salinité élevée (Waller et *al.*, 2005).

Il semble que la tolérance au stress de la plante hôte n'est pas une caractéristique générale de l'interaction avec les PGPFs, mais au contraire, une caractéristique du milieu spécifique de l'interaction. La manière dont ces différentes tolérances se manifestent dans un contexte évolutif n'est pas clairement définie, mais il est probable que ces caractéristiques spécifiques contribuent à la faculté de certaines plantes à se développer et à survivre dans des habitats extrêmes. C'est le cas de *Dichanthelium lanuginosum*, une plante géothermique colonisée par *Curvularia protuberata*, un PGPF qui confère une tolérance à la chaleur à la plante hôte qui l'héberge (Khan et *al.*, 2013).

Toutefois, ni le champignon, ni la plante ne peuvent survivre seuls à des températures supérieures à 38°C

En outre, seules des souches du PGPF *C. protuberata* isolées des plantes géothermiques peuvent conférer aux plantes, la tolérance à la chaleur (Rodriguez et *al.*, 2008).

#### **3.4.4. La promotion de la croissance**

En plus de la protection contre les agents pathogènes et la tolérance aux conditions abiotiques stressantes que les endophytes procurent à leurs hôtes, ils peuvent améliorer la photosynthèse, c'est le cas d'*Agave victoria-reginae* qui croit en présence du champignon endophyte *Fusarium oxysporium*. En effet, la chlorophylle totale et la teneur en sucres augmentent, entraînant une amélioration du rendement de la photosynthèse des plantes par rapport aux autres dépourvues de l'endophyte (Obledo et *al.*, 2003).

Les endophytes peuvent aussi améliorer la croissance de nombreuses espèces végétales; cette amélioration de la croissance se fait par le biais de l'absorption des éléments nutritifs par l'hôte comme la fixation de l'azote et l'assimilation du phosphore ainsi que la régulation de la qualité nutritionnelle (Zhang et *al.*, 2006).

#### **3.4.5. La production de métabolites bioactifs**

Les champignons endophytes sont considérés comme un important réservoir de nouveaux métabolites secondaires bioactifs, par rapport aux autres micro-organismes (Zhang et *al.*, 2006). En effet, plus de 20 000 métabolites bioactifs sont produits, une grande diversité

chimique et structurale comprenant des alcaloïdes (amines, amides), des peptides, des stéroïdes, des terpénoïdes, des phénols, des quinones, des composés aliphatiques, et des flavonoïdes (Selim et *al.*, 2012).

Des substances naturelles, produites par les champignons endophytes possèdent un large spectre d'activité biologique comprenant des composés antibiotiques, antifongiques, antiviraux, agents anticancer, antioxydants, insecticides et autres substances biologiquement actives (Tableau 04) (Zhang et *al.*, 2006).

D'après Maddau et *al.*, (2004), les métabolites produits par les champignons endophytes isolés des arbres forestiers présentent une large gamme d'activités biologiques d'intérêt pharmaceutique, économique, et écologique. Leur production *in-vitro* dépend des conditions de croissance du champignon (facteurs nutritionnels, pH, température, période d'incubation.. etc.)

**Tableau 04: Exemples de quelques composés bioactifs produits par les champignons endophytes.**

Activité	composé	endophyte	Plante hôte	Référence
Anti-cancer	Taxol	<i>Taxomyces andreanae</i>	<i>Taxus brevifolia</i>	Li et al., (2005)
Anti-fongique	Cryptocandine A	<i>Cryptosporiopsis quercina</i>	<i>Tripterigeum wilfordii</i>	Strobel et al., (2004)
	Acide ambuique	<i>Monochaetia</i> sp	<i>Wollemia nobilis</i>	Li et al., (2005)
		<i>Pestalotiopsis</i> spp	<i>Taxodium disticum</i>	
Anti-bactérienne	Guanacastepene A	Non identifié	<i>Daphnopsis americana</i>	Brady et al., (2001).
Phytohormones	Acide indole-3-acétique	<i>Colletotrichum</i> sp	<i>Artemisia annua</i>	Lu et al., (2000)
	Auxine	<i>Trichoderma</i> spp	<i>Lycopersicon esculentum</i> <i>Brassica napus</i> <i>Pisum sativum</i>	Vinale et al., (2010)
	Cytokinnine	<i>Hipoxylon serpen</i>	<i>Nicotiana</i> sp	Petrini et al., (1992)
	Gibberellines	<i>Gliomastix murorum</i>	<i>Leymus mollis</i> <i>Oryza sativa</i>	Khan et al., (2009)
Anti-oxydantes	Pestacin; Isopestacin	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Terminalia morobensis</i>	Pimentel et al., (2011)



# *Matériel et méthodes*



## 1. Objectifs de l'étude

La présente étude s'intéresse à l'étude des champignons endophytes de six variétés de palmiers dattier; cinq résistantes au bayoud et une variété très sensible, collectées dans la région de Biskra et de Ghardaïa.

Pour mener cette étude, nous avons procédé aux étapes suivantes:

- 1-Prélèvement d'échantillons racinaires
- 2-Isolement des champignons endophytes à partir des racines de palmier dattier
- 3-Essais d'antagonisme *in-vitro* à l'égard du F.o.a
- 4-Identification des endophytes antagonistes potentiels du F.o.a à l'aide de clés de détermination

## 2. Présentation des régions d'études

### 1. La région de Biskra

Les deux premiers prélèvements ont été effectués dans deux palmeraies privées dans la daïra de Bordj Ben Azouz, commune de Tolga, dans la wilaya de Biskra (Figure 08). Ce site est d'une importante diversité variétale de palmier dattier, soit 39 de la totalité des 115 cultivars de toute la wilaya (Belhadi et *al.*, 2008).



**Figure 08:** Localisation de la zone de prélèvement dans la région de Bordj Ben azouz, Biskra (Google map).

## **2.1. Climatologie**

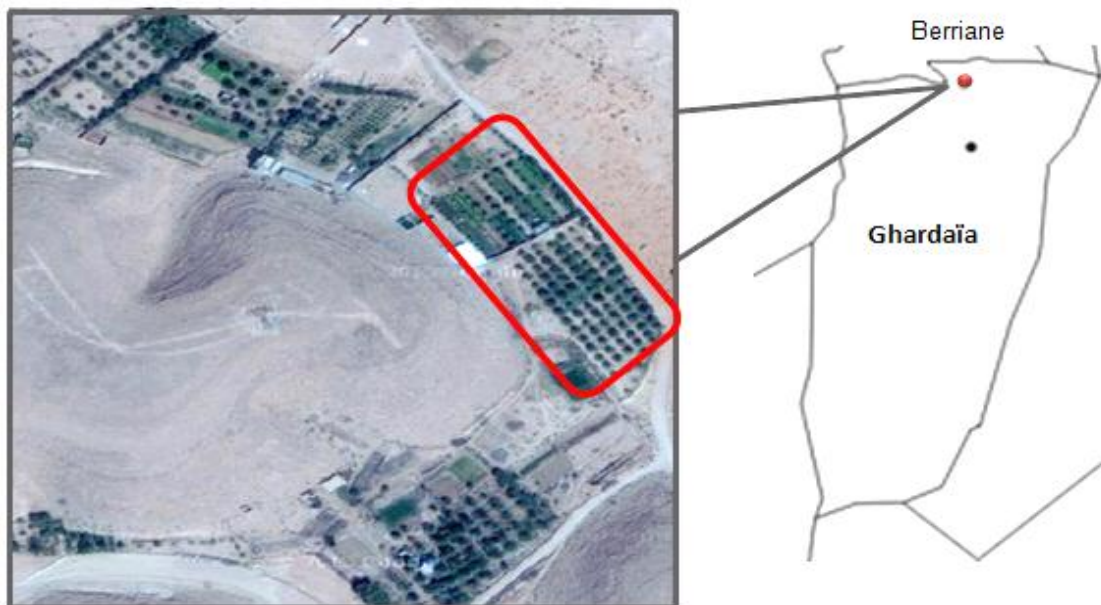
La région de Biskra est située au centre-est de l'Algérie. Elle s'étend sur une superficie d'environ 21671 km<sup>2</sup>. La région se caractérise par une forte température avec une moyenne annuelle de 22,67°C et de fortes variations saisonnières: 34,89°C en juillet et 11,25°C en janvier. Les précipitations sont faibles et irrégulières d'un mois à un autre, et leurs moyenne annuelle est de 131,46 mm/an pour un nombre de jours de pluie de 35 environ (Farhi, 2001).

L'humidité relative de l'air varie sensiblement en fonction des saisons, la moyenne annuelle est de 42.13%. Durant l'été, elle chute jusqu'à 25% en juillet sous l'effet d'une forte évaporation et elle s'élève en hiver jusqu'à 62% au maximum en décembre (Ramade, 2003).

Les vents soufflent pendant toute l'année. Généralement, ce sont les vents du Nord-Ouest qui prédominent. Les vents du Sud sont généralement froids et secs en hiver et sont chauds et très secs pendant la période estivale provoquant une augmentation notable de la température, une accélération de l'évaporation et une chute brutale de l'humidité atmosphérique, par conséquent, ils augmentent la sécheresse (Benbouza, 1994).

## **2. La région de Berriane**

Le deuxième prélèvement a été effectué à Oued Soudane dans la commune de Berriane, wilaya de Gardaïa (Figure 09). Les palmeraies de cette wilaya comprennent un ensemble de 72 variétés de palmiers dattier (Belguedj, 2007).



**Figure 09:** Localisation de la zone de prélèvement dans la région de Berriane, Ghardaïa (Google map).

## 2.1. Climatologie

La wilaya de Ghardaïa couvre une superficie de 86.105 km<sup>2</sup>, et sa population, est estimée à 309.740 habitants. Elle est située à l'ouest du bassin secondaire du bas-Sahara, sur un plateau sub-horizontale (Belguedj, 2007). Elle est marquée par une grande amplitude entre les températures de jour et de nuit, d'été et d'hiver. La période chaude commence au mois de mai et dure jusqu'au mois de septembre. La température moyenne enregistrée au mois de juillet est de 36,3°C, la température maximale en cette période peut atteindre 46°C. Pour la période hivernale, la température moyenne enregistrée au mois de janvier ne dépasse pas 12,2°C, la température minimale étant de 2,5°C (Achour, 2005).

Les précipitations sont très faibles et irrégulières, elles varient entre 13 et 68 mm sur une durée moyenne de quinze jours par an et la pluviométrie moyenne annuelle est de l'ordre de 60 mm. Le taux d'évaporation est élevé, il atteint son maximum en juillet jusqu'à 432 mm, alors que le minimum est atteint au cours du mois de décembre à 79,3 mm.

Pendant certaines périodes de l'année, en général en mars et avril, de véritables tempêtes de sable se produisent, des trompes de sable se déplacent avec violence atteignant plusieurs

centaines de mètres de haut. Pour ce qui est du Sirocco, dans la zone de Ghardaïa on note une moyenne annuelle de 11 jours/an pendant la période qui va du mois de Mai jusqu'à Septembre (Achour, 2005).

### **3. Echantillonnage**

La collecte des échantillons a été effectuée à partir de racines de palmier dattier d'apparence saine (sans symptômes de bayoud). Les racines prélevées sont jeunes, fraîches et de couleur blanche. Les échantillons sont prélevés à l'aide de scalpels stériles à une distance entre 20 et 30 cm et une profondeur entre 15 et 30 cm autour du tronc pour chaque prélèvement. La pioche servant pour le prélèvement est stérilisée à l'alcool 90° par flambage. Les échantillons sont transportés aseptiquement dans des flacons stériles et conservés au frais à 4° C avant leur utilisation.

### **4. Diagnostic au laboratoire**

#### **1. Techniques de préparation des échantillons racinaires à analyser**

Nous avons désinfecté la surface des racines collectées selon la méthode décrite par Franken and Andrade, (2014). Un lavage des racines sous l'eau courante a été effectué afin d'éliminer les particules du sol et la sélection des sections de racines à désinfecter. L'étape de la désinfection a été réalisée sous conditions stériles en utilisant des flacons stériles, des bistouris et des pinces préalablement stérilisés au four Pasteur. Les racines sont trempées dans de l'éthanol à 70° pendant 1mn puis transférées dans une solution de CaClO à 2,5% pendant 10-15 mn. Les racines subissent par la suite 3 à 6 lavages successifs à l'eau distillée stérile toutes les 1mn et dans différents contenants stériles pour éliminer l'excès d'alcool et de CaClO. Les fragments racinaires sont par la suite récupérés et séchés sur du papier buvard stérile (Figure 11).



**Figure 11:** Les différentes étapes de désinfection des surfaces racinaires.

## 2. Isolement des endophytes

L'isolement est réalisé sur deux milieux gélosés, le premier à base de pomme de terre (PDA, potato dextrose agar) (Johnson et Booth, 1982) et le deuxième est composé d'Agar et d'eau. Deux répétitions pour chaque milieu et chaque variété sont utilisées. Les racines sont découpées en petits fragments entre 2 et 3 mm de longueur sur du papier stérile en utilisant une pince et un scalpel stérile. Les extrémités des racines sont écartées et quatre à cinq fragments racinaires par boîte sont déposés sur le milieu de culture puis incubés à 25°C.

Pour s'assurer que la désinfection de la surface des racines a été effectuée et que les isollements concernent seulement les endophytes, la technique d'empreinte a été réalisée en déposant les fragments de racines sur des boîtes de Pétri à part pendant une minute sur du PDA. Les boîtes sont par la suite mises en incubation à 25°C et contrôlées régulièrement pour la présence ou l'absence de croissance de contaminants de surface (champignons, bactéries) (Schulz et *al.*, 1999).

## 2.1. Calcul du taux d'isolement par variété

Nous avons jugé nécessaire d'estimer le taux d'isolement des champignons endophytes par les variétés étudiés. Pour cela la taux d'isolats a été évaluée quotidiennement pendant 10 jours selon la formule décrite par Pétrini et *al.*, (1992):

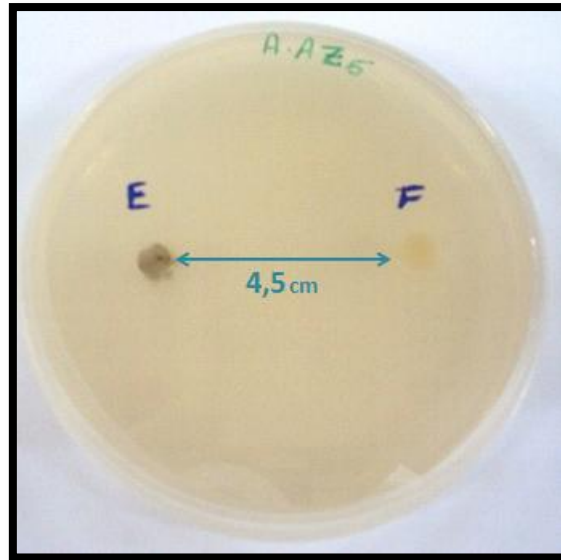
$$\text{Taux d'isolement} = \frac{\text{nombre de fragments avec endophytes}}{\text{Nombre total des fragments}} \times 100$$

## 3. Purification des isolats

La purification est réalisée après plusieurs repiquages par transplantations successives des fragments mycéliens de chaque champignon obtenu dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA et mis en incubation à 25°C (Franken and Andrade, 2014).

## 4. Essais d'antagonisme *in-vitro* à l'égard du F.o.a

Après purification des isolats obtenus, nous avons testé leurs pouvoirs antagonistes vis-à-vis d'une souche de *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* faisant partie de la collection du laboratoire de phytopathologie. Nous avons opté pour deux méthodes de test d'antagonisme. La première est la méthode de double culture par dépôts simultanés (co-culture) des disques mycéliens. Des disques de 5 mm du F.o.a et de l'isolat endophyte à analyser, sontensemencés à la périphérie de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA, à une distance de 4,5 cm entre le F.o.a et l'isolat endophyte, puis mis en incubation à 25°C pendant 5 jours (Figure 10). Les témoins négatifs de cet essai sont les explants des isolats cultivés seuls dans la périphérie de la boîte de Pétri. Cette technique nous permet d'analyser l'antagonisme par confrontation et dépôt simultané de l'organisme phytopathogène (F.o.a) et les différents endophytes racinaires isolés.



**Figure 10:** Méthode de dépôt des explants pour la technique d'antagonisme.

La deuxième méthode consiste à ensemencer les isolats endophytes à tester et les mettre en incubation à 25°C pendant 48h. Après un temps d'incubation de 48h, les disques mycéliens de F.o.a sont ensemencés à 4,5 cm de l'isolat endophyte, les boîtes sont par la suite mises en incubation à 25°C pendant 5 jours. Le dépôt de l'isolat endophyte 48h avant l'organisme phytopathogène (F.o.a) permettra la diffusion dans le milieu de métabolites à action antagoniste avant l'ensemencement du F.o.a.

#### 4.1. Calcul du pourcentage d'inhibition

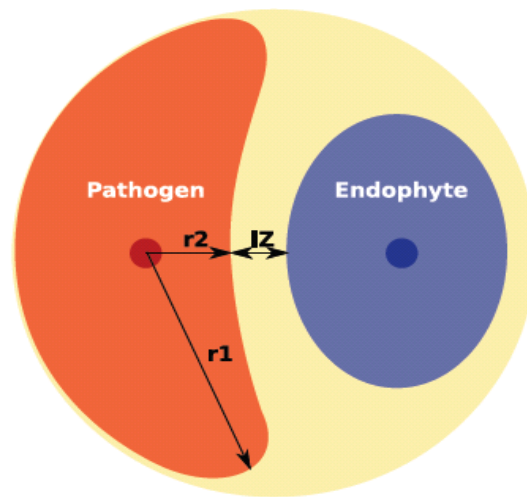
Pour le calcul du pourcentage d'inhibition (taux d'inhibition) dans le cas de la culture simultanée (co-culture), nous avons utilisé la formule suivante (Figure 11) (Maciá-Vicente et al., 2008):

$$\% = 100 (r1-r2)/r1$$

**r1: petit rayon de la croissance mycélienne**

**r2: grand rayon de la croissance mycélienne**

**IZ: Zone d'inhibition**



**Figure 11:** Schéma représentatif de la méthode de calcul du pourcentage d'inhibition.

## 5. Identification des endophytes antagonistes potentiels du F.o.a

Les champignons endophytes ayant donné une zone d'inhibition conséquente, sont par la suiteensemencés en boîte de Pétri pour leur identification ultérieure. Ils sont mis en culture sur le milieu PDA en présence de deux à trois brindilles de peuplier doublement autoclavées. Après observation de la croissance mycélienne, les champignons sont exposés à la lumière et sont mis sous stress thermique pendant 72h. Cette étape stimule la sporulation et la fructification de ces derniers sur les brindilles pour une éventuelle identification en se basant sur les observations microscopiques du mycélium et des conidies de leur couleur et leur septation ainsi que de la forme des conidiophores. La mise au point des observations a été d'abord réglée au faible grossissement (Gr: 25x10), une fois que les structures du mycélien et des conidies deviennent apparentes, l'observation et la prise de photos se fait au fort



grossissement (Gr: 25x40). Les clés de détermination utilisées sont celles décrites par Barnett et Harry (1998) et celles de watanaby, (2002).

## **5. Analyse statistique des résultats**

Les résultats obtenus lors de cette étude sont traités statistiquement par le logiciel SPSS© Version 20.0.0 pour Windows. Les résultats du taux de croissance des isolats sur les deux milieux de culture ainsi que ceux du taux d'inhibition ont subi l'analyse de la variance sur la moyenne. Le test *t* de *Student* au seuil 5% a été utilisé afin d'étudier l'effet du milieu de culture sur le nombre de colonies isolées ainsi que l'effet de la méthode du test d'antagonisme sur le pourcentage d'inhibition.



# ***Résultats***

## 1. Données sur les échantillons racinaires étudiés

Les renseignements sur les racines collectées pour l'analyse sont représentés dans le tableau 05. Les racines collectées sont des racines qui ont été produites l'année même (jeunes), d'apparence saine et de couleur blanche (Figure 12).



**Figure 12:** Aspect des racines collectées.

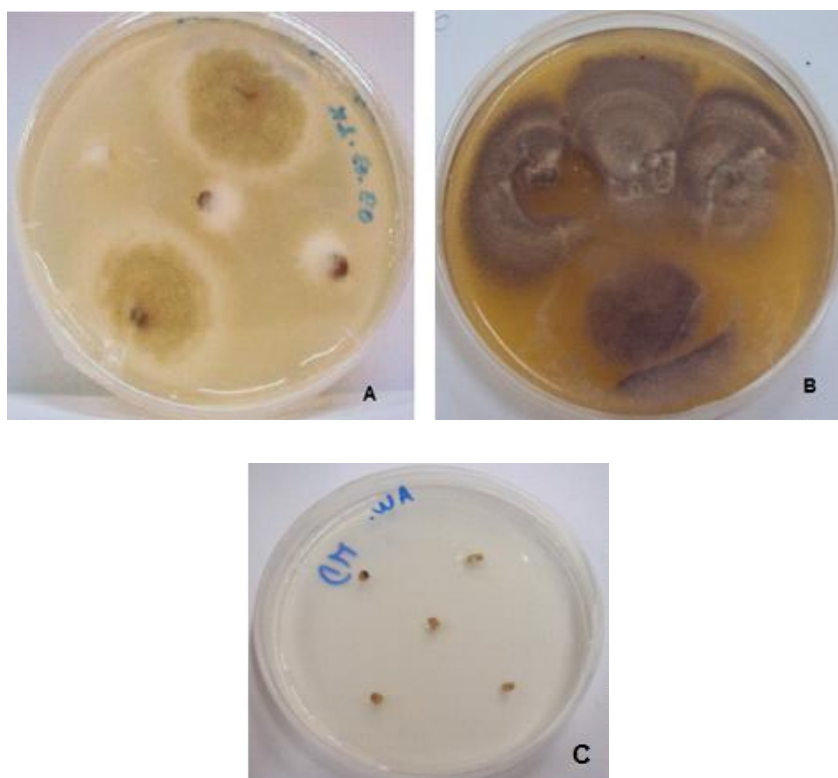
**Tableau 05: Description des échantillons prélevés.**

Provenance et date de prélèvement	Palmeraie	Variété	Age du sujet (ans)	Symptômes du bayoud	Code
Biskra: 06-03-2015	Bordj Ben Azouz	El azouzia	16	Absence	<b>Az</b>
Biskra: 06-03-2015	Bordj Ben Azouz	Mech Degla	40-50	Absence	<b>MD</b>
Biskra: 06-03-2015	Bordj Ben Azouz	Deglet Nour	40	Absence	<b>DN</b>
Biskra: 22-12-2014	Bordj Ben Azouz	Elhora	30-45	Absence	<b>H</b>
Ghardaïa: 24-12-2014	Oued Soudan	Bentqbala	15	Absence	<b>Bq</b>
Ghardaïa: 24-12-2014	Oued Soudan	Takrboucht	15	Absence	<b>Tkr</b>

## 2. Caractérisation des isolats endophytes obtenus

Après 7 jours d'incubation des fragments racinaires, les isolats obtenus présentent une grande diversité de forme et de couleur. Les colonies fongiques obtenues sur le milieu PDA se différencient selon la couleur et l'aspect du mycélium, elles sont plus hétérogènes et se distinguent facilement les unes des autres. Pour ce qui est des colonies obtenus sur milieu agar/eau, celles-ci se ressemblent et sont toutes hyalines (Figure 13).

Sur le milieu agar eau, nous avons obtenu plus de colonies fongiques essentiellement pour les variétés Elhorra avec 06 colonies, suivie de la variété Takerboucht et la variété Deglet Nour avec respectivement 05 et 04 colonies (Tableau 06)..



**Figure 13:** Variabilité de l'aspect et de la couleur des champignons isolés sur milieu PDA et Agar/eau.

**A:** Champignon isolée de la variété Azouzia, **B:** champignons isolées de la variété Elhorra,  
**C:** Champignons hyalins isolés de la variété Mech Degla.

**Tableau 06: Dénombrement des isolats des variétés étudiées**

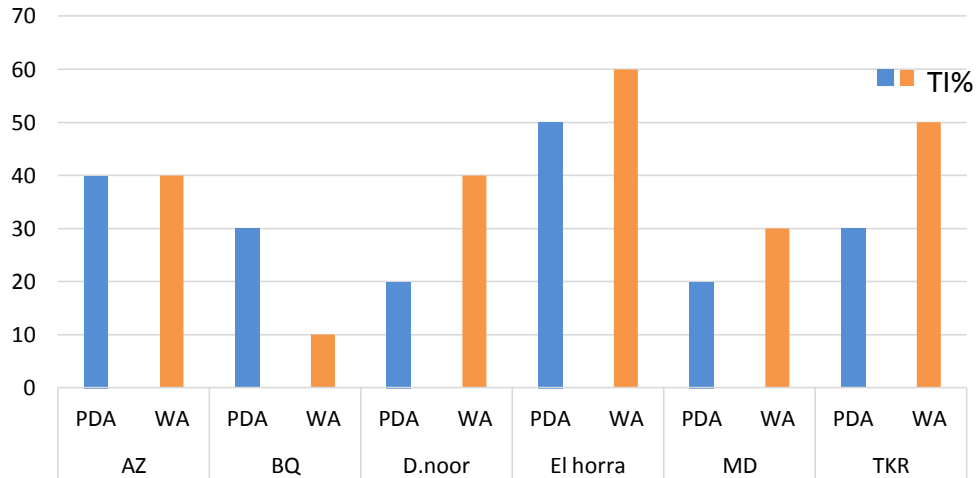
W.A: Agar eau, PDA: Potato Dextrose Agar

Variété	Milieu d'isolement	Nombre de colonies	Code des isolats
<b>H</b>	W.A	06	H <sub>1</sub> , H <sub>2</sub> , H <sub>3</sub> , H <sub>4</sub> , H <sub>5</sub> , H <sub>6</sub>
	PDA	05	H <sub>7</sub> , H <sub>8</sub> , H <sub>9</sub> , H <sub>10</sub> , H <sub>11</sub>
<b>DN</b>	W.A	04	DN <sub>0</sub> , DN <sub>1</sub> , DN <sub>2</sub> , DN <sub>3</sub>
	PDA	02	DN <sub>4</sub> , DN <sub>5</sub>
<b>Az</b>	W.A	04	Az <sub>5</sub> , Az <sub>6</sub> , Az <sub>7</sub> , Az <sub>8</sub>
	PDA	04	Az <sub>1</sub> , Az <sub>2</sub> , Az <sub>3</sub> , Az <sub>4</sub>
<b>Bq</b>	W.A	01	Bq <sub>1</sub>
	PDA	03	Bq <sub>2</sub> , Bq <sub>3</sub> , Bq <sub>4</sub>
<b>MD</b>	W.A	03	MD <sub>1</sub> , MD <sub>2</sub> , MD <sub>3</sub>
	PDA	02	MD <sub>4</sub> , MD <sub>5</sub>
<b>Tkr</b>	W.A	05	Tkr <sub>4</sub> , Tkr <sub>5</sub> , Tkr <sub>6</sub> , Tkr <sub>7</sub> , Tkr <sub>8</sub>
	PDA	03	Tkr <sub>1</sub> , Tkr <sub>2</sub> , Tkr <sub>3</sub>

**1.1 Influence du milieu de culture et de la variété sur le nombre d'isolats**

Nous avons évalué quotidiennement pendant 10 jours le taux d'isolats fongiques obtenus à partir des fragments racinaires de chaque variété. Les résultats indiquent que le taux le plus élevé est obtenu sur milieu agar-eau avec 60% pour la variété Elhorra, suivie de la variété Takerboucht avec 50%. Quand au plus faible taux, il est donné par la variété Bentqbalala avec 10%. Le milieu PDA montre le taux le plus élevé pour la variété Elhorra avec 50% et le taux le plus faible des variétés Deglet Nour et Takerboucht avec 20% (Figure 14).

L'analyse statistique indique que le milieu de culture n'a pas une influence sur le nombre d'isolats ( $p=0,4 > \alpha=0,05$ ) (Annexe 01) et que la variété n'a pas une influence sur le taux d'isolement ( $p=0,4 > \alpha=0,05$ ) (Annexe 02).



**Figure 14:** Taux d'isolats fongiques endophytes sur les deux milieux de cultures.

## 2. Purification

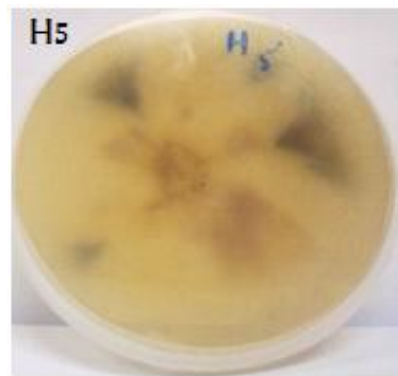
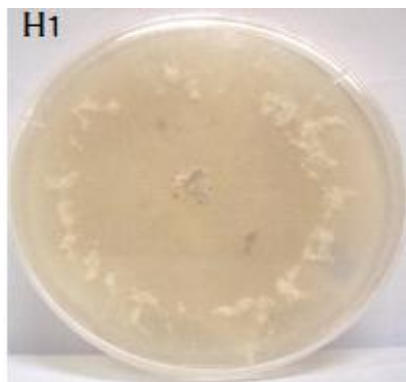
### 2.1 Caractères macroscopiques des isolats

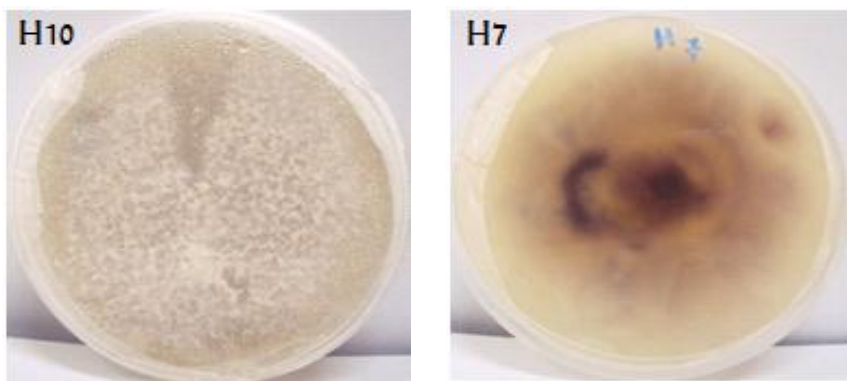
Des purifications successives ont permis d'obtenir des isolats purs et une grande différence de caractères morphologiques entre les isolats a pu être discernée. D'une manière générale, les isolats de la variété Elhorra ont donné un mycélium fin et frisé. La variation de la couleur et de l'aspect des colonies nous a permis de classer les isolats endophytes H<sub>1</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>7</sub>, H<sub>10</sub> et H<sub>11</sub> en deux groupes homogènes (Figure 15) (Tableau 07).

Le premier groupe; H<sub>C</sub> comporte les souches H<sub>6</sub>, H<sub>7</sub>, H<sub>10</sub> et le deuxième groupe H<sub>D</sub> comporte les souches H<sub>1</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>11</sub>. Les autres souches; H<sub>2</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>8</sub> et H<sub>9</sub> présentent des caractéristiques morphologiques différentes des deux autres groupes.

**Tableau 07: Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés de la variété Elhora.**

Souche	Forme de la colonie	Couleur de la colonie		Diamètre de la colonie (cm)	Durée d'incubation
		Face supérieure	Face inférieure		
H <sub>1</sub> , H <sub>3</sub> , H <sub>11</sub>	Circulaire	Blanche	Rose au centre- beige autour	5,2, 5,5 et 5.4	1 semaine
H <sub>2</sub>	Circulaire	Blanche	Rose au centre- blanche autour	4,5	1 semaine
H <sub>4</sub>	Circulaire	Rose claire	Rose claire au centre- blanche autour	4	1 semaine
H <sub>5</sub>	Circulaire	Blanche	Rose au centre- blanche autour	4	1 semaine
H <sub>6</sub> , H <sub>7</sub> , H <sub>10</sub>	Circulaire	Blanche	Rose au centre- rose claire autour	2,9, 3 et 3,2	11 jours
H <sub>8</sub>	Circulaire	Blanche	Beige + marron peu prononcé	6	1 semaine
H <sub>9</sub>	Circulaire	Blanche	Marron claire + présence de stries beige	3,5	1 semaine





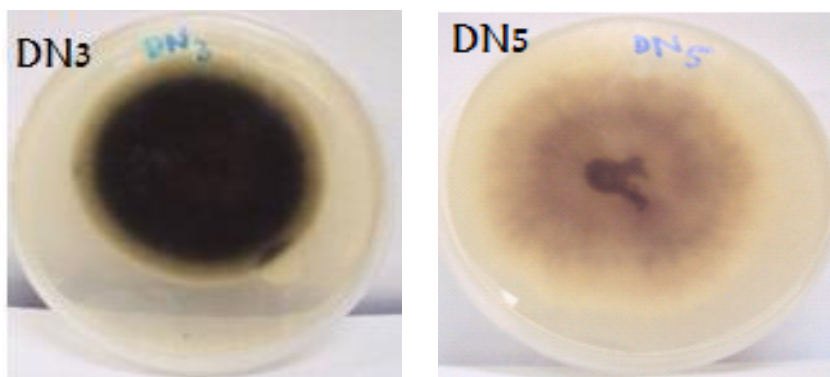
**Figure 15:** Croissance mycélienne sur le milieu PDA de quelques isolats de la variété Elhorra.

Les isolats de la variété DN présentent eux aussi des ressemblances morphologiques. Quatre souches sont classées selon leurs caractères macroscopiques. Les isolats DN<sub>0</sub>, DN<sub>2</sub>, DN<sub>4</sub> et DN<sub>5</sub> sont classés dans deux groupes homogènes, le premier DN<sub>A</sub> comportant les isolats DN<sub>0</sub> et DN<sub>5</sub>, et le deuxième DN<sub>B</sub> comportant les isolats DN<sub>2</sub> et DN<sub>4</sub> (Figure 16) (Tableau 08).

**Tableau 08: Caractéristiques morphologiques des isolats endophytes purifiés de la variété Deglet Nour.**

Souche	Forme de la colonie	Couleur de la colonie		Diamètre de la colonie (cm)	Durée d'incubation
		Face supérieure	Face inférieure		
DN <sub>0</sub> DN <sub>5</sub>	Circulaire	Blanche	Rose claire- blanche autour	3,5, 3,5	5 jours
DN <sub>1</sub>	Circulaire	Blanche- transparente autour	Blanche- transparente	1	5 jours
DN <sub>2</sub> DN <sub>4</sub>	Circulaire	Vert olive- blanche autour	Vert olive blanc autour	2, 2,5	11 jours
DN <sub>3</sub>	Circulaire	Blanche à vert très claire	Vert olive blanc autour	4	11 jours



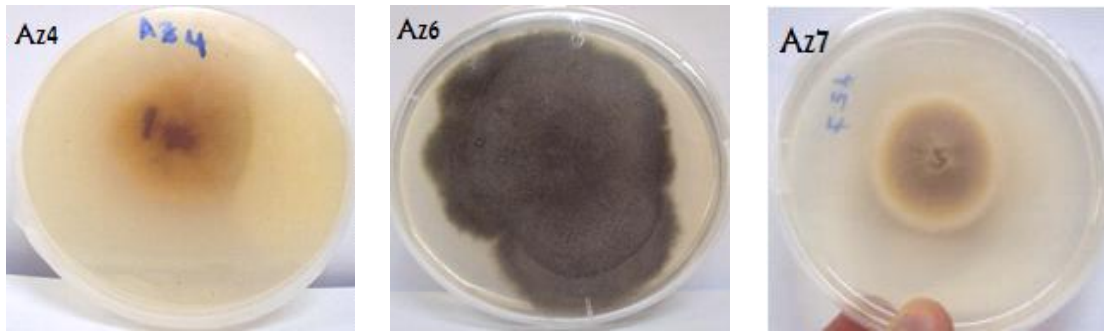


**Figure 16:** Croissance mycélienne de quelques souches pures de la variété Deglet Nour.

Tous les isolats de la variété Azouzia sont différents, seule la souche Az<sub>1</sub> est identique à la souche Az<sub>2</sub> (Tableau 09) (Figure 17).

**Tableau 09: Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés de la variété Azouzia.**

Souche	Forme de la colonie	Couleur de la colonie		Diamètre de la colonie (cm)	Durée d'incubation
		Face supérieure	Face inférieure		
Az <sub>1</sub>	Irrégulière	Vert- blanc autour	Verte- blanche autour	1	1 semaine
Az <sub>2</sub>	Irrégulière	Vert- blanc autour	Verte- blanche autour	1	1 semaine
Az <sub>3</sub>	Circulaire	Blanche	Blanche	4	1 semaine
Az <sub>4</sub>	Circulaire	Blanche	Rose au centre- rose claire autour	2,7	1 semaine
Az <sub>5</sub>	Circulaire	Vert olive- blanc autour	Vert claire	1,5	1 semaine
Az <sub>6</sub>	Circulaire	Vert olive	Vert olive jusqu'à noir	4,7	1 semaine
Az <sub>7</sub>	Circulaire	Rose au centre- jaune puis blanc autour	Rose au centre- jaune autour	1	1 semaine
Az <sub>8</sub>	Circulaire	Vert olive- vert claire autour	Vert olive- gris foncé autour	5	1 semaine

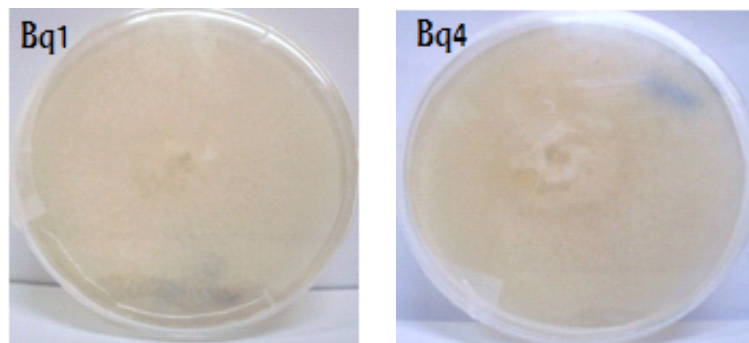


**Figure 17:** Croissance mycélienne de quelques souches pures de la variété Azouzia.

Les quatre isolats sont classés en deux groupes: le premier groupe comporte les isolats purs Bq1 et Bq2 et le deuxième groupe comporte les isolats Bq3 et Bq4 (Figure 18) (Tableau 10).

**Tableau 10: Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés de la variété bentqbala.**

Souche	Forme de la colonie	Couleur de la colonie		Diamètre de la colonie (cm)	Durée d'incubation
		Face supérieure	Face inférieure		
Bq <sub>1</sub>	Circulaire	Blanche	Blanche	4	5 jours
Bq <sub>2</sub>	Circulaire	Blanche	Blanche	4	5 jours
Bq <sub>3</sub>	Irrégulière	Blanche	Beige	1,5 à 2	5 jours
Bq <sub>4</sub>	Irrégulière	Blanche	Beige	1 à 2	5 jours

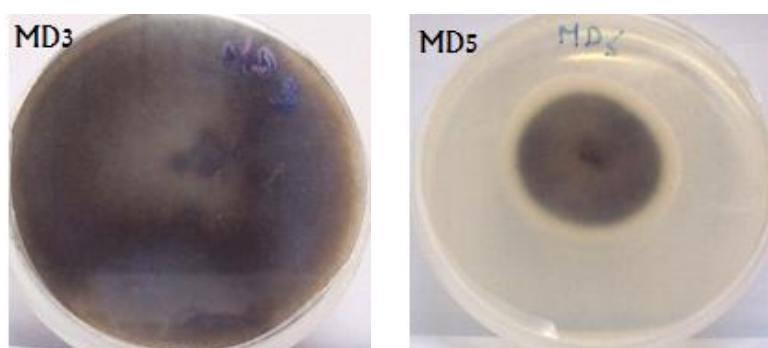


**Figure 18:** Croissance mycélienne de quelques souches pures de la variété Bentqbala.

Pour la variété Mech Degla, seule les souches MD<sub>3</sub> et MD<sub>4</sub> présentent une ressemblance morphologique, les autres isolats, MD<sub>1</sub>, MD<sub>2</sub> et MD<sub>5</sub> présentent des caractères morphologiques différents (Tableau 11) (Figure 19).

**Tableau 11: Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés de la variété Mech degla.**

Souche	Forme de la colonie	Couleur de la colonie		Diamètre de la colonie (cm)	Durée d'incubation
		Face supérieure	Face inférieure		
MD <sub>1</sub>	Circulaire	Blanche	Rose claire-blanc autour	4	5 jours
MD <sub>2</sub>	Circulaire	Marron- blanc autour	Blanc	2	11 jours
MD <sub>3</sub>	Circulaire	Vert olive	Gris foncé + taches vertes	3,5	5 jours
MD <sub>4</sub>	Circulaire	Vert olive	Gris foncé + taches vertes	3,7	5 jours
MD <sub>5</sub>	Circulaire	Vert olive-blanc autour	Blanc	3	11 jours



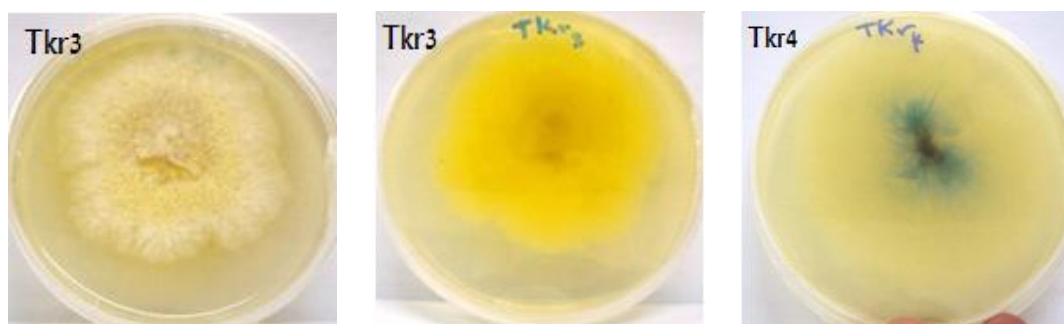
**Figure 19:** Croissance mycélienne de quelques souches pures de la variété Mech Degla.

La variété Takerboucht elle aussi présente deux groupes d'isolats ayant les mêmes caractères morphologiques; le premier comporte les isolats Tkr<sub>1</sub> et Tkr<sub>2</sub> et le deuxième

comporte les isolats Tkr<sub>3</sub> Tkr<sub>5</sub> et Tkr<sub>6</sub>. Les autres isolats, Tkr<sub>7</sub> et Tkr<sub>8</sub> présentent des caractères morphologiques différents (Figure 20) (Tableau 12).

**Tableau 12: Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés de la variété Takerboucht.**

Souche	Forme de la colonie	Couleur de la colonie		Diamètre de la colonie (cm)	Durée d'incubation (Jour)
		Face supérieure	Face inférieure		
Tkr <sub>1</sub>	Circulaire	Blanche	Blanche	3	5 jours
Tkr <sub>2</sub>	Circulaire	Blanche	Blanche	2,8	5 jours
Tkr <sub>3</sub>	Irrégulière	Blanche	Jaune fluorescent	3,8	11 jours
Tkr <sub>4</sub>	Circulaire	Blanche	Verte au centre- blanche autour	3,9	11 jours
Tkr <sub>5</sub>	Irrégulière	Blanche	Jaune fluorescent	3,4	11 jours
Tkr <sub>6</sub>	Irrégulière	Blanche	Jaune fluorescent	3,5	11 jours
Tkr <sub>7</sub>	Circulaire	Blanche- beige autour	Beige- blanche autour	1,9	5 jours
Tkr <sub>8</sub>	Circulaire	Blanche- beige autour	Beige- blanche autour	2,3	5 jours



**Figure 20:** Croissance mycélienne de quelques souches pures de la variété Takerboucht.

## **2. Antagonisme *in-vitro***

Après cinq jours d'incubation des cultures, les isolats endophytes ont montré différentes réactions vis-à-vis du F.o.a et cela est valable pour les deux méthodes de test d'antagonisme utilisées (Figure 22).

### **1- La technique du dépôt simultané (co-culture) souche endophyte / F.o.a**

Nous avons remarqué que les valeurs du taux d'inhibition sont variables. La valeur du taux d'inhibition la plus élevée est de 55,55% elle est induite par l'isolat A.H<sub>C</sub> de la variété Elhorra, suivie par l'isolat Az<sub>6</sub> de la variété Azouzia avec un taux de 40% comparativement aux taux les plus faibles enregistrés par les isolats endophytes Bq<sub>4</sub> et Az<sub>4</sub> avec respectivement 3,8% et 3,7% (Tableau 13) (Figure 21).

### **2- La technique du dépôt de la souche endophyte avec un délai de 48h avant la souche pathogène du F.o.a**

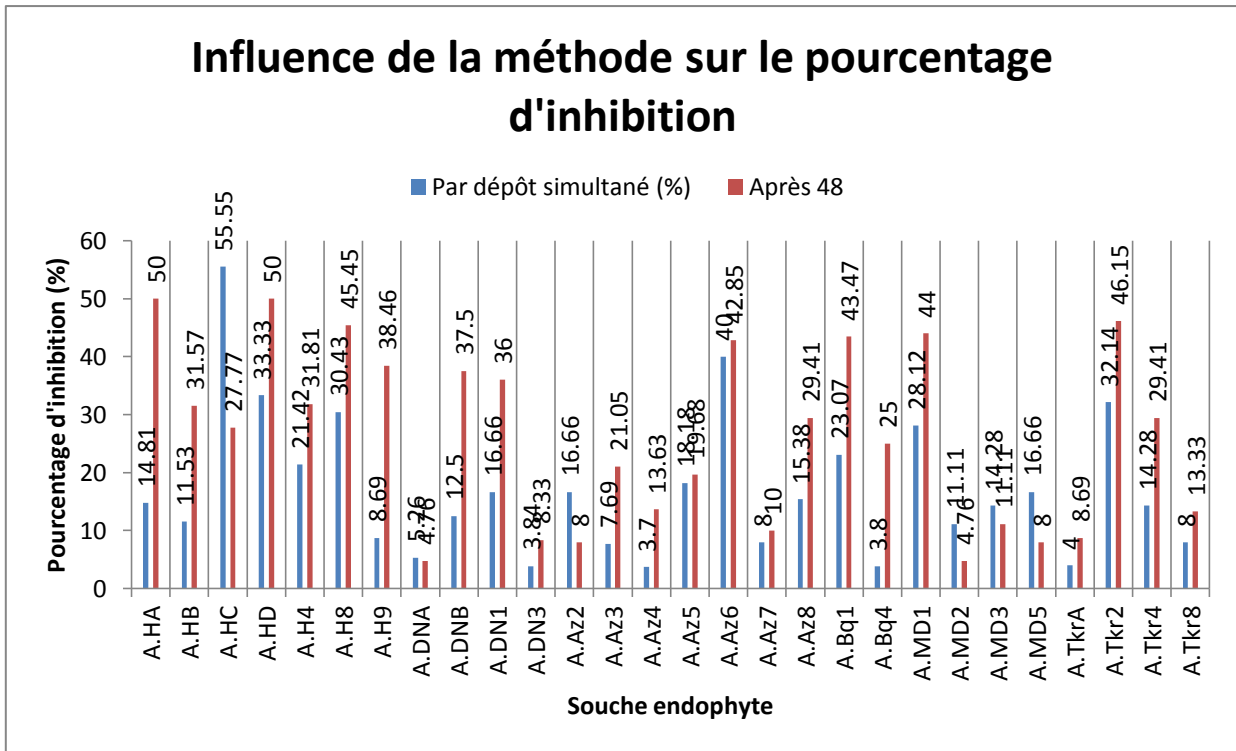
Les meilleurs résultats de l'interaction antagoniste (isolat endophyte/ F.o.a), sont représentés par les co-cultures F.o.a/H<sub>A</sub> et F.o.a/H<sub>D</sub> avec un taux de 50%. Quant à la première méthode, seulement F.o.a/H<sub>C</sub> a donné un taux d'inhibition P>50% avec 55,55%, suivie par les co-cultures F.o.a/H<sub>8</sub> avec un taux de 45,45%, F.o.a/MD<sub>1</sub> avec 44%, F.o.a/Bq<sub>1</sub> avec 43,47% et F.o.a/Az<sub>6</sub> avec 42,85%. Les résultats les plus faibles sont donnés par les co-cultures F.o.a/DN<sub>A</sub>, F.o.a/Az<sub>2</sub>, F.o.a/MD<sub>2</sub>, F.o.a/MD<sub>5</sub> et F.o.a/Tkr<sub>A</sub> avec respectivement des taux de 4,76 , 8 , 4,76 , 8 et 8.69% (Tableau 13) (Figure 21).

Concernant la deuxième méthode du dépôt tardif du F.o.a, 48h après l'endophyte, les résultats montrent que 62.96% des isolats endophytes testés ont présenté un taux d'inhibition important (Supérieure à 20%), cependant pour la première méthode du dépôt simultané de l'isolat endophyte et de l'agent pathogène F.o.a, 29.69% des isolats endophytes présentent un taux d'inhibition supérieure à 20%.

Il semble par conséquent que le dépôt de l'endophyte 48h avant le pathogène permet à la souche endophyte de libérer dans le milieu de culture, des molécules inhibitrice du pathogène. (Figure 21)


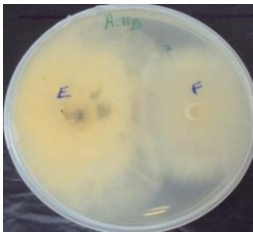

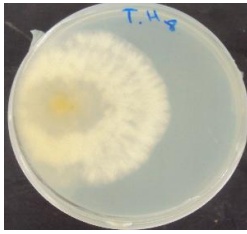


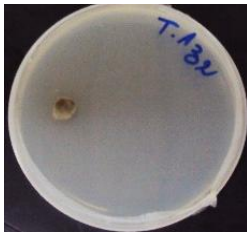
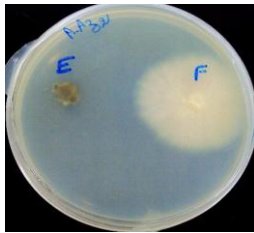
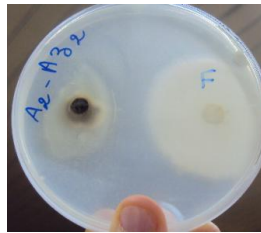
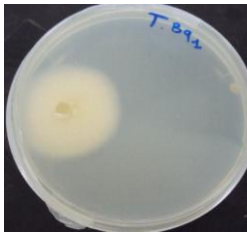


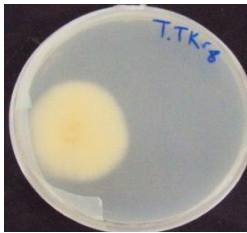
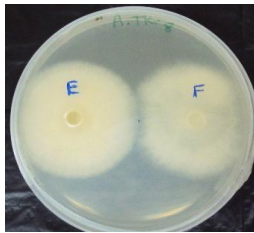
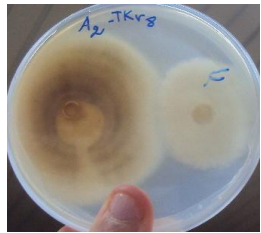
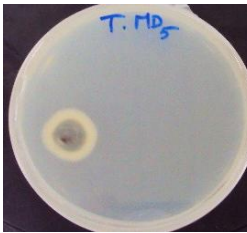
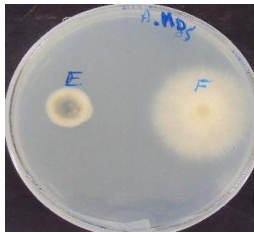
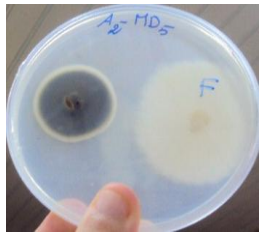
**Tableau 13: Taux d'inhibition des deux méthodes utilisées pour le test d'antagonisme.**

Souches	Code	Par dépôt simultané (%)	Dépôt du F.o.a 48h après l'endophyte
H <sub>2</sub>	F.o.a/H <sub>A</sub>	14, 81	50,00
H <sub>5</sub>	F.o.a/H <sub>B</sub>	11,53	31,57
H <sub>6</sub> , H <sub>7</sub> , H <sub>10</sub>	F.o.a/H <sub>C</sub>	55,55	27,77
H <sub>1</sub> , H <sub>3</sub> , H <sub>11</sub>	F.o.a/H <sub>D</sub>	33,33	50
H <sub>4</sub>	F.o.a/H <sub>4</sub>	21,42	31,81
H <sub>8</sub>	F.o.a/H <sub>8</sub>	30,43	45,45
H <sub>9</sub>	F.o.a/H <sub>9</sub>	8,69	38,46
DN <sub>4</sub> , DN <sub>2</sub>	F.o.a/DN <sub>A</sub>	5,26	4,76
DN <sub>0</sub> , DN <sub>5</sub>	F.o.a/DN <sub>B</sub>	12,5	37,5
DN <sub>1</sub>	F.o.a/DN <sub>1</sub>	16,66	36
DN <sub>3</sub>	F.o.a/DN <sub>3</sub>	3,84	8,33
Az <sub>2</sub>	F.o.a/Az <sub>2</sub>	16,66	8
Az <sub>3</sub>	F.o.a/Az <sub>3</sub>	7,69	21,05
Az <sub>4</sub>	F.o.a/Az <sub>4</sub>	3,7	13,63
Az <sub>5</sub>	F.o.a/Az <sub>5</sub>	18,18	19,68
Az <sub>6</sub>	F.o.a/Az <sub>6</sub>	40	42,85
Az <sub>7</sub>	F.o.a/Az <sub>7</sub>	8	10
Az <sub>8</sub>	F.o.a/Az <sub>8</sub>	15,38	29,41
Bq <sub>1</sub>	F.o.a/Bq <sub>1</sub>	23,07	43,47
Bq <sub>4</sub>	F.o.a/Bq <sub>4</sub>	3,8	25
MD <sub>1</sub>	F.o.a/MD <sub>1</sub>	28,12	44
MD <sub>2</sub>	F.o.a/MD <sub>2</sub>	11,11	4,76
MD <sub>3</sub>	F.o.a/MD <sub>3</sub>	14,28	11,11
MD <sub>5</sub>	F.o.a/MD <sub>5</sub>	16,66	8
Tkr <sub>3</sub> , Tkr <sub>6</sub> , Tkr <sub>5</sub>	F.o.a/Tkr <sub>A</sub>	4	8,69
Tkr <sub>1</sub> , Tkr <sub>2</sub>	F.o.a/Tkr <sub>2</sub>	32,14	46,15
Tkr <sub>4</sub>	F.o.a/Tkr <sub>4</sub>	14,28	29,41
Tkr <sub>8</sub>	F.o.a/Tkr <sub>8</sub>	8	13,33



**Figure 21:** Taux d'inhibition des souches isolées après les deux traitements vis-à-vis du F.o.a.

L'analyse statistique confirme que la méthode de détermination de l'antagonisme a une influence statistiquement significative sur le taux d'inhibition ( $p=0,03 < \alpha=0,05$ ) (Annexe 03).

	Témoins négatifs	Par dépôt simultané	Dépôts tardif du F.o.a, 48h après
F.o.a/H <sub>D</sub>			
F.o.a/H <sub>8</sub>			
F.o.a/Az <sub>2</sub>			
F.o.a/Bq <sub>1</sub>			
F.o.a/Tkr <sub>8</sub>			
F.o.a/MD <sub>5</sub>			

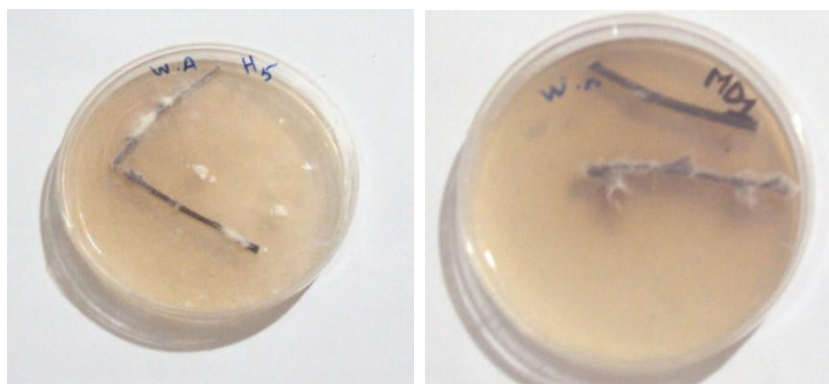
**Figure 22:** Interactions des isolats endophytes vis-à-vis du *F.o* f.sp *albedinis* analysés en milieu de culture gélosé.



### 3. Identification

Les souches ayant donné un taux d'inhibition supérieure à 20% ont été sélectionnées pour une éventuelle identification. Un total de 17 isolats endophytes ont été destinés à l'identification après une étape d'ensemencement sur milieu de culture PDA en présence de tissus végétaux (brindilles de peuplier) pour l'induction de la sporulation.

L'étape de la mise à sporulation de ces endophytes antagonistes en boîte de Pétri, en présence des brindilles de peuplier pendant trois semaines, sous stress thermique pendant 48h, et après exposition à la lumière, ne nous a pas permis d'identifier tous les isolats. Cela est dû à l'absence de sporulation de quelques isolats tels que Tkr<sub>4</sub>, Bq<sub>1</sub>, MD<sub>1</sub>, H<sub>5</sub> et DN<sub>1</sub> (Figure 23). En effet, l'observation microscopique de ces derniers isolats montre seulement des hyphes mycéliens enchevêtrés et présentant de nombreuses cloisons.



**Figure 23:** Croissance mycélienne des souches endophytes antagonistes et absence de sporulation.

### 4. Caractérisation macroscopique et microscopique des isolats identifiés

Quatre morphotypes présentant les caractéristiques macroscopiques (types cotonneux: mycélium aérien épais, dense et très serré) du genre *Fusarium* ont été observés sous le microscope (Tableau 10). Le premier correspond aux Groupe A.H<sub>C</sub>, le deuxième au groupe A.DN<sub>B</sub>, le troisième à la souche MD<sub>1</sub> et le quatrième à la souche H<sub>2</sub>. Ces derniers, confirment bien qu'il s'agit du genre *Fusarium* spp. Nous avons observés des microconidies, des

macroconidies présentant différentes formes et des chlamydozspores à parois épaisses qui représentent la forme de conservation du champignon (Figure 24).

Le deuxième genre identifié correspond aux souches H<sub>D</sub> et H<sub>8</sub>. Le genre identifié par voie microscopique et à l'aide de clés de détermination est *Diaporthe* sp. La caractérisation macroscopique des colonies fongiques en boîte de Pétri, montre un type duveteux: mycélium aérien peu épais relativement peu dense et présentant des taches éparées de couleur grise à noir, correspondant aux fructifications et sporulations du champignon.

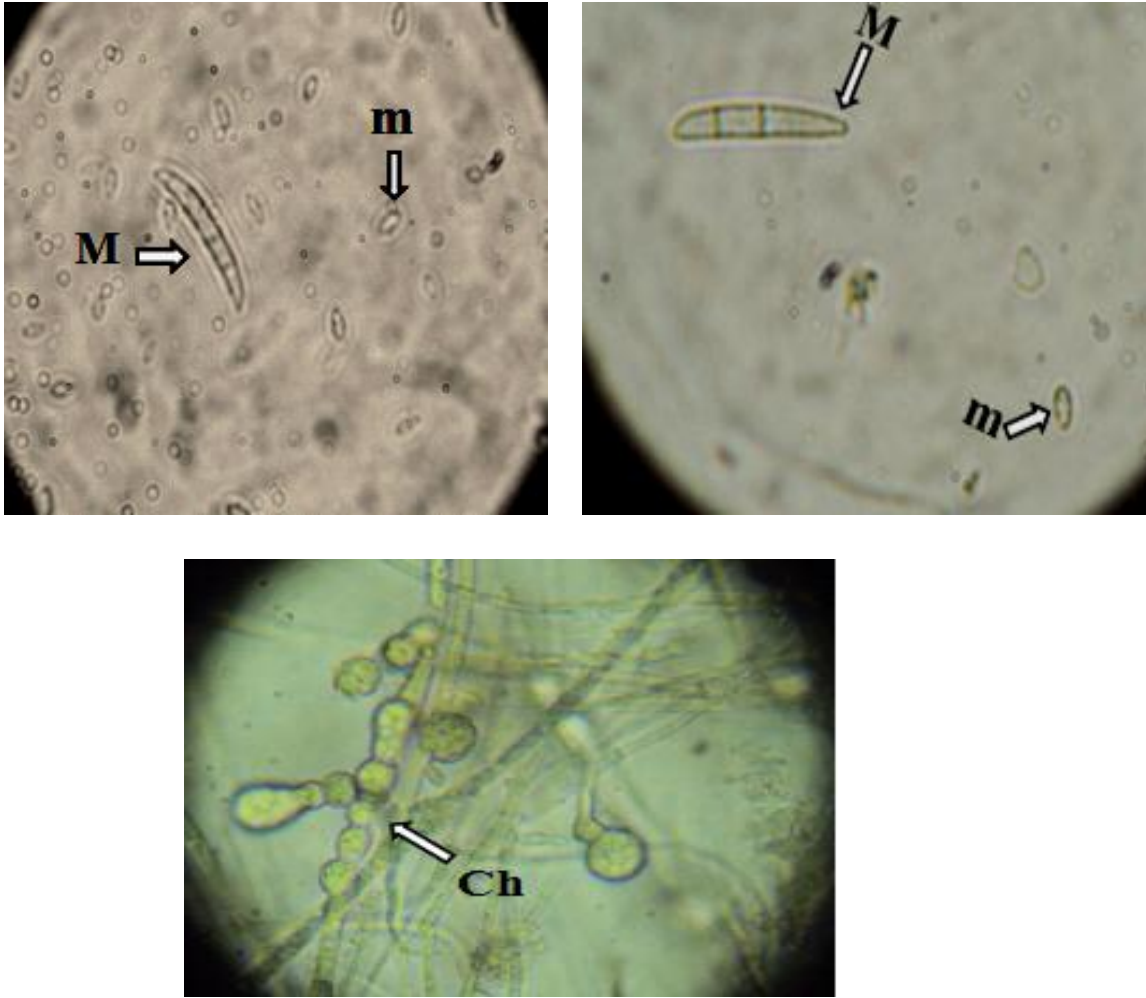
**Tableau 14: Isolats présentant les caractéristiques du genre *Fusarium* et *Diaporthe***

Les isolats endophytes	Le genre identifié	
H <sub>6</sub> , H <sub>7</sub> , H <sub>10</sub>	<i>Fusarium</i> sp	1
DN <sub>0</sub> , DN <sub>5</sub>	<i>Fusarium</i> sp	2
MD <sub>1</sub>	<i>Fusarium</i> sp	3
H <sub>2</sub>	<i>Fusarium</i> sp	4
H <sub>3</sub> , H <sub>11</sub> , H <sub>1</sub> , H <sub>8</sub>	<i>Diaporthe</i> sp	

La caractérisation microscopique des isolats apparentés au genre *Fusarium* sp a montré la présence d'un thalle cloisonné avec de courtes monophialides sur lesquels se trouvent des microconidies ainsi que la présence de macroconidies et de chlamydozspores. Ces caractéristiques indiquent la présence du genre *Fusarium* chez les variétés Elhorra, Deglet Nour et Mech Degla (Figure 24).

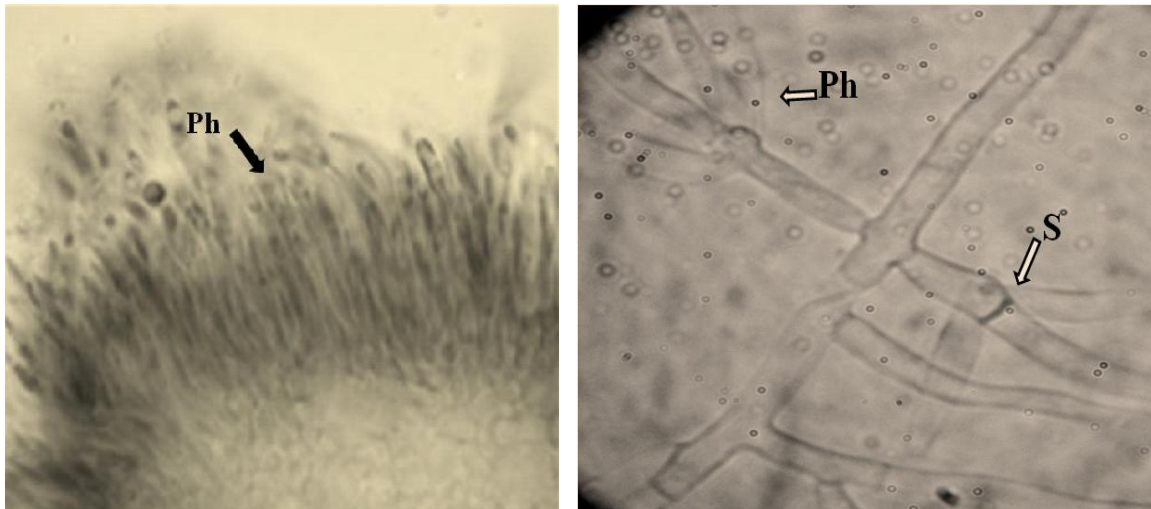
Le genre *Diaporthe* est observé chez la variété Elhorra, ce dernier est caractérisé par la présence d'un thalle cloisonné et de nombreuses phialides sur lesquels sont fixées des phialozspores en très grand nombre. (Figure 25).

Sur la totalité des isolats fongiques endophytes observés après le test d'antagonisme, nous remarquons que ceux n'ayant pas sporulé sont majoritaires, ils constituent 64,70% de l'ensemble des isolats étudiés et sont caractérisés par des thalles cloisonnés et l'absence de conidies (Figure 26).



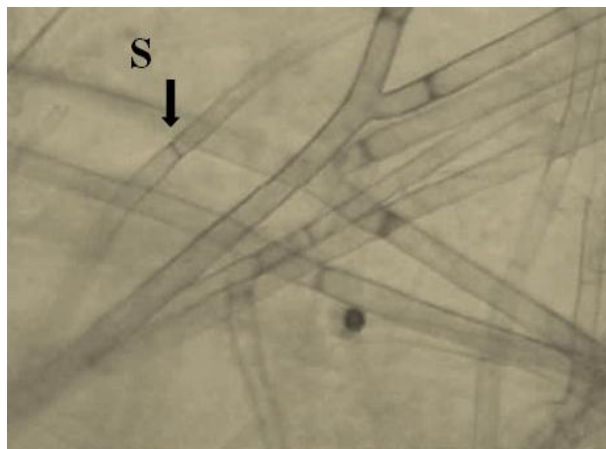
**Figure 24:** Observation microscopique des isolats de *Fusarium* sp au Gr 25 x 40.

**Ch:** chlamydospores, **M:** macroconidie, **m:** microconidies.



**Figure 25:** Observation microscopique de l'isolat du genre *Diaporthe* sp au Gr 25 x 10 et 25 x 40.

**Ph:** phialide, **S:** septation du thalle.



**Figure 26:** Observation microscopique du mycélium de l'isolat endophyte Bq<sub>1</sub> non sporulant.

**S:** septation du mycélium.



# *Discussion*

L'étude entreprise dans le présent travail a pour but d'analyser la flore fongique du palmier dattier. Il ressort de cette étude que les champignons endophytes hébergés par le palmier dattier sont d'une grande diversité. Un total de 27 isolats fongiques différents ont été isolés à partir des tissus racinaires. Des études menées dans le même sens ont montré que la diversité fongique varie selon les variétés de palmier dattier, leurs âge et leur conditions de culture sur le terrain (Ben chobra et *al.*, 2015).

Les isolats ont été regroupés sous plusieurs morphotypes dont certains sont très apparentés tel que le genre *Fusarium* qui a été retrouvé sous différentes formes. L'étude de l'activité antagoniste *in-vitro* des endophytes vis-à-vis du F.o.a a été réalisée par la méthode dite méthode de confrontation directe ou co-culture qui se fait entre le pathogène et son antagoniste dans une boîte de Pétri. Dans la première démarche expérimentale qui est représentée par une confrontation directe et simultanée *in-vitro* entre les endophytes et le pathogène, nous pouvons constater que la croissance des champignons est faiblement inhibe par la plupart des endophytes analysés. Cependant l'essai effectué avec un délai d'application de 48h du F.o.a a montré une forte activité antifongique des différents isolats endophytes vis-a-vis du F.o.a. Les résultats obtenus ont été confirmés par l'analyse statistique des résultats qui a indiquer que la variation du diamètre des zones d'inhibition et par conséquent du taux d'inhibition, dépend étroitement des isolats antagonistes qui ont fait l'objet du test.

L'antagonisme direct a été décrit contre les champignons par action de l'antibiose, l'hyperparasitisme ou alors une concurrence pour l'espace et les nutriments (Pal and Spadden, 2006). C'est ainsi que, l'antagonisme microbien est souvent associé à la production de métabolites ayant des propriétés antibiotiques, c'est également un mécanisme par lequel les endophytes protègent les plantes contre les microorganismes phytopathogènes (Pal and Spadden, 2006). En effet, il ressort de ce test d'antagonisme qu'il existe des endophytes fongiques plus efficaces lors de leur confrontation avec un délai de 48h, tandis que pour le dépôt simultané, ces mêmes endophytes se révèlent peu efficaces. Ces résultats signalent par conséquent l'existence de souches fongiques très actives envers le F.o.a, une telle activité diffère d'une souche à une autre. La bibliographie rapporte que ces endophytes agissent par la sécrétion de substances antifongiques qui diffusent dans le milieu de culture et inhibent fortement la croissance du F.o.a, interaction appelée antibiose qui caractérise des

microorganismes dits compétents occupant l'espace et les nutriments au détriment d'autres moins favorisés.

Les isolats endophytes ayant produit une zone d'inhibition faible ne sont probablement pas impliqués dans les processus de protection à l'égard des organismes phytopathogène mais seraient en interaction avec le végétal dans les processus de lutte contre les stress abiotiques. En effet, des auteurs ont montré que les champignons endophytes réduisent le besoin d'engrais et diminuent la pollution des sols et de l'eau tout en compensant les perturbations de l'environnement comme cela a été décrit chez l'endophyte *Piriformospora indica*, qui améliore la tolérance au stress abiotique de la plante hôte et permet de compenser la perte de la photosynthèse et prévenir les dommages oxydatifs causés par le stress (Khan et *al.*, 2013).

Il serait par conséquent, intéressant d'étudier leurs activités biologiques notamment celles liées à la tolérance au stress hydrique et à la salinité. Des travaux menés au laboratoire sur des champignons endophytes du palmier d'Adrar ont pu identifier des champignons halotolérants et présentant une capacité de la promotion de la croissance végétale (Mohamed-Mahmoud et *al.*, 2014).

Les isolats endophytes ayant un taux d'inhibition inférieure à 20% nous éloignent de l'hypothèse que certaines variétés dérivent leur résistance des champignons endophytes colonisant leurs tissus, comme c'est le cas pour la variété Takerboucht, qui est connue pour sa forte résistance au bayoud (Hannachi et *al.*, 1998).

Jusqu'à présent, les critères de sélection des souches en vue d'une lutte biologique contre la fusariose vasculaire n'ont pas été définis avec rigueur. Plusieurs souches de *Fusarium* sont décrites comme non pathogènes, il est possible que les isolats endophytes identifiés soit non pathogènes. L'étude de leur pouvoir pathogène par inoculation sur le palmier dattier est à préconiser.

Les mécanismes de résistance des souches *F. oxysporum* et *F. solani* non pathogènes laissent raisonnablement espérer la mise au point rapide d'un procédé de lutte biologique contre la fusariose vasculaire (Alavouvet et *al.*, 1980).

La résistance d'un sol à la fusariose est liée à la compétition entre les *Fusarium* saprophytes dont *F. solani* et *F. oxysporum* et les souches parasites de *F. oxysporum*, sachant que les souches de *F. solani* sont plus compétitives et plus adaptées au sol que les souches de *Fusarium oxysporum* (Alavouvet et al., 1980). La souche peu virulente de *F.o. f.sp melonis* est elle aussi capable d'empêcher partiellement une autre souche plus virulente capable d'infecter la plante (Amir et Mahdi, 1992).

Le genre *Diaporthe* est un genre de champignons *Ascomycetes* de la famille des *Diaporthaceae*. La forme anamorphe (asexuée) est appelée *Phomopsis*, ce genre comprend des espèces pathogènes, saprophytes et endophytes avec deux distributions tempérées et tropicales. La plasticité phénotypique et les différentes associations organisatrices ont longtemps compliqué l'identifications précise des espèces de ce genre (Udayanga et al., 2014).

Un *Phomopsis* sp inhabituel isolé comme endophyte des *Odontoglossum* sp. (*Orchidaceae*), produit un mélange unique de composés organiques volatils possédant des propriétés antifongiques. Cet organisme a une grande bioactivité contre un large spectre de champignons phytopathogènes dont *Phytophthora*, *Sclerotinia* et le *Fusarium*. Nos résultats sont en adéquation avec ceux des recherches précédentes du fait que l'isolat endophytes H<sub>D</sub> a montré un taux d'inhibition égal à 50% (Dhanya and Padmavathy, 2014).

L'absence de sporulation des isolats non identifiés tels que Bq<sub>1</sub>, Bq<sub>2</sub>, et Az<sub>8</sub> sous une courte phase de stress thermique et après trois semaines d'exposition à la lumière, nous oriente vers l'hypothèse que ces isolats seraient des champignons à mycélium stérile ou des DSE (Dark Septate Endophytes). Les champignons à mycélium stérile ou DSE sont un groupe de champignons qui ne produisent pas de spores connues, soit sexuée ou asexuée, colonisant les racines des plantes (Jumpponen et Trappe, 1998). Dans le cas de nos conditions de travail la sporulation de ses isolats endophytes s'est avérée impossible, mais il serait intéressant de faire des essais afin de stimuler l'induction de la sporulation de ces derniers en influençant sur les conditions abiotiques de leur croissance comme par exemple les soumettre sous rayons UV.

Les DSE sont représentatifs de la classe 4 des endophytes, caractérisés par des hyphes mélanisés et des microsclérotos formés au niveau des cellules corticales, ils appartiennent à quelques ordres du phylum des *Ascomycota* (Zhang et al., 2013) et sont présents dans tous les



grands types de biomes et régions climatiques. Ils sont relativement fréquents dans les régions semi-arides et les environnements difficiles (Knapp *et al.*, 2013).

Nos résultats confirment ceux des recherches précédemment cités, du fait que les isolements des endophytes ont été réalisés sur une espèce végétale désertique (palmier dattier) et sous des conditions climatique arides (Biskra et Ghardaïa).

La conidiogénèse des DSE est généralement rare et certaines souches sporulent seulement après incubation prolongée à basse température. Habituellement, la conidiogénèse ne peut être induite chez quelques isolats mais quand elle se réalise, elle ne produit que des conidies rares; la plupart restent stériles et non identifiables. L'identité et le nombre des espèces de champignons inscrits dans le groupe des DSE sont incertains (Zhang *et al.*, 2013).

Il est difficile d'identifier les endophytes DES des racines, plusieurs chercheurs ont fait référence à des isolats du champignon *Rhizoctonia* stérile des orchidées du genre *Rhacodium* spp (Jumpponen et Trapp, 1998).

Par conséquent, il est impossible d'utiliser les méthodes traditionnelles de comparaison morphologique pour classer ce groupe de champignons. Cependant, les techniques moléculaires peuvent être appliquées afin de déterminer leur phylogénie (Jumpponen et Trappe 1998). Leur taxonomie est basée sur l'analyse de séquences de la petite sous-unité du gène de l'ARN ribosomique nucléaire (18S). Les DSE font partie de la classe des Ascomycètes et comprennent les taxons dans de nombreux ordres comme les Pleoporales, Pezizales, Dothideales, Saccharomycetales, Neolectales, etc... (Lukacs et Kovacs, 2013).

Avec le développement récent des outils moléculaires et la disponibilité des séquences nucléotidiques fongiques dans les bases de données internationales, l'identification de ce groupe de champignons serait possible.

Des études ont montré que plusieurs DSE sont des organismes endophytes de nombreuses espèces cultivées et spontanées et qu'ils jouent des rôles importants, notamment dans la protection de la plante qui les héberge contre tous types de stress biotiques et abiotiques.

Par ailleurs, ces DSE sont considérés comme des endosymbionts et sont classés parmi les groupes des endomycorrhizes. Ils interviennent essentiellement dans la fourniture de

l'alimentation minérale à la plante, essentiellement pour le phosphore et l'azote sous toutes ces formes (Garcia et *al.*, 2012). Cette interaction symbiotique avec la plante est due en grande partie à leurs capacités enzymatiques, du fait qu'ils permettent de libérer le phosphore dans le sol et de le mettre au profit de la plante grâce à des enzymes appelées phosphatases (Lemoine et *al.*, 1992).



***Conclusion***

## **Conclusion**

Le palmier dattier (*P. dactylifera* L.) présente une diversité de champignons endophytes. Les tests d'antagonismes réalisés montrent les réactions des différents isolats en présence du *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*.

Parmi les 6 variétés étudiées, seul les endophyte de la variété Elhorra se sont révélé très prometteurs. Dans ce cas il est possible que la résistance de cette variété est acquise par ces endophytes racinaire mais cela reste à prouver, l'inoculation directe de ses champignons endophyte sur les tissus du palmier dattier sensible et en présence du F.o.a est à préconiser.

Les isolats endophytes non antagoniste vis-à-vis du F.o.a, pourraient avoir un rôle dans la résistance au stress abiotique ou la stimulation de croissance du palmier dattier, et les isolats non sporulant DES sont à identifiée afin d'inventorier les champignons endophytes des différentes variétés étudiée.

.



*Références  
bibliographiques*

- **Abohatem, M., Chakrafi, F., Jaiti, F., Dihazi, A and Baaziz, M.,** 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi limit incidence of *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* on date palm seedlings by increasing nutrient content, total phenols and peroxydase activities. The Open Horticulture Journal, **4**: pp 10-16.
- **Achour, M.,** 2005. Note relative aux ressources en eau souterraines de la wilaya de Ghardaïa. Rapport interne ANRH, Ghardaïa 19 p.
- **Alavouvet, c., Rouxel, F., Louvet, J.,** 1980. Recherche sur la résistance du sol aux maladies. VI mise en évidence de la spécificité de la résistance d'un sol vis-à-vis des fusarioses vasculaires. Annal phytopathologique, **12**: pp 11-19.
- **Alexopoulos, C.J., Mims, C.W and Blackwell, M.,** 1996 . Introductory mycology. Wiley, New York, New York, USA.
- Amir, H et Mahdi, N., 1992. Liaison entre les aptitudes ecologiques de differentes souches de fusarium et leur efficacite dans la protection de plan de lin contre la fusariose vasculaire. Canadian Journal of microbiology, 39: pp 234-244.
- **Anonyme., APG III,** 2009. An update of Angiosperm Phylogeny Group classification of orders and families of flowering plants. Bot.J. Linn. Soc, **161**: pp 105-121.
- **Anonyme a., APG II,** 2003. An update of Angiosperm Phylogeny Group classification of orders and families of flowering plants. Bot.J. Linn. Soc; **141**: pp 399-436.
- **Anonyme, FAO.STAT.,** 2007. Bilan alimentaire. <http://opps.FAO.org>.
- Anonyme., 2014. Division Phœniciculture, Biotechnologie et valorisation des produits et sous-produits du palmier dattier in: Centre de Recherche Scientifiques et Technique des Régions Arides CRSTRA. <http://www.crstra.dz/division4.php> Consulté le 15-01-2015.
- **Anonyme b, OEPP/EPPO.,** 2003. *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis*. Bulletin, **33**: pp 265-269.
- **Arnold, A.E., Mejia, L.C., Kylo, D., Rojas, E.I., Maynard, Z., Robbins, N and Herre, E.A.,** 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **100**: pp 15649-15654.
- **Asensio, L., López-Jiménez, J.A and López-Lorca, L.V.,** 2007.Mycobiota of the date palm phylloplane: description and interactions. Rev Iberoam Micol, **24**: pp 299-304.
- Barnett, H.L and Hunter, B.B., 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi, Fourth edition, ISBN 978-0-89054-192-0, 218 p.

- **Bartschi, H., Pearson, G., Vechi, V.,** 1981. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and root rot disease (*Phytophthora cinnamomi* Rands) development in *Chaniuecyparis lawsoniana* (Murr.) Paris. *Phytopathol Z*, **102**: pp 213-218.
- **Buelguedj, M.,** 2002. Les ressources génétiques du palmier dattier : caractéristiques des cultivars de dattier dans les palmeraies du Sud-Est Algérien. *Revue annuelle de l'INRAA N°1*: pp 28-289.
- **Buelguedj, M.,** 2007. Evaluation du sous-secteur des dattes en Algérie. INRAA El-Harrach.
- **Belguedj M.,** 2010. Préservation des espèces oasiennes et stratégie à mettre en œuvre. Cas du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) Institut Technique de Développement Agricole Saharienne, ITDAS/OADA 2010.
- **Ben Chobra, I., Elleuchi, A., Ayadi, I., Khannous, L., Namsi, A., Cerqueira, F., Drira, N., Gharssalah, Neji., Vallaey, T.,** 2013. Fungal diversity in adult date palm (*Phoenix dactylifera* L.) revealed by culture-dependent and culture-independent approaches. *J Zhejiang Univ-Sci B. Biomed & Biotechnol*, **14(12)**: pp1084-1099.
- **Benzohra, I.E., Megateli, M., Berdja, R.,** 2015. Bayoud disease of date palm in Algeria: History, epidemiology and integrated disease management. *African journal of biotechnology*. **14 (7)**: pp 542-550.
- **Bérubé, J.,** 2007. Les champignons endophytes: un potentiel insoupçonné. *L'éclaircie, catalogue du service canadien des forêts*, **34**: pp 1-2.
- **Bouguedoura, N., Benkhalifa, A., Bennaceur, M.,** 2010. Le palmier dattier en Algérie, situation, contraintes et apports de la recherche. In: Frédérique A-B, *Biotechnologie du palmier dattier* Ed.IRD Paris: p 261.
- **Bouguedoura, N., Si Dehbi, F., Moussouni, S., Chabane, D.,** 2012 Les biotechnologies qu service du developpement de la phoeniciculture. *Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides- FSB - USTHB Alger*.
- **Brady, S.F., Bondi, S.M and Clardy, J.,** 2001. The guanacastepenes: a highly diverse family of secondary metabolites produced by an endophytic fungus. *Journal of the American Chemical Society*, **123**: pp 9900-9901.

- **Brundrett, MC.**, 2006. Understanding the roles of multifunctional mycorrhizal and endophytic fungi. In: Schulz BJE, Boyle CJC, Sieber TN, eds. Microbial root endophytes. Berlin: Springer-Verlag, pp 281-293.
- **Cao, R., Liu, X., Gao, K., Mendgen, K., Kang, Z., Gao, J., Dai, Y and Wang, X.**, 2009. Mycoparasitism of endophytic fungi isolated from reed on soilborne phytopathogenic fungi and production of cell wall-degrading enzymes in vitro. *Current Microbiology*, **59**: pp 584-592.
- **Chakroune, K., Bouakka, M., Lahlali, R., Hakkou, A.**, 2008. Suppressive Effect of Mature Compost of Date Palm By-products on *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. *Plant Pathology Journal*, **7**: pp 148-154.
- **Clay, K., and Schardl, C.**, 2002. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *American Naturalist*, **160 (4)**: pp 99-127.
- **Coumans, M., Abouraicha, E.F., Bounnit, T., Martinez, C., Jay-Allemand, C., El Hadrami, I.**, 2010. Développement de nouvelles stratégies de lutte contre le bayoud La potentialisation des reactions de defense du palmier dattier au moyen de Stifenia. In: Frédérique A-B, Biotechnologie du palmier dattier. Paris Ed.IRD: 261 p.
- **Daddi-Bouhoun, M., Brinis, L., Saker, M.L., et Ould el Hadj, M.D.**, 2008. Effet du stress mécanique de la croute gypseuse sur l'enracinement du palmier dattier "DEGLET NOUR" dans la cuvette de Ouargla (Sahara septentrional est algérien). Recueil des résumés: Colloque International sur l'aridoculture, CRSTRA-Biskra-Algérie, 106 p.
- **Dakhia, N., Bensalah, M.K., Romani, M., Djoudi, A.M, et Belhamra, M.**, 2013. État phytosanitaire et diversité variétale du palmier dattier au bas sahara- Algérie. *Journal Algérien des Régions Arides*, N° Spécial: pp 5-7.
- **Dhanya, N., and Padmavathy, S.**, 2014. Impact of Endophytic Microorganisms on Plants, Environment and Humans. *The Scientific World Journal*, **2014**: 9-13 pp.
- **Dihazi, A., Jaiti, F., Taktak, W., kilani-Feki, O., Jaoua, S., Driouich, A., Baaziz, M., Daayf, F., Serghini, M.A.**, 2012. Use of two bacteria for biological control of bayoud disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* in date palm (*Phoenix dactylifera* L) seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* **55**: pp 7-15.
- **Djerbi, M.**, 1982. Bayoud disease in North Africa: history distribution, diagnosis and control. *Date Palm Journal*, **1**: pp 153-197.



- **Djerbi, M.**, 1983. Diseases of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.). FAO. Regional Project for Palm and Dates Research Centre in the Near East and North Africa. 106 p.
- **Djerbi, M.**, 1988. Les maladies du palmier-dallier. Pub/O.N.U pour l'Alimentation et l'Agriculture, Rome, Italie, 127 p.
- **Djerbi, M.**, 1988. Les maladies des palmiers dattiers: Le Bayoud. Rapport de Projet Régional de lutte contre le Bayoud. RAB/84/018: pp 15-36.
- **Döring, M.**, 2013. Overview about the research of endophytes as biocontrol agents against phytopathogens. In Schneider C; Leifert C; Feldmann F (Eds), Endophytes for plant protection: The state of the art, 333 p.
- **El-Deeb, M.H., & Youssef A.A** 2013: *Acremonium* as an endophytic bioagent against date palm *Fusarium* wilt, Archives Of Phytopathology And Plant Protection, **46 (10)**: pp 1214-1221.
- **El Hadrami, A., El Idrissi-tourane, A., El Hassni, M., Daayf, F., El Hadrami, I.**, 2005. Toxine-based *in-vitro* selection and its potential application to date palm for resistance to the bayoud *Fusarium* wilt. A review.C.R.Biol, **328**: pp 732-744.
- **Elhadrami, I., et Elhadrami, A.**, 2009. Breeding date palm. Univ. Marrakech. pp 191-195.
- **El Hassni, M., J'aity, F., Dihazi, A., Ait Barka, E., Daayf, F., and El, Hadrami I.**, 2004. Enhancement of defense responses against Bayoud disease by treatment of date palm seedling with an hypoaggressive *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* isolate. Journal of Phytopathology, **152 (3)**: pp 182-189.
- **Espiard, E.**, 2002. Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc- Lavoisier, 360 p.
- **Farhi, A.**, 2001. Macrocéphalie et pôles d'équilibre: la wilaya de Biskra. L'Espace géographique, N°3, pp 245-255.
- **Ferry, M., Bouguedoura, N., El Hadrami, I.**, 1998. Patrimoine génétique et techniques de propagation *in vitro* pour le développement de la culture du palmier dattier. Science et changements planétaires Secheresse, **9 (2)**: 139-143 pp.
- **Franken, P., Andrade, D.**, 2014. Isolation and characterization of fungal root endophytes Training School, Endophytes in Biotechnology and Agriculture, pp 2-3.

- **Fredericks, M., Denbrader, K.,** 1998. Efficacité du bromure de méthyle et d'un mélange de bromure de méthyle et de chloropicrine sur le *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* dans le sol. Compte rendu des journées nationales sur la fusariose du palmier dattier. URZA-INRA, Alger. Ed. Laphonic, 132 p.
- **Gaceb-Terrak, R., Touam, D., Rahmania, F.,** 2006. Action des acides phénols du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) sur la croissance du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Revue des Régions Arides, Numéro spécial, pp 1218-1230.
- Garcia, I., Mendoza, R., Pomar, M.C., 2012. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and dark septate endophytes under contrasting grazing modes in the Magellanic steppe of Tierra del Fuego. Journal of Agriculture, ecosystems & environment, ISSN 0167-8809, vol, 155: pp 194-201.
- **Greiner, D.,** 1998. Le marché de la datte, produit de rente des oasis: enjeux, diversité, tension. Science et changements planétaires Sécheresse, **9 (2):** pp 155-161.
- **Hadrami, I.,** 2010. Développement de nouvelles stratégies de lutte contre le bayoud La potentialisation des réactions de défense du palmier dattier au moyen de Stifenia. In: Frédérique A-B, Biotechnologie du palmier dattier. Paris Ed.IRD: 261 p.
- **Hakkou, A., Bouakka, M.,** 2004. Oasis de Figuig: l'état actuel de la palmeraie et incidence de la fusariose vasculaire (Bayoud). Sécheresse, **15 (2):** pp 58-147.
- **Hannachi, S., Khitri, D., Benkhalifa, A et Brace de Prière, A. L.,** 1998. Inventaire variétale de la palmeraie algérienne. Ed. Anep. Rouiba Algérie, 225 p.
- **Hatem, M., El-Deeb, A., Youssef, A and Arab, B.,** 2013. *Acremonium* as an endophytic bioagent against date palm *Fusarium* wilt. Archives Of Phytopathology And Plant Protection **46 (10):** pp 1214-1221.
- **Hirt, H.,** 2012. Des microbes bénéfiques peuvent aider des plantes à acquérir une tolérance aux stress environnementaux. Potentiels de la science pour l'avenir de l'agriculture, de l'alimentation et de l'environnement, France, pp 2-5.
- **Huang, W. Y., Cai, Y.Z., Hyde, K.D., Corke, H and Sun, M.,** 2008. Biodiversity of endophytic fungi with 29 traditional Chinese medicinal plants. Fungal Diversity, **33:** pp 61-75.
- **Hyde, K.D., and Soytong, K.,** 2008. The fungal endophyte dilemma. Fungal Diversity, **33:** pp 163-173.

- **Jumpponen, A., and Trappe, J.M.**, 1998. Dark Septate Endophytes: A Review of Facultative Biotrophic Root-Colonizing Fungi. *New Phytologist*, **140 (2)**: pp 295-310.
- **Kettout, A., Azouaoui, T., Rahmania, F.**, 2006. Effet des extraits de feuilles de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) sur la production de phytotoxines et sur la croissance de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent causal du bayoud. Revue des Régions Arides, Numéro spécial: pp 1136-1137.
- **Khan, AL., Hussain, J., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., Lee, IJ.**, 2013 Endophytic fungi: resource for gibberellins and crop abiotic stress resistance. *Crit Rev Biotechnol*, **35 (1)**: pp 62-74.
- **Khan, S., Hamayun, M., Kim, H., Yoon, H., Lee, I., Kim, J.**, 2009. Gibberellin production and plant growth promotion by a newly isolated strain of *gliomastix murorum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **25(5)**: 829-833 pp.
- **Khelafi, H., Abed, F., Amara, B., Kermiche, A., Djellal, L.**, 2005. Evaluation de la résistance de quelques mutants de la variété Deglet Nour de palmier dattier vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Séminaire internationale sur l'amélioration des productions végétales (APV) -LRGB-INA-ALGER: 298 p.
- **Kim, H.Y., Choi, G.J., Lee, H.B., Lee, S.W., Kim, H.K., Jang, K.S., Son, S.W., Lee, S.O., Cho, K. Y., Sung, N.D and Kim, J.C.**, 2007. Some fungal endophytes from vegetable crops and their anti-oomycete activities against tomato late blight. *Letters in Applied Microbiology*, **44**: pp -336-339.
- **Knapp, D.G., Zajta, E., Pintye, A., Kovacs, G.M.**, 2013. The dominant DSE lineages of semiarid sandy of the Great Hungarien Plain- what can they point out? In: Schneider C., Leifert C., Feldmann F., (Eds), *Endophytes for plant protection: the state of the art*, 333 p.
- **Koulla, L., Saaidi, M.**, 1985. Etude du rôle des inflorescences et de fruits du palmier dattier dans la dissémination du Bayoud. Séminaire National sur l'Agronomie Saharienne, INRA, Marrakech, Morocco, pp 67-70.
- **Lehtonen, P.T., Helander, M., Siddiqui, S.A., Lehto, K and Saikkonen, K.**, 2006. Endophytic fungus decreases plant virus infections in meadow ryegrass (*Lolium pratense*). *Biology Letters*, **2**: pp 620-623.

- **Lemoine, M.C., Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S., Straker, C.J.,** 1992. Occurrence and expression of acid phosphatase of *Hymenoscyphus ericae* (Read) Korf & Kernan, in isolation or associated with plant roots. *Mycorrhiza*, **1**: pp 137-146.
- **Li, H.Y., Quing, C., Zhang, Y.L and Zhao, Z.W.,** 2005. Screening for endophytic fungi with antitumour and antifungal activities from chinese medicinal plants. *World J. Microb. Biotechnol*, **21**: pp 1515-1519.
- **Li, J.Y., Strobel, G.A., Harper, J.K., Lobkovsky, E and Cllardy, J.,** 2000. Cryptocin, a potent tetramic acid antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis cf. quercina*. *Organic letters*, **2**: pp 767-770.
- **Li, W.C., Zhou, J., Guo, S.Y and Guo, L.D.,** 2007. Endophytic fungi associated with lichens in Baihua mountain of Beijing, China. *Fungal Diversity*, **25**: 69-80 pp.
- **Lu, H., Zou, W.X., Meng, J.C., Hu, J and Tan, R.X.,** 2000. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophitic fungus in *Artemisia annua*. *Plant Science*, **151(1)**: pp 67-73.
- **Lukacs, A.F., Kovacs, G.M.,** 2013. Application of Dark Septate Endophyte (DSE) fungi in cultivation of vegetables. In: Schneider, C., Leifert, C., Feldmann, F., (Eds) *Endophytes for plant protection: the state of the art*, 333 p.
- **Maciá-Vicente, J.G., Jansson, H.B., Abdullah, S.K., Descals, E., Salinas, J., Lopez-Llorca, L.V** 2008. Fungal root endophytes from natural vegetation in Mediterranean environments with special reference to *Fusarium* spp. *FEMS Microbiology Ecology*, **64**: pp 90- 105.
- **Maddau, L., Franceschini, A., Marras, F.,** 2004. Endophytic fungi of forest trees as a source of bioactive metabolites. In: Ragazzi, A., Moricca, S., Dellavalle, I., Raddi, P., Turco, E. *Endophytisme in forest trees*, 239 p.
- **Martins, F., Pereira, J.A., Bento, A., Baptista, P.,** 2013. Potentialities of endophytic fungi of olive tree as biological control agents against *Colletotrichum acutatum* and *Verticillium dahlia*. In Schneider C; Leifert C; Feldmann F (Eds), *Endophytes for plant protection: The state of the art*, 333 p.
- **Matheron, B., Benbadis, A.,** 2013. Etude comparée de l'infection par le *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, de trois variétés de palmier-dattier, l'une sensible (Deglet-Nour),

les deux autres résistantes (Takerboucht et Tantabouchet). Acta Botanica Gallica: Botany Letters, **141: (6-7):** pp 719-730.

- **Mehaoua, M.S et Biche, M.,** 2008. Etude du niveau d'infestation par la cochenille blanche *parlatoria blanchardi* TARG., (Homoptera, Diaspididae) sur trois variétés de palmier dattier dans la région de Biskra. Recueil des résumés: Colloque International sur l'aridoculture, CRSTRA-Biskra-Algérie, 132 p.
- **Mengistu, A., Castlebury, L.A., Rossman, AY., Smith, J.R. & Reddy, K.N.,** 2007. Isolates of *Diaporthe-Phomopsis* from weeds and their effect on soybean. Canadian Journal of Plant Pathology, **329 (3):** pp 283-289.
- **Miles, C.O., di Menna, M.E., Jacobs, S.W., Garthwaite, I., Lane, G.A., Prestidge, R.A., Marshall, S.L., Wilkinson, H.H., Schardl, C.L., Ball, O.J and Latch, G.C.,** 1998. Endophytic fungi in indigenous Australasian grasses associated with toxicity to livestock. Applied and Environmental Microbiology, **64:** pp 601-606.
- **Mohamed-Mahmoud, F et al.,** 2014. Selection of endophytic fungi isolated from date palm halotolerant and producers of secondary metabolites Dubai.
- **Moricca, S., and Ragazzi, A.,** 2008. Fungal endophytes in Mediterranean oak forests: a lesson from *Discula quercina*. *Phytopathology*, **98:** pp 380-386.
- **Morrice, S.,** 2004. Genomic and genetic perspectives on fungal endophytes. In: Ragazzi, A., Moricca, S., Dellavalle, I., Raddi, P., Turco, E. Endophytisme in forest trees, 236 p.
- **Müller, C.B.,** 2004. Les endophytes influencent les réseaux alimentaires des insectes. journal hotspot: diversité des champignons, **10:** pp 1-5.
- **Obledo, E.N., Barragan-Barragan, L.B., Gutierrez-Gonzalez, P., Ramirez-Hernandez, B.C., Ramirez, J.J and Rodriguez-Garay, B.,** 2003. Increased photosynthetic efficiency generated by fungal symbiosis in *Agave victoria-reginae*. Plant Cell Tissue and Organ Culture, **74:** pp 237-241.
- **Oses, R., Valenzuela, S., Freer, J., Sanfuentes, E., and Rodriguez, J.,** 2008. Fungal endophytes in xylem of healthy Chilean trees and their possible role in early wood decay. Fungal Diversity; **33:** pp 77-86.
- **Ouamane, A.T., Lahmadi, S., Lakhdari, F.,** 2008. Comportement des vitro-plants de palmier dattier, variété Medjhouh, dans la région du Souf. Recueil des résumés: Colloque International sur l'aridoculture, CRSTRA-Biskra-Algérie, 132 p.

- **Ozenda, P.**, 1977. Flore du Sahara. Edition du CNRS, Paris. 622 p.
- **Petrini, O., Stone, J., Carrol, F.E.**, 1992. Endophytic Fungi in evergreenshrubs in western Oregon: a preliminary study. *Can. J. Bot*, **60**: pp 789-796.
- **Pimentel, M. R., Molina, G., Dionisio, A.P., Marostica Junior, M.R., and Pastore, G.M.**, 2011. The use of endophytes to obtain bioactive compounds and their application in biotransformation process. *Biotechnol Res Int*, **2011**: pp 10-13.
- **Ragazzi, A.**, 2004. Endophytism: Knows and unknowns of an age-old phenomenon. In: Ragazzi, A., Moricca, S., Dellavalle, I., Raddi, P., Turco, E. Endophytisme in forest trees: 236 p.
- **Ramade, F.**, 2003. *Eléments d'écologie – Ecologie fondamentale*, N° 03, Ed. DUNOD, Paris, 690 p.
- **Rhouma, A.**, 1996. Le palmier dattier en Tunisie: un secteur en plein expansion. Option Méditerranéens, Série A, Séminaires Méditerranéens, **28**: 85-104 pp.
- **Riba, L., Amir, H., Amir, A.**, 1998. The role of salts and microorganisms in soil bayoud resistance. "Date Palm Research Symposium". Réseau de Recherches et du développement du palmier dattier, Marrakech, pp 281-287.
- **Roberts, C.A and Andrea, J.**, 2004. Tall fescue toxicosis and management. *Online Crop Management*, doi: 10: 1094/ CM-2004-0427-01-MG.
- **Roberts, C.A., Benedict, H.R., Hill, N.S., Kjallenbach R.L and Rottinghaus, G.E.**, 2005. Determination of ergot alkaloid content in tall fescue by nearinfected spectroscopy. *Crop Science*, **45**: pp 778-783.
- **Rodriguez, R.J., Henson, J., Van Volkenburgh, E., Hoy, M., Wright, L., Beckwith, F., Kim YO Redman, R.S.**, 2008. Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *ISME Journal*, **2**: pp 404-416.
- **Rodriguez, R.J., J.F. White Jr, A.E. Arnold and Redman, R.S.**, (2008). Fungal endophytes: diversity and functional roles, *Tansley review, new phytologist*; **183**: pp 5-7
- **Saar, D.E., Polans, N.O., Sorensen, P.D., and Duvall, M.R.**, 2001. Angiosperm DNA contamination by endophytic fungi: Detection and methods of avoidance. *Plant Molecular Biology Reporter*; **19**: pp 249-260.

- **Saikkonen, K., Faeth, S.H., Helander, M., and Sullivan, T.J.,** 1998. Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **29**: pp 319-343.
- **Saikkonen, K., Helander, M and Faeth, S.H.,** 2004. Fungal endophytes: hich- hikers of the green world. In: Gillings M. and Holmes A. J.(eds). *Plant microbiology*, Garland Science, pp 81-101.
- **Saikkonen, K., Wali, P.R., and Helander, M.,** 2010. Genetic compatibility determines endophyte-grass combinations. *PLoS One*, DOI: 10.1371/journal.pone.0011395.
- **Sedra, My.H, Maslouhy, My.A.,** 1995. La fusariose vasculaire (bayoud) du palmier dattier. II: Action inhibitrice des filtrats de culture de quelques microorganismes antagonistes isolés des sols des palmeraies de Marrakech sur le développement *in vitro* du *Fusarium Oxysporum* f.sp *albedinis*. INRA- Rabat, Maroc, *Al Awamia* **90**: pp 1-8.
- **Sedra, My.H.,** 2005. La maladie du Bayoud du palmier dattier en Afrique du Nord: Diagnostic et caractérisation. Actes du symposium International sur le développement Durable des Systèmes oasiens. Erfoud Maroc. B. Boulanouar et C. Kradi (Eds).
- **Selim, K.A., El-Beih, A.A., AbdEl-Rahman, T.M., El-Diwany, A.I.,** 2012. Biology of Endophytic *Fungi*. *Current Research in Environmental & Applied Mycology* **2(1)**: pp 31-82.
- **Sessitsch, A., Mitter, B., Weilharter, A., Reinhold-Hurek, B., Hardoim, P., Compant, S., Nikolic, B., Krstevska, E., Chain, P.G., Trognitz, F., van Elsas, J.D., Brader, G.,** 2013. Metagenomics and genomics to reveal the ecology and functional potential of bacterial endophyte communities. In: Schneider C, Leifert C, Feldmann F (Eds), *Endophytes for plant protection: The state of the art*, 333 p.
- **Souna, F., Chafi, A., Chakroune, K., Himri, I., Bouakka, M., Hakkou, A.,** 2010. Effect of mycorrhization and compost on the growth and the protection of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against Bayoud disease. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, **4(2)**: pp 260-267.
- **Spiering ,M.J., Moon, C.D., Wilkinson, H.H and Schardl, C.L.,** 2005. Gene clusters for insecticidal loline alkaloids in the grass-endophytic fungus *Neotyphodium uncinatum*. *Genetics*, **169**: pp 1403-1414.

- **Strobel, G., and Daisy, B.,** 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **67**: pp 491-502.
- **Strobel, G., Daizy, B., Castillou and Harper, J.,** 2004. Natural products from endophytic microorganisms. *J Nat Prod*, **67**: pp 257-268.
- **Udayanga, D., Castlebury, L.A., Rossman, A.Y., Chukeatirote, E., Hyde, K.D.,** 2014. Insights into the genus *Diaporthe*: phylogenetic species delimitation in the *D. eres* species complex. *Fungal Diversity*, **67 (1)**: pp 203-229.
- **Veeken, A.H.M., Blok, W.J., Curci, F., Coenen, G.C.M., Termorshuizen, A.J., Hamelers, H.V.M.,** 2005. Improving quality of composted biowaste to enhance disease suppressiveness of compost-amended, peat-based potting mixes. *Soil Biology & Biochemistry*, **37**: pp 2131-2140.
- **Vinal, F., Ghisalberti, E., Flematti, G., Marra, R., Lorito, M., Sivasithamparam, K.,** 2010. Secondary metabolites produced by a root-inhabiting sterile fungus antagonistic towards pathogenic fungi. *Letters in applied microbiology*, **50**: pp 380-385.
- **Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Huckelhoven, R., Neumann, C., von, W.D., Franken, P and Kogel, K.H.,** 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **102**: pp 13386-13391.
- **Wang, F.W., Jiao, R.H., Cheng, A.B., Tan, S.H and Song, Y.C.,** 2007. Antimicrobial potentials of endophytic fungi residing in *Quercus variabilis* and brefeldin A obtained from *Cladosporium* sp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **23**: pp 79-83.
- **Watanabe, T.,** 2011. *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi*, Second edition, morphologies of cultured fungi and key to species, 484 p.
- **Zabalgoeazcoa, I.,** 2008. Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens. *Spanish Journal of Agricultural Research*, **6**: pp 138-146.
- **Zaid, A and De Wet, P.F.,** 2002. Climatic requirements of date palme in date palm cultivation. *FAO. Plant Production and Protection*, **1**: pp 155-157.
- **Zegaye, F., Khalid, A., Hasnaoui, A., Caid Serghini, H & El Amrani, A.,** 2012. Ectomycorrhization of Date Palm and Carob Plants. *Global Journal of Science Frontier Research Biological Sciences*, **12 (8)**: pp 12-18.



- **Zhang, C., Feng, X., Su, Z., Xu, X., Wang, J., Liu, N.,** 2013. Evidence for biotrophic lifestyle and biocontrol potential of dark septate endophyte *Harpophora oryzae* to rice blast disease. In: Schneider C, Leifert C, Feldmann F (Eds), Endophytes for plant protection: the state of the art, 333 p.
- **Zhang, H.W., Song, Y.C and Tan R.X.,** 2006. Biology and chemistry of endophytes. Natural Product Reports, **23**: pp 753-771.



# *Annexes*

## **Annexes**

### **1. Composition des milieux de cultures:**

#### **Milieu PDA (Johnson & Booth, 1983)**

-Pomme de terre	200g
-D-glucose	10g
-CaCO <sub>3</sub>	05g
-Agar	15g
-Eau distillée	1000 ml
-pH	6,5

#### **Milieu Agar-Eau**

-Agar	20g
-Eau	1000 ml

**Annexe 01: Influence du milieu de culture sur le résultat d'isolement.**

		Test de Levene sur l'égalité des variances		Test-t pour égalité des moyennes						
		F	Sig.	t	ddl	Sig. (bilatérale)	Différence moyenne	Différence écart-type	Intervalle de confiance 95% de la différence	
									Inférieure	Supérieure
Nombre de colonies	Hypothèse de variances égales	.419	.532	.784	10	.451	.667	.850	-1.227	2.560
	Hypothèse de variances inégales			.784	8.800	.453	.667	.850	-1.262	2.596

**Annexe 02: influence de la variété sur le nombre d'isolats endophytes obtenus.**

TC%	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	3200.000	5	640.000	1.011	.440
Intra-groupes	11400.000	18	633.333		
Total	14600.000	23			

### Annex 03: Test d'influence de la méthode de détermination d'antagonisme

		Test de Levene sur l'égalité des variances		Test-t pour égalité des moyennes						
		F	Sig.	t	ddl	Sig. (bilatérale)	Différence moyenne	Différence écart-type	Intervalle de confiance 95% de la différence	
									Inférieure	Supérieure
Inhibition	Hypothèse de variances égales	2.43002	0.12487	-2.19431	54.00000	<b>0.03253</b>	-8.36393	3.81165	-16.00582	-.72204