

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ TOXIQUE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* AGENT CAUSAL DU BAYOUD

AZOUAOUI-AIT KETTOUT Tassadit* et RAHMANIA Fatma

Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides, Faculté des Sciences Biologiques Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene

El Alia Bab Ezzouae, Alger, Algérie, E-mail : t_aitkettout@yahoo.fr; tazouaoui@usthb.dz

Résumé.- *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent causal de la fusariose vasculaire du palmier dattier, synthétise des composés toxiques en milieu de culture Czapeck-Dox liquide. Ces composés provoquent l'inhibition de la germination, des nécroses et l'accumulation de tanins dans les tissus de l'hôte. L'analyse des extraits par CCM a permis de détecter plusieurs composés dont l'acide fusarique. L'injection de ce dernier au niveau du collet de plantules du cultivar Deglet Nour provoque, trois semaines après, un flétrissement des feuilles suivi de la mort de la plantule, ainsi qu'une stimulation de la synthèse d'anthocyanes dans le limbe et dans les racines. Les résultats obtenus nous amènent à émettre l'hypothèse suivante: l'accumulation des flavonoïdes, substances impliquées dans la résistance, dans les feuilles et les racines, n'ont pas stoppé les dégâts causés par cette toxine, et que d'autres toxines sont probablement impliquées, soit en synergie avec l'acide fusarique, ou d'autres composés, soit seules.

Mots clés: Palmier dattier, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, tests phytotoxiques, acide fusarique, anthocyanes.

CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE TOXIC ACTIVITY OF *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, THE CAUSATIVE AGENT OF BAYOUD

Abstract.- *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, causal agent of *Fusarium* wilt of date palm, synthesizes toxic compounds in culture liquid medium Czapeck-Dox. These compounds cause inhibition of germination, necrosis and accumulation of tannins in the host tissues. Analysis of extracts by TLC has detected several compounds with fusaric acid. The injection of the latter at the collar of seedlings cultivar Deglet Nour causes, three weeks later, wilting of leaves followed by death of the seedling, and a stimulation of the synthesis of anthocyanins in the limb and roots. The results lead us to hypothesize the following: the accumulation of flavonoids, substances involved in resistance in the leaves and roots did not stop the damage caused by this toxin and other toxins probably involved, or in synergy with the ac. Fusaric or other compounds, either alone.

Keywords: Date palm, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, phytotoxi tests, fusaric acid, anthocyanins

Introduction

Depuis plus d'un siècle, un champignon Ascomycète Imparfait, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, (F.o.a.) peut-être en provenance du Maroc constitue une grave menace pour les palmeraies de l'Afrique du nord. Il est l'agent de la maladie dite Fusariose vasculaire ou Bayoud qui sévit actuellement au Maroc, au sud et sud-ouest Algérien et

quelques localités de la palmeraie Mauritanienne [1]. Tous les essais de traitement chimique ont échoué à cause de la localisation très interne du parasite, hors d'atteinte même des fongicides dits systémiques.

Le F.o.a. figure sur la liste des organismes de quarantaines, seul l'abattage des palmiers infectés et leur incinération permet de lutter actuellement contre la propagation de l'infection. Face à une alarme croissante et devant l'état sanitaire de plus en plus dégradé des palmeraies, des recherches ont été entreprises pour la mise au point d'une méthode de lutte permettant de mieux cerner l'étendue des contaminations et d'éviter l'abattage.

Les champignons phytopathogènes sont connus pour produire des toxines dans le milieu de culture et dans leurs hôtes [2]. Dans la majorité des cas, ces substances sont produites durant les premiers stades de la pthogénèse et reproduisent une partie ou la totalité des symptômes.

La plupart des phytotoxines sont des molécules à faible poids moléculaire et de structures très variées. Elles sont capables de diffuser à partir du site d'infection vers les tissus de la plante via les l'apoplastes.

Parmi les phytotoxines extraites et purifiées à partir du filtrat de culture de F.o.a, il est à noter les acides fusarique, aspergillomarasmine et phényle acétique [3,4].

Le présent travail, recherche les effets des composés toxiques contenus dans les filtrats et les extraits de toxines de F.o.a, sur la germination, les feuilles détachées et sur le taux des anthocyanes du cultivar sensible Deglet Nour.

1.- Matériels et méthodes

1.1.- Matériels

1.1.1.- Matériel fongique

La souche de F.o.a (26/01/Gh) utilisée a été isolée d'un palmier mâle bayoudé (Dokkar). Elle est mise à notre disposition par la station régionale de l'Institut de la Protection des Végétaux de Ghardaïa (fig. 1).



Figure 1.- Aspect du champignon *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* sur milieu PDA

1.1.2.- Matériel végétal

- Les graines

Nous avons choisi pour nos expérimentations les graines et les feuilles de la variété Deglet Nour du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*. L), connue pour sa sensibilité au bayoud.

- Les feuilles

Des feuilles de palmier dattier variété Deglet Nour, sont prélevées sur des plantes en pots au stade de développement 3 à 4 feuilles, cultivées en serre à l'U.S.T.H.B. (Algar) (fig. 2).



Figure 2.- Plantule de palmier dattier (*Phoenix dactylifera*. L)
variété Deglet Nour

- Poudre végétale

Les plantules sont déterrées, lavées à l'eau courante pour éliminer les traces de terre. Chaque échantillon est séché à l'air libre, et à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Ils sont ensuite découpés en petits fragments et broyés à l'aide d'un mixeur. La poudre obtenue à partir de chaque échantillon, est pesée puis conservée dans un flacon stérile, jusqu'à analyse.

1.1.3.- Milieux de culture

- Milieu PDA

Il existe différents milieux favorables au développement du *Fusarium* et à sa prolifération, mais le plus utilisés est le milieu Potato-Dextrose-Agar (PDA), dont la composition est la suivante: 250g de pomme de terre (P), 20g de glucose (D), 20g d'agar (A) et QSP 1 litre d'eau distillée. Le milieu est autoclavé pendant 20 mn à 120°C.

- Milieu Czapek-Dox-liquide

Après plusieurs essais, il est opté pour ce milieu qui s'est révélé comme étant le plus favorable à la sporulation de F.o.a et aux synthèse et excrétion de toxines. Sa composition est la suivante: 3g de NaNO₃, 1g de KH₂PO₄, 0.5 de KCl; 0.5 de MgSO₄.7H₂O; 0.01g de Fe SO₄, 7H₂O; 30g de Saccharose; l'ensemble est complété à QSP 1 litre d'eau distillée. Le milieu est réparti dans des flacons de 250 ml, à raison de 20 ml par flacon, puis autoclavé à 120 °C pendant 20 mn.

1.2.- Méthodes

1.2.1.- Inoculation des milieux de cultures

L'inoculation consiste à introduire 3 disques d'agar de 15 mm de diamètre portant une culture de F.o.a âgée de 5 jours dans des flacons de 250 ml contenant 20 ml de milieu Czapek-Dox liquide. Les flacons sont incubés à l'obscurité sans agitation à température de 27°C pendant 10 jours pour l'obtention de l'inoculum (fig. 3).



Figure 3.- Inoculum obtenu après 10 jours d'incubation à l'obscurité sans agitation

1.2.2.- Obtention des filtrats de cultures

L'inoculum est filtré à l'aide de 8 couches de gaze stérile, le surnageant obtenu constituera le filtrat de culture. Le culot contenant le mycélium et les conidies, est utilisé pour le calcul des poids frais et sec de la masse fongique par des pesées des mycéliums et conidies. Le poids de la matière fongique sèche est obtenu après dessiccation totale des conidies et mycéliums dans l'étuve à 60°C. Les résultats présentés constituent la moyenne de 10 répétitions.

1.2.3.- Extraction des toxines

L'extraction des toxines se fait à partir des filtrats de culture, selon la technique préconisée par BAKER *et al.* [5]. Elle se fait en trois temps à l'acétate d'éthyle (vol/vol) à l'aide d'une ampoule à décanter. Pour l'expérimentation, il n'est retenu que la phase éthylée; c'est-à-dire la phase supérieure. Après évaporation à l'obscurité, le précipité est dissous dans 5 ml d'acétone. Il constitue l'extrait de toxine. Il est utilisé pour les tests de toxicité et la caractérisation de l'acide fusarique par chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaque de gel de silice 20x20 cm réf 60.F-254 avec un indicateur de fluorescence.

1.2.4.- Estimation de l'activité toxique de F.o.a

L'appréciation de l'activité toxique est réalisée en fonction de l'effet de l'inoculum et de l'extrait de toxine sur la germination, sur les feuilles détachées et sur la plante entière. Il est réalisé également une étude quantitative des anthocyanes.

1.2.4.1.- Effet sur la germination

Les graines stérilisées à l'hypochlorite de sodium (12%) sont mises dans des boîtes de Petri stériles, à raison de 10 graines par boîte, tapissées de papier filtre stérile imbibé de 10 ml d'eau pour les témoins, et pour les essais 10 ml de filtrat de culture (essai 1), et 10 ml de l'inoculum (essai 2). L'incubation se fait dans une étuve à 28°C à l'obscurité. Les graines sont arrosées 4 et 11 jours après. Les graines germées sont notées aux 7, 11, 17, et 21 jours après traitement.

Le pourcentage d'inhibition de la germination est calculé selon l'équation de HAIDER *et al.* (1986) [6].

$$\text{Inhibition (\%)} = (\text{nombre de graines germées de témoins} - \text{nombre de graines germées des traitées}) / (\text{nombre de graines germées de témoins}) \times 100$$

1.2.4.2.- Effet sur les feuilles détachées

Afin d'évaluer l'activité phytotoxique de F.o.a sur les feuilles du palmier dattier sensible, il est adopté la technique décrite par PUCH-CEH *et al.* (2005) [7].

Les feuilles sont prélevées sur des plantes en pots sous serre. Elles sont ensuite désinfectées à l'éthanol à 96%, rincées à l'eau distillée, séchées entre deux feuilles de papier absorbant puis placées dans un récipient en aluminium préalablement désinfecté à l'éthanol 96%, doublé de deux couches de papier absorbant humide.

L'activité des extraits de toxines est testée en plaçant, dans un premier temps, 60µl de chaque traitement sur deux incisions faites au scalpel, une au bas, l'autre au sommet de la face supérieure de la feuille. Un deuxième traitement est réalisé 48h après, soit 30µl de chaque solution. Une feuille sans incision est utilisée comme témoin 1 (T1). Une feuille avec incision inoculée avec de l'eau distillée est considérée comme deuxième témoin 2 (T2).

Deux (2) essais sont pris en considération à savoir: le traitement par l'inoculum et celui réalisé par l'extrait de toxine.

Les récipients sont bien protégés par un film transparent pour éviter le dessèchement des feuilles, et maintenus à température ambiante en lumière naturelle.

Le test de phytotoxicité consiste à calculer la surface nécrosée, enregistrée 24h, 48h, 72h et 96 h après le dépôt des différents traitements.

1.2.4.3.- Effet sur la plante entière

L'inoculation est réalisée sur les plantules de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) cultivar sensible deglet-Nour. Les parties supérieures des racines sont déterrées délicatement. A 1,5 cm du collet, il est injecté l'équivalent de 1 ml de chaque solution (inoculum, acide fusarique). La méthode d'appréciation de la toxicité de l'inoculum et de l'acide fusarique sur les plantules du palmier dattier consiste à déterminer le taux d'anthocyanes 23j après inoculation selon le protocole d'analyse [8, 9, 10] qui repose sur l'hydrolyse acide des hétérosides du matériel végétal suivie de l'extraction et de la séparation des aglycones. Cette méthode permet à la fois de doser et d'identifier les Anthocyanidines, les Aglycones flavonoïques et les C-glycosyl-flavones.

Pour ce travail, nous nous sommes intéressés aux anthocyanidines. La teneur absolue en anthocyanes exprimée en cyanidine est donnée par la formule :

$$\Gamma (\% \text{ ou mg/g}) = n. DO / e. M.V.d / p$$

n = 6: c'est le facteur correctif qui tient compte du rendement de la transformation des leuco anthocyanes en anthocyanes et qui est d'environ 17%,

DO: Densité optique à la longueur d'onde 520 nm,

e : Coefficient d'absorption molaire de la cyanidine = 34700,

M: masse molaire de la procyanidine = 306,

V: volume de la phase aqueuse mesurée après hydrolyse,

d: facteur de dilution,

p: poids sec du matériel végétal = 0.5 g

1.2.4.- Etude histologique des racines et des feuilles de palmier

Elle est réalisée par observation directe dans les tissus hôtes sur des coupes transversales effectuées «à main levée» à l'aide d'une lame de rasoir, à différents niveaux. Les coupes sont montées directement entre lame et lamelle dans une goutte d'eau. Pour une meilleure observation des structures fongiques, les coupes des feuilles traitées par l'inoculum sont colorées par le bleu de coton au lactophénol, dont la composition est la suivante: 2v de glycérine, 1v de phénol, 1v d'acide lactique, 1 pincée de bleu d'aniline, 2v d'H₂O distillée. L'observation est réalisée au microscope photonique, au grossissement x400.

2.- Résultats et discussions

2.1.- Activité toxique sur la germination

Les résultats laissent apparaître l'existence de 3 lots de graines selon leur comportement en présence du parasite :

- Celles qui ne germent pas, il y a donc inhibition de la germination,
- Celles qui germent, mais présentent des taches nécrotiques,
- Celles qui germent, moins nombreuses, qui ne sont pas du toutes affectées et continuent leur croissance, elles surmontent l'attaque parasitaire.

Ces faits sont signalés SAAIDI (1979), MATHÉRON et BENBADIS (1994), RAHMANIA (1982 et 2000) après inoculation des plantules du palmier dattier par F.o.a

[11, 12, 13,14]. Il est donc intéressant de noter que, chez le palmier dattier, graines et plantules issues de semis ont le même comportement vis-à-vis de F.o.a et de ses toxines. L'ensemble des graines est inoculé dans les mêmes conditions (même souche pathogène, même milieu de croissance, même conditions de température, humidité et arrosage). Il semble envisageable l'existence de facteurs de résistance qui ne sont pas encore connus et inhérents à chaque individu. Les résultats obtenus sont regroupés sur la figure.3.

D'après nos observations la germination commence le 7^{ème} jour après la mise en germination aussi bien chez les témoins que chez les essais, ceci correspond au temps de latence.

La germination des graines de la variété sensible (Deglet Nour) témoin, est graduelle. Cette germination est faible la première semaine (17.5%), mais augmente progressivement jusqu'à germination de l'ensemble des graines, au 21^{ème} jour (100%). Le filtrat de toxine de F.o.a a une activité inhibitrice sur la germination des graines. Il cause une inhibition pour le premier lot et réduit le taux de germination pour les deux autres lots. En effet, la germination est progressive mais lente comparée au témoin. Un taux d'inhibition de 52.5%, est noté 21 jours après traitement.

L'effet de l'inoculum sur les graines de Deglet Nour se manifeste par le blocage de la germination; en effet, seules 2 graines ont germé la première semaine, avec un taux d'inhibition de 71.4%. Il est à signaler que quelques graines sont recouvertes par un mycélium bien développé (fig. 4). Au-delà du 7^{ème} jour, la germination est progressive mais très réduite par rapport à ce qui est observé chez le témoin et chez les essais traités avec l'inoculum, le taux d'inhibition est de 67.5% à la fin de la 3^{ème} semaine.

Au des résultats l'inoculum a un effet inhibiteur plus puissant que celui du filtrat de toxine, sur la germination des graines de Deglet Nour.

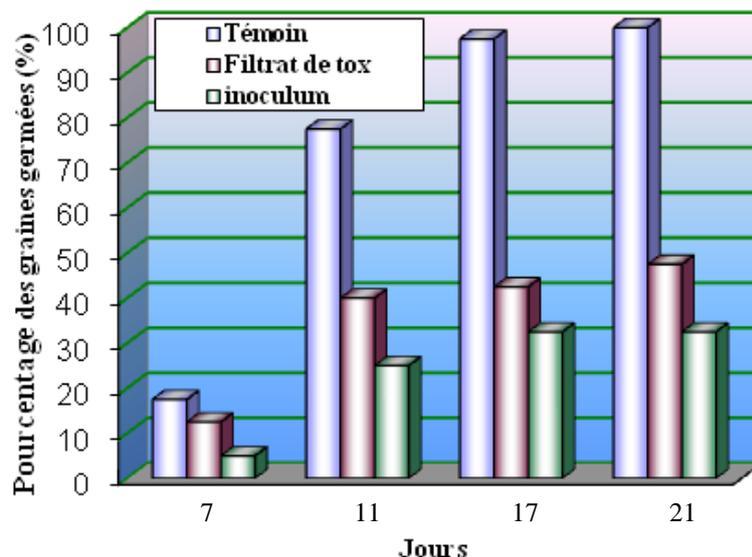


Figure 3.- Effet de l'inoculum et du filtrat de culture de F.o.a sur la germination des graines du cultivar sensible Deglet Nour

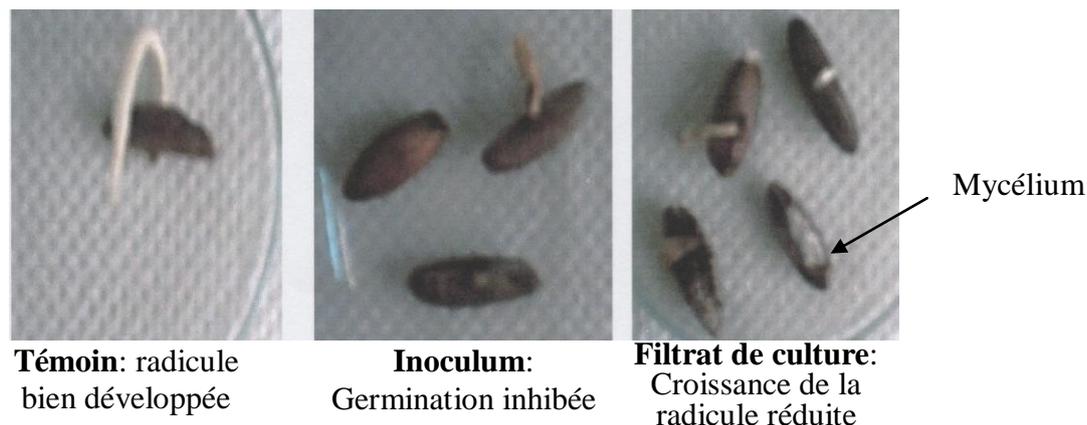


Figure 4.- Effets de l'inoculum et du filtrat de culture sur la germination des graines de Deglet Nour

2.2.- Effet sur les feuilles détachées

L'effet des toxines secrétées par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* N est étudié par le calcul de la surface nécrosée au niveau des incisions effectuées sur les feuilles détachées du palmier dattier variété Deglet-Nour. Les résultats obtenus sont regroupés sur les figures 5, 6.

Les résultats montrent que les effets varient en fonction du type de traitement et du temps d'inoculation. Le témoin sans incision ne présente aucun symptôme visible pendant toute la durée de l'expérience. Chez le témoin avec incision, aucun symptôme n'est observé pendant les premières 48h, alors qu'à 72h après inoculation avec de l'eau distillée, une nécrose de 12 mm² est décelée uniquement au niveau N₁. Il s'agit d'une réaction à l'incision.

L'effet toxique de l'inoculum sur les feuilles détachées, en N₁, est noté 48h après inoculation. La surface nécrosée est de 6 mm². Elle augmente significativement après addition du deuxième traitement (30µl); la taille de la nécrose atteint 48 mm², soit une extension de 42 mm². Les mêmes résultats sont notés au delà de 72h.

Sous l'effet de l'extrait de toxines, il est à signaler une réaction rapide de mortification. En effet, les nécroses sont observées en N₁, 24h après inoculation, avec une augmentation progressive en fonction du temps, car la surface nécrosée atteint 66 mm² aussi bien à 72h qu'à 96h. L'analyse des différents résultats permet de mettre en évidence que l'extrait est plus toxique que l'inoculum.

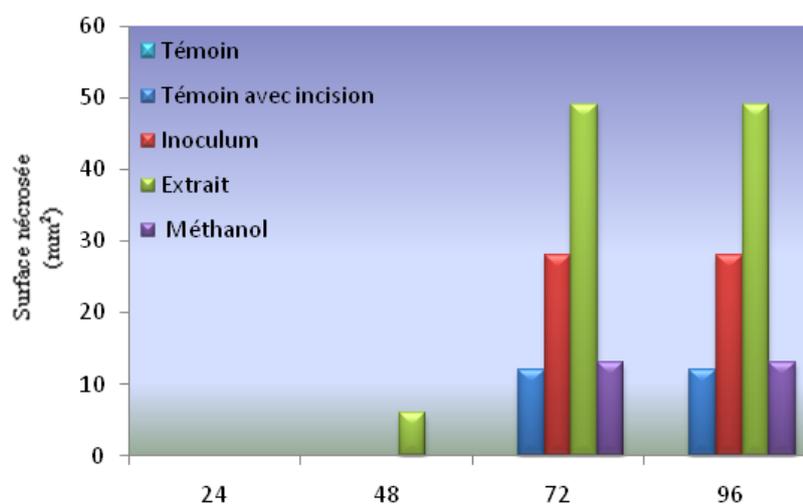


Figure 5.- Evolution de la surface nécrosée au niveau de N₁ sur feuilles détachées du cultivar sensible du palmier dattier

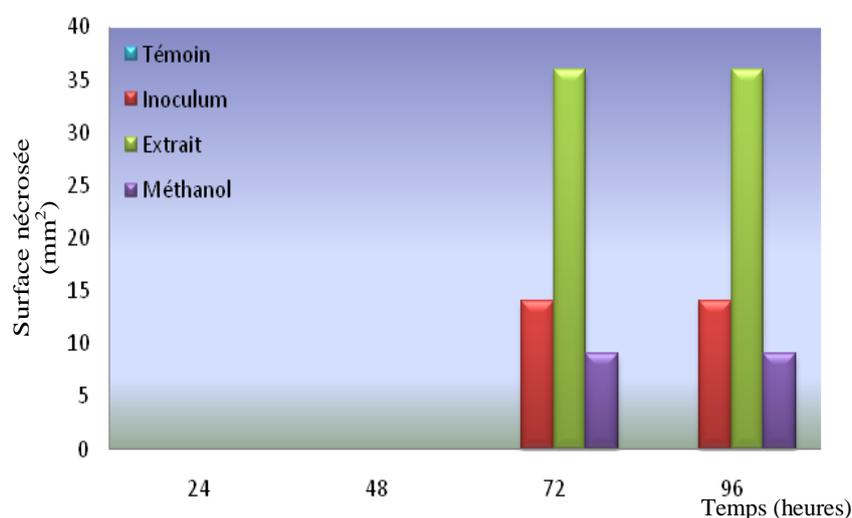


Figure 6.- Evolution de la surface nécrosée au niveau de N₂ sur les feuilles détachées et traitées du palmier dattier

2.3.- Effet sur la plante entière

Les résultats du dosage des anthocyanes effectués sur le limbe et la racine de plantules du cultivar étudié «Deglet Nour», sont exprimés en gramme (g) d'anthocyanes par gramme (g) de matière végétale sèche (gMVS). D'après les résultats représentés de la figure 7, nous constatons que chez les témoins la teneur en anthocyanes est de 3.92 g/gmvs dans les feuilles et de 0.86 g/gmvs dans les racines. Ainsi, les feuilles sont plus riches en ces substances que les racines. Après traitement des plantules, la teneur en anthocyanes augmente. En effet, sous l'effet de l'acide fusarique commercial, la teneur est plus élevée dans les racines (4.9 g/gmvs) par rapport au témoin, alors que sous l'effet de l'inoculum, les feuilles présentent un taux plus important (7.08 g/gmvs). Le traitement des plantules par l'acide fusarique extrait, *in vitro*, de F.o.a., entraîne une diminution du taux des anthocyanes dans les feuilles où une réduction de 56% est constatée, et une augmentation dans les racines.

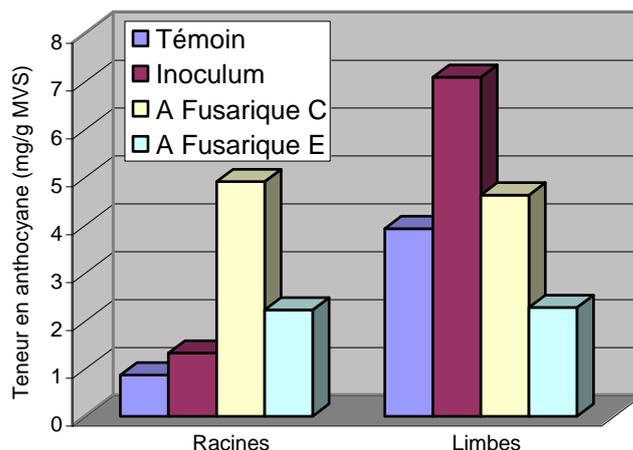


Figure 7.- Teneur en anthocyane chez les plantules de DN (mg/g de MVS) 23 jours après inoculation (A. fusarique C: A fusarique commercialisé, Acide fusarique E: A fusarique extrait de F.o.a.)

2.4.- Mise en évidence de l'agent pathogène dans les tissus

Des coupes transversales des racines des graines traitées de Deglet Nour sont réalisées et montées dans du bleu Coton. Les observations révèlent l'existence de structures que nous pensons être des chlamydo-spores (fig. 8); leur nombre varie d'une portion à une autre. Des résultats similaires ont été obtenus par RENARD (1970), qui a observé des chlamydo-spores de *Fusarium oxysporum* sur le rhizoderme et dans les parties internes des racines du palmier à l'huile et ce, 8 jours après inoculation avec un fragment de culture mycélienne [15].

Chez le palmier dattier, il est connu que l'infection des racines se fait aussi bien par le mycélium que par les conidies chez les jeunes plantules [14]. Les chlamydo-spores n'ont jamais été observées dans les tissus des jeunes individus.

Des coupes transversales sont également réalisées dans les feuilles témoin, les feuilles incisées et inoculées par l'inoculum ou par les extraits de toxines. L'observation au microscope photonique à différents grossissements permet de mettre en évidence l'accumulation de tanins, la diminution du nombre de chloroplastes et la désorganisation des cellules de l'épiderme, du mésophylle et des faisceaux cribro-vasculaires (fig. 8). L'accumulation des tanins semble plus importante et plus rapide chez les feuilles inoculées par les extraits. C'est une réponse du végétal à un stress biotique ou abiotique. En effet ces composés sont toujours présents en grande quantité chez les palmiers atteints de fusariose [13]. Ils se forment à partir d'une polymérisation des proanthocyanes ce qui explique leur diminution chez le Palmier malade.

3.- Discussions et conclusion

Les résultats laissent apparaître que dans les conditions expérimentales (Milieu Czapeck-Dox, Température de 23 °C), *Fusarium oxysporum* f sp *albedinis* produit *in vitro* des composés phytotoxiques qui sont excrétés dans le milieu de culture. Ceux-ci provoquent l'inhibition et le retard de la germination, ainsi que l'apparition de nécroses affectant les racines du cultivar DN, sensible à la fusariose. ORTON (1980) note que l'inoculum de *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* cultivé sur milieu à base de Pomme de terre

liquide retarde la germination dans toutes les lignées de céleri [16]. LIM *et al.* (1990) constatent que le filtrat de culture de *F. solani* causant le SDS (syndrome de la mort subite) du soja, inhibe-la germination des graines [17]. DEHBI et HARZALLAH (2001) montrent que le filtrat de toxine de *Pseudomonas syringae p v tabaci*, affecte la croissance des tiges et des racines et la germination des graines chez le blé, l'orge, la vesce et la lentille et ce, à différentes concentrations [18]. Cette inhibition de la germination, serait due à l'influence des toxines libérées dans le milieu de culture. Ces toxines agiraient sur les embryons et sur les réserves des graines ou sur les enzymes durant la respiration et la division cellulaire.



Témoin, Gx400
FCV sans parasite



Localisation du mycélium dans les vaisseaux des feuilles inoculé par l'inoculum de F.o.a. Gx400.



Accumulation de tanins mésophylle et les FCV des feuilles inoculées par l'extrait de toxine de F.o.a.. Gx400.

Figure 8.- Etude anatomique des feuilles du cultivar Deglet Nour après traitement par l'inoculum et extraits de F.o.a.

En effet, les toxines sont impliquées dans une série de perturbations dans la cellule hôte. L'acide fusarique par exemple, produit par plusieurs espèces de *Fusarium* spp associée au flétrissement des bananiers, coton, pois, tomates et autres végétaux [19], affecte la perméabilité membranaire par l'inhibition de la sortie des protons et l'augmentation de la fuite des ions potassium et par l'inhibition de la respiration des feuilles d'*Egeria densa* [20].

Au cours de la présente étude, il a été observé que l'inoculum est plus toxique que le filtrat de toxine, ce qui explique que la virulence de F.o.a. dépend de son arsenal enzymatique et de ses toxines. Il ne faut pas, pour autant, écarter l'hypothèse de l'existence et l'intervention de plusieurs toxines [21] pouvant entraîner des symptômes spécifiques liés à leur nature chimique [22]. Si l'élaboration, la capacité de synthèse de toxines semble déterminer l'agressivité des souches, il n'est cependant pas certain ni établi, qu'elles soient impliquées, seules dans le pouvoir pathogène. D'autres composés peuvent intervenir, en particulier des enzymes.

L'estimation visuelle de l'activité toxique de F.o.a se manifeste par des nécroses des racines. Des résultats similaires ont été observés chez les racines d'orge et de tomates en présence des filtrats de toxine de *Helminthosporium teres* [23] et de *H. turcinum* [24]. Au cours de notre travail, nous avons également étudié l'effet de l'inoculum et des extraits

de toxines de F.o.a sur les feuilles détachées du palmier dattier cultivar Deglet-Nour. Les feuilles de palmier dattier paraissent sensibles aux extraits de toxines ainsi qu'à l'inoculum. En outre, la taille des nécroses augmente en fonction du temps qui suit l'inoculation et dépend également, de la concentration des composés toxiques.

La toxicité des différents traitements se traduit par des nécroses au niveau de l'incision. SEDRA (2006) et KHELAFI *et al.* (2006), signalent des nécroses 5 jours après immersion des feuilles détachées de vitroplants de Deglet Nour dans une solution FII de toxines de F.o.a (25 et 50 µg/ml). La taille de ces nécroses varie de 1 à 40 mm² et dépend de la concentration en toxines. D'après les figure 9 l'apparition des symptômes est plus précoce chez les plantules auxquelles l'on injecte l'acide fusarique que chez celles traitées par le filtrat de F.o.a. Cependant, les plantules témoins et piquées ne présentent aucun symptôme. SEDRA [26] en testant l'activité des toxines sécrétées par F.o.a agent causal du Bayoud, obtient des résultats similaires. Cet auteur a montré que les symptômes de la maladie sont caractérisés par une nécrose provoquant l'enroulement des feuilles puis un dessèchement total. Il note, néanmoins, que le début de l'apparition des symptômes a été plus précoce pour toutes les fractions toxiques, en particulier pour la fraction II (FII) chez le cultivar sensible Jihel.

Quant à la teneur des anthocyanes dans les deux organes des plantules témoins, nous constatons qu'elle est plus élevée dans les feuilles que dans les racines. Après traitement par l'acide fusarique, nous remarquons une augmentation du taux de ce composé aussi bien chez les feuilles que les racines. Il semblerait qu'il y ait une stimulation de leur synthèse dans la feuille par activation de la PAL.

Une purification complète des composés toxiques contenus dans les filtrats de culture de ce parasite du palmier dattier serait intéressante. Ce travail devrait aboutir à les identifier et permettrait, dans une seconde étape, d'élucider les mécanismes biochimiques mis en œuvre par le pathogène lors des processus infectieux.



Figure 9.- Effet de F.o.a et de l'acide fusarique sur la morphologie des plantules 23 jours après inoculation (Témoin: plante saine non traitée, inoculum: plante inoculée par une solution de conidies, AFE: plante auxquelles est injecté de l'acide fusarique extrait du filtrat, AFC: plante auxquelles est injecté de l'acide fusarique du commerce, Sressé: plantules stressée par piquêre)

Références bibliographiques

- [1].- Sedra M. H., 2006.- Le Bayoud en Afrique du Nord: Extension, particularités de la variabilité génétique des souches de l'agent causal et nouveaux clones marocains du palmier prometteurs pour combattre la maladie. Conférence régionale «Mutagenèse Induite et Biotechnologies d'Appui pour la Protection du Palmier Dattier contre le Bayoud».
- [2].- Graniti A., 1992.- Phytotoxins and their involvement in plant diseases. Introduction, *Experientia*, 47: 751-755.
- [3].- Surrico G., Graniti A., 1977.- Produzione di tossine da *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Phytopathol*, 16: 30-33.
- [4].- Ait Kettout T., Rahmania F., 2010.- Identification par CG-SM de l'acide phénylacétique produit par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent causal du bayoud. *C.R. Biologies*, 333: 808-813.
- [5].- Baker R. A., Tarum J. H., Nemic S., 1981.- Toxin production by *Fusarium solani* from fibrous roots of blight-disease *Citrus*. *Phytopathol*, 71:951-954.
- [6].- Haider M. M., Soulaïman E. D., Dawood R. K., 1986.- Effect of culture filtrate of five species of fungi and their inciture on seed germination and seedling development of sunflower. *J. Bio. Sci. Res.* 17:141-150.
- [7].- Puch-Ceh M., García-Sosa K., Peña-Rodríguez L. M, 2005.- Optimisation des conditions de culture de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. In *Info Musa*, Revue Internationale sur Bananiers et Plantains, 14: 21-23.
- [8].- Bate-Smith E. C., 1954.- Leuco-anthocyanins: 1- Detection and identification of anthocyanidins formed from leuco-anthocyanins in plant tissues. *Biochem. J.*, 58, 122-125.
- [9].- Lebreton P., Jay M., Voirin B., 1967.- Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes. *Chim. Anal.*, 49: 357-383.
- [10].- Jay M., Gonnet J. F., Wollenweber E., Voirin B., 1975.- Sur l'analyse qualitative des aglycones flavoniques dans une optique chimiotaxonomique. *Phytochemistry* 14: 1605-1612
- [11].- Saaidi M., 1979.- Contribution à la lutte contre le bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier. Thèse de Doct. Univ. Dijon, 140 p.
- [12].- Mathéron B., Benbadis A., 1994.- Etude comparée de l'infection par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albediniis*, de trois variétés de palmier dattier, l'une sensible (Deglet-Nour), les deux autres résistantes (Takerboucht et Tantabouchet). *Acta bot. Gallica.*, 141: 719-730.
- [13].- Rahmania F., 1982.- Contribution à la connaissance du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) et de l'agent du bayoud F.o.a aspects ultrastructuraux des relations hôte-parasite. Thèse de doctorat de troisième cycle, U.S.T.H.B., Alger.

- [14].- Rahmania F. 2000.- Contribution à la connaissance des relations histo-cytophysiologiques des relations parasitaires entre le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) et *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* agent causal bayoud. Thèse de doctorat d'état. U.S.T.H.B., Alger.
- [15].- Renard J. L. 1970.- La Fusariose Du Palmier à Huile: Rôle des blessures des racines dans le processus d'infection. *Oléagineux*, 11: 581-586.
- [16].- Orton T.G. 1980.- Effect of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* on germination in celery (*Apium graveolens*). *Can. J. Bot.* 60: 34-39.
- [17].- Lim S. M., Song H. S., Gary L. E., 1990.- Phytotoxicity of culture filtrates from *Fusarium solani* isolated from soybean. *Phytopathol*, 80: 1044 (abstr).
- [18].- Dehbi F., Harzallah D., 2001.- Effet de la tabtoxine sur la croissance des plantes. Journées Techniques et Phytosanitaires, INPV, Alger.
- [19].- Kern H., Naef-Roth S., Rufner R., 1972.- Phytotoxins produced by *Fusarium*. In Wood R. K. S., Ballio., Graniti A., eds:Academic press, new york: 35-48.
- [20].- Marrè M. T., Vergani P., Albergoni F. G., 1993.- Relationship between fusaric acid, uptake and dits binding to cell structures by leaves of *Egeria densa* and its toxic effects on membrane permeability and respiration. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 42: 141-157.
- [21].- Smedegard-Petersen V., 1976.- Pathogenesis and genetics of net – spot blotch and leaf stripe of barley caused by *Pyrenophora teres* and *Pyrenophora graminea* dissertation. DSR Forlag. Royal Veterinary and Agricultural University. Copenhegn.
- [22].- El-Ahmed A., 1975.- Verticilliose de l'Aubergine, agent pathogène, symptômes, action du parasite sur l'hôte. Thèse Docteur-ingénieur, n° 490, Université Paul Sabatier, Toulouse, France, 260 p.
- [23].- Barrault G., Basil A., Petitprez M., Albertini L., 1982.- Contribution à l'étude de l'activité toxique de *Helminthosporium teres*, parasite de l'orge (*Hordeum vulgare*). *Can. J. Bot.* 60: 330-339.
- [24].- Yoka P., 1975.- Contribution à l'étude de l'*Helminthosporium turcicum* parasite du Maïs. Thèse Docteur-ingenieur, N° 498, Université Paul Sabatier, Toulouse, France, 194 p.
- [25].- Khelafi H., Abed F., Yatta D., Djellal L., Yakhou M. S., Sedra My H., 2006.- Evaluation de mutants de la variété Deglet noir de Palmier Dattier pour la résistance au Bayoud. Conférence régionale « Mutagenèse Induite et Biotechnologies d'Appui pour la Protection du Palmier Dattier contre le Bayoud».
- [26].- Sedra My H., El Fakhouri R., Lotfi F., Lazrek H. B. Activités des toxines secrétées par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent causal du bayoud du Palmier Dattier et d'autres formes spéciales du *Fusarium oxysporum*. *Al Awamia*, 98: 57-65.