

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mohamed Khider Biskra

Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature  
et de la vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences

Spécialité : Biologie végétale

Présentée Par : HAMMIA Hadjra

Contribution à l'étude de lutte biologique contre  
la maladie pourriture de l'inflorescence du palmier dattier  
(*Phoenix dactylifera* L.) causée par *Mauginiella scaettae* Cav.  
de la région de Biskra

Soutenue le : 22 / 05 / 2025

Devant le jury :

Président	REDOUANE-SALAH Sara	Professeur	Université de Biskra
Rapporteur	BOUATROUS Yamina	Professeur	Université de Biskra
Examinateurs	CHAIB Ghania	Professeur	Université de Constantine
	FARHI Yassine	Directeur de recherche	CRSTRA Biskra
	SALEMKOUR Nora	Maitre de recherche A	CRSTRA Biskra

Année Universitaire : 2024 / 2025

وَوَصَّيْنَا إِلَّا نَسِنَ بِوَالدَّيْهِ إِحْسَنًا  
حَمَلَتْهُ أُمُّهُ كُرْهًا وَوَضَعَتْهُ كُرْهًا  
وَحَمَلَهُ وَفِصَلَهُ ثَلَاثُونَ شَهْرًا  
حَتَّىٰ إِذَا بَلَغَ أَشْدَهُ وَبَلَغَ أَرْبَعِينَ سَنَةً  
قَالَ رَبِّ أَوْزِعْنِي أَنْ أَشْكُرْ نِعْمَتَكَ أَلْقِنِي نِعْمَتَ عَلَيَّ  
وَعَلَىٰ وَالدَّيْ وَأَنْ أَعْمَلَ صَلِحًا تَرْضَهُ  
وَأَصْلِحَ لِي فِي ذُرِّيَّتِي إِنِّي تُبْتُ إِلَيْكَ وَإِنِّي مِنَ الْمُسْلِمِينَ

## **Remerciements**

*Je remercie **الله** tout puissant, qui m'a permis de mener à bien ce travail.*

*Il me sera très difficile de remercier tout le monde car c'est grâce à l'aide de nombreuses personnes que j'ai pu mener cette thèse à son terme.*

*Je voudrais tout d'abord remercier grandement ma directrice de thèse, Pr. BOUATROUS Yamina, qui m'a encadré tout au long de cette thèse. Je la remercie également pour tous les encouragements qu'elle m'a prodigués. Sa présence et ses conseils avisés ont été essentiels pour mener à bien cette recherche.*

*J'adresse tous mes remerciements au Pr. REDOUANE SALAH Sara de me faire l'honneur de présider le jury de ma thèse.*

*Je remercie également Mme. CHAIB Ghania Professeur à l'Université de Constantine, M. FARHI Yacine Directeur de recherche au CRSTRA Biskra ainsi qu'à Mme. SALEMKOUR Nora, Maître de recherche A au CRSTRA de Biskra de l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'être examinateurs de cette thèse.*

*Il m'est agréable aussi de remercier les techniciens du laboratoire du département SNV et en particulier Mme. BACHA Saliha.*

*Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et toute ma gratitude au Pr. Ramazan ERENLER et Prof. Yusuf YANAR (Université Gaziosmanpaşa, Tokat, Turquie).*

*Des remerciements particuliers sont adressés au Dr. DENDOUGA Wassila pour avoir mis à notre disposition les souches antagonistes indispensables à la réalisation de notre étude.*

*Mes remerciements vont au personnel de l'INPV-Biskra, en particulier à Mme Kardi Karima, pour nous avoir permis d'utiliser le laboratoire expérimental pour mener à bien nos travaux de recherche.*

*Enfin, je tiens à remercier Dr. MOYASSAR Mohammed Aziz (Université de Mossoul, Irak), qui a répondu avec patience aux questions dont je les accablais.*

*Enfin, je tiens à remercier mes collègues enseignants et tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'élaboration de ce travail.*

## Résumé

---

La pourriture des inflorescences du palmier dattier causée par le champignon *Mauginiella scaettae* représente un grave problème dans la plupart des régions productrices de dattes. Bien que les fongicides jouent un rôle important dans la lutte contre cette maladie, leur utilisation engendre des conséquences négatives sur la santé humaine et l'environnement. Cette étude a donc pour objectif d'explorer des alternatives naturelles bioactives pour lutter efficacement et en toute sécurité contre ce pathogène.

Une enquête préliminaire visant à estimer la prévalence de la maladie dans quelques vergers de la région de Biskra a révélé une grande variation du taux d'incidence de la maladie, oscillant entre 0 et 3,40 %. Les isolats du champignon pathogène se sont révélés hautement pathogènes.

L'utilisation de champignons antagonistes et d'huiles essentielles est considérée comme une méthode de lutte biologique très prometteuse. Des tests de confrontation directe *in vitro* entre trois champignons, *Aspergillus niger*, *Trichoderma harzeanum* et *Penicillium* sp. contre *M. scaettae* ont montré que les trois antagonistes exerçaient un effet inhibiteur très important sur la croissance mycélienne du pathogène (85,33±0,57 %, 85,33±1,15 % et 82±6,92 % respectivement).

Par ailleurs, l'activité antifongique des huiles essentielles extraites de trois plantes aromatiques (*Mentha pulegium*, *Ruta chalepensis* et *Eucalyptus globulus*) a été évaluée. Les résultats obtenus montrent que le taux d'inhibition de la croissance mycélienne a atteint 100 % pour *E. globulus* et *M. pulegium*, où la CMI<sub>100</sub> était de 1,5 µl/ml et 0,5 µl/ml respectivement. En revanche, l'huile essentielle de *R. chalepensis* s'est avérée moins active, ne provoquant pas une inhibition complète de la croissance du pathogène, mais un ralentissement significatif (83,48 %).

Ces résultats prometteurs ouvrent de nouvelles perspectives pour le développement de stratégies de lutte biologique contre la pourriture des inflorescences du palmier dattier. Ces approches, plus respectueuses de l'environnement, pourraient contribuer à réduire la dépendance aux fongicides de synthèse et à améliorer la durabilité des systèmes de production de dattes.

**Mots-clés :** palmier dattier, pourriture des inflorescences, *Mauginiella scaettae*, champignons antagonistes, huiles essentielles, lutte biologique, Biskra.

يعتبر مرض تعفن طلع نخيل التمر الذي يسببه فطر *Mauginiella scaettiae* مشكلة خطيرة في معظم مناطق زراعة النخيل. وعلى الرغم من أن المبيدات الفطرية تلعب دوراً مهماً في مكافحة هذا المرض، إلا أن استخدامها له عواقب سلبية على صحة الإنسان والبيئة. من هذا المنطلق انبثقت دراستنا هذه والتي تهدف إلى ايجاد بدائل طبيعية للسيطرة الآمنة والفعالة على الفطر المسؤول عن هذا المرض.

كشف المسح الأولي لتقدير مدى انتشار المرض في عدد من بساتين النخيل في منطقة بسكة عن وجود تباين كبير في الإصابة بالمرض، حيث تراوحت نسبة الإصابة بين 0 إلى 3.40% كما أظهرت عزلات الفطر الممرض قدرة امراضية عالية.

يعتبر استخدام الفطريات المضادة والزيوت الأساسية لمكافحة الفطريات الممرضة للنبات طريقة واعدة في المكافحة البيولوجية. لهذا الغرض تم اختبار ثلات فطريات مضادة *Aspergillus niger*، *Penicillium* sp. و *Trichoderma harzianum* الممرض أن المضادات الثلاثة كان لها تأثيراً مثبطاً كبيراً جداً على النمو الفطري للممرض ( $\pm 85.33\%$ ،  $0.57\%$ ،  $1.15\% \pm 85.33\%$  و  $6.92\% \pm 82\%$  على التوالي).

بالتوالي مع ذلك، تم تقييم النشاط المضاد للفطريات للزيوت الأساسية المستخلصة من ثلاثة نباتات عطرية هي *Eucalyptus globulus* و *Ruta chalepensis* و *Mentha pulegium* على النمو الفطري لسلالات *M. scaettiae*. أظهرت النتائج أن الفطر الممرض كان أكثر حساسية للتركيزات المختلفة لزيوت العطرية المدروسة، حيث وصل معدل تثبيط نمو الفطر إلى 100% عند التركيز 1.5 و 0.5 ميكرو لتر/مل لكل من *R. chalepensis* و *E. globulus* و *M. pulegium* على التوالي. من ناحية أخرى، كان زيت *R. chalepensis* أقل نشاطاً، حيث لم يثبط نمو العامل الممرض كلياً، ولكنه أبطأه بشكل ملحوظ (83.48%).

وتفتح هذه النتائج الوعدة آفاقاً جديدة لتطوير استراتيجيات المكافحة البيولوجية ضد تعفن طلع النخيل. كما يمكن أن تساعد هذه الطرق الأكثر صدقة للبيئة في تقليل الاعتماد على المبيدات الفطرية الاصطناعية وتحسين استدامة نظم إنتاج التمور.

**الكلمات المفتاحية:** نخيل التمر، تعفن الطلع، *Mauginiella scaettiae*، الفطريات المضادة، الزيوت الأساسية، المكافحة البيولوجية، بسكة.

## Abstract

---

Date palm inflorescence rot, caused by the fungus *Mauginiella scaettiae* is a serious problem in most date palm growing areas. Although fungicides play an important role in controlling this disease, their use has negative consequences for human health and the environment. Therefore, the aim of this study is to explore natural bioactive alternatives for the safe and effective control of the fungus responsible for this disease.

A preliminary survey aimed at estimating the prevalence of the disease in some date palm groves in the Biskra region revealed a wide variation in disease incidence, ranging from 0 to 3.40%. Isolates of the pathogenic fungus showed high pathogenicity.

The use of antagonistic fungi and essential oils is a very promising method of biological control. Direct *in vitro* confrontation tests between three fungi (*Aspergillus Niger*, *Trichoderma harzianum* and *Penicillium* sp.) and *M. scaettiae* showed that the three antagonists exerted a powerful inhibitory effect on the mycelial growth of the pathogen (85.33 ± 0.57 %, 85.33 ± 1.15 %, and 82 ± 6.92 % respectively).

Concurrently, the antifungal activity of essential oils derived from three aromatic plants (*Mentha pulegium*, *Ruta chalepensis* and *Eucalyptus globulus*) was evaluated for their effect on the mycelial growth of *M. scaettiae* strains. The results show that

the *M. scaettiae* strain has an increased sensitivity to the different concentrations of essential oils studied. The rate of inhibition of mycelial growth reached 100% for *E. globulus* and *M. pulegium*, with MIC<sub>100</sub> values of 1.5 µl/ml and 0.5 µl/ml respectively. On the other hand, *R. chalepensis* essential oil showed reduced efficacy against *M. scaettiae*, with only 83.48 % inhibition of the pathogen's growth. However, a notable slowing of the pathogen's growth was observed.

These promising results open new perspectives for the development of biological control strategies against date palm inflorescence rot. These more environmentally friendly approaches have the potential to reduce dependence on synthetic fungicides and improve the sustainability of date production systems.

**Key words:** date palm, inflorescence rot, *Mauginiella scaettiae*, essential oils, antagonistic fungi, biological control, Biskra.

## Table des matières

TABLE DES MATIERES .....	I
LISTE DES FIGURES .....	VI
LISTE DES TABLEAUX .....	VIII
LISTE DES PHOTOS .....	IX
LISTE DES ABREVIATIONS .....	X
INTRODUCTION GÉNÉRALE .....	1
Chapitre I. Synthèse bibliographique .....	4
<b>I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>4</b>
I.1 PLANTE HOTE .....	4
I.1.1. Description morphologique du palmier dattier ( <i>Phoenix dactylifera L.</i> ) .....	4
I.1.2. Position systématique .....	5
I.1.3. Les exigences du palmier dattier .....	7
I.1.3.1. Exigences climatiques .....	7
I.1.3.2. Exigences édaphiques .....	9
I.1.3.3. Exigences agrologiques .....	9
I.1.4. Importance économique du palmier dattier en Algérie .....	10
I.1.5. Maladies du palmier dattier .....	10
I.2 MALADIE POURRITURE DE L'INFLORESCENCE (KHAMEDJ) .....	11
I.2.1. Introduction .....	11
I.2.2. Importance économique .....	11
I.2.3. Symptômes .....	12
I.2.4. Biologie d'agent pathogène .....	13
I.2.5. Moyens de lutte contre la pourriture de l'inflorescence .....	15
I.3 LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LA POURRITURE DE L'INFLORESCENCE .....	16
I.3.1. Lutte biologique par l'application des antagonistes .....	16
I.3.2. Lutte biologique par l'application des huiles essentielles .....	17
I.3.3. Quelques travaux antérieurs d'activités biologiques des huiles essentielles des trois espèces étudiées .....	18
Chapitre II. Matériel et Méthodes .....	20
<b>II. MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>20</b>
II.1 PRESENTATIONS DE LA REGION D'ETUDE .....	20

II.1.1. Données climatiques.....	21
II.1.2. Synthèse climatique.....	22
II.2 INVENTAIRE DE LA PROLIFERATION DE LA MALADIE POURRITURE DES INFLORESCENCES	23
II.2.1. Méthodologie du travail .....	23
II.2.1.1. Choix et présentation des sites d'enquêtes .....	23
II.2.1.2. Déroulement de l'enquête.....	25
II.2.1.3. Informations générales relatives à l'exploitation.....	25
II.2.1.4. Situation phytosanitaire de la palmeraie.....	25
II.2.1.5. Évaluation de la relation entre le degré de négligence des exploitations et le taux d'infection par la pourriture de l'inflorescence. ....	26
II.2.2. Rôle des précipitations dans l'émergence et la propagation de la maladie.....	26
II.2.3. Traitements des données : .....	27
II.3 ETUDE MYCOLOGIQUE.....	27
II.3.1. Isolement des souches (Méthode d'Ulster).....	27
II.3.2. Purification des isolats fongiques.....	28
II.3.3. Identification des isolats fongiques .....	28
II.3.4. Conservation des souches.....	30
II.3.5. Test de pathogénicité des isolats de <i>M. scaettiae</i> .....	30
II.3.5.1. Préparation de la suspension conidie.....	30
II.3.5.2. Ré-isolement du pathogène .....	30
II.4 LA TOXICITE DU FILTRAT DE <i>M. SCAETTAE</i> SUR LA VIABILITE DES GRAINS DU POLLEN DE DIFFERENTES VARIETES DU PALMIER DATTIER. ....	31
II.4.1. Présentation du matériel biologique utilisé .....	31
II.4.1.1. Matériel biologique végétal .....	31
II.4.1.2. Matériel biologique fongique .....	31
II.4.2. Préparation du filtrat de <i>M. scaettiae</i> .....	31
II.4.3. Appréciation du degré de toxicité de filtrat de culture de <i>M. scaettiae</i> sur la viabilité du pollen.....	32
II.4.3.1. Test de coloration .....	32
II.4.3.2. Test de germination .....	33
II.5 EFFET D'EXTRAITS DES SPADICES DE DIFFERENTES VARIETES SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE DE <i>M. SCAETTAE</i> .....	33
II.5.1. Dosage des sucres et des polyphénols totaux des spadices de différentes variétés du palmier dattier .....	34

II.5.1.1. Préparation des extraits.....	34
II.5.1.2. Détermination du PH .....	34
II.5.1.3. Dosage des sucres totaux .....	35
II.5.1.4. Dosage des polyphénols totaux .....	35
II.6 LUTTE BIOLOGIQUES CONTRE LA POURRITURE DES INFLORESCENCES .....	36
II.6.1. Lutte biologique par l'utilisation des agents antagonistes (Antagonisme in vitro contre <i>M. scaettae</i> ) .....	36
II.6.1.1. Agent antagoniste .....	36
II.6.1.2. Mise en évidence de l'activité antagoniste.....	37
II.6.1.3. Mise en évidence des propriétés fongicides ou fongistatiques .....	38
II.7 LUTTE BIOLOGIQUE PAR L'APPLICATION DES HUILES ESSENTIELLES DES PLANTES MEDICINALES .....	39
II.7.1. Matériel biologique .....	39
II.7.1.1. Matériel végétal .....	39
II.7.1.2. Matériel fongique.....	41
II.7.2. Méthodes du travail .....	41
II.7.2.1. Extraction des huiles essentielles.....	41
II.7.2.2. Calcul du rendement.....	41
II.7.2.3. Analyse par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC-MS).....	42
II.7.3. Évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles des différentes espèces étudiées sur la croissance mycélienne.....	42
II.7.3.1. Méthode du contact direct .....	42
II.7.4. Expression des résultats .....	43
II.7.4.1. Estimation de la croissance mycélienne .....	43
II.7.4.2. Evaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne .....	43
II.7.4.3. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) .....	44
II.7.4.4. Effet fongicide ou fongistatique .....	44
II.7.5. Analyse statistique.....	44
Chapitre III. Résultats et Discussion.....	45
<b>III. RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>45</b>
III.1 RESULTATS D'ENQUETE .....	45
III.1.1. Situation phytosanitaire des palmeraies .....	45

III.1.1.1. Prévalence de la pourriture de l'inflorescence .....	45
III.1.1.2. Variétés les plus vulnérables à la maladie .....	46
III.1.1.3. Moyens de lutte contre la maladie .....	47
III.1.1.4. Évaluation de la relation entre le degré de négligence des exploitations et le taux d'infection par la pourriture de l'inflorescence .....	48
III.1.2. Rôle des précipitations dans l'émergence et la propagation de la maladie .....	52
III.2 SYMPTOMES DE LA MALADIE .....	54
III.3 DIAGNOSTIC ET DETECTION DE L'AGENT PATHOGENE .....	55
III.4 TEST DE PATHOGENICITE .....	58
III.5 TOXICITE DU FILTRAT DE <i>M. SCAETTAE</i> SUR LA VIABILITE DES GRAINS DE POLLEN DE DIFFERENTES VARIETES DE PALMIERS DATTIERS .....	60
III.5.1. Test de coloration .....	60
III.5.2. Germination .....	61
III.6 EFFET DES EXTRAITS DE SPADICE DE DIFFERENTES VARIETES SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE DE <i>M. SCAETTAE</i> .....	62
III.6.1. Dosage des sucres et des polyphénols totaux des spadices de différentes variétés du palmier dattier .....	62
III.6.1.1. Détermination du PH .....	62
III.6.1.2. Dosage des sucres totaux .....	64
III.6.1.3. Dosage des polyphénols totaux .....	66
III.6.2. Effet des extraits sur la croissance mycélienne de <i>M. scaettæ</i> .....	68
III.7 MISE EN EVIDENCE DE L'ACTIVITE ANTAGONISTE .....	72
III.7.1. Confrontation directe sur milieu de culture entre <i>M. scaettæ</i> et les antagonistes .....	72
III.7.2. Mise en évidence des propriétés fongicides ou fongistatiques .....	77
III.8 DISCUSSION .....	77
III.9 LUTTE BIOLOGIQUE PAR L'APPLICATION DES HUILES ESSENTIELLES DES PLANTES MEDICINALES .....	81
III.9.1. Analyses des huiles essentielles .....	81
III.9.1.1. Rendement d'extraction .....	81
III.9.1.2. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles .....	83
III.9.1.3. Analyse par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC-MS) .....	84
III.10 ÉVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DES DIFFERENTES ESPECES ETUDIEES SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE .....	93

III.10.1. Estimation de la croissance mycélienne.....	94
III.10.2. Evaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne.....	96
III.10.3. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) .....	100
III.11 DISCUSSION .....	100
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	105
Références Bibliographiques .....	108
Annexes.....	132
Publications.....	139

## Liste des figures

Figure 1. Schéma du palmier dattier .	6
Figure 2. Les quatre types de racines	6
Figure 3. Inflorescences et fleurs du dattier	6
Figure 4. Situation géographique de la wilaya de Biskra	20
Figure 5. Diagramme Ombro-thèrmique de GAUSSEN de la région de Biskra (2009-2020).	22
Figure 6. Climagramme d'emberger de la région de Biskra (2009-2020)	23
Figure 7. Localisation des stations d'étude dans la région de Biskra	24
Figure 8. Taux de prévalence de la maladie dans les stations étudiées.	46
Figure 9. Variétés de palmiers dattiers les plus touchées par la pourriture de l'inflorescence.	46
Figure 10. Taux d'utilisation des fongicides	47
Figure 11. Utilisation de la lutte physique	48
Figure 12. Niveau d'entretien dans les exploitations enquêtées.	49
Figure 13. Degré de négligence	49
Figure 14. Taux d'infection en fonction de degré de negligence	51
Figure 15. Taux d'infection en fonction de niveau d'entretien des palmeraies	51
Figure 16. Précipitation moyenne mensuelle pour la période (2018-2020).	52
Figure 17. Humidité relative mensuelle de la région de Biskra à la période (2018-2020)	53
Figure 18. Taux des grains de pollen colorés.	60
Figure 19. Taux des grains de pollen germés.	61
Figure 20. Valeurs de PH des extraits aqueux de trois variétés étudiées.	63
Figure 21. Courbe d'étalonnage du glucose	64
Figure 22. Dosage des sucres totaux des trois variétés étudiées.	65
Figure 23. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	66
Figure 24. Dosage des polyphénols des trois variétés étudiées.	67
Figure 25. Taux d'inhibition (%) de <i>M. scaettiae</i> cultivé sur l'extrait des spadices de différentes variétés étudiées.	69
Figure 26. Evolution de la croissance mycélienne de <i>M. scaettiae</i> sur l'extrait des spadices de différentes variétés étudiées durant 10 jours d'incubation.	69
Figure 27. Diamètre des colonies après 10 jours d'incubation.	70
Figure 28. Evolution de la croissance mycélienne de <i>M. scaettiae</i> en confrontation directe avec les antagonistes pendant 10 jours d'incubation.	74

Figure 29. Diamètre des colonies de <i>M. scaettæ</i> après 10 jours d'incubation	75
Figure 30. Effet des antagonistes sur la croissance des isolats de <i>M. scaettæ</i>	75
Figure 31. Rendement d'extraction des huiles essentielles d' <i>E. globulus</i> , <i>M. pulegium</i> , et <i>R. chalepensis</i>	81
Figure 32. Principaux composés de l'huile essentielle d' <i>E. globulus</i>	86
Figure 33. Principaux composés de l'huile essentielle de <i>M. pulegium</i>	89
Figure 34. Principaux composés de l'huile essentielle de <i>R. chalepensis</i>	92
Figure 35. Croissance mycélienne de <i>M. scaettæ</i> en fonction des différentes concentrations de l'HE d' <i>E. globulus</i> .	94
Figure 36. Croissance mycélienne de <i>M. scaettæ</i> en fonction des différentes concentrations de l'HE de <i>M. pulegium</i> .	95
Figure 37. Croissance mycélienne de <i>M. scaettæ</i> en fonction des différentes concentrations de l'HE de <i>R. chalepensis</i> .	96
Figure 38. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>M. scaettæ</i> vis-à-vis de l'effet de l'HE d' <i>E. globulus</i> .	97
Figure 39. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>M. scaettæ</i> vis-à-vis de l'effet d'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i> .	98
Figure 40. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>M. scaettæ</i> vis-à-vis de l'effet d'huile essentielle de <i>R. chalepensis</i> .	99

## **Liste des tableaux**

Tableau 1. Données climatiques moyennes mensuelle de la région d'étude (2009-2020)	<b>21</b>
Tableau 2. Données cartographiques des stations étudiées	<b>24</b>
Tableau 3. Situation géographique des régions de prélèvement	<b>39</b>
Tableau 4. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles des plantes étudiées.	<b>83</b>
Tableau 5. Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>E. globulus</i>	<b>84</b>
Tableau 6. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>M. pulegium</i>	<b>88</b>
Tableau 7. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>R. chalepensis</i> L.	<b>91</b>
Tableau 8. CMI <sub>100</sub> en µl/ml des trois espèces étudiées vis-à- vis de <i>M. scaettae</i> .	<b>100</b>

## Liste des photos

Photo 1. Inflorescence infectée	13
Photo 2. <i>M. scaettæ</i> isolé à partir d'inflorescences infectés	14
Photo 3. Spathes infectées du palmier dattier	28
Photo 4. Les étapes de micro-culture	29
Photo 5. Dosage des polyphénoles à l'aide d'une plaque d'essai.	36
Photo 6. Vue macroscopique des agents antagonistes.	37
Photo 7. Vues générales des trois plantes étudiées	40
Photo 8. Symptômes de la pourriture de l'inflorescence.	55
Photo 9. Isolement de l'agent pathogène à partir de spathes présentant les symptômes typiques de la pourriture de l'inflorescence	55
Photo 10. Observation macro et microscopique de <i>M. scaettæ</i>	56
Photo 11. Symptômes de la pourriture de l'inflorescence provoqués par les souches de <i>M. scaettæ</i> sur les spathes, 4 jours après inoculation.	59
Photo 12. Réisolement du pathogène <i>M. scaettæ</i>	59
Photo 13. Aspect cultural des isolats de <i>M. scaettæ</i> sur l'extrait des spadices de différentes variétés étudiées après 10 jours d'incubation.	70
Photo 14. Confrontation directe de <i>M. scaettæ</i> contre les antagonistes	76
Photo 15. Effet fongicide des antagonistes contre <i>M. scaettæ</i> .	77
Photo 16. Photographie de la croissance mycélienne de <i>M. scaettæ</i> en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>E. globulus</i> après 7 jours d'incubation.	97
Photo 17. Photographie de la croissance mycélienne de <i>M. scaettæ</i> en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>M. pulegium</i> après 7 jours d'incubation.	98
Photo 18. Photographie de la croissance mycélienne de <i>M. scaettæ</i> en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>R. chalepensis</i> après 7 jours d'incubation.	99

## Liste des abréviations

**PDA** : Potato Dextrose Agar

**DN** : Deglet-Nour

**GH** : Ghars

**MD** : Mech Deglat

**T** : Témoin

**Nbr** : Nombre

**MF** : Matière fraîche

**HE** : Huile essentielle

*A. niger* : *Aspergillus niger*

*T. harzianum* : *Trichoderma harzianum*

*E. globulus* : *Eucalyptus globulus*

*M. peltigera* : *Menitha pulegium*

*R. chalepensis* : *Ruta chalepensis*.

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**ONM** : Office national de la météorologie

# *INTRODUCTION GÉNÉRALE*

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

Dans la région saharienne de l'Algérie, la culture du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), communément appelé dattier, représente l'une des principales activités agricoles. Ce palmier joue un rôle socio-économique crucial, en particulier dans les oasis du désert algérien, et constitue une source de revenus essentielle pour les habitants (Cheriet & Benziouche, 2012). La filière palmier dattier est également le deuxième secteur d'exportation du pays après les hydrocarbures (Abdelmalek, 2023). L'Algérie se distingue par plusieurs variétés de dattes, qui se caractérisent par leur valeur nutritionnelle et leur rendement élevé ; et parmi les plus importantes de ces variétés, on trouve la Deglet Nour (AlFaris et al., 2022).

Cependant, cette culture fait face à des défis majeurs, tels que les ravageurs, les maladies et les mauvaises herbes. Ces fléaux provoquent des pertes considérables dans la production et peuvent entraîner une érosion génétique (Dakhia et al., 2013a). L'un des pathogènes fongiques les plus redoutables est la pourriture de l'inflorescence, une maladie grave qui affecte à la fois les inflorescences mâles et femelles, et qui peut être épidémique dans les régions de culture les plus humides ou lors d'années très pluvieuses (Carpenter et al., 1978a). En général, les pertes de rendement liées à cette maladie varient entre 2% et 15%, mais elles peuvent dépasser 50 % à 80 % lors d'épidémies sévères (Alvani Pour et al., 2020; Bouhlali et al., 2021).

La pourriture de l'inflorescence, connue sous le nom de « Khamedj » en Afrique du Nord, est l'une des maladies les plus dévastatrices pour les palmiers dattiers dans les régions phoenicicoles du monde (Abdullah et al., 2005; Bouhlali et al., 2021; Hussain, 1958). Elle a également été documentée en Irak, en Egypte, en Arabie saoudite, en Italie, en Mauritanie, en Iran et en Tunisie (Al-Ani et al., 1971; Alvani Pour et al., 2020; Chabrolin, 1930; Hussain, 1958; Michael & Sabet, 1970; Munier, 1955).

Cette maladie est causée par le champignon *Mauginiella scaettiae*, découvert pour la première fois par Cavara en Libye en 1925 (Abdullah et al., 2005; Al-Ani et al., 1971; Hussain, 1958). Ce champignon imparfait se distingue par des conidies hyalines fragmentées en cellules unicellulaires ou bicellulaires (Abdullah et al., 2005; Bounaga & Djerbi, 1990).

Pour lutter contre cette maladie, des mesures classiques telles que l'élimination et l'incinération des parties infectées, ainsi que l'utilisation de fongicides, ont été adoptées (Carpenter et al., 1978a; Chabrolin, 1930). Cependant, l'utilisation de fongicides présente des

risques pour la santé humaine et l'environnement, justifiant la recherche d'alternatives plus durables.

En effet, de nombreuses recherches ont été menées pour trouver de nouvelles solutions de lutte contre les maladies causées par des agents pathogènes (Youssef et al., 2012). La lutte biologique apparaît comme une solution prometteuse, exploitant les propriétés antagonistes de certains micro-organismes, comme *Trichoderma* (Corkley et al., 2022; Dennis & Webster, 1971).

Cependant, aucune étude adéquate n'a été réalisée sur l'utilisation de la lutte biologique contre cette maladie, et certains micro-organismes antagonistes sont proposés pour contrôler ce pathogène, tels que *Trichoderma harzianum*, *Penicillium pinophilum* et *Pseudomonas fluorescens* (Elad et al., 1980). Des recherches récentes ont montré que l'application du pesticide composé de spores de *T. harzianum* réduisait l'incidence de la maladie. De plus, *Aspergillus* spp. a démontré des capacités antagonistes significatives, grâce à ses mécanismes de mycoparasitisme et de production de substances antimicrobiennes (Khan & Javaid, 2021).

Outre la lutte biologique classique, l'aromathérapie à base d'huiles essentielles apparaît également comme une alternative intéressante. Dans ce contexte, les extraits naturels de plantes médicinales, tels que les huiles essentielles, suscitent un grand intérêt en tant que moyen de lutte biologique, en raison de leur activité antimicrobienne, qui est liée à leur composition chimique et en particulier à la nature de leurs principaux composants volatils (Bouhlali et al., 2021; Caillet & Lacroix, 2007). Des études récentes ont mis en évidence les propriétés antifongiques de certaines plantes médicinales, telles que *Mentha pulegium*, *Ruta chalepensis* et *Eucalyptus globulus*, en raison de la composition chimique de leurs composants volatils (Belghazi et al., 2002). Ces essences ont historiquement été utilisées pour leurs propriétés antiseptiques, anticholériques, antispasmodiques, antituberculeuses, antifongiques, insecticides, antiparasitaires, antioxydantes, dépressives et anti-inflammatoires. Elles pourraient constituer une solution efficace contre la pourriture de l'inflorescence (Aouadhi et al., 2013; Marzouk et al., 2008a; Mejri et al., 2012; Merghache et al., 2009; Teixeira et al., 2012).

Dans ce contexte, étant donné l'importance économique, sociale et environnementale du palmier en Algérie, ainsi que le manque d'études sur la pourriture de l'inflorescence, et afin de contribuer à clarifier certains aspects de cette maladie et de trouver des moyens de la contrôler, cette étude vise à évaluer l'efficacité des antagonistes fongiques et des huiles essentielles dans la lutte contre la pourriture de l'inflorescence du palmier dattier. Elle s'appuie sur une prospection visant à déterminer le taux d'infection de certaines variétés de palmiers dans différentes zones de Biskra, décrire les symptômes et la pathogénicité de la maladie, puis à évaluer la toxicité du pathogène sur les grains de pollen et de la sensibilité des plantes en fonction de la composition phénolique et sucrée des spadices.

Ce travail est divisé en deux parties principales : une partie bibliographique traitant du palmier dattier et de la pourriture de l'inflorescence (Khamedj), et une partie expérimentale exposant les méthodologies utilisées, les résultats obtenus, et leur discussion. Enfin, une conclusion et des perspectives futures viennent compléter cette étude.

## *Chapitre I.*

# *Synthèse bibliographique*

## I. Synthèse bibliographique

### I.1 Plante hôte

#### I.1.1. Description morphologique du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.)

Le palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L. a été dénommé par LINNEE en 1753, qui en a donné une description morphologique complète. Phoenix dérive de phœnix le nom du palmier dattier chez les grecs de l'antiquité, et dactylifera vient du latin dactylus dérivé du grec daktulos. *Phoenix dactylifera* indique le doigt en référence à la forme du fruit (Djerbi, 1994).

Le palmier constitue un élément essentiel de l'écosystème oasien en raison de sa capacité notable d'adaptation aux conditions climatiques, de la qualité nutritionnelle de ses fruits et de la multi-utilisation des produits qui en sont issus (Toutain et al., 1989).

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est une plante arborescente monocotylédone à tronc en forme monopode. Le tronc est constitué de faisceaux libéro-ligneux ; les vaisseaux conducteurs ont des cloisons terminales avec des perforations scalariformes (Figure 1). Le jeune palmier est doté d'un cambium extra-fasciculaire au niveau du méristème qui a pour rôle d'élargir le tronc. Ce développement de structures cellulaires lui donne sa taille finale, puis il se réduit à néant par la suite. Il possède un seul bourgeon terminal sur toute sa longueur. Le stipe est régulièrement garni de traces de vieilles palmes (Wertheimer, 1956).

Le système racinaire (Figure 2) est composé d'une racine primaire unique et temporaire et de racines secondaires minces, longues, obliques mais généralement intégrées dans un amas spongieux de racines mortes (Munier, 1973).

Djerid (les palmes) sont attachés à la tige en spirales étroitement enroulées, avec une base de feuille proéminente (cornaf) qui est recouverte d'un matériau fibreux appelé life. Le pétiole, également appelé rachis, a une forme semi-cylindrique et est hérissé à la base et dur, ce que l'on appelle (chouque). Le limbe semble d'abord froissé et entier au début de la croissance, mais il se développe ensuite et se divise en folioles. La nervation de la feuille suit un schéma penné. Le limbe de la foliole, caractérisé par une cuticule substantielle, présente systématiquement une texture de cuir et est recouvert d'une délicate couche de cire. La nervure de chaque foliole est proéminente sur la face inférieure ; les folioles sont dupliquées.

Les palmes peuvent avoir une longueur de 2 à 6 m et une durée de vie de 3 à 7 ans. Chaque arbre a généralement une portée estimée entre 50 et 200 (Toutain, 1967).

Les palmiers dattiers sont des plantes dioïques qui se distinguent par leurs inflorescences en forme d'épis (Figure 3). Les fleurs sessiles sont disposées à l'apex le long d'un axe succulent et ramifié. La collection est entourée d'une enveloppe protectrice appelée spathe. Les fleurs mâles sont composées de six étamines qui subissent une déhiscence interne. Les fleurs femelles comprennent généralement un ovaire composé de trois carpelles différents, chacun contenant un ovule anatrophe à axe basilaire ( $2n = 36$ ), Un petit nombre d'ovules sont abortés, avec chacun un ovule par fleur fécondé, ce qui entraîne la formation d'un seul carpelle. Le parfum des fleurs mâles ressemble de façon perceptible à celui de l'anis. Les fleurs femelles n'ont pas d'odeur perceptible (Munier, 1974, 1981; Peyron, 2000).

Le fruit est classé parmi les baies. Le mésocarpe est composé de tissus fibreux et charnus, tandis que l'endocarpe, qui est relié à la graine, est constitué d'une fine membrane.

La graine contient un embryon rond ainsi qu'un albumen collant constitué de matière cellulosique (Djerbi, 1994).

Le palmier dattier a une fécondation obligatoirement croisée et les individus d'un même groupe ne produisent souvent pas de fleurs simultanément. Le *Phoenix dactylifera* qui présente une forte diversité génétique, a la capacité de produire des ramifications (appelées djebab) près de la base de la tige. Chaque rejet planté donne naissance à un palmier dattier aux caractères identiques à ceux de la plante mère, contrairement au semis (Munier, 1973; Peyron, 2000; Toutain, 1967).

### I.1.2. Position systématique

La classification systématique de cette espèce est comme suit (Daher Meraneh, 2010; Moore, 1973) :

Règne : Plantae

Embranchement : Angiosperme/ Magnoliophida

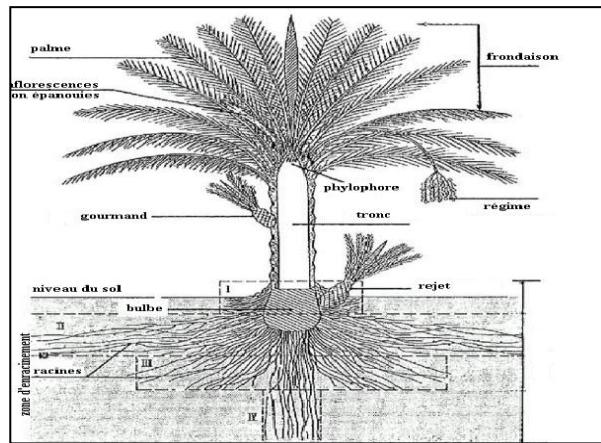
Classe : Monocotyledone /Lilopsida

Ordre : Arecales

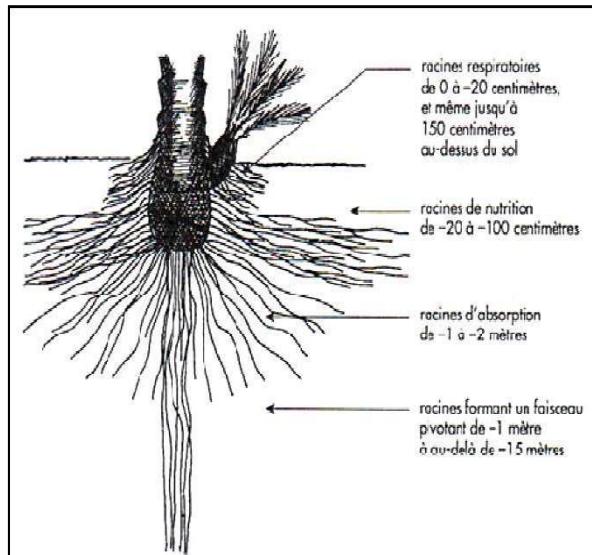
Famille : Palmacées/Arecaceae

Genre : *Phoenix*

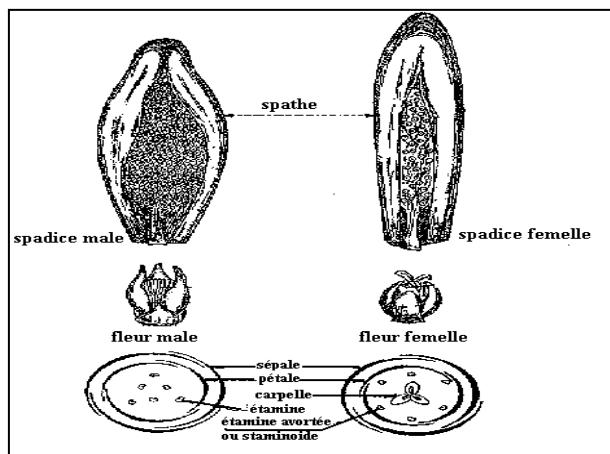
Espèce : *Phoenix dactylefera* L.



**Figure 1.** Schéma du palmier dattier (Munier, 1973)



**Figure 2.** Les quatre types de racines (Peyron, 2000)



**Figure 3.** Inflorescences et fleurs du dattier (Munier, 1973)

### I.1.3. Les exigences du palmier dattier

#### I.1.3.1. Exigences climatiques

Le palmier dattier a besoin d'un certain type de milieu pour sa croissance et surtout pour la maturation de ses fruits. L'aire de répartition géographique de cette espèce fruitière est élucidée par ces exigences (GIRARD, 1962). Cette plante est une espèce thermophile cultivée dans des régions chaudes et sèches. Il a besoin d'une période de 5 à 7 mois, allant de la pollinisation à la récolte, caractérisée par des étés chauds, sans précipitations ou humidité excessive. Bien qu'elle présente une bonne tolérance à la sécheresse, cette plante a des besoins élevés en eau d'irrigation pour se développer et atteindre un rendement optimal (Peyron, 2000).

La température minimale requise pour la croissance de la végétation (le zéro de végétation) est supérieure à 10 °C. À une température initiale de 32 °C, l'activité biologique atteint un état stable à son niveau optimal. La plante présente une grande tolérance aux températures extrêmes pendant l'été, supportant des températures maximales de 56 °C pendant plusieurs jours sans effets négatifs apparents, même lorsqu'elle est suffisamment arrosée par l'irrigation ou par des sources d'eau souterraines. Les basses températures pendant la fécondation peuvent entraîner toute une série de conséquences négatives, notamment la mort des organes floraux, une maturation inadéquate du pollen et l'avortement des fleurs. En général, les températures comprises entre 10 et 40°C sont optimales pour la croissance des plantes (Ben Abdallah, 1990).

Le palmier est une plante héliophile, c'est-à-dire qu'il prospère dans des conditions de luminosité élevée qui favorisent la photosynthèse et la maturation des dattes.

Par ailleurs, les précipitations dans les régions sahariennes sont insuffisantes pour répondre aux besoins des palmiers dattiers. En revanche, si les pluies surviennent au moment de la fécondation des fleurs et de la maturation des dattes, elles stimulent également l'émergence de maladies fongiques, provoquent l'avortement et diminuent l'efficacité du pollen. elles entraînent aussi la déchirure du péricarpe et provoquent la chute des fruits (Peyron, 2000).

D'autre part, le taux d'humidité optimal est d'environ 48 à 52 % d'humidité relative. Quant à la récolte des dattes, elle est optimale dans les endroits où l'humidité relative est faible, souvent de l'ordre de 15 à 20 %. Une humidité élevée, en revanche, entraîne la pourriture des inflorescences pendant la floraison et a un impact négatif sur la qualité des dattes pendant la phase de maturation, ce qui donne des fruits pâteux et collants (Munier, 1973). De plus, lorsque l'humidité est faible, les fruits perdent beaucoup de leur fraîcheur, notamment en cas de brises chaudes et sèches (Ch'hili). En outre, il est largement reconnu que les palmiers présentent une résistance aux vents qui transportent généralement du sable et des poussières minérales. Lorsque ces vents sont doux, ils facilitent le processus de pollinisation. Néanmoins, ils peuvent également avoir un impact négatif sur l'état des fruits, entraînant la chute des fruits, la perforation, la dessiccation et la brûlure des dattes. Ils peuvent également provoquer la rupture des tiges des régimes et des palmiers (Toutain, 1967).

Les palmiers dattiers présentent une grande résistance au vent, mais les effets du vent peuvent être à l'origine de divers incidents. Lorsque le vent est doux au printemps, il est favorable à la pollinisation. Cependant, lorsque le vent devient fort, il transporte le pollen, et entraîne alors la chute des fruits et la rupture des tiges. Les fruits sont alors endommagés, de la nouaison à la maturation. Elles peuvent également poser un problème lors de la récolte, tant en termes de main-d'œuvre que d'hygiène en particulier pour les dattes semi-tendres et tendres. Cependant, les rafales de vent brûlantes et desséchantes sont les plus dangereuses, car elles provoquent des brûlures ; les dattes sont saisies et mûrissent prématurément ; les fruits peuvent être ridés et, par conséquent, perdre de leur valeur. Dans les régions arides, le vent dépose de la poussière sur les palmiers, alors que les pluies hivernales ont un impact positif en nettoyant les feuilles et en améliorant leurs capacités respiratoires, transpiratoires et photosynthétiques (Toutain, 1967).

### **I.1.3.2. Exigences édaphiques**

Le palmier-dattier a une existence très marquée et cyclique. Il est cultivé dans des zones désertiques extrêmement chaudes, caractérisées par les températures maximales les plus élevées du monde, des précipitations atmosphériques minimales, des vents fréquents, une forte évaporation et une faible humidité. Pour obtenir une croissance substantielle des plantes dans un environnement sec, il est nécessaire de fournir une irrigation abondante, dont la quantité est influencée par divers facteurs, notamment le type de sol, la qualité de l'eau d'irrigation, la protection contre le vent, la densité de plantation et la présence d'autres cultures en contrebas. La complexité de ces paramètres pose des problèmes pour déterminer avec précision le volume d'eau nécessaire à la subsistance et à la culture des palmiers-dattiers. Les doses d'irrigation nécessaires à la phoeniciculture sont fortement influencées par le climat, ainsi que par d'autres facteurs environnementaux tels que l'altitude, le type de sol, la présence d'eau souterraine, la nature de l'eau d'irrigation et la position géographique. Ces facteurs peuvent modifier l'importance des volumes d'irrigation nécessaires. Lorsque le palmier dattier n'est plus en mesure de satisfaire ses besoins en eau, il diminue considérablement sa productivité, notamment en termes de surface foliaire. Un palmier en manque d'eau présente une diminution de la hauteur de son bouquet central et une diminution de l'épaisseur de la partie supérieure de son stipe. L'eau saline est souvent présente dans les systèmes d'irrigation en Afrique du Nord. Les palmiers dattiers présentent une grande tolérance à ce type d'eau (Peyron, 2000).

### **I.1.3.3. Exigences agrologiques**

Le palmier-dattier s'adapte à divers types de sols, avec une préférence marquée pour les sols neutres, plus ou moins profonds, à la porosité modérée et humidité constante. Il peut également prospérer dans des sols alluviaux comprenant une teneur importante en argile, à condition qu'ils soient bien drainés et bien aérés. Si les sols salés sont correctement irrigués et drainés, il peut y résister. Cependant, il ne prospère pas dans les sols argileux denses. Au contraire, les sols ayant une excellente rétention d'eau et un drainage efficace sont très favorables à la phoeniciculture. Un développement optimal et un rendement supérieur ne peuvent être atteints que lorsque le sol permet l'infiltration de l'eau à une profondeur allant de 2 à 2,50 mètres. Les palmeraies de qualité supérieure sont généralement situées dans des zones où le sol est constitué d'un limon sableux profond.

Le palmier-dattier a besoin d'un climat chaud, aride et ensoleillé de type saharien, d'une source d'eau fiable et d'un sol neutre, profond et bien drainé qui soit naturellement fertile ou qui puisse être enrichi d'engrais pour prospérer et produire des fruits de manière efficace (Munier, 1973).

#### **I.1.4. Importance économique du palmier dattier en Algérie**

En Algérie, le palmier dattier est cultivé dans les oasis sur une superficie de 167 279 hectares et sa répartition varie d'une province à l'autre. La principale superficie est celle des wilayas de Biskra (43 105 ha) et d'El-Oued (37 070 ha). Son aire de culture se répartit de la frontière ouest marocaine à la frontière est tuniso-libyenne, ainsi que de l'Atlas saharien dans le nord jusqu'à Reggane (sud-ouest), Tamanrasset (centre), et Djanet (sud-est). Les palmeraies se situent avant les régions sahariennes, puisqu'on les trouve également dans le domaine steppique.

Les vraies palmeraies se trouvent sur le versant sud de l'Atlas Saharien, à l'est des palmeraies de Biskra, au centre des palmeraies de M'zab et à l'ouest des palmeraies de Beni Ounif. La frontière méridionale de la palmeraie algérienne est représentée par l'oasis de Djanet (Babahani & Bouguedoura, 2009).

Selon les statistiques du ministère de l'Agriculture et du Développement rural (MADR, 2019) la wilaya de Biskra englobe la grande portion, avec plus de 4 336 358 pieds ensuite il y a El-oued, Adrar, Ouargla, Bechar et Ghardaia, respectivement avec 3 835 630 pieds, 3 798 965 pieds, 2 590 185 pieds, 1 639 862 pieds et 1 262 510 pieds.

Les chiffres soulignent également que la variété Deglet-Nour domine par plus de 7 238 881 pieds, soit 38,75% de l'ensemble d'arbres des dattes.

#### **I.1.5. Maladies du palmier dattier**

La culture du palmier dattier rencontre d'immenses difficultés notamment les ravageurs et les maladies. Ils provoquent des déficiences considérables dans la production et peuvent également conduire à l'érosion génétique (Dakhia et al., 2013b). Parmi les maladies qui infectent les palmiers dattiers, citons : Le Bayoud, La pourriture de l'inflorescence (Khamedj), La pourriture du Coeur à *Thielaviopsis* (Mejnoun), La pourriture du bourgeon à *Phytophthora* sp. (Blaat), Maladie des fruits, Maladies à dépérissement (Bounaga & Djerbi, 1990).

La pourriture de l'inflorescence qui fait l'objet de la présente étude est une maladie grave qui peut être épidémique dans les régions de culture les plus humides ou lors d'années très pluvieuses. Cette maladie a été détectée dans presque toutes les régions productrices de dattes (Carpenter & Elmer, 1978)

Dans les paragraphes suivants, nous ferons une étude bibliographique de cette maladie.

## **I.2 Maladie pourriture de l'inflorescence (khamedj)**

### **I.2.1. Introduction**

La pourriture de l'inflorescence du palmier dattier, également connue sous le nom de "Khamedj" en Afrique du Nord, est généralement due au fongus *Mauginiella scaettae*, dont Cavara a signalé l'existence pour la première fois en Libye en 1925. Elle fait partie des maladies les plus graves qui affectent les palmiers dans de nombreuses régions du monde productrices de palmiers, en particulier dans les régions les plus humides et chaudes ou dans des régions où les fortes pluies sont abondantes de 2 à 3 mois avant l'émergence des spathes. On la retrouve dans les régions productrices de dattes d'Afrique du Nord, mais aussi en Egypte, en Irak, en Italie, en Mauritanie, en Arabie Saoudite et en Tunisie. Elle devient épidémique dans les cas où ces facteurs se rencontrent. La maladie affecte aussi bien les inflorescences femelles que les inflorescences mâles. On constate que chaque inflorescence infectée est systématiquement perdante. Les dommages peuvent atteindre 40 % de la production. En effet la maladie peut se manifester à nouveau chaque année sur le même palmier à la même intensité (Abdullah et al., 2005; Al-Ani et al., 1971; Bounaga & Djerbi, 1990; Chabrolin, 1930; Hussain, 1958; Michael & Sabet, 1970; Munier, 1955). Par ailleurs, Dakhia et al. (2013) a constaté que la variété Deglet Noor est plus sensible à cette maladie.

### **I.2.2. Importance économique**

Bien que parasitaire, le Khamedj paraît peu contagieux et, dans les jardins normalement cultivés, il n'affecte qu'un petit nombre d'arbres, souvent toujours les mêmes. La proportion d'arbres portant des inflorescences malades est assez souvent de l'ordre de 5 %. Elle peut atteindre 10 % sur des terres fortes et humides. Par contre, quand il n'y a pas de pluie pendant la floraison, le pourcentage peut être bien plus faible. En tout état de cause, elle est considérée comme la plus grave des maladies du palmier-dattier dans la région de Biskra et ne peut être ignorée (Chabrolin, 1930).

En effet, l'aire de répartition géographique du Khamedj est considérable. Elle a été déclarée au Djerid (sud de la Tunisie), dans différents oasis du sud de l'Algérie et dans les oasis du sud du Maroc. Il s'agit d'une maladie très fréquente des palmiers dattiers. Le Khamedj ne paraît pas avoir été signalé jusqu'ici dans les autres pays cultivant le dattier, mais on ne saurait encore en conclure qu'il ne s'y rencontre pas. D'ailleurs, son existence dans les vieux centres de culture du Dattier de l'Ancien Monde paraît au contraire très vraisemblable (Carpenter et al., 1978b; Dakhia et al., 2013b).

### I.2.3. Symptômes

La maladie apparaît lorsque les spathes débutent à apparaître entre la fin de l'hiver et le début du printemps. Au début, les spathes affectées se distinguent à peine des spathes normales. Sur la spathe non ouverte, des zones brunâtres ou rouillées se développent tandis que le champignon a déjà envahi les tissus floraux. Les lésions peuvent être confluentes et sont plus fréquentes près du sommet de la spathe qui, au moment de l'infection, est molle et encore cachée dans la base de la feuille. La face interne de la spathe, sous les lésions, est jaune et translucide et peut présenter des points bruns correspondant aux points de contact avec les fleurs malades.

Le champignon attaque les fleurs et les rameaux et peut se déplacer sur le pédoncule de l'inflorescence (Photo 1). Les spathes, gravement endommagées lorsqu'elles sont jeunes, peuvent rester fermées ; Cependant, la spathe se fissure généralement, laissant apparaître des dommages sur une partie ou sur la totalité des fleurs et des brins. Typiquement, certains palmiers infectés développent des symptômes chaque année, alors que d'autres palmiers de la même plantation ne présentent des symptômes dans les inflorescences qu'occasionnellement, même en cas de conditions propices au développement de la pathologie (Carpenter & Elmer, 1978).



a : inflorescence femelle infectée,

b : Infection sévère d'une spathe mâle non ouverte

**Photo 1.** Inflorescence infectée (Abdullah et al., 2010)

#### I.2.4. Biologie d'agent pathogène

Le champignon *M. scaettae*, de l'ordre des champignons imparfaits et des hyphes, est à l'origine de cette maladie. Elle est également causée par une autre moisissure, le *Fusarium moniliforme*. Encore plus rarement, *Thielaviopsis paradoxa* peut provoquer la pourriture des inflorescences (Bounaga & Djerbi, 1990; Munier, 1973).

Ce champignon forme en culture pure un mycélium de couleur blanche qui produit des fructifications conidiennes abondantes sous forme d'une couche poudreuse blanche. En effet, ces fructifications sont formées par des chaînes de conidies hyalines dont la fragmentation se fait en articles unicellulaires ou bicellulaires, et très rarement pluricellulaires (Djerbi, 1983).

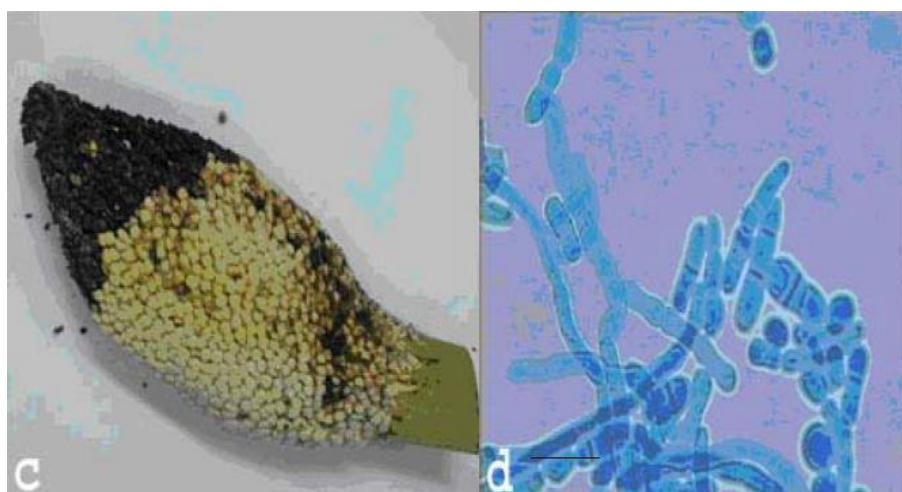
Dans les premiers stades, le champignon infecte les jeunes fleurs mais se propage rapidement au pédoncule de l'inflorescence, à la spathe, et même à la base des feuilles vertes. Les conidies sont à parois fines, ont une durée de vie courte et ne peuvent pas survivre aux températures estivales élevées (Alhassen & Waleed, 1977). Il est évident que le champignon survit sous forme de mycélium dans du bois en décomposition (spathes, tiges d'inflorescence ou bases de feuilles) qui sert de source primaire d'inoculum pendant les épidémies de la maladie à la fin de l'hiver ou au début du printemps (Carpenter & Elmer, 1978).

Sur l'hôte : le pathogène apparaît sous la forme d'une croissance mycélienne duveteuse sur les jeunes fleurs, spathes ou les bases des feuilles, puis se transforme en masse poudreuse en raison de la production de spores.

Mycélium intercellulaire de 3 à 4,5 cm de large, ramifié, à parois minces, court-circuité. Mycélium externe ou aérien 3 à 6 mm de large, ramifié, septé, à parois minces. Les conidies sont produites par segmentation des hyphes aériens, unicellulaires ou multicellulaires, jusqu'à 128  $\mu\text{m}$  de long, et 5 à 16  $\mu\text{m}$  de large, généralement avec 1 à 6 (rarement jusqu'à 13) septa et ont une paroi subhyaline, ferme, jusqu'à 1  $\mu\text{m}$  d'épaisseur (photo 2).

En culture : croissance lente, recouvrant 3 cm (sur Malt Agar) et 3,6 cm (sur PDA) à 24° C en 7 jours à partir d'un inoculum central, blanc cotonneux à l'état jeune, devenant poudreux après la sporulation ; zone de progression étroite (1 mm) mais distincte ; revers inchangé ; odeur non particulière ; test à l'oxydase non concluant (faible coloration brune).

Hyphes (aériens et submergés) 3-5,5  $\mu\text{m}$  de large, ramifiés, septés, à parois minces. Conidies abondantes et similaires à celles produites sur l'hôte.



c. Spathe mâle ouverte et infectée. d. Arthroconidies en chaînes.

**Photo 2.** *M. scaettae* isolé à partir d'inflorescences infectés (Abdullah et al., 2010)

Selon Rattan & Al-Dboon (1981), la température optimale de croissance est de 20 °C, au-delà de laquelle le diamètre du tapis fongique atteint 3,2 cm.

### **I.2.5. Moyens de lutte contre la pourriture de l'inflorescence**

Afin de lutter contre la maladie, diverses méthodes de contrôle physiques et/ou chimiques (fongicides) ont été adoptées.

#### ➤ **Lutte physique**

La gestion culturale et sanitaire fait partie des principales mesures de lutte contre cette maladie. Une bonne hygiène est la première étape de la lutte contre le khamedj. Après la récolte, toutes les parties malades de l'inflorescence doivent être ramassées et brûlées immédiatement après la récolte, et dans tous les palmiers, les vieilles tiges florales et les spathes doivent être coupées aussi complètement que possible et retirées de la plantation. Les fongicides doivent être appliqués immédiatement après la récolte sur les anciennes zones de floraison des palmiers malades, et au début du printemps sur la nouvelle zone de floraison, juste avant l'émergence des spathes (Abdullah et al., 2010; Carpenter & Elmer, 1978). Michael & Sabet (1970) ont souligné que l'assainissement, qui consiste à enlever les vieilles feuilles, les bases des feuilles et les inflorescences, et l'application de fongicides, devraient être organisés sur une base communautaire pour une lutte vraiment efficace.

#### ➤ **Lutte chimique**

En outre, Chabrolin (1930) affirme que l'application d'un mélange concentré de chaux et de soufre, ou encore la dispersion d'une combinaison de sulfate de cuivre et de chaux, principalement sous forme de poudre permet de lutter efficacement contre ce pathogène.

Par ailleurs, Al-Ani et al. (1971) ont obtenu de bons résultats contre le khamedj avec une pulvérisation de Tuzet administrée entre novembre et janvier en Irak. De même dans les oasis côtières du Sinaï, les fongicides Cupravit et Du-Ter ont été les plus efficaces lorsqu'ils ont été appliqués à trois reprises après la récolte, en décembre et en janvier-février. Les couronnes des palmiers peuvent également être désinfectées avec 3 % de dichlone ou 4 % de thirame à raison de 8 litres par palmier (Abdullah et al., 2010; k k Alhassen & Waleed, 1977). Dans une expérience à petite échelle menée par Al-Yaseri et al. (2011) entre 2003 et 2005, le fongicide Score 250 EC s'est avéré être le plus efficace contre *M. scaettae* sur les palmiers dattiers. Les résultats d'Al-fadhal & Sharif (2013) ont montré que le fongicide Score 250 EC (Difenoconazole) était plus efficace pour inhiber la croissance de pathogènes *M. scaettae*, avec un taux d'inhibition de 93,7 %.

De nombreux fongicides ont été utilisés pour lutter contre la maladie Khamedj, tels que Derosoal, Brestan, Benlate et Bavistin (Dennis & Webster, 1971; Elad et al., 1980). De plus, Fayyadh & Al-Badran (2012) ont également signalé que les pesticides Fungal Thiobedazol, Thrim, Thiophonatemethyl, Propiconazole et Tridemorph étaient efficaces contre cette maladie.

### **I.3 Lutte biologique contre la pourriture de l'inflorescence**

#### **I.3.1. Lutte biologique par l'application des antagonistes**

En Algérie, aucune expérience de terrain n'a été réalisée sur l'utilisation du biocontrôle pour lutter contre la maladie de Khamedj. Ce moyen de lutte est principalement basé sur l'exploitation de l'antagonisme de certaines espèces fongiques telles que *Trichoderma harzianum*, *Penicillium pinophilum* et *Pseudomonas fluorescens* (Dennis & Webster, 1971; Elad et al., 1980; M. Fayyadh & Al-Badran, 2012). Une grande attention a été accordée aux micro-organismes antagonistes pour réduire les populations de pathogènes. Les *Aspergillus* spp. sont des agents de lutte biologique importants en raison de leur activité antagoniste, qui dépend de leurs mécanismes d'action durant l'antagonisme, que ce soit par la lyse mycéienne (le mycoparasitisme) ou par la synthèse de substances volatiles ou non volatiles (l'antibiose) (Khan & Javaid, 2021). L'effet antagoniste des espèces d'*Aspergillus* est dû à leur capacité à produire une large gamme de mycotoxines, notamment l'aflatrem, l'aflavinine, l'acide kojique, le flavocol, l'acide aspergillique, l'aspertoxine, l'acide cyclopiazonique, la paspallinine et les aflatoxines (Okoth et al., 2018). L'une des espèces d'*Aspergillus* généralement utilisées pour le biocontrôle est *Aspergillus niger*, qui peut produire des mycotoxines telles que l'ochratoxine, la fumonisine et l'aflatoxine (Perrone et al., 2007; Putri et al., 2020).

Plusieurs chercheurs ont également affirmé que *T. harzianum* avait la capacité de lutter contre les agents pathogènes des plantes. Cette propriété d'inhibition de la croissance des champignons pathogènes est attribuée à la capacité de produire des antibiotiques tels que le trichodermol, la trichodermine et la gliotoxine, ou à la production d'enzymes qui dégradent les cellules fongiques telles que les glucanases et les chitinases ou à la capacité du champignon de parasiter directement les cellules hôtes (Markovich & Kononova, 2003; Shalini & Kotasthane, 2007).

Fayyadh & Al-Badran (2012) ont révélé que le taux d'infection par le pathogène a diminué considérablement après la pulvérisation des spores de *T. harzianum*, ils ont enregistré 62,8% avant le traitement, tandis que le taux est diminué après la pulvérisation jusqu'à 15,1 %.

Les études de Sharif et al. (1988) ont donné des résultats similaires. Ils ont affirmé que les champignons *T. harzianum* et *P. pinophilum* ont une importante capacité à inhiber la croissance du champignon *M. scattae*, comme il a été constaté par Al-Chougiri (2005) que l'utilisation du pesticide Bicont, composé de spores du champignon *T. harzianum*, a réduit l'incidence de la maladie *in vivo*.

### **I.3.2. Lutte biologique par l'application des huiles essentielles**

En plus de l'approche traditionnelle de la lutte contre les maladies biologiques, la phytothérapie, qui implique l'utilisation d'huiles essentielles, offre un moyen intéressant de protéger les vergers biologiques, en particulier contre les infections fongiques.

Bien que les huiles essentielles présentent des propriétés antifongiques importantes qui ont déjà été testées sur certains champignons, l'aromathérapie est moins utilisée dans l'agriculture. De nombreux essais *in vivo* ont été réalisés sur des méthodes alternatives à l'utilisation de fongicides biologiques, telles que la phytothérapie et l'isothérapie. Les connaissances sur l'effet de ces préparations sont essentiellement empiriques et ne peuvent être appliquées à l'échelle pratique.

Depuis quelques années, les travaux de recherche se sont focalisés sur les effets des composés antifongiques issus des plantes aromatiques et médicinales (Bouhlali et al., 2021; Caillet & Lacroix, 2007).

Ainsi, les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature appartiennent à la famille des Labiéées (thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge), des Myrtacées (Eucalyptus), des Rutacées (*Ruta chalepensis*, Citrus), des Lauracées (*Nerium*) et des Astracées (*Cammomille*, *Anula*) (Merghem, 2009).

En effet, les huiles essentielles sont capables d'inhiber la germination des spores, la croissance du mycélium, la sporulation et la synthèse de toxines, en agissant sur un très grand nombre de champignons (Merghache et al., 2009).

### I.3.3. Quelques travaux antérieurs d'activités biologiques des huiles essentielles des trois espèces étudiées

Concernant l'effet des huiles essentielles sur le phytopatogène *M. scaettae*, aucune étude n'a été menée. En revanche, de nombreuses études ont été réalisées pour déterminer l'activité biologique des huiles essentielles des trois espèces étudiées. Ces études ont permis de constater que les huiles essentielles étudiées ont des propriétés antifongiques très importantes.

Parmi les propriétés biologiques et antifongiques étudiées, on peut citer les huiles essentielles de *R. chalepensis* communément appelée fidjel en Algérie. C'est une espèce qui pousse spontanément dans les rocailles, les pelouses, les rochers et les collines sèches (Beniston & Beniston, 1984). Cette espèce a des feuilles ovales, grandes, pennées, bleu-vert, avec de nombreux lobes oblongs lancéolés. Elle présente une inflorescence en forme de cyme (Daoudi et al., 2016). L'huile essentielle de *R. chalepensis* présente une activité antifongique significative contre les champignons *A. niger*, *A. flavus*, *Alternaria* sp., *Trichoderma* sp., *F. oxysporum*, *B. cinerea* et *C. albicans* (Aouadhi et al., 2013; Bergheul, 2018; Bnina et al., 2010). Sharma & Tripathi (2006) ont montré que les huiles essentielles provoquaient la dégénérescence des hyphes fongiques qui semblaient vides de leur contenu fongique et de leur cytoplasme, et une perte de rigidité et d'intégrité de la paroi cellulaire.

Sur la base de leurs propriétés microbiologiques et antifongiques, il a été déterminé que les huiles essentielles de *M. pulegium* contiennent divers composés naturels ayant une activité biologique (Belghazi et al., 2002). *M. pulegium* est largement répandue partout dans le monde, en particulier en Europe, au Moyen-Orient, en Asie et en Afrique du Nord. Historiquement, elle était utilisée pour ses propriétés antiseptiques, anticholériques, antituberculeuses et anti-inflammatoires. En outre, l'huile essentielle a des propriétés antifongiques, insecticides, antiparasitaires, antispasmodiques et antioxydantes (Marzouk et al., 2008b; Teixeira et al., 2012).

En revanche, Hmiri et al. (2011) ont constaté que 10 µl d'huile de *M. pulegium* éliminaient complètement la croissance des mycéliums de deux champignons *Alternaria alternata* et *P. expansum*. Hmiri et al. (2013) ont confirmé ces résultats et démontré que *A. alternata* était plus sensible tandis que *P. expansum* et *B. cinerea* étaient totalement inhibés. Hajlaoui et al. (2009) ont mentionné l'activité antifongique intéressante de cette huile contre *F. oxysporum*, *Trichoderma* sp., *A. flavus*, *A. niger*, *F. culmorum*, et *B. cinerea*.

Le même résultat a été enregistré par Uwineza et al. (2018) qui ont démontré une suppression totale de la croissance fongique de *F. culmorum*. En effet, la puissante efficacité fongicide des huiles essentielles de *M. pulegium* peut être corrélée à la teneur élevée en composés monoterpéniques oxygénés et à l'effet synergique avec des composés mineurs.

De nombreuses études ont montré que les composants chimiques de *M. pulegium*, y compris les phénols (carvacrol, octanol, etc.), les aldéhydes et les cétones (camphre, etc.), ainsi que les alcools (terpinen-4-ol, terpineol), sont reconnus pour être des agents antibactériens efficaces (Celiktas et al., 2007). En outre, même à de faibles concentrations, l'impact synergique observé avec le carvacrol et le thymol fournit un large spectre d'activité antimicrobienne (Didry et al., 1993). Lucini et al. (2006) ont d'ailleurs démontré que le camphre, le 1,8 -cinéole, le linalol et le menthol sont ceux qui ralentissent le plus le développement de la sclérose. Sharma & Tripathi (2006) rapportent que la détérioration du mycélium, qui semble dépourvu de cytoplasme, ainsi que la réduction de la rigidité et de l'intégrité de leurs parois cellulaires, sont provoquées par l'utilisation d'huiles essentielles.

Quant à la troisième plante étudiée, il s'agit de l'Eucalyptus, un arbre ornemental de grande taille aux feuilles variables, à forte croissance (60 mètres de haut) et doté d'un tronc lisse. Ses feuilles sont polymorphes, étendues et opposées (Anton & Bernard, 2003).

En revanche, De Soura et al. (2005), révèlent que les huiles essentielles d'*E. globulus* présentent un plus fort pouvoir antifongique vis-à-vis de *Rhizopus* spp., *A. figer*, *Penicillium* spp., *A. flavus* et *Fusarium* spp. Mêmes résultats ont été obtenus par Rai et al. (1999) avec les espèces : *F. soloni*, *F. oxysporum*, *F. pallidoroseum*, *F. acuminatum* et *F. chlamydosporum*. Pattnaik et al. (1996) et Pattnaik et al. (1997) ont montré que l'espèce *F. oxysporum* est plus résistante aux huiles essentielles d'*E. globulus* que *A. fumigatus*, *A. oryzae* et *A. citrii*.

En effet, Daroui Mokadem (2012) a estimé la valeur de CMI pour le champignon *P. chrysogenum* à 160 µg/ml, alors que Vilela et al. (2009) rapportent que la concentration inhibitrice de 100 % des deux espèces *A. flavus* et *A. parasiticus*, était de 1 000 µl.

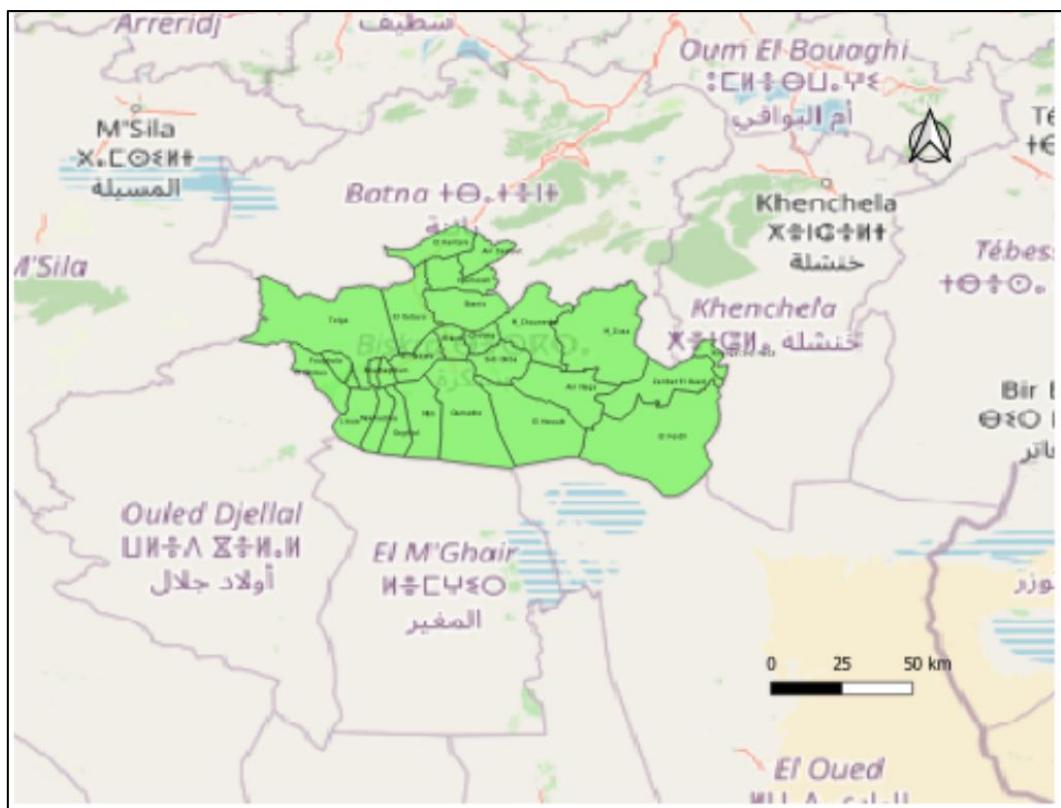
## *Chapitre II.*

### *Matériel et Méthodes*

## II. Matériel Et Méthodes

### II.1 Présentations de la région d'étude

La région de Biskra est située à 400 Km au Sud - Est d'Alger (Figure 4). Elle se situe entre  $34^{\circ} 48'$  de latitude et  $5^{\circ} 44'$  de longitude, et à une altitude de 124 m au niveau de la mer. La région de Biskra se compose de quatre types de géomorphologie distincts : les montagnes, les plaines, les plateaux et les dépressions (ANAT, 2002). Elle dispose au total d'une superficie cultivable de 185 473 ha, dont près de 77,4 % sont consacrés à la culture du palmier dattier. Ce qui en fait une région phénicole par excellence. Elle représente 41,2% de la production locale de dattes en Algérie (Benmehaia & Atallaoui, 2018).



**Figure 4.** Situation géographique de la wilaya de Biskra (Open Street Map 2023)

### II.1.1. Données climatiques

Pour étudier la croissance et la propagation des champignons, le climat est un facteur non négligeable. Il est en effet indispensable d'étudier le climat pour comprendre son impact sur le développement des pathogènes. Pour de comprendre le climat de la zone en question, nous nous basons sur les données climatiques obtenues auprès de l'Office national de météorologie pour la période 2009 - 2020.

D'après les données du tableau ci-dessous (Tableau 1), la région étudiée se caractérise par d'importantes variations journalières de température. La variation de l'amplitude des températures journalières est significative au cours des différents mois de l'année. Les précipitations sont soudaines, très localisées, irrégulières et inégalement réparties. Elles sont très irrégulières d'une saison à l'autre et d'un mois à l'autre, le maximum étant enregistré en octobre (8,03 mm) et le minimum en juillet (0,24 mm). En ce qui concerne l'humidité, le mois de décembre a connu le taux le plus élevé avec une moyenne mensuelle de 57,6 %, tandis que le mois de juillet a connu le taux le plus faible avec une moyenne mensuelle de 27,1 %. Les vents sont relativement fréquents tout au long de l'année dans la région de Biskra. En juin, le vent atteint un maximum de 6,4 m/s, tandis qu'en décembre, il atteint un minimum de 3,1 m/s. En général, les vents du sud sont froids et secs en hiver. En revanche, en été, ils sont très secs et chauds (sirocco). Ils favorisent l'évaporation et augmentent ainsi la sécheresse.

**Tableau 1.** Données climatiques moyennes mensuelle de la région d'étude (2009-2020)

Mois	Tmax(C°)	Tmin (C°)	Tmoy (C°)	H (%)	Précipitation (mm)	Vent (m/s)
<b>Jan</b>	17,88	<b>7,24</b>	12,65	56,57	2,91	5,02
<b>Fév</b>	19,09	9,57	13,41	48,61	3,91	4,51
<b>Mars</b>	23,18	11,47	17,36	45,47	4,94	4,71
<b>Avr</b>	27,61	15,36	21	42,15	6,86	4,56
<b>Mai</b>	32,36	19,75	26,14	35,18	5,18	4,36
<b>Juin</b>	37,66	24,84	30,98	28,85	1,51	6,43
<b>Jui</b>	<b>41,48</b>	28,43	35,03	<b>27,05</b>	<b>0,23</b>	6,16
<b>Aout</b>	40,21	27,79	34,03	32,45	0,88	5,35
<b>Sep</b>	35,13	23,71	29,20	41,25	6,58	3,17
<b>Oct</b>	29,63	18,30	23,97	45,98	<b>8,02</b>	3,42
<b>Nov</b>	22,77	14,48	17,50	53,33	3,02	3,88
<b>Dec</b>	18,77	9,58	13,35	<b>57,56</b>	1,36	3,08

Source (O.N.M, 2020)

## II.1.2. Synthèse climatique

Nous nous sommes basés pour cette synthèse sur le diagramme ombrothermique et le climagramme d'Emberger.

### ➤ Le diagramme Ombothermique :

D'après le diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gaussen (Bagnouls & Gaussen, 1957), la région de Biskra connaît un temps sec tout au long de l'année pour la période 2009-2020 (Figure 5).

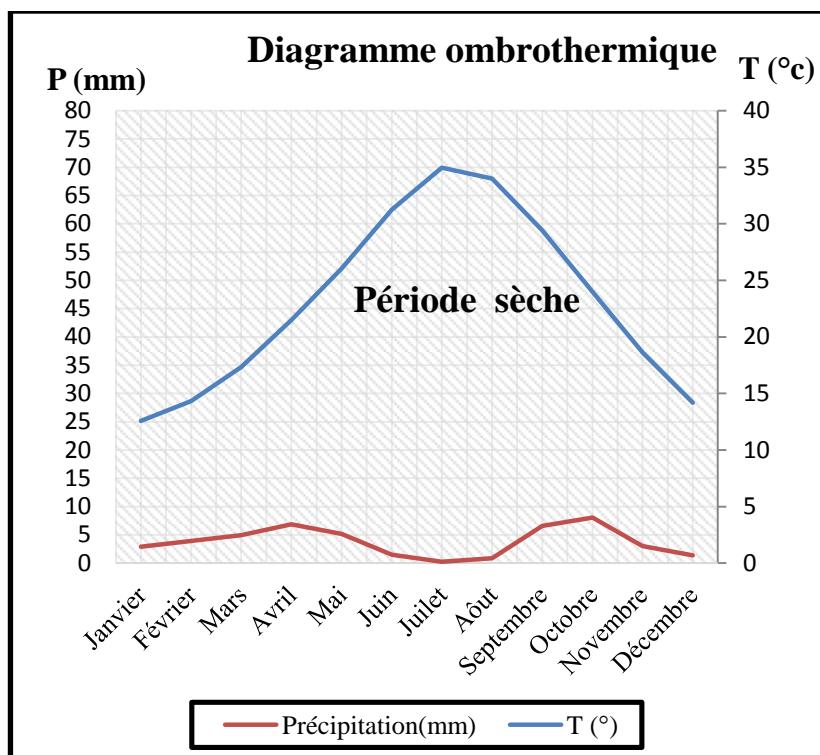


Figure 5. Diagramme ombro-thèrmique de GAUSSEN de la région de Biskra (2009-2020).

### ➤ Climagramme d'Emberger

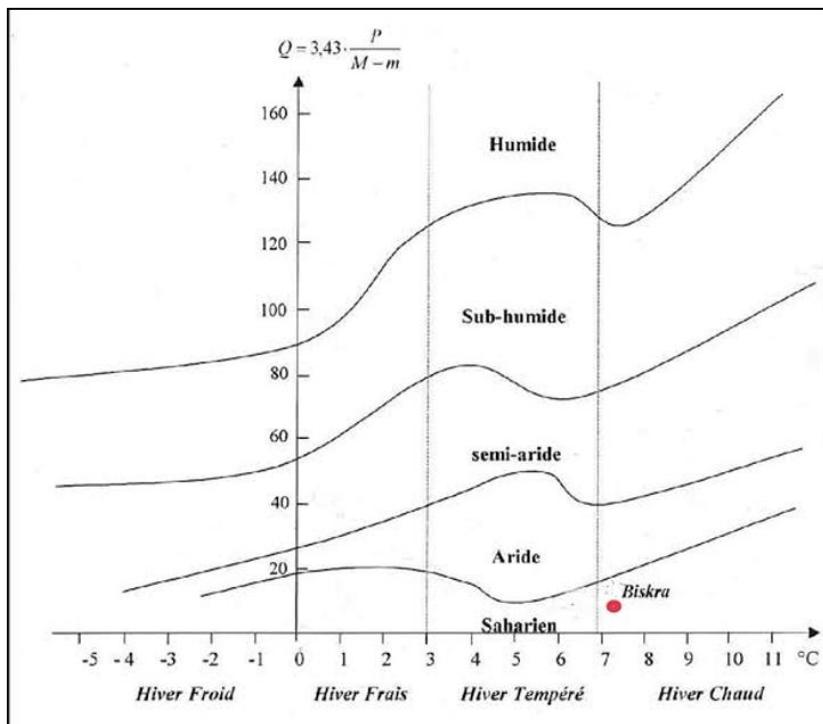
Le quotient pluviométrique de la région méditerranéenne est exprimé par la formule suivante :  $Q2 = 3,43 \cdot P / (M-m)$  (Stewart, 1968).

Où :  $P$  : Pluviométrie moyenne annuelle (mm).

$M - m$  : Amplitude thermique ( $^{\circ}\text{C}$ ).

Emberger a construit un climagramme dont l'ordonnée est  $Q2$  et l'abscisse est la température minimale moyenne du mois le plus froid ( $m$ ). Selon les données du tableau 1,  $Q2 = 4,54$ .

À partir de la représentation graphique d'Emberger (Figure 6), on constate que la région se situe dans l'étage bioclimatique saharien à hiver chaud.



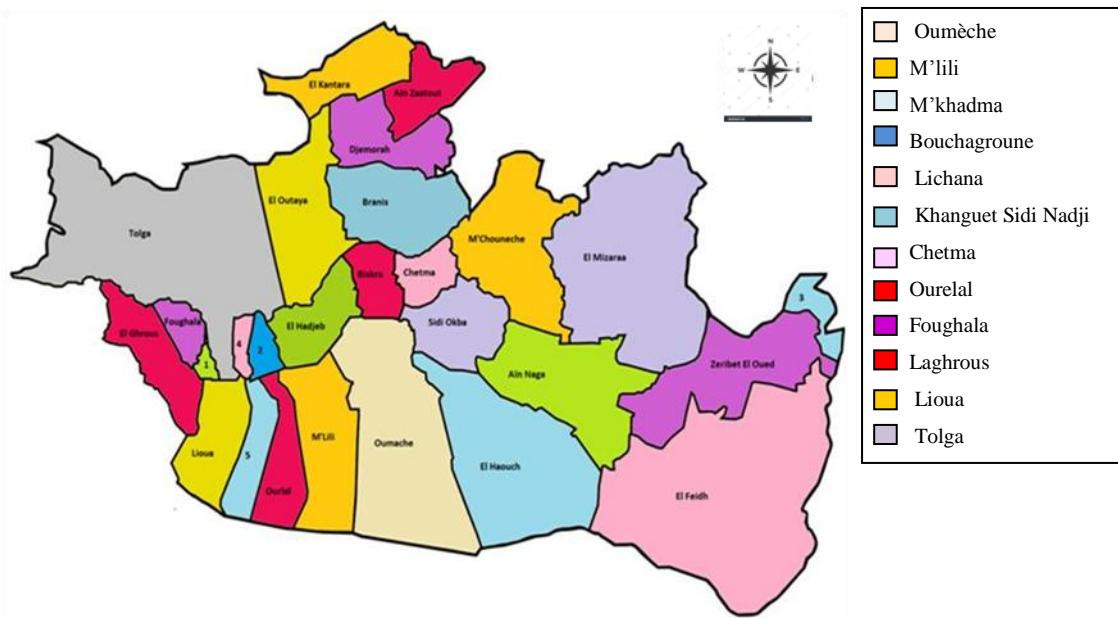
**Figure 6.** Climagramme d'Emberger de la région de Biskra (2009-2020)

## II.2 Inventaire de la prolifération de la maladie pourriture des inflorescences

### II.2.1. Méthodologie du travail

#### II.2.1.1. Choix et présentation des sites d'enquêtes

Notre enquête a pour objectif de donner une appréciation générale sur la prolifération de la maladie pourriture de l'inflorescence du palmier dattier au niveau de quelques stations de la région de Biskra, et de déterminer les éléments en faveur de celle-ci. D'autre part, nous cherchons à déterminer si la propagation de cette maladie est liée au mode de conduite au sein des palmeraies des différentes stations étudiées. Toutes les données ont été collectées à partir d'un questionnaire adressé à un échantillon d'exploitations agricoles des oasis de la région de Biskra. Les investigations menées dans le cadre de cette étude ont porté sur soixante et une (61) exploitations agricoles réparties sur douze (12) communes représentatives du territoire considéré (Figure 7) (Tableau 2). La traçabilité des zones de palmeraies, la richesse en palmiers et la production importante de dattes, notamment la variété Deglet Nour, à forte valeur commerciale, justifient le choix de ces communes.



**Figure 7.** Localisation des stations d'étude dans la région de Biskra

**Tableau 2.** Données cartographiques des stations étudiées (Map Data, Google 2013).

N°	Station	Situation géographique	Nbr d'exploitations
1	<b>Tolga</b>	Latitude : 34°43'44" Nord, longitude : 5°22'50" Est, à 40 km au sud-ouest du chef-lieu de la wilaya. Superficie : 1225 km <sup>2</sup>	<b>14</b>
2	<b>Lioua</b>	Latitude : 34°38'00" Nord, longitude : 5°25'00" Est, se situe au sud-ouest de la Wilaya de Biskra. Superficie : 243,20 km <sup>2</sup>	<b>12</b>
3	<b>Laghrous</b>	Située à 50 kilomètres à l'ouest de Biskra. Latitude : 34°42'19" Nord, longitude : 5°17' 07" Est. Superficie : 245,30 km <sup>2</sup>	<b>6</b>
4	<b>Foughala</b>	Latitude : 34°43'50" Nord, longitude : 5°19'31" Est, se situe à l'Ouest de la Wilaya. Superficie : 80,42 km <sup>2</sup>	<b>2</b>
5	<b>Ourelal</b>	Située au sud de la Wilaya de Biskra. Latitude : 34°39'20" Nord, longitude : 5°30'41" Est. Superficie : 187, 25 km <sup>2</sup>	<b>3</b>
6	<b>Chetma</b>	Située à l'est de la Wilaya de Biskra. Latitude : 34°50'59" Nord, longitude : 5°48'35" Est. Superficie : 110,03 km <sup>2</sup>	<b>3</b>
7	<b>Khanguet Sidi Nadji</b>	Se trouve au nord-est du chef-lieu de la Wilaya. Latitude : 34°48'21" Nord, longitude : 6°42'25" Est. Superficie : 80,00 km <sup>2</sup>	<b>3</b>
8	<b>Lichana</b>	Latitude : 34°43'29" Nord, longitude : 5°25'57" Est, située à l'Ouest du chef-lieu de la Wilaya. Superficie : 39,46 km <sup>2</sup>	<b>3</b>
9	<b>Bouchagroune</b>	Latitude : 34°43'18" Nord, longitude : 5°27'56" Est, à 24 km à l'Ouest du chef-lieu de la wilaya. Superficie : 57,34 km <sup>2</sup>	<b>3</b>
10	<b>M'khadma</b>	Localisée au sud- Ouest de la Wilaya. Latitude : 34°39'00" Nord, longitude : 5°29'00" Est. Superficie : 152,30 km <sup>2</sup>	<b>6</b>
11	<b>M'lili</b>	Latitude : 34°48'21" Nord, longitude : 6°42'25" Est, située au sud de la Wilaya de Biskra. Superficie : 371,80 km <sup>2</sup>	<b>3</b>
12	<b>Oumèche</b>	Latitude : 34°41'40" Nord, longitude : 5°42'02" Est, au sud de la Wilaya. Superficie : 828,53 km <sup>2</sup>	<b>3</b>

### **II.2.1.2. Déroulement de l'enquête**

Un questionnaire de type : ouvert, semi-ouvert et fermé a été établi pour mener l'enquête. Les questions étaient claires et directes, ce qui a permis aux participants de les comprendre et de fournir des réponses sans équivoque (Annexe 1). Les visites des exploitations ont été effectuées de manière aléatoire. L'enquête s'est déroulée au stade de la floraison (la fin d'hiver et/ou début du printemps) pendant trois saisons. Une première prospection a été effectuée pendant la saison 2018, la deuxième en 2019 et la troisième en 2020.

Les exploitants ont été interrogés sur leurs champs tôt le matin, séparément, et de façon directe et volontaire.

**NB :** Des difficultés ont été rencontrées durant la saison 2020 en raison de la pandémie de la Covid-19, mais l'enquête a été menée avec succès.

Ultérieurement, deux principaux volets ont été dégagés après avoir analysé les réponses et les informations recueillies dans le cadre du questionnaire :

### **II.2.1.3. Informations générales relatives à l'exploitation**

La première section comprend des variables qui représentent les attributs et les qualités des exploitations agricoles : identification de l'exploitation et de son propriétaire, type de sol et technique d'irrigation, système de drainage, superficie cultivée, conduite et entretien, fertilisation organique ou minérale et les types de productions.

### **II.2.1.4. Situation phytosanitaire de la palmeraie**

La deuxième section est ensuite consacrée aux variables qui permettent d'interpréter les observations phytosanitaires des palmeraies, telle que la maladie de la pourriture de l'inflorescence et son ampleur, les palmiers dattiers présentant ou sans symptômes, la prise de vues des différentes parties de la spathe, les variétés touchées, les moyens de lutte, traitement utilisé, les pratiques phytosanitaires et les principales contraintes phytosanitaires.

### **II.2.1.5. Évaluation de la relation entre le degré de négligence des exploitations et le taux d'infection par la pourriture de l'inflorescence.**

Pour déterminer la relation entre l'incidence des maladies et le degré de négligence dans les palmeraies, on a utilisé l'échelle suivante (Ghali, 2001).

Cette échelle comprend cinq degrés de négligence :

0 = aucune négligence (Palmeraie non négligée).

1 = Palmeraie a un degré de négligence.

2 = Palmeraie a deux degrés de négligence.

3 = Palmeraie a trois degrés de négligence.

4 = Palmeraie négligée (tous les points de négligence).

La négligence a été identifiée en fonction de quatre éléments fondamentaux liés à la conduite des vergers :

A- Manque de nettoyage.

B - pas d'irrigation régulière du verger.

C - aucune utilisation de fongicides.

D- Absence de fertilisation.

De ce fait, un degré de négligence a été attribué à chaque élément puis une estimation du pourcentage d'infection par la pourriture a été déterminée. Enfin, le coefficient de corrélation entre les deux a été calculé.

### **II.2.2. Rôle des précipitations dans l'émergence et la propagation de la maladie**

Il a été largement documenté que la maladie Khamedj causée par *M. scaettae* est particulièrement grave dans les zones caractérisées par une humidité élevée ou par de longues périodes de fortes pluies en hiver et au printemps (Abdullah et al., 2005).

Afin de confirmer ces résultats et de déterminer le rôle des précipitations dans l'émergence et la propagation de la maladie, nous avons évalué les précipitations et l'humidité au cours de la période d'étude qui s'étendait de 2018 à 2020.

### **II.2.3. Traitements des données :**

Les réponses collectées sur le terrain ont été enregistrées et codifiées, puis traitées et analysées à l'aide du logiciel "SPSS version 25". Quant aux valeurs des moyennes et des écarts types (SD) des données expérimentales, elles ont été obtenues avec Microsoft Excel 2013.

## **II.3 Etude mycologique**

Notre étude a été réalisée dans les laboratoires de la Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie de l'université de Biskra, dans le laboratoire de mycologie de l'Institut national de protection des plantes (INPV)- Biskra et dans les laboratoires du CRSTRA – Biskra. La technique GC-MS a été réalisée au laboratoire des produits naturels de l'université de Gaziosmanpaşa, Tokat (Turquie).

### **II.3.1. Isolement des souches (Méthode d'Ulster)**

Pour l'isolement des souches de pathogène, des spathes infectées du palmier dattier ont été collectées dans les palmeraies inventoriées en 2019 et 2020 (Photo 3), puis emportées pour la mise en culture au laboratoire de Mycologie de l'Institut national de la protection des plantes (INPV, Biskra).

Vingt-cinq échantillons ont été collectés (15 en 2019 et 10 en 2020) à partir d'inflorescences infectées, dont 18 échantillons mâles et 7 échantillons de palmiers femelles. De petits morceaux (2 cm de long) de chaque inflorescence infectée ont été stérilisés superficiellement en utilisant de l'hypochlorite de sodium à 2 % (3 min), puis lavés à trois reprises (3 min) avec de l'eau déminéralisée stérile. Les fragments ont été séchés sur des compresses stériles puis placés sur du papier filtre stérile et humide à raison de quatre fragments par boîte de Pétri. Les boîtes préparées ont été incubées à  $25 \pm 2$  °C durant 7 jours (Abdullah et al., 2005; Al-Sharidi & Al-Shahwan, 2003).



**Photo 3.** Spathes infectées du palmier dattier (Photo originale)

### II.3.2. Purification des isolats fongiques

Après sept jours d'incubation, des colonies visibles de l'agent pathogène autour des fragments ont été prélevées et transférées dans de nouvelles boîtes de Pétri contenant un milieu de culture PDA.

Les isolats recueillis sont purifiés par un repiquage multiple, qui consiste à transférer dans des conditions aseptiques le micro-organisme dans un milieu stérile sous conditions aseptiques afin de l'isoler ou de le maintenir en culture pure. Quelques spores ou un fragment mycélien sont prélevés à l'aide d'une anse stérile et transférés dans un nouveau milieu, puis incubés pendant 3 à 5 jours (Botton et al., 1990).

Ce processus a été recommencé par la suite plusieurs fois afin d'obtenir des cultures pures.

### II.3.3. Identification des isolats fongiques

Après purification, des examens macroscopiques et microscopiques ont été effectués pour identifier les champignons en fonction des aspects morphologiques du mycélium et des conidies.

#### Aspects macroscopiques

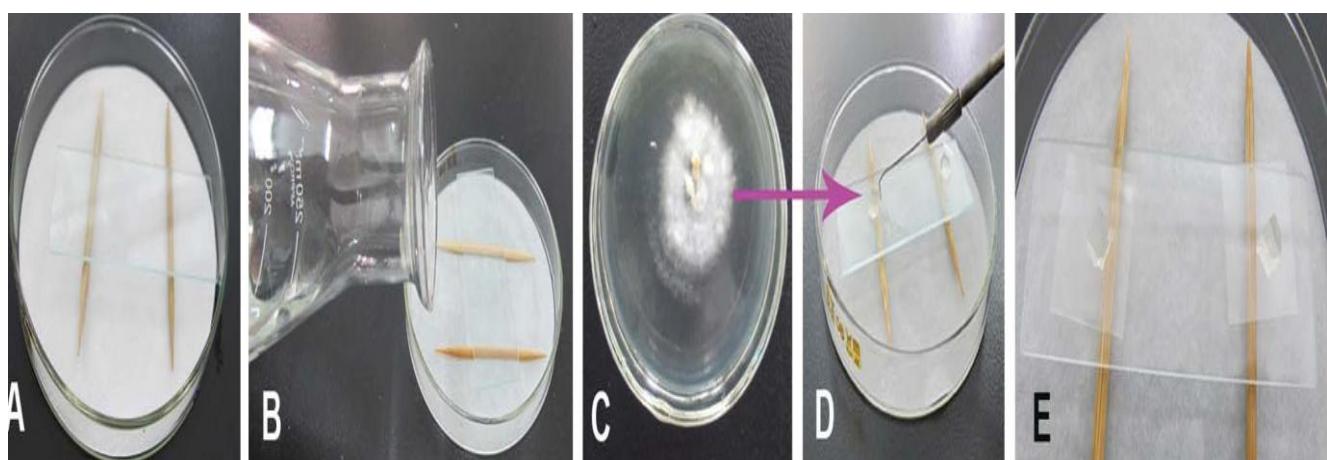
Les boîtes sont analysées à l'œil nu, sur la base des caractéristiques morphologiques des colonies. Des observations minutieuses sont effectuées dans un endroit bien éclairé :

- ✓ La consistance des colonies,
- ✓ La couleur : du recto et du verso de la boîte de Pétri ;
- ✓ La taille de la colonie en mesurant son périmètre ;
- ✓ La régularité du contour ; et la Surface : lisse, ridée, etc.

## Aspects microscopiques

Pour déterminer les caractéristiques d'un champignon, l'examen microscopique se base sur des caractéristiques qui vont au-delà de l'aspect morphologique, comme les organes reproducteurs, l'aspect des thalles (septés ou non), les types de spores, la disposition des spores, etc.

Pour préparer le matériel fongique nécessaire à l'observation microscopique, la technique de microculture a été utilisée (Su et al., 2012). Cette technique est illustrée dans la photo ci-dessous (Photo 4).



**Photo 4.** Les étapes de micro-culture (Su et al., 2012)

- (A). Papier filtre, bâtonnets et lame stérile.
- (B). Ajouter de l'eau stérile au papier filtre pour maintenir l'humidité.
- (C) et (D). Une petite portion de mycélium est inoculée sur  $1 \text{ cm}^2$  de PDA.
- (E). Placer une lamelle couvre-objet stérile sur le bloc d'agar, fermer la boîte de Pétri et incuber pendant 7 à 14 jours à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .

À la suite de l'incubation, la lamelle couvre-objet a été retirée et observée au microscope. La lamelle est prélevée sur la surface interne où le mycélium et les conidies sont bien développés ; sur une lame, une goutte de lactophénol est ajoutée, puis la lamelle est placée pour l'observation au microscope optique (x 10, x 40 et x 100).

Les souches isolées ont été identifiées sur la base d'une bibliographie spécialisée dans l'identification des moisissures, qui fournit des clés d'identification complètes basées sur des caractéristiques culturales et morphologiques. On peut citer: (Abdullah et al., 2005; Botton et al., 1990; Dufresne & Guy, 2018; Rattan & Al-Dboon, 1981).

L'identification des souches a également été confirmée par le Pr. Yusuf YANAR au laboratoire de biotechnologie microbienne de l'université de Tokat (Turquie).

#### **II.3.4. Conservation des souches**

Les souches purifiées et identifiées, ont été conservées dans des tubes inclinés contenant du milieu PDA, à une température de 4 °C.

#### **II.3.5. Test de pathogénicité des isolats de *M. scaettæ***

##### **II.3.5.1. Préparation de la suspension conidienne**

Les isolats de *M. scaettæ* ont été cultivés sur milieu PDA durant 7 jours à  $25^\circ \pm 2$  °C dans un endroit sombre, pour préparer une suspension d'inoculum fongique. Les colonies développées sont récupérées, puis mises en suspension dans de l'eau stérile. Après avoir éliminé le mycélium par filtration sur du papier Whatman, la concentration de l'inoculum est ajustée à  $10^6$  conidies/ml à l'aide d'un hémocytomètre. La surface de trois spathes séparés et ouverts a été stérilisée avec de l'éthanol à 95 %, et la couche supérieure la plus externe a été enlevée de façon à ce que les fleurs et les rameaux soient exposés à l'atmosphère. Les zones séparées ont été inoculées en pulvérisant les sites de pollinisation (fleurs et rameaux) avec 20 ml de suspension à l'aide d'un atomiseur. Pour le témoin, on a utilisé de l'eau distillée. Les spathes inoculées ont été stockées dans des boîtes en plastique et incubées à  $25 \pm 2$  °C à l'obscurité. Les échantillons ont été contrôlés pour détecter les lésions après 4 jours d'incubation (Abdullah et al., 2005; El-Gali et al., 2012).

##### **II.3.5.2. Ré-isolement du pathogène**

Pour confirmer la présence du pathogène, des échantillons ont été prélevés sur les parties inoculées des sites symptomatiques, stérilisés en surface pendant 10 min avec de l'hypochlorite de sodium à 2 % et lavés trois fois avec de l'eau distillée stérile, puis cultivés sur PDA et incubés à  $25 \pm 2$  °C pendant 4 jours. Après incubation, la purification a été effectuée comme décrit ci-dessus.

## **II.4 La toxicité du filtrat de *M. scaettæ* sur la viabilité des grains du pollen de différentes variétés du palmier dattier.**

La possibilité de germination du pollen est connue sous le nom de viabilité, et il est donc conseillé d'évaluer le pollen fraîchement récolté ou conservé avant de l'utiliser pour la pollinisation (Bounaga & Djerbi, 1990).

En outre, la toxicité des filtrats des isolats est estimée par le test de viabilité du pollen ; à cette fin, on a utilisé les tests de coloration et de germination *in vitro*.

### **II.4.1. Présentation du matériel biologique utilisé**

#### **II.4.1.1. Matériel biologique végétal**

Pour réaliser notre expérimentation, nous avons choisi des spathes saines de trois cultivars de palmier mâles ; Deglet-Nour (DN), Ghars (Gh) et Mech Deglat (MD). Le matériel végétal utilisé a été collecté au hasard dans la zone de la commune d'Oumèche, en mars 2021, au stade de la floraison, c'est-à-dire immédiatement après l'ouverture des spathes. Ainsi, le matériel était exempt de dommages morphologiques et de maladies fongiques.

#### **II.4.1.2. Matériel biologique fongique**

Le matériel fongique que nous utilisons est constitué d'une collection d'isolats fongiques obtenus à partir d'une opération d'isolement telle que décrite ci-dessus.

### **II.4.2. Préparation du filtrat de *M. scaettæ***

Le milieu liquide Potato Dextrose (PD) a été utilisé pour préparer le filtrat de *M. scaettæ*. Il est préparé comme suit :

200 g de pommes de terre, coupées en petits morceaux, ont été cuites à l'eau distillée dans un bécher gradué de 1 litre jusqu'à ce qu'elles soient molles pendant 30 min, filtrées dans un erlenmeyer, complétées à 1000 ml avec de l'eau distillée, puis le filtrat obtenu a été mélangé avec 15 g de glucose. La solution a été homogénéisée à l'aide d'un agitateur magnétique. Le milieu de culture a été stérilisé dans un autoclave à une température de 120 °C durant 15 min (Mondo et al., 2016).

Après stérilisation, le milieu est laissé refroidir pendant 30 min, puis on le verse à raison de 100 ml dans des flacons de 250 ml. Chaque flacon est inoculé avec 2 disques de mycélium mesurant 5 mm de diamètre, obtenus à partir d'une souche de 7 jours à l'aide d'un instrument de perforation stérile.

Les flacons sont ensuite fermés et placés dans un incubateur-agitateur (Edmund Buehler TH 15) à  $25 \pm 2$  °C pendant 10 jours. Des témoins constitués de PD sans mycélium ont été utilisés simultanément (Hameed, 2005).

Après la période d'incubation, le mycélium est retiré du milieu par filtration grossière à l'aide de papier Whatman n° 1, suivi d'un filtre à seringue (0,45 µm).

#### **II.4.3. Appréciation du degré de toxicité de filtrat de culture de *M. scaettæ* sur la viabilité du pollen**

La toxicité des filtrats de culture a été étudiée sur des épillets prélevés au hasard (base, milieu et sommet) de spathes saines appartenant aux cultivars DN, Gh et MD. Cette méthode consiste à couper les épillets et à les placer dans des tubes à essai contenant 100 ml de filtrat de culture. Pour chaque variété, 3 épillets ont été soumis au filtrat et 3 épillets, constituant le témoin, ont été soumis au milieu PD liquide. Chaque essai a été répété trois fois (Hameed, 2005).

##### **II.4.3.1. Test de coloration**

Après 4 jours, une petite quantité de pollen de chaque épillet est montée entre lame et lamelle couvre-objet sur une goutte d'accétocarmine à 45 %, utilisé comme colorant cytoplasmique, à raison de 30 min, puis observée au microscope optique. La vitalité du pollen est estimée sur la base du pourcentage de pollen coloré et de pollen non coloré.

Tout pollen viable devient rouge et prend une forme sphérique. Le pollen non coloré prend un aspect ridé. Le comptage se fait par l'observation de 3 champs microscopiques (à raison de 100 pollens par champ) (Boughediri, 1997).

$$\% \text{ de coloration} = (\text{nbr de grains de pollen colorés} / \text{nbr de grains de pollen totals}) \times 100$$

### II.4.3.2. Test de germination

Cette technique permet de calculer le pourcentage de pollen qui a germé *in vitro*. Le milieu utilisé est le milieu Brewbaker et Kwack modifié (BKM), qui a été modifié et adapté au pollen de palmier dattier par Furr et Enriquez (1966). La composition de ce milieu pour 100 ml d'eau distillée est la suivante :

15 g de saccharose ; 0.05 g de  $H_3BO_3$ ; 0.03 g de  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ; 0.02 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0.01 g de  $KNO_3$  et 1 g de gélose (agar agar); PH 5.5 (Boughediri, 1997).

Après avoir préparé le milieu de culture décrit ci-dessus, la stérilisation a été effectuée dans un autoclave à 120 °C pendant 30 min. Le milieu préparé a ensuite été versé dans des boîtes de Pétri à raison de 20 ml par boîte. Les grains de pollen de chaque épillet ont été semés uniformément dans les boîtes de Petri et incubés dans l'obscurité à  $26 \pm 2$  °C durant 24 heures. Chaque traitement a fait l'objet de trois répétitions.

Un pollen dont la longueur du tube pollinique est supérieure ou égale au diamètre du grain est considéré comme ayant germé (Acar & Kakani, 2010).

La lecture a été prise après six heures, et 3 champs microscopique ont été examinés à raison de 50 pollens par champ (Hameed, 2005).

Le pourcentage de germination est exprimé selon la relation suivante :

$$\text{\% de germination} = (nbr \ de \ grains \ de \ pollen \ germés / nbr \ de \ grains \ de \ pollen \ totals) \times 100$$

## II.5 Effet d'extraits des spadices de différentes variétés sur la croissance mycélienne de *M. scaettae*

La présente étude a été menée à partir d'extraits d'épillets appartenant aux cultivars DN, Gh et MD. Trois spathes matures ont été collectées pour chacun des trois cultivars mâles de palmier dattier.

15 g d'épillet frais ont été prélevés pour chaque spathe, variété par variété, puis découpée en petits morceaux. Ceux-ci ont été ensuite placés dans 100 ml d'eau distillée stérile et broyés à l'aide d'un mixeur électrique. Pour éliminer les gros tissus, nous avons utilisé de la gaze, puis une filtration a été effectuée en utilisant un papier filtre Whatman n° 1, puis un filtre seringue (0,45 µm).

Le filtrat obtenu a été complété à 150 ml avec de l'eau distillée et solidifié avec de l'agar (10 %).

Le milieu de culture a été stérilisé dans un autoclave à 120 °C (15 min). Les extraits préparés ont été versés dans des boîtes de Pétri à raison de 20 ml par boîte. Pour le témoin, 3 boîtes de Pétri contenaient le milieu PDA.

À l'aide d'un emporte-pièce stérile, on a prélevé un disque de 5 mm de diamètre environ sur un tapis mycélien de 7 jours et on l'a placé au centre de la boîte de Pétri. Pour chaque extrait, trois réplicats ont été effectués. Les boîtes de Pétri ont ensuite été hermétiquement fermées avec du parafilm et incubées à 25 ± 2 °C durant 10 jours.

La croissance mycélienne et le taux d'inhibition ont été évalués en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires traversant le centre du disque toutes les 24 heures.

L'effet des extraits a été déterminé en calculant le taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *M. scaettiae* à l'aide de la formule suivante (Hameed, 2005):

$$I \% = [Co - Cn / Co] \times 100$$

I : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne en pourcentage

Co : diamètre moyen des colonies témoins (cm).

Cn : diamètre moyen des colonies de pathogènes en présence de l'extrait (cm).

## **II.5.1. Dosage des sucres et des polyphénols totaux des spadices de différentes variétés du palmier dattier**

### **II.5.1.1. Préparation des extraits**

On a broyé 15 g d'épillets frais de chaque variété, DN, Gh et MD, avec 150 ml d'eau distillée stérile. On a chauffé le broyat légèrement (30 à 40 min) puis on l'a laissée refroidir. Une filtration sur de la gaze a été effectuée en utilisant des tissus grossiers, puis une nouvelle filtration sur du papier Whatman n° 1. Les extraits obtenus servent à la détermination du pH, au dosage des sucres totaux et à celui des polyphénols totaux.

### **II.5.1.2. Détermination du PH**

Le pH a été mesuré directement à l'aide d'un pH-mètre.

### II.5.1.3. Dosage des sucres totaux

La méthode de (DuBois et al., 1956) a été utilisée pour estimer les sucres totaux. Elle consiste à utiliser de l'acide sulfurique concentré et du phénol, qui produisent une couleur jaune-orange. L'intensité de cette couleur est proportionnelle à la concentration de sucres. La densité optique est mesurée à 490 nm.

Pour commencer, prélevez 2 ml de l'extrait aqueux préparé et placez-les dans un tube à essai propre. Ajoutez ensuite 2 ml de phénol à 5 % et 3 ml d'acide sulfurique concentré à 97 %. Une solution jaune-orange apparaît alors à la surface. Agitez la solution à l'aide d'un vortex pour homogénéiser sa couleur. Laissez les tubes refroidir pendant 10 min avant de les placer dans un bain-marie à 30 °C pendant 20 min. Enfin, arrêtez la réaction en faisant couler un courant d'eau froide et relevez l'absorbance à une longueur d'onde de 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

La concentration en sucres totaux a été exprimée en se basant sur une droite d'étalonnage. Pour préparer la gamme étalon on a utilisé une solution de glucose (1 mg/ml) comme solution mère (standard), dans les mêmes conditions, trois répétitions ont été effectuées pour chaque extrait.

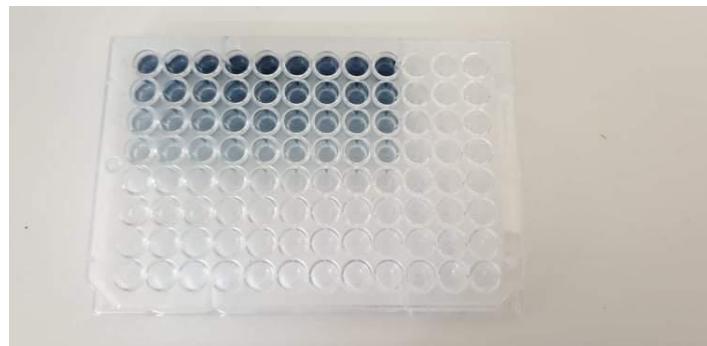
### II.5.1.4. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés à l'aide de la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Ce réactif est un acide jaune composé d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Dans un milieu alcalin, ce réactif fait s'oxyder les composés polyphénoliques en ions phénolates et se réduit en un complexe d'oxyde bleu de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et de molybdène (Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) (Nguang et al., 2017). L'intensité de l'absorption est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Molyneux, 2004).

200 µl d'extrait aqueux de chaque spathe ont été mélangés séparément avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10 %), après agitation pendant 3 min, 800 µl de carbonate de sodium (7,5 %) ont été ajoutés. L'ensemble du mélange a été incubé pendant 30 min à température ambiante.

L'absorbance de tous les extraits a été mesurée à 765 nm sur un spectrophotomètre UV-visible. Une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ) a été établie avec l'acide gallique standard à huit concentrations allant de 25 à 200 mg/ml et dans les mêmes conditions que l'échantillon.

La teneur totale en polyphénols a été exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait frais (mg EAG/g) (Boizot & Charpentier, 2006).



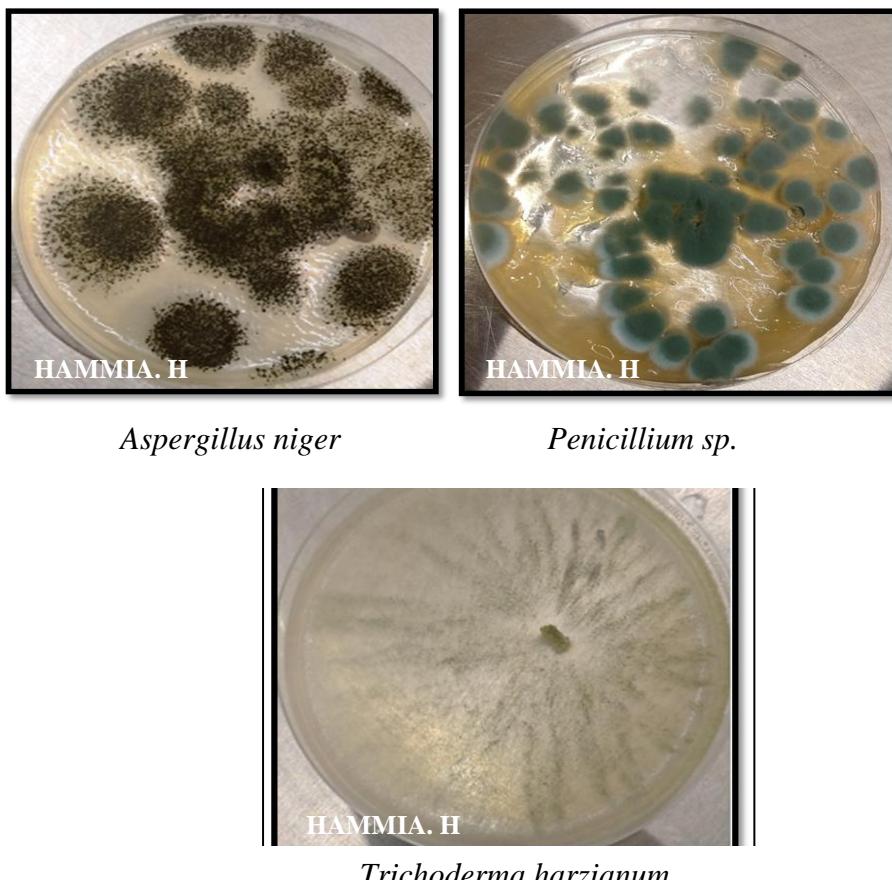
**Photo 5.** Dosage des polyphénoles à l'aide d'une plaque d'essai.

## II.6 Lutte biologiques contre la pourriture des inflorescences

### II.6.1. Lutte biologique par l'utilisation des agents antagonistes (Antagonisme *in vitro* contre *M. scaettiae*)

#### II.6.1.1. Agent antagoniste

Trois espèces fongiques : *Aspergillus Niger*, *Trichoderma harzianum* et *Penicillium* sp. (Photo 6) ont été utilisées comme agents de lutte contre l'agent pathogène *M. scaettiae*, qui provoque la pourriture des inflorescences. Les antagonistes fongiques proviennent de la collection mycologique du Dr. DANDOUGA Wassila (département SNV-Biskra). Ils sont entretenus régulièrement par repiquage sur un milieu gélosé PDA.



**Photo 6.** Vue macroscopique des agents antagonistes (Photo originale).

#### II.6.1.2. Mise en évidence de l'activité antagoniste

La méthode de confrontation directe a été utilisée pour tester l'activité antifongique des antagonistes contre *M. scaettae* *in vitro*. On a donc placé deux disques de gélose (5 mm de diamètre) colonisés par le pathogène ou l'antagoniste à partir de cultures de 7 jours dans la même boîte de Pétri (9 cm de diamètre) contenant 20 ml de PDA. Les explants ont été placés sur des axes diamétraux opposés, à 3 cm de distance et à égale distance du centre de la boîte. Les repiquages ont été effectuées en même temps. Les boîtes ont été incubées pendant 10 jours dans l'obscurité à  $25 \pm 2$  °C. Des boîtes témoins contenant uniquement le pathogène ont été incubées dans les mêmes conditions. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque combinaison. La croissance mycélienne a été évaluée quotidiennement en prenant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires du pathogène (Hmouni et al., 1999; Omoifo & Ikotun, 1987; Rapilly & Viennot-Bourgin, 1968).

On a estimé l'inhibition de la croissance mycélienne de l'agent pathogène par l'antagoniste à l'aide de la formule suivante :

$$I \% = [1 - C_n / C_0] \times 100$$

I % : le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne

C<sub>n</sub> : diamètre moyen des colonies de l'agent pathogène en présence de l'antagoniste (cm).

C<sub>0</sub> : diamètre moyen des colonies du témoin (cm).

En outre, des observations microscopiques des prélèvements de la zone de contact entre les deux colonies (pathogène-antagoniste) ont été effectuées afin d'étudier les modifications structurelles affectant les isolats de *M. scaettae* en réaction antagoniste à la souche de *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger* et *Penicillium* sp. Trois observations ont été menées pour chaque combinaison (Camporota, 1985).

#### II.6.1.3. Mise en évidence des propriétés fongicides ou fongistatiques

Afin de déterminer l'effet des champignons antagonistes sur le champignon pathogène, on a utilisé la méthode suivante : un disque de 5 mm de diamètre du pathogène âgé de 13 jours à compter du début de la double culture a été prélevé dans la zone d'interaction (pathogène - antagoniste) de chaque combinaison séparément et planté dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Des explants prélevés d'une culture pure (ne contenant que l'agent pathogène) serviront du témoin. Les boîtes ont été incubées à 25 ± 2 °C pendant 10 jours. Chaque essai a été effectué en trois répétitions. En cas de germination, l'action inhibitrice de l'antagoniste est supposée fongistatique ; dans le cas contraire, elle est fongicide (Bell et al., 1982).

L'antagoniste est considéré comme fongistatique lorsque le pathogène continue à se développer pendant l'incubation supplémentaire et il est considéré comme fongicide en l'absence de croissance.

## II.7 Lutte biologique par l'application des huiles essentielles des plantes médicinales

### II.7.1. Matériel biologique

#### II.7.1.1. Matériel végétal

Sur la base d'une enquête ethnobotanique menée dans la région étudiée et de données bibliographiques, trois espèces de plantes médicinales ont été sélectionnées pour évaluer leur potentiel antifongique : *Eucalyptus globulus*, *Mentha pulegium* et *Ruta chalepensis* (Photo 7).

La partie aérienne (tiges et feuilles) des plantes sélectionnées a été collectée de manière aléatoire dans leur habitat naturel, respectivement dans les régions de Sidi Okba, Besbes et de M'chounech (Wilaya de Biskra) durant le mois de mars (2019).

L'identification a été effectuée au centre de recherche scientifique et technique sur les régions arides (CRSTRA-Biskra). Les échantillons ont été laissés sécher à l'ombre, en un endroit sec et aéré, puis stockés soigneusement. Les plantes ont ensuite été broyées grossièrement.

Le tableau ci-dessous présente la situation géographique des régions de prélèvement.

**Tableau 3.** Situation géographique des régions de prélèvement (Map Data, Google 2013).

N°	Région	Situation géographique
1	<b>Sidi Okba</b>	Située à 18 km au Sud-Est du chef lieu de la wilaya. Latitude : 34°45'00" Nord, longitude : 5°54'00" Est.
2	<b>Besbes</b>	Située à 125km au Sud-Ouest de la Wilaya de Biskra. Latitude : 34°9'00" Nord, longitude : 4°59'27" Est.
3	<b>M'chounech</b>	Située à 30 kilomètres à l'est de Biskra. Latitude : 34°57'00" Nord, longitude : 6°00' 00" Est.



Aspect général d'*Eucalyptus globulus*



Aspect général de *Mentha pulegium*



Aspect général de *Ruta chalepensis*

**Photo 7.** Vues générales des trois plantes étudiées

### **II.7.1.2. Matériel fongique**

Les souches fongiques de *M. scaettae* sur lesquelles nous avons travaillé appartiennent à la collection des souches obtenues par isolement, décrites ci-dessus. Elles sont régulièrement maintenues en sous-culture sur le milieu nutritif PDA.

### **II.7.2. Méthodes du travail**

#### **II.7.2.1. Extraction des huiles essentielles**

Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. Trois distillations ont été réalisées pour chaque plante, par ébullition de 100 g de matière végétale sèche avec 1000 ml d'eau distillée pendant 3 heures. Les huiles essentielles recueillies ont été conservées à l'obscurité à 4 °C en présence de sulfate de sodium anhydre (Ismaily Alaoui et al., 2014).

#### **II.7.2.2. Calcul du rendement**

Le rendement en huile essentielle représente le rapport entre le poids d'huile essentielle obtenue et le poids de matière végétale traitée.

Le rendement (Rd) est évalué selon la formule suivante :

$$\mathbf{Rd = M'/M.100}$$

Rd : Le rendement en huile essentielle (%)

M' : la quantité d'huile obtenue (g)

M : la masse du matériel végétal sèche (g) (AFNOR, 1996).

### **II.7.2.3. Analyse par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC-MS)**

Les huiles essentielles obtenues ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse au Laboratoire de recherche sur les produits naturels, Département de chimie, de l'Université Gaziosmanpasa de Tokat en Turquie.

L'analyse a été effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Trace 1310 équipé d'un spectromètre de masse quadripolaire unique ISQ (Thermo Fisher Scientific, Austin, TX). La procédure a été réglée à une température initiale de 60 °C pendant 6 min, puis montée en charge à 2 °C/min jusqu'à 230 °C, et enfin 30 min à 230 °C. La source d'ions et la température du détecteur étaient respectivement de 250 °C et de 250 °C. L'échantillon a été filtré à l'aide d'un filtre à seringue jetable de 0,22 µm. Un volume de 1 µl a été injecté dans un modèle sans fractionnement. La séparation de l'échantillon a été effectuée sur une colonne Thermo TG-WAXMS GC (60 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm) utilisant de l'hélium comme gaz porteur à un débit de 1,2 ml/min. La plage de balayage spectral de masse a été réglée au taux de 55 à 550 (amu). L'identification des constituants a été effectuée par comparaison avec des composants connus stockés dans la démo NIST, Wiley7, Wiley9, redlip, mainlip, WinRI (Adams, 2001).

### **II.7.3. Évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles des différentes espèces étudiées sur la croissance mycélienne**

Après l'extraction des huiles essentielles d'*E. globulus*, *M. pulegium* et *R. chalepensis*, des tests préliminaires ont été réalisés pour déterminer les concentrations à évaluer. La méthode de contact direct a été retenue afin d'évaluer l'activité antifongique des HEs des trois plantes étudiées.

#### **II.7.3.1. Méthode du contact direct**

L'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle est effectuée par la méthode du contact direct. Cette technique a été appliquée pour déterminer la sensibilité des moisissures à l'HE. Elle consiste à ajouter les différentes concentrations d'huile au milieu de culture encore liquide (Fandohan et al., 2004; Mohammedi & Atik, 2012).

L'HE a été diluée avec du Tween 20 (0,1 % v/v) puis ajoutée à 20 ml de PDA pour obtenir différentes concentrations finales.

Des concentrations de 0,25, 0,5 et 1  $\mu\text{l}$  /ml de PDA ont été préparées pour les deux plantes *M. pulegium* et *R. chalepensis* et de 0,5, 1 et 1,5  $\mu\text{l}$  /ml de PDA pour l'*E. globulus*. On ajoute 1 ml de chaque concentration à un flacon contenant 20 ml de milieu PDA, puis on agite le flacon pendant 5 min afin d'homogénéiser le milieu PDA avec l'HE.

Après agitation des bouteilles, le mélange (PDA + HE + Tween 20) a été versé dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre. Des boîtes témoins constituées de PDA sans huile ont également été utilisées. Une fois le milieu solidifié, des fragments de 0,5 cm de diamètre d'un tapis mycélien de 7 jours ont été déposés au centre de la boîte de Pétri préparée et incubés dans l'obscurité à  $25 \pm 2$  °C pendant 7 jours. Trois répétitions ont été utilisées pour l'huile testée et le contrôle (Remmal et al., 1993).

Le diamètre de croissance radial de chaque explant cultivé a été mesuré quotidiennement en calculant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le centre de chaque boîte.

#### II.7.4. Expression des résultats

##### II.7.4.1. Estimation de la croissance mycélienne

Cette mesure permet d'évaluer la croissance linéaire et diamétrale des colonies en utilisant la formule suivante (Brewer, 1960; Leach, 1962) :

$$L = D-d / 2$$

L: croissance mycélienne

D: diamètre de la colonie

d: diamètre de l'explant

##### II.7.4.2. Evaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne

L'activité antifongique des HEs est évaluée en calculant le taux d'inhibition de la croissance des colonies fongiques selon la formule suivante (Leroux & Credet, 1978) :

$$T\% = [(L - I) / L] \times 100$$

TI : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne en (%) ;

L : Diamètre de la colonie mycélienne témoin, en (cm);

I : Diamètre de la colonie mycélienne dans l'expérience (cm) ;

#### **II.7.4.3. Concentrations minimales inhibitrices (CMI)**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle a été déterminée selon la méthode rapportée par (Remmal et al., 1993). Elle correspond à la concentration minimale d'HE pour laquelle aucune croissance n'est observée à l'œil nu. Elle a été déterminée par observation de l'absence totale de croissance des souches traitées par les différentes concentrations d'HE testées.

#### **II.7.4.4. Effet fongicide ou fongistatique**

Pour déterminer si l'huile est fongistatique ou fongicide, il est en effet nécessaire de transférer les souches complètement inhibées dans un autre milieu de culture PDA.

S'il n'y a pas de croissance pendant la période d'incubation supplémentaire, l'huile est considérée comme fongicide. Dans le cas contraire, elle est considérée comme fongistatique.

Suite aux événements imprévus provoqués par la pandémie de COVID-19, qui a entraîné une mise en quarantaine pendant la réalisation de la présente étude, les essais ont été interrompus au quatrième jour d'incubation, et cette période est insuffisante pour déterminer et confirmer le caractère fongicide ou fongistatique des huiles utilisées.

#### **II.7.5. Analyse statistique**

Les résultats obtenus ont été soumis à une analyse de la variance à un sens unique (ANOVA), suivie du test de Newman-Keuls pour la comparaison des moyennes, à l'aide du logiciel d'analyse XLSTAT 2014.5.03. Toutes les données sont représentées sous forme de moyenne  $\pm$  écart-type. Les résultats sont significatifs lorsque  $p < 0,05$ .

## *Chapitre III.*

## *Résultats et Discussion*

### III. Résultats et Discussion

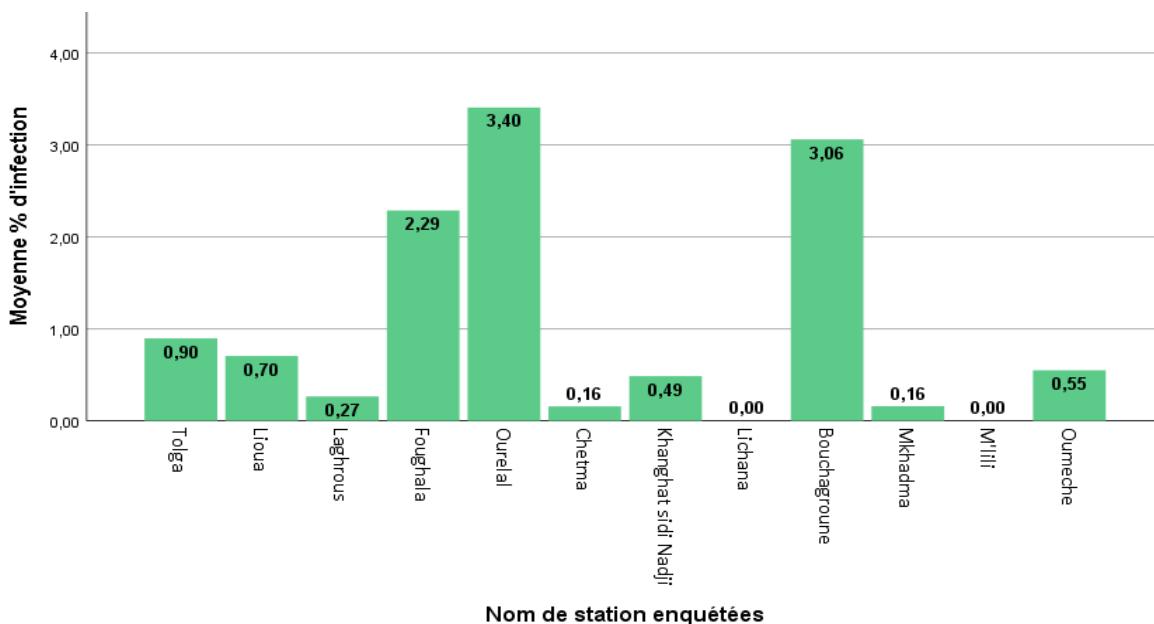
#### III.1 Résultats d'enquête

##### III.1.1. Situation phytosanitaire des palmeraies

###### III.1.1.1. Prévalence de la pourriture de l'inflorescence

D'après les résultats de l'enquête, qui a porté sur un certain nombre de palmeraies de la région de Biskra, il apparaît que la contamination des palmiers variait de 0 à 3,40 % (Figure 8). De plus, la maladie de la pourriture des inflorescences a été rencontrée sur les palmiers dattiers des dix stations sur douze étudiées. L'enquête a également révélé que le pourcentage de contamination différait entre les différentes stations enquêtées, l'incidence étant la plus élevée sur le site Ourelal ( $3,40 \pm 2,46\%$ ) suivi par les stations Bouchagroune et Foughala où la moyenne du pourcentage de palmiers dattiers infectés a atteint  $3,06 \pm 0,18\%$  et  $3,06 \pm 0,18\%$  respectivement. Une contamination faible a été enregistrée sur les sites Chetma et Mkhadma ( $0,16 \pm 0,21\%$  et  $0,16 \pm 0,27\%$ ), tandis que les stations Lichana et M'lili ne présentent aucune contamination (0 %).

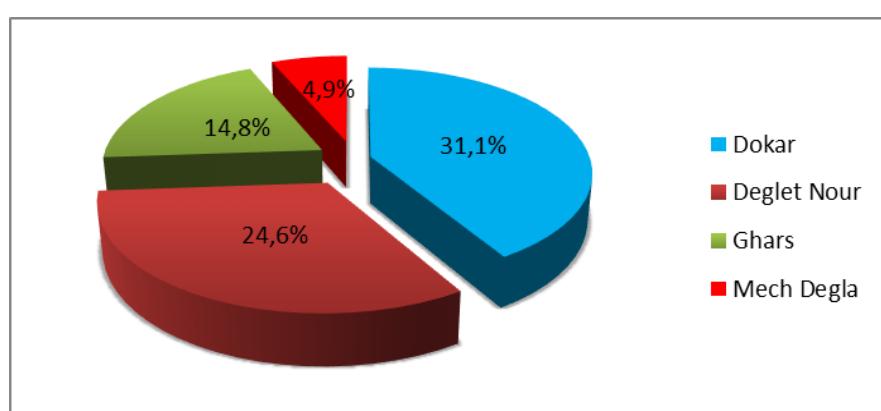
En revanche, il ressort de cette étude que la situation phytosanitaire des palmeraies de la région d'étude est satisfaisante ; les résultats obtenus montrent que les palmiers dattiers bien entretenus sont généralement exempts de symptômes de la maladie. En effet, parmi les 18 641 palmiers examinés, seuls 144 pieds étaient contaminés, avec une moyenne du pourcentage estimée à  $0,77 \pm 1,17\%$ . Ceci concorde avec les résultats de Dakhia et al. (2013), qui ont noté que les maladies fongiques sont plus localisées dans les Ziban. Tandis que Cheriet & Benziouche (2012) ont révélé que la situation phytosanitaire des palmeraies de la région de Biskra n'est pas bonne ; ils ont enregistré que près d'une palmeraie enquêtée sur deux est infectée par des maladies fongiques ou subit les méfaits de parasites.



**Figure 8.** Taux de prévalence de la maladie dans les stations étudiées.

### III.1.1.2. Variétés les plus vulnérables à la maladie

Suite à l'évaluation de l'incidence de la pourriture des inflorescences dans les divers vergers étudiés, nous avons établi une liste des variétés touchées dans chaque verger, afin de repérer les variétés les plus touchées et les plus vulnérables à cette maladie. Il a également été constaté que la fréquence de la pourriture de l'inflorescence diffère d'un cultivar à l'autre, avec le taux d'infection le plus élevé enregistré sur les cultivars Dokar et DN (31,1 % et 24,6 % respectivement), tandis que le cultivar Gh enregistrait un taux de 14,8 % et que le cultivar MD enregistrait un taux de 4,9 % (Figure 9).



**Figure 9.** Variétés de palmiers dattiers les plus touchées par la pourriture de l'inflorescence.

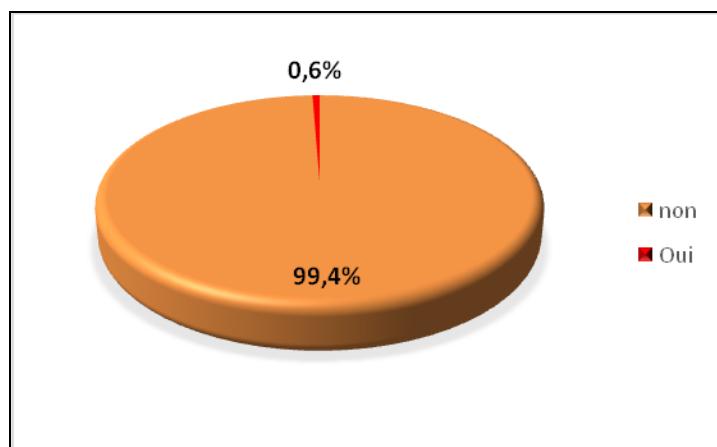
Ces résultats confirment ceux obtenus par Dakhia et al. (2013), qui ont fait remarquer que cette maladie fongique peut affecter tous les types de palmiers. Cependant, la DN y est la plus vulnérable.

En général, les inflorescences mâles ont été plus touchées que les inflorescences femelles, ce qui est en accord avec les études antérieurs d'Al-Ani et al. (1971) et Al-Roubaie et al. (1987).

Par ailleurs, l'étude menée en Espagne par Abdullah et al. (2005), sur cette maladie démontre également que l'incidence de l'infection chez les palmiers mâles des sites étudiés variait entre 43 et 87 %, tandis que chez les palmiers femelles, elle était comprise entre 14 et 26 %. En général, les inflorescences mâles ont été plus touchées que les inflorescences femelles. Le taux élevé de pourriture de l'inflorescence chez les palmiers mâles peut s'expliquer par le fait que les palmiers mâles reçoivent peu d'attention et que les vieilles inflorescences infectées ne sont pas enlevées régulièrement.

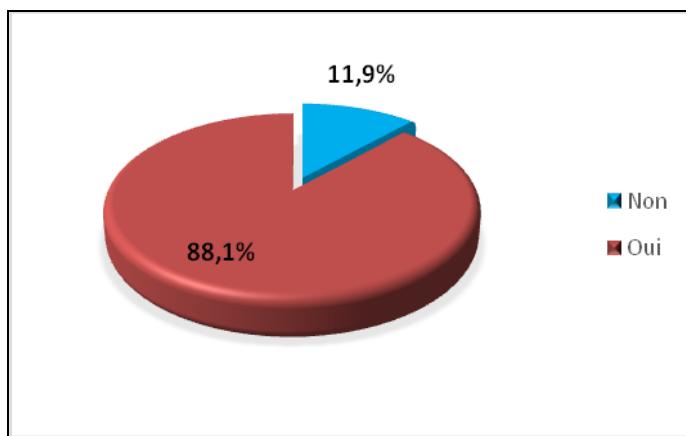
### III.1.1.3. Moyens de lutte contre la maladie

En ce qui concerne l'utilisation des fongicides, il a été observé que la majorité des agriculteurs les évitent. En effet, 99,4 % des vergers étudiés n'en utilisent pas, tandis que 0,6 % les utilisent (Figure 10).



**Figure 10.** Taux d'utilisation des fongicides

De plus, 88,1 % des agriculteurs rencontrés ont affirmé qu'ils font appel à la lutte physique (arrachage ou brûlage des palmiers infectés) (Figure 11), car cela est plus efficace pour éliminer cette maladie et n'a aucun impact négatif sur la plante et la qualité de la récolte.



**Figure 11.** Utilisation de la lutte physique

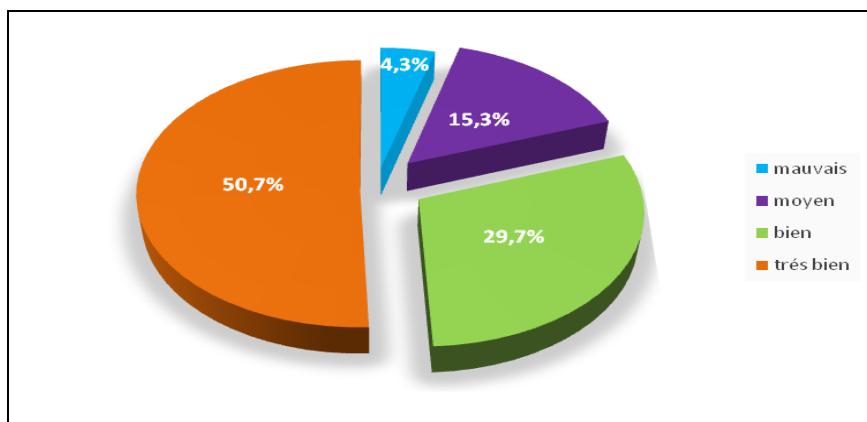
D'autre part, certains agriculteurs nous ont informés que d'autres hésitaient à enlever les spathes infectées et à vendre le pollen, qui ne présente aucun symptôme de la maladie, sur le marché à des agriculteurs provenant de différentes régions qui ignorent qu'ils sont infectés, ce qui entraîne l'infection des palmiers pollinisés. Ces résultats confirment ceux obtenus par Abdullah et al. (2006) qui ont noté dans leur étude sur le pathogène de la pourriture des inflorescences que les conidies de *M. scaettae* peuvent survivre en tant que saprophytes dans les inflorescences mortes infectées pendant plus de 12 mois, ce qui suggère que ces conidies peuvent contribuer à une nouvelle infection.

L'utilisation de produits chimiques est écartée en raison de la vulnérabilité de l'écosystème oasien et de son efficacité incertaine. Les mesures préventives et la quarantaine ne permettent pas d'enrayer la maladie (Cheriet & Benziouche, 2012).

#### **III.1.1.4. Évaluation de la relation entre le degré de négligence des exploitations et le taux d'infection par la pourriture de l'inflorescence.**

Dans le but de mesurer la corrélation entre la propagation de cette maladie dans les palmeraies des différentes stations étudiées et le mode de gestion, un test de corrélation a été réalisé pour évaluer la relation entre le degré de négligence des palmiers dattiers, l'entretien des palmeraies et le taux d'infection (Coefficient de Spearman).

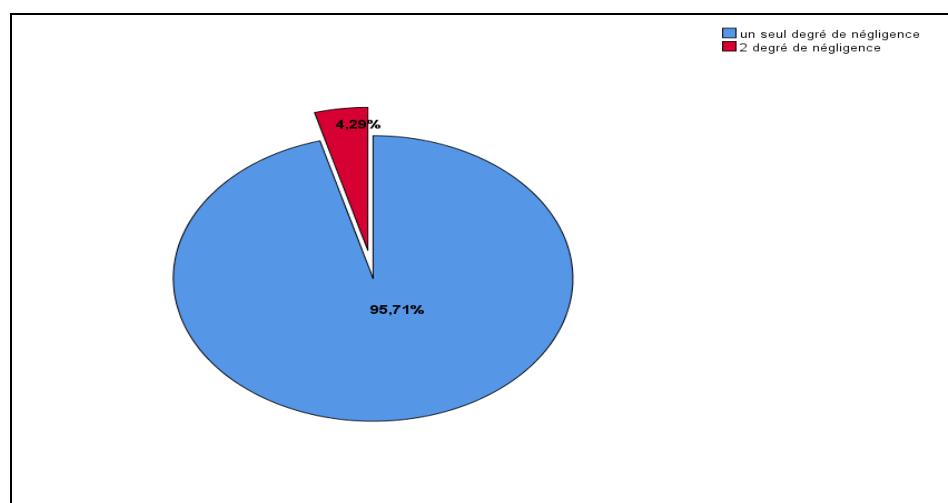
À la lecture des résultats de l'enquête, qui a porté sur les palmeraies touchées par la pourriture de l'inflorescence dans les stations étudiées, il est apparu que 50,7 % des vergers bénéficiaient d'un très bon entretien, tandis que 45 % des vergers étaient dans un état bon à moyen (29,7% et 15,3% respectivement). En revanche, 4,3 % des vergers avaient un mauvais entretien (Figure 12).



**Figure 12.** Niveau d'entretien dans les exploitations enquêtées.

L'analyse de la corrélation entre le pourcentage d'infection et le pourcentage d'entretien des palmeraies suggère qu'il existe une relation négative faible mais statistiquement significative entre les deux variables ( $R = -0,171$  et  $P = 0,000$ ). Cela signifie que lorsque le pourcentage d'entretien des palmeraies augmente, le pourcentage d'infection a tendance à diminuer, et vice versa. On peut donc en déduire que les palmeraies qui sont mieux entretenues ont tendance à avoir un pourcentage d'infection plus faible.

Quant au degré de négligence, les résultats obtenus indiquent que 95,71% des vergers étudiés ne présentaient qu'un seul degré de négligence (aucune utilisation de fongicides), tandis que 4,29 % avaient 2 degrés de négligence (Figure 13), ce qui indique que les vergers étudiés sont dans un excellent état.



**Figure 13.** Degré de négligence

En effet, les résultats de l'analyse de corrélation de Spearman indiquent qu'il existe une faible corrélation positive, mais statistiquement significative ( $R = 0.25$  et  $P = 0,000$ ) entre le degré de négligence et le pourcentage d'infection. Cela signifie que plus le degré de négligence est élevé, plus le pourcentage d'infection est susceptible d'être important.

D'après les résultats représentés ci-dessous (Figure 14 et 15), il semble qu'il y ait une certaine variabilité dans les taux d'infection entre les différentes palmeraies, même au sein du même niveau d'entretien et degré de négligence. Cela pourrait être dû à un certain nombre de facteurs, tels que la variété des dattiers qui sont plus ou moins sensibles aux maladies, les pratiques culturelles spécifiques et les conditions environnementales locales, telles que le climat.

Bien que l'entretien des palmeraies demeure un facteur important influençant le risque de maladie, il est clair que la relation est plus complexe qu'une simple relation linéaire. Il semble qu'il y ait une tendance à la baisse du pourcentage d'infection avec l'amélioration du niveau d'entretien, puisque ce pourcentage est de 1,75 % pour le niveau "Mauvais" et de 0 à 7,04 % pour le niveau "Moyen". Cette tendance suggère qu'un bon entretien des palmeraies pourrait effectivement contribuer à réduire le risque de maladie.

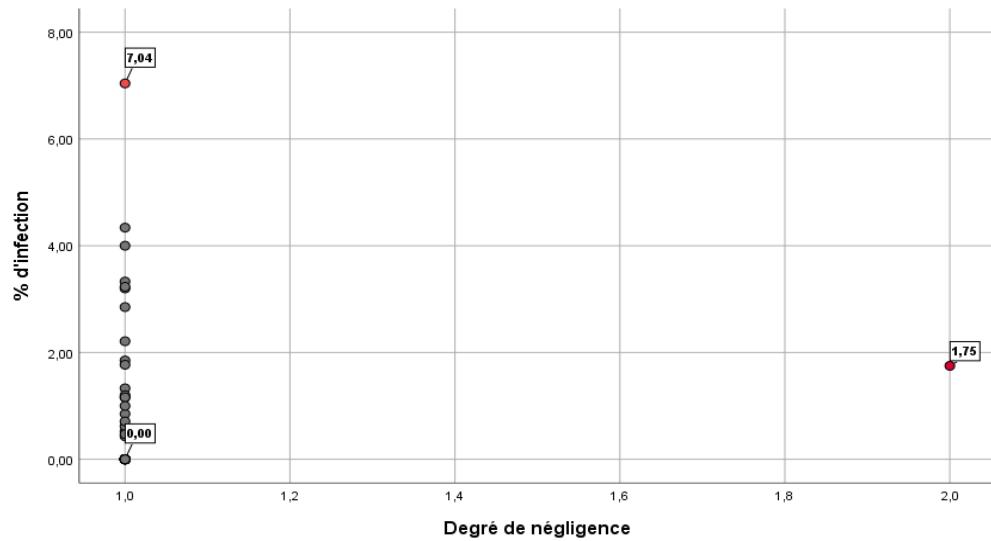
De même, on a constaté qu'avec un seul degré de négligence le taux d'infection variait de 0 à 7,04 %, tandis qu'avec deux degrés de négligence, le taux d'infection diminuait, atteignant 1,75 %. Cela qui confirme encore qu'il n'y a pas nécessairement de corrélation entre le taux d'infection des palmiers et l'entretien des vergers ou le degré de négligence.

Ces résultats corroborent également les informations fournies par les agriculteurs interrogés, qui nous ont indiqué que le taux d'infection des palmiers n'est pas obligatoirement lié au degré de négligence ou d'entretien.

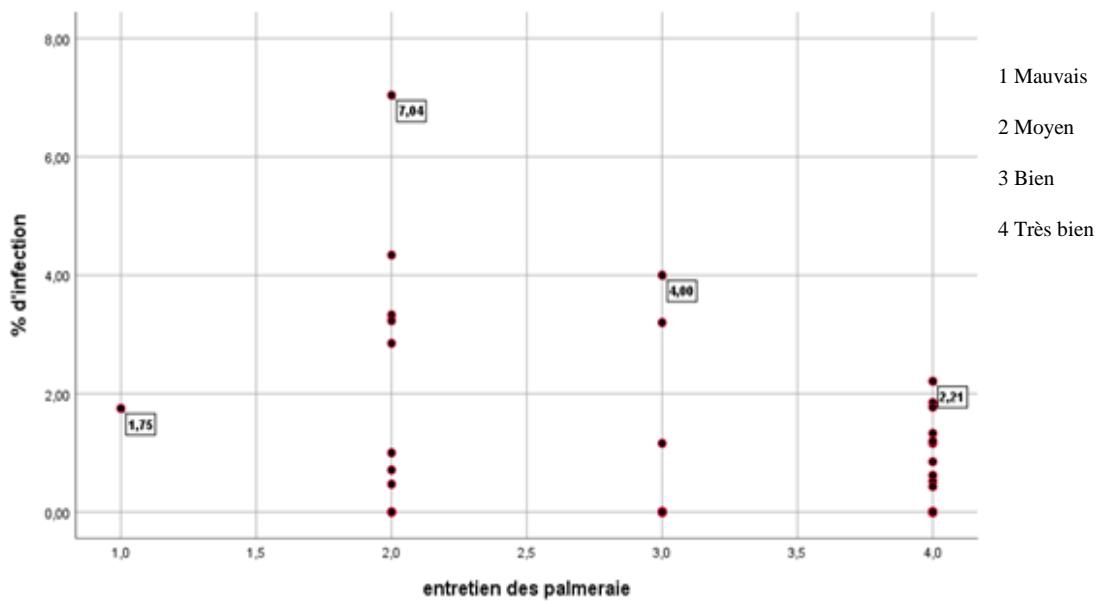
Il est important de noter que cette corrélation ne signifie pas qu'il existe une relation causale entre le degré de négligence, l'entretien des palmeraies et le pourcentage d'infection. Il est possible que d'autres facteurs expliquent cette association.

Selon Al-Ani et al. (1971), la maladie se propage facilement aux palmiers voisins lorsque les conditions sont favorables à son développement. Ils ont également montré que le pathogène est principalement conservé sous forme de mycélium dans les inflorescences infectées qui restent sur les palmiers de la saison précédente ou dans les bases des feuilles infectées.

Cela pourrait également indiquer que cette maladie fongique semble être influencée par une combinaison de mauvaises pratiques d'irrigation / de drainage et/ou d'entretien, de pratiques agricoles, de fertilisation, d'utilisation de fongicides et de données climatiques. Dakhia et al. (2013) ont souligné que la fluctuation des maladies dans les vergers de palmiers des différents bassins phoenicicoles était étroitement liée à la manière dont les vergers étaient gérés et au respect des pratiques culturelles. Il convient de noter que les palmiers dattiers bien entretenus ne présentent généralement aucun symptôme de la maladie.



**Figure 14.** Taux d'infection en fonction de degré de négligence

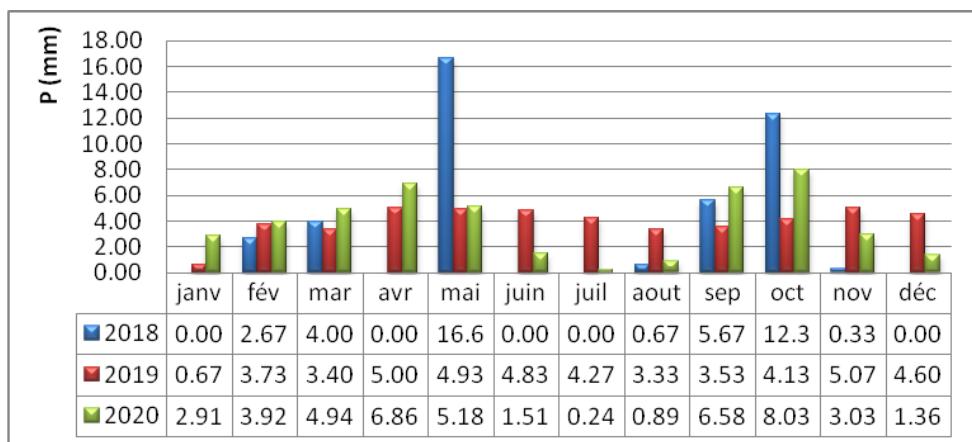


**Figure 15.** Taux d'infection en fonction de niveau d'entretien des palmeraies

### III.1.2. Rôle des précipitations dans l'émergence et la propagation de la maladie

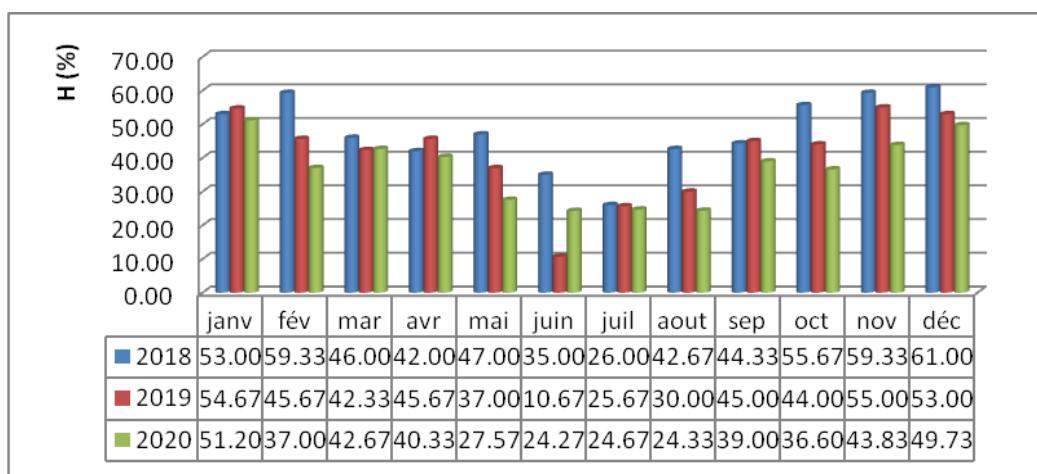
D'après les données résumées dans la figure 16, il apparaît que la région de Biskra se caractérise par de faibles précipitations, très localisées, irrégulières et mal réparties au cours des années d'étude. La précipitation maximale est de 16,6 mm au mois de mai 2018, tandis qu'il n'y a eu aucune précipitation au mois de janvier, avril, juin, juillet et décembre (0 mm). Durant les deux années 2019 et 2020 on a remarqué un maximum de 5,07 mm au mois de novembre et 8,03 mm au mois d'octobre respectivement, la valeur minimale est de l'ordre de 0,67 et 0,24 mm au mois de janvier et juillet respectivement.

Pour cette période d'étude (2018, 2019 et 2020), la moyenne mensuelle est de l'ordre de 3,53 mm, 3,96 mm et 3,79 mm.



**Figure 16.** Précipitation moyenne mensuelle pour la période (2018-2020). (ONM, 2020).

En ce qui concerne l'humidité relative, on constate, selon les données présentées dans la figure 17, que la moyenne mensuelle de l'humidité relative de l'air est d'environ 47,61 %, 40,72 % et 36,77 % pour la période d'étude 2018, 2019 et 2020. En effet, il a été observé que le mois le plus humide est celui de décembre, avec une moyenne mensuelle de 61,00 % en 2018, tandis que le mois le plus sec est celui de juin, avec une moyenne mensuelle de 10,6 % en 2019.



**Figure 17.** Humidité relative mensuelle de la région de Biskra à la période (2018-2020) (ONM, 2020)

En se basant sur les données ci-dessus, on peut conclure que les précipitations ont été faibles, voire inexistantes, et que l'humidité relative a été relativement faible au cours de la période allant de janvier à mars, avant la formation des boutons floraux, et de mars à avril, au début de la formation des boutons floraux. Ces deux périodes correspondent à la période de croissance du pathogène étudié, ce qui a conduit à la création de conditions défavorables à la propagation de ce dernier. Selon la littérature, le manque de précipitations rend les conditions improches à la croissance fongique, ce qui signifie que les facteurs climatiques ne sont pas propices à l'émergence et à la propagation de la maladie. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par Al-Ani et al. (1971), Alhassen & Waleed (1977), Djerbi (1983) et Zaid et al. (2002), qui ont déclaré que plusieurs attaques de la maladie ont été enregistrées dans des zones soumises à des périodes prolongées de pluie et de froid, deux à trois mois avant l'émergence des spathes. Hussain & El Baldawy (1977) ont indiqué que jusqu'à 52 % des palmiers pouvaient être affectés dans la ville de Basrah (Irak), où l'humidité est élevée, alors que les proportions d'arbres affectés dans le centre d'Irak se situaient entre 10 et 20 %. En règle générale, les conidies de *M. scaettae* sont très courtes et ne perdurent pas pendant l'hiver. D'après Al-Ani et al. (1971), Alhassen & Waleed (1977) et Djerbi (1983), les infections primaires sont causées par les mycéliums.

### III.2 Symptômes de la maladie

Sur la base des enquêtes menées dans les palmeraies, les palmiers infectés sont identifiés par la présence de symptômes de la pourriture de l'inflorescence. La zone touchée présente des symptômes sur l'ensemble de l'inflorescence, y compris les parties mâles et femelles, et dégage une odeur désagréable due à l'attaque fongique. Cela indique que ces zones sont propices au développement de moisissures. Les symptômes de la maladie observés se révèlent sur la surface externe des spathes fermées par l'apparition de taches de rouille.

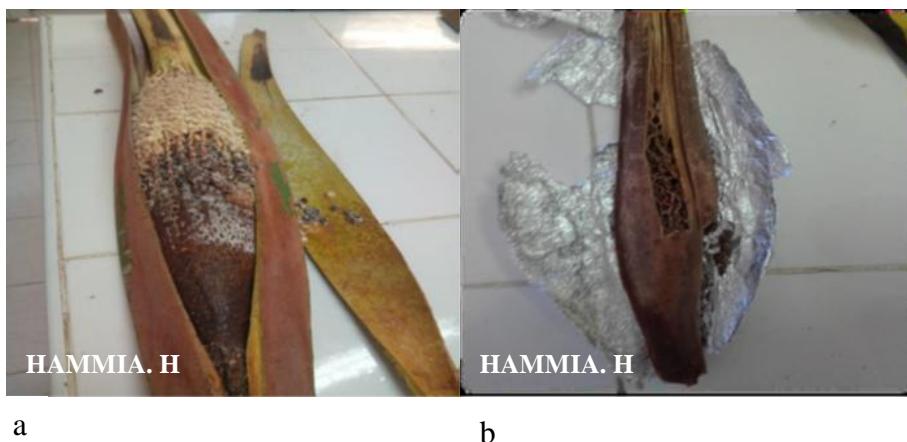
Selon les agriculteurs enquêtés, la maladie apparaît lorsque les spathes commencent à émerger au début du printemps. Il est difficile de distinguer la spathe saine de la spathe infectée au début de son apparition. Il a été constaté que les symptômes apparaissaient principalement près du sommet de la spathe après l'ouverture des spathes infectées. Dix jours plus tard, une destruction totale des spadices a été remarquée (Photo 8 a). D'autre part, les spathes sévèrement affectées deviennent sèches et restent fermées (photo 8 b).

Dans ce contexte, Djerbi (1983) montre que les spathes ne s'ouvrent pas en raison de la dégradation complète de leur contenu par le pathogène qui a envahi les spathes. On a également remarqué dans d'autres échantillons que les symptômes s'étendent au pédoncule de l'inflorescence.

Notre étude confirme ceux rapportés par Al-Sharidi & Al-Shahwan (2003) qui ont constaté que les échantillons prélevés sur des palmiers infectés présentaient des inflorescences pourrissantes, accompagnées de l'apparition d'une odeur désagréable sur les spadices mâles ou femelles, avant ou après leur ouverture.

Nous pouvons confirmer que les symptômes détectés dans cette enquête sont identiques à ceux enregistrés sur des palmiers de différentes origines. Selon Abdullah et al. (2005), Al-Ani et al. (1971), Bounaga & Djerbi (1990), Carpenter & Elmer (1978), Chabrolin (1930) et Djerbi (1983), la maladie apparaît lorsque les spathes commencent à émerger à la fin de l'hiver ou au début du printemps, lorsque les spathes affectées se distinguent à peine des spathes normales. Des zones brunâtres ou rouillées se développent sur la spathe non ouverte, les lésions étant plus fréquentes près du sommet de la spathe, qui, au moment de l'infection, est molle et encore cachée dans la base de la feuille. La face interne de la spathe, sous les lésions, est jaune et translucide et peut présenter des taches brunes correspondant aux points de contact avec les fleurs malades. Le champignon attaque les fleurs et les rameaux et peut se déplacer le long du pédoncule de l'inflorescence.

Les spathes, qui sont gravement endommagées lorsqu'elles sont jeunes, peuvent rester fermées ; cependant, la spathe se fend généralement, révélant des dommages partiels ou presque complets aux fleurs et aux brins. Une abondante poussière blanche de spores de *M. scaettiae* recouvre les zones brunes infectées par le champignon.



**Photo 8.** Symptômes de la pourriture de l'inflorescence (Photo originale).

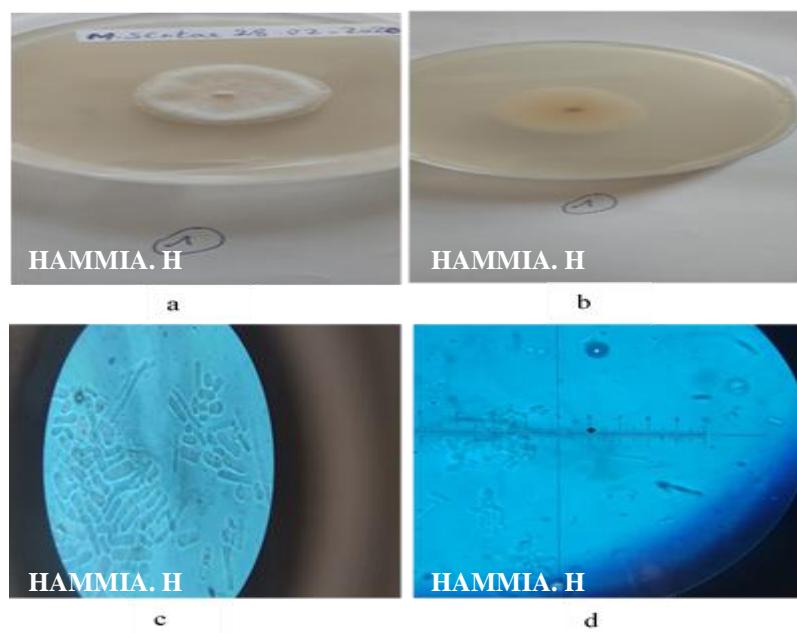
a : Destruction totale des spadices ; b : Spathes sévèrement affectées

### III.3 Diagnostic et détection de l'agent pathogène

L'isolement a été effectué à partir de 25 spathes de palmiers dattiers présentant les symptômes typiques de la pourriture de l'inflorescence (Photo 9). Après la purification et suivant les clés d'identification décrites ci-dessus, il a été constaté que 24 spathes avaient donné des cultures pures de *M. scaettiae* (Photo 10).



**Photo 9.** Isolement de l'agent pathogène à partir de spathes présentant les symptômes typiques de la pourriture de l'inflorescence (Photo originale).



**Photo 10.** Observation macro et microscopique de *M. scaettae*

A : Aspects morphologiques recto ; b : Aspects morphologiques verso ; c et d : les hyphes et les conidies du champignon

Nos résultats confirment également ceux d'Abdullah et al. (2005), Al-Ani et al. (1971), Bounaga & Djerbi (1990) et Djerbi (1983), qui ont rapporté que le champignon *M. scaettae* est la cause principale de la pourriture des inflorescences.

Nous avons constaté lors de notre étude que parmi les 25 spathes infectées par *M. scaettae*, une seule spathe était infectée par d'autres champignons (*Thielaviopsis* et *Alternaria* sp.). Ceci est en accord avec les résultats d'Abdullah et al. (2005), Al-Roubaie et al. (1987), Al-Sharidi & Al-Shahwan (2003), Djerbi (1983) et Rattan & Al-Dboon (1981), qui ont mentionné que plusieurs champignons autres que *M. scaettae*, tels que *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. solani*, *Trichothecium roseum*, *Botrytis aclada*, *Thielaviopsis paradoxa*, *Acremonium strictum* et *Memmoniella* sp, ont été signalés dans plusieurs cas de pourriture de l'inflorescence du palmier dattier et considérés comme d'importance mineur.

Il a également été constaté que le genre *Alternaria* était à l'origine de la maladie Khamedj dans certaines régions d'Arabie Saoudite où les espèces *Alternaria chlamydospora* et *Alternaria alternata* ont été référencées à Jizan et Al Qasim (Kassim, 1983).

De plus, une étude menée en Arabie saoudite a révélé que la maladie Khamedj était provoquée par *Thielaviopsis paradoxa* (De Seyn.) Hohn dans les spathes infectées, que ce soit en l'absence ou en association avec *M. scaettiae*. Il s'agit du premier signalement de l'isolement de *T. paradoxa* à partir de pourritures d'inflorescences de palmiers dattiers dans la région de Riyad (Arabie Saoudite) (Al-Sharidi & Al-Shahwan, 2003). De plus, Abdullah et al. (2005), Dufresne & Guy (2018) et Rattan & Al-Dboon (1981) ont mentionné que le champignon *Thielaviopsis paradoxa* était responsable de cette maladie à Basrah (Irak).

En raison de son rôle essentiel en tant que principal agent pathogène de la plante, l'espèce *M. scaettiae* a été choisie pour l'analyse de la maladie de la pourriture de l'inflorescence. Sa classification a été effectuée en se basant sur les caractéristiques morphologiques et la similarité phylogénétique.

Sur le milieu PDA, les colonies de *M. scaettiae* sont de couleur blanche sur le recto et crèmeuse à brun pâle, devenant noir dans certains isolats du verso. Elles atteignent 2,5 à 3 cm de diamètre après 7 jours de croissance. Les jeunes colonies ont un aspect cotonneux et deviennent poudreuses après une sporulation abondante (Photo 10 a et b).

Nos résultats confirment ceux rapportés par Abdullah et al. (2005), Dufresne & Guy (2018) et Rattan & Al-Dboon (1981), qui ont démontré que ces caractéristiques morphologiques sont typiques de *M. scaettiae*.

Selon Alhassen & Waleed (1977), le champignon *M. scaettiae* possède deux types phénotypiquement distincts, mais ils sont tous les deux similaires en ce qui concerne leur pathogénicité. Le premier type est celui où la couleur de la colonie est blanche. Au début de la croissance, elle devient noire après quelques jours, on parle alors de type noir qui se distingue par une croissance rapide. En revanche le type blanc se distingue par une croissance lente et la couleur de la colonie reste blanc jaunâtre pendant toute la vie du champignon. Ils ont également noté que le type blanc est un agent pathogène très répandu dans la majorité des régions phoenicicoles.

Selon les résultats enregistrés, le mycélium est composé d'hyphes ramifiées, hyalines et septées avec une paroi mince mesurant entre 15 et 80  $\mu\text{m}$  de long et 3 à 10  $\mu\text{m}$  de large. Les hyphes immersés ont une taille de 1,5 à 2,5  $\mu\text{m}$ , tandis que les hyphes aériens ont une taille de 3 à 4,5  $\mu\text{m}$ . Les arthroconidies sont unicellulaires ou multicellulaires. Les spores mûres sont unicellulaire, bicellulaire, tricellulaire ou pluricellulaire (Photo 10 c et d).

En effet, les résultats obtenus sont en accord avec ceux d'Abdullah et al. (2010) et Rattan & Al-Dboon (1981), qui ont noté que les hyphes immergés ont une taille de 2 à 2,5  $\mu\text{m}$ , les hyphes aériens de 3 à 4  $\mu\text{m}$ , et que les arthroconidies sont causées par la segmentation des hyphes aériens, qu'ils soient unicellulaires ou multicellulaires.

En ce qui concerne la forme conidienne, décrite par Cavara sous le nom de *M. scaettiae*, elle se caractérise par des spores matures unicellulaires, bicellulaires, tricellulaires ou, plus rarement, pluricellulaires. Leur longueur varie de 10 à 90  $\mu\text{m}$  en fonction du nombre d'articles qui les composent, tandis que leur largeur varie de 3 à 12  $\mu\text{m}$ . La taille habituelle de ces spores se situe entre 7 et 9  $\mu\text{m}$  (Chabrolin, 1930). Par ailleurs, l'étude menée par Carpenter & Elmer (1978) affirme également que les chaînes de conidies de *M. scaettiae* se fragmentent en unités d'une à plusieurs cellules de 10 à 50  $\mu\text{m}$  de long et de 5 à 10  $\mu\text{m}$  de large.

#### **III.4 Test de pathogénicité**

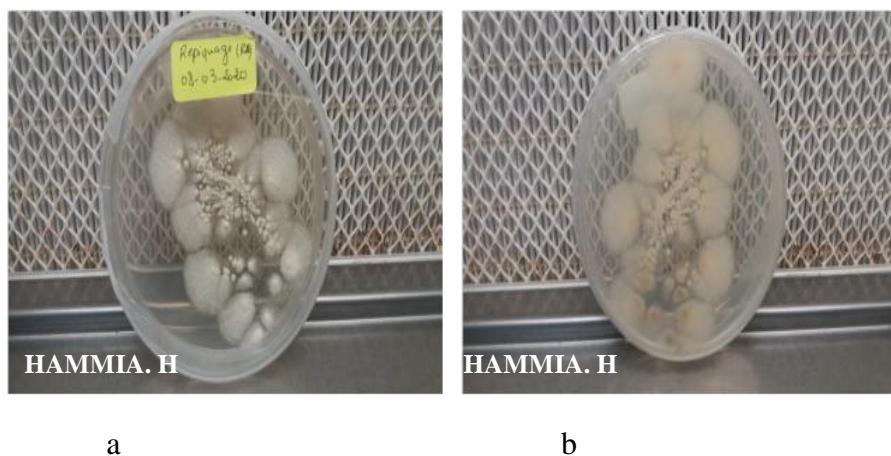
Le test de pathogénicité a été réalisé sur des inflorescences détachées exemptes de maladie. Après quatre jours d'incubation à l'obscurité, toutes les spathes précédemment inoculées avec la suspension de spores de *M. scaettiae* ont montré des symptômes typiques de la maladie. On a observé des zones brunâtres ou rouillées se développant sur la spathe. Ce test a prouvé la capacité du pathogène à engendrer la pourriture de l'inflorescence (Photo 11). Des cultures pures de *M. scaettiae* avec des arthroconidies abondantes ont été ré-isolées à partir de toutes les spathes inoculées (Photo 12).

Dans le cadre des tests de pathogénicité, nos résultats sont similaires à ceux d'Abdullah et al. (2005), Abdullah et al. (2010) et Bouhlali et al. (2021), qui ont démontré que *M. scaettiae* possède un pouvoir pathogène élevé.



**Photo 11.** Symptômes de la pourriture de l'inflorescence provoqués par les souches de *M. scaettiae* sur les spathes, 4 jours après inoculation (Photo originale)..

a : Spathe injectée de spores de *M. scaettiae* ; b : Spathe témoin injectée d'eau distillée.



**Photo 12.** Réisolement du pathogène *M. scaettiae* (Photo originale).

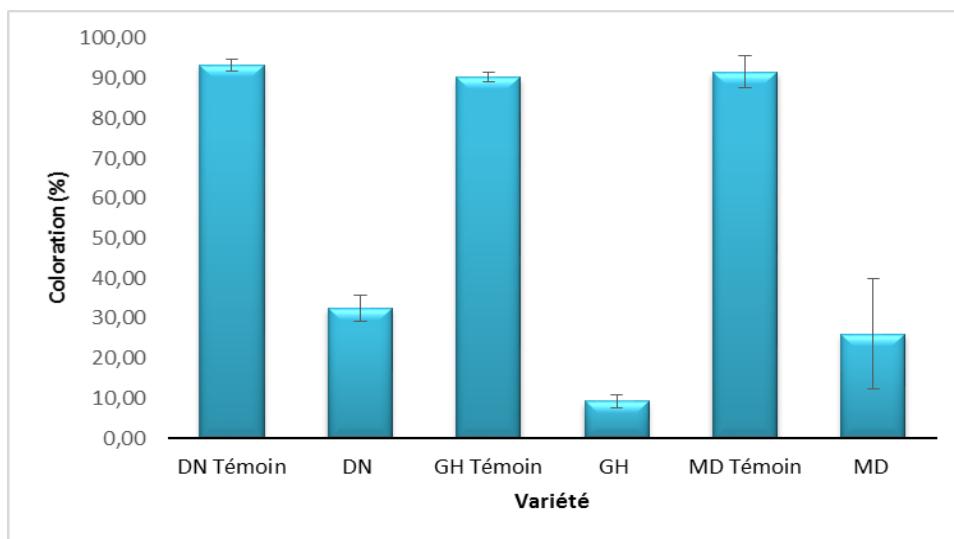
Aspects macroscopiques a : recto ; b : verso.

### III.5 Toxicité du filtrat de *M. scaettæ* sur la viabilité des grains de pollen de différentes variétés de palmiers dattiers.

#### III.5.1. Test de coloration

Les résultats obtenus montrent un effet toxique du filtrat de *M. scaettæ* sur la vitalité des grains de pollen. Après 10 jours de culture une différence très hautement significative ( $P < 0,0001$ ) a été enregistrée entre les différentes variétés testées (Annexe 3, Tableau 1). La coloration maximale a été enregistrée pour les trois variétés témoins DNT, MDT et GHT, avec des valeurs de  $93,33 \pm 1,52\%$ ,  $91,66 \pm 4,04\%$  et  $90,33 \pm 1,26\%$  respectivement. Les cultivars DN, MD et GH, en présence de filtrat, ont montré une sensibilité élevée, dont la coloration estimée est de  $32,51 \pm 3,34\%$ ,  $26,07 \pm 13,77\%$  et  $9,3 \pm 1,61\%$  respectivement. Il a été rapporté que le faible pourcentage de coloration a été enregistré pour GH (Figure 18).

La classification des groupes homogènes selon la variété montre une différence très hautement significative. On constate que la variété GH représente un groupe indépendant (C) avec la valeur la plus faible. Par contre, les deux variétés DN et MD sont regroupées dans le groupe (B).

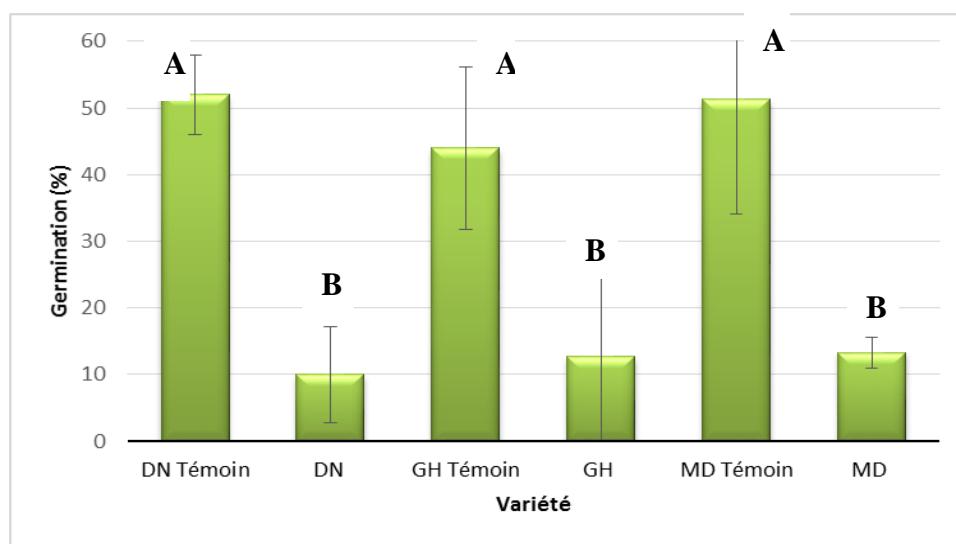


**Figure 18.** Taux des grains de pollen colorés.

### III.5.2. Germination

Les résultats de l'étude sur la toxicité des filtrats sur la germination du pollen montrent un effet inhibiteur très hautement significatif ( $P < 0,0004$ ) (Annexe 3, Tableau 2). En effet, le taux de germination enregistré pour les trois variétés témoins DNT, MDT et GHT est respectivement de  $52 \pm 6\%$ ,  $51,33 \pm 4,04\%$  et  $44 \pm 12,16\%$ . Le pourcentage de germination des DN, MD et GH a diminué en présence de filtrat de culture, avec des valeurs respectives de  $10 \pm 7,21\%$ ,  $13,33 \pm 2,3\%$  et  $12,66 \pm 13,31\%$  (Figure 19).

L'analyse de classification des groupes homogènes en fonction de la variété a montré une différence très hautement significative. On constate que les trois variétés DN, GH et MD sont regroupées dans le même groupe (B) avec des valeurs faibles par rapport au témoin.



**Figure 19.** Taux des grains de pollen germés.

À la suite de l'évaluation de la toxicité du filtrat de culture de *M. scaettae*, les résultats ont montré un effet toxique élevé sur la viabilité du pollen. Cela se manifeste par une diminution de leur vitalité et de leur germination.

Les résultats de cette expérience corroborent les travaux de Bouguedoura (1991), qui a rapporté que le pollen de palmier dattier a une durée de vie allant jusqu'à plusieurs années et que sa viabilité à l'état frais varie de 90,50 à 95,80 %. De même, Halimi (2004) signale que la viabilité du pollen à l'état frais est viable de 47 à 99 %. Néanmoins, dans cette étude, le filtrat de *M. scaettae* réduit la vitalité des grains de pollen par rapport au témoin. En effet, les résultats obtenus confirment les travaux d'Abass (2005) et Hameed (2012), qui ont rapporté l'effet inhibiteur des filtrats de culture de *M. scaettae* sur la vitalité et la germination des grains de pollen.

L'effet toxique du filtrat sur la viabilité du pollen peut s'expliquer par la sécrétion d'enzymes qui dégradent les parois et les membranes des cellules du pollen (Abass, 2005; Al-Saadoon et al., 2005). Ces dernières ont en effet démontré la capacité de *M. scaettæ* à sécréter plusieurs enzymes, telles que des protéases (enzymes de dégradation des protéines, le principal composant des enzymes et des membranes cellulaires), qui affectent donc gravement le système et la fonction de la cellule hôte ainsi que la cellulase (une enzyme qui dégrade la cellulose, le principal composant de la paroi cellulaire). Elles ont également démontré la capacité du champignon à sécréter la lipase, une enzyme qui dégrade les lipides, le principal composant de la membrane plasmique. Outre les phénol-oxydases, qui dégradent la substance lignine, cette dernière est l'un des composés phénoliques résistants aux microbes, et les champignons sont le seul groupe capable de la détruire. Cela explique l'effet des enzymes de dégradation et des mycotoxines qui empêchent le gonflement des grains de pollen et font échouer le processus de germination (Belkarami, 1988).

### **III.6 Effet des extraits de spadice de différentes variétés sur la croissance mycélienne de *M. scaettæ***

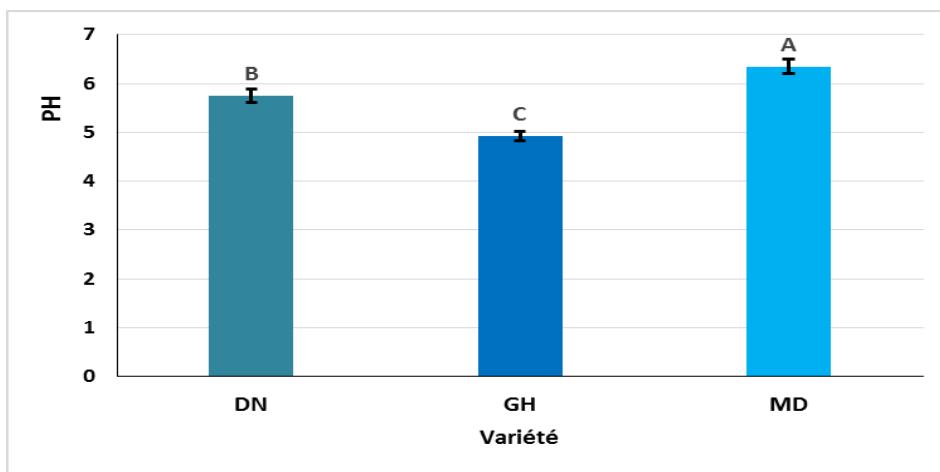
#### **III.6.1. Dosage des sucres et des polyphénols totaux des spadices de différentes variétés du palmier dattier**

Le dosage des sucres totaux et des polyphénols de spadice de différentes variétés de palmiers par spectrophotométrie est justifié par le fait que la majorité de leurs propriétés antimicrobiennes leur sont attribuées.

##### **III.6.1.1. Détermination du pH**

Les résultats de l'analyse de variance et du test de Newman-Keuls (5 %) (Annexe 4, Tableau 1) montrent une différence hautement significative entre les trois extraits aqueux des variétés testées ( $P < 0,0001$ ). Le groupe A, représenté par la variété MD, présente le pH le plus élevé ( $6,36 \pm 0,15$ ), tandis que les groupes B et C, comprenant les variétés DN et GH, enregistrent des valeurs respectives de  $5,75 \pm 0,13$  et  $4,93 \pm 0,09$  (Figure 20).

Le pH des extraits DN, MD et GH était inférieur à la neutralité. Le pH se situait dans la gamme acide.



**Figure 20.** Valeurs de pH des extraits aqueux de trois variétés étudiées.

D'après les données recueillies, le pH des spadices (fleurs avec leur pollen) du palmier dattier n'a jamais été abordé auparavant. En effet, toutes les études réalisées se sont focalisées sur le pollen ou les dattes. La seule étude que nous avons trouvée est celle de Karra et al. (2019) qui a évalué le pH de fleurs mâles de palmier dattier dépourvues de pollen. La présente tentative vise non seulement à quantifier ce paramètre, mais aussi à déterminer son effet éventuel sur la croissance mycélienne de *M. scaettiae*.

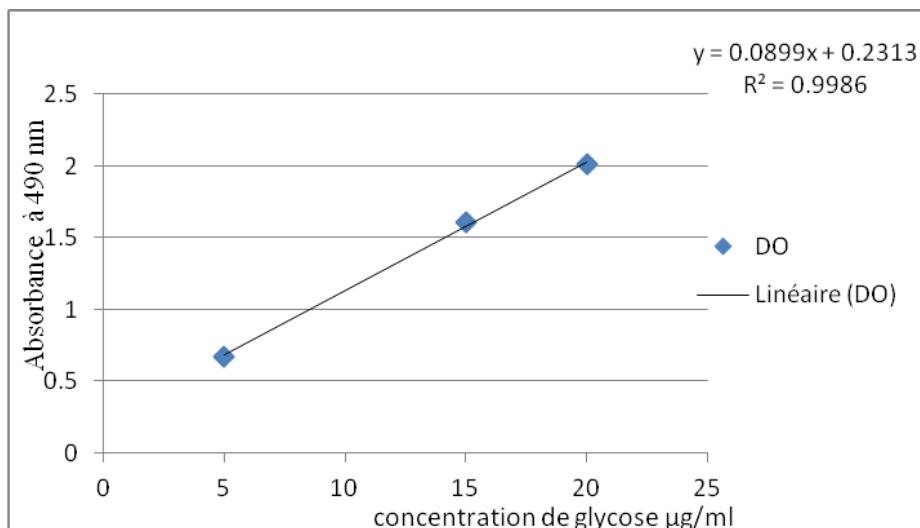
Nos résultats confirment ceux rapportés par Karra et al. (2019), qui a montré que les fleurs mâles de palmier dattier en Tunisie avaient un pH égal à  $5,96 \pm 0,01$ . Dans la même région (Tunisie), une autre étude menée par Sebii et al. (2019) a démontré que la valeur du pH des grains de pollen de palmier dattier mâle était de l'ordre de 6.31.

Il faut noter que les valeurs de pH du pollen et des dattes mentionnées dans la littérature sont comprise entre 5 et 7 (Acourene & Tama, 1997; Al Temimi, 2020; Maryam et al., 2015; Reynes et al., 1994).

Cependant, il est utile de noter que *M. scaettiae* se développe sur différents milieux de culture dont le pH varie de 4 à 8 (Bensaci & Rahmania, 2009). Reynes et al. (1994) ont également rapporté qu'un pH compris entre 5 et 6 est propice au développement de la flore fongique.

### III.6.1.2. Dosage des sucres totaux

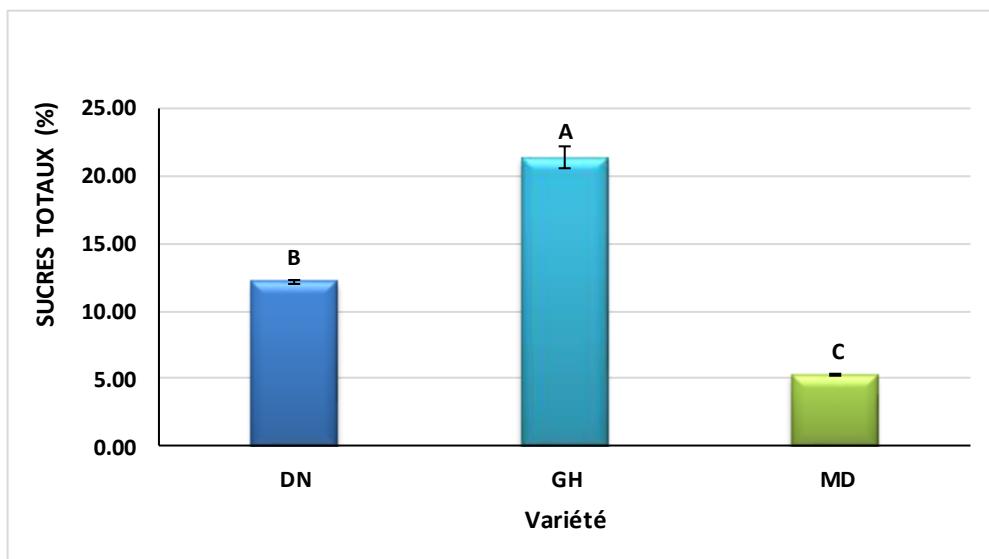
La concentration en sucres totaux dans les extraits aqueux a été exprimée sur la base de l'équation de la courbe d'étalonnage du glucose ( $y = 0,0899x + 0,2313$  ;  $R^2 = 0,9986$ ) (Figure 21).



**Figure 21.** Courbe d'étalonnage du glucose

L'analyse statistique montre des différences très hautement significatives entre les moyennes en sucres totaux des variétés étudiées ( $P < 0,0001$ ) (Annexe 4, Tableau 2). Suivant le test de Newman-Keuls (5 %), trois groupes homogènes distincts ont été identifiés : le groupe A, qui comprend la variété GH, le groupe B, qui rassemble la variété DN, et le groupe C, qui comprend la variété MD.

Les résultats obtenus pour la teneur en sucres totaux montrent que la valeur la plus élevée a été enregistrée pour GH avec une valeur de  $21,36 \pm 0,82\%$ , et la plus faible pour MD  $5,23 \pm 0,07\%$  tandis qu'une teneur moyenne a été enregistrée pour DN avec  $12,12 \pm 0,14\%$  (Figure 22).



**Figure 22.** Dosage des sucres totaux des trois variétés étudiées.

Les teneurs en sucres totaux estimées dans les trois extraits de variété DN, GH et MD sont inférieures à celles rapportées par Hameed (2005), qui a montré que la teneur en sucres totaux dans les inflorescences de différentes variétés de palmier dattier en Irak était de l'ordre de 32,3 % pour Hillawi, 31,4 % pour Sayer, 31% pour Ghannamy Akhdhar et 28,1 % pour Breem.

D'autre part, l'étude de Karra (2020) a également rapporté que la valeur des sucres totaux dans les fleurs mâles de palmier dattier sans pollen était inférieure à celle obtenue dans notre étude où le taux était de 2%.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Abd (2016), qui a rapporté que les teneurs en sucres totaux dans les grains de pollen de palmier dattier des variétés Ghannamy Ahmar, Khikri Adi et Ghannamy Akhdhar étaient respectivement de 20,60 %, 8,1 % et 12,3 %.

Dans ce sens, une étude menée par Al Temimi (2020) en Irak sur trois sites agricoles dans les provinces de Thi Qar, Basra et Babylone afin d'estimer les composants chimiques dans les pollens de palmier dattier (variété Samisemi), a indiqué que les teneurs en sucres totaux étaient fortement différentes dans les trois régions étudiées, où elles étaient respectivement de 20,09 %, 19,02 % et 18,32 %.

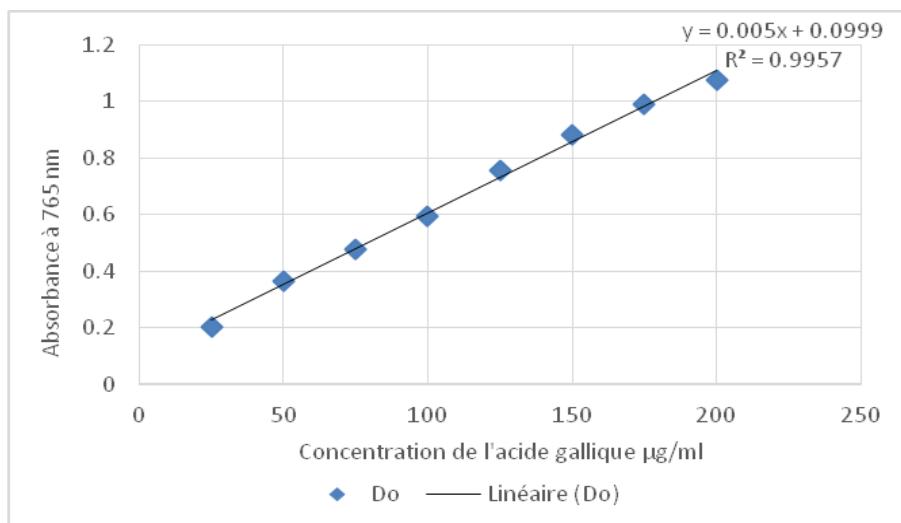
Une autre étude menée par Sebii et al. (2019) sur les grains de pollen de palmier dattier mâle de la variété Deglet Nour a révélé une valeur de 18,22 %.

Par ailleurs, Mehaoua (2006) a étudié la teneur en sucres totaux dans les Folioles des trois variétés de palmier dattier GH, DN et DB. Il a démontré que les deux variétés GH et DN ont la même teneur en sucres totaux de 0,04 % alors que la variété DB a une faible teneur de 0,02 %.

### III.6.1.3. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols sont des principes actifs végétaux présents dans le règne végétal et utilisés sous différentes formes. Ils sont capables de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires et sont reconnus pour leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, antioxydantes et même anti-tumorales (Kouakou et al., 2006).

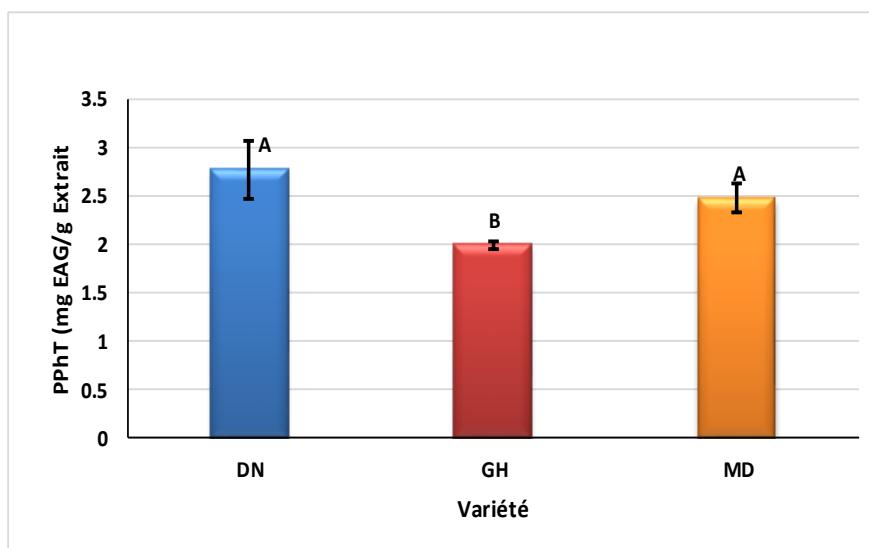
Les polyphénols totaux ont été dosés par la méthode Folin-Ciocalteu. La teneur en polyphénols totaux des différents extraits aqueux a été calculée à l'aide de l'équation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ( $y = 0,005 x + 0,0999$  ;  $R^2 = 0,9957$ ) (Figure 23).



**Figure 23.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Une différence hautement significative en polyphénols a été révélée par l'analyse statistique entre les trois variétés de palmiers dattiers ( $P < 0,05$ ) (Annexe 4, Tableau 3). La teneur en polyphénols des trois extraits DN, GH et MD était respectivement de  $(2,77 \pm 0,29$ ,  $1,99 \pm 0,04$  et  $2,48 \pm 0,15$ ) (mg EAG/g MF) (Figure 24).

La figure ci-dessous montre que les variétés DN et MD sont classées dans le même groupe homogène (A) en fonction des résultats de l'analyse du test de Newman-Keuls (5 %), les différences entre elles n'étant pas significatives. La variété GH est, quant à elle, classée dans la classe B avec un taux minimum. Cela démontre les différences hautement significatives entre les trois types.



**Figure 24.** Dosage des polyphénols des trois variétés étudiées.

En effet, Karra et al. (2019) a révélé que la teneur en polyphénols totaux dans les fleurs mâles de palmier dattier exemptes de pollen était d'environ 3829,22 mg EAG /100g MS.

Une étude effectuée par Marouf et al. (2010) a prouvé que la teneur en composés phénoliques totaux dans les extraits aqueux des feuilles de 20 cultivars de palmiers dattiers variait fortement. Le cultivar 'Ghars' présentait la valeur maximale de  $170,79 \pm 2,39$  mg EAG/g d'extrait lyophilisé, tandis que le cultivar 'Deglet nour' avait des valeurs plus faibles, soit  $57,94 \pm 3,13$  mg EAG/g d'extrait lyophilisé.

Tirichine (2010) a également prouvé, dans ses travaux sur les folioles d'une vingtaine de cultivars de palmiers dattiers échantillonnés dans les oasis du Mzab que la teneur moyenne en polyphénols est de l'ordre de 134,21 mg EAG/g d'extrait méthanolique sec, dont 145,87 mg EAG/g d'extrait méthanolique sec a été marqué au DN et 225,72 mg EAG/g d'extrait méthanolique sec pour GH.

D'autre part, Sebii et al. (2019) ont signalé que la teneur en polyphenols dans les grains de pollen de palmier dattier mâle de la variété Deglet Nour est de  $909,30 \pm 1.12$  mg EAG/100 g MS. Alors que Abd (2016) a remarqué que les grains de pollen du palmier dattier variété Ghannamy Ahmar et Khikri Adi contiennent une teneur en polyphénols estimée à 22,09 % et 19,25 % respectivement.

Le même auteur a réalisé une autre étude en 2016, sur les deux variétés étudiées, Ghannamy Ahmar et Khikri ; il a obtenu des valeurs différentes de celles enregistrées

précédemment, et a trouvé une teneur de 52,13 mg /g d'extrait alcoolique et de 44,14 mg /g d'extrait aqueux, respectivement.

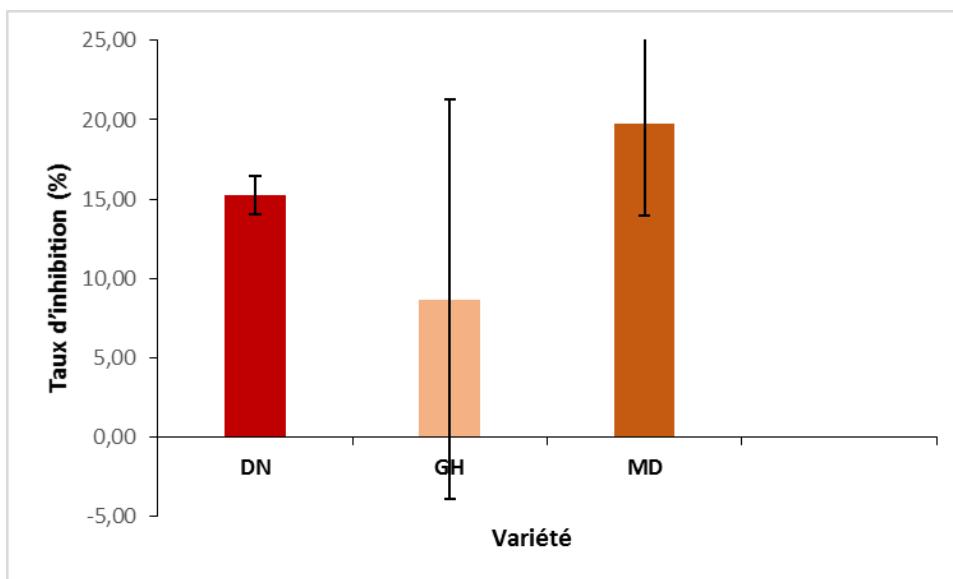
Cela indique que la teneur en polyphénols peut varier en fonction du solvant utilisé dans le processus d'extraction. On peut citer à titre d'exemple une étude effectuée par Al Temimi (2020) sur les grains de pollen de la variété Samisemi Mâle où des taux de 20,78 % et de 17,54 % ont été enregistrés. Une autre étude menée par Laouini (2014) dans la région d'Oued Souf a révélé des taux de polyphénols de 215,24 mg EAG/ g Ms pour la variété Ghars, 179,30 mg EAG/ g Ms pour Deglet Nour et 156,46 mg EAG/ g Ms pour la variété Hamraya.

De nombreux chercheurs ayant travaillé sur plusieurs variétés de palmiers dattiers ont indiqué que la teneur en sucres et en polyphénols des différentes parties du palmier dattier varie en fonction de la variété. Cette variation est due à différents facteurs, tels que les caractéristiques du sol, la qualité de l'eau d'irrigation, qui influe sur la composition chimique des différentes parties de la plante, l'origine géographique, les données climatiques et environnementales, la procédure de stockage et de séchage, la période de récolte et le stade de développement de la plante, ainsi que la méthode et les solvants utilisés pour l'extraction. En outre, les différenciations génotypiques entre les variétés de palmiers dattiers sont dues également à l'interaction entre les gènes et l'environnement (Abd, 2016; Al Temimi, 2020; Bentabet et al., 2014; Hameed, 2005; Karra et al., 2019; Lee et al., 2003; Mehaoua, 2006; Miliauskas et al., 2004).

### **III.6.2. Effet des extraits sur la croissance mycéienne de *M. scaettæ*.**

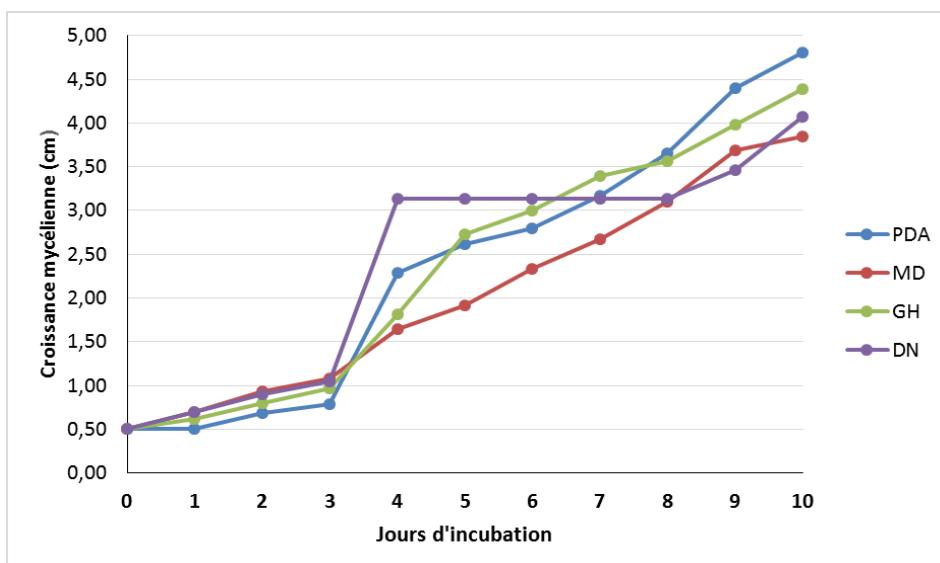
Les figures ci-dessous illustrent les résultats relatifs à l'effet des extraits de spadice de différentes variétés sur la croissance mycéienne de *M. scaettæ*.

En ce qui concerne l'inhibition de la croissance mycéienne de *M. scaettæ*, les analyses statistiques ont révélé qu'il n'y avait pas de différences significatives ( $p > 0,05$ ) entre les cultivars MD, DN et GH (Annexe 4, Tableau 4). En effet, les trois variétés présentent respectivement un taux d'inhibition de la croissance mycéienne de  $19,79 \pm 5,8 \%$ ,  $15,27 \pm 1,2 \%$  et  $8,68 \pm 12,62 \%$  (Figure25).

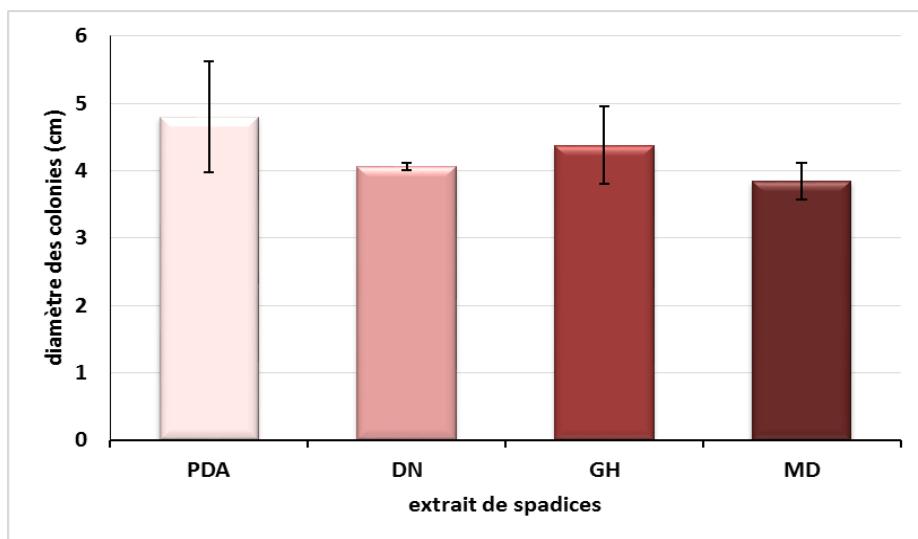


**Figure 25.** Taux d'inhibition (%) de *M. scaettiae* cultivé sur l'extrait des spadices de différentes variétés étudiées.

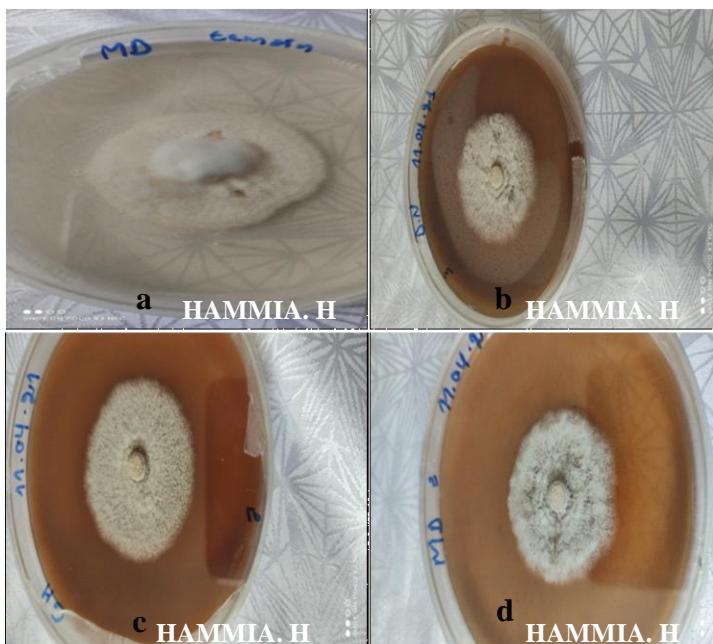
En outre, on a observé que la croissance était à peu près stable en fonction du temps. Dès le deuxième jour, la croissance a démarré à un rythme relativement lent, puis a progressé graduellement pour atteindre une valeur maximale après 10 jours d'incubation sur l'extrait des cultivars DN, MD et GH (Figure 26). Le diamètre des colonies a été estimée à  $4,06 \pm 0,05$  cm,  $3,85 \pm 0,27$  cm et  $4,38 \pm 0,57$  cm respectivement. Ces résultats sont très proches de ceux du témoin (colonies cultivées sur PDA) où  $4,8 \pm 0,832$  cm ont été enregistrés (Figure 27 et Photo 13).



**Figure 26.** Evolution de la croissance mycélienne de *M. scaettiae* sur l'extrait des spadices de différentes variétés étudiées durant 10 jours d'incubation.



**Figure 27.** Diamètre des colonies après 10 jours d'incubation.



**Photo 13.** Aspect cultural des isolats de *M. scaettae* sur l'extrait des spadices de différentes variétés étudiées après 10 jours d'incubation (Photo originale)..

a : Témoin ; b : Extrait de DN ; c : Extrait de GH ; d : Extrait de MD

Si nous considérons l'ensemble des résultats, il apparaît que les trois extraits testés issus de différents spadices ont une action similaire sur la croissance mycélienne de *M. scaettae* et ne montrent aucune réduction de la croissance. Ces résultats indiquent que tous les extraits favorisent la croissance des champignons, mais à des degrés différents, et que la teneur des spadices en composés chimiques et en nutriments utiles à la croissance des champignons ne diffère pas beaucoup d'une variété à l'autre.

Les résultats ci-dessus confirment ceux d'Abass (2005), d'Al- Saadoon et al. (2004), d'Abd (2016), de Hameed (2005) et d'Alarkon et al. (1978), qui ont indiqué que le pollen contient de nombreux composés chimiques, des éléments minéraux et d'autres composants, ce qui en fait une bonne base pour la croissance et la propagation des champignons pathogènes qui ont une grande capacité à hydrolyser les glucides.

Une étude effectuée par Alhassen & Abass (1983) a également prouvé que la croissance de *T. paradoxa* dans un milieu de culture contenant du jus de palmes ou de dattes n'est pas différente de sa croissance sur un milieu contenant du jus de pomme de terre et de soja. Dans le même contexte, une étude réalisées par Karra (2020) sur l'extrait aqueux de fleurs mâles de palmier dattier a montré une activité antibactérienne considérable vis-à-vis de *B. subtilis*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* et *E. coli*, avec des zones d'inhibition supérieures à 10 mm.

De plus, Al-Edany (2005) a rapporté dans une étude sur l'effet de l'extrait de chou palmiste (Djammar) sur la croissance radiale de *T. paradoxa* que la croissance de la moisissure dans un milieu composé de chou de palmier dattier, variétés Al-Halawy, Al-Diri, Al-Khadrawi et Bareem, était similaire à celle obtenue dans un milieu composé de PDA. Ceci est également confirmé par Carpenter & Elmer (1978), qui ont affirmé que la croissance fongique est plus importante sur les extraits de tissus ou les décoctions que sur l'eau. Dans une autre étude Netham Eddin et al. (1983) ont démontré qu'une augmentation de la concentration en phénols dans les dattes avait conduit à une diminution de l'incidence des champignons. Dans le même sens, Agrios (2005) a montré que la teneur en phénols totaux dans la plante ou formés après l'infection, joue un rôle efficace dans la résistance des plantes vis-à-vis des pathogènes.

En revanche, ces résultats ne sont pas similaires à ceux obtenus par Hameed (2005) qui a montré, dans une étude sur l'effet des extraits de spadices de différents cultivars de palmiers dattiers sur la croissance radiale des isolats de *M. scaettae*, que les cultivars Halawi, Sayer, Bream, Barhi et la variété Ghanami ne présentaient pas le même pouvoir inhibiteur. Dans ce sens, l'auteur a rapporté que l'effet des extraits était différent, enregistrant le taux le plus élevé d'inhibition de la croissance dans le traitement de l'extrait de Barhi, tandis qu'il n'y avait pas d'effet significatif de l'extrait d'Al-Sayer.

Le fait que les extraits inhibent la croissance des pathogènes peut être dû aux composés organiques naturels ayant une activité antifongique qu'ils contiennent. En outre, Cowan (1999) et Al-Saadoon et al. (2004) ont montré que la plupart des cas de Khamedj se manifestent dans des variétés contenant un taux élevé en glucides par rapport à d'autres variétés, et que la teneur élevée en glucides est connue pour stimuler la croissance des champignons phytopathogènes, tandis que les variétés à teneur élevée en phénols sont moins sensibles à la maladie que d'autres variétés.

Selon Cowan (1999), l'activité antimicrobienne des polyphénols est considérable en raison de leur diversité structurelle. Il est supposé que l'emplacement et le nombre de groupes hydroxyles dans les groupes phénoliques sont liés à leur pouvoir relatif sur les micro-organismes. Selon des études antérieures, de nombreuses hypothèses ont été avancées pour expliquer cette activité, parmi lesquelles nous présentons ici celles suggérées par Daglia (2012), Haraguchi et al. (1998) et Hilliard et al. (1995) :

- L'intégration des polyphénols dans les phospholipides membranaires peut conduire à une inhibition des fonctions membranaires cytoplasmiques.
- Inhibition de la synthèse d'ADN.
- Inhibition du processus de production d'énergie microbienne.
- Le piégeage des éléments indispensables à la croissance microbienne.

### **III.7 Mise en évidence de l'activité antagoniste.**

#### **III.7.1. Confrontation directe sur milieu de culture entre *M. scaettæ* et les antagonistes**

L'analyse statistique a démontré qu'il n'y avait pas de différences significatives ( $P = 0,54$ ) entre les différents isolats antagonistes dans l'inhibition de la croissance mycélienne de *M. scaettæ* (Annexe 5, Tableau 1). Ces résultats indiquent que les trois antagonistes exercent un effet inhibiteur très significatif sur la croissance mycélienne de *M. scaettæ*. En effet, une différence très hautement significative ( $P < 0,0001$ ) a été enregistrée entre les différents antagonistes testés en termes d'effet sur la croissance radiale de *M. scaettæ* (Annexe 5, Tableau 2).

Les résultats ont également révélé que la croissance de *M. scaettæ* a été arrêtée dès le deuxième jour de la confrontation. En outre, le diamètre moyen des colonies de *M. scaettæ* a diminué de manière significative par rapport au témoin. Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures 28, 29 et 30.

#### Confrontation directe de *M. scaettæ* et *A. niger*

Les résultats obtenus ont montré une inhibition importante entre l'antagoniste *A. niger* et le pathogène *M. scaettæ*. Après 10 jours d'incubation, la boîte de Pétri était presque complètement envahie par l'antagoniste (Figure 28), tandis que le pathogène *M. scaettæ* n'occupait que  $0,61 \pm 0,015$  cm de diamètre (Figure 29). Ceci correspond à une inhibition considérable de la croissance mycélienne où un pourcentage de  $85,33 \pm 0,57$  % a été enregistré (Figure 30).

Les observations microscopiques ont montré qu'il n'y avait pas de zone d'inhibition entre les deux champignons confrontés, et que l'antagoniste *A. niger* se développait au-dessus du pathogène et l'envahissait complètement. La sporulation abondante d'*A. niger* autour de la colonie de *M. scaettæ*, indique une activité mycoparasitaire très élevée (Photo 14 a, b).

#### Confrontation directe entre *M. scaettæ* et *T. harzianum*

La confrontation directe de *T. harzianum* et de *M. scaettæ* a démontré une croissance mycélienne plus importante de l'antagoniste que celle du pathogène. Après deux jours de confrontation, le taux d'inhibition est devenu très important et la croissance de *M. scaettæ* a été quasiment nulle (Figure 28). À la fin de l'incubation, *M. scaettæ* ne dépassait plus un diamètre de  $0,61 \pm 0,02$  cm (Figure 29), alors que les isolats de *T. harzianum* occupent de grandes surfaces, représentant une inhibition du taux de croissance mycélienne de  $85,33 \pm 1,15$  % (Figure 30).

Les observations microscopiques réalisées à la périphérie des colonies de *M. scaettæ* ont montré une zone d'antibiose entre les deux champignons confrontés. Cela implique la présence de sécrétions antifongiques au milieu de la culture.

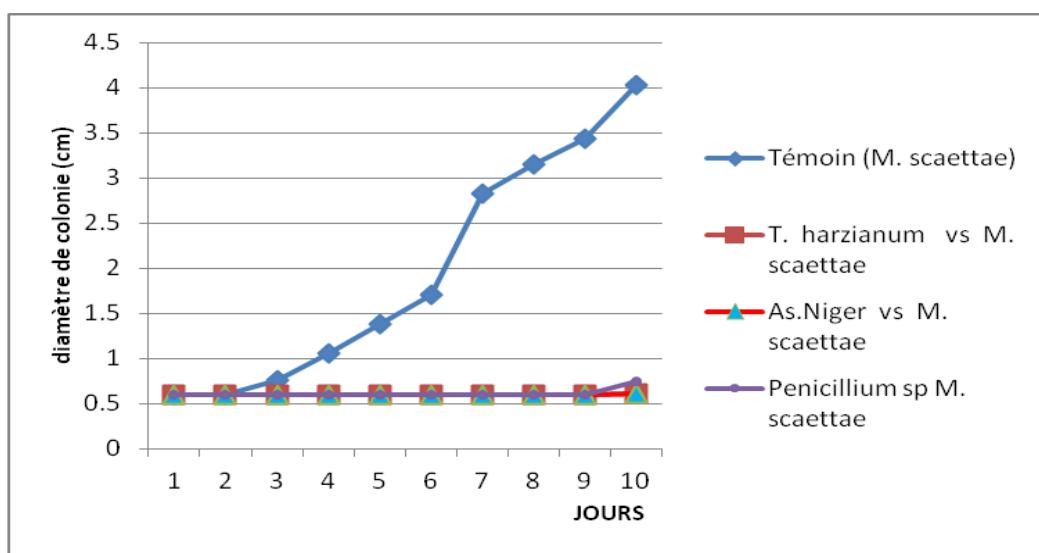
Les changements structuraux dans la morphologie des isolats de *M. scaettæ* sont causés par le phénomène de mycoparathisme par l'agent antagoniste *T. harzianum*, suite à une confrontation directe.

Une réorganisation en forme de cordon avec enroulement des filaments mycéliens des isolats de *Trichoderma* autour de *M. scaettæ* a provoqué des anomalies dans la morphologie des phytopathogènes (Photo 14 c, d).

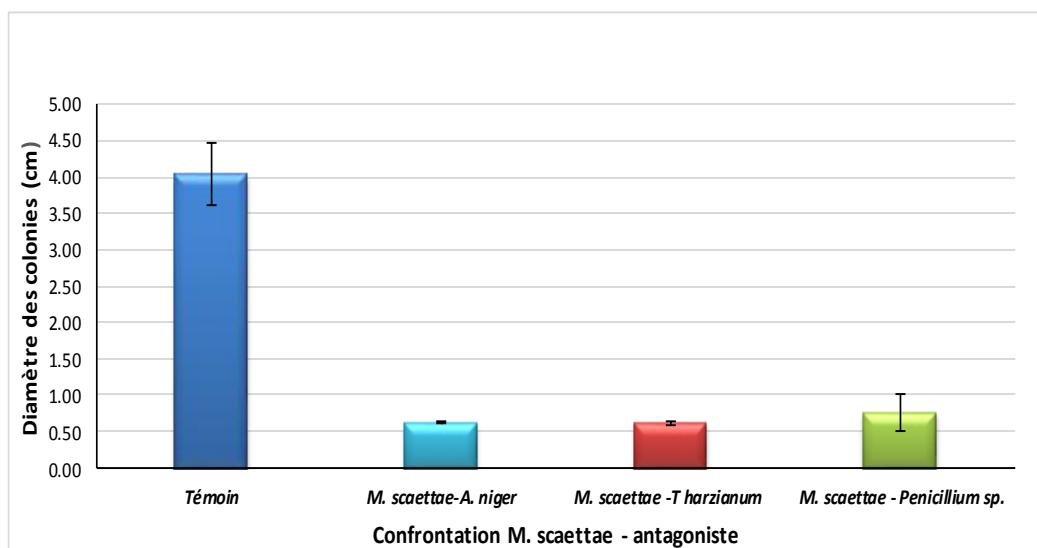
#### Confrontation directe entre *M. scaettæ* et *Penicillium* sp.

Les résultats du test d'antagonisme entre *M. scaettæ* et *Penicillium* sp. ont révélé que les mycéliums de l'antagoniste se développaient plus rapidement que ceux du pathogène (Figure 28). En effet, le *M. scaettæ* a atteint un diamètre de  $0,75 \pm 0,25$  cm tandis que le diamètre moyen du témoin était de  $4,03 \pm 0,43$  cm (Figure 29). Alors que l'antagoniste a rempli 1/3 de la surface totale de la boîte de Pétri, entraînant un taux d'inhibition qui allait jusqu'à  $82 \pm 6,92\%$  (Figure 30).

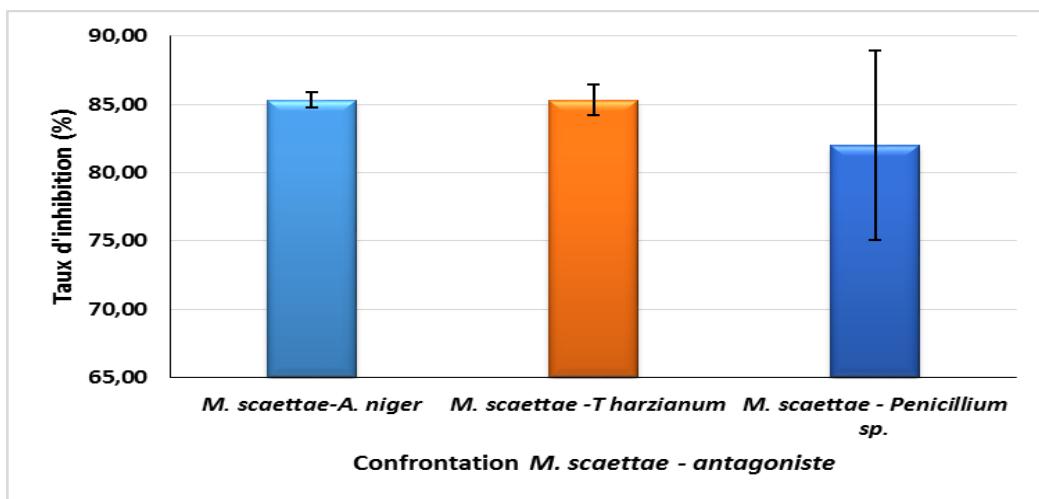
Les observations microscopiques ont montré l'attachement du mycélium de *Penicillium* sp. à celui du mycélium de *M. scaettæ*. Cet enroulement a été suivi par l'apparition d'une activité enzymatique antagoniste qui a entraîné la lyse du contenu mycélien. Une zone d'antibiose a été observée entre les deux champignons confrontés. Par ailleurs, on a observé au microscope des perturbations au niveau du mycélium de l'agent pathogène, ce qui a entraîné un arrêt de la croissance mycélienne. Au niveau de la zone de contact entre l'antagoniste et le pathogène *M. scaettæ*, les observations microscopiques ont mis en évidence des altérations du mycélium du pathogène, entraînant la lyse et la dégradation du mycélium (Photo 14 e, f).



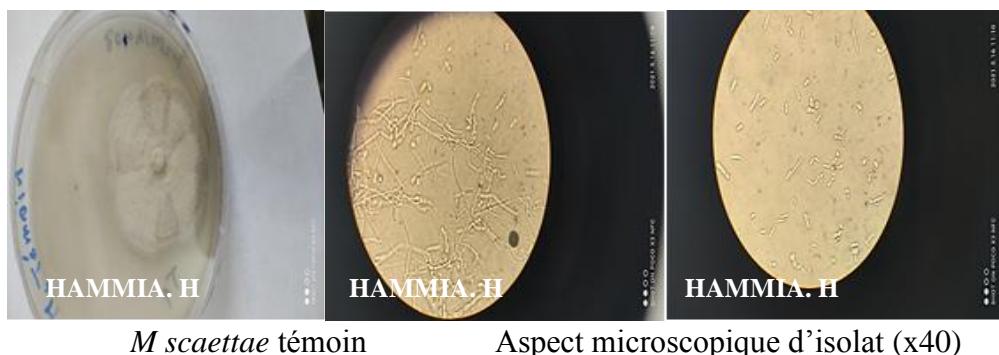
**Figure 28.** Evolution de la croissance mycélienne de *M. scaettæ* en confrontation directe avec les antagonistes pendant 10 jours d'incubation.



**Figure 29.** Diamètre des colonies de *M. scaettæ* après 10 jours d’incubation



**Figure 30.** Effet des antagonistes sur la croissance des isolats de *M. scaettæ*

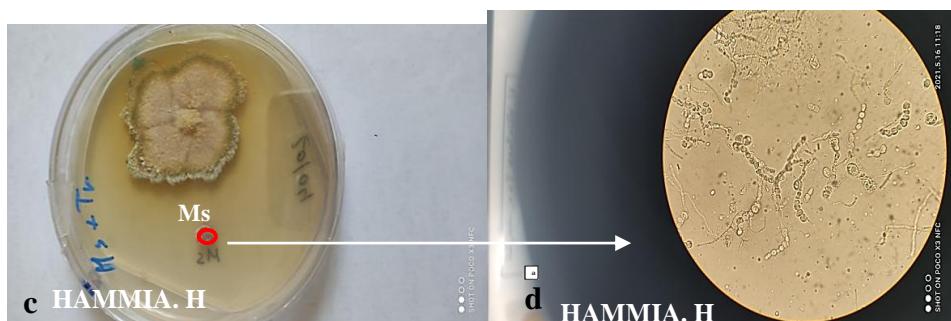


**a** HAMMIA. H. Macroconidia (Ms) and Aip

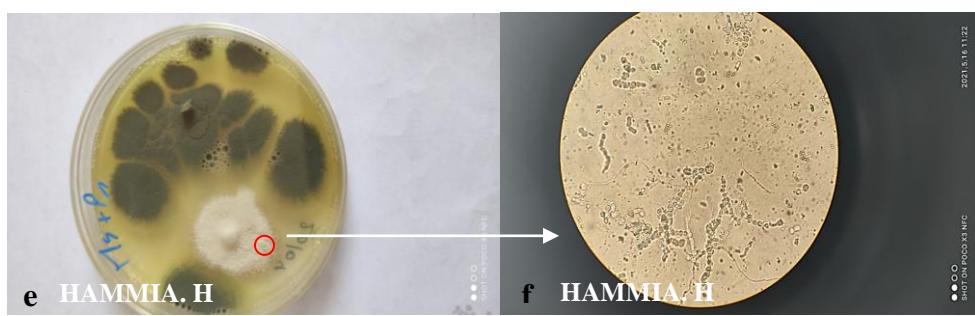
**b** HAMMIA. H. Spores

MSA 1.5 16.10.23

- a. Confrontation directe *M. scaettea* - *A. niger*
- b. Modifications structurelles affectant le mycélium du *M. scaettæ* (x40).



- c. Confrontation directe *M. scaettea* - *T. harzianum*
- d. Modifications structurelles affectant le mycélium du *M. scaettæ* (x40).



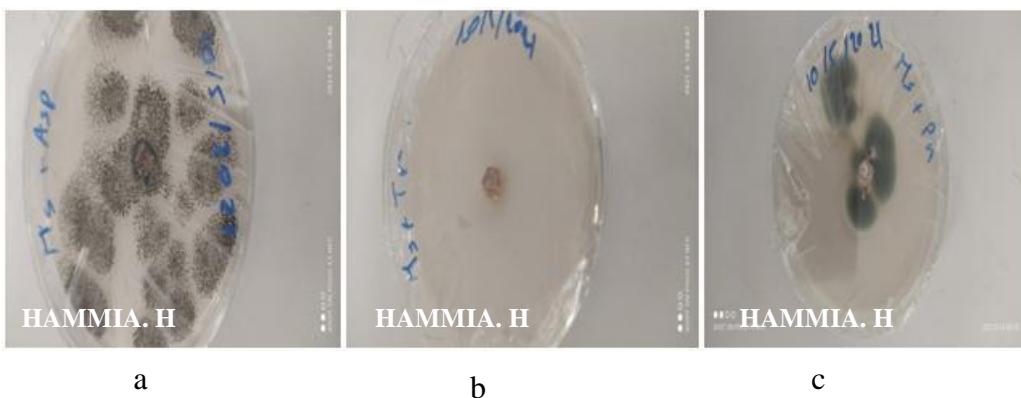
- e. Confrontation directe *M. scaettæ* - *Penicillium* sp.
- f. Modifications structurelles affectant le mycélium du *M. scaettæ* (x40).

**Photo 14.** Confrontation directe de *M. scaetiae* contre les antagonistes (Photo originale).

### III.7.2. Mise en évidence des propriétés fongicides ou fongistatiques

Les résultats obtenus ont montré que les trois champignons antagonistes testés présentaient une forte activité inhibitrice vis-à-vis des souches fongiques de *M. scaettæ*. Compte tenu de cette inhibition complète des souches pathogènes, il était important de savoir si les antagonistes avaient une action fongistatique ou fongicide. Il a été nécessaire de transférer les champignons pathogènes totalement inhibés dans un autre milieu de culture PDA afin d'évaluer leur viabilité.

Les résultats du transfert ont montré que le champignon *M. scaettæ* n'a pas repris sa croissance et que la croissance mycélienne n'est pas réapparue après le transfert du disque, ce qui indique que l'effet des trois champignons antagonistes testés est fongicide et que le champignon pathogène a été complètement détruit (Photo 15).



**Photo 15.** Effet fongicide des antagonistes contre *M. scaettæ* (Photo originale).

a: *M. scaettæ* – *A. niger* ; b: *M. scaettæ* – *T. harzianum* ; c: *M. scaettæ* - *Penicillium* sp.

### III.8 Discussion

Les maladies fongiques sont généralement traitées avec des substances chimiques, qui ont des effets nocifs et toxiques pour l'environnement. Par conséquent, il est nécessaire de trouver des solutions alternatives pour lutter contre ces maladies. Les micro-organismes pathogènes peuvent être combattus par voie biologique en utilisant d'autres micro-organismes antagonistes qui permettent la destruction totale ou partielle des agents pathogènes (Nasraoui, 2008). Dans ce contexte, notre étude a été réalisée pour évaluer le pouvoir antifongique de différents antagonistes contre *M. scaettæ*.

Notre étude a montré que les trois antagonistes testés *T. harzianum*, *Penicillium* sp. et *A. niger*, inhibaient de manière significative la croissance de l'agent pathogène *M. scaettæ*.

Les résultats obtenus montrent que le champignon *T. harzianum* couvre la totalité de la boîte de Pétri et qu'il a donc une capacité antagoniste élevée contre le champignon *M. scaettæ*. Sur cette base, le champignon antagoniste est considéré comme très efficace pour antagoniser le champignon pathogène.

En ce qui concerne l'antagonisme avec le champignon *M. scaettæ*, cette étude est cohérente avec des études antérieures dans lesquelles la capacité du champignon *T. harzianum* à inhiber la croissance du champignon *M. scaettæ* a été mentionnée.

Nos résultats sont cohérents avec les études menées par Fayyadh & Al-Badran (2012) qui ont prouvé que le pourcentage de contamination par le pathogène a diminué considérablement après la pulvérisation des spores de *T. harzianum*, ils ont enregistré 62,8 % de contamination avant le traitement, tandis que le taux a diminué après la pulvérisation jusqu'à 15,1 %.

Sharif et al. (1988) ont obtenu des résultats similaires en affirmant que les champignons *T. harzianum* et *P. pinophilum* ont une importante capacité à inhiber la croissance du champignon *M. scaettæ*, comme il a été constaté par Al-Chougiri (2005) que l'utilisation du pesticide Bicont composé de spores du champignon *T. harzianum* a diminué cette maladie dans le terrain.

El-Zawahry et al. (2000) ont montré que les antagonistes *T. harzianum*, *T. pseudokoningi* et *T. viride* ont un pouvoir inhibiteur élevé sur les agents pathogènes *Botryodiplodia theobrome*, *Diplodia phoenicum* et *Thielaviopsis paradoxa*.

Les résultats enregistrés confirment les travaux d'Al-Edany (2005), qui a évalué l'effet de différents isolats des trois espèces de *T. harzianum*, *Penicillium sp.* et *A. niger* contre le pathogène *Thielaviopsis paradoxa* (agent responsable de la pourriture du bourgeon terminal). Il n'a constaté que *T. harzianum*, *Penicillium sp.* et *A. niger* réduisaient la croissance de *Thielaviopsis paradoxa* de 1,67 cm, 6,53 cm et 5,03 cm respectivement, alors que le témoin montrait une croissance maximale de 9 cm.

Dans le même sens, Ouadah et al. (2017) ont montré que *T. harzianum* et *A. niger* ont inhibé la croissance de *Fusarium sp.* avec des pourcentages de réduction de 68 % et 46 % respectivement.

En revanche, Aydi et al. (2013) ont indiqué que les isolats d'*A. niger* réduisaient la croissance diamétrale des colonies de *Pythium* sp. (causant la pourriture aqueuse des tubercules de pomme de terre) et par conséquent, sa croissance mycélienne, dont les taux d'inhibition enregistrés étaient de 19,94 % - 24,12 %.

En outre, les résultats de Juliette et al. (2010) relatifs aux interactions *in vitro* et *in vivo* entre *A. niger*, *Mucor* sp. et *F. oxysporum*, *F. solani*, *Phoma* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp, ont montré qu'*A. niger* a inhibé la croissance de *F. oxysporum* de 92,30 %.

Cependant, Daami-Remadi et al. (2012) ont documenté l'inhibition de *P. ultimum* et *P. aphanidermatum* (*Pythium* sp.) *in vitro* et *in vivo*, en utilisant *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp. et *Aspergillus* spp. comme antagonistes.

De plus, Benhamou & Chet (1996) ont observé que les isolats de *T. harzianum* envahissaient le mycélium du pathogène *P. ultimum*.

Dans le même contexte, il convient de mentionner les résultats obtenus par Boureghda (2009) qui a évalué l'effet de différents isolats de trois espèces de *Trichoderma* spp. (*T. atroviride*, *T. longibrachiatum* et *T. harzianum*) contre deux pathotypes (flétrissement et jaunissement) de l'agent de flétrissement *F. oxysporum* dans le pois chiche, où elle a enregistré 84,44 % pour le pathotype de jaunissement et 65,64 % pour le pathotype de flétrissement avec l'isolat de *T. atroviride*.

En effet, Gautam & Gupta (2014) ont constaté, suite à des tests antagonistes, que *T. harzianum* inhibait 70 % de la croissance du *F. moniliforme* et 55 % de celle de *F. sacchari*. D'autre part, Bouziane et al. (2011) ont révélé que la croissance mycélienne d'*Alternaria* sp. était inhibée d'environ 34% lorsqu'elle était directement confrontée à *T. harzianum*.

Par conséquent, *T. harzianum*, *Penicillium* sp. et *A. niger* exerçaient une forte inhibition vis-à-vis de *M. scaettae*. De plus *T. harzianum* et *Penicillium* sp. ont la capacité d'arrêter la prolifération des pathogènes, et de former des zones d'inhibition autour des colonies en confrontation. En conséquence, les membranes mycéliennes sont lysées par la pression exercée par le mycélium de *T. harzianum* et de *Penicillium* sp. qui s'enroule autour du mycélium de *M. scaettae*. Ces deux antagonistes ont une action de mycoparasitisme. Ce sont des agents de biocontrôle, ils agissent sur les filaments du champignon pathogène par l'enroulement d'hyphes, puis par une lyse provoquée par les enzymes sécrétées et diffusées par l'agent de biocontrôle.

Il est à noter également que dans le cas d'*A. niger*, le contact direct entre les deux organismes n'a révélé aucune zone d'antibiose. L'antagoniste se développait au-dessus du pathogène, ce qui indique que l'antagonisme peut se produire par le biais du mécanisme de parasitisme fongique. En effet, le parasitisme se traduit par la dégradation du pathogène à la suite de l'enroulement d'*A. niger* autour de celui-ci, soit en l'étranglant, soit en pénétrant à l'intérieur et/ou en "injectant" des substances (enzymes) qui le détruisent. Plusieurs chercheurs ont également affirmé que *T. harzianum* avait la capacité de lutter contre les agents pathogènes des plantes. Cette propriété de *T. harzianum* à inhiber la croissance des champignons pathogènes est attribuée à sa capacité à produire des antibiotiques tels que le trichodermol, la trichodermine, la gliotoxine et d'autres ou à la production d'enzymes qui dégradent les cellules fongiques telles que les glucanases et les chitinases ou encore à la capacité à parasiter directement le champignon (Markovich & Kononova, 2003; Shalini & Kotasthane, 2007).

Khan et al. (2017) affirment que les espèces de *Trichoderma* produisent différents types de composés volatils et non volatils qui leur permettent d'inhiber la croissance et le développement des agents pathogènes. Ils ont également démontré que les espèces de *Trichoderma* se développent rapidement et ont la capacité d'éliminer les agents pathogènes en entrant en compétition avec eux pour la nourriture et l'habitat, mais aussi en les inhibant par le biais du mycoparasitisme.

Le mycoparasitisme s'exerce en s'enroulant autour des hyphes de son hôte ; ils sont attachés par des lacérations covalentes de l'appressorium. La pénétration s'effectue à l'aide de crochets et par la formation d'un appressorium qui sécrète des chitinases et des  $\beta$ 1-3glucanases dissolvant la paroi de l'hôte. Dans le même contexte, des études antérieures ont attribué la capacité des champignons à inhiber les pathogènes à la chitine, le principal composant de la paroi cellulaire fongique, car elle recouvre les cellules fongiques et les protège des agressions de l'environnement. Les altérations de la paroi cellulaire entraînent la dégradation du mycélium. Une dégradation ou une vacuolisation ou une rétraction du cytoplasme du mycélium peut également être responsable de l'inhibition de la croissance mycélienne des champignons (Benhamou & Chet, 1996; Daami-Remadi et al., 2012; Howell, 2003).

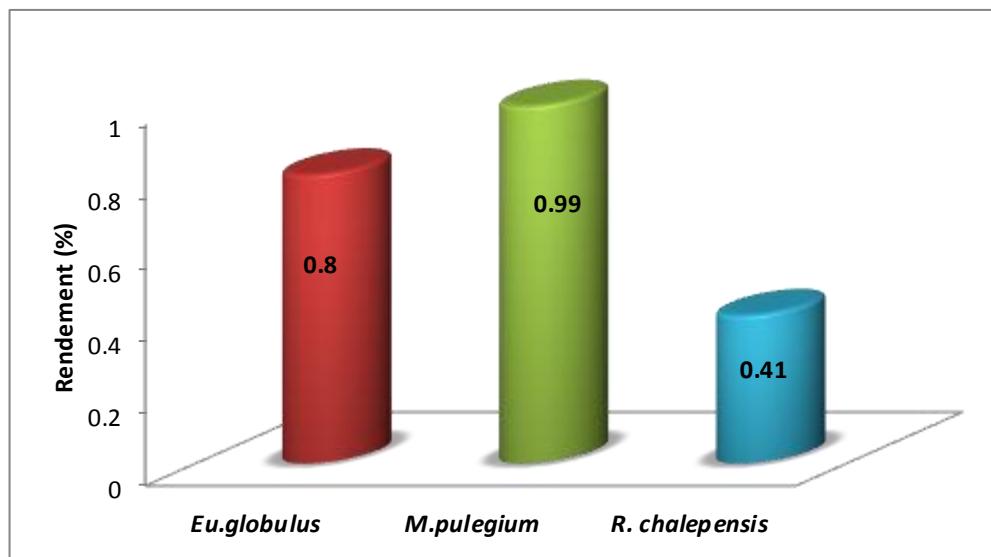
Les micro-organismes antagonistes disposent d'un large éventail de méthodes de contrôle possibles, mais ils restent relativement inconnus. Les modes d'action varient également en fonction des partenaires impliqués et des conditions physico-chimiques de l'environnement (température, humidité, etc.). Ils agissent surtout de manière préventive, mais peuvent également être utilisés de manière curative. Leur efficacité n'est cependant pas garantie dans tous les cas. En effet, les biomolécules antifongiques sont des substances secondaires sécrétées par les antagonistes au cours de l'antibiose, comme les antibiotiques et les toxines, et/ou au cours du mycoparasitisme, comme les enzymes lytiques. Ces biomolécules ont une forte activité antifongique vis-à-vis des phytopathogènes (Aydi et al., 2013; Mathivanan et al., 2008).

### III.9 Lutte biologique par l'application des huiles essentielles des plantes médicinales

#### III.9.1. Analyses des huiles essentielles

##### III.9.1.1. Rendement d'extraction

On a calculé le rendement moyen en HE à partir de la masse sèche de la partie aérienne des plantes étudiées. La figure 31 présente les résultats obtenus :



**Figure 31.** Rendement d'extraction des huiles essentielles d'*E. globulus*, *M. pulegium*, et *R. chalepensis*

### **M. pulegium**

D'après la figure 31, le rendement en HE a été estimé à  $0,99 \pm 0,041$  % pour l'HE de *M. pulegium*. Cette estimation est cohérente avec les résultats de Zwaving & Smith (1971), qui indiquent que l'HE de la même espèce provenant de Grèce est de l'ordre de 0,95 %. Le rendement obtenu à partir de nos échantillons de *M. pulegium* est inférieur à celui rapporté par Hmiri et al. (2011) (3,30 %) dans la région d'Asilah (nord du Maroc) et par Yasa et al. (2012) (1,6 %) à Bodrum (Turquie). Parallèlement, Beghidja et al. (2007) ont déclaré que les taux en HE étaient compris entre 1,16 et 2,19 % pour la même espèce poussant dans l'Est de l'Algérie. Ainsi, le rendement enregistré par Uwineza et al. (2018) est de l'ordre de 1,9 %. Dans le même contexte Bouhaddouda (2016) a obtenu un rendement de 2,69% à partir de *M. pulegium* prélevées dans la Nechmeya (Guelma, Algérie). Par ailleurs, l'étude de Zekri et al. (2013) sur la composition chimique des espèces de *M. pulegium* en provenance du Maroc a quantifié des taux plus importants et largement supérieurs à notre résultat, allant de 5,29 % à 6,2 %.

### **R. chalepensis**

Suivant la figure 31, *R. chalepensis* a donné un rendement de  $0,41 \pm 0,02$  %. Les résultats enregistrés sont cohérents avec ceux de Merghache et al. (2009), qui ont démontré une variation du rendement de l'HE de *R. chalepensis* collectée à Tlemcen (Algérie) en fonction du lieu et du moment de la récolte, respectivement (0,35-1,28) % et (0,28-0,84) %.

De plus, notre résultat est moins élevé que celui signalé par Chibani et al. (2013), qui indiquent que la partie aérienne de *R. chalepensis* récoltée dans la région de Grarem (Constantine) présente une teneur en HE de 0,80 %. Même constat pour les résultats d'Aouadhi et al. (2013) avec un rendement de 0,85 % pour la même espèce prélevée dans le Kef (nord-ouest de la Tunisie).

Ainsi, le rendement enregistré par Daoudi et al. (2016) pour *R. chalepensis* de la région de Meknès (Maroc) peut être considéré comme un taux relativement élevé (1 %). En revanche, un rendement inférieur à celui de notre étude, estimée à 0,34 % a été enregistré par Majdoub et al. (2014) pour la même plante collectée à Mednine (Tunisie).

### E. globulus

Le rendement de l'HE d'*E. globulus* est de  $0,8 \pm 0,15\%$  (Figure 31). Ces résultats concordent avec ceux d'Iqbal et al. (2006), qui ont montré que le rendement en HE de quinze *E. globulus* différents prélevés dans la région de Faissalabad (Pakistan) variait entre 0,41 et 1,06 %.

Cependant, nos résultats sont significativement plus faibles que ceux rapportés par Benayache et al. (2001) (1,1 %) pour la même espèce dans la région de Constantine (Algérie). Ainsi que Akolade et al. (2012) ont démontré que le rendement de l'HE extraite des feuilles d'*E. globulus* cultivées à Abuja (centre-nord du Nigeria) était de 0,96 %.

Des taux inférieurs à ceux obtenus dans notre étude ont été enregistrés par Selvakumar (2012) (0,77 %) au Tamil Nadu (Inde) et Boukhatem et al. (2014) (0,2 %) à Blida (Algérie). L'étude menée par Salem et al. (2018) sur la variation de la composition chimique de l'HE d'Eucalyptus tunisien en fonction des stades phénologiques a montré que les rendements en HE d'*E. globulus* durant les stades végétatifs et en pleine floraison étaient respectivement de 0,11 et 0,14 %, et que ce rendement avait atteint son optimum au stade de la fructification tardive, avec une valeurs de 0,32 %.

#### III.9.1.2. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

**Tableau 4.** Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles des plantes étudiées.

Plante	Aspect	Couleur	Odeur	Saveur
<i>R. chalepensis</i>	Liquide huileux	Jaune verdâtre	Forte odeur fétide	Amère
<i>E. globulus</i>	Liquide huileux	Jaune clair	Forte odeur (agréable)	légèrement amère
<i>M. pulegium</i>	Liquide huileux	Jaune très pale	Forte odeur menthe	Saveur douce

Les huiles obtenues se présentent sous la forme de liquides, de couleur jaune verdâtre avec une saveur amère pour *R. chalepensis*, jaune clair avec une saveur aromatique légèrement amère pour *E. globulus* et jaune très pâle et de saveur douce pour *M. pulegium* (Tableau 4). En ce qui concerne l'odeur, les deux espèces, *E. globulus* et *M. pulegium* ont respectivement dégagé une odeur agréable, une odeur camphrée et une odeur mentholée, alors que *R. chalepensis* a dégagé une forte odeur fétide. Ces résultats sont conformes aux normes citées par l'AFNOR (AFNOR, 1996).

### III.9.1.3. Analyse par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC-MS)

#### III.9.1.3.1. *Eucalyptus globulus*

La lecture du spectre GC/MS de l'HE d'*E. globulus* a permis d'identifier 26 composés, constituant 100% de sa composition totale de l'huile (Tableau 5, Figure 32 et Annexe 6).

**Tableau 5.** Composition chimique de l'huile essentielle d'*E. globulus*

Compound Name	RT	Area %
D-Limonene	15.38	0.23
Eucalyptol	15.80	5.64
Sabinene	17.96	0.43
Benzene, Methyl (1methylethyl) (CAS)	19.45	5.73
3-Octanol (CAS)	26.87	0.18
Athujone	29.77	0.46
Cyclohexanone, 5methyl2 (1methylethyl), (2Rcis) (CAS)	31.12	1.90
Cyclohexanone, 5methyl2 (1methylethyl), Cis(CAS)	32.81	0.52
Bicyclo [2.2.1] Heptan2One, 1, 7,7trimethyl, (1R)	34.23	2.53
Linalool	36.36	1.08
1TERPINEOL	37.14	1.10
Pentalene, Octahydro 2,5 Dimethyl(CAS)	38.04	1.17
3-Cyclohexen1ol, 4methyl1 (1methylethyl)	39.51	7.76
1TERPINEOL	41.01	0.73
Pulegone	42.01	3.45
Cryptone	43.43	13.45
Propanal, 2methyl3phenyl	49.75	5.81
Benzenemethanol, A,A,4trimethyl (CAS)	53.49	1.08

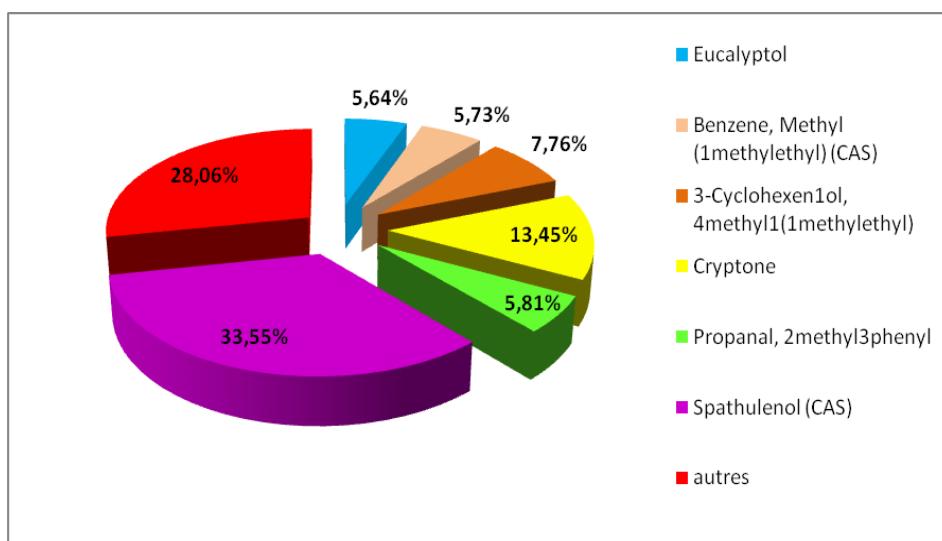
3,5Heptadienal, 2ethylidene6m Ethyl (CAS)	57.58	1.32
(-) Myrtenol	59.85	0.38
acetic acid4amethyl11,2,3,4,4a,5,6,7- octahydro-naphthalen2ylester	61.29	0.48
Globulol	64.70	1.50
() Spathulenol (CAS)	67.09	33.55
Phenol, 2methyl5 (1methylethyl) (CAS)	70.32	4.52
Phenol, 2methyl5 (1methylethyl) (CAS)	71.64	2.69
2,5Octadecadiy Noic Acid, Methyl Ester	75.41	2.31
Total		100,00

TR : temps de rétention

La composition chimique de l'HE d'*E. globulus* se compose essentiellement de constituants monoterpéniques oxygénés (40,97 %), principalement l'Eucalyptol (5,64 %), 3-Cyclohexen1ol, 4methyl1 (1methylethyl) (7,76 %), le Pulegone (3,45 %), le Propanal, 2methyl3phenyl (5,81 %) et le Phenol, 2methyl5 (1methylethyl) (4,52 %). La famille des sesquiterpènes oxygénés a également été quantifiée à 35,05 %, dont le Spathulenol est sans aucun doute le composant le plus abondant représentant 33,55 % de l'huile totale.

La famille des monoterpènes hydrocarbonés représente 7,56 % de la composition de l'HE, et est principalement composée de Benzène, Méthyle (1methylethyl) (5,73 %), l'HE d'*E. globulus* a également montré que la cryptone était dominante (13,45 %).

Pour les autres constituants, leur pourcentage est plus faible : Cyclohexanone, 5methyl 2 (1methylethyl), (2Rcis) (1.90 %), Bicyclo [2.2.1] Heptan2one, 1, 7, 7 trimethyl (2,53 %), Linalool (1.08 %), 1Terpineol (1.10 %), Pentalene, Octahydro 2,5 Dimethyl (1.17 %), Benzenemethanol, A,A,4trimethyl (1.08 %), 3,5Heptadienal, 2ethylidene6m Ethyl (1.32 %), Globulol (1.50 %), Phenol, 2methyl5(1methylethyl) (2.69 %), 2,5Octadecadiy Noic Acid, Methyl Ester (2.31 %).



**Figure 32.** Principaux composés de l'huile essentielle d'*E.globulus*

En comparant les résultats obtenus avec la littérature, on a constaté que l'HE d'*E. globulus* présente une composition chimique très variable.

Ainsi, il apparaît que les HEs d'*E. globulus* de nos échantillons ont des compositions chimiques différentes. Celles-ci sont dominées soit par des monoterpènes oxygénés (Eucalyptol, 3-Cyclohexen1ol, 4methyl1 (1methylethyl), Pulegone, Propanal, 2methyl3phenyl, et Phenol, 2methyl5 (1methylethyl)) soit par des sesquiterpènes oxygénés (Spathulenol). En outre, de faibles niveaux de monoterpènes hydrocarbonés ont été enregistrés. Il serait donc intéressant d'étudier la variabilité chimique possible des HEs des parties aériennes d'*E. globulus* récoltés dans différentes régions d'Algérie.

Nos résultats confirment ceux présentés par Akolade et al. (2012) et Bey-ould Si Said (2014), qui rapportent la dominance des monoterpènes oxygénés, des sesquiterpènes oxygénés et des monoterpènes hydrocarbonés, mais avec des proportions différentes respectivement (46,5 %-79,43 %), (1,23 %.-13,89 %) et (23,37 %-6,67 %).

Auparavant, les travaux portant sur la variation de la composition chimique des HEs d'*E. globulus* ont révélé que le principal composant des huiles essentielles d'Eucalyptus était l'Eucalyptol (1,8-cinéole).

D'après l'étude de Boukhatem et al. (2014) à Hammam Righa (Ain-Defla), l'analyse CG et CG/SM des HEs d'*E. globulus* de la région de Blida (Algérie) montre que la partie aérienne a deux constituants majeurs : l'Eucalyptol (1,8-cinéole) (51,08 %) suivi de l' $\alpha$ -pinène (24,6 %).

Par ailleurs, des études antérieures ont montré que l'HE d'*E. globulus* provenant d'Algérie se caractérise par un taux élevé d'Eucalyptol (71,3 %) (Benayache et al., 2001).

Cependant, les travaux menés par Bey-ould Si Said (2014) sur la même plante prélevée à Bejaïa (Algérie) ont rapporté l'Eucalyptol comme constituant majeur (55,9 %).

Une étude comparative des composants chimiques des HEs de quinze individus différents d'*E. globulus* prélevés dans la région de Faissalabad (Pakistan) a révélé que les principaux composants identifiés dans ces HEs étaient  $\alpha$ -pinene (1,68 %-26,96 %),  $\beta$ -pinene (0,81 % - 28,57 %),  $\alpha$ -phellandrene (0 - 35,24 %), 3-carène (0 - 27,71 %),  $\gamma$ -Terpinene (0 - 49,24 %), Eucalyptol (1,8 - cineol) (17,46 % - 51,62 %) (Iqbal et al., 2006).

En effet, dans les différentes recherches mentionnées précédemment, l'HE d'*E. globulus* présente une teneur en 1,8-cinéol (Eucalyptol) importante par rapport à l'HE de la plante étudiée. En outre, cette huile présente une composition chimique totalement différente de celles des HEs déjà publiées dans la littérature. Elle présente un profil chimique spécifique composé de Spathulenol, Cryptone, 4methyl11 (1methyl11) en concentrations significatives, avec une prédominance du Spathulenol. D'autre part, la teneur en 1,8-cinéol (eucalyptol) de cette huile est faible, de l'ordre de 5,64 %.

Dans le même contexte, Akolade et al. (2012) ont démontré que l'HE d'*E. globulus* d'Abuja (centre-nord du Nigeria) possède plusieurs constituants majeurs : le Terpinen-4-ol (23,46 %), le  $\gamma$ -Terpinene (17,01 %), le spathulenol (8,94 %) et le  $\rho$ -cymène (8,10 %) avec l'absence totale de 1,8-cineol (Eucalyptol).

Viturro et al. (2003) ont observé que l'huile extraite des feuilles d'*E. globulus*, obtenues par hydrodistillation pendant plus d'une heure, peut contenir plus de composants et un plus grand nombre de sesquiterpènes que l'huile distillée pendant une heure.

### III.9.1.3.2. *Mentha pulegium*

L'analyse par GC/MS de l'HE de *M. pulegium* a permis de mettre en évidence 17 composés, représentant 100 % de la composition de l'huile. Le tableau 06, la figure 33 et l'annexe 6 illustrent les résultats obtenus.

**Tableau 6.** Composition chimique de l'huile essentielle de *M. pulegium*

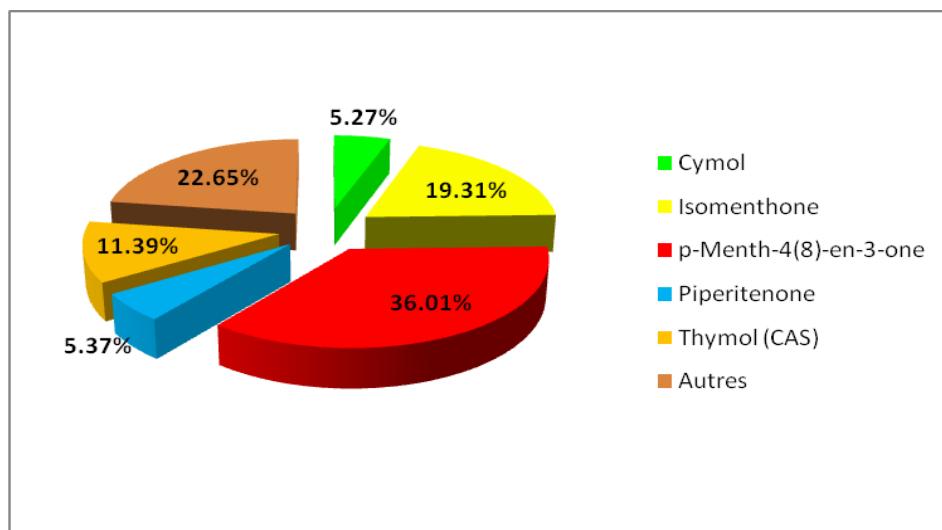
Compound Name	RT	Area %
D-Limonene	15.34	1.26
1,4Cyclohexadiene, 1methyl4 (1methylethyl)	17.93	4.89
Benzene, methyl (1methylethyl) (CAS)	19.43	5.27
ETHYL AMYLCARBINOL	26.86	1.16
Cyclohexanone, 5methyl2 (1methylethyl), cis(CAS)	31.14	19.31
Cyclohexanone, 5methyl2 (1methylethyl), (2Rcis)	32.80	4.76
Bicyclo [2.2.1] heptan2one, 1, 7,7trimethyl, (1R)	34.21	0.43
(+)-MENTHYLACETATE	35.14	0.42
Isopulegone	37.77	0.28
Thymylmethylether	38.24	4.57
neo-Menthol	41.04	0.27
Cyclohexanone, 5methyl2 (1methylethylidene)	42.04	36.01
2Cyclohexen1one, 3methyl6 (1methylethyl) (CAS)	46.69	3.04
2Cyclohexen1one, 3methyl6 (1methylethylidene) (CAS)	57.32	5.37
2Allyl4methylphenol	61.18	0.96
Phenol, 2methyl5 (1methylethyl) (CAS)	69.54	0.61
Phenol, 5methyl2 (1methylethyl) (CAS)	70.28	11.39
Total		100

TR : temps de rétention

Les résultats figurant dans le tableau 6 montrent que la composition chimique de l'HE de *M. pulegium* est dominée par les monoterpènes oxygénés (72,43 %), tandis que les monoterpènes hydrocarbonés représentent 11,42 %. La majeure partie de l'huile était caractérisée par des monoterpènes oxygénés, avec Cyclohexanone, 5methyl2 (1methylethylidene) (36.01 %) comme composé le plus abondant. Les autres composés identifiés comprennent Cyclohexanone, 5methyl2 (1methylethyl), cis(CAS) (19.31 %), Phenol, 5methyl2 (1methylethyl) (CAS) (11.39 %), 2Cyclohexen1one, 3methyl6 (1methylethylidene) (CAS) (5.37 %), le Thymylmethylether (4.57 %), Cyclohexanone, 5methyl2 (1methylethyl), (2Rcis) (4.76 %), 2Cyclohexen1one, 3methyl6 (1methylethyl) (CAS) (3.04 %). Le reste des constituants contient des pourcentages plus faibles, à savoir : l'Isopulegone (0.28 %), le neo-Menthol (0.27 %), 2Allyl4methylphenol (0.96 %), Phenol, 2methyl5 (1methylethyl) (CAS) (0.61%).

Les principaux monoterpènes hydrocarbonés trouvés dans cette huile sont :

D-limonene (1.26 %), 1,4Cyclohexadiene, 1methyl4 (1methylethyl) (4.89 %) et Benzene, methyl (1methylethyl) (CAS) (5.27 %).



**Figure 33.** Principaux composés de l'huile essentielle de *M. pulegium*

D'après l'analyse des résultats, il ressort que l'HE de *M. pulegium* collectée dans la région de Biskra est très différente de celles citées dans la bibliographie et dévoile un chémotype spécifique par la présence de trois composés : p-Menth-4(8)-en-3-one, Isomenthone et Thymol, en concentrations importantes et l'absence totale de pulégone.

En effet, plusieurs auteurs ont révélé que l'HE de *M. pulegium* contient de la pulégone comme constituant majeur, à savoir : Boukhebti et al. (2011) : 38.815 % à Sétif (nord-est algérien) ; Stoyanova et al. (2005) : 42,9-45,4% en Bulgarie ; Lorenzo et al. (2002) : 73,4 % en Uruguay ; Mkaddem et al. (2007) : 41,8 % en Tunisie.

Dans ce contexte, les études menées sur le *M.pulegium* poussant dans deux régions différentes du nord du Maroc (Ouazzane et Asilah) ont rapporté des teneurs en pulégone de l'ordre de 90,2 % et 80,28 % respectivement (Hmiri et al., 2011, 2013). Cependant, les travaux effectués par Uwineza et al. (2018) sur la même plante marocaine ont montré que la pulégone est le principal constituant des HEs de *M. pulegium*, dont la teneur est de 84,75 %. Par ailleurs, une étude menée par Rodrigues et al. (2013) sur 14 populations de *M. pulegium* d'origines géographiques différentes, au Portugal continental, a révélé que le chémotype pulégone est le plus répandu (52-82 %), suivi de l'isomenthone (2-36 %), de la menthone (0,1-17 %) et de la pipérénone (1-15 %).

De même, les travaux entrepris par Yasa et al. (2012) ont révélé que les HEs de *M. pulegium* provenant de Bodrum (Turquie) sont riches en pulégone (34,7 %), pipérénone (31,4 %) et isomenthone (17,6 %).

D'autres travaux antérieurs aux nôtres ont révélé l'existence de composés majoritaires, à savoir : la piperitone et la pipérénone, mais à des taux variables.

En revanche, l'HE de la région de Nechmeya (Guelma - Algérie) est composée d'un seul composant majoritaire, la piperitone (65,019 %), avec l'absence totale de pulégone (Bouhaddouda, 2016).

Par ailleurs, l'analyse de l'HE de la même plante, récoltée dans la région de Boulmane (Skoura, Maroc), présente le chimiotype pipérítone (35,56 %) (Elhoussine et al., 2010).

De plus Mahboubi & Haghi (2008) (Mahboubi & Haghi, 2008) confirment la richesse en pipérítone (38,0 %) et pipérénone (33,0 %) des HEs de *M. pulegium* collectées dans la région de Kazeroun (province de Fars, Iran), avec de faibles teneurs en pulégone (2,3 %).

Par ailleurs, l'analyse de l'HE de la même plante, récoltée dans la région de Boulmane (Skoura, Maroc), montre le chémotype piperitone (35,56%) (Elhoussine et al., 2010).

Par ailleurs, Mahboubi & Haghi (2008) confirment la richesse en piperitone (38,0 %) et piperenone (33,0 %) des huiles essentielles de *Mentha pulegium* récoltées dans la région de Kazeroun (province de Fars, Iran), avec de faibles teneurs en pulegone (2,3 %).

Enfin, la comparaison de nos résultats aux résultats publiés dans la littérature montre une grande variabilité du chémotype de l'HE de *M. pulegium* d'une région à l'autre.

### III.9.1.3.3. *R.uta chalepensis*

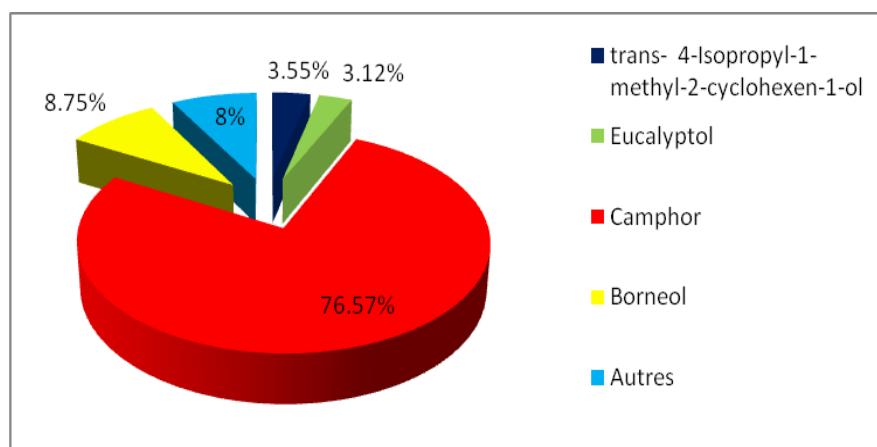
La GC/MS de l'HE de *R. chalepensis* a révélé 9 composants, qui représentent 99,99 % au total de sa composition (Tableau 07, Figure 34 et Annexe 6).

**Tableau 7.** Composition chimique de l'huile essentielle de *R. chalepensis*

Compound Name	RT	Area %
dl-Limonene	15.28	1.56
Eucalyptol	15.72	3.12
p-Cymene	19.37	1.05
Acetic acid, 2-ethylhexyl ester	31.95	1.35
Camphor	34.23	76.57
trans- 4-Isopropyl-1-methyl-2-cyclohexen-1-ol	37.13	3.55
3-Cyclohexen-1-ol,4-methyl-1-(1-methylethyl)	39.49	1.70
1-terpineol (Terpenene-1-ol)	40.99	2.34
Borneol	45.17	8.75
Total		99.99

TR : temps de rétention

Le tableau montre que l'HE de *R. chalepensis* est composée essentiellement de monoterpènes oxygénés (97,38 %), parmi lesquels le camphor (76,57 %), le borneol (8,75 %), l'eucalyptol (3,12 %), le trans-4-Isopropyl-1-méthyl-2-cyclohexene-1-ol (3,55 %) et le 1-terpineol (Terpenene-1-ol) (2,34 %). De plus, la famille des hydrocarbures monoterpéniques représente 2,61 % de la composition totale de l'HE, et est essentiellement constituée de dl-Limonene (1,56 %) et de p-Cymene (1,05 %).



**Figure 34.** Principaux composés de l'huile essentielle de *R. chalepensis*

Suite à l'analyse de nos résultats, il a été constaté que l'HE de *R. chalepensis* collectée dans la région de M'chounech (Biskra) est complètement différente de celles rapportées dans la littérature, avec un chémotype différent dans lequel le camphre est le composant dominant à 76,57 %.

De nombreux auteurs ont confirmé que l'HE de *R. chalepensis* est dominée par deux composés majeurs, mais à des taux différents : la 2-undécanone et la 2-nonalone.

En effet, les résultats enregistrés par Merghache et al. (2009) ont révélé que l'HE de *R. chalepensis* de Beni Mester (Tlemcen, Algérie) est principalement dominée par la 2-undécanone (20,40 % - 82,74 %). Cependant, les travaux de Bnina et al. (2010) sur la même plante dans la région de Jemmel (Monastir, Tunisie) ont montré que la 2-undécanone est le composé principal dans les feuilles et les fleurs (34,7 % et 72,0 %, respectivement), tandis que la 2-nonalone constitue le composant principal des HEs dans les tiges. En outre, une étude menée par Mejri et al. (2012) sur la même espèce dans la région de Zaghouan (Tunisie), a montré que le chémotype undécan-2-one (77,7 %) est le plus répandu, suivi de l'E-farnesal (12,13 %).

De même, les études de Majdoub et al. (2014) ont montré que l'HE de *R. chalepensis* de Mednine (sud de la Tunisie) est riche en 2-undécanone, suivie de la 2-nonalone (27,15 %). Par ailleurs, l'analyse de l'HE de la même plante, poussant en Turquie, montre que la 2-undécanone (66,49 %) et la 2-nonalone (16,24 %) sont les principaux constituants (Baser et al., 1996). Dans le même contexte, Rustaiyan et al. (2002) confirment la richesse des HEs de *R. chalepensis* poussant en Iran en 2-Undecanone (52,5 %) et en 2-nonalone (24,1 %).

En revanche, l'HE de *R. chalepensis* cultivée dans les plaines de l'Inde est composée d'un composé majoritaire, le 2-Undécanone (41,3-67,8 %) suivie de la 2-nanonone (Bagchi et al., 2003).

Par contre, Chibani et al. (2013) ont rapporté que l'HE de *R. chalepensis* provenant de Grarem (à l'est de l'Algérie) est caractérisée par la présence de 2-acétoxytétradécane (58,44 %), de 2-acétoxytridécane (19,07 %) et de 2-tridécanone (6,39 %). En revanche, l'HE de la région du Kef (Tunisie) présente différents constituants majeurs : le menthol (49,92 %), le linalol (31,1 %) et le 2-hexanal (5,2 %) (Aouadhi et al., 2013).

Les résultats de cette étude nous permettent de conclure que la quantité et la qualité de la composition chimique des HEs des plantes étudiées, *R. chalepensis*, *M. pulegium* et *E. globulus*, présentent une grande variabilité. Cette variation du rendement et de la composition chimique peut être liée à différents facteurs, à savoir : la localisation géographique, la durée et le lieu de séchage, la température, le type de sol, les conditions environnementales, les maladies causées par des agents exogènes, les techniques de récolte et d'extraction des plantes, ainsi que le stade végétatif de la plante (Atailia & Djahoudi, 2015; Bergheul, 2018; Daoudi et al., 2016).

Il convient également de noter que la technique et le moment de l'extraction affectent la composition chimique des HEs. En effet, le volume d'eau et le moment de l'extraction sont deux facteurs qui agissent sur la teneur en composés oxygénés de l'HE, l'eau agissant sur l'oxydation ou l'hydrolyse de ces composés (Mejri et al., 2012).

En outre, le temps d'hydrodistillation est très important quant au nombre de composants et à la prédominance des monoterpènes dans l'huile essentielle extraite (Viturro et al., 2003).

### **III.10 Évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles des différentes espèces étudiées sur la croissance mycélienne**

Afin d'évaluer l'activité antifongique des HEs des trois plantes, des tests antifongiques ont également été réalisés vis-à-vis du patogène *M. scaettae*. Pour démontrer cette activité, la technique du contact direct a été appliquée. Cette méthode se base sur la mise en contact de l'HE avec la souche fongique et sur l'observation de l'absence ou de la présence de croissance mycélienne. Cette méthode a été utilisée pour calculer la croissance mycélienne (cm), le taux d'inhibition de la moisissure testée et la concentration minimale inhibitrice (CMI).

En vue de déterminer l'effet des HEs d'*E. globulus*, de *M. pulegium* et de *R. chalepensis* sur la croissance mycélienne des souches de *M. scaettae*, trois concentrations ont été utilisées : 0,25, 0,5 et 1  $\mu\text{l}$  /ml PDA pour *M. pulegium* et *R. chalepensis* et 0,5, 1 et 1,5  $\mu\text{l}$  /ml de PDA pour *E. globulus*.

### III.10.1. Estimation de la croissance mycélienne

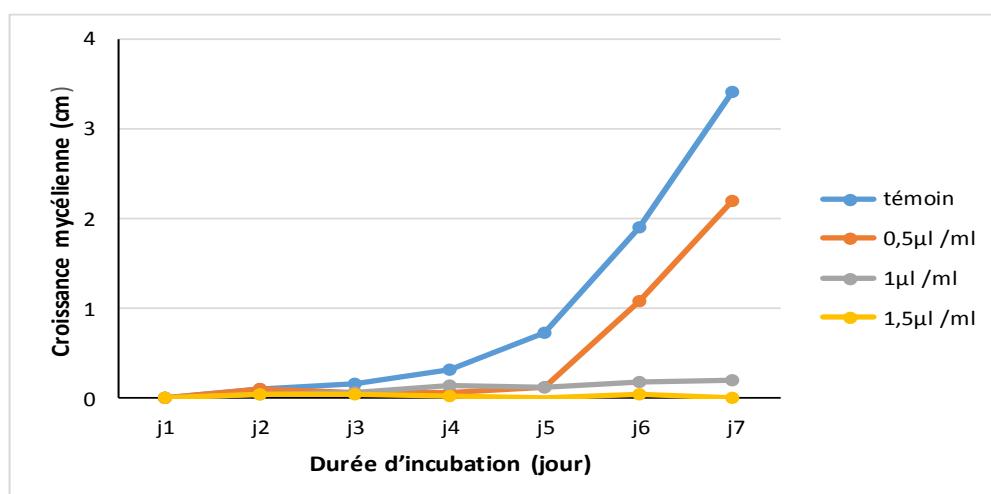
Les graphiques ci-dessous représentent la croissance mycélienne de *M. scaettae* traité avec les HEs étudiées.

#### *Eucalyptus globulus*

La figure 35 montre que l'HE d'*E. globulus* possède un important pouvoir antifongique important contre la souche de *M. scaettae* à la concentration (1,5  $\mu\text{l}$  /ml PDA) où les diamètres de croissance mycélienne sont nuls.

À la concentration de 0,5  $\mu\text{l}$  /ml PDA, on observe qu'à partir du cinquième jour, la croissance se déclenche légèrement jusqu'à une valeur maximale de  $2,20 \pm 0,73$  cm.

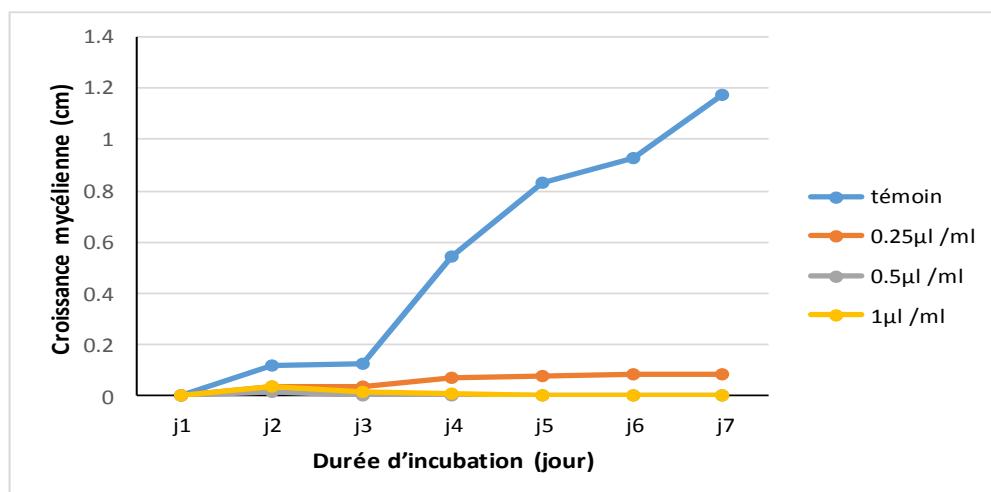
La concentration de 1  $\mu\text{l}$  /ml de PDA présente une croissance quasiment constante en fonction du temps. La croissance mycélienne augmente progressivement à partir du 4<sup>ème</sup> jour pour atteindre une valeur maximale estimée à  $0,21 \pm 0,21$  cm, bien inférieure à celle du témoin ( $3,42 \pm 0,79$  cm) (Photo 16).



**Figure 35.** Croissance mycélienne de *M. scaettae* en fonction des différentes concentrations de l'HE d'*E. globulus*.

### *Mentha pulegium*

En ce qui concerne la figure 36, une distribution linéaire relativement proche a été observée pour les trois doses étudiées. Pour les doses de 0,5 et 1  $\mu\text{l} / \text{ml}$  PDA, on observe que l'HE de *M. pulegium* possède une forte activité antifongique contre les souches de *M. scaettæ* à tel point qu'aucune croissance n'a été observée. De plus, on constate que même avec la concentration la plus faible (0,25  $\mu\text{l} / \text{ml}$  PDA), la croissance mycélienne a progressé très légèrement dès les premiers jours d'essai. Elle se déclenche à partir du deuxième jour ( $0,03 \pm 0,06 \text{ cm}$ ), puis très lentement, jusqu'au cinquième jour où elle s'est stabilisée et a atteint une valeur maximale estimée à  $0,08 \pm 0,14 \text{ cm}$  (Photo 17).

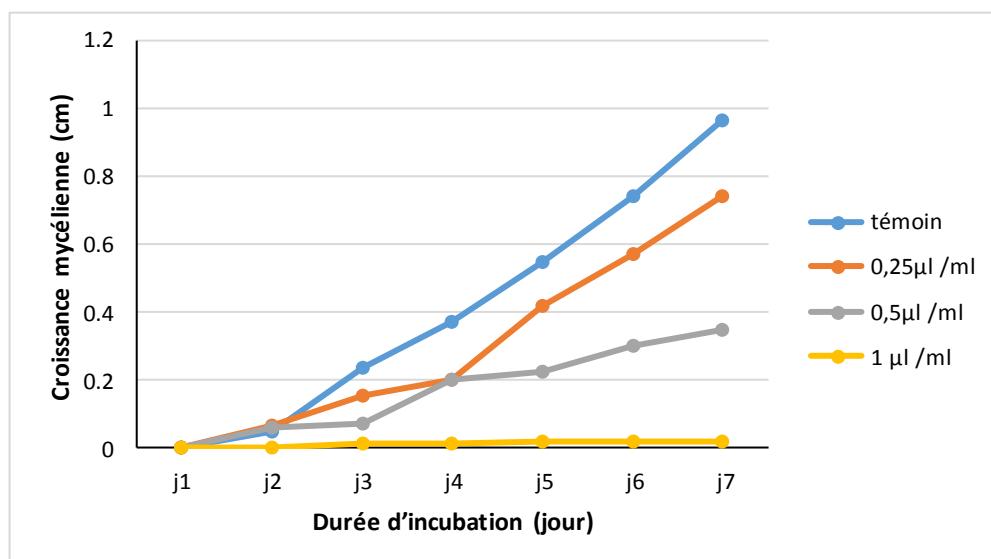


**Figure 36.** Croissance mycélienne de *M. scaettæ* en fonction des différentes concentrations de l'HE de *M. pulegium*.

### *Ruta chalepensis*

Le résultat obtenu avec l'HE de *R. chalepensis* montre une activité antifongique significative sur la souche *M. scaettæ* à une concentration de 1  $\mu\text{l} / \text{ml}$  PDA, où la croissance a été pratiquement stable en fonction du temps. Une légère croissance mycélienne est survenue après le quatrième jour d'incubation jusqu'à une valeur maximale de  $0,02 \pm 0,03 \text{ cm}$ , bien inférieure à celle du témoin ( $0,97 \pm 0,64 \text{ cm}$ ) (Figure 37).

Néanmoins, l'HE de *R. chalepensis*, à des concentrations de 0,25  $\mu\text{l} / \text{ml}$ , s'est révélée inactive contre la souche de *M. scaettæ*, à partir du 2<sup>ème</sup> jour. Une augmentation progressive de la croissance mycélienne a alors été observée, atteignant une valeur maximale de  $0,75 \pm 0,54 \text{ cm}$ , proche de celle du témoin ( $0,97 \pm 0,64 \text{ cm}$ ). En revanche, à une concentration de 0,5  $\mu\text{l} / \text{ml}$ , la croissance évolue à un rythme lent durant quasiment tout le temps, atteignant une valeur maximale de  $0,35 \pm 0,61 \text{ cm}$  (Photo 18).



**Figure 37.** Croissance mycélienne de *M. scaettae* en fonction des différentes concentrations de l'HE de *R. chalepensis*.

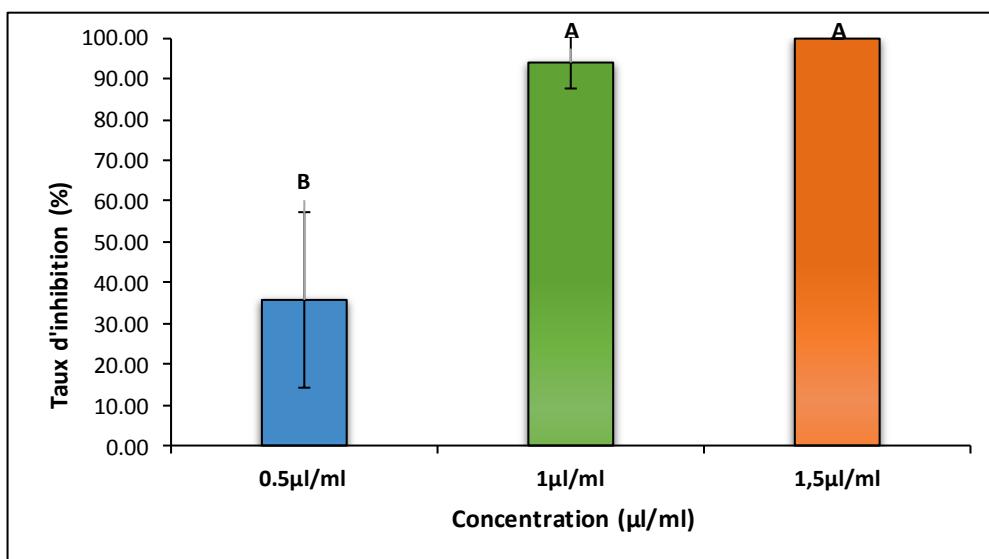
### III.10.2. Evaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Les résultats obtenus pour chaque concentration d'huile essentielle des différentes plantes testées sont illustrés dans les figures 38, 39 et 40. Ces dernières montrent le taux d'inhibition antifongique après sept jours d'incubation.

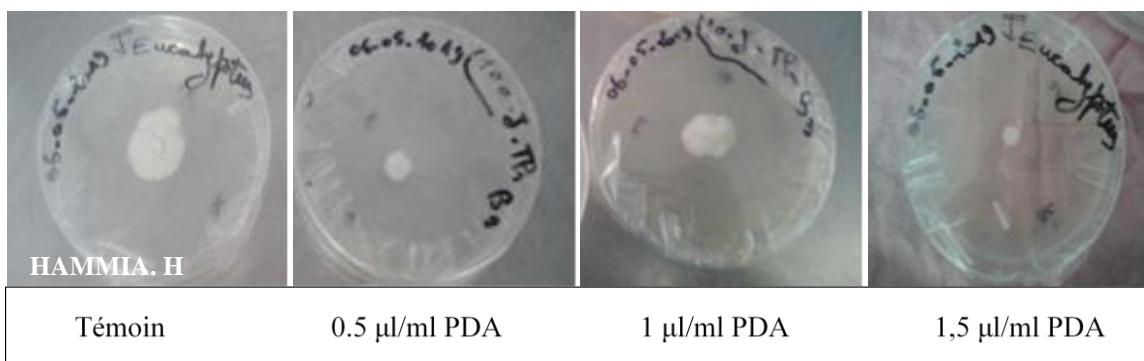
#### *Eucalyptus globulus*

L'analyse de la variance a montré que les concentrations d'HE d'*E. globulus* avaient un effet très significatif sur la croissance mycélienne ( $P \leq 0,001$ ) (Annexe 7, Tableau 1). Les trois concentrations testées ont montré des valeurs différentes de taux d'inhibition sur la croissance mycélienne. La souche testée était très sensible à la concentration de 1,5 µl/ml, avec un taux d'inhibition de 100% (Photo 16). À 1 µl/ml, l'huile a inhibé *M. scaettae* à  $94 \pm 6,21\%$  (Figure 38). En effet, la concentration de 0,5 µl/ml a induit une faible inhibition de la croissance mycélienne ( $35,76 \pm 21,46\%$ ).

La classification des groupes homogènes en fonction de la concentration a révélé une différence hautement significative. Il apparaît que la concentration de 0,5 µl/ml constitue un groupe indépendant (B) avec le taux le plus faible. Par contre, les deux concentrations (1 et 1,5) µl/ml sont regroupées dans le groupe (A).



**Figure 38.** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *M. scaettiae* vis-à-vis de l'effet de l'HE d'*E.globulus*.

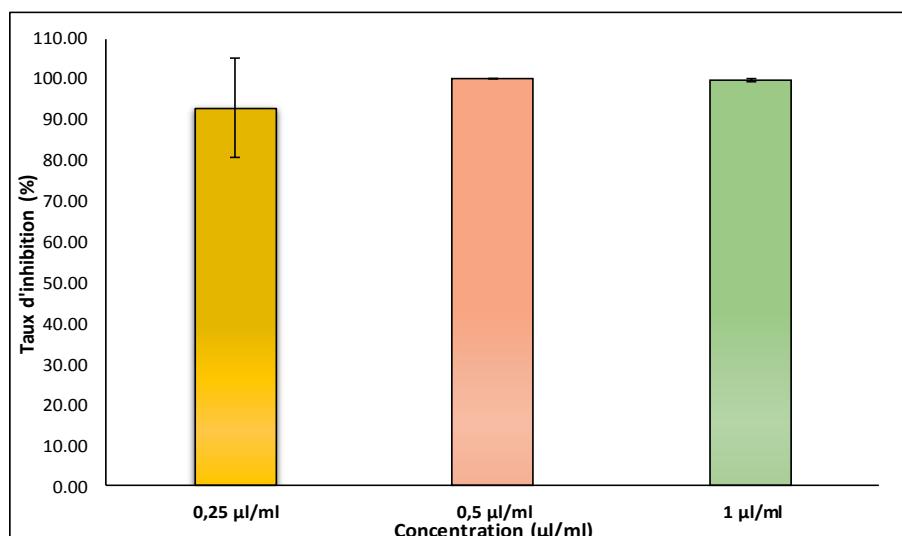


**Photo 16.** Photographie de la croissance mycélienne de *M. scaettiae* en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle d'*E. globulus* après 7 jours d'incubation.

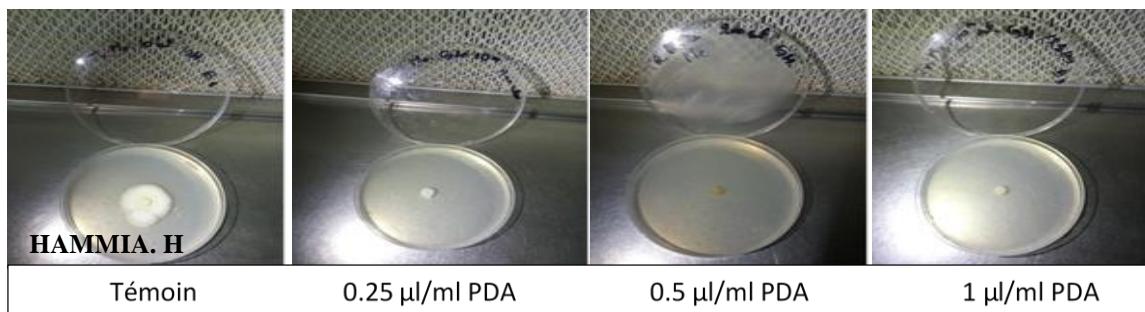
#### *Mentha pulegium*

Les résultats obtenus pour l'activité antifongique de l'HE de *M. pulegium* sont présentés à la figure 39. Les trois concentrations d'huile essentielle (0,25  $\mu\text{l/ml}$ , 0,5  $\mu\text{l/ml}$  et 1  $\mu\text{l/ml}$ ) présentent un fort pouvoir antifongique vis-à-vis de la souche *M. scaettiae*. En effet, la souche testée est très sensible à ces concentrations, avec des taux d'inhibition de  $92,90 \pm 12,28\%$ , 100 % et  $99,71 \pm 0,49\%$  respectivement (Photo 17).

Une analyse de variance a ensuite été utilisée pour étudier les résultats du taux d'inhibition de la croissance mycélienne en fonction des concentrations. Selon cette analyse de variance, aucune différence n'a été observée entre les doses, comme le démontre l'analyse de différence non significative  $p = 0,43$  ( $P > 0,05$ ) (Annexe 7, Tableau 2). De plus, ils sont regroupés dans un même groupe (A).



**Figure 39.** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *M. scaettiae* vis-à-vis de l'effet d'huile essentielle de *M. pulegium*.



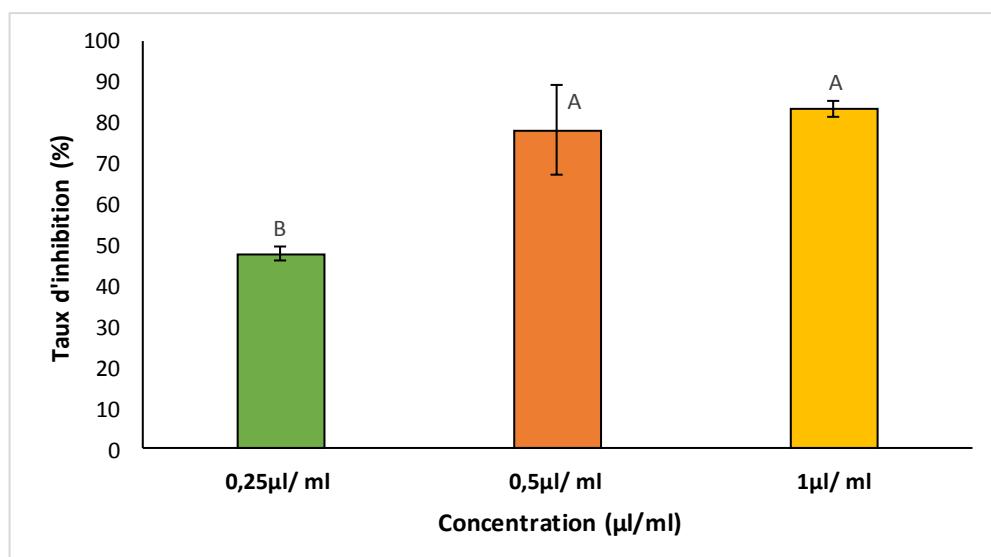
**Photo 17.** Photographie de la croissance mycélienne de *M. scaettiae* en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de *M. pulegium* après 7 jours d'incubation.

#### *R. chalepensis*

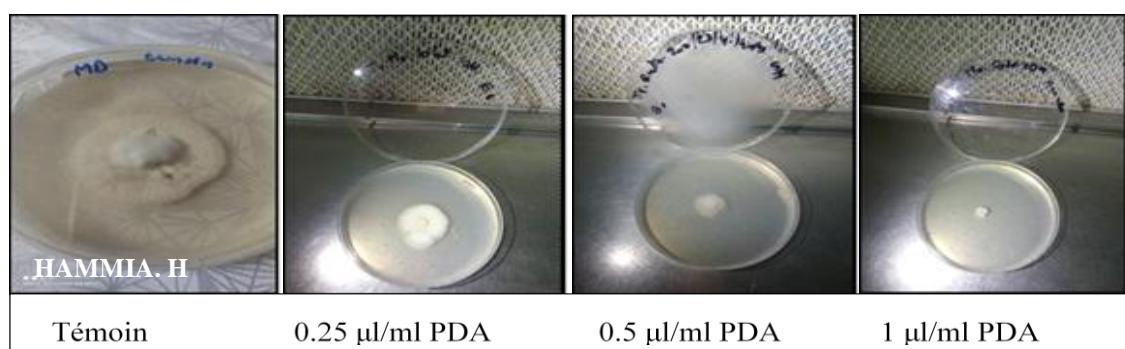
Les résultats de l'analyse de variance (Annexe 7, Tableau 3) ont démontré un effet hautement significatif ( $P \leq 0.001$ ) des différentes concentrations d'HE de *R. chalepensis* sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne.

D'après nos résultats, les valeurs obtenues montrent que le taux d'inhibition varie considérablement entre les différentes concentrations appliquées. En effet, les doses de 0,5 et 1  $\mu\text{l}/\text{ml}$  présentent une inhibition significative contre la souche étudiée, avec un taux d'inhibition de  $78,12 \pm 11,08\%$  et  $83,48 \pm 1,78\%$  respectivement. Par contre, la dose de 0,25  $\mu\text{l}/\text{ml}$  montre une faible inhibition de  $47,88 \pm 1,78\%$  (Figure 40, Photo 18).

Les résultats ci-dessus ont montré une relation proportionnelle entre le taux d'inhibition et la concentration en HE : plus la concentration en huile essentielle est faible, plus le taux d'inhibition est faible. Selon le test de Newman-Keuls, la classification des groupes homogènes en fonction de la concentration en HE était hautement significative. On constate que la concentration de 0,25 µl/ml PDA représente un groupe indépendant (B) avec le taux le plus faible. En revanche, les deux concentrations (0,5 et 1) µl/ml sont regroupées dans le groupe (A).



**Figure 40.** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *M. scaettiae* vis-à-vis de l'effet d'huile essentielle de *R. chalepensis*.



**Photo 18.** Photographie de la croissance mycélienne de *M. scaettiae* en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de *R. chalepensis* après 7 jours d'incubation.

### III.10.3. Concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La CMI est déterminée lorsque les souches de *M. scaettae* sont totalement inhibées aux différentes concentrations adoptées pour les trois espèces étudiées.

Les résultats obtenus ont montré que la souche fongique *M. scaettae* est très sensible aux HEs d'*E. globulus* et de *M. pulegium*, pour lesquelles une activité inhibitrice de 100 % a été observée, avec des valeurs de CMI de 1,5 et 0,5 µl/ml respectivement. Dans le cas de *R. chalepensis*, *M. scaettae* a montré un degré de résistance pour lequel aucune inhibition complète (100%) n'a été obtenue, mais compte tenu des doses utilisées, ce champignon est toujours sensible à l'HE de cette plante.

Le tableau 8 présente les valeurs obtenues.

**Tableau 8.** CMI100 en µl/ml des trois espèces étudiées vis-à- vis de *M. scaettae*.

CMI <sub>100</sub>	<i>E. globulus</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>R. chalepensis</i>
<i>M. scaettae</i>	1,5	0,5	-

### III.11 Discussion

Nos résultats sont difficilement comparables à la littérature, car aucune recherche n'a été menée sur l'effet des HEs sur le phytopatogène *M. scaettae*. En fait, notre étude est considérée comme la première à aborder ce sujet. Pour cela, nous avons essayé d'étudier l'effet de trois plantes médicinales (*E. globulus*, *M. pulegium* et *R. chalepensis*) connues pour leur activité antifongique dans la lutte contre le pathogène fongique étudié.

Les résultats obtenus montrent que les HEs des trois plantes ont un très fort effet antifongique sur la souche *M. scaettae*. En ce qui concerne la cinétique de croissance mycélienne, il a été observé que la croissance du Témoin augmentait avec la durée d'incubation. Cependant, une relation inverse entre la croissance mycélienne et la concentration en HE a été rapportée. Par conséquent, le diamètre du mycélium diminue avec l'augmentation de la concentration. Dans le même contexte, le taux d'inhibition de la croissance mycélienne a également atteint 100 % pour *E. globulus* et *M. pulegium* et plus de 83,48 % pour *R. chalepensis*. En termes d'efficacité, la souche *M. scaettae* s'est montrée plus sensible aux différentes concentrations étudiées.

Dans le cas de l'huile essentielle d'*E. globulus*, l'effet antifongique a été très fort sur la souche de *M. scaettae*, avec une concentration inhibitrice à 100 % était de 1,5 µl/ml.

En confrontant nos résultats à la littérature, nous constatons que l'activité antifongique de cette huile est proche de celle rapportée dans des études antérieures. En revanche, Souza et al. (2005) révèlent que les HEs *d'E. globulus* présentent un pouvoir antifongique plus fort contre *Rhizopus spp*, *A. figer*, *Penicillium spp*, *A. flavus* et *Fusarium spp*.

Dans une autre étude, Belyagoubi Larbi (2006) a évalué l'activité antifongique des HEs *d'E. globulus* collectées dans la région du Mansora (Tlemcen) contre plusieurs micro-organismes dont *Rhizopus stolonifer*, *A. flavus*, *A. niger*, *Penicillium*, *F. oxysporum* et *Trichoderma*. Les résultats ont donné des indices antifongiques variant de 53,33 % à 94,44 %, dans cette étude, il a été noté que l'HE *d'E. globulus* n'avait pas d'effet inhibiteur total sur les souches étudiées même à la concentration la plus élevée utilisée. Alors que Rai et al. (1999) ont également rapporté que *F. oxysporum* était le plus résistant à l'effet de l'huile *d'E. globulus* par rapport aux autres espèces de *Fusarium* (*F. soloni*, *F. oxysporum*, *F. pallidoroseum*, *F. acuminatum* et *F. chlamydosporum*), et que sa CMI était de l'ordre de 250 µl /ml. Pattnaik et al. (1996, 1997) ont obtenus les mêmes résultats en montrant que l'espèce *F. oxysporum* est plus résistante aux HEs *d'E. globulus* que *A. oryzae*, *A. fumigatus* et *A. citrii*. Dans le même contexte, Daroui Mokadem (2012) a estimé la valeur de la CMI pour le champignon *Penicillium chrysogenum* à 160 µg/ml. En effet, Vilela et al. (2009) ont rapporté que la concentration inhibitrice à 100 % des deux espèces *A. flavus* et *A. parasiticus*, était de 1 000 µl.

En revanche, nos résultats ont confirmé la capacité de l'HE de *M. pulegium* à inhiber totalement la croissance de *M. scaettae* à une concentration de 0,5 µl/ml. Cela confirme les résultats obtenus par d'autres chercheurs qui ont démontré le pouvoir antifongique des huiles essentielles de la même espèce. Cependant, Uwineza et al. (2018) ont révélé une inhibition totale de la croissance mycélienne de *F. culmorum* avec une concentration de 1,25 ml/l, de même que la croissance mycélienne de *B. sorokiniana* a été ralentie avec les concentrations de 0,156 ml/ L et 0,312 ml/l, sans pour autant l'inhiber complètement. En revanche, Hmiri et al. (2011) ont rapporté que l'HE de *M. pulegium* inhibait totalement la croissance mycélienne des moisissures *A. alternata* et *P. expansum* à un volume de 10 µl.

Dans une autre étude, Hmiri et al. (2013) ont confirmé ces résultats et ont montré qu'*A. alternata* était la plus sensible à une concentration de 156 µl/l, tandis que *P. expansum* et *B. cinerea* étaient totalement inhibés à partir de 300 µl/l. Par ailleurs, Lahlou et al. (2005) et Sara (2018) ont démontré que l'HE de *M. pulegium* inhibait complètement la croissance mycélienne de l'agent pathogène *Penicillium* sp. à un volume de 20 µl, et de 80µl pour *P. italicum* et *P. digitatum*. En outre, Hajlaoui et al. (2009) ont déclaré que les espèces fongiques *B. cinerea*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *A. flavus*, *A. niger* et *Trichoderma* sp. étaient toutes sensibles à l'activité antifongique de l'HE de cette plante à un volume de 10 µl. Ces résultats concordent avec ceux de Bouhaddouda (2016), où la CMI pour la croissance d'*Aspergillus* sp. et de *Fusarium* sp. était respectivement de 3 µl/ml et 5 µl/ml.

Dans le cas de l'HE de *R. chalepensis*, comparée aux deux plantes étudiées, elle s'est avérée moins active contre *M. scaettae*, où elle n'a pas complètement inhibé la croissance du pathogène, mais l'a significativement ralenti. En comparant nos résultats avec ceux de la littérature, on constate que l'activité antifongique de cette huile est proche de celle rapportée dans des études antérieures. De même, l'étude réalisée par Aouadhi et al. (2013) a révélé que l'HE de *R. chalepensis* exerce une activité antifongique considérable contre *A. niger*, *A. flavus* et *Candida albicans*, avec des CMI allant de 3,25 à 6,25 %. Dans le même contexte, (Bergheul, 2018) a noté une inhibition totale de *FORL*, *B. cinerea* et *A. solani* à une concentration de 2 %. Par ailleurs, Bnina et al. (2010) ont démontré que l'HE de fleurs de *R. chalepensis* avait un effet antifongique plus puissant que celui des HEs de tiges et de feuilles, avec une activité antifongique modérée vis-à-vis de *T. viride*. Ils ont également observé une légère activité antifongique contre *Penicillium* sp. à une concentration de 7 µl/disc, mais aucune activité antifongique contre les souches : *A. solani*, *B. cinerea*, *F. sambucinum*, *F. solani* et *T. harzianum*.

En effet, l'efficacité antifongique élevée des HEs d'*E. globulus*, de *M. pulegium* et de *R. chalepensis* est peut-être attribuée à la teneur élevée en composés monoterpéniques oxygénés et à l'effet synergique des composants mineurs. D'autre part, plusieurs études ont révélé que les monoterpènes oxygénés sont des agents antimicrobiens actifs (Kordali et al., 2003; Lucini et al., 2006). En outre, Kordali et al. (2003) ont démontré que les composés monoterpéniques oxygénés des HEs d'*Artemisia santonicum* et d'*Artemisia spicigera* ont une activité antifongique plus élevée.

D'après la littérature, les composés chimiques tels que les phénols (1,8 cinéole, carvacrol, octanol, etc.), les alcools ( $\alpha$ -terpineol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes et les cétones (Camphre, etc.) sont connus pour être des agents antimicrobiens actifs (Celiktas et al., 2007). Cependant, (Dorman & Deans, 2000) affirment que l'activité antifongique observée des HEs est due non seulement à leurs composés majoritaires, mais aussi à d'autres composés mineurs qui ont la capacité d'interagir de manière antagoniste ou synergique pour générer un pouvoir antifongique significatif. Dans ce sens, une étude publiée par Cárdenas-Ortega et al. (2005) a démontré une inhibition complète des souches d'*A. flavus* par la pipéritone à des concentrations faibles. De plus, l'effet synergique observé avec la combinaison du thymol et du carvacrol, même à de faibles concentrations, confère un large spectre d'activité antimicrobienne (Didry et al., 1993).

En effet, Lucini et al. (2006) ont démontré que la différenciation sclérotique était principalement retardée par le camphre, le 1,8-cinéole, le linalol et le menthol. L'étude de Sharma & Tripathi (2006) a montré que les HEs provoquent la dégénérescence des hyphes fongiques, qui semblent vides de contenu cytoplasmique, et la disparition de la rigidité et de l'intégrité de la paroi cellulaire. Dans ce contexte, de nombreuses études ont démontré que la toxicité des phénols vis-à-vis des moisissures est basée sur la désactivation des enzymes fongiques qui renferment le groupe SH sur leur site actif. En outre, les terpènes phénoliques se lient aux groupes amine et hydroxylamine des protéines membranaires des micro-organismes, ce qui provoque une perturbation de la perméabilité et une perte des composants intracellulaires (Celimene et al., 1999; Cowan, 1999; Farag et al., 1989; Juven et al., 1994; Knowles et al., 2005; López-Malo et al., 2005; Ultee et al., 1999).

## *Conclusion et Perspectives*

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude a permis de mettre en évidence l'importance de la lutte biologique dans la gestion de la pourriture des inflorescences du palmier dattier causée par *M. scaettae*. Dans la première partie de l'étude, nous avons commencé par mener une enquête sur la prévalence de la maladie dans plusieurs stations de la région de Biskra, suivie d'une étude fongique du pathogène. La deuxième partie de l'étude a été consacrée à la lutte biologique. Celle-ci a consisté à effectuer des tests antifongiques en utilisant des antagonistes et des HEs extraites de plantes médicinales pour la lutte biologique contre ce champignon.

Sur la base des résultats de l'enquête, le pourcentage de contamination varie entre les différentes stations étudiées, allant de 0 à 3,40 %. Le pourcentage de contamination le plus élevé a été enregistré dans la station d'Ourelal, tandis que le pourcentage de contamination le plus faible a été enregistré dans les sites de Chatma et de Makhadema, avec une contamination nulle dans les stations de Lichana et de Mliliili. On a également observé que les variétés les plus contaminées étaient Dokar et Deglet Nour.

En effet, la grande majorité des agriculteurs évite d'utiliser des fongicides et adopte des méthodes de lutte physiques (arrachage ou brûlage des palmiers infectés), car celles-ci sont plus efficaces pour éradiquer la maladie et n'ont pas d'impact négatif sur la plante et la qualité de la récolte. Il convient également de noter que les palmiers bien entretenus ne présentent généralement pas de symptômes de la maladie et que cette maladie fongique semble être influencée par une combinaison de mauvaises pratiques d'irrigation/drainage et/ou d'entretien, de pratiques agricoles, de fertilisation, d'utilisation de fongicides et de paramètres climatiques.

En ce qui concerne le rôle des précipitations dans l'émergence et la propagation de la maladie, un bilan des précipitations et de l'humidité a été établi pour la période d'étude. Les résultats ont montré que les deux facteurs étudiés n'étaient pas favorables à l'émergence et à la propagation de la maladie au cours de cette période.

Quant au pouvoir pathogène, nos résultats ont montré que *M. scaettae* possède un pouvoir pathogène très élevé.

À propos de l'effet toxicologique du filtrat du pathogène, on a observé que le filtrat de culture de *M. scaettae* réduisait la vitalité (DN = 32,51 %, MD = 26,07 % et GH = 9,3 %) et la germination (DN = 10 %, MD = 13,33 % et GH = 12,66 %) du pollen, ce qui révèle un effet toxicologique élevé sur la viabilité.

En outre, cette étude a montré que les extraits de spadices des trois cultivars étudiés (DN, MD et GH) favorisaient la croissance de *M. scaettae*, mais à des taux d'inhibition de la croissance mycéienne différents (19,79 %, 15,27 % et 8,68 %), en raison du fait que leur teneur en composés phénoliques et glucidiques bénéfiques à la croissance des champignons est suffisante.

À la lumière de ces investigations *in vitro*, on peut conclure que les trois antagonistes étudiés ont significativement inhibé la croissance de l'agent pathogène *M. scaettae* avec un taux d'inhibition de 85,33% pour *T. harzianum* et *A. niger* de 82 % pour *Penicillium* sp. En outre, les trois champignons antagonistes testés ont eu un effet fongicide et les champignons pathogènes ont été complètement détruits.

Sur la base de ces résultats et en raison de leur activité fongicide ces champignons antagonistes pourraient constituer un agent de lutte biologique efficace, capable de réduire la gravité de la pourriture de l'inflorescence du palmier dattier. Ils pourraient également être utilisés comme alternative dans les systèmes de lutte biologique intégrée contre les micro-organismes pathogènes.

Cette recherche a également consisté à évaluer le pouvoir antifongique de l'HEs de *R. chalepensis*, *M. pulegium* et *E. globulus*, contre la croissance mycéienne de *M. scaettae*. Les résultats de ce travail ont démontré que l'HEs pouvait être utilisée comme agent antifongique potentiel.

L'analyse chimique des différents composés de l'HEs des trois plantes étudiées a révélé la dominance des monoterpènes oxygénés.

Les résultats ont également montré que l'HEs d'*E. globulus* avait un effet antifongique très fort sur *M. scaettae*, avec une concentration inhibitrice à 100 % de 1,5 µl/ml. En revanche, nos résultats ont confirmé la capacité de l'HEs d'*E. pulegium* à inhiber complètement la croissance de *M. scaettae* à une concentration de 0,5 µl/ml. Quant à l'huile de *R. chalepensis*, elle s'est révélée moins efficace contre *M. scaettae*, puisqu'elle n'a pas complètement inhibé la croissance du pathogène, mais l'a fortement ralenti.

Les résultats obtenus montrent que les HEs des trois plantes ont un très fort effet antifongique sur la souche *M. scaettae*. Cependant, la croissance mycéienne et la concentration en HE sont toutefois inversement proportionnelles. En termes d'efficacité, la souche *M. scaettae* s'est révélée plus sensible aux différentes concentrations étudiées.

En conclusion, l'application d'antagonistes et d'HEs est peu coûteuse et respectueuse de l'environnement. Parmi les résultats obtenus, certains sont pertinents et nécessitent des études plus développées et plus approfondies.

En perspective, il est donc intéressant de :

- Tester l'activité antifongique *in vivo* avec des molécules bioactives purifiées.
- Approfondir ces résultats par une recherche moléculaire.
- Étudier les mécanismes d'action de la lutte biologique.
- Étudier les métabolites secondaires sécrétés par les moisissures étudiées et éventuellement responsables de leur activité antagoniste.
- Développer une formulation adaptée à une utilisation sur le terrain.
- Étudier la durabilité et la stabilité des champignons choisis sur le terrain.

## *Références*

## *Bibliographiques*

- Abass, M. H. (2005). Extracellular enzymatic activity of pathogenic fungi to date palm *Phoenix dactylifera* & CYCAS *Cycas revoluta*. *Basrah Journal For Date Palm Research*, 4(1-2).
- Abd, A. K. M. (2016). Estimation of total phenolic and total flavonoids in pollen grain of some cultivars of date palm (*Phoenixdactylifera* L.). *Kufa Journal for Agricultural Sciences*, 8(1).
- Abdelmalek, H. (2023). La contribution du secteur agricole à la diversification des exportations en Algérie : Cas de la filière datte (1995-2017). *El-Tawassol*, 26-42, 26(5).
- Abdullah, S., Al Saadoon, A., & Al Issa, A. H. (2006). Further biological study on *Mauginiella scaettiae*, the pathogen of inflorescence rot disease of date palm. In *Proceedings of the twelve Congress of Mediterranean. Phytopathological Union* (pp. 11-15).
- Abdullah, S., Asensio, L., Monfort, E., Gomez-Vidal, S., Palma-Guerrero, J., Salinas, J., Lopez-Llorca, L., Jansson, H., & Guarro, J. (2005). Occurrence in Elx, SE Spain of inflorescence rot disease of date palms caused by *Mauginiella scaettiae*. *Journal of phytopathology*, 153(7-8), 417- 422.
- Abdullah, S., Lorca, L., & Jansson, H. (2010). Diseases of date palms (*Phoenix dactylifera* L.). *Basrah Journal for Date Palm Researches*, 9(2), 1- 44.
- Acar, I., & Kakani, V. G. (2010). The effects of temperature on in vitro pollen germination and pollen tube growth of *Pistacia* spp. *Scientia Horticulturae*, 125(4), 569-572.
- Acourene, S., & Tama, M. (1997). Caractérisation physico-chimique des principaux cultivars de dattes de la région des Zibans. *Recherche Agronomique*, 1(1), 59-66.

- Adams, R. P. (2001). Geographic variation in leaf essential oils and RAPDs of *Juniperus polycarpos* K. Koch in central Asia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(6), 609-619.
- AFNOR, P. (1996). Huiles essentielles, Recueil de normes françaises. *échantillonnage et méthodes d'analyse, 2 spécifications.*
- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology*. 5th Edition (Amsterdam: Elsevier Academic Press), 922.
- Akolade, J. O., Olajide, O. O., Afolayan, M. O., Akande, S. A., Idowu, D. I., & Orishadipe, A. T. (2012). Chemical composition, antioxidant and cytotoxic effects of *Eucalyptus globulus* grown in north-central Nigeria. *J Nat Prod Plant Resour*, 2(1), 1- 8.
- Al- Saadoon, A., Abdullah, S., & Al Issa, A. (2004). Extracellular enzymatic activity of *Mauginiella scaettiae* Cav., the causal pathogen of inflorescence rot disease of date palm. *Basrah Journal for Date Palm Research.*, 3, 1-12.
- Al Temimi, I. H. (2020). The Chemical Composition of Pollen Date Palm *Phoenix dactylifera* L. var. Samisemi Males Trees. *Syrian Journal of Agricultural Research – SJAR*, 7(1), 146-157.
- Al-Ani, H. Y., El-Behadli, A., Majeed, H. A., & Majeed, M. (1971). Reaction of Date-palm cultivars to inflorescence rot and persistency and spreading of the disease. *Phytopath. Medit*, 10 (1), 57-62.
- Alarkon, N. L., Larionova, N. A., Minina, E. G., Mitrofanova, T. K., & Tolkachev, O. N. (1978). Amino acids of the pollen of Siberian pine. *Fiziol. Rast.* 25 (4), 855–857.
- Al-Chougiri, K. (2005). *Efficacy of Trichoderma harzianum Rifai in biological control of Date Palm inflorescence rot caused by Mauginiella sceattae Cavara* [Thèse]. Technical College - Musayyib.

- Al-Edany, A. (2005). *Survey of the terminal bud rot disease on the palm caused by Thielaviopsis paradoxa in Basrah and their chemical and biological control*. Ms.C thesis ,College of agriculture ,Uniniversity of Basrah,87 pp.
- Al-fadhal, F., & Sharif, F. M. (2013). Control of inflorescence rot of date palm by low rate trunk injection with Difenoconazole in a large scale field trial. *Bio. J. Kufa Uni*, 5, 36 - 41.
- AlFaris, N. A., AlTamim, J. Z., AlMousa, L. A., AlGhamidi, F. A., & Albarid, N. A. (2022). Date-derived industries : A review of common products, manufacturing methods, and leading countries. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 34(2), 86 - 97.
- Alhassen, k k, & Waleed, B. K. (1977). Biological study on *Mauginiella scaettiae* Cav.,the cause of inflorescence rot of date palms in Iraq. *Yearbook Plant Prot Res Min Agric Agrar Ref Iraq*, 35, 184- 206.
- Alhassen, K., & Abass, G. (1983). The fungus *Thielaviopsis paradoxa* (Deseyn) HoHN life and its role in date fruit rot. *Date Palm Journal*, 2 (2), 37- 54.
- Al-Roubaie, J., Hama, N., & Al-Hassan, K. (1987). Studies on spread of inflorescence rot and susceptibility of some male palm cultivars to the disease. *J Agric Water Resour Res*, 6, 67–79
- Al-Saadoon, A. H., Abdullah, S. K., & AL-Issa, A. H. (2005). Effect of different nitrogen and carbon sources on the growth of *Mauginiella scaettiae* the causal pathogen of inflorescence rot disease of date palm. *Basrah J. Date Palm Res*, 4, 1- 2.
- Al-Sharidi, A., & Al-Shahwan, I. (2003). Fungi associated with rot diseases of inflorescence and fruit of date palm in Riyadh Region, Saudi Arabia. *Arab Journal of Plant Protection*, 21(2), 84–89

- Alvani Pour, H., Aminian, H., Alami-Saeid, K., Sorkheh, K., Farrokhinejad, R., Nejati, A., & Javan-Nikkhah, M. (2020). Cross-transferability of SSR loci of *Phaeosphaeria nodorum* to *Mauginiella scaettae*. *Mycologia Iranica*, 7(1), 135-142.
- Al-Yaseri, I., Ismail, A., & Al-Fadhal, F. (2011). Efficacy of some fungicides to controlling date palm inflorescence rot caused by *Mauginiella scaettae* Cav. *Alkufa J Agr Sci, In 1st Scientific Conference on New Technologies and Animal Production*, 203-207.
- ANAT. (2002). *Etude « schéma directeur des ressources en eau » wilaya de Biskra. Phase préliminaire*, 100 pp.
- Anton, R., & Bernard, M. (2003). *Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Tec & Doc, Paris, 692 pp.
- Aouadhi, C., Ghazghazi, H., Hamrouni, S., Hasnaoui, B., & Maaroufi, A. (2013). *In vitro* antifungal activity of the essential oil and the methanolic extract of *Ruta chalepensis*. *Archs. Inst. Pasteur Tunis*, 90, 39 – 46.
- Atailia, I., & Djahoudi, A. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of geranium essential oil (*Pelargonium graveolens* L'Hér.) cultivated in Algeria. *Phytothérapie*, 13, 156-162.
- Aydi, R., Hassine, M., Jabnoun-Khiareddine, H., Jannet, H. B., & Daami-Remadi, M. (2013). Valorisation des *Aspergillus* spp. Comme agents de lutte biologique contre *Pythium* et optimisation de leur pouvoir antagoniste *in vitro* et *in vivo*. *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Products*, 9(01), 70-83.
- Babahani, S., & Bouguedoura, N. (2009). Effet de quelques méthodes simples de conservation du pollen sur les caractères de la production dattière. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 30, 9-15.

- Bagchi, G., Dwivedi, P., Singh, A., Haider, F., & Naqvi, A. (2003). Variations in essential oil constituents at different growth stages of *Ruta chalepensis* on cultivation at north Indian plains. *Journal of Essential Oil Research*, 15(4), 263-264.
- Bagnouls, F., & Gaußen, H. (1957). Les climats biologiques et leur classification. In *Annales de géographie*, 66 (355), 193-220.
- Baser, K., Özak, T., & Beis, S. (1996). Constituents of the essential oil of *Ruta chalepensis* L. from Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 8(4), 413- 414.
- Beghidja, N., Bouslimani, N., Benayache, F., Benayache, S., & Chalchat, J. (2007). Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the East of Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(4).
- Belghazi, L., Lahlou, N., Alaoui, I., Abousaouiria, T., Habti, N., Tantaoui, I. A., & Fellat-Zarrouck, K. (2002). Extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de la menthe pouliot. Test antifongique [Extraction and analysis by gas chromatography of essential oil of pennyroyal mint tested as antifungal]. *Congrès de biochimie. Casablanca. Biochimie et santé*, 38- 40.
- Belkarami, K. (1988). *Fungal Physiology* (Mosul: Dar Al-Kutub for printing and publishing, Vol. 2).
- Bell, D., Wells, H., & Markham, C. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, 72(4), 379-382.
- Belyagoubi Larbi, M. (2006). *Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Mémoire de Magister, département de biologie, faculté de sciences, université Aboubekr Belkaid, Tlemcen, Algérie.*
- Ben Abdallah, A. (1990). La phoeniciculture. *Toutain G.(ed.) Les systèmes agricoles oasiens, Montpellier: CIHEAM. Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens*, (11).

- Benayache, S., Benayache, F., Benyahia, S., Chalchat, J.-C., & Garry, R.-P. (2001). Leaf oils of some *Eucalyptus* species growing in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 13(3), 210-213.
- Benhamou, N., & Chet, I. (1996). Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology*, 86(4), 405- 416.
- Beniston, N. T., & Beniston, W. S. (1984). *Fleurs d'Algérie*. Entreprise nationale du livre Alger, Algérie.
- Benmehaia, R., & Atallaoui, K. (2018). Analyse de la densité de plantation des palmeraies dans la wilaya de Biskra à travers des données exhaustives. *BioRessources*, 2, 96 - 104.
- Bensaci, M., & Rahmania, F. (2009). *Etude physiologique de Mauginiella scaettae isolée à partir de spathe du palmier dattier de cuvette d'Ouargla- Algérie*. Séminaire international protection et préservation des écosystèmes sahariens ecosys09, 13- 14 et 15 décembre 2009, Ouergla - Algérie.
- Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364-371.
- Bergheul, S. (2018). *Etude de l'activité antimicrobienne et bioinsecticide de Ruta chalepensis L., R. angustifolia Pers. Et Haplophyllum tuberculatum (Forsk.) A. Juss. Vis-à-vis de quelques bioagresseurs de la culture de tomate (Lycopersicum esculentum Mill)*. Thèse de doctorat, Universite Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem–.
- Bey-ould si said, zakia. (2014). *Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale Eucalyptus globulus*. Thèse de Magister, Université Abderrahmane Mira - Bejaïa.

- Bnina, E. B., Hammami, S., Daamii-remadi, M., Jannet, H. B., & Mighri, Z. (2010). Chemical composition and antimicrobial effects of Tunisian *Ruta chalepensis* L. essential oils. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 12, 1-9.
- Boizot, N., & Charpentier, J.-P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA, In: Numéro spécial*, 79-82.
- Botton, B., A.. Breton, & Fèvre, M. (1990). *Moisissures utiles et nuisibles : Importance industrielle*. Masson Paris.
- Boughediri, L. (1997). *Techniques De Selection Du Pollen De Palmier Dattier En Vue D'améliorer La Qualité Dattière*. 3(1), 49-52.
- Bouguedoura, N. (1991). *Connaissance de la morphologie du palmier dattier (Phoenix dactylifera L). Etude in situ et in vitro du développement morphogénétique des appareils végétatif et reproducteur*. Thèse de Doctorat, U.S.T.H.B., Alger,..
- Bouhaddouda, N. (2016). *Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : Origanum vulgare et Mentha pulegium*. Thèse de Doctorat, Univ Badji Mokhtar, Annaba.
- Bouhlali, E. D. T., Ben-Amar, H., Meziani, R., & Essarioui, A. (2021). Development of a fungicide-based management strategy of inflorescence rot disease caused by *Mauginiella scaettae* Cavar on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 20(3), 173-179.
- Boukhatem, M. N., Amine, F. M., Kameli, A., Saidi, F., Walid, K., & Mohamed, S. B. (2014). Quality assessment of the essential oil from *Eucalyptus globulus* Labill of Blida (Algeria) origin. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, 17(3), 303-315.

- Boukhebti, H., Chaker, A. N., Belhadj, H., Sahli, F., Ramdhani, M., Laouer, H., & Harzallah, D. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. *Der Pharmacia Lettre*, 3(4), 267-275.
- Bounaga, N., & Djerbi, M. (1990). Pathologie du palmier dattier. *Les systèmes agricoles oasisiens*, 127-132.
- Boureghda, H. (2009). *Recherche de l'effet antagoniste de Trichoderma spp. À l'égard de Fusarium oxysporum f. Sp. Ciceris (Padwick) Matuo et K. Sato (Foc), agent du flétrissement du pois chiche*. Thése de doctorat, institut National Agronomique, El Harrach, 143 p.
- Bouziane, Z., Dehimat, L., & Benabdelkader, M. (2011). The antagonism between *Trichoderma viride* and other pathogenic fungal strains in *Zea mays*. *Agric. Biol. J. North AM* 2011, 2, 584–590.
- Brewer, D. (1960). Studies in ascochyta pisi lib. *Canadian Journal of Botany*, 38(5), 705-717.  
<https://doi.org/10.1139/b60-062>
- Caillet, S., & Lacroix, M. (2007). Les huiles essentielles : Leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. *INRS-Institut Armand-Frappier, RESALA*, 1(8).
- Camporota, P. (1985). In vitro antagonism between *Trichoderma spp.* And *Rhizoctonia solani*. *Agronomie*, 5(7), 613-620
- Cárdenas-Ortega, N. C., Zavala-Sánchez, M. A., Aguirre-Rivera, J. R., Pérez-González, C., & Pérez-Gutiérrez, S. (2005). Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Chrysactinia mexicana* Gray. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 53(11), 4347-4349.
- Carpenter, J. B., & Elmer, H. S. (1978). *Pests and diseases of the date palm*. U.S. Department of Agriculture Washington.

- Carpenter, J. B., McMillen, J. M., Wengert, E. M., & Elmer, H. (1978a). *Pests and diseases of the date palm* (Numéros 526-528). US Department of Agriculture, Science and Education Administration.
- Carpenter, J. B., McMillen, J. M., Wengert, E. M., & Elmer, H. (1978b). *Pests and diseases of the date palm* (Numéros 526- 528). US Department of Agriculture, Science and Education Administration.
- Celiktas, O. Y., Kocabas, E. H., Bedir, E., Sukan, F. V., Ozek, T., & Baser, K. (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Rosmarinus officinalis, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100(2), 553-559.
- Celimene, C. C., Micales, J. A., Ferge, L., & Young, R. A. (1999). Efficacy of pinosylvins against white-rot and brown-rot fungi. *Holzforschung*, 53, 491-497
- Chabrolin, C. (1930). Les maladies du Dattier (Suite et fin). *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 10(108), 661-671.
- Cheriet, F., & Benziouche, S. E. (2012). Structure et contraintes de la filière dattes en Algérie. *New Medit: Mediterranean Journal of Economics, Agriculture and Environment= Revue Méditerranéenne d'Economie Agriculture et Environment*, 11(4), 49.
- Chibani, S., Bouratoua, A., Kabouche, A., Laggoune, S., Semra, Z., Smati, F., & Kabouche, Z. (2013). Composition and antibacterial activity of the essential oil of Ruta chalepensis subsp. Angustifolia from Algeria. *Der Pharmacia Lettre*, 5(5), 252-255.
- Corkley, I., Fraaije, B., & Hawkins, N. (2022). Fungicide resistance management : Maximizing the effective life of plant protection products. *Plant Pathology*, 71(1), 150-169.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.

- Daami-Remadi, M., Dkhili, I., Jbnoun-Khiareddine, H., & El Mahjoub, M. (2012). Biological control of potato leak with antagonistic fungi isolated from compost teas and solarized and non-solarized soils. *Pest Technol*, 6, 32-40.
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174-181. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.007>
- Daher Meraneh, A. (2010). *Détermination du sexe chez le palmier dattier : Approches histocytologiques et moléculaires*. Thèse de doctorat Université de Montpellier.
- Dakhia, N., Bensalah, M., Romani, M., Djoudi, A., & Belhamra, M. (2013a). Etat phytosanitaire et diversité variétale du palmier dattier au bas Sahara-Algérie. *Journal Algérien des Régions Arides*, 12(1), 06-17.
- Dakhia, N., Bensalah, M., Romani, M., Djoudi, A., & Belhamra, M. (2013b). Etat phytosanitaire et diversité variétale du palmier dattier au bas Sahara-Algérie.
- Daoudi, A., Hrouk, H., Belaidi, R., Slimani, I., Ibjibjen, J., & Nassiri, L. (2016). Valorisation de *Ruta montana* et *Ruta chalepensis* : Étude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7(3), 685-1063.
- Daroui Mokadem, H. (2012). *Etude phytochimique et biologique des espèces*. Thèse de doctorat, université Annaba.
- Dennis, C., & Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma* : I. Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57(1), 25-IN3.
- Didry, N., Dubreuil, L., & Pinkas, M. (1993). Antibacterial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde alone or in combination. *Die Pharmazie*, 48(4), 301-304.
- Djerbi, M. (1983). Diseases of the date palm. *FAO regional project for palm and dates research centre in the Near East and North Africa*, 106.

- Djerbi, M. (1994). Précis de phoeniciculture. *Ed. FAO, Rome*, 24(4).
- Dorman, H., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants : Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. t, & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
- Dufresne, P., & Guy, S. (2018). Identification des champignons d'importance médicale. *Institut National de santé publique. Québec*, 1-64.
- Elad, Y., Chet, I., & Katan, J. (1980). Trichoderma harzianum : A biocontrol agent effective against Sclerotium rolfsii and Rhizoctonia solani. *Phytopathology*, 70(2), 119-121.
- El-Gali, Z., Mohamed, N., & Larbod, A. (2012). Variability in virulence of five isolates of Botrytis cinerea on three onion cultivars. *J. Plant Prot. and Path.*, *Mansoura Univ*, 3(11), 1129-1136.
- Elhoussine, D., Zineb, B., & Abdellatif, B. (2010). GC/MS analysis and antibacterial activity of the essential oil of Mentha pulegium grown in Morocco. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6(3), 191-198.
- El-Zawahry, A., El-Morsi, M., & Abd-Elrazik, A. (2000). Occurrence of fungal diseases on date palm trees and off-shoots in New Valley governorate and their biological control. *Assiut Journal of Agricultural Sciences*, 31 (3), 189-212.
- Fandohan, P., Gbenou, J. D., Gnonlonfin, B., Hell, K., Marasas, W. F., & Wingfield, M. J. (2004). Effect of essential oils on the growth of Fusarium verticillioides and fumonisin contamination in corn. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(22), 6824-6829.
- Farag, R., Daw, Z., Hewedi, F., & El-Baroty, G. (1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of food protection*, 52(9), 665-667.

- Fayyadh, M. A., & Al-Badran, B. M. (2012). Chemical and Biological control of date palm inflorescence rot caused by Mauginella scattae Cav and Fusarium solani (Mort.)Sacc. *Basrah J. Agric. Sci* , 25(3).
- Fayyadh, M., & Al-Badran, B. (2012). Chemical and biological control of date palm Inflorescence Rot Caused by Mauginella scattae Cav and Fusarium solani. *Basrah J. Agric. Sci*, 25(3), 579-594.
- Gautam, C., & Gupta, S. (2014). Antagonistic effect of Trichoderma viride and Trichoderma harzianum against plant pathogenic fungi and its growth on different agro-waste substrates. In *National Conference on Synergetic Trends in Engineering and Technology (STET-2014)* (pp. 23-24).
- Ghali, F.-S. (2001). *Palm degradation caused by the fungus Chalara paradoxa, conditions of infection and resistance*. Doctoral thesis, University of Baghdad - Faculty of Agriculture - Department of Plant Protection.
- GIRARD, P. (1962). *Note sur le palmier dattier*. C.F.P.A. de Touggourt.
- Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri, R., & Bakhrouf, A. (2009). Biological activities of the essential oils and methanol extract of tow cultivated mint species (Mentha longifolia and Mentha pulegium) used in the Tunisian folkloric medicine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 2227-2238.
- Halimi, H. (2004). *La Caractérisation Des Palmiers Dattiers Males Dans La Région de Ouargla En Vue D'une Sélection Qualitative*. Thèse de doctorat Universite Kasdi Merbah Ouargla.
- Hameed, M. A. (2005). Suscpetability of different cultivars of Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) to Mauginiella scaettae the causal agent of inflorescence rot. *Basrah Journal for Date Palm Research*, 4(1-2).

- Hameed, M. A. (2012). Inflorescence rot disease of date palm caused by *Fusarium proliferatum* in Southern Iraq. *African Journal of Biotechnology*, 11(35), 8616-8621.
- Haraguchi, H., Tanimoto, K., Tamura, Y., Mizutani, K., & Kinoshita, T. (1998). Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*, 48(1), 125-129.
- Hilliard, J., Krause, H., Bernstein, J., Fernandez, J., Nguyen, V., Ohemeng, K., & Barrett, J. (1995). A comparison of active site binding of 4-quinolones and novel flavone gyrase inhibitors to DNA gyrase. *Antimicrobial Resistance: A Crisis in Health Care*, 59-69.
- Hmiri, S., Amrani, N., & Rahouti, M. (2013). Détermination in vitro de l'activité antifongique des vapeurs d'eugénol et d'huiles essentielles de *Mentha pulegium* L. et de *Tanacetum annuum* L. vis-à-vis de trois champignons responsables de la pourriture des pommes en post-récolte. *Acta botanica gallica*, 158(4), 609-616.
- Hmiri, S., Rahouti, M., Habib, Z., Satrani, B., Ghanmi, M., & El Ajjouri, M. (2011). Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus Camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bulletin de la société royale des sciences de liège*, 80, 824-836.
- Hmouni, A., Massoui, M., & Douira, A. (1999). Étude de l'activité antagoniste de *Trichoderma* spp. Et de *Gliocladium* spp. À l'égard de *Botrytis cinerea*, agent causal de la pourriture grise de la tomate. *Al Awamia*, 99, 75-92.
- Howell, C. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases : The history and evolution of current concepts. *Plant disease*, 87(1), 4-10.
- Hussain, F. (1958). Occurrence of Date Palm inflorescence rot in Iraq. *Plant Disease Reporter*, 42 (4), 555pp.

- Hussain, F., & El Baldawy, A. (1977). *Studies on inflorescence rot disease of date palm and its control*. Yearbook of Plant Protection Research Ministry of Agriculture.Iraq, Vol. 1.
- Iqbal, Z., Bhatti, H., Ahmad, I., & Chatha, S. (2006). Contents and compositional variations in the essential oils of different eucalyptus globulus trees from Faisalabad, Pakistan. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 28(4), 397-400.
- Ismaily Alaoui, K., El Hajjaji, F., Azaroual, M., Taleb, M., Chetouani, A., Hammouti, B., Abrigach, F., Khoutoul, M., Abboud, Y., & Aouniti, A. (2014). Experimental and quantum chemical studies on corrosion inhibition performance of pyrazolic derivatives for mild steel in hydrochloric acid medium, correlation between electronic structure and inhibition efficiency. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(7), 63-81.
- Juliette, D., OTCHOUMOU, A., & ALLOU, K. (2010). Effect of in vitro and in vivo interaction between *Aspergillus niger*, *Mucor sp.* and *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Phoma sp.*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma sp.* *Afrique Science*, 06, 47-53.
- Juven, B., Kanner, J., Schved, F., & Weisslowicz, H. (1994). Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of applied bacteriology*, 76(6), 626-631.
- Karra, S. (2020). *Contribution à la Valorisation des fleurs de palmiers dattiers mâles (Phoenix dactylifera L.) : Propriétés physico-chimiques et fonctionnelles de la poudre de fleurs séchées et des extraits fibreux et fibro-protéiques*. Thèse, Ecole Nationale d'Ingénieurs Sfax, Université de Sfax, Sfax.
- Karra, S., Sebii, H., Borchani, C., Danthine, S., Blecker, C., Attia, H., Besbes, S., & Bouaziz, M. A. (2019). Physico-chemical and functional properties of dried male date palm flowers. *Food bioscience*, 31, 100441.

- Kassim, M. (1983). Survey of fungal plant diseases in Saudi Arabia. 2. Diseases of fruit trees and field crop. *Commonwealth Agricultural Sciences Dev. Research*, 4, 29-43.
- Khan, A. A., Iqbal, Z., Khan, W. A., & Khan, A. A. (2017). Antifungal potential of plant extracts and *Trichoderma* spp. Against *Fusarium* wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Lycopersici*. *Plant Protection*, 1(1), 01-05.
- Khan, I. H., & Javaid, A. (2021). In vitro screening of *Aspergillus* spp. For their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina*. *Journal of Plant Pathology*, 103(4), 1195-1205.
- Knowles, J., Roller, S., Murray, D. B., & Naidu, A. (2005). Antimicrobial action of carvacrol at different stages of dual-species biofilm development by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. *Applied and environmental microbiology*, 71(2), 797-803.
- Kordali, S., Cakir, A., Zengin, H., & Duru, M. E. (2003). Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia*, 74(1-2), 164-167.
- Kouakou, A., N Guessan, J., Kra, A., & Guede-Guina, F. (2006). Activité antifongique et screening phytochimique de THOS (extrait aqueux de *Thonningia sanguinea*). *Journal-Societe Ouest Africaine De Chimie*, 22, 21.
- Lahlou, N., Mounchid, K., Aboussaouira, T., Habti, N., Belghazi, L., FELLATZARROUK, K., Tantaoui-Elaraki, A., Rachidai, A., & Ismaili-Alaoui, M. (2005). Étude de la cytotoxicité de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* : Essais biologiques variés. *Les cahiers de la recherche*, 7-16.
- Laouini, S. E. (2014). *Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de Phoenix dactylifera L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf)*. Thèse de Doctorat, Université Mohamed Khider Biskra)

- Leach, C. M. (1962). The quantitative and qualitative relationship of ultraviolet and visible radiation to the induction of reproduction in *Ascochyta pisi*. *Canadian Journal of Botany*, 40(12), 1577-1602.
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(25), 7292-7295.
- Leroux, P., & Credet, A. (1978). Document sur l'étude de l'activité des fongicides. *INRA, Versailles, France*, 26.
- López-Malo, A., Alzamora, S. M., & Palou, E. (2005). *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. *International journal of food microbiology*, 99(2), 119-128.
- Lorenzo, D., Paz, D., Dellacassa, E., Davies, P., Vila, R., & Cañigueral, S. (2002). Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. *Brazilian archives of biology and technology*, 45, 519-524.
- Lucini, E., Zunino, M., López, M., & Zygadlo, J. (2006). Effect of monoterpenes on lipid composition and sclerotial development of *Sclerotium cepivorum* Berk. *Journal of phytopathology*, 154(7-8), 441-446.
- MADR. (2019). *Statistiques agricoles. SERIE B 2016*. Ministère de l'agriculture et de développement rural, Alger.
- Mahboubi, M., & Haggi, G. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Journal of ethnopharmacology*, 119(2), 325-327.
- Majdoub, O., Dhen, N., Souguir, S., Haouas, D., Baouandi, M., Laarif, A., & Chaieb, I. (2014). Chemical composition of *Ruta chalepensis* essential oils and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum*. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 9(1), 83-90.

- Markovich, N., & Kononova, G. (2003). Lytic enzymes of *Trichoderma* and their role in plant defense from fungal diseases : A review. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 39, 341-351.
- Marouf, A., Bouguedoura, N., Bennaceur, M., & Bengag, A. (2010). *Phytochemical Profile And Antioxidant Activity of Phoenix dactylifera L., Phoenix canariensis L. and Chamaerops humilis L.* 1099-1108.
- Maryam, M., Fatima, B., Haider, M. S., Abbas, S., Naqvi, M., Ahmad, R., & KHAN, I. A. (2015). Evaluation of pollen viability in date palm cultivars under different storage temperatures. *Pak. J. Bot*, 47(1), 377-381.
- Marzouk, B., Fredj, M. B. H., Chraief, I., Mastouri, M., Boukef, K., & Marzouk, Z. (2008a). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian *Mentha pulegium* L. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 6(1), 78.
- Marzouk, B., Fredj, M. B. H., Chraief, I., Mastouri, M., Boukef, K., & Marzouk, Z. (2008b). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian *Mentha pulegium* L. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 6(1), 78.
- Mathivanan, N., Prabavathy, V., & Vijayanandraj, V. (2008). The effect of fungal secondary metabolites on bacterial and fungal pathogens. *Secondary metabolites in soil ecology*, 129-140.
- Mehaoua, M. S. (2006). *Etude du niveau d'infestation par la cochenille blanche *Parlatoria blanchardi* Targ., 1868 (Homoptera, Diaspididae) sur trois variétés de palmier dattier dans une palmeraie à Biskra*. Thèse de doctorat, INA.
- Mejri, J., Bouajila, J., Ali, S. B. S., Abderrabba, M., & Mejri, M. (2012). *Ruta chalepensis* L. Essential oil : Chemical composition and phytotoxic activity. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 2(6), 341-352.

- Merghache, S., Hamza, M., & Tabti, B. (2009). Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 5(1).
- Merghem, R. (2009). Eléments de biochimie végétale. *Bahaeddine éditions*, 95-121.
- Michael, I., & Sabet, K. (1970). Biology and control of *Mauginiella scaettae* Cav., the pathogen of khamedj disease in the United Arab Republic. *Report, 47<sup>th</sup> annu, Date Grs'Inst*, 47, 5-8
- Miliauskas, G., Venskutonis, P., & Van Beek, T. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2), 231-237.
- Mkaddem, M., Boussaid, M., & Fadhel, N. B. (2007). Variability of volatiles in Tunisian *Mentha pulegium* L.(Lamiaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 19(3), 211-214.
- Mohammedi, Z., & Atik, F. (2012). Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Revue «Nature & Technologie»*. n, 6, 34-39.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. sci. technol*, 26(2), 211-219.
- Mondo, J., Balezi, A., Mugomoka, V., Zigashane, L., Bagula, E., Kashosi, T., MPUTU, J. N., & MUSHAGALUSA, G. (2016). Effets des milieux de culture (PDA, SDA, SPDA, blé et maïs) sur la productivité in vitro de la souche P969 du *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. *Afrique Science*, 12(4), 374-381.
- Moore, H., Jr. (1973). The major groups of palms and their distribution. *Gentes Herbarum*, 11(2), 141pp.
- Munier, P. (1955). The Date Palm in Mauretania. *Ann, Inst, Fruits et Agrumes colon*, 12, 66pp
- Munier, P. (1973). *Le palmier dattier, techniques agricoles et productions tropicales*. Ed Maison Neuve et Larosse, Paris.

- Munier, P. (1974). Le problème de l'origine du palmier-dattier et l'Atlantide. *Fruits*, 29 (3), 235- 240
- Munier, P. (1981). Origine de la culture du palmier-dattier et sa propagation en Afrique Notes historiques sur les principales palmeraies africaines. *Fruits*, 36(9), 531-556.
- Nasraoui, B. (2008). Main fungal diseases of cereals and legumes in Tunisia. *Centre de Publication Universitaire, Tunisia*, 186.
- Netham Eddin, A., Boukhlif, F., & Ali, L. (1983). Tannin content in the principal parts of the date palm. *Date Palm Journal*, 2(2), 211-221.
- Nguang, S. L., Yeong, Y. L., Pang, S. F., & Gimbun, J. (2017). Ultrasonic assisted extraction on phenolic and flavonoid content from *Phyllanthus niruri* plant. *Indian Journal of Science and Technology*, 10(2), 1-5.
- Okoth, S., De Boevre, M., Vidal, A., Diana Di Mavungu, J., Landschoot, S., Kyallo, M., Njuguna, J., Harvey, J., & De Saeger, S. (2018). Genetic and toxigenic variability within *Aspergillus flavus* population isolated from maize in two diverse environments in Kenya. *Frontiers in Microbiology*, 9, 57.
- Omoifo, C., & Ikotun, T. (1987). Inhibition of growth of some plant pathogens by antagonistic microorganisms. *Journal of basic microbiology*, 27(9), 515-519.
- Ouadah, F., Lakhdari, w, Dehliz, A., Acheuk, F., Mlik, R., Benlamoudi, W., Hammi, H., Berrekbia, M., Gueriani, S., & Doumandji-Mitiche, B. (2017). Biological control of date palm diseases with native antagonistic fungi of Oued Righ region (Algerian Sahara). *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)*, 14.
- Pattnaik, S., Subramanyam, V. R., Bapaji, M., & Kole, C. R. (1997). Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios*, 89(358), 39-46.

- Pattnaik, S., Subramanyam, V. R., & Kole, C. (1996). Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios*, 86(349), 237-246.
- Perrone, G., Susca, A., Cozzi, G., Ehrlich, K., Varga, J., Frisvad, J., Meijer, M., Noonim, P., Mahakarnchanakul, W., & Samson, R. (2007). Biodiversity of Aspergillus species in some important agricultural products. *Studies in mycology*, 59(1), 53-66.
- Peyron, G. (2000). Cultiver le palmier-dattier. *Cultiver le palmier-dattier*, 1-112.
- Putri, B., Santoso, I., & Yasman, Y. (2020). *Antagonistic potential of Bacillus siamensis LDR against Aspergillus niger ABP and ART*. 2242(1).
- Rai, Qureshi, S., & Pandey, A. (1999a). In vitro susceptibility of opportunistic Fusarium spp. To essential oils. *Mycoses*, 42(1-2), 97-101.
- Rai, Qureshi, S., & Pandey, A. (1999b). In vitro susceptibility of opportunistic Fusarium spp. To essential oils. *Mycoses*, 42(1-2), 97-101.
- Rapilly, F., & Viennot-Bourgin, G. (1968). *Les techniques de mycologie en pathologie végétale*. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, 102p.
- Rattan, S., & Al-Dboon, A.-H. (1981). *Notes on fungi associated with date-palm I*.
- Remmal, A., Bouchikhi, T., Rhayour, K., Ettayebi, M., & Tantaoui-Elaraki, A. (1993). Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *Journal of Essential Oil Research*, 5(2), 179-184.
- Reyres, M., Bouabidi, H., Piombo, G., & Risterucci, A.-M. (1994). Caractérisation des principales variétés de dattes cultivées dans la région du Djérid en Tunisie. *Fruits*, 49(4), 289-298.
- Rodrigues, L., Póvoa, O., Teixeira, G., Figueiredo, A. C., Moldão, M., & Monteiro, A. (2013). Trichomes micromorphology and essential oil variation at different developmental stages of cultivated and wild growing *Mentha pulegium* L. populations from Portugal. *Industrial Crops and Products*, 43, 692-700.

- Rustaiyan, A., Khosravi, M., Sultani-Lotfabadi, F., Yari, M., Masoudi, S., & Monfared, A. (2002). Constituents of the essential oil of *Ruta chalepensis* L. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 14(5), 378-379.
- Salem, N., Kefi, S., Tabben, O., Ayed, A., Jallouli, S., Feres, N., Hammami, M., Khammassi, S., Hrigua, I., & Nefisi, S. (2018). Variation in chemical composition of *Eucalyptus globulus* essential oil under phenological stages and evidence synergism with antimicrobial standards. *Industrial crops and products*, 124, 115-125.
- Sara, L. (2018). *Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de certains plantes aromatiques et médicinales, contre les principes maladies post-récolte des agrumes au Maroc*. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès
- Sebii, H., Karra, S., Bchir, B., Ghribi, A., Danthine, S., Blecker, C., Attia, H., & Besbes, S. (2019). Physico-chemical, surface and thermal properties of date palm pollen as a novel nutritive ingredient. *Adv. Food Technol. Nutr. Sci. Open J*, 5, 84-91.
- Selvakumar, P. (2012). Studies on the antidandruff activity of the essential oil of *Coleus amboinicus* and *Eucalyptus globulus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2, S715-S719.
- Shalini, S., & Kotasthane, A. (2007). Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* spp. *EJEAF Chemistry*, 6, 2272-2281.
- Sharif, F., Al-Roubaie, J., & Jassem, H. (1988). *Effect of some biocontrol fungi on Mauginiella scaettiae Cav. The cause of palm pollen cavity disease*. 6(2), 295-308.
- Sharma, N., & Tripathi, A. (2006). Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus sinensis* on post-harvest pathogens. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22, 587-593.

- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology*. 299, 152-178). Elsevier.
- Souza, E. L. de, Lima, E. de O., Freire, K. R. de L., & Sousa, C. P. de. (2005). Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of various moulds isolated from foods. *Brazilian archives of Biology and Technology*, 48, 245-250.
- Stewart, P. (1968). Quotient pluviothermique et degradation biospherique : Quelques reflexions. *Bull Soc His Nat Afr Nord*, 59, 23-36.
- Stoyanova, A., Georgiev, E., Kula, J., & Majda, T. (2005). Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Bulgaria. *Journal of Essential Oil Research*, 17(5), 475-476.
- Su, Y.-Y., Qi, Y.-L., & Cai, L. (2012). Induction of sporulation in plant pathogenic fungi. *Mycology*, 3(3), 195-200.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Batista, I., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., Nogueira, J. M., Saraiva, J. A., & Nunes, M. L. (2012). European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal : Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. *Industrial Crops and Products*, 36(1), 81-87.
- Tirichine, H. S. (2010). *Etude ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) du Sud-Est algérien.* Thèse de Doctorat, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella.
- Toutain, G. (1967). The date palm. Culture and production. *Awamia*, 25, 83-151
- Toutain, G., Dolle, V., & Ferry, M. (1989). Oasis systems in hot regions. *Cahiers de la Recherche Developpement (France)*, 22.

- Ultee, A., Kets, E., & Smid, E. (1999). Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology*, 65(10), 4606-4610.
- Uwineza, M., El Yousfi, B., & Lamiri, A. (2018). Activités antifongiques in vitro des huiles essentielles de *Mentha pulegium*, *Eugenia aromatica* et *Cedrus atlantica* sur *Fusarium culmorum* et *Bipolaris sorokiniana*. *Revue Marocaine de Protection des Plantes*, 12, 19-32.
- Vilela, G. R., de Almeida, G. S., D'Arce, M. A. B. R., Moraes, M. H. D., Brito, J. O., da Silva, M. F. das G., Silva, S. C., de Stefano Piedade, S. M., Calori-Domingues, M. A., & da Gloria, E. M. (2009). Activity of essential oil and its major compound, 1, 8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *Journal of Stored Products Research*, 45(2), 108-111.
- Viturro, C. I., Molina, A. C., & Heit, C. I. (2003). Volatile components of *Eucalyptus globulus* Labill ssp. *Bicostata* from Jujuy, Argentina. *Journal of Essential Oil Research*, 15(3), 206-208.
- Wertheimer, M. (1956). Recherches et observations sur la plantation des rejets de palmier-dattier dans les Ziban (Région de Biskra). *Fruits*, 11(11), 481-487.
- Yasa, H., Onar, H. Ç., & Yusufoglu, A. S. (2012). Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Bodrum, Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(6), 1040-1043.
- Youssef, K., Ligorio, A., Sanzani, S. M., Nigro, F., & Ippolito, A. (2012). Control of storage diseases of citrus by pre-and postharvest application of salts. *Postharvest Biology and Technology*, 72, 57-63.

- Zaid, A., De Wet, P., Djerbi, M., & Oihabi, A. (2002). Diseases and pests of date palm in date palm cultivation. *Plant production and protection Baghdad, Iraq: FAO*, 227-281.
- Zekri, N., Amalich, S., Boughdad, A., El Belghiti, M. A., & Zair, T. (2013). Phytochemical study and insecticidal activity of *Mentha pulegium* L. oils from Morocco against *Sitophilus Oryzae*. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 2(4), 607-619.
- Zwaving, J., & Smith, D. (1971). Composition of the essential oil of Austrian *Mentha pulegium*. *Phytochemistry*, 10(8), 1951-1953.

# *Annexes*

## Annexe 1.

### Fiche d'enquête

#### I. Caractéristiques des exploitations

1. Région : Commune : Age:  
2. Type d'exploitation : Mise en valeur Traditionnel  
3. Superficie totale :  
4. Nombre total de pieds :  
5. Nombre de variétés  
6. En rapport : male femelle Improductif Djebbar  
7. Age des pieds: 10 -20 20 -30 30 -50 80>  
8. Principales cultures associées au palmier .....  
9. Qualité des eaux d'irrigation : Bonne moyenne médiocre  
10. Fréquence d'irrigation : 1fois /semaine 1fois/2 semaine 1 fois/mois 2 fois /semaine  
11. Drainage : inexistant inefficace moyen efficace  
12. Entretien des palmerais et palmier : B TB M Mauvaise T Mauvaise  
13. Fertilisation minérale : Oui Non  
14. Fertilisation organique: Oui Non  
15. Provenance de la fertilisation organique  
16. Brise vent : Bon Moyen Mauvais  
17. Nombre des variétés

#### II. Etat phytosanitaire

1. Observation de l'état général des palmerais :  
2. Nombre des pieds atteints  
3. Les variétés touchées  
4. Nombre des variétés atteints  
5. Date d'apparition  
6. A- t- elle été traité ? Oui Non  
7. Pendant quelle période ? Printemps Eté Automne Hiver  
8. Combien de fois?  
9. Moyens de lutte : Utilisation des fongicides Lutte physique

## Annexe 2.

### Préparation de milieu de culture (PDA)

- 250 g de Pomme de terre (P)
- 20 g de Dextrose (Glucose) (D)
- 20g de Gélose nutritive (Agar - Agar) (A)
- 1000 ml d'eau distillée

Le milieu est stérilisé à l'autoclave pendant une heure à 110°C. Puis distribué dans des boites de Pétri et des tubes stériles (**Pochon et Tardieu, 1962**).

## Annexe 3.

### Appréciation du degré de toxicité de filtrat de culture de *M. scaettae* sur la viabilité du pollen

**Tableau 1.** Analyse de variance du test de coloration

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	22391.1761	4478.2352	117.5716	< 0,0001
Erreur	12	457.0731	38.0894		
Total corrigé	17	22848.2492			

**Tableau 2.** Analyse de variance du test de germination

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	5	6334.4444	1266.8889	10.6164	0.0004
Erreur	12	1432.0000	119.3333		
Total corrigé	17	7766.4444			

## Annexe 4.

**Effet d'extraits des spadices de différentes variétés sur la croissance mycélienne de *M. scaettae***

**Tableau 1.** Analyse de variance du PH d'extraits des spadices de différentes variétés étudiées

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	2	3,0488	1,5244	92,0161	< 0,0001
<b>Erreur</b>	6	0,0994	0,0166		
<b>Total corrigé</b>	8	3,1482			

**Tableau 2.** Analyse de variance du dosage des sucres totaux d'extraits des spadices de différentes variétés étudiées

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	2	327,4778	163,7389	578,5008	< 0,0001
<b>Erreur</b>	5	1,4152	0,2830		
<b>Total corrigé</b>	7	328,8930			

**Tableau 3.** Analyse de variance du dosage des polyphénols totaux d'extraits des spadices de différentes variétés étudiées

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	2	0,9313	0,4656	12,3988	0,0074
<b>Erreur</b>	6	0,2253	0,0376		
<b>Total corrigé</b>	8	1,1566			

**Tableau 4.** Analyse de variance du taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *M. scaettae* sur l'extrait des spadices de différentes variétés étudiées

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	2	187,3044	93,6522	1,5552	0,2857
<b>Erreur</b>	6	361,3173	60,2195		
<b>Total corrigé</b>	8	548,6217			

## Annexes 5.

### Antagonisme *in vitro* contre *M. scaettiae*

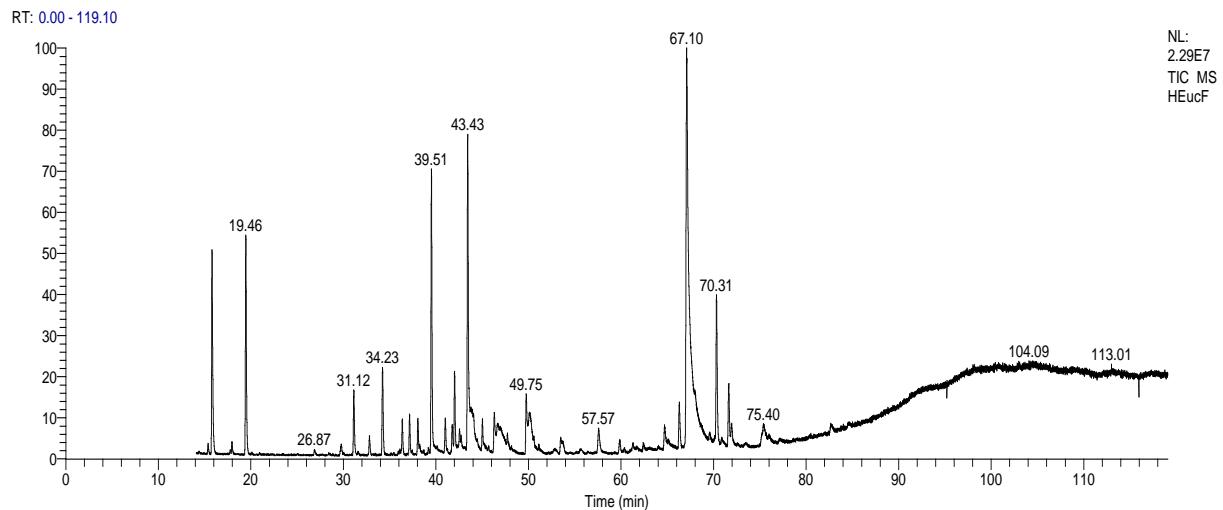
**Tableau 1.** Analyse de variance du taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *M.scaettiae*

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	2	22,2222	11,1111	0,6711	0,5457
<b>Erreur</b>	6	99,3333	16,5556		
<b>Total corrigé</b>	8	121,5556			

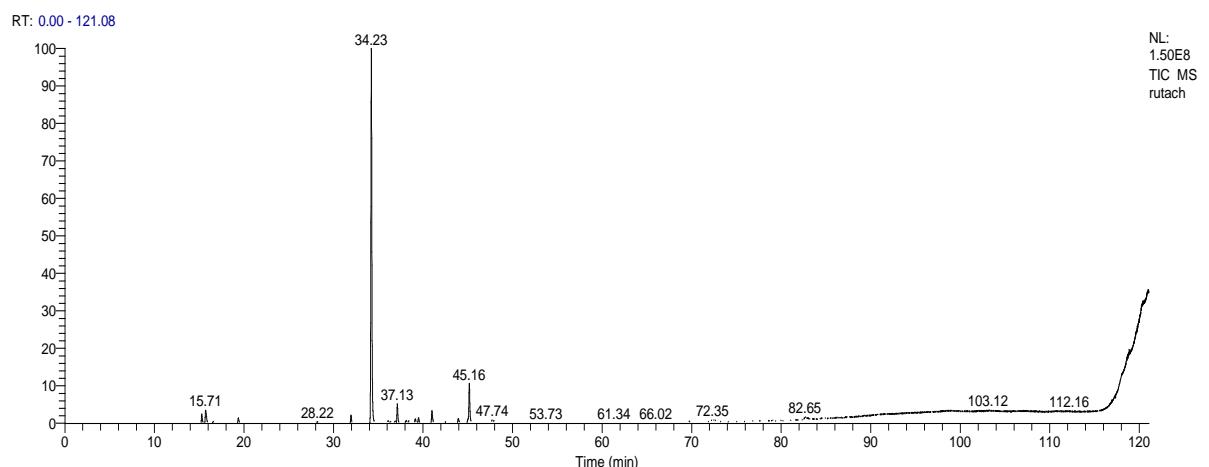
**Tableau 2.** Analyse de variance de la croissance radiale de *M. scaettiae*.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	3	25,6223	8,5408	134,2887	< 0,0001
<b>Erreur</b>	8	0,5088	0,0636		
<b>Total corrigé</b>	11	26,1311			

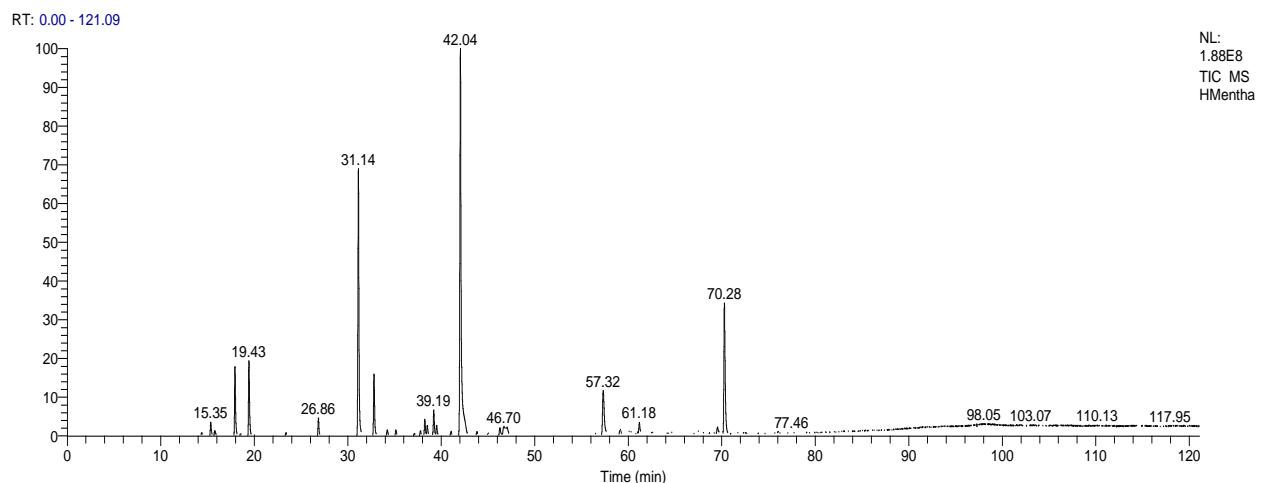
## Annexe 6.



**Figure 1.** Chromatogramme de l'huile essentielle d'*E. globulus* par GC/MS.



**Figure 2.** Chromatogramme de l'huile essentielle *R. chalepensis* par GC/MS.



**Figure 3.** Chromatogramme de l'huile essentielle *M. pulegium* par GC/MS.

## Annexe 7.

### Activité antifongique des huiles essentielles

**Tableau 1.** Analyse de variance du taux d'inhibition de *M. scaettae* traité à l'HE d' *E. globulus*

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	2	6560,8979	3280,4489	22,6828	0,0016
<b>Erreur</b>	6	867,7349	144,6225		
<b>Total corrigé</b>	8	7428,6328			

**Tableau 2.** Analyse de variance du taux d'inhibition de *M. scaettae* traité à l'HE de *M. pulegium*

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	2	65,7475	32,8737	0,9602	0,4347
<b>Erreur</b>	6	205,4277	34,2380		
<b>Total corrigé</b>	8	271,1752			

**Tableau 3.** Analyse de variance du taux d'inhibition de *M. scaettae* traité à l'HE de *R. chalepensis*

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
<b>Modèle</b>	2	2211,0934	1105,5467	25,6575	0,0011
<b>Erreur</b>	6	258,5321	43,0887		
<b>Total corrigé</b>	8	2469,6255			

# *Publication*

