

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار – مختار

Annaba



FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

## Thèse

Présenté En vue de l'obtention d'un Diplôme de :

**Doctorat es Sciences**

Option : Biologie Végétale

## Intitulé

**DISTRIBUTION SPATIO TEMPORELLE DE LA TAVELURE DU  
POMMIER (*Venturia inaequalis*) DANS LA REGION d'ET TARF**

**Presentée par : BENALIOUCHE Fouzia**

**Directeur de thèse : Dr. SBARTAI Hana**

(Pr, Université Badji Mokhtar - Annaba)

## Devant un jury composé de :

Pr. SBARTAI Ibtissem	Président	Université	Badji Mokhtar - Annaba
Pr. SOUIKI Lynda	Examineur	Université	Guelma
Dr. HASSAINE Amina	Examineur	Université	Badji Mokhtar - Annaba
Dr. HANNOUNI Nacera	Examineur	Université	Chadli Bendjedide –El Tarf
Dr. DJELOUL Radia	Examineur	Université	Chadli Bendjedide –El Tarf

Année universitaire : 2021/2022

## *Remerciements*

Avant toute chose, je tiens tout d'abord remercier Dieu, le tout puissant, de m'avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

J'exprime mes sincères remerciements à ma directrice de thèse **Professeur SBARTAI Hana** pour avoir dirigé mes travaux de recherche. Je lui suis extrêmement reconnaissante pour ses conseils judicieux. J'aimerais lui adresser mes plus vifs remerciements pour son dynamisme, son soutien, ses bons conseils et sa confiance. qui m'ont permis de mener à bien cette thèse. Qu'elle trouve ici toute ma reconnaissance pour ces années de travail sous sa direction.

Je suis très honorée par la présence de **professeur SBARTAI Ibtissem** ; qui a bien voulu présider ce jury.

Mes remerciements s'adressent aux membres de Jury ; Professeur **SOUIKI Lynda**,

**Dr. DJELOUL Radia** et **Dr HASSAINE Amina**. Je suis très sensible à l'honneur qu'ils me font d'accorder une partie de leur temps afin de juger ce travail et de l'enrichir par leurs propositions. Qu'ils veuillent bien trouver ici l'expression de ma respectueuse considération.

À **Docteur HENOUNI Nacera**, Que je remercie d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse et pour ses encouragements bienveillants. Soyez assurée ma vive gratitude.

Un grand merci à Melle Meraghni Messaouda, pour son aide, son amitié, sa gentillesse et son soutien moral.

Je tiens à remercier Mr Slamen doctorant à l'ENA Pour son aide précieuse, ses suggestions, sa disponibilité.

Mes sincères remerciements vont également au propriétaire du verger d'étude Mr Ayad Nacer.

À **Ma famille**, pour leur soutien infailible tout au long de ces années, avec toute ma reconnaissance et mon amour

Je remercie également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Je n'oublierais pas de remercier mes amies Djotni Amina au Canada et Satouh Rachida pour leurs soutiens et leurs encouragements m'ont été très précieux

Je voudrais adresser mes vifs remerciements à chacun des responsables de l'Institut National de la protection des végétaux et tout mes collègues

Enfin, un grand remerciement à toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail.

## **Dédicace**

*A la mémoire de mon très cher père,*

*A celui qui m'a tout donné sans compter, à celui qui m'a soutenu toute ma vie, à celui à qui je dois ce que je suis et ce que je serai. Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je te porte, ni la profonde gratitude que je te témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que tu n'as cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. Ce modeste travail qui est avant tout le tien, n'est que la concrétisation de tes grands efforts et tes immenses sacrifices*

*A l'âme de ma très chère défunte mère,*

*Aucune parole ne peut être dite à sa juste valeur pour exprimer mon amour et mon attachement à toi. Tes prières ont été pour moi d'un grand soutien au cours de ce long parcours. Tu m'as toujours donné de ton temps, de ton énergie, de la liberté, de ton cœur et de ton amour. En ce jour j'espère réaliser chère mère et douce créature un de tes rêves, sachant que tout ce que je pourrais faire ou dire ne pourrait égaler ce que tu m'as donné et fait pour moi. Repose en paix ton souhait s'est accompli*

*Puissent vos âmes reposer en paix éternelle.  
Que Dieu, le tout-puissant, vous accueille dans son éternel paradis.*

*À ma famille*

*Je vous dédie tous ce travail pour votre soutien, amour et encouragements. Vous trouvez dans ce travail, l'expression de mon amour en vous souhaitant beaucoup de bonheur. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.*

**Fouzia**

# Sommaire

**Remerciements**

**Dédicace**

**Sommaire**

**ملخص**

**Résumé**

**Abstract**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Abréviation**

## **INTRODUCTION GENERALE**

.....	<b>1</b>
Introduction générale.....	2

## **Partie 1 : État de l'art**

<b>1. Importance économique .....</b>	<b>8</b>
<b>2. Caractéristiques générales du pommier.....</b>	<b>11</b>
2.3.1. Repos hivernal (la dormance).....	13
2.3.2. Période active de végétation .....	14
2.3.3. Biologie florale .....	14
2.3.4. Fruit : Structure et Développement .....	15
<b>2.4. Caractéristiques phénologiques et culturelles de quelques variété</b>	
2.4.1. La variété « Golden Delicious .....	<b>16</b>
2.4.2. La variété «Hanna» .....	17
2.4.3. La variété «Gala».....	18
<b>3. Conduite des techniques de culture .....</b>	<b>18</b>
<b>4. Conduite de l'arbre fruitier en verger.....</b>	<b>21</b>
<b>5. Ravageurs et maladies du pommier .....</b>	<b>24</b>
<b>1. Importance économique .....</b>	<b>24</b>
<b>2. Position systématique et description morphologique du champignon .....</b>	<b>26</b>
<b>3. Plantes hôtes du model parasite (Tavelure) et répartition géographique.....</b>	<b>27</b>
3.2.1. Symptômes sur bois .....	30
3.2.2. Symptômes sur les pièces florales .....	30

3.2.3. Symptômes sur les feuilles .....	31
3.2.4. Symptômes sur les fruits .....	31
3.2.5. Symptômes de tavelure de conservation sur fruits .....	32
<b>6. Autres modes de conservation connus ou supposés .....</b>	<b>37</b>
<b>7. Contamination conidiennes .....</b>	<b>37</b>
<b>8. Epoque de quantification de l'inoculum d'une parcelle.....</b>	<b>38</b>
<b>9. Développement de <i>Venturia inaequalis</i> en verger abandonné.....</b>	<b>38</b>
<b>10. Stratégies de protection contre la tavelure .....</b>	<b>39</b>
<b>10.2. Lutte chimique classique .....</b>	<b>40</b>
<b>1. Stratégies utilisées .....</b>	<b>41</b>
<b>2. Stratégie de lutte à risque réduit contre la tavelure du pommier.....</b>	<b>44</b>
<b>3. Risques liés aux pesticides .....</b>	<b>47</b>
<b>4. Solutions alternatives pour limiter l'utilisation des Produits phytosanitaires .....</b>	<b>49</b>
<b>IV. LE Thym.....</b>	<b>50</b>
<b>1. Historique.....</b>	<b>50</b>
<b>2. Présentation de La famille des lamiacées.....</b>	<b>51</b>
<b>3. Répartition géographique.....</b>	<b>51</b>
4. Description morphologique ou Botanique.....	52
<b>5. Classification Taxonomique .....</b>	<b>54</b>
<b>6. Propriétés générales du thym.....</b>	<b>54</b>
<b>6.1. Les chémotypes de l'huile essentielle du thym .....</b>	<b>55</b>
6.1.1. Thym à thymol .....	56
6.1.2. Thym à carvacrol .....	57
6.1.3. Thym à linalol .....	57
6.1.4. Thym à thuyanol (thujanol).....	58
6.1.5. Thym à géraniol.....	58
6.1.6. Thym à para-cymène.....	58
6.1.7. Thym à 1,8-cinéole et thym à $\alpha$ -terpinéol .....	59
<b>7. Composition chimique de l'huile essentielle du thym.....</b>	<b>59</b>
<b>8. Activités biologiques du thym .....</b>	<b>60</b>

## Partie 2 : Matériels et méthodes

<b>III. Matériel et méthodes</b> .....	61
<b>1. Analyse de la modélisation Spatiale de <i>Venturia inaequalis</i></b> .....	65
1.1.1. Présentation du site d'étude .....	65
1.1.2. Choix du verger .....	66
1.2.1. Température .....	66
1.2.2. Pluviométrie .....	67
1.2.3. Humidité relative .....	67
1.4.1. Suivi des infestations sur terrain .....	67
1.4.2. Echantillonnage sur le terrain .....	70
<b>2. Méthode d'interpolation spatiale par krigeage (Géostatistique)</b> .....	72
2.1.1. Cartes de répartition spatiale des lésions de la tavelure .....	72
2.1.2. Systèmes de krigeage .....	74
2.1.3. Interpolation de pondération par inverse de la distance (PID) .....	77
<b>3. Evaluation du potentiel antifongique et anti-oxydante de l'huile essentielle du <i>Thymus vulgaris</i></b> .....	78
3.2.1. Description du dispositif d'extraction .....	79
3.2.2. Détermination de la cinétique et du rendement d'extraction .....	80
3.2.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue .....	80
3.4.1. Matériel fongique .....	81
3.4.2. Isolement et identification de la tavelure du pommier .....	81
3.4.3. Choix du fongicide de référence .....	82
3.4.4. Méthode d'évaluation de l'activité antifongique .....	83
3.5.1. Le pouvoir anti-radicalaire (DPPH) .....	85
3.5.2. Test du pouvoir antioxydant par réduction du fer (FRAP) .....	86

## Partie 3 : Résultats et discussion

<b>IV. Résultats et discussions</b> .....	88
<b>1. L'analyse spatiale et calcul de l'indice de dispersion</b> .....	88
<b>2. Etude de l'activité antifongique de <i>Thymus vulgaris</i> sur l'agent pathogène de la tavelure (<i>Venturia inaequalis</i>)</b> .....	99
2.3.1. Identification macroscopiques .....	102
2.3.2. Identifications microscopiques .....	104
<b>2.4. Effet antifongique de l'HE du <i>Thymus vulgaris</i> chez <i>Venturia inaequalis</i></b> .....	105
<b>2.5. Effet antioxydant de l'HE du <i>Thymus vulgaris</i></b> .....	108
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	113
<b>References bibliographiques</b> .....	117
<b>Annexes</b>	

## الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى إجراء تحليل للتركيب المكاني للمرض في الظروف الطبيعية ، من أجل تحديد نمط التوزيع المكاني للآفات الناجمة عن *Venturia inaequalis* وتقييم النشاط المضاد للفطريات من ناحية أخرى. للزيت العطري من

*Thymus vulgaris* ضد الفطر المسؤول عن جرب التفاح

كان الهدف الأول هو تقييم تحليل التركيب المكاني للمرض مما جعل من الممكن تسليط الضوء على بنية مجمعة تشير إلى تشتت المرض على نطاق صغير. أشجار الجهاز الذي يتكون منه. اقترح هذا الهيكل أن تشتت الجرب داخل الجهاز سيكون محدودًا بين المجموع المختلفة لشجرة التفاح. تشير جميع النتائج التي تم الحصول عليها إلى الحاجة إلى تطوير استراتيجيات التحكم وفقًا لهذه المعايير. يؤخذ في الاعتبار إمكانية تصميم أنظمة منطقية لتقليل ضغط المخالفين الأحيائي. بالإضافة إلى ذلك ، فإن الاستبانة المكانية العالية تزيد من قدرتها على الكشف المبكر عن البقع الصغيرة لأمراض النبات.

في الوقت نفسه حددت التحليلات الكروماتوغرافية (CPG) لهذا الزيت 30 مكونًا ، تمثل أكثر من 99٪ من التركيبة الإجمالية للزيت العطري ، والتي يشكل لينيانول 36.41٪ المكون الرئيسي لها يليه 10.51 (Terpinen-4-ol) وبيتا ميرسين (7.5٪). المكونات الأخرى معتدلة [بارا سيمين (6.6٪)؛ 6.11 (γ-terpinene)] وتم تحديده ضعيفًا 0.75 (carvacrol) مع الثيمول الغائب تمامًا. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الزيت العطري لـ *T. vulgaris* أظهر نشاطًا مضادًا قويًا ، ، بانخفاض عدد خيوط المستعمرة الفطرية وفقًا للجرعات المتزايدة حيث يكون الحد الأدنى للتركيز المثبط (CMI) هو 300 ميكرو لتر / مل والحد الأدنى للفطريات التركيز (CMF) 600 مايكرو لتر / ميليلتر لم يتم الكشف عن نمو له. على الرغم من عدم وجود الثيمول والمحتوى المنخفض نوعًا من كارفاكروول ، المعروف بسميته العالية ، إلا أن ذرات الزعتر من منطقة السرايدي كانت فعالة جدًا وكشفت عن نشاط قوي جدًا ضد *V. inaequalis* والذي ربما يرجع إلى وجود مستويات عالية من أحادي. تربين (36.96٪) وتربينات أحادية مؤكسجة (55.51٪) مرتبطة بمكونات أخرى تعمل بشكل تآزري حتى عند الجرعات المنخفضة. بالإضافة إلى ذلك ، كشفت نفس EO عن قوة قوية مضادة للأوكسدة والتي ربما تكون بسبب المركبات الفينولية.

**الكلمات المفتاحية:** نموذج التوزيع المكاني للمرض ، *Venturia inaequalis* L ، EO من *Thymus vulgaris* ، التركيب الكيميائي ، النشاط المضاد للفطريات ، النشاط المضاد للأوكسدة.

## Résumé

Cette étude vise à réaliser d'une part une analyse de la structure spatiale de la maladie en conditions naturelles afin d'établir un patron de distribution spatiale des lésions causées par *Venturiainaequalisen* verger et d'évaluer, d'autre part, l'activité antifongique de l'huile essentielle de « *Thymus vulgaris* » sur la croissance de l'agent pathogène de la tavelure du pommier. L'analyse de la structure spatiale de la maladie a permis de mettre en évidence une structure agrégée indiquant la dispersion de la maladie à petite échelle (parcelle d'étude) des différents arbres. Cette structure laisse à penser que la dispersion de la tavelure au sein d'une telle parcelle serait limitée entre les différents agrégats du pommier d'où la nécessité de développer des stratégies de lutte comme la conception des systèmes raisonnés qui diminuent la pression des bio-gresseurs. De plus, la haute résolution spatiale augmente son potentiel de détection précoce des petites taches des maladies des plantes. Parallèlement, l'analyse chimique de cette HE a montré la présence de 30 composés qui représentent environ 99,07% du composant global qui est formé principalement par le linalol (36,41%). D'autres constituants sont modérément [para-Cymène (6,6%) ;  $\gamma$ -terpinène (6,11%)] et faiblement identifiés [carvacrol (0,75%)] avec le thymol complètement absent. L'évaluation de l'activité antifongique de l'HE de thym sur la croissance du mycélium de *Venturia inaequalis*, a été marquée par une diminution du nombre de filaments de la colonie fongique en fonction de doses croissantes où la concentration minimale inhibitrice est de 300 $\mu$ l/ml et la concentration minimale fongique est de 600 $\mu$ l/ml pour lesquelles aucune croissance n'est détectée. Malgré l'absence de thymol et la teneur assez faible en carvacrol, connus pour leur forte toxicité, les HE de thym de la région de Seraidi ont été très efficaces et ont révélé une activité très puissante contre *V. inaequalis* qui est probablement due à la présence de taux élevés de des monoterpènes (36,96%) et des monoterpènes oxygénés (55,51%) associés à d'autres composants qui agissent en synergie même à faible dose. En plus, cette même HE a révélé un fort pouvoir antioxydant qui est due probablement aux composés phénoliques.

**Mots clés :** Modèle de distribution spatiale de la maladie, *Venturia inaequalis* L, HE de *Thymus vulgaris*, composition chimique, Activité antifongique, activité antioxydante.

## Abstract

This study aims to carry out on the one hand an analysis of the spatial structure of the disease in natural conditions in order to establish a pattern of spatial distribution of the lesions caused by *Venturia inaequalis* in orchards and to evaluate, on the other hand, the antifungal activity of 'Thymus vulgaris' essential oil on growth of apple scab pathogen. The analysis of the spatial structure of the disease made it possible to highlight an aggregated structure indicating the dispersion of the disease on a small scale (study plot) of the different trees. This structure suggests that the dispersion of scab within such a plot would be limited between the different aggregates of the apple tree, hence the need to develop control strategies such as the design of reasoned systems that reduce the pressure of bio-aggressors. In addition, the high spatial resolution increases its potential for early detection of small spots of plant diseases. At the same time, chemical analysis of this EO showed the presence of 30 compounds which represent about 99.07% of the overall component which is formed principally by linalool (36.41%). Other constituents are identified moderately [para-Cymene (6.6%);  $\gamma$ -terpinene (6.11%)] and lowly [carvacrol (0.75%)] with thymol completely absent. The evaluation of antifungal activity of thyme EO on the growth of *Venturia inaequalis* mycelium, was marked by decreasing number of filaments of the fungal colony depending on increasing doses where the minimum inhibitory concentration is 300  $\mu$ l/ml and the minimum fungicidal concentration is 600  $\mu$ l/ml for which no growth is detected. In spite of the absence of thymol and the rather low content of carvacrol, known for their high toxicity, thyme EO from the Serradire region was very effective and revealed a very powerful activity against *V. inaequalis* which is probably due to the presence of high levels of monoterpenes (36.96%) and oxygenated monoterpenes (55.51%) associated with other components which work in synergy even at low doses. In addition, this same EO revealed a strong antioxidant power which is probably due to phenolic compounds.

**Keywords:** Spatial distribution pattern of disease, *Venturia inaequalis* L, *Thymus vulgaris* HE, chemical composition, antifungal activity, antioxidant activity.

## Liste des figures

Titre	Page
<b>Figure 1:</b> Importance de la production du pommier en tonne dans le monde en 2007 et en2018	<b>8</b>
<b>Figure 2:</b> Importance de la culture du pommier en Algérie en 2007 et 2018	<b>9</b>
<b>Figure 3:</b> Superficiés de la culture de pommier dans la Wilaya d’El-Tarf	<b>10</b>
<b>Figure 4:</b> Les stades repères de pommier décrits par Fleckinger	<b>13</b>
<b>Figure 5 :</b> La fleur du pommier	<b>14</b>
<b>Figure 6 :</b> Stades de floraison et de fructification	<b>15</b>
<b>Figure 7:</b> La variété « Golden Delicious	<b>16</b>
<b>Figure 8:</b> Pommes de variété Hanna	<b>17</b>
<b>Figure 9:</b> Pommes de variété Royal Gala	<b>18</b>
<b>Figure10 :</b> Périthèce observé sous microscope	<b>29</b>
<b>Figure 11:</b> Asques et Ascospores de <i>Venturia inaequalis</i>	<b>29</b>
<b>Figure 12 :</b> Conidies observées sous microscope(x 100)	<b>29</b>
<b>Figure 13 :</b> Symptômes sur bois	<b>29</b>
<b>Figure 14.</b> Symptômes de tavelure sur feuilles	<b>31</b>
<b>Figure 15 :</b> Symptômes sur fruits	<b>32</b>
<b>Figure 16 :</b> Symptômes de tavelure de conservation sur fruits	<b>32</b>
<b>Figure 17 :</b> Le cycle de <i>Venturia inaequalis</i>	<b>33</b>
<b>Figure 18 :</b> Carte géographique des régions de récolte de l’espèce <i>ThymusVulgaris</i>	<b>51</b>
<b>Figure 19 :</b> Aspect morphologiques du <i>Thymus</i>	<b>53</b>
<b>Figure 20 :</b> Trichomes glandulaires sur le côté adaxial et abaxiald’une feuille de thym, composés des cellules sécrétoires et d’une cavitéde stockage.	<b>53</b>
<b>Figure 21 :</b> localisation géographique de la zone d’étude	<b>65</b>
<b>Figure 22:</b> Vue générale du verger de pommier	<b>68</b>
<b>Figure 23 :</b> Schéma Du Dispositif expérimental	<b>69</b>
<b>Figure 24 :</b> Les infestations observées sur le verger du pommier	<b>70</b>
<b>Figure 25:</b> Schéma de l’échantillonnage au niveau du verger de pommier	<b>71</b>
<b>Figure 26 :</b> Procédure de confirmation opérationnelle du krigage	<b>75</b>
<b>Figure 27.</b> Illustrations des structures spécifiques régulière,aléatoire et agrégée	<b>76</b>
<b>Figure 28 :</b> Voisinage IDW pour le point sélectionné	<b>77</b>
<b>Figure 29 :</b> La Matière sèche.	<b>79</b>

<b>Figure 30</b> : Dispositif de l'hydro distillation	<b>80</b>
<b>Figure 31</b> : Identification de l'agent pathogène de la tavelure du pommier (Repiquage, incubation et observation microscopique)	<b>82</b>
<b>Figure 32</b> : Evaluation de l'activité antifongique en milieu solide	<b>84</b>
<b>Figure 33</b> : Evaluation de l'activité antifongique en milieu liquide (CMI et CMF)	<b>85</b>
<b>Figure 34</b> : Développement primaire de la tavelure sur les jeunes pousses en conditions deverger, Période d'infection légère, période d'infection Modérée et période d'infection sévère	<b>88</b>
<b>Figure 35</b> : Cartes de Krigeage pour la distribution spatiale du nombre moyen de lésions par feuille par mois durant la période de la contamination primaire de la Saison(2017/2018)	<b>93</b>
<b>Figure 36</b> : Cartes de Krigeage pour la distribution spatiale du nombre moyen de lésions par feuille par mois durant la période de la contamination primaire de la Saison (2019)	<b>95</b>
<b>Figure 37</b> : Cinétique d'extraction de l'huile du Thym	<b>99</b>
<b>Figure 38</b> : Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> par CPG	<b>102</b>
<b>Figure 39</b> : Observation macroscopique des colonies de <i>V. inaequalis</i> issues de fragments malades (A), culture sur PDA de 15 jours de <i>V. inaequalis</i> à plusieurs <i>morphotypes</i> ; <i>noir-grisâtre</i> , <i>blanc</i> , <i>Orange</i>	<b>103</b>
<b>Figure 40</b> : Observation microscopique de <i>V. inaequalis</i>	<b>104</b>
<b>Figure 41</b> : Filaments <i>Venturia inaequalis</i> (GRX40)	<b>104</b>
<b>Figure 42</b> : L'effet d'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> sur la croissance radiale de <i>Venturi inaequalis</i>	<b>105</b>
<b>Figure 43</b> : Effets de HE de <i>Thymus vulgaris</i> sur le nombre de filaments (a) et le diamètre des colonies (b) de l'agent pathogène de la tavelure du pommier « <i>Venturia inaequalis</i> »	<b>106</b>
<b>Figure 44</b> : Effet antioxydant de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> )	<b>108</b>
<b>Figure 45</b> : Pouvoir réducteur de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	<b>109</b>

## Liste des tableaux

Titre	Page
<b>Tableau 1</b> : Classification botanique du pommier selon	<b>11</b>
<b>Tableau 2</b> : Principaux ravageurs du pommier.	<b>25</b>
<b>Tableau 3</b> : Principales maladies du pommier	<b>26</b>
<b>Tableau 4</b> : Classification de l'agent pathogène	<b>27</b>
<b>Tableau 5</b> :Classification taxonomique de <i>Thymus vulgaris</i>	<b>54</b>
<b>Tableau 6</b> : Composition chimique de l'huile essentielle de thym selon lapharmacopée européenne	<b>56</b>
<b>Tableau 7</b> : Teneur en polyphénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du <i>Thymus vulgaris</i>	<b>59</b>
<b>Tableau 8</b> : Les températures (min, max, moy) de la wilaya d'El Tarf allant de jan à juin des deux années 2018 et 2019	<b>65</b>
<b>Tableau 9</b> : Valeurs moyennes des précipitations mensuelles (en mm) durant la période allant de janvier à juin des deux années 2018 et 2019	<b>66</b>
<b>Tableau 10</b> : Humidité moyenne (en %) de jan 2018 à juin 2019	<b>66</b>
<b>Tableau 11.</b> Principaux composés de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> détectés par CPG.	<b>101</b>
<b>Tableau 12</b> : l'effet de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> sur le nombre de filaments de la tavelure <i>Venturia inaequalis</i>	
<b>Tableau 13</b> : CMI et CMF de l'HE de <i>Thymus vulgaris</i> sur l'agent pathogène de la tavelure ( <i>Venturia inaequalis</i> ) du pommier	<b>107</b>
<b>Tableau 14</b> : Activité anti-radicalaire de l'HE de <i>Thymus vulgaris</i>	<b>109</b>
<b>Tableau 15</b> :L'activité réductrice de <i>Thymus vulgaris</i>	<b>110</b>

## Liste des abréviations

**AFNOR** : la norme de l'Association Française de Normalisation

**CMF** : concentration minimales fongicide

**CMI** : concentration minimale inhibitrice

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse

**CRAPC** : Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico – Chimique

**dC** = Diamètre de colonies dans les boîtes « témoins positifs »

**dE**= Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante

**DPPH** : Diphenylpicrylhydrazine

**DPPH+** : 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl

**EA** : Efficacité antiradicalaire

**FAO** : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

**HE** : Huile essentielle

**I%** : Pourcentage d'inhibition

**I'(%)** = Taux d'inhibition des moisissures exprimé en pourcentage

**IC50**: Concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50%.

**ITCMI** :Institut National des cultures maraichères et industrielle

**INPV** : Institut national de la protection des végétaux

**µg** : Microgramme

**PDA** : Pomme de terre-dextrose-agar

**R•** : Radical libre

**RH** : Antioxydant

**RHE** : Rendement en Huile Essentielle

**SRPV** : Station régionale de la protection des végétaux

**TEC50** : Temps d'équilibre avec une concentration d'antioxydant

**µ EqQ/g** : microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait

**EA** : extrait aqueux

**EM** : extrait méthanolique

**Mg eq AG/g** : milligramme d'équivalent d'acide gallique

**mg Eq C/g** : milligramme d'équivalent par gramme d'extrait

# **Introduction générale**

## **Introduction générale**

Depuis très longtemps, l'homme a cherché à comprendre l'origine des maladies des plantes cultivées afin de mieux les éviter ou les combattre. En effet les maladies des plantes sont aussi vieilles que l'agriculture qui été à l'origine de la création des conditions favorables à l'installation des maladies des plantes cultivées et ce en concentrant des populations de plantes sur des surfaces limitées et en cultivant les mêmes plantes successivement. En effet celles-ci sont à l'origine des pertes de rendement qui entraîne des pertes économiques, voire des famines dans les cas les plus drastiques (**Xhaard ; 2011**). Les pertes mondiales causées par les maladies et les ravageurs des cultures avant et après récolte sont estimées à plusieurs milliards de dollars en 1999; soit 30 % en moyenne de la production agricole (**Silvy, 2005**).

Le pommier constitue dans la plupart des pays de monde la principale essence fruitière après les agrumes et les bananes, tant par le nombre d'arbres cultivés que par l'importance sociale et économique de sa culture avec 70 million de tonnes chaque année dans la production mondiale. Les pays les plus producteurs de pommes sont la Chine avec un potentiel supérieur à 30 million de tonnes et les pays Européens avec environ 9 à 10 million de tonnes (**FAO,2017**). L'Algérie, comme les autres pays du monde, sa part du pommier avec une superficie importante, et un rendement totale d'environ 74.4 qtx / ha (**FAO 2001**). Il est présent un peu partout dans le territoire national. (**Haffaf et Merzougui ; 2014**) Depuis le lancement du programme National du Développement Agricole (PNDA) les superficies plantées en pommier en Algérie ont connu une augmentation considérable, elles sont passées de 28 658 ha en 2006 à 41 011 ha en 2015. Toutefois, les rendements restent toujours faibles et irréguliers, elles sont de l'ordre de 60 à 100 qx/ha en moyenne (**DSA 2016**) par rapport aux normes européennes et par conséquent n'arrivent pas encore à répondre à la demande du consommateur.

Les arbres fruitiers forment comme toute espèce végétale un milieu favorable à la propagation des ravageurs et maladies infectieuses (**Belhassaine, 2014**). Le pommier est l'hôte de nombreux parasites nécessitant d'être contrôlés pour permettre une production commerciale correcte. Les différentes régions de production présentent des conditions climatiques favorables au développement de l'agent pathogène de la tavelure (*Venturia inaequalis*) qui font de cette maladie la principale source des pertes économiques en verger.

A l'échelle mondiale toutes les variétés Cultivées (*Malus domestica*) sont sensibles à la tavelure. Elles doivent donc subir des traitements phytosanitaires fréquents pour atteindre une qualité commerciale satisfaisante. Ajoutons que *V. inaequalis* développe des résistances à certains fongicides. Un des défis majeurs à relever en arboriculture est de baisser considérablement le nombre d'applications des fongicides. Réduire le nombre de traitements phytosanitaires en vergers commerciaux permettrait à la fois de baisser le cout de production, et de diminuer les impacts négatifs des fongicides sur l'environnement et la santé humaine. La lutte génétique représente une des voies privilégiées pour y parvenir, sous réserve de pouvoir proposer des variétés résistantes dont l'efficacité se maintienne dans le temps et l'espace.

L'enseignement de la phytopathologie s'articule autour du triangle de la maladie, défini par l'interaction entre le **bioagresseur**, **l'état de la plante hôte**, et **l'environnement**. Cette approche synthétique est évidemment réductrice : l'environnement regroupe des aspects extrêmement variés, nous distinguerons en particulier ceux qui touchent à l'environnement de la culture (sol, végétaux à proximité, etc.) et le climat. Si la plante est à un stade sensible, si le bioagresseur est présent dans l'environnement de la culture ou sur la culture, et si le climat est favorable, la maladie va pouvoir se développer.

Il y a 50 ans de cela, l'agriculteur pour décider de l'opportunité d'un traitement, disposait de peu d'information :

- Une estimation de la maladie sur sa parcelle : absence, présence, un peu, beaucoup.
- Une connaissance empirique de sa parcelle : bas fond, haies, type de sol, etc.
- Une évaluation des conditions climatiques et des prévisions, très aléatoire et à très court terme (un « temps à mildiou », par exemple).

Cependant, l'extension de ces spéculations a permis l'installation de certains ravageurs et maladies spécifiques, diminuant ainsi les rendements et qualités des fruits produits, notamment les maladies cryptogamiques.

La tavelure est la maladie du pommier la plus importante économiquement ; elle est rencontrée partout où le pommier est cultivé tout en étant moins présente dans les régions semi-arides (MacHardy, 1996). Les attaques les plus sévères sont observées lorsque le climat est humide et frais durant la saison printanière. De nombreux facteurs influencent le niveau de développement de la maladie : l'état sanitaire du verger, sa topographie, la sensibilité des cultivars, la fréquence des périodes d'infection, ... .Les pertes économiques résultent

principalement des infections sur fruits, détériorant leur aspect visuel et les rendant ainsi impropres à la commercialisation bien que potentiellement consommables puisque le champignon ne produit pas de toxines (**MacHardy et al., 2001**).

Plus indirectement, des défoliations répétées provoquées par la tavelure peuvent diminuer la vigueur de l'arbre ainsi que son rendement et sa résistance aux froids hivernaux. L'impact économique de la tavelure est surtout lié au fait qu'aucun symptôme n'est toléré dans les circuits de distribution des pays occidentaux (**Carisse, 2002**).

La protection des cultures contre les organismes nuisibles n'a jamais concerné autant de monde. Autrefois c'était une préoccupation des agriculteurs et des acteurs des filières agricoles. Depuis une vingtaine d'années

elle préoccupe l'ensemble de la société. La mise en exergue par les médias des effets non intentionnels des pesticides en est la cause. La question de l'optimisation et de la réduction des applications de pesticides est donc un enjeu de société aujourd'hui. (**Christophe 2018**)

La connaissance des maladies, concernant leurs conditions de développement et de dissémination (épidémiologie) permet de rechercher de nouvelles méthodes de lutte et de mieux les positionner dans le temps. Il est important de recourir à des méthodes, comme la réduction de la pression phytosanitaire sur les cultures, permettant de réduire l'usage des pesticides pour lutter contre les ravageurs (**La vigne et al., 2013**) ainsi que la recherche de molécules nouvelles en prenant en compte d'autres critères que l'efficacité. En effet, la connaissance de la distribution spatiale de la maladie, permet d'économiser dans l'utilisation des traitements réduisant ainsi les dépenses pour l'agriculteur et l'accumulation des produits chimiques dans notre environnement.

En effet, la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles antioxydantes et antifongiques pouvant constituer une alternative à ces produits. Parmi ces substances naturelles figurent les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques. L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques y pousse spontanément. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années. A cet effet, on s'est intéressé à l'une des espèces de la famille des lamiacées : le thym est utilisé comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antimicrobien et antioxydant. C'est dans ce contexte où se situe notre travail qui a pour

objectifs de réaliser dans un premier temps une analyse de la structure spatiale de la maladie en conditions naturelles pour mettre en évidence sa nature indiquant ainsi la dispersion cette dernière à petite échelle et d'évaluer l'influence des facteurs environnementaux sur l'invasion du pathogène qui nous permettront de développer un modèle statistique spatio-temporel simulant l'invasion du champignon dans un paysage hétérogène. Autrement dit, développer un plan d'échantillonnage des lésions de tavelure afin de permettre de prendre la décision de poursuivre ou de cesser les traitements fongiques avant la période estivale qui se résume en deux étapes :

- Étude de l'hétérogénéité spatiale des lésions causées par *V. inaequalis* en verger Commercial ayant différentes intensités de tavelure.
- Établir le patron de distribution spatiale des lésions causées par *V. inaequalis* en verger commercial ayant différentes intensités de tavelure.

Dans un deuxième temps, évaluer l'activité antifongique de l'huile essentielle d'une plante aromatique et médicinale « *Thymus vulgaris* » sur la croissance de l'agent pathogène de la tavelure du pommier « *Venturiainaequalis* ».

Cette étude rentre dans le cadre de la gestion intégrée qui est une solution alternative à l'utilisation des produits chimiques contre l'agent pathogène de la tavelure du pommier.

Les résultats des travaux de la thèse sont consignés dans un mémoire de 117 pages comportant trois parties distinctes: La première partie est consacrée à l'état de l'art. Après une introduction assez conséquente sur la problématique, nous avons entamé le premier volet consacré à la plante hôte « le pommier » où nous avons défini la biologie de la pomme, son importance économique en Algérie et dans le monde, ses variétés et les maladies les plus fréquentes. Un deuxième volet révolu à la tavelure du pommier dont l'agent pathogène « *Venturia inaequalis* » ou nous avons mis en relief les informations relatives à la thématique en étayant le cycle de développement du pathogène, le mode de contamination, propagation et enfin traitement. Un troisième volet spécifique à l'utilisation des biocides dans le cadre de la gestion intégrée. Dans notre expérimentation nous nous sommes focalisés sur l'utilisation des huiles essentielles comme solution alternative aux pesticides afin de minimiser le risque de contamination. Enfin, un dernier volet sur le thym ou a étayé l'ensemble des informations nécessaires pour mieux cerner notre thématique (biologie, classification, situation en Algérie et dans le monde, chemotypes, compositions chimiques des HE et enfin leurs activités biologiques.

**Une deuxième partie** consacrée aux différentes méthodes utilisées lors de notre étude.

**Une troisième partie**, concerne l'ensemble des résultats obtenus et leur discussion quant à la dispersion spatiale de la tavelure du pommier après échantillonnage en plein champ, sa structure et les cartes de krigeage (étude géostatistique) qui explique l'évolution de la maladie et comment y remédier ainsi que l'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle du thym pour mettre en évidence son intérêt dans la gestion intégrée.

Enfin , Une conclusion générale et perspective de recherche d'avenir qui vient clôturé ce tapuscrit ou nous avons lié l'ensemble des résultats obtenus aux objectifs de la thèse afin de faire ressortir les points saillants.

Sont également répertoriées les listes de 45 figures et 15 tableaux présentés dans le tapuscrit.

**Partie 1:**  
**Etat de l'art**

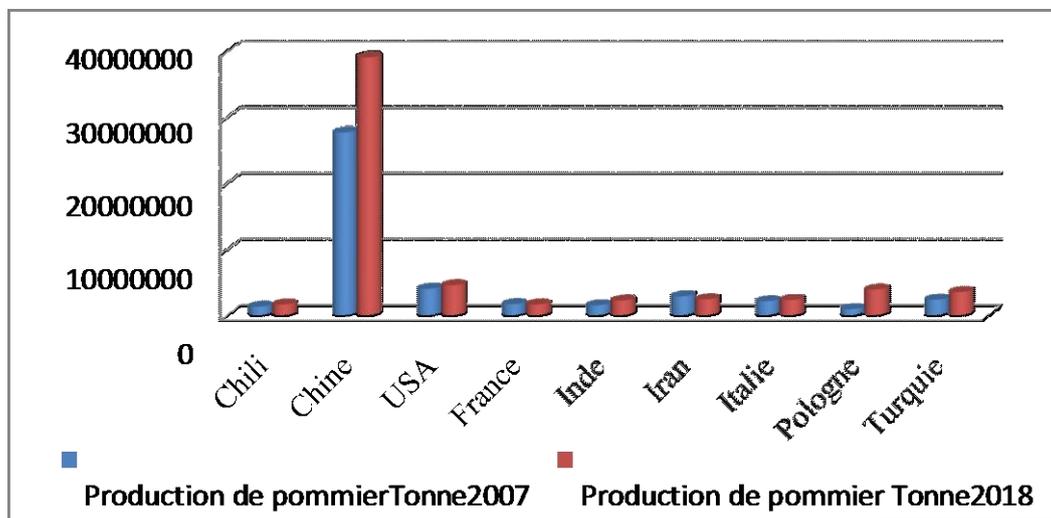
## I. Généralités sur le Pommier

### 1. Importance économique

#### 1.1. Dans le monde

Dans le monde, il existe environ 6000 variétés de pommier cultivées, dont 10 constituent 90 % de la production en Europe (Eurofel, 2006). La pomme est un produit important sur le marché mondial avec une production de 87,2 millions de tonnes (FAO, 2019). En effet, elle est le quatrième fruit le plus consommé après les agrumes, la banane et le raisin (Hazem D ; 2010). D'après Guerin et Malagie (1994) cités par Rat-Morris (1994) et par Guettala (2009), le principal cultivar produit dans le monde est "Golden delicious".

Selon les estimations de la FAO (2019), la Chine est devenue le premier pays producteur de pommes avec environ 42.6 millions de tonnes, viennent ensuite les USA avec 4.1 millions de tonnes, la Turquie avec 3.99 millions de tonnes (figure 1). Au Maghreb, le Maroc occupe la première place tant pour la production que le rendement qui reste supérieur à 100 qx / ha et conserve cette place depuis une dizaine d'années (Oukabli, 2004).



**Figure 1:** Importance de la production du pommier en tonne dans le monde en 2007 et en 2018 (F.A.O, 2019)

## 1.2. En Algérie

Les zones de culture du pommier en Algérie, sont très étendues allant des zones de plaines d'intérieures vers les pieds monts de montagnes en atteignant les limites des oasis du sud avec des exigences climatiques variables selon les variétés (ITAFV, 2015).

En Algérie, la culture du pommier est en progression durant cette dernière décennie. A partir de l'année 2011, la superficie des vergers a évolué de 70%, ce qui correspond à une augmentation annuelle de 13% avec une production de 35% (FAO, 2010). En 2014, la culture de pommier occupe une superficie de 46 830 hectares dont 40 418 hectares en rapport avec une production de 4 628 154 tonnes (DSA, 2015).

La superficie occupée par le pommier en Algérie a presque triplé pendant les dix dernières années, avec environ 124 969 ha et un rendement de 12 4969 Hg/Ha en 2018. Ces augmentations ont permis de tripler la production totale du pays atteignant 487 808 tonnes par rapport à celle obtenue en 2007 (FAO., 2019).

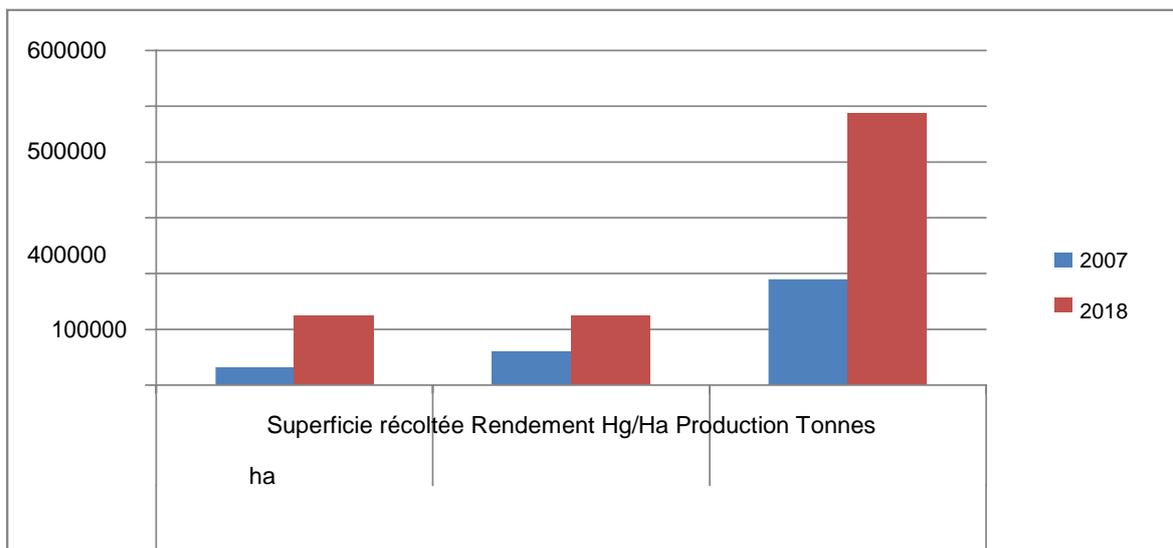


Figure 2: Importance de la culture du pommier en Algérie en 2007 et 2018 (F.A.O, 2019)

## 1.3. Dans la wilaya d'El Tarf

Suite au lancement du Programme National du Développement de l'Agriculture (P.N.D.A, 2001) dont l'objectif était de promouvoir l'agriculture engénérale et en particulier l'extension de l'arboriculture fruitière. La production de pommes concerne de nombreuses

régions algériennes, mais la région d'EL-Tarf est l'une des principales zones productrices dans la région Est(Ferah, 2009). La figure ci-dessous montre les zones potentielles en culture de pommier dans la wilaya d'El-Tarf. La commune de Besbes est classée en première position avec une superficie de 88 ha, suivi de Dréan en deuxième position avec 38 ha. La commune de Bouteldja est classée en troisième position avec une superficie de 27 ha.

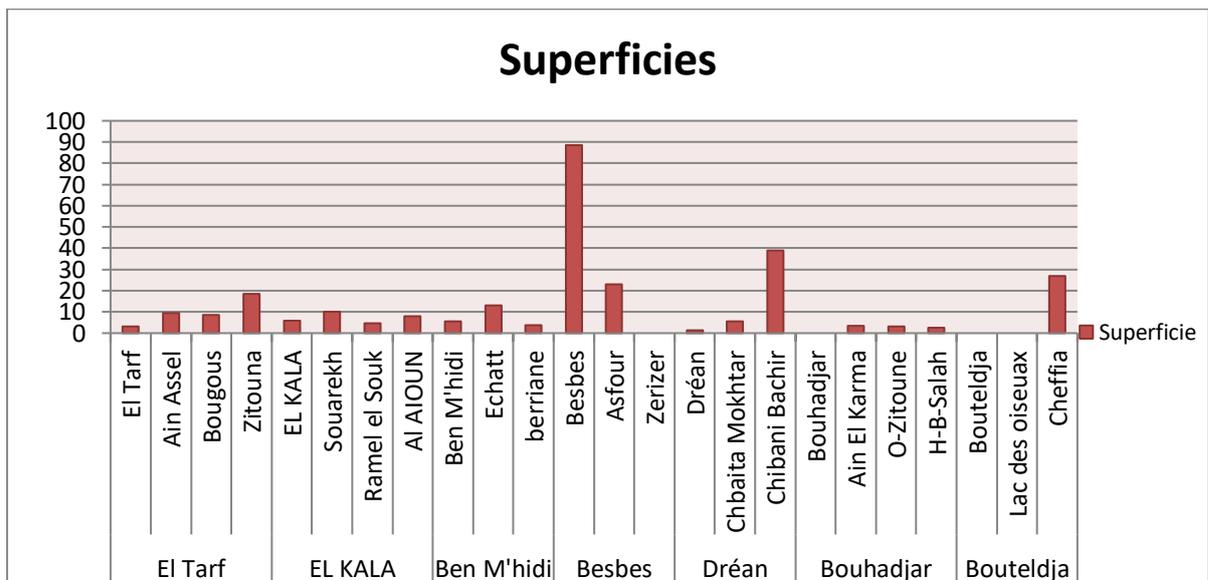


Figure 3: Superficies de la culture de pommier dans la Wilaya d'El-Tarf (Service Statistique, DSA El-Tarf 2017)

## 2. Caractéristiques générales du pommier

- Historique et origine

Le pommier est une espèce fruitière cultivée sur tous les continents du monde. Des études paléontologiques ont révélées la présence du genre *Malus* à l'ère tertiaire. Il serait originaire du Caucase et d'Asie Mineure, Par la suite, le pommier domestiqué a été introduit en Europe et en Afrique du Nord par les Romains et les Grecs (Giraud et al., 2014).

Au Moyen âge, le pommier est déjà l'arbre fruitier le plus répandu en France et en Angleterre, particulièrement en Normandie, où seront embarqués les premiers plants à destination de l'Acadie et de la Nouvelle- France (Martin, 2008). Deux types génétiques sont certainement à l'origine de toutes nos variétés « *Malus communis* L » commune dans toute l'Europe et la Russie et « *Malus pumila* M » sa patrie est le Caucase, le proche- Orient et la Russie méridionale (Bretaudeau et Faure,1991).

## 2.1. Classification botanique

Le pommier appartient à la famille des Rosaceae. Pendant longtemps, les botanistes ont considéré que le pommier constituait le sous genre *Malus* au sein du genre *Pyrus*. L'appellation du pommier était alors *Pyrus malus*. Le pommier est actuellement classé dans le genre *Malus* qui selon **Chevreau et Morisot 1985** distinct du genre *Pyrus*. D'après **Redher 1956** ; le genre *Malus* comprend 25 à 30 espèces et plusieurs sous- espèces. Selon **Delangheet al., 1983 et Lafonet al., 1996**, sa classification est la suivante :

**Tableau 1** : Classification botanique du pommier selon **Delangheet al., 1983**

<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous Embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous classe</b>	Dialypétales
<b>Ordre</b>	Rosales
<b>Famille</b>	Rosacées
<b>Sous Famille</b>	Maloïdeae
<b>Tribu</b>	Pyreae
<b>Genre</b>	<i>Malus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Malus domestica</i> (BORKH) <i>Malus pumila</i> (LAMARCK) <i>Malus communis</i>

## 2.2. Caractères botaniques

Selon **Bretauudeau 1978**, le pommier est un arbre buissonnant de vigueur moyenne, à port arrondi, il atteint 6 à 8 mètres et même 10 mètres de hauteur avec des branches divergentes, retombantes avec l'âge. Les rameaux du pommier sont à écorce lisse, brune, à lenticelles plus ou moins nombreuses suivant les variétés, devenant rugueuses sur le vieuxbois. Ils portent des bourgeons qui peuvent être végétatifs ou inflorescentiels. Sur ces rameaux, les feuilles

sont caduques, alternes, simples, entières et dentées sur les bords, velues dans leur jeunesse, à pétiole plus court et accompagné à sa base de deux stipules foliacées (**Bretonneau, 1975 ; Massonnet, 2004**).

Les fleurs sont regroupées en corymbes de 8 à 11 fleurs portées à l'extrémité de rameaux courtes, nommées brindilles couronnées, ou directement sur les brindilles au niveau des boutons axillaires (**Coutanceau, 1962**). Elles sont hermaphrodites et la reproduction de l'espèce est assurée avec une allogamie prédominante (**Boré et Fleckinger, 1997**). La floraison est préférentiellement croisée (**Gautier, 1993 ; Gallais et Bannerot, 1995**).

Le principal agent pollinisateur est l'abeille domestique (**Massonnet, 2004**). L'ovaire de la fleur et les tissus soudés qui l'environnent (bases de filets, des pétales et des sépales) se développent pour former un fruit charnu complexe, de couleur et de goût variable suivant les variétés (**Massonnet, 2004**).

Selon **Bretonneau 1978**, le fruit est une drupe, à mésocarpe charnu entourant 5 loges cartilagineuses, la chaire croquante de teinte blanchâtre, jaune ou rose, les loges contenant le pépin.

### **2.3. Cycle annuel du pommier**

Le pommier comme toute plante pérenne des régions tempérées, passe par deux grandes périodes : le repos hivernal (la dormance) et la période active de végétation. Il nécessite une longue période de repos végétatif pour satisfaire ses besoins en froid qui sont de l'ordre de 800 à 1600 heures inférieures à 7,2°C.

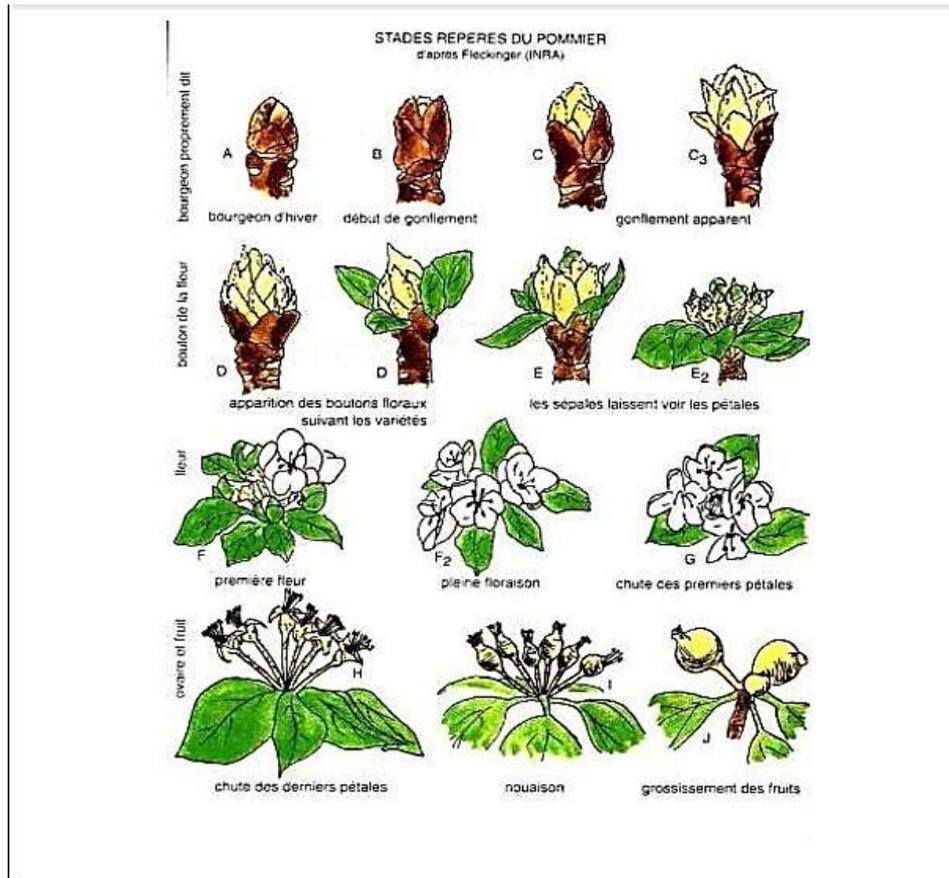


Figure 4: Les stades repères de pommier décrits par Fleckinger (Charton, 1992)

### 2.3.1. Repos hivernal (la dormance)

Selon **Gautier (1987)**, C'est la période qui commence de la chute des feuilles en automne et prend fin au débourrement à la fin de l'hiver. Une période d'inactivité apparente. L'arbre n'est pas toute fois au repos total les racines continuent de croître, les ébauches florales prennent forme dans les bourgeons, les réserves migrent vers les ramifications. A l'automne, la diminution progressive des températures permet aux bourgeons d'entrer en phase d'endormance (**Lasko, 1994 cité par Massonnet, 2004**). A la fin de l'hiver, lorsque les températures deviennent suffisamment élevées on assiste à la levée de dormance (**Gautier, 1987**). Les facteurs les plus efficaces pour lever la dormance sont: les températures froides, les jours longs, la succession d'une contrainte hydrique et diverses substances chimiques dont les régulateurs de croissance (comme les gibbérellines) (**Herter, 1992**).

### **2.3.2. Période active de végétation**

Cette période s'étale du débourrement à la chute des feuilles et durant laquelle l'arbre manifeste une activité intense : Allongement des pousses, floraison, grossissement des fruits, lignification du bois,...etc. (Gautier, 1987) (Figure 04).

### **2.3.3. Biologie florale**

#### **a. Induction et la différenciation florale**

Les bourgeons floraux sont formés au cours de l'année qui précède la floraison. Le début de la formation de la fleur fait souvent référence à une « induction ». Cette induction est suivie d'une différenciation d'organes en croissance, puis une différenciation primordiale des boutons floraux(Gautier, 1987).

#### **b. Fleur du pommier**

La figure suivante illustre que l'inflorescence du pommier est un corymbe à floraison centrifuge, la fleur type des rosacées possède cinq sépales, cinq pétales, vingt étamines à filets libres(Hancocket al, 2008; Jackson,2003)(figure 05).



**Figure 5** : La fleur du pommier

Les variétés de pommier appartiennent à deux groupes chromosomiques (Bangerth,2004)

- Les variétés diploïdes ( $2n=34$  chromosomes) : leur pollen et leurs ovules sont normalement constitués ; elles présentent une méiose régulière et un pouvoir germinatif du pollen élevé (90 à 95%).
- Les variétés triploïdes ( $2n=51$  chromosomes) : chez celles-ci, la constitution du pollen et des ovules est déséquilibrée, la méiose est irrégulière et le pouvoir germinatif du pollen est très faible (5 à 10%). Ces variétés ont tendance à donner des fruits ayant peu de pépins et qui chutent facilement. Dans la plupart des cas, les fleurs de pommier

sont autos incompatibles et il est nécessaire d'employer une autre variété comme pollinisateur.

#### **2.3.4. Fruit : Structure et Développement**

La pomme est un fruit charnu complexe, résultant du développement de l'ovaire de la fleur et des tissus soudés qui l'environnent (**Bangerth, 2004**). Après pollinisation et la fécondation d'un certain nombre d'ovules, qui donneront les graines, les parenchymes du jeune fruit entament un processus de division cellulaire dont la durée est de 3 à 4 semaines.



**Figure 6 : Stades de floraison et de fructification**

<http://media.gerbeaud.net/2010/pommier-fleurs.jpg>

Au-delà du premier mois après la fécondation, la croissance du mésocarpe résulte essentiellement du phénomène de grandissement cellulaire, quoique les cellules de l'hypoderme et de l'épiderme continuent à se diviser pendant 4 à 6 semaines (**Regard et Kelner, 1998**). Le grossissement des fruits est fortement dépendant des nutriments disponibles en provenance du feuillage assimilateur ; on conçoit donc aisément une compétition alimentaire par « partage de la ressource » (**Regnard et Kelner, 1998**).

A maturité, le fruit comprend donc une zone interne d'origine carpellaire (le cœur), entourée d'un mésocarpe épais (le cortex). Ce dernier, qui constituera 80% du volume final du fruit, est entouré de cinq à dix couches de cellules constituant l'hypoderme, et d'un épiderme fortement cutinisé et cireux.

- **Porte-greffes**

Le porte-greffe le plus utilisé est le MM 106. Il est d'une moyenne vigueur, s'adapte bien aux sols lourds et profonds, craint la sécheresse mais est très sensible au phytophthora, ce qui limite actuellement son utilisation. MM 109 est très vigoureux, convient bien aux sols légers bien drainés, résiste à la sécheresse, mais est très sensible à l'hydromorphie. M26 a une faible à moyenne vigueur, nécessite un sol bien drainé car sensible à l'hydromorphie. Certains porte-greffes(M II et MM111) sont actuellement peu utilisés à cause de la vigueur qu'ils confèrent à la variété. D'autres, des sélections du M 9 (le Pajam 1 Lancep, le Pajam 2 Cepiland, le M 9 NAKB et le M 9 EMLA) suscitent beaucoup d'intérêt à cause de leur effet nanifiant et de mise à fruit rapide. Ces porte-greffes ont été introduit récemment(Walali L. Skiredj A ; 2009).

Dans le Monde, les variétés cultivées dominantes sont les variétés unicolores jaune rouge et verte de type « Golden Delicious», « Delicious Rouges », « Granny Smith ». Mais les variétés bicolores de type, « Gala »,« Fuji », « Braeburn»,« Jonagold »et«Cripps Pink » sont de plus en plus appréciées (Orourke,2003).

## **2.4. Caractéristiques phénologiques et culturales de quelques variétés**

### **2.6.1. La variété « Golden Delicious**



**Figure 7:** La variété « Golden Delicious(Mohamdi et Khelid, 2017)

C'est une variété obtenue par semis de hasard, découverte en 1890 aux USA par A.H.Mullins (Figure 7). Ce n'est qu'en 1914 que P. Stark de Stark nurseries en Louisiane, après expertise, lui donna le nom de *Golden Delicious*. (ITAFV., 2015).\*

Selon **Mohhemedi et Khelid (2017)** les caractéristiques phénologiques et culturelles de cette variété sont comme suit:

- Débourrement : 2<sup>ème</sup> décade de Mars.
- Floraison : mois d'Avril.
- Maturité : 2<sup>ème</sup> décade de Septembre.
- Récolte : quelques jours avant la maturité (fruit jaunissant) mois de septembre jusqu'à la fin de novembre, selon la destination du produit (conservation/consommation direct).

La variété Golden Delicious est une variété moyennement résistante à la sécheresse. Ses Besoins en froid hivernal sont supérieurs ou égaux à 700 heures. C'est une variété sensible à la tavelure et moyennement résistante à l'oïdium.

### **2.6.2. La variété «Hanna»**

La variété « Hanna » (Figure 9), est une pomme de style « *Golden Delicious*», développée en Palestine. Elle est peu exigeante en froid et se développera même dans les climats où les températures plongent vers le gel pendant seulement 300 heures environ chaque hiver (**ITAFV,2015**).



**Figure 8:** Pommes de variété Hanna

**El bahi et al. (2017)**, citent les caractéristiques phénologiques et culturelles de cette variété comme suit :

- Débourrement: février.
- Floraison : 2<sup>ème</sup> décade du mois de mars.
- Besoins en froid hivernal : faibles moins de 650 heures.

- Maturité : de la 2<sup>ème</sup> décennie de mai au début de juin.
- Récolte: quelques jours avant la maturité (fruits jaunissant) jusqu'au début de Juillet et selon la destination du produit (Conservation / consommation directe).
- L'arbre est néanmoins sensible à la tavelure et aussi aux pucerons et moyennement résistant à la sécheresse.

### **2.6.3. La variété «Gala»**

Les caractéristiques phénologiques et culturales de cette variété sont comme suit :

- Floraison : blanche à blanc rosé intervient en avril.
- Besoins en froid hivernale : de 650 à 950 heures.
- C'est une variété assez tolérante vis-à-vis du pH élevé et au calcaire actif (**ROBIN *et al.*, 1966 ; cité par CHENAFFI, 2017**).
- Très sensible aux manques d'eau, préfère les sols limoneux, profonds, peu sensible à la tavelure et à l'oïdium.



**Figure 9:** Pommes de variété Royal Gala

## **3. Conduite des techniques de culture**

### **3.1. Techniques culturales**

Le pommier est une espèce extrêmement sensible aux erreurs de conduite, aux maladies et aux attaques des ravageurs (**Brahim., 2010**). La réussite de sa culture nécessite une maîtrise de toutes les opérations de l'itinéraire technique qui doivent être en adéquation avec le

matériel végétal choisi et les conditions du milieu. Densité de plantation et forme de conduite étant donné la dominance des variétés proposées qui ont une fructification de type «spur» et de type «Golden», et les problèmes posés par la conduite en axe central dans l'établissement de l'équilibre végétatif.

Le contrôle de la fructification et la maîtrise des caractères de l'arbre, le gobelet est le mode de conduite à adopter lorsque le niveau technique de l'arboriculteur est moyen. Les écartements qui se pratiquaient étaient de 5 x 5m (400 arbres/ha) et ont évolué au fil des années à la faveur d'une intensification pour atteindre 1000 à 1250 arbres par hectare (Okabli, 2004). Avec l'âge des arbres, des problèmes de chevauchement sur la ligne ont induit un dégarnissement des arbres lié à un faible éclaircissement.

Un développement correct des branches fruitières et des arbres nécessite l'adoption de densités permettant de respecter l'équilibre mis à fruit-vigueur. La maîtrise de la croissance des arbres par la réduction de la dominance apicale et en favorisant l'autonomie des couronnes peut être obtenue en adoptant des écartements de 5x3 m (666arbres/ha). Cet écartement correspond à une densité optimale dans un système à tendance intensive avec des possibilités de travailler mécaniquement les inter-lignes et de traiter les arbres aisément.

### **3.2. Irrigation**

Le pommier est une espèce exigeante en eau et ses besoins sont estimés à 6000-7000 m<sup>3</sup>/ha qui doivent être apportés (selon les régions) à partir du mois de mai jusqu'au mois d'octobre.

Le système d'irrigation doit être défini avant la plantation. Il peut être par ruissellement, submersion, aspersion ou goutte-à-goutte. L'apport d'eau doit se baser sur le bilan hydrique. Cette méthode consiste à maintenir un équilibre entre l'offre et la demande en eau. L'offre correspond à la contribution du sol, aux précipitations, aux irrigations et aux remontées capillaires. La demande correspond à l'évapotranspiration réelle (ETR) des arbres (et éventuellement de l'enherbement) auquel il faut ajouter les pertes par drainage et ruissellement. Les irrigations comblent la différence entre l'offre et la demande. Les remontées capillaires sont souvent négligées (Walali et Skiredj. ; 2009)..

### **3.3. Préparation du sol avant plantation**

Deux opérations sont importantes à réaliser: le profil pédologique et l'analyse du sol. Le profil pédologique jusqu'à 1 m de profondeur permet de déterminer la profondeur d'enracinement possible et du travail du sol adapté (défoncement, sous-solage etc...). L'analyse de la terre va permettre de raisonner la fertilisation tant au plan quantitatif que

qualitatif (tenir compte de la texture, des taux d'argile et de la matière organique, du pH et du calcaire actif (Walali et Skiredj. ; 2009).

### **3.4. Choix du système de plantation**

Il tient compte de la densité de plantation et de la forme des arbres. Celle-ci est fonction de la vigueur de l'association variété-porte-greffe, de la fertilité du sol et de l'ensoleillement du lieu. On distingue différents systèmes de plantation: les vergers extensifs (80 à 150 plants/ha), intensifs (1000 à 1500 plants/ha) et la haute densité (2500 plants/ha (Walali et Skiredj, 2009)

### **3.5. Fumure de fond**

Il faut profiter du labour ou du sous-solage pour incorporer au sol la fumure de fond: Fumier (50-60 T/ha), phosphate (300-400 U/ha) sous forme de superphosphate, Potasse (300-400 U/ha) sous forme de sulfate de potasse ou mieux de sulfate double de potasse et de magnésie, Magnésie (50-70 U/ha) sous forme de sulfate ou de carbonate et oligo-éléments (500 kg/ha) d'un engrais à base de mélange d'oligo-éléments (Zinc, Bore, Fer etc...)(Walali et Skiredj, 2009).

### **3.6. Choix du système de plantation**

Il tient compte de la densité de plantation et de la forme des arbres. Celle-ci est fonction de la vigueur de l'association variété-porte-greffe, de la fertilité du sol et de l'ensoleillement du lieu. On distingue différents systèmes de plantation: les vergers extensifs (80 à 150 plants/ha), intensifs (1000 à 1500 plants/ha) et la haute densité (2500 plants/ha) (Walali et Skiredj, 2009).

### **3.7. Choix des variétés**

Le choix doit porter sur les variétés pour lesquelles les débouchés sont assurés. Une certaine diversification des variétés est souhaitable aussi bien pour l'étalement des ventes sur le marché que pour les besoins de la pollinisation (Walali et Skiredj, 2009).

### **3.8. Fertilisation**

La fumure organique permet d'apporter, en plus d'une certaine quantité d'éléments fertilisants majeurs, des oligo-éléments indispensables à une croissance et à une fructification correcte et de qualité chez l'espèce. Le fumier contribue également à l'amélioration de la qualité du sol (structure et perméabilité).

Les quantités à apporter et la fréquence des apports dépendent du niveau de matière organique dans le sol (le sol est bien pourvu lorsqu'il renferme 3 à 4% de matière organique) et des disponibilités en fumier. Un apport de 10 à 20 t/ha/an peut être suffisant.

La fumure minérale est importante et les quantités d'engrais à apporter dépendent aussi de plusieurs facteurs et surtout de l'élément fertilisant, de l'âge des arbres, de la richesse du sol et du niveau escompté de rendement. Avec une irrigation à la raie, le phosphore et la potasse doivent être apportés en hiver (Décembre-Janvier) en un seul apport et enfouis dans le sol au niveau de la surface mouillée. L'azote est à fractionner également en période de croissance végétative active. Une estimation des apports peut être approchée par la méthode du bilan qui se base sur les analyses du sol. Pour un rendement moyen de 25t/ha on recommande 80 à 100 unités d'azote, à fractionner en plusieurs apports: débourrement floraison (20%), pleine croissance (60%) et après récolte (20%). Pour le phosphore, 20 à 40 unités à apporter de préférence avant le débourrement. Pour la potasse, 100 à 150 unités à apporter dès la nouaison pour permettre une bonne diffusion dans le sol. Pour les oligo-éléments, il est préférable de les appliquer par pulvérisation foliaire à faible concentration (0.5 kg/hl d'eau) (Oukabli, 2004).

#### ***4. Conduite de l'arbre fruitier en verger***

##### **4.1. Entretien du sol**

L'entretien du sol consiste à mettre en œuvre un ensemble de techniques visant à maintenir le sol en bon état après plantation, pour un bon fonctionnement des racines. Le sol peut être soit travaillé mécaniquement au niveau de la couche superficielle, soit désherbé chimiquement, soit recouvert d'un "mulch" ou paille. Toutes ces techniques visent à détruire les mauvaises herbes et réduire l'évapotranspiration. Dans la mesure où les ressources en eau sont excédentaires, la couverture du sol par un engrais vert temporaire ou permanent permet un enrichissement de ce sol en matière organique et une amélioration de la qualité des fruits. (Walali, 2009).

##### **4.2. La Taille**

La taille est une des opérations les plus importantes de l'itinéraire technique qui est difficile à décrire et qui nécessite une main d'œuvre spécialisée pour sa réalisation.

Après la plantation, et pour une forme de conduite en gobelet, le plan doit être rabattu à 50-60 cm pour former l'arbre sur 3 à 5 charpentières la deuxième année en éliminant les rameaux à

angle fermé ou trop ouverts. Les sous-charpentières sont choisies pour être à l'extérieur de la frondaison et réparties à des espaces réguliers sur la structure principale. La croissance excessive des sous mères dans la partie supérieure de la charpente doit être contrôlée afin de réduire le développement des rameaux de la partie basale et provoquer un certain déséquilibre de l'arbre (**Heuzet, 2005**).

La taille de fructification consiste à contrôler la fructification par un allongement régulier de la branche fructifère et par un élagage modéré lorsque la branche vieillit. Les branches fructifères doivent être positionnées à l'horizontale. Leur simplification et l'ablation des répétitions visent la répartition de la croissance sur les coursonnes en vue de les rendre autonome. Ces manipulations imposent à l'arbre des règles de croissance, de ramification et de répartition de la fructification parfois très éloignées de ses aptitudes naturelles (**Heuzet, 2005**).

L'évolution des modes de conduite doit passer nécessairement par une meilleure connaissance du comportement du cultivar, notamment sur l'organisation de la ramification autour du tronc, la distribution de la fructification dans la couronne de l'arbre et son évolution au cours du temps, ainsi que l'influence de la position du fruit sur sa qualité. La prise en compte de ces éléments a été le point de départ d'une évolution des modes de conduite depuis l'axe vertical dans les années 70 (**Lespinasse, 1980**) jusqu'au sol axe (**Lespinasse et Lauri, 1996 ; Steigmeyer, 1996**).

#### **4.3. La branche fructifère**

Les nouveaux concepts de conduite des arbres fruitiers développés à l'INRA à partir de la réflexion sur l'axe vertical (**Lespinasse 1987**) sont basés sur la notion de branche fructifère. Celle-ci est définie comme un ensemble ramifié dont l'axe principal est laissé en développement libre au cours de plusieurs années successives, elle est issue directement du tronc ou des charpentières. Dans tous les cas la branche fructifère constitue l'unité de travail dont l'arboriculteur va optimiser le positionnement dans l'arbre et contrôler le développement au fil des ans (**Lauri et Lespinasse, 1998**).

Pour établir un équilibre entre la croissance végétative et la fructification d'un arbre fruitier, la taille reste une étape indispensable de l'arboriculture car elle permet de maintenir la fructification des arbres au cours des années, en privilégiant le choix des bois porteurs et

l'aménagement de l'éclairage de la frondaison, et contribuant ainsi à un ajustement de la charge en bourgeons floraux(Lepinasse, 1987).

#### **4.4. Les modes de taille**

Les modes de taille se rapportent à la réalisation pratique de la taille, en particulier à l'ablation ou taille au sens strict du terme, celle-ci peut être effectuée durant le repos végétatif, c'est la taille d'hiver ou taille en sec. Ou encore pendant la période active de végétation, c'est la taille en vert.

##### **a. La taille d'hiver ou taille en sec**

Elle est réalisée en hiver sur des rameaux lignifiés, par suppression totale (élagage) des coursonnes et les ramifications supères, infères et surtout centrales. Les branches sélectionnées sont ensuite inclinées vers le bas pour favoriser la transformation de la zone apicale en rameau court, cette partie constituant la bourse terminale, perd sa dominance apicale. Les bourgeons latéraux ne sont plus inhibés ce qui va permettre à la croissance végétative et fructifère de se répartir sur l'ensemble de la branche fruitière en favorisant l'autonomie des organes fructifères latéraux. (Heuzet, 2005).

##### **b. La taille d'été ou taille en vert**

On englobe sous le nom de taille d'été les ablations de jeunes pousses ou de rameaux qui sont effectuées durant la période active de la végétation, ce qui induit des répercussions immédiates sur l'évolution des fruits en croissance et de la branche. La taille d'été favorise l'induction florale, et améliore la pénétration de la lumière à l'intérieur de la couronne ainsi que la qualité des fruits. En supprimant la dominance apicale pendant la période active de la végétation, la taille d'été stimule le départ des bourgeons axillaires, mais elle exerce globalement un effet dépressif sur la croissance de l'arbre (Gautier, 1978).

#### **4.5. Conduite centrifuge et extinctions**

L'aptitude naturelle de certaines variétés à avorter un certains nombres d'axillaires florifères, qu'on appelle phénomène d'extinction (Lauri et al., 1995), est à l'origine de la proposition « extinction manuelle » au printemps proposé par le groupe Mafcot (2000). En effet la relation établie sur Granny Smith, entre le retour à fruit et l'extinction a ouvert la possibilité de réaliser artificiellement ces extinctions pour accélérer l'équilibre de la branche fruitière et réguler la fructification, concept de conduite de la « branche fruitière longue » ou branche tube, qui favorise la fructification sur bois jeune. Un autre concept d'extinction appelé « la conduite centrifuge » (Mafcot,2000) est récemment apparue. Cette technique

offre la possibilité de sélectionner et de mieux répartir les points de fructification ce qui permet une disposition spatiale des fruits (couronne), favorisant le calibre, la coloration et l'induction florale pour l'année suivante(Walali, 2009).

#### **4.6.Fumure d'entretien**

Elle doit être basée sur l'analyse du sol qui doit être répétée tous les trois ans environ, au même endroit dans les mêmes conditions.

A titre indicatif et pour des arbres en pleine production, il faut apporter:

- 20 à 25 T/ha de fumier bien décomposé.
- 120 unités/ha d'azote fractionné en 1/3 sous forme d'ammonitrate au stade B (débourrement), 1/3 sous forme de nitrate au stade E-F (floraison) et 1/3 sous forme de nitrate au stade G-H (grossissement du fruit).
- 50-100 unités/ha de P205 sous forme de superphosphate en hiver, en localisation.

L'apport du potassium dépend de la texture du sol, en particulier de sa teneur en argile. Il est préférable de l'apporter sous forme de sulfate ou de sulfate et de magnésie. En sol sableux, l'apport est de 50-75 U/ha de K20. En sol limoneux: 75-100 U/ha. En sol argileux: 150 U/ha. La magnésie est apportée sous forme de sulfate de magnésie à raison de 20-30 U/ha pour compenser les pertes. En cas de carence, apporter 30-50 U/ha. Les autres éléments: Zn, Cu, Mn, Fe, B, peuvent être apportés sous forme de pulvérisations foliaires(Okabli, 2004).

### **5. Ravageurs et maladies du pommier**

Le verger du pommier subit des agressions de diverses natures, il en résulte des altérations d'organes et des pertes de rendements.

En luttant contre les ennemis des arbres, l'arboriculteur cherche avant tout à préserver sa récolte en quantité et en qualité et à maintenir son capital verger en bon état de production (Tableaux 4 et 5) (Gautier, 1987 ; Brahim, 2011).

## **II. Tavelure du Pommier**

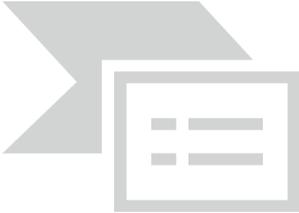
### **1. Importance économique**

La tavelure est la maladie du pommier la plus importante économiquement; elle est rencontrée partout où le pommier est cultivé tout en étant moins présente dans les régions semi-arides (MacHardy, 1996). Les attaques les plus sévères sont observées lorsque le climat est humide et frais durant la saison printanière. De nombreux facteurs influencent le niveau de

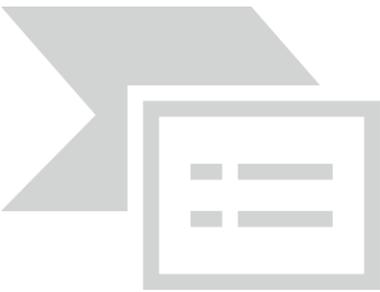
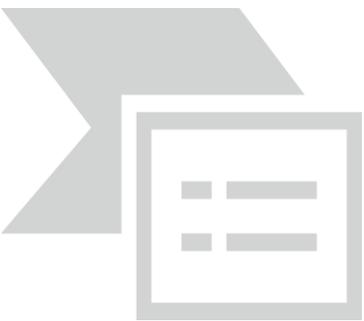
développement de la maladie : l'état sanitaire du verger, sa topographie, la sensibilité des cultivars, la fréquence des périodes d'infection, Les pertes économiques résultent principalement des infections sur fruits, détériorant leur aspect visuel et les rendant ainsi impropres à la commercialisation bien que potentiellement consommables puisque le champignon ne produit pas de toxines. Comme le notait Nelson, **1979 in MacHardy et al., 2001 ; Soufflet-freslon, 2008.**

**Tableau 2 :** Principaux ravageurs du pommier.

Ordre	Famille	Espèces	Dégâts et symptômes
Acariens	<i>Tetranychidae</i>	<p><b><i>Panonychus ulmi</i></b> (Acarien rouge)</p> 	<p>Décoloration du feuillage qui prend un aspect grisâtre et satiné pouvant entraîner la chute des feuilles (<b>Ferre et al., 1991</b>).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- En période hivernale, aux fourches des rameaux, dans les anfractuosités de l'écorce ou encore à la base des bourgeons, on observe des plaques rouges formées par des oeufs (<b>François, 2003</b>).</li> </ul>
	Aphididées	 <p><b><i>Dysaphis plantaginea</i></b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Un fort enroulement et un jaunissement des feuilles.</li> <li>- Les pousses sont tordues et les fruits rachitiques et bosselés.</li> <li>- L'année suivante une forte attaque, la floraison est réduite (<b>Hulleet et al., 1998</b>).</li> </ul>

hémiptères		 <p><i>Aphis pomi</i> (puceron vert)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Enroulement des jeunes feuilles.</li> <li>- Une forte pullulation peut causer la déformation des feuilles et des pousses, peut entraîner l'arrêt de la croissance des rameaux (Alaoui, 2004).</li> </ul>
------------	--	--	---

**Tableau 3** : Principales maladies du pommier

<b>Maladies cryptogamiques</b>		
<b>Maladie</b>	<b>Agent causal</b>	<b>Dégâts et symptômes</b>
<b>Tavelure</b>	<i>Venturia inaequalis</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Taches arrondies légèrement décolorées qui deviennent rapidement brun olivâtre et souvent se rejoignent. Des tâches brunâtres aux faces supérieures des feuilles. Ces tâches réduisent l'activité photosynthétique et entraînent la chute prématurée des feuilles (Alaoui, 2004).</li> <li>- Des parties atteintes peuvent se dessécher.</li> <li>- Les fruits peuvent être déformés (Bailly, 1990).</li> </ul>
<b>Maladies bactériennes</b>		
<b>Feu bactérien</b>	<i>Erwinia amylovora</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Noircissement et recourbement des pousses tendres en crosse, accompagnés par une excrétion des gouttelettes d'exsudats à partir des parties vertes malades en temps chaud et humide (Gautier, 1987). Les feuilles des parties atteintes semblent, brûlées par le feu.</li> <li>- A la Base des parties nécrosées, présence possible d'exsudat blanc à brun (Bailly, 1990)</li> </ul>

## **2. Position systématique et description morphologique du champignon**

**Fries** a été le premier à répertorier le champignon ascomycète responsable de la tavelure en 1825. Il a décrit le stade conidiale et l'a nommé *Spilociapomi*. Le stade ascosporial connu

sous le nom de *Venturia inaequalis* a été découvert par Cook en 1866 et c'est Winter en 1880 qui a classé le champignon comme une espèce de *venturia*.

Ce fut **Aderhold** à l'institut Royal de pomologie qui a démontré le premier la relation entre les deux stades du champignon, ses expériences ont été débutées autour de 1890, elles consistaient à inoculer de jeunes pommiers avec des conidies provenant de cultures d'ascospores (**Aubert, 2002**)(**Tableau4**). Ce champignon dans son état parfait (sexué) est classé comme suit :

**Tableau 4** : Classification de l'agent pathogène selon (**Bovey et al., 1972 ; Aubert, 2002**).

Règne	Fungi
Division	Eumycotina
Subdivision	<u>Ascomycètes</u>
Classe	Loculoascomycètes
Ordre	Pleosporales
Famille	Venturiaceae
Genreet espèce	<i>Forme parfaite (forme sexuée)</i> <i>Venturia inaequalis</i> (Cooke) G.Wint(1880) <i>Forme imparfaite (forme asexuée)</i> <i>Spilocaeapomi</i> Fr. (1825)

### **3. Plantes hôtes du model parasite (Tavelure) et répartition géographique**

La gamme de plantes hôtes de *V. inaequalis* est constituée principalement par les espèces du genre *Malus*, notamment le pommier cultivé *Malus domestica*Borkh, de la famille des Rosacées « (**Trillotet al., 2002**). Cependant, ce pathogène est aussi capable d'infecter les genres *Pyracantha*, *Sorbus* et *Cotoneaster*(**Boveyet al., 1972**).

L'infection de *V. inaequalis* sur le pommier est possible seulement à partir du stade phénologique « gonflement apparent des bourgeons », soit le stade C-C3 d'après Fleckinger (**Annexe 1**) (**Trillotet al., 2002**). Le pommier est particulièrement sensible à la tavelure pendant et juste après la floraison (**Boveyet al., 1972**).

Le pommier étant une espèce très cultivée à travers le monde (7,3 millions d'hectare en 1999), la répartition géographique de la maladie est étendue. Cependant, la maladie ne représente un problème sérieux que pour les régions tempérées avec un climat frais et humide au début du printemps (Nord Est de l'Amérique du nord, Russie, Europe) (**Carisse et Dewdney.,2002**).

### **3.1. Description du champignon**

Les périthèces sont les organes de la reproduction sexuée. Ils sont visibles sur les deux faces du limbe dont ils soulèvent et percent la cuticule (**Figure 10**). On peut en dénombrer jusqu'à une centaine par centimètre carré. De couleur brun noir, ils mesurent 0,1 millimètre de diamètre à maturité) et contiennent de nombreux asques (jusqu'à 120 à 140),(**Bouguerar, 2003**).

Chez *V. inaequalis*, l'asque est bituniqué, ce qui signifie qu'il comporte une double paroi. Il contient huit spores issues de la reproduction sexuée que l'on appelle les ascospores. Ces dernières sont bicellulaires, de couleur jaune verdâtre (**Figure 11**). L'agent pathogène produit également des spores issues de la reproduction asexuée appelées les conidies, lesquelles sont piriformes, de couleur brun olivâtre (**Figure 12**) (**Boveyet al., 1972**).

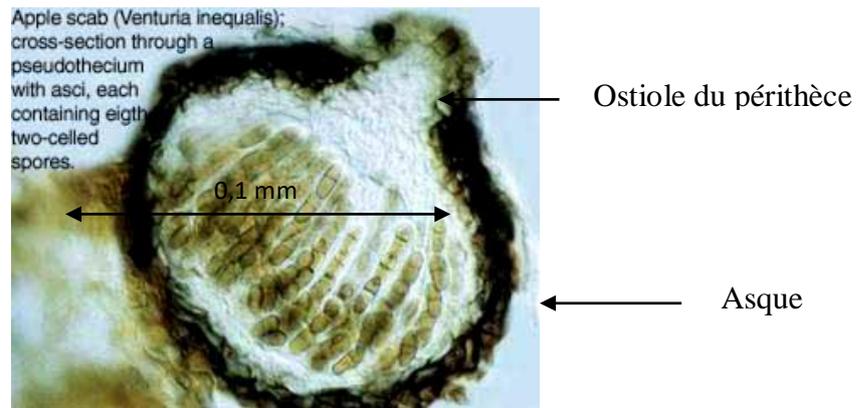


Figure10 :Périthèce observé sous microscope

[www.biologie.uni-halle.de/zool/dev\\_biol/Venturia\\_inaequalis.jpg](http://www.biologie.uni-halle.de/zool/dev_biol/Venturia_inaequalis.jpg)

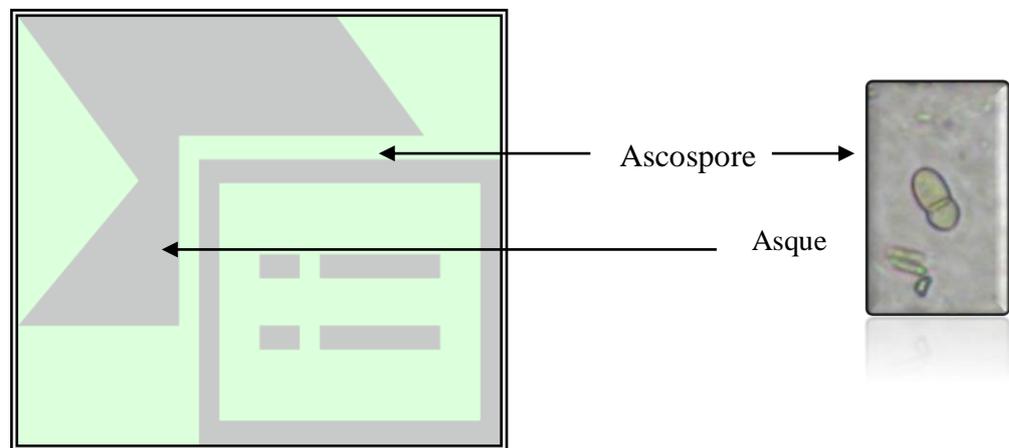


Figure11: Asques et Ascospores de *Venturia inaequalis* observés sous microscope (x 375)

[www.forest.tu-muenchen.de](http://www.forest.tu-muenchen.de)

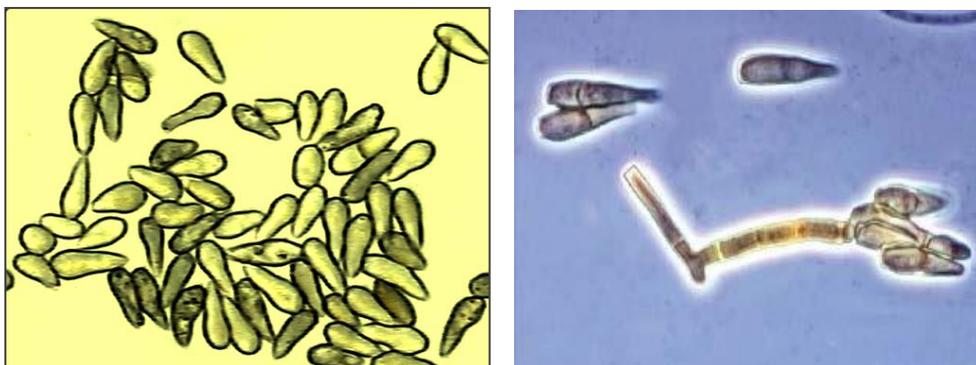


Figure 12 : Conidies observées sous microscope(x 100)

(Photo : CEFEL 2005)

### 3.2. Symptômes

Les symptômes dus à l'infection par *V. inaequalis* sont visibles sur les feuilles, les fruits, les pétioles, les sépales, les fleurs, les jeunes pousses, et les bourgeons. Les symptômes décrits ci-après résultent d'une interaction compatible entre l'agent pathogène et son hôte (**Soufflet-Freslon, 2008**).

#### 3.2.1. Symptômes sur bois

Les taches ou pustules sur bois non lignifié sont assez fréquentes, notamment en cas de forte attaque (**Swinburne, 1965 ; Becker, et al., 1992**). La conservation sous forme de chancre dans les bois est beaucoup plus rare que pour la tavelure du poirier (*Venturia pyrina* Aderh.). Néanmoins, ce symptôme est parfois observé (**Creemers, comm. pers.**) (**Dubus.J ; 2008.**) (**figure 13**).



**Figure 13 : Symptômes sur bois (Dubus.J ; 2008.)**

#### 3.2.2. Symptômes sur les pièces florales

Les pièces florales sont parfois atteintes, notamment les sépales et le pédoncule. Le développement de la tavelure sur ces organes est souvent suivi d'un phénomène de coulure (chute des fleurs) (**Bovey et al., 1967**). Ces dégâts passent souvent inaperçus de l'observateur. Pourtant, à ce stade particulièrement sensible et précoce, les conséquences finales de l'épidémie risquent d'être très graves (**Kennel, 1987, cité par BiosecurityAustralia, 2005 ; Sanogo et Aylor, 1997**).

### 3.2.3. Symptômes sur les feuilles

Les taches sont de forme circulaire, de couleur brun verdâtre à brun foncé. Au printemps, les taches, sont principalement visibles sur la face supérieure du limbe. Elles sont dans un premier temps translucides dites « taches d'huiles » puis olivâtres et prennent un aspect velouté. Souvent, le limbe est déformé et l'intérieur des taches brunit (**Boveyet al., 1967**). En été les taches sont plus petites mais nombreuses et souvent confluentes. Elles recouvrent une partie importante du limbe, le long des nervures. Les feuilles fortement infectées jaunissent et tombent (**Boveyet al., 1967**). A l'automne les taches sont plus nombreuses et de petites tailles (2 à 3 mm de diamètre), parfois plus diffuses et en général plus fréquentes en face inférieure du limbe (**Figure 14**).



**Figure 14.** Symptômes de tavelure sur feuilles (Photos INRA, in Amandine Lê Van 2011)

### 3.2.4. Symptômes sur les fruits

Les fruits sont sensibles à tous les stades de développement. Les attaques précoces entraînent une chute des jeunes fruits. Les tissus cessant de croître au niveau de la tâche, le fruit peut subir une forte déformation quand la contamination est précoce. Les zones nécrosées se crevassent plus ou moins profondément. Les taches résultant d'attaques tardives sont plus superficielles, voire quelque fois bordées de rouge. Les symptômes peuvent apparaître pendant la période de conservation (**Boveyet al., 1967**). (**Figure 15**).



Figure 15 : Symptômes sur fruits (Photos INRA, in Amandine Lê Van 2011)

### 3.2.5. Symptômes de tavelure de conservation sur fruits

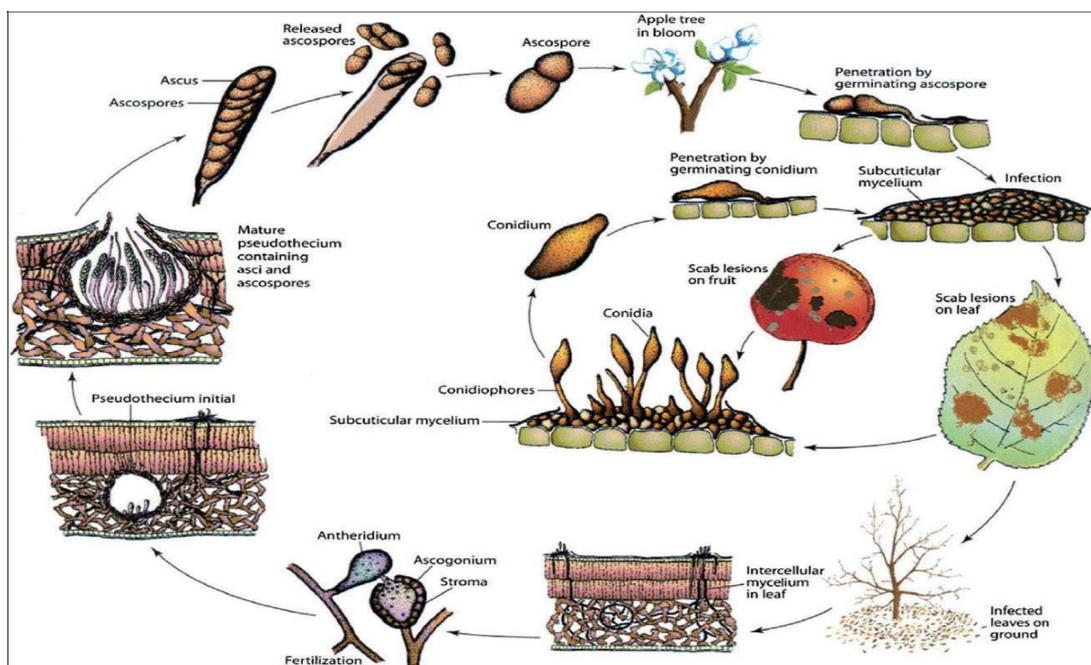
Il arrive que l'on constate des taches de tavelure sur fruits en sortie de conservation alors que la récolte semblait saine à l'entrée en chambre froide. Les symptômes sont alors assez caractéristique : les taches sont nombreuses et de petite taille (**figure 16**). Leur diamètre peut, néanmoins, être d'autant plus important que la température de stockage est élevée (**Tomerlin et Jones, 1983, cités par MacHardy, 1996**). En général ces symptômes correspondent à des contaminations ayant eu lieu en verger dans les semaines qui précèdent la récolte (**Schwabe, 1980 ; MacHardy, 1996**) voire pendant l'été (**Olivier, 1986**). La durée d'incubation en condition de conservation peut être extrêmement variable, ainsi **MacHardy (1996)**, citant des travaux de **Bratley de 1937**, indique que le délai d'incubation (après inoculation artificielle) peut varier entre 23 jours et 6,5 mois selon les conditions de stockage.



Figure 16 : Symptômes de tavelure de conservation sur fruits (**Carisse, 2006**)

#### 4. Cycle biologique de *Venturia inaequalis*

Le cycle biologique de *V. inaequalis* est intimement lié à la phénologie du pommier et peut être décomposé en deux phases (**Figure 17**) : une phase saprophytique, au cours de laquelle se déroule la reproduction sexuée permettant la survie hivernale du champignon et une phase parasitaire où se déroulent de nombreux cycles de reproduction asexuée (**LêVan, 2011**). Le développement de la tavelure du pommier comporte une phase saprophytique se déroulant au sol dans la litière hivernante. La reproduction est sexuée, sous forme de périthèces. Ces périthèces contiennent en moyenne 120 asques, chaque asque contenant 8 ascospores bicellulaires.



**Figure 17** : Le cycle de *Venturia inaequalis* (Agrios, 2005)

Le terme de « périthèce » désigne l'ascocarpe des Pyrénomycètes, qui est une fructification en forme de bouteille, avec un pore à son apex, contenant les asques et les ascospores. Chez les Loculoascomycètes, le fait que cet organe soit inclus dans le parenchyme de la feuille hôte en fait un pseudothèce (**Luttrell, 1973**). C'est cette dernière appellation qui est retenue dans les publications internationales.

Le mycélium envahit le parenchyme des feuilles et la rencontre de deux hyphes compatibles permet la fécondation et la différenciation des périthèces (**Carisse et Dewdney, 2002**). La maturité des spores contenues dans les périthèces coïncide pratiquement avec l'apparition des organes sensibles du pommier (Stade C-C3), soit à la fin de l'hiver. La phase parasitaire peut alors débiter (**Boveyet al., 1972**).

L'infection débute au printemps au moment où les jeunes organes de l'hôte sont les plus sensibles. La projection des ascospores, à partir des pseudothèces présents au niveau de la litière foliaire, se fait lors d'événements pluvieux. D'abord projetées à une très faible distance (quelques millimètres), les ascospores sont ensuite dispersées par le vent sur des distances inférieures à 100 m (**Aylor, 1998 ; MacHardy et al., 2001 ; LêVan, 2011**).

La germination des ascospores se fait uniquement en présence d'eau libre à la surface des tissus hôtes. Le tube germinatif pénètre la cuticule après la formation d'un appressorium (**Smereka et al., 1987**). Lorsque les feuilles sont suffisamment mouillées, l'eau entre dans les périthèces puis dans les asques par osmose. Les asques physiologiquement mûrs se gonflent et sortent par l'ostiole. Après rupture de l'asque, les ascospores sont éjectées (**Gadoury et al., 1998**). La phase de maturation des ascospores s'étale sur plusieurs mois (de février à fin juin) et les projections peuvent ainsi intervenir lors de chaque pluie, jusqu'à ce que les périthèces soient vides (INRA et DGAL-SDQPV, 2003). Expulsées hors des feuilles mortes, les spores sont transportées par le vent et sont déposées sur les feuilles et les inflorescences du pommier (**Carisse et Dewdney, 2002**).

La germination des spores nécessite un certain nombre d'heures d'humectation du feuillage, dont la durée dépend de la température ambiante. La durée d'humectation varie avec une augmentation ou une diminution de la température pour atteindre un maximum de 18 à 25 heures à 6°C et 10 à 13 heures à 26°C. La période d'incubation nécessaire à l'apparition des premières lésions variera de 7 à 18 jours, tout dépendant des températures moyennes (**Moore, 1964**).

Les taches de tavelure primaire deviennent alors visibles sur les organes du pommier. La période d'incubation est estimée à **187 degrés-jours**, les degrés-jours étant la somme des températures moyennes journalières.

Le mycélium fructifie aussitôt, donnant naissance à une multitude de conidies. Lorsqu'il pleut, celles-ci sont détachées de leur support et entraînées par l'eau de ruissellement sur les organes verts voisins, sur lesquels elles provoquent des contaminations secondaires. Ces nouvelles infections vont libérer à leur tour de nouvelles conidies. Les contaminations secondaires vont ainsi se succéder au gré des pluies durant tout le reste de la période de végétation. A la chute des feuilles, le cycle peut recommencer (**Boveyet al.,1972**). Les conidies conservées pendant l'hiver dans les bourgeons et/ou les tiges peuvent aussi participer à la constitution de l'inoculum primaire (**Holb et al., 2005**).

#### **4.1. Période de chute des feuilles**

Plus la chute des feuilles est tardive, plus la production de périthèces est importante. Plus la chute des feuilles est précoce, plus la maturité des périthèces est précoce (**MacHardy, 1996**).

#### **4.2. Variabilité du pouvoir pathogène**

**Aberhold en 1899, cité par MacHardy (1996)**, est le premier à avoir observé des différences de pathogénicité chez *V. inaequalis* sur des cultivars de *M. domestica*. Dix-neuf gènes de pathogénicité, ou encore gènes de virulence, ont été identifiés ultérieurement (**Bagga and Boone 1968 ; Boone, 1971 ; Boone and Keitt, 1957 ; Williams and Shay, 1957**). La majorité de ces gènes de virulence sont transmis indépendamment les uns des autres (**Benaouf and Parisi, 2000; Sierotzki and Gessler, 1998; Williams and Shay, 1957**, ce qui aboutirait à 216-219 combinaisons possibles de ces gènes, soit autant de races physiologiques potentielles (**Gessler, 1989**).

La ségrégation indépendante des gènes de virulence de *V. inaequalis* lui ouvre un large potentiel de développement de nouveaux pathotypes durant son cycle sexuel ; ceci indique que cet agent pathogène est bien adapté au parasitisme (**Boone, 1971**). Les races (ou pathotypes) de ce champignon ne sont pas directement distinguées en fonction de la présence de ses gènes de virulence, mais ont été définies en fonction de leur pouvoir pathogène vis-à-vis d'une gamme de génotypes de *Malus* choisis eux-mêmes en fonction de leurs résistances majeures. Jusqu'à présent, huit races ont pu être définies à partir de cette gamme d'hôtes, auxquelles il faut rajouter une race combinant les virulences des races 6 et 7 (**Benaouf and Parisi, 1997; Benaouf and Parisi, 2000 ; Bus et al., 2005b ; Parisi et Lespinasse, 1996**).

### **4.3. Conditions de projection des ascospores**

Après leurs formations, les périthèces entrent dans une période de dormance dont la durée est obligatoirement de 45 jours. Ainsi, il n'y a pas d'effet de la température ou de l'humidité lors de cette phase. Par contre, le développement des périthèces après la période de dormance est conditionné par l'humidité, si celle-ci n'est pas limitante, ainsi que la température qui a une influence majeure (**Aubert, 2002**).

#### **a. Hygrométrie**

Les alternances de périodes sèches et humides sont favorables à la maturation des périthèces (Louw, 1951). En situation de faible hygrométrie hivernale, notamment situation de désherbage total, la formation des périthèces est fortement réduite et/ou retardée (**Bézet et Bernaux, 1970 ; Obs. SRPV Avignon et Obs. pers. 2005**)

#### **b. Effet de la pluie**

Une pluie de 0,2 mm/heure est suffisante pour provoquer une projection conséquente. D'autres études ont également montré qu'une pluie faible était plus favorable qu'une pluie forte pour le transport et le dépôt des ascospores (**Aubert, 2002**).

#### **c. Effet de la rosée**

Selon plusieurs auteurs, la rosée est insuffisante pour permettre une projection à un taux mesurable, en l'absence de pluie. Cependant, une étude montre un piégeage d'ascospores important (> 10% de la totalité de l'inoculum de la saison) pendant la rosée.

#### **d. Effet de la température**

La nature osmotique du mécanisme de projection des ascospores entraîne un ralentissement du processus à basses températures (GADOURY *et al.*, 1998). La quantité de spores projetées est ainsi réduite à des températures au-dessous de 10°C. D'autre part, la rapidité de la projection augmente avec la température (**Stensvandet al., 1997**).

La température idéale pour la formation de périthèces est 4°C dans les 28 jours qui suivent la chute des feuilles. Par la suite, la température idéale pour leur développement est de 10°C (**MacHardy, 1996**).

#### **e. Effet de la lumière**

La périodicité diurne de la libération des ascospores a été plusieurs fois mise en évidence. Cependant, la suppression de la projection pendant l'obscurité n'est pas totale (**Gadoury et al., 1998**). Warner et Braun (1992) ont collecté 87% du total d'ascospores le jour. Ainsi, une projection d'ascospores peut avoir lieu pendant la nuit après une pluie.

#### **6. Autres modes de conservation connus ou supposés**

L'hypothèse de la conservation hivernale du champignon sous forme conidienne (forme asexuée du champignon) remonte au début des années 1900 (**MacAlpine, 1902 et Lawrence, 1904 cités par MacHardy, 1996**) mais pendant longtemps, aucune étude n'a pu vérifier cette possibilité (**Wallace, 1913 ; Keitt et Jones, 1926 ; Louw, 1948 et 1951**). Assez récemment, plusieurs études l'ont vérifiée, dans certaines conditions (**Becker, 1990 ; Becker et al., 1992; Holb et al., 2004 et 2005**).

Ces études ont montré que les conidies viables pouvaient se conserver à l'intérieur des bourgeons (**Becker et al., 1992**), notamment en cas de très forte attaque l'année précédente (**Holbet et al., 2004**). Ces conidies peuvent infecter l'arbre avant les ascospores, notamment à l'occasion d'une période sèche (**Gloyer, 1937**). Dans les pays à climat doux, des cultivars à faible besoin en froid, qui débourrent donc très précocement, pourraient être sensibles à ce mode de contamination, alors que les ascospores n'ont pas encore atteint la maturité (**Shabiet et al., 1981**). Dans ce même pays, une étude antérieure a confirmé la présence de conidies viables ayant hiverné sur des feuilles restées sur l'arbre, mais aussi sur des feuilles au sol (**Rotemet et al., 1966**). Cette même étude a mis en évidence que ces conidies ont été à l'origine de contaminations précoces dans les vergers. La conservation sous forme mycélienne est également possible (**Stensvand et al., 1996, cités par BiosecurityAustralia**).

#### **7. Contamination conidiennes**

La maturité des premières conidies marque le début des contaminations secondaires. Les conditions de température favorables à la germination des conidies sont de 14-15°C avec un minimum de 3°C et un maximum de 31°C (**Doran, 1922, cité par MacHardy, 1996**). Comme pour les ascospores, la contamination par les conidies est dépendante de la température et de la durée d'humectation.

Dans les années 1950, Mills avait défini que le temps nécessaire à une contamination par les conidies était approximativement de deux tiers inférieurs à celui nécessaire pour les ascospores (Mills, cité par MacHardy, 1996). Or il a depuis été démontré que les ascospores mettaient environ trois heures de moins à germer (Schwabe, 1980 ; MacHardy et Gadoury, 1989). Le fait que Mills n'ait pas pris en compte les différences d'intensité de projection entre le jour et la nuit peut expliquer cette divergence (MacHardy, 1996). A l'automne, avec la baisse des températures et les pluies, les conditions de contamination deviennent plus fréquentes. Les contaminations d'automne sont à l'origine de la constitution de la majeure partie de l'inoculum pour l'année suivante. Ces contaminations ne sont possibles qu'avec la levée (au moins partielle) de la résistance ontogénique.

L'inoculum primaire laisse plus de chance de passer sans dommage la période de forts risques du mois d'avril. En effet, cette période qui voit la conjonction des risques de pluies, de surface foliaire sensible maximale et de volume d'ascospores projetables maximal, est la période clef de la lutte contre la tavelure.

Si la lutte chimique permet de retarder suffisamment l'apparition des taches, l'évolution de la maladie a plus de chance de rester de type EIS puisque avec, les températures estivales et l'augmentation de la résistance ontogénique, il est probable que l'épidémie marque une période de stabilisation limitant les contaminations secondaires.

### ***8. Epoque de quantification de l'inoculum d'une parcelle***

L'importance de l'inoculum pour une saison est souvent estimée à partir des dégâts observés sur les fruits à la récolte précédente. Mais cette indication est généralement insuffisante pour deux raisons : (i) l'intensité des attaques peut être différente sur fruits et feuilles et le développement de la maladie sur la partie végétative de l'arbre peut être très important entre la récolte et la chute des feuilles (Olivier, 1984), notamment pour les cultivars précoces comme Gala. L'observation doit donc se faire le plus proche possible de la chute des feuilles.

### **9. Développement de *Venturia inaequalis* en verger abandonné**

On observe régulièrement dans les vergers abandonnés une sensibilité à la tavelure beaucoup plus faible que dans les vergers conventionnels (nombreux témoignages). Quatre raisons, au moins, peuvent expliquer ces observations. La croissance de ces vergers est en général assez faible. La surface foliaire sensible à une période donnée est donc très inférieure

à celle d'un verger vigoureux ou même moyennement vigoureux (Crété, 2006). Les populations microbiennes sur le feuillage et l'influence de la pression des produits phytosanitaires sur la sélection de cette population peuvent avoir un effet très important (Andrews, 1981). La vie microbienne du sol et le mode de conduite de la bande de plantation sont sans doute beaucoup plus favorable à une décomposition rapide de la litière hivernante (Gessler, 1989).

## **10. Stratégies de protection contre la tavelure**

La tavelure est un souci permanent pour l'arboriculteur. La protection représente pour certaines régions 40 à 50% des traitements au verger. Pour une protection optimale, toute contamination primaire doit être évitée. Si cet objectif est atteint, les traitements peuvent être arrêtés dès la fin de la période de projection des ascospores, soit entre fin mai et début juillet selon les régions. Dans le cas contraire, la protection devra être maintenue jusqu'à la récolte en raison des risques de contaminations secondaires. Aujourd'hui, la méthode la plus efficace, qui permet l'orientation vers une lutte raisonnée, consiste à tenir compte de l'évolution du parasite. Elle prend en considération les indications transmises par les stations d'avertissements agricoles. Celles-ci suivent de près la biologie du parasite et les données climatiques locales de l'année afin de pouvoir déterminer les périodes optimales d'intervention (Bougerard, 2003).

### **10.1. Mesure agronomique et prophylactique**

#### **a. La Création et la conduite du verger**

Il faut éviter les plantations en zones humides et les variétés sensibles (**Pink Lady Cripps Gala, CaméoCaudle, Braeburn, Golden**). Les plantations trop denses peuvent également favoriser la maladie. La taille d'hiver permet l'aération du feuillage et la réduction du temps de ressuyage. En été la taille vise la suppression des rameaux de type gourmand ce qui limite la présence de jeunes feuilles très sensibles aux contaminations d'automne. La fumure azotée ne doit pas être excédentaire car elle favorise les jeunes pousses, ce qui augmente le risque d'infection.

#### **b. Réduction de l'inoculum pendant la phase hivernale**

Afin de contenir au mieux les projections de printemps et donc les premières contaminations il faut réduire au maximum l'inoculum d'automne contenant les périthèces c'est à dire les feuilles mortes du verger de la saison passée. Dans l'agriculture traditionnelle (1960) les rangs de plantations de pommiers étaient larges afin que l'on puisse les labourer.

Cette technique avait deux avantages : d'une part limiter la compétition en eau avec les adventices et d'autre part favoriser l'enfouissement des feuilles mortes l'hiver supprimant ainsi l'inoculum de la saison passée. Cependant, le développement de l'irrigation dans l'arboriculture a modifié l'organisation des rangs et les mesures agronomiques à prendre. Selon la recommandation de l'INRA (INRA., 2004).

Il est conseillé de pulvériser de l'urée (20 à 30 kg/hectare à 2 %) un peu avant que les feuilles ne tombent (autour d'octobre). L'urée est constituée à 46% d'azote donc le rapport C/N de la feuille diminue et sa minéralisation s'accélère. De plus l'azote absorbé par les arbres leur permet de mieux passer l'hiver (Oland, 1963). En complément, une dégradation mécanique est préférable pour un résultat optimum. Les feuilles doivent être ratissées en milieu de rang par une daineuse pour être ensuite détruites par un gyro-broyeur (Creemers et al., 1996). Le broyage des feuilles à lui seul permet de réduire l'incidence de la maladie l'année suivante de 88% sur fleurs, 82% sur feuilles de rosette, 75% sur feuilles de pousse (Creemers, 2004).

## **10.2. Lutte chimique classique**

La protection des pommes est essentiellement assurée par une lutte chimique intense. Cette protection est coûteuse pour le producteur et interpelle quant à son impact sur l'environnement et la santé humaine. Par ailleurs, elle exerce une forte pression de sélection sur les populations du champignon pathogène, ce qui a abouti à l'émergence de phénomènes de résistance (Parisiet al., 2004). A ce jour, la lutte est quasi exclusivement chimique (Sutton et al., 2000), pourtant il est important de rappeler que la lutte chimique ne peut être qu'un des composants d'une lutte durable contre les bioagresseurs (Creemers et al., 2002).

L'objectif de la lutte chimique est de passer la période de contamination primaire sans taches dans le verger, la protection prend fin avec les dernières projections d'ascospores significatives, en général durant la seconde quinzaine de mai dans nos régions. Dans le cas contraire, la lutte est prolongée jusqu'à la récolte. Le nombre annuel d'applications fongicides pour lutter contre la tavelure varie entre 6 et 20 selon les régions et les années (Giraud et Orts, 2004). L'interdiction de nombreux produits suite à la ré-homologation européenne et la raréfaction des homologations de nouvelles molécules doit inciter à conserver le plus longtemps possible l'efficacité des produits disponibles (Sagnes, 2004).

### **III. Stratégies de protection dans le cadre d'une Production Fruitière Intégrée (PFI)**

Dans le passé, le contrôle de la tavelure était principalement basé sur une série de traitements effectués à intervalles fixes, quelles que soient les conditions météorologiques (Creemers *et al.*, 1996). Actuellement, grâce à l'adoption de la PFI par un nombre croissant d'arboriculteurs, la stratégie de la lutte contre la tavelure évolue. La PFI fait intervenir un ensemble de lutte : la lutte chimique, la lutte génétique, la lutte culturale et la lutte biologique.

L'utilisation de produits phytosanitaires est raisonnée en fonction de l'évaluation de l'inoculum, la sensibilité variétale, l'état de la végétation (phénologie, rapidité de croissance) et l'historique des traitements sur la parcelle afin de ne pas favoriser le développement des résistances (INRA ., 2005).

En outre, il convient d'évaluer le risque sur deux critères : la détermination du risque d'infection et celle des périodes potentielles de projection des ascospores (Trillot *et al.* 2002) grâce à des outils d'aide à la décision. Ces critères vont être déterminés.

#### **1. Stratégies utilisées**

Le principe de la lutte contre la tavelure est d'éviter toute contamination primaire depuis le stade sensible C-C3 jusqu'à la fin des risques de projection d'ascospores (fin mai à début juillet selon les régions). A cette date, si le verger est indemne de tavelure, la protection est terminée ; dans le cas contraire, les traitements sont poursuivis jusqu'à la récolte. Il existe trois stratégies :

- a) *La lutte préventive* : basée sur le principe d'intervenir avant chaque pluie contaminatrice, selon les prévisions météorologiques.
- b) *La stratégie dite « stop »* consiste à intervenir 24, 36 ou 48 heures après le début d'une pluie contaminatrice selon les produits employés.
- c) *La stratégie dite « curative »* Permet de traiter dans un délai de 3 jours après le début d'une pluie contaminatrice (Trillot *et al.*, 2002).

En traitement préventif, les dernières feuilles sorties doivent être couvertes par le fongicide lors de la pluie. Si une pluie contaminatrice mais non lessivante intervient un à deux jours après le traitement, le verger est protégé. Par contre, il est nécessaire de renouveler un

traitement à la prochaine contamination si la pluie est lessivante, la persistance d'action du fongicide est dépassée, de nouvelles pousses sont apparues après le traitement précédent (**Sagnes, 2004**). Les prévisions météorologiques n'étant pas toujours fiables, si la pluie n'a pas lieu, le traitement peut se révéler inutile. Ainsi, les interventions préventives peuvent engendrer de nombreuses applications de fongicides (**Huberdeau et Geoffrion, 1998**).

Les stratégies dites « stop » et « curative » impliquent une capacité de réaction permettant le traitement du verger en un minimum de temps ainsi que l'utilisation des outils d'aide à la décision (**INRA et DGAL-SDQPV, 2003**). En effet, lorsque l'on traite après une pluie, il faut connaître la présence et l'intensité de la projection ainsi que la gravité de la contamination.

S'il n'y a pas de spores mûres dans les périthèces, une pluie n'engendrera pas de projection et il serait donc inutile de traiter. De même, si une projection a eu lieu mais que les conditions climatiques ne sont pas favorables à la germination des ascospores, le risque est nul. Ainsi, ces stratégies de protection entraînent la baisse du nombre de traitements et des conséquences positives sur le coût de la protection, l'environnement et la santé humaine.

L'apparition de fongicides à effet « stop » et « curatif » plus efficaces a renforcé l'intérêt de ces stratégies. Cependant, celles-ci sont plus fragiles vis-à-vis de la résistance car le mode d'action des produits utilisés est le plus souvent uni-site. Les nombreux problèmes de résistance qui ont émergé récemment ont ainsi incité les arboriculteurs à se baser sur une lutte essentiellement préventive. Les stratégies « stop » et « curative » sont utilisées lorsqu'un traitement n'a pu être effectué en temps voulu (**Sagnes, 1995**). Selon les trois stratégies de protection présentées, les fongicides utilisés sont différents.

### **1.1. Fongicides utilisés**

Il existe trois grands types de fongicides :

#### **a. Fongicides uni-sites pénétrants.**

Ces produits forment un film protecteur à la surface du végétal et empêchent la pénétration du champignon en inhibant la germination des spores.

Selon les produits, ils sont peu ou pas pénétrants (capables de pénétrer dans la plante et de diffuser à travers plusieurs couches de cellules d'un même organe) (**Couteux et Lejeune, 2005**). Ces produits sont lessivés lors d'une pluie dépassant 20 à 25 millimètres. Les pousses formées après traitement ne sont pas protégées (**INRA ., 2005**).

Leurs modes d'action multi-sites confèrent à ces fongicides une plus grande robustesse, mais ils ne sont pas pour autant à l'abri de problèmes de résistance (INRA ., 2005).

### **b. Fongicides uni-sites systémiques**

#### **- Famille des anilinopyrimidines (AP) ou (ANP) (traitement préventif ou stop)**

Ces produits de contact sont partiellement pénétrants. Ces fongicides agissent contre *V. inaequalis* en inhibant la synthèse de la méthionine, un acide aminé indispensable à la survie du champignon (INRA *et al.*, 2005). Ils sont lessivés lors d'une pluie supérieure à 40 millimètres. Les pousses formées après traitement ne sont pas protégées (Fournie *et al.*, 2004). Ce sont des produits pénétrants. Ils agissent sur la germination des spores par inhibition de la respiration cellulaire. Ils sont lessivés à partir de 40 millimètres de pluie. Les pousses formées après traitement ne sont pas protégées.

Cette nouvelle famille chimique mise sur le marché en 1998 pose déjà des problèmes de résistance, confirmés à l'étranger et en France depuis 2003 (Montauban, Montpellier) (Fournie *et al.*, 2004). En parcelles présentant des souches résistantes ou une baisse d'efficacité des fongicides non expliquée, toute utilisation de strobilurines est à proscrire. Dans les autres situations, ce produit est utilisé en préventif uniquement, sans dépasser le seuil de deux applications par an (INRA ., 2005).

### **c. Fongicides uni-sites systémiques : Inhibiteurs de la Biosynthèse des Stérols (IBS)**

#### **(Traitement préventif, Stop ou curatif).**

Ces produits présentent un effet curatif pouvant atteindre 3 jours. Les IBS étant systémiques (migration de la substance à l'intérieur de la plante), les pousses formées après traitement sont protégées (Couteux et Lejeune, 2005). En outre, ce produit est à l'abri du lessivage lorsque la pluie reste inférieure au seuil de 40 millimètres (INRA ., 2005).

La résistance de la tavelure à ces fongicides a été décelée en 1986. Ainsi, il est recommandé de ne pas appliquer d'IBS dans les parcelles présentant une résistance. Dans les autres situations, il convient de limiter le nombre de traitements à trois par an et par parcelle (Fournie *et al.*, 2004).

## **1.2. Situation sur la résistance de *V. inaequalis* aux fongicides**

L'utilisation régulière d'une molécule contre un champignon, entraîne inévitablement à court, moyen ou plus long terme le développement d'une résistance de ce dernier. De ce point de vue, toutes les molécules sont donc plus ou moins en sursis. La durée de ce sursis dépend, entre autre, du (des) mode(s) d'action de la molécule, de la fréquence d'utilisation sur le champignon, du stade biologique auquel le champignon a été exposé (**Leroux, 2003**).

Par ailleurs le contexte social et écologique est peu favorable à l'homologation de nouvelles substances (**Aubertot et al., 2005**).

Dans le cadre d'une lutte raisonnée contre la tavelure, la prise en compte de ces paramètres devient donc un élément majeur du raisonnement. A ce jour, plusieurs familles de fongicides sont plus ou moins en difficultés en verger, on peut citer les inhibiteurs de la synthèse des stéroïdes (IBS), les strobilurines mais aussi dans une moindre mesure les anilino-pyrimidines inférieure à 12°C mais les chercheurs américains ne semblent pas d'accord sur ce point.

L'interdiction de nombreux produits suite à la ré-homologation européenne et la raréfaction des homologations de nouvelles molécules doit inciter à conserver le plus longtemps possible l'efficacité des produits disponibles (**Sagnes, 2004**). Ainsi, un raisonnement de la lutte chimique, complété par d'autres moyens de protection, devrait permettre de réels progrès.

## **2. Stratégie de lutte à risque réduit contre la tavelure du pommier**

Le principal objectif de cette stratégie est de réduire les risques pour l'environnement et la santé humaine découlant de l'utilisation des pesticides en agriculture, la stratégie de réduction des risques des pesticides inclut l'identification des risques potentiels posés par ces substances, la définition des lacunes dans les connaissances et des obstacles à l'adoption des pratiques de lutte à risque réduit, la découverte de solutions potentielles de lutte à risque réduit, l'établissement d'objectifs et des jalons en matière de réduction des risques.

Pour s'attaquer à ce problème, on considère que des approches telles que l'utilisation de logiciels de modélisation pour améliorer les calendriers de pulvérisations des fongicides, le recours à des agents microbiens pour réduire la quantité d'inoculum et l'emploi de meilleurs

pratiques de lutte culturale sont des points importants qui ensemble, peuvent faire partie d'une solution à risque réduit (**Vincent, 2008**).

### **2.1. Lutte génétique**

Ce moyen est peu pris en compte actuellement. En effet, les variétés les plus cultivées restent des variétés sensibles à la tavelure (Golden, Gala, Pink Lady Cripps Pink) (**Parisiet al., 2004**).

Un essai multi local et pluriannuel montre que les variétés résistantes permettent une économie de 76% des traitements anti-tavelure en végétation (**Parisiet al., 1995**). Cependant, toutes les variétés résistantes actuellement disponibles portent le gène Vf et ce gène est déjà contourné par le champignon dans plusieurs pays européens. Ainsi, la plantation à grande échelle de variétés possédant le même gène de résistance ne constituera pas à long terme une alternative à la lutte chimique car elle risque d'aboutir au contournement généralisé de cette résistance (**Parisiet al., 2004**).

### **2.2. Utilisation du gène de résistance Vf du pommier**

En 1943, à l'Université d'Illinois, le Docteur Hough remarque qu'une espèce de la famille des pommiers, *Malus floribunda*, résiste à la tavelure. Malheureusement cette espèce de pommier donne des fruits plus petits qu'une cerise et impropres à la consommation. *Malus floribunda* résiste à la tavelure grâce à l'expression du gène Vf. Le contrôle monogénique de

cette résistance à l'état dominant est à l'origine de tous les programmes d'amélioration du pommier pour la résistance à cette maladie. C'est avec des géniteurs Vf d'origine américaine que les programmes de recherche à l'INRA ont été engagés dans les années 60.

Le schéma de sélection en serre, puis en pépinière et enfin au verger a permis d'éliminer les hybrides très sensibles à l'oïdium. La grande préoccupation des sélectionneurs est la durabilité de cette résistance. Des cas de contournement de la résistance conférée par le gène Vf sont apparus en Europe au début des années 90.

En 1995, les premiers cas de contournement du gène Vf ont été signalés en France, sur une variété de pommier à cidre : Judeline. Durant la saison 2000, de nombreux foyers ont été observés en Normandie sur cette même variété. Les souches isolées sur des variétés sans gène majeur de résistance connu, dites sensibles, présentent une diversité génétique très élevée (68 haplotypes identifiés sur 97 souches). La différenciation génétique des populations issues de variétés sensibles est très faible (Gst moyen de 0,04), ce qui semblerait indiquer que ces variétés sensibles ne structurent pas les populations de *Venturia inaequalis*.

Concernant les souches prélevées sur la variété portant le gène Vf (Judeline), un fort effet sélectif avec une réduction très importante de la diversité et la perte de nombreux allèles (2 haplotypes sur 36 souches analysées) a été mis en évidence. Ainsi cette population se différencie fortement de la population se développant sur hôtes sensibles ( $Gst > 0,2$ ) (Guérin et al., 2004). La résistance conférée par le gène Vf peut être contournée par deux nouvelles races du champignon *Venturia inaequalis* apparues en Europe : la race 6 en Allemagne (Parisi et al., 1993), et la race 7 en Angleterre (Roberts et Crute, 1994). Depuis leur apparition au début des années 90, des nouveaux cas de contournement ont été signalés dans d'autres pays d'Europe, principalement dus à la présence de la race 7 (Parisi, 1997).

### **2.3. lutte culturale**

Il existe plusieurs moyens de réduire l'inoculum primaire présent dans les feuilles mortes tombées au sol. L'utilisation d'urée à l'automne accélère la décomposition des feuilles et réduit ainsi le nombre potentiel de périthèces au printemps (Sutton et al., 2000). Le broyage de la litière accélère également sa décomposition (Brun et al., 2005). Plus le broyage est fin, plus celui-ci est efficace (diminution jusqu'à 80% du stock d'ascospores) (Cirea, 2004). De même, l'influence combinée du retrait des feuilles situées sur l'inter-rang et de l'enfouissement par buttage des feuilles laissées sur le rang présente un effet positif sur la réduction des contaminations primaires (Brun et al., 2005). Ces méthodes restent cependant peu appliquées en raison de difficultés techniques de mise en œuvre. Cependant, les problèmes rencontrés récemment dans la lutte contre la maladie provoquent un regain d'intérêt pour ces moyens, en particulier le broyage (Parisi et al., 2004).

### **2.4. Lutte biologique**

Il serait intéressant de coupler le broyage de la litière foliaire avec l'application de champignons antagonistes inhibant la formation des périthèces de *V. inaequalis* (Parisi et al., 2004). Le champignon *Microsphaeropsis ochracea* (Mi) est actuellement à l'étude. Selon un essai en verger, il peut réduire de 80 % la quantité d'inoculum de tavelure. L'application de cet antagoniste est préférable à l'automne plutôt qu'au printemps (Carisse et Dewdney, 2002).

De nombreuses recherches sont en cours pour affiner et développer l'utilisation des différentes stratégies de protection présentées. L'intégration de ces méthodes dans un schéma de raisonnement global est complexe et demande des connaissances accrues. Dans cette

démarche, les logiciels de prévision des risques de la maladie sont prometteurs et constituent une aide à la décision utile pour les arboriculteurs et les conseillers agricoles. Ces modèles nécessitent une phase de validation indispensable pour assurer la véracité des prédictions.

### **3. Risques liés aux pesticides**

Les pesticides sont présents dans nos aliments où plus de 50% des fruits et des légumes produits par l'agriculture intensive en contiennent. Ils finissent finalement dans nos organismes, apportés là par l'eau et les aliments consommés. Nos organismes hébergent ainsi des centaines de molécules toxiques dont de très nombreux pesticides. Ces pesticides posent un véritable problème de santé publique, et pas seulement pour les utilisateurs qui sont les plus exposés, mais aussi pour la population générale. En effet, les effets de faibles quantités de pesticides, en mélange, pendant des périodes longues posent de nombreux problèmes de santé.

L'épidémiologie nous montre ainsi que les personnes exposées aux pesticides ont plus de risque de développer de nombreuses maladies que les autres : cancer, malformations congénitales, problèmes d'infertilité, problèmes neurologiques ou encore une déplétion du système immunitaire.

Connaître le devenir des produits phytosanitaires après leur épandage en zone agricole est une nécessité car la pollution engendrée par ces matières actives peut avoir des conséquences graves sur la santé et l'environnement. L'ensemble de la communauté scientifique s'accorde sur le danger et la nocivité des produits phytosanitaires et de leurs métabolites sur l'environnement. La contamination s'effectue à tous les niveaux: de l'air à l'eau en passant par les aliments. Par rapport aux polluants dits « classiques » comme l'ozone ou NO<sub>2</sub>, il n'existe pas de surveillance systématique de la contamination en pesticides de l'air. Il n'existe pas non plus d'ailleurs, de normes de sécurité fixant une concentration limite de pesticides dans l'air.

Cependant, pour l'eau, le décret du 20 décembre 2001 fixe la teneur maximale dans l'eau du robinet à 0,1 µg/l par pesticide et à 0,5 µg/l pour la somme de tous les pesticides. Cette norme rigoureuse, visant également la protection de l'environnement, garantit le consommateur contre tout effet nocif lié aux pesticides.

#### **3.1. Impact sur l'homme**

L'homme et les animaux en général, absorbent les pesticides et leurs produits dérivés via la nourriture, l'eau, l'air respiré ou par contact avec la peau ou les cuticules. Les agriculteurs et les ouvriers qui préparent les mélanges et réalisent les traitements ont plus de risque que le

reste de la population d'être atteints par contact de la peau ou par inhalation. Ainsi, chez les agriculteurs, malgré une espérance de vie plutôt supérieure à la moyenne du fait d'une sous-mortalité par maladies cardiovasculaires et par cancers en général (**Viel et al., 1998**), il a été remarqué que la mortalité et l'incidence de certains types de cancers ont augmentés. Il s'agit en général de cancers peu fréquents voire rares tels que les cancers des lèvres, de l'ovaire, du cerveau, de mélanome cutané et de la plupart des cancers du système hématopoïétique (leucémies, myélomes, lymphomes). Le cancer de la prostate et de l'estomac, cancers nettement plus fréquents, seraient également concernés (**Meyer et al., 2003**). Il s'est également avéré que des produits de dégradation des pesticides peuvent être aussi toxiques, ou même plus toxiques, que la molécule d'origine (**Guillard et al., 2001 ; Forman et al., 2002**).

### **3.2. Impact sur l'environnement**

Comparé à la toxicité humaine, la nocivité pour les espèces environnementales passe souvent au second plan dans les processus d'homologation qui donnent les normes réglementaires pour chaque contaminant de l'utilisation accumulée de pesticides, il résulte une dégradation lente et progressive de biodiversité des sols agricoles qui peuvent être assimilés plus à des systèmes artificialisés évolués à une culture intensive qu'à des écosystèmes terrestres naturels. Ce processus de dégradation de la vie biologique en milieu terrestre est consécutif à l'intensification du système de production qui a longtemps été la règle en agriculture. Ainsi, les produits phytosanitaires parviennent jusqu'au sol et touchent bactéries, champignons, algues, vers de terre et insectes.

Ces dégradations cumulées ont un effet nocif sur la fertilité du sol. En effet, les vers de terre sont des agents actifs de la fertilité du sol. Ils sont atteints par les pesticides via l'eau polluée qui imbibe le sol (**Heimbach, 1997**).

Les produits phytosanitaires et plus particulièrement les insecticides sont également dangereux pour les prédateurs, parasites et compétiteurs des ravageurs cibles. Des études ont montré que l'emploi massif de pesticides conduit en général à la diminution des effectifs insectes et autres invertébrés. Or, les arthropodes utiles comme les coccinelles, naturellement présentes dans l'environnement permettent souvent de limiter le recours aux insecticides et il a été clairement montré que des insecticides telle la phosalone affectent ces insectes (**Mahaut et al., 2001**).

Les morts de mammifères imputables aux pesticides sont généralement la conséquence de l'ingestion d'une nourriture contaminée. Les prédateurs accumulent des quantités de résidus

plus élevées que les herbivores. Des mortalités massives ont été observées lors de grandes opérations de lutte menées avec des organochlorés (**MajewskietCapel, 1995**).

Pour ce qui est des oiseaux, de nombreux cas mortels ont été recensés par ingestion directe de granulés ou d'insectes ayant ingéré des toxiques (**Rasmussen, 1995**). Les ours polaires sont aussi contaminés par la nourriture et certains produits comme le lindane, le chlordane ou le pp' DDE ont été retrouvés dans le sang (**Lie et al, 2003**). Bien que la plupart des traitements soit appliquée sur les parties aériennes des plantes, une bonne partie du produit atteint toujours le sol. De même, des concentrations importantes en lindane ont été retrouvées dans des tissus d'anguilles pêchées dans la réserve naturelle de la Camargue impliquant la mortalité des poissons (**Roche et al., 2000**).

Durant les épisodes pluvieux, les pesticides présents sur les plantes ou adsorbés sur les particules du sol, peuvent rejoindre les écosystèmes aquatiques par l'intermédiaire des phénomènes de ruissellement et par conséquent impliquer une pollution des eaux des nappes phréatiques. Les propriétés phytotoxiques des pesticides peuvent également détruire le phytoplancton du milieu et briser ainsi la chaîne trophique, cette microflore étant essentielle au maintien de la fertilité (**Paris-Palacios et al., 2001**).

#### ***4. Solutions alternatives pour limiter l'utilisation des Produits phytosanitaires***

L'arboriculture fruitière consomme environ 4% des fongicides et 21% des insecticides utilisés en agriculture, alors que la surface agricole occupée n'est que de 1% (**Codron et al., 2003**). Le pommier est probablement l'espèce la plus traitée avec en moyenne 36,5 traitements par an dont 16 uniquement contre la tavelure, maladie considérée comme majeure car pouvant toucher les fruits et les rendant impropres à la commercialisation (**Sauphanor et al., 2009**). Les méthodes classiques de lutte chimique, basées sur l'utilisation de matières actives de synthèse ont certes permis pendant les dernières décennies de contrôler efficacement les maladies et ravageurs mais il est maintenant acquis que l'agriculture doit fortement diminuer l'usage de ces produits. Cette évolution repose sur trois faits majeurs :

Le premier est celui de la résistance acquise par divers bioagresseurs vis-à-vis des matières actives auxquelles ils sont exposés, entraînant en retour une course sans fin de l'industrie chimique à la recherche de nouvelles molécules actives (voir l'exemple des arthropodes analysé par **Hoskins et Gordon, (1956)**).

Le deuxième est celui de la toxicité des produits de synthèse non seulement pour l'être humain mais également pour l'environnement biotique en général (Jas, 2010).

Enfin, et en réaction notamment au deuxième point, l'arsenal législatif mis en place tant au niveau national (suite au Grenelle de l'environnement de l'été 2007) qu'europpéen, a conduit à un encadrement strict de l'utilisation des pesticides et au retrait du marché de nombreux produits phytosanitaires d'usage courant enverger de production (<http://www.legrenelle-environnement.fr/-Loi-Grenelle-1-.html>).

L'expertise commune que nous avons développée en verger de production et en station expérimentale, à l'UERI de Gotheron notamment, nous montre qu'il est souvent difficile de substituer un produit chimique de synthèse efficace contre un ou plusieurs bioagresseurs par une méthode alternative unique. Ce constat est également valable pour les sources génétiques de résistances. Un exemple actuel en est le contournement de la résistance génétique à la tavelure liée au gène Vf, provenant de *Malus floribunda* 821 (Parisietal., 1993).

#### **IV. Le Thym (*Thymus vulgaris*)**

##### **1. Historique**

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupées une place importante en médecine, dans la composition des parfumes et dans les préparations culinaires. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées dans le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (Elqaj et al., 2007). Les médicaments à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. L'Afrique dispose d'une diversité importante de plantes médicinales, qui constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales, où plus de 80% de cette population s'en sert pour leurs besoins de santé (Dibong et al., 2011).

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (Yano et al., 2006). Ces plantes sont utilisées, soit pour l'extraction des huiles essentielles, soit pour l'extraction de molécules particulières recherchées par l'industrie pharmaceutique, soit comme aromatisant dans l'industrie alimentaire (Yawo, 2014).

La flore algérienne, l'une des plus riches du bassin méditerranéen, recèle de nombreuses espèces végétales aux vertus thérapeutiques et organoleptiques. Parmi celles-ci, les plantes de la famille des **Lamiaceae** occupent une place de choix, elles appartiennent à 240 genres différents. Nombreuses espèces de cette famille botanique ont fait l'objet d'investigations sur les plans phytochimiques et pharmacologiques. Leurs propriétés générales sont largement dues à leur richesse en diverses molécules et principes actifs. Une grande partie de ces plantes sont aromatiques riches en l'huile essentielle d'où leur intérêt économique et médicinal. Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant (**Mata et al., 2007**). Différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles (HE).

## **2. Présentation de La famille des lamiacées**

La famille des lamiacées est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extrait à fort pouvoir antimicrobien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (**Gherman et al., 2000, Hilan et al., 2006**), dans cette famille 40% des espèces contiennent des composés qui possèdent des propriétés aromatiques (**Verse, 2007**). Les huiles essentielles caractérisent les lamiacées. Elle comprend près de 6700 espèces regroupées dans environ 250 genres (**Miller et al., 2006**).

### **2.1. Le genre *Thymus***

Le genre *Thymus* est largement distribué dans la région méditerranéenne (**Stahl-Biskup & Saez, 2002**). Il est l'un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des lamiacées (**Morales in Stahl-Biskup et Saez, 2002**). Le nom « *Thymus* » dérive du mot grec: *Thymos* et *Theo* qui veut dire parfum ou plante odoriférante, à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (**Pariente, 2001**). Il possède plusieurs nominations ; en Amazigh : Azukni, Tazuknite et en Arabe : Zaitra.

## **3. Répartition géographique**

### **3.1 Dans le monde**

Le thym est distribué dans le nord-ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), il pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et la péninsule du Sinaï en Egypte. Passant par les régions arides de l'Asie occidentale jusqu'à Himalaya. Dans le nord il pousse en Sibérie et en Europe nordique.

### 3.2 En Algérie

Il est représenté en Algérie par denombreuses espèces et se retrouve dans les régions internes jusqu'au zones arides. Le thym est représenté par plus de 300 espèces à travers le monde dont 12 sont localisées en Algérie et 9 d'entre elles sont endémiques (Quezel et Santa, 1962). Ces espèces sont réparties le long du territoire national, du Nord algérois à l'Atlas saharien, et du constantinois à l'oranais (Figure 18) (Kabouche et al., 2005).



**Figure 18** : Carte géographique des régions de récolte de l'espèce *Thymus Vulgaris*

### 4. Description morphologique ou Botanique

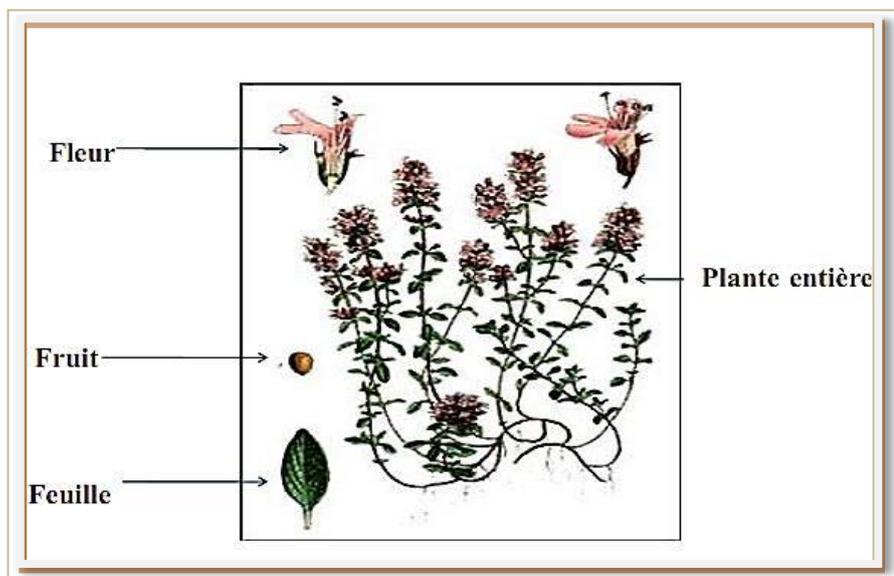
*Thymus vulgaris* est un sous-arbrisseau touffu, vivace et aromatique pouvant atteindre de 20 à 30 cm de hauteur (figure 20). Ses tiges sont dressées, ligneuses, rameuses et tortueuses à la base et ses racines sont assez robustes, ses branches sont minces, denses, ramifiées, blanchâtres et courtement velues, portant des feuilles persistantes de couleur vert grisâtre, subsessiles, opposées, oblongues-lancéolées à linéaires et mesurant de 3 à 12 mm de long et de 0.5 à 3 mm de large. Les marges de leurs limbes sont enroulées sur la face ventrale ce qui donne aux feuilles une forme générale d'aiguille. Les fleurs sont de petite taille (4 à 6 mm de long), de couleur blanche à rose, bilabiées, zygomorphes, regroupées par 2 ou 3 à l'aisselle des feuilles et rassemblées en glomérules ovoïdes.

Le calice est velu, hérissé de poils durs, vert, souvent avec des taches violettes, en forme de tube ventru à la base, mesurant de 3 à 4 mm de long (figure 20). Il est formé de 5 sépales soudés en 2 lèvres inégales, celle du haut étant tridentée et celle du bas bilobée, ciliée et arquée. La corolle est bilabiée, blanchâtre à violet pâle et de taille variable.

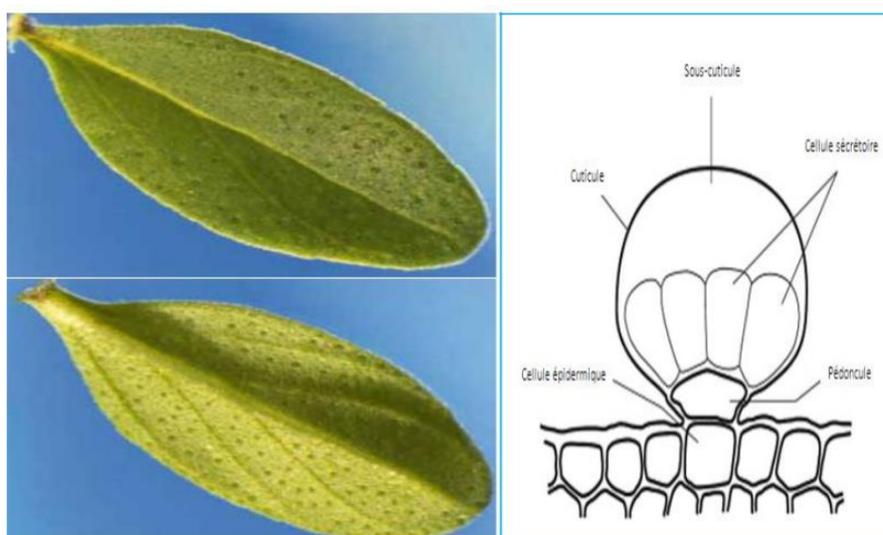
Le fruit est un tétramère brun clair à brun foncé qui renferme à maturité 4 minuscules graines (1mm). La période de floraison de l'espèce a lieu, de Mai à Août (Prasanth et al., 2014).

Il possède de petites feuilles recourbées sur les bords, de couleur vert foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes appelés trichomes (**Figure 19**).

Ces dernières sont des structures histologiques spéciales pour la synthèse et la réservation des huiles essentielles qui contiennent majoritairement des composés terpéniques. Les petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet. *Thymus vulgaris* est d'ailleurs caractérisé par un polymorphisme floral qui a été au moins aussi étudié que son polymorphisme chimique (**Bruneton, 1999 ; Morales, 2002**)



**Figure 19** :Aspect morphologiques du *Thymus* (**Iserin,2001**)



**Figure 20** : Trichomes glandulaires sur le côté adaxial (en haut) et abaxial (en bas) d'une feuille de thym, composés des cellules sécrétoires et d'une cavité de stockage. (**Moral, 2002**)

## 5. Classification Taxonomique

Ce classement se réfère à une classification botanique antérieure selon (Goetz et Ghédira., 2012). Cette classification est présentée dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 5:** Classification taxonomique de *Thymus vulgaris*

Règne	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Embranchement</b>	Magnoliophyta
<b>Sous-embranchement</b>	Magnoliophytina
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	Thymus
Espèce	Thymus vulgaris L.

## 6. Propriétés générales du thym

Le thym est utilisé par l'Homme depuis des millénaires, d'abord en médecine et pour des rites religieux. Les égyptiens l'utilisaient pour préparer des onguents servant à embaumer les morts. Les grecs et les romains purifiaient et parfumaient l'air ambiant en brûlant des rameaux de thym. Ils prenaient également des bains parfumés au thym, notamment pour se donner force et courage.

La liste de ses usages médicaux de la plante s'est considérablement allongée au moyen-âge : crampes abdominales, hoquet, tonique général... Il est par la suite également utilisé pour faciliter la digestion, lutter contre les rhumatismes, améliorer la circulation et stimuler le système nerveux. L'utilisation du thym se développe également dans le traitement des infections respiratoires, digestives et de la vessie. Aujourd'hui, les propriétés reconnues du thym et de son huile essentielle reposent sur la multiplication des études scientifiques venant confirmer ses usages traditionnels. (Stahl-Biskup E., Saez F 2002).

L'activité la plus importante du thym est son activité antibactérienne puissante et à large spectre. Elle est principalement due à la présence de phénols (thymol, carvacrol), les huiles essentielles à chémotypes phénoliques se sont montrées très efficaces, même sur des souches résistantes aux antibiotiques traditionnels. Les alcools participent également à cette

activité dans une moindre mesure (**Stahl-Biskup E., Saez F 2002**). Une teneur élevée en phénols ne semble pas garantir à elle seule la meilleure activité antibactérienne, la présence de composés minoritaires de l'huile essentielle est souvent décrite comme indispensable à la potentialisation de leur action (**Rota M.C et al 2008**).

Les huiles essentielles de thym sont utilisées dans les affections ORL, pulmonaires, gastro-intestinales et urinaires. Si le thym est très actif seul, y compris sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, il a été démontré une action additive voire synergique avec plusieurs autres huiles essentielles réputées antibactériennes contre de nombreux pathogènes (**Stahl-Biskup Saez, 2002 et Kon Rai, 2012**).

Le thym présente par ailleurs une activité antifongique intéressante que ce soit contre les dermatophytes, les moisissures alimentaires (notamment *Aspergillus*, dont il inhibe le développement mycélien et la production d'aflatoxines (**Razzaghi-Abyaneh, 2009**) et certains phytopathogènes. L'activité antifongique est principalement due à la présence de thymol et de carvacrol. Les alcools terpéniques, les aldéhydes et les cétones y contribuent également (**Kumaretal., 2008 ., Stahl-Biskup Saez, 2002**).

Il a par ailleurs des propriétés antiparasitaires et plus particulièrement vermifuges. L'activité spasmolytique est également une activité majeure de l'huile essentielle de thym, au niveau digestif et respiratoire (**Boskabady, 2006**). L'huile essentielle est carminative, apéritive et cholagogue.

Le thym a des propriétés anti-oxydantes, notamment par les phénols de son huile essentielle (thymol, carvacrol, acide rosmarinique...) (**Lee., Umamo K et al., 2005, Nikolic M et al., 2014**). Les chémotypes phénoliques sont donc les plus actifs dans ce domaine. L'acide rosmarinique confère à l'huile essentielle de thym une activité anti-inflammatoire.

### **6.1 .Les chémotypes de l'huile essentielle du thym**

Il existe 6 à 7 formes de chémotypes de *Thymus vulgaris* avec des compositions différentes de l'huile essentielle ; chaque chémotype est nommé suivant le composant principal de son huile essentielle (**Amiot, 2005**). Autrement dit, le chémotype est défini par le produit chimique dominant dans le produit (**Keefover-Ring, 2009**) (**Tableau 5**).

**Tableau 6** : Composition chimique de l'huile essentielle de thym selon la pharmacopée européenne **EDQM., 2017.**

<i>Molécule</i>	<i>Minimum (%)</i>	<i>Maximum (%)</i>
<i>Thymol</i>	36,0	55,0
<i>Carvacrol</i>	1,0	4,0
<i>p-cymène</i>	15,0	28,0
<i>Linalol</i>	4,0	6,5
<i>Terpinèn-4-ol</i>	0,2	2,5
<i>γ-Terpinène</i>	5,0	10,0
<i>β-Myrcène</i>	1,0	3,0

Seul le type "thymol" avec le thymol comme composé prédominant est conforme à la définition de la Pharmacopée européenne. La substance végétale séchée contient jusqu'à 2,5% d'huile essentielle ; les principaux composants sont le thymol, le carvacrol, le p-cymène, le  $\gamma$ -terpinène, le linalol, le  $\beta$ -myrcène, le terpinen-4-ol. Certains composés se présentent en partie sous forme de glycosides (**Règlement (CE) N° 1223/2009**) Le thymol, le carvacrol et le p-cymène sont présentés dans le tableau ci-dessous (**Lair P.-Y.2006**). Ils sont représentés dans des proportions très inégales dans la nature, et surtout tous ne sont pas exploités commercialement.

### 6.1.1 Thym à thymol

Le chémotype « thymol » est le plus répandu, présent sur presque toute l'aire de répartition de l'espèce, des sols les plus secs jusqu'aux terrains plus humides. Il est le plus souvent associé à d'autres races chimiques. C'est le chémotype correspondant à la monographie de l'huile essentielle de thym (deux espèces sont acceptées : *Thymus zygis*L. et *Thymus vulgaris*L.) présente dans la Pharmacopée Européenne. Les normes en termes de composition chimique sont rassemblées dans le tableau suivant (**Tableau 5**). Il dégage une odeur forte et caractéristique du thym. (**Robin., 2017**).

L'huile essentielle de thym à thymol a une activité antibactérienne indéniable, sur les bactéries gram<sup>+</sup> et gram<sup>-</sup>. Elle est également fortement antifongique et antivirale. Cela en fait un anti-infectieux général, à large spectre d'action. Le thym à thymol est immuno stimulant, expectorant et spasmolytique bronchique. Cette huile essentielle est donc une des huiles

essentiels de première intention dans les états infectieux, notamment au niveau pulmonaire mais elle se montre efficace quelle que soit la localisation. C'est par ailleurs un antalgique et anti-inflammatoire, utilisé en rhumatologie. (Faucon., 2012) Ses propriétés sont également digestives : carminative, apéritive, cholagogue. Cette huile essentielle est un stimulant général. L'huile essentielle de thym à thymol étant riche en phénols, elle est irritante et dermo-caustique. Son utilisation par voie cutanée doit se faire avec prudence et après dilution dans une huile végétale par exemple. La présence de phénols entraîne également une certaine hépatotoxicité pour des traitements prolongés ou à haute dose. Elle est déconseillée aux femmes enceintes et allaitantes ainsi qu'aux enfants de moins de six ans. (Fernandez, Chemat, Faucon, 2012).

### **6.1.2 Thym à carvacrol**

Le type carvacrol est l'autre huile essentielle de thym à phénols. Il se retrouve surtout lorsque les conditions de chaleur et de sécheresse sont très difficiles. L'huile essentielle de thym à carvacrol retrouve les spécificités des phénols mais ce composé étant encore plus agressif que le thymol, cette huile essentielle est très rarement utilisée (Franchomme, Pénéol, 2001, Faucon, 2012).

### **6.1.3 Thym à linalol**

Le thym à linalol est très répandu, on le trouve principalement en moyenne altitude (à partir de 500m), dans des zones à l'humidité atmosphérique relativement élevée. Son huile essentielle peut contenir plus de 80% de linalol (monoterpénol). Son odeur rappelle celle de la lavande. C'est une huile essentielle à activité anti-infectieuse: antibactérienne, antivirale, antifongique (notamment contre *Candida albicans*) et vermifuge (ténia, ascaris, oxyures). Il est utilisé dans les infections ORL, broncho-pulmonaires, urinaires et intestinales, et les candidoses. Elle est également tonique, neurotonique et légèrement antispasmodique. Cette huile essentielle a des propriétés antalgiques utilisée dans les rhumatismes musculaires. Moins agressif que le thym à thymol (il est d'ailleurs parfois appelé thym doux), on préfère utiliser ce chémotype pour les personnes sensibles ainsi que pour les enfants (Franchomme P., Pénéol, 2001, Faucon, 2012).

#### **6.1.4 Thym à thuyanol (thujanol)**

L'huile essentielle de thym à thuyanol est riche en monoterpénols : thuyanol mais également terpinèn-4-ol, myrcèn-8-ol et linalol. Il est beaucoup moins abondant que les autres thyms, sans réelle spécificité de terrain identifiée. Elle est appréciée car elle développe une grande activité, sans avoir l'hépatotoxicité des chémotypes phénoliques. Cette huile essentielle est un anti-infectieux très puissant, très réputée dans les infections ORL, broncho-pulmonaires, intestinales et urologiques et gynécologiques. Elle est également active sur les mycoses, cutanées unguéales et gynécologiques. Sa capacité à stimuler les Immunoglobulines de type A en fait un immuno-modulateur certain. Elle est également un tonique et régénérateur hépatocytaire, donc indiquée dans l'insuffisance hépatique, les hépatites virales et les cirrhoses. L'huile essentielle de thym à thuyanol est un activateur circulatoire, intéressante dans les troubles circulatoires périphériques (syndrome de Raynaud). (**Franchomme P., Pénéol D.2001, Faucon M.2012.Zhiri A., Baudoux D.2005**).

#### **6.1.5 Thym à géraniol**

Le thym vulgaire à géraniol apprécie les sols caillouteux, secs et ensoleillés des terrains d'altitude (autour de 1000m). Son huile essentielle renferme un monoterpénol, le géraniol, et surtout sa forme estérifiée, l'acétate de géranyle. Il dégage une odeur douce et fine, rappelant celle de la rose. Sa sphère d'action se rapproche du chémotypethuyanol.

L'huile essentielle est antibactérienne à large spectre, antifongique et antivirale. Elle est utilisée dans les infections ORL et uro-génital, ainsi que dans les mycoses. Elle est également cardiotonique, neurotonique et utérotonique. Tonique et astringente cutanée, cette huile essentielle est appréciée dans les atteintes cutanées et en cosmétique (elle s'utilise diluée (**Franchomme, Pénéol, 2001, Faucon, 2012**)).

#### **6.1.6 Thym à para-cymène**

Le p-cymène est un monoterpène, précurseur de synthèse du thymol et du carvacrol. Cette huile essentielle a une activité antalgique percutanée utilisée dans les rhumatismes et l'arthrose (**Franchomme, Pénéol, 2001**).

### 6.1.7 Thym à 1,8-cinéole et thym à $\alpha$ -terpinéol

Le chémotype à 1,8-cinéole (oxyde monoterpénique) se retrouve principalement en Espagne. L' $\alpha$ -terpinéol est un alcool monoterpénique. Ces deux chémotypes ne sont pas ou peu utilisés. Ils sont également moins présents dans la littérature scientifique (bien que reconnus). (Franchomme, Péroël, 2001).

## 7. Composition chimique de l'huile essentielle du thym

Les huiles sont des mélanges naturels très complexes qui peuvent contenir environ 30 à 60 composants à des concentrations assez différentes. Généralement, ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques des huiles essentielles (Chavassieux., 2012). La composition chimique de l'HE de thym comme celles d'ailleurs des autres plantes aromatiques dépend de plusieurs facteurs tels : la génétique de la plante, l'âge, les conditions édapho-climatiques et la saison de cueillette. Le tableau 5 représente la composition chimique de l'huile essentielle de *T. Vulgaris*

**Tableau 7** : Teneur en polyphénols (en  $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du *Thymus vulgaris* (Kulišić et al., 2006)

Plante	Phénols totaux	Flavonoïdes	Non- flavonoïdes	Catéchines	Anthocyanines
<i>Thymus vulgaris</i>	33.3	25.0	8.3	1.2	6.7

Industriellement, les huiles essentielles de plantes sont produites à partir de plusieurs sources botaniques dont beaucoup sont des membres de la famille de Lamiaceae. (Koul et al., 2008). De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'extraction. Malgré la différence dans la composition, les huiles essentielles présentent un certain nombre de caractères communs. Ce sont généralement des liquides à la température ordinaire, d'odeur aromatique forte (Ghestenet al., 2001). Elles sont rarement colorées très fluides et très volatils sous l'effet de la chaleur (Bruneton., 1999).

## 8. Activités biologiques du thym

### 8.1. Activité antibactérienne

**Prasanth et al., (2014) et Saleh et al., (2015)** ont rapporté que les huiles essentielles obtenues à partir du *Thymus vulgaris* L. récolté à 4 étapes de processus biologiques ont été évaluées pour leur activité biologique et leurs composants chimiques. Les huiles volatiles de Thym ont été analysées pour leurs effets d'inhibition contre 9 souches de bactéries gram<sup>-</sup> négatives et 6 souches de bactéries gram-positives (**Article 514 bis du Code Général des Impôts., Baser K.H.C., Buchbauer G .2009**). Les huiles essentielles de quatre chémotypes de *Thymus vulgaris* L. ont été analysées pour leur composition et leur activité antibactérienne afin d'évaluer leurs différentes propriétés. Les résultats obtenus indiquent que, malgré leurs différentes propriétés, les huiles essentielles des chémotypes sélectionnés de *T. vulgaris* sont des antimicrobiens puissants qui peuvent être utilisés comme additifs utiles dans les produits alimentaires ainsi que pour des applications thérapeutiques (**Lucchesi M.E 2005**). D'autres travaux ont suggéré que les extraits de *Thymus vulgaris* peuvent être appliqués comme agent antibactériens contre les bactéries pathogènes.

D'après **Ettayebi et al., (2000)**, l'activité de l'huile du thym est plus efficace contre les bactéries gram positives que contre les gram négatifs. Selon ces mêmes auteurs, l'importante activité de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* est associée à la présence de thymol qui est majoritaire dans cette huile. **Thuille et al. (2003)**, expliquent l'efficacité de l'extrait hydroalcoolique de thym comparée à l'aqueux par la présence du thymol, qui cause la perforation des membranes bactériennes et le flux rapide des composants cytosoliques.

### 8.2. Effet antifongique

En plus de l'activité antibactérienne, des études (réalisées *in vitro* et *in vivo*) ont prouvé que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* à thymol possède des propriétés antifongiques, un biopesticide efficace contre le champignon phyto-pathogène responsable de la détérioration des fraises inhibant ainsi la prolifération de *Botrytis cinerea* et *Rhizopus stolonijer*. Les propriétés antifongiques et anti aflatoxigènes de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* (TEO) ont été évaluées sur *Aspergillus flavus* "in vitro".

Le développement de la biomasse fongique et la production d'aflatoxine dépendaient de la concentration de TEO. Par conséquent, la TEO était capable de contrôler la croissance d'*A. flavus* et sa production d'aflatoxines(Figuero,2007).

### 8.3 Effets Antioxydants

Différents composés de thym lui permettent de posséder un pouvoir antioxydant, comme les deux phénols terpeniques; thymol et carvacrol. Ces constituants inhibent la peroxydationlipidique induite *in vitro* au niveau des mitochondries et des microsomes. Des études récentes indiquent que *Thymus vulgaris* est un puissant antioxydant et assure des doses élevées d'acides gras essentiels dans le cerveau (Iserin, 2001). Les principaux composés aromatiques volatils trouvés dans les extraits de basilic et de thym présentaient des quantités variables de l'activité anti-oxydante. En particulier, l'eugénol, le thymol, carvacrol et 4-allylphénol, présentaient une activité antioxydante comparable aux antioxydants connus, BHT et atocophérol (Lee et al., 2004).

En général, les propriétés antioxydantes et antiradicalaires d'extraits végétaux sont associées à la présence de composés phénoliques possédant la capacité de piéger les radicaux libres. De nombreux rapports indiquent une bonne corrélation entre la RSA et la concentration des composés phénoliques. Selon les travaux de Bouhdidet al.,(2006),l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L évaluée par deux méthodes différentes : la technique de décoloration du  $\beta$  carotène et le test du DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl) montre que cette essence exerce une activité antioxydante *in vitro* très puissante.

Les parties feuillues du thym et son huile sont utilisées dans les aliments pour la saveur, l'arôme et la conservation, ainsi que dans les médecines traditionnelles (Article 514 bis du Code Général des Impôts.,Baser K.H.C., Buchbauer G .2009),El-Nekeety et al., (2011)ont mené une expérience pour déterminer les éléments de l'huile de *Thymus vulgaris* L. et évaluer les effets protecteurs de cette huile contre les aflatoxines induisant le stress oxydatif chez le rat. Les résultats ont indiqué que l'huile contient du carvacrol (45 mg/g), du thymol (24,7 mg/g), du  $\beta$ -Phellandrène (9,7 mg/g), de l'huile essentielle (4,1 mg/g), de l'humuline (3,1 mg/g) ,  $\alpha$ -Phellandrène (2,3 mg/g) et Myrcène (2,1 mg/g) (Howard L., 2017)

#### **8.4 Effets insecticides**

Les plantes aromatiques méditerranéennes et leurs composants allélochimiques semblent avoir un pouvoir potentiel dans les stratégies de lutte intégrée. Ils contiennent plusieurs familles de molécules allélochimiques, qui ont différents effets insecticides sur de nombreux insectes (**Regnault-Roger et al., 2004**). Néanmoins, la sélectivité des différents produits étudiés peut être très variable. Par exemple, il a été parfois constaté avec certaines matières actives que les insectes auxiliaires se trouvaient également affectés alors qu'ils représentent un moyen de lutte biologique très efficace (**Piasentin, 2010**).

D'après **Koul et al., (2008)**, bien que de nombreux composés mono terpéniques ont des propriétés insecticides, le degré de toxicité des composés pour une même espèce diffère considérablement.

Afin d'obtenir une formulation qui pourrait être commercialisable l'équipe de **Moretti (2002)** a procédé à une micro-encapsulation des huiles essentielles; la toxicité de ces microcapsules s'est traduite par une paralysie des chenilles dont l'action est maximale quand les microparticules se fixent aux poils des chenilles.

Etudiant le mode d'action sur des larves de taupins, **Waliwitiya et al., (2009)** ont conclu que le thymol, composé majoritaire de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*, cause une hyperactivité initiale suivie par une hyper-extension du segment abdominal, une paralysie prolongée et puis la mort.

#### **8.5 Effets secondaires et Toxicité**

Les huiles essentielles sont très connues par leurs activités biologiques. Cependant, Il est reconnu que ces dernières contiennent différents composés et que l'effet synergique ou additif de plusieurs constituants évalués par des tests toxicologiques demeure inconnu (**Costa et al., 2011**). Selon ce dernier, bien que des espèces qui présentent une utilisation répandue en médecine traditionnelle comme *Cymbopogon citratus* (citronnelle), il n'existe pas de données scientifiques sur l'efficacité ou l'innocuité après des traitements répétés.

Dans des essais de toxicité subaiguë de l'huile essentielle de *Zingiberofficinalis* effectués par **El-Banna et al, (2010)**, une diminution du poids corporel est observée après l'administration de l'huile essentielle et ceci pourrait être le résultat d'une diminution de la prise alimentaire de ces animaux. Les données **d'Al-Badr (2011)**, montrent que l'huile essentielle de thym injectée aux rats a un effet inoffensif sur le foie et les reins en raison de l'induction de petits changements dans l'activité aminotransferase.

**Partie2:**  
**Materiels et méthodes**

## 1. Analyse de la modélisation Spatiale de *Venturia inaequalis*

- **Evolution du champignon au verger**

L'objectif général est de comprendre la distribution spatio-temporelle de la tavelure du pommier, dans un milieu hétérogène et de proposer des méthodes de lutte visant à enrayer le développement spatio-temporel de ce bio-agresseur. Cette approche permettra de mieux comprendre les effets de l'hétérogénéité du milieu. Autrement dit :

- (i) Caractériser la distribution spatio-temporelle de ce bio-agresseur
- (ii) décrire les effets de l'hétérogénéité du milieu sur cette distribution spatio-temporelle
- (iii) déduire des effets de dispersion des bio-agresseurs.

### 1.1. Matériel végétal

#### 1.1.1. Présentation du site d'étude

L'expérience a été réalisée au cours des printemps 2018 et 2019 dans un verger de pommier (variété précoce : Hanna), situé dans la commune de Ben m'hidi wilaya d'El Tarf, route de Asfour, (**Figure 23**), d'une superficie de 2,4 hectares d'une distance de plantation de 04 m entre ligne et 02 m entre les arbres, équipé d'un système d'irrigation en goutte à goutte, l'âge de ces plants fruitiers est de 23 ans. Ce verger subit chaque année des pratiques d'entretiens nécessaires comme la taille, les labours superficiels, la destruction des mauvaises herbes.



**Figure 21** : Localisation géographique de la zone d'étude (Google earth 2018)

**1.1.. Choix du verger**

Le choix de ce verger repose sur les critères suivants :

- Présence de symptômes de la tavelure sur les plants Du pommier;
- accessibilité au terrain.
- Coopération de l’agriculteur.
- Sécurité.

**1.2. Caractéristiques climatiques de la région d'étude**

La connaissance du climat est d'une importance cruciale dans la conduite d'un verger arboricole puisqu'il intervient dans les différents processus relatifs à la culture des espèces fruitières et sur la manifestation et le développement des maladies et des ravageurs. Pour ces raisons, l'étude et la connaissance des variations climatiques s'avèrent indispensables pour la prévision de toute attaque d'insectes, champignons, bactéries et virus. La région de notre étude est caractérisée par un climat méditerranéen, doux et pluvieux, printemps précoce, un été chaud et sec et un automne peu humide. Pour notre étude, les données climatiques (la température, la pluviométrie et l'humidité relative) des deux périodes allant du mois de janvier jusqu'à la fin juin des deux années successive 2018 et 2019 de la région de Tarf sont récupérées au près de l'Institut technique des fruits et légumes (ITCMI) de la wilaya d' El-Tarf.

**Sol fiche tehnique**

**1.2.1. Température**

D'après **Ramade.,(1994)**, la température représente un facteur limitant important, car elle contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques, de ce fait, elle conditionne la répartition des êtres vivants dans la biosphère. Les températures mensuelles minimales, maximales et moyennes enregistrées dans la wilaya d'El Tarf durant la période comprise entre le 01 Janvier 2018 jusqu'au 31 décembre 2019 sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 8:** Les températures (min, max, moy) de la wilaya d’El Tarf allant de jan à juin des deux années 2018 et 2019 (ITCMI. El-Tarf, 2019)

Mois	2018						2019					
	Jan	Fev	Mars	Avril	Mai	Juin	Jan	Fev	Mars	Avril	Mai	Juin
T°Max	16.7	14.8	<b>17.5</b>	<b>21.2</b>	<b>22.3</b>	25.3	14.2	12.6	<b>17.4</b>	<b>18.3</b>	<b>20.5</b>	28.2
T°Mini	13.4	11.5	<b>13.7</b>	<b>17.6</b>	<b>18.4</b>	23.5	12.5	13.4	<b>14.8</b>	<b>16.7</b>	<b>19.8</b>	26.5
T°Moy	15.6	13.3	<b>15.9</b>	<b>17.1</b>	<b>20.7</b>	25.8	13.1	13.8	<b>15.2</b>	<b>17.4</b>	<b>18.6</b>	27.7

En réalité les années agricoles se succèdent mais ne se ressemblent pas, et en ce qui concerne le paramètre température, nous pouvons conclure suite à la comparaison des moyennes des températures des deux années d'étude que les mois de notre essai (Mars- Avril et Mai) ont été marqué par des températures saisonnières favorables au développement de la tavelure tandis que pour le reste des mois la cadence est similaires comme indiquer sur le tableau ci-dessus.

**1.2.2. Pluviométrie**

L'eau est un facteur déterminant de la production fruitière, elle est considérée comme un facteur limitant vu son importance dans l'adaptation des espèces arboricoles. La pluviométrie en Algérie est sous l'influence des facteurs géographiques : l'altitude, la latitude, la longitude et l'exposition. L'augmentation de la pluviométrie est observée avec chaque élévation de l'altitude; Les quantités de pluies enregistrées durant l'année 2018-2019 sont présentées dans le tableau suivant.

**Tableau 9:** Valeurs moyennes des précipitations mensuelles (en mm) durant la période allant de janvier à juin des deux années 2018 et 2019(ITCMI. El-Tarf, 2019).

Mois	2018						2019					
	Jan	Fev	Mars	Avril	Mai	Juin	Jan	Fev	Mars	Avril	Mai	Juin
P(mens)	23.6	89.4	59.6	25.1	60.4	2.9	189.5	95.7	155.4	10.4	64.9	0

**P (mens) : Pluviométrie mensuelle.**

A partir du tableau ci-dessus on constate que la quantité enregistrée pendant la période d'étude est de l'ordre de **776,9**mm. Les précipitations mensuelles les plus élevées dans la région d'El-Tarf durant la période de notre étude sont enregistrées en mois mars 2019 avec une quantité de **155,4** mm, et le plus sec est les mois Juin avec une valeur nulle.

**1.2.3. Humidité relative**

L'humidité est la quantité de vapeur d'eau qui se trouve dans l'air. L'humidité relative moyenne (en %) enregistrées durant la période d'étude sont représentées dans le tableau 8.

**Tableau 10:** Humidité moyenne (en %) de jan 2018 à juin 2019 (ITCMI. El-Tarf)

Mois	2018						2019					
	Jan	Fev	Mars	Avril	Mai	Juin	Jan	Fev	Mars	Avril	Mai	Juin
Humidité	75	77	78	78	77	68	77	75	77	78	76	64

Le tableau ci-dessus montre que le mois d'Avril est le plus humide avec un taux de 78 %, par contre le taux d'humidité le plus faible est noté durant le mois de juin avec 68 %. Les facteurs (température, pluviométrie et humidité) ont une influence directe sur l'activité des champignons phytopathogènes entre autre la tavelure du pommier, et conditionnent ainsi l'apparition des symptômes sur les sujets porteurs et la contamination de ceux qui sont au stade opportun.

## **2.2. Dispositif Expérimental**

Le suivi a constitué tout d'abord à observer l'apparition des taches de la tavelure sur feuilles en s'appuyant sur les informations données par le réseau d'observation (SRPV). Pour cet essai le dispositif adopté comporte 05 modalités traitées, chaque modalité est caractérisée par 01 bloc de 10 arbres avec un témoin non traité (**figure 22 et 23**).



**Figure 22:** Vue générale du verger de pommier (**Prise personnelle, 2018**)

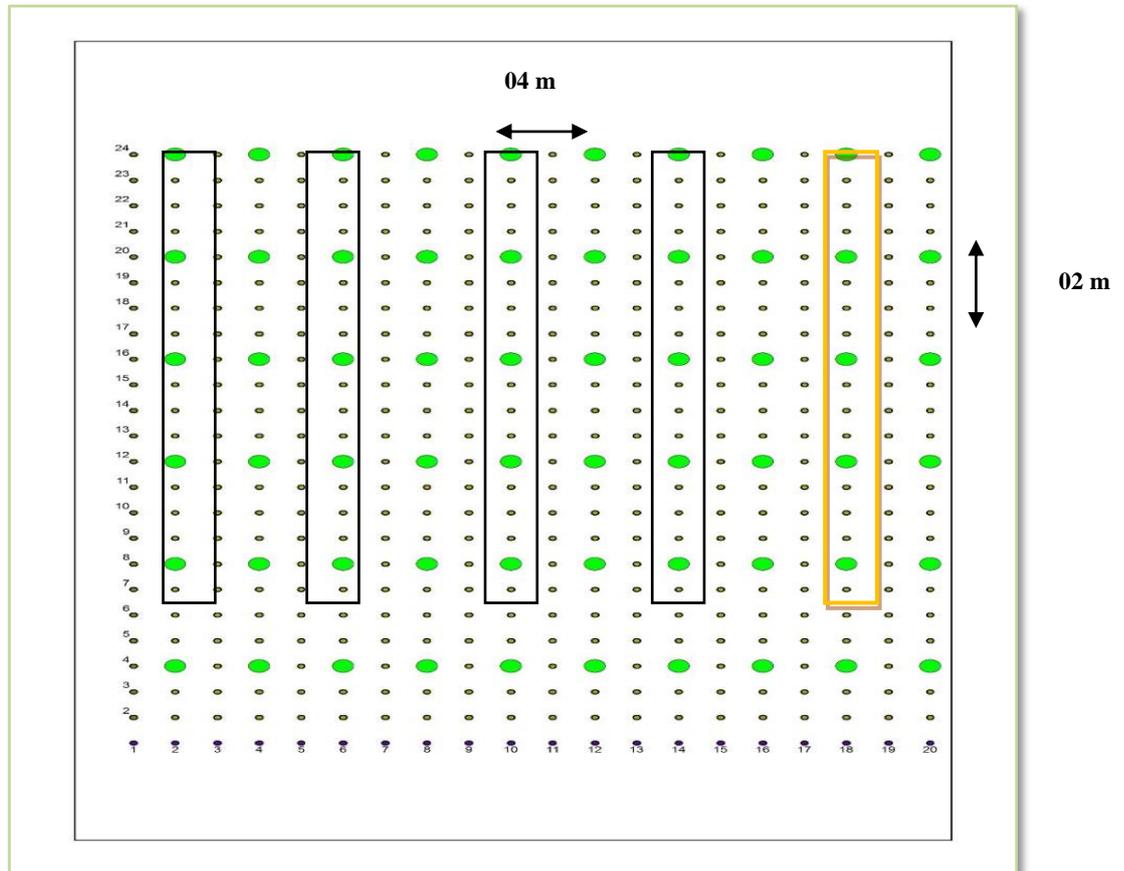
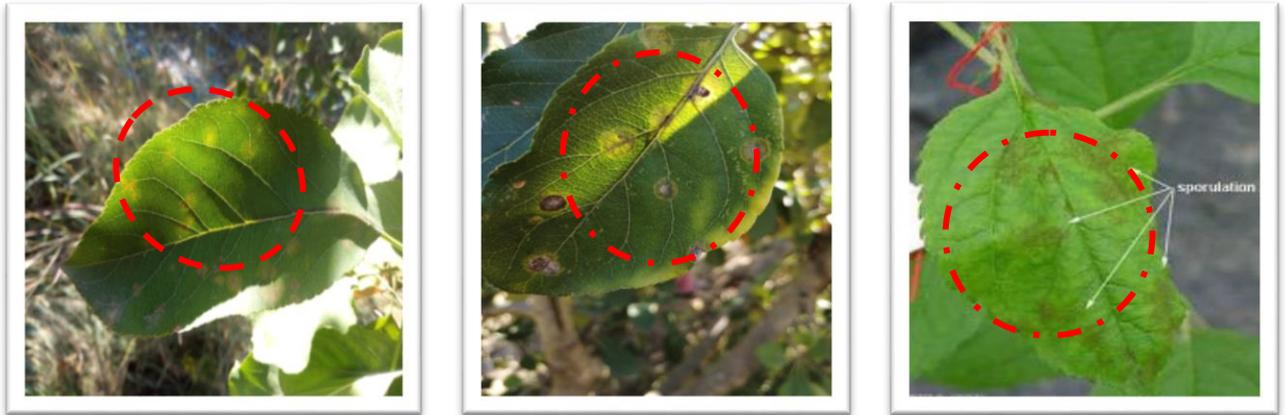


Figure 23 : Schéma Du Dispositif expérimental

## 1.4. Méthodes

### 1.4.1. Suivi des infestations sur terrain

L'objectif de notre travail est la mise en évidence du champignon phytopathogène *Venturiainaequalis* agent causal de la tavelure dans un verger de rosacées à pépins au niveau de la région de Ghaiada Commune de Ben M'hidi. Nous avons effectué une prospection sur le verger du pommier en mois de Février 2018 et nous avons constaté des lésions vert olivâtres des feuilles a raison d'une sortie par semaine, les parties apicales des nouvelles pousses sont de couleur vert olive foncé, donc la maladie s'est propagée à partir des inflorescences. Stade C-C3 (figure 24).



**Figure 24** : Les infestations observées sur le verger du pommier (Benaliouche.F)

Les symptômes observés sont typique à ceux de la maladie de la tavelure, provoquée par *Venturia inaequalis* qui s'attaque aux rosacées à pépins. Ce constat nous a poussés à faire une recherche approfondie sur cette maladie et réaliser un diagnostic au laboratoire pour identification de l'agent phytopathogène à travers des tests d'isolement sur milieu de culture.

En étudiant les données climatiques de la région d'El Tarf, nous avons remarqué qu'à partir du mois de Mars, les conditions climatiques favorables à l'apparition de la tavelure étaient réunies, à savoir, une température de  $17^{\circ}\text{C}$  et une humidité de  $77\%$  ainsi que le stade végétatif de la culture du Pommier (floraison). Les symptômes se manifestent par l'apparition de taches de forme circulaire principalement visibles sur la face supérieure du limbe. Elles sont dans un premier temps translucides dites « taches d'huiles » puis olivâtres et prennent un aspect velouté. Souvent, des taches brunit (Boves *et al.*, 1967) peuvent être du à cette maladie (Figure 24). Cette dernière s'est propagée vers les jeunes pousses qui étaient tendres en moi d'Avril où les conditions climatiques étaient toujours favorables. A cet effet, nous avons réalisé un échantillonnage au niveau de ce verger (en février 2018) pour les analyser au laboratoire et identifier l'espèce causale. Cette étape a été réalisée à la Station Régionale de la Protection des Végétaux d'El Tarf (SRPV).

#### 1.4. 2. Echantillonnage sur le terrain

L'échantillonnage de l'agent pathogène de la tavelure a été effectué sur les feuilles de deux pousses végétatives (Pris au hasard à raison d'une fois par semaine de Février à Juin) (figure 25). Lors d'un relevé de tavelure, on détermine également la sévérité qui est évaluée à partir du nombre des taches présentes sur chaque feuille tavelée. Le comptage se fait sur 10 arbres

en raison de 20 pousses par arbre. Les notations, pour chaque pousse, se calculent selon le rapport suivant :

$$\frac{\text{Le nombre de feuilles tavelées}}{\text{le nombre total de feuilles et pousses observées}} \times 100$$

Selon le laboratoire de la station Régionale de la Protection des Végétaux, les méthodes d'échantillonnage utilisées dans le cadre du dépistage des maladies cryptogamiques sur arbres fruitiers à pépins diffèrent selon l'état phytosanitaire des vergers.

Sur chaque point d'échantillonnage, nous avons choisis cinq arbres au hasard soit vingt-cinq arbres au total, et nous avons prélevé vingt-cinq tiges sur chaque arbre à l'aide d'un sécateur. Ce dernier est désinfecté en passant d'un arbre à un autre. L'échantillon est constitué de tiges d'environ 30 cm de longueur, et de feuilles, chaque échantillon prélevé sur un même arbre est mis dans un sac en papier.



**Figure 25:** Echantillonnage au niveau du verger de pommier (prise personnelle 2018)

Les échantillons de pommier ont été transportés dans des glacières et sont préservés dans un réfrigérateur à 5°C, puis acheminés vers le laboratoire de Mycologie de la SRPV d'El-Tarf pour analyse et identification (la méthode d'identification sera développée ultérieurement dans la partie thym).

## **2. Méthode d'interpolation spatiale par krigeage (Géostatistique)**

La connaissance de la distribution spatiale des espèces est essentielle pour les gestionnaires des milieux naturels afin d'identifier les priorités de conservation (habitats et espèces vulnérables) et désigner d'éventuelles aires à protéger. Au cours des dernières années, la modélisation prédictive de la répartition spatiale des espèces est devenue un outil de plus en plus utilisé pour traiter diverses questions de l'écologie, de la biogéographie, de l'évolution et, plus récemment, de la biologie de la conservation. Toutefois, les données recueillies se caractérisent souvent par une structure et une autocorrélation spatiale. En effet, cette propriété des variables écologiques peut être observée le long d'une série chronologique (autocorrélation temporelle) ou à travers l'espace géographique (autocorrélation spatiale) (Legendre, 1993). Malheureusement, la plupart des méthodes statistiques classiques ne tiennent pas compte de cette information spatiale dans les modèles prédictifs.

Les techniques de la géostatistique sont adaptées à la modélisation de variables ou de phénomènes structurés dans l'espace. Ce type de variables présente en effet une continuité spatiale qui se traduit par le fait que deux mesures, effectuées en deux points distants, de la variable considérée, ont tendance à être d'autant plus semblables que les points de mesure sont proches. L'utilisation de ces techniques permet de prendre en compte la structure spatiale du phénomène étudié et de réaliser une carte de prédiction par le biais du krigeage.

L'utilisation du krigeage nécessite l'introduction de l'hypothèse de stationnarité qui se définit comme étant l'invariance par translation de la loi spatiale du processus. Cette hypothèse stipule que la moyenne et la variance de la variable régionalisée ne dépendent pas de la position des points mais seulement de la distance entre les points (**Matheron, 1970; Arnaud et al., 2001 ; Gratton, 2002 ; Chauvet, 2008**).

### **2.1. Analyses des données**

#### **2.1.1. Cartes de répartition spatiale des lésions de la tavelure**

Les cartes de répartition spatiale représentent la distribution de différentes incidences de la tavelure identifiées sur les parcelles pour les deux années d'observation 2018/2019. Pour réaliser ces cartes de répartition spatiale, chaque arbre a été affecté des coordonnées **X** et **Y** représentant respectivement la position de la ligne et du Pommier sur la ligne. La distance entre les lignes du Pommier est de **4** mètres et la distance entre deux Pommiers sur la ligne est

de 2 mètres. Ces coordonnées ont été transformées en couche d'information sous le logiciel ArcGIS Desktop 10.8.

Afin de réaliser ces cartes de prévision, une méthode géostatistique a été retenue : **le krigeage simple**. C'est une méthode d'interpolation issue de la géostatistique. Le terme krigeage, «kriging » en anglais, provient du nom de famille de l'ingénieur minier Sud-africain Daniel Gerhardus Krige (1930-2000) à l'Ecole des Mines de Paris. Dans les années 50, Krige<sup>1</sup> a développé une série de méthodes statistiques empiriques afin de déterminer la distribution spatiale de minerais à partir d'un ensemble de forages.

Depuis, le domaine de ses applications a largement été étendu, touchant notamment la météorologie, les sciences de l'environnement, etc. C'est cependant le français Matheron<sup>2</sup> qui a formalisé l'approche en utilisant les corrélations entre les forages pour en estimer la répartition spatiale. C'est lui qui a baptisé la méthode « Krigeage ».

Il a aussi été le premier à utiliser le terme « géostatistiques » pour désigner la modélisation statistique de données spatiales. Les mêmes idées ont été développées parallèlement en URSS par L.S. Gandin<sup>3</sup>. Gandin a baptisé sa méthode « interpolation optimale ». Le krigeage est donc une méthode d'interpolation spatiale, parfois considérée comme la plus juste d'un point de vue statistique, qui permet une estimation linéaire basée sur l'espérance mathématique et aussi sur la variance de la donnée spatialisée. A ce titre le krigeage se base sur le calcul, l'interprétation et la modélisation du variogramme, qui est une appréciation de la variance en fonction de la distance entre données (**Saito et al., 2005**).

En pratique, le krigeage est le nom donné à l'élaboration de l'estimation locale, ça concerne l'estimation d'une portion bien circonscrite du champ de la variable régionalisée étudiée grâce à des données disponibles bien délimitées. Nous devons donc, définir une quantité à estimer appliquée à la variable régionalisée, l'estimateur et l'erreur d'estimation. L'erreur d'estimation est la différence entre la valeur à estimer et l'estimateur. L'estimateur serait une combinaison linéaire des données disponibles dont nous ne connaissons pas les poids, car justement, ce sont ces poids qui restent les inconnues du problème d'estimation locale. Ils seront définis grâce à la méthode classique basée sur le formalisme probabiliste, ainsi déterminés, ces poids seront par la suite affectés aux données.

### 2.1.2. Systèmes de krigeage

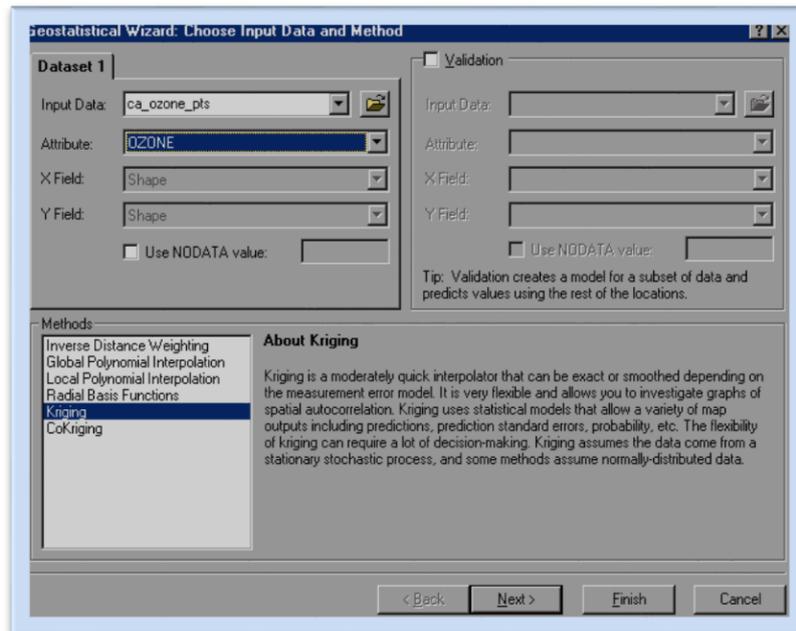
Le krigeage effectue le calcul de la variance d'estimation minimale pour tout estimateur linéaire. Dans le cadre stationnaire, il y a deux formes particulières de krigeage, selon que la moyenne du processus est connue ou non. Soit un krigeage simple soit ordinaire. Ce dernier est, de loin, le plus fréquemment utilisé. (Marcotte, 2003) Pour formuler complètement le modèle, il faut spécifier la forme de la tendance  $\mu(\cdot)$ . C'est en fait cette tendance qui précise le type de krigeage effectué. Le Krigeage consiste ensuite à calculer les  $W$  de l'équation (1) à l'aide des valeurs de la fonction  $h$  correspondant aux  $m$  points choisis.

Il existe trois types de Krigeage univarié (i.e. à une seule variable): le Krigeage simple, le Krigeage ordinaire et le Krigeage universel. La différence entre ces types d'estimation réside dans la connaissance de la statistique de la variable à interpoler.

- (1) Krigeage simple : variable stationnaire de moyenne connue;
- (2) Krigeage ordinaire : variable stationnaire de moyenne inconnue
- (3) Krigeage universel : variable non-stationnaire (qui contient une tendance).

L'objectif de cette analyse est de connaître la structure spatiale ou le mode de répartition des lésions de la tavelure du pommier (*Venturia inaequalis*) dans la parcelle. Ceci permet d'appréhender la complexité des systèmes dans lesquels se déroulent nos travaux. Chaque arbre était représenté par un point. Ils'agit de savoir si les semis de points sont repartis selon une structure aléatoire, régulière ou agrégée. Pour chaque sous-population la fonction  $L(r)$  de Besaga été utilisée (Goreaud, 2000).

La fonction  $L(r)$  dérive de la fonction  $K$  de Ripley. Cette fonction caractérise la structure de voisinage autour d'un point. Elle est utilisée pour un processus de ponctuel homogène et isotrope de densité.



**Figure 26** : Procédure de confirmation opérationnelle du krigage simple

Pour chaque date du suivi épidémiologique, une carte expérimentale est construite à partir des valeurs obtenues sur le terrain pour mettre en évidence la distribution spatiale des bioagresseurs (étape a). La carte est couramment utilisée pour analyser la dépendance spatiale entre des points (ici les pommiers) ; qui représente les écarts quadratiques moyens entre deux points  $x_i$  et  $x_j$  en fonction de la distance qui sépare ces points (Saito et al., 2005). En écologie, un des problèmes-clés est de comprendre comment les individus sont distribués dans un espace donné. (Lamote et Bourlière., 1969)

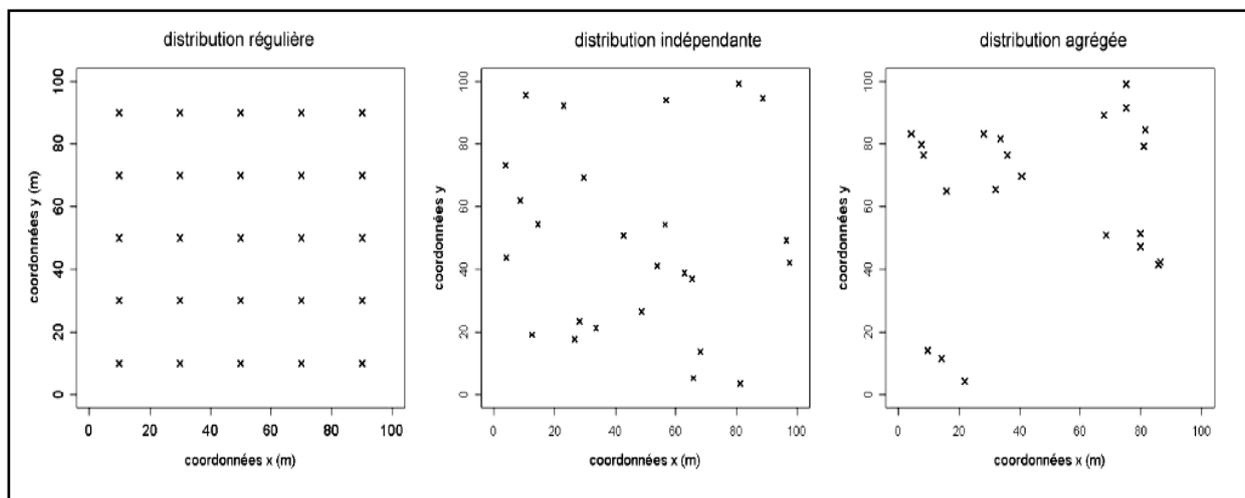
Les individus peuvent se distribuer dans l'espace en s'écartant au maximum les uns des autres, ce qui donne une structure régulière. **Complete spatial randomness**: Il n'y a pas de structure spatiale et la position des individus peut être complètement aléatoire, auquel cas certains auront des proches voisins et d'autres non.

Le nombre des individus dans l'espace ne dépendra que de la superficie (selon un processus de Poisson) et pour un nombre donné d'individus, à une distribution uniforme. Chaque individu aura la même probabilité d'être placé dans n'importe quel point de l'espace considéré. Enfin, les individus peuvent aussi avoir une structure spatiale agrégée dans l'espace.

Il est important de noter que le type de structure dépend en partie de l'échelle à laquelle on travaille : dans un milieu périurbain les habitations sont distribuées de manière régulière, alors qu'à l'échelle du département, elles sont clairement agrégées en agglomérations. Afin de déterminer le type de structure, on peut utiliser l'indice de dispersion (ou indice de variance relative de **Fisher et al. 1922 in Lamote et Bourlière (1969)**).

On partage l'espace en une série de  $n$  quadrats (carrés ou mailles) de taille constante, et on compte le nombre d'individus par quadrat. Soit  $X$  la moyenne observée du nombre d'individus par quadrat et  $S^2$  sa variance observée, L'indice de Fisher est calculé par :

$$I_{dispersion} = \frac{S^2}{\bar{X}}$$



**Figure 27** : Illustrations des structures spatiales régulières, aléatoires et Agrégées (D'après Goreaud., 2000)

- Si  $I_{dispersion} < 1$ , la structure spatiale est en agrégats,
- si  $I_{dispersion} = 1$ , la structure spatiale est complètement aléatoire (Processus de Poisson),
- si  $I_{dispersion} > 1$ , la structure spatiale est régulière.

On peut tester cette valeur, afin de savoir si la distribution des individus est complètement aléatoire ou non (dans quelle mesure l'indice calculé est-il voisin de 1?). La valeur  $I(n-1)$  *dispersion* suit approximativement une loi de  $\chi^2$  à  $n-1$  degrés de liberté. On rejettera l'hypothèse nulle ( $H_0$  : pas de structure spatiale, définie par une structure spatiale complètement aléatoire), avec un risque  $\alpha = 0.05$  dans les deux cas suivants :

(cas 1)  $I_{dispersion}(n-1) < q_{(n-1; 0.025)}$ ,

La structure spatiale sera considérée comme plutôt régulière.

(cas 2)  $I_{dispersion}(n-1) > q_{(n-1; 0.975)}$ ,

La structure spatiale sera considérée comme plutôt agrégée

### 2.1.3. L'interpolation de pondération par l'inverse de la distance (PID)

Elle détermine les valeurs de cellule via la combinaison pondérée de manière linéaire d'un ensemble de points d'échantillonnage. La pondération est une fonction d'inverse de la distance. La surface qui est interpolée doit être celle d'une variable dépendante de l'emplacement.

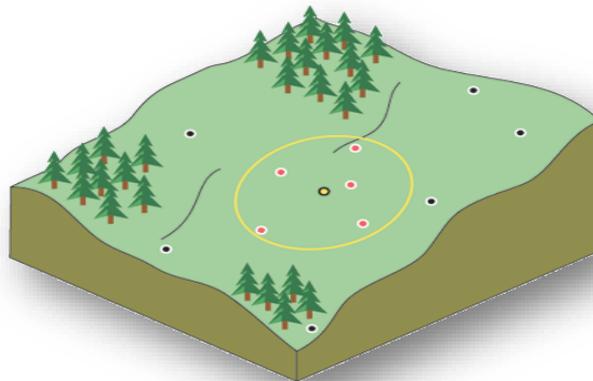


Figure 28. Voisinage IDW pour le point sélectionné

La **Pondération Inverse à la Distance** (PID) est une méthode d'interpolation spatiale, un processus permettant d'assigner une valeur à un espace non connu à partir d'un semis de points connus.

Une forme courante pour trouver une valeur interpolée  $u$  à partir d'un point donné  $\mathbf{x}$  en utilisant la PID est une fonction d'interpolation :

$$u(\mathbf{x}) = \frac{\sum_{k=0}^N w_k(\mathbf{x})u_k}{\sum_{k=0}^N w_k(\mathbf{x})}, \quad \text{Ou} \quad w_k(\mathbf{x}) = \frac{1}{d(\mathbf{x}, \mathbf{x}_k)^p},$$

Cette méthode suppose que l'influence de la variable tracée décroît avec la distance par rapport à l'emplacement échantillonné. Par exemple, lors de l'interpolation de la surface du pouvoir d'achat des consommateurs pour l'analyse d'un site de détaillants, le pouvoir d'achat d'un emplacement plus lointain aura moins d'influence car les gens ont tendance à effectuer leurs achats à côté de chez eux.

### **3.Evaluation du potentiel antifongique et anti-oxydante de l'huile essentielle du *Thymus vulgaris***

#### **3.1. Matériel végétal**

Le matériel végétal choisi dans la présente étude est le Thym (*Tymus vulgaris*) et plus spécialement sa partie aérienne (feuilles et tiges) qui a été récoltée au mois de novembre 2017 dans la région de Seraidi (Annaba). Les feuilles et les tiges ont d'abord été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 15 jours puis conservées dans des sacs en papier à l'abri de l'humidité à raison de 100g par sac pour servir ultérieurement à l'extraction des huiles. L'identification de cette espèce botanique a été réalisée au niveau du laboratoire de Malherbologie à la Station Régionale de la protection des végétaux à El-Tarf.



**Figure29.** La Matière sèche.

## **3.2. Extraction des huiles essentielles de thym**

### **3.2.1. Description du dispositif d'extraction**

L'appareil utilisé pour l'hydro distillation est de type Clevenger, il est constitué d'un chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon, ce dernier est en verre pyrex ou l'on place 10g des feuilles séchées et 100 ml d'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement du ballon, un collecteur en verre pyrex également qui reçoit les extraits de la distillation. L'huile essentielle obtenue (Après 2 heures d'ébullition environ) est conservée à 4 °C dans un flacon hermétiquement fermé selon les normes **ISO 9235**.

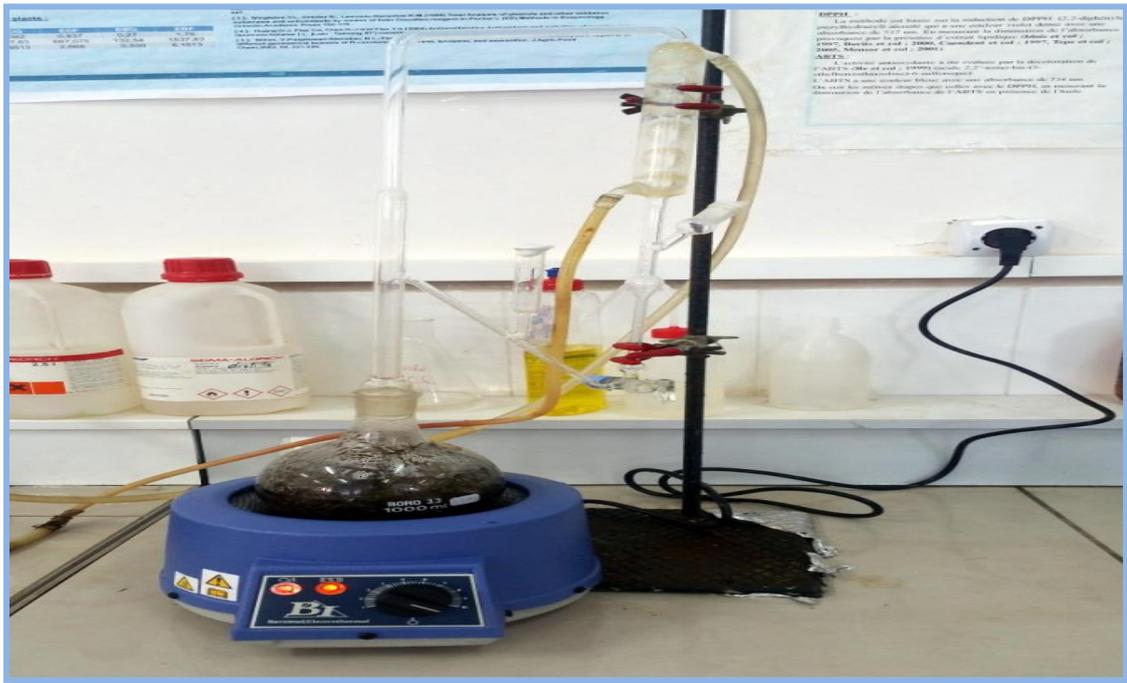


Figure 30 : Dispositif de l'hydro distillation (Prise personnelle)

### 3.2.2. Détermination de la cinétique et du rendement d'extraction

Pour étudier la cinétique d'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne du Thym à l'état sec, nous avons récupéré des quantités de l'huile essentielle correspondantes à des intervalles de temps de 10 min qui s'étalent de 0 à 90 minutes. Les quantités de l'huile essentielle obtenue permet le calcul des rendements à chaque intervalle de temps par la formule suivante (AFNOR ., 1986):

$$\text{RHE (\%)} = \frac{M'}{M} \times 100$$

**RHE** : rendement en huile essentielle des fleurs sèches ;

**M'** : masse d'huile essentielle (g) **M** : masse de la matière végétale sèche (10 g).

### 3.2.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables. C'est pourcela nous les avons conservées à une température voisine de 4 °C, dans un flacon en verrebrun fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière.

### **3.3. Caractérisation chimique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par Chromatographie en Phase Gazeuse CPG**

L'analyse chromatographique a été effectuée au centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimique (CRAPC), Algérie sur un chromatographe en phase gazeuse à régulation électronique de pression de type Hewlett Packard (série HP -5MS), équipé d'une colonne capillaire HP-5 (30 m x 0,25 mm) avec une épaisseur du film de 0,25 µm, d'un détecteur FID réglé à 200 °C et alimenté

par un mélange de gaz H<sub>2</sub>/Air et un injecteur split-splitless réglé à 275 °C. Le mode d'injection est split (rapport de fuite : 1/50). Le gaz utilisé est l'hélium pur avec un débit de 0.5 ml·min<sup>-1</sup>. La température de la colonne est programmée de 50 à 250 °C à raison de 4 °C·min<sup>-1</sup>. L'appareil est piloté par un système informatique de type « *HP ChemStation* », gérant le fonctionnement de l'appareil et permettant de suivre l'évolution des analyses chromatographiques (CRAPC, 2018).

### **3.4. Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle du Thym**

#### **3.4.1. Matériel fongique**

Le champignon étudié dans ce travail c'est l'agent pathogène responsable de la tavelure du pommier (*Venturia inaequalis*) qui a été isolé à partir des lésions développées sur des feuilles du pommier (var. Hanna) prélevées dans un verger situé dans la commune de Ben M'hidi (El-Tarf). Cette espèce a été choisie pour les dégâts considérables qu'elle cause aux pommes. L'identification de l'espèce fongique est basée sur l'observation macroscopique (aspect morphologique de mycélium, vitesse de la croissance, couleur et texture de thalle, ...) et l'examen microscopique d'une colonie fongique

#### **3.4.2. Isolement et identification de la tavelure du pommier**

*Venturia inaequalis* a été isolée à partir des échantillons de jeunes feuilles qui présentent les symptômes de la maladie au printemps. Les échantillons des feuilles tavelées sont fraîchement découpés au scalpel, puis observés au microscope optique pour confirmer la présence d'ascospores, ensuite désinfectés dans l'hypochlorite de sodium dilué à 2 % pendant 10 minutes, suivie d'un rinçage dans 3 bains successifs d'eau distillée stérile pendant 5 minutes chacun, puis sont séchés dans une hôte entre deux feuilles de papier stérile (figure 32) les échantillons sont ensuite étalés (100 µL / boîte de 90 mm) sur milieu PDA. L'incubation se fait dans une étuve (18°C) pendant une semaine (CTIFL., 2015).



**Figure 31** : Identification de l'agent pathogène de la tavelure du pommier  
(Repiquage, incubation et observation microscopique)

### 3.4.3. Choix du fongicide de référence

Le Score est le pesticide de référence utilisé au cours de cette expérimentation pour comparer la sensibilité de la souche isolée vis-à-vis l'huile essentielle du thym par rapport au pesticide de synthèse.

C'est un Fongicide systémique, composée de 250 g de Difénoconazole, utilisé en lutte préventive et curative d'un large spectre de maladies foliaires dont la tavelure du pommier. Le Score est rapidement diffusé dans les parties aériennes des plantes par action translaminaire et par systémie locale.

Il bloque de façon significative le développement du mycélium dans les tissus végétaux et empêche l'apparition des symptômes.

### **3.4.4. Méthode d'évaluation de l'activité antifongique**

L'activité antifongique a été évaluée par la méthode de dilution en milieu solide pour déterminer les taux d'inhibition et en milieu liquide pour déterminer les CMI, CMF. (Baba-Moussa,1999; Batawila, 2002; Moulari, 2005 ; Laib, 2012).

#### **3.4.4.1. Technique de dilution en milieu Solide**

##### **a. Préparation des solutions méthanoliques**

En se basant sur des essais préalables, une gamme de solutions de concentration allant de 100 µg/ml à 600 µg/ml a été préparée par l'ajout de l'huile essentielle du thym dans 10ml de solvant constitué de 50% d'eau et 50% d'éthanol (pour éviter des gênes de précipités lors de la culture sur milieu liquide).

##### **b. Méthode a corrigé**

Chacune des solutions méthanoliques (0,5ml) des HE testées à différentes concentrations (100, 200,300, 400, 500, 600 µ g/ml) est ajouté à 20 ml d'un milieu Sabouraud tiède à 40°C. Après homogénéisation, le mélange est versé dans des boîtes de pétri.L'ensemencement est réalisé par piqûre et l'ensemble des boîtes sont incubées pendant 7 jours à 27° C. La croissance mycélienne est relevée quotidiennement. Une mesure des diamètres de différentes colonies est réalisée à la fin pour calculer le taux d'inhibition (I' %)(Kordaliet al., 2003).

$$I'(\%) = 100 \times (dC - dE) / dC$$

**I' (%)** = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage

**dC** = Diamètre de colonies dans les boîtes « témoins positifs »

**dE** = Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'huile essentielle.

On peut évaluer l'efficacité de l'HE sur une ou plusieurs souche(s) donnée(s) en exprimant la proportion de celles ayant présentées un taux d'inhibition supérieur ou égal à 50%. Chaque expérience a été effectuée en triplicata avec trois essais séparés pour la fiabilité des résultats.



**Figure 32 :** Evaluation de l'activité antifongique en milieu solide  
(Prise personnelle)

Cette technique comporte deux étapes : la première permettant de déterminer les CMI et la seconde les CMF et CFS Alcamo ; (Rotimi *et al.*, 1988)

### **1. Détermination des CMI**

Les diverses solutions ayant eu des pourcentages d'inhibition supérieurs à 50% sont maintenues. Un volume de 100µl de ces solutions est ajouté dans 900 µl du milieu Sabouraud liquide contenant la souche à tester. Les tubes ainsi préparés sont incubés à 27° C pendant 7 jours. Après l'incubation, on repère les tubes dans lesquels on ne note aucune croissance de moisissures (la CMI : c'est la concentration minimale pour laquelle on ne note aucune croissance des moisissures).

### **2. Détermination des CMF**

Concernant la détermination des CMF, Après avoir repéré les tubes dans lesquels aucune croissance de « spores » n'est constatée, on poursuit l'expérimentation où on introduit **950µl** de milieu Sabouraud liquide stérile avec **50µl** d'un essai déterminé ayant présenté une inhibition totale. Après 7 jours d'incubation, on note les tubes de culture dans lesquels il n'y a aucune reprise de croissance. On détermine ainsi les concentrations minimales fongicides (CMF). (Rotimi *et al.*, 1988).



**Figure 33** : Evaluation de l'activité antifongique en milieu liquide (CMI et CMF)  
(Prise personnelle)

### **3.5. Détermination du pouvoir antioxydant**

#### **3.5.1. Le pouvoir anti-radicalaire (DPPH)**

##### **➤ Principe**

Le pouvoir anti-radicalaire ou l'effet « scavenger » sur le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est une méthode qui est initialement utilisée pour déterminer les donneurs de protons dans les composés phénoliques (**nom de l'auteur** (7)). Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi l'apparition d'une coloration jaune pâle. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons.

##### **➤ Mode opératoire**

L'activité de piégeage du DPPH a été mesurée par la méthode modifiée de Braca et *al.*(2001). Différentes concentrations (50 à 400 $\mu$ l/ml) de l'échantillon d'extrait de plante respectivement ont été mélangées avec du DPPH et ensuite vortexées. Ces solutions ont été maintenues dans l'obscurité pendant 30 min à température ambiante, puis l'absorbance de la solution a été mesurée à 517 nm.

L'acide ascorbique a été utilisé comme standard. Le pourcentage d'inhibition de l'activité antioxydante a été calculé à l'aide de l'équation (1) et les valeurs obtenues ont été utilisées pour le calcul de la valeur IC<sub>50</sub>, c'est-à-dire la concentration requise de l'échantillon d'extrait pour piéger les radicaux libres DPPH à 50 %.

$$\% \text{ d 'inhibition} = [(A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}) \times 100 / A \text{ blanc}](1)$$

A blanc : Absorbance du blanc (DPPH dans le méthanol) ;

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

Tous les essais ont été effectués en triple

### **3.5.2. Test du pouvoir antioxydant par réduction du fer (FRAP)**

#### **- Principe**

Le pouvoir réducteur d'un extrait végétal est associé à son pouvoir antioxydant, l'activité réductrice du fer a été déterminée selon la méthode décrite par OYAIZU (1986), basée sur la réaction chimique de réduction du fer ferrique Fe (III) en fer ferreux Fe(II) (**Hubert, 2006**). Cette réduction est observée par le passage de la couleur jaune du fer ferrique (Fe<sup>+3</sup>) au bleu vert du fer ferreux (Fe<sup>+2</sup>), dont l'intensité mesurée à 700 nm, est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits testés (**Jayaprakash et al ., 2001**).

#### **• Mode opératoire**

Le mélange réactionnel est composé de 400 µl d'extrait aqueux (100 à 500 µg/ml), 400 µl de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 400µl de ferricyanure de potassium à 1%.

Une fois incubé 20 minutes à 50°C, ce dernier est additionné de 400µl d'acide trichloracétique à 10% puis centrifugés 10 minutes à 3000 rpm. Du surnageant, 400µl sont récupérés et complétés par 400µl d'eau distillée et de 80µl de chlorure ferrique à 0.1%. La

lecture de l'absorbance se fait à 700nm. L'acide ascorbique est utilisé comme référence dans les mêmes conditions opératoires ainsi que dans la même gamme de concentrations.

### **3.6. Analyse statistique**

Les résultats sont donnés en moyenne ± SD. Les données du bio-essai ont été traitées statistiquement par analyse de variance (ANOVA) et test de Tukey à l'aide du logiciel Minitab 16.1.1. Toutes les expériences ont été réalisées en triplicata.

**Partie3:**  
**Résultats et discussions**

### **3.1. L'analyse spatiale et calcul de l'indice de dispersion**

La modélisation occupe une place de plus en plus importante dans les études épidémiologiques. L'outil de modélisation permet notamment de synthétiser les processus en jeu et de simuler différents scénarios de contrôle d'une maladie. Les modèles mathématiques permettent d'approfondir les attentes des biologistes sans nécessairement avoir recours à des expérimentations. Les questions d'échelles sont aussi cruciales dans l'étude des dynamiques épidémiques (**Matthews and Haydon ., 2007**). En effet, l'infection d'un hôte par un pathogène, le dépôt de l'inoculum, se concentre à une échelle spatiale évaluée au millimètre carré (**Lannou et al., (2008),Mundt(2009)**), et les spores produites par une reproduction rapide du pathogène peuvent être dispersées à plusieurs milliers de kilomètres (**Brown and Hovmøller (2002).**, **Aylor (2003)**). Évaluer le processus d'établissement et de propagation d'une épidémie doit donc se faire à plusieurs échelles spatiales.

A l'échelle de la plante par exemple il s'agit de mieux comprendre l'infection, la croissance et la dispersion des spores sur les feuilles. A plus grande échelle spatiale, il s'agit d'évaluer globalement le développement spatio-temporel de la maladie. Deux moyens sont usuellement employés pour modéliser la dispersion : le taux de migration et la fonction de dispersion (**Ronce ., 2007**). Le taux de migration définit la proportion d'individus qui se dispersent d'une population à une autre (modèle spatialement implicite). La fonction de dispersion est une loi statistique qui décrit la probabilité qu'une spore soit déposée en un point quelconque de l'espace (**Austerlitz et al ., 2004**) . Cette densité de probabilité peut inclure tout un ensemble de relations qu'entretient la dispersion avec l'espace, dont la plus communément admise est la décroissance de la probabilité d'être déposé avec la distance à la source. La résistance se modélise en général en incluant des variables d'entrée des modèles définissant les niveaux de résistances (**LôPelzer et al ., 2010b**).

Lors de la mise en place d'un réseau de surveillance, il est essentiel d'enconnaître le plus possible sur la distribution spatiale de l'agent pathogène que l'on souhaite suivre. Plus précisément, l'étude des patrons de distribution spatiale permet de déduire la nature des processus de dispersion des agents pathogènes ou des maladies à l'étude. **Est-ce que l'agent pathogène se disperse sur de courtes distances, d'une plante voisine à l'autre? Ou sur de grandes distances, d'un champ à l'autre, d'une région à l'autre?**

En d'autres mots, on cherche à savoir quelle est la portée spatiale des mécanismes impliqués dans les processus de dispersion de l'inoculum pour les espèces faisant l'objet d'une surveillance.

Dans le cas de notre étude, nous avons essayé de répondre à ces questions pour mieux cerner notre problématique qui nous permettra d'expliquer l'évolution de la maladie « la tavelure du pommier » dans notre parcelle d'étude. En générale, en plein champ, la répartition des plantes malades peut présenter trois types de répartition dans l'espace : régulière, aléatoire et agrégée.

Le type de distribution spatiale a beaucoup d'incidences sur l'efficacité des stratégies de dépistage. Dans le cas d'un dépistage visuel traditionnel (dépistage des symptômes), la probabilité de trouver une plante malade est plus élevée lorsque la répartition de la maladie au champ est aléatoire par rapport à une répartition agrégée (**Madden and Hughes 1999; Mahaffee and Stoll 2016**).

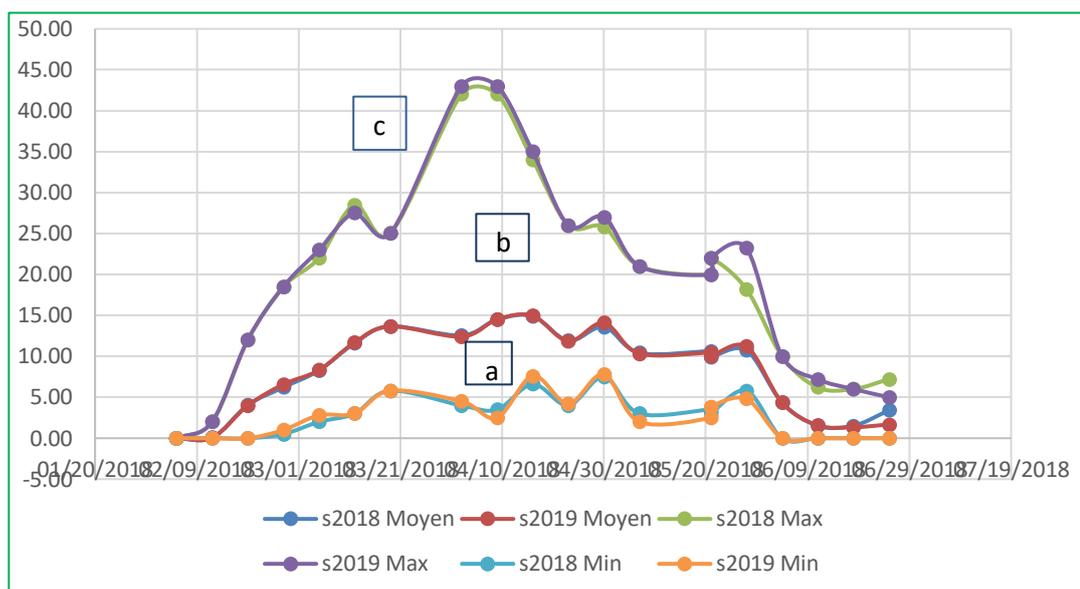
La distribution spatiale des symptômes dans notre champ a été caractérisée pour différents pathosystèmes, révélant des patrons de distribution variables d'un pathosystème à l'autre, ce qui nous permet de déduire que la distribution de la tavelure est de type agrégée qui diffère complètement de celles observées pour les symptômes de *Sclerotinia sclerotiorum* dans la culture d'haricot, par exemple, qui est largement dominée par un patron aléatoire, tant au niveau des gousses que du feuillage (**Jones et al., 2011**).

### **3.2. Géostatistiques par la méthode du krigeage simple**

Le suivi de l'évolution de la maladie consiste à observer l'apparition des taches de la tavelure sur feuilles. L'échantillonnage de tavelure a été effectué sur les pousses les plus jeunes. Un maximum de 20 pousses végétatives et 16 feuilles par pousse étaient observés sur chaque arbre. Le nombre de lésions par feuille était noté lors de chaque série d'observation. La sévérité est également évaluée en comptant le nombre de taches présentes sur chaque feuille tavelée.

Il est important de savoir que la réussite d'une contamination est subordonnée à la présence d'un film d'eau pendant un certain laps de temps, variable selon la température (courbes de Mills). Le développement primaire de la tavelure sur les jeunes pousses est nécessaire pour

évaluer la contamination et nous permet de prédire la sévérité de la contamination en conditions de verger (**Figure 38**).



**Figure 34** : Développement primaire de la tavelure sur les jeunes pousses en conditions de verger, (a) Période d'infection légère, (b) période d'infection Modérée et (c) période d'infection sévère

D'après la figure ci-dessus l'incidence de la maladie et variabilité spatiale dans le temps. A la première date d'observation, le 26 et le 27 février des deux années, la culture du pommier était déjà infectée (incidence de la maladie = 3.98%), cette infection a probablement été causée par une infection légère précoce dans les feuilles. Au cours des 4 semaines suivantes, l'incidence de la maladie a augmenté à un niveau d'environ 14.56 (02 avril) ce qui témoigne de la sévérité des attaques de la tavelure en début de la saison (période de contamination primaire).

Le pic d'attaque de la tavelure a été annoncé aux alentours du 16 avril soit 43 % d'infestation. Ceci était le résultat de conditions météorologiques favorables à la période printanière (17,5-21.2°C, pluie et humidité relative élevée en combinaison avec de longues périodes d'humectation des feuilles), qui ont stimulé une propagation rapide de la maladie entraînant une dépendance spatiale accrue, suivi d'une diminution progressive à 2.38 % le 04 juin.

Il est important de signaler, qu'au printemps, les contaminations primaires de *Venturia inaequalis* constituent une période qui nécessite une vigilance toute particulière. En effet, la maîtrise de la maladie pendant les contaminations primaires conditionnent les stratégies de

protection pendant les contaminations secondaires. L'absence de dégâts en fin de printemps permet de réduire voire d'arrêter la protection en été. La protection au printemps, basée sur un positionnement préventif des produits, doit être rigoureuse en tenant compte des conditions climatiques et du développement du végétal.

Concernant l'analyse de la structure spatiale d'une maladie qui est la description de la répartition des individus malades dans l'espace, et éventuellement de son évolution au cours du temps nous avons défini une zone d'observation (dont la surface s'appelle "étendue") et on observe la répartition des individus (ici des plantes ou des racines malades) sur cette surface, soit en dénombrant les individus présents dans chaque unité de surface, soit en repérant chacun d'entre eux par ses coordonnées. La surface de la plus petite unité de surface ou le carré de la plus petite distance possible entre individus est appelé "grain" ; la résolution de l'analyse spatiale correspond au rapport étendue/grain (Noda, 2004). Lorsque les données sont récoltées sous forme de nombre d'individus malades dans chaque unité de surface, l'unité de surface est appelée "quadrat". (Gossme., 2007).

L'étude de l'hétérogénéité et de la dispersion spatiale des lésions a démontré que les feuilles tavelées ne sont pas distribuées de façon hétérogène selon un patron spatial défini. Un seuil d'intervention, établi comme le niveau de tavelure en dessous duquel la probabilité d'obtenir plus de 1% de fruits tavelés à la récolte est très faible, a été établi à 0,05 feuille tavelée/pousse. Un plan d'échantillonnage séquentiel (PES) a été élaboré pour l'évaluation de l'intensité de tavelure dans un verger. Bien que le seuil d'intervention soit faible, le PES permet d'évaluer l'intensité de tavelure avec un minimum d'observations et un maximum de précision.

### **3.3. Cartographie des données**

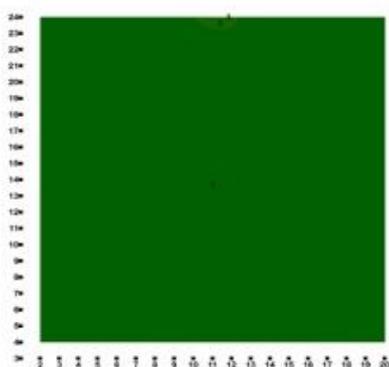
A partir des données qui ont été recueillies pendant les deux années (2018/2019), nous avons caractérisé la répartition spatiale de la tavelure de la pomme en fonction de sa fréquence d'apparition dans le verger d'étude. Pour chaque date d'échantillonnage, la distribution spatiale de l'incidence de tavelure est représentée sous forme de cartes de krigeages. Les 40 cartes de krigeages représentent la distribution spatiale des pousses tavelées et des lésions par quadrat qui ont été produites pour chacune des arbres du dispositif, 25 dates d'observation réparties à partir du mois de février à mi-juin durant deux campagnes 2018 (Figure 39) et 2019 (Figure 40). Des intensités de couleurs ont été utilisées afin d'exprimer les différentes

classes de valeurs pour l'incidence de tavelure ainsi que la densité de lésions pour chacun des points d'échantillonnage (**Annexes**).

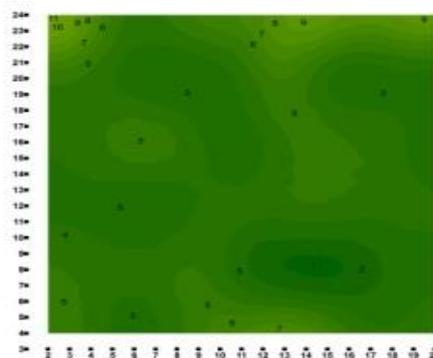
*a. Campagne 2018*

*Mois de Mars*

*date a*

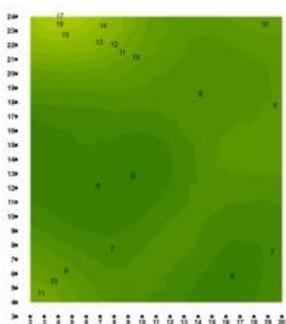


*date b*

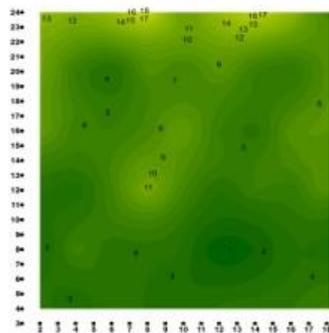


• **Mois d'Avril**

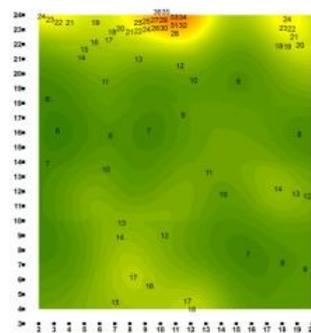
*date a*



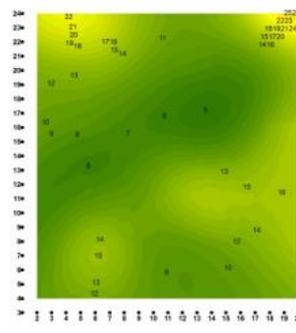
*date b*



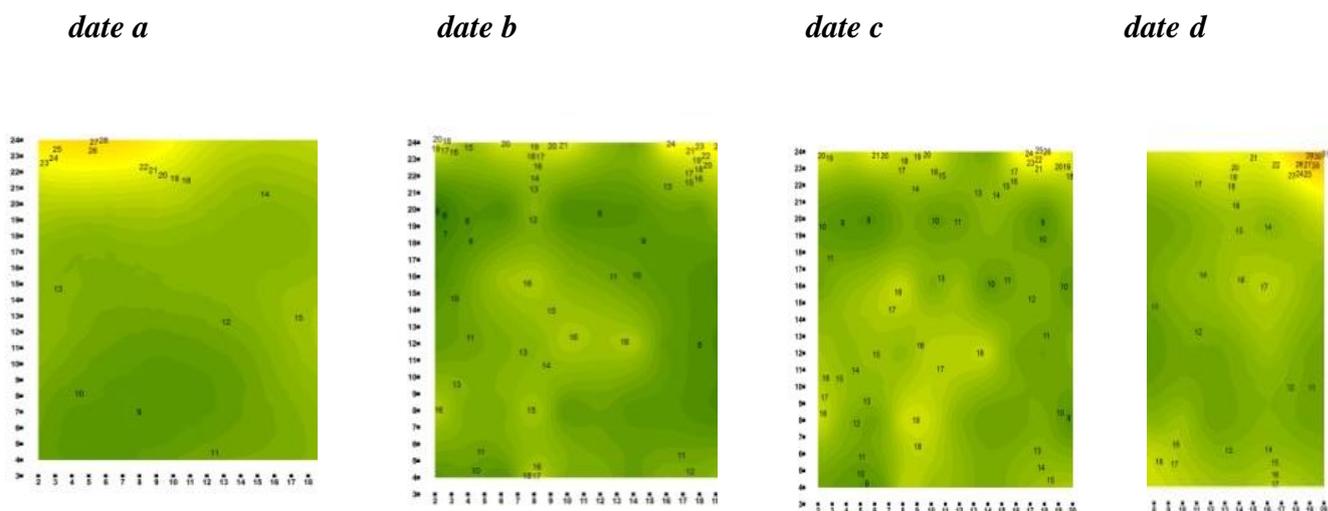
*date c*



*date d*



• Mois de Mai



• Mois de Juin

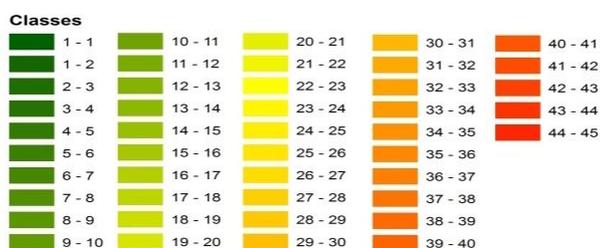
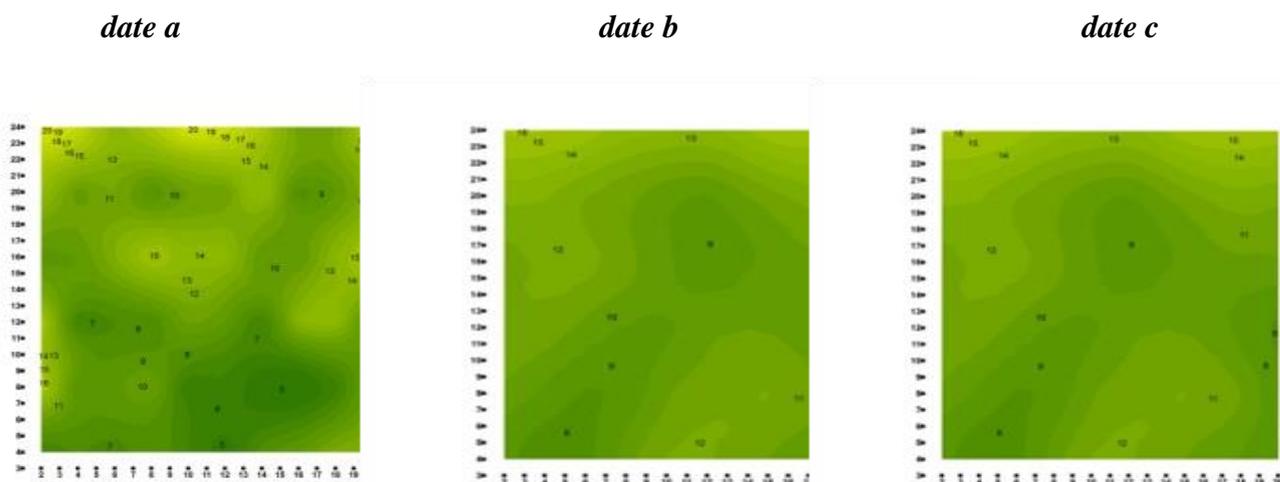
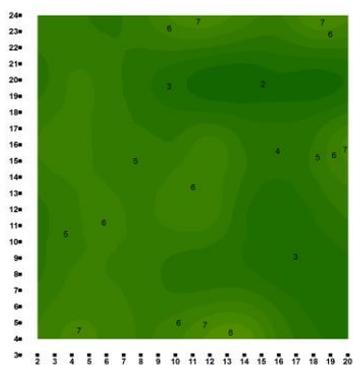


Figure 35 : Cartes de Krigeage pour la distribution spatiale du nombre moyen de lésions par feuille par mois durant la période de la contamination primaire de la Saison (2017/2018)

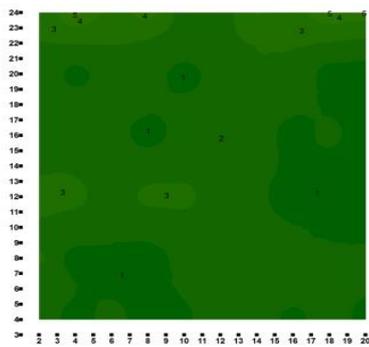
b. Campagne 2019

- Mois de Mars

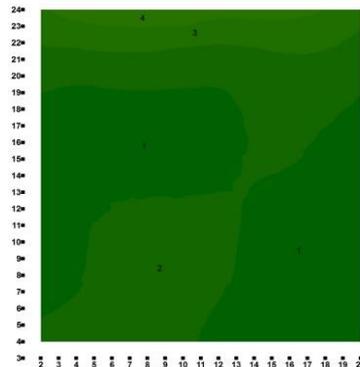
date a



date b

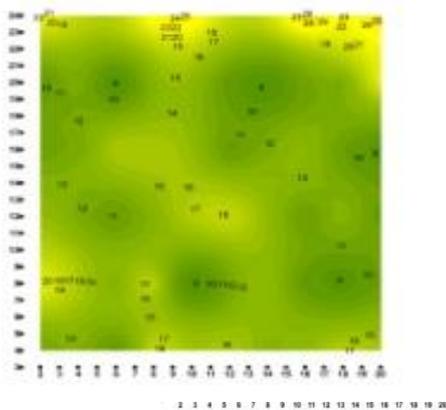


date c

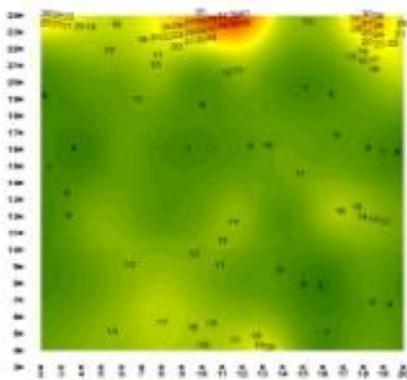


- Mois d'Avril

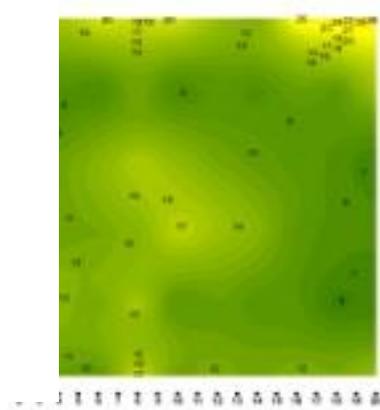
date a



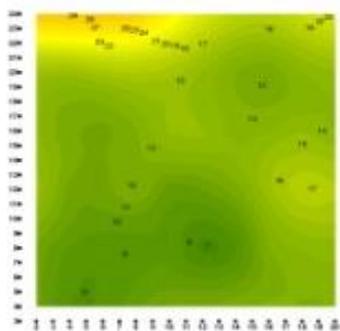
date b



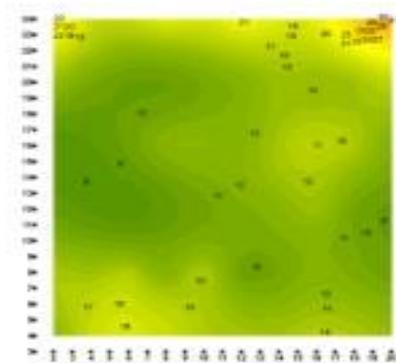
date c



date d



date e

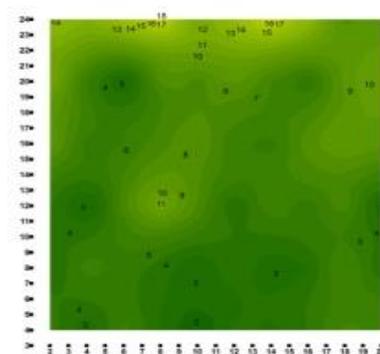
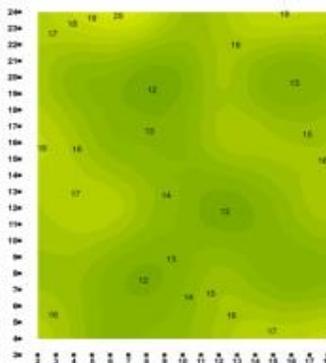
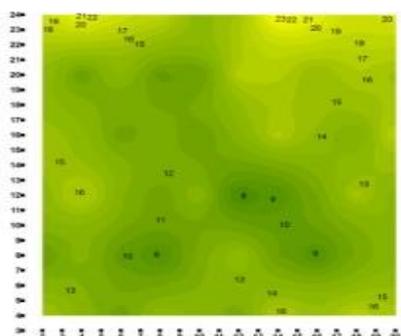


• Mois de Mai

*date a*

*date b*

*date c*

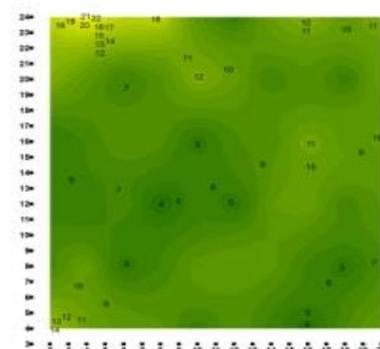
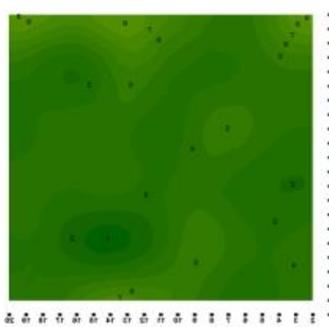
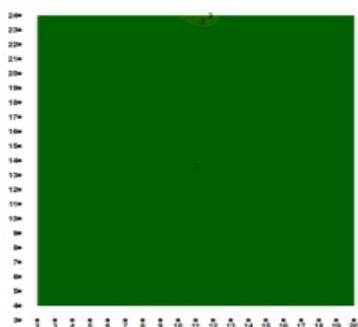


• Mois de Juin

*date a*

*date b*

*Date c*



Classes



Figure 36 : Cartes de Krigage pour la distribution spatiale du nombre moyen de lésions par feuille par mois durant la période de la contamination primaire de la Saison (2019)

L'analyse de répartitions spatiales d'effectifs de population est une question centrale en écologie et de nombreuses méthodes existent pour traiter de cette question. Le choix de la méthode va dépendre du type de données, et de l'hypothèse écologique que l'on souhaite tester. Dans le cas le plus fréquent, la forme de la distribution des données n'est pas connue a priori et le test d'hypothèse s'appuie sur des méthodes statistiques non paramétriques, par exemple à l'aide de permutations (Manly 1991, Mielke et Berry ., 2001). L'hypothèse que nous souhaitons tester ici est : **y a-t-il une hétérogénéité dans la répartition spatiale au verger de pommier ?** Au cours de cette étude, on a caractérisé le patron de distribution spatiale de la tavelure causée par le champignon pathogène *V. inaequalis*. Malgré les nombreuses recherches portant sur la tavelure du pommier, cette étude qui a pour objectif de définir et de quantifier le patron de distribution spatiale de la tavelure du pommier, maladie fongique reste très difficile à cerner en pomiculture.

Des analyses statistiques ont ensuite été réalisées pour évaluer la modèle spatial de distribution, basé sur les données des points d'échantillonnage. Le premier test utilisé était la variance à rapport moyen, qui donne une indication du type de distribution modèle (régulier, aléatoire ou groupé) des données. La distribution de probabilité de Poisson a été également utilisé pour tester si un modèle spatial donné de distribution était aléatoire ou non selon les classes d'inoculum.

L'observation générale des cartes de krigeage montre pendant les deux années d'étude que le rapport de la variance à la moyenne pour la plupart des dates d'échantillonnage était significative ( $>1$ ), ce qui indique un modèle de distribution agrégé avec un indice d'agrégation qui varie entre 1.6 à 3.65 pendant la saison 2018 et de 1.18 à 8.85 pendant la saison 2019. Aucune des distributions de fréquence des événements d'éjection d'ascospores les plus importants ne suivait la distribution de probabilité de Poisson, indiquant ainsi que le modèle de distribution n'était pas aléatoire. Ces résultats vont avec ceux de Charest et al. (2002) qui ont démontré que l'inoculum primaire n'est pas distribué de façon uniforme dans un verger et que les ascospores aériennes sont réparties de façon agrégée dans l'air.

La structure spatiale de la population hôte influence la vitesse de développement des épidémies dans le cas d'une transmission locale de la maladie (c'est à dire lorsque la probabilité de transmission de la maladie d'une plante à l'autre décroît avec la distance séparant les plantes cible et source). Cet effet a été démontré expérimentalement, par exemple dans le cas du flétrissement de la gaine du riz due à *Rhizoctonia solani* (Willocquet et al.,

2000) et explique d'un point de vue théorique, soit dans le cadre d'une maladie transmise par un vecteur (Caraco et al., 2001), soit dans un cadre plus général (Bolker., 1999).

L'agrégation de l'hôte, en créant des discontinuités spatiales, introduit des fluctuations dans la vitesse de développement de la maladie, à mesure que les agrégats d'hôte infectés se vident de leurs individus sains et que de nouveaux agrégats sont colonisés. Comparée à une répartition aléatoire de l'hôte, une répartition agrégée doit donc accélérer l'épidémie au tout début de son développement (pendant l'infection du premier agrégat) et la ralentir par la suite (l'infection d'un agrégat à l'autre étant moins probable que l'infection d'une plante à l'autre dans le cas d'une répartition aléatoire de l'hôte). De même, l'agrégation de la maladie diminue la vitesse de développement des épidémies dans le cas d'une transmission locale.

En effet lorsque la maladie est agrégée, il y a ségrégation des individus sains et malades, ce qui réduit le nombre d'individus sains situés dans le voisinage d'un individu malade (Filipe et al., 2004; Bauch., 2005).

Les structures régulières sont rares elles apparaissent si la présence d'un individu à un endroit donné diminue la probabilité de présence d'un autre individu à proximité, comme c'est le cas pour les animaux à comportement territorial ou les végétaux à effet allélopathique par exemple. En agronomie, une structure régulière peut également refléter une hétérogénéité régulière du milieu ; c'est typiquement le cas des travaux agronomiques qui introduisent des perturbations du milieu se répétant à intervalles de la largeur du passage de la machine, ou de la distance entre conduites de drainage.

Les ascospores de la tavelure sont disséminées à courte distance par le vent et la pluie. Ce mode de dissémination peut expliquer la structure spatiale agrégée de la maladie. La maladie se propage ainsi d'un arbre à ses plus proches voisins en fonction de la vitesse du vent et de l'intensité de la pluie. Cependant le développement de l'infection va dépendre de la présence et de la qualité de l'hôte. Dans le cas où les arbres voisins sont des hôtes sensibles, l'infection est favorisée et le cycle épidémiologique se poursuit.

Lorsque les mécanismes d'infection et de la dispersion de l'agent pathogène ont été élucidés, il est possible d'améliorer les méthodes de lutte, soit en ciblant spécifiquement les mécanismes de la dispersion (Ristaino et al., n Gosme.M., 2007), soit en ciblant les organes et les périodes ou la structure spatiale d'épidémies naturelles afin de pouvoir tester les modèles de développement spatio-temporels (Gibson et Austin., 2005).

À l'échelle de laparcelle d'étude, les résultats obtenus réalisée sur 40 cartes de krigeage, suggéraient un patron de distribution agrégé pour la majorité des dates d'échantillonnage. Les patrons de distribution spatiale peuvent toutefois varier en fonction du temps et de l'intensité de la maladie. Pour *Botrytis squamosa* dans l'oignon parexemple, les concentrations de spores mesurées sur de petites surfaces révèlent des patrons de dispersion aléatoire en début de saison ou lorsque l'inoculum est faible et des patrons plus agrégés lorsque les concentrations d'inoculum au champ sont plus importantes (Carisse et al., 2007).

Bien que des nombreuses études aient porté sur la tavelure du pommier, cette maladie est encore aujourd'hui un problème grave des vergers de pommiers. De trop nombreuses applications de fongicides sont requises année après année et la lutte chimique demeure encore aujourd'hui le principal moyen de lutte contre la tavelure. Dans un contexte de réduction de la pollution d'origine agricole, la diminution des applications de fongicides contre la tavelure prend toute son importance. Le principal moyen de limiter le nombre d'applications de fongicides est essentiellement de réprimer rigoureusement les infections primaires afin de limiter la production d'inoculum secondaire et ainsi éviter de traiter durant l'été (période des infections secondaires).

Or, les producteurs ne disposent d'aucune information quant à l'intensité de tavelure (seuil d'intervention) qu'il serait possible de tolérer à la fin de la période des infections primaires pour cesser les traitements fongicides tout en évitant que le seuil économique de 1% de fruits tavelés à la récolte ne soit dépassé. La distribution spatiale de la tavelure n'a fait l'objet que d'une seule étude jusqu'à présent, étude par laquelle la distribution spatiale de l'inoculum aérien a été examinée (Charest et al., 2002).

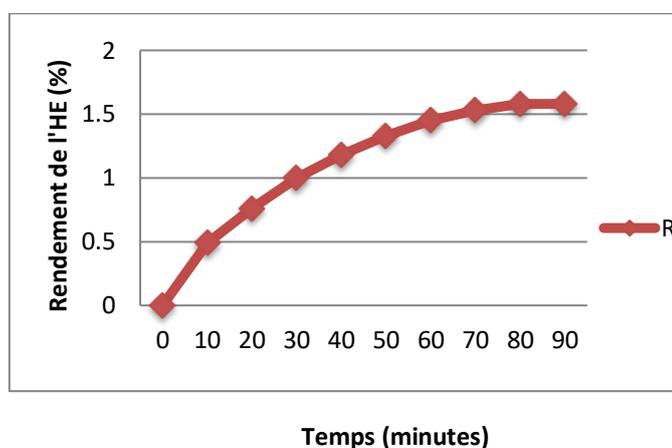
Notre étude vient apporter un plus pour ce qui a été déjà fait dans ce contexte et explique la distribution de cette maladie dans notre parcelle d'études qui pourrait être extrapolé sur l'ensemble des vergers et orienter les agriculteurs pour une meilleure protection phytosanitaire afin de minimiser les risques de pollution. L'utilisation de biocides est une solution efficace pour éliminer les agents pathogènes responsables de certaines maladies fongiques d'où l'intérêt de notre deuxième partie qui a pour objectif d'évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles (HE) du thym sur l'agent pathogène de la tavelure du pommier « *Venturia inaequalis* » *in vitro*.

Les résultats obtenus nous permettront de supposer si ces HE sont capables d'être utilisées comme solution alternative en plein champ afin de réduire la propagation du pathogène et par conséquent la maladie en préservant notre environnement.

## 2. Etude de l'activité antifongique de *Thymus vulgaris* sur l'agent pathogène de la tavelure (*Venturia inaequalis*)

### 2.1. Cinétique d'extraction de l'huile essentielle et rendement en huile essentielle

D'après la formule du RHE(%), nous avons obtenu les résultats illustrés dans la figure 20.



**Figure 37 : Cinétique d'extraction de l'huile du Thym**

La cinétique d'extraction consiste à déterminer le rendement en fonction du temps d'extraction. Cette étude a pour but de fixer le temps nécessaire pour extraire le maximum d'huile et pour éviter les pertes de temps et d'énergie. La cinétique d'extraction de l'huile essentielle des feuilles sèches de *Thymus vulgaris*, indique que le rendement augmente en fonction du temps où il augmente rapidement puis il se stabilise vers un palier équivalent à 80min. Le rendement (Rdt) en huiles essentielle *T. vulgaris* de la région de Séraïdi a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante.

Il a fourni un taux d'environ 1.58 %. Ces résultats sont semblables aux travaux de (Djeddiet *al.*, (2015), sur la même espèce (*Thymus Vulgaris*) collectée dans la même région avec un rendement égale à 1.55%. Aussi, aux résultats de (Bouguerra *et al.*, 2017) sur *T. vulgaris* collecté dans la région de Blida situé au nord et relativement proche du thym prévenant de la région de l'est ; Souk Ahras avec une quantité de 2%. De même, les résultats obtenus par

**Yakhlef (2010)** indiquent que les feuilles sèches du Thym provenant de la région de Batna (Est Algérien) ont donné des teneurs en huile essentielle équivalentes à 1.94%.

En revanche, ce taux est loin à celui trouvé dans l'huile de thym poussé dans la région de Tlemcen (Nord-ouest) qui a enregistré un Rdt supérieur qui est de l'ordre de 4.2% (**Abdelli et al ., 2017**). Ce contraste dans ces résultats pourrait être référé à de nombreux facteurs parmi lesquels la répartition géographique de l'espèce végétal, le stade phénologique, le stockage et le mode de l'extraction.

## **2.2. Les principaux composés de l'huile essentielle détectés par la Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

L'analyse chimique de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse (CPG) ont décelé 30 composés qui représentent environ 99.07 % (Tableau 8). L'huile essentielle de *T. vulgaris* est composée par le linalool (36.41 %) qui présente le produit majeur, suivie par le Terpinen-4-ol (10.51 %),  $\beta$ -Myrcene (7.5) respectivement, d'autres constituants sont identifiés à des teneurs relativement moyennes : para-Cymene (6.6% )  $\gamma$ -terpinène (6.11 %),  $\alpha$ -thujène (4.28), borneol (4.18 %), Tricyclène (3.31) ,  $\beta$ -pinène (2.48 %), Limonène (2.45)  $\alpha$ -Terpineol (2.05) eucalyptol (1.72)  $\beta$ -caryophyllène (3,57 %) et  $\alpha$ -Terpinène (3.1), $\beta$ -pinène (2.48 %). D'autre part, l'identification chimique a révélé une teneur assez faible de carvacrol de 0.75 % et l'absence totale du thymol.

De nombreux travaux antérieurs ont trouvé des variabilités quantitatives et qualitatives concernant la composition chimique de *Thymus vulgaris* des différentes régions de l'Algérie à titre d'exemple **Bougerra et al ., (2017)** qui a déterminé dans la région de Tebessa (l'Est d'Algérie) un rendement de 1,58% pour l'HE du thym et un chémotype identique comme ceux identifiés dans notre étude mais caractérisé par une teneur très élevée de le linalool qui dépasse les 80%.

Par ailleurs le chémotype de Chlef cité par (**Stahl-Biskup et Sàez ., 2002**) est caractérisé par le thymol (%) comme produit majeur tandis que linalool ne présente qu'une faible quantité d'environ 1.66%. Ce polymorphisme rencontré chez le thym est le produit de plusieurs facteurs qui pourront contribuer à cette diversité chimique tels les facteurs édaphiques, climatiques, environnementaux et génétiques.

Tableau 11. Principaux composés de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* détectés par CPG.

No des composés détectés	Composés détectés	RT	KI	Area %	Classes des composés détecté
1	Tricyclene	10.18	926	3,31	Bicyclicmonoterpenoids
2	$\alpha$ -thujene	10.59	933	4,28	Bicyclicmonoterpenoids
3	Camphene	11.44	947	1,34	Bicyclicmonoterpenoids
4	Sabinene	12.99	972	1,02	Bicyclicmonoterpenoids
5	$\beta$ -Pinene	13.17	975	0,48	Bicyclicmonoterpenoids
6	$\beta$ -Myrcene	14.25	992	7,5	Acyclicmonoterpenoids
7	$\alpha$ -Phellandrene	15	1004	0.28	Menthane monoterpenoids
8	$\alpha$ -Terpinene	15.88	1016	3.1	Menthane monoterpenes
9	para-Cymene	16.5	1025	6.6	Aromaticmonoterpenoids
10	Limonene	16.76	1028	2.45	Menthane monoterpenoids
11	Eucalyptol	16.92	1031	1.72	Oxanes
12	(E)- $\beta$ -Ocimene	18.14	1048	0.33	Acyclicmonoterpenoids
13	$\gamma$ -Terpinene	18.92	1059	6.11	Menthane monoterpenoids
14	cis-Sabinene hydrate	19.58	1068	0.22	Bicyclicmonoterpenoids
15	cis-linalooloxide	19.92	1073	0.29	Tetrahydrofurans
16	Terpinolene	20.93	1087	1.26	Menthane monoterpenoids
17	Linalool	23.14	1117	36.41	Acyclicmonoterpenoids
18	1-Octen-3-yl acetate	23.31	1120	0.1	Carboxylicacid esters
19	Camphor	25.19	1146	1.99	Terpenoidketones
20	Hexylisobutanoate	25.55	1151	0.68	Carboxylicacid esters
21	Borneol	26.78	1168	4.18	Bicyclicmonoterpenoids
22	Terpinen-4-ol	27.74	1181	10.51	Menthane monoterpenoids
23	$\alpha$ -Terpineol	28.54	1192	2.05	Sesquiterpenoids
24	(2E)-Hexenylbutanoate	28.73	1195	0.1	Fattyacid esters
25	Verbenone	29.7	1210	0.16	Bicyclicmonoterpenoids
26	Linaloolacetate	32.96	1265	1.29	Acyclicmonoterpenoids.
27	Bornylacetate	34.87	1297	0.1	Bicyclicmonoterpenoids
28	Carvacrol	36	1312	0.74	Aromaticmonoterpenoids
29	Geranylacetate	41.43	1381	0.26	Acyclicmonoterpenoids
30	(E)-Caryophyllene	43.5	1414	0.21	Bicyclicsesquiterpene
Total					99.07%

% classes des composés détectées, Monoterpenes, 36.96%; Oxygenatedmonoterpenes, 55.51%; Sesquiterpenes, 0.21%; autres composés , 6.39%.

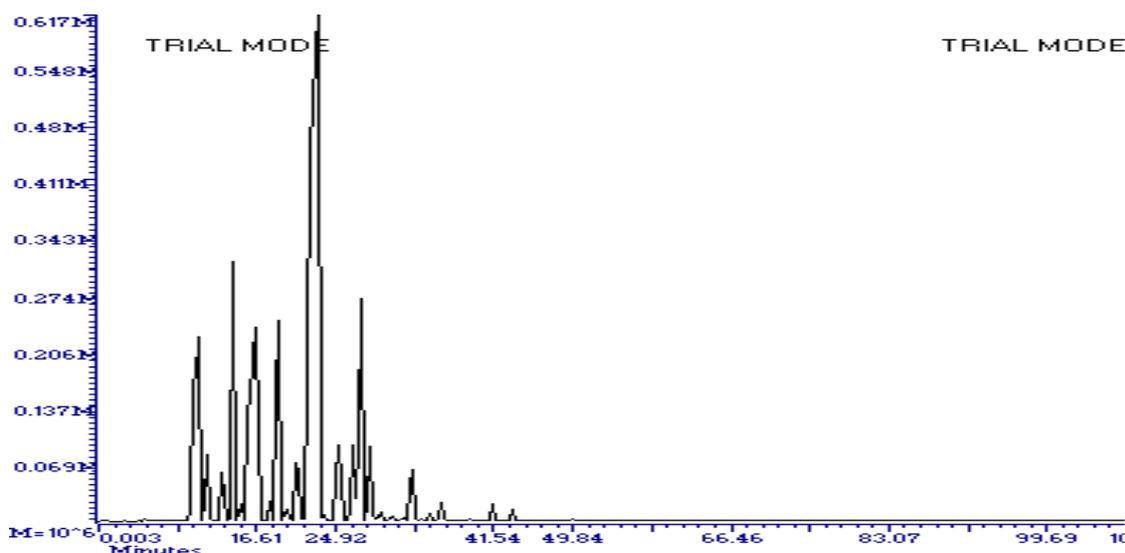


Figure 38 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par CPG

### 2.3. Identification des isolats fongiques de la tavelure

L'identification des isolats fongiques (cultures de 7 jours) est réalisée en tenant compte de leurs caractères macroscopiques (couleur, aspect de colonie de son revers) sur deux milieux (PDA) et microscopiques (forme de thalle et des spores). Les isolats fongiques caractérisés sont consignés dans la figure 21.

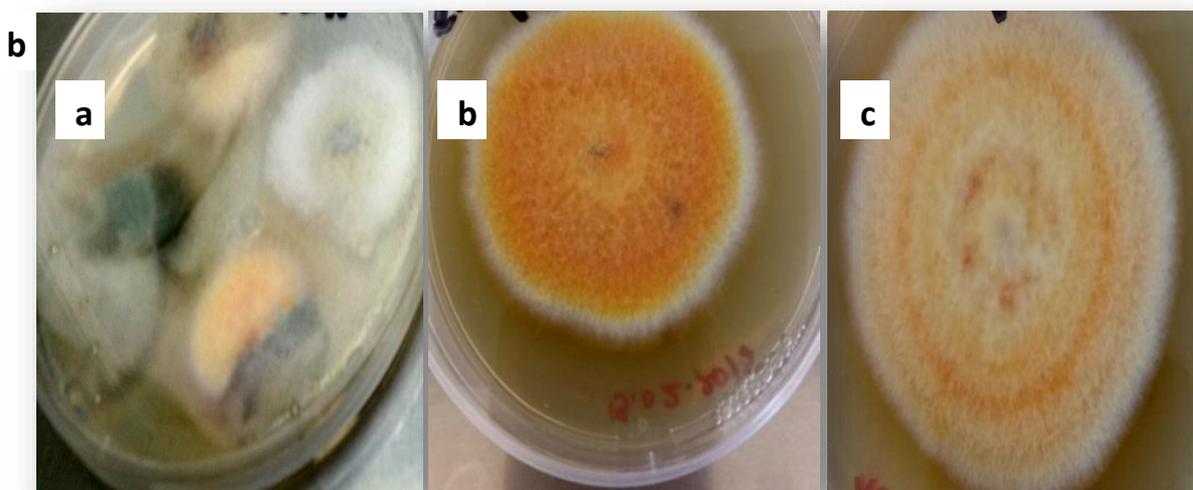
#### 2.3.1. Identification macroscopiques

Pour l'observation macroscopique des champignons, il est nécessaire de caractériser ces isolats sur milieu PDA par deux critères clés de l'identification :

##### ✚ L'aspect des colonies :

Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses.

##### ✚ La couleur des colonies : Les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, crème, jaune, orange, brun allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*) (Botton *et al.*, 1990).



**Figure 39** : Observation macroscopique des colonies de *V. inaequalis* issues de fragments malades (A), culture sur PDA de 15 jours de *V. naqualis* à plusieurs morphotypes; noir-grisâtre (b), blanc-Orange (c), Orange (Benaliouche.F)

- **Aspect macroscopique**

La colonie de (*Venturia inaequalis*), isolée des feuilles du pommier Hanna, présente des colonies plates d'aspect duveteux à poudreux, un mycélium aérien de couleur crème au centre et blanche en périphérie, avec apparition d'exsudats jaunes en vieillissant. Un mycélium du substrat extensif hyalin, jaune à brun-orange et plus ou moins immergé dans la gélose. Le revers est craquelé, de couleur jaune à orange. Une surface bombée avec des rides partant du centre jusqu'à la marge.

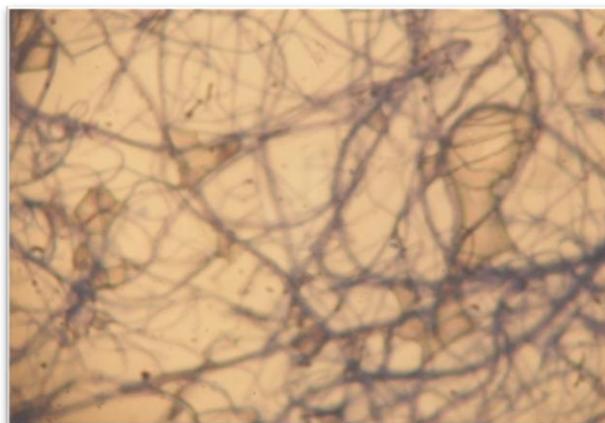
Une bonne croissance sur le milieu utilisé au bout de deux à trois jours d'incubation. *Venturia inaequalis* est un champignon qui renferme dans son état parfait (sexué) des asques à deux tuniques en série parallèle enfermés dans un périthèce s'ouvrant à maturité par un ostiole, pas de paraphyses vraies, périthèces globuleux ou peu allongés de couleur foncée, pourvus de pseudoparaphyses), périthèces enfoncés dans les feuilles ou les fruits, ascospores bicellulaires (Berbee 2001; James et al., 2006; MacHardy., 1996).

**2.3.2. Identification microscopiques**

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame, scotch et coloration. Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants (Chabasse., 2002). L'observation microscopique permet de détecter la présence du thalle, la présence ou l'absence de septum, la nature de la reproduction et les caractéristiques des fructifications et des spores.



**Figure 40:** Observation microscopique de *V. inaequalis*.  
(Benaliouche.F)



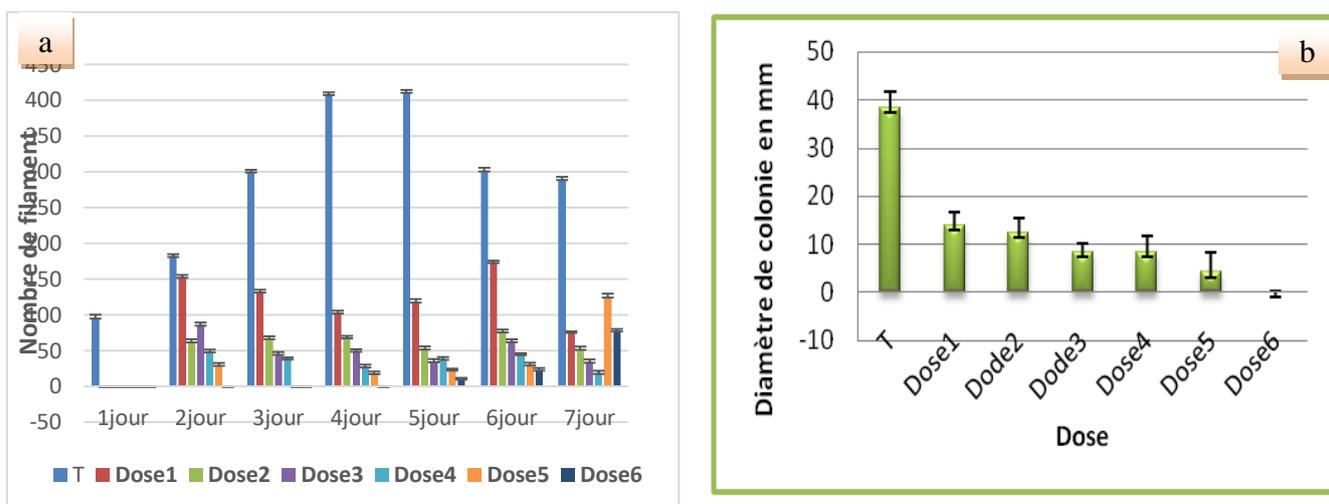
**Figure 41:** Filaments *Venturia inaequalis*(GRX40)  
(Benaliouche.F)

#### 2.4. Effet antifongique de l'HE du *Thymus vulgaris* chez *Venturia inaequalis*

D'après la figure 46 et le tableau 9 qui représentent l'effet de l'HE du thym sur l'activité antifongique chez la tavelure du pommier, on constate l'effet inhibiteur des doses appliquées sur la croissance du mycélium de la *Venturia inaequalis*, après les 7 jours d'incubation ceci a été marqué par le nombre décroissant des filaments de la colonie fongique calculé sous microscope optique en fonction des concentrations croissantes de l'HE qui est associée à une déformation de la structure des filaments. Les doses 400  $\mu\text{l/ml}$  et 500 $\mu\text{l/ml}$  ont décelé une forte activité sur la densité du mycélium de la tavelure qui se manifeste par une réduction du nombre des filaments respectivement 18 et 12 filaments par rapport à la valeur témoin (289,33 filaments). Enfin, la dose 600 $\mu\text{l/ml}$  a inhibé complètement la croissance mycélienne de la tavelure prouvant que cette huile présente une activité antifongique identique à celle du score (témoin) à la plus forte concentration.



**Figure 42:** L'effet d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur la croissance radiale de *Venturia inaequalis*



**Figure 43** : Effets de HEde*Thymus vulgaris* sur le nombre de filaments (a) et le diamètre des colonies(b) de l'agent pathogène de la tavelure du pommier « *Venturia inaequalis* »

**Tableau 12**: l'effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur le nombre de filaments de la tavelure *Venturia inaequalis*

Jours Doses	1	2	3	4	5	6	7	TR (%)
Control (+)	95.67 <sup>a</sup> ±4.51	181.67 <sup>a</sup> ±3.06	300 <sup>a</sup> ±2.65	408 <sup>a</sup> ±3	411.33 <sup>a</sup> ±3.06	301.33 <sup>a</sup> ±4.16	289.33 <sup>a</sup> ±3.51	100 <sup>c</sup> ±0.00
Witness (-)	0 <sup>b</sup> ±0	0 <sup>a</sup> ±0	0 <sup>c</sup> ±0	0 <sup>f</sup> ±0	0 <sup>f</sup> ±0	0 <sup>f</sup> ±0	0 <sup>f</sup> ±0	100 <sup>c</sup> ±0.00
Dose1	0 <sup>b</sup> ±0	152.67 <sup>b</sup> ±3.06	132 <sup>b</sup> ±3	102.67 <sup>b</sup> ±3.06	118 <sup>b</sup> ±4	173.33 <sup>b</sup> ±2.31	75.66 <sup>b</sup> ±1.15	63 <sup>a</sup> ± 7
Dose2	0 <sup>b</sup> ±0	62.36 <sup>d</sup> ±2.52	67 <sup>c</sup> ±4.36	68 <sup>c</sup> ±9.54	52.33 <sup>c</sup> ±3.21	76.33 <sup>c</sup> ±2,08	52 <sup>c</sup> ±2.65	67 <sup>a</sup> ± 8
Dose3	0 <sup>b</sup> ±0	85.67 <sup>c</sup> ±3,51	45 <sup>d</sup> ±3	49.33 <sup>d</sup> ±2.52	34.67 <sup>d</sup> ±3.51	62.67 <sup>d</sup> ±3.06	34 <sup>c</sup> ±3.61	77 <sup>ab</sup> ± 5
Dose4	0 <sup>b</sup> ±0	48.33 <sup>c</sup> ±3,06	38.33 <sup>d</sup> ±2.08	27.33 <sup>c</sup> ±3.06	38 <sup>d</sup> ±3	44.66 <sup>c</sup> ±1.52	18.33 <sup>d</sup> ±3.51	77 <sup>ab</sup> ± 9
Dose5	0 <sup>b</sup> ±0	29.64 <sup>f</sup> ±3.06	23 <sup>c</sup> ±0	18 <sup>c</sup> ±2,65	17 <sup>c</sup> ±1.52	15 <sup>f</sup> ±3	12 <sup>f</sup> ±4.58	88 <sup>b</sup> ± 5
Dose6	0 <sup>b</sup> ±0	0 <sup>a</sup> ±0	0 <sup>f</sup> ±0	0 <sup>f</sup> ±0	0 <sup>f</sup> ±0	0 <sup>f</sup> ±0	0 <sup>f</sup> ±0	100 <sup>c</sup> ±0.00

Ces résultats représentent le taux de la croissance radiale calculés des colonies fongiques (tableau 4, Figure 4). Toutes les doses injectées allant de 1000µl/ml à 600µl/ml dans le milieu culture ont exercé un effet hautement significatif ( $p < 0.001$ ) sur la souche testée. Les doses 100µl/ml et 200µl/ml ont évalué un effet assez proche (36% et 67%) (test de tuckey), par ailleurs les doses 300 µl/ml et 400µl/ml ont exhibé la même activité inhibitrice avec un taux de 77%.

Cependant la dose la plus élevée 600µl/ml s'est avéré la plus active vis-à-vis la souche *Venturia inaequalis* ou elle a prononcé un effet pesticide similaire à celui du pesticide de référence avec une inhibition total de la croissance durant tous les 7 jours d'incubation.

L'évaluation de CMI et CMF sur milieu liquide en utilisant les doses de 100µl/ml à 600µl/ml (tableau 10) a démontré que la dose 300µl/ml a présente la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la dose la plus élevée 600µl/ml est la dose fongicide ou il n'y avait aucune croissance détectée. Ces résultats correspondent avec celles obtenus sur milieu incorporé ou la dose 600µl s'est avérée la plus toxique sur le champignon phytopathogène.

**Tableau 13 : CMI et CMF de l'HE de *Thymus vulgaris* sur l'agent pathogène de la tavelure (*Venturia inaequalis*) du pommier (*Malus domestica*)**

Les doses de HE de <i>Thymus vulgaris</i>	100µl/ml	200 µl/ml	300 µl/ml	400 µl/ml	500 µl/ml	600 µl/ml
<i>Venturia inaequalis</i>	+	+	CMI	-	-	CMF

Le genre thymus est doté d'un large spectre de propriétés thérapeutiques, au premier rang desquelles une intéressante activité antimicrobienne (Ouraini et al., 2007, Yang & Clausen 2007) Cette dernière pourrait être déployée dans la recherche de nouveau pesticides biologique, notamment que les études récentes ont pointé le doigt sur les effets paradoxaux des produits phytosanitaires. Les recherches ont confirmé les propriétés antifongiques d'une gamme de plantes sur plusieurs agents phytopathogènes, mais le nombre des études disponibles à l'heure actuelle sur l'activité pesticide des huiles essentielles et des extraits de plantes sur le genre *Venturia* est faible comparativement à d'autres espèces fongiques.

La présente étude a permis de déceler une activité antifongique avec toutes les doses appliquées face à la prolifération mycélienne de *Venturia inaequalis* ou nous avons constaté une diminution du nombre des filaments constituant les colonies fongiques conduisant à une inhibition de la croissance radiale du mycélium. Cette activité est probablement liée à son profil chimique notamment le linalol qui a exercé une action remarquable sur la souche fongique testée.

Le 3,7-diméthyl-1,6-octadiène-3-ol (linalol) est un alcool monoterpénique volatil primaire dans les huiles essentielles d'un nombre de plantes aromatiques tel que *Lavandula angustifolia*, *Citrus bergamia* et *Ammi visnaga* (Letizia CS et al., 2003, Satrani et al., 2004, D' Auria FD et al., 2005, Isham et al., 2013). Des études réalisées par Franchomme (1981) et Kurita et Koike (1982), ont démontré les propriétés microbicides des monoterpènes, les produits majoritaires des huiles étudiées. Ceci est confirmé par les travaux de Hitokoto et al., (1980) et Prabodh et al., (2016) qui ont prouvé la capacité de l'huile de coriandre caractérisé par son niveau élevé de linalol à réduire la croissance de plusieurs souches d'*Aspergillus*. Selon Isham et al., 2013, linalol a exprimé un effet antifongique contre *Candida albicans* en inhibant la formation du tube germination et le biofilm qui est incluse dans le processus de l'infection du pommier par la tavelure. Des travaux ont suggéré que linalol agit sur l'intégrité de la membrane ce qui perturbe la biosynthèse de l'ergostérol comme il pourrait également bloquer le cycle cellulaire de la souche cible (Khan A et al., 2010, Zore GB et al., 2011). Dans notre étude nous avons obtenus un effet antifongique en appliquant la dose 600µl/ml de HE de *Thymus vulgaris* alors que certains auteurs ont signalé l'activité antigerminatif du thym (Chémotype de Thymol) vis-à-vis la tavelure du pommier (Nagy et al., 2014, et Hochbaum et al., 2018).

### 2.5. Effet antioxydant de l'HE du *Thymus vulgaris*

Le taux d'inhibition du DPPH mesuré en fonction de l'HE du thym et de la vitamine C comme témoin standard, est enregistré dans la figure 47. Ces résultats nous ont permis de déterminer la CI50 pour l'HE de *Thymus vulgaris* et de l'acide ascorbique (tableau 11).

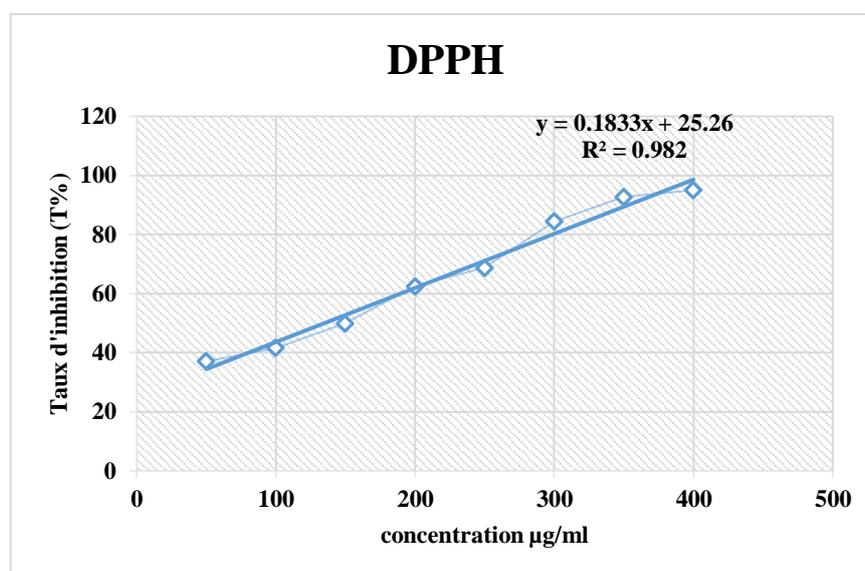


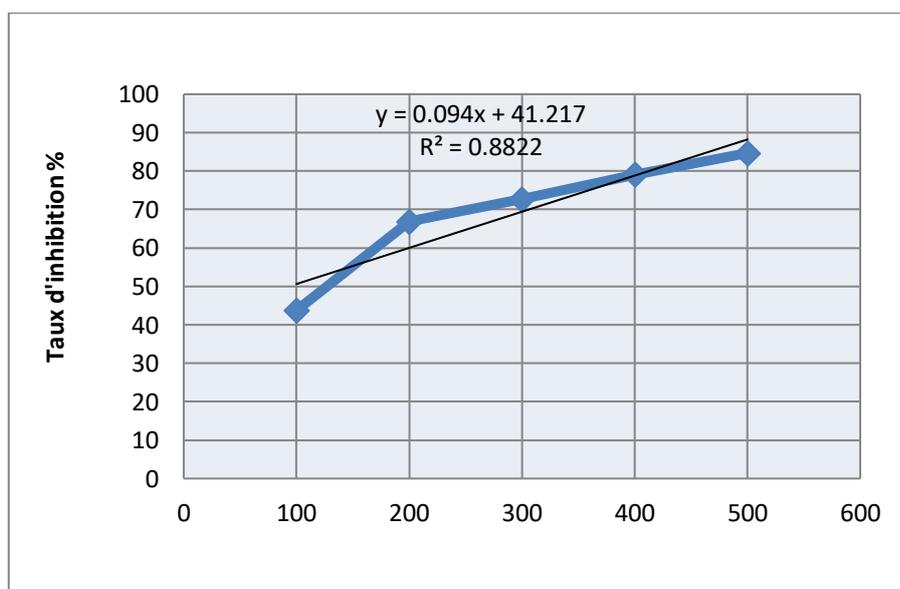
Figure 44 : Effet antioxydant de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*

D'après le tableau ci-dessous qui représente l'activité anti-radicalaire de l'HE du thym, on observe un taux d'inhibition DPPH (50%) pour la concentration d'HE 134,97µg/ml qui représente à peu près deux fois le taux d'inhibition (CI50) de la vitC. La CI50 est inversement proportionnelle à l'action anti radicalaire (anti-DPPH.), un CI50 faible correspond à une activité antioxydante élevée et vice-versa. Le standard a manifesté la meilleur activité anti radicalaire avec une CI50=69.87 µg/ml par rapport à l'huile essentielle thym.

**Tableau 14 : Activité anti-radicalaire de l'HE de *Thymus vulgaris***

Taux d'inhibition (%)	IC50 µg/ml HE	IC50 µg/ml Vit C
50	<b>134.97</b>	<b>69.87</b>

Concernant le pouvoir réductrice de l'HE du thym et dont les résultats sont illustrés dans la figure 48, on observe une similitude dans l'action de l'HE du thym avec celle de la VitC. Les valeurs 43,75µg/ml et 49,04µg/ml sont enregistrées simultanément pour l'HE et la VitC pour la plus faible concentration (100µg/ml) pour atteindre un maximum de 84,69µg/ml et 98,66µg/ml pour la plus forte concentration (500µg/ml).



**Figure 45: Pouvoir réducteur de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris***

L'ensemble de ces résultats nous ont permis de déterminer la CI50 pour chaque molécule (tableau 12). Pour un taux d'inhibition de 50%, une concentration de l'HE équivaut à 72,15µg/ml comparée à celle de l'acide ascorbique (55,04µg/ml). C'est ce qui nous a permis de confirmer le fort pouvoir réducteur de l'HE de *Thymus vulgaris*.

**Tableau 15: L'activité réductrice de *Thymus vulgaris***

Taux d'inhibition (%)	IC50 µg/ml HE	IC50 µg/ml Vit C
50	<b>72.15</b>	<b>54.04</b>

Les huiles essentielles ont été utilisées pendant des millénaires pour leurs bienfaits pour la santé (**Valgimigli, 2012**). Certaines des propriétés bénéfiques supposées, par exemple, antiseptique, antioxydante et anti-inflammatoire, ont été soutenues par des recherches scientifiques récentes [**Bakkali, et al.,2008**], [**Adorjan et G. Buchbauer., 2010**].

D'autre part, plusieurs huiles essentielles possèdent de bonnes propriétés antioxydantes, qui peuvent être exploitées pour protéger d'autres matériaux, tels que les aliments et leur rancissement [**Amorati et al., 2012**]. Ces attributs sont dus à la capacité inhérente de certains de leurs composants, en particulier les phénols. De nombreuses études ont montré que les plantes possèdent des propriétés antioxydantes dues en grande partie à leurs composés phénoliques. Ils peuvent prévenir la modification oxydative par neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène ou décomposition des peroxydes par l'intermédiaire de leurs activités antioxydantes(**Yemeda et al., 2014**).L'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* est principalement due aux composés actifs présents dans celle-ci. Dans cette étude, L'activité antioxydante a été évaluée à l'aide du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) et du pouvoir réducteur (FRAP).

En comparant nos résultats avec ceux trouvés par **Ismaili R et al ., (2017)**, on remarque que notre huile essentielle de *Thymus vulgaris* a montré une activité antioxydante plus importante que le *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriens* de la région de Djelfa avec une IC50 de  $2.3 \pm 0.1$  ;  $10.2 \pm 0.9$  mg/ml successivement et inférieur que l'activité anti-radicalaire de *Thymus polium* étudié par Haddouchi et al. (2014) de la région de Tlemcen, avec une IC50 de  $13,53 \pm 0,01$  µg/mL. **Msaada et al ., (2016)** ont signalé que la région de collecte était très influence sur l'extrait méthanoliqueduthym.

Le test FRAP est plus répandu pour déterminer la capacité antioxydante des extraits végétaux à réduire les ions ferriques ( $Fe^{3+}$ ) en ions ferreux ( $Fe^{2+}$ ) **El Jemli et al ., 2016**). L'huile de *Thymus vulgaris* de la région de siraidi s'est montré plus actif en évaluant une activité réductrice plus considérable avec une  $IC_{50}$  assez proche de l'acide ascorbique .En revanche **Malki et al ., (2017)** ont effectué une étude sur des des feuilles de *T. polium* qui appartiennent de deux régions de l'est d'Algérie (Biskra et Sétif) testés par le test de FRAP. Ces extraits ont montrés simultanément, qu'ils contiennent de faible activité comparativement à nos résultats obtenus. Ces différences de potentiel antioxydant entre les extraits peuvent être dues à la variation de la composition des extraits en molécules anti-oxydantes **(Gulcin ., 2006)**.

# **Conclusion et perspectives**

## Conclusion et perspectives

Bien que des nombreuses études aient porté sur la tavelure du pommier, cette maladie est encore aujourd'hui un problème grave qui affecte les vergers. La diminution des applications de fongicides contre la tavelure prend toute son importance. En effet, du fait de la montée des inquiétudes concernant leur impact sur la santé et l'environnement, du renforcement des mesures réglementaires à l'échelle nationale et du développement des interrogations concernant la durabilité agronomique des systèmes de production agricoles intensifs, la nécessité d'une réduction de l'utilisation des pesticides semble inéluctable. Cette réduction va nécessiter la mise en œuvre de stratégies de gestion innovante intégrant les différents éléments de la biologie et de l'écologie du bio-agresseur.

Le principal moyen de limiter le nombre d'applications de fongicides est essentiellement de réprimer rigoureusement les infections primaires afin de limiter la production d'inoculum secondaire et ainsi éviter de traiter durant l'été (période des infections secondaires). Or, les producteurs ne disposent d'aucune information quant à l'intensité de la tavelure (seuil d'intervention) qu'il serait possible de tolérer à la fin de la période des infections primaires pour cesser les traitements fongicides tout en évitant que le seuil économique de 1% de fruits tavelés à la récolte ne soit dépassé.

Nos travaux de thèse viennent répondre à cette problématique par la réalisation d'une part une analyse de distribution spatiotemporelle de *Venturia inaequalis* à la fin de la période des infections primaires afin d'établir un patron de distribution spatiale des lésions causées par ce phytopathogène enverger et d'autre part rechercher une solution alternative à l'utilisation des fongicides qui rentre dans le cadre de la gestion intégrée. L'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle du thym nous a permis de tirer des conclusions concernant son utilisation comme biocide.

Les analyses de comparaison entre les deux campagnes 2018/2019 ont montré que le rapport de la variance à la moyenne pour la plupart des dates d'échantillonnage était significatif ( $>1$ ), ce qui indique un modèle de distribution agrégé avec un indice d'agrégation qui varie entre 1.6 à 3.65 pendant la saison 2018 et de 1.18 à 8.85 pendant la saison 2019. Aucune des distributions de fréquences des événements d'éjection d'ascospores les plus importants ne suivait la distribution de probabilité de Poisson, indiquant que le modèle de distribution n'était pas aléatoire.

Ce travail a été complété par une étude au laboratoire où nous avons déterminé le cycle du champignon en question après l'avoir identifié dans les conditions locales de notre région. Ces nouvelles connaissances permettront de mieux définir les fenêtres d'application de fongicides en diminuant le nombre total d'applications et par conséquent les impacts économiques et environnementaux associés à la lutte contre cette maladie. Les producteurs auront donc un nouvel outil fiable et robuste à leur disposition afin de déterminer si le niveau de tavelure de leur verger est suffisamment faible pour interrompre les traitements à la fin de la période des infections primaires ou à l'inverse, s'ils devront les poursuivre.

Il reste maintenant à transmettre aux producteurs et conseillers pomicoles ces nouvelles connaissances (vulgarisation) à travers l'utilisation de la modélisation qui s'est avérée un instrument puissant pour synthétiser les connaissances, identifier des lacunes et prédire le dénouement de situations inédites. Les modèles épidémiologiques de simulation ont déjà montré leur utilité en tant qu'outils d'aide à la décision pour raisonner l'utilisation des traitements fongicides.

Parallèlement, l'extraction de la partie aérienne de *Thymus vulgaris* donné une huile essentielle à aspect liquide mobile, d'une odeur aromatique, légèrement épicée d'une couleur brun clair. Ces propriétés organoleptiques sont très appréciées en parfumerie et seront très convoitées en aromathérapie et en lutte biologique. L'analyse chimique de *thymus vulgaris* par CPG a révélé l'existence de trente produits caractérisés par une forte teneur de linalool de 36.41 %.

Concernant la vérification du potentiel antifongique de l'huile essentielle de la partie aérienne de *Thymus vulgaris*, plante aromatique de la famille des lamiacées, sur l'agent pathogène de la tavelure du pommier « *Venturia inaequalis* », nous avons réalisé une expérimentation in vitro qui a décelé une activité puissante de l'HE de thym avec toutes les doses appliquées (CMI=300 µl/ml) qui s'est manifestée par une réduction des nombres des filaments associés à une déformation structurale, plus particulièrement avec la dose 600 µl/ml qui a révélé l'effet fongicide (CMF). Ceci est corrélé avec une réduction de la croissance radiale des mycéliums traités par les différentes doses.

De même, l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par les deux méthodes a révélé un fort potentiel antioxydant qui est due à la capacité inhérente de certains de leurs composants, en particulier les phénols.

Il ressort des résultats obtenus que *Thymus vulgaris* est une plante dotée d'un effet pesticide et antioxydant remarquable, qui pourrait être attribuée à linalool pour son activité antifongique où il réagit d'une manière efficace face à *Venturia inaequalis* et aux composés phénoliques pour son activité antioxydante. Sa capacité intéressante à freiner la croissance du champignon en protégeant la plante hôte, nous permet de proposer cette HE (biocide) comme solution alternative à l'utilisation des pesticides de synthèse peu biodégradables, et souvent toxiques pour l'homme et l'environnement.

En perspectives, il serait donc intéressant de :

- ✚ Poursuivre les investigations pour une meilleure connaissance des conditions de propagation de l'agent pathogène (facteurs environnementaux, état sanitaire du végétal, techniques de culture) qui nous permettra de mieux cerner la situation.
- ✚ Améliorer notre modèle prédictif de la répartition spatiale des espèces afin de mieux identifier les priorités de conservation (habitats et espèces vulnérables) et désigner d'éventuelles aires à protéger.
- ✚ Compléter par d'autres études afin d'exploiter les propriétés biologiques de ces huiles pour trouver des alternatives à la lutte chimique, qui présente beaucoup d'inconvénients et des dommages sur plusieurs domaines: agricole, sanitaire, environnemental.
- ✚ Envisager une étude plus approfondie concernant les groupements chimiques responsables de cette activité afin d'envisager leur utilisation en protection phytosanitaire ainsi que la connaissance de leur mode d'action qui nous permettra de mieux situer la période des traitements en plein champ (in field).
- ✚ Valoriser d'avantage l'HE du thym particulièrement dans la lutte contre de nombreuses espèces fongiques responsables des différentes pathologies végétales.

- ✚ Extrapoler ces résultats directement en verger de pommiers en testant les mêmes concentrations d'huile essentielle de thym (in vitro) sur *Venturia inaequalis* afin de limiter la fréquence d'attaque de tavelure sur feuilles (in field).

# **Références bibliographiques**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Agrios, G.N; (1988).** Plant Pathology, 3rd ed., Academic Press, San Diego (CA, USA). 803p.
- **Al-Badr, N. A; (2011).** Effect of thyme powder, extract and oil on carbon tetrachloride-induced liver injury. *J Am Sci*, 7(3), 221-7.
- **Amiot, J; (2005).** Thymus vulgaris, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires (Doctoral dissertation, Montpellier, ENSA).
- **Amorati Riccardo, « Oxidative stability and antioxidant properties of essential oils », in Essential Oils as Natural Food Additives, Nova Science Publisher, 2012, p. 75- 95.**
- **Anonyme; (2003).** Note nationale tavelure. INRA. DGAL-SDQPV.
- **Anonyme; (2005).** Biosecurity Australia. Revised draft import risk analysis report for apples from New-Zealand, Part C. , Appendix 3, Biosecurity Australia, Canberra, Australia.
- application of relationships between différent disease intensity measurements in
- **APRIFEL (Agence Pour la Recherche et l'Information en Fruits et Légumes frais).** *Bienvenue dans l'espace pomme*, ascospore dose of *Venturia inaequalis*. *Plant Disease*, 77 : 372-375.
- **Aubert C; (2002).** -Synthèse bibliographique sur *Venturia inaequalis*, agent de la tavelure du pommier. Mémoire - Université de Corte, 23 p.
- **Aubertot, J.N., Barbier, J.M., Carpentier, A., Gril, J.J., Guichard, L.,**
- **Austerlitz, F., Dick, C. W., Dutech, C., Klein, E. K., Oddou-Muratorio, S., Smouse, P. E., & Sork, V. L; (2004).** Using genetic markers to estimate the pollen dispersal curve. *Molecular ecology*, 13(4), 937-954.
- **Austerlitz, F., Dick, C. W., Dutech, C., Klein, E. K., Oddou-Muratorio, S., Smouse, P. E., & Sork, V. L; (2004).** Using genetic markers to estimate the pollen dispersal curve. *Molecular ecology*, 13(4), 937-954. Automne foliar scab sequential sampling technique to predict the level of «scab -
- **Aylor, D. E; (2003).** Spread of plant disease on a continental scale: role of aerial dispersal of pathogens. *Ecology*, 84(8), 1989-1997.
- **Aylor, D. E; (2003).** Spread of plant disease on a continental scale: role of aerial dispersal of pathogens. *Ecology*, 84(8), 1989-1997.
- **Aylor, D.E., Anagnostakis, S.L; (1991).** Active discharge distance of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, 81 : 548-551.
- **Aylor, D.E., Sutton, T.B; (1992).** Release of *Venturia inaequalis* ascospores during unsteady rain: Relationship to spore transport and deposition. *Phytopathology*, 82: 532-540.
- **Aylor, D.E; (1998).** The aerobiology of apple scab. *Plant Disease*, 82: 838-849.

- **B. Adorjanet G. Buchbauer**, « Biological properties of essential oils: an updated review », *Flavour Fragr. J.*, vol. 25, 6, p. 407-426, 2010.
- **Bassino, J.P., Blanc, M; (1975)**. La tavelure du pommier: Amélioration de la lutte par la destruction de la forme hivernante du champignon. *Défense des Végétaux*, 174: 149-153.
- **Bauch, C. T; (2005)**. The spread of infectious diseases in spatially structured populations: an invasory pair approximation. *Mathematical Biosciences*, 198(2), 217-237.
- **Bauch, C. T; (2005)**. The spread of infectious diseases in spatially structured populations: an invasory pair approximation. *Mathematical Biosciences*, 198(2), 217-237.
- **Becker, C.M., Burr, T.J., Smith, C.A; (1992)**. Overwintering of conidia of *Venturia inaequalis* in apple buds in New York orchards. *Plant Disease* 76 : 121-126.
- **Becker, C.M; (1990)**. Overwintering of anamorph of *Venturia inaequalis* (*Spilocaea pomi*) in apple buds and viability of conidia as affected by discontinuous wetting. Ph.D. dissertation. Cornell University, Ithaca, NY. 86 pp.
- **Belhassaine, M. (2014)**. Etude des pores-greffe de quelques rosacées à pépins et à noyaux dans la pépinière de l'état de la wilaya de Telemcensaf-saf. *Mémoire Master. Université Abou Bakr Belkaid – Tlemcen*.
- **Bengtsson M., Ramborg S., Linddal K., Gessler C., Creemers P., Varner M., Mattedi L.,**
- **Bengtsson, M., Jørgensen, H. J. L., Wulff, E., Hockenhull, J; (2006)**. Prospecting for organic fungicides and resistance inducers to control scab (*Venturia inaequalis*) in organic apple production. In Organic Congress - May 30-31 2006 – Odense – Denmark.
- **Berbee, M. L., & Taylor, J. W; (2001)**. Fungal molecular evolution: gene trees and geologic time. In *Systematics and evolution* (pp. 229-245). Springer, Berlin, Heidelberg.
- bioinsecticide contre *Varroa destructor* Anderson & Trueman (Arachnida: Acari: Varroidae) dans le Gharb .2014. Thèse de Doctorat ,Ecole Nationale Forestière
- **Bolker, B. M; (1999)**. Analytic models for the patchy spread of plant disease. *Bulletin of mathematical biology*, 61(5), 849-874.
- **Bolker, B. M; (1999)**. Analytic models for the patchy spread of plant disease. *Bulletin of mathematical biology*, 61(5), 849-874.
- **Boré, J. M., & Fleckinger, J; (1997)**. Pommiers à cidre variétés de France (pp. 771-p). INRA éditions.
- **Boskabady, M. H., Aslani, M. R., & Kiani, S; (2006)**. Relaxant effect of *Thymus vulgaris* on guinea-pig tracheal chains and its possible mechanism (s). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(1), 28-33.

- **Botton, B., Breton, A., Fevre, M., & Gauthier, S; (1990).** Guy Ph. Larpent JP., Reymond P., Sanglier JJ., Vayssier Y. and Veau P.," Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle",(ed) Masson, Paris. 426p.
- **Bouhdid, S., Idaomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., Skali, N. S., &Abrini, J; (2006).**Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Congrès international de biochimie, 324, 327.
- **Bovey R., Baggiolini M., Bolay A., B E., Corbaz R., Mathys G., Meylan A., Murbach R., Pelet F., Savary A., Trivelli G; (1972).** -Maladies fongiques. In : Bolay A. ed, *La défense des plantes cultivées*. Payot Lausanne, Paris, 242-247.
- **Bovey, R., Baggiolini, M., Bolay, E., Corbaz, R., Mathys, G., Meylan, A., Murbach, R., Pelet, F.,**
- **Boskabady M.H., Aslani M.R., Kiani S.** Relaxant effect of Thymus vulgaris on guinea Pig tracheal chains and its possible mechanism(s). *Phytotherapyresearch*, 20 : 28-33.2006.
- **Braca, A., De Tommasi, N., Di Bari, L., Pizza, C., Politi, M., &Morelli, I. (2001).**Antioxidantprinciplesfrom bauhinia t arapotensis. *Journal of naturalproducts*, 64(7), 892-895.
- **Brahimi ; (2010).** Etude du comportement de ponte du **carpocapse** (*Cydiapomonella*L.)
- **Lemjallad, Lamiaa., (2015).** Etude phytochimique et évaluation de différentes activités des extraits de *Pimpinellaanisum*.
- **(Lepidoptera : Tortricidae)** sur deux variétés de pommier. Mémoire Magister. Université**El-Hadj Lakhdar. Batna.133p.**
- **Brahim, I; (2010).** Étude du comportement de ponte du carpocapse (*Cydiapomonella* L.) (*Lepidoptera, Tortricidae*) sur deux variétés de pommier. Mémoire Magister. Université El-Hadj Lakhdar. Batna. 133p.
- **Bretaudeau ,1978; Chouinard ET al; (2000).** - Mémoire Utilisation des sucres et virus de la granulose pour la lutte contre le carpocapse (*Cydiapomonella*L.) (*Lepidoptera,Tortricidae*) en verger de pommier situé dans la région de Lambiridi (Wilaya de Batna), Pp.
- **Bretaudeau J., et Faure Y; (1991).** Atlas d'arboriculture. Vol2, **Edition Lavoisier , I.N.R.A , Paris, France,66p.**
- **Brook, P.J; (1969).** Effects of light, température, and moisture on release of ascospores by
- **Brown, J. K., & Hovmøller, M. S; (2002).** Aerial dispersal of pathogens on the global and continental scales and its impact on plant disease. *Science*, 297(5581), 537-541.
- **Brown, J. K., & Hovmøller, M.S; (2002).** Aerial dispersal of pathogens on the global and continental scales and its impact on plant disease. *Science*, 297(5581), 537-541.
- **Brun L., Gomez C., Dumont E; (2005).** -Prophylaxie contre la tavelure du pommier. *Phytoma*, n°581, 16-18.

- **Bruneton J; (1999).** - « Pharmacognosie et phytochimie » Plantes médicinales. 3ème éd Tec & Doc. Paris, pp: 101-120.
- **Campbell, CL., et Madden, L.V; (1990).** Introduction to plant disease epidemiology. John
- **Caraco, T., Duryea, M. C., Glavanakov, S., Maniatty, W., & Szymanski, B. K; (2001).** Host spatial heterogeneity and the spread of vector-borne infection. *Theoretical Population Biology*, 59(3), 185-206.
- **Caraco, T., Duryea, M. C., Glavanakov, S., Maniatty, W., & Szymanski, B. K; (2001).** Host spatial heterogeneity and the spread of vector-borne infection. *Theoretical Population Biology*, 59(3), 185-206.
- **Caraco, Y., Muszkat, M., & Wood, A. J; (2001).** Phenytoin metabolic ratio: a putative marker of CYP2C9 activity in vivo. *Pharmacogenetics and Genomics*, 11(7), 587-596.
- **Carisseetal; (2007).**Spatiotemporal Relationships Between Disease Development and Airborne Inoculum in Unmanaged and Managed Botrytis Leaf Blight Epidemics. *Phytopathology* 98:38-44.
- **Carisse O., Dewdney M; (2002).** -A review of non-fungicidal approaches for the control of apple scab. *Phytoprotection*, n°83, 1-29.
- **Carisse, O., & Dewdney, M; (2002).** A review of non-fungicidal approaches for the control of apple scab. *Phytoprotection*, 83(1), 1-29.
- **Carisse, O., Mac Cartney , H. A., Gagnon, J. A., et Brodeur, L; (2005).**Quantification of airborne inoculum as an aid in the management of leaf blight of onion caused by **Botrytis squamosa**. **Plant Disease 89: 726-733.**
- **Carisse, O., Savary, S., & Willocquet, L; (2008).**Spatiotemporal relationships between disease development and airborne inoculum in unmanaged and managed Botrytis leaf blight epidemics. *Phytopathology*, 98(1), 38-44.
- **Carisse, O., Savary, S., & Willocquet, L; (2008).**Spatiotemporal relationships between disease development and airborne inoculum in unmanaged and managed Botrytis leaf blight epidemics. *Phytopathology*, 98(1), 38-44.
- **Catherine Meloche; (2006);** Hétérogénéité et dispersion spatiale de la tavelure du pommier et développement d'un plan d'échantillonnage séquentiel,131p.
- Chabasse D., Bouchara J.P., Gentile L., Brun S., Cimon B., et Penn P; (2002). Cahier de formation Biologie médicale, Les moisissures d'intérêt médical, France : Bioforma. 160p.
- **Chabasse D., Bouchara J.P., Gentile L., Brun S., Cimon B., et Penn P; (2002).** Cahier de formation Biologie médicale, Les moisissures d'intérêt médical, France : Bioforma. 160p.
- **Charest, J., Dewdney, M., Paulitz, T., Phillion, V., & Carisse, O; (2002).**Spatial distribution of *Venturia inaequalis* airborne ascospores in orchards. *Phytopathology*, 92(7), 769-779.
- **Charest, J., Dewdney, M., Paulitz, T., Phillion, V., et Carisse, O; (2002)** . Spatial distribution of *Venturia inaequalis* airborne ascospores in orchards. *Phytopathology*, 92 : 769-779.

- **Charton E; (1992).** - Pommes et pommiers. Ed. S.A.E.P., 100P.
  - **Chevreau, E. ET Morisot, D; (1985).** Variabilité génétique d'une collection d'espèces des genres Malus et Pyrus, Analyse botanique et enzymatique. D.E.A. INRA. Station d'arboriculture fruitière 1-8.
  - **Costa, C. A., Bidinotto, L. T., Takahira, R. K., Salvadori, D. M., Barbisan, L. F., & Costa, M; (2011).** Cholesterol reduction and lack of genotoxic or toxic effects in mice after repeated 21-day oral intake of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil. *Food and Chemical Toxicology*, 49(9), 2268-2272
  - **Coutanceau; (1962).**Arboriculture fruitière. Technique et économie des cultures de rosacées fruitières ligneuses.2 eme edition Paris [FRA] : Baillière et fils, .575p.
  - **Couteux A., Lejeune V; (2005).** -*Index phytosanitaire ACTA* (Association de Coordination Technique Agricole), ACTA, 41<sup>e</sup> édition, Paris, 205-232.
  - **Creemers, P. Vanmechelen, A. Hauke, K; (2002).** Sanitation practices to reduce apple scab inoculum in orchards. 6th International IOBC/WPRS Workshop of Pome Fruit Disease, Lindau, Germany, 2002.
  - **Creemers, P., Vanmechelen, A., Herbots, A; (1996).** Lutte contre la tavelure du pommier par un schéma réduit de traitements intégrant les caractéristiques des fongicides et du climat ainsi que des paramètres biologiques. *Le Fruit Belge* 459: 7-11.
  - **Crété, X; (2005).** Tavelure du pommier : Revenir à la prophylaxie. Document de vulgarisation. CEHM. éd., pp.6.
  - **Christophe, S., Ballot, J., Ouazzani, R. M., Antoci, V., & Salmon, S. J. A. J. (2018).** Deciphering the oscillation spectrum of  $\gamma$  Doradus and SPB stars. *Astronomy&Astrophysics*, 618, A47.
  - **De Langhe, E., Swennen, R., & Wilson, G; (1983).** Aspects hormonaux du
  - **Dib.H; (2010).** Rôle des ennemies naturel dans la lutte biologique contre le puceron cendré *Dysaphisplantaginea* (Hémitera aphididea ) en verger de pommier
  - **Dibong SD, Mpondo ME, Ngoye A, Kwin MF, Betti JL; (2011).**Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*. 37:2496-2507.
- Diminution des contaminations de la tavelure en verger de pommiers par la réduction de l'inoculum d'automne. *Alter Agri*, n° 62, 12-14. Distribution to disease incidence data. *Plant Disease*, 79: 536-540.
- **Didier, D. S., Emmanuel, M. M., Alfred, N., France, K. M., & Lagarde, B. J. (2011).** Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 37(9), 2496-2507.

- **Dupont, N. Biche, D. Cardon, J.C. Corroyer, B; (2006).** Lutte contre la tavelure : comment réduire l'inoculum d'automne ?. Cahier technique du Centre Technique de la Pomme à Cidre. n°13, 13-14.
- éd. Faucon, M. P., Chipeng, F., Verbruggen, N., Mahy, G., Colinet, G., Shutcha, M., .. & Meerts, P. (2012). Copper tolerance and accumulation in two cuprophytes of South Central Africa: *Crepidiorhopalon perennis* and *C. tenuis* (Linderniaceae). *Environmental and Experimental Botany*, 84, 11-16.
- **EDQM. Huiles essentielles – Aetherolea. Pharmacopée Européenne; (2017).**
- **EL Banna, H., Soliman, M., & Wabel, N; (2013).** Hepatoprotective effects of Thymus and Salvia essential oils on paracetamol-induced toxicity in rats. *J Physiol Pharmacol Adv*, 3(2), 41.
- **El-Banna et al; (2010, El-Banna H, Soliman M, wabel N., 2013).** Hepatoprotective Effects of Thymus and Salvia Essential oils on Paracetamol-Induced Toxicity in Rats. *J. Phys. Pharm. Adv.* 3(2): 41- 47.[doi:10.5455/jppa.20130228054608](https://doi.org/10.5455/jppa.20130228054608).
- **El Jemli, M., Kamal, R., Marmouzi, I., Zerrouki, A., Cherrah, Y., & Alaoui, K.(2016).** Radical-scavenging activity and ferric reducing ability of *Juniperus thurifera* (L.), *J. oxycedrus* (L.), *J. phoenicea* (L.) and *Tetraclinis articulata* (L.). *Advances in Pharmacological Sciences*, 2016.
- **El-Nekeety, A. A., Mohamed, S. R., Hathout, A. S., Hassan, N. S., Aly, S. E., & Abdel-Wahhab, M. A; (2011).** Antioxidant properties of *Thymus vulgaris* oil against aflatoxin-induced oxidative stress in male rats. *Toxicon*, 57(7-8), 984-991.
- **Elqaj, M., Ahami, A., & Belghyti, D; (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. *Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.*
- **Ettayebi K., El Yamani J., Rossi-Hassani B. D; (2000).** Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities in *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiology Letters*. 183:191-195.
- **Ettayebi, K., El Yamani, J., & Rossi-Hassani, B. D; (2000).** Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities in *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiology Letters*, 183(1), 191-195.
- **F. Bakkali, S. Averbek, D. Averbek, et M. Idaomar., (2008).** « Biological effects of essential oils--a review », *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.*, vol. 46,2, p.446-475, 2008.
- **FAO; (2019).** -Production mondiale du pommier, Organisation Mondiale de l'Agriculture et de l'Alimentation. [En ligne]. Disponible sur : <[www.fao.org](http://www.fao.org)> (consulté le 25/05/2020)
- **Faucon M. Traité d'aromathérapie scientifique et médicale. Sang de la terre; (2012).** 880p.

- **Fauriel J., Gomez C., Brun L., Chauffour D., De La Valle D., Rolland E; (2003).**
- **Fiacadorri, R., Cesari, A; (2000).** Sanitation from *Venturia inaequalis* using an antagonist *Athelia bombacina* to reduce ascospore inoculum. *Acta horticulturae*, 525: 245-256.
- **Figueredo, G; (2007).** Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).
- **Filipe, J. A. N., Otten, W., Gibson, G. J., & Gilligan, C. A; (2004).** Inferring the dynamics of a spatial epidemic from time-series data. *Bulletin of Mathematical Biology*, 66(2), 373-391.
- **Filipe, J. A. N., Otten, W., Gibson, G. J., & Gilligan, C. A; (2004).** Inferring the dynamics of a spatial epidemic from time-series data. *Bulletin of Mathematical Biology*, 66(2), 373-391.
- **Fiss, M., Kucheryava, N., Schherr, J., Kollar, A., Arnold, G., Auling, G; (2000).** Isolation and characterization of epiphytic fungi from the phyllosphere of apple as potential biological agents against apple scab (*Venturia inaequalis*) *J. Plant Dis. Protection*, 107: 1-11.
- **Forman, H. J., & Torres, M; (2002).** Reactive oxygen species and cell signaling: respiratory burst in macrophage signaling. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 166(supplement\_1), S4-S8.
- **Fournie J.L., Laurent M.A., Chaussabel A.L., Exbrayat P; (2004).** -La tavelure. *Zoom 26 Arboriculture*, n°1128, 2-7.
- **Frredon Corse; (2008).** (Suivi Phytosanitaire des pommiers, Vallée du Prunelle ; 30 P fungicide programs for control of apple scab in orchards with low potential
- **Gadoury D.M., Semb L., Seem R.C; (1997).** -Ascospore release and infection of apple leaves by conidia and ascospores of *Venturia inaequalis* at low temperatures.
- **Gadoury D.M., Stensvand A., Seem R.C; (1998).** -Influence of light, relative humidity, and
- **Gautier M;(1987).**La culture fruitière. Volume 1, l'arbre fruitier. Ed. J.B. Baillière, Paris, 492 P
- **Gautier M; (1993).** La culture fruitière. L'arbre fruitier. Vol I. Ed. Lavoisier. Paris.594p.
- gestion durable de la résistance, Thèse de doctorat 347p-Université d'Agers-.
- **Gherman, C., Culea, M., & Cozar, O; (2000).** Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS. *Talanta*, 53(1), 253-262.
- **Ghesten A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A.M; (2001).**Le préparateur en pharmacie dossier 2 —botanique-pharmacognosie- phytothérapie-homéo thérapeiell. Ed Lavoisier Paris. P: 193-199-206-207.
- **Gibson A.P.G. and Vilkberg V; (1998).** The species of Asaphes Walker from America North of Mexico with remarks on extralimital Distribution and taxa (Hymenoptera : Chalcidoidea , Pteromalidea) .*Journal of Hymenoptera Research*, 7(2) :209-256.

- **Gibson A.P.G. and Vilkberg V; 1998.** The species of *Asaphes* Walker from America North of Mexico with remarks on extralimital Distribution and taxa (Hymenoptera : Chalcidoidea , Pteromalidea) .Journal of Hymenoptera Research, 7(2) :209-256.
- **Gibson A.P.G. and Vilkberg V; 1998.** The species of *Asaphes* Walker from America North of Mexico with remarks on extralimital Distribution and taxa (Hymenoptera : Chalcidoidea , Pteromalidea) .Journal of Hymenoptera Research, 7(2) :209-256.
- **Gibson, A. P., Austin, T., Everdell, N. L., Schweiger, M., Arridge, S. R., Meek, J. H., & Hebden, J. C; (2006).** Three-dimensional whole-head optical tomography of passive motor evoked responses in the neonate. *Neuroimage*, 30(2), 521-528.
- **Gibson, G. J., & Austin, E. J; (1996).**Fitting and testing spatio-temporal stochastic models with application in plant epidemiology. *Plant Pathology*, 45(2), 172-184.
- **Gibson, G. J., & Austin, E. J; (1996).**Fitting and testing spatio-temporal stochastic models with application in plant epidemiology. *Plant Pathology*, 45(2), 172-184.
- **Gibson, G.J. and E.J. Austin; (1996).** Fitting and testing spatio temporal stochastic models with application in plant epidemiology. *Plant Pathology*, 45(2): p. 172-184.
- 68. Gibson, G.J., Investigating mechanisms of spatiotemporal epidemic spread using stochastic models. *Phytopathology*, 1997. 87(2): p. 139-146
- **Giraud et al;(2014).** Les pérégrinations du pommier domestique. N° 439 - Mai 2014.36-41.
- **Giraud M., Trioloff P., Torneus C., Johan X., Machardy W.E., Stansvand A., Hockenhul J.,**
- **Giraud, M., Orst, R, (2004).** **Enquete nationale tavelure; (2004).** Infos-Ctifl. 218:31-35.
- **Gloyer, W.O; (1937).** Evaluation of the Geneva experiment on scab control. (Abstr.) *Phytopathology* 27 : 129.
- **Goetz, P., & Ghedira, K; (2012).** Introduction à la phytothérapie anti-infectieuse. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 3-14). Springer, Paris.
- **Gomez, C., Brun, L., Chauffour, D., De Le Val, D; (2007).** Effect of leaf litter management on scab development in an organic apple orchard. *Agriculture, Ecosystems&Environment*. 118: 249-255.
- **Gosme, M; (2007).** Modélisation du développement spatio-temporel des maladies d'origine tellurique (Doctoral dissertation, Agrocampus-Ecole nationale supérieure d'agronomie de rennes) ,201 p
- **Gosme.M; (2007).** - Modélisation du développement spatio-temporel des maladies d'origines tellurique. 200p.grapedownmildew. *Phytopathology*, 85 : 269-275.Group – 12<sup>ème</sup> réunion.
- **GuetallaFerahNaama; (2009),** Entomofaune, Impact économique et bio-écologie des principaux ravageurs du pommier dans la région des Aurès.166p Thèse de doctorat.
- **GuetallaFerahNaama; (2009).**Entomofaune, Impact économique et bio-écologie des principaux ravageurs du pommier dans la région des Aurès.166p Thèse de doctorat.

- **Gülçin, İ. (2006).** Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217(2-3), 213-220
- **Guillard, D., & Lewis, A. E; (2001).** Nickel carbonate precipitation in a fluidized-bed reactor. *Industrial & engineering chemistry research*, 40(23), 5564-5569.
- **Gupta, G.K., Lele, V.C; (1980).** Role of urea in suppression of ascigerous stage, and comparative in-vitro efficacy of fungicides against apple scab. *Indian J. Agric. Sci.* 50 : 167-173.
- **Gupta, G.K; (1979).** Role of on-season, post harvest and pre leaf fall sprays in the control of apple scab (*Venturia inaequalis*). *Indian J. Mycol. & Plant pathol.* 9: 141-149.
- **Haffaf, M., &Merzougui, H. (2014).***Etude technico-culturale du pommier Malus pumila Mill dans la région de M'sila* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
- **Hancock, C; (2008).** Décoloniser les représentations: esquisse d'une géographie culturelle de nos «Autres». In *Annales de géographie* (No. 2, pp. 116-128). Armand Colin.
- **Hantezberg H; (2005).** -Amélioration du raisonnement de lutte chimique contre la tavelure du Pommier. Rapport de stage, université de Renne. 27 p.
- **Hazem Dib; (2010).** Rôle des ennemies naturel dans la lutte biologique contre le puceron cendré *Dysaphisplantaginea* (Hémiteraaphididea ) en verger de pommier,
- **Heimbach, F. (1997).** Field tests on the side effects of pesticides on earthworms: influence of plot size and cultivation practices. *SoilBiology and Biochemistry*, 29(3-4), 671-676.
- **Herter, F. G; (1992).** Dormance des bourgeons et phenologie de quelques cultivars de pommier: effet de la température en interaction avec le génotype (Doctoral dissertation, Clermont-Ferrand 2).
- **Heuzet.M ; (2012).** Les clémentiniers et autres petits agrumes, Edit. Quae, France, p. 368
- **Hilan, C., Sfeir, R., Jawish, D., & Aitour, S; (2006).**Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae. *Lebanese Science Journal*, 7(2), 13-22.
- **Holb, I.J; (2005).** Effect of pruning on apple scab in organic apple production.. *Plant Disease*. 89: 611-618.
- **Hoskins, W. M., & Gordon, H. T; (1956).**Arthropod resistance to chemicals. *Annual Review of Entomology*, 1(1), 89-122.
- **Howard L.Tomato leaf** (non datée, Dartmouth college, Hanover, États-Unis). Photographie en microscopie électronique à balayage. In Ripple Electron Microscope Facility.Disponiblesur[http://remf.dartmouth.edu/images/TomatoLeafSEM/tomatoleafs\\_emcatalog.html](http://remf.dartmouth.edu/images/TomatoLeafSEM/tomatoleafs_emcatalog.html) (consulté le 07/02/2017).
- **HUBERT J. (2006).** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines, Thèse de doctorat Institut national polytechnique de Toulouse, France.174p..
- **Huberdeau D., Géoffrion R; (1998).** -Prévoir les attaques de tavelures. *Phytoma*, n°509, 40-45.

- **Huberdeau D; Géoffrion R; (1998).** -Prévoir les attaques de tavelures. *Phytoma*, n°509, 40-45
- **Huberdeau, D; (2002).** La tavelure du pommier, trois années difficiles. Journées techniques CTIFL-SPV.
- **Huberdeau, D; (2002).** La tavelure du pommier, trois années difficiles. Journées techniques CTIFL-SPV.
- **Hudaib M., Speroni E., Pietra A. M. D., Carvin V; (2002).**GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris*L.) oil composition and variations during vegetative cycle. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*29: 691-700
- **Hossein zadeh, S., Kukhdan, A. J., Hosseini, A., & Armand, R. (2015).**The application of *Thymus vulgaris* in traditional and modern medicine: a review. *Global J Pharmacol*, 9, 260-6.
- *inaequalis* utilizing cumulative degree-days. *Phytopathology*, 64 : 140.
- incidence in a spatial hierarchy. *Phytopathology*, 89 : 770-781.
- *inaequalis*), Recherche de nouveaux loci et construction de « Géotypes » en vue d'une
- **INRA, CTIFL, DGAL-SDQPV; (2005).** -Note nationale tavelure du pommier 2005. *Phytoma*, n°579, 21-23.
- **INRA, CTIFL, DGAL-SDQPV; (2006).** -Note nationale tavelure du pommier 2006. 2p.
- **INRA, DGAL-SDQPV ; (2003).** -La tavelure du pommier : raisons de sa recrudescence et conseils pour la maîtriser en 2003. *Phytoma*, n°559, 33-35
- **IserinP.,Vican,P;**  
(2001).Encyclopédie des plantes médicinales/Identification, préparations, soins. Larousse e édition, Paris, 335p
- **James, T. Y., Kauff, F., Schoch, C. L., Matheny, P. B., Hofstetter, V., Cox, C. J., ... & Vilgalys, R; (2006).**Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*, 443(7113), 818-822.
- **Jones, N. A., Ross, H., Lynam, T., Perez, P., & Leitch, A; (2011).** Mental models: an interdisciplinary synthesis of theory and methods. *Ecology and Society*, 16(1).
- **Jayaprakash g.K., SINGH R.P. et Sakariah K.K.(2001).**Antioxidant activity of grape seed extracts on peroxidation models in-vitro.*J Agric. Food Chem.* (55): 1018-1022.
- **Jones, S. J., Gent, D. H., Pethybridge, S. J., & Hay, F. S; (2011).** Spatial characteristics of white mould epidemics and the development of sequential sampling plans in Australian bean fields. *Plant Pathology*, 60(6), 1169-1182.
- **Kabouche, Z., Boutaghane, N., Laggoune, S., Kabouche, A., Ait-Kaki, Z., & Benlabeled, K; (2005).**Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *International Journal of Aromatherapy*, 15(3), 129-133.

- **Keefover-Ring, K., Thompson, J. D., & Linhart, Y. B; (2009).** Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction. *Flavour and fragrance journal*, 24(3), 117-122.
- **Kon, K., Rai M.** Antibacterial activity of *Thymus vulgaris* essential oil alone and in combination with other essential oils. *Bioscience*, 4 : 50-56. 2012.
- **Koul et al ; (2008).** Warned that the uses of synthetic fungicides – in the post-harvest treatments of vegetables – could develop resistant ...Biopestic. Int. 4(1): 63 –84 (2008)
- **Kulišić et al; (2006).**Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (4) : 485-492
- **Kulisic T., Radonic A., Milos M; (2005),** Antioxidant properties of thyme (*Thymusvulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) essential oils. *Italian J. Food Sci*,17(3),1-10p
- **Kulišić, T., Dragović-Uzelac, V., & Miloš, M; (2006).** Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technology&Biotechnology*, 44(4).
- L'agriculture contre l'environnement? Diagnostic, solutions et perspectives économiques. In *Annales des mines-Série Responsabilité et environnement* (No. 30, pp. 37-59).
- **Ladoh, Y. C. F., Dibong, S. D., Nyegue, M. A., Djembissi, T. R. P., Lenta, N. B., Mpondo, M. E.,&Wansi, J. D. (2014).** Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmantheracapitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences*, 84, 7636-7643.
- **Lannou et al; (2008).** The spatial structure of spontaneous epidemics of different diseases in a groundnut plot. *Netherland Journal of Plant Pathology*,1991. 97: p. 355-368
- **Lannou, C., & Savary, S; (1991).** The spatial structure of spontaneous epidemics of different diseases in a groundnut plot. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 97(6), 355-368.
- **Lannou, M. I., Hélon, F., & Namy, J. L; (2008).** Applications of lanthanide trichloride hydrates, prepared from mischmetall, in the Biginelli reaction. *Synlett*, 2008(01), 105-107.
- **Lavigne, P. M., &Karas, R. H. (2013).** The current state of niacin in cardiovascular disease prevention: a systematic review and meta-regression. *Journal of the American College of Cardiology*, 61(4), 440-446.
- leaf litter with urea on ascospore dose of *Venturia inaequalis* and disease buildup.
- **Lee K.w., Everts H., Kappert H.J., Wouterse H., Frehner M. and Beynen A.C; (2004).** Cinnaman aldedehyde, but not thymol, counteracts the carboxymethyl cellulose-induced growth depression in female broilerchickens.*Int.J.Poult.Sci.* ,3:608-612.

- **Lee, Y. S., Kim, J., Shin, S. C., Lee, S. G., & Park, I. K; (2008).** Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(1), 23-28.
- **Lespinasse, Y., Fouillet, A; (1990).** Création de variétés de pommiers résistantes à la tavelure : introduction de mécanismes de résistance à d'autres parasites. Entretiens techniques – INRA Angers, 57-59.
- litter with urea on ascospore dose of *Venturia inaequalis* and disease buildup. *Plant disease*, n°884, 1319-1326.
- **Lô-Pelzer, E., Bousset, L., Jeuffroy, M. H., Salam, M. U., Pinochet, X., Boillot, M., & Aubertot, J. N; (2010).** SIPPOM-WOSR: A Simulator for Integrated Pathogen POulation Management of phoma stem canker on Winter OilSeed Rape: I. Description of the model. *Field Crops Research*, 118(1), 73-81.
- **Lô-Pelzer, E., Bousset, L., Jeuffroy, M. H., Salam, M. U., Pinochet, X., Boillot, M., & Aubertot, J. N; (2010).** SIPPOM-WOSR: A Simulator for Integrated Pathogen POulation Management of phoma stem canker on Winter OilSeed Rape: I. Description of the model. *Field Crops Research*, 118(1), 73-81.
- **Luca Valgimigli, Essential oils as natural food additives: composition, applications, antioxidant and antimicrobial properties. New York: Nova Science Publishers, 2012.**
- **Mahaut, T., Deleu, R., Rasquin, B., & Schiffers, B. (2001).** Comparaison de la toxicité directe et des effets sublétaux de 4 pesticides à l'égard de différents stades de développement d'*Adaliabipunctata* (Coleoptera, coccinellidae). *Actes du 30ème congrès du groupe français des pesticides*, 183-189.
- **Machardy W.E., Gadoury D.M; (1989).** -A revision of Mills's criteria for predicting apple
- **MacHardy, W. E., & Gadoury, D. M; (1989).** A revision of Mills criteria for predicting apple scab infection periods. *Phytopathology*, 79(3), 304-310.
- **MacHardy, W.E., Berkett, L.P., Neefus, CD., Gotlieb, A.R., et Sutton, D.K; (1999).** An
- **MacHardy, W.E., et Jeger, MJ; ( 1983).** Integrating control measures for the management of
- **MacHardy, W.E., Gadoury, D.M., et Rosenberger, D.A; (1993).** Delaying the onset of
- **MacHardy, W.E., Gadoury, D.M., Gessler, C; (2001).** Parasitic and biological fitness of *Venturia inaequalis*: relationship to disease management strategies. *Plant disease*,. 85: 1036-1051.
- **Madden, L. V., & Hughes, G; (1999).** Sampling for plant disease incidence. *Phytopathology*, 89(11), 1088-1103.
- **Madden, L.V., et Hughes, G; (1994).** BBD - Computer software for fitting the beta-binomial
- **Madden, L.V., et Hughes, G; (1995).** Plant disease incidence: distribution, heterogeneity
- **Madden, L.V., et Hughes, G; (1999).** An effective sample size for predicting plant disease
- **Madden, L.V., Hughes, G., et Ellis, M.A; (1995).** Spatial heterogeneity of incidence of

- **Mahaffee, W. F., & Stoll, R; (2016).** The ebb and flow of airborne pathogens: monitoring and use in disease management decisions. *Phytopathology*, 106(5), 420-431.
- **Mahaffee, W. F., & Stoll, R; (2016).** The ebb and flow of airborne pathogens: monitoring and use in disease management decisions. *Phytopathology*, 106(5), 420-431.
- **Mahaut, T Copin, A., Latteur, G., Deleu, R.,, &Schiffers, B; (2001).** Evaluation du risque de toxicite de pesticides vis-a-vis de trois insectes auxiliaires (*Adaliabipunctata*, *Aphidius rhopalosiphi* et *Episyrphusbalteatus*) par le dosage chimique des residus.
- **Majewski, M. S. and P. D. Capel; (1995).** Pesticides in the atmosphere: distribution, trends and governing factors, Ann Arbour Press, Michigan, USA
- **Malki, S., &Yahia, A.L. (2014).** Evaluation of diuretic activity from *Teucriumpolium* L. capitatum extracts (Lamiaceae) in rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5, 4: 1259-1262.
- **Manly, B. F. J; (1991).** Randomization and monte carlo methods in biology Chapman and Hall. London New York, 281 p.
- **Massie, L.B., et Szkolnik, M; (1974).** Prédiction of ascospore maturity of *Venturia*
- **Mata, A. T., Proença, C., Ferreira, A. R., Serralheiro, M. L. M., Nogueira, J. M. F., &Araújo, M. E. M; (2007).**Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food chemistry*, 103(3), 778-786.
- **Matthews, L., & Haydon, D; (2007).** Introduction. Cross-scale influences on epidemiological dynamics: from genes to ecosystems. *Journal of the Royal Society Interface*, 4(16), 763-765.
- maturity of populations on discharge of ascospores of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, Vol. 88, n°9, 902-909.
- **McRoberts, N., Hughes, G., Madden, L.V; (2003).** The theoretical basis and practical
- **Meyer, B. J., Mann, N. J., Lewis, J. L., Milligan, G. C., Sinclair, A. J., & Howe, P. R; (2003).** Dietary intakes and food sources of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, 38(4), 391-398.
- **Mielke, P. W., & Berry, K. J; (2001).** Permutation methods: a distance function approach (p. xvii). New York: Springer , 352p.
- **Mielke, P. W., & Berry, K. J; (2001).** Permutation methods: a distance function approach (p. xvii). New York: Springer , 352p.
- **Miller et al; (2006).**Cacogenic glycosides from the rare Australian endemic rainforest tree *Clerodendrumgrayi* (Lamiaceae)-Phytochemistry; Vol. 67; pp 43–51
- **Mills W.D; (1944).** -Efficient use of sulphur dusts and sprays during rain to control apple scab. *Cornell Ext. Bull.*, n°630, 1-4.
- **Msaada, K., Tammar, S., Salem, N., Bachrouch, O., Sriti, J., Hammami, M., Selmi, S., Azaiez, S., Hadj-Brahim, A., Al Sane, K., Limam, F. AndMarzouk, B., 2016.** Chemical

Composition And Antioxidant Activities Of Tunisian Thymus Capitatus L Methanolic Extract. International Journal Of Food Properties, Vol. 19, No. 6, Pp. 1381-1390. <http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2015.1082138>.

- **Morales, R; (2002).** The history, botany and taxonomy of the genus Thymus. Thyme: the genus Thymus, 1, 1-43.
- **Moretti, E., & Perloff, J. M; (2002).** Efficiency wages, deferred payments, and direct incentives in agriculture. *American Journal of Agricultural Economics*, 84(4), 1144-1155.
- **Mundt, C. C; (2009).** Importance of autoinfection to the epidemiology of polycyclic foliar disease. *Phytopathology*, 99(10), 1116-1120.
- **Nikolic M. Glamoclija J., Ferreira I.C.F.R., Calhelha R.C., Fernandes A., Markovic T., Markovic D., Abdulhamed G., Sokovic M.** Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of Thymus serpyllum L., Thymus algeriensis Boiss. And Reut and Thymus vulgaris L. essential oils. *Industrial crops and products*, 52 : 183-190. 2014.
- **Noda, T; (2004).** Spatial hierarchical approach in community ecology: a way beyond high context-dependency and low predictability in local phenomena. *Population Ecology*, 46(2), 105-117.
- **Noda, T; (2004).** Spatial hierarchical approach in community ecology: a way beyond high context-dependency and low predictability in local phenomena. *Population Ecology*, 46(2), 105-117.
- **Olivier, J.M; (1986).** La tavelure du pommier. Conduite d'une protection raisonnée. *Adalia*, 1 : 3-19.
- **O'Rourke, D., & Connolly, S; (2003).** Just oil? The distribution of environmental and social impacts of oil production and consumption. *Annual Review of Environment and Resources*, 28(1), 587-617.
- **Quezel P., Santa S, 1962,** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris, 636p
- **OYAIZU M. (1986).** Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine, *Jpn J Nutr*, 103 :413-419.
- **Paris-Palacios et al; (2001).** Paris-Palacios, S., Biagianni-Risbourg, S., & Vernet, G. (2003). Metallothionein induction related to hepatic structural perturbations and antioxidative defences in roach (*Rutilus rutilus*) exposed to the fungicide procymidone. *Biomarkers*, 8(2), 128-141.
- **Parisi L., Didelot F., Brun L; (2004).** -Raisonnement la lutte contre la tavelure du pommier : un enjeu majeur pour une arboriculture durable. *Phytoma*, n°567, 49-53.

- **Parisi, L., Didelot, F., Brun, L;** ( 2004). Raisonner la lutte contre la tavelure du pommier: Un enjeu majeur pour une arboriculture durable. AFPP. 7eme conférence internationale sur les maladies des plantes. Tours -France, 3-4-5 décembre 2003.
- **Philion V., Trapman M., Heijne B., Longpre B., Bennett P., Schloffer K;** ( 2005). Apple scab Photographie en microscopie électronique à balayage. In Ripple Electron Microscope *Phytopathology*, Vol. 87, n°10, 1046-1057.
- **Piasentin;** (2010). Produits naturels en protection des cultures - potentiel d'utilisation des plantes a parfum, aromatiques et médicinales / PIASENTIN (J). FR/TERRES D'INNOVATION, 2010. - 87 P. *Plant Disease*, 84: 1319-1326
- plants. *Annals of Applied Biology*, 142 : 191-211.
- **Prasanth,R,Ravi,V.K,arsha,P.V,SatyamS;** (2014). Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. *Med Aromat Plants*. 3(4):1-3. primary apple scab, *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. *Protection Ecology* , 5 : 103-125.
- **Quézel, P., & Santa, S;** (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.
- **Rachid Ismaili et al** .Etude De L'Activité Antioxydante Des Huiles Essentielles De Plantes Aromatiques Et Médicinales Marocaines *European Scientific Journal* April 2017 edition Vol.13, No.12 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431
- **Rasmussen, H. N;** (1995). *Terrestrial orchids: from seed to mycotrophic plant*. Cambridge University Press.
- **Razzaghi-Abyaneh, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Rezaee, M. B., Jaimand, K., Alinezhad, S., Saberi, R., & Yoshinari, T;** (2009). Chemical composition and antiaflatoxic activity of *Carum carvi* L., *Thymus vulgaris* and *Citrus aurantifolia* essential oils. *Food Control*, 20(11), 1018-1024.
- rejetonnage des bananiers plantains. *Fruits*, 38(4), 318-325.
- risk» next spring. *Phytopathology*, 89 : S47.
- **Regnault-Roger, C., Ribodeau, M., Hamraoui, A., Bateau, I., Blanchard, P., Gil-Munoz, M. I., & Barberan, F. T.** (2004). Polyphenolic compounds of Mediterranean Lamiaceae and investigation of orientational effects on *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research*, 40(4), 395-408.
- **Ristaino, J. B., Larkin, R. P., & Campbell, C. L;** (1994). Spatial dynamics of disease symptom expression during *Phytophthora* epidemics in bell pepper. *Phytopathology*, 84(10), 1015-1023.
- **Roche, S;** (2000). Les enjeux sociaux des systèmes d'information géographique: le cas de la France et du Québec. *Les enjeux sociaux des systemes d'information géographique*, 1-128.

- **ROGER C et al; (2004)**. Disturbance of *Acanthoscelides obtectus* behaviour by polyphenolic compounds identified in insecticidal (labiate botanicals). *Journal of Stored Product Research*, 40: 395-408.
- **Rolf, M. G., Brearley, C. A., & Mahaut-Smith, M. P; (2001)**. Platelet shape change evoked by selective activation of P2X1 purinoceptors with  $\alpha$ ,  $\beta$ -methylene ATP. *Thrombosis and haemostasis*, 85(02), 303-308.
- **Ronce, O; (2007)**. How does it feel to be like a rolling stone? Ten questions about dispersal, **O**; (evolution. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 38, 231-253.
- **Rota M.C et al; (2009)**. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food control*, 19: 681-687.
- **Saleh et al; (2015)**. The Application of *Thymus vulgaris* in traditional and modern medicine: A Review. *Global Journal of Pharmacology*. 2015; 9 (3): 260-266..
- **Sanogo, S., Aylor, D.E; (1997)**. Infection efficiency of *Venturia inaequalis* ascospores as affected by apple flower bud developmental stage. *The American Phytopathological Society*, 81, : 661-663.
- **Sauphanor, B., Simon, S., Boisneau, C., Capowiez, Y., Rieux, R., Bouvier, J. C.,& Toubon, J. F; (2009)**. Protection phytosanitaire et biodiversité en agriculture biologique. Le cas des vergers de pommiers. *Innovations agronomiques*, 4, 217-228.
- **Savary A., Trivelli, G; (1967)**. La défense des plantes cultivées. *Traité pratique de phytopathologie et de zoologie agricole, Payot (Lausanne), 5ème édition. P.242-247.*
- scab infection periods. *Phytopathology*, n°79, 304-310.
- **Soufflet-Freslon; (2008)**. Résistance du pommier à la tavelure (*Venturia*
- **Stahl-Biskup, E., & Sáez, F. (Eds.); (2002)**. *Thyme: the genus Thymus*. CRC Press, 346p
- **Stensvand A., Amundsen T., and Semb L; (1998)**. -Discharge and dissemination of ascospores by *Venturia inaequalis* during dew. *Plant disease*, Vol. 82, n°7, 761-764.
- **Stensvand A., Eikemo H; (2005)**. -Use of a rainfall frequency threshold to adjust a degree-day model of ascospore maturity of *Venturia inaequalis*. *Plant disease*, n°89, 198-202.
- **Stensvand, A., Amundsen, T., Semb, L., Gadoury, D.M., Seem, R.C; (1998)**. Discharge and dissemination of ascospores by *Venturia inaequalis* during dew. *Plant Disease*, 82: 761-764.
- **Stensvand, A., Gadoury, D.M., Amundsen, T., Semb, L., Seem, R.C; (1997)**. Ascospores release and infection of apple leaves by conidia and ascospores of *Venturia inaequalis* at low temperatures. *The American Phytopathological Society*, 87, n°10. p?
- **Sutton D.K., Machardy W.E., LORD W.G; (2000)**. -Effects of shredding or treating apple leaf
- **Sutton, D.K., MacHardy, W.E., Lord, W.G; (2000)**. Effects of shredding or apple
- **Sutton, D.K., MacHardy, W.E; (1993)**. The reduction of ascosporic inoculum of *Venturia inaequalis* by orchard sanitation. *Phytopathology*, 83, 247

- **Sutton, T.B., Jones, A.L., Nelson, L.A; (1976).** Factors affecting dispersal of conidia of the apple scab fungus. *Phytopathology*, 66: 1313-1317. 42
- **Taylor, L.R.** 1961. Aggregation, variance and the mean. *Nature (Lond.)*, 189: 732-735.
- **Thuille, N., Fille, M., & Nagl, M; (2003).** Bactericidal activity of herbal extracts. *International journal of hygiene and environmental health*, 206(3), 217-221.
- **Trillot M., Masseron A., Mathieu V., Bergougnoux F., Hutin C., Lespinasse Y; ( 2002).** -*Le pommier*. CTIFL, Paris, 292 p.
- **Venturia inaequalis** (Cke.) Wint. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 12: 214-227. **Venturia inaequalis**: relationship to disease management strategies. *Plant Disease*, 85 : 1036-1051.
- **Viel, J. F., Challier, B., Pitard, A., & Pobel, D; (1998).** Brain cancer mortality among French farmers: the vineyard pesticide hypothesis. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 53(1), 65-70.
- **Veres, K. (2007).** Variability and biologically active components of some Lamiaceae species. Ph.D. thesis. Département de pharmacognosy. Univ. Szeged, Hungary, p.3.
- **Wahhab, M. A. (2011).** Antioxidant properties of *Thymus vulgaris* oil against aflatoxin-induced oxidative stress in male rats. *Toxicol*, 57(7-8), 984-991.
- **Waliwitiya R., Belton P., Nicholson R.A and Lowenberger C.A; (2009).** Effects of the essential oil constituent thymol and other neuroactive chemicals on flight motor activity and wing beat frequency in the blowfly *Phaenicia sericata*. ([www.interscience.wiley.com](http://www.interscience.wiley.com)) DOI 10.1002/ps.1871.
- **Waliwitiya, R., Belton, P., Nicholson, R. A., & Lowenberger, C. A; (2010).** Effects of the essential oil constituent thymol and other neuroactive chemicals on flight motor activity and wing beat frequency in the blowfly *Phaenicia sericata*. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 66(3), 277-289.
- **Warner J., Braun P.G; (1992).** -Discharge of *Venturia inaequalis* ascospores during daytime and nighttime wetting periods in Ontario and Nova Scotia. *Plant Pathology*, n°14, 315-321.
- **Wathryn Carter** – Spécialiste de lutte intégrée en pomiculture / MAAARO
- **Watt, R. J., & Andrews, D. P; (1981).** APE: Adaptive probit estimation of psychometric functions. *Current Psychological Reviews*, 1(2), 205-213.
- Wiley Interscience, New York.
- **Willocquet, L., & Savary, S; (2000).** An epidemiological simulation model with three scales of spatial hierarchy. *Phytopathology*, 94(8), 883-891.
- **Willocquet, L., & Savary, S; (2000).** An epidemiological simulation model with three scales of spatial hierarchy. *Phytopathology*, 94(8), 883-891.

- **Xavier Guyon SAMOS - Statistique spatiale, Université Paris 1** Février; (2007). Conférence S.A.D.A.' 07 - Cotonou – Benin (Statistique Appliquée pour le Développement en Afrique)
- **Xhaard, C., Fabre, B., Andrieux, A., Gladioux, P., Barres, B., Frey, P., & Halkett, F. (2011).** The genetic structure of the plant pathogenic fungus *Melampsora larici-populina* on its wild host is extensively impacted by host domestication. *Molecular Ecology*, 20(13), 2739-27
- **Y Mosleh, Y., Paris-Palacios, S., Couderchet, M., Biagianti-Risbourg, S., & Vernet, G; (2005).** Effects of the herbicide isoproturon on metallothioneins, growth, and antioxidative defenses in the aquatic worm *Tubifex tubifex* (Oligochaeta, Tubificidae). *Ecotoxicology*, 14(5), 559-571.
- **Yawo, M.K; (2014).** Caractérisation chimique des huiles essentielles de différentes provenances de *Thymus satureioides* C. & B. dans le Sud-Ouest Marocain et évaluation de leur potentiel
- **Zhiri A., Baudoux D.** Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. *Inspir Développement* (2005). 80p.

# **Annexes**

## Annexe 1 : Courbes d'étalonnage

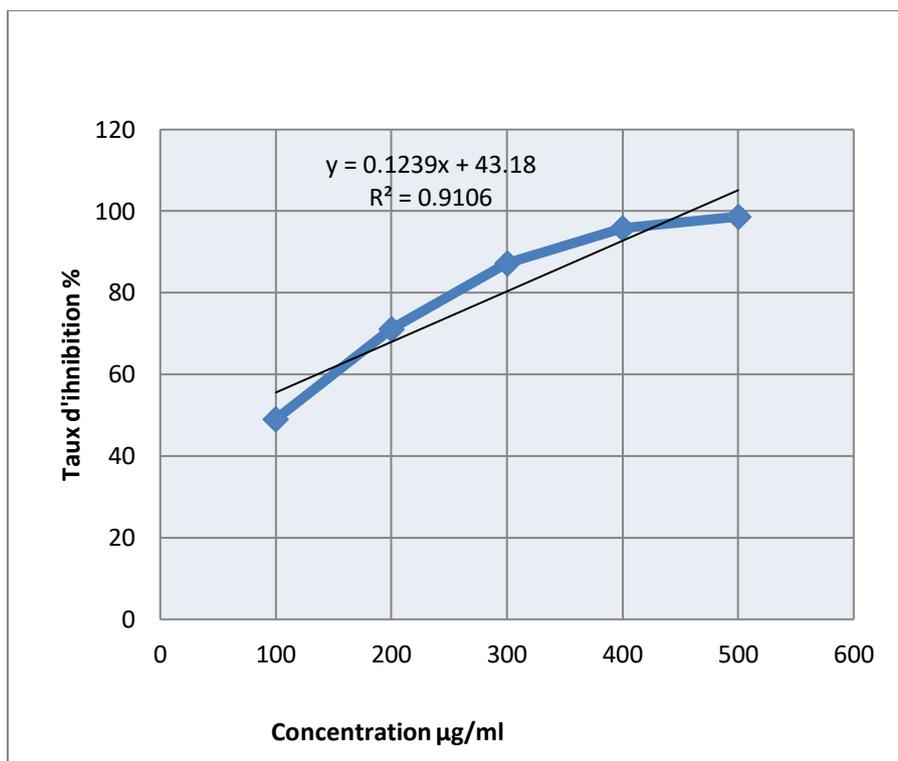


Figure 1 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique

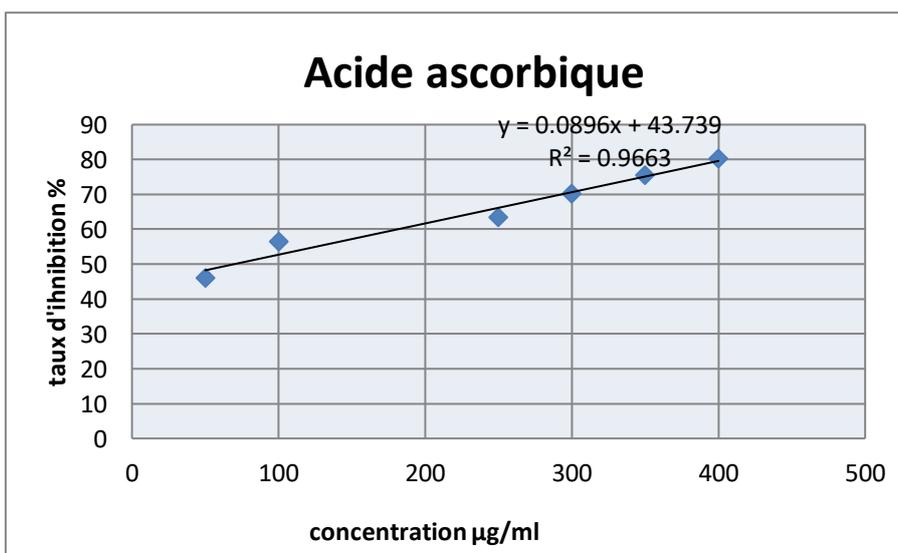


Figure 2 : Courbe des pourcentages d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique

## Annexe 2: Composition des milieux

### • Milieu PDA

Pomme de terre..... 200g  
Dextrose (glucose).....20g  
Agar-agar.....20g  
Eau distillée.....1000ml  
Ce milieu est stérilisé à l'autoclave à 120° C pendant 15mn.

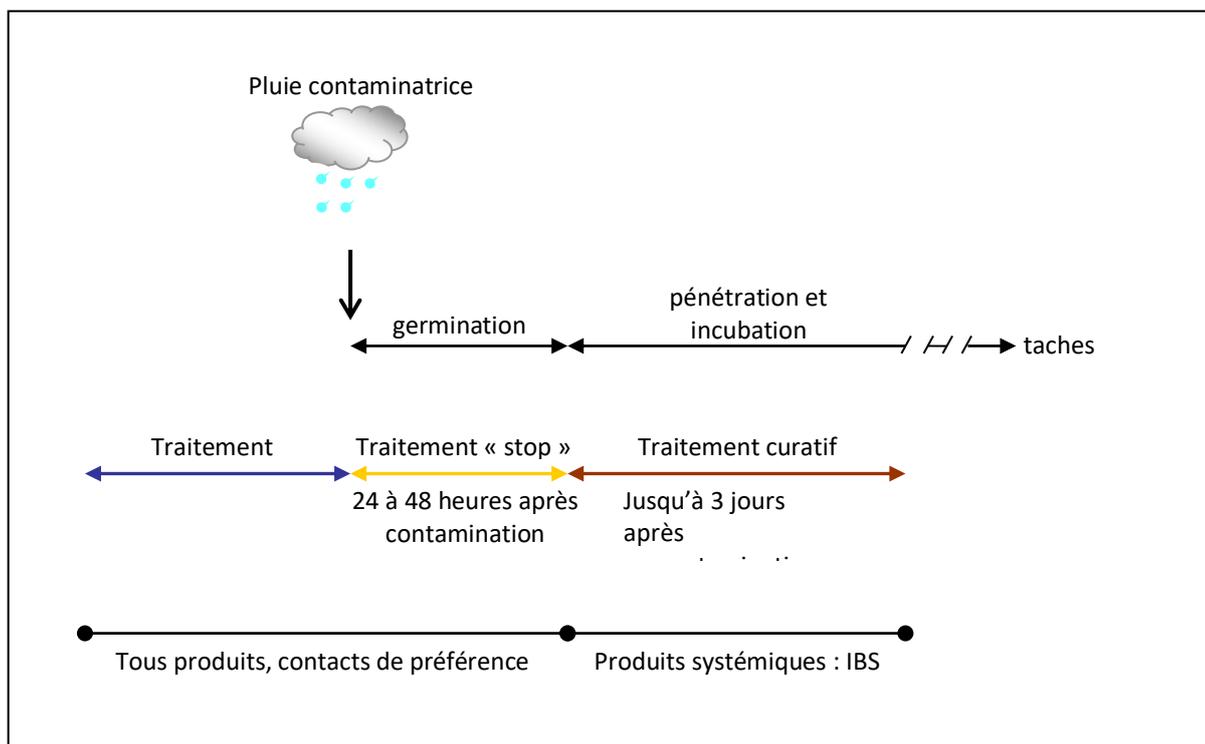
### • Sabouraud gélosé

Peptone.....40g  
Agar.....20g  
Eau distillée.....1000ml  
Ce milieu est stérilisé à l'autoclave à 120° C pendant 15mn.

### • Sabouraud liquide

Néopeptone.....10g  
Glucose.....20g  
pH=5-5.6  
Ce milieu est stérilisé à l'autoclave à 120° C pendant 15mn.

## Annexe 3 : Schéma du développement de la tavelure du pommier et positionnement des trois stratégies de lutte (Fournie J.L.et al. 2004)



**Input datasets**

**Dataset** ..... E:\AUTRES PROJETS DE RECHERCHE\BEN ALIOUACH\DATA FOR KRIGAGE - ArcGis.Ok.csv\_Features  
 Type ..... Feature Class  
 Data field 1 ..... PA du 05/03/2018  
 Records ..... 60

**Method** ..... **Kriging**  
 Type ..... Simple  
 Output type ..... Prediction  
 **Dataset #** ..... 1  
 Trend type ..... None  
 **Transformation** ..... Normal Score Transformation  
 Approximation ..... DensitySkew  
 Kernels ..... 1  
 BaseDistribution ..... Gamma  
 **Searching neighborhood** ..... Standard  
 Neighbors to include ..... 5  
 Include at least ..... 2  
 Sector type ..... Four and 45 degree  
 Major semiaxis ..... 9.413322370137  
 Minor semiaxis ..... 9.413322370137  
 Angle ..... 0  
 **Variogram** ..... Semivariogram  
 Number of lags ..... 12  
 Lag size ..... 1.176665296267  
 Nugget ..... 0.453242868313  
 Measurement error % ..... 100  
 **Model type** ..... Stable  
 Parameter ..... 2  
 Range ..... 9.413322370137  
 Anisotropy ..... No  
 Partial sill ..... 0.479946963468

**Input datasets**

**Dataset** ..... E:\AUTRES PROJETS DE RECHERCHE\BEN ALIOUACH\DATA FOR KRIGAGE - ArcGis Ok.csv\_Features  
 Type ..... Feature Class  
 Data field 1 ..... PA du 08/04/2019  
 Records ..... 60

**Method** ..... **Kriging**  
 Type ..... Simple  
 Output type ..... Prediction  
 **Dataset #** ..... 1  
 Trend type ..... None  
 **Transformation** ..... Normal Score Transformation  
 Approximation ..... DensitySkew  
 Kernels ..... 1  
 BaseDistribution ..... Gamma  
 **Searching neighborhood** ..... Standard  
 Neighbors to include ..... 5  
 Include at least ..... 2  
 Sector type ..... Four and 45 degree  
 Major semiaxis ..... 12.918577781139  
 Minor semiaxis ..... 12.918577781139  
 Angle ..... 0  
 **Variogram** ..... Semivariogram  
 Number of lags ..... 12  
 Lag size ..... 1.614822222642  
 Nugget ..... 0.414675794276  
 Measurement error % ..... 100  
 **Model type** ..... Stable  
 Parameter ..... 1.391796875  
 Range ..... 12.918577781139  
 Anisotropy ..... No  
 Partial sill ..... 0.55188871821

**Annex5 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par CPG**

