REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

MÉMOIRE

Présenté à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
En vue de l'obtention du diplôme de Master en Agronomie

Spécialité : Cultures Pérennes

Thème

Effet des huiles essentielles d'origan, de menthe poivrée et de citronnelle sur la croissance radiale de *Fusicaldium oleaginum* et *Alternaria alternata* pathogènes de l'olivier de la région de Kabylie

Présenté par : MALEK Elhocine

Devant le jury :

- **M^me^ Dahoumane - Larbaoui A.** **MAA** **Présidente**
- **M^me^ Taleb Toudert K.** **MCB** **Promotrice**
- **M^elle^ Derdah Y** **Etudiante doctorante** **Co-promotrice**
- **M^me^ Sahmoune-Sidi Mansour F.** **MAA** **Examinatrice**

2018/2019

REMERCIEMENTS

Avant tout développement de ce mémoire, Il apparait opportun de commencer par des remerciements à ceux qui nous ont beaucoup appris particulièrement à :

Ma promotrice Mme Taleb Toudert K. Maitre de conférences B à l'université Mouloud Mammeri, pour son encadrement, son orientation et ses précieux conseils.

Je tiens à remercier Mlle Derdah Y., de m'avoir porté son aide précieuse, son soutien et ses encouragements pendant la réalisation de ce mémoire.

Mais aussi, Mme Dahoumane Larbaoui A. MAA à l'université Mouloud Mammeri, d'avoir accepté de nous aider, de nous faire partager son savoir et d'avoir accepté de présider notre jury.

Mme Sahmoune-Sidi Mansour F. d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Je remercie également tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

A toi ma petite Mayssa

que dieu t’accueille dans son vaste paradis

Liste des figures

- Figure 1 : Morphologie des fleurs et fruits de l'olivier (Chevalier, 1948)……...4
- Figure 2 : Symptômes foliaires de *F.oleaginuim* ……6
- Figure 3 : Cycle biologique de *F.oleaginum* (Benkada, 2015)……8
- Figure 4 : Fruits d'olivier affectés par *Alternaria alternata* agent de pourriture d'olivier (Töfoli, 2013)……... 10
- Figure 5 : Symptômes de la fumagine d'olivier (www.olivedesease.com).....10
- Figure 6 : symptômes de l'Anthracnose sur le fruit d'Oliver (www.olivedesease.com).....11
- Figure 7 : Anthracnose de l'olivier (www.olivedesease.com).....11
- Figure 8 : Symptômes foliaires de la Cercosporiose de l'olivier (www.olivedesease.com).....12
- Figure 9 : Symptômes de la Cercosporiose sur le fuit (www.olivedesease.com).....12
- Figure 10 : Symptômes de la Verticilliose sur un jeune arbre (www.olivedesease.com).....14
- Figure 11: Symptômes intrinsèques de la Verticilliose de l'olivier (www.olivedesease.com)...14
- Figure 12 : Schéma de formation de poches sécrétrices……18
- Figure 13 : cellules épidermiques à HE de pétale de rose…….……19
- Figure 14 : Poil sécréteur de lavande……...……..19
- Figure 15: Canal sécréteur d'ombellifère ……..20
- Figure 16 : Localisation de la zone d'étude (Ath Yenni) (maps.google.com)……..……..27
- Figure 17 : Symptômes de *F.oleaginum* sur la feuille d'olivier (www.olivedesease.com).....…31
- Figure 18: coupe anatomique d'une feuille d'olivier infectée par *F. oleaginum* observé au microscope optique G×400p. ……32
- Figure 19 : Coupe anatomique de la feuille observée au MO G400…….33
- Figure 20 : Conidies de *F.oleaginum*……..…..……34
- Figure 21 : conidies observé d'Alternaria sp au MO GX400……35
- Figure 22 : Colonie *d'Alternaria Sp* sur boite Petri…….…….35
- Figure 23 : Conidies d'*Alternaria* observés au MO GX400……..…. 36
- Figure 24 : Colonie d'*Alternaria sp* en boite Petri……..…… 37
- Figure 25 : colonie de *F.oleaginum* en boite Petri…….37
- Figure 26 : *F.oleaginum* observé au MO G400……..…38
- Figure 27 : *Alternaria sp* observé au MO G400…….38
- Figure 28 : croissance radiale *F.oleaginum* en fonction de la dose d'huile essentielle testée …….……..39

- Figure 29 : croissance radiale *Alternaria alternata* en fonction de la dose de d'huile essentielle testée ……..….41

Liste des tableaux

Tableau I : Diamètre moyen des colonies de *F. oleaginum* en fonction de la dose de l'huile essentielle ……..……. 39

Tableau II : Diamètre moyen des colonies d'*Alternaria alternata* en fonction de la dose de l'huile essentielle……41

Dédicace

Remerciements

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction ……..……..1

Partie I : Etude bibliographique

I. Monographie de l'olivier……3

I.1. Description botanique……...3

I.2.L'olivier en Algérie……...5

II. Les principales maladies fongiques de l'olivier…….6

I.1. *Fusicladium oleaginum*…….…6

II.1.1 symptômes de la maladie……..6

II.1.2. Nuisibilité de *Fusicladium oleaginum*…….……..…7

I.1.3. Cycle biologique de *Fusicladium oleaginum* …….…….....…….7

II.2. *Alternaria sp*…….…….....9

II.2.1 La pourriture du fruit …….……9

II.2.2. La fumagine de l'olivie…….…….……...10

II.3 *Colletotichom spp*…….……11

II.4. *Pseudocercospora cladosporioides*……...13

II.5. *Verticillium dahliae* ..... ……13

II.5.1. Symptômes de la maladie ..... ……13

III. Lutte contre les maladies de l'olivier…….15

III.1. Effets indésirables…….……..15

III.1.1. Sur la plante..... ……..…….15

III.1.2. L'huile……..15

III.1.3. L'environnement……..15

III.2. La lutte biologique……..…….16

IV. Les huiles essentielles…….…….17

IV.1. Définition……...……...…17

IV.2.Localisation et synthèse des huiles essentielles……..…….....17

IV.3.Modes d'extraction…….…….…….20

IV.3.1. Hydrodistillation……..…….…….21

IV.3.2. Expression à froid…….....21

IV.3.3. Extraction aux ultrasons..... …….....22

IV.4. Les constituants des huiles essentielles…….…….…….22

V. les plantes aromatiques ……..……..…24

V.1. *Origanum* ……..24

V.1.1. Classification botanique……...……..24

V.1.2. Propriétés et usage ……..25

V.2. Citronelle ……...……..…25

V.2.1. Classification botanique ……..……..…25

V.2.2. Propriétés et usage ……..……..26

V.3. Menthe poivrée …….……26

V.3.1. Classification botanique …….……27

V.3.2. Prprietés et usage ……27

Partie II : Matériel et méthodes

I. Présentation de la zone d'échantillonnage 28

II. Matériel végétal…….……...28

III. Les huiles essentielles ……..…….....28

III.1Traîtement du matériel végétal……..……..28

III.2. Méthode d'extraction ……..……..……....29

IV. Isolement de l'agent pathogène……..30

V. Détermination de l'agent pathogène..... …….……30

VI. Réalisation de coupes anatomiques sur les feuilles d'olivier ……..31

VII. Etude de l'action de trois huiles essentielles sur la croissance fongique de *F.oleaginum* et *Alternaria alternata* ..... …….....31

VIII. Évaluation de la croissance radiale des pthytopatogènes isolés……..…....31

VIII.2. Analyse statistique ……..……31

Partie III : Résultats et discussion

I. Structure d'une feuille d'olivier……..……....32

I.1. Morphologie d'une feuille d'olivier infectée par *F.oleaginum*..... ..32

II. Anatomie d'une feuille d'olivier infectée par *F.oleaginum* 33

III. Identification des agents pathogènes..... ……..34

III.1. *F.oleaginum*..... ……..34

III.2. *Alternaria alternata*……..……..……36

IV. Etude macroscopique des champignons phytopathogènes étudiés ……...38

V. Etude microscopique des pathogènes fongiques isolés……39

V.I. Action des trois huiles essentielles sur la croissance radiale des deux agents Fongiques…….……..…40

VI.1 Action des huiles essentielles sur *F.oleaginum*..... ……...40

VI.2. Action des huiles essentielles sur *Alternaria sp* …..……..…….....42

Conclusion ……..…43

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

L'olivier (*Olea europeae L.)* est une espèce végétale appartenant à la famille des oleaceae. C'est l'un des arbres fruitiers le plus répandu dans le pourtour méditerranéen, en particulier en Italie occidentale et orientale, en Espagne, dans le sud du Maroc, en Tunisie, ainsi qu'en Turquie orientale et en Grèce (Loumou et Giourga, 2003)

La culture de l'olivier fonde le paysage et la culture même des populations de certaines régions productrices comme la petite et la grande Kabylie (Hadjou et *al.*, 2013)

La variété méditerranéenne (*Olea Eurpoaea*), qui est une espèce diploïde, comprend la forme cultivée (*Olea europaea subsp. Europaea var. eurpoaea*) et le type sauvage (*Olea europaea subsp. Europaea var. sylvestris)* (Kumar et *al.*, 2011)

L'olivier, étant l'une des plus anciennes plantes arborescente cultivées dans le monde, est une source d'huile et de fruits consommés par des millions de personnes. La production d'olives est entre autres, en proie à de nombreux ravageurs et autres maladies qui réduisent les rendements fruitiers et affectent leur qualité. *Alternaria alternata* endommage les feuilles et les fruits d'olivier (Moral et *al.*, 2008). La Présence de ce même champignon a été signalée par chiyeh et al.(2014) au Maroc. L'œil de paon causé par *Fusicladium oleaginum* est répandu dans toutes les oliveraies du monde (Obanor et *al.*, 2015). Sévèrement atteints, les oliviers perdent leurs feuilles et croissent très peu. L'incidence de la maladie est une chute dans la production (Graniti, 1993). Les fongicides les plus utilisés sont la bouillé bordelaise, l'hydroxyde de cuivre et l'oxychlorure de cuivre (Sistani et *al.*, 2009). L'utilisation de la lutte chimique apparaît rarement efficace. En effet, parmi les pesticides utilisés pour protéger les cultures, les fongicides était perçus jusqu'à récemment comme relativement sûrs.

Un rapport de (1986) de la National Academy of science(WAS) sur les pesticides dans les aliments indiquant que les fongicides présentent plus de risques cancérigènes que les insecticides et les herbicides inclus. Par conséquent, la présence de fongicides synthétiques dans notre chaîne alimentaire est fortement soupçonnée et la pression augmente pour trouver des solutions alternatives plus sûres. De plus, la résistance des agents pathogènes au fongicides a rendu certains inefficaces, créant ainsi un besoin urgent pour la mise en place de nombreux fongicides avec des modes d'action alternatifs. Les recherches actuelles visant à trouver des fongicides naturels sont axées sur le financement de composés sûrs pour la faune et la flore terrestres.

Les plantes aromatiques ont été largement utilisées en médecine traditionnelle. On sait que la plupart de leurs propriétés sont dues aux huiles essentielles qu'elles contiennent comme produit de leur métabolisme secondaire.

Récemment, de nombreuses études sur l'activité antifongique des huiles essentielles ont été rapportées. La plupart d'entre elles se sont concentrées sur les activités antifongiques des huiles essentielles de certains plantes ont prouvé leur potentiel d'utilisation comme fumigants naturels pour contrôler la détérioration fongique de certains aliments pendant le stockage.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre présente étude en abordant les activités antifongiques de trois huiles essentielles envers deux isolats fongiques pathogènes largement répandus dans le règne végétal.

Ainsi notre manuscrit s'intéresse dans un premier temps à la monographie de l'olivier, et aux maladies qui l'affectent, s'en est suivie le matériel et méthodes puis les résultats et leur discussion et enfin une conclusion.

Chapitre I

Etude bibliographique

I. Monographie sur l'olivier

L'Olivier est l'arbre le plus atypique du bassin méditerranéen. L'histoire de la méditerranée a toujours été liée à la culture de celui-ci. Du fait des conditions climatiques adéquates, le sol méditerranéen est un terrain de prédilection pour la croissance de l'olivier. Sa culture a ainsi été transplantée dans des pays à climat semblable. Il est originaire d'Asie et d'un territoire s'étendant de la Syrie à la Grèce. L'espèce est présente dans tous les pays d'Afrique du Nord

La variété cultivé, *Olea europeae Var. sativa* est l'objet d'une arboriculture importante dans toute l'Algérie, et particulièrement en Kabylie.

I.1 Description botanique

Il s'agit d'un arbre ou d'un arbuste haut de 3 à 7 m en moyenne. Il croît lentement et vit longtemps. Le tronc est tortueux et gris, son écorce est crevassée ses rameaux sont nombreux et courts. Les feuilles sont opposées, persistantes coriaces, simples, entières de forme ovale ou ovale lancéolée. L'inflorescence est en petites grappes denses axillaires dressées au sommet des rameaux ; ces grappes sont formées de fleurs subsessiles. La fleur est petite, en tube à 4 lobes, blanche. Elle comporte 2 étamines et 2 carpelles. Le fruit est une drupe de forme ovoïde. Son noyau est fusiforme épais, très dur et résistant (fig 1).

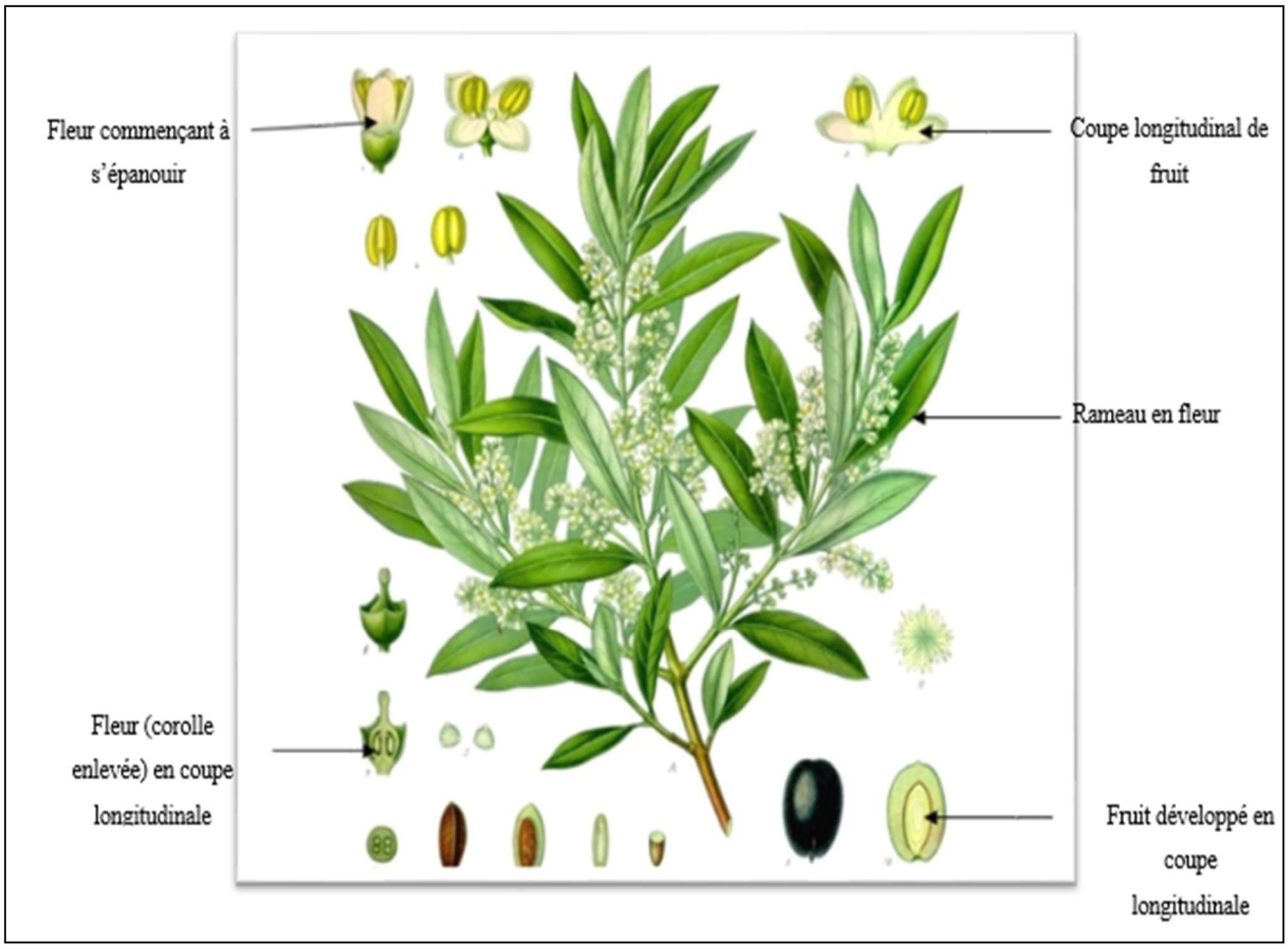

Figure 1: Morphologie des feuilles et fruits d'olivier (Chevalier, 1948)

I.2. L'olivier en Algérie

En Algérie, la culture de l'olivier remonte à la plus haute antiquité. Nos paysans s'y consacraient avec art durant plusieurs siècles (Alloum, 1974). L'olivier et ses produits constituaient alors l'une des bases essentielles des activités économiques de nos populations rurales. L'huile d'olive faisait l'objet d'un commerce intense entre 1'Algérie et Rome, durant l'époque romaine. Depuis cette époque, l'histoire de l'olivier se confond avec l'histoire de l'Algérie et les différentes invasions ont eu un impact certain sur la répartition géographique de l'olivier dont nous avons hérité à l'indépendance du pays (Mendil et Sebai, 2006).

Le verger oléicole national couvre une superficie de 154620 ha soit 39% des vergers arboricoles. Cette superficie a connu une augmentation de 58% pour la période (2010-2017) par rapport à la décennie précédente (2000-2009).

Le niveau de la production de la filière est passé de 2.765.230 quintaux à 5.115.770 quintaux soit une augmentation de 99% entre les deux périodes (2000-2009) et (2010-2017). (Ministère de l'Agriculture 2017).

Répartition de l'olivier en Algérie

Selon Barr (2013), l'olivier en Algérie est réparti sur 4 zones principales :

- Le centre occupe la première place avec 112921 ha soit 54,33 % qui sont concentrés dans les wilayas de Bejaia, Tizi-Ouzou, etc...
- L'Est du pays vient en seconde position avec 58764 ha soit 28,27% dont la moitié est localisée dans les wilayas de Sétif, Guelma, Skikda, etc...
- La région Ouest occupe à peine 16,93% soit 35 192 ha dont l'ensemble est concentré à Tlemcen, Sig et Mascara.
- Enfin; le Sud occupe une superficie de 945 ha soit 0,45

II. Les principales maladies fongiques de l'olivier

Bien que l'olivier soit une plante rustique, il est devenu néanmoins sujet à de nombreuses attaques par différents agents pathogènes parmi ces attaques, nombreuses sont celles imputées au champignon pathogènes.

Parmi la pléthore de champignons affectant l'olivier nous avons présenté certains ci-dessous :

II.1 *Fusicladium oleaginum* (anciennement *Spiloceae oleagina*)

F. oleaginum est à l'origine de la maladie la plus répandue chez l'olivier. Il s'agit de l'œil de paon.

II.1.1 Les symptômes de la maladie :

Les premiers symptômes visibles correspondent à des taches circulaires de 2 à 10 mm de diamètre sur la face supérieure de la feuille, dont la couleur évolue depuis le gris noirâtre vers le jaune / vert clair Elles peuvent parfois couvrir la surface du limbe. Les feuilles atteintes jaunissent et tombent ce qui provoque des défoliations sévères dans le cas d'une forte attaque. Les fruits et le jeunes rameaux sont rarement attaqués (Serehini et *al.,* 1993) (fig.2).

Figure 2 : Symptômes foliaires de *F.oleaginuim*
sur feuille d'olivier (Originale)

II.1.2 Nuisibilité de *Fusicladium oleaginum*

La maladie est particulièrement sévère dans les vergers peu ventilés et les pépinières (Graniti, 1993 ; Boulila et Mahjoub, 1993). Alsalimiya et al. (2010) affirment que la principale conséquence de cette maladie et la chute des feuilles infectées. Ce qui engendre l'affaiblissement généralisé de l'arbre, une diminution de la production et la vulnérabilité à d'autres agents nuisibles.

I.1.3 Cycle biologique de *Fusicladium oleaginum*:

Le cycle biologique de *Fusicladium oleaginum* comprend six phases principales (Alsalimiya et al, 2010). (Figure 3)

L'inoculum qui assure l'infection primaire provient habituellement de la sporulation des lésions sur les feuilles, qui ont hiverné ou estivé sur les arbres (Graniti, 1993).

- La phase I : L'infection qui comprend la germination des conidies et la pénétration du champignon à travers la cuticule (Alsalimiya et al, 2010)
- La phase II c'est le développement végétatif qui consiste en la croissance des hyphes mycéliens sous la cuticule de façon intercellulaire
- La phase III est l'étape ou les hyphes mycéliens font jaillir à nouveau la surface à travers la cuticule.
- La phase IV se traduit par la formation de conidiophores à la surface de la feuille.
- La sporulation et l'apparition de la tâche et la cinquième phase.

Les conidies produites sur ces lésions peuvent être viables pendant plusieurs mois, Cependant une fois détachées des conidiophores, les conidies perdent leur pouvoir germinatif en moins d'une semaine (Graniti, 1993). Les conidies sont disséminées par les éclaboussures de pluie ou par le vent chargé de gouttelettes d'eau. La dissémination des conidies est également assuré par le vent et les insectes (Laviola et Scarito, 1993)

La gémination des conidies peut avoir lieu entre 2°C et 34°C, avec un optimum de 16 à 21°C.

Il y'a habituellement deux périodes principales d'infection : durant l'automne et l'hiver (dans les régions à été sec et hiver doux) ou au printemps et au début d'été (dans les région à hiver froid) ou dans les deux périodes suivant les conditions locales et la croissance saisonnière des arbres (Graniti, 1993).

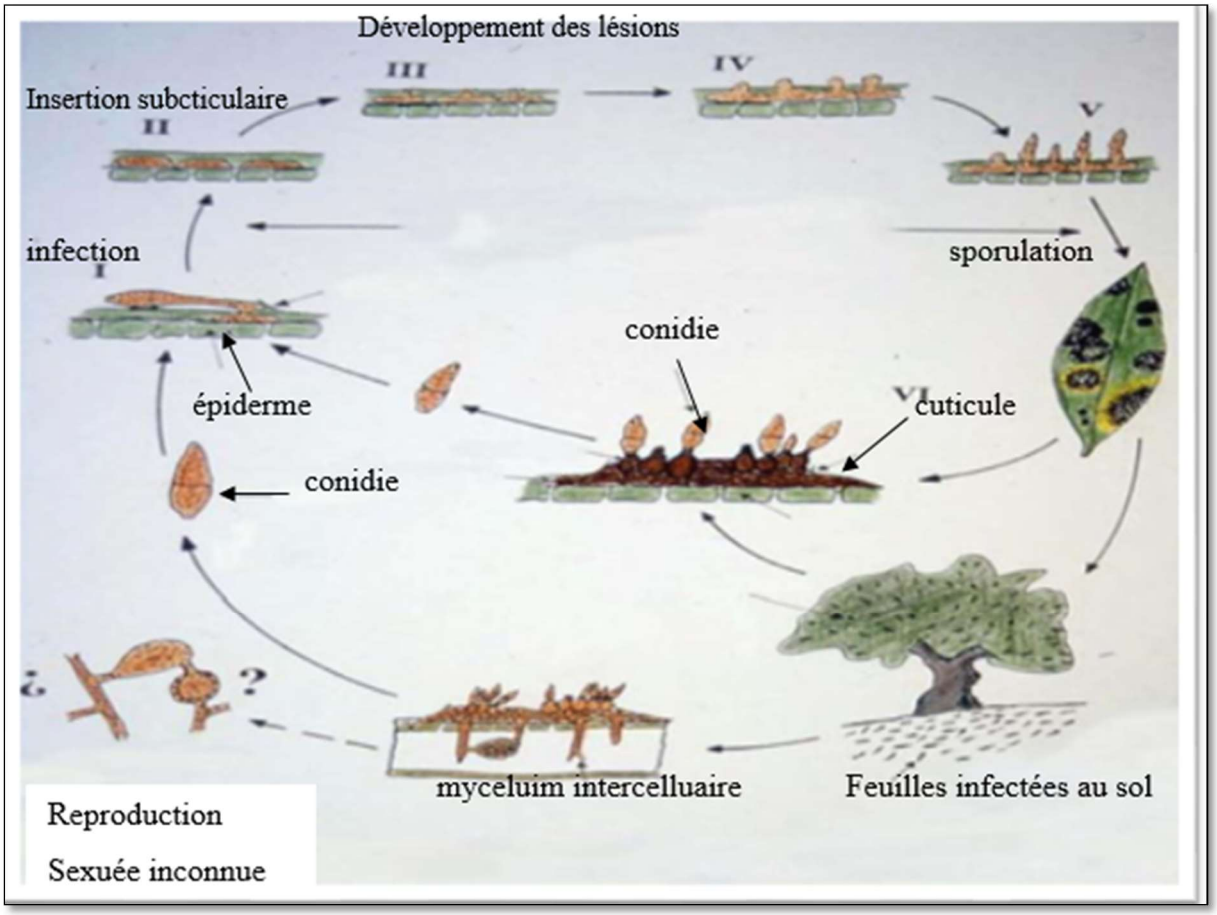

Figure 3 : Cycle biologique de *F.oleaginum* (Benkada, 2015)

II.2 *Alternaria sp*

En général, les espèces apparentent au genre *Alternaria* sont des champignons saprophytes, qui agissent parfois comme pathogènes négligeables.

Le genre *Alternaria sp* comprend à la fois des espèces pathogènes pour les plantes et des espèces saprophytes, qui peuvent affecter les cultures en plein champ ou provoquer la décomposition des produits végétaux après la récolte. La taxonomie du genre *Alternaria* n'est pas encore bien définie (Da-Silva, 2017). Les symptômes de la maladie sur les feuilles correspondent à l'apparition de taches brunes, petites, dispersées sur les feuilles qui deviennent progressivement zonant avec une marge brun foncé.

Dans les stades avancés de l'infection, les feuilles affectées se décolorent et jaunissent pour au final se dessécher.

II.2.1 La pourriture du fruit

La pourriture du fruit causée principalement par le champignon *Botryosphaeria dothidea*, touche en particulier les fruits verts qui causent petites lésions nécrotiques brunes, déprimées, avec les arêtes hautes, dans lesquelles la présence de petits corps fructifères noirs. Les fruits très affectés présentent des symptômes de déshydratation complète. La pourriture est plus fréquente en été, étant favorisé par les températures entre 22 et 28° C et une humidité de l'air élevée (Töfoli, 2013).

La Pourriture des fruits est causée partiellement par des agents pathogènes secondaires et, dans certains cas, par des saprophytes. Ceux-ci pénètrent les fruits, mûrs ou en processus de maturation et d'affecter leur rendement et la qualité de l'huile. Les fruits affectés par *Alternaria alternata* présentent des lésions sèches, légèrement déprimée et noire, alors que les fruits infectés par *Cladosporium. sp*. Se présentent comme momifiés et recouverts de moisissure verte (Töfoli, 2013).

Figure 4 : Fruits d'olivier affectés par *Alternaria alternata* agent de la pourriture d'olivier (Töfoli, 2013).

II.2.2 La fumagine de l'olivier

La Fumagine est considérée comme une maladie commune de l'olivier et se trouve partout dans le monde. La maladie se caractérise par la formation d'une couche noire, constituée de mycélium et de spores fongiques, qui vivent d'une manière saprophyte à la surface des feuilles, des branches, des troncs et des fruits (Mourida 2014).

L'attaque de la fumagine est plus sévère dans les oliveraies épaissies et infestées d'écailles (*Saissetia oleae*), ce qui a pour effet de réduire la vigueur et le potentiel productif des plantes.

Figure 5 : Symptômes de la fumagine d'olivier (www.olivedeseases.com)

II.3 *Colletotrichum spp*.

Colletotrichum spp agent causale de l'anthracnose de l'olivier qui affecte en particulier les feuilles, pousses, fruits et la vigueur des plantes. Sa gravité et son incidence varient principalement en fonction de la sensibilité du cultivar, des conditions climatiques et de l'agressivité de l'agent pathogène, et peuvent entraîner des pertes pouvant atteindre 50%. (Moral et al., 2015)

Sur fruits verts ou sur fruits sur le point de mûrir, l'anthracnose provoque des lésions sombres, déprimées, circulaires ou irrégulières, composées de conidies du champignon. Les stades avancés de la maladie se caractérisent par la pourriture ou la momification des fruits. On pense que le champignon infecte la plante et reste latent dans le fruit jusqu'à ce que des conditions climatiques favorables apparaissent ou que le fruit atteigne le début de sa maturité. Les fruits présentent une perte de poids, un rendement en matière grasse réduit et une huile de mauvaise qualité. Dans les feuilles, les lésions sont brunes, circulaires ou irrégulières, et peuvent conduire à des feuilles courbées ou tordues (Cacciola et al., 2012).

Dans certains cas, l'anthracnose peut également causer la mort des bourgeons apicaux, la sécheresse généralisée des branches et des feuilles. La maladie est favorisée par des températures comprises entre 10 et 30° C et une humidité de l'air élevée de l'ordre de 80 à 90%, (plus fréquente au moment de la maturation des fruits). La période d'incubation de la maladie est courte dans des conditions favorables et peut compléter son cycle en moins de 10 jours, provoquant de nombreux cycles secondaires et de graves épidémies pendant ou précédant la formation des fruits. (Moral & Trapero, 2009)

Figure 6: symptômes de l'Anthrachnose sur le fruit d'olivier (www.olivedeseases.com)

Figure 7:Anthrachnose sur feuilles d'olivier (www.olivedeseases.com)

II.4 Pseudocercospora cladosporioides

Pseudocercospora cladosporoides agent causale de la Cercosporiose d'olivier. C'est une maladie fongique foliaire appelée également 'Plomb de l'olivier. Tout comme l'œil de paon, la Cercosporiose est présente dans les principales régions productrices du monde, et son importance varie selon le cultivar et les conditions climatiques. La maladie peut être observée sur les feuilles, les pédoncules et les fruits, et affecte surtout sur les feuilles de plus de 4 mois, étant plus fréquentes dans les branches inférieures de la plante. Les premiers symptômes sont des taches jaunâtres irrégulières sur la partie supérieure des feuilles, qui deviennent nécrotiques avec le temps. Dans la partie inférieure des feuilles, il y a une croissance diffuse de couleur gris foncé composée de la fructification du champignon. Chez les feuilles gravement atteintes, cette croissance ressemble souvent à la fumagine (Töfoli, 2013) .

Les symptômes sont plus évidents chez les cultivars les plus sensibles. La maladie peut également affecter les pédoncules de la zone d'abscission et provoquer une forte chute des fruits (Moral et al., 2015).

Figure 8: Symptômes foliaires de la *Cercosporiose* de l'olivier (www.olivedeseases.com)

Figure 9 : Symptômes de la Cercosporiose sur les fuits de l'olivier (www.olivedeseases.com)

II.5. Verticillium dahliae

La Verticilliose est une maladie très importante dans la culture de l'olivier, en étant présente dans les principales régions productrices. Causée par un champignon *Verticillium dahliae* la maladie peut causer la mort des plantes entières ou de la sécheresse des branches, qui se reflètent directement dans la réduction des stands, des retards et des irrégularités de croissance et de fortes baisses de productivité.

II.5.1. Symptômes de la maladie

La maladie peut avoir deux formes de développement :

Rapide : les feuilles deviennent pâles, les pousses meurent et les branches sèchent soudainement. Dans en général, le cortex des branches affectées deviennent violacé et les tissus du xylème sont de couleur brune. Chez les jeunes plantes, cette forme de la maladie peut causer la mort et la défoliation généralisée des jeunes plantes, et la sécheresse des parties de plantes chez les plantes adultes.

- **Déclin lent** : dans cette forme de la maladie se produit principalement nécrose et momification des inflorescences et la chute généralisée des feuilles. Le champignon pénètre à travers les racines et atteint l'arbre le système vasculaire, où il entrave l'absorption de l'eau et de l'oxygène nutriments par la plante. Les plantes malades se flétrissent partiellement, les feuilles se dessèchent et se déshydratent et ridée.

En général, le pathogène est disséminé par à travers des semis malades, des sols infestés, des tracteurs, outils, eau de pluie et feuilles contaminés. Le taux d'infection est conditionné à plusieurs facteurs tels que : la résistance du cultivar, l'état nutritionnel et âge de la plante, virulence de l'agent pathogène le type de sol et les conditions climatiques.

V. dahliae se caractérise par la formation de structures appelées micro-scléroïdes, qui leur permet de survivre sur le terrain pendant de longues périodes. Celles-ci se forment généralement sur les feuilles de plantes malades, et une fois au sol, ils sont capables de commencer de nouvelles infections.(Töfoli, 2013).

La maladie est favorisée par les périodes humides et températures comprises entre 20 et 25° C. Les sols humides et blessures dans les racines augmentent également la maladie. Les taux élevés d'azote, les carences en potassium et les déséquilibres entre ces nutriments peuvent favoriser la maladie. Parmi les causes qui entravent la prise en charge de la Verticilliose, mentionnons les suivantes :

- la survie de l'agent pathogène pendant des périodes allant jusqu'à 15 ans sur le terrain ;

- la plantation de cultivars sensibles ;

- Une large gamme d'hôtes. *V. dahliae* a plus de 400 hôtes alternatifs dont des cultures importantes comme le coton, haricots, soja, tournesol, gombo, fraises, solanacées…etc.

- la difficulté pour le traitement (fongicide).

Figure 10 : symptômes de la Verticilliose sur un jeune arbre (www.olivedesease.com)

Figure 11 : symptômes intrinsèques de la verticilliose de l'olivier (www.olivedesease.com)

III. Lutte contre les maladies de l'olivier

La lutte chimique n'est autorisée que contre deux maladies de l'olivier : la tuberculose (bactériose) et la tavelure (mycose). Les produits utilisé sont officiellement homologués pour l'olivier vis-à-vis de ces maladies (Breton, 2012)

Tous les fongicides utilisés pour lutter contre *fusicladium oleaginum* ont contrôlé efficacement le pathogène. Les sels cupriques des acides gras et résineux ont présenté la meilleure efficacité, suivie par le sulfate de cuivre. Il semble que les traitements facilitent la chute des vieilles feuilles déjà infectées, mais non des jeunes feuilles. Ainsi, la phytotoxicité réelle des traitements est faible. *F.oleaginum* peut être contrôlé efficacement par les produits testés en les appliquant en automne et au printemps

L'utilisation de fongicides systémiques n'est pas très répandue mais il a été démontré qu'il fournit un contrôle significatif de la maladie.

III.1 Effets indésirables

Les pesticides utilisés pour lutter contre les maladies fongiques montrent des effets indésirables sur plusieurs volets :

III.1.1 Sur la plante

L'ion cuivre Cu^{2+} est toxique pour les cellules végétales et c'est la base de l'utilisation de fongicides à base de cuivre relativement insolubles ou fixes qui libèrent de très faibles niveaux de Cu^{2+} Chez l'olivier, le cuivre induit une chute sélective des feuilles malades qui réduit la disponibilité de l'inoculum . Lorsque des plants d'oliviers malades ont été pulvérisés avec du sulfate de cuivre pur et des produits commerciaux à base de cuivre, le sulfate de cuivre a montré un effet défoliant sélectif significatif (Roca et al, 2006).

III.1.2 Sur l'huile

Les fruits de l'olivier (*Olea europaea, europaea*) sont récoltés exclusivement par des moyens mécaniques, et/ou physique signifie sans autre traitement, principalement dans des conditions thermiques qui n'altèrent pas la qualité de l'olive. Les produits agrochimiques les plus utilisés, dans les plantations d'oliviers des pays méditerranéens sont de loin les herbicides et les insecticides. Ces résidus de pesticides peuvent persister jusqu'à la récolte permettant la

contamination des olives utilisées pour produire l'huile d'olive. Cela peut provoquer la présence de traces de ces pesticides, dans des échantillons d'huile d'olive.

III.1.3 Sur l'environnement

Des produits à base de cuivre a augmenté la concentration totale du cuivre dans les sols des vignobles (Pietrzak et McPhail, 2004), bien qu'aucune étude n'ait été réalisée dans les oliveraies, le cuivre a un effet nocif sur les populations microbiennes du sol (Merrington et *al.,* 2002). Cependant, les vers sont capables d'éviter les sols. Dans les milieux aquatiques, le cuivre a un effet notable sur le plancton et indirectement sur l'ensemble de l'écosystème (De Oliveira-Filho et *al*., 2004). Le cuivre est considéré comme un élément peu toxique pour l'homme.

III.2 La lutte biologique :

Un programme intégré de lutte contre les maladies de l'olivier comporte plusieurs aspects communs, qui ont trait à l'importance d'une humidité élevée nécessaire à l'infection, à la multiplication et à la dissémination des agents pathogènes (Roca et al., 2007). Il s'agit notamment de pratiques prophylactiques qui ciblent l'éviction des sites humides et les plantations denses d'arbres et de tailler les arbres pour améliorer la ventilation. Une fertilisation azotée élevée et une carence en potassium semblent augmenter, la sensibilité des arbres (Bohórquez, 1997). La récolte précoce et l'enlèvement des feuilles malades et des fruits pourris sont des mesures recommandées, pour lutter contre l'anthracnose. Les branches présentant des tumeurs à nœuds olive doivent être enlevées afin de diminuer la quantité d'inoculum. L'utilisation de cultivars résistants est une pratique souhaitable, dans les sites où ces maladies sont endémiques et/ou où les conditions sont favorables à l'infection et au développement des maladies.

A toutes ces précautions, peuvent s'ajouter l'utilisation de biopesticides comme les huiles essentielles dont les molécules actives impliquées dans les mécanismes de défense naturelle des plantes sont issues du métabolisme secondaire. En effet, récemment de nombreuses études ont été rapportées sur l'activité antifongique des huiles essentielles. La plupart d'entre elles se sont concentrées sur l'activité antifongique des huiles essentielles contre les agents pathogènes du sol. Ainsi les huiles essentielles de nombreuses plantes ont prouvé leur potentiel d'utilisation comme fumigants naturels pour contrôler la détérioration de certains aliments pendant le stockage et l'inhibition de la croissance de certains agents phytopathogénes.

IV. Les huiles essentielles

IV.1. Définition :

Le terme "essentiel" dérive de "l'essence", qui signifie l'odeur ou le goût. La flaveur et l'odeur spécifique de beaucoup de plantes sont reliées aux propriétés de ces substances (Calsamiglia *et al.,* 2007). Les huiles essentielles sont des composés complexes, naturels et volatiles, caractérisés par une odeur forte et qui sont synthétisés par des plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires (Bakkali *et al.,* 2008).

La norme AFNOR NF T 75-006 a donné la définition suivante d'une *huile essentielle* : «Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention ». Cette définition est restrictive puisqu'elle ne cite pas les produits obtenus par extraction à l'aide de solvants ou ceux obtenus par tout autre procédé (gaz sous pression, enfleurage) (Hilan et *al*., 2006).

IV.2. Localisation et synthèse des huiles essentielles :

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles et, bien que cela soit moins habituel, dans des écorces, des bois, des racines, des rhizomes, des fruits, et des graines (Hilan et *al*., 2006). Dans une même plante, elles peuvent être présentes à la fois dans différents organes (fleurs, feuilles et tige), mais la composition des essences est alors variable d'un organe à l'autre, c'est le cas chez *Verbascum viedemannianum* (Khima et *al*., 2015) La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante :

- **poches sécrétrices** des *Myrtaceae* ou *Rutaceae*,

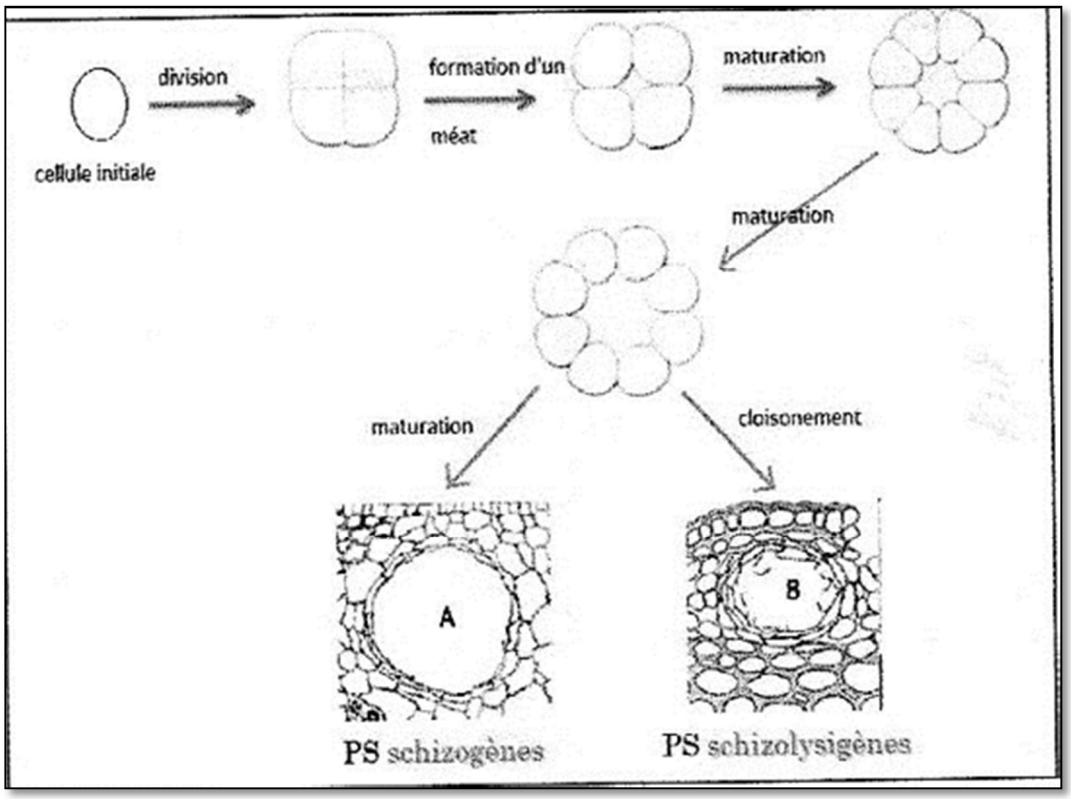

Figure 12 : Schéma de formation de poches sécrétrices (Camefort, 1977)

- **cellules à huiles essentielles :** des *Lauraceae* ou de *Zingiberaceae* situées sous l'épiderme, (fig 13)

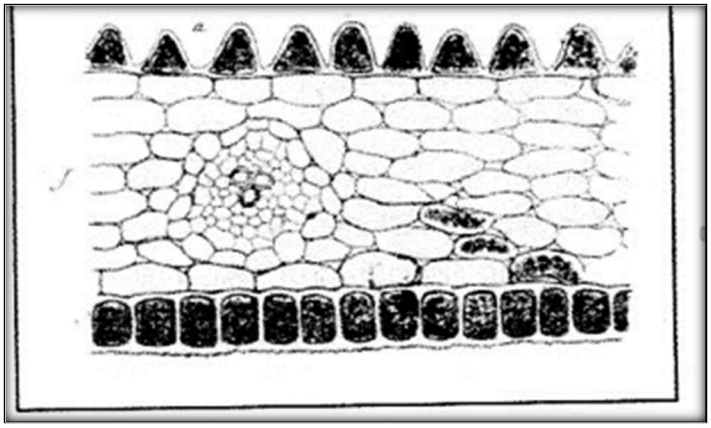

Figure 13: cellules épidermiques à HE de pétale de rose (Camefort, 1977)

- **poils sécréteurs :** où l'huile s'accumule sous la cuticule ou poil de patchouli des *lamiaceae*,

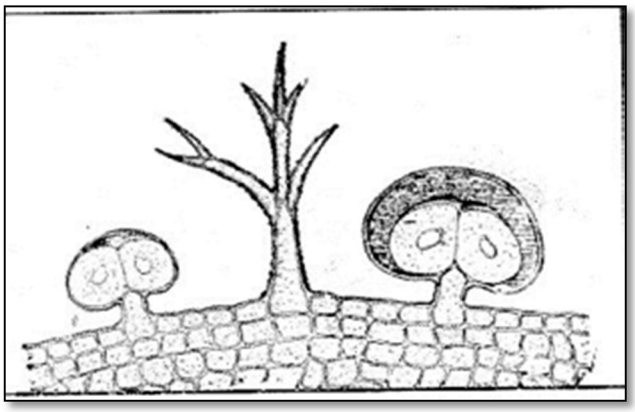

Figure 14 : poil sécréteur de lavande (Camefort, 1977)

canaux sécréteurs : (lactifères) des *Apiaceae*, des *Asteraceae* , des Conifères ou des Ombellifères (figure 15)

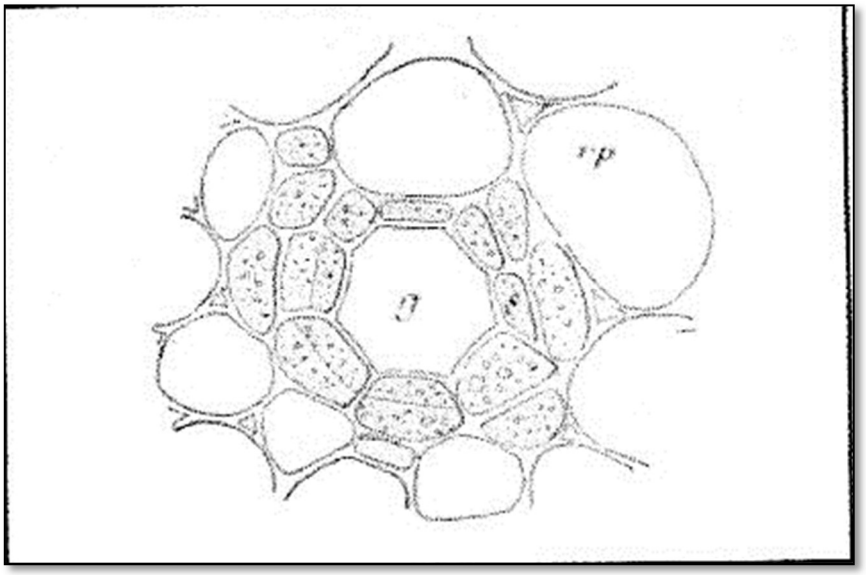

Figure 15: un canal sécréteur d'ombellifère (Camefort, 1977)

IV.3 Modes d'extraction

Les composés aromatiques doivent être extraits de leur matrice avant de pouvoir les utiliser.

Plusieurs méthodes d'extraction sont mises au point. La distillation est le procédé le plus anciennement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles (Baser & Buchbauer, 2010) Bien que plusieurs méthodes d'extraction innovantes aient été mises au point, seules la distillation et l'expression à froid permettent d'obtenir des huiles essentielles conformes à la pharmacopée européenne. Même si les procédés innovants n'aboutissent pas à des huiles essentielles au sens réglementaire, ils permettent l'obtention de plusieurs constituants des HE et des principes aromatiques intéressants(Mnayer, 2014). Ainsi les principes des techniques traditionnelles et des procédés innovants d'extraction sont décrits ci-dessous

IV.3.1 Hydrodistillation

La méthode d'extraction la plus simple. Son principe consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau, ensuite l'ensemble est porté à ébullition sous pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Durant le processus, l'eau bouillante pénètre dans les cellules végétales et solubilise une partie de l'huile essentielle contenue dans les cellules de la plante. La solution aqueuse chargée de composés volatils, diffuse ensuite à travers le tissu de l'organe végétale vers la surface extérieure où l'huile essentielle sera vaporisée. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique. À la température d'ébullition, les pressions de vapeurs combinés sont égales à la pression d'évaporation. Ainsi, les huiles essentielles, dont les points d'ébullition varient normalement de 200 à 300 °C, s'évaporent à une température proche de celle de l'eau. Le mélange est ensuite refroidi. L'eau et les HE, une fois condensées, se séparent en deux phases (Başer & Buchbauer, 2010). Le contact du matériel végétal avec l'eau dans cette technique engendre notamment des phénomènes d'hydrolyse. Bien que la distillation (l'hydrodéstillation ou la distillation à la vapeur) soit la méthode normalisée pour l'extraction des huiles essentielles, l'effet de la chaleur peut causer des modifications chimiques et des dégradations des composants thermosensibles. Par conséquent, l'huile essentielle récupérée est un produit qui diffère de l'essence originelle, d'autant plus que la durée de distillation est longue (3 heures).

IV.3.2 Expression à froid

L'expression à froid est une extraction sans chauffage réservée aux agrumes (citron, mandarine, orange, pamplemousse). Le principe de ce procédé mécanique consiste à éclater les minuscules vésicules et les poches à essences. L'essence ainsi libérée est entraînée par un courant d'eau. Le procédé consiste à fixer le fruit sur une coupe équipée de lames et une seconde coupe pour l'enfermer. Un couteau circulaire creuse un trou à la base du fruit.

L'application d'une pression sur les parois du fruit entraîne l'extraction du jus qui va être transporté jusqu'au collecteur pendant que l'essence est extraite de la peau et collectée à l'aide d'un jet d'eau. L'émulsion eau-essence est ensuite séparée par décantation. L'intérêt de cette technique réside dans l'obtention d'essence n'ayant pas subi de modification chimique liée à la chaleur. De même, elle est couplée avec la production du jus de fruit (Mnayer, 2014).

IV.3.3 Extraction aux ultrasons

Les ultrasons sont des ondes mécaniques capables de se déplacer dans un milieu élastique à une fréquence supérieure à la limite maximale d'audibilité de l'oreille humaine (16 kHz). Les ultrasons de puissance fonctionnant à une intensité entre 20 et 100 kHz sont utilisés pour l'extraction des arômes et bien d'autres molécules des plantes. Le bac ou la sonde à ultrasons sont les deux types d'équipements couramment utilisés dans les laboratoires.

Lorsque les ultrasons se propagent à travers un liquide, les oscillations des molécules provoquent la formation des zones de compression et de dépression (raréfaction). Quand les cycles de raréfaction augmentent, les forces maintenant la cohésion du liquide sont vaincues et des bulles de cavitation apparaissent. Ce phénomène est appelé cavitation. Les bulles vont imploser à côté de la surface solide (le matériel végétal) et provoquer la rupture des membranes des cellules qui libèrent leurs contenus à l'extérieur (Dolatowski et al, 2007). Puisque les glandes des huiles essentielles sont généralement présentes à la surface des plantes aromatiques, l'implosion des bulles de cavitation détruit les glandes qui libèrent l'HE dans le milieu environnant (Veillet, et *al*., 2010).

La technologie aux ultrasons prend beaucoup d'ampleur dans le domaine agroalimentaire (Chemat et *al*, 2011; Pingret, et *al*, 2013). Elle permet de pallier à certains problèmes rencontrés par la distillation conventionnelle telle que la dégradation thermique due aux températures élevées, la grande consommation d'eau, les longues durées d'extraction et les rendements faibles (Da Porto et *al*, 2009).

IV.4 Les constituants des huiles essentielles

Les constituants de HE peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpènoïdes et les phenylpropanoides.

Les terpenoïdes sont les plus variés au niveau structural, dont 25000 sont connus comme métabolites secondaires, dérivent du précurseur isoprénique à cinq carbones, l'isopentenylpryophosphate. Le mono et les sesquiterpenoides sont les plus représentés dans les huiles essentiels.

Les composés phénoliques, sont biosynthétisé par à partir des acides aminées aromatiques qui sont la phénylalanine et la tyrosine. Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle.

Les composés phénoliques comme le thymol, carvacrol et l'eugnol, sont du fait du caractère acide de leurs constituants hydroxyles, les plus actifs (Buchanan & Han, 2000).

V. les plantes aromatiques

Les huiles essentielles sont obtenues à partir des « plantes aromatiques » qui sont des plantes dotées de propriétés odorantes. Ci-dessous sont citées quelques-unes.

V.1. Origanum :

L'*Origanum floribundum* Desf , est une plante spontanée endémique, se développant en Afrique du Nord (l'Algérie et la Tunisie), c'est un arbuste aromatique ordinairement appelé « Zaâter » (Bendahou et *al.,*2008). Selon Quezel et Santa, (1963), l'origan est une plante herbacée, ou sous ligneuse à la base, à tige toutes dressée et épis denses ; fleurs restant contiguës après la floraison. La corolle est de couleur blanchâtre à lèvre inférieure bien plus longue que la lèvre supérieure. Le calice est non bilabié à 5 dents subégales, avec un épi linéaire glabre ou faiblement pubescent.

V.1.1 Classification botanique:

La classification d'*Origanum* est donnée comme suit selon Cronquist (1981) :

- Règne : Plantae
- Division : Tracheobionta
- Classe : Magnoloipsida
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Origanum*
- Espece : *Origanum floribundum*

En Algérie, il existe 3 espèces d'origan :

- *Origanum majorana* L.,
- *Origanum glandulosum* Desf .,
- *Origanum floribundum Munby* (Quezel et Santa, 1963).

V.1.2 Propriétés et usage:

Origanum floribundum présente de nombreuses propriétés thérapeutiques. En effet il a une action sédative, antispasmodique, stomachique, carminative, expectorante et antiseptique.

L'origan est recommandé en cas de manque d'appétit, d'aérophagie, de bronchite chronique, de toux, d'irritation, d'asthme, d'absence de règles. Il a également une action antalgique, et parasiticide; utile contre la pédiculose, les rhumatismes et la cellulite (Dellile, 2007).

Les espèces d'*Origanum* sont largement connues comme herbe culinaire, pour assaisonner les produits alimentaires et les boissons alcooliques (Bendahou *et al.,* 2008).

V.2. Citronnelle:

La citronnelle est une plante herbacée vivace, formée de tiges serrées pouvant atteindre 1,5 m de haut, lisses et glabres. Elles forment des touffes composées de feuilles linéaires, terminées en pointe, de 90 cm de long sur 3 à 5 cm de large ; Ces feuilles sont raides, coupantes, lisses sur leurs deux faces et de couleur vert clair grisâtre. Elles ont une nervure centrale saillante et plus claire, un pétiole engainant présente une ligule parcheminée d'à peine 1 mm de long. La plante se termine dans sa partie souterraine par une base renflée comme un oignon mais qui ne correspond pas à un bulbe. Elle ne fleurit qu'exceptionnellement pour donner naissance à une inflorescence terminale, d'une trentaine de cm de long, formée d'épis disposés en panicules lâches, de 6 mm de long (Teuscher et *al.,* 2005).

V.2.1. Classification botanique:

La position systématique de la Citronelle, selon cronquist (1981) est comme suite :

- Regne : Plantae
- Division : Tracheobinta
- Classe : Liliopsida
- Ordre : Cyperales
- Famille : Poaceae
- Genre : *Cymbopogon*
- Espèce : *Cymbopogon citratus*

V.2.2. Propriétés et usage:

L'agence de protection de l'environnement des États-Unis mentionne l'huile de citronnelle comme un biopesticide puissant, non toxique et 100 % sûr. Il est également efficace contre les morsures de chien et peut être vaporisé sur la plaie (mais sous forme diluée) pour accélérer le processus de guérison.

En raison de ses propriétés insecticides, elle a été utilisée comme insectifuge. Homologuée aux USA depuis 1948, elle a une odeur douce et agréable et, par conséquent, a été largement utilisée dans la préparation de parfums, bougies de cire, savons, et autres produits cosmétiques.

L'huile essentielle est également produite au Guatemala, à Taiwan, au Brésil, au Honduras, en Inde, au Sri Lanka, en Equateur, en Argentine, à Madagascar, en Jamaïque, en Afrique du Sud et au Mexique (Teuscher et *al*., 2005).

L'huile de citronnelle est souvent synthétisée avec des produits chimiques comme la térébenthine, qui sont des dérivés de conifères dérivés. Il est donc indispensable d'acheter de l'huile de citronnelle naturelle dont les dérivés proviennent de sa propre plante (anonyme 1).

V.3. Menthe poivrée :

La menthe poivrée est originaire du Moyen-Orient et vraisemblablement d'Asie. En effet, elle se rencontre sur tous les continents et s'adapte à tous les climats hormis les plus extrêmes. Elle aime les terrains frais, argileux et calcaires (Zybak, 2000).

Cette plante est presque cultivée dans l'ensemble des régions du monde : en Europe, en Asie (Russie, Kirghizstan, Turkménistan, Chine, Japon, Inde), en Australie, en Afrique du Nord (Maroc, Kenya, Tanzanie, Angola) et en Amérique (Canada, États-Unis, Brésil, Argentine, Chili).

Sa culture est faite essentiellement pour produire de l'huile essentielle. Les quatre principaux pays producteurs d'huile essentielle de la menthe poivrée sont : l'Inde, l'Italie, l'Argentine et l'Australie.

V.3.1. Classification botanique:

Cronquist (1981) a classé la Menthe poivrée comme indiqué ci-dessous :

- Règne : Planteae
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : Mentha
- Espèce : *Mentha piperita* L., 1753

V.3.3. Propriétés et usage:

Mentha piperita présente des vertus médicinales connues depuis l'antiquité. De nos jours, son huile essentielle est utilisée en médecine traditionnelle, dans les préparations alimentaires, l'industrie alimentaire, en cosmétique, et récemment des études scientifiques ont montré un intérêt promotteur quant à son utilisation en pharmacologie et médecine moderne.

Actuellement, des études sont menées afin de voir les effets de l'huile essentielle de la menthe poivrée sur l'amélioration des capacités mentales, le traitement de certains désordres mentaux, ainsi que sur la maladie d'Alzheimer (Fox et *al.*, 2012 in, 2016).

Chapitre II

Matériel et Méthodes

I. Présentation de la zone d'échantillonnage

Béni Yenni est une Commune de la wilaya de Tizi-Ouzou, située à 35 km au Sud-Est de la wilaya de Tizi-Ouzou. Délimitée au Nord, par la commune de Larbaa Nath Irathen à l'Est, par la commune de Ain El Hammam; au sud, par la commune des Ouadhias et par la commune de Ouacif à l'Ouest.

La commune se trouve à 820 mètres d'altitude. Béni-Yenni est une commune rurale située dans le massif de Kabylie dont le relief est constitué d'une succession de collines au piémont de la chaine du Djurdjura qui en constitue la limite nord.

Figure 16 : Localisation de la zone d'étude (Beni Yenni) (maps.google.com).

Description du verger :

Le verger sujet de notre étude est situé dans la région de Sidi Nadji à Beni Yenni à 750 m d'altitude. Conduit en extensif. Les oliviers sont centenaires majoritairement avec 5 pieds âgés de 7 ans.

L'irrigation reposant principalement sur la pluviométrie, labour (non fait depuis 15 ans), non fertilisé et non taillé.

Le terrain très accidenté à proximité d'un bas fond (assif Takhoukth) avec une exposition au soleil très faible au soleil.

II. Matériel végétal

Des feuilles, présentant des symptômes typiques de la Tavelure, *Fusiclauim oleaginum,* ont été prélevées sur des oliviers de la Variété Chemlal, au lieu-dit Sidi Nadji à Ath Yanni.

L'échantillonnage consiste à choisir 5 arbres dans la parcelle, cueillir à hauteur d'Homme des feuilles dans les 4 points cardinaux. Les feuilles ont été réservées dans des sacs en papier Kraft, étiquetés. Elles ont été conservées à 4°C.

III. Les huiles essentielles

Les plantes utilisées sont deux Lamiacées. Il s'agit de la menthe poivrée (*Mentha piperita*) d'*origanum sp.* Une Poaceae la citronnelle (*Citronella sp*) récoltées vers le début du mois de juin de l'année 2018 dans la région d'Ait Zmenzer dans la wilaya de Tizi Ouzou.

Les parties utilisées sont des feuilles et des tiges.

III.1 Traitement du matériel végétal

Les échantillons récoltés ont été lavés triés et séchés à l'air libre, dans une pièce ombragée durant 3 semaines. Ils ont été étalés sur du papier journal.

Après séchage, les échantillons ont été coupés en petit fragments et conservés dans des sacs en papier Kraft de 200g et conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité

A la fin de la période de séchage les feuilles ont perdu légèrement l'intensité de leur couleur verte.

III.2 Méthode d'extraction

L'extraction des huiles essentiels est réalisée par hydrodistillation Un échantillon de 200 g de matière végétale est placé dans ballon de 20 ml puis immergé dans l'eau distillée (2/3 de la capacité du ballon) qui est ensuite porté à ébullition.

La vapeur formée entraine l'huile essentielle. Elle passe dans le réfrigérant ou les gouttelettes sont refroidies et condensées.

Le distillat est récupéré dans un erlenmeyer puis transféré dans une ampoule à décanter.

- **Séparation liquide liquide**

L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par un solvant organique l'éther diéthelique ($C_2H_5OC_2H_5$).Ce dernier est versé dans une ampoule à décanter pour alourdir la phase aqueuse. Du chlorure de sodium (Na Cl) est ajouté. La phase organique (huile essentielle) récupérée est mise directement au contact d'un desséchant, le sulfate de sodium (Na_2SO_4) et filtré au moyen d'un papier filtre.

- **Elimination du solvant organique**

L'évaporation de l'éther diéthylique est réalisée sous pression réduite à 50 °C dans un évaporateur rotatif. L'huile essentielle obtenue est conditionnée dans un flacon en verre fumé, fermé hermétiquement et conservé à une température de 4°C.

IV. Isolement de l'agent pathogène

Les techniques d'isolement est conforme à celle décrite par Rapilly (1968).

A l'aide d'un tampon de coton imbibé d'alcool, les feuilles présentant des lésions sont désinfectées. A l'aide d'un scalpel flambé au préalable, des coupes ont été réalisées. Ces fragments ont été ensuite déposés dans des boites de pétri contenant le milieu PDA a raison de 4 fragment par boite et mises à l'étuve à une température de 25°C pendant 21 jours.

V. Détermination de l'agent pathogène

La détermination de l'agent pathogène nécessite une observation macroscopique et microscopique.

- **Observation macroscopique**

L'observation macroscopique porte sur l'organisme associé à l'hôte, en prenant en compte les structures décrites dans la bibliographie.

- **Observation microscopique**

Elle est relative à la description de filaments mycéliens et les structures de sporulation en prenant en compte, la couleur, la forme et la taille.

- **Technique de la Cellophane Adhésive** : elle consiste appliquer un ruban adhésif transparent sur la zone infecté de la feuille et de coller ce ruban sur une lame porte objet.

L'examen se fait directement au microscope sans aucune autre préparation.

VI. Réalisation de coupes anatomiques sur les feuilles d'olivier :

Pour mettre en évidence les structures des mycélias et l'effet de l'infection des agents pathogènes sur la feuille d'olivier, nous avons effectué des coupes transversales au niveau des feuilles que nous avons colorées par la technique de double coloration (vert de méthyle-rouge Congo). Ces coupes montées entre lame et lamelle ont été observés au microscope optique.

VII. Etude de l'action de trois huiles essentielles sur la croissance fongique

Les huiles extraites à partir des feuilles de menthe poivrée, d'origan et de citronnelle ont été utilisées afin de déterminer leurs activités biologiques sur la croissance radiale des deux champignons (*F. oleaginum et Alternaria sp)*.

Pour cela 5 doses 2, 4, 6, 8 et 10 µl ont été utilisées. Chacune des doses est injectée et mélangée aseptiquement à 100 ml de milieu de culture PDA liquide. Trois répétitions ont été effectuées pour chacune des doses, parallèlement six (6) boites témoins ont été préparées (trois pour chaque agent pathogène) sans huile.

Trois implants de 0.5cm de diamètre chacun ont été prélevés, à partir de jeunes cultures de phytopathogène. La lecture des résultats se fait par l'estimation de la croissance radiale tous les 4 jours pendant un mois.

VIII. Évaluation de la croissance radiale des deux pthytopatogènes

La croissance mycélienne des isolats est mesurée tous les 4 jours pendant un mois à l'aide d'une règle graduée en prenant en compte le diamètre moyens des colonies et en considérant le diamètre de base qui est celui du témoin.

VIII.2. Analyse statistique des données

Les résultats obtenus ont été soumis aux tests d'analyse de la variance (ANOVA) à trois critères de classification en utilisant le logiciel STATBOX 7 version 7.5

Résultats et discussion

I. Structure d'une feuille d'olivier

I.1. Morphologie d'une feuille d'olivier infectée par *F.oleaginum*

Cette maladie est observée sur certains arbres. Elle concerne principalement les feuilles ou sont visibles sur la face supérieure surtout des tâches arrondies vert foncé puis brunes à grises au centre entourées d'une bande jaune qui devient brune à la sortie des fructifications. Ces tâches sont de 3 à 5 mm de diamètre et atteignent 10 mm à la fin de l'évolution.

Figure 17 : symptômes de *F.oleaginum* sur la feuille d'olivier (Ath Yenni, 2019)

II. Anatomie d'une feuille d'olivier infectée par *F.oleaginum* :

La section transversale d'une feuille d'*Olea europeae* montre une nervure principale à face supérieure très légèrement saillante et à face inferieure arrondie et proéminente.

L'épiderme supérieur est constitué d'une assise de cellules isodiamétriques à parois cellulosiques recouvertes d'une épaisse cuticule. Cet épiderme porte des poils en écusson dont le pied semble enfoncé dans l'épiderme.

Le parenchyme est constitué de cellules de taille moyenne à parois légèrement collenchymateuses et qui fait apparaitre des méats entres elles, ce sont des sclérites.

Le systeme conducteur en arc "C" est constitué par la superposition d'un bois et d'un liber. le pôle ligneux étant localisé ver la face supérieure cet arc "C" est accompagné à la face supérieure par un amas de cellules sclérenchymateuses et à la face inferieure cuticularisé constitué d'une assise de cellules isodiamétriques à parois cellulosiques fine et portant des poils en écusson dont le pied est plus dégagé de l'épiderme que dans le cas de la face supérieure.

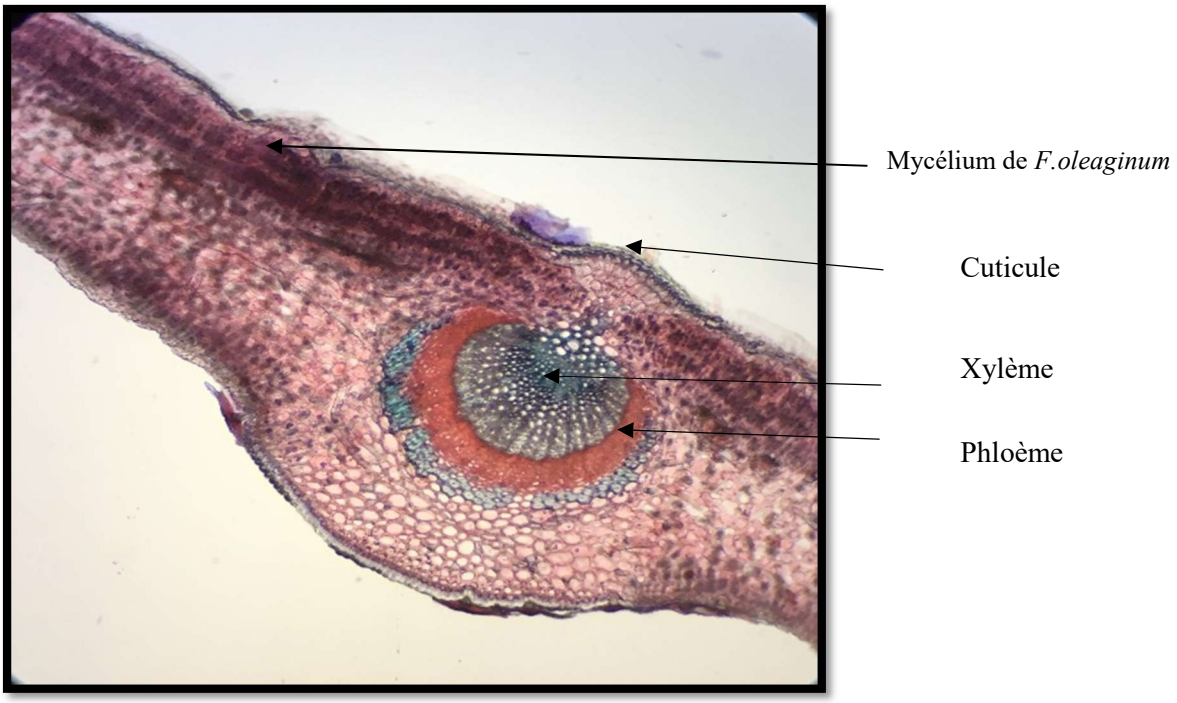

Figure 18 : Coupe anatomique d'une feuille d'olivier infectée par *F.oleaginum* observé au microscope optique G : 100

III. Identification des agents pathogènes

III.1. *F.oleaginum*

L'observation des coupes au microscope optique a révélé la présence du champignon pathogène *F.oleaginum,* sous forme de conidies uni ou bicellulaires et de siphons envahissant les cellules parenchymateuses. Des ramifications des siphons mycéliens subcuticulaires perçant la fine cuticule s'amplifient à la surface cuticulaire en conidiophores ampiliformes non ramifiés.

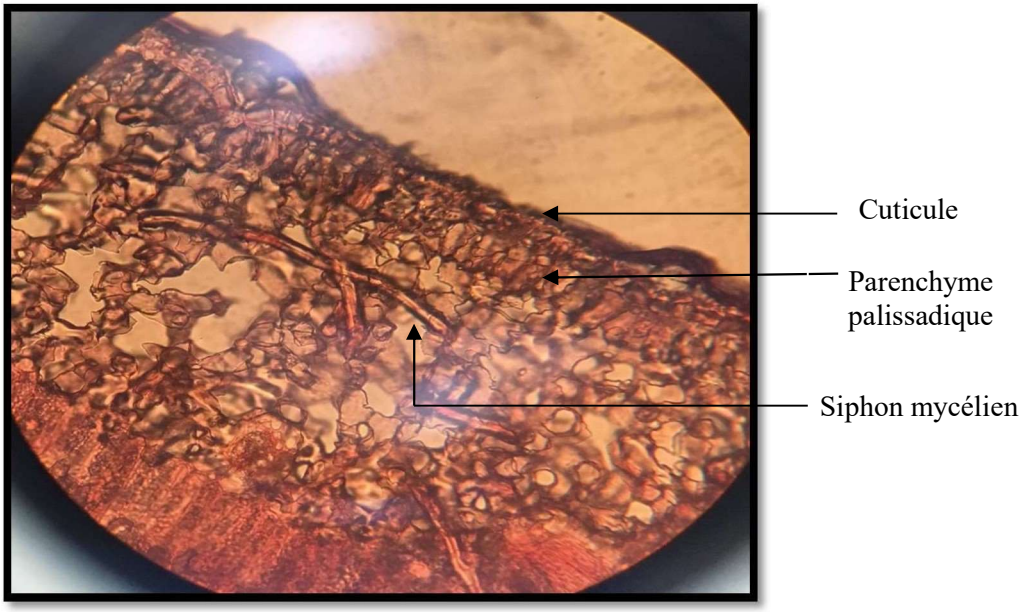

Figure 19 : Coupe anatomique d'une feuille infectée par *F. oleaginum* observée au MO G ×400

Des conidies solitaires simples et aériennes se forment. Les cellules conidiogènes (phialides) génère des conidies par simple strangulation. Les conidies vert olive pâles sont verruqueuses oliviformes sont tronquées a la base et mince à l'extrémité.

Des conidiophores jaunes violacés simples et très courts perçant la cuticule. Ils portent à leurs extrémités une seule conidie bicellulaire ovoïde ou piriforme un peu arquée. A maturité, les spores se détachent facilement et sont dispersées sous l'impact des gouttes de pluie ou par ruissellement de feuille à feuille.

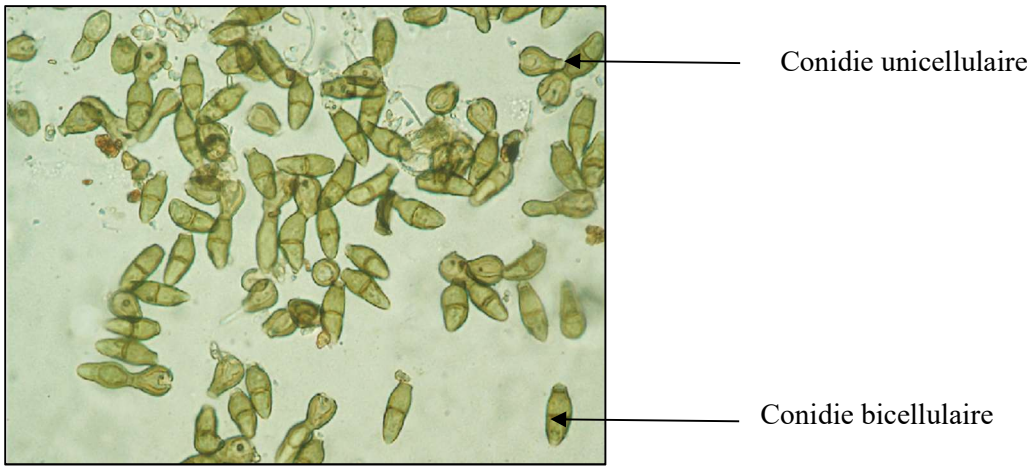

Figure 20 : conidies de *F.oleaginum*

III.2. *Alternaria alternata*

Les symptômes observés sur les feuilles d'olivier dans les vergers ont commencé par de petites tâches rondes de type mycélium allant de 3 à 7mm de diamètre.

L'intensité de l'infection était très élevée sur la face supérieure, ce qui pourrait être expliqué par une humidité élevée dans l'atmosphère environnant la plante.

Après infection, les taches blanches de type mycélium prennent une couleur brun clair à foncé sur la surface foliaire. La détermination des souches d'Alternaria repose traditionnellement sur des caractères morphologiques et culturales (Rodrigues et al., 2010) (Fig 22) et la structure des conidies (Fig 21).

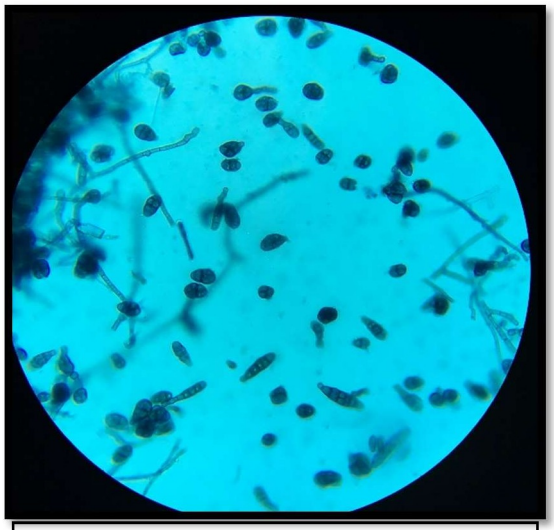

Figure 21 : conidies observé d'*Alternaria alternata* au MO G×400

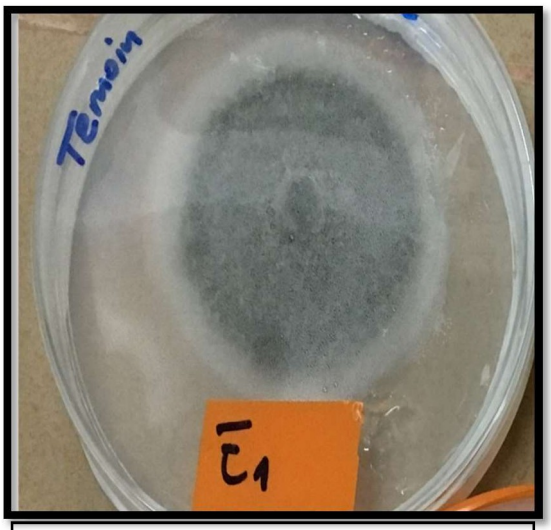

Figure 22 : Colonie *d'Alternaria Sp* sur boite de Petri

Compte tenu des caractères morphologiques nous pouvons suggérer que notre isolat correspond à *Alternaria alternata.*

S'appuyer sur des caractéristiques morphologiques ne suffit pas à identifier définitivement un organisme, car ces caractères pourrait être influencés par plusieurs facteurs, tels que : la température la période de l'humidité et le milieu de culture. La sporulation fongique est complexe et varie d'un champignon à un autre.

L'analyse microscopique des conidies et des conidiophores a été effectuée au G : ×400. Des conidies brun foncé apparaissent en chaine.

La surface des conidies est verruqueuse, légèrement resserrée avec 2 à 6 septa transversaux et 1 ou 2 longitudinaux Situés à la base. Ces critères correspondent à ceux décrits par (Kamalakannan et *al*., 2008; Siddiqui et *al*, 2009) (Fig 23).

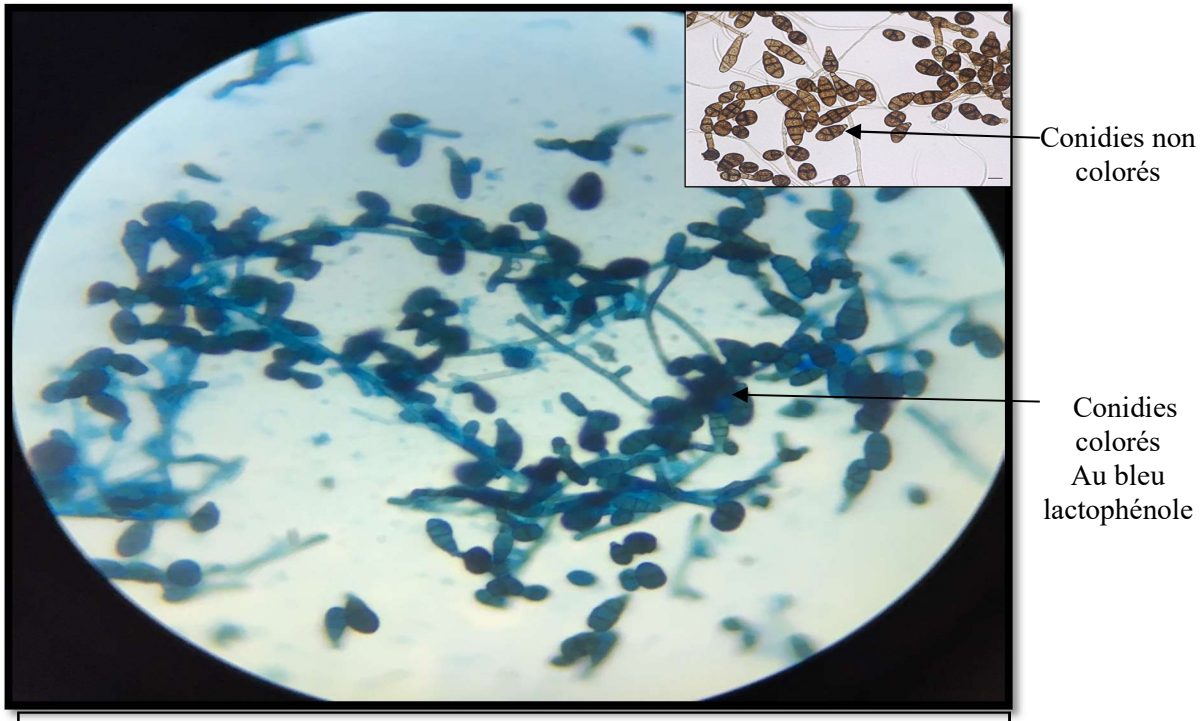

Figure 23 Conidies D'*Alternaria atlternata* observé au MO G : ×400

IV. Etude macroscopique des champignons phytopathogènes étudiés :

Après une semaine d'incubation à une température de 25 ±1 C, les colonies des champignons pathogènes se sont parfaitement développées sur le milieu PDA. L'agent pathogène de la tavelure est de couleur vert olive. Celui d'*Alternaria* est de couleur grise.

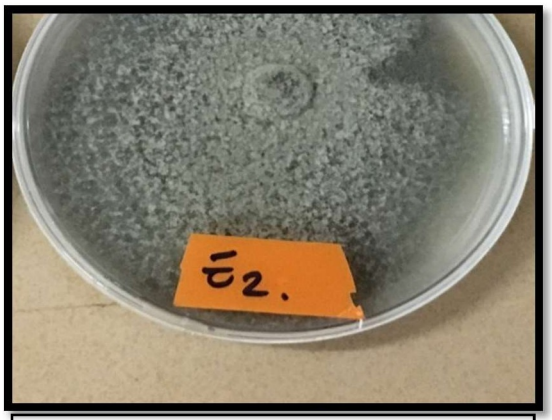

Figure 24: Colonie d'*Alternaria* sp en boite de Petri

Figure 25 : Colonie de *F.oleaginum* En boite de Petri

La croissance radiale moyenne relevé pour *F.oleaginum* est de 6,39 cm les résultats ainsi obtenus comparés à Manseur (2017) et Belka et al (2015) qui ont isolé *F.oleaginum* respectivement à partir de feuilles d'olivier du nord-ouest d'Algérie et d'olivier de Kabylie et qu'ils ont repiqué sur milieu PDA à la suite de quoi, ces auteurs ont conclu que ce milieu était un support de choix pour l'isolement des champignons phytopathogènes.

Pour *Alternaria sp* la croissance radiale moyenne en milieu PDA est de 6 cm Le champignon étant isolé des mêmes feuilles que *F.oleaginum* a montré une croissance aussi importante dans les mêmes conditions de culture.

V. Etude microscopique des pathogènes fongiques isolés

Les filaments de *F.oleaginum* colorés en bleu lactophénol apparaissent fins, cloisonnés et abondamment ramifiés (fig 28 et 29).

vv

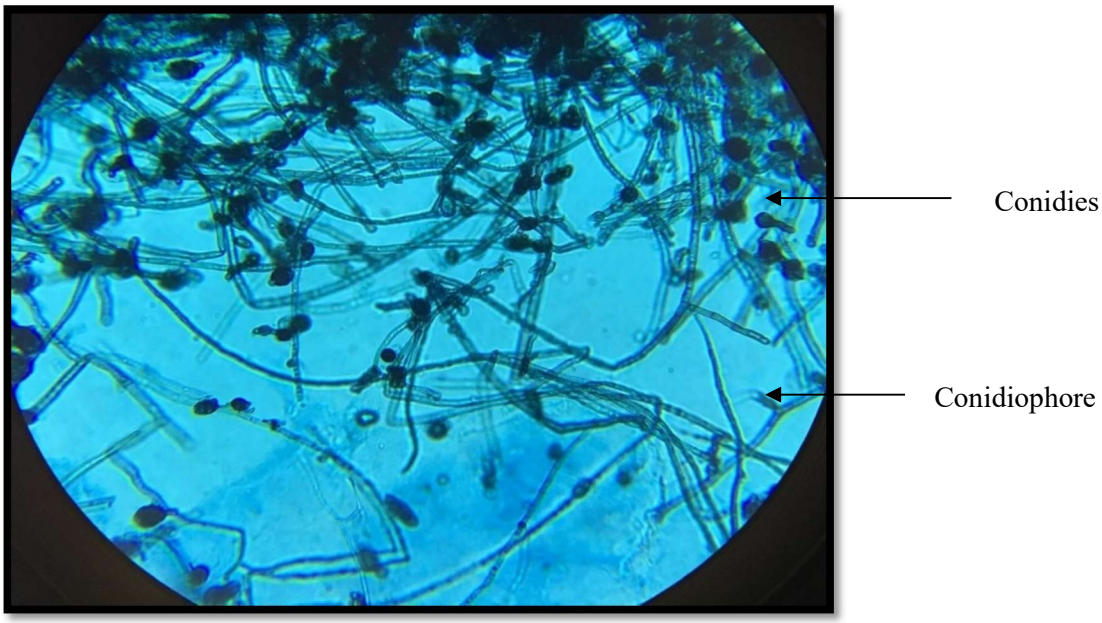

Figure 26: F.oleaginum observé au MO G× 400

-Les filaments d'*Altertnaria* coloré avec le bleu lactophénol sont longs et fin

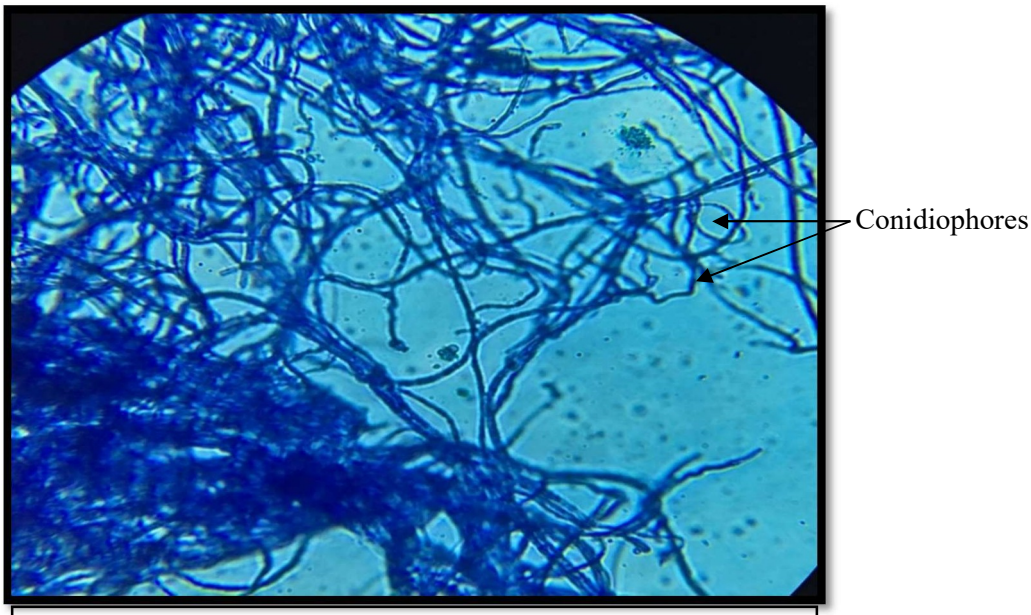

Figure 27 : *Alternaria alternata* observé au MO G400

VI. Action des trois huiles essentielles sur la croissance radiale des deux agents fongiques

VI.1 Action des huiles essentielles sur *F.oleaginum*

Les résultats de la croissance radiale moyenne des colonies de *F.oleaginum* en fonction de la dose de l'huile essentielle sont groupés dans le tableau I et traduit par la figure 30.

Tableau I diamètre moyen des colonies de *F.oleaginum* en fonction de la dose de l'HE :

	1 (Origan)	2 (Menthe)	3 (Citronnelle)
0 µl	6,393±0,638(a)	6,393±1,305(a)	6,393±0,677(a)
2 µl	0,969±0,301(d)	6,533±0,697(a)	0,973±0,411(d)
4 µl	0±0,226(d)	6,235±0,336(a)	0±0,142(d)
6 µl	0,05±0,238(d)	6,181±0,402(a)	0,05±0,198(d)
8 µl	0,413±0,564(d)	5,261±0,762(b)	0,041±0,575(d)
10 µl	0±0,374(d)	4,33± 0,618(c)	0±0,258(d)

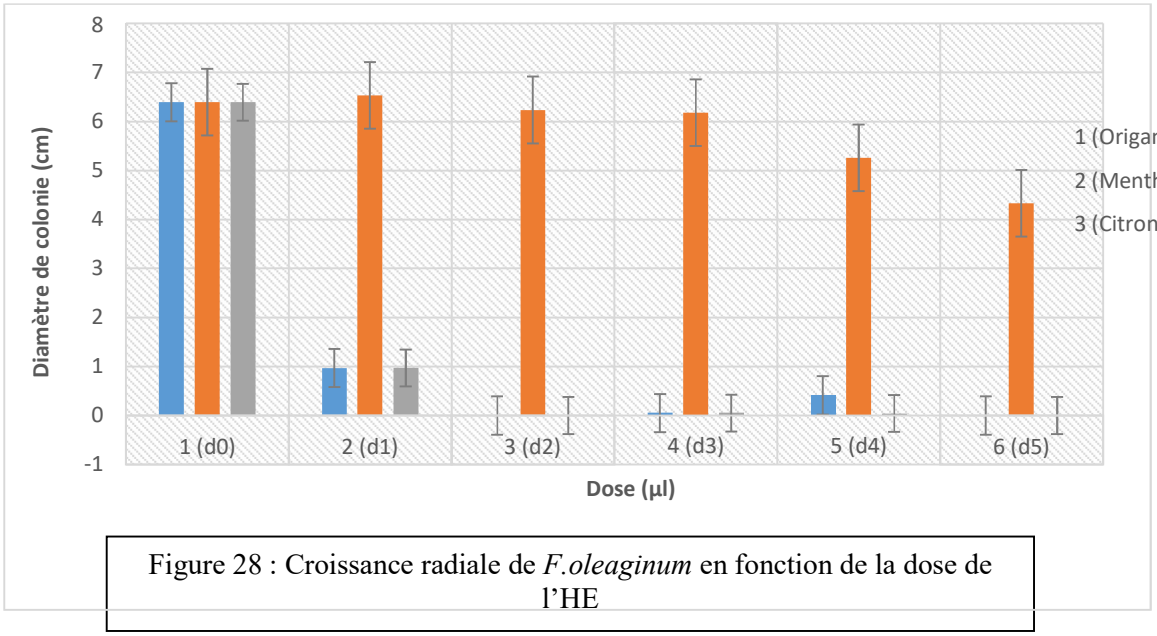

Figure 28 : Croissance radiale de *F.oleaginum* en fonction de la dose de l'HE

La croissance radiale moyenne du mycélium de *F.oleaginum* en boite pétri est de 6.39 cm ± 0.63 après 30 jours d'incubation dans les boites témoins (sans huiles essentielles).

En effet, une réduction très significative de la croissance radiale dès la dose de 2 µl /l avec une moyenne radiale de 1 cm± 0,30 a été enregistré. Cette réduction continue à s'accentué jusqu'à annulation à la dose 10µl. L'huile essentielle d'Origan présente une forte activité antifongique vis-à-vis de *F.oleaginum.* L'analyse de la variance a 2 critères de classification a montré une différence significative pour l'huile (F= 599,975 ; ddl = 2) et pour la dose d'huile (F= 144.099 ; p 0.0000, ddl = 5) et pour l'interaction des deux facteurs dose huile (F= 26.514 p= 0.000 et ddl = 10).

La Citronnelle a également une action fongistatique significative en montrant une activité dès la dose 2µl avec un diamètre moyen de 0.57 cm±0.2. Cette action s'accentue jusqu'à inhiber complètement la croissance *F.oleaginum.*

L'huile la moins active reste celle de *Mentha piperita* avec une action antagoniste vis-à-vis de l'agent causal de la tavelure moins importante que celle enregistrer avec *Origanum* et *Citronella sp*. En effet, le diamètre le plus significatif est de 4.33±0.618 soit une réduction de 50% comparé à la boite témoin (6,393±1,305).

VI.2. Action des huiles essentielles sur *Alternaria sp*

La croissance radiale moyenne d'*Alternaria sp* après 30 jours d'incubation sur le milieu PDA est de 6.98cm±0.44 dans les boites témoins (sans huile essentielle).

En effet une réduction significative de la croissance radiale dès la dose 2µl/l avec une moyenne radiale de 5,575cm±0,245 et une inhibition totale de la croissance à partir de la dose 4µl/l ont été constatées.L'huile essentielle de la citronnelle montre une forte activité antifongique vis-à-vis *Alternaria sp.* L'analyse de la variance a 2 critères de classification a montré une différence significative pour l'huile (F= 301.486 ; ddl = 2) et pour la dose de l'huile (F= 148.683 ; p 0.0000, ddl = 5) et pour l'interaction des deux facteurs dose huile (F= 51.304 p= 0.000 et ddl = 10).

L'HE *d'Origanum* a montré un potentiel inhibiteur antifongique important dès la dose 2µl/l avec un diamètre moyen de 1.23±0.50. L'action de l'HE reste importante avec l'augmentation de la dose.

L'huile essentielle *Mentha piperita* a montré une action antagoniste vis-à-vis de l'agent pathogène mais elle reste moins importante que celle enregistré pour les deux autres

huiles sous-citées à savoir *(Origanum* et *Citronella sp).* En effet, le diamètre le plus faible enregistré est de 3.39±4.33 et une inhibition de l'ordre de 40% par rapport au témoin (6.98±0.44).

Tableau 2: diamètre moyen des colonies d'*Alternaria alternata* en fonction de dose d'Huile essentielles testées

	1 (Origan)	2 (Menthe)	3 (Citronnelle)
0 µl	6,986±0,442(a)	6,986±1,359(a)	6,986±1,114(a)
2 µl	1,233±0,503 (fg)	3,369±0,433 (a)	0,575±0,245(g)
4 µl	1,629±0,822 (ef)	4,983±0,459 (d)	0±0,634 (g)
6 µl	0,128±0,483(g)	5,435±0,499 (bc)	0±0,074 (g)
8 µl	1,048±0,222 (fg)	4,229±0,27 (c)	0±0,427 (g)
10 µl	2,233±0,342 (e)	5,061±0,492 (bc)	0±0,289 (g)

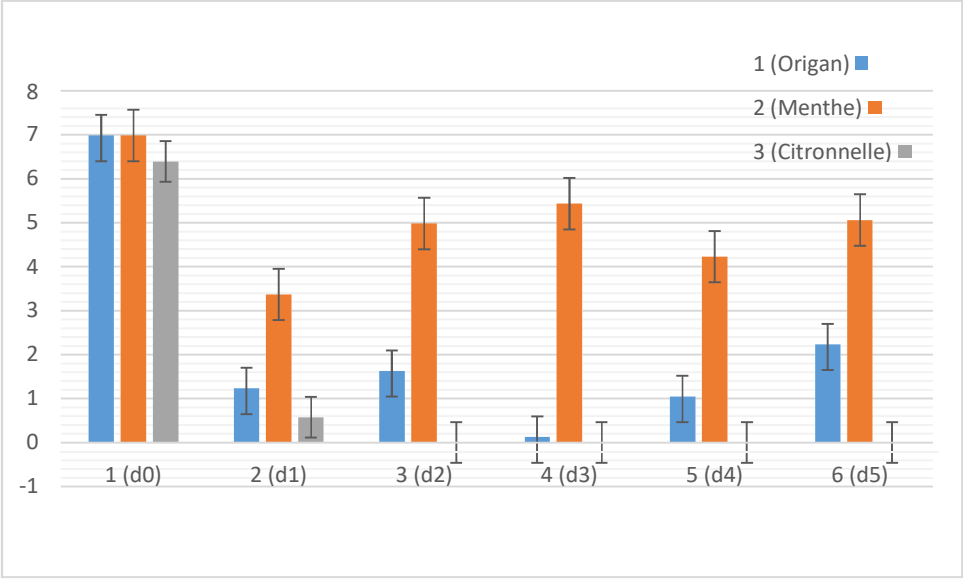

Figure 29 : Croissance radiale d'*Alternaria sp* en fonction de Dose des 3 huiles essentielles testées

Parmi les 3 huiles essentielles testées, la citronnelle et l'origan ont montré les capacités antifongiques globales les plus élevées étant donné que les diamètres de la croissance radiale des 2 phytopathogènes sont de 2.23±0.34 cm pour l'origan et nulle pour la citronnelle et ce pour la dose 10 µl. Ce résultat concorde avec celui de Shimoni, Putievsky, Ravid, and Reuveni (1993) qui ont démontré que des huiles de type origan à savoir *S.thymbra* et *M.syriaca* présentait l'activité antifongique la plus élevée contre les champignons pathogènes foliaires et telluriques. Daouk et al, (1995) ont montré que les huiles essentielles d'origan sont actives contre les champignons d'entreposage des aliments comme *Aspergillus niger, Fusarium oxysporum et Pennicillium* ainsi que des phyotpathogènes telluriques. Dans le cas de l'olivier, Ostry (2008) a rapporté que les mycotoxines produites par *A.alternata* contaminent les drupes d'olivier et la transmission des toxines vers l'huile d'olive est également possible.

Le thymol, le carvacrol et la carvone ont été rapportés par la bibliographie comme étant des antifongiques puissants. Ainsi Smid et al, 1995 ont démontré l'activité antifongique vis-à-vis de *Penicillium hirsutum*.

La forte teneur en Carvacrol et du thymol peut expliquer l'activité antifongique élevée des huiles essentielles testées. Singher et al ont montré que les huiles essentielles de *Cymbopogon martinu* présentait une forte activité contre *Helminthosporium oryzae.*

Conclusion

Conclusion

Notre étude menée dans un verger de haute Kabylie à Ath Yanni consiste à la récolte des feuilles d'olivier de la variété Chemlal a montré l'existence d'une myriade de maladies entre elles l'œil de paon.

Deux agents inducteurs de ces maladies ont été isolés et identifiés. Il s'agit d'*Alternaria alternata* et de *Fusicladium oleaginum*. Le premier phytopathogéne est caractérisé par des sclérotes cloisonnés quant à *F.oleaginum,* il est caractérisé par des conidies uni ou bicellulaire.

Les phytopathogènes ont été isolé et mis en culture en boite de Pétri sur du milieu PDA. La croissance radiale de ces isolats fongiques a été suivie sur du milieu PDA mélangé à différentes doses d'huile essentielles d'*origanum floribundum* récolté a Tikjda et *Cymbopogon citratus* et *Mentha piperita* échantillonnées dans la région de Ath Zmenzer à 10km du chef-lieu de la wilaya de Tizi Ouzou.

Les huiles essentielles les plus efficaces vis-à-vis les deux phytopathogènes isolés restent l'huile de citronnelle et d'origanum. Ces derniers ont réduit significativement et parfois même annulé la croissance des mycelias fongiques dans le cas de *F.oleaginum.*

A la lumière des résultats obtenus, il serait intéressant de procéder à l'analyse biochimique des huiles ayant montré les meilleurs bioactivités à l'instar d'*O. floribundum* et *cymbopogon citratus.*

Elargir l'échantillonnage à d'autres vergers afin de déterminer les principaux agents pathogènes infectant les oliveraies de la Kabylie.

- Alberto-da-Silva, A.-C. (2017).Ensayo de patogenicidad de aislados fúngicos de olivo sobre olea europaea variedad picual.
- Alloum, D. (1974). L'oléiculture algérienne. *Options méditerranéennes*(24), 45-48.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils–a review. *Food and chemical toxicology, 46*(2), 446-475.
- Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2010). Essential oils science, technology, and applications. *Florida, Estados Unidos: CRC Press. doi, 10*, 9781420063165-c9781420063163.
- Bohórquez, J.M. 1997 Efecto de la nutrición del olivo sobre el Repilo causado por Spilocaea oleagina. Trabajo Profesional Fin de Carrera, ETSIAM, Universidad de Córdoba. 164 pp.
- Boulila, M., Mahjoub, M., Romdhani, M., & OTHMAN, M. B. (1993). La maladie du pourridié-agaric observée dans des oliveraies tunisiennes 1. *Eppo Bulletin, 23*(3), 447- 448.
- Breton, C. M., Warnock, P., & Bervillé, A. J. (2012). Origin and history of the olive *Olive Germplasm-The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy*: IntechOpen.
- Buchanan, I., & Han, Y. (2000). Assessment of the potential of Arthromyces ramosus peroxidase to remove phenol from industrial wastewaters. *Environmental technology, 21*(5), 545-552.
- Cacciola, S., Faedda, R., Sinatra, F., Agosteo, G., Schena, L., Frisullo, S., & di San Lio, G. M. (2012). Olive anthracnose. *Journal of Plant Pathology, 94*(1), 29-44.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P., Castillejos, L., & Ferret, A. (2007). Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of dairy science, 90*(6), 2580-2595.
- Camefort H. (1977) Morphologie des végetaux vasculaires cytologie , anatomie adaptation Doin editeurs 432p
- Chemat, F. (2011). Zill-e-Huma, & Khan. *MK Applications of ultrasound in food technology*.
- CHIKHOUNE, A. (2007). *Huiles essentielles de thym et d'origan.* INA.
- Council, N. R. (1986). *Pesticide resistance: strategies and tactics for management*: National Academies Press.

- Cronquist, A., & Takhtadzhi͡a n, A. L. (1981). *An integrated system of classification of flowering plants*: Columbia University Press.
- Da Porto, C., Decorti, D., & Kikic, I. (2009). Flavour compounds of Lavandula angustifolia L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods. *Food Chemistry, 112*(4), 1072-1078.
- Daouk, R. K., Dagher, S. M., & Sattout, E. J. (1995). Antifungal activity of the essential oil of Origanum syriacum L. *Journal of Food Protection, 58*(10), 1147-1149.
- De Oliveira-Filho, E. C., Lopes, R. M., & Paumgartten, F. J. R. (2004). Comparative study on the susceptibility of freshwater species to copper-based pesticides. *Chemosphere, 56*(4), 369-374.
- Dimitrijević, S. I., Mihajlovski, K. R., Antonović, D. G., Milanović-Stevanović, M. R., & Mijin, D. Ž. (2007). A study of the synergistic antilisterial effects of a sub-lethal
- Dolatowski, Z. J., Stadnik, J., & Stasiak, D. (2007). Applications of ultrasound in food technology. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 6*(3), 88-99. Dose of lactic acid and essential oils from Thymus vulgaris L., Rosmarinus officinalis 22. *Florida, Estados Unidos: CRC Press. doi, 10*, 9781420063165-c9781420063163.
- Graniti, A. (1993). Olive scab: a review 1. *Eppo Bulletin, 23*(3), 377-384.
- Hadjou, L., Lamani, O., & Cheriet, F. (2013). Labellisation des huiles d'olive algériennes: contraintes et opportunités du processus? *New Medit, 12*(2), 35-45.
- Hashemi, S., Khodaparast, S., Elahinia, S., Zare, R., & Mousakhah, M. (2014). A preliminary study on the genus Fusicladium sl in Iran. *Mycologia Iranica, 1*(1), 27-33.
- Hilan, C., Sfeir, R., Jawish, D., & Aitour, S. (2006). Huiles essentielles de certaines plantes medicinales Libanaises de la famille des Lamiaceae. *Lebanese Science Journal, 7*(2), 13-22.
- J.G. Töfoli, R. J. D., J.T. Ferrari, E.M.C. Nogueira. (2013). DIVULGAÇÃO TÉCNICA DOENÇAS FÚNGICAS DA OLIVA: SINTOMAS, ETIOLOGIA E MANEJO. *Biológico, São Paulo, 75*(1), 53-61.
- Kamalakannan, A., Gopalakrishnan, C., Renuka, R., Kalpana, K., Lakshmi, D. L., & Valluvaparidasan, V. (2008). First report ofAlternaria alternata causing leaf spot onAloe barbadensis in India. *Australasian Plant Disease Notes, 3*(1), 110-111.

- Khima, S., Merabti, C., & Brahmi, F. E. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de Calamintha officinalis et Abies numidica.
- Kumar, S., Kahlon, T., & Chaudhary, S. (2011). A rapid screening for adulterants in olive oil using DNA barcodes. *Food Chemistry, 127*(3), 1335-1341.L. and Origanum vulgare L. *Food Chemistry, 104*(2), 774-782.
- Laviola, C., & Scarito, G. (1993). Observations on spore production in *Spilocaea oleagina* in southern Italy 1. *Eppo Bulletin, 23*(3), 411-416.
- Loumou, A., & Giourga, C. (2003). Olive groves:``The life and identity of the Mediterranean". *Agriculture and Human Values, 20*(1), 87-95.
- Mendil, M., & Sebai, A. (2006). L'olivier en Algérie. *Alger: Institut technique de l'arboriculture fruitière et de la vigne*, 26-97.
- Merrington, G., Nfa, L. W., Parkinson, R., Redman, M., & Winder, L. (2002). *Agricultural pollution: environmental problems and practical solutions*: CRC Press.
- Mnayer, D. (2014). *Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens.* Université d'Avignon.
- Moral, J., & Trapero, A. (2009). Assessing the susceptibility of olive cultivars to anthracnose caused by Colletotrichum acutatum. *Plant disease, 93*(10), 1028-1036.
- Moral, J., Alsalimiya, M., Roca, L., Díez, C., León, L., De la Rosa, R., . . . Trapero, A. (2015). Relative susceptibility of new olive cultivars to Spilocaea oleagina, Colletotrichum acutatum, and Pseudocercospora cladosporioides. *Plant disease, 99*(1), 58-64.
- Obanor, F., Walter, M., Jones, E., & Jaspers, M. (2011). Effects of temperature inoculum concentration, leaf age, and continuous and interrupted wetness on infection of olive plants by Spilocaea oleagina. *Plant Pathology, 60*(2), 190-199.
- Ostry, V. (2008). Alternaria mycotoxins: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin Journal, 1*(2), 175-188.
- Ouattara, B., Simard, R. E., Holley, R. A., Piette, G. J.-P., & Bégin, A. (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International journal of food microbiology, 37*(2-3), 155-162.
- Pietrzak, U., & McPhail, D. (2004). Copper accumulation, distribution and fractionation in vineyard soils of Victoria, Australia. *Geoderma, 122*(2-4), 151-166.

- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.-S., & Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food control, 31*(2), 593-606.
- RANITHA, A. (2014). I*dentification and optimization of lemongrass essential oils extracted by hydrodistillation and microwave assisted hydrodistillation methods.* universiti malaysia pahang.
- Roca, L. F., Moral, J., Viruega, J. R., Ávila, A., Oliveira, R., & Trapero, A. (2007). Copper fungicides in the control of olive diseases. *Olea, 26*, 48-50.
- Rodrigues, T., Berbee, M., Simmons, E., Cardoso, C., Reis, A., Maffia, L., & Mizubuti, E. (2010). First report of Alternaria tomatophila and A. grandis causing early blight on tomato and potato in Brazil. *New Disease Reports, 22*, 28-28.
- Rongai, D., Basti, C., & Di Marco, C. (2012). A natural product for the control of olive leaf spot caused by *Fusicladium oleagineum* (Cast.) Ritschel & Braun. *Phytopathologia Mediterranea*, 276-282.
- Shimoni, M., Putievsky, E., Ravid, U., & Reuveni, R. (1993). Antifungal activity of volatile fractions of essential oils from four aromatic wild plants in Israel. *Journal of chemical ecology, 19*(6), 1129-1133.
- Siddiqui, I., Bajwa, R., & Javaid, A. (2009). A new foliar fungal pathogen, Alternaria alternata isolated from Chenopodium album in Pakistan. *Pak. J. Bot, 41*(3), 1437- 1438.
- Sistani, F., Ramezanpour, S., & Nasrollanejad, S. (2009). Field evaluation of different Fungicides application to control olive leaf spot. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3*(4), 3341-3345.
- Smid, E. J., de Witte, Y., & Gorris, L. G. (1995). Secondary plant metabolites as control agents of postharvest Penicillium rot on tulip bulbs. *Postharvest Biology and Technology, 6*(3-4), 303-312.
- Veillet, S., Tomao, V., & Chemat, F. (2010). Ultrasound assisted maceration: An original procedure for direct aromatisation of olive oil with basil. *Food Chemistry,123*(3), 905-911.

Annexe 1

- Isolement des phytopathogène de l'olivier

➢ Préparation du milieu de culture PDA

Pour isoler le champignon pathogène de la tavelure nous avons utilisé le milieu non sélectif PDA (potato-dextrose-agar) la composition du milieu est exprimée en gramme par litre d'eau distillée. Le milieu de culture doit contenir les sources d'énergie nécessaire à la croissance du champignon. Ce dernier est stérilisé à l'autoclave à une température au-delà de 120 °C pendant 20 minutes. Est sa composition est la suivante :

- Infusion de pomme de terre ……200g
- D-glucose…….…….....15g
- Agar……20g
- Eau distillée…….……1000g

Préparation :

- Éplucher les pommes de terre, puis couper les en dés et mélanger à 500 ml d'eau distillée
- Porter à ébullition pendant 15 à 20 minutes
- Recueillir le filtrat……. (A)
- Mélanger 20 g de gélose avec 300 ml d'eau distillée
- Remuer à l'aide d'un agitateur jusqu'à homogénéisation……. (B)
- Mélanger (A) et (B) puis ajuster à 1000 ml de l'eau distillée
- Stériliser à 120 °C pendant 20 minutes
- Faire couler le milieu dans des boites de Pétri Déjà préparées

Annexe 2

- Identification des agents pathogènes

- **Préparation des colorants**

➢ **Rouge Congo** :

- La composition :

- Rouge Congo …….. 3g
- Ammoniaque ……2 ml
- Eau distillée …….....49 ml

Sous hotte aspirante, dans un erlenmeyer on met 3g du Rouge Congo auxquels sont rajoutés 49 ml de l'eau distillée. Nous avons introduit 2 ml de l'ammoniaque et placé aussitôt un verre de montre sur l'erlenmeyer pour limiter l'évaporation d'ammoniaque qui est un gaz extrêmement toxique. Nous avons agité avec un agitateur magnétique, le mélange est chauffé pour faciliter la dissolution du colorant. Le colorant ainsi préparé est laissé refroidir puis filtré en plaçant un couvercle sur l'entonnoir.

➢ **Vert de Méthyl**

- La composition

Eau distillée ……..55 ml

Vert de méthyl ……..0.5g

Acide Acétique …….22.5ml

Sous hotte aspirante, dans un erlenmeyer on met 0.5g du Vert de méthyl et on introduit 55 ml d'eau distillée puis on rajoute 22.5ml d'acide acétique on ferme l'erlenmeyer avec un bouchon en caoutchouc.Agiter avec un agitateur magnétique puis filtrer en plaçant un couvercle sur l'entonnoir

Annexe 3

Effet des 3 huiles essentielles sur la croissance de *F.oleaginum*

Tableau I : Analyse de la variance a deux critères de classification de l'effet des 3 huiles essentielles sur la croissance radiale de *F.oleaginum*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1526,531	143	10,675				
VAR.FACTEUR 1	662,205	2	331,103	599,975	0		
VAR.FACTEUR 2	397,612	5	79,522	144,099	0		
VAR.FACTEUR 3	155,781	7	22,254	40,326	0		
VAR.INTER F1*2	146,323	10	14,632	26,514	0		
VAR.INTER F1*3	107,897	14	7,707	13,965	0		
VAR.INTER F2*3	18,082	35	0,517	0,936	0,57572		
VAR.RESIDUELLE 1	38,63	70	0,552			0,743	26,63%

Annexe 04

Tableau II : Classification de l'effet des huiles essntielles pour *F.oleaginum* selon le teste de Newman et Keuls

F1 F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
2.0 2.0	Menthe d1	6,533	A			
1.0 1.0	Origan d0	6,393	A			
2.0 1.0	Menthe d0	6,393	A			
3.0 1.0	Citronnelle d0	6,393	A			
2.0 3.0	Menthe d2	6,235	A			
2.0 4.0	Menthe d3	6,181	A			
2.0 5.0	Menthe d4	5,261		B		
2.0 6.0	Menthe d5	4,33			C	
3.0 2.0	Citronnelle d1	0,973				D
1.0 2.0	Origan d1	0,969				D
1.0 5.0	Origan d4	0,413				D
1.0 4.0	Origan d3	0,05				D
3.0 4.0	Citronnelle d3	0,05				D
3.0 5.0	Citronnelle d4	0,041				D
1.0 3.0	Origan d2	0				D
1.0 6.0	Origan d5	0				D
3.0 3.0	Citronnelle d2	0				D
3.0 6.0	Citronnelle d5	0				D

Annexe 05

Tableau III : Analyse de la variance à deux critères de la classification de l'effet des 3 huiles essentielles sur la croissance radiale d'*Alternaria alternata.*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1362,629	143	9,529				
VAR.FACTEUR 1	380,179	2	190,09	301,468	0		
VAR.FACTEUR 2	468,758	5	93,752	148,683	0		
VAR.FACTEUR 3	226,448	7	32,35	51,304	0		
VAR.INTER F1*2	93,577	10	9,358	14,841	0		
VAR.INTER F1*3	117,383	14	8,384	13,297	0		
VAR.INTER F2*3	32,146	35	0,918	1,457	0,09096		
VAR.RESIDUELLE 1	44,138	70	0,631			0,794	28,42%

Annexe 06

Tableau IV : Classification de l'effet des huiles essentielles pour *Alternaria alternata* selon le teste de Newman et Keuls

F1 F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES						
1.0 1.0	Origan d0	6,986	A						
2.0 1.0	Menthe d0	6,986	A						
3.0 1.0	Citronnelle d0	6,393	A						
2.0 4.0	Menthe d3	5,435		B					
2.0 6.0	Menthe d5	5,061		B	C				
2.0 3.0	Menthe d2	4,983		B	C				
2.0 5.0	Menthe d4	4,229			C				
2.0 2.0	Menthe d1	3,369				D			
1.0 6.0	Origan d5	2,233					E		
1.0 3.0	Origan d2	1,629					E	F	
1.0 2.0	Origan d1	1,233						F	G
1.0 5.0	Origan d4	1,048						F	G
3.0 2.0	Citronnelle d1	0,575							G
1.0 4.0	Origan d3	0,128							G
3.0 5.0	Citronnelle d4	0							G
3.0 6.0	Citronnelle d5	0							G
3.0 3.0	Citronnelle d2	0							G
3.0 4.0	Citronnelle d3	0							G