

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REpubLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHESCIENTIFIQUE  
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة  
ÉCOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE  
(ENSA) EL-HARRACH-ALGER



## Thèse de DOCTORAT

Présentée et soutenue par

**Nadia KHEDDAM-BENADJAL**

En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Sciences  
Agronomiques

Spécialité Phytopathologie

—————  
**Étude de la tavelure de l'olivier causée par *Venturia oleaginea* (Castagne) Rossman & Crous : Occurrence et caractérisations phénotypique et génotypique.**  
—————

*Soutenue le 01/02/2024, devant le jury composé de*

M <sup>me</sup> H. BOUREGHDA	Professeure	(ENSA) El Harrach	Présidente
M <sup>r</sup> Z. BOUZNAD	Professeur	(ENSA) El Harrach	Directeur de thèse
M <sup>me</sup> N. BEHIDJ	Professeure	(UMBB) Boumerdes	Examinatrice
M <sup>me</sup> F. BENZINA	Professeure	(UMBB) Boumerdes	Examinatrice
M <sup>r</sup> M. KHEDDAM	Ancien Directeur Général	(CNCC) El Harrach	Invité
M <sup>r</sup> A. BENZEHRA	Professeur	(ENSA) El Harrach	Invité

*Année universitaire : 2023-2024*

## Avant - propos

Cette Thèse représente plusieurs travaux de recherche basés sur l'étude de la problématique de la tavelure rencontrée au niveau des régions oléicoles en Algérie sur plusieurs variétés en reprenant les résultats et les acquis des travaux de recherche obtenus à ce jour en plein champs et/ou laboratoire. Aussi, vous trouverez les éléments d'aide à la décision pour la mise en œuvre d'une meilleure stratégie adéquate dans le système de production adapté aux conditions agro-écologiques, en tenant compte des contraintes agronomiques, économique et financières afin de produire durablement.

Dans cette Thèse, les résultats de ce travail sur les principales approches en agriculture de l'olivier a fait ressortir une publication, une communication nationale et l'encadrement de plusieurs mémoires d'Ingénieurs et de Masters II :

### A. Publications :

- 1) Journal of Applied Biosciences 174: 18093 – 18102; ISSN 1997-5902:

Survey and evaluation of *Olive Leaf Spot* caused by *Venturia oleaginea* (Castagne) Rossman & Crous (2015) on olive trees in Algeria.

Nadia Kheddam Benadjal<sup>1,2</sup>, Abdelmajid Benzehra<sup>3</sup> Mohamed Kheddam and Zouaoui Bouznad<sup>2</sup>

### B. Communication:

- 1) Occurrence de la tavelure de l'olivier causée par *Spilocaea oleaginea* (Castagne) S. Hughes 1953 = *Cycloconium oligeanum* (Castagne, 1845) en Algérie : 1<sup>e</sup> Journées Scientifiques de Phytopathologie et Biologie Moléculaire. Département de Botanique ; 19 décembre 2017.

## **REMERCIEMENTS**

*Ces travaux de recherche ont été réalisés grâce aux cadres des Stations Régionales de la Protection des Végétaux réparties à travers le territoire National et aux laboratoires centraux de l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV, Alger), au laboratoire du Centre National de Certification et de Contrôle des semences et plants (CNCC, Alger), et au laboratoire de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA, Alger). Ce travail s'inscrit dans le cadre des enquêtes scientifiques sur la situation actuelle de l'oléiculture. Cette approche permettra aussi de découvrir la diversité génétique du pathogène étudié.*

*Nous remercions avant tout ALLAH tout puissant, de nous avoir guidés toutes ces années de recherche et de nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail. Nous tenons à exprimer notre profonde et sincère reconnaissance et respect à mon Directeur de Recherche, le Professeur BOUZNAD Zouaoui, qui a accepté de diriger cette thèse et de m'encadrer, pour sa disponibilité, ses orientations, ses conseils avisés et le temps qu'il nous a consacré au cours de ses dernières années.*

*Toute ma reconnaissance au Professeure BOURAGHDA H., en acceptant la présidence du jury de Thèse. J'éprouve un grand respect pour son travail, son parcours, ainsi que pour ses grandes qualités humaines.*

*Je remercie les examinatrices : Professeure BEHIDJ N., et Professeure BENZINA F., pour la rapidité avec laquelle elles ont lu mon manuscrit. Je leur suis très reconnaissante pour leur acceptation d'examiner ce travail.*

*Je tiens particulièrement à remercier le Professeure BENZEHRA Abdelmadjid pour m'avoir guidée, conseillée et orientée avec beaucoup de pertinence, chaque fois que cela était nécessaire et pour les heures passées à lire et relire les articles de publication, et pour son assistance au niveau de la réalisation et de l'interprétation des tests statistiques. Merci pour l'opportunité que vous m'avez donnée.*

*Des remerciements sont également adressés vivement au Docteur KHEDDAM Mohamed (ancien Directeur Général du CNCC et ancien cadre de l'INPV), pour ses informations dans le domaine phytosanitaire, sa mobilité géographique aux oliveraies du Nord, Est, Ouest et Centre d'Algérie.*

*Mes sincères remerciements vont aussi au Professeur THAER Y. en me fournissant maintes documentations sur la tavelure de l'olivier. Je le remercie également de m'avoir fait bénéficier de ses connaissances et conseils en phytopathologie et aux Docteur KERKOUUD M. et SAHKI Farid (SODIPLAB) qui m'ont fournis les produits moléculaires nécessaires à mes travaux.*

*Je voudrais également exprimer mon amicale sympathie à M<sup>me</sup> KHENFOUS-DJEBARI Bahria et M<sup>me</sup> DJEGHRI-ZOUAI Chérifa pour les agréables moments passés ensemble, pour leurs aides, encouragements et soutien moral.*

*Nous voulons aussi témoigner notre reconnaissance et exprimer toute notre gratitude à nos cadres de l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV) à l'Est, Ouest, Sud et au Centre qui ont participé pour une grande part dans notre travail. Nous remercions également le personnel de Laboratoire Central de Mycologie, de Nématologie et de Bactériologie (M<sup>me</sup> DJAOUD Z.), ainsi que le laboratoire régional de la SRPV d'Alger et le département de LAA (lutte anti acridienne). Ainsi, Je voudrais adresser mes vifs remerciements à l'équipe des ingénieurs des laboratoires de biologies moléculaires du CNCC et de l'INPV pour avoir permis son aboutissement. Je remercié également les Directeurs Généraux des deux institutions pour leurs soutiens. Ce travail a aussi été réalisé au laboratoire de l'Ecole National Supérieure Agronomique, El Harrach, Alger ; qu'il me soit permis tout d'abord de remercier très vivement Pr. BOUZNAD Z. et Pr. BOURAGHDA H. (responsable du laboratoire), pour m'avoir permis de réaliser mes recherches au laboratoire de Biologie Moléculaire de l'ENSA.*

*Enfin, nous adressons un grand merci à nos familles pour leur encouragement constant, et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail et particulièrement mon très cher mari, pour son soutien tant affectif que scientifique tout au long de ces travaux.*

## **DÉDICACES**

***Mon très cher mari Mohamed.***

*Je dédie cette Thèse à Mon mari qui a su me remonter le moral dans les moments les plus difficiles, pour son amour, son soutien et ses encouragements. Que Dieux le garde et le protège.*

***A mon cher fils Ahmed Yanis.***

*Votre présence dévouée de tendresse donne du goût et du sens à ma vie. En témoignage de mon grand amour, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

***A feus mon père : Aomar et ma mère Djoher***

*Aux personnes qui nous ont toujours aidés et encouragés et qui étaient toujours à nos côtés.*

*Nos aimables cadres de l'Institut National de la Protection des Végétaux, veuillez croire à notre profond respect. A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail puisse aboutir.*

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Principaux pays producteurs d'huile d'olive au cours des campagnes (2011/2012, 2012/2013 et 2013/2014).....	<b>07</b>
<b>Tableau 2 :</b> Principaux pays consommateurs d'huile d'olive au cours des campagnes (2011/2012, 2012/2013 et 2013/2014).....	<b>07</b>
<b>Tableau 3 :</b> Principaux pays exportateurs d'huile d'olive au cours des campagnes (2011/2012, 2012/2013 et 2013/2014).....	<b>07</b>
<b>Tableau 4:</b> Principaux pays importateurs d'huile d'olive au cours des campagnes (2011/2012, 2012/2013 et 2013/2014).....	<b>07</b>
<b>Tableau 5 :</b> Cycle annuel de l'olivier ( <i>Olea europaea</i> ) sous climat méditerranéen .....	<b>10</b>
<b>Tableau 6 :</b> Principaux bio agresseurs de l'olivier et méthodes de lutte.....	<b>12</b>
<b>Tableau 7 :</b> Nombre de fiches collectées durant les trois campagnes 2013, 2014 et 2015.....	<b>36</b>
<b>Tableau 8 :</b> Nombre de vergers oléicoles atteints (Campagnes 2013, 2014, 2015).....	<b>37</b>
<b>Tableau 9 :</b> Nombre de feuilles prélevées au hasard au niveau des vergers atteints durant les 3 campagnes.....	<b>40</b>
<b>Tableau 10:</b> Résultats des infections visibles et les infections latentes enregistrées par la méthode de Soude (solution de NaOH à 5%).....	<b>41</b>
<b>Tableau 11:</b> Résultats d'analyse statistique de la variation de l'incidence et de la sévérité pour les différentes wilayas enquêtées (Campagnes 2013, 2014 et 2015).....	<b>42</b>
<b>Tableau 12 :</b> Résultats de l'incidence de la tavelure vis-à-vis des cultivars (campagnes 2013 à 2015).....	<b>45</b>
<b>Tableau 13:</b> Résultats de la sévérité de la tavelure vis-à-vis des cultivars (campagnes 2013 à 2015).....	<b>45</b>
<b>Tableau 14:</b> Lieux de prélèvement des échantillons pour analyse moléculaire par la méthode d'extraction d'ADN classique.....	<b>72</b>
<b>Tableau 15:</b> Origine géographique des échantillons prélevés pour extraction par le Kit Qiagen.....	<b>73</b>
<b>Tableau 16:</b> Groupes représentant les profils électrophorétiques des isolats de <i>V. oleaginea</i> .....	<b>83</b>
<b>Tableau 17:</b> Identification des groupes électrophorétiques en fonction de la présence et la taille des fragments/bandes.....	<b>86</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Cycle d'infection de <i>Venturia oleaginea</i> (Trapero et al. 2001).....	<b>20</b>
<b>Figure 2:</b> Wilayas oléicoles prospectées en Algérie durant les campagnes 2013, 2014 et 2015.....	<b>25</b>
<b>Figure 3:</b> Symptômes typiques de la tavelure causée par <i>Venturia oleaginea</i> de l'olivier dans les régions de l'Ouest (à droite) et du Centre (à gauche) du pays ; variété « Sigoise ».....	<b>29</b>
<b>Figure 4:</b> Feuilles d'oliviers atteintes par la tavelure .....	<b>30</b>
<b>Figure 5:</b> Symptômes typiques de la tavelure de l'olivier sur les variétés Syriennes à Bir Touta (Alger).....	<b>30</b>
<b>Figure 6:</b> Symptômes typiques de la tavelure de l'olivier à Baraki (Alger).....	<b>31</b>
<b>Figure 7:</b> Présence de la tavelure sur les rejets développés sur le tronc et/ou à proximité d'un arbre d'olivier atteint.....	<b>31</b>
<b>Figure 8:</b> Symptômes de la tavelure sur feuilles d'oliviers, sous forme des nécroses, prélevées durant la période d'été au niveau de la région du Centre, sur variété «Sigoise ».....	<b>31</b>
<b>Figure 9:</b> Données météorologiques durant la campagne 2013.....	<b>32</b>
<b>Figure 10:</b> Données météorologiques durant la campagne 2014.....	<b>33</b>
<b>Figure 11:</b> Données météorologiques durant la campagne 2015.....	<b>34</b>
<b>Figure 12:</b> Spectre de répartition du nombre des vergers oléicoles prospectés par région (Est, Ouest et Centre) durant les 3 campagnes.....	<b>35</b>
<b>Figure 13:</b> Wilayas oléicoles infectées par la tavelure (Campagnes 2013, 2014, 2015).....	<b>36</b>
<b>Figure 14:</b> Répartition du taux d'infection des vergers atteints par région (campagne 2013a, 2014b et 2015c).....	<b>39</b>
<b>Figure 15:</b> Lésions visibles après 20 minutes de trempage dans une solution de NaOH à 5% (Méthode de Soude).....	<b>41</b>
<b>Figure 16:</b> Incidence (% d'infection) et sévérité (% d'infection) de la tavelure dans les wilayas oléicoles atteintes à l'Ouest, l'Est et au Centre du pays (campagne 2013a, 2014b et 2015c).....	<b>44</b>
<b>Figure 17 :</b> Tolérance des cultivars à l'égard de <i>V. oleaginea</i> (campagne 2013a, 2014b et 2015c).....	<b>46</b>
<b>Figure 18 :</b> Tolérance de <i>V. oleaginea</i> selon l'âge des vergers (Campagne 2013a, 2014b et 2015c).....	<b>48</b>
<b>Figure 19 :</b> Observation macroscopiques des conidies de <i>V. oleaginea</i> collectées à partir des feuilles d'olivier atteintes.....	<b>64</b>
<b>Figure 20 :</b> Observation microscopiques des conidies de <i>V. oleaginea</i> collectées à partir des feuilles d'olivier atteintes.....	<b>64</b>
<b>Figure 21 :</b> Caractérisation morphologique de conidies de <i>Venturia oleaginea</i> .....	<b>65</b>
<b>Figure 22 :</b> Influence de la température sur la croissance du tube germinatif des conidies de <i>Venturia oleaginea</i> .....	<b>67</b>
<b>Figure 23 :</b> Influence de la température et de la durée d'incubation sur la croissance du tube germinatif des conidies de <i>Venturia oleaginea</i> .....	<b>68</b>

<b>Figure 24 :</b> Amplification de la bande spécifique 750pb caractéristique de <i>V. oleaginea</i> d'un produit PCR de différentes régions oléicoles d'Algérie. ....	<b>80</b>
<b>Figure 25:</b> Profils d'électrophorèse sur gel d'agarose de l'ADN des isolats de <i>V. oleaginea</i> avec l'amorce Box PCR.....	<b>82</b>
<b>Figure 26:</b> Comparaison des isolats par taille de fragment et type de variétés infectées.....	<b>85</b>
<b>Figure 27 :</b> Comparaison des isolats par régions enquêtées.....	<b>85</b>

## Liste des abréviations

**ADN** : Acide Désoxyribo Nucléique

**CNCC** : Centre National de la Certification des semences et de Contrôle des plants

**COI** : Conseil Oléicole International

**INPV** : Institut National de la Protection des Végétaux

**ml** : Mililitre =  $10^{-3}$ L

**min** : Minutes

**ng** : Nanogramme =  $10^{-9}$ g

**pb** : Paire de baise

**PCR** : Polymérase Chain Réaction

**PNDA** : Plan National de Développement Agricole

**UE** : Union Européenne

**µl** : Micro litre

# Tables des matières

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Première partie I : Analyse bibliographique.....</b>	<b>5</b>
<b>Chapitre I : Situation de l'oléiculture dans le monde et en Algérie.....</b>	<b>5</b>
1- Rappel sur l'histoire de l'olivier.....	5
2- Oléiculture dans le monde.....	6
3- Oléiculture en Algérie.....	8
4- Principales variétés d'oliviers cultivées en Algérie.....	8
<b>Chapitre II : Généralités sur l'olivier.....</b>	<b>9</b>
1- Description botanique et exigences agro climatiques de l'olivier.....	9
2- Cycle végétatif.....	9
3- Les bienfaits de l'olivier.....	10
4- Situation phytosanitaire et mesures de protection de la culture.....	11
<b>Chapitre III : Généralité sur la tavelure de l'olivier causée par <i>Venturia oleaginea</i> (Castagne, 1845) Rossman &amp; Crous (2015).....</b>	<b>13</b>
1- Description de la maladie.....	13
2- Nomenclature et taxonomie de l'agent causal.....	14
3- Description des symptômes.....	15
4- Estimation du risque et incidence économique.....	16
5- Étiologie et épidémiologie.....	17
6- Cycle d'infection ou biologie de l'agent pathogène.....	18
<b>Chapitre IV : Caractérisation génétique (diversité génétique) de <i>Venturia oleaginea</i> (Castagne, 1845) Rossman &amp; Crous (2015).....</b>	<b>21</b>
<b>Chapitre V : Stratégies de lutte contre la tavelure de l'olivier.....</b>	<b>22</b>
1- Les mesures prophylactiques.....	22
2- Lutte chimique.....	22
3- Lutte biologique.....	23
<b>Deuxième partie II : Expérimentation</b>	
<b>Chapitre I : Occurrence et prévalence de la tavelure causée par <i>Venturia oleaginea</i> de l'olivier en Algérie : Évaluation de l'incidence et de la sévérité des vergers oléicoles atteints.....</b>	<b>24</b>
<b>1- Matériel et méthodes.....</b>	<b>24</b>

1.1- Prospection au niveau des wilayas oléicoles du pays.....	24
1.2- Prévalence de la tavelure dans les vergers oléicoles atteints.....	26
<b>2- Méthodologie d'échantillonnage.....</b>	<b>26</b>
<b>3- Traitement des échantillons.....</b>	<b>27</b>
3.1- Évaluation de l'incidence.....	27
3.2- Évaluation de la sévérité.....	27
<b>4- Analyse statistique des données.....</b>	<b>27</b>
<b>II- Résultats.....</b>	<b>29</b>
<b>1- Enquête sur la tavelure de l'olivier en Algérie.....</b>	<b>29</b>
<b>2- Évaluation du taux d'infection des vergers oléicoles.....</b>	<b>36</b>
<b>3- Distribution de la tavelure par campagne.....</b>	<b>37</b>
3.1- Campagne 2013.....	38
3.2- Campagne 2014.....	38
3.3- Campagne 2015.....	39
<b>4- Évaluation de l'incidence et de la sévérité de la tavelure dans les régions atteintes.....</b>	<b>39</b>
<b>5- Analyse statistiques des résultats.....</b>	<b>41</b>
<b>III- Discussion.....</b>	<b>49</b>
<b>Chapitre II : Étude phénotypique de <i>Venturia oleaginea</i> agent causal de la tavelure de l'olivier : Influence de la température sur son pouvoir germinatif.....</b>	<b>58</b>
<b>Objectif.....</b>	<b>58</b>
<b>I- Matériel et méthodes.....</b>	<b>58</b>
<b>1- Collection et conservation des échantillons de feuilles d'oliviers infectées.....</b>	<b>58</b>
<b>2- Isolement de l'agent pathogène.....</b>	<b>58</b>
2.1- Obtention de l'inoculum en chambre humide.....	59
2.2- Mise en culture sur milieu nutritif.....	59
2.2.1- Feuilles atteintes.....	59
2.2.2- Isolement par cultures monospores.....	60
<b>3- Caractérisation morphométrique des conidies de <i>V. oleaginea</i>.....</b>	<b>60</b>
<b>4- Influence des facteurs physiologiques sur la croissance du tube germinatif des conidies de <i>V. oleaginea</i>.....</b>	<b>61</b>
4.1- Influence du milieu nutritif.....	61
4.2- Influence de la température.....	61
4.3- Influence de la lumière.....	62
<b>II- Résultats.....</b>	<b>63</b>
<b>1- Caractérisation phénotypique de l'agent pathogène.....</b>	<b>63</b>

<b>2- Caractérisation morphologique des conidies de <i>V. oleaginea</i></b> .....	63
<b>3- Caractérisation morphométrique de l'agent pathogène</b> .....	65
<b>4- Influence des facteurs abiotiques sur la croissance du tube germinatif des conidies de <i>V. oleaginea</i></b> .....	65
4.1- Influence du milieu nutritif.....	66
4.2- Influence de la température.....	66
4.3- Influence de la lumière.....	67
<b>III- Discussion</b> .....	69
<b>Chapitre III : Etude de la variation génétique de <i>V. oleaginea</i> par PCR</b> .....	<b>72</b>
<b>I- Matériel et méthodes</b> .....	72
<b>1- Obtention des échantillons</b> .....	72
<b>2- Méthodes basées sur des caractères génotypiques</b> .....	74
2.1- Extraction d'ADN génomique de <i>V. oleaginea</i> .....	74
* Méthodes d'extraction classique.....	75
* Méthode d'extraction avec le kit de purification l'ADN génomique.....	75
2.2- Quantification de l'ADN génomique de <i>V. oleaginea</i> .....	76
2.3- Caractérisation par Box PCR.....	77
2.4- Révélation des produits de PCR.....	77
2.5- Analyse des profils.....	78
<b>II- Résultats</b> .....	79
<b>1- Extraction de l'ADN des isolats de <i>V. oleaginea</i></b> .....	79
<b>2- Caractérisation génotypique</b> .....	79
2.1- Amplification de l'ADN pour l'identification de <i>V. oleaginea</i> .....	79
2.2- Diversité génétique de <i>V. oleaginea</i> .....	80
2.3- Répartition des profils d'électrophorèse.....	83
<b>III- Discussion</b> .....	87
<b>Conclusion générale</b> .....	91
<b>Perspectives</b> .....	92
<b>Références bibliographiques</b> .....	94
<b>Annexe</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Article</b>	

# Introduction Générale



## INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'olivier « *Olea europaea* L. », arbre symbolique, est omniprésent dans la flore Méditerranéenne depuis des millénaires à l'état sauvage (var. *Sylvestris*) ou cultivé (var. *Europaea*). L'oléiculture est de longue date connue en Algérie ; elle aurait été importée par les phéniciens puis développée par les berbères. La colonisation Française a contribué à l'extension de l'oléiculture en Afrique du Nord, telles que l'oliveraie de Sfax en Tunisie, de Sig en Algérie (Mendil et Sebai, 2006) et les oliveraies entre Meknès et Fez au Maroc. De nos jours, l'oléiculture est située principalement dans la partie Nord du pays, où la plupart des vergers (80%) sont situés dans des zones montagneuses ; elle revêt une grande importance économique, sociale et écologique. Elle est considérée comme un élément essentiel de l'agriculture algérienne par rapport aux autres cultures fruitières, avant le palmier dattier (20,9%), les agrumes (8,4%), et le figuier (6,5%). Gomes et al. (2012), ont indiqué l'existence de plus de 805 millions d'oliviers dans le monde dont 98% sont concentrés sur le pourtour Méditerranéen.

La gestion et la mise en valeur de l'espace agricole méditerranéen sont de fait fortement liées à la culture de l'olivier et aux conséquences économiques et sociales de la production, de la transformation et de la commercialisation de l'huile d'olive. L'évolution de la filière « huile d'olive » dans les différents pays est liée au progrès technique et aux politiques mises en œuvre pour favoriser leur organisation afin de tirer le meilleur profit des potentialités des marchés. La consommation de l'huile d'olive s'est développée aussi dans les pays traditionnellement non producteurs comme les USA, l'Australie et le Japon (Karakaya, 2009). Par ailleurs, cette plante constitue un thème scientifique qui n'a cessé d'interpeller les chercheurs dans différents domaines telles que la géographie rurale, la sociologie, l'anthropologie, l'économie, l'écologie, la médecine, l'agronomie, la biologie et la génétique.

L'olivier est largement cultivé en Algérie fournissant un fruit majeur ; il constitue avec le palmier dattier une composante importante du processus du développement durable ; il occupe la 9<sup>ème</sup> place à l'échelle mondiale, en matière de production d'huile d'olive, et 5<sup>ème</sup> mondialement pour la production de l'olive de table avec 220.000t/an (Amarni, 2015).

En fait, le patrimoine génétique oléicole mondial est très riche en variétés. Il est constitué par plus de 2.600 variétés différentes (Adamou et al. 2005 ; Muzzalupo et al. 2014). Notre verger oléicole comprend une grande diversité variétale répartie à travers les différentes

régions oléicoles. Il existe de nombreuses variétés d'olivier caractéristiques à certaines régions du pays :

- Variété « Sigoise » de la région d'Oued Rhiau à Tlemcen, sa zone d'expansion atteint la Mitidja, elle est principalement destinée pour la production d'olives de table et accessoirement de l'huile ;
- Variété « Sylviane » située dans les plaines Sub-côtière d'Oran, utilisée pour la production d'olives de table ;
- Variété « Rougette » dans la plaine de Mitidja et de l'Atlas ;
- Variété « Chemlal » la plus dominante en Algérie pour son huile ;
- Il existe d'autres variétés à faible extension telles que : « Limli, Blanquette, Arbequina, Frantoi et Manzanille ».

Malgré l'adaptation de l'olivier aux conditions naturelles et à l'écologie Méditerranéennes et les efforts d'innovation déployés par la plupart des pays producteurs, le devenir de ce secteur reste tributaire notamment de la dynamique du marché mondial, des nouvelles dispositions en matière de politique agricole et commerciale, ainsi que de la structure et du fonctionnement des systèmes de production et d'exportation des différents pays oléicoles (Karray et al. 2009). L'olivier présente une remarquable rusticité et plasticité, lui permettant de se développer et de fructifier sous des conditions édapho-climatiques des zones sèches et chaudes et même arides, à faibles précipitations. Cette rusticité est due à ses caractéristiques morphologiques, particulièrement, l'anatomie de ses feuilles, le développement de son système racinaire et son potentiel de régénération (Monji, 2002). Mais sa productivité reste toujours limitée par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques.

Katsoyannos (1992), et Guechi (2001) rapportent que la production oléicole est fortement affectée par les ravageurs, les maladies et le manque d'entretien. Parmi les maladies les plus redoutables, la tavelure ou œil de paon causé par *V. oleaginea*, est une maladie fongique affectant différentes régions oléicoles. Bien que relativement abondante et la plus répandue dans le monde (Viruega et Trapero, 1999 ; Trapero et Blanco, 2008), cette espèce a été peu étudiée. Graniti (1993), indique que la reproduction asexuée de *V. oleaginea* est le principal moyen pour connaître sa biologie, car aucun stade sexué de ce pathogène n'a été identifié au niveau des oliveraies à travers le monde.

Actuellement les vergers oléicoles, à production d'huile surtout, connaissent d'importants dégâts dus principalement à *V. oleaginea* qui éveille l'attention de tous les oléiculteurs (Guechi et Girre, 1994b ; Mac Donald et al.2000 ; Mekuria et al. 2001). C'est dans ce contexte que le présent travail est orienté et consiste à localiser d'éventuels foyers des infections d'origine fongique notamment par *V. oleaginea* au niveau des oliveraies prospectées. Notre contribution représente le premier rapport sur la diversité génétique de *V. oleaginea*.

### Objectif de la thèse

La tavelure de l'olivier, pathogène majeur, a fait l'objet de rares travaux ou études dans nos oliveraies. Cette maladie pourrait être considérée comme émergente en Algérie. Afin de mieux comprendre ce pathogène, nos travaux de recherche sont présentés dans cette thèse en s'appuyant sur deux parties principales qui dépendent de plusieurs aspects.

La première partie consiste à présenter une recherche bibliographique afin d'améliorer nos connaissances sur la culture et la maladie fongique (caractérisations phénotypique et génotypique), ainsi que l'activité abiotique (milieux nutritifs, températures et la lumière).

La deuxième partie comprend trois chapitres qui sont :

1. Une enquête sur la localisation de cette maladie à travers le territoire national, où des prospections sur terrain ont été réalisées durant les trois campagnes successives (2013, 2014 et 2015) au Centre, Est et Ouest du pays, afin d'acquérir des connaissances sur sa biologie et sur l'estimation des taux d'infections (l'évaluation de la sévérité et de l'incidence de la maladie sur les oliveraies atteintes). le Sud est considéré indemne.
2. Les données acquises sur le terrain, nous permettent une caractérisation phénotypique de l'agent pathogène responsable de la maladie (culture *in vitro*, si possible). Cette recherche sera complétée par l'étude complémentaire sur la dynamique de ses populations (test *in vitro* sur plusieurs températures afin de vérifier leurs effets sur le pouvoir germinatif des conidies de *V. oleaginea*).

3. L'identification génétique des populations de *V. oleaginea* a été basée sur la PCR avec l'amorce spécifique dont le but était d'étudier la diversité génétique des isolats fongiques testés.

# **Partie I : Analyse bibliographique**



## Première partie I : Analyse bibliographique

### Chapitre I : Situation de l'oléiculture dans le monde et en Algérie

#### 1- Rappel sur l'historique de l'olivier

L'olivier, appelé *Olea europaea* (Linné, 1764) est un arbre caractéristique du Bassin Méditerranéen ; il vient d'un mot qui signifie « huile » chez les Grecs de l'Antiquité (Bartolini et Petrucelli, 2002). Les études génétiques et archéo-botaniques antérieures ont montré l'existence de populations d'oléastres dans l'Est et l'Ouest Méditerranéen avant le néolithique (Lumaret et Ouazzani, 2001 ; Terral et al. 2004 ; Khadari, 2005 ; Breton et al. 2006). Des amphores datant de 3 500 ans avant J-C ont été retrouvées sur l'île de Crète. Les couronnes de rameaux d'oliviers retrouvées sur les murs des tombes royales égyptiennes (Benhayoum et Lazzeri, 2007) attestent également qu'il était cultivé en Egypte plus de 1500 ans avant J.C. Certaines études des populations d'oléastres et des variétés d'oliviers montrent que la domestication s'est produite indépendamment dans plusieurs régions du Bassin Méditerranéen, probablement réalisée sur une longue période (Baali-Cherif et Besnard, 2005). Peu à peu, au gré des mouvements et des conquêtes, l'olivier s'étend sur tout le pourtour Méditerranéen (Besnard et al. 2002) : Italie, Espagne, France, Tunisie, Algérie, Maroc, etc. Avec la période des grandes découvertes puis de la colonisation, l'olivier traverse même le détroit de Gibraltar pour voyager vers des pays plus exotiques comme la Californie, le Mexique, le Chili, l'Afrique du Sud ou l'Australie.

Sur le plan botanique, l'olivier appartient à la famille des *Oléacées* qui comprend, entre autres, les lilas (*Syringa*), les troènes (*Ligustrum*), les frênes (*Fraxinus*), ainsi que nombre d'arbustes comme les *Forsythias* (Cordeiro et al. 2008). La seule espèce portant des fruits comestibles est *Olea europaea* L, qui est un complexe de 6 sous espèces (Rubio de Casas et al. 2006) dont l'une comporte 2 variétés : L'olivier sauvage ou oléastre (*Olea europaea* sub sp. *europaea* var. *sylvestris* (Mill.) Lehr et l'olivier domestique ou cultivé (*Olea europaea* sub sp. *europaea* var. *europaea*).

## 2- Oléiculture dans le monde

Selon les estimations du Conseil Oléicole International (2001), l'oléiculture occupe une part très importante dans l'économie agricole de certains pays méditerranéens. Les 17 membres de cet organisme intergouvernemental (Albanie, Algérie, Argentine, Égypte, Irak, Iran, Palestine, Jordanie, Liban, Lybie, Maroc, Monténégro, Syrie, Tunisie, Turquie, Union européenne et Uruguay) réalisent 98% de la production mondiale (Barjol, 2014) et 96% des exportations vers le marché mondial. Selon les données statistiques mondiales les rendements varient sensiblement selon les années, les types de système d'exploitation, la densité de plantation, les pratiques culturales, les conditions climatiques et l'alternance biologique de l'olivier. Le Tableau 1 donne une vision sur trois campagnes de la production des dix premiers pays producteurs mondiaux et illustre la grande variabilité dans la plupart des pays (Palma et Padill, 2012).

L'huile d'olive est aussi un produit qui offre des revenus et des emplois à des millions de personnes dans des milieux naturels difficiles où la possibilité d'établir d'autres alternatives, sources de revenus comparables, est aléatoire (Laajimi et Thabet, 2006). Le Tableau 2 présente un aperçu de la consommation des dix premiers pays sur trois campagnes. Les États-Unis se classent parmi les premiers consommateurs mondiaux, juste derrière l'Italie et l'Espagne.

Plus de 72% de l'exportation mondiale partent de l'Union Européenne, principalement d'Espagne et d'Italie. Les autres pays membres du COI participent à 23% des exportations, soit 176 000 tonnes, notamment, la Tunisie (en fort recul), suivie de la Turquie, de la Syrie, de l'Argentine et du Maroc (Tab. 3). L'augmentation de la consommation de l'huile d'olive est très liée au fait que les consommateurs du monde entier accordent de plus en plus d'importance à la qualité, à la santé et aux aspects organoleptiques des aliments (Tab. 4) (Afidol, 2013).

**Tableau 1.** Principaux pays producteurs d'huile d'olive au cours des campagnes (2011/2012, 2012/2013 et 2013/2014).

Pays	Production (en milliers de tonnes)		
	2011/2012	2012/2013	2013/2014
Espagne	1 615,0	616,3	1 536,6
Italie	399,2	415,5	450,0
Grèce	294,6	357,9	230,0
Turquie	191,0	195,0	180,0
Syrie	198,0	198,0	135,0
Maroc	120,0	100,0	120,0
Tunisie	182,0	220,0	80,0
Portugal	76,2	59,1	76,2
Algérie	39,5	66,0	62,0
Chili	21,5	28,0	32,0

**Tableau 2.** Principaux pays consommateurs d'huile d'olive au cours des campagnes (2011/2012, 2012/2013 et 2013/2014).

Pays	Consommation (en milliers de tonnes)		
	2011/2012	2012/2013	2013/2014
Italie	610,0	590,0	600,0
Espagne	574,0	513,0	580,0
États-Unis	300,0	293,0	294,0
Grèce	200,0	200,0	185,0
Turquie	150,0	160,0	150,0
Maroc	122,0	129,0	132,0
France	112,0	97,2	99,6
Syrie	135,5	135,5	95,0
Portugal	78,0	74,0	74,0
Brésil	68,0	73,0	73,0

**Tableau 3.** Principaux pays exportateurs d'huile d'olive au cours des campagnes (2011/2012, 2012/2013 et 2013/2014).

Pays	Exportations (en milliers de tonnes)		
	2011/2012	2012/2013	2013/2014
Italie	233,2	216,4	243,0
Espagne	248,0	177,5	225,0
Tunisie	129,5	175,0	60,0
Portugal	51,5	56,0	55,8
Turquie	20,0	30,0	50,0
Syrie	25,0	25,0	25,0
Argentine	23,5	12,0	21,0
Chili	10,0	14,0	14,0
Grèce	15,5	11,0	13,0
Maroc	11,0	11,0	11,0

**Tableau 4.** Principaux pays importateurs d'huile d'olive au cours des campagnes (2011/2012, 2012/2013 et 2013/2014).

Pays	Importations (en milliers de tonnes)		
	2011/2012	2012/2013	2013/2014
États-Unis	300,0	288,0	290,0
Brésil	68,0	73,0	73,0
Italie	73,9	90,0	69,0
Japon	43,0	51,0	51,0
Chine	40,0	39,0	40,0
Canada	39,5	37,5	37,5
Australie	31,5	28,5	30,0
Russie	24,0	27,0	27,0
Espagne	14,2	50,0	15,3
Suisse	13,5	14,0	14,0

### 3- Oléiculture en Algérie

En Algérie, l'olivier constitue l'espèce fruitière la plus répandue. La distribution spatiale des oliveraies est en constante évolution ; il ressort que plus de 83% sont situées à l'Est du pays (Bordj Bou Arreridj, Sétif et Jijel) et Centre-Est du pays (Bejaia, Tizi-Ouzou et Bouira), essentiellement destinés à la production d'huile. Le reste des oliveraies se situe dans les régions de l'Ouest (Mascara, Sidi Bel Abbès, Relizane et Tlemcen) avec 17%, et concerne surtout la production d'olives de table (Karboua, 2003). Sur les 1541 communes que compte l'Algérie, 1336 font de l'oléiculture dont 120 sont localisés au Sud, 351 dans les hauts plateaux, 418 en zones de montagne et 447 dans les plaines et le littoral. L'oléiculture est très encouragée par l'Etat, notamment depuis le lancement du Plan National de Développement Agricole (PNDA) en 2000. La production moyenne annuelle est de 555 200 tonnes d'olives, 15% sont destinées à la production d'olives de table et 85% pour la production d'huile d'olive. L'Algérie, vient en 4<sup>ème</sup> position au niveau de l'Afrique, en 9<sup>ème</sup> position au niveau Méditerranéen et en 9<sup>ème</sup> position dans le monde, après l'Espagne, l'Italie, la Grèce, la Turquie, la Syrie, le Maroc, la Tunisie et l'Egypte.

### 4- Principales variétés d'oliviers cultivées en Algérie

L'Algérie, de par sa situation géographique et sa diversité pédoclimatique dispose d'un patrimoine assez riche de variétés, constitué de plus de 164 variétés d'oliviers autochtones et introduites de toute la région méditerranée et même d'outre atlantique. Seules 36 cultivars ont été identifiés en se basant sur des caractères morphologiques et agronomiques (Mendil et Sebai, 2006). Les variétés nationales les plus répandues sont recommandées dans les régions d'origine. La variété « Chemlal » représente près de 45% du patrimoine oléicole national surtout en Kabylie, dans l'Atlas Blidéen et la Mitidja, destinée à la production d'huile. La «Sigoise » occupe 20% des surfaces oléicoles nationales. C'est une excellente variété (olive de table et d'huile), localisée surtout à l'Ouest du pays allant d'Oued Rhiou jusqu'à Tlemcen ; elle est en extension sur tout le territoire national. Malgré leur pouvoir d'adaptation et leur double finalité, ces deux variétés présentent une sensibilité à certaines maladies. Elles cohabitent avec une multitude d'autres : locales (Azerradj, Manzanille, Limli, Rougette, Blanquette, Cœur de Bœuf et Boumguergueb) et étrangères (Arbequina, Sevillane, Picual, Leccino, Frantoio, Khodeiri, Sorani, Terrela et Zaiti). Ces variétés dites secondaires et représentent le reste du patrimoine variétal (Hadjou et al. 2013).

## Chapitre II : Généralités sur l'olivier

### 1- Description botanique et exigences agro climatiques de l'olivier

L'olivier (*Olea europaea* var. *olea* 1753), est une espèce d'arbre ou d'arbustes de la famille des *Oleaceae* répandue à travers l'Afrique, l'Asie et l'Europe Méditerranéenne et dont une variété a été domestiquée et cultivée. Les oliviers sont taillés pour être maintenus à une hauteur de 3 à 7 m afin de faciliter leur entretien et la récolte des fruits ; ils peuvent aller jusqu'à 15 à 20 m de hauteur. Selon D'amato et al. (1988), l'olivier possède un tronc court, très tortueux et noueux sur les sujets âgés, à l'écorce brune, foncée à grise, rugueuse et crevassée ; il est sculpté par l'âge. Ses feuilles sont persistantes et argentées dessous, opposées, portées par un court pétiole jusqu'à 1,5 cm de long. Les fleurs sont blanches, crèmes ou jaunâtres, petites de 2 à 3 mm, groupées en panicules axillaires de 3 à 8 cm de long (Fabri et Benelli, 2000). Les fruits sont des drupes de forme ovoïde de 2 à 4 cm de longueur.

L'olivier développe un système racinaire peu profond, pivotant dont les racines principales s'épaississent par fasciation, alors que les racines secondaires et les radicelles peuvent explorer une surface de sol considérable (Quiralte et al. 2002). Les racines de l'olivier sont capables d'extraire de l'eau en exerçant une importante force de succion. Il peut se cultiver dans presque tous les types de sol sauf les sols argileux. Les oliviers s'épanouissent dans les régions au climat méditerranéen. Il a besoin de la lumière pour la maturation des fruits et une température annuelle moyenne entre 15 et 20°C. L'olivier peut résister à de fortes sécheresses saisonnières (températures estivales élevées autour de +40°C) si l'approvisionnement en eau est suffisant.

L'olivier peut vivre à l'état spontané sans aucun entretien et sans engrais pendant de nombreuses années, il ne meurt effectivement jamais de vieillesse (un olivier vieilli, produit des rejets ou souquets), peut cependant mourir par l'effet du gel, de l'humidité du sol, et probablement, de la sécheresse. L'olivier le plus vieux du monde (3000 ans environ) se trouverait dans le village de Vouves dans l'Ouest de la Crète.

### 2- Cycle végétatif

L'olivier connaît un cycle végétatif qui se déroule dans l'année (Tab. 5). Il ne produit naturellement qu'une année sur deux en l'absence de taille. La production s'installe lentement,

progressivement, mais durablement, entre 1 et 7 ans. A 35 ans l'arbre se développe et connaît une augmentation progressive de la production. Entre 35 ans et 150 ans, l'olivier atteint sa pleine maturité et sa production optimale. Au-delà de 150 ans, il vieillit et ses rendements deviennent aléatoires (Rebour, 2005).

**Tableau 5 :** Cycle annuel de l'olivier (*Olea europaea*) sous climat méditerranéen (Rebour, 2005).

Phases végétatives	Périodes/Mois	Durées /jrs	Manifestations
<b>Repos végétatif</b>	Décembre-Janvier	30-90 jours	Activité germinative arrêtée ou ralentie.
Induction florale	février	-	Les fruits se développeront sur le bois poussé l'année précédente (> taille).
Reprise de la végétation	fin février	20-25 jours	Émission d'une nouvelle végétation de couleur claire.
<b>Apparition de boutons floraux</b>	mi-mars-avril	18-23 jours	Inflorescences de couleur verte, blanchâtres à maturité.
<b>Floraison</b>	début mai	7 jours	Fleurs ouvertes et bien apparentes, pollinisation et fécondation.
Fructification	fin mai	-	Chute des pétales, hécatombe précoce des fleurs et des fruits.
Développement des fruits	juin	21 à 30 jours	Fruits petits mais bien apparents.
<b>Durcissement du noyau</b>	juillet	7-25 jours	Fin de la formation des fruits devenant résistants à la coupe et à la section.
Croissance des fruits	août	45 à 60 jours	Augmentation considérable de la taille des fruits et apparition des lenticelles.
<b>Début de maturation</b>	mi-septembre	-	Au moins la moitié de la surface du fruit vire du vert au rouge violacé.
Maturation complète	fin octobre à novembre	-	Fruits avec une coloration uniforme violette à noire.

### 3- Les bienfaits de l'olivier

Dans les années 1990, il y a eu plusieurs découvertes sur l'effet bénéfique de l'usage de l'huile d'olive. Elle offre ainsi, non seulement une alimentation adéquate aux Méditerranéens mais également une source de stabilité sociale et environnementale (Karray et al. 2009 ; Alcazar Roman et al. 2014). L'olivier est un arbre bienfaiteur à plusieurs effets, notamment :

❖ **En alimentation :** Les bienfaits de l'olivier sont liés aux principaux composants de la plante : en eau (70 à 75% du poids total de l'olive) ; les matières grasses (17 à 30% du poids du fruit, principalement acide oléique) ; acides aminés ou de protéines ; les acides organiques (le plus important est l'acide citrique) ; les composés phénoliques (1,5% du poids de la

pulpe) ; les vitamines (A ou carotènes, C, B1 et E) et les substances inorganiques (le potassium, le calcium, le magnésium, le chlore, le phosphore etc...) (Gigon et Le Jeune, 2010). L'huile d'olive (une forte teneur de 12 à 30%) est consommée sous sa forme brute sans traitement préalable comme préconisée par de nombreux diététiciens (Harwood et Ramon, 2000). Les fruits (l'olive a une faible teneur en sucres 2,6 à 6%), sont transformés en olives de table noires ou vertes entières (Purcaro et al. 2014).

❖ **En santé :** L'olivier (olive et huile ainsi que toutes les parties de l'arbre) a des propriétés bénéfiques pour la santé humaine (Karakaya, 2009). Il combat l'hypertension, dispose de propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes (Gordon et al. 2001 ; Sánchez-Quesada et al. 2013 ; Virruso et al. 2013), favorise une bonne ossification grâce à sa forte teneur en acide oléique (Coxam et al. 2014), traite les ulcères et les gastrites, régule la sécrétion de la bile et prévient les calculs biliaires (Martínez-González, 2006), renforce le système immunitaire contre les infections virales, bactériennes et fongiques (Syed, 2010 ; Saillard, 2014). Il prévient les maladies cardio-vasculaires (Pitsavos et al. 2005 ; Estruch et al. 2013), les désordres neurologiques (Medeiros, 2001 ; Gimeno et al. 2002), les cancers du sein et du colon (Servili et al. 2009, 2014). La feuille d'olivier est également antidiabétique (Soriguer et al. 2013) et certaines études cliniques confirment son indication pour prévenir l'athérosclérose (Obied et al. 2012).

❖ **Autres :** En artisanat et ornementation : son bois est jaune clair veiné, ses fibres sont irrégulières, dures donnant un bel éclat. Il est recherché dans le tournage, l'ébénisterie, la sculpture, la maçonnerie et en bois de chauffage. Dans l'industrie, l'élevage et l'environnement, il contribue à la lutte contre l'érosion et au développement des territoires agricoles.

#### **4- Situation phytosanitaire et mesures de protection de la culture**

Les caractéristiques de l'oléiculture dans les pays du Bassin Méditerranéen présentent des similitudes face aux contraintes qui entravent son développement. Elles constituent le principal obstacle à la productivité de cette culture. Ce sont les ravageurs qui causent le plus de dégâts en s'attaquant à tous les organes de l'olivier (rameaux, feuilles, fleurs, et fruits), ainsi, que des maladies surtout les bactéries et les champignons. Les plus importants en Algérie sont mentionnés dans le tableau 6.

**Tableau 6** : Principaux bio agresseurs de l'olivier et méthodes de lutte (Boulila et Mahjoub, 1994).

Ravageurs	Dégâts	Méthodes de lutte
Mouche de l'olivier ( <i>Dacus oleae</i> ou <i>Bactrocera olea</i> )	Ce ravageur occasionne des dégâts très importants. Il pond ses œufs dans l'olive.	Utilisation des insecticides au moment opportun (dès le mois de juin et de juillet après la chute des pétales) ; aussi le piégeage.
Teigne ( <i>Prays oleae</i> )	Attaque les feuilles, fleurs et fruits dans un cycle en 3 générations de l'année : en hiver (phase phylophage) ; au printemps (phase anthophage) et en été (phase carpophage). Il provoque l'avortement des fleurs et la chute des fruits.	Une pulvérisation d'insecticide approprié (seuil d'intervention à 10%) juste avant le début de la floraison.
Neiroun ou scolyte ( <i>Phaeotritus scaraboeoïdes</i> )	Se développe sur des arbres affaiblis par le gel et la sécheresse. Il provoque des trous et des galeries surmontées de petites boules de sciure.	Traitement préventif au mois de mars (une taille sévère des arbres atteints puis incinérer ; apport d'une bonne fumure azotée).
Otorhynque ( <i>Otiiorhynchus cibricollis</i> )	Il fait des échancrures semi-circulaires dans les feuilles les plus tendres des jeunes arbres.	Le piégeage peut se faire en posant un anneau de glu sur le tronc.
Psylle ou coton ( <i>Euphyllura olivina</i> )	Attaque la fleur, ses larves vert clair vivent en colonies sur les jeunes pousses et les hampes florales où elles sucent la sève en sécrétant une matière blanche floconneuse spectaculaire.	Lutte biologique ( <i>Chrysoperla carnea</i> et <i>Psyllaephagus olivina</i> ), lutte intégrée (les pratiques culturales adéquates) et lutte chimique rationalisée (Zouiten et El Hadrami, 2001).
Maladies	Dégâts	Méthodes de lutte
Tuberculose ( <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>savastanoi</i> )	C'est une bactérie véhiculée par la sève, elle forme des excroissances de bois.	Lutte préventive (taille sévère, désinfecter les outils à l'eau de javel).
Xylella ( <i>Xylella fastidiosa</i> )	La bactérie bloque les vaisseaux de circulation de la sève ; des brûlures foliaires ; dessèchement des rameaux, puis la mort de l'arbre.	La plus terrible des maladies de l'olivier. Seuls l'arrachage et la destruction des plants infectés par le feu afin d'éviter sa propagation.
Verticilliose ( <i>Verticillium dahliae</i> , Kleb)	Dépérissement et flétrissement du haut vers le bas et enroulement des feuilles en gouttière vers la face inférieure.	Lutte préventif, aucun traitement curatif (Blancard et al. 2003).
Tavelure ou l'œil de paon ( <i>Venturia oleaginea</i> = <i>Fusicladium oleagineum</i> , (Castagne) Ritschel & Braun, 2003)	Provoque des taches formées d'une série de cercles concentriques.	La surveillance surtout au niveau des vergers à variétés sensibles.

De toutes ces affections, *Venturia oleaginae* = *Fusicladium oleagineum* appartenant à la classe des *Dothideomycetes*, pathogène de l'olivier est responsable d'une maladie fongique appelée « œil de paon de l'olivier, ou tavelure de l'olivier » ; cette maladie est phylogénétiquement proche de l'agent responsable de la tavelure du pommier. Elle constitue un enjeu phytosanitaire majeur pour les arbres fruitiers en Algérie. La tavelure de l'olivier se conserve essentiellement dans les feuilles mortes qui constituent l'inoculum primaire. *Venturia oleaginae* n'a pas de forme sexuée active dans la nature, et il se développe uniquement via sa forme asexuée. Ainsi la plante hôte étant à feuilles persistantes, les spores issues de cette phase asexuée peuvent donner lieu à des contaminations tout au long de l'année, si les conditions sont favorables au développement de la maladie. L'épidémiologie de cette maladie est donc radicalement différente de l'épidémiologie de la tavelure du pommier. C'est dans ce cadre que nous avons consacré une étude plus approfondie à ce pathogène.

### **Chapitre III : Généralités sur la tavelure de l'olivier causée par *Venturia oleaginea* (Castagne, 1845) Rossman & Crous (2015).**

#### **1- Description de la maladie**

La tavelure est une maladie économiquement importante dans de nombreuses régions oléicoles, causée par le champignon ayant connu plusieurs dénominations : *Cyloconium oleagineum* (Castagne, 1845), connue aussi sous le nom de *Spilocaea oleaginea* ou encore *Fusicladium oleagineum* (Castagne) Ritschel & U. Braun (2003) et le *Venturia oleaginea* (Castagne) Rossman & Crous 2015. Cette maladie fongique a été décrite depuis presque un siècle (Bernès, 1923). Elle est répandue dans toutes les régions oléicoles du monde, notamment dans les pays du Bassin Méditerranéen (Mekuria et al. 2001 ; Lopez Dancel et al. 2000) et les régions tempérées et subtropicales (Obanor et al. 2005). Elle est moins présente dans les régions chaudes et aérées (El Ahmed, 1987 ; El Ahmed et Mouslili, 1988 et 1989). Elle a été considérée au départ comme une affection mineure en région méditerranéenne (Obanor et al. 2008a).

Cependant, la maladie est particulièrement grave dans les vergers les plus denses composés de cultivars sensibles et dans les pépinières (Boulila et Mahjoub, 1994 ; Bourbos and Skoudridakis, 1993 ; Graniti, 1993). Une perte de rendement allant jusqu'à 20% a été enregistrée à travers le monde (Vendredi et al. 2013). Par exemple en Espagne, les pertes sont estimées à 60-70%, en plus de la détérioration de la qualité de l'huile (Viruega et al. 2013).

En Californie, la productivité des arbres affectés a baissé de plus de 20% lors des années épidémiques (Wilson et Ogawa, 1979). En Australie la maladie a été identifiée dans plusieurs régions oléicoles (Spooner-Hart et al. 2002), en Italie (Laviola and Scarito, 1993), en Nouvelle Zélande (MacDonald et al.2000 ; Obanor et al. 2005). Aux USA (Californie), Kechamadze (1972) a estimé une diminution de 20% de la production. Au Maroc, Tajnari (1999), la décrit particulièrement dans les olivettes irriguées, ou proche des rivières. En Tunisie (Karray, 2002 ; Triki et al. 2008), Egypte (Assawah, 1967), Syrie (Hacen, 2007), Iran (Sanei et al. 2010) et Algérie (Guechi and Girre, 1994a), le taux de contamination varie d'un site à l'autre. D'après Guechi, (2001), en Algérie la contamination est très forte dans plusieurs sites des wilayas du Centre notamment Bejaïa, Tizi-Ouzou et Bouira et à l'Est à Sétif. En revanche, l'infection est très rare et même négligeable dans les wilayas de l'Ouest (Mascara, Oran et Relizane). Par contre, à partir de 2011 l'infection est devenue très forte, elle a touché presque toutes les wilayas de l'Ouest selon les bulletins d'avertissements agricoles délivrés par l'Institut National de la Protection des Végétaux.

## 2- Nomenclature et Taxonomie de l'agent causal

Cette maladie fongique qui s'attaque aux oliviers, est très répandue en Algérie ;elle est due à un champignon phytopathogène de la famille des *Venturiaceae*, un ascomycète qui provoque des taches de plusieurs couleurs en forme de cercle sur les feuilles (d'où son nom vernaculaire l'œil de paon), Les feuilles atteintes tombent au printemps et la synthèse chlorophyllienne de l'arbre peut être affectée, et donc affecte la production d'olives. D'après Schubert et al. (2003) la position taxonomique actuelle de ce pathogène appartient à la classification suivante :

Règne *Fungi*

S/Règne *Ascomycota*

Division *Pezizomycitina*

Classe *Dothideomycetes*

S/Classe *Pleosporomycetidae*

Ordre *Pleosporales*

Famille *Venturiaceae*

Genre *Fusicladium* ou *Venturia*

Espèce *Venturia oleaginea* (Castagne) Rossman & Crous (2015), *Fusicladium oleagineum* (Castagne) Ritschel & Braun U, 2003, synonyme : *Spilocaea oleaginea* (Castagne) S. Hughes

1953 ou *Cycloconium oleagineum* (Castagne, 1845). L'index Fungarium ([www.indexfungorum](http://www.indexfungorum)) donne les dénominations suivantes :

**Current Name:**

***Venturia oleaginea* (Castagne) Rossman & Crous**, in Rossman, Crous & Hyde, *IMA Fungus* **6** (2): 520 (2015)

Synonymes:

***Cycloconium oleagineum* Castagne** [as '*oleaginum*'], *Cat. Pl. Mars.* 220 (1845)

***Fusicladium oleagineum* (Castagne) Ritschel & U. Braun**, in Schubert, Ritschel & Braun, *Schlechtendalia* **9**: 70 (2003)

***Spilocaea oleaginea* (Castagne) S. Hughes**, *Can. J. Bot.* **31** (5): 564 (1953)

### 3- Description des symptômes

D'après Tajnari (1999), pendant les périodes favorables à la multiplication de l'agent pathogène, la tavelure se traduit par l'apparition de taches circulaires sur la face supérieure des feuilles, d'une taille variable de 2 à 10 mm de diamètre (Mac Donald et al. 2000). Chaque cercle correspond à une saison de développement du champignon. Les taches sont d'une couleur foncée huileuse, ensuite un halo jaune ou vert pâle les entoure (Hacen et Rari, 2004). Lorsque l'agent pathogène a développé des conidies, ces taches deviennent brunes foncées parfois noires (Obanor et al. 2005 ; Sultana et Nwara, 2010). Les jeunes feuilles sont plus sensibles à la maladie que les âgées, ce qui rend la protection des nouvelles feuilles très importantes pour prévenir de futures infections (Trapero et Lopez-Doncel, 2005).

Les attaques par la tavelure commencent par les branches basses puis se généralisent à tout l'arbre, affectant ainsi le développement des bourgeons floraux et provoquant de graves défoliations prématurées qui engendrent l'affaiblissement progressif de l'arbre et une réduction significative de la productivité tant en quantité qu'en qualité de l'huile (Mac Donald et al. 2000 ; Hacen, 2007 ; Sharifnabi, 2008). La qualité des olives récoltées peut être médiocre (Wiesman, 2009). Plus rarement on peut observer des attaques sur les jeunes pousses, le fruit et le pédoncule du fruit (Trapero et Blanco, 2008). Lorsque les pédoncules sont infectés, les olives se rident, se déforment et éventuellement tombent prématurément (Gonzalez-Lamothe et al. 2002).

Les dégâts s'observent aux deux périodes de l'année, du printemps à l'automne (Trapero, 1994) ou de l'automne à l'hiver (Viruega and Trapero, 1999 ; Obanor et al. 2008b). Selon Obanoret al. (2005), l'infection peut survenir à tout moment de l'année lorsque l'atmosphère est douce et humide (Ferguson et Vossen, 2009), sauf en conditions climatiques chaudes et sèches où elle ne se produit que rarement, car la croissance de l'agent pathogène est limitée ou inactivée (Saad et Masri, 1978). En hiver la maladie apparaît sur les feuilles sous forme de taches huileuses ensuite elles deviennent noires, selon la température (Graniti, 1993). L'infection devient évidente au printemps avec de nouvelles lésions sur les jeunes feuilles qui sont couvertes par des taches noires circulaires, parfois entourées d'un halo jaune et des taches circulaires jaunes verdâtres développées sur les feuilles les plus âgées (Sergeeva et al. 2009).

#### **4- Estimation du risque et incidence économique**

D'après Salman et al. (2011) des études et enquêtes ont été menées pour évaluer l'incidence (pourcentage des feuilles infectées) et la sévérité (nombre des lésions/feuille) de la tavelure dans les régions oléicoles en Palestine. Les analyses indiquent qu'il existe une corrélation positive entre l'incidence et la sévérité de la maladie. On évalue le risque en comptabilisant le pourcentage des feuilles infectées dans le verger pour un seuil de nuisibilité de 10 à +15% de feuilles présentant les symptômes. Si le seuil de contamination ne dépasse pas 10% des feuilles tachées, il n'est pas nécessaire de traiter. Les taches de la tavelure semblent être particulièrement sévères sur les arbres qui poussent dans les régions où la pluviométrie annuelle est importante.

Le diagnostic est basé sur les symptômes caractéristiques, dans les conditions favorables pour le développement de lésions sur les feuilles. Par contre dans des conditions défavorables, les infections restent latentes, elles montrent des symptômes pendant de longues périodes, de sorte que leur détection est difficile. A cet effet, on détermine le degré d'infection latente sur les feuilles par la méthode dite de « Soude », qui consiste à immerger les feuilles dans une solution d'hydroxyde de sodium (soude caustique) à 5% pendant 20-30 minutes à température ambiante (Lopez-Doncel et al. 2000). La confirmation des infections (présence de la maladie) est basée sur l'oxydation des composés phénoliques qui s'accumulent dans les lésions de la plante et conduisent à l'apparition de taches circulaires de couleur sombre sur les feuilles.

## 5- Étiologie et épidémiologie

La tavelure de l'olivier, est causée par un champignon sous cuticulaire d'où le nom de tavelure. Il se développe dans les tissus infectés, formant des hyphes hyalins, minces, abondamment ramifiés. Plus tard, sur les feuilles mortes, le mycélium grandit considérablement en formant de denses masses somatiques. D'après Hacen (2007), les conidies sont oblongues ou piriformes (14-27x9-15µm) ou (9-10x17-25µm), brun-clair, cloisonnées par des cellules dissimilaires au moment de la maturation. Elles se forment isolées sur la surface de tissus infectés en conidiophores globuleux ou phialiformes, châtain clair de taille 10-17x10-12µm, entourés de collerettes dues à la production successive de conidies (Viruega et Trapero, 1999) d'où l'appellation d'une conidiogénèse du type annelidique. La culture de *Ventura oleaginea in vitro* nécessite des connaissances approfondies de la variabilité morphologique et de la pathogénicité de cet agent (Gonzalez-Lamothe et al. 2002).

Les conidies de *Ventura oleaginea* sont disséminées d'un arbre à l'autre par les éclaboussures de pluies ou de gouttelettes d'eau transportées par le vent (Laviola and Scarito, 1993 ; De Marzo et al. 1993), car quand elles sont sèches, le vent les sépare difficilement des conidiophores. Lops et al. (1993), suggèrent que le vent peut être un facteur de dispersion du champignon dans les conditions d'humidité relative élevée. Les insectes peuvent emporter des spores à une courte distance des tissus infectés sur d'autres feuilles saines (Tajnari, 1999). Habituellement la période d'incubation est d'environ deux semaines en fonction des températures, de l'humidité, de la variété et de l'âge de la feuille. Si l'infection est suivie par une saison chaude, elle peut durer plusieurs semaines (Shabi et al. 1994).

*Ventura oleaginea* se développe en présence d'eau libre (pluie, arrosage sur frondaison) et en conditions favorables de température dans un intervalle de 5 à 25°C (Sistani et al. 2009) avec un optimum entre 15 à 20°C. L'humidité idéale se situe autour de 80-85% (Guechi et Girre, 1994b). Ce qui explique que les périodes favorables à la maladie sont l'automne et l'hiver dans les régions aux étés secs et hivers doux (Al-Khatib et al. 2010), le printemps et le début de l'été dans les régions aux hivers plus froids (Obanor et al. 2008b).

Certaines conditions climatiques favorisent le développement du champignon ; le manque d'aération de l'arbre crée des conditions de confinement favorables, notamment les irrigations tardives, dans les vergers enherbés (Trapero et Roco, 2004). Alors que d'autres

conditions limitent son développement, notamment un été chaud où les températures sont très élevées (Al-khatib et al. 2010) et une longue période de sécheresse. Dans ce cas, il reste au niveau des tâches foliaires à l'état latent (Saad and Masri, 1978 ; Graniti, 1993).

Le champignon se conserve sous forme de conidies sur les feuilles tombées au sol ou sur les feuilles infectées qui restent sur l'arbre. Ces conidies peuvent survivre pendant plusieurs mois, mais une fois qu'elles sont séparées des conidiophores, elles perdent leur capacité de germination en moins d'une semaine (Viruega et trapero, 1999). Après une période de temps chaud et humide de nouvelles conidies sont facilement produites sur les taches foliaires et également dans les feuilles mortes, jouant le rôle d'inoculum pour produire de nouvelles infections (Trapero et Blanco, 2008). Cela implique que dans les environnements méditerranéens ce sont des conidies viables, disponibles pour la dispersion et l'infection de lami- automne à la fin du printemps, avec une production maximale pendant l'hiver.

Le problème de la conservation du champignon ne se pose que pour la saison chaude. Le pathogène arrête toute activité à partir de 25°C, donc sur toute la période estivale. Sa présence préférentielle sur la partie basse de l'arbre où les fortes chaleurs exercent un effet de thermothérapie (Laviola, 1966). Selon le même auteur, en période hivernale, sur une plante à feuillage persistant, le froid ralentit l'activité mais ne constitue pas une menace pour la survie de *Venturia oleaginea*.

## 6- Cycle d'infection ou biologique de l'agent pathogène

En absence de forme sexuée, le cycle d'infection de l'agent pathogène est composé de quatre phases principales (Fig. 1) :

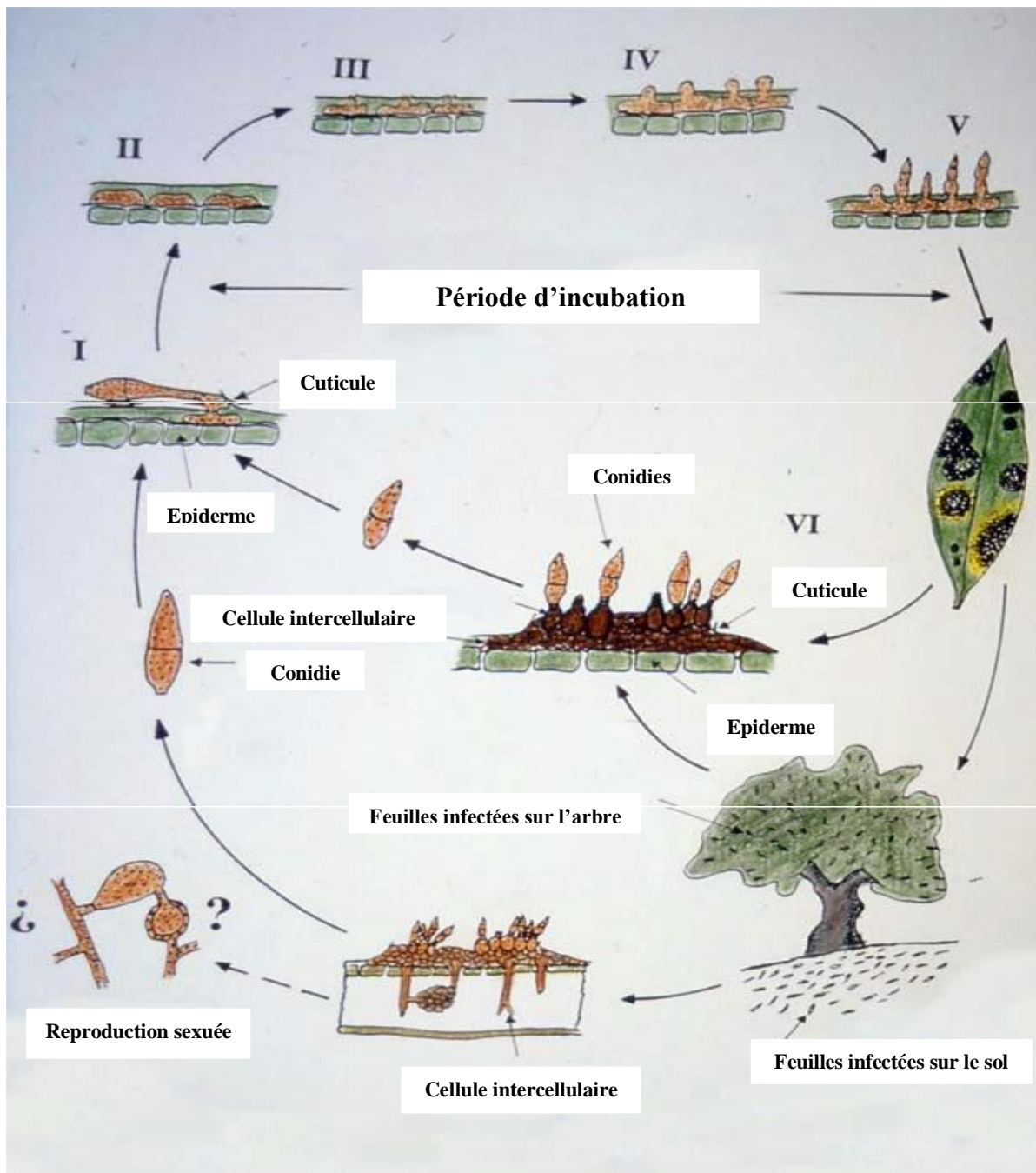
**1<sup>re</sup> Germination :** Comme il a été rapporté précédemment les spores ou les conidies sont dispersées par les insectes, la pluie, sous l'impact des gouttes ou par le ruissellement de feuille à feuille. Une fois déposées sur les tissus sensibles, les conidies germent en produisant un filament germinatif qui perce la cuticule et infecte l'hôte. La germination se produit seulement en présence d'eau libre ou l'humidité supérieure à 98%. Tandis que la germination et l'infection sont possibles pour une durée d'humectation du feuillage de 12 à 24 heures à des températures comprises entre 8 et 24°C, et un optimum entre 15-17°C (Obanor et al. 2008a).

**2<sup>ème</sup> incubation :** Elle se produit dans les cellules des feuilles où l'infection est établie. Le mycélium du champignon commence alors à croître. L'optimum de température pour la croissance mycélienne se situe entre 16 et 21°C. L'infection est suivie d'une période de latence dont la durée est d'environ deux semaines selon la température (Viruega et Trapero, 1999).

**3<sup>ème</sup> Sporulation :** Les conidies formées sur des conidiophores très courts, sont émises en force par déchirure de la cuticule (Trapero et al. 2001). Les spores qui se propagent apparaissent sur la face supérieure des feuilles.

**4<sup>ème</sup> Dissémination :** Les conidies ou les spores sont dispersées principalement par la pluie. Par conséquent, les infections d'arbres se produisent en aval, les basses terres étant les plus touchées.

L'activité du champignon est très ralentie en dessous de 5°C et complètement arrêtée au-dessus de 27°C. La gravité de la maladie dépend du nombre de cycles de reproduction du champignon (Trapero et Roca, 2004). Celui-ci dépend à son tour des conditions climatiques de l'année dans une zone géographique donnée. Il est bien évident que ce sont les zones de culture les plus humides et les plus fraîches qui seront les premières concernées par les attaques de la maladie.



**Figure 1 : Cycle d'infection de *Venturia oleaginea*** (Trapero et al. 2001). **I-** Infection comprenant la germination des conidies et la pénétration du champignon à travers la cuticule de la feuille. **II-** La croissance végétative de la cuticule de la feuille, grâce à l'action des enzymes de dégradation, telles que cutinases, les lipases, les cellulases et de pectinases sécrétées par les hyphes. **III-** Hyphes émission en direction de la surface des feuilles à perforer à nouveau la cuticule. **IV-** Formation de conidiophores une fois atteinte la surface de la feuille. **V-** La sporulation et l'apparition de la tache sur la feuille, en raison de l'accumulation de masses de conidies. **VI-** Un nouveau cycle commence.

#### **Chapitre IV : Caractérisation génétique (diversité génétique) de *Venturia oleaginea* (Castagne, 1845) Rossman & Crous (2015).**

La présence de la tavelure sur l'olivier constitue le principal obstacle à la productivité de l'oléiculture à travers le monde (Friday et al. 2010). Les dégâts peuvent aller de la chute prématurée des feuilles jusqu'à la diminution de la quantité et de la qualité d'huile, pouvant provoquer ainsi des dégâts économiquement importants en l'absence de toute intervention sanitaire. L'agent responsable de la maladie *V. oleaginea* est très peu connu pour sa diversité génétique, probablement en raison de son incapacité à sporuler en culture *in vitro* et aussi à cause de sa croissance très lente (Viruega et al. 2013). Ces contraintes ont été surmontées grâce à l'identification par les nouveaux outils moléculaires. Récemment, l'identification moléculaire de confirmation de l'agent pathogène de *V. oleaginea* a été réalisée à l'aide des amorces spécifiques de l'espèce (Gonzalez-Lamothe et al. 2002) : 18SF (5'-GCTTGTCTCAAAGATTAAGCC-3') et 18SR (5'-CCTTGTTACGACGACTTTTACTTCC-3'). La diversité génétique des isolats de *V. oleaginea* a été évaluée par l'utilisation de différents marqueurs moléculaires comme le polymorphisme de longueur de fragment amplifié (AFLP) (Vos et al. 1995), l'amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD) (Belaj et al. 2004 et Friday et al. 2010), l'amplification PCR-UP (Williams et al. 1990 ; Cumagun et al. 2000 et Pottinger et al. 2002) et l'amplification par BOX-PCR (Oda et al. 2003 ; Kleef Fatima et Mazen Salman, 2020). Ce sont des marqueurs moléculaires nucléaires les plus puissants et les plus fiables pour la caractérisation des génotypes (Gonzalez-Lamothe et al. 2002) et les pathotypes particuliers qui ne peuvent pas être déterminées par l'utilisation des critères phénotypiques classiques (Dunkle et Levy, 2000).

Les marqueurs RAPD ont été les premiers à être utilisés pour évaluer la diversité génétique de l'olivier. Ils sont couramment utilisés pour tester de la diversité génétique, de la virulence des agents pathogènes des plantes en raison de leur facilité d'application et de leur faible coût. L'amplification PCR-UP et l'amplification par BOX-PCR sont utilisées avec succès pour étudier la diversité génétique de *V. oleaginea*. Il a également été adapté pour étudier la diversité génétique d'autres champignons, notamment : *Phaeoconiella chlamydospora* (agent pathogène de la vigne) et *Trichoderma* sp. L'AFLP est devenue la technique la plus puissante et la plus fiable pour la caractérisation des génotypes (Gonzalez-Lamothe et al. 2002).

## Chapitre V : Stratégies de lutte contre la tavelure de l'olivier

La stratégie de contrôle contre la tavelure de l'olivier varie en fonction de la zone concernée (Obanor et al. 2008b). Différents moyens de lutte et de contrôle sont préconisés contre ce champignon dont l'objectif est de limiter sa propagation (Fredon, 2010).

### 1- Les mesures prophylactiques

La lutte contre cette maladie doit être prise avant la plantation, afin d'assurer la qualité sanitaire de la plante. Cette méthode combinant plusieurs pratiques culturales, reste d'ordre prophylactique. Elle vise d'une part à prévenir l'introduction de germes d'agent pathogènes ou de leurs vecteurs dans les cultures et d'autre part à réduire leur importance ou même à éliminer ceux qui seraient présents. Elle consiste à utiliser les pratiques culturales (tailler ou élaguer, limiter les apports des doses excessives d'azote, éliminer et incinérer les feuilles infectées, choisir des variétés d'olivier résistantes à la maladie (Rhouma et al. 2013) et à contrôler, car ce dernier reste subordonné à une bonne connaissance de la biologie et de l'épidémiologie de l'agent pathogène ainsi que de ses interactions avec la plante hôte (Obanor et al. 2008a).

### 2- Lutte chimique

La lutte chimique reste le moyen le plus dominant des différentes stratégies de lutte contre la tavelure de l'olivier. A l'heure actuelle, elle est contrôlée par des traitements fongicides qui sont pour l'essentiel à base de cuivre ou de produits de synthèse. Le cuivre empêche la germination des nouvelles spores qui sont dispersées pendant la pluie et protéger ainsi les feuilles contre des nouvelles contaminations en réduisant l'inoculum (Teviotdale et al. 1989). Malheureusement, l'efficacité de ces traitements n'est pas garantie, en raison de l'apparition des races de pathogènes résistantes au cuivre (Cu) et de la perturbation du métabolisme de la plante due à l'accumulation de cuivre dans le sol (Obanor et al. 2008a).

Au-delà d'un seuil de nuisibilité de plus de 10% de feuilles infectées par la tavelure, un traitement s'avère indispensable. Les périodes de traitement correspondent aux principales périodes de contamination, en l'occurrence le début de l'automne, fin hiver et le printemps. Deux méthodes de lutte chimiques sont préconisées selon l'état d'un verger :

1. Une lutte préventive qui consiste à appliquer les traitements avant les pluies d'hiver pour éviter la dissémination des spores du champignon ;
2. Une lutte curative (pendant la période de risque) est autorisée sur l'ensemble de la végétation jusqu'au point de ruissellement afin d'empêcher de nouvelles installations du champignon sur la feuille.

### **3- Lutte biologique**

Il est connu que l'utilisation des produits phytosanitaires pour lutter contre les maladies des cultures présentent des impacts sur l'environnement, sur la santé et l'éruption de phénomène de résistance de certains agents pathogènes. La lutte biologique peut offrir de nombreuses méthodes alternatives naturelles en utilisant des produits d'origine biologique tels que les extraits végétaux et les agents antagonistes. Ces microorganismes produisent des métabolites secondaires antifongiques qui inhibent la croissance et le métabolisme des agents pathogènes. L'application des agents antagonistes dans la lutte contre les maladies présentent certains avantages par rapport aux fongicides synthétiques, notamment : l'absence de résidus toxiques, respectueuse de l'environnement, durable, efficace, facile à appliquer. Des travaux de recherche ont été orientés dans le but de développer des agents de lutte biologique capables de réduire ou de stopper le développement du champignon *Venturia oleaginea*. Les agents antagonistes utilisés pour lutter contre l'agent causal de la tavelure de l'olivier appartiennent à plusieurs groupes taxonomiques, notamment les bactéries telles que *Pseudomonas* sp. et *Bacillus* sp. (Salman, 2017).

# **Chapitre I**



**Occurrence et prévalence de la tavelure causée par  
*Venturia oleaginea* de l'olivier en Algérie :  
Évaluation de l'incidence et de la sévérité des  
vergers oléicoles atteints.**

## **Chapitre I : Occurrence et prévalence de la tavelure causée par *Venturia oleaginea* de l'olivier en Algérie : Évaluation de l'incidence et de la sévérité des vergers oléicoles atteints.**

Une enquête a été lancée au cours des campagnes 2013, 2014 et 2015 durant les périodes à risques de contamination, en automne (fin septembre jusqu'à décembre) et en hiver début du printemps (fin février à début avril). Les principales zones oléicoles du pays : Centre, Est et Ouest du pays ; le Sud étant considéré pour le moment indemne. Cette étude permettra de :

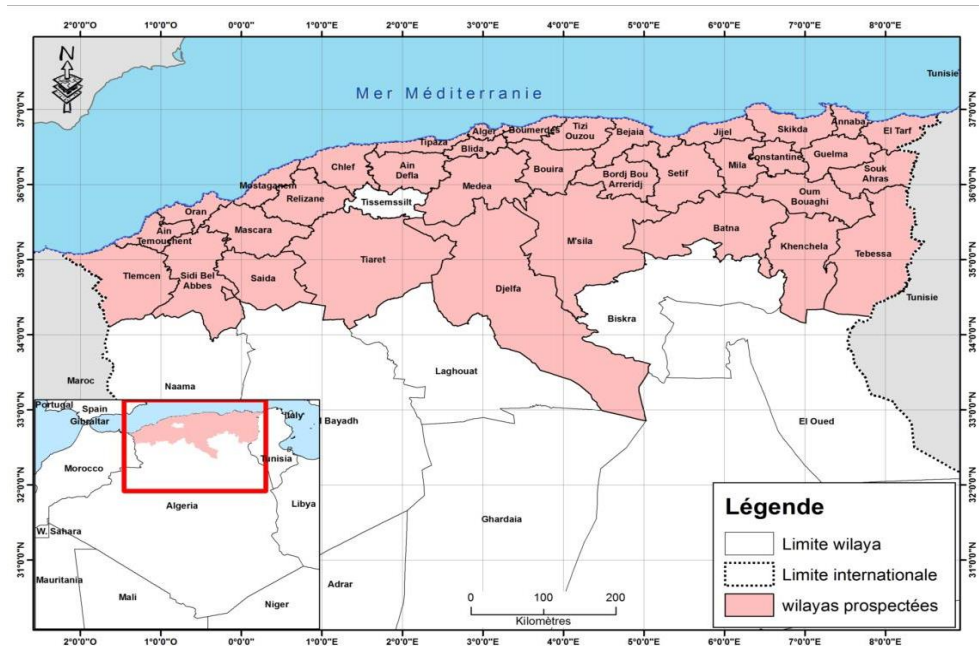
- Dresser une carte de distribution de ce pathogène agent causal de la tavelure de l'olivier ;
- Évaluer l'incidence et la sévérité de la maladie au niveau des vergers oléicoles contaminés.

### **I- Matériel et méthodes**

#### **1.1- Prospection au niveau des wilayas oléicoles du pays**

Notre enquête a été menée aux mêmes périodes que celles signalées par Viruega et Trapero (1999) qui considèrent que les principales périodes d'infections se produisent pendant l'automne et l'hiver. Ces périodes sont recommandées aussi par Sanei et Razavi (2011). A ce titre, Trente-cinq (35) wilayas ont été prospectées au cours des trois campagnes. Elles sont illustrées dans la figure 2.

Nous avons retenu les wilayas productrices d'olives de table et d'huile et celles touchées par les extensions que connaît cette culture. Un total de **28** wilayas enquêtées durant la campagne 2013; **28** wilayas en 2014 et **33** wilayas en 2015 (annexe 1).



**Figure 2:** Wilayas oléicoles prospectées en Algérie durant les campagnes 2013, 2014 et 2015.

Ce travail a été réalisé en coordination avec les stations régionales de la protection des végétaux (SRPV). Nous avons échantillonné un maximum de wilayas pour que les informations collectées puissent nous permettre de dresser une carte de distribution de la maladie en Algérie. Plusieurs dizaines d'exploitations, du Centre (Alger, Boumerdes, Blida, Médéa, Bouira, Bejaia et Tizi-Ouzou), de l'Est (Annaba, El Tarf, Sétif et Jijel) et de l'Ouest (Chlef, Tlemcen, Oran, Saida, Tiaret, Mostaganem, Relizane et Mascara) ont fait l'objet d'une visite sur terrain par nos soins.

A l'effet de ces prospections, nous avons établi un questionnaire pour obtenir un maximum d'informations, dont les principales sont les données sur le site (wilaya, commune, superficie, conditions climatiques) et les données sur la culture (âge, variété, origine, type de sol, produits phytosanitaires utilisés, année d'apparition de la maladie et pourcentage d'infection) comme indiquée sur la fiche d'enquête (annexe 2).

Les prospections ont été réalisées d'une manière aléatoire. Les régions ainsi que les variétés ont été visités pour collecter le maximum de fiches de renseignement sur la présence de la tavelure de l'olivier en Algérie. Lors des prospections réalisées durant les trois (03) campagnes, nous avons rencontré des vergers âgés, abandonnés par les agriculteurs et situés dans les régions montagneuses, ainsi que des vergers isolés ou des oliviers utilisés comme brise vent.

## 1.2- Prévalence de la tavelure dans les vergers oléicoles atteints

Les observations et les notations sont basées sur un diagnostic symptomatologique pouvant indiquer la présence de la tavelure de l'olivier. Ce diagnostic s'appuie sur le descriptif établi par plusieurs auteurs notamment MacDonald et al. (2000), Obanor et al. (2005) ; Trapero et Lopez-Doncel (2005) et Trapero et Blanco (2008),

- Apparition des tâches circulaires sur la face supérieure des feuilles. Les tâches sont d'une couleur foncée huileuse, ensuite un halo jaune ou vert pâle. Lorsque l'agent pathogène a développé des conidies, ces tâches deviennent brunes foncées parfois noires ;
- Les feuilles infectées jaunissent et chutent prématurément pouvant aller jusqu'à la défoliation de l'arbre (les jeunes feuilles sont plus sensibles à la maladie que celles âgées, offrant moins de résistance à l'infection) ;
- Les olives se rident (Viruega et al. 1997), se déforment et éventuellement tombent prématurément (Gonzalez-Lamothe et al. 2002).

La prévalence de la tavelure au niveau des vergers atteints est évaluée selon la formule de Ngugi et al. (2002) :

$$\text{Taux de prévalence (\%)} = \frac{\text{Nombre d'arbres atteints}}{\text{Nombre total d'arbres}} \times 100$$

## 2- Méthodologie d'échantillonnage

L'échantillonnage a été réalisé selon la technique des blocs aléatoires complets à quatre répétitions où chaque bloc contient 5 arbres pris au hasard. Cent feuilles (symptomatiques ou asymptomatiques) ont été prélevées par arbre selon les quatre points cardinaux (Tajnari, 1999 ; Salman et al. 2011). Le but est de mettre en évidence la partie la plus attaquée de l'arbre par la maladie. Chaque prélèvement est mis dans un sac en papier accompagné d'une étiquette portant toutes les informations (variété, âge, site, superficie et date de prélèvement), conservé à 4°C, puis transporté au laboratoire pour évaluer l'incidence et la sévérité. Les températures moyennes mensuelles et les précipitations sont enregistrées de septembre jusqu'au mois d'avril pendant les trois campagnes successives 2013, 2014 et 2015 dans les 35 zones oléicoles. Ces données vont nous indiquer les périodes les plus favorables aux infections par *Venturia oleaginea*.

### 3- Traitement des échantillons

#### 3.1- Évaluation de l'incidence

L'incidence de la maladie a été déterminée par le calcul du pourcentage de feuilles infectées par rapport au nombre total de feuilles collectées (Salman et al. 2011 ; Abuamsha et al. 2013; Hajjeh et al. 2014).

#### 3.2- Evaluation de la sévérité

Selon la technique décrite par Lopez-Doncel et al. (2000), les feuilles asymptomatiques ont été analysées à l'aide de la méthode à l'Hydroxyde de Sodium (NaOH). Cette technique est utilisée pour la détection des taches latentes de la tavelure non visibles sur le terrain (Salman et al. 2011). Cela consiste à faire tremper les feuilles dont les symptômes sont non visibles, dans une solution d'Hydroxyde de Sodium NaOH à 5% pendant 20 minutes à la température ambiante. Cette solution provoque des déformations sous l'épiderme. Les cellules supérieures de l'épiderme des feuilles infectées vont devenir plus visible (Lops et al. 1993; Lopez-Doncel et al. 1999). La présence des lésions sur les feuilles traitées a été utilisée comme mesure de la gravité de la maladie et évaluée comme l'indique Cyril Msimango (2015). Le degré d'infection de la maladie sur chaque feuille a été classé selon les catégories suivantes de (a) à (f) :

- a) La feuille est indemne de la maladie (feuille saine) ;
- b) Moins de  $\frac{1}{4}$  de la surface foliaire atteinte (infection très légère,  $<24\%$ ) ;
- c) Le  $\frac{1}{4}$  de la surface foliaire atteinte (infection légère, 25%) ;
- d) Jusqu'à la moitié de la surface foliaire atteinte (infection modérée, de 26 à 50%) ;
- e) Jusqu'à  $\frac{3}{4}$  de la surface foliaire atteinte (infection grave, de 50 à 75%) ;
- f) Le  $\frac{3}{4}$  de la surface foliaire atteinte (infection très sévère,  $>75\%$ ).

### 4- Analyse statistique des données

Les données collectées vont permettre de calculer le pourcentage d'infection des feuilles atteintes échantillonnées. Sur la base de ces données collectées, nous avons évalué le nombre des régions prospectées par rapport au nombre de fiche d'enquêtes collectés par campagne. Nous avons fait ressortir le degré de sensibilité des cultivars vis-à-vis de la tavelure.

Les données exprimées en pourcentage de feuilles infectées (infection latente et infection visible), permettent d'évaluer l'importance de la tavelure au niveau des régions prospectées. Toutes les données ont été soumises à l'analyse de la variance (ANOVA). Les différences significatives entre les traitements ont été évaluées d'après le test de Tukey HSD à  $P < 0,05$ .

## II- RESULTATS

### 1- Enquête sur la tavelure de l'olivier en Algérie

En se basant sur un diagnostic symptomatologique effectué lors des prospections réalisées dans les différentes régions oléicoles, nous avons pu dresser une carte de distribution de cette maladie fongique en Algérie. Comme souligné précédemment, la maladie se traduit par l'apparition de tâches circulaires sur la face supérieure des feuilles (Fig. 3, 4 et 5). Selon l'intensité de l'agressivité de l'agent pathogène, les branches atteintes perdent leurs feuilles jusqu'à la défoliation de l'arbre (Fig. 6). Notons que la présence de la maladie a été également observée sur les rejets développés au niveau de la base de l'arbre atteint (Fig. 7).

L'intensité de la maladie diminue jusqu'à s'arrêter en été, à partir des mois de juillet et août lorsque les températures sont élevées et les précipitations enregistrées très faibles. Les symptômes de ce pathogène se présentent sous forme de nécroses (Fig. 8). Les mois de septembre à décembre et de janvier à avril sont pluvieux et ont des températures relativement basses entre 17 à 25°C, propices au développement du pathogène (Fig. 9, 10 et 11).



**Figure 3 :** Symptômes typiques de la tavelure causée par *Venturia oleaginea* de l'olivier dans les régions de l'Ouest (à droite) et du Centre (à gauche) du pays ; variété « Sigoise ».



**Figure 4:** Feuilles d'oliviers atteintes par la tavelure.

**a:** Tâches circulaires entourées d'un halo jaune ou vert pâle ;

**b:** Chloroses des feuilles atteintes ;

**c:** Des nécroses et libération des conidies (stade avancé de la maladie).



**Figure 5 :** Symptômes typiques de la tavelure de l'olivier sur les variétés Syriennes à BirTouta (Alger). **a :** Variété Khodeiri ; **b :** Variété Sorani; **c:** Variété Terrella; **d:** Variété Zaiti.



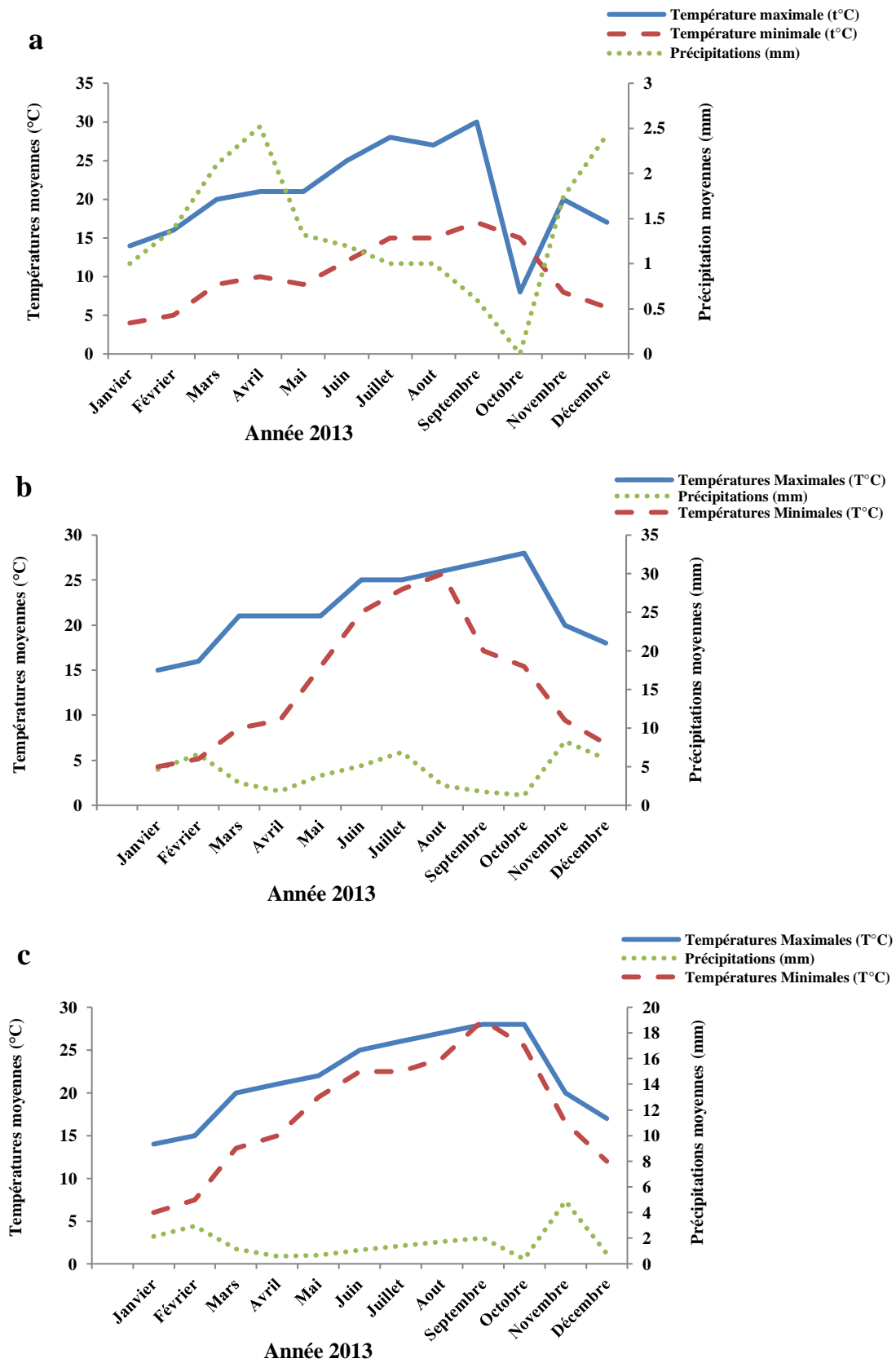
**Figure 6:** Symptômes typiques de la tavelure de l'olivier à Baraki (Alger). **a :** Défoliation de l'arbre ; **b :** Feuilles atteintes ; **c :** Branches atteintes.



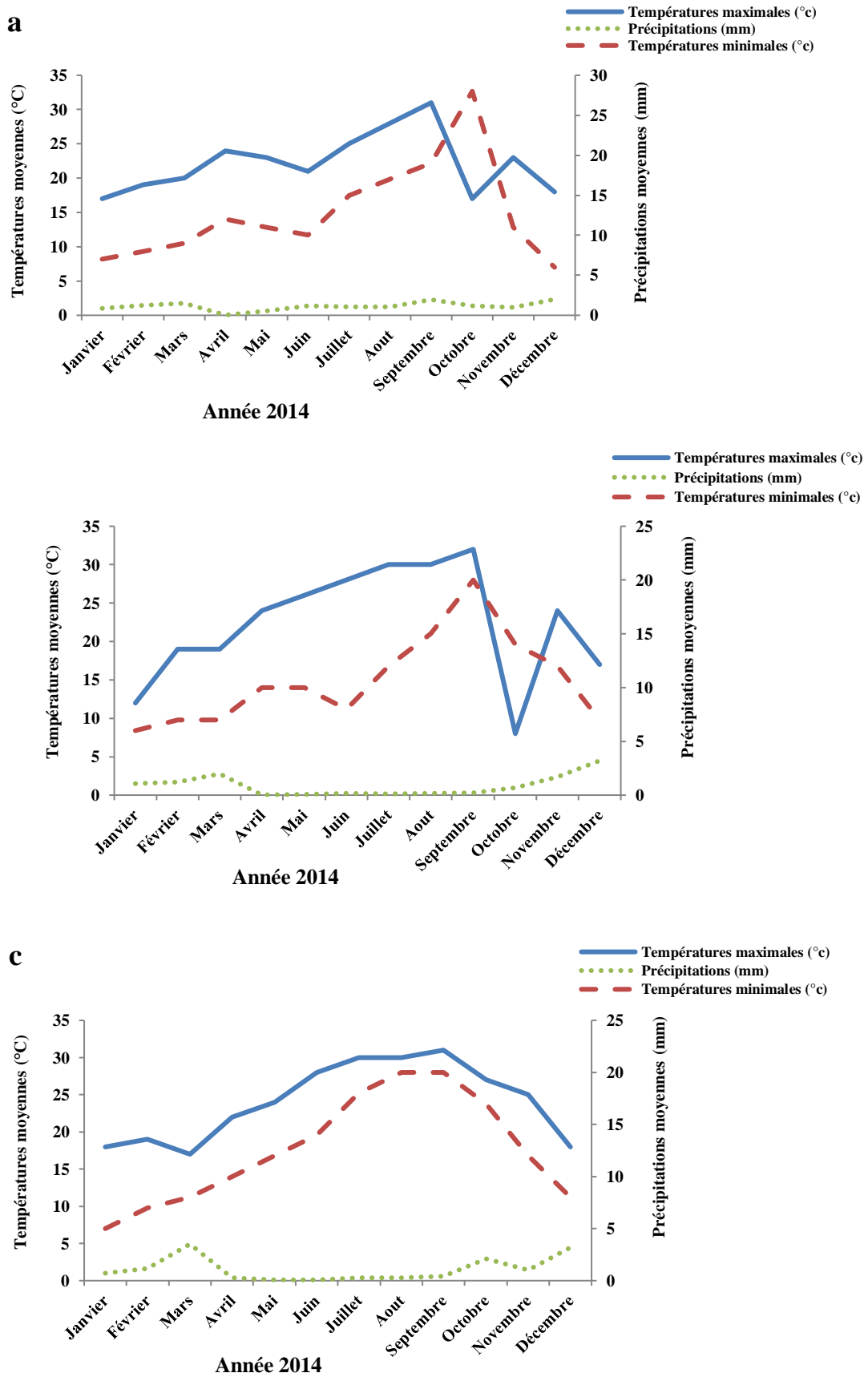
**Figure 7:** Présence de la tavelure sur les rejets développés sur le tronc et/ou à proximité d'un arbre d'olivier atteint. **a :** Site de Bentalha à Alger, variété Chemlal. **b :** Site de Tessala El Merdja à Alger, variété Sigoise.

**Figure 8:** Symptômes de la tavelure sur feuilles d'oliviers, sous forme des nécroses, prélevées durant la période d'été au niveau de la région du Centre, sur variété «Sigoise ».

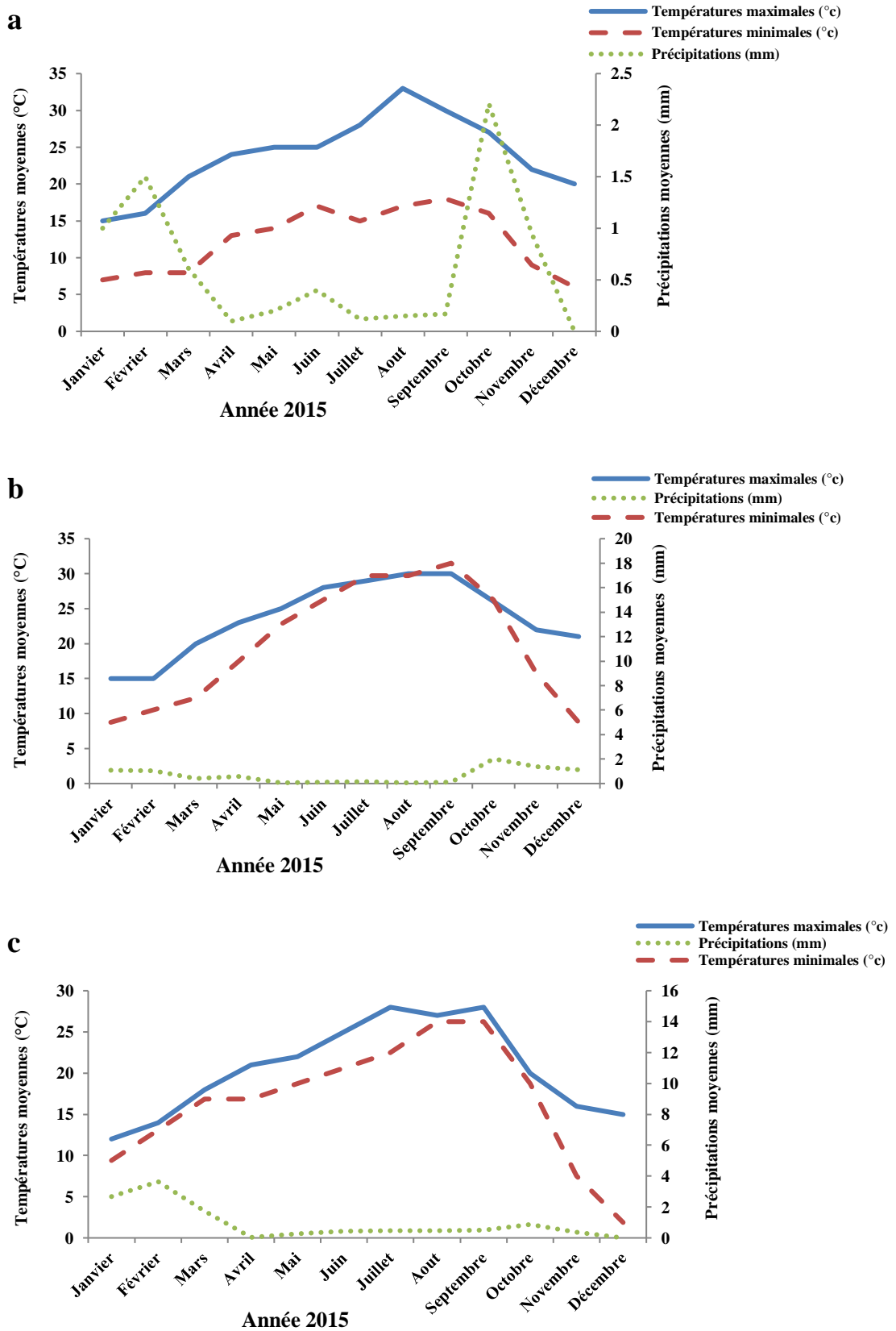




**Figure 9 :** Données météorologiques durant la campagne 2013.  
**a :** Les régions d'Ouest ; **b :** Les régions du Centre ; **c :** Les régions de l'Est.

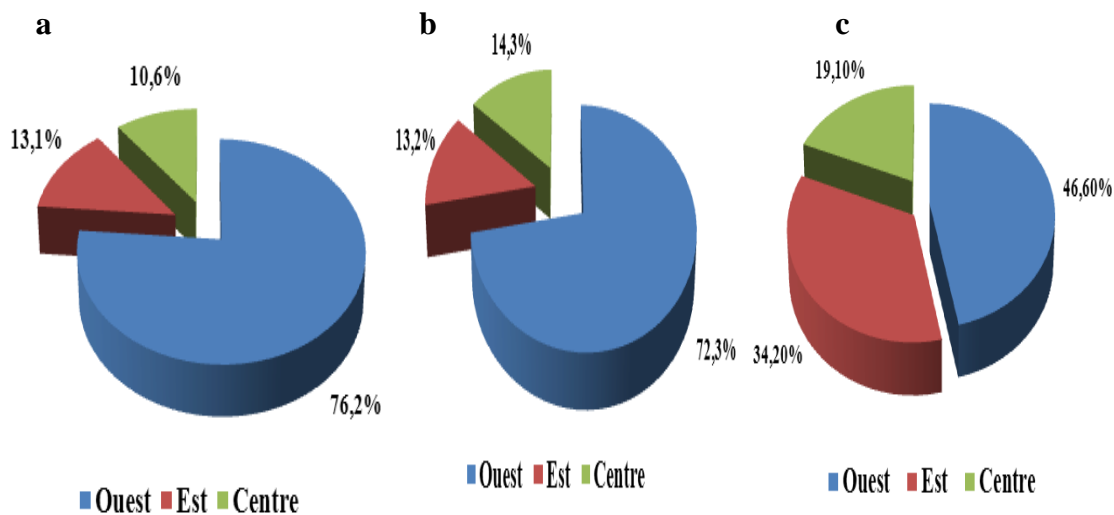


**Figure 10 :** Données météorologiques durant la campagne 2014.  
**a :** Les régions d’Ouest ; **b :** Les régions du Centre ; **c :** Les régions de l’Est.



**Figure 11 :** Données météorologiques durant la campagne 2015.  
**a :** Les régions d’Ouest ; **b :** Les régions du Centre ; **c :** Les régions de l’Est.

Plusieurs données ont été collectées lors des enquêtes réalisées sur la présence de cette maladie au niveau des vergers d'olivier. Parmi ces plantations, nous avons des jeunes de moins de 10 ans et des vergers âgés de plus de 50 ans. Les principales variétés cultivées sont la Sigoise et très peu de Chemlal à l'Ouest. La Chemlal, Sigoise, Azerradj, Limli, Cœur de bœuf, Khodeiri, Sorani, Zaiti, Boungueurgueb et Terrella au Centre et Arbequina, Frantoi, Sylviane, Blanquette, Rougette et Manzanilla à l'Est. Les superficies des vergers prospectés varient entre 0,25 ha et plus de 20 ha ; leurs caractéristiques sont détaillées dans l'annexe 3. Pendant les trois campagnes, un nombre important de vergers a été prospecté dont la majorité est située dans les régions de l'Ouest, de l'Est et du Centre du pays (Fig. 12a, b et c).



**Figure 12:** Spectre de répartition du nombre des vergers oléicoles prospectés par région (Est, Ouest et Centre) durant les 3 campagnes.  
**a :** 2013 ; **b :** 2014 ; **c :** 2015.

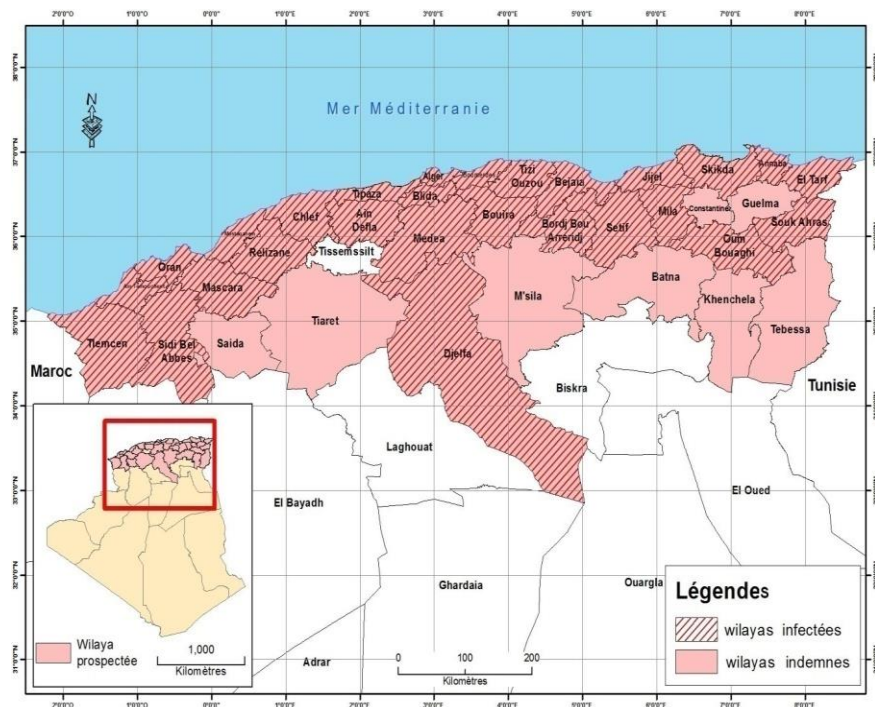
Sur les 35 wilayas oléicoles prospectées, un total de 1696 fiches d'enquête (une fiche par verger) a été récupérée pour les trois campagnes 2013, 2014 et 2015. Ces fiches représentent 514 communes (Tab. 7). La légère baisse du taux des vergers prospectés en 2013 et 2014, s'explique par le nombre de fiches collectées n'ayant pas inclus la période d'été par rapport au nombre important des vergers prospectés en 2015.

**Tableau 7:** Nombre de fiches collectées durant les trois campagnes (2013, 2014 et 2015).

Campagnes	Nombre de Wilayas enquêtées	Nombre de Communes enquêtées	Nombre de vergers prospectés
<b>2013</b>	28	206	517
<b>2014</b>	28	162	452
<b>2015</b>	33	146	727
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>514</b>	<b>1696</b>

## 2- Évaluation du taux d'infection des vergers oléicoles

Sur les 35 wilayas enquêtées, 27 wilayas (Relizane, Mostaganem, Oran, Chlef, Tlemcen, Sidi Bel Abbès, Ain Témouchent, Mascara, Blida, Médéa, Tizi Ouzou, Tipaza, Alger, Boumerdes, Bejaïa, Bouira, Souk Ahres, Annaba, Sétif, El Tarf, Mila, Skikda, Bordj Bou Arriradj, Oum El Bouaghi, Jijel, Djelfa et Ain Defla) ont révélé la présence de la tavelure au niveau des jeunes plantations et des vergers âgés (Fig. 13). Un nombre élevé de communes a été prospecté à travers le territoire national (annexe 4).



**Figure 13:** Wilayas oléicoles infectées par la tavelure (Campagnes 2013, 2014, 2015).

Les résultats consignés dans le tableau 8 permettent de constater un grand nombre soit 1163 vergers d'olivier affectés par la présence de la tavelure par rapport au nombre total de vergers prospectés, soit un taux de 68,6%. Notons cependant une légère diminution du taux des vergers atteints soit 56% en 2015. Il y a lieu de signaler que le nombre de fiches collectées durant cette année étaient plus élevé par rapport aux campagnes précédentes. L'examen des résultats mentionnés dans le tableau 8 montrent que le nombre de vergers atteints est variable :

- D'une campagne à l'autre, passant d'un taux plus élevé (81%) en 2013 à un taux de 75% en 2014 et à moins de 60% en 2015, par rapport au nombre total de vergers oléicoles prospectés par campagne ;
- D'une région à l'autre, il apparait que les régions les plus touchées sont celles de l'Ouest, le taux est >70%, suivi par les régions du Centre, qui ont enregistré un taux moins élevé de 50%, alors que dans l'Est, l'infection est très faible variant entre 4 et 10% ;
- Le Sud du pays, est pour le moment considéré comme indemne de cette maladie.

**Tableau 8 :** Nombre de vergers oléicoles atteints (Campagnes 2013, 2014, 2015).

Campagnes	Nombre de wilayas atteintes	Nombre de communes atteintes	Nombre de vergers atteints	Taux d'infection (%)
<b>2013</b>	17	109	418	81
<b>2014</b>	19	93	337	74,6
<b>2015</b>	26	103	408	56,1
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>305</b>	<b>1163</b>	<b>68,6</b>

### 3- Distribution de la tavelure par campagne

Selon les résultats d'enquête obtenus durant les trois campagnes 2013, 2014 et 2015, nous avons un total de 1163 vergers d'olivier qui montrent la présence de la tavelure. Ces résultats sont illustrés par les figures 14a, b et c.

### 3.1- Campagne 2013

Un total de 206 communes ont fait l'objet d'une enquête sur l'apparition des symptômes de la tavelure, durant la campagne 2013. 418 vergers sont déclarés attaqués par ce pathogène, soit un taux de 81%. Les régions de l'Ouest sont les plus touchées avec un taux de 87,8% ; les wilayas de Mostaganem et Relizane enregistrent les taux les plus élevés par rapport aux autres wilayas (Chlef, Oran et Tlemcen). Dans les régions prospectées du Centre, le taux est de 8,6% le plus élevé est noté surtout dans la région de Kabylie, dans les wilayas de Tizi-Ouzou et Boumerdes. Dans les régions de l'Est, un taux d'infection très faible par rapport aux années précédentes a été relevé, il est de l'ordre de 3,6% (Fig. 14a).

A l'Est du pays, nos prospections ont permis de constater la présence de la maladie au niveau des oliveraies situées principalement dans les wilayas de Souk-Ahras et Skikda.

### 3.2- Campagne 2014

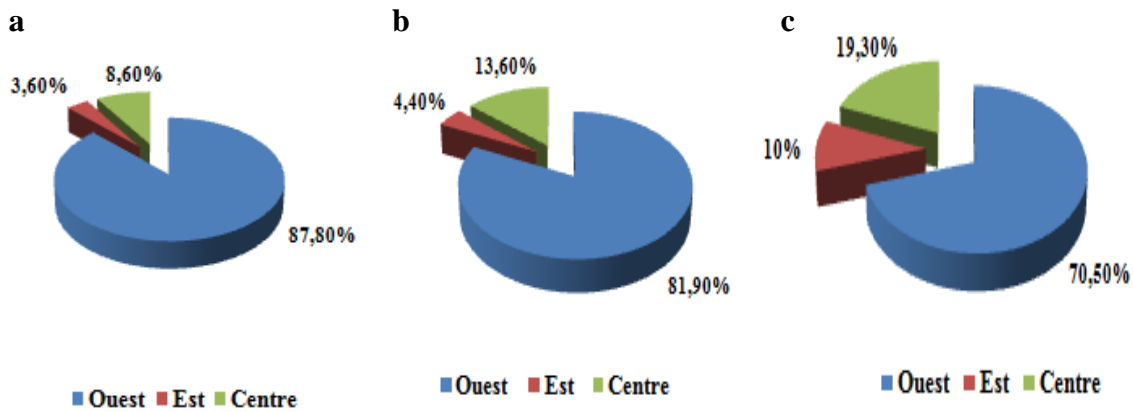
Nous avons relevé durant la campagne 2014 une diminution importante des taux d'attaques par rapport à l'année précédente, de l'ordre de 74,6% représentant 337 vergers atteints répartis sur 93 communes ; soit un nombre plus faible que celui de la campagne 2013. Les régions de l'Ouest enregistrent un taux légèrement plus élevé soit 81,9%. Les wilayas les plus touchées sont : Mostaganem, Relizane, Sidi Bel Abbés et Mascara par rapport aux autres wilayas Tlemcen, Oran, Chlef et Ain Defla. Ce pourcentage élevé s'explique par l'utilisation d'une seule variété « Sigoise » qui semble être sensible à la maladie dans la majorité des wilayas de l'Ouest.

Les wilayas du Centre enregistrent un taux de 13,6% parmi lesquels Tizi-Ouzou et Bejaïa enregistrent toujours les taux les plus élevés par rapport aux autres wilayas. Cela est dû à la présence de vergers dans les zones montagneuses sur les terres accidentées de la région Kabylie, où l'autoconsommation est privilégiée (Nouad, 2004). Lors de nos prospections, nous avons constaté des vergers non irrigués, notamment des plantations anciennes (vergers coloniaux).

Un taux très faible a été relevé dans les wilayas de l'Est. Il est de l'ordre de 4,4%, ainsi les wilayas de Skikda et Annaba ont enregistré les taux les plus élevés par rapport aux autres wilayas, comme Sétif et El Tarf (Fig. 14b).

### 3.3- Campagne 2015

Les vergers atteints sont au nombre de 408, soit un taux de 56,2% ; en de ça de celui de la campagne 2013, mais plus élevé que celui de la campagne 2014. Sur les 103 communes contaminées, les wilayas de Tlemcen, Relizane, Mostaganem, Mascara, Ain Temouchent et Oran sont les plus touchées. Durant cette campagne, les régions de l'Ouest enregistrent un taux plus élevé 70,5% et un taux de 19,3% a été enregistré dans le Centre du pays où les régions les plus touchées sont Bejaia, Tizi-Ouzou, Boumerdes, Blida et Alger. Les wilayas de l'Est semblent les moins touchées, de l'ordre de 10% ; les wilayas de Jijel, Mila, Oum El Bouaghi, El Tarf et Skikda enregistrent les taux les plus forts (Fig. 14c).



**Figure 14 :** Répartition du taux d'infection des vergers atteints par région (Campagne 2013a, 2014b et 2015c).

### 4- Evaluation de l'incidence et de la sévérité de la tavelure dans les régions atteintes

Les infections visibles et les infection latentes ont été étudiées sur un total de 2 326 000 feuilles prises au hasard au niveau de 1163 vergers atteints pendant les trois campagnes 2013, 2014 et 2015, afin d'évaluer l'incidence et la sévérité de la maladie (Tab. 9).

**Tableau 9 :** Nombre de feuilles prélevées au hasard au niveau des vergers atteints durant les 3 campagnes.

Campagnes	Nombre de vergers atteints	Nombre d'échantillons collectés	Nombre de feuilles prélevées
<b>2013</b>	418/8360 arbres	6 688	836 000
<b>2014</b>	337/6740 arbres	5 392	674 000
<b>2015</b>	408/8160 arbres	6 528	816 000
<b>Total</b>	<b>1163/23 260 arbres</b>	<b>18 608</b>	<b>2 326 000</b>

Les résultats présentés dans le tableau 10 montrent qu'au cours des trois campagnes (2013, 2014 et 2015), des échantillons ont été prélevés sur un total de 23 260 oliviers et 2 326 000 feuilles symptomatiques ou asymptomatiques ont été récoltées pour évaluer l'incidence et la sévérité de la maladie. Au laboratoire, sur la base des observations macroscopiques, nous avons un total de 1 066 180 feuilles qui présentent des symptômes typiques de la tavelure.

La maladie a été détectée sur un total de 1 259 820 feuilles latentes, sur la base de la réaction d'une solution d'hydroxyde de sodium, des lésions visibles sont apparues sous formes de taches noires sur la majorité des feuilles analysées, soit un total de 895 536 feuilles atteintes (Fig. 15). Ces tâches noires sont dues à la réaction de la solution alcaline avec des composés phénoliques produite sur le site de pénétration de l'agent pathogène (Benitez et al. 2005) ; une oxydation de ces composés qui se sont accumulés sur la lésion entraîne une infection visible (Roca et al. 2007). Quelques 364 284 feuilles se sont avérées saines.



**Figure 15 :** Lésions visibles après 20 minutes de trempage dans une solution De NaOH à 5% (Méthode de Soude).

**Tableau 10 :** Résultats des infections visibles et les infections latentes enregistrées par la méthode de Soude (solution de NaOH à 5%).

Campagnes	Nombre de feuilles collectées		Nombre de feuilles testées (méthode de Soude)	Feuilles saines
	Feuilles symptomatiques	Feuilles asymptomatiques		
<b>2013</b>	364 300	471 700	387 648	84 052
<b>2014</b>	297120	376 880	225 864	151 016
<b>2015</b>	404 760	411 240	282 024	129 216
<b>Total</b>	<b>1 066180</b>	<b>1 259 820</b>	<b>895 536</b>	<b>364 284</b>

### 5- Analyse statistiques des résultats

L'analyse de la variance basée sur le test ANOVA met en évidence des différences très hautement significative de la variation de l'incidence et de la sévérité selon les différentes wilayas enquêtées lors des trois campagnes, avec des valeurs de probabilité inférieures de 1‰ (P = 0,000 ; P < 1‰, Tableau 11).

**Tableau 11:** Résultats d'analyse statistique de la variation de l'incidence et de la sévérité pour les différentes wilayas enquêtées (Campagnes 2013, 2014 et 2015).

Campagnes	Facteurs	Somme des carrés	d.d.l.	Carrés moyens	F-ratio	P
<b>2013</b>	Wilayas	6586.994	16	411.687	5.948	0.000
<b>2014</b>	Wilayas	5536.402	18	307.578	6.947	0.000
<b>2015</b>	Wilayas	9633.280	22	437.876	10.682	0.000

Une analyse par GLM (Generalized Linear Models) a été utilisée pour montrer les variations au niveau des différentes wilayas oléicoles du pays. Les données recueillies pendant toutes les périodes d'enquête ont été classées dans les catégories spécifiques selon le modèle de Cyril Msimango Zakhele (2015). Les résultats obtenus sont présentés dans six graphiques (Figures 16a, 16b et 16c) avec des taux d'infection qui varient d'une campagne à une autre :

#### ❖ **Durant la campagne 2013**

En 2013, l'étude a confirmé une variation de la maladie de la tavelure nettement remarquable entre les wilayas ( $F=5,95; df=16$  ;  $P<0,000$  en 2013), les régions de l'Ouest du pays ont enregistré les plus hauts niveaux d'infection (catégorie  $\geq 50\%$ ), elle a touchée toutes les régions oléicoles prospectées (Mostaganem, Rélizane, Oran, Tlemcen, Ain Témouchent, Sidi Bel Abbès, Chlef et Mascara) avec une moyenne respective de l'incidence et de la sévérité de la maladie (44,92% et 46,37%).

Pour les régions du Centre, il a été enregistré une moyenne de 37,96% et 60,41% de l'incidence et de la sévérité de la maladie. Les wilayas de Blida, Alger et Boumerdes étaient significativement infectées (catégorie e) que celles de Bejaia, Médéa et Tizi Ouzou qui ont des niveaux d'infection moyennement importants (catégorie d). Dans les régions de l'Est, notamment Souk Ahras, Skikda et Annaba, elles avaient des niveaux d'infection modérés (catégorie b ; Fig.16a).

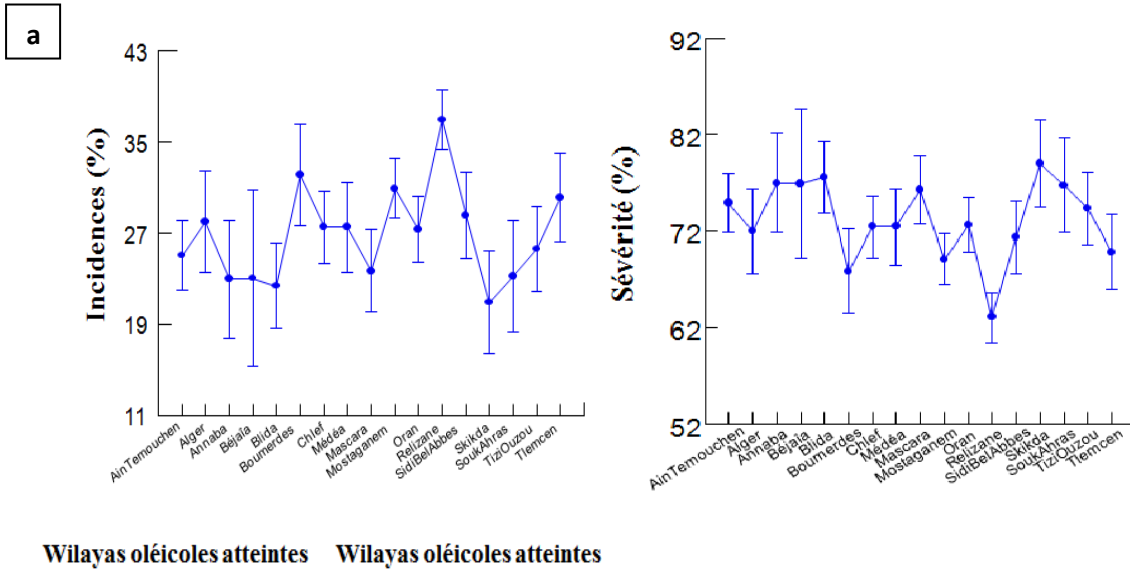
#### ❖ **Durant la campagne 2014**

Durant cette campagne, l'incidence de la maladie pour les régions de l'Ouest, l'Est et le Centre du pays avaient les plus hauts niveaux d'infection (45,74% ; 28,27% et 39,27%) par rapport à la campagne précédente ( $F=6,95$  ;  $df=18$  ;  $P<0,000$  en 2014) ; elle a été enregistrée dans toutes les régions oléicoles prospectées situées à l'Ouest du pays. Ain Témouchent est largement infectée (catégorie d et e), par rapport aux wilayas de Mostaganem, Rélizane, Sidi Bel Abbès, Oran, Mascara, Chlef, Ain Deflaet Tlemcen. Les autres régions du pays notamment : El Tarf, et Sétif ont enregistré un niveau d'infection  $<24\%$  entrant dans la catégorie b. Tandis que, Ain Témouchent, Blida, Boumerdes et Bejaïa avaient des niveaux d'infection plus élevés (catégorie d) (Fig. 16b).

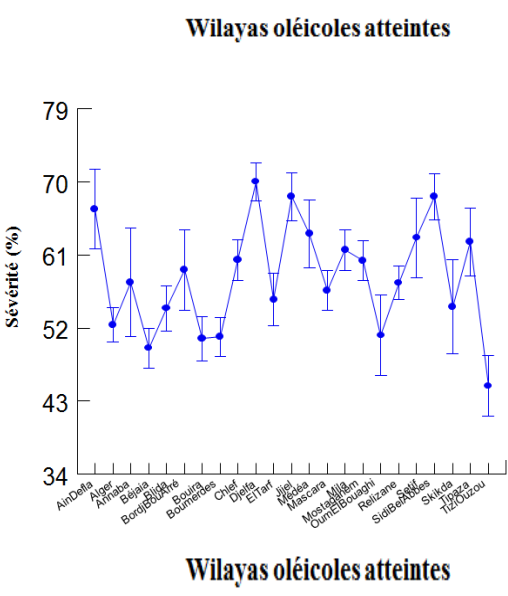
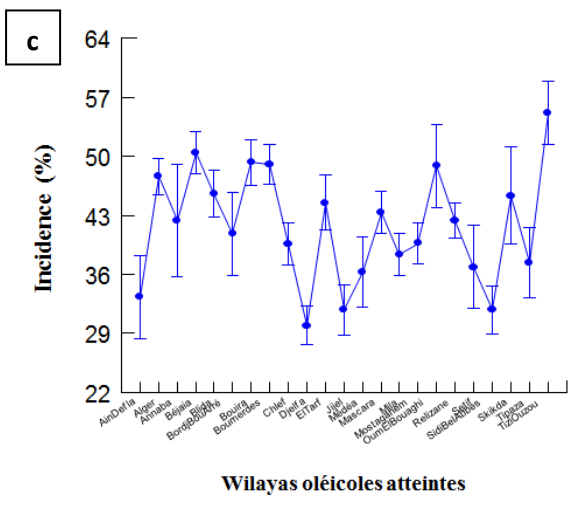
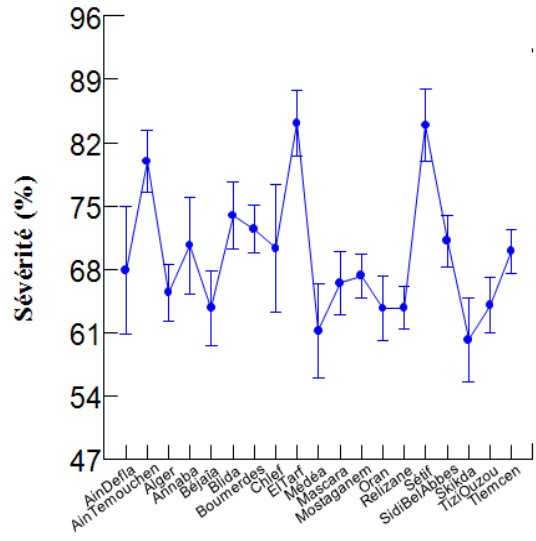
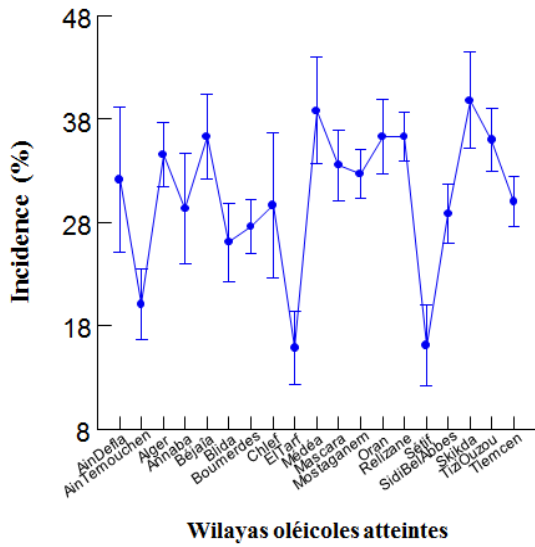
❖ **Durant la campagne 2015**

L'incidence de la maladie en 2015 était élevée pour toutes les régions oléicoles prospectées (50,06% ; 43,88% et 50,91%). Elle a montré une variation nettement remarquable de la maladie entre les wilayas oléicoles prospectées ( $F=10,68$  ;  $df=22$  ;  $P<0,000$  en 2015). Une augmentation des niveaux d'infection supérieure à 50% a été enregistrée, surtout dans les régions des wilayas de l'Ouest (Chlef, Sidi Bel Abbès, Tlemcen, Ain Defla et Djelfa) et du Centre (Tipaza, Bouira, Médéa et Blida). Il a été constaté que le développement de la maladie dans les autres wilayas (El Tarf, Bourdj Bou Arréradj, Oum El Bouaghi, Jijel, Mila et Bejaïa) avait des niveaux d'infection moins élevés (catégorie b).

Comme illustré dans la figure 16c, les wilayas de Rélizane (54,04%), Oran (53,97%), Mostaganem (51,41%), Ain Témouchent (53,05%) et Mascara (55,09%), Oum El Bouaghi (50,5%), El Tarf (51,17%) et la plupart des wilayas du Centre prospectées (Blida : 50,2% ; Alger : 51,5% ; Boumerdes : 50,35% ; TiziOuzou : 56,75% ; Bejaïa : 53,38% et Bouira : 50,91%) ont montré des taux d'incidence de la maladie les plus élevés, alors que les wilayas de Sétif, Djelfa et Jijel avaient des taux d'infection les plus faibles.



**b**



**Figure 16 :** Incidence (% d'infection) et sévérité (% d'infection) de la tavelure dans les wilayas oléicoles atteintes à l'Ouest, l'Est et au Centre du pays (campagne 2013a, 2014b et 2015c).

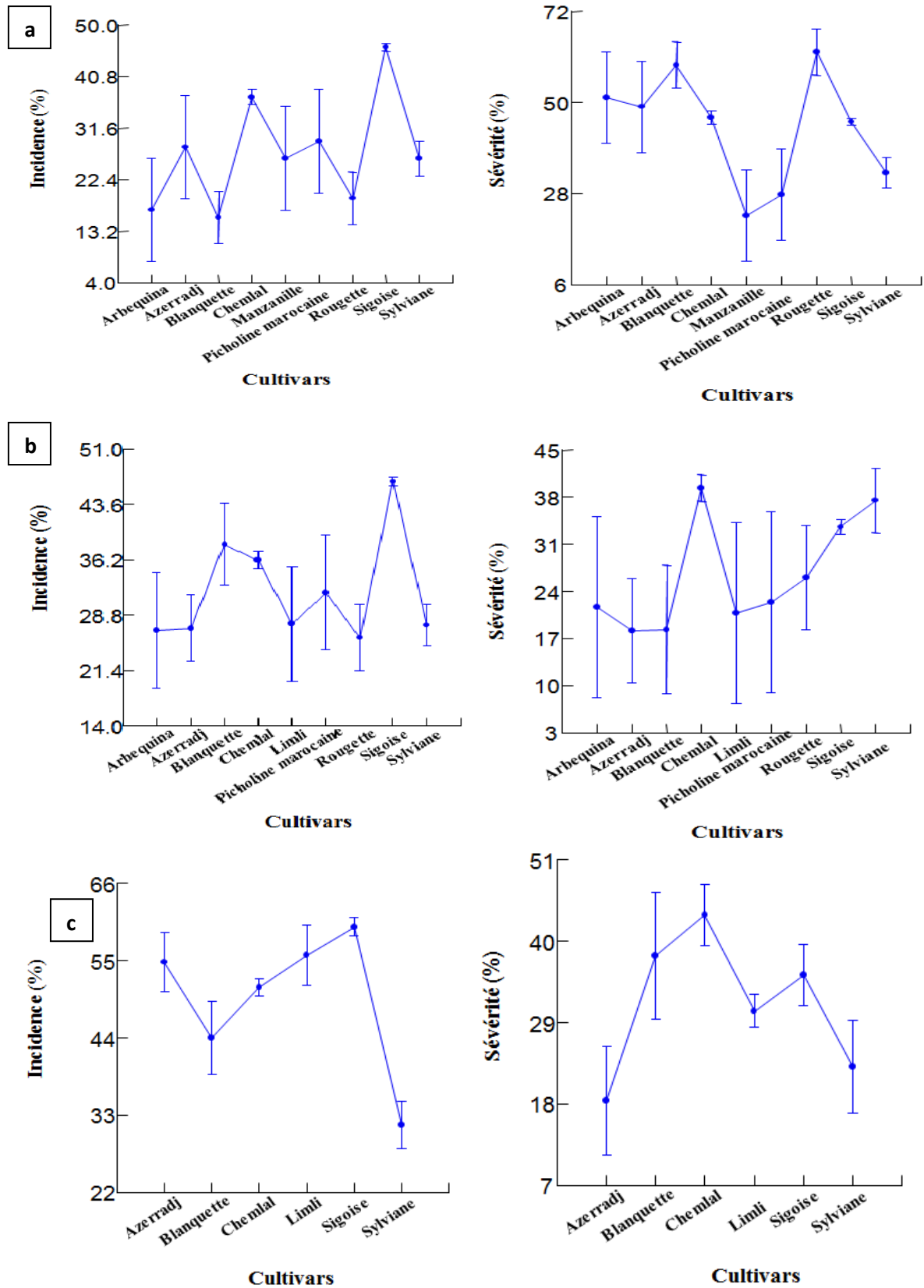
Les analyses statistiques de cette étude ont montré une variation hautement significative entre les différents cultivars pour l'incidence ( $F=19,02$ ,  $df=8$ ,  $P<0,000$  en 2013 ;  $F= 19,56$ ,  $df=8$ ,  $P<0,000$  en 2014 et  $F=29,06$ ,  $df=5$ ,  $P<0,000$  en 2015) et la sévérité ( $F=4,23$ ,  $df=8$ ,  $P<0,000$  en 2013 ;  $F= 2,27$ ,  $df=8$ ,  $P<0,000$  en 2014 et  $F=14,00$ ,  $df=5$ ,  $P<0,000$  en 2015) (Tab. 12 et 13). Selon les estimations symptomatologiques faites sur le terrain, les cultivars réagissent différemment à la maladie. Les taux d'infection de chaque cultivar sont présentés dans les figures 17a, b et c. Ces variétés présentent des attaques par *Venturia oleaginea* avec un niveau de résistance différent d'un cultivar à un autre. Les cultivars «Sigoise, Terrella, Khodeiri, Sorani et Zaiti» sont nettement les plus sensibles avaient des niveaux d'infections plus élevés par rapport au cultivar « Chemlal » qui est moyennement résistant. Tandis que Manzanille, Azerradj, Picholine marocaine, Bounguerueb, Cœur de bœuf et Limli avaient des taux d'infection inférieurs à 50%. Ils sont considérés comme semi résistants. Aucune infection n'a été enregistrée au niveau des quatre cultivars : Sylvaine, Rougette, Blanquette, Arbéquina durant la période de l'enquête ; Ils paraissent plus résistants. Il a été observé que le plus haut niveau d'infection a entraîné la défoliation des arbres. La majorité des feuilles atteintes tombe prématurément autour de l'arbre.

**Tableau 12 :** Résultats de l'incidence de la tavelure vis-à-vis des cultivars (campagnes 2013 à 2015).

Campagnes	Facteurs	Somme des carrés	d.d.l.	Carrés moyens	F-ratio	P
2013	Variétés	12919.856	8	1614.982	19.024	0.000
2014	Variétés	9153.843	8	1144.230	19.567	0.000
2015	Variétés	9495.045	5	1899.009	29.062	0.000

**Tableau 13 :** Résultats de la sévérité de la tavelure vis-à-vis des cultivars (campagnes 2013 à 2015).

Campagnes	Facteurs	Somme des carrés	d.d.l.	Carrés moyens	F-ratio	P
2013	Variétés	4077.472	8	508.684	4.237	0.000
2014	Variétés	3247.220	8	405.902	2.275	0.022
2015	Variétés	7896.043	5	1579.209	14.00	0.000



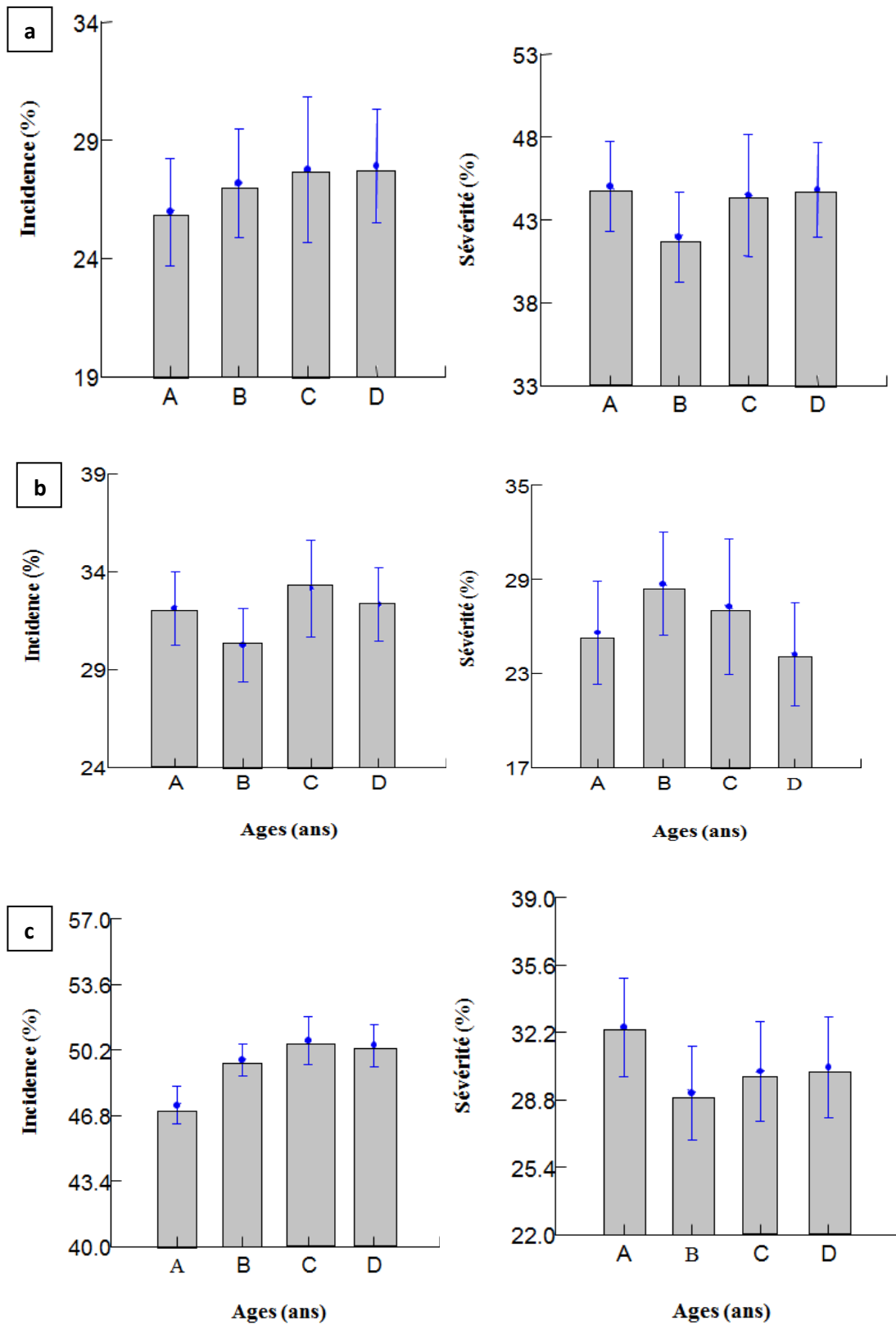
**Figure 17 :** Tolérance des cultivars à l'égard de *V. oleaginea* (Campagne 2013a, 2014b et 2015c).

L'étude a considéré l'effet de l'âge des vergers d'oliviers prospectés sur la présence du pathogène *Venturia oleaginea* parmi les principales caractéristiques des vergers étudiés. Les vergers tels qu'ils ont été choisis ne permettent pas de dégager l'influence de l'âge des vergers sur le développement de la maladie. Les résultats obtenus sont montrés par la figure 18a,b et c. Il semble que les jeunes plantations de 1 à  $\leq 30$  ans sont les plus touchées par rapport aux vergers âgés de plus de 30 ans. Donc, il est facile d'accorder une part des attaques des arbres liée à l'âge.

Nous avons essayé, dans une approche bibliographique, de faire un état des lieux en matière de travaux réalisés tant sur les aspects phytotechnique que phytosanitaire. C'est ainsi que nous avons pu lier l'attaque de la tavelure non seulement à un itinéraire technique inadapté, mais aussi au problème d'âge des vergers. Ce dernier a été comptabilisé et classé comme suit : A (1 à 10 ans), B (10 à 30 ans), C (30 à 50 ans) et D (>50 ans). Suite à l'échelle d'âge, nous avons constaté quatre (04) groupes :

- ✓ Le plus grand degré d'infection a touché les groupes A et B, soit un total de 715 vergers atteints ;
- ✓ Ensuite le groupe C, soit 100 vergers atteints ;
- ✓ Et le groupe D, soit 348 vergers atteints.

L'analyse de la variance a permis de calculer la variation de l'incidence et la sévérité de la maladie en fonction de l'âge des vergers enquêtés durant les trois campagnes. Ces résultats montrent des différences non significatives de la variation de l'incidence durant les années 2013 et 2014, avec des valeurs de probabilité supérieures à 5% ( $P=0,35$  et  $P=0,22$  ;  $P>5\%$ ). Et elle est significative durant l'année 2015 ( $P=0,02$  ;  $P<5\%$ ). Pour la sévérité, les différences sont non significatives pour les trois campagnes 2013, 2014 et 2015 respectivement ( $P= 0,127$  ;  $P<0,164$  et  $P<0,100$  ;  $P>5\%$ ) (annexe 5).



**Figure 18 :** Tolérance de *V. oleaginea* selon l'âge des vergers (Campagne 2013a, 2014b et 2015c).

### III- Discussion

Malgré sa rusticité, l'olivier connaît une flore fongique particulièrement riche et diversifiée. Certaines ont des incidences économique et agronomique importantes. C'est pourquoi une enquête a été menée à travers le territoire national sur les dégâts que peut provoquer *Venturia oleaginea*. Les objectifs assignés à cette étape étaient de réaliser le maximum de prospections au niveau des régions oléicoles du pays, afin de dresser une carte sur la distribution de cet agent pathogène. Les résultats enregistrés concernent 35 wilayas au niveau desquelles 1696 vergers oléicoles ont été enquêtés pendant les périodes recommandées par Trapero (1994) du printemps à l'automne et par Viruega et Trapero (1999) et Obanor et al. (2008a) de l'automne à l'hiver, qui considèrent que les dégâts s'observent durant ces deux périodes. Lors de notre enquête menée de 2013 à 2015, la tavelure a été recensée au niveau de 1163 vergers, soit 68,6% de l'ensemble des vergers prospectés. Ces vergers sont répartis sur 27 wilayas. Ce premier résultat confirme depuis maintenant une dizaine d'année l'importance que prend la tavelure dans toutes les régions oléicoles du monde (Lopez Dancel et al. 2000). Elle peut provoquer une sérieuse défoliation de l'arbre et en réduire par conséquent la productivité et la qualité d'huile (Mac Donald et al. 2000 ; Hacen, 2007). Cette maladie foliaire est rencontrée dans tous les pays du Bassin Méditerranéen comme l'Italie (Graniti, 1993 ; Laviola and Scarito, 1993), en Nouvelle Zélande (MacDonald et al. 2000), aux USA (Californie), en Maroc (Tajnari, 1999), en Tunisie (Karray, 2002), en Egypte (Assawah, 1967), en Syrie (Hacen, 2007) et en Algérie (Guechi and Girre, 1994a ; Guechi, 2001).

Les résultats rapportés en Algérie montrent que l'infection au niveau des vergers oléicoles diffère d'une région à l'autre et d'une campagne à une autre (Guechi and Girre, 1994a). Selon nos résultats, cette différence est due à plusieurs causes, notamment la négligence par certains agriculteurs comme par exemple au niveau de certaines régions oléicoles prospectées, vergers pratiquement abandonnés et la non maîtrise du contrôle de la maladie. Ce sont des facteurs importants qui peuvent provoquer l'augmentation du taux d'infection tel que constaté dans les régions du Centre et de l'Est. Le taux d'infection est plus important à l'Ouest du pays. Il varie entre 70 et 80%. Les taux les plus élevés sont relevés dans les régions de Relizane, Mostaganem, Sidi Bel Abbès, Oran, Tlemcen et Chlef. Cela s'explique également par la dominance d'une seule variété la « Sigoise », cultivée dans toutes les régions atteintes et qui est la plus susceptible à la maladie. L'itinéraire technique est mal respecté par la majorité des agriculteurs qui manquent de connaissances sur les effets secondaires de la négligence des pratiques culturales (travail du sol, présence des mauvaises

herbes, taille etc...) (Graniti, 1993). Au Centre, à Bejaia et Tizi-Ouzou ces taux sont compris entre 20 et 50%, alors que dans l'Est les attaques sont inférieures à 40% (Mila, Souk Ahras, Sétif, El Tarf et Bordj Bou Arreridj). Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Saad et Masri (1978) qui considèrent que les conditions climatiques chaudes et sèches inactivent ou limite la croissance de l'agent pathogène. Selon El Ahmed (1987) ; El Ahmed et Mouslili (1988 et 1989), la maladie est faiblement présente dans les régions chaudes et aérées. Ces résultats sont en désaccord avec ceux de Guechi (2001) qui note une très forte contamination dans plusieurs sites des wilayas du Centre, notamment Bejaia, Tizi-Ouzou et Bouira et de l'Est, à Sétif. Cette différence s'expliquerait probablement par plusieurs paramètres notamment :

**Les conditions climatiques favorables** (la pluie, la température et l'humidité) sont réunies pour le développement de la maladie (Sistani et al. 2009). D'après les données météorologiques (les températures moyennes annuelles entre 20 et 25°C, ainsi que les précipitations enregistrées 80-85%, pendant l'automne et l'hiver début de printemps) durant les trois campagnes 2013, 2014 et 2015 ont permis un développement intense de la maladie surtout en automne (octobre et novembre) et fin hiver début du printemps (février, mars et avril). Ces résultats sont en accord avec Obanor et al. (2008b) et Trapero et al. (2001), qui expliquent que l'infection peut survenir à deux périodes de l'année du printemps à l'automne et ou de l'automne à l'hiver. En septembre, les précipitations enregistrées sont en général faibles et les températures sont relativement élevées, au contraire les mois de décembre et de janvier sont généralement très pluvieux et les températures sont relativement basses ; L'intensité des attaques est moins importante. Nos résultats sont en accord avec ceux de : Alkhatib et al. (2010) dont les expérimentations ont montré que ces conditions limitent le développement du champignon, et celui-ci s'arrête en été en raison de température trop élevée. Et, d'après Tajnari (1999) ; Seuls les facteurs climatiques favorisent le développement de ce pathogène notamment : une température dans un intervalle de 5 à 25°C (Sistani et al. 2009) avec un optimum entre 15 à 20°C et de l'humidité avec un optimum de 80-85% (Guechi et Girre, 1994b).

Ainsi, nos enquêtes ont confirmé la présence de la tavelure durant les trois campagnes 2013 à 2015. Ces résultats sont en accord avec Ferguson et Vossen (2009) qui expliquent, que l'infection peut survenir à tout moment de l'année lorsque l'atmosphère est douce et humide. Nous avons noté qu'au printemps la tavelure apparaît importante. Ces résultats sont similaires aux travaux de certains auteurs (Gorter, 1943 ; Asawah, 1967) qui ont montré une forte

infection au printemps dans les pays d’Egypte, le Nord de l’Afrique, et s’arrête en été en raison des températures trop élevées. D’après Hacem Mahmoud (2008) *Venturia oleaginea* préfère une température optimale de 20°C.

Selon les prélèvements des données climatiques (pluviométrie et températures moyennes journalières) collectées par les stations météorologiques situées à Oran, Chlef, Dar El Beida (voir le site d’Internet : **dz.freemeteo.com**), nous avons constaté que pendant les trois campagnes 2013 à 2015, les facteurs : humidité et température étaient très favorables à la multiplication et à la propagation du champignon. Ce qui explique son apparition durant l’année. En effet, en automne les températures étaient favorables, mais le manque de pluies n’a pas permis à la maladie de se développer ; les symptômes apparaissent sous forme de taches huileuses, deviennent ensuite noires parce que l’agent pathogène a développé des conidies (Graniti, 1993). Selon Obanor et al. (2008b) et Sergeeva et al. (2009), la couleur sombre est due à la croissance de l’agent pathogène dans la cuticule des feuilles formant un stroma à partir duquel émergent les cellules conidiogènes. Par contre au printemps l’infection devient évidente, les tâches huileuses sont entourées d’un halo jaune, le centre de la lésion devient jaune et il est séparé du halo extérieur par une zone verte, en accord avec la description faite par Tajnari (1999).

Dans notre enquête sur la tavelure, il a été montré que l’incidence et la sévérité de la maladie ont été plus élevées dans les régions atteintes (à l’ouest et au centre) en raison des conditions météorologiques dans ces régions oléicoles qui étaient fraîches et humides confirmant Obanor et al. (2008a). Les fortes précipitations annuelles et les températures comprises entre 5 et 25°C en Nouvelle Zélande ont favorisé le développement de l’agent pathogène. Cet aspect a été déjà souligné par Guechi et Girre (1994b) ; Tajnari (1999) ; Sistani et al. (2009) et rapporté déjà par Assawah (1967), qui considère que la maladie apparaît en forte infection à partir de Février à Avril et devient moins importante par la suite ; ce qui explique la chute rapide des feuilles infectées pendant les mois de Mai et Juin.

Selon les données des stations météorologiques, les températures moyennes annuelles ainsi que les précipitations enregistrées au cours de ces deux périodes de l’année (automne et l’hiver) sont favorables au développement du champignon durant les trois campagnes 2013, 2014 et 2015. De ce fait, les conditions climatiques favorables agissent sur le développement de la maladie, surtout en automne (octobre et novembre) et fin de l’hiver à début du printemps (février, mars et avril).

Des recherches menées en Espagne et en Italie ont montré que les jeunes feuilles et les nouvelles pousses deviennent fréquemment un site d'infection potentiel (Viruega et Trapero, 2002). À la fin de l'hiver et au début du printemps, de nouvelles infections se développent, entraînant une abscission des feuilles en été, laissant des pousses partiellement défoliées et des feuilles saines (Obanor et al. 2008b ; 2010). Les infections entraînent une croissance végétative médiocre des nouvelles feuilles, qui servent de site d'infection lorsque les conditions sont favorables, cela entraîne un dépérissement des rameaux et un retard de maturation des fruits (Obanor et al. 2010 ; 2011). La tavelure est souvent plus sévère dans la partie inférieure des arbres lorsque la canopée est dense.

En revanche, le degré d'attaque est plus important au niveau des vergers abandonnés que des vergers entretenus. Il se traduit par la chute des feuilles fortement attaquées par *Venturia oleaginea* durant le printemps et le début d'été, alors que les feuilles faiblement attaquées persistent sur l'arbre. Ces mêmes résultats ont été également soulignés par Castellani (1952), qui rapporte que la chute des feuilles atteintes est beaucoup plus importante au printemps et début d'été qu'en toute autre période.

Concernant la biologie du pathogène Guechi et al. (1991) puis Walid et Guechi (1994) ont signalé que l'activité des conidies diffère d'une région à l'autre sous l'influence des conditions météorologiques durant toute l'année. Nos enquêtes ont confirmé que cette activité est plus intense au printemps qu'en l'automne. Ces données confirment les conclusions de Gorter (1943) ; Georgiou (1957) ; Assawah (1967) qui ont montré que la propagation de *Venturia oleaginea* est plus active et abondante au printemps et en automne ; alors que la production de conidies est limitée pendant l'été.

Cet aspect a également été étudié par Outassourt (1983), qui a mis en évidence l'effet de la température sur le pouvoir germinatif des conidies. Les résultats obtenus montrent que les taux de germination des conidies de *Venturia oleaginea* dépendent de la température et du temps, la température optimale étant comprise entre 17, 20, 23°C jusqu'à 25°C. Lorsque les températures sont trop basses ou trop élevées, les conidies entrent dans un état latent ; il a constaté que le début de la germination commence au bout d'un temps variable allant de 12 à 48 heures.

**La dominance d'une seule variété** « Sigoise » cultivée dans la majorité des régions de l'Ouest semble plus sensible au pathogène (Serhini et Zeroual, 1995). Alors que la variété

Chemlal est très peu sensible par rapport à la Sigoise. Ces résultats sont en désaccord avec ceux obtenus par Abuamsha et al. (2013) ; ils considèrent que la variété Chemlal était modérément résistante au pathogène. Par contre, les Sylvaine, Rougette, Blanquette, Azerradj et Limli montrent une faible apparition de la maladie. Elles paraissent plus résistantes et ont enregistré une incidence plus faible par rapport à toutes les autres variétés. Toutefois, le cultivar Sylvaine qui a fait l'objet d'une étude de tolérance au *Venturia oleaginea* par Cyril Msimango (2015) s'est révélé sensible.

La variété « Sigoise » semble plus sensible que la « Chemlal ». Ces résultats restent similaires à ceux de Serrhini et Zeroual (1995). Ces variétés présentent un pourcentage élevé au niveau des oliveraies de l'Ouest et sont très demandées par les oléiculteurs. Une forte attaque a été enregistrée au niveau des vergers très denses comme il a été signalé par Graniti (1993). Les autres variétés telles que Manzanilla, Sylviane, Rougette, Arbequina et Frantoi sont très peu touchées. Contrairement aux résultats obtenus par Sanei et Razavi (2011) qui expliquent, après une enquête réalisée dans les régions oléicoles en Iran que sur les dix variétés testées (Amygdalifolia, Blaidy, Koroneiki, Mary, Manzanillo, Mission, Rooghany, Valatolina, Olivier sauvage, Zard), ils montrent que la variété Manzanilla était le cultivar le plus touché, tandis Valatolina et l'olivier sauvage qui sont les cultivars d'oliviers indigènes de l'Iran (Sanei et al. 2005 ; Breton et al. 2006) ont été les moins sensibles.

Les résultats présentés dans les six graphiques obtenus par l'analyse de la variance (ANOVA) sur la tolérance des quinze variétés étudiés lors de notre enquête, ont montré une variation hautement significative entre les différents cultivars avec des valeurs de probabilité inférieures de 1‰ ( $P = 0,000$  ;  $P < 1‰$ ). L'évaluation de l'incidence et de la sévérité des cinq cultivars « Sigoise, Terrella, Khodeiri, Sorani et Zaiti » étaient significativement plus élevées en 2015 ; ces dernières semblent plus sensibles au pathogène par rapport à « Chemlal » qui est moyennement résistante. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Abuamsha et al. (2013), qui considèrent que la variété Chemlal était modérément résistante au pathogène en Palestine. La variété « Sigoise » est cultivée dans la plupart des régions oléicoles de l'Ouest, ce qui explique l'augmentation du taux d'infection dans ces régions dont la majorité des vergers atteints ont été abandonnés. Par contre, Manzanille, Azerradj, Marocain, Bounguegueb, Cœur de bœuf et Limli montrent une faible apparition de la maladie ; elles paraissent plus résistantes, puisqu'elles ont enregistré une incidence plus faible par rapport à toutes les autres variétés. Dans une étude similaire, Mekuria et al. (2001), considèrent que le cultivar « Manzanille » était moyennement résistant en Nouvelle zélande. En Californie,

Sutter (1994) a constaté que « Manzanille » était le cultivar le plus tolérant, en contradiction avec les résultats indiqués par Costa (1998) qui juge « Manzanille » comme cultivar sensible dans les conditions d’Afrique du Sud. Les variétés Sylvaine, Rougette, Blanquette, Arbéquina » étaient les cultivars les plus résistants à la maladie. Toute fois Sylvaine qui a fait l’objet d’une étude est considérée comme tolérance, par Cyril Msimango Zakhele (2015), cette variété sous les conditions d’Afrique du Sud, semble sensible. Les résultats de ces études fournissent une base de données sur la tolérance des cultivars à la tavelure et la sélection pour la production commerciales d’olives.

De même, notre enquête a révélé que d’autres variétés étrangères provenant de la Syrie (Terrella, Zaiti, Khodeiri, Sorani) et les variétés locales provenant de Cap Djinet : Bounguerueb, Limli, cœur de bœuf implantés en Algérie ont montré une très forte sensibilité vis-à-vis de la tavelure. Ces résultats confirment ceux obtenus par Graniti (1993) et Laviola and Scarito (1993) qui ont signalé que la majorité des variétés sont incapables de résister à la tavelure. Cela est dû aux mauvaises pratiques de protection phytosanitaires contre l’agent pathogène dans les délais. Cette enquête nous permet d’évaluer les variétés sensibles à la maladie par rapport aux variétés résistantes. D’après Triki et al. (2008), des études ont permis d’établir une liste des variétés selon les exigences considérées pour le développement de l’olivieraie pour différents critères :

- ✓ Précocité d’entrée en production et productivité (Koroneiki, Arbequina, Maurino, Picual, Manzanilla);
- ✓ Qualité de l’huile (Frantoio, Arbequina, Moraiolo, Picual) ;
- ✓ Résistance au froid (Nostrale di Rigali, Leccino, Orbetana, Dolce Agogia) ;
- ✓ Tolérance aux sols calcaires (Picudo, Cobrançosa, Galego, Lechín de Sevilla, Lechín de Granada, Hojiblanca) ;
- ✓ Tolérance à la salinité (Picual, Arbequina, Lechín de Sevilla, Canivano, Nevadillo) ;
- ✓ Tolérance à la tavelure (Lechín de Sevilla, Leccino, Maurino, Ascolanaterena) ;
- ✓ Tolérance au *Verticillium dahliae* (Frantoio, Arbequina, Cipressino) ;
- ✓ Tolérance au *Pseudomonas savastanoi* (Leccino, Dolce Agogia, Orbetana, Gentile di Chieti, Cordovil de Serpa, Gale vulgar, Picholine marocaine, Gordal sevillana).

**Notons également,** que d’autres conditions favorisant le développement de la maladie ont été enregistrées dans la majorité des communes prospectées : L’irrigation tardive ou carrément

absence ; l'absence de taille qui provoque le manque d'aération de l'arbre, comme déjà signalé par Trapero et Roco, (2004).

Nous tenons à préciser que la majorité des vergers atteints par la tavelure, ont un mode d'irrigation par conduite soit par séguia ou par cuvette. Beaucoup de vergers coloniaux ou plantés dans les zones montagneuses ne sont pas irrigués. Ce facteur constitue une contrainte pour les agriculteurs. Une autre remarque a été signalée est les pratiques culturales tels que : la taille, fertilisation, système d'irrigation (séguia et goutte à goutte), type de sol (sableux, argileux, limoneux, calcaire ou un complexe entre les deux types de sol) etc... (enquête personnelle). Il est à remarquer que ces paramètres n'ont aucune influence sur l'apparition de la maladie, sauf si les conditions abiotiques sont favorables. Néanmoins, l'influence de la taille a été signalée par plusieurs auteurs. D'après Argenson et al. (1999), la taille évite la présence d'un micro climat chaud et humide et diminue les possibilités de développement des conidies.

Ainsi, nos travaux ont confirmé que certains vergers fortement atteints par la tavelure ont été abandonnés par les agriculteurs, se souciant peu de leur impact sur le rendement, ainsi que sur la qualité d'huile. Ces résultats sont en accord avec ceux de Graniti, (1993) et MacDonald et al. (2000), qui rapportent qu'une forte infection par cette maladie réduit la productivité et la durée de vie d'une oliveraie.

S'agissant des résultats obtenus sur la localisation de la maladie sur les quatre points cardinaux (Nord, Sud, Est et Ouest), il n'y a aucune différence significative entre eux et n'ont aucune influence sur son intensité. Ces résultats sont en accord avec Trapero et al. (2001) ; Obanor et al. (2008b) ; et Al-khatib et al. (2010), mais en contradiction avec Tajnari (1999), qui rapportait que la face exposée au Nord est la plus attaquée avec un taux d'infection des feuilles plus élevé, suivi de l'Ouest, du Sud et de l'Est. L'intérieur de la frondaison n'est attaqué que de l'extérieur. Par contre les mêmes observations visuelles ont été notées lors des prospections concernant le bas de la frondaison qui est plus infecté que le haut. Ce comportement a été déjà signalé par Assawah en (1967) ; l'infection a été considérée comme plus virulente sur les feuilles des parties inférieures de l'arbre que les feuilles des parties supérieures. Ce cas s'expliquerait par plusieurs hypothèses, notamment les feuilles inférieures qui, à l'aide des éclaboussures d'eau, reçoivent un plus grand nombre de conidies de *Venturia oleaginea* provenant des feuilles infectées, tombées autour des arbres, d'où la partie inférieure de l'arbre souffre de défoliation, entraînant une réduction du rendement.

L'existence de *Venturia oleaginea* dans les oliveraies asymptomatiques a été confirmée par la méthode de soude. Cette technique a été déjà soulignée par Salman et al. en 2011 qui a permis de détecter l'infection latente de l'agent pathogène qui peut montrer des symptômes pendant de longues périodes. Ce type de diagnostic permet d'anticiper le contrôle de ce pathogène (utilisation de fongicides protecteurs, spécialement cupriques qui constituent une pratique habituelle dans la culture de l'olivier) avant qu'il ne provoque des dégâts graves sur l'arbre et sur la qualité d'huile (Zakhama et al. 2011). Ces résultats rejoignent ceux rapportés par plusieurs auteurs notamment, Del Rio (2003) ; Ben Tekaya and Hassouna (2005) et Wiesman (2009) qui rapportent que les oliveraies atteintes par la tavelure peuvent avoir une qualité médiocre de l'huile d'olive. Le taux d'acidité est élevé, l'odeur de l'huile est modifiée, avec une quantité de composés phénoliques très élevée donnant un goût amer des olives plus que de nature.

Les résultats de nos analyses statistiques des régions oléicoles enquêtées sont très variables d'une campagne à une autre et d'une région à l'autre, comme l'ont déjà montré Guechi et Girre (1994b). L'évaluation de l'importance de cette maladie est généralement indiquée par l'incidence et la sévérité. D'après Salman et al. (2011), la sévérité est considérée comme une indication précise de l'effet de la maladie sur la culture. Toutefois l'estimation visuelle de la gravité peut être en relation avec l'incidence de la maladie qui est plus rapide et plus objective. Par rapport au développement géographique, l'analyse de la variance basée sur le test de Tukey HSD à  $P < 0,05$  montre des différences très hautement significatives entre les wilayas atteintes par rapport aux campagnes ( $F=5,95$  ;  $df=16$ ,  $P < 0,000$  en 2013 ;  $F= 6,95$  ;  $df=18$ ,  $P < 0,000$  en 2014 et  $F=10,68$  ;  $df=22$ ,  $P < 0,000$  en 2015).

Par rapport à l'âge des plantations, le plus grand degré d'infection a été enregistré au niveau des jeunes plantations âgées de 30 ans, ensuite les vergers âgés  $>50$  ans avec un taux d'infection moins important (observation personnelle). Cette situation nous autorise à penser que l'intensité des attaques au niveau de la majorité des régions de l'Ouest peut être aussi liée au critère de l'âge des vergers prospectés.

Lors de notre enquête réalisée au niveau des différentes régions oléicoles atteintes, nous avons constaté que les feuilles faiblement atteintes (présentant les symptômes typiques de la tavelure) persistent sur l'arbre. Par contre, les feuilles fortement attaquées se détachent de l'arbre, cette dernière est considérée comme une source d'infection pour l'année prochaine. Ce constat est confirmé par l'expérience qui a été réalisée au niveau du laboratoire central de

mycologie à l'Institut National de la Protection des Végétaux. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Graniti (1993), qui a observé que toutes les feuilles infectées ne tombent pas après l'infection. Les feuilles infectées restantes deviennent une source d'infection au cours de la saison suivante. Ce pathogène peut survivre à des conditions défavorables ; c'est-à-dire un temps sec et chaud dans les feuilles mortes, ainsi que dans les feuilles infectées qui restent attachées sur l'arbre (Obanor et al. 2010).

Les feuilles mortes, tombées au sol n'ont rapidement plus de rôle épidémiologique (Guechi & Walid, 1991). Viruega et al. (2013) rapportent que les feuilles mortes et l'inoculum sont rapidement dégradés, et le transport des spores ne se fait qu'à très courte distance (moins de deux mètres). Ces auteurs montrent cependant que, sur trois campagnes, en positionnant des lames à proximité immédiate de l'inoculum, celui-ci peut rester producteur de conidies viables pendant plus de quarante jours, dans certaines conditions (5 à 25°C avec un optimum 15 à 20°C et 80-85% d'humidité). Cet inoculum pourrait donc participer à la dissémination de l'espèce. L'inoculum peut donc être estimé à tout moment en évaluant l'intensité et la fréquence des taches de la maladie.

# Chapitre II



**Étude phénotypique de *Venturia oleaginea*  
agent causal de la tavelure de l'olivier :  
Influence de la température sur son  
pouvoir germinatif.**

## **Chapitre II : Étude phénotypique de *Venturia oleaginea* agent causal de la tavelure de l'olivier : Influence de la température sur son pouvoir germinatif.**

### **Objectif**

Le but de l'étude est de mettre en évidence les symptômes typiques de la tavelure en culture *in vitro* afin de connaître les caractérisations phénotypiques de ce pathogène. Ensuite, collectez les conidies de *V. oleaginea* pour des tests expérimentaux afin de déterminer l'effet des facteurs physiologiques sur leur pouvoir germinatif.

### **I- Matériel et méthodes**

#### **1- Collecte et conservation des échantillons de feuilles d'oliviers infectées**

Les prélèvements ont été effectués sur un matériel végétal constitué de feuilles fraîchement infectées présentant les symptômes typiques de la tavelure. Ces échantillons ont été récoltés de septembre jusqu'à décembre et de février à mars à partir de différents arbres choisis au hasard, surtout au niveau des deux principales variétés d'olivier la : « Sigoise » et la « Chemlal » considérées comme les plus sensibles vis-à-vis de *V. oleaginea*, localisées dans plusieurs régions oléicoles et déclarées atteintes (chapitre I).

Les échantillons collectés sont mis dans des sachets en papier avec des étiquettes portant toutes les informations (variété, âge, site, date de prélèvement etc...). Un total de 534 échantillons ont été analysés.

Les échantillons sont transportés au laboratoire central de l'Institut National de la Protection des Végétaux. Les feuilles ont été séchées pendant quelques jours à une température ambiante (Rhouma et al. 2013), puis conservées au froid à une température de 4 à 5°C dans l'obscurité (Lopez-Doncel et al. 2000), pour subir les analyses au laboratoire.

#### **2- Isolement de l'agent pathogène**

Différentes techniques ont été réalisées en laboratoire afin de cultiver le pathogène recherché sur milieu artificiel. Nous avons procédé selon les étapes suivantes :

## 2.1- Obtention de l'inoculum en chambre humide

Cette technique consiste à déposer les feuilles d'olivier présentant les symptômes de tavelure préalablement, désinfectées à l'alcool à 75% (afin d'éliminer le maximum de saprophytes), puis déposées dans des boîtes de Pétri stériles contenant du papier Whatman imbibés d'eau distillée stérile. Ces boîtes sont ensuite incubées à 20°C (Sistani et al. 2009).

## 2.2- Mise en culture sur milieu nutritif

### 2.2.1- Feuilles atteintes

Le faible pouvoir germinatif de *V. oleaginea* sur milieux nutritifs habituels rend difficile sa culture. Il est par conséquent nécessaire d'éliminer les saprophytes pour faciliter son développement, selon la technique décrite par plusieurs auteurs (Al-Khatib et al, 2010 ; Sultana et Nwara, 2010). L'isolement du champignon est effectué à partir des feuilles présentant les symptômes typiques de la tavelure, découpées en petits fragments. Ces derniers ont subi ensuite les opérations suivantes :

- Désinfection par l'eau de javel à 2% pendant 5 minutes afin de ne pas tuer toute la flore fongique ;
- Rinçage trois fois dans l'eau distillée préalablement stérilisée. La durée de chaque bain est de 5 minutes ;
- Séchage sur du papier filtre stérile ;
- Dépôt dans des boîtes de Pétri contenant des milieux de cultures à raison de 5 fragments par boîte. La méthode de préparation du milieu est mentionnée dans l'annexe 6. Des antibiotiques ont été incorporés dans les quatre milieux nutritifs après les avoir autoclavés pour éviter et minimiser les contaminations par les saprophytes et les bactéries présentes sur les tissus frais ;
- Chaque boîte de Pétri doit porter les indications relatives au matériel végétal, sa provenance et la date de sa mise en culture ;
- Incubation à une température de 25°C pendant un à deux mois comme mentionné par Obanor et al. 2010.

### 2.2.2- Isolement par cultures monospores

**2.2.2.1-** Pour obtenir le pathogène en culture pure, des prélèvements à l'aide de scotch transparentsont effectués pour la mise en chambre humide, puis incubées à 20°C et 25°C pendant 48 à 72 heures) et transférées dans des boites de Pétri contenant le milieu à base d'extrait de feuilles d'olivier et/ou contenant le milieu PDA (Pomme de terre Dextrose Agar). Les boites contenant les cultures sporales sont incubées à l'obscurité à une température de 20 et 25°C pendant un intervalle de temps de 4 à 5 jours.

Les hyphes issus de la germination d'une culture monospore (spores uniques) sont repérés à l'aide d'une loupe binoculaire à fort grossissement, puis prélevés et déposés sur la surface du milieu de culture PDA et/ou le milieu à base d'extrait des feuilles d'olivier. Ils sont ensuite incubés à une température de 20 et 25°C (Al-Khatib et al. 2010).

**2.2.2.2-** Des feuilles infectées présentant les taches de tavelure sont mises dans des tubes à essai, contenant un volume de 10 ml d'eau distillée stérile, homogénéisés par agitation à l'aide d'un agitateur. Ensuite, un prélèvement d'une suspension sporale (conidienne) contenant plusieurs conidies de *V. oleaginea* est déposé sur la surface d'une couche fine d'eau gélosée et étalée. Les cultures sporales sont incubées à l'obscurité à une température de 20 et 25°C pendant un intervalle de temps de 4 à 5 jours.

Les hyphes issus de la germination monosporale sont repérés à l'aide d'une loupe binoculaire à fort grossissement, sont prélevés à l'aide d'un scalpel stérilisé et déposés sur la surface du milieu de culture PDA et le milieu à base d'extrait de feuilles d'olivier. Les boites sont incubées à l'obscurité et à une température de 20 à 25°C (Obanor et al. 2010).

### 3- Caractérisation morphométrique des conidies de *V. oleaginea*

La caractérisation des conidies obtenues après incubation des feuilles infectées vise à mesurer la longueur et la largeur des conidies de *V. oleaginea*. A cet effet, avant de réaliser ces mensurations, nous avons procédé à l'étalonnage du microscope à l'aide d'un micromètre. Nous avons pris les mesures sur un échantillon de 30 conidies issues des feuilles infectées prélevées au niveau des arbres situés à l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV, Alger).

#### **4- Influence des facteurs physiologiques sur la croissance du tube germinatif des conidies de *V. oleaginea***

L'étude est effectuée uniquement sur les conidies de *V. oleaginea* afin de tester l'effet de certains facteurs physiologiques (la composition du milieu de culture, la température et la lumière) sur la croissance des tubes germinatifs de VO :

##### **4.1- Influence du milieu nutritif**

Les conidies de *V. oleaginea* ont été déposées sur différents milieux nutritifs (milieux PDA, à base d'extrait de feuilles d'olivier, milieu Czapek-Dox et à base d'huile d'olive), puis incubées pendant quatre jours à l'obscurité, à 20 et 25°C (Sistani et al. 2009).

##### **4.2- Influence de la température**

Cette étude est effectuée sur la base des données bibliographiques qui rapportent l'existence de différences assez importantes en ce qui concerne l'influence de la température sur le pouvoir germinatif des conidies de *V. oleaginea*.

Il nous a paru nécessaire de vérifier l'influence de la température sur la germination des conidies de *V. oleaginea*. Il est difficile d'isoler ce pathogène en cultures *in vitro* produisant peu ou pas de conidies (Mekuria et al. 2001 ; Benitez et al. 2005 ; Friday et al. 2010 ; José et al. 2011), nous avons utilisé la technique de Scotch ou technique de la cellophane adhésive (Pilly, 2018). Cette technique nécessite le prélèvement d'un maximum de conidies de *V. oleaginea* à partir de feuilles présentant des lésions de la tavelure au niveau des oliviers gravement infectés. Cela consiste à appliquer un fragment de scotch transparent sur le tissu de la face supérieure des feuilles atteintes, puis le déposer sur une lame stérile contenant une gouttelette d'eau. Ces lames sont observées directement au microscope optique. Ensuite les fragments sont déposés sur une mince couche du milieu à base d'extrait de feuilles d'olivier, étalés et laissés quelques secondes afin de coller le maximum de conidies dans le milieu, puis on enlève le scotch. La présence des conidies est vérifiée sous microscope.

Cinq températures (18, 20, 23, 25 et 27°C) ont été testées à raison de quatre répétitions par traitement. Ensuite, les boîtes ont été incubées pendant 24, 48, 72 et 96 heures. Les mensurations du tube germinatif des conidies germées sont effectuées régulièrement sous

microscope (GX10) sur un nombre de 20 conidies germées par traitement. Le tube germinatif est mesuré à l'aide d'un micromètre.

#### **4.3- Influence de la lumière**

Cet essai est réalisé pour tester l'influence de la lumière et de l'obscurité sur la croissance du tube germinatif des conidies de *V. oleaginea*. Une série de boîte de Pétri est placée dans l'obscurité totale et une autre série est placée sous un éclairage continu. Les cultures de chaque série sont incubées pendant vingt-quatre heures, à trois et quatre jours respectivement, à une température de 20°C (Sistani et al. 2009 ; Rhouma et al. 2013).

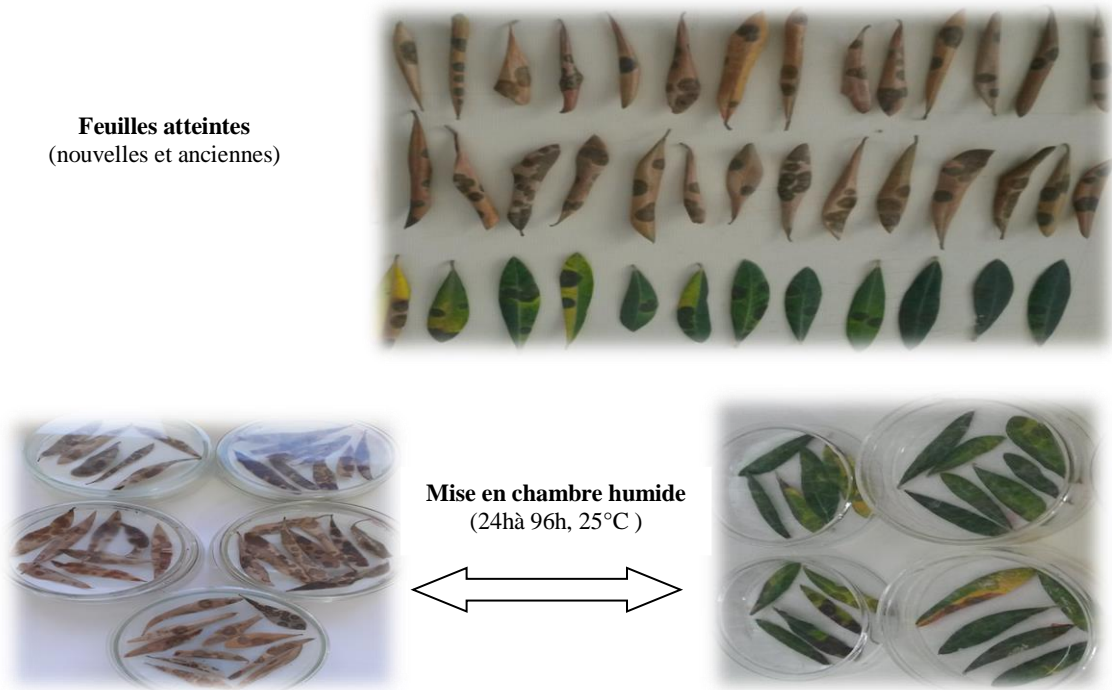
## II- Résultats

### 1- Caractérisation phénotypique de l'agent pathogène

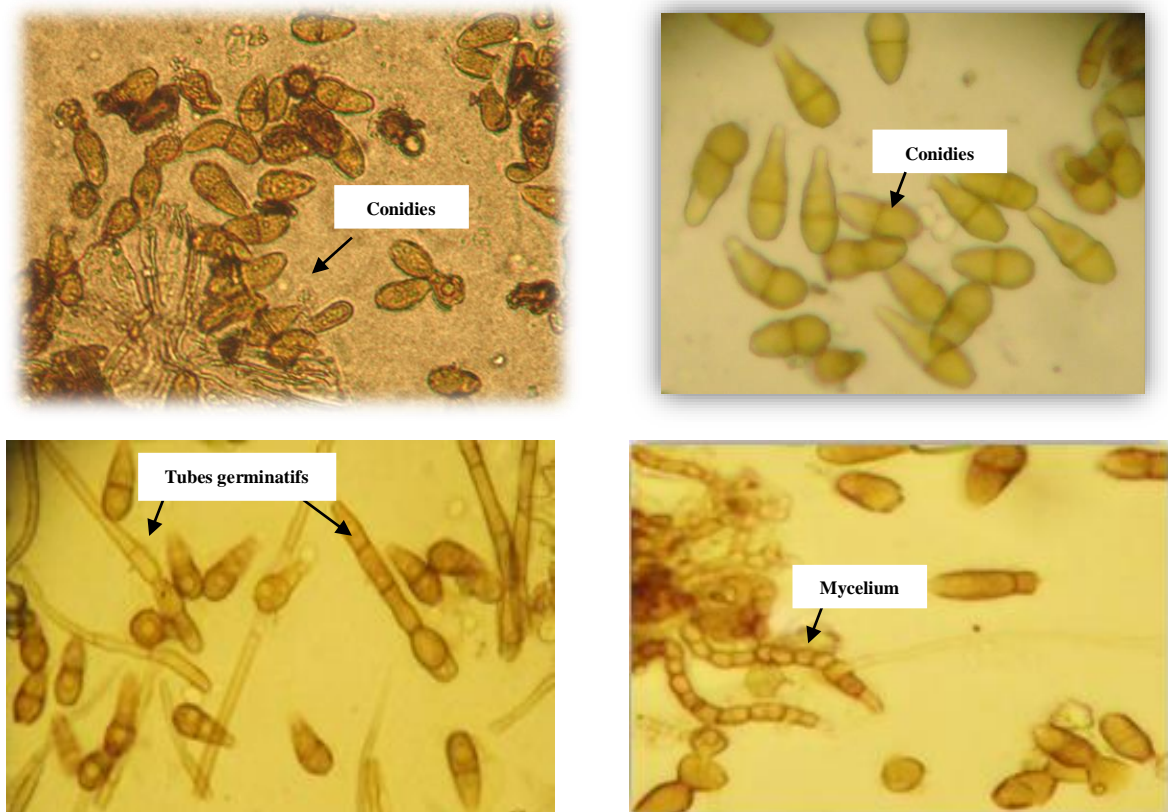
L'isolement est réalisé à partir de plusieurs échantillons présentant des symptômes typiques de la tavelure provenant de différentes régions oléicoles atteintes. Le *V. oleaginea* n'a montré aucune croissance sur les quatre milieux et sa croissance mycélienne est resté très faible ou rare pour la majorité des échantillons. Il est utile de rappeler la difficulté de cultiver *V. oleaginea* en culture *in vitro*, ce qui empêche la connaissance approfondie de la variabilité morphologique et de la pathogénicité du pathogène.

### 2- Caractérisation morphologique des conidies de *V. oleaginea*

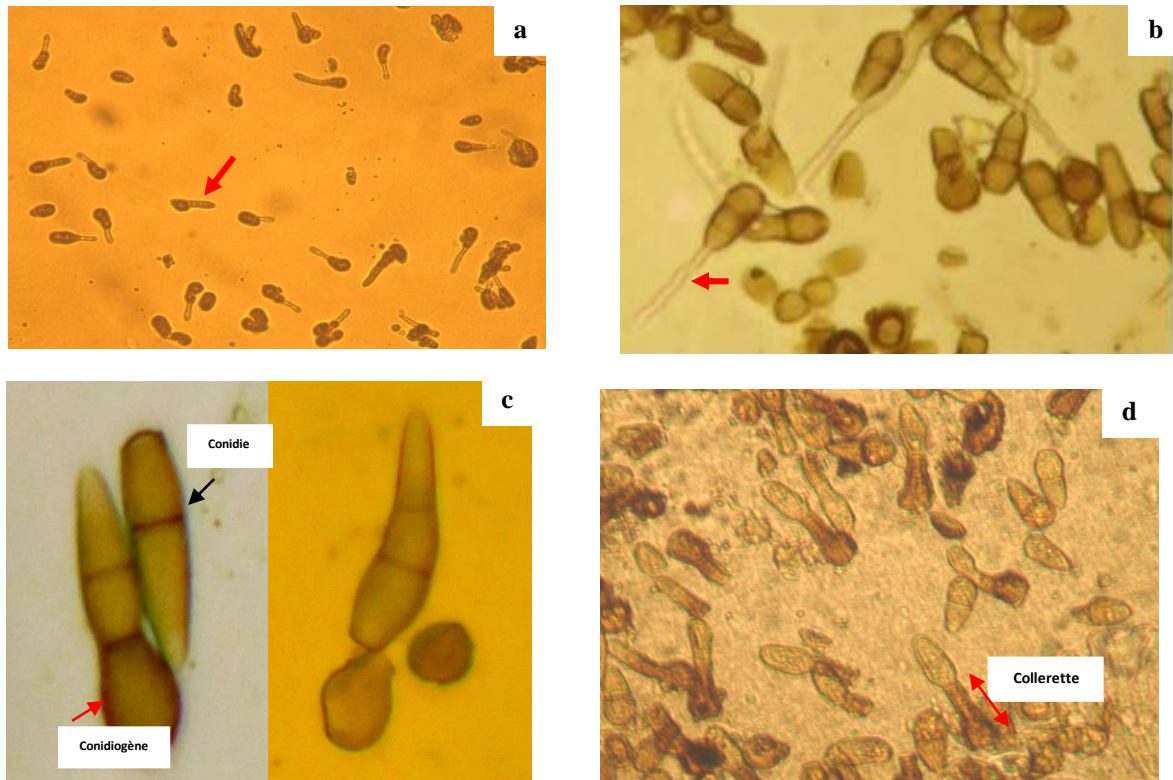
Les observations microscopiques issues d'un prélèvement classique par la technique de Scotch et/ou des feuilles d'olivier porteuses de taches de la tavelure (feuilles atteintes de l'année précédente et feuilles nouvellement atteintes) sont mises en chambre humide pendant 24 heures à 96 heures, à une température de 25°C (Fig. 19). Les lectures ont permis d'identifier et de confirmer les caractéristiques morphologiques de conidies *V. oleaginea* en se référant aux clés de détermination de Barnett et Hunter (1972). Plus tard, après la période d'incubation, le pathogène se développe sur la surface des tissus affectés formant un réseau d'hyphes (mycelium) minces, séptés (cloisonnés) de couleur plus sombre. Et lorsque les conditions *in vitro* sont favorables pour leur développement, plusieurs conidies de *V. oleaginea* observées germent donnant naissance à des tubes germinatifs bien développés, séptés, très clairs et bruns (Fig. 20 et 21a et b). Ces conidies unicellulaires (elles sont rares) ou bicellulaires sont de couleur brun clair, oblongues ou piriformes, toniques à la base, plus étroites et allongées au sommet avec une variabilité importante de leur taille, cloisonnées par des cellules dissimilaires au moment de la maturation. Les cellules de hyphes se forment isolées sur la surface des tissus affectés en conidiophores. Les futures conidiophores sont réduits en cellules conidiogènes du forme globuleuses ou phialiformes, de couleur châtaines claires, entourés avec des annélides appelées « collerettes » dues à la libération successive des conidies (Fig. 21c et d).



**Figure 19:** Observation macroscopiques des conidies de *V. oleaginea* collectées à partir des feuilles d'olivier atteintes.



**Figure 20:** Observation microscopiques des conidies de *V. oleaginea* collectées à partir des feuilles d'olivier atteintes.



**Figure 21 :** Caractérisation morphologique de conidies de *Venturia oleaginea*. **a :** Germination de conidies de V.O cultivées dans un milieu à base d'extrait des feuilles d'oliviers ; **b :** Conidies émettant des tubes germinatifs ; **c et d :** Formation de conidiogènes avec des collerettes.

### 3- Caractérisation morphométrique de l'agent pathogène

La croissance fongique monosporale des conidies de *V. oleaginea* est importante sur le milieu à base d'extrait de feuilles d'olivier. A partir des 30 répétitions réalisées pour l'estimation des dimensions micromorphométriques des conidies de *V. oleaginea*. Nous avons enregistré en moyenne les dimensions suivantes: (68 $\mu$ m-88,25 $\mu$ m X 31,75 $\mu$ m - 29,75 $\mu$ m).

### 4- Influence des facteurs physiologiques sur la croissance du tube germinatif des conidies de *V. oleaginea*

Pour ce cas, nous avons utilisé la technique de Scotch qui a permis de prélever les conidies de *V. oleaginea* à partir des feuilles atteintes présentant des symptômes typiques (cf. chapitre I). D'après notre expérience au laboratoire, cette technique est considérée comme la plus fiable par rapport aux autres ; elle nous a facilité l'identification des caractéristiques morphologiques de ce pathogène.

#### 4.1- Influence du milieu nutritif

Plusieurs milieux nutritifs (organiques et minéraux) étaient testés pour isoler ce pathogène afin de vérifier leurs influences sur la germination des conidies. Les résultats obtenus *in vitro* ont montré que le champignon n'a pas poussé sur la plupart de ces milieux alors que selon plusieurs auteurs sont considérés favorables au développement de ce dernier. Après 3 jours d'incubation, nous avons constaté à partir des spores prélevées des feuilles atteintes par la technique de scotchune meilleure croissance du tube germinatif des conidies; elle est obtenue sur les milieux PDA et à base d'extrait de feuilles d'olivier ; sur milieu Czapek-Dox la croissance est faible, voire nulle sur celui à base d'huile d'olive.

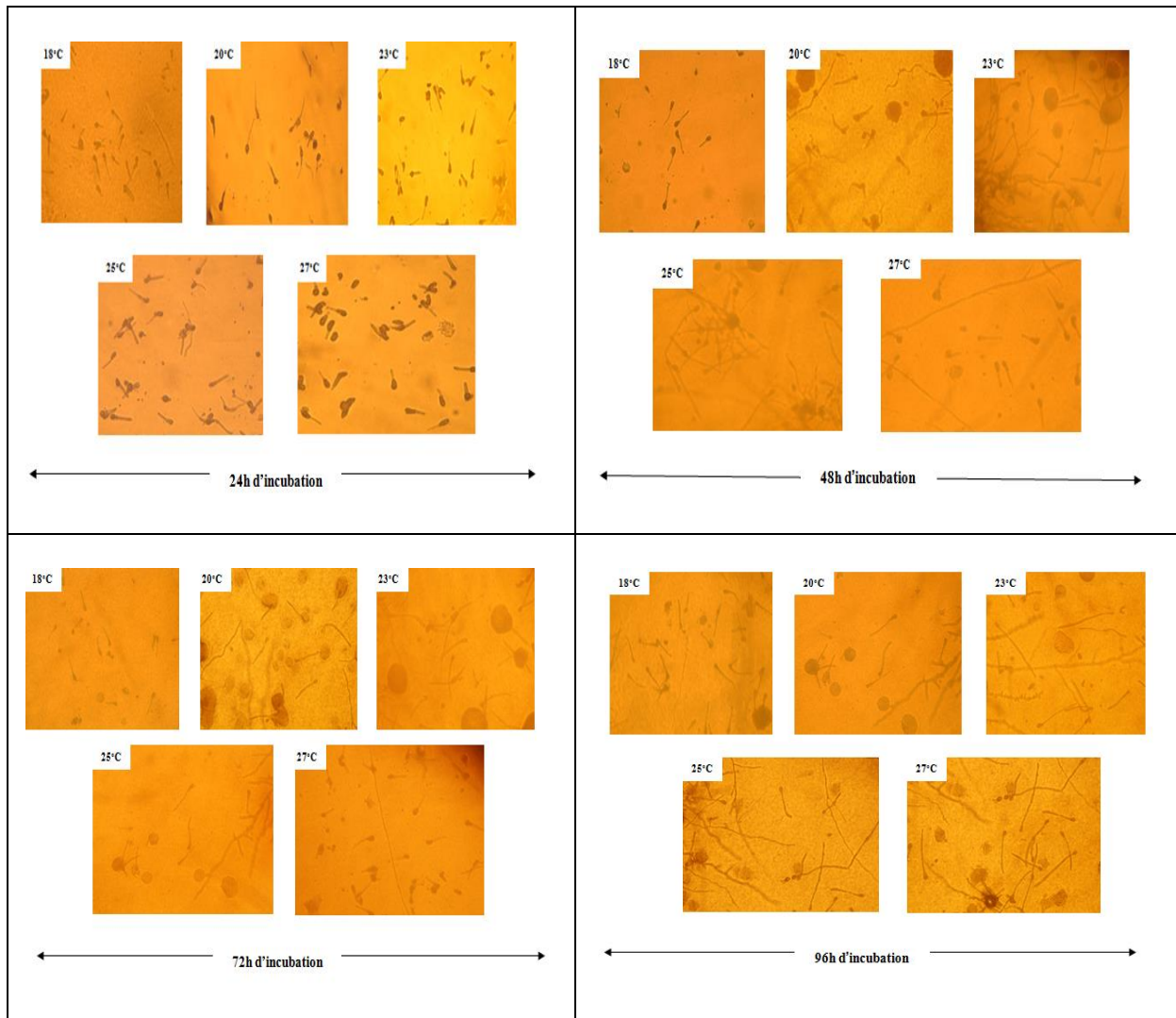
#### 4.2- Influence de la température

Les résultats obtenus *in vitro* après la période d'incubation des conidies de *V. oleaginea* sur un milieu artificiel à base d'extrait de feuilles d'olivier montrent des différences de croissance mycélienne des champignons, elles varient en fonction des températures testées (Fig. 22). La température optimale de la croissance du tube germinatif des conidies est relativement plus importante aux températures de 20 et 23°C après 72 heures d'incubation et 96 heures à 27°C. Cependant, à 18°C la croissance du tube germinatif est extrêmement lente. La plus grande vitesse de croissance du tube germinatif est obtenue à 25°C après 48 heures d'incubation.

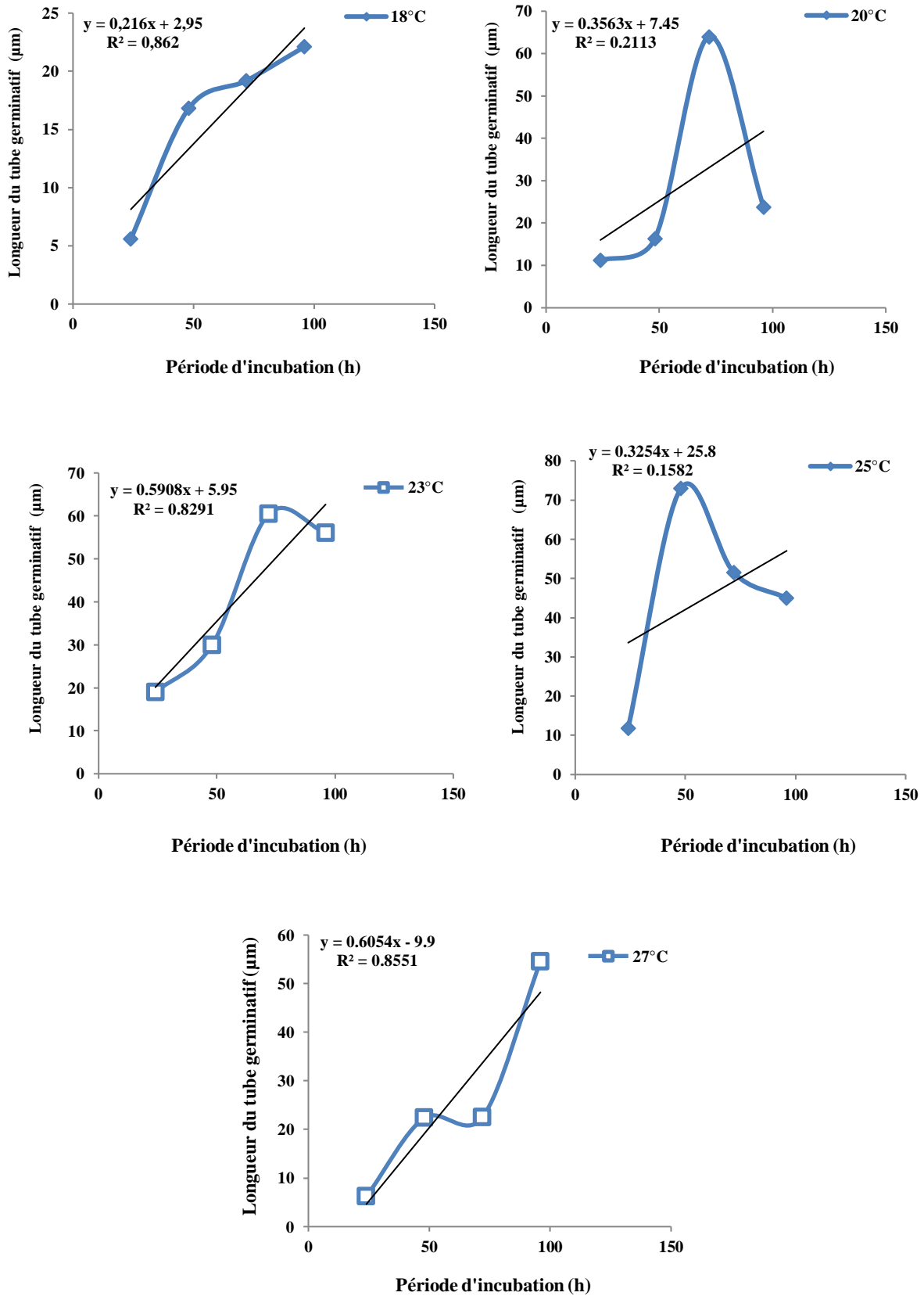
Les longueurs du tube germinatif des conidies sont mesurés en fonction de la température et du temps d'incubation (La croissance moyenne est calculée sur un nombre de 20 conidies). Les résultats obtenus sont indiqués dans la figure 23, ils montrent que les températures ont un effet capital sur le pouvoir germinatif des conidies, ainsi que la période d'incubation. La longueur du tube germinatif augmente avec l'augmentation de la période d'incubation et en fonction des températures testées. La température optimale pour la croissance du tube germinatif est située à 25°C après 48 heures d'incubation, la longueur moyenne du tube germinatif était la plus longue (73 µm). Elle est moins élevée à une température de 20°C (64 µm) et à une température de 23°C (60,5 µm) après 72 heures. Avec les autres températures testées 18°C et 27°C la longueur moyenne du tube germinatif était plus faible, elle variait entre 5,6 µm et 22,5 µm après 96 heures d'incubation.

### 4.3- Influence de la lumière

Les résultats obtenus *in vitro* n'ont montré aucune influence de la lumière sur la croissance du tube germinatif de ce pathogène. La majorité des champignons se développe et sporule mieux à l'obscurité, ce qui explique que les cultures fongiques *in vitro* sont généralement incubées dans une étuve à l'obscurité.



**Figure 22 :** Influence de la température sur la croissance du tube germinatif des conidies de *Venturia oleaginea*.



**Figure 23:** Influence de la température et de la durée d'incubation sur la croissance du tube germinatif des conidies de *Venturia oleaginea*.

### III- Discussion

En Algérie, l'olivier (*Olea europea L.*) est attaquée par la tavelure causée par *V. oleaginea*, une maladie fongique très redoutable. Elle est signalée dans 27 wilayas au niveau de 1163 sites (données personnelles), ce qui confirme depuis une dizaine d'année, le caractère émergent de cette maladie rencontrée dans tous les pays oléicoles.

Malgré la présence de symptômes typiques, *V. oleaginea* n'a pas pu être isolé à partir du végétal. Cela s'expliquerait par le faible taux de réussite des isolements des parties végétales atteintes par le faible pouvoir germinatif de ce champignon. Les isolements à différentes périodes sont nécessaires pour augmenter la probabilité d'obtenir *V. oleaginea* (Mekuria et al. 2001 ; Benitez et al. 2005). Le taux de réussite pour isoler ce pathogène durant les deux principales périodes à risques de contamination en automne (fin septembre jusqu'à décembre) et en hiver début du printemps (fin février à début avril) est trop faible et presque nulle en été (Viruega et Trapero, 1999 ; Sanei et Razavi, 2011). Ces résultats sont en accord avec ceux de Outassourt (1983), qui considère que la période printanière et automnale offrent les meilleures conditions pour isoler le pathogène à partir du végétal (feuilles).

Les résultats enregistrés indiquent la difficulté de la croissance mycelienne dans les quatre milieux (la croissance fongique est restée absente), qui ont été déjà testés par les auteurs à savoir: Assawah, 1967; Outassourt, 1983; Athéna Seyed Esmail, 2011). Ces résultats confirment ceux de Friday et al. (2010) qui expliquent l'incapacité de ce pathogène à sporuler sur les milieux de cultures, et le peu de connaissance sur la diversité génétique de l'agent pathogène. Le même résultat a été constaté avec José et al. (2011). D'après Graniti (1993), la reproduction asexuée est le principal moyen pour connaître la biologie de *V. oleaginea*, car aucun stade sexué de ce pathogène n'a été trouvé dans les oliveraies à travers le monde.

Cette étude est complétée par la collecte du maximum de conidies de *V. oleaginea* au niveau des régions oléicoles infectées afin de déterminer leurs caractérisations morphologiques et morphométriques. Sur la base des études bibliographiques, plusieurs chercheurs ont mis en évidence des caractéristiques morphologiques différentes. Nos résultats corroborent ceux de plusieurs auteurs :

- ✚ Viruega et Trapero (1999), pour qui les conidies sont oblongues ou piriformes, bruns clairs, cloisonnées par des cellules dissimilaires au moment de la maturation. Elles se forment isolées sur la surface de tissus infectés. Les conidiophores se transforment en cellules conidiogènes, sont globuleux ou phialiformes, châtain clair entourés de collerettes dues à la production successive de conidies ;
- ✚ Schubert et al. (2003), quant à eux, expliquent les caractéristiques morphologiques de *V. oleaginea* par la présence d'un conidiophore solitaire, provenant des cellules des hyphes, sub-globuleux (8-10  $\mu\text{m}$ ) ou ampulliforme (10-25  $\times$  5-7  $\mu\text{m}$ , ou jusqu'à 15  $\mu\text{m}$  de large à la base), droit, non ramifié, principalement asepté, brun moyen à foncé, plus pâle vers l'apex, parfois lisse, généralement à parois rugueuses et épaisses. Les conidiophores réduits en cellules conidiogènes, avec un seul ou rarement avec deux ou trois lociconidiogènes, prolifération percutante avec sept annellations remarquables, un loci large de 5  $\mu\text{m}$ , non épaissi, non foncé ;
- ✚ Ces suggestions ont été auparavant soulignées par Wilson et Miller en 1949.

L'observation microscopique, après les périodes d'incubation de 24, 48, 72 et 96 heures dans les différentes températures testées (18, 20, 23, 25 et 27°C) montre que la température influence significativement la croissance du tube germinatif de *V. oleaginea* (Trapero et Roca, 2004 et Sistani et al. 2009). Nos résultats ont montré un ralentissement de croissance du tube germinatif de conidies de *V. oleaginea* observé à la température de 18°C, ils sont en accord avec ce qui est rapporté par Obanor et al. (2010), qui explique que les conidies de *V. oleaginea* germent lentement à une humidité très élevée et une température qui ne dépasse pas 20°C. Ces résultats sont proches de ceux cités par Outassourt (1983), qui a suggéré que la température optimale pour la croissance de l'agent pathogène est de 20°C.

De même, nos travaux ont confirmé la remarquable optimale de ce pathogène aux températures de 20 et 23°C qui ont permis une croissance relativement importante du tube germinatif des conidies de *V. oleaginea*, avec des croissances allant de 60 et 64  $\mu\text{m}$  au cours de nos essais au laboratoire après une durée d'incubation de 72 heures. Toutefois, nous tenons à préciser que, l'effet des températures sur le pouvoir germinatif des conidies reste peu connu et les travaux réalisés dans ce sens sont rares.

Il ressort de cette étude que les conidies de *V. oleaginea* germent à une température de 25°C, après 48 heures d'incubation. Une germination importante des conidies donnant naissance à des tubes germinatifs sont relativement plus longue 73 µm. Au-delà de 4 jours d'incubation, toutes les conidies sont germées (Sistani et al. 2009).

Par ailleurs, notre étude a révélé que l'inhibition de la croissance du tube germinatif de conidies de *V. oleaginea* était pratiquement faible et même nulle à 27°C (5,6 µm) comparativement au témoin non traité. Le ralentissement de la croissance aux températures élevées est un phénomène connu chez les champignons Outassourt (1983). Cet aspect a été déjà souligné par Hasen (2008), car aux températures élevées, le champignon ne peut plus synthétiser certaines substances nécessaires à sa croissance telles que des vitamines. D'autres travaux réalisés par Obanor et al. (2008a) ; Sistani et al. (2009) ont rapporté que les températures comprises entre 15 et 20°C sont favorables à la croissance de *V. oleaginea*. Trapero et Roca, (2004) quant expliquent une relation entre le facteur thermique et la pathologie de *V. oleaginea* dont la croissance mycélienne maximale est comprise entre 5 et 27°C.

Ainsi, certains travaux ont rapporté une concordance entre l'optimum thermique de l'activité végétative des champignons et celui de l'infection fongique sur l'olivier. Par ailleurs, le facteur thermique d'un phytopathogène constitue une étude informative sur sa vitalité et sa virulence, et fournit des indications sur l'infection *in vivo* (Walid et al. 1994 ; Henry, 2003).

Concernant les mensurations morphométriques en longueur et en largeur des conidies de *V. oleaginea* rencontrées dans un verger oléicole provenant de quelques arbres d'oliviers plantés à l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV ; Alger) sont de (68 µm - 88,25 µm x 31,75 µm - 29,75 µm). Ces dimensions sont en désaccord avec celles de Hacem (2008), qui sont de l'ordre de (14-27 µm -9-10 µm x 17-25 µm- 9-15 µm).

# Chapitre III

Étude de la variation génétique  
de *V. oleaginea* par PCR



### Chapitre III : Étude de la variation génétique de *V. oleaginea* par PCR

Cette approche est réalisée dans le but d'étudier la distribution et la diversité génétique des populations de *V. oleaginea* dans les différentes régions du pays. Elle consiste à utiliser l'outil moléculaire pour une caractérisation génétique approfondie et pour connaître l'éventuelle variation de l'ADN génomique des différentes souches étudiées. L'amplification des fragments et la taille des bandes est ensuite évaluée pour l'ensemble des souches de la collection du pathogène *V. oleaginea* (VO) en comparant les différents profils électrophorétiques.

#### I- Matériel et méthodes

##### 1- Méthodes basées sur des caractères phénotypiques

Le matériel végétal utilisé au cours de cette étude est composé de feuilles d'oliviers fraîchement infectées présentant des symptômes visibles typiques de la tavelure. La collecte est réalisée lors des campagnes 2020-2021 et 2021-2022 dans plusieurs régions oléicoles déclarées atteintes sujettes à l'extension de la maladie. Plusieurs variétés d'oliviers (Sigoise, Chemlal, Limli, Cœur de bœuf, Khodeiri, Sorani, Zaiti, Boungueurgueb, Terrella, Frontoi, Rougette, Manzanille, Blanquette et Arbequina) provenant des vergers de différentes origines géographiques sont étudiées (Tableau 14 et 15). Le choix de ces variétés est lié à leur sensibilité à la maladie de la tavelure (Mekuria et al. 2001). Les échantillons des souches collectés sont conservés à 4°C jusqu'à utilisation.

**Tableau 14:** Lieux de prélèvement des échantillons pour analyse moléculaire par la méthode d'extraction d'ADN classique.

Souches	Wilayas	Lieux d'échantillonnages	Variétés	Dates de prélèvements
<b>1<sup>ère</sup> période (Fin hiver début printemps)</b>				
TEMT07a	Alger	Tassal El Merdja	Terrella	Avril 2022
ABL3a	Bouira	Ahnif	Limli	Février 2021
TEM2K2a	Alger	Tassal El Merdja	Khodeiri	Mars 2022
IBM5a	Boumerdes	Isser	Manzanille	Avril 2022
<b>2<sup>ème</sup> période (Fin automne début hiver)</b>				
TEMZ1a	Alger	Tassal El Merdja	Zaiti	Décembre 2021
TEMS4a	Alger	Tassal El Merdja	Sorani	Septembre 2021
SMS6a	Mostaganem	Stidia	Sigoise	Novembre 2021

**Tableau 15:** Origine géographique des échantillons prélevés pour extraction par le Kit Qiagen.

<b>Souches</b>	<b>Wilayas</b>	<b>Lieux d'échantillonnages</b>	<b>Variétés</b>	<b>Dates de prélèvements</b>
<b>1<sup>ère</sup> période (Fin hiver début printemps)</b>				
<b>BBC01</b>	Blida	Boufarik	Chemlal	Février 2022
<b>INPV02</b>	Alger	El Harrach	Chemlal	Mars 2022
<b>SBC03</b>	Blida	Soumaa	Chemlal	Fin février 2021
<b>TEMK05</b>	Alger	Tassal El Merdja	Khodeiri	Mars 2021
<b>TEMT06</b>	Alger	Tassal El Merdja	Terrella	Avril 2022
<b>BTB07</b>	Alger	Bir Touta	Boumguergueb	Mars 2022
<b>BTCB08</b>	Alger	Bir Touta	Cœur de bœuf	Mars 2022
<b>BAC09</b>	Alger	Bentalha	Chemlal	Avril 2021
<b>ABL11</b>	Bouira	Ahnif	Limli	Février 2021
<b>TEM2Z15</b>	Alger	Tassal El Merdja2	Zaiti	Mars 2022
<b>RAS16</b>	Alger	Rouiba	Sigoise	Avril 2021
<b>TEM2K17</b>	Alger	Tassal El Merdja	Khodeiri	Mars 2022
<b>BhSC19</b>	Sétif	Bir Haddada	Chemlal	Mars 2021
<b>TAF22</b>	Annaba	Tréat	Frontoi	Avril 2020
<b>ANMC23</b>	Mostaganem	Ain Nuissy	Chemlal	Fin mars 2021
<b>EmRS24</b>	Rélizane	El Matmar	Sigoise	Fin février 2022
<b>STS26</b>	Tlemcen	Sabra	Sigoise	Fin mars 2021
<b>BMR29</b>	Mascara	Bouhenni	Rougette	Avril 2021
<b>IBM31</b>	Boumerdes	Isser	Manzanille	Avril 2022
<b>TEMAB32</b>	Alger	Tassal El Merdja	Boumguergueb	Fin janvier 2022
<b>TEM1AB33</b>	Alger	Tassal El Merdja	Boumguergueb	Mars 2022
<b>2<sup>ème</sup> période (Fin automne début hiver)</b>				
<b>BBS04</b>	Blida	Blida	Sigoise	Novembre 2021
<b>OEAS10</b>	Blida	Oued El Alleug	Sigoise	Décembre 2021
<b>BBCB12</b>	Blida	Boufarik	Cœur de bœuf	Novembre 2021
<b>TEMZ13</b>	Alger	Tassal El Merdja	Zaiti	Décembre 2021
<b>TEMS14</b>	Alger	Tassal El Merdja	Sorani	Septembre 2021
<b>ChCM18</b>	Constantine	Chataba	Manzanille	Septembre 2021
<b>EmSB20</b>	Skikda	El Marsa	Blanquette	Octobre 2020
<b>OdSA21</b>	Souk Ahras	Ouled Driss	Arbequina	Octobre 2020
<b>DjRS25</b>	Rélizane	Djdiouia	Sigoise	Fin octobre 2021
<b>SMS27</b>	Mostaganem	Stidia	Sigoise	Novembre 2021
<b>YRS28</b>	Rélizane	Yellel	Sigoise	Fin octobre 2021
<b>BOS30</b>	Oran	Boutlelis	Sigoise	Décembre 2021

Les conidies de *V. oleaginea* utilisées pour cette étude sont récupérées par deux techniques différentes:

- 1) A partir des suspensions conidienne : Elle est obtenue par la mise en incubation en chambre humides des feuilles d'oliviers infectées par le champignon. Les feuilles sont placées dans des boîtes de Pétri contenant du papier buvard imbibé d'eau distillée stérile. Les boîtes sont ensuite incubées à 20°C à l'obscurité pendant 2 à 3 jours. En parallèle des feuilles d'oliviers atteintes sont immergées dans des tubes à essais contenant de l'eau distillée stérile, agitées pendant 2 heures à 80 tours/min, et laissées macérer pendant quelques heures afin de laisser diffuser et récupérer le maximum de conidies de ce pathogène;
- 2) A partir des tissus malades : Une poudre végétale est obtenue par broyage des feuilles d'oliviers fortement atteintes. Les feuilles sont découpées très finement et enfoncées dans des tubes contenant deux petites billes métalliques, le volume de feuille ne dépassant pas le ¼ de la capacité du tube eppendorf soit 0,5 ml.

## **2- Méthodes basées sur des caractères génotypiques**

Cette étude consiste dans un premier temps en l'extraction de l'ADN à partir du matériel biologique (conidies de *V. oleaginea*), obtenu par récupération des conidies avec les deux méthodes séparément (macération des tissus incubés en chambre humide et par broyage du matériel végétal en poudre). La technique utilisée est recommandée par Sistani et al. 2009.

### **2.1- Extraction d'ADN génomique de *V. oleaginea***

Dans le but d'effectuer l'identification moléculaire de ce pathogène, l'ADN génomique est extrait à partir des conidies de *V. oleaginea* de chaque échantillon récolté. La technique est réalisée pour l'ensemble des 40 isolats collectés au niveau des différentes régions de l'Est de l'Ouest et du Centre (26 sont extraits du Centre ; 09 de l'Ouest et 05 de l'Est). Deux méthodes d'extraction d'ADN sont utilisées afin de réussir l'optimisation de la technique d'amplification ultérieure. Les extractions sont effectuées au niveau du Laboratoire de Biologie Moléculaire de l'INPV.

**\* Méthode d'extraction classique**

La procédure suivie et décrite par Goodwin et al. (1993) consiste à réaliser les étapes suivantes:

Pour lyser les parois du pathogène un volume de 100 µl de la suspension conidienne de chaque variété d'olivier, est placé dans des tubes Eppendorf contenant chacun 100 µl de tampon de lyse (Tris-HCl pH=7,2 à 50 Mm, EDTA 50 Mm, 3% SDS, 1% 2-mercaptoéthanol). Afin d'accélérer l'étape de la lyse, les tubes Eppendorf sont placés dans un micro-onde 850w successivement trois fois pendant 10 s, 8 s et 5 s, avec des intervalles de temps de 10 s à chaque fois ; un volume de 300 µl de tampon de lyse est ajouté à chaque tube Eppendorf, puis le tube est vortexé pendant 3 s à 5 s ; Les tubes Eppendorf sont incubés dans un bain-marie à 80°C pendant 10 minutes ; Ensuite, un volume de 400 µl d'une solution de Phenol : Chloroform : Isoamyl Alcohol avec les proportions (25: 24: 1) est additionné à chaque tube pour la réalisation de la dénaturation. Les tubes Eppendorfs sont agités à l'aide d'un vortexe puis centrifugés pendant 15min à 15 000 tours/min ; la phase aqueuse est récupérée et placée dans un tube Eppendorf stérile auquel sont additionnés 10µl d'acétate de potassium (5 M) et 180 µl d'isopropanol ; les tubes sont ensuite refroidis dans la glace durant 5minutes. Les tubes sont ensuite vortexés et centrifugés pendant 10 minutes à 10 000 tours/min ; le surnageant est éliminé et le culot obtenu est lavé dans un volume de 250 µl d'éthanol à 80% ; les tubes sont centrifugés pendant 5 min à 10 000 tours/min ; le surnageant est de nouveau éliminé et le culot d'ADN est séché dans le Speed-Vac pendant 15 à 20 minutes ; l'ADN est remis en suspension dans 100 µl de TE (Tris-HCl 10 Mm, EDTA 0,1 Mm, pH 8), pour une meilleure conservation à -20°C.

**\* Méthode d'extraction avec le kit de purification de l'ADN génomique**

La procédure de cette technique est réalisée selon les recommandations du fournisseur. Le KIT Qiagen permet une purification fiable de l'ADN en garantissant des rendements élevés d'ADN de haute qualité, exempts de contaminants et d'inhibiteurs. La technique est optimisée et moins astreignante avec moins de risques de contamination de l'échantillon :

Une quantité de 100 mg de la poudre végétale (provenant des échantillons atteints) est prélevée et mise en suspension dans 400 µl de tampon AP1 additionné de 4 µl de Rnase ; la suspension est agitée au vortex vigoureusement. Ensuite l'homogénat est incubé au bain à sec pendant 10 minutes à 65°C. Pendant cette incubation le mix est homogénéiser 2 ou 3 fois par

simple renversement. 300 µl de tampon P3 est ajouté au lysat ; puis celui-ci après agitation est refroidit pendant 5 minutes sur glace. Le lysat est ensuite centrifugé pendant 5 minutes à 13000 tours/min.

La fraction surnageante est versée sur la colonne QIAshredder Mini Spin, emboîtée sur un tube de 2 ml et est centrifugée pendant 2 minutes à 13000 tours/min. Un volume de 450 µl est prélevé à la micropipette, sans perturber le micro-culot, et est transvasé dans un nouveau tube de 1,5 ml ; auquel est ajouté un volume de 675 µl du tampon AW1 le tout est immédiatement homogénéisé par pipetage à la micropipette. Un volume de 650 µl de la solution obtenue dans l'étape précédente sur la mini colonne DNeasy emboîtée sur un tube de 2 ml est centrifugé durant 1 minute à  $\geq 8000$  rpm ; la solution filtrée est éliminée; et le tube collecteur est conservé. Cette étape est renouvelée avec le reste de l'éluât. Puis la solution filtrée est éliminée ; le tube étant conservé.

La colonne DNeasy Mini Spin est placée sur le tube collecteur précédent auquel est ajouté un volume de 500 µl de tampon AW2, puis centrifugé pendant 1 min à  $\geq 8000$  rpm ; le filtrat est éliminé et la colonne est réutilisée. Ajouter un volume de 500 µl de tampon AW2 est ajouté sur la colonne DNeasy Mini Spin puis centrifugé pendant 2 minutes à 14000 rpm, le filtrat est éliminé en prenant la précaution de ne pas toucher la membrane. Transférer la colonne sur DNeasy Mini Spin sur un nouveau tube de 1,5ml et ajouter 50 µl de solution tampon AE directement sur la membrane ; incubé 5 minutes à température ambiante (15-25°C) et centrifuger 1 minute à  $\geq 8000$  rpm pour éluer. L'étape précédente est répétée dans le même tube ; le tube qui contient l'ADN d'olivier est conservé à -20°C.

**Nous notons que** les échantillons mentionnés dans le tableau 14 ont subi une extraction classique et les échantillons figurant dans le tableau 15 ont subi une extraction par le DNeasy Plant Mini kit 50 (Marque Qiagen).

## 2.2- Quantification de l'ADN génomique de *V. oleaginea*

La quantification et la vérification de la pureté des échantillons d'ADN sont effectuées par des mesures à l'aide d'un spectrophotomètre (NanoDrop 2000; Thermo Scientifique) (annexe 7). Cette étape du travail, est réalisée au niveau du Laboratoire de Biologie Moléculaire du CNCC, d'Alger

### 2.3- Caractérisation par BOX PCR

Pour la caractérisation génotypique des isolats, la technique adoptée est celle du typage par empreinte ADN, cet outil est utilisé dans les études de biogéographie et d'épidémiologie. Les méthodes de typage par empreintes d'ADN sont fréquemment utilisées pour évaluer la dispersion mondiale d'espèces, l'endémicité des espèces et aussi pour corréler des génotypes spécifiques à des conditions environnementales données (Ferris et al. 2003).

La discrimination de l'ADN des différentes souches est réalisée en utilisant l'amorce Box REPAIR (5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3') recommandée par Kleef et Mazen (2020). L'ADN génomique quantifié du *V. oleaginea* est utilisé comme matrice et l'amplification par PCR a été réalisée dans un mélange réactionnel de 25 µl. Les mélanges réactionnels contiennent 3 µl d'ADN fongique de chaque souche ; 1,5 µl d'amorce Box (annexe 8) ; 12,5 µl de master mix GoTag et 8 µl eau ultra pure. Les conditions d'amplification sont établies selon le programme suivant : les réactions dénaturées à 94°C pendant 3 minutes sont soumises à 45 cycles de 94°C pendant 25 secondes, 52°C pendant 60 secondes et 72°C pendant 60 secondes. Une extension finale à 72°C est réalisée pendant 8 minutes. Les produits PCR sont conservés à 4°C en attendant la migration sur gel d'agarose (Laboratoire de Botanique, ENSA).

### 2.4- Révélation des produits de PCR

Les amplifiats obtenus ont subi une migration et les profils électrophorétiques sont révélés par électrophorèse sur gel agarose-TAE (à 2%), en utilisant le Sybr Safe et/ou Gel-Red pour la révélation des acides nucléiques. Dix microlitres de produits PCR sont déposés au niveau des puits pour une migration sur le gel d'agarose avec 7 µl marqueur de taille interne (KB ladder, Smart-Ladder Small Fragment, Promega). L'électrophorèse est réalisée à 100 v pendant 45 minutes. Les bandes sont visualisées sous rayons ultraviolets avec le système d'image Gel DOC 2000 (Biorad). Les motifs de bandes sont automatiquement détectés. Chaque gel constitue une base de données contenant toutes les informations sur les échantillons testés, et stockés sur disque sous forme de fichiers pour analyse (Laboratoire de Botanique, ENSA).

## 2.5- Analyse des profils

La migration et la visualisation des produits sur gel d'agarose et la confirmation des motifs des bandes sont analysées minutieusement. Les prises des images de gels sont enregistrées. C'est une méthode simple et hautement reproductible réalisée pour distinguer des isolats fongiques étroitement apparentés en fonction de leurs profils. La visualisation des bandes et la détermination de leur poids moléculaire, se basant sur le marqueur de poids moléculaires de référence, permet l'interprétation et la comparaison des échantillons issus des différentes régions du pays pouvant révéler des variations et une diversité du point de vue génomique (Bernaschina et al. 2020).

## II-Résultats

### 1- Extraction de l'ADN des isolats de *V. oleaginea*

L'étude génotypique des différents isolats est basée sur une extraction préalable de l'ADN génomique à partir des conidies de *V. oleaginea*. Les méthodes utilisées nous ont permis d'obtenir une collection d'échantillons d'ADN des 40 isolats. Nous précisons que l'ensemble des isolats utilisés dans cette étude sont obtenus à partir des conidies de *V. oleaginea* produites après le broyage des feuilles d'oliviers fortement atteintes. Toutes les conidies sont morphologiquement identiques et correspondent à la description de Graniti (1993; Viruega et Trapero (1999) et Obanor et al. (2010).

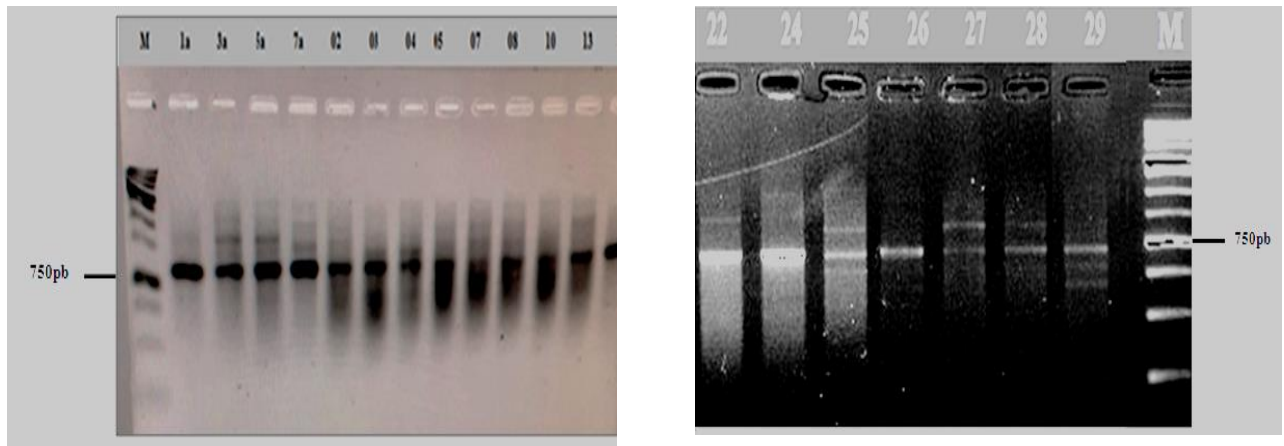
### 2- Caractérisation génotypique

#### 2.1- Amplification de l'ADN pour l'identification de *V. oleaginea*

Les 40 échantillons d'ADN génomique extraits dans des volumes différents ont été sélectionnés pour l'analyse par PCR, selon le protocole de Kleef et Mazen (2020). La technique PCR « Polymerase Chaîne Reaction » réalisée en utilisant les amorces Box REPAIR recommandées par Charan et al. 2011 ; Kleef et Mazen (2020), nous a permis d'obtenir une amplification de plusieurs fragments pour chaque isolat permettant de mettre en évidence plusieurs profils électrophorétiques, révélant ainsi la présence d'une diversité génétique confirmée.

L'amorce Box REPAIR (5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3') est recommandée pour l'étude de la diversité génétique du pathogène responsable de la maladie de la tavelure. Nous avons en effet pu obtenir plusieurs profils pour les différentes électrophorèses effectuées sur gel d'agarose. Ces résultats ont montré une grande variabilité dans les profils électrophorétiques ce qui a révélé une certaine diversité par rapport aux souches étudiées. Ces résultats ont révélé la présence de plusieurs motifs de bandes et différents profils pour tous les échantillons d'ADN des isolats testés. Parmi les bandes amplifiées nous notons celle dont le poids moléculaire est d'environ 750 pb, qui est présente pour la plupart des isolats. Nous notons que dans des travaux réalisés par certains auteurs pour l'identification du *V. oleaginea*, une bande de 750 bp est amplifiée par les amorces spécifiques 18SF 5'-GCTTGTCTCAAAGATTAAGCC-3' et 18SR 5'-CCTTGTTACGACGACTTTTACTTCC-3'.

Cette bande est rapportée spécifique du pathogène ceci étant confirmé par plusieurs auteurs dont González-Lamothe et al. (2002); Obanor et al. (2010) ; Kleef et Mazen (2020) (Fig. 24).



**Figure 24 :** Amplification de la bande spécifique 750pb caractéristique de *V. oleaginea* d'un produit PCR de différentes régions oléicoles d'Algérie. **M :** Marqueur 1Kb.

## 2.2- Diversité génétique de *V. oleaginea*

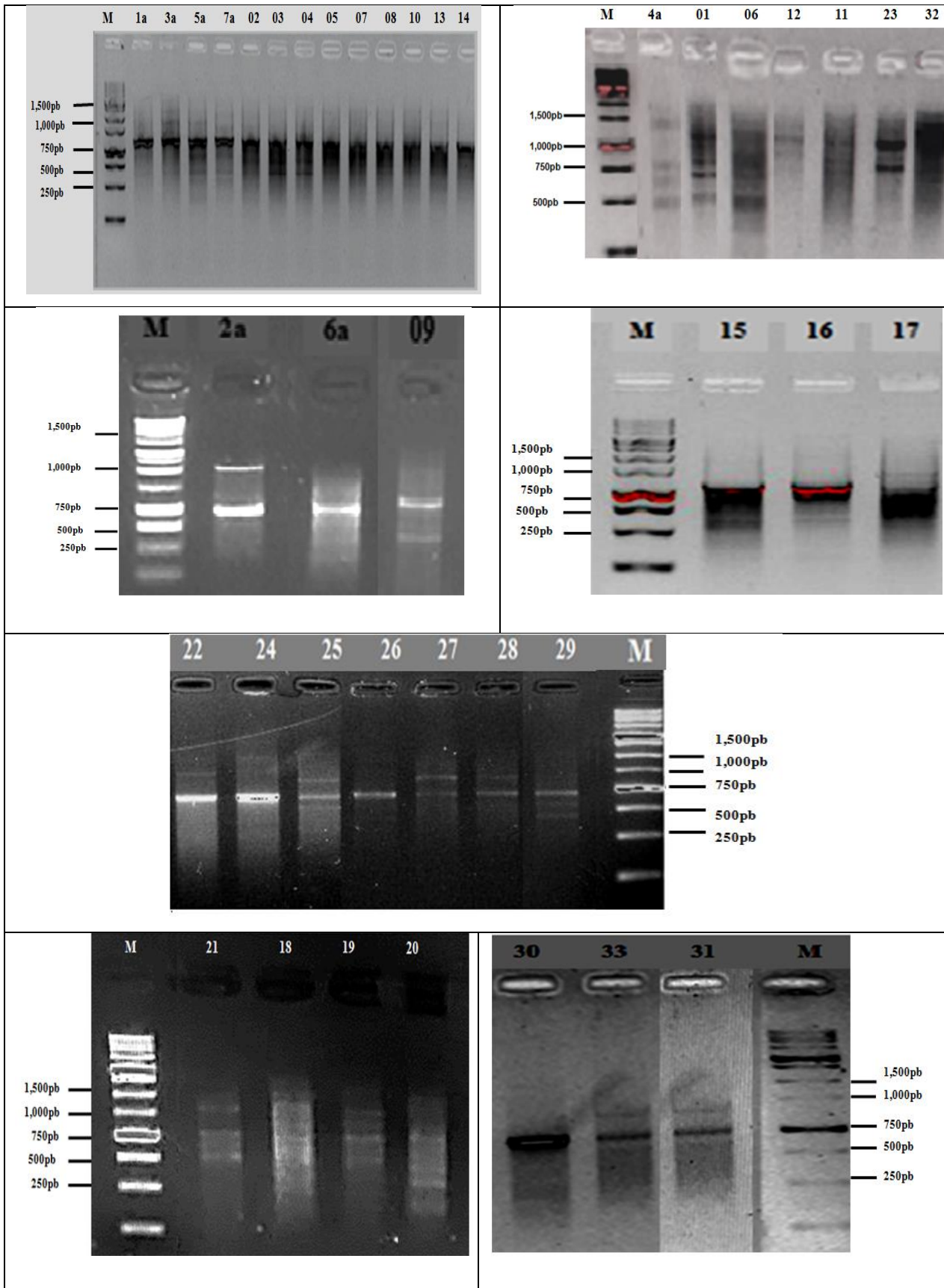
La diversité génétique des microorganismes phytophagènes est le résultat d'un long processus de modification résultant des interactions entre les plantes et leurs parasites ainsi que tout le microbiome environnant. Dans notre étude l'analyse de la diversité génétique montre un grand nombre de marqueurs phénotypiques et génotypiques qui permettent de caractériser le pathogène et d'évaluer la diversité génétique au sein de populations de ce pathogène. La discrimination entre les différents isolats de *V. oleaginea* est effectuée à l'aide de la technique Box PCR. Cette technique de biologie moléculaire est rapportée comme étant hautement reproductible pour la mise en évidence des variations génétiques entre les différentes espèces et aussi pour sa grande capacité à faire la distinction entre des espèces similaires (Charan et al. 2011).

La spécificité de la gamme d'hôte pour l'espèce *V. oleaginea* est étudiée pour comparer les différents niveaux d'adaptation des isolats testés aux différentes variétés cultivées dans différentes régions oléicoles situées dans des zones géographiques distinctes, dans des conditions écologiques très hétérogènes et présentant des niveaux d'infections différents. Nous notons que, l'utilisation bien entendu, d'un nombre plus important d'isolats de divers cultivars

donnerait une évaluation beaucoup plus précise de la diversité génétique. Pour cette étude, nous nous sommes basés sur le Marqueur de taille utilisé pour servir de repère pour évaluer la taille des différentes bandes amplifiées par les amorces BOX-PCR, afin de comparer les isolats des différentes régions étudiées.

Les méthodes retenues pour caractériser la diversité génétique des isolats et la validité des marqueurs génomiques utilisés dans l'étude de la structure des populations de *V. oleaginea* ont mis en évidence plusieurs bandes majeures, dont la bande de 750pb qui est présente chez tous les isolats testés. Ainsi, l'amplification BOX-PCR des isolats de *V. oleaginea*, a révélé des profils avec des bandes distinctes et variables chez de nombreuses variétés d'oliviers. La présence ou l'absence de bandes ainsi que leurs tailles respectives permettant une analyse précise de la diversité génétique du pathogène en Algérie.

Les profils électrophorétiques des isolats des deux régions du centre et ouest se distinguent par la présence d'un nombre de fragments amplifiés plus important que les isolats de l'Est. La taille des bandes amplifiées est variable (250pb, 500pb, 1000pb et 1500pb). Le nombre de locus polymorphes amplifiés varie avec les différents types d'isolats de *V. oleaginea*. Les résultats des profils BOX-PCR, obtenus à partir de différents échantillons d'ADN sont détaillés dans la figure 25. Une analyse de ces profils électrophorétiques nous permet de distinguer cinq groupes qui sont mentionnés dans le tableau 16 :



**Figure 25:** Profils d'électrophorèse sur gel d'agarose de l'ADN des isolats de *V. oleaginea* avec l'amorce Box PCR. **M :** Marqueur (1Kb) ; **Piste 1 à 33 et 1a à 7a :** isolats d'ADN fongique de *V. oleaginea*.

**Tableau 16 :** Groupes représentant les profils électrophorétiques des isolats de *V. oleaginea*.

Groupes de profils	Nombre d'isolats	Variétés	Zones
<b>1</b>	TEM2K2a et TEMK05	Khodeiri	Centre
	TEM1AB33 ; TEMAB32 et BTB07	Bounguegueb	
	IBM31 et IBM5a	Manzanille	
	BBCB12 et BTCB08	Cœur de boeuf	
	TEMZ1a et TEMZ13	Zaiti	
	TEMT07a et TEMT06	Terrella	
	BBC01 et INPV02	Chemlal	
	OEAS10	Sigoise	
	TEMS14	Sorani	
	ABL3a et ABL11	Limli	
	ANMC23	Chemlal	Ouest Est
	DjRS25 ; SMS27 ; YRS28 et BOS30	Sigoise	
	ChCM18	Manzanille	
<b>2</b>	BAC09	Chemlal	Centre
	TEM2Z15	Zaiti	
	RAS16	Sigoise	
	TEM2K17	Khodeiri	
	SMS6a	Sigoise	Ouest
<b>3</b>	TEMS4a	Sorani	Centre
<b>4</b>	EmRS24	Sigoise	Ouest
	TAF22	Chemlal	Est
<b>5</b>	SBC03	Chemlal	Centre
	BBS04	Sigoise	
	STS26	Sigoise	Ouest
	BMR29	Rougette	
	OdSA21	Arbequina	Est
	BhSC19	Chemlal	
	EmSB20	Blanquette	

### 2.3- Répartition des profils d'électrophorèse

Notre étude s'appuie principalement sur la caractérisation des variations génétiques existant entre les variétés d'oliviers des différentes régions et les 40 isolats de *V. oleaginea* et les critères spatio-temporelles. Les résultats obtenus dans le tableau 17 montrent une variation entre les différents groupes d'isolats par la présence ou l'absence et la taille des fragments. La plupart des souches isolées de la région du Centre, sont représentés dans les cinq groupes, dont la majorité sont associés au groupe du profil électrophorétique 1, Ce résultat révèle que ce

groupe concerne les variétés dominantes, considérées comme sensibles. Aussi, ces résultats montrent que les isolats de la région centre représentent 52% des isolats issus des différentes régions oléicoles étudiées. Nous constatons également que les variétés étudiées sont en majorité présentes dans le groupe électrophorétique 1 (71, 43%). Sur la base de leurs profils BOX-PCR sur gel d'agarose ce groupe est représenté par une gamme de fragments de taille moléculaire plus large 1000pb (62,5%). Les sept isolats (03, 04, 19, 20, 21, 26 et 29) du groupe 5 et l'isolat 4a (groupe 3) ont des profils différents des autres groupes. Ils sont représentés par 2 fragments avec une taille moléculaire différente comprise entre 500 à 1500pb et 500 à 1000pb (25 et 17,5%). Les deux groupes (G3 et G5) ont révélé une gamme d'hôte limitée (7,14 et 28,57%).

Cependant, les deux autres groupes (G2 et G4) combler la différence qui n'a montré que 16% des isolats appartenant au groupe 2 avec une gamme relativement petite de taille de fragment 250pb (12,5%) ont été identifiés à partir d'une gamme d'hôtes diversifiée de 28,6%, respectivement. En revanche, le groupe 4 représenté par les isolats (24 et 22) ont des profils très différents avec une gamme plus large de longueur de fragment (1500pb) qui avec un taux de 5% des isolats étudiés, provenant d'une faible collection variétale (14,28%) provenant d'une faible oliveraie (8%).

Le nombre de fragments détectés avec BOX-PCR est variable, compris entre 2 et 6 et la taille comprise entre 250 et 1000pb certains à 1500pb. Les isolats (12, 26 et 30) étaient assez faibles, cette faible reproductibilité a été attribuée au faible nombre de bandes de ces isolats (Fig. 26). Dans le cas des autres isolats, le nombre de bandes était plus riche et bien caractérisés. La disparition de la bande dans le profil réduit la similitude des profils identiques.

Aussi, une autre explication de la variation des populations de pathogène peut être générée par la distribution des variétés au niveau des régions. Cependant, la chemlal et la sigoise existent dans les quatre groupes ; par contre les deux variétés khodeiri et zaiti se trouvent dans le groupe 1 et 2, alors que la variété sorani se trouve dans le groupe 1 et 3. Par conséquent, les autres variétés testées sont spécifiques par rapport aux régions. Les isolats de pathogènes fongiques provenant principalement des régions du Centre et de l'Ouest montrent un niveau élevé de diversité génétique, avec plusieurs variétés. En revanche, les isolats issus des régions de l'Est ont montré un faible niveau de diversité génétique (Fig. 27). Ainsi, la diversité génétique suggère qu'un mode de reproduction asexué est dominant parmi les populations de *V. oleaginea* en Algérie, alors que le faible niveau de reproduction sexuée reste encore inconnu.

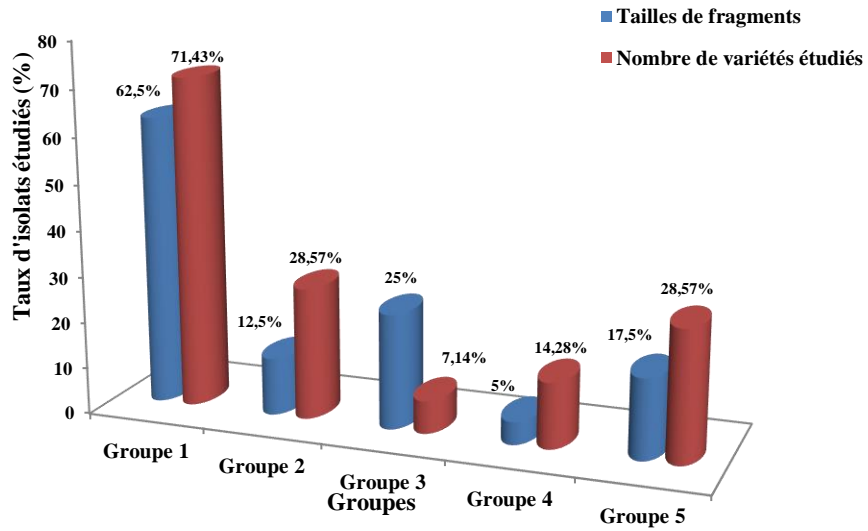


Figure 26 : Comparaison des isolats par taille de fragment et type de variétés infectées.

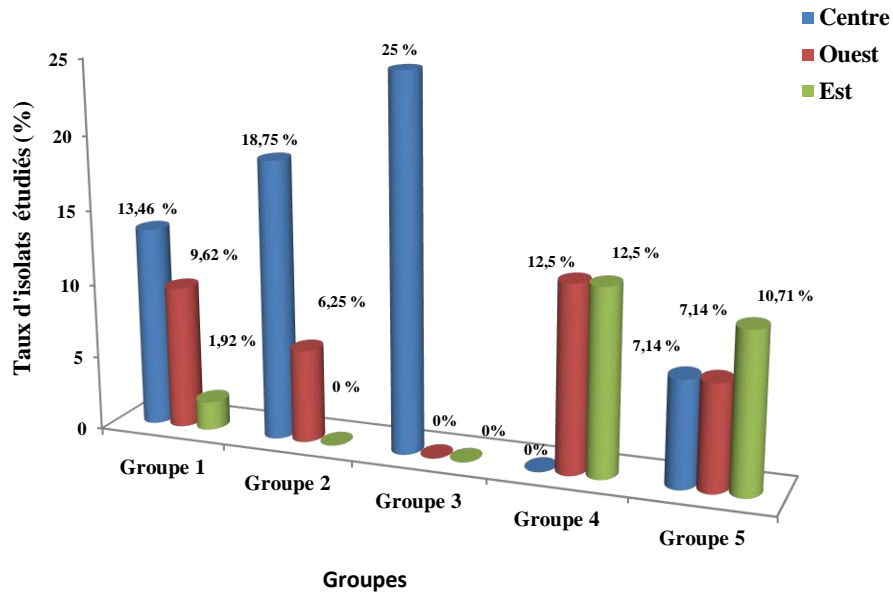


Figure 27 : Comparaison des isolats par régions enquêtées.

**Tableau 17** : Identification des groupes électrophorétiques en fonction de la présence et la taille des fragments /bandes.

Origines	Isolats	Variétés	Tailles de marqueurs moléculaires (pb)					Groupes
			1500	1000	750	500	250	
<b>Est</b>	21	Arbequina	-	+	+	+	-	G5
	18	Manzanille	-	+	+	-	-	G1
	19	Frontoi	-	+	+	+	-	G5
	20	Blanquette	-	+	+	+	-	G5
	22	Chemlal	+	-	+	-	-	G4
<b>Ouest</b>	23	Chemlal	-	+	+	-	-	G1
	25	Sigoise	-	+	+	-	-	G1
	27	Sigoise	-	+	+	-	-	G1
	28	Sigoise	-	+	+	-	-	G1
	26	Sigoise	-	+	+	+	-	G5
	29	Sigoise	-	+	+	+	-	G5
	30	Sigoise	-	+	+	-	-	G1
	6a	Sigoise	-	-	+	-	+	G2
	24	Sigoise	+	-	+	-	-	G4
<b>Centre</b>	2a	Khodeiri	-	+	+	-	-	G1
	05	Khodeiri	-	+	+	-	-	G1
	33	Bounguergeub	-	+	+	-	-	G1
	07	Bounguergeub	-	+	+	-	-	G1
	31	Manzanille	-	+	+	-	-	G1
	12	Cœur de Boeuf	-	+	+	-	-	G1
	08	Cœur de Boeuf	-	+	+	-	-	G1
	32	Bounguergeub	-	+	+	-	-	G1
	1a	Zaiti	-	+	+	-	-	G1
	13	Zaiti	-	+	+	-	-	G1
	7a	Terrella	-	+	+	-	-	G1
	06	Terrella	-	+	+	-	-	G1
	01	Chemlal	-	+	+	-	-	G1
	02	Chemlal	-	+	+	-	-	G1
	3a	Limli	-	+	+	-	-	G1
	03	Chemlal	-	+	+	+	-	G5
	04	Sigoise	-	+	+	+	-	G5
	10	Sigoise	-	+	+	-	-	G1
	14	Sorani	-	+	+	-	-	G1
	5a	Manzanille	-	+	+	-	-	G1
	11	Limli	-	+	+	-	-	G1
	09	Chemlal	-	-	+	-	+	G2
	15	Zaiti	-	-	+	-	+	G2
	16	Sigoise	-	-	+	-	+	G2
	17	Khodeiri	-	-	+	-	+	G2
	4a	Sorani	+	-	+	+	-	G3

**N.B** : G : groupe.

### III- Discussion

La reproduction asexuée, est la principale voie par laquelle ce champignon augmente ses populations. Cet aspect a été déjà souligné par Obanor et al. (2010). En effet, la tavelure de l'olivier causée par *V. oleaginea* n'est connue que par sa forme asexuée puisqu'aucun stade de reproduction sexuée de ce pathogène n'a été trouvé dans les oliveraies à travers le monde (Graniti 1993). Ce qui est cohérent aussi avec les résultats observés au niveau des oliveraies en Nouvelle-Zélande (Obanor et al. 2008a). Ce constat confirme ceux de González-Lamothe et al. (2002) et Obanor et al. (2010). La connaissance de cet agent pathogène au niveau moléculaire est faible, en raison de la difficulté à l'isoler sur milieu de culture artificiel.

Les résultats enregistrés, indiquent une forte présence de la quantité de conidies de *V. oleaginea* récupérée à partir des essais réalisés au laboratoire de l'INPV sur les feuilles fortement infectées mises en chambre humide, notamment celles des variétés Sigoise, Chemlal et Syriennes, généralement les plus attaquées par rapport aux autres variétés. D'après Friday et al. (2010), ce cas s'expliquerait par de nombreuses hypothèses notamment l'insuffisance de connaissance des stratégies de lutte efficace contre la maladie, les pratiques culturales, l'utilisation de système d'irrigation par aspersion, créant les conditions favorables à la croissance de l'agent pathogène etc... (cf. Chapitre I).

L'identification de chaque échantillon a été confirmée par la caractérisation morphologique (Gonzalez-Lamothe et al. 2002). L'existence de conidies de ce pathogène avec un taux d'inoculum important sur les feuilles, nous a orienté notamment vers les études ultérieures. Il s'agit de la diversité morphogénétique chez *V. oleaginea* qui a fait l'objet d'intenses recherches depuis plusieurs décennies. Bien que des progrès soient réalisés dans la compréhension des caractères morphologiques de ce pathogène, les mécanismes moléculaires qui les régissent ne sont pas encore bien élucidés (Kleef et Mazen, 2020).

Depuis plusieurs années, des techniques ont été développées pour effectuer l'étude de la diversité génétique des populations par marqueurs moléculaires performants. Elle a constitué une première étape dans l'analyse des variations affectant le génome. Des techniques de biologie moléculaire permettent d'étudier de façon plus précise les variations existantes au niveau des séquences de l'ADN (Dunkle et Levy, 2000). De plus, les différences de génotypes fongiques pourraient être dues à la sélection de génotypes pathogènes par les conditions environnementales et le choix des variétés étudiées, ainsi que sa gestion dans les différentes

régions. Ces connaissances sont importantes avant une planification appropriée des méthodes appropriées de contrôle de la maladie (McDonald et Linde, 2002).

Notre contribution à l'étude de la diversité génétique de ce pathogène est une première en Algérie. Elle se fait sur des conidies de *V. oleaginea* qui se forment de manière synchrone durant leur cycle de développement et sur les différentes méthodologies de typage de l'ADN par la méthode de l'empreinte génétique. D'après Carson et al. (2003), l'empreinte ADN est un outil couramment utilisé dans les études d'épidémiologie bactériennes. Notre résultat a montré qu'une technique d'empreinte génétique en utilisant les procédures décrites par les auteurs pour séparer les fragments d'ADN est une méthodologie proposée pour caractériser la diversité génétique de la population de VO. Nous constatons que la BOX-PCR est la technique utilisée dans notre expérience et qu'il s'agit d'une méthode rapide, précise et moins coûteuse. Cette technique n'est pas affectée par l'âge de la culture de la souche à analyser et les résultats de la technique BOX PCR sont facilement analysables par les logiciels appropriés. Cette technique s'avère être un outil performant de caractérisation des populations de *V. oleaginea*.

Nos résultats ont montré que les populations Algérienne de *V. oleaginea* présentaient un faible niveau de diversité génétique dans les régions Est. Dans ce contexte, ils sont en accord avec les conclusions de Kleef et Mazen (2020). La faible diversité génétique est expliquée par la prédominance du mode de reproduction asexué de VO au niveau des populations existantes en Algérie. Ces résultats corroborent ceux de Friday et al. (2010) obtenus en Nouvelle-Zélande à l'aide de marqueurs UP-PCR. Cet aspect a été déjà souligné par Tenzer et Gessler (1997) qui ont constaté une faible différenciation en Suisse entre les différentes populations de ce pathogène. Ce phénomène est observé dans plusieurs autres régions du monde dont la Nouvelle-Zélande, où la diversité génétique chez les populations de *V. oleaginea* est faible à modérée (Friday et al. 2010).

Nous constatons, que parmi les différents cultivars testés, tels que la sigoise, la chemlal et les variétés Syrienne étaient les plus sensibles à la tavelure, et les plus cultivées dans les oliveraies du Centre et de l'Ouest du pays. Ceci est révélé par la forte proportion de diversité génétique attribuée aux populations de *V. oleaginea* dans ces régions du Centre et de l'Ouest, d'où l'hypothèse qu'une mutation locale aurait pu se produire.

Plusieurs facteurs pourraient être responsables de la diversité établie dans ces régions. Les différences de génotypes fongiques pourraient être générés par l'adaptation aux contraintes naturelles (changements et/ou variations climatiques), ou induites dans l'écosystème (ex : la

résistance vis-à-vis des fongicides). Tous ces facteurs, pourraient constituer des indicateurs de cette importante diversité génétique. Il est incontestable que la connaissance de la diversité génétique des populations d'agents pathogènes conditionne toute stratégie de prévision et de contrôle des maladies.

Nos résultats révèlent que les caractéristiques de bandes et des profils électrophorétiques le long d'une migration sur gel d'agarose sont différents pour tous les isolats testés. Les bandes de taille différentes dont la bande de 1500pb, la précision de séparation a été relevée dans trois profils (4a, 22 et 24), alors, que d'autres isolats étaient inférieurs ; la précision de la taille diminuait constamment atteignant 250 et 1000pb, ce qui affecte considérablement le processus de dimensionnement car la taille varie entre les isolats.

Par ailleurs la technique en chaîne par polymérase (UP-PCR) a été utilisée avec succès dans l'étude de la diversité génétique d'autres champignons, notamment *Trichoderma* sp. (Cumagun et al. 2000) et *Phaeoconiella chlamydospora*, agent pathogène de la vigne (Pottinger et al. 2002).

Les résultats de l'étude de la variation génétique des isolats de *V. oleaginea* issus de plusieurs variétés d'olivier en Algérie, basée sur la présence et la variation des profils électrophorétiques, nous permettent d'avancer qu'il existe un faible niveau de diversité génétique, notamment dans les régions d'Est, il est probable que la reproduction asexuée est la principale méthode par laquelle ce champignon propage sa population comme souligné par Graniti (1993).

On sait que les mécanismes de base qui génèrent des variations dans les populations de pathogènes sont des mutations, migration et recombinaison (asexuée ou sexuée). Cette variante a été façonnée par les forces de la sélection et de la dérive génétique (McDonald et Linde. 2002). Mais ces forces n'ont pas agi suffisamment pour produire des variations génotypiques au sein de la population de l'agent pathogène. La faible diversité génétique des populations de *V. oleaginea* suggère que des stratégies de contrôle efficaces peuvent être facilement utilisées dans la plupart des oliveraies locales.

La dispersion des conidies de *V. oleaginea* est limitée à l'intérieur des vergers et entre vergers voisins, puisque l'on sait que les conidies sont dispersées principalement par les éclaboussures de pluie (Graniti, 1993; Guechi et Girre, 1994b). Ce phénomène explique le

manque de différenciation. Il est possible que les différences observées s'expliquent par le fait que les isolats de *V. oleaginea* utilisés dans cette étude proviennent de différentes régions oléicoles du pays et constituent différentes sources d'inoculum pour les nouvelles infections. Les différences peuvent également résulter de la présence d'une grande gamme de variétés.

Les analyses obtenues par BOX-PCR ont révélé cinq groupes différents. Cette méthode a permis de mettre en évidence que la majorité des isolats de *V. oleaginea* (environ 62,5% ) se retrouvent dans le groupe 1 dominant par rapport aux autres qui sont limités à un nombre réduit d'isolats de VO obtenus dans différentes zones géographiques.

En effet, en matière de diversité, la région Centre montre la présence de plusieurs groupes (G1, G2, G3 et G5), cependant le groupe 1 est noté dominant dans cette région représentée par un grand nombre d'isolats (soit 26 isolats), nous considérons que cette région présente un taux de diversité supérieur aux autres. La région Ouest vient en deuxième position du point de vue diversité et présence de groupes (G1, G2 et G5), avec un taux de diversité plus au moins important. En troisième position, la région Est qui ne montre que le G1 et G5. La diversité est faible dans cette région ceci peut être expliqué par le nombre faible de variétés qui sont spécifique de cette zone à cause des conditions climatiques.

Dans cette situation, l'étude de la variation génétique représente actuellement le seul moyen efficace pour établir des stratégies visant à limiter la propagation de ce pathogène, ainsi que la gestion de la maladie dans les différents vergers. La variabilité génétique peut être en corrélation avec le pouvoir pathogène, et la réponse des différentes variétés de la plus résistante à la plus sensible.

# Conclusion Générale et Perspectives



## Conclusion générale

Depuis de longue date, l'oléiculture dispose de nombreux cultivars destinés aux huileries pour l'extraction d'huile et la conservation d'olives de table. Malheureusement, ces cultivars sont sensibles aux principales maladies fongiques, notamment la tavelure causé par *Venturia oleaginea*, considéré comme la maladie la plus répandue dans le monde. Actuellement, plusieurs chercheurs signalent les gros risques liés à l'infection de ce pathogène, tant sur le plan quantitatif que qualitatif pour l'oléiculture. C'est dans ce sens que nous avons réalisé une enquête sur la tavelure à l'échelle nationale pour la première fois en Algérie. Dans notre contribution à la compréhension de la problématique de la tavelure, nous sommes intéressés à comprendre l'éventuel impact de ce pathogène sur la défoliation des arbres atteints, surtout que l'oléiculture connaît un regain d'intérêt particulier.

L'enquête basée sur des prospections par un questionnaire, a permis de constater que 1163 vergers d'oliviers situés au niveau de différentes régions, abritent cette maladie d'origine fongique (68,6% des vergers prospectés) avec des taux d'infection variant d'une campagne à une autre 81 ; 75 et 56,1%. Les régions de l'Ouest ont été les plus touchées durant les trois campagnes, avec un taux d'infection qui oscille entre 70 et 80%. La répartition géographique des foyers identifiés est variable d'une région à l'autre. Les régions du Centre (<20%) et de l'Est du pays (<10%) le sont faiblement, en raison probablement des conditions climatiques défavorables et aux plantations de variétés résistantes.

Certaines pratiques ont été notées lors des prospections notamment, l'évaluation des connaissances des agricultures vis-à-vis la maladie et des méthodes de lutte. Elles révèlent que presque la majorité de ces agriculteurs (70%) connaissent sa gravité et confirment les dégâts de cette maladie au niveau de leurs vergers. D'un autre côté, nous avons constaté que seulement 20% d'agriculteurs ont déclaré l'adoption d'un traitement phytosanitaire contre 80% qui n'emploient aucun traitement. Certains agriculteurs adoptent des méthodes pour contrôler la maladie sur la base des observations continues. Tandis que d'autres emploient une taille des oliviers (l'élagage) pour éliminer les foyers primaires (inoculum) comme moyens de prévention et de prophylaxie.

Durant les dernières décennies plusieurs types d'innovations technologiques résultant des travaux de recherche sur la diversité génétique des populations de *V. oleaginea* ont été menés en raison de son incapacité à sporuler en culture. Dans ce cadre, notre étude montre

qu'un plus grand nombre de conidies obtenues à partir de feuilles atteintes ont permis l'évaluation précise de la différenciation génétique de ce pathogène. Sur la base des analyses d'amplification de PCR obtenus par Box PCR, les populations de *V. oleaginea* avaient un faible niveau de diversité génétique dans les régions de l'Est, qui probablement pourrait résulter d'un mode de reproduction asexuée prédominant chez *V. oleaginea*. Par ailleurs, une forte proportion de diversité génétique est attribuée aux populations de *V. oleaginea* dans les régions du Centre et de l'Ouest. Il s'agit du premier travail en Algérie qui a permis d'identifier les différences génétiques entre les échantillons récoltés des différentes régions oléicoles du pays. D'autres travaux sont nécessaires pour mieux comprendre ces mécanismes. Ainsi, ce contexte ouvre le champ à de nombreuses perspectives.

### Perspectives

À partir des études menées au niveau des différents laboratoires et sur la base des données récoltées du terrain discutées ci-dessus, nous pouvons constater que pour gérer cette maladie de l'olivier, il est indispensable de :

- Procéder éventuellement à l'amélioration des pratiques culturales en intervenant sur la bonne gestion de l'itinéraire technique ;
- Tester la pathogénicité des isolats provenant de différentes régions oléicoles du pays ;
- Tester le comportement des variétés cultivées et certifiées en Algérie vis-à-vis ce pathogène ;
- Intégrer des études génétiques sur un plus grand nombre d'isolats afin de mieux connaître la diversité génétique des populations de ce pathogène *V. oleaginea* ;
- Favoriser l'étude d'agents biologiques : Évaluation de l'effet anti-fongique *in vitro* et *in vivo* de plusieurs extraits (aqueux et organique) et huiles essentielles des plantes médicinales et aromatiques contre les différents agents causaux des maladies phytopathologiques.

Ainsi, comme perspectives de cette étude préliminaire, ce travail va être complété et, déboucher sur d'autres axes de recherches à savoir :

- ✓ L'étude de métabolites secondaires de l'olivier pour mieux contrôler ce pathogène. Des études complémentaires doivent être envisagées sur la dynamique épidémiologique des ascomycètes parasites de l'oléiculture présentant deux aspects très importants : l'évaluation de la quantité d'inoculum et de son évolution, et l'identification des évènements climatiques donnant lieu à une contamination ;
- ✓ Purification des principes actifs des plantes d'intérêt en vue de développer des produits Bio-pesticides non toxiques et non polluants à l'environnement, afin de diminuer le taux d'infection de ce pathogène ;

Ces travaux relatifs à la distribution du *V. oleaginea* en Algérie mériteraient d'être étendus aux zones qui n'ont pu être prospectées.

# **Références Bibliographiques**



## Références bibliographiques

### A

\*\*\*\*\*

1. **Abuamsha R., Abueid M., Hajjeh H., et Salman M. 2013.** Evaluation of the incidence et gravité de la tâche des feuilles d'olivier causée par *Spilocaea oleaginea* dans différents cultivars d'oliviers en Palestine. *Journal of Agriculture and Environment for International Développement*, 107 (2): 201-212.
2. **Adamou S., Bourennane N., Haddadi F., Hamidouche S., et Sadoud S. 2005.** Quel rôle pour les fermes pilotes dans la préservation des ressources génétiques en Algérie. Série de documents de travail, 126 : 119p.
3. **Afidol. 2013.** Le Nouvel Olivier. La revue technique et économique de l'oléiculture. *Association Française Interprofessionnelle de l'olivier*, n°134, 94p.
4. **Alcazar Roman., Amoros J.A., Pérez de los Reyes C., Garcia Navarro F.J., et Bravo S. 2014.** Étude de la teneur en éléments majeurs et en éléments traces dans les feuilles d'olives. *Journal Officiel du Conseil Oléicole International*, 119: 1-7.
5. **Al-Khatib M., Alhussaen K., El-Banna N., & Zyadeh M. 2010.** Biological control of olive leaf spot (peacock spot disease) caused by *Cycloconium oleagineum* (*Spilocaea oleaginea*). *Journal Microbiologie Antimicrobe*, 2 (6): 64-67p.
6. **Amarni A. 2015.** Huile d'olive, L'Algérie est le 7<sup>ème</sup> producteur mondial. <https://www.algerie360.com/huile-dolive-lalgerie-est-le-septieme-producteur-mondial>.
7. **Argenson C., Regis S., Jourdain JM., et Yaysse P. 1999.** L'olivier. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes (CTIFL), Paris, 204 p.
8. **Assawah M.W. 1967.** *Cycloconium* leaf spot of olive in Egypt. *Phytopathology Mediterranean*, 6 (3): 144-148.
9. **Athéna Seyed Esmail. 2011.** Études mycologiques et moléculaires à partir de mycélium pur de *Ganoderma boninense*, impliqué dans le dépérissement des palmiers à huile. Toulouse. Mémoire de Master : Génie biologique. Université Toulouse, 31p.

### B

\*\*\*\*\*

10. **Baali-Cherif D., & Besnard G. 2005.** High Genetic Diversity and Clonal Growth in Relict Populations of *Olea europaea* subsp. *laperrinei* (*Oleaceae*) from Hoggar, Algeria. *Annals of Botany*, 96 (5): 823-830.
11. **Barjol Jean-Louis. 2014.** L'économie mondiale de l'huile d'olive. *Conseil Oléicole International*, 21 (5), 502p.
12. **Barnett H.L., Barry Hunter B. 1972.** Illustrated genera of imperfect fungi. Third Edition. *Burgess Publishing Company*. 239p.
13. **Bartolini G., & Petrucelli R. 2002.** Classification, origin, diffusion and history of the olive. *Food Agriculture Org.* Rome, Italy. 74 p.

14. **Belaj A., Rallo L., Trujillo I., & Baldoni L. 2004.** Using RAPD and AFLP markers to distinguish individuals obtained by clonal selection of 'Arbequina' and 'Manzanilla de Sevilla' olive. *Horticultural Science* 39 (7): 1566–1570.
15. **Benhayoun Gilbert et Lazzeri Yvette. 2007.** L'olivier en Méditerranée du symbole à l'économie. Editions Le Harmattan, 140: 122-123.
16. **Benitez Y., Botella M., Trapero A., Alsalimya M., Caballero JL., Dorado G., and Munoz-Blanco J. 2005.** Molecular analysis of the interaction between *Olea europaea* and the biotrophic fungus *Spilocoaea oleaginea*. *Molecular Plant Pathology*, 6: 425-438.
17. **Ben Tekaya I., Hassouna M. 2005.** Étude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra Tunisienne au cours de son stockage. *Oléagineux, Crops Gras, Lipides*. 12 (5-6): 447-454.
18. **Bernese J. 1923.** Les parasites de l'olivier au congrès oléicole de Nice. *Progrès de l'agriculture et de viticulture*, 80: 518-524.
19. **Bernaschina Y., Leoni C., and Alaniz S. 2020.** Genetic diversity evidence a mixed reproduction mode in *Venturia oleaginea* populations in Uruguay. *Journal of Plant Pathology*, 102: 123-133.
20. **Besnard G., Khadari B., Baradat P., Berville A. 2002.** *Olea europaea* (*Oleaceae*) phylogeography based on chloroplast DNA polymorphism. *Theoretical Applied Genetics*, 104: 1353-1361.
21. **Blancard D., Lot H., and Maisonneuve B. 2003.** Maladies des salades : identifier, connaître et maîtriser. Institut National de la Recherche Agronomique. Paris : 267-271p.
22. **Boulila M., and Mahjoub. 1994.** Inventaire des maladies de l'olivier en Tunisie. *EPPO Bulletin*, 24: 817–823.
23. **Bourbos V.A. and Skoudridakis M.T. 1993.** Efficacité de quelques fongicides cupriques à l'égard de *Spilocoaea oleagina*. *EPPO Bulletin*, 23 (3) : 393-397.
24. **Breton C., Tersac M., & Bervillé A. 2006.** Genetic diversity and gene flow between the wild olive (*Oleaster*, *Olea europaea* L.) and the olive: several plio-pleistocene refuge zones in the Mediterranean basin suggested by simple sequence repeats analysis. *Journal of Biogeography*, 33 (11): 1916-1928.

**C**

\*\*\*\*\*

25. **Carson CA., Shear BL., Ellersieck MR., & Schnell JD. 2003.** Comparison of ribotyping and repetitive extragenic palindromic-PCR for identification of fecal *Escherichia coli* from humans and animals. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (3): 1836-1839.

26. **Castellani E. 1952.** Phytopathological problems in the central-southern states of Brazil. *Phytopathological problems in the central-southern states of Brazil*. 413-484p.
27. **Charan AR., Reddy P., Reddy N., Reddy SS., & Sivaramakrishnan S. 2011.** Assessment of genetic diversity in *Pseudomonas fluorescens* using PCR-based methods. *Bioremediat Biodivers Bioavailab*, 5 (1): 10-16.
28. **Conseil Oléicole International. 2001.** Le marché mondial des huiles d'olives : pour augmenter la consommation d'un soutien promotionnel est nécessaire. *Olivae*, 87: 22-24.
29. **Cordeiro A.I., Sanchez-Sevilla J.F., Alvarez-Tinaut M.C., & Gomez-Jimenez M.C. 2008.** Genetic diversity assessment in Portugal accessions of *Olea europaea* by RAPD markers. *Biologia Plantarum*, 52: 642-647.
30. **Costa C. 1998.** Olive production in South Africa: A Hand Book for Olive Growers. *Agricultural Research Council Press*, 124p.
31. **Coxam Véronique., Wauquier Fabien., Darie Cédric., Spilmont Mélanie., Davicco Marie-Jeanne et Wittrant Yohann., 2014.** Huil ed 'olive et santé osseuse. *Oil seeds and fats, crops and lipids*, 21 (5), 7p.
32. **Cumagun CJR., Hockenhull J., & Lubeck M., 2000.** Characterization of *Trichoderma isolates* from Philippine rice fields by UP-PCR and rDNA-ITSI analysis identification of UP-PCR markers. *Journal of Phytopathology* 148 (2): 109-115.
33. **Cyril Msimango Zakhele. 2015.** Screening of Olive Cultivars for Tolerance to *Fusicladium oleagineum* in South Africa. *Professional Agricultural Workers Journal*: 3(1), 12.

**D**

\*\*\*\*\*

34. **D'amato G., Mullins J., Nolard N., Spieksma F.T.M., & Wachter R. 1988.** City spore concentration in the European Economic Community (EEC). VII. *Oleaceae* (*Fraxinus, Ligustrum, Olea*). *Clinical & Experimental Allergy*, 18 (6): 541-547.
35. **De Marzo L., Frisullo S., Lops F., Rossi V. 1993.** Possible dissemination of *Spilocaea oleaginea* conidia by insects (*Ectopsocus briggsi*). *EPPO Bulletin*, 23: 389-391.
36. **Del Rio J.A; Baidez G; Botia J.M; & Ortuno A. 2003.** Enhancement of phenolic compounds in olive plants (*Olea europaea L.*) and their influence on resistance against *Phytophthora* sp. *Food Chemistry*, 83 (1): 75-78.
37. **Dunkle L.D and Levy M. 2000.** Genetic relatedness of African and United States Populations of *Cercospora zaeae-maydis*. *Phytopathology*, 90 (5): 486-490.

**E**

\*\*\*\*\*

38. **Estruch R, Ros E., et Martínez-González MA., 2013.** Régime méditerranéen pour la prévention primaire des maladies cardiovasculaires. *Journal de médecine de la Nouvelle-Angleterre*, 369 (7): 676-677.

**F**

\*\*\*\*\*

39. **Fabbri A., & Benelli C. 2000.** Article de révision Induction et différenciation des boutons floraux chez l'olivier. *Journal des Sciences Horticoles et de la Biotechnologie*, 75 (2) : 131-141.
40. **Ferris MJ., Kuhl M., Wieland A., et Ward DM. 2003.** Cyanobacterial ecotypes in different optical microenvironments of a 68°C hot spring mat community revealed by 16S-23S rRNA internal transcribed spacer region variation. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (5): 2893-2898.
41. **Ferguson L., et Vossen P.M. 2009.** *Verticillium wilt*. *Verticillium wilt*, 3452p.
42. **Fredon-Corse. 2010.** Fédération régionale de défense contre les organismes nuisibles. <http://www.fredon-corse.com/maladie-oeil-de-paon.html>.
43. **Friday O., Obanor., Monika Walter E., Eirian Jones., Judith Candy and Marlene V. Jaspers. 2010.** Genetic variation in *Spilosea oleaginea* populations from New Zealand olive groves. *Australasian Plant Pathology*, 39: 508-516.

**G**

\*\*\*\*\*

44. **Georghiou G.P. 1957.** Olive leaf spot disease in Cyprus and its control. *World Crops*, 9: 63-65.
45. **Gomes S., Martins-Lopes P., & Guedes-Pinto H. 2012.** Olive Tree Genetic Resources Characterization through Molecular Markers, *Genetic Diversity in Plants*, 16p.
46. **Gigon F., Le Jeune R. 2010.** Huile d'olive, *Olea europaea L.*, *Phytothérapie* 8: 129-135.
47. **Gimeno E., Fito M., Lamuela-Raventos R. M., Castellote A., I., Covas M., & Farré M. 2002.** Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition. *European Journal of Chemical Nutrition*, 56: 114-120.
48. **Gonzalez-Lamothe., Segura R., Trapero A., Baldoni L., Botella M.A., Valpuesta V. 2002.** Phylogeny of the fungus *Spilosea oleaginea*, the causal agent of peacock leaf spot in olive. *FEMS Microbiology Letters*, 210 (1): 149-155.
49. **Goodwin SB., Saghai-Marroof MA., Allard RW., & Webster RK. 1993.** Isozyme variation within and among populations of *Rhynchosporium secalis* in Europe. Australia and the United State. *Mycological Research*, 97: 49-58.
50. **Gordon M. H., Paiva-Matins F., & Almeida M., 2001.** Antioxidant Activity of Hydroxytyrosol Acetate Compared with That of Other Olive Oil Polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 2480-2485.
51. **Gorter G.J. 1943.** A leaf spot disease of the olive farming in South African, *Journal of Botany*, 18: 795-798.
52. **Graniti A. 1993.** Olive scab: a review 1. *EPPO Bulletin*, 23 (3): 377-384.

53. **Guechi, A., and Girre, L. 1994a.** Leaf spot disease development in the region of Sétif, Algeria. Symposium International sur la Protection intégrée de l'olivier Sousse, Tunisie, 25-27.
54. **Guechi A., and Girre L., 1994b.** Sources of *Cycloconium oleaginum* (Cast.) conidia for infection of olive leaves and conditions determining leaf spot disease development in the region of Sétif, Algeria. *Mycopathologia*, 125: 163-171.
55. **Guechi A., 2001.** Prolifération et contrôle de la tavelure Cycloconimique des feuilles d'olivier en Algérie. Quatrièmes Journées Scientifiques et Techniques Phytosanitaires. Institut National de la Protection des Végétaux, El Harrach. Alger.

**H**

\*\*\*\*\*

56. **Hajjeh H., Salman M., Abuamsha R., Abueid M., Jawabreh M., Hawamda A., et Abu Rumaileh. 2014.** Infection latent de la maladie de la tache de l'olivier sur les olives Palestiniennes. *Annual Research and Review in Biology* 4: 2517-2524.
57. **Hadjou L., Lamani O., & Cheriet F. 2013.** Labellisation des huiles d'olives algériennes : contraintes et opportunités du processus ? *New Méditerranéenne*, 12 (2) : 35-46.
58. **Harwood John et Ramon Aparicio. 2000.** Hand book of olive oil: Analysis and properties, Aspen, *Gaithersburg, Maryland, États-Unis*. 513p.
59. **Henry S. 2003.** L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université Henri Poincare - Nancy 1. 127p.

**J**

\*\*\*\*\*

60. **José R., Viruega., Luis F., Roca., Juan Moral and Antonio Trapero. 2011.** Factors Affecting Infection and Disease Development on olive leaves inoculated with *Fusicladium oleagineum*. *Plant disease*, 95 (9): 1139-1146.

**K**

\*\*\*\*\*

61. **Karakaya S. 2009.** Olive tree (*Olea europaea*) leaves: Potential beneficial effects on human health: *Nutrition reviews*, 67 (11): 632-638.
62. **Karboua A. 2003.** La production et la consommation d'huile d'olive à l'horizon 2010 en Algérie. *Oliveae*, 99: 56-58.
63. **Karray Boubaker. 2002.** La filière huile d'olive en Tunisie : performances et stratégies d'adaptation, thèse présentée pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Montpellier I, 413 p.
64. **Karray Boubaker., Msallam Monji., Ksantini Mohieddine., Mahjoub Boujnah Dalenda et Grati Kamoun Naziha. 2009.** Programmes et acquis de recherches pour la rénovation de la filière huile d'olive et l'amélioration de ses performances. L'Institut de l'Olivier-Tunisie. 27p.

65. **Katsoyannos P. 1992.** Olive pests and their control in the Near East. *FAO Plant Production and Protection*, 115.
66. **Kechmadze L.A. 1972.** Quelques maladies oléagineuses et lutte contre les mini cultures subtropicales (2): 119-123.
67. **Khadari B. 2005.** Domestication et flux de gènes chez une espèce méditerranéenne, ligneuse et pérenne, l'Olivier, *Olea europaea* L. Thèse de Doctorat d'état, Université Abdelmalek Essaadi, Tetouan, 529p.
68. **Kleef Fatema et Mazen Salman. 2020.** Genetic diversity among *Spilocaea oleaginea* isolates from different regions in Palestine. *Journal of the Arab American University*, 6 (1), 13p.

### L

\*\*\*\*\*

69. **Laajimi A., Thabet B. 2006.** L'huile d'olive : un produit méditerranéen à valoriser davantage. *Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Méditerranéennes (CIHEAM)*. Note d'Alerte, (29).
70. **Laviola C. 1966.** Contribution to the knowledge of the biology of the *Spilocaea oleaginea* (Cast.) Hugh. *First Congress Mediterranean Phytopathology. Union, Bari*, 327-339.
71. **Laviola C., Scarito G. 1993.** Observations on spore production in *Spilocaea oleaginea* in southern Italy. *EPPO Bulletin*, 23 (3): 411-416.
72. **López-Doncel LM., García-Berenguer A., and Trapero A. 1999.** Resistance of olive tree cultivars to leaf spot caused by *Spilocaea oleagina*. *Acta Horticultural*, 474: 549-553.
73. **Lopez-Doncel L.M., Viruega J.R., Trapero A. 2000.** Respuesta del olivo a la inoculación con *Spilocaea oleaginea*, agente del Repilo. *Boletín de Sanidad Vegetal*, 26: 349-363.
74. **Lops F., Frisullo S., Rossi V. 1993.** Studies on the spread of the olive scab pathogen, *Spilocaea oleaginea*. *EPPO Bulletin*. 23: 385-387.
75. **Lumaret R., Ouzzani N. 2001.** Ancient wild olives in Mediterranean forests. *Nature* 413, 700.

### M

\*\*\*\*\*

76. **MacDonald A.J., Walter M., Trought M., Frampton C.M., & Burnip G. 2000.** Survey of olive leaf spot in New Zealand. *New Zealand Plant Protection*, 53: 126-132.
77. **MacDonald BA., Linde C. 2002.** Génétique des populations de pathogènes, potentiel évolutif et une résistance durable. *Annuaire lreview of phytopathology*, 40 (1) : 349-379.
78. **Martínez-González M.A. 2006.** Public health nutrition. Article intitulé « The SUN cohort study (Seguimiento University of Navarra) ». Département de Médecine

Préventive et de Santé Publique de l'Université de Navarre (Pampelune, Espagne) : 9 (1A): 127-31.

79. **Medeiro M.B. 2001.** Olive oil and health benefits functional foods. CRC Press: *Baca Raton*, 261-267.
80. **Mekuria G.T., Sedgly M., Collins G., & Lavee S. 2001.** Identification of genetic markers in olive linked to olive leaf spot resistance and susceptibility. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126 (3): 305-308.
81. **Mendil & Sebai. 2006.** L'olivier en Algérie. Alger. *Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière de la Vigne*, 26-97.
82. **Monji M. 2002.** Étude de la juvénilité chez l'olivier (*Olea europaea* L.). Aspects morphologiques, anatomiques, physiologiques et biochimiques. Thèse, Institut National Agronomique de Tunisie, 219 p.
83. **Morales R. 2002.** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In *Thyme: The genus Thymus*, 1: 1-43.
84. **Muzzalupo I., Vendramin GG., et Chiappetta A. 2014.** Genetic Biodiversity of Italian Olives (*Olea europaea*) Germplasm Analyzed by SSR Markers. *The Scientific World Journal*, 12.

N

\*\*\*\*\*

85. **Ngugi HK., King SB., Abayo GO., et Reddy YVR. 2002.** Prévalence, incidence et gravité des maladies du sorgho dans l'Ouest du Kenya. *Plant Disease*, 86: 65-70.
86. **Nouad. 2004.** L'huile d'olive, un créneau pour l'exportation. *Revue Internationale PME*, 23: 20-21.

O

\*\*\*\*\*

87. **Obanor E.O., Walter M., Jones E.E., & Jaspers M. V. 2005.** Sources of variation in a field evaluation of the incidence and severity of olive leaf spot. *New Zealand Plant Protection*, 58: 273-277.
88. **Obanor FO., Jaspers M.V., Jones E.E., and Walter M. 2008a.** Greenhouse and Field Evaluation of Fungicides for Control of Olive Leaf Spot in New Zealand, *Crop Protection*, 27 (10): 1335-1342.
89. **Obanor FO., Walter M., Jones EE., and Jaspers MV. 2008b.** Effect of temperature, relative humidity, leaf wetness and leaf age on *Spilocaea oleaginea* conidium germination on olive leaves. *European Journal of Plant Pathology*, 120 (3): 211-222.
90. **Obanor FO., Walter M., Jones EE., & Jaspers MV. 2010.** Genetic variation in *Spilocaea oleaginea* populations from New Zealand olive groves. *Australasian Plant Pathology*, 39: 508-516.

91. **Obanor FO., Walter M., Jones EE., & Jaspers MV. 2011.** Effects of temperature, inoculum concentration, leaf age, and continuous and interrupted wetness on infection of olive plants by *Spilocaea oleaginea*. *Plant Pathology*, 60 (2): 190-199.
92. **Obied HK., Prenzler PD., and Omar SH. 2012.** Pharmacology of Olive Biophenols. In: *Advances in molecular toxicology*, 6: 195-242.
93. **Oda Y., Star B., Huisman LA., Gottschal JC., & Fomey LJ. 2003.** Biogeography of the purple non sulfur bacterium *Rhodospseudomonas palustris*. *Applied and environmental microbiology*, 69(9): 5186-5191.
94. **Outassourt Abdelaziz. 1983.** Étude de quelques aspects de la maladie de l'œil de paon de l'olivier due au *Cycloconium oleaginum*. Mémoire de 3<sup>ème</sup> cycle agronome. Rabat, 112p.

**P**

\*\*\*\*\*

95. **Palma G., Padilla M. 2012.** Un produit emblématique à la dérive des continents et des consommateurs : l'huile d'olive. *Oléagineux, Crops gras, Lipides*, 19(5): 283-289.
96. **Pilly E. 2018.** Maladies infectieuses et tropicales : tous les items d'infectiologie, *Paris, Alinea Plus*, 720 p.
97. **Pitsavos C., Panagiotakos DB., Tzima N., Chrysohoou C., Economou M., Zampelas A., et Stefanadis C. 2005.** *The American Journal of Clinical Nutrition* : 82 (3) : 694-9.
98. **Pottinger B., Stewart A., Carpenter M., & Ridgway HJ. 2002.** Low genetic variation detected in New Zealand populations of *Phaeomoniella chlamydospora*. *Phytopathologia Mediterranea*, 41: 199-211.
99. **Purcaro G., Codony R., Pizzale L., Mariani C., & Conte L. 2014.** Evaluation of total hydroxytyrosol and tyrosol in extra virgin olive oils. *European Journal Lipid Science and Technology*, 116(7): 805-811.

**Q**

\*\*\*\*\*

100. **Quiralte J., Florido F., Arias de Saavedra J.M., Gomez A., Saenz de San Pedro B., Gonzalez E., Rodriguez R. 2002.** Olive allergen-specific IgE responses in patients with *Olea europaea pollinosis*. *Allergy*, 57: 47-52.

**R**

\*\*\*\*\*

101. **Rbeiro-Santos R., Carvalho-Casta D., Cavaleiro C., Costa H.S., Albuquerque T.G., Castilho M.C., & Sanches-Salva A. 2015.** A novel insight on ancient aromatic plant: The rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Trends in Food Science & Technology*, 45 (2): 355-368.
102. **Rebour H., 2005.** Situation actuelle de l'oléiculture en Algérie. Série économique n°46 : 6 p.
103. **Rhouma M., Chettaoui S., Krid H., Elbsir M., Msallem and Triki M. A. 2013.** Evaluation of susceptibility of an olive progeny (Picholine x Meski) to olive leaf spot

disease caused by *Fusicladium oleagineum*. *European Journal of Plant Pathology*, 135 (1): 23-33.

104. **Roca L.F., Moral J., Viruega J.R., Avila A., Oliveira R., and Trapero A. 2007.** Copper fungicides in the control of olive diseases. *Olea* 26: 48-50.

105. **Rubio de Casas R., Besnard G., Schoenswetter P., Balguer L., & Vargas P. 2006.** *uropea L. Theoretical and Applied Genetics*, 113: 575-583.

**S**

\*\*\*\*\*

106. **Saad A. T., Masri S. 1978.** Epidemiological studies on olive spot incited by *Spilocaea oleaginea*. *Phytopathologia Mediterranea*, 17: 170-154.

107. **Saillard Morgane. 2014.** Les effets “Santé” de l’huile d’olive. *Oilseeds and fats, crops and lipids*, 21 (5), 510p.

108. **Salman M., Hawamda A., Amarni AA., Rahil M., Hajjeh H., Natsheh B., & Abuamsha R. 2011.** Evaluation of the incidence and severity of olive leaf spot caused by *Spilocaea oleaginea* on olive trees in Palestine. *American Journal of Plant Sciences*, 2 (3): 457-460.

109. **Salman M. 2017.** Biological control of *spilocaea oleaginea* causal agent of olive leaf spot disease, using antagonistic bacteria, *Journal of Plant Pathology*, 741-744.

110. **Sánchez-Quesada C., López-Biedma A., Warleta F., Campos M., Beltrán G., & Gaforio JJ. 2013.** Bioactive Properties of the Main Triterpenes Found in Olives, Virgin Olive Oil, and Leaves of *Olea europaea*. *Journal Agricultural Food Chemical*, 61: 12173-12182.

111. **Sanei SJ., Okhovvat SM., & Taheri AH. 2005.** Investigation on diseases of olive trees and seedlings in Iran 57<sup>th</sup> International Symposium on Crop Protection, Ghent University, 64p.

112. **Sanei SJ., Razavi SE., Ghanbarnia K. 2010.** Fungi on Plants and Plant Products in Iran. Peik-e-Reihan publication, *Gorgan*, 680p.

113. **Sanei SJ., and Razavi SE. 2011.** Survey of *Spilocaea oleaginea*, causal agent of olive leaf spot, in North of Iran. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 2 (3): 3-38.

114. **Schubert K., Ritschel A., Braun U. 2003.** A monograph of *Fusicladium* sp. *Hyphomycetes*, 9: 71-132.

115. **Servili M., Esposito S., Fabiani R. 2009.** Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and sensory activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology*, 17: 76-84.

116. **Servili M., Sordini B., Esposito S. 2014.** Biological Activities of Phenolic Compounds of Extra Virgin Olive Oil. *Antioxidants* 3: 1-23.

117. **Sergeeva V., Braun U., Spooner-Hart R., Nair N. G. 2009.** Observations on spot caused by *Fusicladium oleagineum* on olives (*Olea europaea*) in New South Wales, Australia. *Australasian Plant Disease*, 4 (1): 26-28.
118. **Serrhini, MN., Zeroual, A. 1995.** La Verticilliose de l'olivier au Maroc. *Olivae*, 58: 58-61.
119. **Shabi E., Birger R., Lavee S., Klein I. 1994.** Leaf spot (*Spilocaea oleaginea*) on olive in Israel and its control. *Acta Horticulturae*, 356: 390-394.
120. **Sistani F., Ramezanpour S.S., and 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.
121. **Soriguer F., Rojo-Martinez G., and Goday A., Bosch-Comas A., Bordiu E., Caballero-Diaz F., & Vendrell J. 2013.** Olive oil has a beneficial effect on impaired glucose regulation and other cardio metabolic risk factors. *European Journal of clinical nutrition*, 67 (9): 911-916.
122. **Spooner-Hart R., Tesoriero L., Hall B., Page F., Learmonth S., & Conlan D. 2002.** Progress towards pest and disease management in Australian olive production. *Advances in Horticultural Science*, 16: 218-224.
123. **Sultana M., Hussein et Nwara A., Mohammed. 2010.** Effect of olive fruits infection with *Spilocaea oleagina* fungus on the quality of extracted oil. *Magazine Science El Raffidaine* 21: 41-56.
124. **Sutter EG. 1994.** Olive cultivars and propagation, p. 23–25. In: L. Ferguson, G.S. Sibbett, and G. Martin (eds.). Olive production manual. University of California, *Division of Agronomy and Natural Resources*, 3353.
125. **Syed Haris Omar. 2010.** *Oleurope* in olive and its pharmacological effects. *Scientia Pharmaceutica*, 78 (2): 133-154.
- T**  
\*\*\*\*\*
126. **Tajnari H. 1999.** La maladie de l'œil de paon. *Journée Nationale sur la protection de l'olivier*. Marrakech. 67-70p.
127. **Tenzer I., Gessler C., 1997.** Subdivision and genetic structure of four populations of *Venturia inaequalis* in Switzerland. *European Journal of Plant Pathology*, 103, 565-571.
128. **Terral J.F., Alonso N., Capdevila R.B.I., Chatti N., Fabre L., Fiorentino G., and Alibert P. 2004.** Historical biogeography of olive domestication (*Olea europaea* L.) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archaeological material. *Journal Biogeography*, 31 (1): 63-77.
129. **Teviotdale B.,L. Sibbett S.G et Harper D.H.t. 1989.** Several copper fungicides

control olive leaf spots. *California Agricultural*, 43: 30 -31.

130. **Trapero Cassas A. 1994.** El repilo del olivo. *Agricultural*, 746: 788-790.
131. **Trapero A., Virgüea J.R., & Lopez Doncel L.M. 2001.** El Repilo, o caída de las hojas del olivo, en España. *Vida Rural*, 15: 46-50.
132. **Trapero A., and Roca L.F. 2004.** Bases epidemiológicas para el control integrado de los « Repilos » del olivo. *Phytoma España*, 164 : 130-137.
133. **Trapero A., Lopez-Doncel L.M. 2005.** Resistencia y susceptibilidad al Repilo. En : Variedades del olivo en España. Madrid : *Juntade Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa*, 321-328.
134. **Trapero A., Blanco M.A. 2008.** Enfermedades. El cultivo del olivo. *Coedición Juntade Andalucía/Mundi-Prensa*, Madrid, 595-656.
135. **Triki M.A., Rhouma A., Larbi A., Baklouti H., Souf M., Ouertani K., Bakkeri F., & Msallem M. 2008.** Evaluation de la tolérance de quelques variétés d'olivier et hybrides issus de croisement dirigés à la maladie de l'œil de paon. *Symposium International sur la Protection intégrée de l'olivier Sousse, Tunisie*, 08: 25-27.

**V**

\*\*\*\*\*

136. **Vendredi O., Obanor., Walter Monika., Eirian Jones E., Judith Bonbons., Marlene V., & Jaspers. 2013.** La variation génétique dans les populations *Spilocaea oleaginea* de l'olivier. Nouvelle-Zélande. *Australian Plant Pathology*. 39 (6): 508-516.
137. **Viruega JR., Lique F., Trapero A. 1997.** Caída de aceituna de bida un infecciones del pedúnculo por *Spilocaea oleaginea*, agente del repilo del Olivo. *Friticultura Profesional*, 88, 48-54.
138. **Viruega JR., and Trapero A. 1999.** Epidemiologie de la tâche d'olivier causée par *Spilocaea oleaginea* dans le sud de l'Espagne. *Acta Horticulturae*. 474, 531-534.
139. **Viruega JR., and Trapero A. 2002.** Effect of temperature, wetness duration and leaf age on infection and development of olive leaf spot. *Acta Horticulturae*, 586: 797-800.
140. **Viruega R., Moral J., Roca LF., Navarro N., & Trapero A. 2013.** *Spilocaea oleaginea* in Olive Groves of Southern Spain: Survival, Inoculum Production and Dispersal. *Plant Disease*, 97(12): 1549-1556.
141. **Viruso C., Accardi G., Colonna Romano G., Candore G., Vasto S., Caruso C. 2013.** Nutraceutical properties of extra virgin olive oil: a natural remedy for age-related disease. 12p.
142. **Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Van de Lee T., Hornes M., Frijters**

**A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., and Zabeau M. 1995.** AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*, 23: 4407-4414.

**W**

\*\*\*\*\*

143. **Wiesman Z. 2009.** "Advanced Biotechnologies". Chapter 11-Olive-oil quality biotechnologies. 257-302.

144. **Wilson EE., Miller HN. 1949.** Olive leaf spot and its control with fungicides. *Hilgardia*, 19: 1-24.

145. **Wilson EE., Ogawa JM. 1979.** Fungal, bacterial, and certain non-parasitic diseases of fruit and nut crops in California. *Division of Agricultural Science*, University of California: Berkeley. 190pp.

146. **Williams JG., Kubelik AR., Livak KJ., Rafalski JA., Tingey SV. 1990.** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, 18: 6531–6535.

**Z**

\*\*\*\*\*

147. **Zakhama N., Bettaieb I., Aidi Wannes W., & Marzouk B. 2011.** Vitamins evaluation of virgin Tunisian olive oils by HPLC-RP. *Sostanze Grasse*, 88: 240-243.

148. **Zouiten Nezha., El Hadrami Ismail. 2001.** Le psylle de l'olivier : État des connaissances et perspectives de lutte. *Cahiers Agricultures*, 10 (4): 225-232.

## المراجع بالعربية

149. **الأحمد ماجد. 1987.** مرض تبقع عين الطاووس على الزيتون في سورية- مجلة المهندس الزراعي العربي، العدد 19: 87-91.
150. **الأحمد ماجد و موصلي نذير. 1988.** المسببات الفطرية لتدهور أشجار الزيتون في المنطقة الساحلية من سورية، كتاب ملخصات المؤتمر العربي الثالث لعلوم وقاية النبات، 126.
151. **الأحمد ماجد و موصلي نذير. 1989.** مكافحة مرض تبقع عين الطاووس في أفات وأمراض شجرتي الزيتون والتفاح في المنطقة الساحلية البحوث- دمشق، 20-34.
152. **قشي وليد و عبد اللطيف لويك. 1991.** العوامل المؤثرة في إنبات الأبواغ الكونيدية للفطر المسبب لمرض تبقع عين الطاووس على أشجار الزيتون. مجلة وقاية النبات العربية، مجلد 9: 88-94.
153. **وليد، عبد اللطيف وقشي عبد الهادي. 1994.** دراسة بعض الخصائص البيولوجية للفطر وقاية النبات *Spilocaea oleaginea* المسبب لمرض عين الطاووس في أوراق الزيتون، مجلة العربية، مجلد، 12 (2): 92-98.
154. **حسن محمود وراعي سليم. 2004.** أمراض النبات (خاص) مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية، جامعة تشرين، 377ص.
155. **حسن محمود 2007.** تأثير ارتفاع الأشجار و جهاتها الأربع و عمرا لأوراق في تطوير الإصابة عين الطاووس على أوراق الزيتون المتسبب عن الفطر، *Spilocaea oleaginea* بمرض في محافظة طرطوس، مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية سلسلة العلوم البيولوجية، 29 (27) 36: ص. (مركز لتوثيق والمعلومات بالجمهورية العظمى).
156. **حسن محمود. 2008.** تأثير الوسط PH والجهات الأربع للأشجار ومدة حفظ الأوراق المصابة في إنبات الأبواغ الكونيدية *Spilocaea oleaginea* المغذي المسبب لمرض عين الطاووس في محافظة للفطر طرطوس. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية- سلسلة العلوم البيولوجية المجلد، 30 (2) : 41-50.

# Annexe



## Liste des annexes

**Annexe 1 :** Wilayas oléicoles prospectées en Algérie durant les campagnes 2013, 2014 et 2015.

Années Wilayas	Campagne 2013	Campagne 2014	Campagne 2015
<b>Ouest</b>	Mostaganem, Relizane, Mascara, Saida, Chlef, Sidi Bel Abbés, Oran, Ain-Temouchent, Tlemcen, Tiaret, Ain-Defla.	Mostaganem, Relizane, Mascara, Saida, Chlef, Sidi Bel Abbés, Ain-Temouchent, Oran, Ain-Defla, Tlemcen.	Mostaganem, Relizane, Mascara, Chlef, Sidi Bel Abbés, Oran, Ain-Temouchent, Tlemcen, Ain Defla.
<b>S/Total</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>09</b>
<b>Est</b>	Souk-Ahras, Annaba, Guelma, Bordj Bou Arreridj, Skikda, El-Tarf, Constantine, Sétif, Jijel, Mila.	Souk-Ahras, Annaba, Guelma, Mila, Bordj Bou Arreridj, Skikda, El-Tarf, Constantine, Sétif, Jijel, Khenchla.	Souk-Ahras, Annaba, Guelma, Bordj Bou Arreridj, Skikda, Oum El Bouaghi, Mila, El-Tarf, M'sila, Sétif, Jijel, Khenchla, Constantine, Batna, Tébessa.
<b>S/Total</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>15</b>
<b>Centre</b>	Alger, Boumerdes, Médéa, Blida, Bejaia, Tizi-Ouzou, Djelfa.	Alger, Blida, Boumerdes, Médéa, Djelfa, Bejaia, Tizi-Ouzou.	Tipaza, Boumerdes, Blida, Alger, Médéa, Bouira, Djelfa, Tizi-Ouzou.
<b>S/Total</b>	<b>07</b>	<b>07</b>	<b>09</b>
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>28</b>	<b>33</b>

### Annexe 2 : Fiche d'enquête

#### Données sur le verger

- Commune : ..... Wilaya : .....
- Superficie : .....
- Système de conduite : .....
- Type de sol : .....
- Coordonnées géographiques: .....

#### Données sur la culture

- Précisé la culture de l'olivier, soit en : Verger  En masse  Autres
- Origine : .....
- Variété : .....
- Date de plantation : .....
- Stade végétatif : .....
- Date de prospection : .....
- Pratiques culturales utilisées : .....
- Présence de la tavelure :
- Année d'apparition : .....
- Taux d'infection (%) : .....
- Nombre total d'arbre : .....
- Nombre d'arbre infecté : .....
- Traitements phytosanitaires utilisés contre la tavelure (Période d'application, la dose et le nombre d'utilisation): .....

**Annexe 3 : Caractéristiques des vergers oléicoles prospectés dans les différentes wilayas durant les campagnes 2013, 2014 et 2015.**
**❖ Campagne 2013**

	Wilayas	Nbre de communes	Nbre de verges	Sup. (ha)	Ages (ans)	Variétés	Types de sol	Mode de conduite
<b>O U E S T</b>	Mostaganem	17	132	0,5 à 20	05 à >50	Sigoise	S, A, S-L.	Seguia et G à G
	Relizane	08	139	0,5 à 30	03 à >50	Sigoise	A, S, A-L, S-L.	Seguia
	Mascara	14	11	01 à 25	03 à >80	Sigoise	A-L, L-A.	Seguia et G à G
	Saida	05	14	01 à 06	04 à 12	Sigoise	L-A.	Seguia
	Chlef	14	19	0,5 à 15	02 à >80	Sigoise, chemlal (très peu)	L-A, A-L.	Seguia et G à G
	Sidi Bel Abbés	05	10	01 à 15	02 à >50	Sigoise	A-L	Seguia et G à G
	Oran	14	33	1,5 à 20	02 à >60	Sigoise, chemlal (très peu)	L-A, A-L, A-C.	Seguia et G à G
	Ain-Temouchent	13	22	0,5 à 14	02 à >60	Sigoise, chemlal (très peu)	A-C, A-L, L-A.	Seguia
	Tlemcen	08	10	1,5 à 18	03 à >80	Sigoise, chemlal, sylviane, picholine	L-A, A-L, S-L.	Seguia
	Tiaret	02	02	0,5 à 02	04 à 10	Sigoise	A-L.	Seguia
	Ain Defla	02	02	01 et 14	04 et 60	Sigoise	L-A.S-L.	Seguia
<b>E S T</b>	Souk Ahras	07	05	1,5 à 30	02 à >80	Chemlal, arbequina, sigoise	L-A.	Seguia
	Annaba	04	06	01 à 12	08 à >50	Sigoise, chemlal, rougette	L-A, A-L.	Seguia
	Guelma	06	06	02 à 13	03 à >80	Blanquette	L-A.	Cuvette
	El Tarf	02	02	04	08 et 11	Sigoise	L-A.	Cuvette
	Bordj Bou Arreridj	03	03	01 à 12	02 à 12	Sigoise, chemlal	A-L.	Seguia
	Constantine	09	12	0,25 à 14	02 à >50	Manzanille, arbequina, frantoi	A-C, A-L.	Seguia et G à G
	Mila	08	08	02 à 17	02 à >40	Sylviane, sigoise, chemlal	A-L.	Seguia
	Skikda	06	09	02 à 14	02 à >80	Sigoise, chemlal, blanquette	L-A.	Seguia
	Sétif	11	12	01 à 12	02 à 60	Sigoise, chemlal	A, L-A.	Seguia
<b>C E N T R E</b>	Jijel	05	05	0,25 à 2,5	03 à 25	Sigoise, chemlal	A-L, S-L.	Seguia et G à G
	Alger	06	07	01 à 4,5	03 à >30	Sigoise, chemlal	A-L.	Seguia et G à G
	Boumerdes	09	10	01 à 15,5	08 à >70	Chemlal, sigoise, azerradj	A-L, A.	Seguia, non irrigué
	Médéa	06	09	01 à 14	03 à >50	Sigoise, chemlal	A.	Seguia
	Blida	07	10	0,25 à 20	02 à >60	Sigoise, chemlal, manzanille	A, L-A, A-C.	Seguia et G à G
	Tizi Ouzou	12	12	0,25 à >20	02 à 80	Sigoise, chemlal	A-L, L, S, A.	Seguia
	Bejaia	02	04	05 et 16	05 et 16	Chemlal, azerradj	L-A. S.	Seguia et G à G
Djelfa	01	03	03 à 06	05 à 11	Sigoise	S.	G à G	
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>206</b>	<b>517</b>			-		

## ❖ Campagne 2014

	Wilayas	Nbre de communes	Nbre de verges	Sup. (ha)	Agés (ans)	Variétés	Types de sol	Mode de conduite
O U E S T	Mostaganem	15	97	0,5 à 20	02 à >50	Sigoise, chemlal (très peu)	S,S-L, A.	Seguia
	Relizane	10	120	01 à 30	02 à >50	Sigoise, chemlal, sylviane	S, A, L.	Seguia
	Mascara	09	20	01 à 24	05 à 16	Sigoise, rougette	A-L, L-C	Seguia
	Saida	05	10	05 à 12	02 à 06	Sigoise	L-A, A.S.	Seguia
	Chlef	04	04	0,5 à 35	02 à >50	Sigoise, chemlal	S-L	Seguia, G à G
	Sidi Bel Abbés	08	16	0,5 à 40	03 à 100	Sigoise	L, A-L.	Seguia, G à G, non irrigué
	Oran	06	12	02 à 11	04 à >100	Sigoise, chemlal (très peu)	A-L	Seguia, G à G
	Ain-Defla	02	02	01 et 15	04 et 60	Sigoise	L-A, S-L	Seguia
	Tlemcen	15	38	0,5 à 20	05 à >90	Sigoise, chemlal (très peu)	A-L, L, A-C.	Seguia, non irrigué
	Ain-Temouchent	04	08	01 à 25	07 à >60	Sigoise, chemlal	A-L, A.C	Seguia, G à G
E S T	Khenchla	03	05	0,5 à 20	01 à 10	Sigoise, chemlal	A-L, S.	Seguia, G à G
	Annaba	03	04	01 à 10	08 à 12	Sigoise, chemlal, rougette	L-A, A-L.	Seguia
	Guelma	03	03	06 à 30	08 à >80	Sigoise, blanquette	L-A, L-A.	Seguia
	El Tarf	05	06	01 à 15	08 à >50	Chemlal, rougette, arbequina	A-L, L-A, A.	Seguia, non irrigué
	Souk Ahras	04	08	03 à 10	05 à 12	Chemlal, arbequina, sigoise	L-A.	Seguia
	Bordj Bou Arreridj	03	05	03 à 12	1,5 à 30	Chemlal	A-L.	Seguia
	Constantine	07	07	1,5 à 20	06 à >50	Sigoise, manzanille, frantoi	A-C.	Seguia, G à G
	Skikda	05	05	2,5 à 08	11 à >50	Sigoise, chemlal, blanquette	L-A	Seguia
	Sétif	06	08	0,5 à 22	05 à >50	Sigoise, chemlal	A-C, A-L, A.	Seguia, non irrigué
	Jijel	04	04	0,5 à 2,5	3 à 25	Sigoise, chemlal	A-L, S-L.	Seguia, G à G
Mila	05	05	02 à 35	06 à >50	Sigoise, chemlal, sylviane	A-L.	Seguia	
C E N T R E	Alger	06	10	2,5 à 4,5	08 à >50	Sigoise, chemlal	A-L, L.	Seguia, G à G
	Boumerdes	09	18	1,5 à 18	08 à 90	Sigoise, chemlal, azerradj	L-A, A.	Seguia, non irrigué
	Médéa	03	05	01 à 20	07 à >50	Sigoise, chemlal	A	Seguia
	Blida	05	10	0,5 à 12	05 à >50	Sigoise, chemlal	L, A	Seguia, G à G
	Tizi Ouzou	10	12	02 à 21	08 à >70	Chemlal	A-L, L-A.	Seguia, non irrigué
	Bejaia	02	06	06 à 22	06 à >90	Chemlal, azerradj, limli	L-A, A-L	Seguia, non irrigué
	Djelfa	01	04	03 à 05	05 à 11	Sigoise, chemlal	S.	G à G
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>162</b>	<b>452</b>			-		

## ❖ Campagne 2015

	Wilayas	Nbre de communes	Nbre de verges	Sup. (ha)	Agés (ans)	Variétés	Types de sol	Mode de conduite
<b>O U E S T</b>	Relizane	09	109	0,5 à 15	10 à >50	Sigoise	A-L, A.	Seguia
	Mostaganem	09	35	0,5 à 08	03 à >50	Sigoise	A, S-L, S, L.	Seguia, G à G
	Mascara	06	42	01 à 12	02 à >50	Sigoise	A-L, L-A.	Seguia
	Oran	08	38	01 à 20	03 à >60	Sigoise, chemlal (très peu)	A-L, A.	Seguia, G à G
	Ain-Temouchent	06	23	0,5 à 08	07 à >60	Sigoise, chemlal (très peu)	A-L, A.	Seguia
	Tlemcen	10	46	0,5 à 18	03 à >80	Sigoise, Chemlal, sylviane	A-L.	Seguia
	Chlef	05	20	0,5 à 10	02 à >50	Sigoise, chemlal	A-L.	Seguia
	Sidi Bel Abbés	04	22	01 à 30	04 à >50	Sigoise, Chemlal	A-L	Seguia, G à G
	Ain Defla	01	04	1,5 à 06	3 à >50	Sigoise, Chemlal	A-L.	Seguia
<b>E S T</b>	B.B.A	02	05	02 à 07	02 à 14	Sigoise, Chemlal	A-L, C.	Seguia, G à G
	Souk Ahras	01	06	02 à 07	03 à 07	Chemlal	A-L.	Seguia
	M'sila	03	15	0,5 à 05	04 à 15	Sigoise, Chemlal	A.	Seguia
	Guelma	04	25	01 à 20	10 à >50	Blanquette, chemlal, sigoise	L-A.	Seguia
	El Tarf	05	29	01 à 20	04 à 50	Sigoise, chemlal	L-A, A-S, A-L.	Seguia
	Oum El Bouaghi	05	23	01 à 15	04 à 16	Sigoise, chemlal, arbequina	A-L, C, A-C, L.	Seguia
	Tébessa	02	05	9 à 11	07 à 10	Sigoise, Chemlal	A, L.	Seguia, G à G
	Mila	06	45	01 à 15	03 à >70	Sigoise, chemlal	A-L, C, A.	Seguia
	Skikda	05	21	02 à 06	06 à 15	Sigoise, chemlal, blanquette	L-A.	Seguia
	Sétif	06	17	0,25 à 15	10 à 45	Sigoise, chemlal, manzanille	A, A-S, A-L, C.	Seguia, G à G
	Batna	05	32	1,5 à 04	02 à 13	Sigoise, Chemlal	A-S, A-L, A-C.	Seguia, G à G
	Khenchla	01	01	09	07	Sigoise	A-L.	G à G
	Constantine	01	01	04	11 à 14	Sigoise	A-C.	Seguia
	Annaba	03	14	05 à 10	02 à 15	Sigoise, chemlal	A-L, L-A.	Seguia, G à G
Jijel	02	10	01 à 15	03 à 15	Sigoise, chemlal, azerradj	A-L, A-S, S-A.	Seguia, G à G	
<b>C E N T R E</b>	Tipaza	04	10	1,5 à 08	02 à 40	Chemlal	A-L.	Seguia
	Boumerdes	04	22	02 à 08	08 à 100	Sigoise, chemlal, manzanille	A-L, A.	Seguia, non irrigué
	Blida	04	12	02 à 7,5	04 à 25	Sigoise, chemlal	A.	Seguia
	Bejaia	06	22	0,5 à 06	14 à >40	Chemlal, azerradj, limli.	A-L, A.	Seguia, non irrigué
	Djelfa	05	25	0,25 à 10	02 à >50	Chemlal, sigoise	S.	Seguia, G à G
	Tizi Ouzou	04	12	01 à 05	03 à >40	Chemlal	A-L.	Seguia, non irrigué
	Bouira	03	14	01 à 11	04 à >60	Chemlal, azerradj, limli.	A-L, A.	Seguia, non irrigué
	Médéa	02	08	03 à 05	06 à 07	Sigoise, chemlal	A.	Seguia
Alger	05	14	0,5 à 04	2,5 à 21	Chemlal, sigoise, limli, khodeiri, sorani, cœur de bœuf, boungueueb, terrella, zaiti.	A-L, A, L.	Seguia, G à G	
<b>Total</b>	<b>33</b>	<b>146</b>	<b>727</b>			-		

**N.B :** G à G : goutte à goutte ; A : argileux ; S : sableux ; L : limoneux ; A-S : argileux-sableux ; L-C : limoneux-calcaire ; S-L : sableux-limoneux ; A-C : argileux-calcaire.

**Annexe 4 : Caractéristiques des vergers oléicoles atteints dans les différentes wilayas durant les campagnes 2013, 2014 et 2015.**
**❖ Campagne 2013.**

	Wilayas	Nombre de communes	Nombre de verges	Superficies (ha)	Âges (ans)	Variétés	Types de sol	Mode de conduite
<b>O U E S T</b>	Mostaganem	17	132	0,5 à 7,5	05 à >50	Sigoise	S, A, S-L.	Seguia
	Relizane	08	139	01 à 15	03 à >50	Sigoise, sylviane	A, A-L, S.	Seguia
	Mascara	09	10	0,5 à 24	04 à 16	Sigoise, rougette	A-L, L-A.	Seguia
	Chlef	07	17	0,5 à 15	02 à >50	Sigoise, chemlal (très peu)	L-A, A-L.	Seguia
	Sidi Bel Abbés	04	09	01 à 15	02 à >50	Sigoise	A-L	Seguia
	Oran	14	32	01 à 10	02 à >60	Sigoise, chemlal (très peu)	A-L. A-C.	Seguia et G à G
	Ain-Temouchent	08	21	01 à 08	07 à >60	Sigoise, chemlal (très peu)	L-A, A-L.	Seguia
Tlemcen	04	07	0,5 à 10	05 à 65	Sigoise, rougette, picholine marocaine	A-L, S-L.	Seguia	
<b>E S T</b>	Souk Ahras	03	04	1,5 à 13,5	02 à 21	Chemlal, arbequina, sigoise	L-A.	Seguia
	Annaba	03	04	01 à 12	08 à 12	Sigoise, chemlal	L-A, A-L.	Seguia
	Skikda	04	07	0,5 à 08	10 à 50	Sigoise, chemlal, blanquette	L-A.	Seguia
<b>C E N T R E</b>	Alger	04	05	2,5 à 4,5	2,5 à >30	Sigoise, chemlal	A-L.	Seguia et G à G
	Boumerdes	05	05	02 à 5,5	08 à 70	Chemlal, sigoise	A-L, A.	Seguia, non irrigué
	Médéa	04	07	01 à 4,5	03 à 30	Sigoise, chemlal	A.	Seguia
	Blida	05	08	02 à 20	03 à >60	Sigoise, chemlal, manzanille.	A, A-C, A-L.	Seguia et G à G
	Tizi Ouzou	08	09	03 à 15	12 à >30	Sigoise, chemlal	L.	Seguia et G à G
Bejaia	02	02	03 et 14	05 et 16	Chemlal, azerradj	S.	G à G	
<b>Total</b>	<b>17</b>	<b>109</b>	<b>418</b>			-		

## ❖ Campagne 2014.

	Wilayas	Nombre de communes	Nombre de verges	Superficies (ha)	Agés (ans)	Variétés	Types de sol	Mode de conduite
<b>O U E S T</b>	Mostaganem	13	90	0,5 à 20	05 à >50	Sigoise, chemlal (très peu)	S, S-L, A.	Seguia
	Relizane	08	114	01 à 12	08 à >50	Sigoise, chemlal, sylviane	S, A, L.	Seguia, G à G
	Mascara	13	90	05 à 10	05 à 13	Sigoise, rougette	A-L, L-C.	Seguia
	Chlef	01	01	0,5	07	Sigoise	S-L.	G à G
	Sidi Bel Abbés	08	15	0,5 à 20	05 à 90	Sigoise	A-L, L.	Seguia, G à G, non irrigué
	Oran	02	05	1,5 à 2,5	08 à >50	Sigoise, chemlal (très peu)	A-L.	Seguia, G à G
	Ain-Defla	01	01	15	60	Sigoise	L-A.	Seguia
	Tlemcen	15	38	0,5 à 15	06 à 90	Sigoise, chemlal, picholine marocaine	L, A-L.	Seguia, non irrigué
	Ain-Temouchent	03	06	02 à 07	11 à 60	Sigoise, chemlal	A-L.	Seguia
<b>E S T</b>	Annaba	02	02	01 à 10	09 à 12	Chemlal, rougette	A-L, L-A.	Seguia
	El Tarf	04	05	01 à 15	08 à >40	Chemlal, rougette, arbequina	A-L, L-A.	Seguia, non irrigué
	Skikda	02	04	1,4 à 08	11 à 15	Chemlal, blanquette	L-A.	Seguia
	Sétif	03	04	07 à 13	04 à 30	Chemlal	A-L, A.	Seguia, non irrigué
<b>C E N T R E</b>	Alger	06	10	2,5 à 04	2,5 à 12	Sigoise, chemlal	A-L, L.	Seguia, G à G
	Boumerdes	09	18	01 à 15	08 à 90	Sigoise, chemlal	L-A, A.	Seguia, non irrigué
	Médéa	03	05	02 à 08	11	Chemlal	A.	Seguia
	Blida	05	10	0,5 à 02	05 à 08	Sigoise	A.	Seguia, G à G
	Tizi Ouzou	10	12	02 à 15	08 à >70	Chemlal	A-L, L-A.	Seguia, non irrigué
	Bejaia	02	06	06 à 22	06 à 85	Chemlal, azerradj, limli	L-A, A-L.	Seguia, non irrigué
<b>Total</b>	<b>19</b>	<b>93</b>	<b>337</b>			-		

## ❖ Campagne 2015.

	Wilayas	Nombre de communes	Nombre de verges	Superficies (ha)	Agés (ans)	Variétés	Types de sol	Mode de conduite
<b>O U E S T</b>	Relizane	08	95	0,5 à 15	10 à >50	Sigoise	A, A-L.	Seguia
	Mostaganem	11	22	0,5 à 08	03 à >50	Sigoise	A, S-L, S, L.	Seguia
	Mascara	06	23	01 à 06	02 à >30	Sigoise	A-L, L-A.	Seguia
	Oran	08	30	01 à 10	05 à >50	Sigoise, chemlal (très peu)	A, A-L.	Seguia, G à G
	Ain-Temouchent	06	20	0,5 à 09	07 à 60	Sigoise, chemlal (très peu)	A-L, A.	Seguia
	Tlemcen	10	43	1,5 à 10	03 à 70	Sigoise, Chemlal, sylviane	A-L.	Seguia
	Chlef	05	18	1,5 à 09	02 à >50	Sigoise, Chemlal	A-L.	Seguia
	Sidi Bel Abbés	04	10	04 à 12	05 à >50	Sigoise, Chemlal	A-L	Seguia, G à G
	Ain Defla	01	02	04	05	Sigoise, Chemlal	A-L.	Seguia
<b>E S T</b>	B.B.A	01	02	02	02	Sigoise, Chemlal	A-L.	Seguia
	El Tarf	02	06	01 à 03	05 à 13	Sigoise, chemlal	A-S, A-L.	Seguia
	Oum El Bouaghi	01	02	10	16	Chemlal	C.	Seguia
	Mila	03	16	03 à 15	11 à >70	Sigoise, chemlal	A-L.	Seguia
	Skikda	01	04	06	15	Sigoise, chemlal, blanquette	L-A.	Seguia
	Sétif	01	02	03 à 05	10	Chemlal	A-L.	G à G
	Annaba	01	01	01	09	Sigoise, chemlal	A-L, A-S.	Seguia
Jijel	02	08	01 à 15	03 à 15	Sigoise, chemlal, azerradj	A-L, A-S, S-A.	Seguia, G à G	
<b>C E N T R E</b>	Tipaza	02	03	1,5 à 02	40	Chemlal	A-L.	Seguia
	Boumerdes	07	18	02 à 08	08 à 100	Sigoise, chemlal, manzanille	A-L, A.	Seguia, non irrigué
	Blida	04	10	02 à 7,5	04 à 25	Sigoise, chemlal	A.	Seguia
	Bejaia	03	16	0,5 à 06	14 à 49	Chemlal, azerradj, limli.	A.	Seguia, non irrigué
	Djelfa	05	25	01 à 10	05 à >50	Chemlal, sigoise	S.	G à G
	Tizi Ouzou	04	04	01 à 05	03 à >30	Chemlal	A-L.	Seguia
	Bouira	02	11	01 à 11	04 à 60	Chemlal	A.	Seguia, non irrigué
	Médéa	01	03	03 à 05	06 à 07	Sigoise, chemlal	A, A-L.	Seguia
Alger	04	14	0,5 à 04	2,5 à 21	Chemlal, sigoise, limli, khodeiri, sorani, cœur de bœuf, terrella, bounguerueb, zaiti.	A-L, A, L.	Seguia et G à G	
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>103</b>	<b>408</b>	-				

N.B : G à G : goutte à goutte ; A : argileux ; S : sableux ; L : limoneux ; A-L : argileux-sableux ; L-C : limoneux-calcaire ; S-L : sableux-limoneux ; A-C : argileux-calcaire.

**Annexe 5 :** Résultats de L'incidence et la sévérité de *Venturia oleaginea* en fonction de l'âge (campagnes 2013, 2014 et 2015).

❖ L'incidence de la maladie de *Venturia oleaginea*

Campagnes	Facteurs	Somme des carrés	d.d.l.	Carrés moyens	F-ratio	P
2013	Ages	277.404	3	92.468	1.089	0.353
2014	Ages	255.681	3	85.227	1.457	0.226
2015	Ages	638.425	3	212.808	3.257	0.022

❖ La sévérité de la maladie de *Venturia oleaginea*

Campagnes	Facteurs	Somme des carrés	d.d.l.	Carrés moyens	F-ratio	P
2013	Ages	689.099	3	229.700	1.910	0.127
2014	Ages	916.225	3	305.408	1.712	0.164
2015	Ages	708.454	3	236.151	2.094	0.100

## Annexe 6 : Types des milieux de cultures

### 2. PDA (Pomme de terre D'extrose Agar)

Pomme de terre .....	200gr
Glucose .....	20gr
Agar .....	20gr
Eau distillée .....	1000ml

C'est le milieu de culture le plus largement utilisé pour cultiver des champignons. En faisant bouillir les tranches de pomme de terre dans l'eau pendant 30 minutes à 1h, en laissant décanter le bouillon obtenu, on dilue ensuite en ajoutant de l'eau distillée pour un volume final d'un litre. Puis on ajoute 20g de glucose et autant d'agar en poudre. Autoclaver 20 minutes à 110°C.

### 4. Milieu à base d'huile d'olive

Agar .....	20gr
Huile d'olive .....	1%
Eau distillée .....	1000ml

Le milieu est autoclavé après homogénéisation à 110°C pendant 20 minutes. Après, agiter pour mettre l'huile en suspension, puis couler dans des boîtes de pétri stériles.

### 1. Milieu Czapek-Dox

NaNO <sub>3</sub> .....	3gr
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1gr
KCl .....	0,5gr
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O .....	0,5gr
FeSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O .....	0,01gr
Saccharose .....	30gr
Gélose .....	15gr
Eau distillée .....	1000ml

C'est un milieu de croissance des champignons, utilisé pour les analyses de la flore du sol.

### 3. Milieu à base d'extrait de feuilles d'olivier

Gélose .....	20gr
Extrait de feuilles d'olivier .....	20%
Eau distillée .....	1000ml

Laver 30gr de feuilles vertes d'olivier à l'eau de robinet, puis broyer à l'aide du mixeur et bouillir dans 100ml d'eau pendant une demi-heure. Filtrer l'extrait plusieurs fois jusqu'à obtention d'un liquide clair. Ajouter à la préparation du milieu. Autoclavé à 110°C pendant 20 minutes.

**Annexe 7 : Quantifications d'ADN des échantillons prélevés pour analyse biologique.**

Codes	Quantité d'ADN (µl)	Codes	Quantité d'ADN (µl)	Codes	Quantité d'ADN (µl)
TEMT07a	63	BBC01	43	BAC09	61
ABL3a	70	INPV02	32	ABL11	43
TEM2K2a	118	SBC03	168	TEM2Z15	87
IBM5a	79	TEMK05	40	RAS16	99
TEMZ1a	116	TEMT06	41	TEM2K17	89
TEMS4a	154	BTB07	49	BhSC19	595
SMS6a	216	BTCB08	39	TAF22	342
ANMC23	89	BBS04	61	OdSA21	477
EmRS24	263	OEAS10	31	DjRS25	66
STS26	158	BBCB12	167	SMS27	399
BMR29	64	TEMZ13	201	YRS28	130
IBM31	82	TEMS14	73	BOS30	102
TEMAB32	216	ChCM18	128	EmSB20	222
TEM1AB33	69				

**Annexe 8 : Préparation de la solution d'amorce**

Les amorces étant fournis avec une concentration initiale élevée, une dilution adaptée est nécessaire, pour cela un volume de 250µl de l'eau ultra pure est ajouté aux amorces dont la concentration initiale est de 100µmol. Après une homogénéisation un volume de 10µl de la solution mère à diluer et les mettre dans un nouveau tube qui contient 90µl de l'eau ultra pure. Puis, la solution obtenue a été conservée à 20°C et la solution mère a été stockée à -20°C.

**Résumé**

Une enquête a été initiée sur la maladie d'origine fongique (*Venturia oleaginea*) qui affecte l'olivier, considérée la plus destructive dans toutes les régions oléicoles, occasionnant des pertes de rendement. Le but de cette étude était d'identifier la variabilité phénotypique et la recherche de variations génétique entre les isolats de *V. oleaginea* de différentes régions oléicoles d'Algérie. Des prospections ont été effectuées dans plusieurs oliveraies durant les campagnes agricoles 2013, 2014 et 2015, ayant permis le recensement de 1163 vergers atteints sur les 1696 prospectés, avec un pourcentage d'infection de l'incidence et de la sévérité variable selon les différentes régions, le génotype de l'olivier et les conditions environnementales. Les analyses statistiques basées sur le test de Tukey HSD à  $P < 0,05$  montrent des différences très hautement significatives entre les wilayas atteintes. La caractérisation phénotypique n'a pas été évaluée à cause du mycélium très compact et ne produisant pas de conidies dans les conditions *in vitro*. Dans ce contexte, des techniques moléculaires basées sur la PCR ont été utilisées afin d'identifier la diversité génétique des populations de 40 isolats provenant de différentes régions oléicoles de l'Est, de l'Ouest et du Centre. L'étude des différents profils électrophorétiques a été réalisée par la technique BOX-PCR, en utilisant l'amorce Box repair (5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3') spécifique à l'espèce et une révélation sur gel d'agarose. Les analyses obtenues ont révélé un faible niveau de variation de la population algérienne de *V. oleaginea* dans les régions de l'Est, plus élevée au Centre et l'Ouest. Les divers isolats formant cinq groupes n'étaient pas similaires par rapport à la gamme d'hôtes diversifiée, la taille moléculaire des fragments et les différentes régions oléicoles testées. Ce travail, une première en Algérie, contribue à améliorer la compréhension de la diversité génétique de ce pathogène.

**Mots clés :** *V. oleaginea*, enquête, incidence, sévérité, diversité génétique.

### Summary

An investigation was initiated into the disease of fungal origin (*Venturia oleaginea*) which affects the olive tree, considered the most destructive in all olive-growing regions, causing yield losses. The aim of this study was to identify the phenotypic variability and the search for genetic variations between isolates of *V. oleaginea* from different olive-growing regions of Algeria. Surveys were carried out in several olive groves during the 2013, 2014 and 2015 agricultural campaigns, allowing the census of 1163 affected orchards out of the 1696 surveyed, with an infection percentage of varying incidence and severity depending on the different regions, the genotype of the olive tree and environmental conditions. Statistical analyzes based on the Tukey HSD test at  $P < 0.05$  show very highly significant differences between the affected wilayas. Phenotypic characterization was not evaluated due to the mycelium being very compact and not producing conidia under *in vitro* conditions. In this context, molecular techniques based on PCR were used to identify the genetic diversity of populations of 40 isolates coming from different olive-growing regions of the East, West and Center. The study of the different electrophoretic profiles was carried out by the BOX-PCR technique, using the Box repair primer (5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3') specific to the species and revelation on agarose gel. The analyzes obtained revealed a low level of variation in the Algerian population of *V. oleaginea* in the Eastern regions, higher in the Center and the West. The various isolates forming five groups were not similar with respect to the diverse host range, molecular size of the fragments and the different olive growing regions tested. This work, a first in Algeria, contributes to improving the understanding of the genetic diversity of this pathogen.

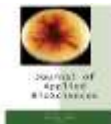
**Key words:** *V. oleaginea*, survey, incidence, severity, genetic diversity.

تم البدء بالتحقيق في المرض الفطري عين الطاوس (*Venturia oleaginea*) الذي يصيب شجرة الزيتون، والذي يعتبر الأكثر تدميراً في جميع مناطق زراعة الزيتون، ويسبب خسائر في المحصول. هدفت هذه الدراسة إلى التعرف على الصفات المورفولوجية والبحث عن التباينات الوراثية بين عزلات نبات الزيتون *V. oleaginea* من مختلف مناطق زراعة الزيتون في الجزائر، حيث أجريت مسوحات في عدة بساتين الزيتون خلال الحملات الفلاحية 2013 و2014 و2015، مما سمح بإحصاء 1163 بستاناً متضرراً من أصل 1696، مع نسبة إصابة تتفاوت في حدوثها وشدتها تبعاً لاختلاف المناطق والنمط الجيني لشجرة الزيتون والظروف البيئية. تُظهر التحليلات الإحصائية المستندة إلى اختبار Tukey HSD عند  $P < 0.05$  اختلافات كبيرة جداً بين الولايات المتضررة. لم يكن التوصيف المورفولوجي ناجحاً نظراً لكون الميسليوم مضغوطاً جداً ولا ينتج كونيديا في الظروف المختبرية. وفي هذا السياق تم استخدام التقنيات الجزيئية المعتمدة على تقنية PCR للتعرف على التنوع الوراثي لأربعون (40) عزلة قادمة من مناطق زراعة الزيتون المختلفة في الشرق والغرب والوسط. دراسة الملامح البروتينية المختلفة بواسطة تقنية BOX-PCR، باستخدام البرايمر (5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3') الخاص بالأنواع وكشفها على هلام الاغاروز. كشفت التحليلات التي تم الحصول عليها عن ظهور مستوى منخفض من التباين في أعداد *V. oleaginea* المحلية في المناطق الشرقية على عكس المناطق الوسطى والغربية. لم تكن المواد المنعزلة المختلفة التي تشكل خمس مجموعات متشابهة فيما يتعلق بنطاق المضيف المتنوع والحجم الجزيئي للشظايا ومناطق زراعة الزيتون المختلفة التي تم اختبارها. ويساهم هذا العمل، وهو الأول من نوعه في الجزائر، في تحسين فهم التنوع الجيني لهذا العامل الممرض.

**الكلمات المفتاحية:** *V. oleaginea*، المسح، الإصابة، الشدة، التنوع الوراثي.

# Article Scientifique





Journal of Applied Biosciences 174: 18093 – 18102  
ISSN 1997-5902

# Survey and evaluation of *Olive Leaf Spot* caused by *Venturia oleaginea* (Castagne) Rossman & Crous (2015) on olive trees in Algeria

Nadia Kheddam Benadjal<sup>1,2</sup>, Abdelmajid Benzehra<sup>3</sup> Mohamed Kheddam and Zouaoui Bouznad<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National School of Agronomy, El Harrach, Algeria

<sup>2</sup>Laboratory of Phytopathology and Molecular Biology, ENSA EL Harrach, Algeria

<sup>3</sup>Laboratory of Plant Protection, ENSA El Harrach, Algeria

[nadykhedben70@gmail.com](mailto:nadykhedben70@gmail.com)/(213) 0699 742 600 , [a.benzara@gmail.com](mailto:a.benzara@gmail.com)/ (213) 0799 16 38 41

[z.bounad@ensa.dz](mailto:z.bounad@ensa.dz)/(213) 0771 25 81 31

Submitted on 4<sup>th</sup> May 2022. Published online at [www.m.elewa.org/journals/](http://www.m.elewa.org/journals/) on 30<sup>th</sup> June 2022  
<https://doi.org/10.35759/JABs.174.2>

## ABSTRACT

**Objective:** *Olive Leaf Spot* fungal disease caused by *Venturia oleaginea* (Castagne) Rossman & Crous (2015). It has a significant negative impact on certain olive growing regions of Algeria.

**Methodology and results:** A survey was conducted from 2013 to 2015 during periods at risk of contamination (i.e. autumn, winter and early spring) to map the geographical distribution of this pathogen. The results obtained showed that *Olive Leaf Spot* is present in all olive- growing regions in Algeria but not in all states. Twenty seven (27) states out of the 35 surveyed states were reported to be infested, with a total of 1163 infected orchards out of the 1696 orchards surveyed, and a percentage of infection also varying from one region to another and depending on the year. The results of the statistical analyses based on Tukey HSD test at  $P < 0.05$  show very highly significant differences between the Wilayas affected. The western regions are very highly significant, whereas in the east the infection is less important. This difference may be explained by the more favourable climatic conditions, the dominance of a single olive variety “Sigoise” which seems to be more susceptible to the disease and the lack of a technical itinerary.

**Conclusion and application of results:** This survey is the first on the situation of olive leaf spot in the olive growing regions located in the East, West and Center of the country, allowing to map the distribution of this pathogen, and the use of resistant varieties as biological control agents in the treatment of OLS disease in Algeria.

**Keywords:** Infected, *Venturia oleaginea*, Olive Leaf Spot, survey, variety.

## INTRODUCTION

The olive tree (*Olea europaea* L.) is a symbol tree of the Mediterranean Basin, and a source of wealth and prosperity for all regions of the Mediterranean. In Algeria, growing olive trees has been encouraged by the Algerian State since the implementation of the National Plan for Agricultural Development (NADP) in 2000. The spatial distribution of olive trees is in constant evolution, and more than three quarters of orchards are situated in the Central east of the Country (Bejaia, Tizi Ouzou and Bouira) and in the Eastern part (Bordj Bou Arreridj, Jijel and Setif). In the Western part of the country (Mascara, Sidi Bel Abbes, Relizane and Tlemcen), olive orchards are intended for the production of table fruits. Currently, the olive tree is cultivated in practically all the province of Algeria (Karboua, 2003). The olive tree is a subject for several pests and diseases causing important economic and agronomic impacts (A yield loss of up to 20% has been around the world, in addition to the deterioration of the quality of the oil) (Viruega *et al.*, 2013; Friday *et al.*, 2010). One of the fungal diseases is caused by *Venturia oleaginea* (Castagne) (Rossman & Crous, 2015), called, *Cycloconium oleagineum* (Castagne, 1845), *Spilocaea oleagina* (Castagne) Hughes 1953 or *Fusicladium*

*oleagineum* (Castagne), (Ritschel & Braun, 2003), known as the Olive Leaf Spot (Viruega *et al.*, 2013) is the most widespread. It has been reported in Mediterranean olive growing regions (Obanor *et al.*, 2005). This scab, which has been described for almost a century, causes dark circular spots being later surrounded by a yellow or pale green halo on the upper surface of the leaves. Each circle corresponds to a season of development of the fungus. When the pathogen develops its conidia, the spots become dark brown; sometimes black (Obanor *et al.*, 2005). Attacks on the fruit and peduncle are rare, (Graniti, 1993), but if they are severe, they can prematurely cause total defoliation of the tree. The management strategy against the Olive Leaf Spot consists of monitoring the disease and protecting plants early in the season to control its spread within orchards of susceptible varieties, by applying fungicide treatments, mostly based on Copper (Obanor *et al.*, 2008; Salman *et al.*, 2011). This work, will present the different olive-growing regions (Central, Eastern and Western) prospected in Algeria in order to draw up a distribution map of this pathogen for a better control strategies. Also, to evaluate the tolerance of cultivars towards *Venturia oleaginea*.

## MATERIALS AND METHODS

**Survey of olive growing regions:** A survey was conducted during three successive campaigns (2013, 2014 and 2015), a questionnaire survey was drawn up which takes into consideration several factors

including the department, the commune, the climatic conditions, the data on the crop (age, variety, origin, phytosanitary treatments applied, soil type and irrigation system used) (Information sheet below).

### Information sheet

#### ➤ Orchard data

- Municipality: ..... Wilaya: .....
- Area (ha): .....
- Control system: .....
- Type of soil: .....
- Geographical coordinates:.....

#### ➤ Culture data

- Specified the culture of the olive tree either: Orchard  In masses  Others
- Origin: .....
- Variety: .....
- Planting date: .....
- Vegetative stage: .....
- Date of prospecting: .....
- Cultural practices used.....

#### ➤ Presence of scab

- Year of appearance: .....
- Infection rate (%):.....
- Phytosanitary treatments used against Olive Leaf Spot  
(Period of application, number of uses and dose): .....

In 35 olive growing areas, a total of 1,696 canvas was recovered for the three campaigns: in 2013 (517 Survey sheet), 2014 (452 Survey sheet) and in 2015 (727 Survey sheet), in periods at risk of contamination, from late September to December, and from late February to early April, as recommended by Sanei and Razavi (2011) who considered that the best periods of infections are Fall and the Winter.

**Surveys and sampling:** Sampling was carried out at the level of the orchards reached using the technique of complete random blocks with four repetitions where each block contains 5 trees taken at random. A total of 100 leaves/tree were collected at the four cardinal points (Eastern, Western and Central), for a total of 2000 leaves taken (symptomatic or asymptomatic) by region and by campaign to evaluate the incidence of the disease. Each sample collected from the orchard was put in a paper bag with the variety, age, site, and date of collection. The study was carried out on 16 varieties of olive trees: Sigoise, Terrella, Khodeiri, Sorani, Zaiti, Chemlal, Sylvaine,

Rougette, Blanquette, Arbequina, Manzanilla, Azerradj, Moroccan, Bounguergueb, Beef Heart and Limli. Field trips are made twice per region during all Fall/winter and early spring infection periods and during the three successive seasons. The symptomatic leaves (Figure 1a) are calculated in relation to the total number of leaves collected. The asymptomatic leaves were analysed using the Soda method. This technique is used for the detection of latent Olive Leaf Spot not visible in the field (Salman *et al.*, 2011). It consists of soaking the asymptomatic leaves in a 5% Sodium Hydroxide (NaOH) solution for 20 minutes at room temperature (Lopez Doncel *et al.*, 2000). Visible lesions appeared as black spots on the majority of the analysed leaves (Figure 1b). These black spots are due to the reaction of the alkaline solution with phenolic compounds produced. This solution caused deformations under the epidermis; the upper epidermal cells infected leaves will become more visible (Lops *et al.*, 1993; Lopez Doncel *et al.*, 1999).



**Figure 1.** Typical symptoms of *F. oleagineum* (Var. Sigoise) at the Center of Algeria.

**a:** Symptoms on tree;

**b :** Symptoms after 20 minutes in the solution of Hydroxide of Sodium in 5%.

Monthly average temperatures and precipitation are recorded from September to April for the 3 seasons (2013, 2014 and 2015). These data will show us the most favourable periods for *Venturia oleaginea* infections.

**Symptomatology diagnosis of the infection:** All the collected leaves were visually examined. Infection was reported based on symptoms using the description already published by several authors Mac Donald *et al.*, (2000); Gonzalez- Lamothe *et*

*al.*, (2002); Obanor *et al.*, (2005); Trapero and Lopez- Doncel (2005); Trapero and Blanco (2008); Viruega *et al.*, (2013): appearance of circular spots of an oily dark and pale yellow or green halo on the upper leaf surface.

**Statistical analysis:** The results of the statistical analyses were carried out on the percentage of infected leaves compared to the total number of leaves collected with the XLSTAT 1994 software (ANOVA).

## RESULTS

**Geographical distribution:** In the light of the results obtained during the surveys in the different olive-growing regions, a geographical distribution map of the peacock eye was drawn over 2013, 2014 and 2015 campaigns. Out of 35 surveyed states including 514 communes, 27 states revealed the existence of the peacock eye in 1163 orchards (a rate of 68.6%) out of the 1696 orchards surveyed, these states are (Figure 2):

➤ **Western province:** Relizane, Mostaganem, Oran, Chlef, Tlemcen, Sidi Bel Abbas, Ain Temouchent, Mascara, Ain Defla;

➤ **Center province:** Djelfa, Blida, Medea, Tizi Ouzou , Algiers, Boumerdes, Bejaia , Bouira , Tipaza;

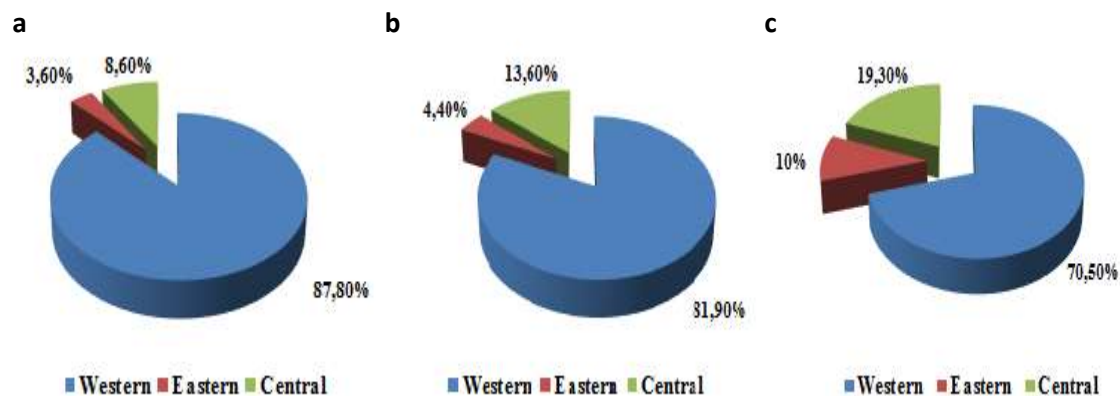
➤ **Eastern province:** Souk Ahras, Annaba, Setif, El Tarf, Mila, Bourdj Bou Arriradj, Oum El Bouaghi, Skikda and Jijel.



**Figure 2:** Geographical distribution of the Olive Leaf Spot in Algeria (Campaigns 2013, 2014 and 2015).

**Orchard infection rate by campaign:** The infection varies from one campaign to another, from a rate of 81% in 2013 to less than 74.6% in 2014 and 56.2% in 2015. The most infected orchards are those from the West (87.80% in 2013, 81.90% in 2014 and 70.50% in 2015). In

the Central of the country, this rate is lower (8.60%, 13.60% and 19.3%). In contrast, the Eastern regions recorded significantly lower rates (3.6%, 4.40% and 10%) (Figure 3 a, b, c). The south of the country is for the moment unscathed by this pathogen.



**Figure 3:** Distribution of the infection rate of affected orchards collected by region during the campaigns 2013 (a), 2014 (b) and 2015 (c).

**Symptomatology estimation of the infection:** The rates of visible and latent infections were calculated on 2,326,000 olive leaves taken at random from 1163 orchards reached during the three campaigns 2013, 2014 and 2015. The results obtained in the table 1, based on field observations, show visible infections (symptomatic leaves), revealed by

the method of soda were variable (45.84% and 38.50%), a rate of 84.34% compared to the total number of leaves collected, asymptomatic leaves is around 54.16%. A total of 364,284 leaves remaining healthy, representing a low rate of around 15.66%, were recorded during the 2013, 2014 and 2015 campaigns.

**Table 1:** Number of leaves collected and leaves tested by the Soda method (5% NaOH solution).

Campaigns	Total number of collected leaves		Leaves tested with the Soda method	Healthy leaves
	Symptomatic leaves	Asymptomatic leaves		
2013	364 300	471 700	387 648	84 052
2014	297 120	376 880	225 864	151 016
2015	404 760	411 240	282 024	129 216
<b>Total</b>	1 066 180 (45.84%)	1 259 820 (54.16%)	895 536 (38.50%)	364 284 (15.66%)

According to symptomatology estimates, the cultivars react differently to the disease and thus show a very highly significant difference between the different cultivars for incidence ( $F=19.02$ ,  $df=8$ ,  $P<0.000$  in 2013;  $F=19.56$ ,  $df=8$ ,  $P<0.000$  in 2014 and  $F=29.06$ ,  $df=5$ ,  $P<0.000$  in 2015) and severity ( $F=4.23$ ,  $df=8$ ,  $P<0.000$  in 2013;  $F=2.27$ ,  $df=8$ ,  $P<0.000$  in 2014 and  $F=14.00$ ,  $df=5$ ,  $P<0.000$  in 2015). In the Sigoise, Terrella, Khodeiri, Sorani and Zaiti varieties, the incidence is significantly higher compared to the "Chemlal" cultivar, which is resistant. While Manzanille, Azerradj, Moroccan Picholine, Bounguergeb, beef Heart and Limli had infection rates of less than 50%, they are considered semi-resistant. No infection was recorded among the four cultivars: Sylvaine, Rougette, Blanquette, Arbéquina throughout the period of the survey,

they seem to be the most resistant. It has also been observed that the highest level of infection has resulted in defoliation of the trees. Most of the affected leaves seem to fall prematurely around the olive tree (Figure 3a). The presence of the pathogen *Venturia oleaginea*, has been reported in young plantations from 1 to less than 30 years old and older orchards from 30 to over 50 years. The age of the orchards was counted and classified as follows: A (1 to 10 years), B (10 to 30 years), C (30 to 50 years) and D (>50 years). Following the age scale, we found four (04) groups; the highest degree of infection affected was in-group A and B, then group C and group D. This situation leads us to believe that the intensity of the attacks in most of the western regions may also be linked to the criterion of the age of the orchards surveyed.

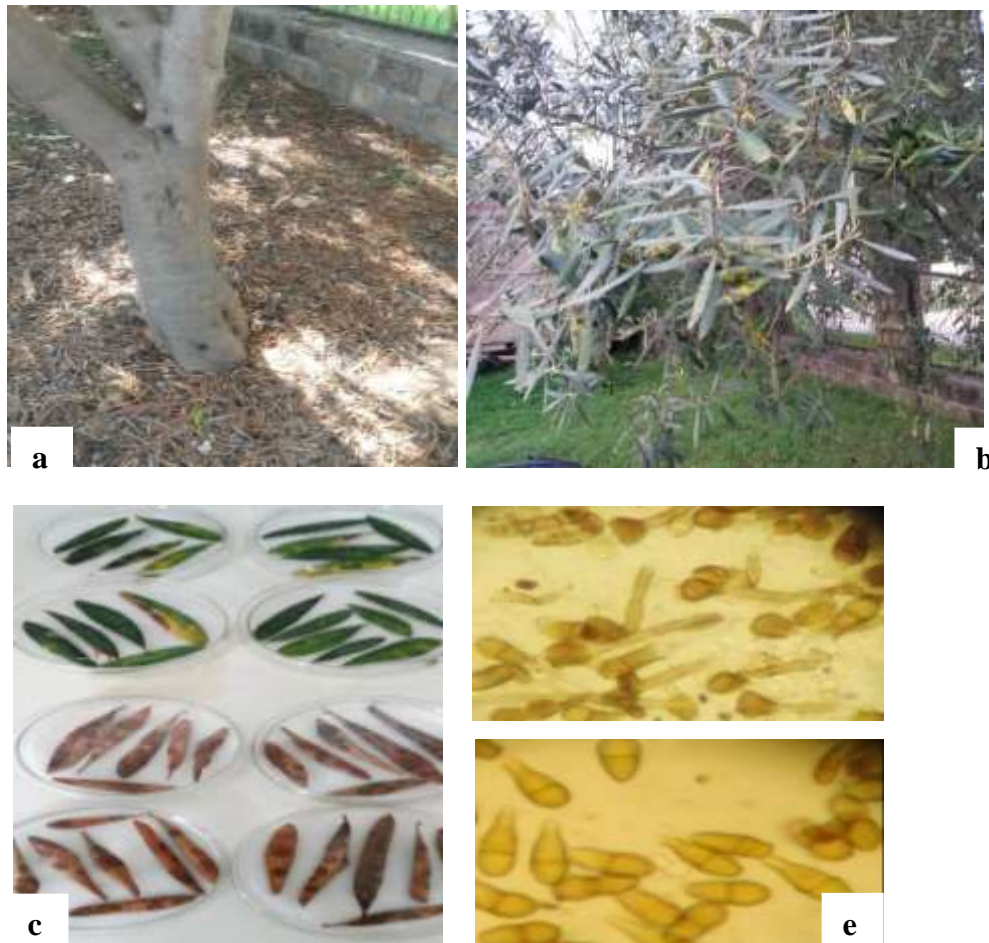
## DISCUSSION

In light of our results, there is a strong infection of the disease, which should appear the spring in the western regions and the central countries. These results are similar to those of

some authors (Gorter, 1943; Asawah, 1967) which showed that a high infection of the disease appears in spring in the land of Egypt, Kobras and North Africa. The factors

favouring the development of this pathogen concern favourable climatic conditions (Tajnari, 1999), a temperature in the range of 5 to 25°C (Sistani *et al.*, 2009) with an optimum between 15 to 20°C and optimal humidity 80-85% (Guechi and Girre, 1994). Indeed according to Obanor *et al.*, (2008) and Trapero *et al.*, (2001), infection can occur in two periods of the year, especially in spring (late February to early April) and in autumn - winter, particularly in autumn (late September to December) (Sistani *et al.*, 2009). In North America, average temperatures are between 17°C and 24°C in autumn and early winter in the states of Tipaza, Boumerdes, Algiers, Blida and the Kabylie Mountains (Bejaia, Tizi

Ouzou and Bouira). The end of winter (end of February) and the beginning of spring (March and April) have a temperature of 19 to 24°C on average. In summer, high temperatures halt the development of the fungus (Al-khatib *et al.*, 2010). Graniti (1993) observed that all infected leaves that fell after infection (Figure 4a), with the remaining infected leaves become a source of infection during the next season (Figure 4b), which explains the appearance of the disease in three successive seasons. It has been shown that this pathogen can survive adverse conditions: dry and warm weather in dead leaves, as well as in infected leaves on the tree (Figure 4c, d, e).



**Figure 4:** Macroscopic and microscopic observations of Olive Leaf Spot of the olive tree caused by *Venturia oleaginea*; **a:** Affected leaves detached from the tree. **b:** Leaves remaining on the trees; **c:** Humid leaf chamber in the New Year and the year preceding; **d** and **e:** *Venturia oleaginea* conidia after 24h at 48h incubation at 20°C.

According to the symptomological estimates realized on the field, cultivars respond differently to this disease. In the cultivars "Sigoise, Terrella, Khodeiri, Sorani and Zaiti", the incidence assessment was significantly higher in the western and the central olive groves compared to the Chemlal" cultivar. These results are consistent with those obtained by Abuamsha *et al.*, (2013), who consider that the "Chemlal" variety was resistant to the pathogen. The varieties "Sylvaine, Rougette, Blanquette, Arbéquina" were the most resistant varieties to the disease. After Cyril Msimango (2015), the cultivar "Sylvaine" which was the subject of a tolerance study at the *Venturia oleaginea* seems sensible. On the other hand, Manzanille, Azerradj, Marocain, Bounguergueb, Heart of beef and Limli show a weak appearance of the disease; they appear resistant, since they have a lower incidence compared to all other varieties. In a similar study, Mekurie *et al.*, (2001), consider that the cultivar "Manzanille" was semi-resistant. In the Eastern regions, it is less than 10%, which does not conform to Guechi's results (2001). The latter notes a very strong contamination in several sites of the Center including Bejaia, Tizi Ouzou and Bouira and East to Setif. In the Northwest, especially in Oran, Mostaganem, Tlemcen, Relizane, the temperatures vary between 19°C and 24°C. The pathogen has become darker

and produces a very high rate of conidia. In Algeria, olive groves differ in several parameters: cultural practices such as size, fertilization, the irrigation system (segua and drip) and the type of soil (sandy, clay, loam, limestone or a complex between the two types of soil) that characterizes all regions surveyed. But these cultural practices have no influence on the appearance of the disease, unless the abiotic conditions are favourable, a temperature in the range of 5 to 25°C (Sistani *et al.*, 2009) with an optimum between 15 and 20°C and humidity with an optimum of 80-85% (Guechi and Girre, 1994). During the survey conducted on 35 states during 3 consecutive campaigns, from 2013 to 2015, it was established a distribution map of the Olive Leaf Spot is an economically important disease in some regions of the West and the Center. But the infection in the olive orchards achieved differs from one region to another and from one season to the next. However, the use of susceptible varieties facilitates the appearance of the peacock eye with a higher rate of infection in the presence of favourable climatic conditions to the development of the disease. It should be noted that orchards affected by the Olive Leaf Spot are irrigated either by segua or by drip, or irrigated affecting much more the colonial orchards or planted in the mountainous areas. Our results show the constant regression of the disease in Algeria.

## CONCLUSION AND APPLICATION OF RESULTS

During our survey of 35 province for 3 consecutive campaigns, from 2013 to 2015, a distribution map of the Olive Leaf Spot was established which shows how much it is growing in Algeria. The Olive Leaf Spot is an economically important disease in parts of the West and Center. However, the infection in affected olive orchards differs from region to another and from campaign to another countryside. However, the use of susceptible

varieties facilitates the appearance of the Olive Leaf Spot with a higher infection rate in the presence of climatic conditions favourable to the development of the disease. It should be noted that orchards affected by the Olive Leaf Spot are irrigated either by segua or by drip or non-irrigated affecting much more colonial orchards or planted in mountainous areas. Our results show the constant progression of the disease in Algeria.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors warmly thank all the people who have participated in the realization of this work, especially the staff of the National Institute of Plant Protection (NIPP).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abuamsha R, Abueid, M Hajjeh H & Salman M (2013). Evaluation of the incidence and severity of Olive Leaf Spot caused by *Spiloseca oleaginea* in different olive cultivars in Palestine. Journal of Agriculture and Environment for International Development. 107 (2): 201-212.
- Al-Khatib M, Alhussaen K, El-Banna N and Zyadeh M (2010). Biological control of leaf spot (peacock spot disease) caused by *Cycloconium oleagineum* (*Spiloseca oleaginea*). J Microbiol Antimicrob. 2 (6): 64-67.
- Argenson C, Regis S, Jourdain JM, Yaysse P (1999). Centre technique inter professionnel des fruits et légume (Ctifl), Paris, 204 p.
- Assawah MW (1967) *Cycloconium* leaf spot of olive in Egypt. *Phytopath. Mediterr.* 6: 144-148.
- Benitez Y, Botella M, Trapero A, Alsalimya M, Caballero JL, Dorado G and Munoz-Blanco J (2005). Molecular analysis of the interaction between *Olea europaea* and the biotrophic fungus *Spiloseca oleagina*. Mol. Plant Pathol. 6: 425-438.
- Castellani E (1952) "Osservazioni e ricerche sull'occhio di pavone dell'olivo in Sardegna". *Olearia* 5, 3-10.
- Cyril Msimango Zakhele (2015) Screening of Olive Cultivars for Tolerance to *Fusicladium oleagineum* IN South Africa. *Professional Agricultural Workers Journal*: Vol. 3: N°1, 12.
- Guechi A and Girre L (1994) Sources de *Cycloconium oleagineum* (Cast.) conidia for infection of olive leaves and conditions determining leaf spot disease development in the region of Sétif, Algeria. *Mycopathologia* 125 : 163-171.
- Guechi A (2001) Prolifération et contrôle de la tavelure Cycloconimique des feuilles d'olivier en Algérie. Quatrième Journées Scientifiques et Techniques Phytosanitaires. Institut National de la Protection des Végétaux, El Harrach. Alger.
- Graniti A (1993) Olive Scab: A Review," *EPPO Bulletin*, Vol.23, N°3, pp: 377-384.
- Gonzalez-Lamothe, Segura R, Trapero A, Baldoni L, Botella MA, Valpuesta V, (2002) Phylogeny of the fungus *Spiloseca oleagina*, the causal agent of peacock leaf spot in olive. *FEMS Microbiol. Lett.* 210: 149-155.
- Gorter GJ (1943) A leaf spot disease of the olive farming in S.O. Africa, 18: 795-798.
- Hughes SJ (1953) Conidiophores, conidia, and classification. *Canadian journal of Botany*, 31(5), 577-659.
- Karboua A (2003) La production et la consommation d'huile d'olive à l'horizon 2010 en Algérie. *Olivea*, 99: 56-58.
- Lops F, Frisullo S, Rossi V (1993). Studies on the spread of the olive scab pathogen, *Spiloseca oleagina*. *EPPO Bull.* 23: 385-387.
- López-Doncel LM, García-Berenguer A and Trapero A (1999). Resistance of olive tree cultivars to leaf spot caused by *Spiloseca oleagina*. *Acta Hort.* 474: 549-553.
- Lopez-Dancel LM, Viruega JR, Trapero A (2000). Respuesta del olivo a la inoculación con *Spiloseca oleaginea*, agente del Repilo. *Bol.San. Veg. Plagas* 26: 349-363.

- Mac Donald AJ, Walter M, Trought M, Frampton CM, Burnip G (2000). Survey of olive leaf spot in New Zealand. *New Zealand Plant Protection*, 53, 126-132.
- Mekuria GT, Sedgly M, Collins G & Leavs S (2001). Development of a sequence-tagged site for the RAPD marker linked to leaf spot resistance in olive. *Soc. Horitc.*, Vol. 126, N3: 305-308.
- Obanor FO, Walter M, Jones EE, Jaspers MV (2005). Sources of variation in a field evaluation of the incidence and severity of olive leaf spot. *New Zealand Plant Protection*, 58: 273-277.
- Obanor FO, Walter M, Jones EE, Jaspers MV (2008). Effect of temperature, relative humidity, leaf wetness and leaf age on *Spilocaea oleagina* conidium germination on olive leaves. *European Journal of Plant Pathology*. Vol. 120, N°3, pp: 211-222.
- Salman M, Hawamda A, Amarni AA, Rahil M, Hajjeh H, Natsheh B, Abuamsha R (2011). Evaluation of the incidence and severity of olive leaf spot caused by *Spilocaea oleaginea* on olive trees in Palestine. *Am J Plant Sci*. 2(3):457-460.
- Sanei SJ and Razavi SE (2011) Survey of *Spilocaea oleaginea*, causal agent of olive leaf spot, in North of Iran. *Journal of Yeast and Fungal Research* Vol. 2(3), pp. 33-38.
- Sistani F, Ramezanpour SS and Nasrollanejad S (2009) Field Evaluation of Different Fungicides Application to Control Olive Leaf Spot," *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, Vol. 3, No. 4, pp. 3341-3345.
- Tajnari H (1999) La maladie de l'œil de paon. L'Association Marocaine de Protection des plantes. Journée Nationale sur la protection de l'olivier. Marrakech. 67-70p.
- Trapero A, Virguela JR, Lopez Doncel LM (2001). El Repilo, o caída de las hojas del olivo, en España. *Vida Rural* 15: 46-50.
- Trapero A, Lopez-Doncel LM (2005) Resistencia y susceptibilidad al Repilo. En : *Variedades de olivo en España*. Rallo L., Barranco D., Caballero J.M ; Del Rio C ; Martin A., Tous J., Trujillo I., eds. Junta de Andalucía-MAPA-Mundi-Prensa, pp. 321-328.
- Trapero A, Blanco MA (2008) In 'El cultivo de olivo. pp. 557-614. Dans « El cultivo de olivo. 6<sup>e</sup> édition. (Eds D Barranco, R Fernández- Escobar, L Rallo) 846 pages. Coedición Juntade Andalucía/Mundi-Prensa : Madrid, Espagne.
- Viruega R, Moral J, Roca LF, Navarro N et Trapero A (2013). *Spilocaea oleaginain* Olive Groves of Southern Spain: Survival, Inoculum Production and Dispersal. *Plant Dis.*, 97(12): 1549-1556.