



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA 1  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE

Laboratoire de Recherche des Plantes Aromatiques et Médicinales

## **MEMOIRE**

**De fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de Master**  
**Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes**

### *Thème*

**Incidence du stade de maturation des fruits sur l'effet  
biofongicide des composées phénoliques extrait  
éthanoliques des pelures de pommier**

**Présenté par :**

**DJELLOUAT ZINEB**

**BEN BRAHIM FATMA ZOHRA**

**Devant le jury :**

Mme MOUMENE	S	MCA	USDB	Présidente
Mme BELGHUENDOZ	R	MCA	USDB	Examinatrice
Mme ALLAL-BENFEKIH	L	Pr	USDB	Promotrice
Melle HAMEL	A	Dr	USDB	Copromotrice

**Année universitaire : 2019/2020**

## **Remerciements**

*Avant tout, nous remercions **DIEU** le tout puissant qui nous a donné la force le courage, La volonté et la patience pour parachever ce travail.*

*Nos sincères remerciements et reconnaissances à nos parents.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos vifs remerciements à notre encadreur **Mme Allal BenfekihLila** et notre Co encadreur **Mlle Hamel Amira** qui nous ont proposé ce sujet et qui nous offrent leur précieux conseils et qui nous ont tellement aidé et soutenu durant toute notre période d'étude.*

*Nous voudrions remercier la présidente de jury **Mme Moumene saida** et l'examinatrice **Mme Belghuendouz Rachida**, d'avoir accepté de juger notre travail.*

*Remerciements et reconnaissance à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation à travers le savoir qu'ils nous ont transmis, particulièrement **Mr Bendali Abdelaziz** le Chef d'option, pour sa gentillesse, et pour ses conseils précieux.*

*Pour conclure en souhaite adresser nos remerciement à notre famille.*

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



## Dédicaces

Tout d'abord je tiens à remercier **Dieu** tout puissant, qui m'a tracé le chemin de vie, le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force, l'intelligence et la patience d'accomplir et réaliser ce modeste travail que je dédie aux personnes les plus chères au monde:

**À ma chère Maman**, Qui a été toujours présente à mes côtés par leur amour, soutien et encouragements, qui a été toujours donné le courage pour pouvoir terminer le chemin de ma vie pour tous ces sacrifiés sa tendresse et ses prières tout long de mes études je t'aime.

**À mon cher Père**, source de bonheur qui était toujours présent à tous les sacrifices que tu es déployé pour mon éducation.

« Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie »

**À mon cher frère**, source de motivation, qui été toujours présent pour me aider dans ce travail en gage de ma profonde estime pour l'aide que tu m'as apportée. Tu m'as soutenu, réconforté et encouragé.

**À ma chère sœur**, En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous, merci de me donner un coup de main.

« Je serai éternellement reconnaissante pour leur dévouement constant au cours de toutes ces années d'« études », en espérant que ce travail sera digne leurs espoirs et de leur confiance »

**À chers copines** mezora, bachira à tous les moments que nous avons passés ensemble.

Merci

DJELLOUAT ZINEB



## *Dédicaces*



*Je dédie ce travail à :*

*A Allah*

*Le Tout puissant Qui m'a inspiré, m'a guidé dans le bon chemin et  
à qui Je dois ce que je suis devenue Louanges.*

*A mon très cher père, que Dieu ait pitié de lui,*

*A Ma très chère Mère,*

*Pour tous leurs sacrifices, leur soutien et leurs prières tout au long  
de mes études.*

*A mes chères sœurs Soumia, Amel et Hadjer, que Dieu ait pitié  
d'elle*

*A mes chères cousines Imen, karima, Djamila, mouna et ma petite  
cousine Waffa*

*A mes chères amis Zineb et Bachira*

*A toute ma famille.*

*Mezoura*

## **Liste d'abréviation :**

**DMSO:** Diméthylsulfoxyde

**Rdt :** Rendement

**FAO :** Food agriculture organisation.

**I.T.A.F.V :** Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne.

**MADR :** Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

**SAT :** Superficie Agricole Totale.

**G :** Golden.

**M. domestica :** malus domestica

**HCl :** Acide chlorhydrique

**Fe Cl<sub>3</sub> :**Chlorure de fer

**AlCl<sub>3</sub> :** Chlorure d'aluminium

**PDA :**Gélose dextrosée à la pomme de terre

**PFI :** Production Fruitière Intégrée

**ITAB :** Institut Technique de l'Agriculture Biologique

## Listes des figures

Numéro de figure	Titre de figure
01	Arbre de pommier
02	Feuilles de pommier
03	Fleur du pommier
04	Fruit <i>Golden délicieuse</i>
05	Schéma représente la classification des composés phénoliques.
06	Squelette Acide hydroxy benzoïque
07	Squelette acide hydroxy cinnamique
08	Squelette de des flavonoïdes
09	Squelette Anthocyane
10	Squelette tannin
11	Squelette Alcool (coumarylique, conférylique, sinapylique).
12	a) Commune Benchicao (Google earth). b) Vergers choisis pour les prélèvements des échantillons
13	a) Pommier Golden délicieuse mature b) Pommier Golden délicieuse non mure
14	Pelure fraîche
15	Pelure séché
16	Poudre sèche
17	Protocole d'extraction des polyphénols totaux
18	Protocole d'ensemencement des champignons
19	présentation de rendement d'extrait de polyphénols chez deux vergers (ITAF, Hamamou) à différents stades de maturité.
20	Rendement des polyphénols selon la maturité des fruits de pommier
21	Rendement des polyphénols selon infestation maturité des fruits de pommier
22	Analyses de la variiances
23	Mise en évidence des polyphénols
24	Mise en évidence des flavonoïdes
25	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

<b>26</b>	Courbe d'étalonnage de quercétine
<b>27</b>	Teneurs en polyphénols totaux chez les deux vergers.
<b>28</b>	Teneurs en flavonoïdes chez les deux vergers.
<b>29</b>	Analyses statistiques des teneurs en polyphénols
<b>30</b>	Analyses statistiques des teneurs en flavonoïdes

## Liste des Tableaux

<b>Numéro de tableau</b>	<b>Titre</b>
<b>01</b>	Composition moyenne pour 100g de pomme.
<b>02</b>	Propriétés biologiques de quelques composés phénoliques
<b>03</b>	Caractéristiques des souches fongiques
<b>04</b>	Mise en évidence des composés phénoliques
<b>05</b>	Résultat d'activité antifongique
<b>06</b>	Appareil laboratoire
<b>07</b>	Produit et consommable utilisé
<b>08</b>	Concentration en polyphénols et flavonoïdes



# Tables des matières

## Résumé

### Partie 01 : bibliographique

#### Chapitre I: Généralité sur le pommier

Introduction.....	1
1.1 Présentation générale sur le pommier .....	2
1.2 Historique et Origine .....	2
1.3 Classification botanique .....	3
1.4 Caractères botaniques du l'arbre du pommier .....	3
1.4.1 Arbres .....	3
1.4.2 Racines .....	4
1.4.3 Feuilles .....	4
1.4.4 Fleurs .....	4
1.4.5 Fruit .....	5
1.5. Développement du fruit .....	6
1.5.1 Phase de croissance t .....	6
1.5.2 Phase de maturation.....	6
1.5.3 Phase de sénescence .....	6
1.6 Exigence pédoclimatiques des pommiers .....	6
1.6.1 Exigence climatique .....	6
1.6.2 Exigence en eaux.....	7
1.6.3 Exigence pédologie .....	7
1.7 Composition de fruits .....	7
1.8 Les problèmes phytosanitaire en Algérie .....	8
1.9 Protection phytosanitaire des pommes .....	8
1.9.1 Agriculture biologique .....	8
1.9.2 Agriculture intégrée .....	9
1.9.3 Agriculture conventionnelle .....	9

## Chapitre II: Généralité sur les composés phénoliques

2.1	Métabolites secondaires .....	10
2.2	Les polyphénols .....	10
2.3	Les acides phénoliques.....	12
2.3.1.	Acide hydroxy- benzoïques .....	12
2.3.2.	Acide hydroxycinnamique .....	12
2.4	Les flavonoïdes .....	13
2.4.1	Nature et origine des flavonoïdes .....	13
2.4.2	Structure des flavonoïdes .....	13
2.4.3	Classification des flavonoïdes .....	14
2.4.3.1	Les flavonols.....	14
2.4.3.2	Les flavones .....	14
2.4.3.3	Les flavanones .....	14
2.4.3.4	Les flavanols ou flavan 3 ols .....	15
2.4.3.5	Les anthocyanes .....	15
2.4.3.6	Isoflavones .....	16
2.5.	Les tannins .....	16
2.5.1	Tanins hydrolysables.....	16
2.5.2	Tanins condensés .....	16
2.6.	Les lignines .....	17
2.7.	Rôle des polyphénols pour la plante .....	17
2.8.	Rôle pour la santé de l'homme .....	18
2.9.	Biosynthèse des composés phénoliques.....	18
2.9.1	La voie shikimique .....	19
2.9.2	La voie de phénylpropanoïde.....	19
2.10.	Biosynthèse de flavonoïde .....	19
2.10.1	La voie de shikimate.....	19
2.10.2	La voie de malonate .....	19

2.11. Les activités biologiques de polyphénols .....	19
2.11.1 L'activité antimicrobienne.....	19
2.11.2 L'activité antimicrobienne chez les polyphénols de pommier .....	21
2.11.3 L'activité antifongique .....	22
2.11.4 L'activité antioxydant de polyphénols.....	22
2.12. Les facteurs qui influencent sur la qualité des polyphénols .....	23
2.12.1Facteur biotique .....	23
2.12.2Facteur abiotique .....	24
a. Influence de stress hydrique.....	24
b. Influence de stress saline .....	24
c. Influence de stress thermique .....	24
d. Rayonnement solaire.....	25
e. Traitement appliqué par homme.....	25
2.12.3 Influence des stades de maturation sur les teneurs en polyphénols.....	25

## **Partie2: Etude expérimentale**

### **Chapitre III : Matériels et méthodes**

3.1. Objectifs de l'étude.....	26
3.2. Présentation de la zone d'étude .....	26
3.3. Présentation du site d'échantillonnage.....	26
3.4. Matériel et méthode.....	28
3.4.1. Matériel végétal .....	28
3.4.2 Matériel microbien.....	28
3.4.3 Préparation des échantillons.....	29
3.5 Extraction des polyphénols totaux par ultrason dans le méthanol aqueux.....	30
3.6 Rendement de l'extraction des polyphénols .....	32
3.7. Mise en évidence des différents composés phénoliques.....	32

3.7.1 Mise en évidence des polyphénols totaux.....	32
3.7.2 Mise en évidence des flavonoïdes.....	32
3.8 Dosage des composés phénoliques totaux .....	32
3.9 Dosage des flavonoïdes.....	33
3.10 Étude de l'activité antifongique.....	33

### **Partie3: Résultat et discussions**

#### **Chapitre IV: Lecture des résultats**

4.1 Détermination des rendements des polyphénols totaux.....	37
4.1.1 Analyses statistiques des rendements en polyphénols totaux.....	39
4.2. Mise en évidence de la présence des composés phénoliques.....	39
4.3 Détermination de dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes .....	40
4.3.1 Analyses statistiques des polyphénols et Flavonoïdes .....	42
4.4 Détermination de l'activité antifongique.....	43
Discussion Générale.....	46
Conclusion et perspective.....	48
Bibliographie.....	49
Annexe.....	60

## Résumé

De nos jours, les travaux de recherche s'intéressent à de nouveaux critères de qualité, qui sont en rapport avec les composés bioactifs et leurs effets bénéfiques pour la santé. De nombreux facteurs biotique et abiotique ont une influence sur les teneurs en composés bioactifs. Le but de ce travail est d'évaluer l'effet du stade de maturité et la présence d'infestations sur la teneur en composés phénoliques et leur activité antifongique ont été étudiées chez les pelures de la variété *Golden délicateuse* (*Malus domestica*) de deux vergers ITAFV et Hmamou de Medea a montré que les résultats obtenus des teneurs en polyphénols ont révélé durant les deux stades de maturité et l'effet l'infestation de fruit. Les pelures de pomme *Golden délicateuse* a enregistré que les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes au stade non mur ( $7,7E-03$  mgEAG/ml) et ( $8,4E-03$  mgEQ/ml) respectivement, et les teneurs les plus élevées de polyphénols totaux et flavonoïdes durant l'infestation ( $7,3E-03$  mgEAG/ml) et ( $9,3E-04$  mgEQ/ml) respectivement, dans l'étude d'activité antifongique, les résultats donnés que l'extrait ne possède pas un pouvoir inhibiteur sur les deux souches fongiques *Candida albicans* et *Fusarium sp.* Ces résultats confirment l'effet important du stade de maturité et d'infestation sur les teneurs en polyphénols chez la variété de *Golden délicateuse* étudiées. Ils donnent aussi des informations précieuses sur la biosynthèse et l'accumulation de ces composés bioactifs afin d'évaluer la meilleure période de récolte du pomme.

**Mots clés:** Pommier (*Golden délicateuse*), pelure, Polyphénols, stade de maturité, l'infestation, activité antifongique.

## الملخص

في الوقت الحاضر ، تهتم الأعمال البحثية بمعايير الجودة الجديدة ، والتي تتعلق بالمركبات النشطة بيولوجيًا وتأثيراتها المفيدة على الصحة. تؤثر العديد من العوامل الحيوية واللاأحيائية على مستويات المركبات النشطة بيولوجيًا. الهدف من هذا العمل هو تقييم تأثير مرحلة النضج ووجود الاوبئة على محتوى المركبات الفينولية ونشاطها المضاد للفطريات وقد تمت دراسة قشور الصنف الذهبي اللذيذ (*Malus domestica*) من بستانيين. أظهرت ITAFV و Hmamou من المدينة أن النتائج التي تم الحصول عليها لمحتويات البوليفينول تم الكشف عنها خلال مرحلتى النضج وتأثير الإصابة بالفاكهة. سجلت قشور التفاح الذهبي اللذيذ أعلى مستويات من البوليفينول الكلي والفلافونيدات غير الناضجة (7.7 إي -03 ملغ / مل) و (E-03 8.4 ملغ / مل) على التوالي ، والمستويات أعلى مجموع من مادة البوليفينول والفلافونويد أثناء الإصابة (7.3 E-03 mgEAG / ml) و (9.3 E-04 mgEQ / ml) على التوالي ، في دراسة الفعالية المضادة للفطريات ، أعطت النتائج أن لا يمتلك المستخلص قوة مثبطة على السلالتين الفطريتين *Candida albicans* و *Fusarium sp* تؤكد هذه النتائج التأثير المعنوي لمرحلة النضج والإصابة على مستويات البوليفينول في الصنف *Golden Delicious* الذي تمت دراسته. كما أنها توفر معلومات قيمة عن التخليق الحيوي وتراكم هذه المركبات النشطة بيولوجيًا من أجل تقييم أفضل وقت حصاد للتفاح.

**الكلمات المفتاحية:** شجرة التفاح (*Golden Delicious*) ، التقشير ، البوليفينول ، مرحلة النضج ، الإصابة ، نشاط مضاد للفطريات.

## Abstract

Nowadays, research works are interested in new quality criteria, which are related to bioactive compounds and their beneficial effects on health. Many biotic and abiotic factors have an influence on the levels of bioactive compounds. The aim of this work is to evaluate the effect of the stage of maturity and the presence of infestations on the content of phenolic compounds and their antifungal activity were studied in the peels of the variety Golden delicious (*Malus domestica*) from two orchards ITAFV and Hmamou from Medea showed that the results obtained of the polyphenol contents revealed during the two stages of maturity and the fruit infestation effect. *Golden Delicious* apple peels recorded the highest levels of total polyphenols and flavonoids at the unripe stage (7.7E-03 mgEAG / ml) and (8.4E-03 mgEQ / ml) respectively, and the levels the highest total polyphenols and flavonoid during infestation (7.3E-03 mgEAG / ml) and (9.3E-04 mgEQ / ml) respectively, in the study of antifungal activity, the results given that the extract does not have an inhibitory power on the two fungal strains *Candida albicans* and *Fusarium sp.* These results confirm the significant effect of maturity stage and infestation on polyphenol levels in the Golden Delicious variety studied. They also provide valuable information on the biosynthesis and accumulation of these bioactive compounds in order to assess the best harvest time for apple.

Key words: Apple tree (*Golden Delicious*), peel, Polyphenols, maturity stage, infestation, antifungal activity.

### Introduction

Le pommier est une source de médicaments depuis de nombreuses années. Récemment, on a mis l'accent sur la production de produits naturels phytothérapeutique utilisée en médecine traditionnelle et dont on pense qu'elle possède des composants actifs qui aident à traiter et à gérer diverses infections phytopathogènes sont causées par différents micro-organismes et sont la cause des maladies les plus fatales et les plus répandues chez les plantes. (Yala et al., 2001).

Les coproduits de pommes étant initialement riches en polyphénols/antioxydants, il est pertinent d'essayer de tirer profit de ses propriétés par valorisation d'épidermes de pommes séchées est la réintroduction de ses composés phyto-chimiques possèdent diverses fonctions biologiques. La pomme est reconnue pour sa teneur élevée essentiellement en fibres alimentaires (polysaccharide, cellulose, hémicellulose, pectine), en vitamine (C et B), et en teneur plus élevée en polyphénols, en particulier, les flavonoïdes sont connue pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anticancéreuses, anti-inflammatoires, permettant de lutter contre certaines maladies telles les maladies chroniques comme le cancer et les maladies cardiovasculaires(Jelodarian et al., 2013), sont également utilisés comme additifs pour les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

De nombreux facteurs ont une influence sur les teneurs en composés phénoliques et leurs fonctions biologiques. Elles peuvent varier avec l'espèce, les conditions culturales, conditions d'environnement...etc

Dans ce travail, on s'intéresse à l'étude in vitro de l'activité antifongique des extraits éthanoliques d'où l'intérêt de ce travail, qui vise à analyser quantitativement les deux extraits de deux vergers espèces de pommier et évaluer le rendement des polyphénols totaux de extrait éthanolique de pelures de pommiers *Golden delicious* de deux vergers (Hamamou et ITAF mature et non mature), à partir d'extraction ultrasonique.

Le mémoire comportera les parties suivantes:

Une première partie consacrée a la synthèse bibliographique, cette partie contient:

1. Une partie bibliographique
2. Etude expérimentale : Etude quantitative du contenu d'épiderme de pommier en polyphénols (phénols totaux, flavonoïdes).
3. Résultat et discussion.



### Chapitre I : Généralité sur les pommiers

#### 1.1 Présentation générale de pommier

Les pommes sont les fruits les plus consommés dans le monde et sont la source principale de nutriments et d'antioxydants dans l'alimentation humaine. La pomme est le fruit "santé", il apparue sur Terre il y a environ 80 millions d'années (**Mignonac, 2019**).

Le pommier cultivé (domestique), est une espèce d'arbres fruitiers appartenant à la famille des Rosacées (**Robinson et al. 2002**), il existe environ 20 000 variété (**Doré et Veroquaux, 2006**).

#### 1.2. Historique et Origine :

La culture de pommier était déjà bien connue des civilisations égyptiennes et grecque figure parmi les arbres que fit planter le pharaon il s'est surtout propagée autour de la Méditerranées et situé très certainement dans le Caucase et sur les bords de la mer caspienne (**SAPIN, 1987**).

Le genre *Malus* présente 8 et 78 principales espèces sont reconnues, selon les approches taxonomiques, ces espèces sont groupées en sections (*Malus, Sorbomalus, Eriobolus, Docyniopsis, et Chloromeles*) et séries comme *Malus* et *Baccata* qui composent la section *Malus* (**LUBY, 2003**).

Le pommier *Malus domestica* est vraisemblablement originaire d'une région s'étendant de la mer Noire à la mer Caspienne, l'Asie centrale. c'est la première variété cultivé en France est poussait à l'état sauvage dans le sud du Caucase jusqu'au Sinkiang (Ouest de la Chine) (**Trillot et al., 2002**). D'abord consommée dans cette région et sur les plateaux d'Anatolie (Turquie actuelle) par l'homme du Néolithique. (**Doré et Veroquaux, 2006**).

L'espèce *Malus domestica* n'a pas évolué de manière naturelle : elle est prélevée, transportée, hybridée et sélectionnée depuis des millénaires (**Ferree et Carlson, 1987**) son principal ancêtre sauvage serait le *Malus sieversii* dont l'aire de répartition est centrée sur la frontière séparant l'ouest de la Chine et l'ancienne Union soviétique (**Doré et Veroquaux, 2006**).

Il existe 25 espèces des pommiers sauvages dans la partie tempérée de l'hémisphère nord et on estime à 7.000 le nombre de variétés, Le *M. sieversii* est la seule espèce sauvage à posséder tous les caractères du *M. Domestica* (Pirotte, 2005).

La principale variété du pommier cultivé en Algérie est une golden un cultivar de pommier domestique. Elle a pour origine, l'Amérique ou elle a été découverte en 1912 dans un verger, c'est un hybride fourni par *Red Delicious* et *Grime golden* (Robin et Bouhier De L'ecluse, 1966).

### 1.3. Classification botanique :

Selon (Robinson et al., 2001); le pommier est classé comme suite :

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

### 1.4. Caractères botaniques du l'arbre du pommier :

#### 1.4.1 Arbres :

Le pommier est une espèce hermaphrodite, sa taille est petit à moyenne de 10 à 15m de hauteur mais les pommes cultivés sont de 2 à 5m (Cabi, 2012), ils possèdent des rameaux à écorce brune, lisse, à nombreux lenticelles, devenant rugueuses sur le vieux bois et portent des bourgeons qui peuvent être végétatifs ou inflorescences (Delahaye et Vin, 1997).



**Figure 1:**Arbre de pommier (Guermah, 2019).

### 1.4.2 Racines :

Le pommier possède deux types de racines : des racines permanentes, épaisses et étalées, formant une couche horizontale à moins de 50 cm de la surface, d'où partent de nombreuses racines verticales qui descendent jusqu'à la couche imperméable ou à la nappe phréatique (Jackson, 2003).

### 1.4.3 Feuille :

Les feuilles du pommier sont caduques, alternes, simples, entières et dentées sur les bords, elles portent 2 stipules foliacées à la base du pétiole (Pratt, 1990).



**Figure 2 :** Feuilles de pommier (Guermah, 2019)

### 1.4.4 .Fleurs :

Selon Abbott (1984), l'inflorescence du pommier constitue un corymbe à floraison centrifuge et sont généralement au nombre de 6. Une grande variabilité de taille, du nombre et de couleur des pétales (blanc à rose foncé) a également été observée. La fleur du

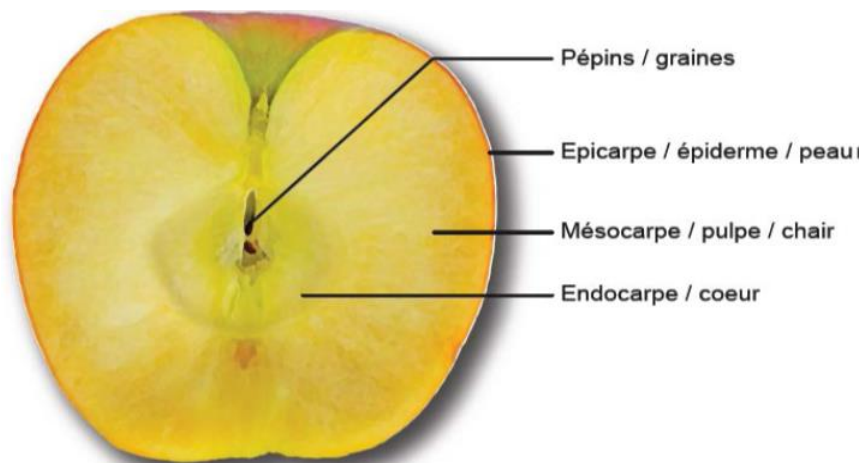
pommier est composée de 5 sépales, 5 pétales, 20 étamines et un gynécée comportant 5 styles soudés à leur base (**Pratt, 1990**).



**Figure 3:** Fleur du pommier (**Guermah, 2019**)

### 1.4.5 Fruit :

Le pommier est un fruit arrondi, de forme quasi sphérique, mesure généralement plus de 5 cm de diamètre et pèse 200 à 350 grammes. Ce fruit est de couleur et de goût variables suivant les variétés, dont la teinte définitive est caractérisée par la maturité finale du fruit (**Jackson, 2003**). Sa structure à une drupe à mésocarpe charnu entourant 5 loges cartilagineuses qui renferment les grains, elle est composée de 3 structures : l'épiderme qui est la couche la plus externe, puis le mésocarpe, également nommé parenchyme, qui est la partie charnue généralement consommée et l'endocarpe qui est la zone la plus interne (**Trillot et al., 2002**).



**Figure 4:** Schéma de coupe longitudinale d'une pomme (**Anonyme, 2006**).

### 1.5. Développement du fruit :

On distingue trois phases de développement du fruit:

Plusieurs étapes se succèdent lors de la croissance de la plante et la mise en place du fruit. Trois phases de développement du fruit sont distinguées: la phase de croissance, la maturation et la sénescence (**Trillot et al., 2002**).

#### 1.5.1 Phase de croissance :

La phase de croissance débute après la floraison et constitue l'étape de grossissement du fruit par division et grandissement cellulaires. Quatre à sept semaines après la floraison, les cellules cessent de se diviser mais continuent de grandir jusqu'à la maturité du fruit. La chute naturelle des fruits latéraux des corymbes (éclaircissage naturel) est observée à l'arrêt de la division cellulaire (**Bain et Robertson 1950**).

#### 1.5.2 Phase de Maturation :

Au cours de la maturation, le fruit subit d'importantes transformations physicochimiques grossissement, évolution de la couleur de l'épiderme et des pépins, baisse de la fermeté, régression de l'amidon, augmentation du taux de sucres solubles, diminution de l'acidité, dégagement d'éthylène (**Trillot et al., 1993**).

#### 1.5.3 La phase de sénescence :

Après la récolte, le fruit se ramollit, la perte en fermeté peut atteindre 50% de la fermeté initiale de plus, les blessures sont susceptibles de stimuler la synthèse d'éthylène et donc d'accélérer la maturation (**Pech et al., 2002**). Après la maturité, le fruit connaît une période de sénescence jusqu'à la libération des pépins (**Travers, 2004**).

### 1.6. Exigences pédoclimatiques des pommiers :

Selon **Guiheneuf (1998)**, la culture du pommier s'étend dans toutes les zones tempérées de l'Hémisphère Nord (30° à 60° de l'altitude N) et de l'Hémisphère Sud (30° à 40° de l'altitude S) jusqu'à une altitude de 800m.

#### 1.6.1 Exigences climatiques :

Le climat à une grande influence sur l'activité biologique de l'arbre, Le pommier est une espèce des zones tempérées, il nécessite une longue période de repos végétatif, est une espèce ne souffre pas des basses températures d'hiver que si elles sont importantes (-20°C, 25°C), cette température possède une action directe dure le développement de

l'arbre(Gautier, 2001).Des températures basses sont nécessaires pour que se produise la levée de dormance et des températures élevées favorisent ensuite l'évolution des bourgeons (Bidabe, 1965).

**1.6.2 Exigence en eaux :**

Les besoins de l'eau variant selon le volume de l'arbre, la quantité d'eau nécessaire au pommier pour sa croissance et sa production varie de 700 à 900 mm/an. Les besoins en eau du pommier en période de végétation (mars à septembre) seraient de 600 mm. Les besoins les plus forts se manifestante (Oukabli, 2012).

**1.6.3 Exigence pédologie :**

Le pommier s'adapte à de nombreux types de sol, d'argileux à limons sableux, mais les sols favorables sont profonds, fertiles et sans excès d'humidité et de bonne structure, à pH 6 à 6,5 dont la teneur maximale en calcaire actif se situe entre 12 à 15% (Guiheneuf, 1998).

**1.7 Composition de fruits :**

**1.7.1 Composition biochimique :**

La pomme, avec sa composition variée et son faible apport calorique (54 Kcal au 100 g), est souvent considérée comme un « fruit santé » (Tableau 1). Elle est d'une part très riche en eau (plus de 85% de sa masse totale) et l'essentiel de ses calories est fourni par les sucres, principalement du fructose (51%). Elle contient également une grande quantité de minéraux et d'oligo-éléments (environ 300 mg pour 100 g de pomme). La pomme possède une large gamme de vitamines du groupe B (de 0,007 à 0,3 mg en moyenne pour 100 g de pomme selon les vitamines) ainsi que la vitamine E (0,49 mg), la provitamine A (0,045 mg) et surtout la vitamine C (12 mg) principalement présente dans la peau du fruit (Cindy Verdu, 2012

**Tableau 01:**Composition moyenne des nutriments pour 100 g de pomme

Composants	Eau	Glucides	Fibres alimentaires	Lipides	Protides					
Quantité (g)	85.3	11.8	2.3	0.4	0.3					
Vitamines	vitamine C		Vitamine E	Vitamine B3	Vitamine B5	Provitamine A		Vitamine		
mg	12		0,49	0,3	0,1	0,045		0,035		
Minéraux	Potassium	Phosphore	Calcium	Magnésium	Sodium	Chlorure	Fer	Zinc	Cuivre	Magnisium

<b>Quantité (mg)</b>	85.3	11.8	7	6	3	2	0,48	0,12	0,1	0,065
----------------------	------	------	---	---	---	---	------	------	-----	-------

### **1.8 Les problèmes phytosanitaire en Algérie**

Le pommier est sujet à plusieurs attaques de maladies et ravageurs qui occasionnellement des dégâts important ( **Blommers, 1994**)

Les principaux ravageurs et maladies du pommier signalés en Algérie sont : la tavelure, *Panonychus ulmi* (Koch) (l'acarien rouge) et *Tetranychus urticae* (Koch) (l'acarien jaune), *Dysaphis plantaginea* (Börner) (puceron cendré) et *Eriosoma lanigerum* (Hausm.) (Puceron lanigère) ; *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock.) (Pou de San José), *Cydia Pomonella* (L.) (Carpocapse des pommes et des poires) ; *Ceratitis capitata* (Wiedemann.) (Mouche méditerranéenne des fruits) ; le feu bactérien (*Erwinia amylovora*) (**Anonyme, 2013**).

### **1.9 Protection phytosanitaire des pommes :**

Pour combattre les ravageurs de pommier, différentes pratiques culturales ont été mises en place. On peut distinguer différents modes de protection phytosanitaire réglementés par le Ministère de l'Agriculture et de l'Ecologie Jusqu'en 2010, il existait clairement trois grands systèmes de protection phytosanitaire en vergers de pommiers :

#### **1.9.1 Agriculture biologique (AB) :**

L'agriculture biologique est une méthode de production agricole qui se caractérise par l'absence d'usage de produits de synthèse (fertilisants, pesticides) dans le but d'assurer une gestion durable de l'agriculture, une préservation de la biodiversité faunistique et floristique ainsi que la qualité des sols, de l'eau et de l'air (**Rigby et Caceres, 2001**).

La confusion sexuelle est utilisée pour combattre le carpocapse; il s'agit d'une méthode perturbatrice de la reproduction des lépidoptères ravageurs qui repose sur la diffusion au sein des parcelles de molécules analogues aux phéromones sexuelles émises par les femelles pour attirer les mâles (**Carde et Minks, 1995**).

#### **1.9.2 Agriculture intégrée (ou Production Fruitière Intégrée PFI) :**

L'agriculture intégrée était un compromis entre l'utilisation de méthodes issues de l'agriculture biologique et l'agriculture conventionnelle (**Sansavini, 1997**).

#### **1.9.3 Agriculture conventionnelle :**

L'agriculture conventionnelle autorise l'utilisation de tous produits (fertilisants,

fongicides, insecticides et herbicides) sans limite particulière, dans le but d'obtenir une productivité maximale et éviter toutes maladies ou pressions d'insectes nuisibles au risque de perturber l'écosystème (**Bouvier et al., 2011**).



## Chapitre II : Généralité sur les composés phénolique

### 2.1 Métabolite secondaires

#### 2.1.1 Définition :

Ce sont des composés phytochimiques très répandus dans le règne végétal synthétisé par les plantes qui assurant des fonctions non essentielles, mais font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale parce que leur organisme ne peuvent pas synthétiser naturellement.

À ce jour, plus de 100 000 métabolites secondaires ont été identifiés, on les retrouve dans des compartiments particuliers ou à des moments précis de la vie. Contrairement aux métabolites primaires, ils ne participent pas directement au développement de l'organisme (la plante, typiquement), ce sont des composés organiques intermédiaires (**Sauvion et al., 2013**) participent à la vie de la plante, et ils ont des rôles très variés (**Martin, 2014**).

Ces métabolites secondaires possèdent un rôle allélo-chimique affectent la survie des organismes vivantes et en distingue la classification de ces métabolites secondaires selon leurs voies de biosynthèses en nombreux groupes:

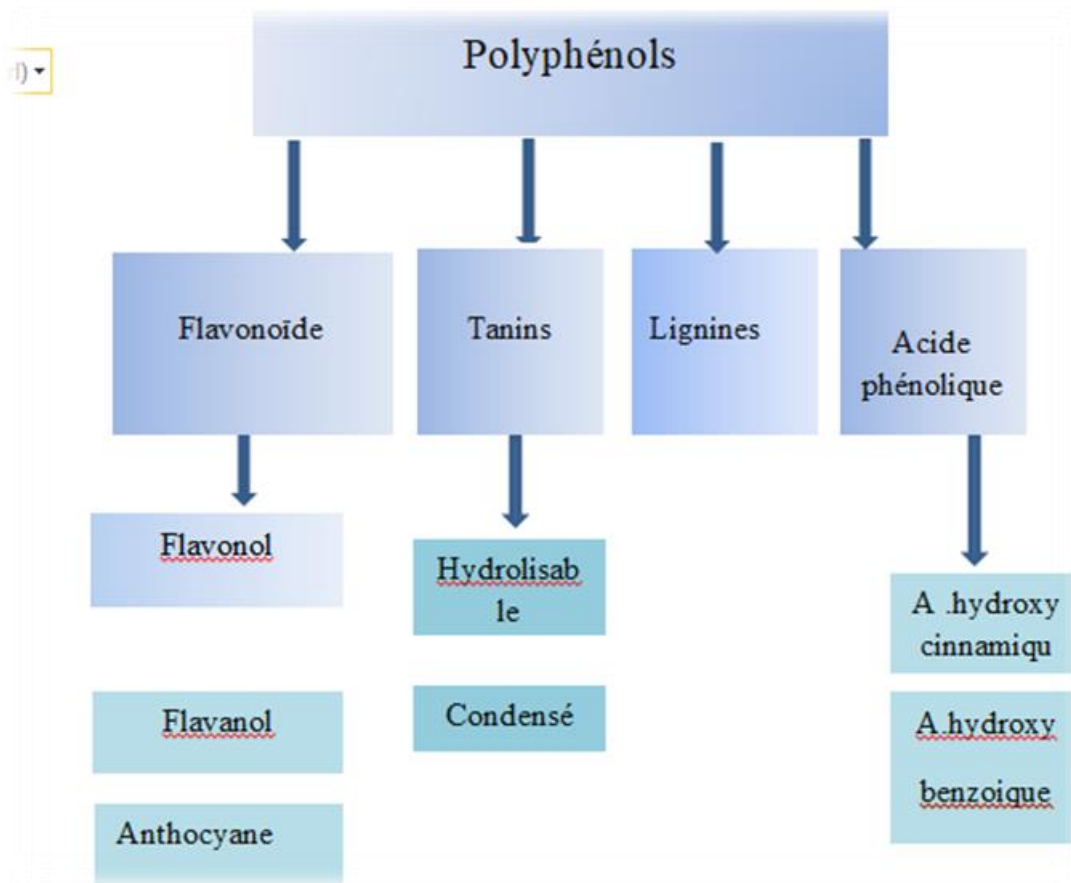
Composés phénoliques, Composés terpéniques, Composés azotés, Hétérosides (**Sauvion et al., 2013**). Ces composés se trouvent dans toutes les parties des plantes mais distribués selon leurs rôles défensifs (**Khater, 2011**).

#### 2.2 Les polyphénols :

Ce sont des composés aromatiques appeler aussi composés phyto-chimique ou phyto-nutriments constituant le groupe le plus large et le plus répandu de règne végétal, plus de 8000 structures phéneaux sont connues (**Collin et Crouzet, 2011**). Ils sont retrouvés dans tous les organes végétaux sont considéré comme des phyto-micro-nutriments et constituent des pigments responsables des teintes auto-mable des feuilles et des couleurs des fruits et des fleurs. Sont des composés aromatiques non azotés de acide aminé aromatiques : phényle alanine particulièrement le Tyrosine et Tryptophane (**Khater, 2011**). Leur structure forme un groupe de composés très divers se différenciant par le nombre et

l'enchaînement des noyaux aromatiques (C<sub>6</sub>,C<sub>1</sub>), caractérisé par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyle libre ou engagé avec des sucres(**Singleton et Esau, 1969**).

Les acides phénoliques sont des composés qui ont des propriétés antioxydantes pouvant contribuer à prévenir l'apparition de plusieurs maladies (cancers, maladies cardiovasculaires et maladies liées au vieillissement) en neutralisant les radicaux libres de l'organisme (**Nijveldt et al., 2001**), et des divers propriétés physiologique comme les activités anti-inflammatoire, antivirale, antibactérienne, anti-carcinogénique (**Meddleton et al., 2000., Ksouri et al., 2007**).On peut classer en quatre grands groupes : les acides phénols, les flavonoïdes, les tannins, les lignines



**Figure 05 :** Schéma représente la classification des composés phénoliques.

Les principales classes de composés phénoliques :

### 2.3 Les acides phénoliques :

Un acide phénolique est une molécule partie de métabolites secondaires sont des molécules organiques (Bruneton, 1993) participent dans le système de défense de la plante contre les agressions biotiques et abiotiques. C'est un composé à faible poids moléculaire sont considéré comme les polyphénols les plus simples a 9 atomes de carbone possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique cette fonction se définit par un noyau aromatique benzénique substitué par un groupe hydroxyle qui peut être méthyles, acylés ou glycolyses (Bruneton, 2009).

#### 2.3.1 Acide hydroxy- benzoïques :

Ils sont des acides phénols dérivés de l'acide benzoïque, constitué des 7 atomes de carbone. Les acides hydroxy-benzoïques (figure : 06) existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides les formes plus abondantes sont :

Acide benzoïque ; Acide vanillique ; Acide salicylique ; Acide gallique ; Acide syringique ; Acide gentsique ; Acide protocatechique (Khater, 2011).

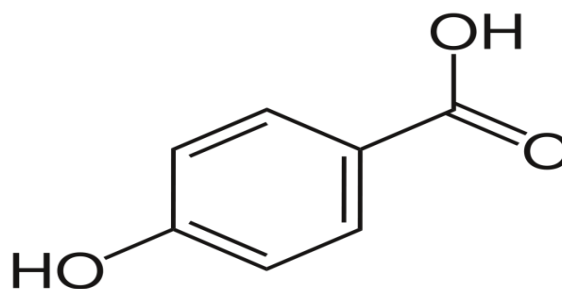


Figure 06: Squelette Acide hydroxy benzoïque (Khater, 2011)

#### 2.3.2 Acide hydroxycinnamique :

Acide phénol dérivés de l'acide cinnamique (figure 07) constitué du 9 atomes de carbone, c'est un composé biochimique existant se forme combine avec des molécules organiques.

L'acide p-coumarique (et ses isomères, les acides o- et m-coumariques), l'acide caféique, l'acide férulique et son dérivé 5-hydroxyle et enfin l'acide sinapique Les acides

hydroxycinnamiques existent généralement dans la plante sous forme de glucosides, ou sous forme d'esters (Ribéreau-Gayon, 1965).

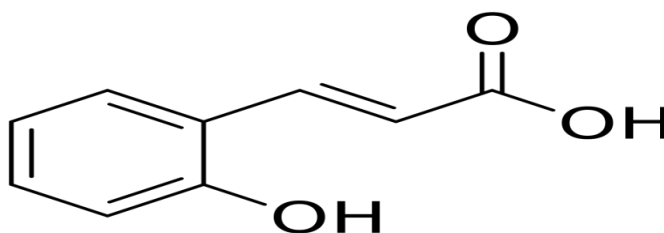


Figure 07: Squelette acide hydroxycinnamique (Khater, 2011).

### 2.4 Les flavonoïdes :

#### 2.4.1 Nature et origine des flavonoïdes :

Flavonoïde est dérivé du mot "Flavus" en latin, qui signifie couleur jaune (Bruneton, 1993), ces flavonoïdes proviendraient du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange (Piquemal, 2008), sont des composés phénoliques présent au niveau des plantes comprenant au moins 6500 molécules (Stöckigt *et al.*, 2002). Présents chez toutes les plantes vasculaires et la plupart des bryophytes (Khater, 2011). Considérer comme des pigments universels responsables de coloration des fruits, des feuilles, fleurs, tige, il s'agit des pigments colorés confère aux organismes une large palette de couleurs pour la protection contre les rayons solaire et contre l'oxydation (Bruneton, 2015). et permet d'attirer les insectes afin que ceux-ci chargent le pollen (Machiex *et al.*, 2005).

Les aglycones sont plutôt présents sous forme de cire dans les feuilles, les écorces et les bourgeons.

Ils sont localisés dans divers organe de la plante : la cuticule foliaire et les cellules épidermiques pour assurer la protection de la plantes contre les rayonnements ultraviolets B et posséder même des activités antifongique et antioxydants (Bruneton, 2009).

#### 2.4.2 Structure des flavonoïdes :

Ils sont des molécules de 15 atomes de carbones forment des structures C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (figure 08), de type benzo-γ-pyrone de deux noyau aromatique relié par à port hétérocyclique oxygéné à 3C et relié par 2 noyau A et B, Le flavonoïde présent se forme glycoside son classement des flavonoïdes basé sur le degré d'insaturation (De Rijke *et al.*, 2006).

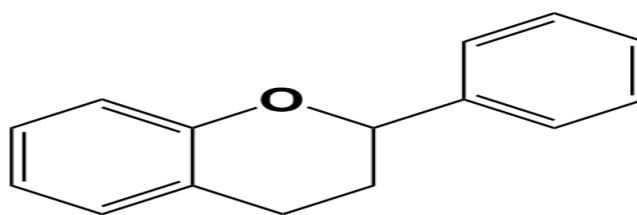


Figure 08: Squelette de base des flavonoïdes (Roger et al., 2008)

### 2.4.3 Classification des flavonoïdes :

D'après Macheix et al, 2005 en classé les flavonoïdes suivant :

#### 2.4.3.1 Les flavonols

C'est un composé le plus abondant dans les composés flavonoïques possède un grand pouvoir antioxydant de la structure 2-phényl-2,3-dihydro-4-hydroxy-chromone. Ils sont présents presque dans tous les végétaux à l'exception des algues, champignons se différencient des flavones par la présence d'un OH en C<sub>3</sub> (Foret, 2018).

Les flavonols existent dans la pomme de forme glycosylés ex : quercétol leur concentration est variée.

Parmi les flavonols les dérivés de la quercétine sont présents dans de nombreux fruits et légumes (abricot, brocoli, laitue, raisin, tomate, raisin) (Navarre et Langlade, 2010).

Les teneurs sont de l'ordre de 10 mg d'aglycone par kilogramme de matière fraîche à l'exception de l'oignon qui en contient 280 à 490 mg.kg<sup>-1</sup> (Enaud, 2004).

#### 2.4.3.2 Les flavones:

C'est un composé organique dérivé de 1-benzopyran-4-one dérivent des flavanones par une oxydation qui introduit une seconde double liaison dans l'hétérocycle saturé c'est un composé incolore se forme cristaux soluble sans l'eau (Forêt, 2012).

#### 2.4.3.3 Les flavanones

Composé un peu coloré dérivé de 2,3 dihydrogéné généralement glycosylé par un disaccharide en position 7 pour donner des hétérosides de flavanone, sont caractérisées par l'absence de double liaison en 2,3 et par la présence de centres d'asymétrie (Bruneton, 2009).

### 2.4.3.4 Les flavanols ou flavan 3 ols:

Composé dérivés de la 3-hydroxyflavone (3-hydroxy-2-phénylchromén-4-one), des flavonoïdes possédant un hydroxyle phénolique en C3 et une fonction carbonyle C=O en C4 sur l'hétérocycle central du squelette de base des flavonoïdes. Ce sont des pigments végétaux de couleur jaune plus ou moins clair. Ils diffèrent par le nombre et la position d'hydroxyle phénolique –OH, parfois méthyles (**Rani et al., 2018 ; Rani, Yadav, 2018**).

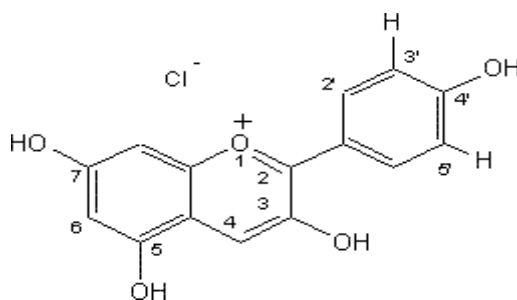
### 2.4.3.5 Les anthocyanes :

Antho : fleur, cyan : bleu sombre

Ce sont des molécules présent chez les végétaux supérieur (angiospermes) au niveau des pétales des et les feuilles, fruit rouge, légumes responsable des pigment rouge, bleu, dépend de condition de milieu (**Samouelian et al., 2009**).

Ce sont des hétérosides d'anthocyanidine basé sur 6 anthocyanes sa structure représentées sous leur forme cation flavylum (2-phénylbenzopyrylium) rouge (**Harborne et Williams, 2001**), leurs structures se différencient par le nombre et la position de groupes hydroxyles et méthyles sur le noyau B, constituer de trois cycle aromatique responsable de pouvoir absorbant (**Samouelian et al., 2009**).

Son source major sont les pommiers, son hétéroside principale c'est cyanidole3ole calagtoside possèdent un rôle physiologique pour la plante la protection contre les rayons UV, contre l'attraction des insectes pollinisateur (**Samouelian et al., 2009**) et empêcher la congélation des fruits et il est utilisé en tant que colorant alimentaire E163, et d'autre propriétés médicale et pharmaceutique (**Clémens, 1995**).



**Figure 09:** Squelette d'anthocyanane (**Samouelian et al., 2009**).

### 2.4.3.6 Isoflavones :

Ce sont les isomères de flavonoïdes, avec une structure quasi identique, la seule différence étant la position du groupe phényle, lié au carbone 3 au lieu du carbone 2 pour les flavones.

Ces flavonoïdes sont présents dans les produits alimentaires non fermentés en tant que glycosides et dans les produits fermentés sous leur forme aglycone. Ils peuvent aussi être acylés par un acétate ou un malonate, possèdent une réaction antifongique (**Bruneton, 2009**).

### 2.5 Les tanins :

Ce sont des polyphénols polaires d'origine végétale existante dans chaque partie de la plante, considéré comme des substances amères renferment les écorces des fruits, les gousses, les feuilles, les racines, les graines de certains végétaux distingue deux types de tanins entre tanins hydrolysables et tanins condensés (**Macheix *al*, 2005, Mann.I, 1962**).

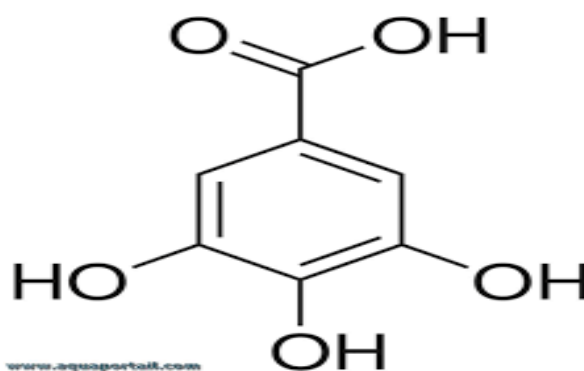


Figure 10: Squelette tannin (**Macheix *et al.*, 2005**)

#### 5.2.1 Tanins hydrolysables :

Ils sont abondants chez les Dicotylédones et certains arbres en sont des sources industrielles. Ce sont des esters des acides phénoliques associés à un polyol (le glucose le plus souvent). Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique. Ils peuvent libérer une partie phénolique (comme l'acide gallique..) et une autre partie non phénolique (comme l'acide quinique ou le glucose (**Macheix *et al.*, 2005**)).

#### 5.2.2 Tanins condensés :

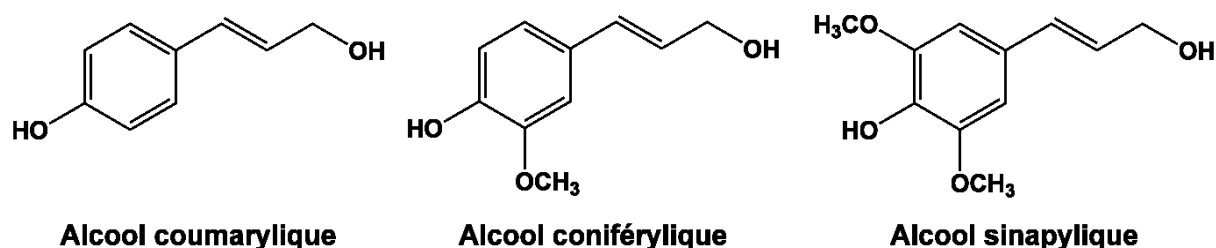
Ils sont des oligomères produits de la polymérisation de flavan-3-ols (catéchines) et de flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines), sont des molécules majoritaires de la pomme. Ils sont aussi désignés sous le nom de « tanins catéchiques » et sont des composés

résistent non hydrolysables seul les attaques chimiques et traitement chaud qui peuvent transformer en pigment rouge possèdent une forte affinité sur les protéines (**Jarrige et Ruckebusch,1995 ; Macheixet *al*, 2005**).

### 5.3 Les lignines :

La lignine est une macromolécule tridimensionnelle variable de haut poids moléculaire, faisant partie des polyphénols dérivé de phénylpropane qui comporte 9 atome de carbones sont représenté une biomasse considérable produite annuellement par les végétaux représente 15% à 35% du bois d'angiosperme et gymnospermes.(**Pouzet, 2011**).

La lignine est formée de façon aléatoire par la polycondensation et par la déshydrogénation enzymatique de trois alcools phénylpropénoïques en configuration trans, l'alcool coumarylique, l'alcool sinapylique et l'alcool conféryliques ces trois alcools peuvent être désignés sous le terme général de monolignols(**Assad, 2015**).



**Figure 11:**Squelette Alcool (coumarylique, conférylique, sinapylique) **Anonyme,2019**)

## 2.7. Rôle des polyphénols pour la plante

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux. Ils peuvent en effet intervenir :

Dans La fertilité, la pigmentation, la signalisation et la protection contre des agents biotiques et abiotiques et encore la formation de polymères structuraux comme la lignine (**Macheixet *al.*, 2005**).

Les phénols associés à de nombreux processus physiologiques: croissance cellulaire, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation (**Nitsch et Nitsch, 1961**).



Les cellules végétales répondent au stimulus environnemental en synthétisant les métabolites secondaires qui peuvent les protéger contre les agents de l'agression (**Misirliet al . 2001**) lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. Ces réactions aboutissent à la formation au niveau de la blessure d'un tissu cicatriciel résistant aux infections (**Fleuriet et Macheix, 1990**). Dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume et qualité nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules) et des produits qui en dérivent par transformation; (**Macheixet al., 2005**).

### 2.8 Rôle pour la santé de l'homme :

Les propriétés antioxydants ou anti-inflammatoires des poly phénols participent à la prévention de diverses pathologies impliquant le stress oxydant et le vieillissement cellulaire, les maladies cardiovasculaires ou dégénératives, ostéoporose, (**Wang et Mazza, 2002**). Ils diminuent la perméabilité des vaisseaux capillaires renforçant leur résistance, ils agissent contre les radicaux libres (**Nissiotis et Tasioula-Margari, 2002**).

### 2.9 Biosynthèse des composés phénolique :

- **La voie de biosynthèse :**

La biosynthèse des composés phénoliques, largement décrite dans la littérature, dérive de la voie du shikimate et de la voie des poly- $\beta$ -cétoesters (trois unités malonylCoA) pour l'élaboration de l'unité phloroglucinol (**Hoffmann, Besseau et al. 2004**).

- **La voie shikimique : cyclogénèse.**

L'acide shikimique est un intermédiaire biochimique important dans les plantes. Il est isolé pour la première fois en 1885 par le Néerlandais Johann Frederik Eijkmann à partir de la fleur *shikimi*.

Chez le pommier la biosynthèse de polyphénol commence par la biogenèse de noyau aromatique qui apparue au cours de l'évolution de la plante.

La voie du shikimate commence par la condensation du phosphoénolpyruvate avec l'érythrose-4-phosphate sous l'action d'une 3-désoxy-7-phosphoheptulonate synthase (DAHP synthase) pour former du 3-désoxy-D-arabinoheptulosonate-7-phosphate avec élimination d'une molécule de phosphate qui conduit après transamination

et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples (Colin et Crouzet, 2011).

### 2.9.2 La voie de phénylpropanoïde

La voie de phényle-propanoïde commence par phényle alanine qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, isoflavinoïde, flavinoïdes acidesalicylique, coumarine, lignine (Yao *et al.*, 1995).

## 2.10. Biosynthèse de flavonoïde :

La biosynthèse de flavonoïde commence par deux molécules le malonyl CoA et les dérivés CoA de l'acide cinnamique, le cinnamoyl CoA (Gerhard, 1993) et ces deux molécules sont formé par deux voies de biosynthèse qui fait intervenir un grand nombre d'enzyme catalysant chacune une étape de la réaction (Bruneton, 1999).

**2.10.1 La voie de shikimate :** Conduisent à la synthèse de cycle oxygéné C qui est la base de structure de l'acide cinnamique.

**2.10.2 La voie de malonate :** La voie acétate malonate constitue la voie de synthèse du noyau A. Ce système aromatique est formé par condensation répétée d'unités d'acétate (Gerhard, 1993).

## 2.11 Les activités biologiques des composés phénoliques

### 2.11.1 L'activité antimicrobienne :

De nombreuses études *in vitro* menées sur les composés phénoliques les ont décrits comme agents antimicrobiens, avec des spectres d'activités variables : antiviral, antifongique... (Jacquot *et al.*, 2012).

En raison de leur pouvoir antimicrobienne les composés phénoliques semblent être impliqués dans la résistance de nombreux plantes aux agents phytopathogènes .

D'après l'analyse chromatographique des résidus botaniques hydro-distillés, les composés phénoliques possèdent une vaste activité insecticide provoque la perturbation de motricité de l'insecte, et possèdent même une barrière physicochimique permettant à la plante de mieux résister aux champignons phytopathogène et même participer au mécanisme défense de la plante contre les stress biotiques et abiotiques (Roger *et al.*, 2008).

Les polyphénols participent à la résistance de plantes aux phytopathogènes selon qu'ils soient présents ou non avant l'infection et selon leurs réponses. Deux sous classes sont distinguées:

❖ **Les composés pré-infectionnels :**

- ✓ Pro- inhibitines : par des molécules métaboliques qui réduisent partiellement ou totalement le développement des microorganismes in vivo.
- ✓ Inhibitines : Métabolites dont les teneurs augmentent après infection pour atteindre des doses toxiques.

❖ **Les composés post-infectionnels :**

- ✓ Post-inhibitines: métabolites toxiques issues de l'hydrolyse ou de l'oxydation de substrat pré existant peu ou pas toxiques.
- ✓ Molécules phytoalexines : métabolite toxique synthétisé après infection par dépression ou activation de système enzymatique latent (ce sont des molécules accumulés au voisinage des sites d'infections par son pouvoir toxique ou inhibiteur contre vis-à-vis des microorganismes).

Une étude plus récente montre également que les bactéries à Gram-positif sont plus sensibles aux polyphénols que les Gram-négatives, et que différents flavan-3-ols et tannins sont plus efficaces contre le genre *Vibrio*, que contre *E. coli* ou encore le genre *Salmonella* (Taguri et al., 2004) et montré que les flavonoïdes de *Marrubium vulgare* possèdent un effets contre le germe *Staphylococcus aureus* par raison de leur richesse en groupe poly phénolique et par leur capacité de fixé sur certaine protéine et enzyme et modifiant l'équilibre enzymatique (Boutlelisset al., 2012).

**Tableau (02):** Propriétés biologiques de quelques composés phénoliques (**Derradji-Benmeziane, 2015**).

<b>Polyphénols</b>	<b>Activité biologique</b>
Acides phénol (cinnamiques et benzoïque)	-Antibactérienne, antiulcéreuse -Antiparasitaire, antifongique -Antioxydante
Coumarines	-Anticancérogène, anti-inflammatoire Antiallergique
Flavonoïdes	-Antioxydant -Réduit l'agrégation plaquettaire -Anti-thrombotique -Antiulcéreuse
Anthocyanes	-Antioxydante -Anti-inflammatoire, antiulcéreuse
Tanins galliques et catéchiques	-Anti-cancéreux -Activité antibactérienne vaste

### **2.11.2 L'activité antibactérienne chez les polyphénols de pommier :**

Les métabolites secondaires de pommier en particulier les polyphénols, flavonoïdes sont impliqués dans plusieurs fonctions comme la couleur (anthocyane), les arômes (ester volatils). Et à la résistance aux pathogènes et parasites (**Cowan, 1999**).

D'après des études *in vivo* et *in vitro* faites, les pommiers possèdent une activité antibactérienne (**Cushnie et Lamb, 2005**) représenté par l'augmentation de biosynthèse de polyphénols en cas de blessure ou attaque par un pathogène.

En raison de leur pouvoir antimicrobien les polyphénols de pommier tel que les flavanes sont impliqués dans la résistance aux agents phytopathogènes dans l'interaction par *Venturia inaequalis* de pommier.

Parmi ces polyphénols il ya un composé, la sieboldine, qui est fortement antioxydant et également bactériostatique. En combinaison avec d'autres mécanismes de défense, par exemple les occlusions vasculaires, la reprogrammation du métabolisme primaire, ainsi que l'expression de LTP15), la sieboldine pourrait donc participer à la résistance de pommier au à *Erwinia amylovora* (**Roger et al., 2008**).

### 2.11.3 L'activité antifongique :

la production l'acide caféoylshikimique représente le principale composé fongitoxique par son action d'inhibition de la croissance et le développement des contre *Fusarium oxysporum* de palmier dattier *fusarium.sp albedinis*, et flavone dans l'interaction Citrus-Deutirophomatracheiphila, le catéchols et l'acide protocatéchique présent que chez les polyphénols d'oignons résistant à *collettotrichum circinas* (Roger et al., 2008).

Les flavonoïdes et les esters d'acides phénoliques ont été étudiés pour leur activité antifongique (Raj et al., 2001), ils ont démontré une activité inhibitrice contre *Aspergillus tamarii*, *A. flavus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum* (Cushnie et Lamb, 2005).

Les tanins et les composés phénoliques liés empêchent les hydrolases extracellulaires des microbes pathogènes envahissants, de ce fait empêchent leur développement rapide sur la plante. Ils inhibent les enzymes fongiques extracellulaires (cellulase, pectinase, laccase, xylanase, etc.), ils diminuent les substrats nutritifs (complexation avec métaux, insolubilisation des protéines) et sont efficacement impliquées par leur toxicité sur les membranes fongiques (inhibition de la phosphorylation oxydative) (Lattanzio et al., 2006).

Les lignines par la lignification a le potentiel d'agir de plusieurs manières dans la défense des plantes contre les infections pathogènes. Elle peut établir des barrières mécaniques à l'invasion des pathogènes, de modifier chimiquement les parois cellulaires pour être plus résistantes contre les enzymes dégradant la paroi cellulaire, augmenter la résistance des parois à la diffusion des toxines de l'agent pathogène à l'hôte et des nutriments provenant de l'hôte au pathogène, produire des précurseurs toxiques. La lignification rend la paroi cellulaire plus résistante à la pression mécanique appliquée lors de la pénétration des champignons *Appressoria* et plus résistante à l'eau et donc moins accessible aux enzymes dégradant la paroi cellulaire (Bhuiyan et al., 2009).

### 2.11.4 L'activité antioxydant de polyphénols :

La capacité antioxydante est le principal rôle physiologique attribué aux polyphénols (Navarro et al., 2008). Le principe de l'activité antioxydant est basé sur la disponibilité des électrons à neutraliser les radicaux libres. La plupart des fruits ont une capacité

antioxydants (Wang 1996) et notamment une capacité à inhiber les radicaux libres (Omata 2010). Les propriétés antioxydantes et pharmacologiques associées à une plante sont généralement liées à la présence des composés phénoliques tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes, de par leur structure, les polyphénols ont un fort caractère réducteur et donneur de protons qui se manifeste par des réactions rapides avec les espèces oxygénées réactives dont la production excessive (stress oxydant) est impliquée dans le développement de certaines pathologies dégénératives (maladies cardiovasculaires, cancers) (Dangles 2006). L'intérêt pour ces composés qui deviennent des éléments essentiels de l'alimentation en prévention et pour la santé humaine, est donc accrue. Par ailleurs, leurs propriétés antioxydantes peuvent être mises à profit pour protéger des huiles polyinsaturées fortement oxydables (Klinkesorn 2005). Les antioxydants agissent selon différents modes:

- le transfert de l'atome d'hydrogène, où celui-ci réagit avec les radicaux peroxydes  $ROO\bullet$  qui sont alors stabilisés sous forme d'hydro peroxydes (ROOH). Les antioxydants sous la forme  $A^\circ$  sont stabilisés par l'effet mésomère. Ils peuvent ainsi freiner la phase de propagation, en se complexant avec d'autres radicaux pour former des produits chimiquement stables.

- le transfert d'électrons, autre mécanisme réactionnel dans lequel un radical cation est d'abord formé. Il s'en suit une déprotonation rapide et réversible en solution.

### 2.12. Les facteurs qui influencent sur la qualité des polyphénols :

La production de tout métabolite secondaires est influencé par des facteurs environnementaux qui stimuler la biosynthèse de différente composés phénoliques.

#### 2.12.1 Facteur biotique :

L'attaque de microorganismes tous qui est champignons, bactérie, nématode, virus...déclenchent le système de défense de plante contre ces microorganisme c'est une réponse immunitaires qui stimuler de production de molécules antibactérienne comme les polyphénols (Zabetakis et al., 1999).

Parmi ces microorganismes concernât le pommier en a :

*Venturia inaequalis* : agent fongique responsable de tavelure de pommier.

*Cydia pomonella* : insecte responsable de carpocapse de pommier.

### 2.12.2 Facteur abiotique :

Les plante sont en contact avec leur environnement est exposé au stress hydrique, stress thermique, stress saline qui causé par des facteurs abiotique: l'eau, la lumière, la température, le sol et les éléments minéraux (teneur en calcaire), L'altitude, la teneur en argile (Al Naser, O, 2018 ., Ferrier, 2018). Une disponibilité plus ou moins importante de ces composants abiotiques a une influence directe ou indirecte sur l'accumulation des métabolites secondaires tous qui polyphénols.

#### a. Influence de stress hydrique :

Le stress hydrique est une disponibilité insuffisante en eau qui affecte de nombreuses fonctions physiologiques en particulier la croissance et la photosynthèse et ce stress à une contrainte direct sur la teneur en métabolite secondaires.

#### b. Influence de stress saline :

Ce sont des fortes concentrations en sodium dans les tissus végétaux peut modifier la disponibilité en carbone pour la synthèse des métabolites secondaires (Tippmann et al, 2006).

La teneur en flavonoïdes et en saponines chez *Plantago ovata* augmente en présence d'un stress salin (Haghighi et al., 2012). De même, la teneur en acides phénoliques chez *Achillea fragrantissima* a augmenté avec la salinité (Abd et al., 2009). Des résultats comparables ont été obtenus chez *Matricaria chamomilla* (Kováčik et al., 2009), chez *Nigella sativa* (Bourgou et al., 2009), et chez *Mentha pulegium* (Oueslati et al., 2010).

#### c. Influence de stress thermique :

Le changement des températures causé un déséquilibres entre les voies métaboliques de la plante :

Dans des bases température il y a des modifications dans l'intensité de métabolisme et des perturbations des processus major de plante comme : photosynthèse, respiration (Al Naser, 2018).

Des cas de plante sont :

Une diminution de température se traduit par augmentation de la teneur en composés phénoliques totaux chez *Capsicum annuum* (Esra et al, 2010).

### **d. Rayonnement solaire:**

L'exposition des plantes au rayonnement UV-B lui donner une résistance aux facteurs biotiques et abiotiques Cette étude montre qu'en présence de par la voie des biosynthèses de flavonoïdes était induit pour la défense des plante contre ces rayonnement (Al Naser, 2018).

### **e. Traitements appliqués par l'homme**

Certains traitements (application de fertilisants, irradiations, etc.) peuvent moduler la teneur de la plante en composés phénoliques, soit au cours de la croissance, soit au cours de la conservation des organes végétaux. Les conséquences sont souvent prévisibles car la réponse peut être très variable d'une espèce à l'autre et en fonction des doses appliquées et des durées de traitements (Macheix et al., 2005).

### **2.12.3 Influence de stade de maturité des fruits sur les polyphénols :**

Les variations qualitatif et quantitatif des composés phénolique peut être particulièrement marqué au cours de maturation de la plante bien qu'il n'y ait pas de règle générale stricts.

Les teneurs en composés phénoliques sont quelque fois élevée dans les organes jeune et diminuent ensuite au cours de la croissance par exemple dans le cas de l'acide chlorogénique de pomme dont la teneur passe par maximum dans les jeunes fruits puis décroît ensuite jusqu'à maturation il en résulte une très forte évolution de la capacité tannante comme l'astringence de pomme peut diminuer fortement ou disparaître complètement quand les fruits mûrit.

A l'opposé certaines organes montrent de forte concentration en phénols au stade adulte ou lors de la sénescence, donc ces recherches ont montré que la variation en polyphénols sont souvent considérable d'une espèce à l'autre (Macheix et al., 2005).



### Chapitre III : Etude expérimentale

#### 3.1. Objectifs de l'étude :

L'e Etude in vitro de l'activité antifongique des extraits éthanoliques d'où l'intérêt de ce travail, qui vise à analyser quantitativement les deux extraits de deux vergers espèces de pommier et évaluer le rendement des polyphénols totaux de extrait éthanolique de pelures de pommiers *Golden delicious* de deux vergers (Hamamou et ITAF mature et non mature), à partir d'extraction ultrason. ensemble de ce travail a été réalisé au laboratoire de biotechnologie et de recherche des plantes médicinales et aromatique (LRPAM), Département des Biotechnologies, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV), Université Blida 1.

#### 3.2. Présentation de la zone d'étude :

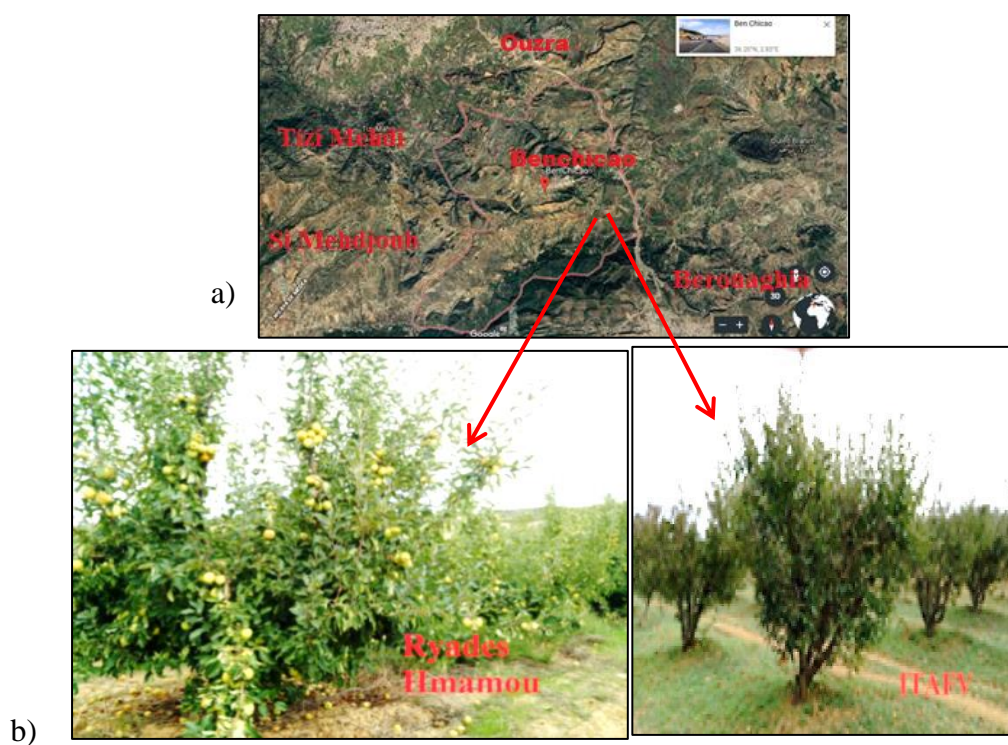
La wilaya de Médéa, de la commune de Benchicao W. ou a été mené ce travail est considéré comme l'une des zones productrices de pommes mais avec des rendements souvent très faibles.

Région de Médéa situé 60 km au sud-ouest d'Alger à 981m d'altitude c une ville de montagne d'atlas tellien à l'est de Khmis milliana à 24Km de sud de Blida au nord de Ksar Elbokhari.

#### 3.3 Présentation du site d'échantillonnage :

La commune de BENCHICAO se situe au sud-est du chef-lieu de la wilaya de Médéa, à une distance de 22 Km. Elle est limitée au nord par la commune d'Ouzra, au sud par la commune de Berrouaghia à l'ouest par les communes de Tizi Mehdi et Si Mahdjoub.

L'échantillonnage a été fait de deux vergers situées à une distance de 5 km au sud-ouest du chef-lieu de BENCHICAO, à une altitude qui varie entre 1080 m et 1133 m, il s'agit de la ferme pilote Rayades Hmamou et de la ferme de démonstration de l'Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne (Fig 21).



**Figure 12:** a) Commune Benchicao (Google earth).

b) Vergers choisis pour les prélèvements des échantillons

(Originales, 2019).

### 3.3.1 Données générales des vergers :

#### Ferme pilote Ryades Hmamou:

**Variété:** *Golden delicious*

**Age:** 15 ans (2004)

**Surface :** 10.5 ha

**Densité :** 333 arbre /ha  
(Écartement : 6X5)

#### Ferme de démonstration ITAF :

**Variété :** *Golden delicious*

**Age :** 17 ans (2003)

**Surface :** 10.5 ha

**Densité :** 400 arbres /ha  
(Écartement : 5X5)

### 3.4. Matériels & méthodes

#### 3.4.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué des pelures de pomme *Golden Delicious* (de couleur jaune verdâtre), qui ont été récoltés à différents stades végétatifs de maturation (mature et non mure). La récolte a été réalisée dans les deux vergers dans la wilaya de Médéa.

- Les fruits de stade non mure ont été récoltés le mois de août 2019.
- Les fruits de stade mur ont été récoltés le mois de septembre 2019.

Une quantité de 5 Kg d'environ, de chaque verger, a été prélevée et ramenée au laboratoire LRPMA. Les fruits ont été laissés dans des sacs en papier à température ambiante (fraîches) jusqu'à utilisation. En à 2 verger : Hmamou mur et non mur ITAF mature et non mure.



**Figure 13:** a) Pommier *Golden délicieuse* non mur (photo originale 2019).

b) Pommier *Golden délicieuse* mure (photo originale 2019).

#### 3.4.2 Matériel (souches) microbien :

La gamme microbienne est composée de deux (02) souches des champignons.

Des souches pathogènes pour l'homme, obtenues du laboratoire de contrôle de qualité site de production SAIDAL *Candida albicans* ATCC10231 et la souche phytopathogène *Fusarium sp* de Labo de mycologie d'école national d'agriculture.

### 3.4.3 Préparation des échantillons :

L'étape de séchage a pour but d'abaisser la teneur en eau des fruits. Ces derniers sont bien lavés avec l'eau du robinet et essuyés par un tissu. Les fruits sont épluchés pour avoir les pelures qui vont être séchées sur du papier cuisson par étuve réglée à une température de 40 C° jusqu'à stabilisation du poids donc élimination de l'eau.



**Figure 14:** matière végétale

La matière sèche est réduite en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique, et tamisée par la suite pour l'obtention d'une poudre homogène. Cette dernière est conservée dans des boîtes stériles fermées hermétiquement.



**Figure 15 :** Pelure séché



**Figure 16:** Poudre sèche

### 3.5. Extraction des polyphénols totaux par ultrason dans le méthanol aqueux :

L'extraction par des ondes mécaniques et élastiques qui génèrent des vibrations mécaniques se propage au travers de support qui contient une solution alcoolique pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes) (Achat, 2013).

- **Mode opératoire :**

L'extraction des composés phénoliques a été effectuée selon le protocole décrit par Rong (2007) avec quelques modifications (Figure 17) :

- Dans un bécher de 500 ml, 3g de poudre de pomme est ajoutée à un mélange d'éthanol-eau-acide acétique (85: 15: 0,5, v/v/v).
- Placé la solution dans un bain d' ultrason pendant 30 min à une température de 40 C°, ensuite filtrer sur papier Wathman (n°:1).
- Placer le mélange dans un rota vapeur pour enlever le solvant.
- L'extrait sec a été pesé pour évaluer le rendement d'extraction des échantillons et conservé à 4°C.



3g de poudre d'écorces de pommes  
Ethanol-eau-acide acétique (85: 15: 0,2)



L'extrait placé dans un bain d'ultrason



Filtration par papier Watman



Elimination d'éthanol par rotavap à 60°



Conservation

Figure 17: Protocole d'extraction des polyphénols totaux (Rong, 2007).

### 3.6 Rendement de l'extraction des polyphénols :

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation) (Mohammedi ,2006). Le rendement a été calculé par la formule suivante :

$$R \% = (M/M_0)*100$$

**R%** : Rendement d'extraction.

**M** : Masse en gramme de l'extrait sec.

**M<sub>0</sub>** : Masse en gramme de la matière végétale sèche.

### 3.7. Mise en évidence des différents composés phénoliques :

#### 3.7.1. Mise en évidence des polyphénols totaux :

Dans un tube à essai, est met 1ml de chaque extrait ensuite on additionne quelques gouttes de perchlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) (Békro et al, 2007). L'apparition de couleur verte noir verdâtre indique la présence des composés phénoliques dans l'extrait.

#### 3.7.2 Mise en évidence des flavonoïdes

Dans un tube à essai, plongé dans de l'eau froide, mettre 2ml de chaque phase éthanolique obtenue, en plus de l'alcool chlorhydrique (4 ml éthanol + 1ml HCl concentré), ajouter 15 mg magnésium (Bekro, 2007).

La présence des flavonoïdes dans les extraits est indiquée par l'apparition d'une couleur Rose-orange ou violacée.

### 3.8. Dosage des composés phénoliques totaux :

#### Principe :

Le dosage des phénols totaux des extraits des plantes a été déterminé par la méthode de Folin-Ciocalteu préconisée par Grigoras 2013; lors de l'oxydation des phénols, il est réduit en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. La coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (singleton et al ., 1965).

### Mode opératoire :

1ml d'extrait est mélangée a 1 ml de Folin-Ciocalteu après incubation de 8 minutes on ajoute 3ml de la solution aqueuse Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20%) complétez le volume du mélange est ajusté jusqu'au 20 ml de l'eau distillé, le mélange est incubé pendant 2h en température ambiante et à l'obscurité.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent AG par litre (mg EAG/L) en utilisant une courbe d'étalon d'AG de différentes concentrations. L'absorbance est lue à l'aide d'un spectrophotomètre 760nm contre un blanc.

### 3.9 Dosage des flavonoïdes :

#### Principe :

La teneur en flavonoïde totale a été déterminée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'Aluminium (AlCl<sub>3</sub>) qui donne un mélange de couleur jaune en présence de flavonoïde (Ismail et al., 2010) .

#### Mode opératoire :

1ml d'extrait est mélangé à 1 ml de solution d'AlCl<sub>3</sub> (2%) après 10minutes d'incubation à la température ambiante, l'absorbance a été mesurés à 435 nm contre un blanc composé de méthanol de la solution d'AlCl<sub>3</sub>. Les résultats sont exprimés en mg équivalent EQ par litre (mg EQ/L) en utilisant une courbe d'étalon de la quercitine de différentes concentrations.

### 3.10. Etude de l'activité antifongique :

#### 3.10.1 Les souches microbiennes pathogènes :

Deux souches fongiques sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antifongique de nos extraits éthanoliques.



**Tableau 03:** Caractéristiques des souches fongiques.

<b>Nature du micro-organisme</b>	<b>Souches</b>	<b>Références</b>	<b>Origine</b>
<b>Fongique</b>	<i>Candida albicans</i> (Pathogène humain)	ATCC 10231	Laboratoire de Contrôle Qualité Site de Production GDC(SAIDAL)
	<i>Fusarium sp</i> (phytopathogène)	/	Laboratoire de mycologie d'écoles national d'agriculture

### **3.10.2 Préparation de l'inoculum :**

A partir de cultures de *Candida* et de *Fusarium* nous avons préparé des suspensions fongiques, avec l'eau physiologique, d'une concentration approximative de  $10^7$  spore/ml pour *candida*. Pour la souche du *Fusarium* et à cause de l'absence d'une culture suffisamment âgée pour avoir les spores nous avons préparé une suspension avec le mycélium, parce que le fusarium sa période de développement était

### **3.10.3Préparation des disques :**

Des disques de papier Wathman n°1 de 6 mm de diamètre, stériles, sont chargés de phytoextrait éthanolique à tester à raison de 50µl par disque.

Des disques imprégnés d'éthanol et d'eau physiologique sont également utilisés pour servir de témoin négatif. Le témoin positif est représenté par des disques contenant Lamidaz (50mg/ml) pour son activité antifongique.

### **3.10.4 Ensemencement :**

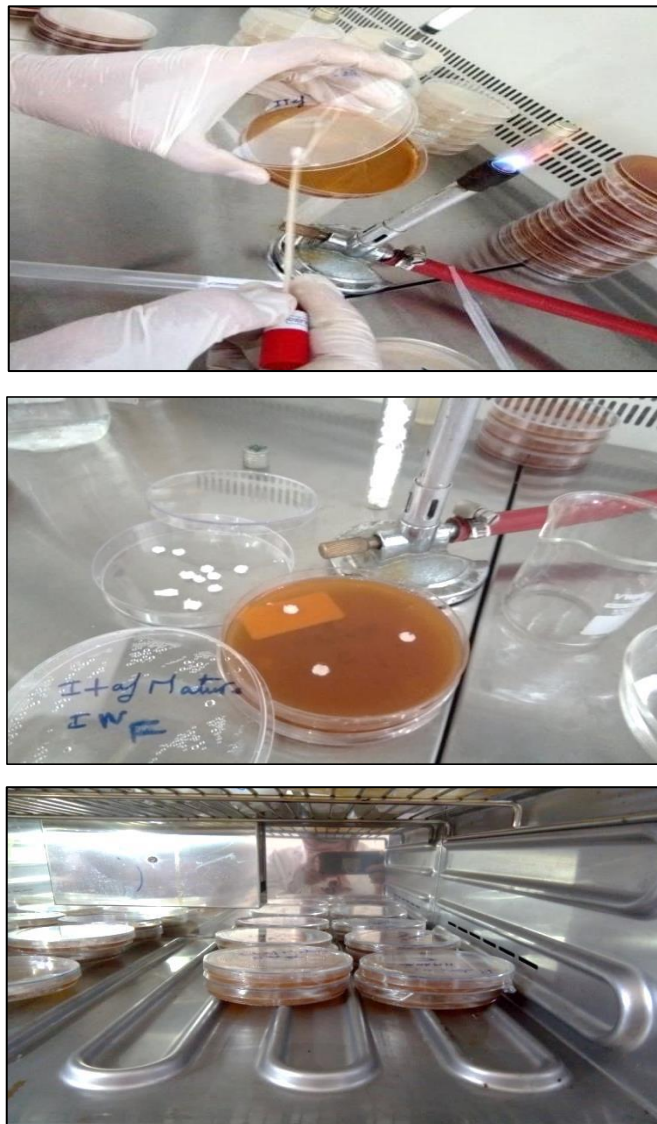
Des boites de pétrie stériles préalablement coulées par milieu Sabouraud, sont ensemencées par la technique d'écouvillonnage.

L'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des champignons. Ensemencer à l'aide d'un écouvillon stérile, en frottant délicatement l'écouvillon sur la surface de la gélose en stries serrées, répéter l'opération trois fois, en tournant la boite à 60° de façon à croiser les stries. Finir l'ensemencement en passant

l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Laisser les boîtes imprégner pendant 05 minutes à température ambiante. Les contenants des boîtes doivent être bien fermés.

### 3.10.5 Dépôt des disques :

- A l'aide d'une micropipette les disques stériles de 6 mm sont imprégnés par l'extrait à raison de 50 $\mu$ l par disques .
- A la surface de la gélose de chaque boîte Pétri, trois disques sont déposés.
- Incuber les boîtes dans l'étuve à 30°C. (Sokmen *et al*, 2004)



**Figure 18** : Protocole d'ensemencement des champignons (photo original, 2020).

### ❖ Lecture des résultats :

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (DZI) autour de chaque disque en mm à l'aide d'une règle en mm qui se traduit par un halo translucide.

### ❖ Interprétation des résultats :

L'interprétation des résultats se fait selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par **Mutai et al. (2009)**, le classement des extraits en fonction des diamètres des zones d'inhibitions est comme suit:

- Non inhibiteur (souche résistante) lorsque :  $\emptyset \leq 10$ .
- Très fortement inhibiteur (souche extrêmement sensible) :  $\emptyset \geq 30$  mm.
- Fortement inhibiteur :  $21\text{mm} \leq \emptyset \leq 29$  mm.
  
- Modérément inhibiteur (souche très sensible) :  $16\text{ mm} \leq \emptyset \leq 20$  mm.
- Légèrement inhibiteur (souche sensible) :  $11\text{ mm} \leq \emptyset \leq 16$  m

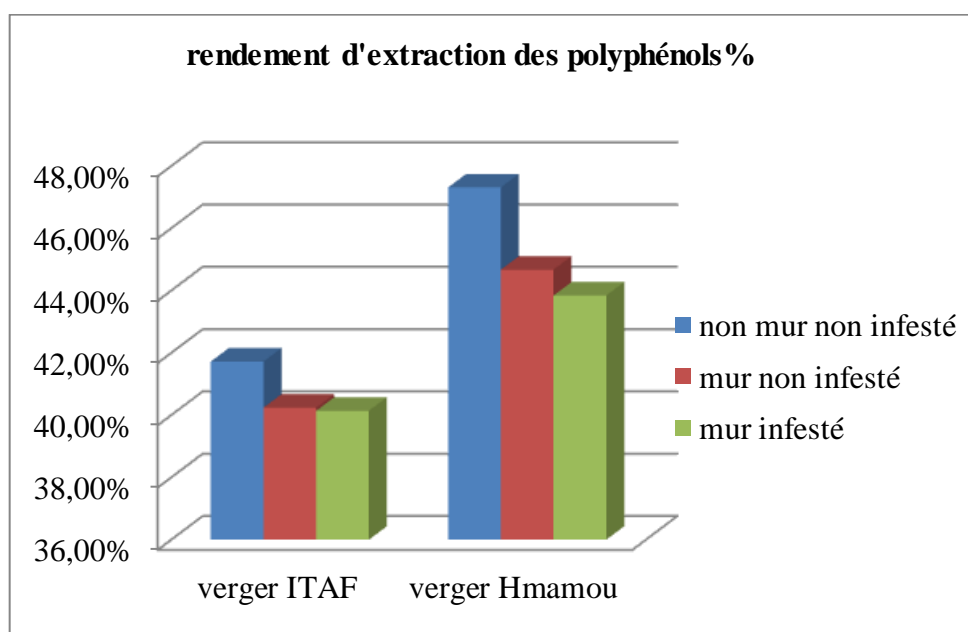
## Partie3 : Résultat et discussion

## Chapitre IV : 4.1 Lecture des résultats

Nous présentons dans cette partie les résultats relatifs d'une part à l'activité antifongique des phytoextraits phénoliques des pelures de pomme en prend en considération les deux facteurs étudié le stade de maturation et le l'effet d'infestation.

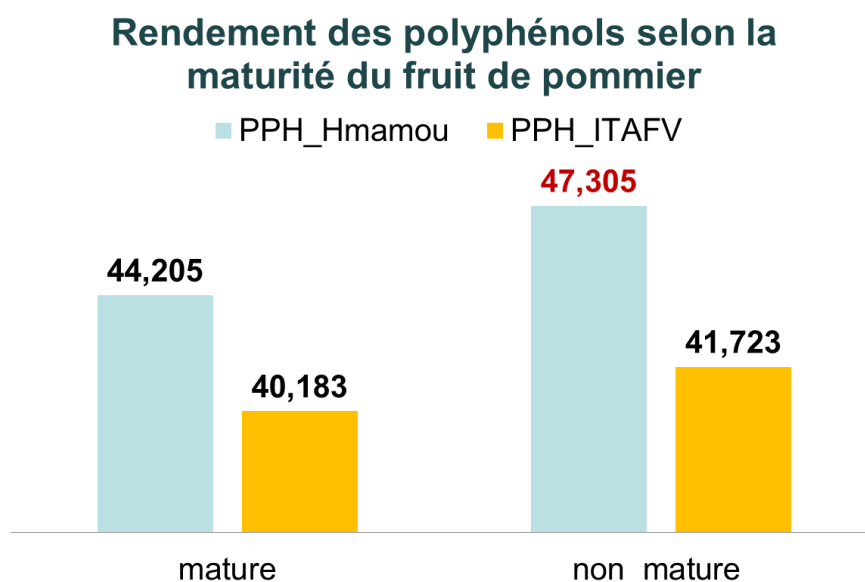
## 4.1 Détermination des rendements des polyphénols totaux

Les extraits éthanoliques, récupérés après évaporation, ont été pesés pour déterminer le poids sec résultant, ces extraits renferment les polyphénols totaux.



**Figure 19:** présentation de rendement d'extrait de polyphénols chez deux vergers (ITAF, Hamamou) à différents stades de maturité.

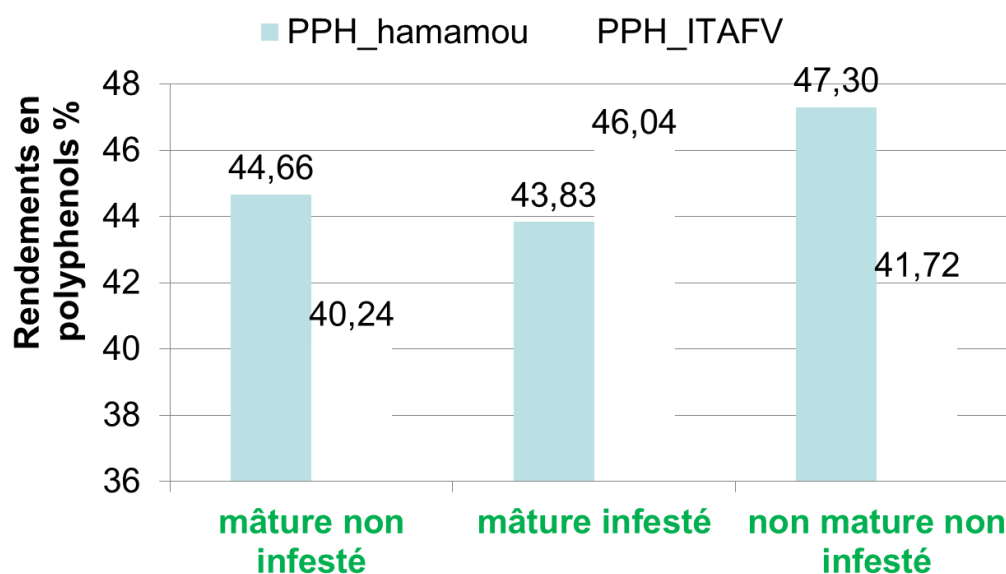
Nous constatons que les rendements de l'extraction des polyphénols varient considérablement entre les deux vergers Hamamou et ITAF. Les pourcentages enregistrés sont compris entre 40,14% de 47,31%. Le fruit de pomme non mûr de verger Hamamou donne clairement le meilleur rendement de (47,31%) et le deuxième fruit mûr non infesté de verger Hamamou avec un rendement de (44,67%). en suite le fruit mur infesté des verges Hamamou de (43,84%) et ITAF non mûr de (41,72%) respectivement. Le rendement le plus faible est celui de fruit mûr non infesté et mûr infesté de verger ITAF de (40,24%) (40,14%) respectivement.



**Figure20:** Rendement des polyphénols selon la maturité des fruits de pommier

Le rendement en polyphénols des fruits non mûres semble supérieure à celui des fruits en pleine maturité, quel que soit le verger.

Bien que les fruits appartiennent dans les 2 vergers à la même variété, le rendement en PPH dans le verger de Hmamou est supérieur à celui de l'ITAFV



**Figure 21 :** Rendement des polyphénols selon Infestation maturité.

**4.1.1 Analyses statistiques de rendements en polyphénols totaux chez des deux verges ITAFV et Hmamou :**

Analyse de la Variance					
Source	Type III SS	df	Mean Squares	F-ratio	p-value
VERGER	118,747	1	118,747	0,694	0,415
MATURITE	18,042	1	18,042	0,105	0,749
INFESTATION	0,995	1	0,995	0,006	0,94
Erreur	3 422,715	20	171,136		

**Figure 22 :** Analyses de la variance

Les rendements en polyphénols des pelures de fruits ne diffèrent pas significativement d'après nos résultats et sont:

Supérieurs dans le verger de Hmamou par rapport à ceux du verger ITAFV (P=0,41)

Plus élevés au niveau des pelures des fruits non mures (P= 0,74)

Supérieurs chez les fruits infestés (P= 0,94).

**4.2. Mise en évidence de la présence des composés phénoliques :**

Cette analyse qualitative a pour but la mise en évidence de la présence des Polyphénols dans nos échantillons

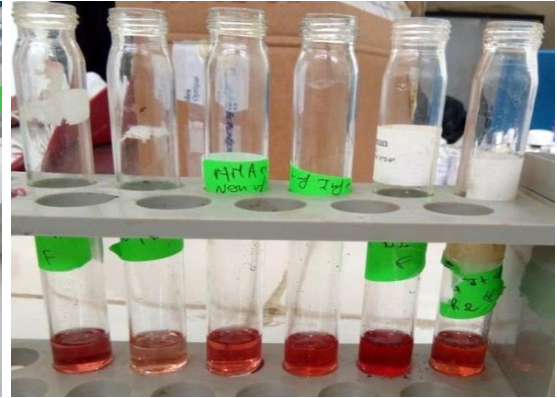
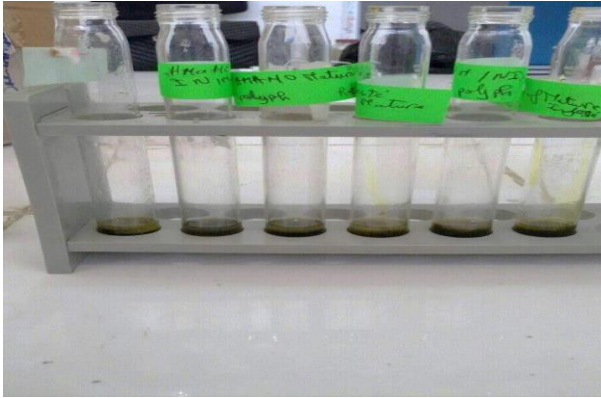
Ce test est basé sur des réactions de coloration en utilisant différents réactifs, le tableau suivant résume les réactions:

**Tableau04:** Mise en évidence des composés phénoliques

Composé	Réactif	Couleur	Réaction	
			ITAF	Hmamou
<b>Polyphénols totaux</b>	Perchlorure ferrique (FeCl <sub>3</sub> )	Noir verdâtre	+	+
<b>Flavonoïdes</b>	Alcool chlorhydrique+ magnésium	Rose orange	+	+

+ : Présence du métabolite dans l'extrait.

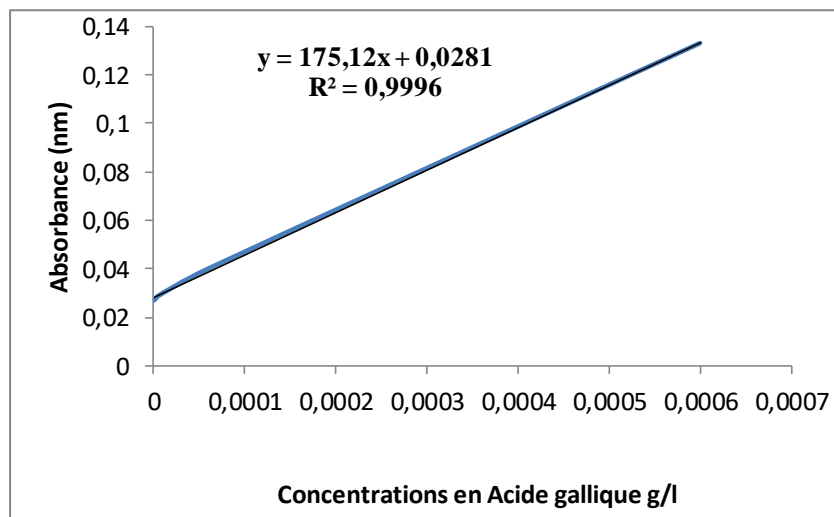
Le test phytochimique a montré que les extraits éthanoliques des pelures de pommes des deux verges étudiés, contiennent des polyphénols et des flavonoïdes.



**Figure 23** : Mise en évidence des polyphénols **Figure 24**: Mise en évidence des flavonoïdes.

### 4.3 Dosage des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes :

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes sont calculée respectivement, à partir des équations de régression des courbes d'étalonnage de l'Acide gallique ( $y = 175,12x + 0,0281$  ;  $R^2 = 0,9996$ ) et de la Quercétine ( $y = 364,17x + 0,0958$  ;  $R^2 = 0,9866$ ) (Figures 25 et 26).



**Figure 25**: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

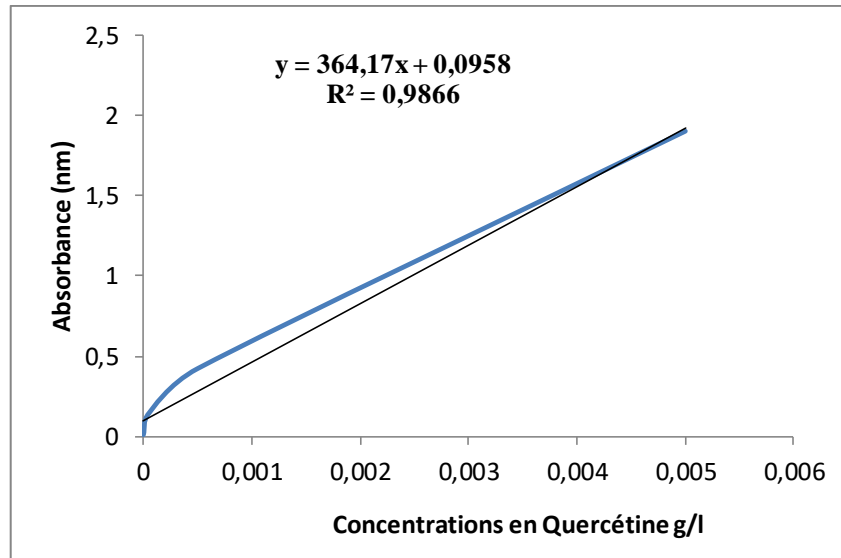


Figure 26 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

➤ Teneur en polyphénols :

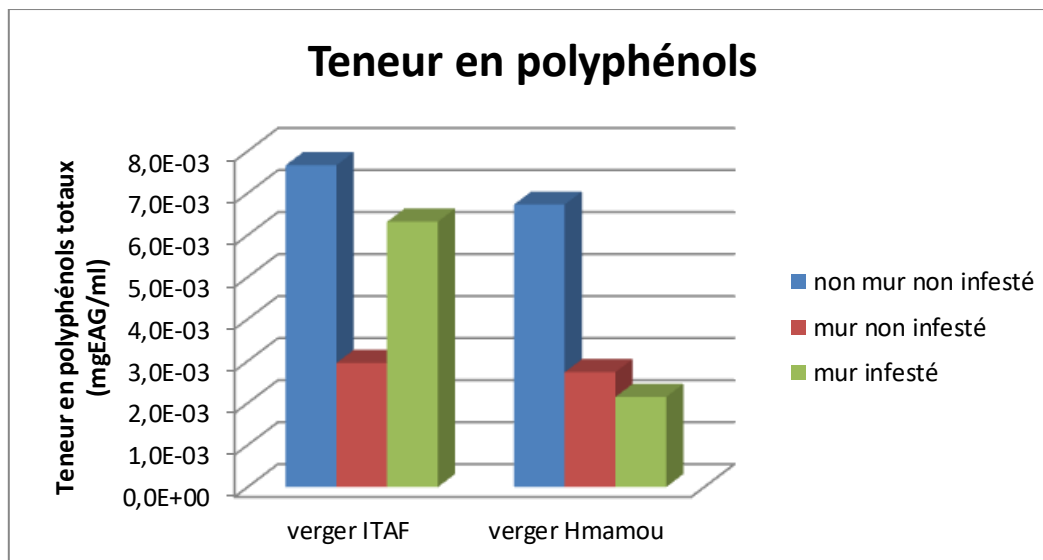


Figure 27: Teneurs en polyphénols totaux chez les deux vergers.

Les fruits non mûrs donnent des teneurs en PPT plus élevés que les fruits mûrs pour les deux vergers. Pour le cas des infestations nous observons qu'en cas des fruits du verger ITAFV les fruits infestés sont plus riches en PTT ( $6,3 \cdot 10^{-3}$  mgEAG/ml) que les non infesté ( $3,3 \cdot 10^{-3}$  mgEAG/ml). Par contre les fruits des vergers Hmamou présentent des valeurs en PPT en cas de présence ou absence de d'infestation rapprochées, ( $2,7 \cdot 10^{-3}$  et mgEAG/ml) ( $2,1 \cdot 10^{-3}$  mgEAG/ml) respectivement.



➤ Teneur en Flavonoïdes :

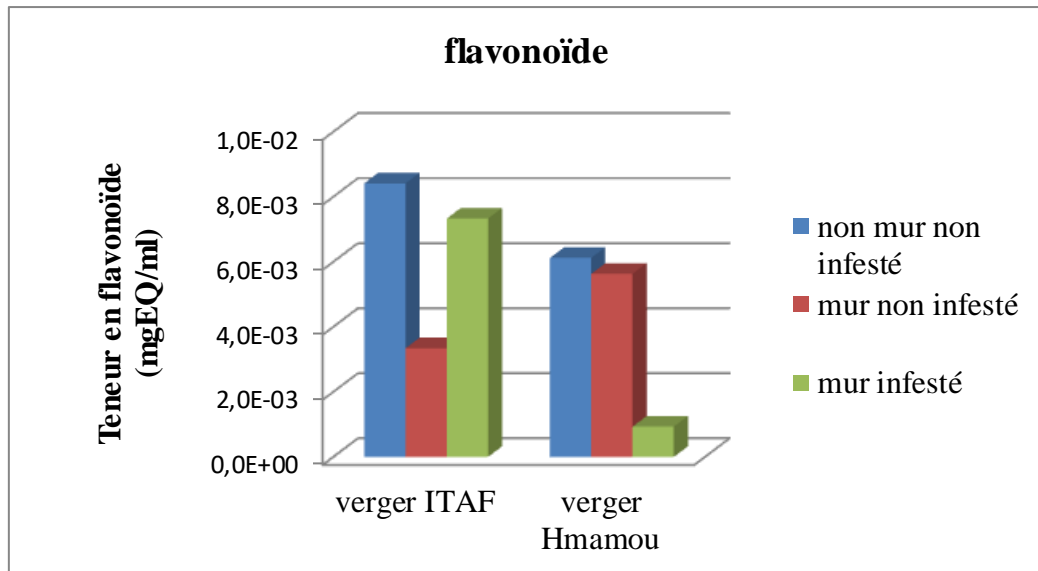


Figure 28: Teneurs en flavonoïde totaux chez des différents échantillons

Les résultats montrent que les rendements en flavonoïdes sont plus importants dans les pelures de pomme obtenus du verger de l'ITAFV par rapport à ceux de la firme Hamamou.

4.3.1 Analyses statistiques des polyphénols et Flavonoïdes :

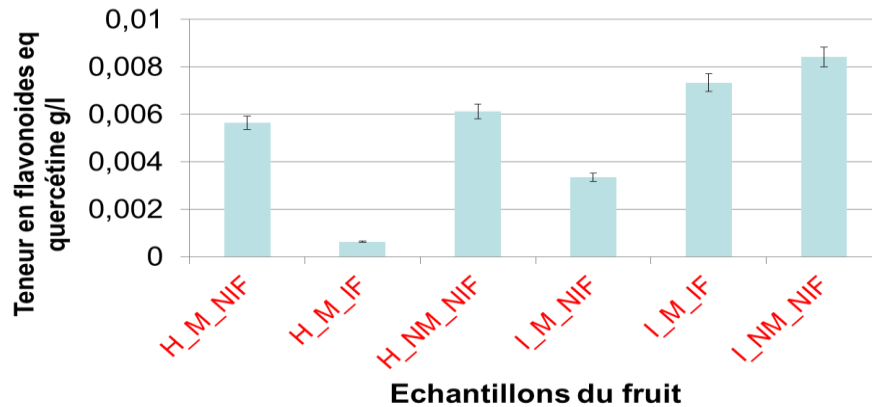


Figure 29: Analyses statistiques de teneur en polyphénols.

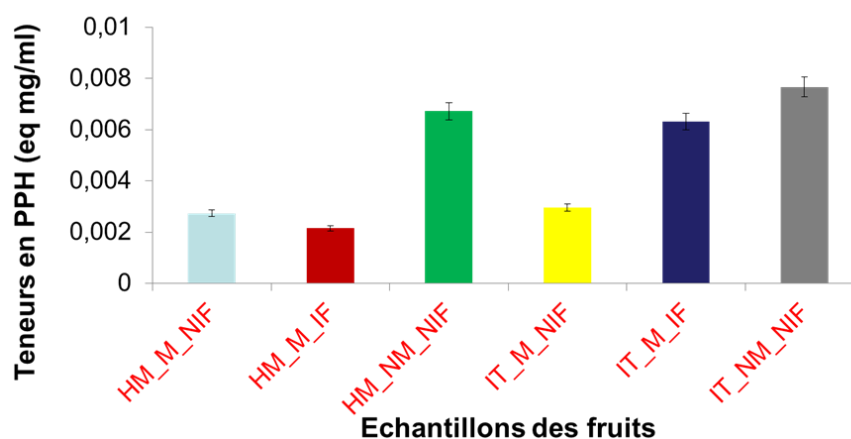


Figure 30: Analyses statistiques des teneurs en flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes sont très peu variables d'un stade de maturité à un autre: fruit mature ou non mature et d'un verger à un autre)

Les différences ne sont pas significatives.

#### 4.4 Activité antifongique :

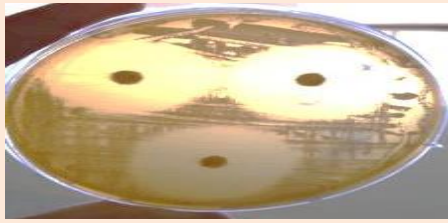
Ce travail vise à mettre en évidence l'activité antifongique des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits végétaux de nos vergers étudiés. L'activité est comparée à un référentiel à savoir, l'antifongique « lamidaz ». Les diamètres des zones d'inhibition observées sont mesurés en millimètre (mm).

Tbleau05: Résultat d'activité antifongique

Souche	PPT/ITAFV			PPT/Hamamou		
	NM	M/NI	M/IN	NM	M/NI	M/IN
/						
<i>Fusarium sp.</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	00	00	8±0,866	9±0,866	8±0,866	00

NM : non mûr / M/NI : mûr non infesté/ M/IN : mûr infesté

Selon l'échelle de classement (Mutai et al., 2009), nous remarquerons que l'ensemble des extraits, n'a aucun effet sur *C.albicans*.



Test positive lamidas C.albicans



Test negative ethanol



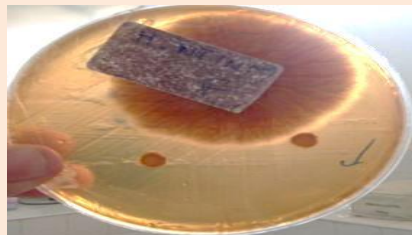
Hmamou mur non infesté C.albicans



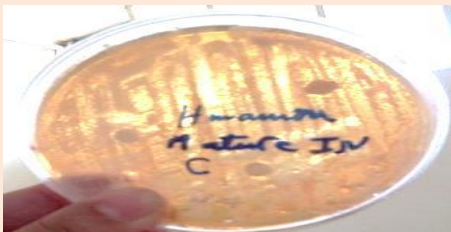
Hmamou mur non infesté Fusarium.sp



Hmamou non mur non infesté C.albicans



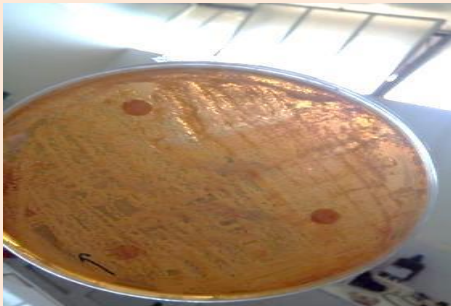
Condida .a Hmamou non mur non infesté Fusarium sp



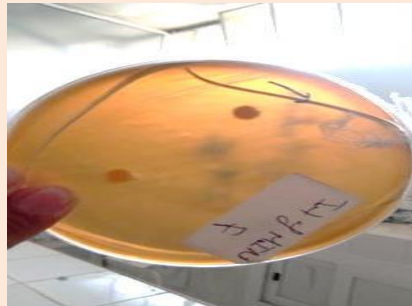
Hmamou mur infesté C.albicans



Hmamou mur infesté Fusarium sp



ITAF mur infesté C.albicans



ITAF mur infesté Fusarium sp i



ITAF non mur non infesté  
C.albicans



ITAF non mur non infesté Fusarium sp



ITAF mur non infesté C.albicans



ITAF mur non infesté Fusarium

### Discussion Générale:

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des pelures de fruits des deux vergers Hmamou et ITAFV diminuent avec la maturité, ces résultats sont en accord avec les travaux de **Mureşan et al., 2012** qui ont étudié l'effet de différentes positions de la couronne de l'arbre de pomme pendant la croissance des pommes chez trois variétés de *M.domestica* (Starkrimson, Jonathan, *Golden Delicious*) et ont trouvé que le contenu phénolique de pommes analysées diminue de manière significative durant le stade du grossissement des fruits quelle que soit la variété étudiée ou la position des fruits par rapport à la couronne.

En outre, résultat de **S'avikin K, et al., 2014** qui ont été étudiés des cultivars de pommes à maturité commerciale et à pleine maturité pour fournir des informations utiles sur les changements de qualité les résultats obtenus ont montré que la majorité des composés phénoliques déterminés ont été influencés par cultivar, alors que la maturité à la récolte a montré une influence statistiquement significative sur la teneur en flavonol.

**Renard et al., (2007)**, ont montré que chez deux cultivars de table et deux cultivars de cidre collectés pendant la croissance et la maturation des fruits, la teneur des pelures en flavonoïdes (flavan-3-ols, dihydrochalcones et flavonols) ont fortement diminué entre environ 35 et environ 100 jours après la floraison et la signification quantitative varie selon la variété de pommier .

Pour La teneur en polyphénols et flavonoïde par port à l'effet de l'infestation nous avons constaté que les échantillons infestés présentent des teneurs plus élevées par rapport aux échantillons non infestés chez le verger ITAFV, ce résultat montre que le facteur d'infestation a influencé sur la teneur des flavonoïdes et polyphénols des résultats obtenus dans les enquêtes précédentes indiquent que la pomme réagit à l'infection fongique en accumulant des phénols. Nos résultats sont en accord avec les conclusions de **Michalek et al. (1998)** ont trouvé que la production des flavanols est assimilée après infestation par la tavelure chez les pommes *Golden delicious*, tandis que **Bennett et Wallsgrove (1994)** ont constaté que dans certains cas, après l'infection des pommes par le champignon *Venturia inaequalis*, il en résulte une accumulation des dérivés de l'acide chlorogénique et coumarique. La teneur en acide chlorogénique peut également être influencée par d'autres facteurs qui imposent une contrainte mécanique à la plante.

Chez le verger Hmamou, nous avons constaté que les échantillons infestés et non infesté présentent des teneurs en polyphénols de même ordre, alors que les flavonoides sont plus importants chez les fruits non infestés. Et cela peut être dû au faite que les infestations par insectes sont plus la tavelure sur ce verger et le cas est contraire pour le verger de l'ITAFV, ainsi que la différence en pratiques culturales. Ces différences peuvent contribuer dans le changement de la composition en métabolites secondaires chez la plante.

**Mayr et al.. (1994)** cité par **Mikulic Petkovsek et al. (2003)**, ont constaté qu'il était impossible de déterminer dans quelle mesure la teneur en composés phénoliques d'une plante était influencée par un facteur de stress particulier, car elle résultait des effets mutuels de tous les stress et d'autres facteurs environnementaux..

Les polyphénols sont des principaux composés antimicrobiens des plantes, possédants des modes d'action de résistance contre les stress biotique et abiotique. Le test d'activité antifongique que nous avons réalisé contre *Candida albicans*,a montré que les extraits de pelures de pommes récoltés de la ferme de l'ITAFV et Hmamo n'ont pas un pouvoir d'inhibiteur, nos résultats sont en accord avec les conclusions de **Jelordian, et al., (2013)**, qui a trouvé que *Candida albicans* et *Aspergillus niger* sont des souches résistantes à l'effet des extraits de *Malus domestica*.

### Conclusion et perspectives :

De nos jours, les travaux de recherche s'intéressent à la valorisation des déchets des plantes qui possèdent des propriétés biologiques très importantes et des nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que ces coproduits représentent une source inépuisable de substances bioactives (composés phénoliques).

L'objectif de notre étude est la valorisation des pelures de pommiers, pour l'évaluation in vitro de l'activité antifongique des extraits éthanoliques contre des agents pathogènes d'où l'intérêt de ce travail, qui vise à procéder à une analyse quantitative des extraits de deux vergers de pommier *Golden delicious* (firme pilote Hamamou et ITAFV à deux différents niveaux de maturité).

L'étude a montré la maturation des fruits de pomme a une importante influence sur leur production de composés phénoliques et de flavonoïdes, alors que l'infestation est un facteur qui a aussi son grande incidence mais qui est fortement lié à d'autres éléments biotiques et abiotiques tel que le type d'infestation et le procédé cultural suivi dans le verger.

Quant à l'évaluation de l'activité antifongique des extraits polyphénoliques, il semble que n'ont pas de pouvoir antifongique contre *Candida albicans*

Cette étude a fourni des informations précieuses sur la synthèse des composés bioactifs afin d'évaluer la meilleure période de récolte (avant maturité complète) pour avoir des meilleures teneurs en polyphénols.

### Les perspectives :

A l'essor de la présente étude, il serait intéressant de mener une étude plus approfondie afin de quantifier et de caractériser la nature des composés polyphénoliques existants dans les différentes variétés et les déchets de pomme, d'évaluer le pouvoir antifongique de chaque composé phénolique et de voir la possibilité d'amélioration génétique pour la teneur en ces composés polyphénoliques afin d'améliorer la résistance à l'infestation fongique ;et L'isolement du gène responsable de l'activité antifongique serait un sujet d'étude futur intéressant visant à identifier la molécule générant l'efficacité souhaitable pour élévation de ces composés polyphénoliques.

### Bibliographie

- 1- **Abbot D.L. 1984.** The apple tree; physiology and management. Grower Books, London.90p. Bioécologie du carpocapse du pommier *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera : Tortricidae) et inventaire de la faune arthropodologique dans des vergers de pommier traités et écologique dans la région de Tizi-Ouzou (Sidi Nâamane et Draa Ben Khedda). Thèse de doctorat Univ. Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.
- 2- **Abd E.L, Azim W.M, Ahmed S.T. 2009.** Effect of salinity and cutting date on growth and chemical constituents of *Achillea fragratissima* Forssk, under Ras Sudr conditions. Res J Agr Biol Sci 5, 1121– 1129.
- 3- **Achat S. 2013.** Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Autre. Université d'Avignon. Franç.
- 4- **Adem. 2013.** Valorisation fonctionnelle et antioxydante des épidermes de pommes Golden Delicious. Thèse de Doctorat. Universite DE BORDEAUX. 264p.
- 5- **Al Naser O. 2018.** Effet des conditions environnementales sur les caractéristiques morpho-physiologiques et la teneur en métabolites secondaires chez *Inula montana* : une plante de la médecine traditionnelle Provençale.
- 6- **Anonyme : Direction des services agricoles (D.S.A.). 2013.** Le pommier, wilaya de Batna.
- 7- **Aphis Spp.** (Hemiptera: Aphididae), their predators and the canopy insect community., 812 pages 305.
- 8- **Assad M, 2015** Fractionnement des complexe lignines polysaccharides issus de différentes biomasses lignocellulosique par extrusion BI- VIS et separation chromatographique-2015, Algérie.
- 9- **Bain J. M. and Robertson R. N. (1950).** Cell size, cell number, and fruit development. The physiology of growth in apple fruits: 75-91. Australian Journal of Biological Sciences, 4(2), 75.
- 10- **Been abdllahi D, Frikha S.** Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne et antifongique de quatre espèce.



- 11- Békro Y.A, Janat a, békro M, Boua B. B, trabi F.H and Éhilé E. (2007)** Etude Ethnobotanique et screening phytochimique de *caesalpinibenthamiana* (baill. herend et zarucchi (caesalpinaceae). Sciences & nature. Vol 4 n° 2: 217 – 225.
- 12- Bennett N R Roger M. Wall Lsgrove.1994.** Métabolites secondaires dans les mécanismes de défense des plantes
- 13- Beta T., Nam S., Dexter Jim E. and Harry D., 2005.** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. Cereal Chemistry, vol. 82, pp 390- 393.
- 14- Bhuiyan Nazmul H. , Selvaraj Gopalan , Wei Yangdou and King John, 2009.** Gene expression profiling and silencing reveal that monolignol biosynthesis plays a critical role in penetration defence in wheat against powdery mildew invasion. Journal of Experimental Botany, vol. 60, pp 509-521.
- 15- Bidabe B. 1965.** L'action des températures sur l'évo&ion des bourgeons de L'entr&e en dormante a La filraison. 96ème Congr&es de La Soci&t& Pomotogique de Frace, Paris. 51 - 66.
- 16- Blommers L.H.M. 1994.** Lists of insects and predators in European apple orchards. Annual Review of Entomology, 39 : 213-241p.
- 17- Borioli P, Filleron E, Géa A, Hucbourg B, Libourel G, Masson R, Mouiren C, et Bourgou S, Kchouk M.E, Bellila A, Marzouk B. 2009.** Effect of salinity on phenolic composition and biological activity of *Nigella sativa*, in: International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants-SIPAM2009 853. pp. 57–60.
- 18- Boutlelis Djahra A, Bordjibal O, Benkherara S. 2011.** Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare* L. de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien) Algérie.
- 19- Bouvier J.C, Toubon J.F, Boivin T, Sauphanor B. 2005.** Effects of apple orchard management strategies on the great tit (*Parus major*) in Southeastern France. Environmental Toxicology and Chemistry 24 (11): 2846–52.
- 20- Boyer et R.H, Liu. 2004.** Apple phytochemicals and their health benefits. Nutrition journal, 3 :115.
- 21- Bruneton J. 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2e édition, Tec et Doc., Lavoisier, Paris, 915 p.
- 22- Bruneton J.1999.** Éditions médicales internationales Editions Technique & Documentation.1120 p.

- 23- **Bruneton J. 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.) 1292p.
- 24- **Bruneton J. 2015.** Pharmacognosie (5<sup>o</sup> Éd.) Phytochimie - Plantes médicinales, Tec and Doc, Lavoisier, Paris. 1504pp.
- 25- **Cabi. 2012.** Crop protection compendium. CAB International, Wallingford, Royaume-Uni. <https://www.inspection.gc.ca/varietes-vegetales/vegetaux-a-caracteres-nouveaux/demandeurs/directive-94-08/documents-sur-la-biologie/malus-domestica>. 10/8/2020
- 26- **Carde R.T, Minks A.K. 1995.** Control of moth pests by mating disruption: successes and constraints. Annual Review of Entomology 40 (1): 559–585.
- 27- **Carette J. 2005.** De la grappe au verre 554 p.
- 28- **Catherine M.G.C, Renard, Nathalie Dupont, Pascale Guillermin. (2007).** Concentrations and characteristics of procyanidins and other phenolics in apples during fruit growth. Phytochemistry 68. 1128–113
- 29- **Causse C. 2004.** Les secrets de santé des antioxydants: plus jeune, plus longtemps avec les ...- France. 95 pages.
- 30- **Chouinard G, Firlej A, Vanoosthuysse F, et Vincent C .2000.** « Guide d'identification des ravageurs du pommier et de leurs ennemis naturels ». Conseil des productions végétales du Québec, 69p.
- 31- **Chris Skinner R, Joseph C. Gigliotti, Kang-Mo Ku, and Janet C. Tou. 2018.** A comprehensive analysis of the composition, health benefits, and safety of apple pomace. by University of the Western Cape user on 10 August. Dec 1;76(12):893-909.
- 32- **Clémens S. 1995.** Les additifs alimentaires : législation et problèmes liés à leur utilisation : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01895007/document>.
- 33- **Colette N. '2010.** L'œnologie. (7e ed.). Paris 468 p.
- 34- **Collin S, Crouzet J. 2011.** Polyphénols et procédés: Transformation des polyphénols au travers des Agence universitaire de la francophonie .paris. 337 p.
- 35- **Cowan M.M. 1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews, 12 (4), 564 582P.
- 36- Cultivated in the United States and Canada. McMillan Publishing Co., New York (New York), 278p.
- 37- **Cushnie T.P.T, et Lamb A.J. 2005.** Antimicrobial activity of flavonoids. Int. J. Antimicrob. Agents, 26:343-356.

- 38- Dangles O. et al. 2006.** Les polyphénols en agroalimentaires : Propriétés chimiques des Polyphénols. *Edition TEC & DOC Lavoisier*, chapitre 2 : 29-54.
- 39- Delahaye T. et Vin P. 1997.** Le pommier. 1er Edition Actes Sud. Paris. 88p. Bioécologie du carpocapse du pommier *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera : Tortricidae) et inventaire de la faune arthropodologique dans des vergers de pommier traités et écologique dans la région de Tizi-Ouzou (Sidi Nâamane et Draa Ben Khedda). Thèse de doctorat. Univ. Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.
- 40- Derradji-Benmezyen F 2015.** Effet de la nature du sol sur la teneur en antioxydants de quelques variétés de raisin de la région d'el-tarf. These . univ badji mokhtar-annaba
- 41- De Rijke E, Out P, Niessen W.M.A, Ariese F, Gooijer C, Brinkman U.A.T. 2006** Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J Chromatography A*.1112: 31.
- 42- Doré T et Varoquaux F. 2006.** Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées du pommier et la composition des pommes à cidre dans le Pays d'Auge. SciencesEd. Tec et Doc Lavoisier, 3 Edition .vol II.207 p.
- 43- Enaud E. 2004.** Fonctionnalisation enzymatique de composés phénoliques: synthèses d'esters aromatiques, de flavonoïdes glycosylés catalysées par la lipase B de *Candida antarctica*. Alimentation et Nutrition. Institut National Polytechnique de Lorraine. France. 245p.
- 44- F. A. O. 2008.** Production agricole, cultures primaires, Banque de données statistiques. F. A. O.Stat (Site Internet: <http://www.FAO-org.Com>).
- 45- F.A.O. 2013.** Productions agricoles, cultures primaires. Banques de données.
- 46- Ferree D.C, Carlson R.F. 1987.** Apple rootstocks. In: Rom R., Carlson R. (eds), *Rootstocks for Fruit Crops*. New York, Wiley and Sons.
- 47- Fleuri et Macheix. 1990.** le brunissement enzymatique et la qualité des fruits. In la maîtrise de la qualité des fruits frais; 9ème colloque sur les recherches fruitées. INRA, 249-258. In: *Les polyphénols en agroalimentaire*. Sarni-Manchado, P; Cheynier, V. 2006. Tec et Doc. Lavoisier-Paris.
- 48- Food-allergens. 2012.** Cartographie génétique des composés phénoliques de la Pomme. Cindy Verdu. Thèse de Doctorat. Université Nantes Angers Le Mans. 231p.
- 49- Forêt R. 2018.** Dictionnaire des sciences de la vie. Brésil .1424 p.
- 50- Fruit Production.** Backhuys Publishers, Leiden, Pays-Bas, 11p.
- 51- Fruits.** in J. Tromp, A. D. Webster, S. J. Wertheim, dir. *Fundamentals of Temperate Zone Tree*.

- 52- Gautier M. 2001.** La culture fruitière : Production fruitière. Vol 2. Ed. Tec et Doc. Paris,665p.
- 53- Gerhard R. 1993.** Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. Lavoisier Tec and Doc. p. 333-339.
- 54- Grigoras C G, destandau E, Laetitia Fougère, Claire Elfakir. 2013.** Evaluation of apple pomace extracts as a source of bioactive compounds. *Industrial Crops and Products*. 49. 794-804p.
- 55- Guiheneuf y. 1998.** Production fruitière. Synthèse agricole. Bordeaux, p21.
- 56- Haghghi Z, Modarresi M, Mollayi S, others. 2012.** Enhancement of compatible solute and secondary metabolites production in *Plantago ovata* Forsk. by salinity stress. *J. Med. Plants Res*. 6, 3495–3500.
- 57- Haghghi1 M, Dorosti1 A ., Rahnama A, and Hosein, A. 2012.** pour l'évaluation of factors affecting customer loyalty in the restaurant industry 1 Faculty of management, University of Tehran, Tehran, Iran.
- 58- Harborne, Jeffrey B, Marby, Helga, MarbyT. J. 2009.** The flavonoides. *Springer Link J*. 1: 1204.
- 59- Hoffmann L, S. Besseau, et al. 2004.** "Silencing of Hydroxycinnamoyl-Coenzyme A Shikimate/Quinate Hydroxycinnamoyltransferase Affects Phenylpropanoid Biosynthesis." *Plant Cell* **16**: 1446-1465.
- 60- Institut Technique de l'Agriculture Biologique ITAB. 2011.** Guide des intrants utilisables en agriculture biologique en France. Source e-phy, 3p.
- 61- Ismail H.I, Chan K.W, Mariod A.A, Ismail M. 2010.** Phenolic content and antioxi-dant activity of cantaloupe (*Cucumismelo*) methanolic extracts. *Food Chem*. 119,643–647.
- 62- Jarrige R, Ruckebusch Y. 1995.** Nutrition des ruminants domestiques: Ingestion et digestion- **Paris. 921 p.**
- 63- Jackson J. E .2003.** Biology of apples and pears. Cambridge University Press, Cambridge. <https://www.inspection.gc.ca/varietes-vegetales/vegetaux-caracteres-nouveaux/demandeurs/directive-94-08/documents-sur-la-biologie/malus-domestica/fra/10/08/2020>.

- 64- Jelordiane S, Haghir Ebrahimabadi A, et Jookar Kashi J. 2013.** Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait de fruit de *Malus domestica* de la région de Kashan.
- 65- Klinkesorn U, Sophanodora P, Chinachoti P, McClements D.J, Decker E.A. 2005.** Stability of spray-dried tuna oil emulsions encapsulated with two-layered interfacial membranes. *Journal of agricultural and food chemistry*.
- 66- Kováčik J, Klejdus B, Hedbavny J, Bačkor M. 2009.** Salicylic acid alleviates NaCl-induced changes in the metabolism of *Matricaria chamomilla* plants. *Ecotoxicology* 18, 544–554.
- 67- Ksouri R, W. Megdiche A, Debez H, Falleh C, Grignon et C. Abdelly. 2007.** Effets de la salinité sur la teneur en polyphénols et les activités antioxydantes des feuilles de l'halophyte *Cakile maritima*. *Physiol végétal. Biochem*.
- 68- Lahouel M. 2005.** Interaction flavonoïdes-mitochondrie et rôle de la propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux, Thèse de doctorat de l'université Mentouri de Constantine.
- 69- Lattanzio V., Lattanzio Veronica M. T. and Cardinalli A., 2006.** Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. Editor: Filippo Imperato. *Phytochemistry: Advances in Research*, pp 23-67
- 70- Literature Review (PDF Available) in American Journal of Clinical Nutrition** 74(4):418-25 · November 2001 *with* 3,062 Reads.
- 71- Literature Review. 2001. (PDF Available) in Pharmacological Reviews** 52(4):673-751 · *with* 2,871 Reads *in Plant Physiology and Biochemistry* 45(3-4):244-9 · March 2007 *with* 1,307 Reads London: Ebury Press, 253p.
- 72- Luby J. 2003.** Taxonomic classification and history. In: Ferree D, Warrington I, eds. Apples, botany, production and uses. Wallingford, UK: CABI Publishing, 1–14.
- 73- Macheix J.J, Fleuriet A et Christian A .2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne.
- 74- Machado, P; Cheynier, V. 2006.** Tecinnovative apple orchard systems. *Agronomy for Sustainable Development* 31 (3): 541–555.
- 75- Mann I. 1962.** Methodes artisanales de tannage - Rome. 256 p.
- 76- Martin F. 2014.** Tous les champignons portent-ils un chapeau : 90 clés pour comprendre les ...- France. 184 p.

- 77- Duchêne-Massias, A .2015.** Valorisation fonctionnelle et antioxydante des épidermes de pommes Golden Delicious, these de doctorat, université de Bordeaux248p.
- 78- Michalek, S., Mayr, U., Treutter, D., Lux-Endrich, A., Gutmann, M., Feucht, W., & Geibel, M. 1998.**ROLE OF FLAVAN-3-OLS IN RESISTANCE OF APPLE TREES TO VENTURIA INAEQUALIS. Acta Horticulturae, (484), 535–540.
- 79- Middleton, Jr E, Kandaswami C, & TheoharidesTC.2000** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. Pharmacol. Rev. 52, 673-751.
- 80- Mignonac. 2019.** La pomme :
- 81- Mikulic M, Petkovsek , Usenik V , Štampar, F. 2003.**The role of chlorogenic acid in the resistance of apples to apple scab (*Venturia inaequalis* (Cooke) G. Wind. Aderh.).
- 82- Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural en Algérie, 2017.** Productions du pommier en Algérie, 3p.
- 83- Mizera T, Tryjanowski P. 2013.** Effects of Management Intensity and Orchard Features.
- 84- Mureşan Am., Muste S ., Andrei M., Diaconeasa Z., Crainic D., Muresan V2012.** Changements de la teneur totale en phénol au cours de la croissance de la pomme en fonction de la variété et de la position du fruit dans la couronne.
- 85- Mutai C., Bii C., Rukunga G., Oudicho J., Mwitari P., Abatis D., Vagias C., Roussis V. & Kirui J. 2009.** Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated *Acacia millifera*. Afric. J. Trad. CAM, 6 (1), p. 42-48
- 86- Navarro J.M, Flores P, Garrido C, et Martinez V. 2008.** Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. IN : Food Chemistry  
disponible sur : <https://europepmc.org/article/agr/ind43762691>. consulter avrile 2020.
- 87- Nissiotis M et Tasioula-Margari M. 2002.** Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. *Food chemistry*, 77, Pp. 371-376. Disponible sur : <https://europepmc.org/article/agr/ind43762691>.
- 88- Nassif, D.2004.** Valorisation des polyphénols extraits des margines en tant qu'antioxydants naturels dans les huiles végétales. IN. Mémoire (DEA).INRA.FRANCE.

- 89- Nitsch JP and Nitsch C. 1961.** Synergistes naturels des auxines et des giberellines. Bull. Soc. Fr.
- 90- Omata Y, Yoshida Y, Niki E. 2010** Assessment of the antioxidant capacity of natural fruit extracts by inhibition of probe decay and plasma lipid peroxidation. In : *Biosci. Biotechnol. Biochem.* Disponible au : [hs://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20208356/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20208356/) Consulter le 8/8/2020.
- 91- Oueslati S, Karray-Bouraoui N, Attia H, Rabhi M, Ksouri R, Lachaal M. 2010.** Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal) to salt stress. *Acta Physiol. Plant.* Disponible au : <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net>.
- 92- Oukabli A. 2012.** Le pommier : Facteurs de choix variétal pour investir de nouveaux bassins de production INRA-Meknès : Disponible sur : [www.vulgarisation.net](http://www.vulgarisation.net) - [www.legume-fruit-maroc.com](http://www.legume-fruit-maroc.com).
- 93- Pech J.C, Bouzayen M et Latché A. 2002.** Maturation des fruits. Technologies de transformation des fruits. Paris, Lavoisier: 79-102.
- 94- Piquemal G. 2008.** Les flavonoïdes disponible sur : [http://www.detoursante.com/index.php?Option=com\\_content&view=article&id=166&Itemid=215](http://www.detoursante.com/index.php?Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=215).
- 95- Pirotte S. 2005** - Etat des vieux vergers sur la commune de Theux et étude de leur intérêt ornithologiques. Dep. Agro. Haut-Maret, Reid, 136 P.
- 96- Cindy Verdu.** Thèse de Doctorat. Université d'Angers. 231p
- 97- Pouzet D. 2011.** Production durable de biomasse: la lignocellulose des poacées. 211 p.
- 98- Pratt C. 1990.** Apple Flower and Fruit: Morphology and Anatomy. *Horticultural Reviews* 12, 265- 305.
- 99- Qian GZ, Liu LF, Tang GG. (2010).** Proposal to conserve the name *Malus domestica* against *M. pumila*, *M. communis*, *M. frutescens*, and *Pyrus dioica* (Rosaceae). In : International Association for Plant Taxonomy.
- 100- Raj Narayana K., Reddy Sripal M., Chaluvadi M. R. and Krishna D.R., 2001.** bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*, vol. 33, pp 2-16.

- 101- Rani R, Arora S, Kaur J, Manha K.R. 2018.** Composés phénoliques comme antioxydants et médicaments chimiopréventifs de la souche TES17 de *Streptomyces cellulosa* isolée de la rhizosphère de *Camellia sinensis*.
- 102- Rani V, Yadav U.CS. 2018.** Alimentation fonctionnelle et santé humaine- 694 p.
- 103- Renard C.M.G.C, Dupont N, Guillermin P. 2007.** Concentrations and characteristics of procyanidins and other phenolics in apples during fruit growth. *Phytochemistry* 68: 1128–1138.
- 104- Ribéreau-Gayon P, and Stonestreet E. 1965.** Determination of Anthocyanins in Red Wine. Bulletin de la Societe Chimique de France.
- 105- Rigby D, Cáceres D. 2001.** Organic farming and the sustainability of agricultural systems. *Agricultural Systems* 68 (1): 21–40.
- 106- Robin et Bouhier De L'ecluse. 1966.** Pommier et poirier. Ed. Flammarion, 400 p.
- 107- Robinson J.P, Juniper B.E. 2002.** Genetic clues to the origin of the apple. *Trends in Genetics* 18, 426-430.
- 108- Roger C, Philogene B.J, Vincent C. 2008.** Biopesticides d'origine végétale (2e éd.)576 p. Lavoisier. Paris.
- 109- Rong Tsao** (Extraction, Separation, Detection, and Antioxidant Activity of Apple Polyphenols) Food Research Program, Agriculture and Agri-Food Canada, 93 Stone Road West, Guelph, Ontario N1G5C9, Canada **2007.**
- 110- Roque G, Gudin C. 1998.** La vie nous en fait voir de toutes les couleurs 206 p.
- 111- Samouelian F, Boccara M, Gaudin V. 2009.** Génétique moléculaire des plantes. 207p. Paris.
- 112- Sansavini S. (1997.** Integrated fruit production in Europe: research and strategies for a sustainable industry. *Scientia Horticulturae* 68 (1): 25–36.
- 113- Sapin P. 1977.** L'arboriculture fruitière e Algérie (Pommier/ Poirier). Cours photocopiés, I.N.A. El Harrach, Alger, 228p.
- 114- Sauvion N, Calatayud A.P, Thiéry D, Poll F.M. 2013.** Interactions insectes-plantes.
- 115- Šavikin K, Živković J, \*, Zdunić G, Gopevac D, Đorđević B, Biljana Ćinović D, Đorđević N 2014.** Phenolic and mineral profiles of four Balkan indigenous apple cultivars monitored at two different maturity stages. journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jfca](http://www.elsevier.com/locate/jfca)



- 116- Singleton V.L, Orthofer R, and Lamuela-Raventos R.M. 1999.** Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol.* 152-177.
- 117- Singleton VL, Esau P. 1969.** Substances phénoliques dans les raisins et le vin, et leur signification. (Suppl. 1, Adv. Food Res.), Academic Press, New York 282 p.
- 118- Sokmen A., M. Gulluce, H.A. Akpulat, D. Daferera, B. Tepe, M. Polissiou, M. Sokmen & F. Sahin, 2004.-** The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, 15, 627-634. Sorg O., 2004.- Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *C. R. Biol.*, 327, 649-662.
- 119- Stöckigt J, Sheludko Y, Unger M, Gerasimenko I, Warzecha H, Stöckigt D. 2002.** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary Electrophoretic – electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups *Review Journal of Chromatography* 967, 85–113.
- 120- Taguri T, Tanaka T, Kouno I. 2004.** Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food-borne disease. *Biol. Pharm. Bull*, 27 (12), 1965-1969P.
- 121- Tippmann H.F, Schlüter U, Collinge D.B. 2006.** Common themes in biotic and abiotic stress signalling in plants, in: *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology*. Global Science Books.
- 122- Travers I. 2004.** Influence des conditions pédoclimatiques du terroir sur le comportement du pommier et la composition des pommes à cidre dans le Pays d’Auge. *Sciences agronomiques, biotechnologie agro-alimentaire*. Caen: 125.
- 123- Trillot M, Masseron A, MathieuV, Bergougnaux F, Hutin C et Yves L. 2002.** Le pommier. Centre technique interprofessionnelle des fruits et légumes. (Ctifl). Edition Lavoisier. Paris. 290P
- 124- Trillot M, Masseron A Et Tronel C. 1993.** Pomme les variétés. Centre technique interprofessionnelle des fruits et légumes. (Ctifl). Edition Lavoisier. Paris. 203p.
- 125- Trillot, M., Masseron, A., Mathieu,V, Bergougnaux, F., Hutin, C. et Yves, L. 2002.** Uni, 7p. Utilisables en agriculture biologique en France. Source e-phy, 3p.
- 126- Végétales developpemnt.** IN Nassif, D.2004. Mémoire (DEA).INRA.FRANCE.
- 127- Vercauteren J, Chèze C, Triaud J.** Polyphenols 96: 18th International Conférence on Polyphenols, Bordeaux ... publié par 1996267 page Paris.
- 128- Vincent C, Panneton B, Fleurat-Lessard F. 2000.** la lutte physique en phytoprotection. Paris .347 p.

- 129- Wang H, Cao G, Prior R. 1996.** Total antioxidant capacity of fruits. *J Agric Food Chem* 701-705.
- 130- Wang J, Mazza G. 2002.** Effect of Anthocyanins and other phenolic compounds on the production of Tumor Necrosis Factors  $\alpha$  in LPS/IFN- $\gamma$ -Activated RAW.264.7.Macrophages.*J.Agric.Food.Chem.*50.4183-4189, 2002.
- 131- Yala D, Merad A.S, Mohamedi D, and Ouar KorichM N. 2001.** Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb, n° 91 2013MAALEJ2 ET S. SASSI3 1: Laboratoire des Biotechnolog.
- 132- Yao K, De Luca V, and Brisson N. 1995.** Creation of a Metabolic Sink for Tryptophan Alters the Phenylpropanoid Pathway and the Susceptibility of Potato to *Phytophthora infestans*. *Plant, Cell.*7: 1787-1799.
- 133- Yao L.J, Cohen D, Richardson K, Morris B. 1995.**Régénération de plantes transgéniques du cultivar commercial de pommes Royal Gala.
- 134- Zabetakis L, Edwards R, and O'Hagan D. 1999.** Elicitation of tropane alkaloid biosynthesis in transformed root cultures of *Datura stramonium*. *Phytochemistry.* 50: 53–56.
- 135- Zheng H.Z, Kim Y.L, Chung S.K.2012.** A profile of physicochemical and antioxidant changes during fruit growth for the utilisation of unripe apples. *Food Chemistry* 131: 106–110.
- 136- Zouaghi R. (2006).** Etude de la transformation photocatalytique de deux herbicides de la famille des phénylurées (Linuron et Monolinuron) en solution aqueuse. Couplage du procédé avec ultrasons. Thèse de doctorat : université ZERTAL Abdennour. Université Mentouri Constantine. Consulter le : 8/2020
- 137- Article :** Common themes in Biotic and abiotic stress signaling in plant · January.2006.

## Annexe

Tableau 06 : Appareil laboratoire

Matériels	Marque
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Etuve</li> <li>• Agitateur</li> <li>• Rotavapeur</li> <li>• Spectrophotomètre</li> <li>• Moulin à café</li> <li>• Autoclave</li> <li>• Incubateur</li> <li>• Bèque benzène</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Memmart</li> <li>• Stuart</li> <li>• Heidolph</li> <li>• Shimadzu UVmini-1240</li> <li>• Moulinex</li> <li>• Trade Raypa®</li> <li>• Memmart</li> </ul>

Tableau04 : Produit chimique et consommable utilisé

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ethanol 96%</li> <li>• L'eau distillée, l'eau physiologique</li> <li>• Acide acétique</li> <li>• Hcl</li> <li>• Fecl3</li> <li>• Acide gallique</li> <li>• Acide ascorbique</li> <li>• Quercétine</li> <li>• Folin-Ciocalteu</li> <li>• Gélose</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• NaCa3, AlCl3</li> <li>• Magnésium</li> <li>• Lamidase</li> <li>• Disques en papier</li> <li>• micropipette</li> <li>• Boite pétri</li> <li>• Tubes à essais</li> <li>• Pince</li> </ul>
--	--

**Tableau08:** Teneur en polyphénols et flavonoïdes

<b>Verger</b>		<b>Teneur en polyphénols totaux (mgEAG/gMS)</b>	<b>Teneur en flavonoïdes (mgEQ/gMS)</b>
<b>I.T.A.F.V.</b>	Mure infesté	0,00631891	0,00733137
	Mure non infesté	0,0029555	0,00334056
	Immature non infesté	0,00766465	0,00841329
<b>Hamamou</b>	Mure infesté	0,00214653	0,00093143
	Mure non infesté	0,0027347	0,00563253
	Immature non infesté	0,00672815	0,00612223