



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ IBN KHALDOUN DE TIARET

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Génétique Moléculaire et Amélioration Des Plantes

Présentée par :

M^{elle} Bouzekri Chahrazed

M^{elle} Boutebba Iteb Elhadja Fatima Zohra

THÈME

*Essai De Lutte Biologique Par L'utilisation
D'ase Fétide (Asa-Foetida) Contre Alternaria
Des Agrumes*

Soutenu publiquement le : 18/06/2023

Devant le Jury

Président	Mme BOUZID	Université de Tiaret
Examinatrice	Mme SOUALEM S	Université de Tiaret
Promoteur	Mr BOUMAAZA B	Université de Tiaret

Année académique 2022-2023

Remerciement

Nos remerciements vont d'abord à Dieu tout puissant de nous avoir donné la force et la patience de réaliser ce travail.

Nous remercions sincèrement notre encadreur Monsieur Le Professeur Boumaaza Boualem pour sa direction, il s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer.

Nous remercions, Mme Bouzid d'avoir accepté de présider notre jury, et de nous avoir prodigué autant de conseils durant toute l'année universitaire.

Nous remercions Mme Soualem S pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Enfin, je remercie tout le personnel du laboratoire de recherche de microbiologie et surtout son staff technique Zahra et Amel pour leur accueil, leur aide et leur accompagnement durant toute la durée de ce travail

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents pour leurs sacrifices et leurs encouragements durant toutes mes études.

A mes chères sœurs et mon frère pour leurs soutiens et leurs amours.

A mes neveux Islem, Adem, Amine, Mohamed, Tassnim, Serine et le nouveau-né Founes Salah Eddine merci d'être le bonheur de ma vie.

Particulièrement à ma chère amie, mon binôme itabe En témoignage de l'amitié et des souvenirs que nous avons Passés ensemble, je te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A mes chères proches amies et à tous ceux qui m'ont aidé et encouragé.

A tous ceux qui sont proches de mon cœur.

Rym.

Dédicace

Je dédie ce travail

A mon Cher père

A ma chère mère

*Pour leur soutien, leur amour et leurs sacrifices, et leurs
encouragements,*

A mes frères Khaled, Djamel et Sid Ali

A ma seule sœur AyLoul, et ma belle-famille.

*A mon binôme Rim chahrazed En témoignage de l'amitié et
des souvenirs que nous avons Passés ensemble, je te souhaite une vie
pleine de santé et de bonheur.*

A tous Ceux qui m'ont aidé et m'aime

Stabe

Table des matières

Table des matières

Remerciement

Dédicace

Table des matières

Abréviation

Liste des tableaux

Liste des figures

Partie-1 : Synthèse Bibliographique.

Chapitre I : Généralité sue les Agrumes

I.1. Introduction.....	1
I.2. Définition.....	1
I.3. Origine des agrumes	1
I.4. Classification botanique.....	2
I.5. Caractéristique générales des agrumes	3
I.5.1. Les fleurs.....	3
I.5.2. Les fruits	3
I.5.3. Les racines	5
I.5.4. Les feuilles et les rameaux	5
I.6. Multiplications	5
I.6.1. La multiplication asexuée	5
I.6.2. La Multiplication par semis	5
I.7. L'Importances et la production économiques des agrumes	6
I.7.1. Dans le monde.....	6
I.7.2. Dans la région méditerranée	6
I.7.3. En Algérie	6
I.8. Les contraintes biotiques et abiotiques	7
I.8.1. Les principales maladies des agrumes	7
I.8.1.1. Les carences	7
I.8.1.2 Les maladies cryptogamiques	8
I.8.1.3 Maladies bactériennes	9
I.8.1.4 Les maladies virales	10
I.8.2. Les principaux ravageurs des agrumes	11

Chapitre II : Alternaria

II.1. Présentation d'Alternaria des agrumes	13
II.2. Historique	13
II.3. Classification et biologie	13

Table des matières

II.4. Distribution dans le monde.....	14
II.5. Les principales alternarioses des agrumes.....	14
II.6. Symptômes de l'alternarioses.....	14
II.6.1. Tache brune d'Alternaria des mandarines.....	14
II.6.2. Pourriture noire.....	15
II.7. Cycle infectieux.....	15
II.7.1. Source d'inoculum et conservation.....	16
II.7.2. Pénétration.....	16
II.7.3. Sporulation et dissémination.....	16
II.7.4. Période d'infection.....	16
II.8. Principales caractéristiques morphologiques d'Alternaria sp des agrumes.....	17
II.9. Conditions environnementales pour la croissance de l'agent pathogène.....	18
II.9.1. Climat.....	18
II.9.2. Pratiques culturales.....	18
II.9.3. La mineuse des agrumes (<i>Phyllocnistis citrella</i>).....	19
II.10. Dégâts.....	19
II.11. Moyens de lutte.....	19
II.11.1. Lutte chimique.....	19
II.11.2. Lutte préventive.....	20
II.11.3. Lutte biologique.....	20

Partie-2 : Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériels et Méthodes

I.1. Matériels.....	21
I.1.1. Souche fongique.....	21
I.1.2. Site d'échantillonnage.....	21
I.1.3. Isolement.....	22
I.1.4. Milieu de culture utilisé.....	22
I.1.5. Matériel végétal.....	22
I.2. Méthodes.....	25
I.2.1. Isolement et Identification de l'agent causal de la tache brune.....	25
I.2.2. Détermination l'activité antifongique <i>asafoetida</i>	25
I.2.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	25
I.2.2.2. Effet d'asafoetida sur la croissance mycélienne (Méthode de contact direct).....	25

Chapitre II : Résultats et Discussion

II.1. Résultats.....	27
II.1.1. Caractérisation morphologique.....	27

Table des matières

II.1.2. Effet d'asafoetida sur la croissance mycélienne d'Alternaria	28
II.2. Discussion.....	30
Conclusion	
Références bibliographiques	

Liste des abréviations

Liste des abréviations

CYMV: citrus yellow mosaic virus.

VTA : virus transmits Agricola.

CVV : citrus variegation virus.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

ITS: Internal transcribed spacer.

PDA: potato dextrose agar.

CMI : concentration minimal inhibitrice.

I : inhibition.

dC : diamètres de colonies dans les boites (Témoin positive).

dE : diamètre de colonies dans les boites contenant l'extrait de plante.

IPM : L'indice de la pauvreté multidimensionnelle.

Liste des tableaux

TABLEAU 1. CLASSIFICATION BOTANIQUE DES AGRUMES	3
TABLEAU 2. COORDONNEES GEOGRAPHIQUES DES LOCALITES VISITEES.....	21
TABLEAU 3. CONSTITUANTS PHYTOCHIMIQUES DE FERULA ASAFOETIDA.....	23

Listes des figures

FIGURE 1. ORIGINE ET EXTENSION DES AGRUMES DANS LE MONDE.....	2
FIGURE 2. UNE FLEUR DE CITRON.	4
FIGURE 3. DIVERSITE POMOLOGIQUE DES FRUITS D'AGRUMES : A = LES CEDRATS ; B = LES POMELOS ; C = LES ORANGES ; D = LES LIMES ; E = LES MANDARINES ET F = LES CITRONS...	4
FIGURE 4. SYMPTOMES TYPIQUES DE LA TACHE BRUNE D'ALTERNARIA SUR LA MANDARINE ; B : POURRITURE NOIRE DU CŒUR DE MANDARINE	15
FIGURE 5. CYCLE DE LA MALADIE DE LA TACHE BRUNE D'ALTERNARIA. (A) CONIDIES D' <i>A. ALTERNATA</i> , (B) FEUILLES SENSIBLES, (C) GERMINATION DES CONIDIES, (D) FORMATION D'APPRESSORIUM ET PRODUCTION DE TOXINES, (E) SYMPTOMES FOLIAIRES ET (F-G) SPORULATION DES CHAMPIGNONS	17
FIGURE 6. OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES DU MYCELIUM CLOISONNE ET DES DIFFERENTES CONIDIES PRODUITES PAR LES ESPECES D' <i>ALTERNARIA ALTERNATA</i> . M : MACROCONIDIE ; m : MICROCONIDIE ; CP : CONIDIOPHORE ; CH : CHLAMYDOSPORE ; MY : MYCELIUM.	18
FIGURE 7. SYMPTOMES DE LA TACHE BRUNE (PHOTO ORIGINAL, 2023).....	21
FIGURE 8. LOCALISATION DE LA STATION D'ETUDE.....	22
FIGURE 9. FERULA ASAFETIDA	23
FIGURE 10. ASPECT CULTUREL D' <i>ALTERNARIA</i> SP, SUR PDA : (A) SOMMET DE LA CULTURE ;(B) LE FOND DE LA CULTURE(C) CONIDIES (D) MYCELIUM.....	27
FIGURE 11 . EFFET IN VITRO ASAFOETIDA SUR LE TAUX D'INHIBITION DE LA CROISSANCE MYCELIENNE D' <i>ALTERNARIA</i>	28
FIGURE 12. EFFET IN VITRO ASAFOETIDA SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE D' <i>ALTERNARIA</i> . .	29

Résumé

Résumé

Un isolat d'*Alternaria* a été déterminé comme étant à l'origine de la tache brune des feuilles d'orange, dans les régions productrices d'agrumes du Nord-ouest d'Algérie. Ses caractéristiques macro et microscopiques ont été identifiées. L'activité antifongique d'*Assa-foetida* a été réalisée sur d'*Alternaria* des agrumes par la méthode de contact direct et de macro dilution en milieu liquide. L'*Assa-foetida* a montré une activité antifongique. La présente étude a montré également que l'*Assa-foetida* présente une forte concentration minimale inhibitrice sur la croissance mycélienne d'*Alternaria* $\geq 20\%$.

Mot clé : Alternariose, croissance mycélienne, taux d'inhibition, *Assa-foetida*, *in vitro*.

Abstract

It was determined that an *Alternaria* isolate caused brown spots on orange leaves in an area of northwest en Algeria where citrus fruits are growing. Both macro and microscopic features have been identified. *Assa-foetida*'s antifungal activity was carried out on *Alternaria* citrus fruits by direct contact and macro dilution in a liquid medium. This late was found to have antifungal activity; this study also demonstrated that *Assa-foetida* has a high minimal inhibitory concentration on the mycelial growth of *Alternaria* 20%.

Key word: Early blight, mycelial growth, inhibition rate, *Assa-foetida*, *in vitro*.

الملخص

تم تحديد عزلة من فطريات النوباء لتكون مصدر البقعة البنية لأوراق البرتقال، في منطقة منتجة للحمضيات في شمال غرب الجزائر. تم تحديد خصائصها الكلية والمجهريّة، ثم تنفيذ النشاط المضاد للفطريات لـ الحلتيت على الحمضيات البديلة بطريقة التلامس المباشر والتخفيف الكلي في الوسط السائل. أظهر الحلتيت نشاطا مضادا للفطريات حيث أظهرت الدراسة الحالية أيضا أن الحلتيت لديه تركيز مثبط ضئيل للغاية على النمو الفطري للنوباء 20%.

كلمات مفتاحية: النوباء، النمو الفطري، تركيز مثبط، الحلتيت، في المختبر.

Introduction générale

Introduction générale

Les agrumes sont des représentants incontestés de la noblesse en raison de leur ancienneté et de leur goût délicieux. Les Grecs en ont fait l'éloge, leur donnant un départ glorieux ; en fait, le mythe nous dit qu'Hercule a accompli sa onzième mission, conquérant les premiers agrumes. Il n'est plus nécessaire d'accomplir des exploits similaires pour obtenir des oranges, des mandarines, des citrons, des pamplemousses ou d'autres agrumes, car les Hespérides modernes s'efforcent d'accroître leur richesse plutôt que de la préserver. En effet, la culture de ces fruits s'est considérablement améliorée depuis l'Antiquité, de sorte que leur gamme a également considérablement augmenté (**Brown, 2018**).

L'Alternariose des agrumes est causée par une infection fongique qui s'attaque à la plus grande partie des plantes d'agrumes, y compris le pamplemousse, l'orange, mandarine, la clémentine, le citron et le lime. Les symptômes de l'infection sont généralement des taches brunes et de la pourriture noire qui apparaissent sur les fruits, les feuilles, les tiges et les fleurs (**Whiteside, 1976**).

Selon l'Université de Floride, l'Alternariose des agrumes peut être causée par plusieurs espèces d'*Alternaria*, les agents pathogènes de la tache brune et de la pourriture noire, l'ancien a été identifié comme *A. citri* (**Whiteside, 1976**), un champignon qui avait été décrit pour la première fois comme la cause de la pourriture noire des agrumes. Plus récemment, l'agent pathogène qui affecte les mandarines a été classé comme *A. alternata* et **Solel (1991)** a désigné l'agent causal comme *A. alternata* f.sp *citri*.

Les pratiques culturales telles que le bon drainage, la rotation des cultures et le désherbage mécanique sont des mesures préventives pour contrôler l'Alternariose. En plus de ces pratiques, le traitement chimique est le traitement le plus couramment utilisé pour le contrôle de l'Alternariose des agrumes. Les substances chimiques comme mancozèbe, le métalaxyl + mancozèbe, azoxystrobine, difénoconazole ont été identifiés comme étant les plus efficaces contre l'Alternariose sp (**Farooq et al. 2018**).

Les biopesticides sont également utilisés pour contrôler le champignon l'Alternariose. Les produits à base de *Bacillus subtilis*, *Fusarium oxysporum* et *Trichoderma* spp. sont considérés comme les plus efficaces (**Shehata et al., 2018**).

Les extraits de plantes ont longtemps été utilisés en médecine traditionnelle pour leurs propriétés thérapeutiques, y compris leurs effets antifongiques, antibactériennes et antivirales.

Dans ce travail nous essayons d'étudier l'activité *in vitro* d'ase fétide sur la croissance de *l'Alternaria* sp agent responsable de l'Alternariose des agrumes.

Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est composé de deux parties. La première partie propose une mise au point bibliographique. Elle est divisée en deux chapitres ; les agrumes et l'Alternariose des agrumes. Dans la seconde partie (pratique), nous avons décrit en détail les matériels et méthodes et résultats obtenus. Ces résultats sont ensuite amplement discutés. Le manuscrit est achevé par une conclusion générale, les annexes et la liste des références bibliographiques.

PARTIE- 1
Synthèse Bibliographique

Chapitre I
Généralités Sur Les Agrumes

I.1. Introduction

Le terme agrumes recouvre différents types de fruits d'une grande importance d'une part, pour leur nature pérenne, et pour leur richesse en éléments minéraux, vitamines, fibres et sucre. Les scientifiques pensent que les agrumes renferment des antioxydants (Vitamine C), des flavonoïdes qui jouent un rôle dans la prévention et la limitation du développement de certains cancers, (**Virbel-Alonso, 2011**), des polyphénols à rôle d'antiseptique, antibactérien antifongique, anti vieillissement cellulaire, ou dégénératives, anti-cancer, contre l'ostéoporose et le diabète (Type II) etc (**Amarowicz et al., 2008**).

I.2. Définition

Le mot « agrume » vient du mot latin « acrumen », qui signifie « aigre ». Il fait référence aux arbres appartenant à la famille des Rutacées qui produisent des fruits ou des noix à pulpe acide et qui ont l'organisation physiologique suivante :

(1) Une partie externe du corps connue sous le nom de peau, avec la couche externe squameuse de l'épiderme (également connue sous le nom de zeste).

(2) une partie à l'intérieur du fruit qui est divisée en compartiments constitués de tissu carpelle et recouverts d'une fine peau (endocarpe), dans laquelle les vésicules riches en jus contiennent de l'eau, des acides organiques, des sucres, des pigments (caroténoïdes et parfois des anthocyanes) et des minéraux sels ; chaque compartiment peut également contenir des pores situés à proximité de l'axe du fruit.

(3) L'axe du fruit, qui peut être absent ou recouvert d'un tissu semblable à celui de l'albédo (columelle) lorsque les zones se rejoignent à leur base (**Luro et al., 2022**).

I.3. Origine des agrumes

Les agrumes ont été originellement cultivés en Asie du Sud-Est et en Chine, bien qu'ils aient été introduits en Europe et en Amérique du Nord à des périodes plus tardives. Les principales variétés comprennent le citron, le pamplemousse, l'orange, la mandarine et le citron vert. Les agrumes sont aujourd'hui cultivés à travers le monde et sont utilisés pour leur jus et leurs zestes aromatiques (**Yin et al., 2014**)

Les preuves archéologiques et historiques montrent que les Arabes jouèrent probablement un rôle crucial dans la diffusion des agrumes dans le monde occidental et en Afrique du nord. Les croisades du Moyen Âge ont également contribué au commerce des agrumes, qui ont été transportés par des commerçants et des voyageurs vénitiens à partir de

l'année 1000. Aujourd'hui, les citrus sont largement répandus dans le monde entier et consommés sous différentes formes, telles que jus et huile essentielle (Story et al., 2006). La carte présente dans la figure (1), montre l'influence des échanges commerciaux dans la large distribution des agrumes dans le monde.

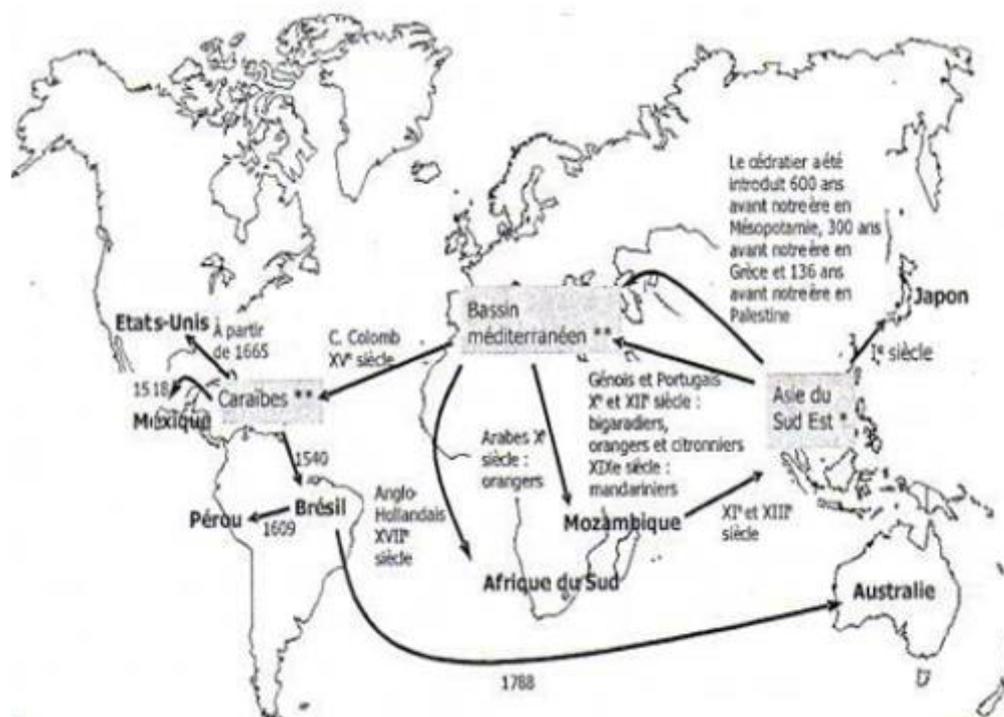


Figure 1. origine et extension des agrumes dans le monde (Camille et al., 2009).

I.4. Classification botanique

Les agrumes appartiennent à la famille des rutacées. (GONZALEZ, L., & TULLO, C. 2019) Les espèces les plus cultivées du genre Citrus sont :

1. *Citrus Sinensis* (Orange douce)
2. *Citrus Limon* (Citron)
3. *Citrus Aurantium* (Orange amère)
4. *Citrus Grandis* (Grapefruit)
5. *Citrus Medica* (Citron vert)
6. *Citrus Reticulata* (Mandarine)
7. *Citrus Paradisi* (Pamplemousse)
8. *Citrus Aurantifolia* (Lime)

9. *Citrus Jambhiri* (Kumquat)

10. *Citrus Latifolia* (Pomelo).

Le statut taxonomique des agrumes, selon **Hippler, (2018)** est le suivant :

Tableau 1. Classification botanique des agrumes

Règne	Végétale
Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotes
Sous classe	Archichlomydeae
Ordre	Germinale (Rutales)
Famille	Rutaceae
Sous-famille	Aurantioideae
Genre	Poncirus, Fortunella et Citrus

I.5. Caractéristique générales des agrumes

Les agrumes sont une famille de fruits très variés, mais les principales caractéristiques communes sont un goût acide et souvent âcre, une peau épaisse et écorceuse, et des graines dans la chair. Ils comprennent principalement des fruits comme le citron, le pamplemousse, le mandarin, l'orange, la lime et la bergamote. Les agrumes sont une famille d'arbres et d'arbustes fruitiers vivaces d'origine subtropicales. Ils sont souvent épineux et densément couverts de feuilles. Une différence entre les espèces est faite sur la base des caractères notés dans la clé dichotomique de Swingle (**Praloran, 1971**). Selon la description de (**Bénédict et Bachès (2011)**) :

I.5.1. Les fleurs

Ils sont généralement de couleur blanche avec 4 à 5 pétales imbriquées qui sont souvent tournées vers le dos (Figure 2). Selon l'espèce, la floraison dans le buisson ou dans une fleur isolée est assez abondante, et la pollinisation des insectes assure cela.

I.5.2. Les fruits

Il faut entre 7 et 10 mois pour qu'une fleur se transforme en fruit de mur, puisque, selon l'espèce, les fruits de mur mûrissent de novembre à mars. La forme, la couleur et la taille varient selon les espèces et leurs cultivars, du petit Kumquat au très grand pamplemousse, du vert au jaune, de l'orange ou du rouge, du rond à l'ovale aux formes assez étranges (Figure 3).

Les fruits des agrumes sont caractérisés par une peau souvent très épaisse, une pulpe juteuse et acide ainsi qu'une odeur caractéristique et des arômes très variables selon les variétés (Allain et al., 2020).



Figure 2. Une fleur de citron.

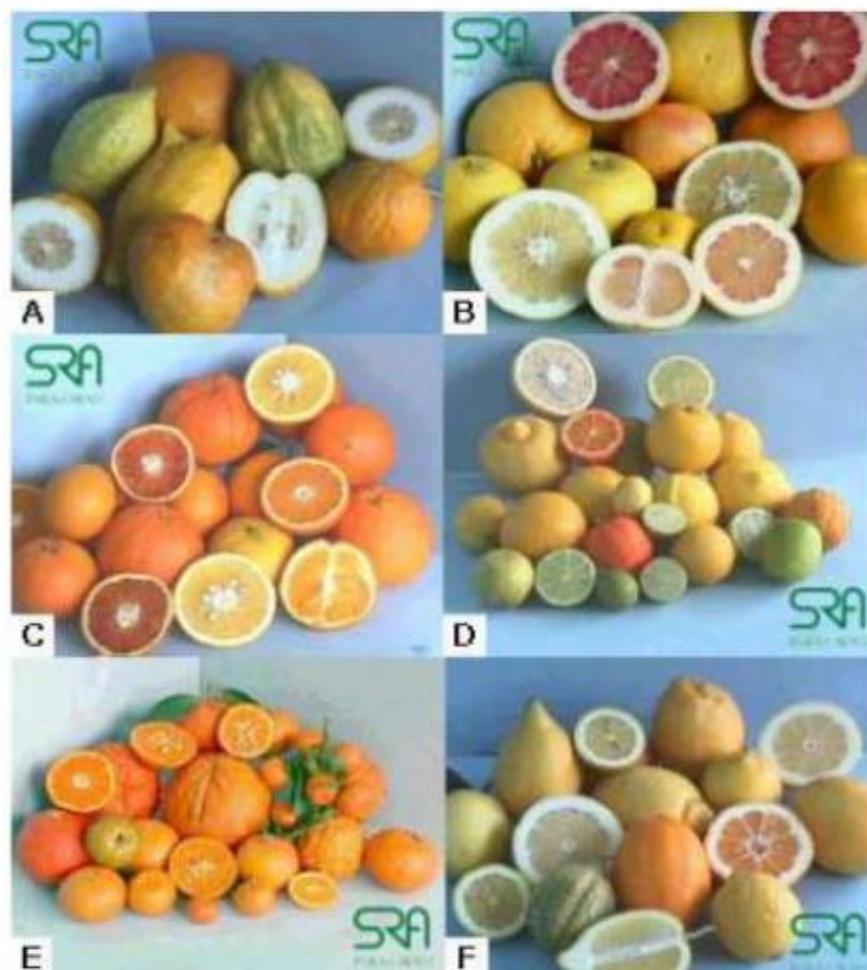


Figure 3. Diversité pomologique des fruits d'agrumes : A = les cédrats ; B = les pomelos ; C = les oranges ; D = les limes ; E = les mandarines et F = les citrons. (Kamiri, 2011).

I.5.3. Les racines

Les racines des agrumes sont généralement courtes et peu profondes. Elles sont généralement très abondantes et sont caractérisées par leur structure en nappe. Elles sont capables de s'adapter aux milieux variés et peuvent s'étendre sur plusieurs mètres (**Wilson & Moore, 2005**). Elles sont généralement fines et peuvent s'étirer ou se contracter selon les besoins. Les principaux types de racines des agrumes sont les racines adventives et pivotantes. Les racines des agrumes sont très sensibles à la salinité du sol, et sont principalement responsables de la séquestration du carbone et de l'absorption des nutriments.

I.5.4. Les feuilles et les rameaux

Les feuilles des agrumes sont opposées, avec des nervures principales parallèles et une base cordée. Les longues feuilles pointues et brillantes ont une couleur vert foncé à l'extérieur et sont recouvertes d'un duvet blanc ou gris à l'intérieur qui les distingue des autres genres de l'ordre des rutacées. Elles sont glabres, ovales-oblongues, avec un bord assez denté.

Les rameaux sont des tiges grêles, souvent glabres, à tests pointues et épaisses et couverts de petits poils. Ils sont également très robustes et ont tendance à croître en direction du soleil. Les rameaux sont généralement de couleur vert à vert foncé (**Hussain, 2021**).

I.6. Multiplications

I.6.1. La multiplication asexuée

Multiplication par greffe : c'est la méthode la plus couramment utilisée pour multiplier les agrumes. Elle consiste à prendre une branche d'un arbre mère et à la greffer sur un porte-greffe. La greffe peut être réalisée à l'aide d'un couteau ou d'un outil spécifique. Une fois greffé, le greffon (ou greffon) commence à produire des fruits après environ un an. Cette méthode est utilisée pour multiplier la plupart des agrumes, y compris les oranges, les citrons, les mandarines, les pamplemousses et les citrons verts.

I.6.2. La Multiplication par semis

La multiplication par semis est une méthode moins utilisée pour la multiplication des agrumes par rapport à la greffe et à la multiplication par bourgeons. La sélection et la préparation des semences sont les mêmes que pour toutes les autres cultures. Cependant, le taux de germination n'est pas très élevé et la majorité des plants obtenus présentent certains problèmes héréditaires tels que la variabilité du fruit.

I.7. L'Importances et la production économiques des agrumes

I.7.1. Dans le monde

D'un point de vue économique, les agrumes sont la principale production fruitière mondiale, avec 124 millions de tonnes produites en 2009 (**FAOSTAT 2010**), devant la banane (90 millions de tonnes) et la pomme et le raisin (respectivement 64 et 66 millions de tonnes). La production totale d'agrumes augmente. La moitié de la production mondiale est destinée à l'autoconsommation. Les principaux producteurs sont la Chine (22 MT), le Brésil (20,7 MT), les États-Unis (11,7 MT), le Mexique (7,5 MT), l'Inde (7,2 MT) et l'Espagne (5,9 MT) (**FAOSTAT 2010**). Les oranges constituent le premier groupe variétal avec 55 % de la production. Les fruits faciles à peler comme les clémentines et les mandarines représentent environ 23 pour cent de la production totale. Les citrons/limes et les pomélos arrivent respectivement en troisième (11% de la production mondiale) et quatrième position (4%).

I.7.2. Dans la région méditerranée

La Méditerranée est l'une des principales régions productrices d'agrumes au monde. Il occupe la troisième place avec 17 millions de tonnes, après la Chine et le Brésil. Ces dernières années, le taux de croissance des exportations du bassin méditerranéen a augmenté de manière significative, passant de 1,2 % en 1975 à 1995, augmentant d'environ 2,5 % par an (**Imbert 2007**). Les clés de ce succès sont un climat favorable à la production de fruits de première qualité.

Le caractère variétal est à dominante orange (50%), suivi de "petits" fruits à près de 20% (**Imbert 2005**). Deux types de pays producteurs peuvent être distingués. Les pays producteurs et consommateurs comme l'Italie, l'Égypte, la Turquie ou la Grèce représentent ensemble 40% de la production méditerranéenne mais représentent plus de 70% de la consommation régionale. Enfin, les pays producteurs exportateurs, notamment l'Espagne, le Maroc et Israël, qui représentent 50 % et près de 75 % de la production méditerranéenne.

I.7.3. En Algérie

La culture des agrumes revêt une importance stratégique pour l'Algérie comme source d'approvisionnement en fruits et des débouchés sur le marché international des produits agrumicoles. La superficie des agrumes est de 63 296 hectares, soit environ 6,8 % de la superficie totale des plantations de fruits.

Les orangers représentaient à eux seuls 46 310 hectares, dont Thomson Navel représentait 19 300 hectares soit 33%, Washington Navel représentait 11 700 hectares soit 20%, double fine représentait 12 300 hectares soit 23%, et Valencia late représentait 6 440 hectares soit 11%, et enfin 8.780 ha soit 15% pour les autres variétés (FAO, 2012).

Les principales zones de production par ordre d'importance sont la plaine de la Mitidja 44%, Habra Mascara 25%, les environs de Bounamousa et la plaine de Saf Saf Skikda 16% et les environs de Mina et du bas Chélif 14%. Le centre du pays représente 39 305 hectares ou 62 pour cent de la superficie des agrumes, l'ouest 26 pour cent ou 16 453 hectares, l'est 9,7 pour cent ou 6 134 hectares et le sud 1 404 hectares ou 2,2 pour cent.

I.8. Les contraintes biotiques et abiotiques

Les agrumes sont sensibles aux stress abiotiques tels que les vents chauds et secs, le gel, les trop fortes quantités d'eau, et à la sécheresse (Chegrani-Conan, 2009). Pour prévenir ces stress, il est nécessaire d'installer des haies brise-vent, un système de drainage (Jacquemond et al., 2013), voire un système d'arrosage lors de la mise en place du verger.

Par ailleurs, les agrumes sont aussi soumis à des stress biotiques tels que les bactéries (chancre bactérien et bactériose des agrumes), les virus (tristeza), les champignons (mal secco du citronnier, anthracnose des limes, gommose à *Phytophthora*), les cochenilles, les pucerons, les teignes, les mouches méditerranéennes des fruits (cératite), les aleurodes (mouches blanches), les mineuses des agrumes, les metcalfa (flatide pruineux), les cicadelles, les thrips, les fourmis, les acariens ou encore les nématodes (Jacquemond et al., 2013)

I.8.1. Les principales maladies des agrumes

I.8.1.1. Les carences

Les carences affectent beaucoup les agrumes, même s'ils semblent être d'importance mineure pour les agrumiculteurs. Certains d'entre eux peuvent être corrigés facilement et à faible coût, améliorant considérablement la qualité et la quantité de la récolte. Parmi les carences les plus importants sont :

La carence en zinc est répandue, il y a peu d'orangers où les symptômes ne peuvent pas être détectés. Elle se caractérise notamment par une réduction très importante de la taille des feuilles et le rabougrissement des rameaux. Ses symptômes, en particulier les taches jaunes sur les limbes des feuilles, ont souvent tendance à disparaître en été, de sorte que le producteur d'agrumes pense que la carence a disparu (De Bellis et al., 2017).

La chlorose ferrique est un type de carence en fer qui se produit lorsque la plante est incapable d'absorber suffisamment de fer à partir du sol. Cela peut se produire lorsque le pH du sol est trop alcalin et que la disponibilité du fer est réduite. Toutefois, les citronniers, montrent assez souvent des symptômes foliaires de cette carence. La chlorose ferrique s'accroît par des irrigations trop importantes et par un pH des sols trop élevé. Elle est due à une insuffisance d'absorption des sels de fer par les racines en raison d'un pH trop élevé (**Bellis et al., 2017**).

La carence en manganèse est rarement décelable, car ses symptômes sont souvent associés à ceux de la carence en zinc. Les symptômes typiques de la carence en manganèse sont une chlorose (jaunissement) et une mottling (cloques) des feuilles. Un autre symptôme commun de la carence en manganèse est une diminution de la croissance des bourgeons, ce qui entraîne une faible production de nouvelles feuilles. Dans les cas les plus graves, la carence en manganèse peut entraîner une défoliation et des symptômes similaires à ceux provoqués par le stress hydrique (**De Bellis et al., 2017**).

La carence en magnésium chez les agrumes est souvent masquée par les effets de la carence en zinc, ce qui rend difficile l'identification d'une carence en magnésium. Ces symptômes peuvent inclure un ralentissement de la croissance, une chlorose foliaire, une plus faible teneur en sucre des fruits et une plus faible résistance aux maladies. Les études ont montré que les agrumes sont sujets à un manque de magnésium, qui peut se manifester par des symptômes comme des taches jaunes sur les feuilles, une mauvaise couleur des fruits, une faible teneur en sucre et une faible résistance aux maladies (**EL-Alaoui, 2007**).

I.8.1.2 Les maladies cryptogamiques

La maladie cryptogamique est une maladie qui affecte les plantes et qui est causée par des champignons parasites. Les principales maladies cryptogamiques susceptibles d'affecter les agrumes selon **Loussert (1989)** sont :

Phytophthora est une espèce qui provoque une maladie fongique grave des agrumes, qui affecte principalement les agrumes tels que les oranges, les mandarines, les citrons et les pamplemousses. La maladie est causée par un champignon appelé *Phytophthora citrophthora* ou *Phytophthora parasitica*, qui se propage par le biais de l'eau et des sols contaminés. Les symptômes comprennent des taches brunes sur les fruits, des taches de pourriture et des taches sombres sur les feuilles (**Cook et al. 2005**).

Botrytis cinerea est une espèce de champignons pathogènes responsable des maladies fongiques des agrumes. Elle est l'agent causal de la pourriture grise des agrumes, une maladie qui affecte les fruits et les feuilles de plusieurs espèces d'agrumes. Les symptômes de la pourriture grise des agrumes comprennent des taches sombres sur les fruits, des marbrures grises sur les feuilles et des flétrissements. Les infections sévères peuvent entraîner une chute prématurée des fruits et des pertes de récolte (**Tuzel et al., 2017**).

La fusariose des agrumes est une maladie causée par le champignon *Fusarium oxysporum* f. sp. *citri*, qui affecte principalement les citronniers et les orangers. Elle se manifeste par des symptômes qui peuvent inclure l'apparition de taches jaunes, de feuilles molles et de fruits décolorés. La maladie peut entraîner des pertes importantes dans les cultures d'agrumes si elle n'est pas traitée correctement (**Araújo, 2020**).

L'anthracnose des agrumes (connu aussi sous le nom de maladie de la pourriture brune) est une maladie fongique qui affecte principalement les agrumes. Elle est causée par le champignon *Colletotrichum gloeosporioides* et se manifeste sous forme de taches brunes et noires sur les fruits et les feuilles. Les symptômes comprennent des taches brunes sur les fruits, des feuilles jaunes et des fruits pourris.

La pourriture noire des agrumes, ou Alternariose, est une maladie causée par le champignon *Alternaria citri*. La pourriture noire se manifeste par des taches noires sur les fruits et les feuilles des agrumes, entraînant une dégradation et une perte de qualité des fruits. (**Andrade et al., 2010**).

I.8.1.3 Maladies bactériennes

De nombreuses maladies bactériennes présentant des aspects très divers peuvent se développer sur agrumes :

Xanthomonas citri sous-esp. *citri* (Synonymes : *Xanthomonas campestris* pv. *citri*) est le principal agent du chancre bactérien des agrumes. Il provoque des dégâts sur de nombreuses espèces de Rutaceae. Le chancre citrique s'attaque en général aux plants, aux jeunes arbres et aux arbres adultes des hôtes sensibles, lesquels produisent des feuilles et des pousses en croissance active de la fin de l'été jusqu'à l'automne dans la plupart des zones de culture d'agrumes. La maladie est caractérisée par l'apparition de galles ou de lésions cratériformes sur l'écorce des fruits et sur les feuilles, les tiges et les jeunes pousses. Les symptômes du chancre des agrumes peuvent apparaître en toutes saisons sur les jeunes plants et de la fin de l'été jusqu'à l'automne sur les jeunes arbres (**Dye, 1978**).

Pseudomonas syringae est une bactérie du genre *Pseudomonas*, qui est un complexe comptant de plus de 60 espèces en bâtonnet forme de bâtonnets, toutes à Gram négatif et munies de flagelles polaires, capables de se multiplier et propager sur des divers milieux variés. Il peut causer une gamme de maladies, telles que la tache foliaire, le chancre des agrumes et la gommose. Les symptômes d'infection comprennent des taches brun rougeâtre sur les feuilles, des lésions enfoncées sur les fruits et une gommose de l'écorce (**Marois, et al., 1991**).

Xylella fastidiosa est une bactérie phytopathogène économiquement importante qui affecte de nombreuses espèces d'arbres ornementaux et fruitiers, y compris les agrumes. Chez les agrumes, il provoque la chlorose des agrumes, qui se caractérise par un jaunissement des feuilles, les nervures restant vertes, et pouvant entraîner une défoliation et la mort de l'arbre (**El-Osta & Hilbeck, 2018**).

I.8.1.4 Les maladies virales

Les maladies virales sont les plus graves et les plus destructrices des citrus dans le monde entier. Dans notre bassin méditerranéen, elles sont responsables de troubles qui diminuent, non seulement la productivité des arbres, mais aussi leur longévité.

Citrus leaf rugose virus (CLR) est un virus appartenant à la famille des closteroviridae, qui se trouve principalement dans les agrumes. Il sévit principalement dans les zones tropicales et subtropicales, et est à l'origine de symptômes variés, tels que la rugosité des feuilles, la chlorose et la mort des rameaux. Les principales méthodes de lutte contre ce virus sont la détection précoce, la sélection et l'utilisation de porte-greffes résistants, ainsi que des pratiques culturales telles que la taille et l'irrigation appropriées (**Teh et al., 2019**).

Citrus yellow mosaic virus (CYMV) est un virus qui affecte les agrumes et les plantes ornementales, et qui est transmis par les pucerons. Il est classé dans la famille des Potyviridae, et sa génomique est constituée d'un seul brin d'ARN monocaténaire. Les symptômes associés à l'infection par CYMV sont des mosaïques, des taches et des déformations des feuilles, et des fruits qui se développent anormalement. Dans certains cas, l'infection peut entraîner une réduction de la taille et de la qualité des fruits (**Ghanim et al., 2012**).

La tristeza des agrumes est une maladie virale qui affecte principalement les agrumes tels que les oranges, les citrons et les pamplemousses. Elle est causée par un virus (VTA). Ce virus est transmis par des insectes, tels que les pucerons. Il est également transmis par des matériels agricoles, les plants infectés et les outils et équipements de jardinage non

désinfectés. La maladie est caractérisée par des taches jaunes et brunes sur les fruits, qui peuvent provoquer une baisse de la qualité et de la quantité des récoltes. La tristezza des agrumes peut entraîner des pertes de récolte importantes, ainsi que des ralentissements de croissance chez les plantes infectées.

Virus de la panachure infectieuse des agrumes (CVV, Citrus variegation virus) est un virus qui affecte les agrumes tels que les oranges, les mandarines et les pamplemousses. Il est causé par un virus appelé Citrus variegation virus (CVV). Il se propage rapidement par les insectes et par les greffes de plantes. Les symptômes peuvent varier, mais généralement comprennent des taches ou des motifs jaunes ou blancs sur les feuilles et les fruits des agrumes.

I.8.2. Les principaux ravageurs des agrumes

Ceratitis capitata, est une mouche des fruits qui se trouve fréquemment dans les agrumes. Elle est également connue sous le nom de mouche des fruits méditerranéenne ou de mouche de la méditerranée. Elle est originaire des régions méditerranéennes et s'est répandue à travers le monde entier. Elle peut causer des dégâts importants aux fruits mûrs, notamment des piqûres, des déformations et des fissures (**Habu et al., 1994**).

Phyllocnistis citrella est une espèce de papillon de la famille des Gracillariidae qui s'attaque aux agrumes. Elle se nourrit des feuilles des agrumes, en particulier de l'orange, du citron et du pamplemousse. Elle est considérée comme une des principaux ravageurs pour la production d'agrumes dans de nombreuses régions du monde, notamment en Asie, en Afrique et en Amérique du Sud. Les larves de *Phyllocnistis citrella* sont principalement responsables des dégâts causés sur les agrumes. Elles mangent des trous dans les feuilles des agrumes et peuvent causer des dégâts considérables (**Agrios, 2005**).

Aonidiella aurantii également connue sous le nom de cochenille dorée est un insecte ravageur des agrumes. Il a été signalé pour la première fois en Australie en 1868 et est maintenant répandu dans de nombreuses régions du monde. Cet insecte se nourrit des sèves des feuilles et des fruits, ce qui provoque des taches jaunes, des taches noires et une croûte noire sur les fruits (**Pompei et al., 2009**).

Le puceron noir de l'oranger (*Toxoptera citricida*) est un insecte hémiptère de la famille des Aphididae qui se nourrit de sève des feuilles et des jeunes branches de l'oranger. Il est originaire d'Asie et s'est propagé dans le monde entier. Les adultes sont des insectes jaunes avec des taches noires sur le dos. Les pucerons noir de l'oranger sont considérés comme l'un

des principaux ravageurs des orangers et peuvent provoquer des dommages importants si leur population n'est pas contrôlée (**Johnson & Hoddle, 2004**).

Dialeurodes citri est une espèce de mouche des fruits qui se nourrit des fruits de l'oranger. Elle est originaire de Chine et a été introduite dans de nombreuses régions du monde, notamment en Amérique du Nord et du Sud, en Afrique du Nord, en Australie et en Europe. Elle se trouve également en Asie du Sud-Est, au Moyen-Orient et en Afrique de l'Est (**Zhang et al. 2009**).

Chapitre II : Alternaria des agrumes

II.1. Présentation d'Alternaria des agrumes

Le genre fongique *Alternaria* est largement et abondamment disséminé dans l'environnement (**Logrieco et al., 2003**). Il comprend de nombreuses espèces saprophytes, endophytes et pathogènes, provoquant une détérioration avant et après récolte des céréales, des fruits et des légumes. Par exemple, la tache brune d'*Alternaria* est une maladie très destructrice des mandarines et des hybrides de mandarines d'importance mondiale (**Akimitsu et al., 2003**). La maladie sévit dans les zones de production d'agrumes au climat méditerranéen, caractérisé par des hivers frais et humides et des étés chauds et arides (**Timmer et al., 2003**). Il s'attaque aux jeunes feuilles, rameaux et fruits, provoquant des lésions brunes à noires entourées d'un halo jaune. Les feuilles et les fruits gravement infectés peuvent tomber et des pousses entières peuvent flétrir et mourir. Par conséquent, dans des conditions environnementales appropriées, des pertes importantes pourraient se produire en termes de rendement et de commercialisation des fruits de cultivars sensibles (**Peever et al., 2003**).

II.2. Historique

La maladie des taches brunes a été signalée pour la première fois sur mandarine en Australie en 1903 (**Cobb, 1903**) et l'agent causal a été identifié comme une espèce d'*Alternaria* en 1959, après qu'un certain nombre d'organismes aient été étudiés comme pathogènes possibles (**Pegg, 1966**). La maladie est apparue plus tard aux États-Unis (**Whiteside, 1976**), et se produit en Turquie (**Canihos et al., 1997**), en Espagne (**Vicent et al., 2000**), au Brésil et en Argentine (**Peres et al., 2003**).

En raison de la similitude morphologique entre les agents pathogènes de la tache brune et de la pourriture noire, l'ancien a été identifié comme *A. citri* Ellis & Pierce (**Whiteside, 1976**), un champignon qui avait été décrit pour la première fois comme la cause de la pourriture noire des agrumes. Plus récemment, l'agent pathogène qui affecte les mandarines a été classé comme *A. alternata* et **Solel (1991)** a désigné l'agent causal comme *A. alternata* f.sp *citri*.

II.3. Classification et biologie

Les champignons du genre *Alternaria* appartiennent à la classe des Deuteromycètes (champignons imparfaits). Cette classe comprend tous les champignons à mycélium cloisonné, dont le mode de reproduction est généralement inconnu, mais qui ont le mode asexué par conidies. Certaines espèces d'*Alternaria* ont une reproduction sexuée et leur forme

parfaite appartient aux Loculoascomycètes (genre *Pleospora* ou *Lewia*) (**Erikson et Hawksworth, 1991**). Les *Alternaria* sont classés dans l'ordre des hyphales (Syn. Moniliales), ayant des conidiophores peu différenciés, libres, disséminés sur le substrat et à croissance sympodiale et des conidies qui se forment hors d'un concept spécial. La coloration foncée de leur mycélium et de leurs conidies les classent dans la famille des Dematiaceae (**Agrios, 2005**). Les espèces du genre *Alternaria* possèdent des conidies septées, les cellules sont multinucléées (pluricellulaires) de couleur foncée généralement piriformes ou ovotides de tailles variables selon les espèces. Elles possèdent un pigment de type mélanine qui leur servent de protection contre des conditions environnementales défavorables notamment la résistance aux microbes et enzymes hydrolytiques (**Rotem, 1994**).

II.4. Distribution dans le monde

L'agent causal est un pathotype d' *Alternaria*, qui prévaut dans les zones humides de production d'agrumes comme la Floride, le Brésil, l'Argentine, la Colombie, Cuba, le Pérou et la Chine, mais aussi dans les régions méditerranéennes avec des hivers frais et humides et des étés chauds et secs comme l'Espagne, Italie, Grèce et Turquie (**Bassimba et al., 2014**). En Italie, la maladie a été signalée pour la première fois par **Bella et al. (2001)**, et récemment par **Garganese et al. (2016)**. Des températures de 25 à 27 °C avec au moins 10 h d'humidité sont optimales pour l'infection.

II.5. Les principales alternarioses des agrumes

Les espèces d'*Alternaria* causent quatre maladies différentes des agrumes : la tache brune *Alternaria* des mandarines, la tache foliaire *Alternaria* du citron rugueux, la pourriture noire *Alternaria* de nombreux agrumes et la Mancha foliaire sur la chaux mexicaine. La tache brune d'*Alternaria* affecte de nombreuses mandarines et leurs hybrides et produit des lésions sur et l'abscission des fruits et des feuilles immatures, et des lésions liégeuses sur les fruits mûrs. La tache foliaire *Alternaria* entraîne des symptômes similaires sur les feuilles de citron rugueux et des lésions ponctuelles sur les fruits, et n'affecte que le citron rugueux et le citron vert de Rangpur.

II.6. Symptômes de l'alternarioses

II.6.1. Tache brune d'*Alternaria* des mandarines

Le pathotype mandarinier d'*A. alternata* affecte de nombreux mandariniers et hybrides (**Timmer et al., 2000a**). La maladie produit de minuscules taches brunes à noires sur les jeunes feuilles et les fruits (Figure 4). Les symptômes peuvent apparaître aussi peu que 24 h

après l'infection. Les lésions continuent généralement à s'étendre et de vastes zones de la feuille peuvent être tuées par la toxine (**Kohmoto et al ., 1993**). La chlorose et la nécrose peuvent s'étendre le long des veines lorsque la toxine est Trans loquée vers le haut. Sur les feuilles matures, la tache brune apparaît sous la forme de lésions brunes distinctes entourées d'un halo jaune. Sur les fruits, les lésions peuvent varier de minuscules taches à de grandes lésions ressemblant à des cratères.

II.6.2. Pourriture noire

La pourriture noire affecte la zone centrale de la columelle du fruit et peut affecter toutes les espèces d'agrumes (**Brown et McCornack, 1972**). Les symptômes externes ne sont pas toujours apparents et, s'ils sont présents, se traduisent par une petite tache brune à noire sur l'extrémité stellaire du fruit (**Brown et Eckert, 2000**). Les fruits affectés sont souvent plus colorés que les fruits normaux en raison de l'éthylène généré en réponse à l'infection.

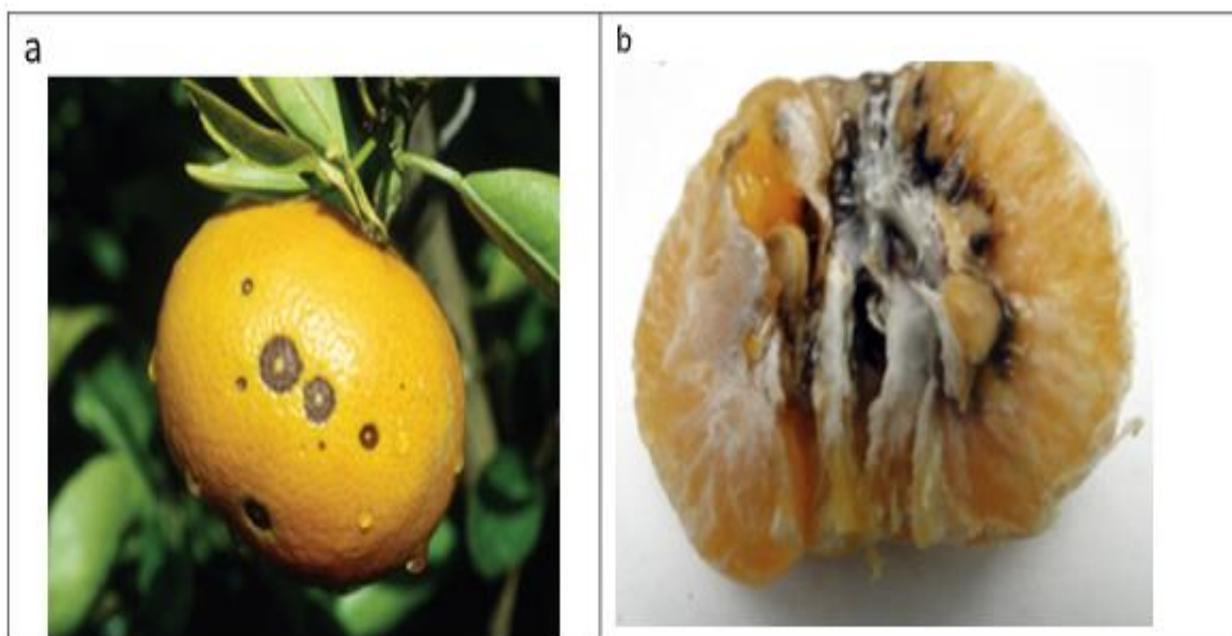


Figure 4. Symptômes typiques de la tache brune d'Alternaria sur la mandarine (**Khanchouch et al., 2017**); b : pourriture noire du cœur de mandarine (**Patriarca et Pinto, 2018**)

II.7. Cycle infectieux

Le processus infectieux mis en place par les champignons du genre Alternaria pour infecter leur plante hôte peut se diviser en plusieurs stades : la conservation, la pénétration et l'invasion, la sporulation puis la dissémination (Figure 5).

II.7.1. Source d'inoculum et conservation

L'inoculum est largement distribué dans les vergers affectés (feuilles fraîches et sèches des mauvaises herbes). En plus, **Bassimba et al. (2014)** ont déclaré que l'agent pathogène a survécu dans des feuilles symptomatiques immatures tombées sur le sol du verger pendant toute la période d'étude (63 à 76 jours). Les conidiophores émergent à travers les lésions et/ou les stomates des feuilles infectées qui restent sur l'arbre ou sont tombées sur le sol. Les conidies sont libérées lors des pluies ou des changements soudains d'humidité relative (**Timmer, 1998**). Ils sont facilement dispersés par les courants de vent et les gouttes de pluie, déposés à la surface des fruits et des feuilles sensibles.

II.7.2. Pénétration

La façon dont le champignon pénètre dans la feuille dépend de différents hôtes, des conditions environnementales et/ou des isolats du pathogène. La pénétration se produit par les stomates ou avec la formation d'appressorium. (**Akimitsu et al., 2003**).

II.7.3. Sporulation et dissémination

La sporulation commence environ 10 jours après l'apparition des symptômes. La production de spores se poursuit jusqu'à 50 jours après l'infection (**Dewdney, 2013**) et était abondante entre 20 à 40 jours (**Reis et al., 2006**). Les spores sont véhiculées par l'air et leur libération dans l'air est déclenchée par les précipitations ou par une forte variation de l'humidité relative (**Dewdney, 2013**). Les conidiophores produisent des conidies qui sont libérées et déposées à la surface des fruits et des feuilles sensibles, amorçant un nouveau cycle de maladie (**Reis et al., 2006**).

II.7.4. Période d'infection

Les infections se sont principalement propagées au printemps et en automne, certaines infections également en été (**Bassimba et al., 2014**). En plus, l'analyse de l'arbre de classification a indiqué que pratiquement toutes les infections se sont produites pendant des semaines avec des précipitations $\geq 2,5$ mm et une température moyenne $\geq 12,5$ °C.

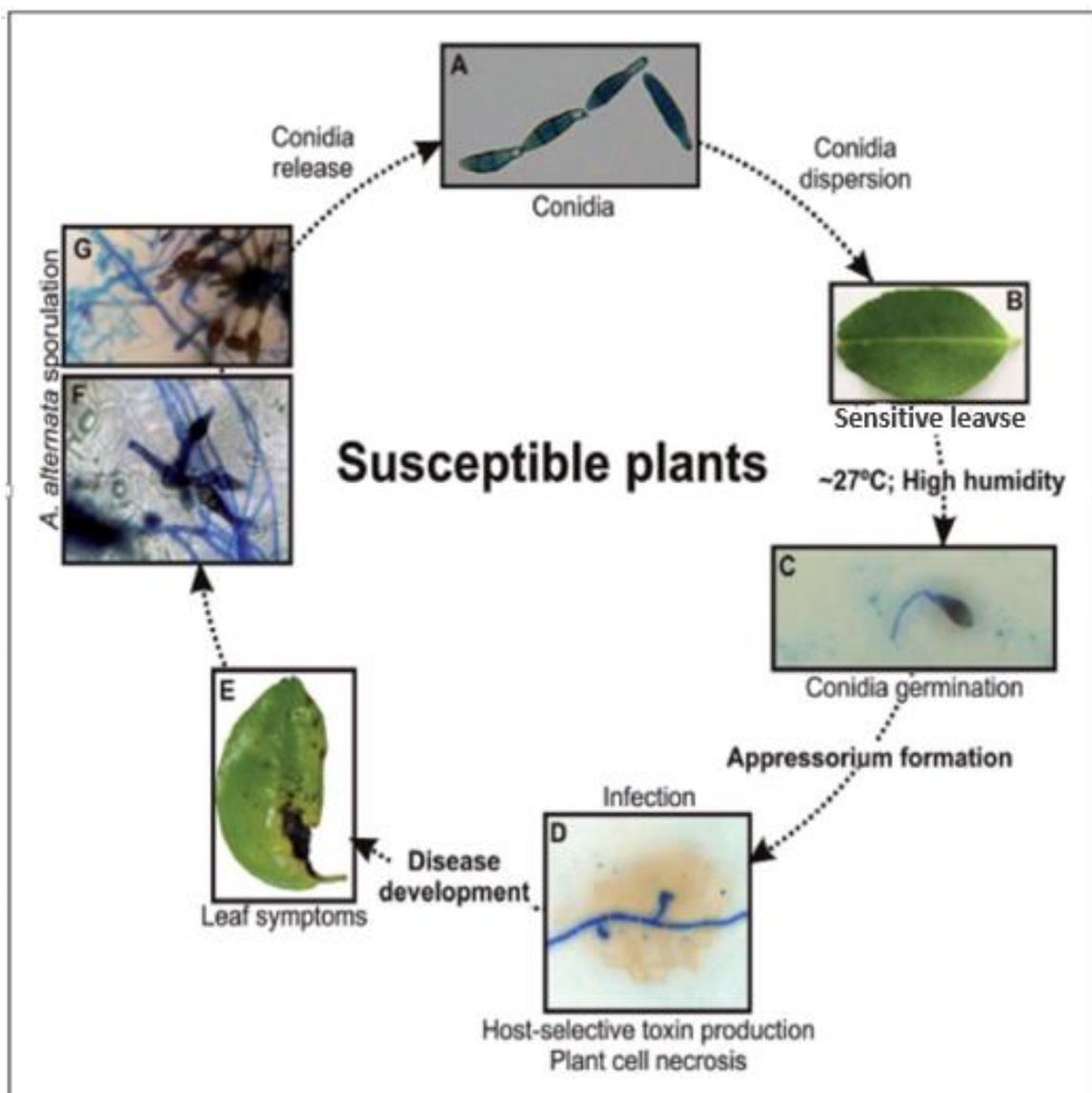


Figure 5. Cycle de la maladie de la tache brune d'*Alternaria*. (A) Conidies d'*A. Alternata*, (B) feuilles sensibles, (C) germination des conidies, (D) formation d'appressorium et production de toxines, (E) symptômes foliaires et (F-G) sporulation des champignons (Stuart et al., 2009).

II.8. Principales caractéristiques morphologiques d'*Alternaria* sp des agrumes

Les espèces d'*Alternaria* présentent des colonies plates, laineuses et de couleurs allant du brun au noir, ils ont produit des conidies brun foncé disposées en chaînes ramifiées. Les conidies apparaissent ovales-ellipsoïdales avec 3 à 5 cloisons transversales. Elles possèdent un pigment de type mélanine qui leur servent de protection contre des conditions environnementales défavorables notamment la résistance aux microbes et enzymes hydrolytiques (Rotem, 1994). Les spores sont souvent produites sur les conidiophores en chaînes qui peuvent se ramifier ou conduire à des conidiophores secondaires qui produisent d'autres spores. (Figure 6).



Figure 6. Observations microscopiques du mycélium cloisonné et des différentes conidies produites par les espèces d'*Alternaria alternata*. M : macroconidie ; m : microconidie ; cp : conidiophore ; ch : chlamydospore ; my : mycélium. (Zabouri, 2021).

II.9. Conditions environnementales pour la croissance de l'agent pathogène

II.9.1. Climat

La tache brune d'*Alternaria* est une maladie grave dans les zones humides et des cultivars souvent très sensibles ne peuvent pas être cultivés dans ces régions. Cependant, même dans les zones semi-arides, cette maladie peut être un problème important. Dans une grande partie de la région méditerranéenne, les pluies sont rares après la floraison et la nouaison. Néanmoins, les rosées prolongées fournissent apparemment suffisamment d'humidité pour permettre l'infection (Canihos et al., 1997). L'infection était plus élevée pendant les jours avec des températures de 20 à 28 °C et légèrement moins à des températures inférieures ou supérieures (Timmer et al., 2000).

II.9.2. Pratiques culturales

Les pratiques culturales peuvent être liées à l'infection par les agents pathogènes à *Alternaria*. Parmi ces pratiques culturales, l'irrigation du sol qui est un facteur majeur affectant les conditions de croissance des plantes. L'effet d'une faible humidité se traduit par un développement accru de certaines maladies alter ariennes. Un autre facteur cultural qui

affecte les conditions de croissance des plantes et a également un effet sur le développement des maladies à *Alternaria* est la fertilisation du sol.

II.9.3. La mineuse des agrumes (*Phyllocnistis citrella*)

La présence des dégâts de la mineuse aggrave la sévérité des infections par le champignon *Alternaria alternata* chez les variétés sensibles de mandarine.

II.10. Dégâts

Alternaria spp. ont la capacité de se développer dans une large gamme de températures (4°C à 36°C) et une période humide d'au moins quatre heures est nécessaire pour une infection réussie (Vloutoglou et Kalogerakis, 2000). Rotem (1994) a observé que le feuillage et les fruits sont endommagés directement par l'agent pathogène, ce qui entraîne une réduction du rendement, une réduction de la surface foliaire et un déséquilibre accru entre la demande en nutriments des fruits et l'apport en nutriments des feuilles ; la plante s'affaiblit progressivement et devient de plus en plus sensible aux infections. En ce qui concerne les spores, la production de mélanine, et la production de toxines non spécifiques et spécifiques à l'hôte dans le cas des espèces pathogènes, sont les deux principales caractéristiques d'*Alternaria* spp (Thomma, 2003). Cette toxine, isolée des lésions, provoque des nécroses et des chloroses lorsqu'elle est introduite dans les plants de tomates et endommage également les non-hôtes d'*Alternaria* (chou, radis, épinard, pois, haricot et autres) indiquant sa non-spécificité (Langsdorf et al., 1990) .

II.11. Moyens de lutte

II.11.1. Lutte chimique

La méthode chimique implique l'utilisation de pulvérisation de fongicide dans le verger ayant des plantes ou des cultures infectées. La pulvérisation de fongicide n'était pas recommandée pendant la saison des pluies. La pulvérisation de fongicide s'applique à l'intervalle de 14 à 28 jours dans le verger est un contrôle efficace de ce pathogène.

Il existe différents types de fongicides utilisés tels que : post-récolte et pré-récolte. Fongicide post-récolte généralement utilisé en pulvérisation ou en trempage sur les cultures déjà infectées. Cette méthode est employée pour les fruits et les cultures qui sont expédiés vers le marché étranger (Dickman, 1993).

Il existe divers fongicides qui sont utilisés comme fongicides de pré-récolte, par exemple le mancozèbe et le métalaxyl + mancozèbe et les produits à base de sulfate de cuivre

(ils sont couramment utilisés de la floraison à la récolte). En plus, le chlorothalonil, l'hexaconazole, la dodine et le difénoconazole étaient les plus efficaces pour inhiber *A. citri*

II.11.2. Lutte préventive

Choisir des variétés de plantes résistantes si possible et utilisez des graines cultivées dans l'Ouest qui n'ont pas été exposées à la maladie. Si ce problème fongique est commun, ne sauvegardez pas vos propres graines dans les plantations. Eviter la propagation de la maladie, gardez-vous hors des jardins lorsque les plantes sont humides et désinfecter tous les outils de jardinage (une partie d'eau de Javel pour 4 parties d'eau) après utilisation. Eviter le compostage pas les feuilles, les fruits ou les tiges infectés et nettoyez soigneusement les zones de jardin à l'automne, après la récolte, afin de réduire les sites d'hivernage des spores fongiques.

II.11.3. Lutte biologique

De nombreux contrôles biologiques et biofongicides ont été testés contre *Alternaria* sp. Sur les cultures fruitières. De nombreux organismes ont été testés, notamment des champignons tels que *Trichoderma harzianum*, ainsi que des bactéries telles que *Bacillus subtilis* et *Trichoderma album* a diminué l'incidence de la pourriture des agrumes. Tous ces bioagents ont été pulvérisés sous forme de suspensions à raison de 5 g / litre d'eau. En effet, *T. harzianum* a montré l'effet inhibiteur le plus élevé (84%) contre l'agent pathogène de la pourriture des agrumes (**Shehata et al., 2018**).

II

Partie expérimentale

Chapitre I
Matériels et Méthodes

I.1. Matériels

I.1.1. Souche fongique

Isolat d'*Alternaria* a été obtenu par l'isolement à partir des feuilles présentant des symptômes caractéristiques de la tache brune. Les symptômes ont été trouvés sur les feuilles d'oranger (*Citrus sinensis* L.) dans un verger privé. Des lésions nécrotiques brunes à noires circulaires, devenues irrégulières par la suite, étendues à des lésions sombres entourées d'un halo chlorotique ont été observées (Figure 7). Un certain nombre de feuilles présentant les symptômes de la maladie sont prélevés sur l'arbre et mises dans des sachets en papier puis transportés en laboratoire.

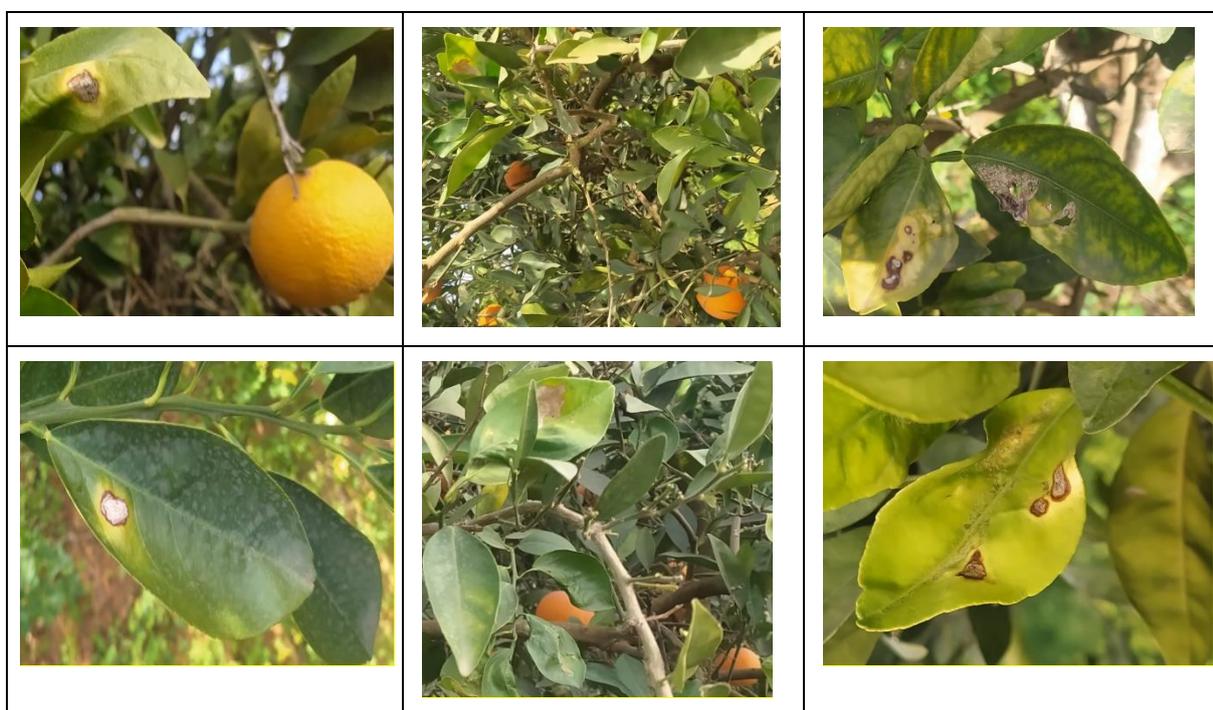


Figure 7. Symptômes de la tache brune (photo original, 2023).

I.1.2. Site d'échantillonnage

Une collection d'isolats fongiques a été établie dans un verger d'agrume (*Citrus sinensis*) dans la région de Mostaganem (35°50'18.3"N 0°19'10.4"E) dans le nord -ouest d'Algérie. Des feuilles ont été prélevées sur des arbres présentant des symptômes visibles de la tache brune. (Figure 7).

Tableau 2. Coordonnées géographiques des localités visitées.

Régions	Localités	Nombre des parcelles	Coordonnées géographiques
Mostaganem	Souafli	2	35°50'18.3"N 0°19'10.4"E

I.1.3. Isolement

Alternaria sp. a été obtenu à partir des feuilles présentant des symptômes de la tache brune. Les feuilles ont été coupées en morceaux de 2 mm au niveau des lésions dans la marge avancée entre les parties saines et malades. Ces morceaux ont ensuite été désinfectés pendant 3 min dans une solution d'hypochlorite de sodium à 1% puis lavés plusieurs fois avec de l'eau distillée stérile. Les morceaux de tissu ont été laissés séchés, ensuite placés sur des boîtes de Pétri contenant de la Potato-Dextrose Agar (PDA) et incubés à 25°C. Identification morphologique préliminaire a été utilisée pour caractériser l'espèce. L'isolat sélectionné a été conservé dans du PDA à 4°C après son utilisation.



Figure 8. Localisation du site d'échantillonnage.

I.1.4. Milieu de culture utilisé

Le choix d'un milieu de culture est basé sur son adéquation pour un bon développement du pathogène. La composition du milieu « PDA » (Potato Dextrose Agar) est la suivante : 200g de Pomme de terre, 20g de Glucose, 20g d'Agar Agar et 1000 ml de l'eau distillé.

I.1.5. Matériel végétal

L'asafoetida est utilisée comme agent aromatisant dans les aliments et comme médicament traditionnel pour de nombreuses maladies dans de nombreuses régions du monde. Asafoetida est une oléo-gomme-résine obtenue à partir des tiges de plantes *Ferula* appartenant à la famille des Ombellifères. Sur plus de 170 espèces, une soixantaine d'épices de *Ferula* sont largement distribuées en Asie centrale, notamment l'ouest de l'Afghanistan, l'Irak, la Turquie et l'est de l'Iran, l'Europe et l'Afrique du Nord. (Sahebkar & Iranshahi, 2010). *F. asafoetida* est l'une des espèces importantes de *Ferula* et est plus originaire d'Afghanistan et d'Iran que ne

pousse environ 2 m de hauteur et est en deux types amer et doux. Asafoetida est appelé Hing ou Hingu en Inde (Srinivasan, 2011).

Asafoetida est extrait des plantes *Ferula* qui ont des racines pivotantes massives ou des racines en forme de carotte, d'environ 15 cm de diamètre à la couronne lorsqu'elles ont 4 à 5 ans. Avant la floraison des plantes, la partie supérieure de la racine du rhizome vivant est mise à nu et la tige coupée près de la couronne. Un jus laiteux s'échappe de la surface coupée. Les exsudats sont grattés et une tranche fraîche de la racine coupée lorsque plus de latex exsude, parfois la résine est enlevée avec la tranche. L'asafoetida a une odeur forte, tenace et sulfureuse. (Figure 9).

En général, l'Asafoetida se compose de trois fractions principales, dont la résine (40–64%), la gomme (25%) et l'huile essentielle (10–17%). Les trois principaux constituants soufrés qui ont été identifiés comprennent le disulfure de 2-butyl-1-propényle, le disulfure de 1-(méthylthio) propyle et de 1-propényle et le disulfure de 2-butyl-3-(méthylthio)-2-propényle (Augustine et Sreeraj, 2017). Les principaux constituants de *asafoetida* sont bien caractérisés et donnés en Tableau 3.



Figure 9. *asafoetida* (Shailja et al., 2021).

Tableau 3. Constituants phytochimiques d'asafoetida. (Augustine et Sreeraj, 2017).

Principaux constituants chimiques
Coumarines et coumarines sesquiterpéniques
Ombelliprénine
5-Hydroxyombelliprénine
Tadshiférine
Acide galbanique
Conférol

Gummosine

Acétate d'épi-samarcandine

Fransiférol A, B, C

Assafétidine

Assafoétidinol A, B

Polyanthinine

Fétidine

Saradaférine

Feselol

Ligupersine A

Composés contenant du soufre

Disulfure de 2-butyl 1-propényle

2-méthyl-2-propanethiol

2,3-diméthylthiirane

1-méthylthio-(Z)-1-propène

3,4-diméthylthiophène

Disulfure de méthyle (Z)-1-propényle

Disulfure de 2-butylvinyle

Disulfure de 2-butyl 1-propényle

Disulfure de di-2-butyle

Disulfure de méthyle 1-(méthylthio) éthyle

Trisulfure de 2-butylméthyle

Foetisulfure A, C

Diterpènes

Acide 7-oxocallitristique

Picéalactone C

Acide 15-hydroxy-6-ène-déhydroabiétique

Phénoliques

Vanilline

3,4-diméthoxycinnamyl-3-(3,4-diacétoxyphényl) acrylate

Sesquiterpènes

Taraxacine

Fétidone A, B

Autres composés

Falcarinolone

L'acide oléique
β -sitostérol
Acide glucuronique
Rhamnose

I.2. Méthodes

I.2.1. Isolement et Identification de l'agent causal de la tache brune

Dans un verger d'agrumes (oranger), des feuilles symptomatiques ont été arbitrairement collectées de novembre à décembre 2022 sur des arbres dans les principales régions productrices de d'agrumes en Algérie (cas de Mostaganem). Des symptômes des échantillons de feuilles présentant des taches brunes à noir, légèrement déprimées, à des zones circulaires souvent entourées d'un halo jaune ont été collectés.

L'identification de la maladie étudiée est effectuée par deux observations : macroscopique et microscopique.

Elle est basée sur les différents symptômes morphologiques qui se manifestent sur l'organe affecté par l'agent pathogène, avec observation de la colonie développée sur le milieu de culture utilisé pour examiner l'ensemble des caractères morphologiques de champignon selon l'aspect des colonies et leurs revers. La couleur et le diamètre des colonies ont été observés/mesurés. La culture a été examinée au fil du temps pour le développement des conidiophores et des conides.

I.2.2. Détermination l'activité antifongique *asafoetida*

I.2.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

Toutes concentrations ont été choisi pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de dilution en milieu liquide (**Rotimi et al., 1988**). L'*asafoetida* a été ensuite dissoute dans des tubes stériles contenant de l'eau distillée stérile, de manière à obtenir des concentrations finales ; 0.01 ; 0.1 ; 1 ; 3 ; 5 10 et 20%. Les solutions obtenues sont agitées au vortex pendant 10 min de sorte à avoir une bonne homogénéisation.

I.2.2.2. Effet d'*asafoetida* sur la croissance mycélienne (Méthode de contact direct)

Dans les boites de Pétri, 200 μ l de chaque concentration d'*asafoetida* préalablement préparée sont distribués distinctement sur des boites gélosées puis homogénéisés dans tous les sens de sorte à couvrir toute la surface de la boite gélosée. Un disque mycélien de 5 mm de diamètre, prélevés à partir de la zone de croissance active d'une culture, est placé au centre

d'une boîte de Pétri. Les boîtes sont incubées à l'obscurité à 25°C. Chaque essai est répété quatre fois. Quotidiennement, la croissance de filaments sur chaque boîte est relevée et il est procédé, à une mesure des diamètres de différentes colonies de champignons filamenteux pour calculer le taux d'inhibition (I%) (Kordali et al., 2003). Pour cette méthode, la technique consiste à mesurer les diamètres de champignon après le temps d'incubation requis puis résoudre l'équation (1) :

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

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

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

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

Chapitre II
Résultats et discussion

II.1. Résultats

II.1.1. Caractérisation morphologique

Une caractérisation phénotypique a été réalisée pour cet agent, responsable des taches brunes.

Sous microscope, les espèces d'*Alternaria* se différencient essentiellement sur la forme de leurs conidies. Parmi les caractéristiques du genre *Alternaria*, la production de chaînes de conidies multicellulaires de couleur foncée avec des cloisons longitudinales et transversales.

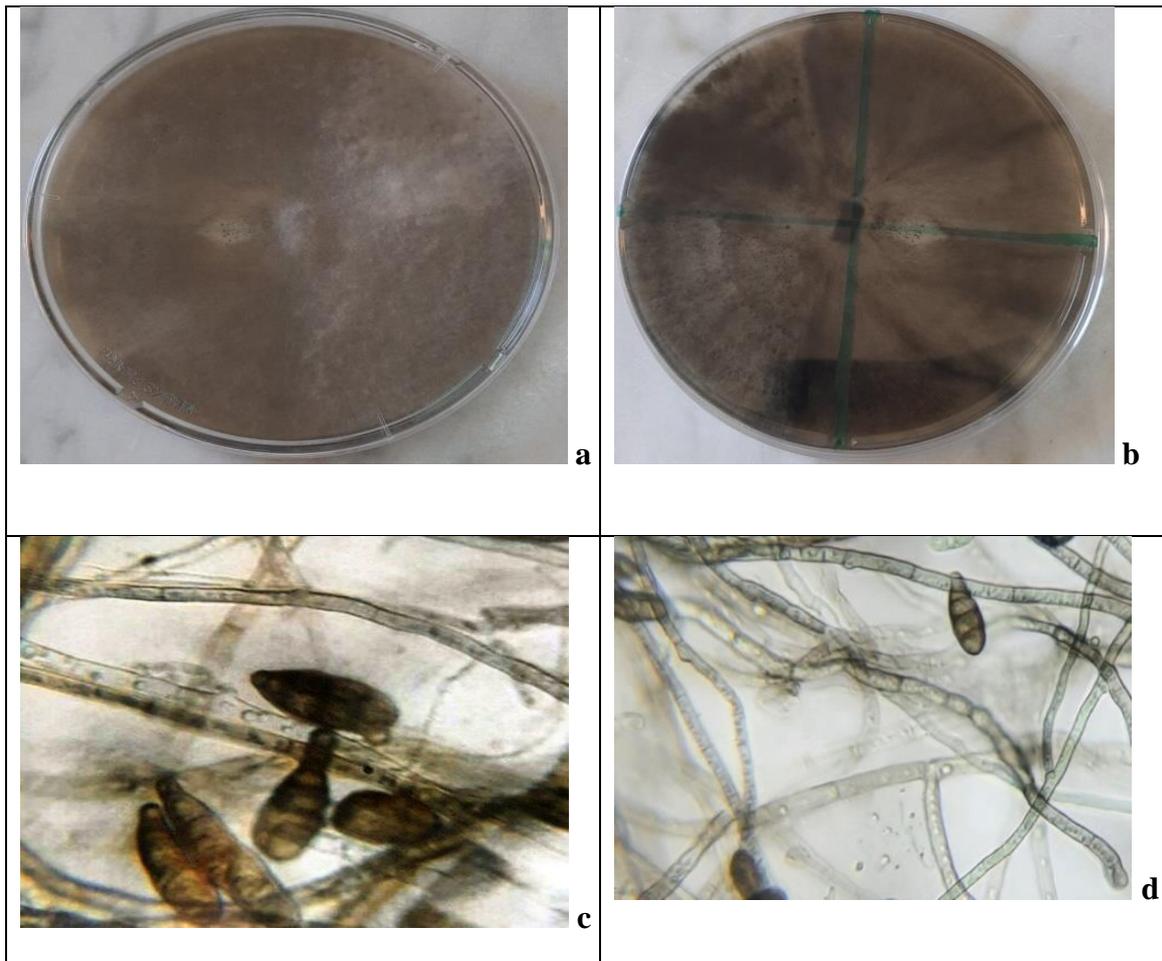


Figure 10. Aspect culturel d'*Alternaria* sp, sur PDA : (a) sommet de la culture ;(b) le fond de la culture(c) conidies (d) mycélium.

Les colonies étaient brun olive à gris noir et produisaient des conidies grises d'une taille comprise entre 4,5 μm et 14,3 μm permettant d'identifier les espèces d'*Alternaria*. Les conidies en longues chaînes variaient en plusieurs tailles avec 3–5 septa transversaux et 1–3 longitudinaux. Les conidies sont de forme ovale, divisés par des parois transversales. Les hyphes sont brun clair et cloisonnés. Lors de la croissance sur PDA (Figure 14), l'isolat

produit généralement une colonie de plus de 70 mm de diamètre après 7 jours. La forme de conidie ressemblait à celui d'*A. alternata*.

II.1.2. Effet d'asafoetida sur la croissance mycélienne d'*Alternaria*

En particulier, d'asafoetida obtenues à partir d'épices pourraient être plus efficaces pour inhiber la croissance et donc mortelles pour les micro-organismes en fonction de la concentration. *Asafoetida* est une source d'une odeur forte, tenace et sulfureuse, et une résine oléo-gomme d'importance médicinale et nutritionnelle. L'asafoetida est consommée comme épice et médecine traditionnelle depuis des siècles.

Après culture de l'isolat sur le milieu PDA pendant une semaine à 28°C, nous avons évalué ses mycéliums végétatifs et aériens. Assa-foetida a significativement réduit la croissance mycélienne d'*Alternaria*. Les valeurs de la croissance mycélienne des doses 0.01 ; 0.1 ; 1 ; 3 ; 5 et 10%, étaient 1.04 ; 1.04 ; 1.02 ; 1.02 ; 1 et 1cm par rapport au témoin (1.025cm) après 24 heures d'incubation. Figure (11) présente l'effet de *Asafoetida* sur l'inhibition de la croissance mycélienne de d'*Alternaria*.

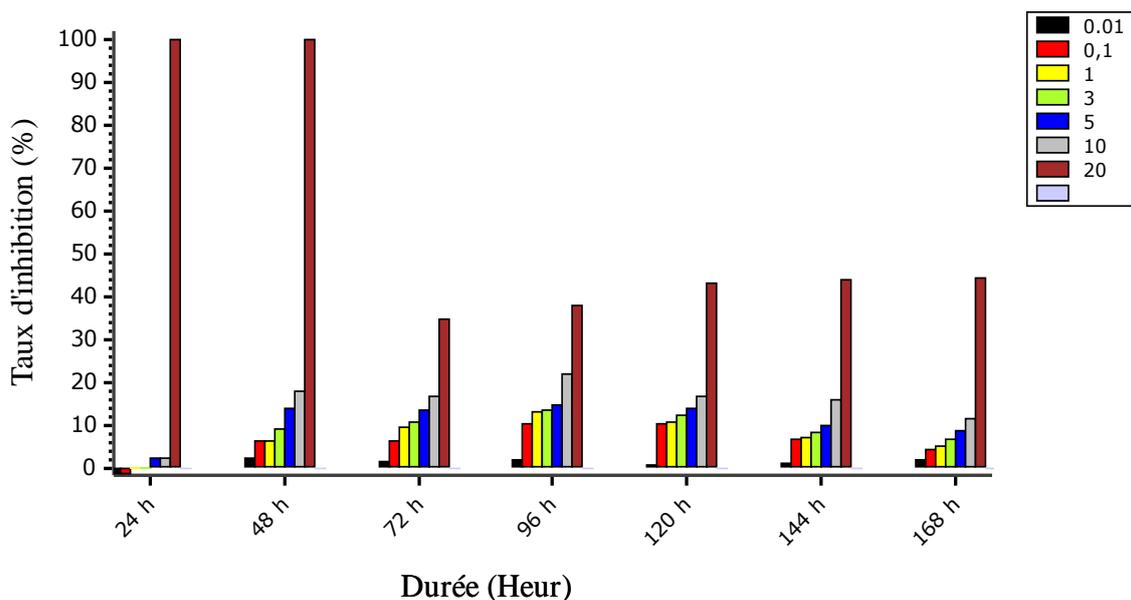


Figure 11 . Effet *in vitro* Asafoetida sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne d'*Alternaria*

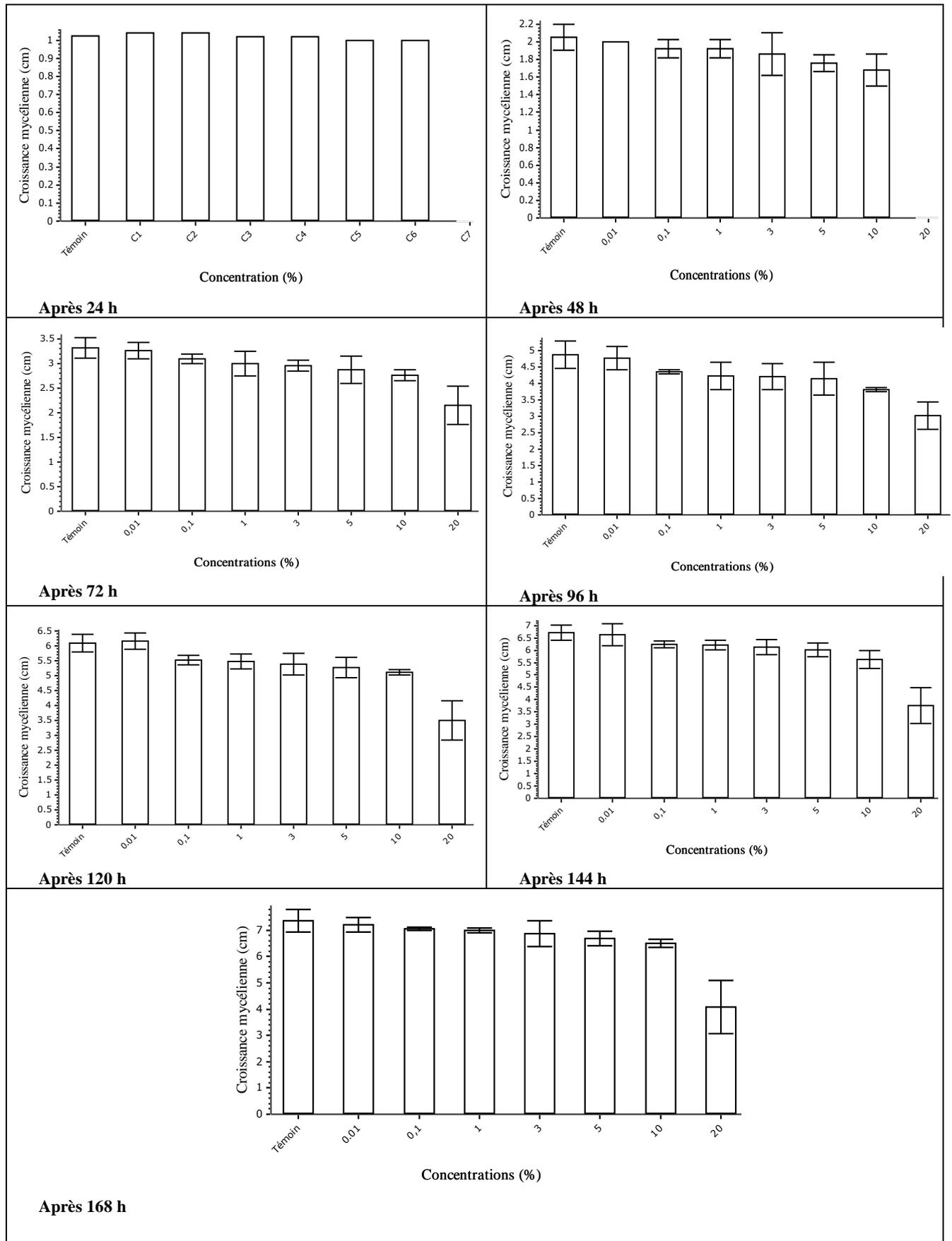


Figure 12. Effet *in vitro* *Asafoetida* sur la croissance mycélienne d'*Alternaria*.

Le taux d'inhibition de la croissance était directement proportionnel à la concentration d'Asafoetida testé dans le milieu. L'activité antifongique était liée à la concentration croissante en Asafoetida. En effet, après 24h d'incubation, le taux d'inhibition à 1% était 2.03%, atteignant 44,5% à une dose de 20%.

Dans le cas de 20% d'Asafoetida, l'inhibition de la croissance mycélienne de d'Alternaria était de 100 % (24 h) à 100 % (48 h) et de 34.94 % (72 h) à 37.98 % (96 h), à 43.18 % (120 h), à 43.88 % (144 h), à 44.55 % (168 h).

Notons que les traitements avec 0.01 et 0.1% ont entraîné des stimulations très faibles (1.46 %) après 24 h d'incubation.

Le taux d'inhibition a augmenté au fur et à mesure que la concentration en d'Asafoetida augmente. Asafoetida a montré le taux d'inhibition maximal contre d'Alternaria soit 44,5% par rapport au témoin. La concentration minimale inhibitrice de d'Asafoetida contre d'Alternaria testé était supérieur de 20%.

II.2. Discussion

Cette étude a révélé que l'isolat d'Alternaria était l'agent responsable de la tache brune des feuilles d'oranger dans les principales régions productrices d'agrumes du Nord-ouest d'Algérie (Mostaganem). À notre connaissance, c'est la première fois qu'Alternaria est signalé comme cause de taches brunes des feuilles d'orange dans cette région.

En utilisant une approche poly phasique, une combinaison des identifications macroscopiques et microscopiques a été mise en œuvre afin d'identifier précisément le genre Alternaria (Andersen et al. 2015 ; Brun et al. 2013).

Concernant les caractéristiques morphologiques, PDA a été employé conformément aux recommandations de Simmons (2007) et Pryor et Michailides (2002). Les caractéristiques macro- et microscopiques de cet isolat ont été déterminées. Ces identifications s'accordent avec d'autres rapports concernant le même hôte et des hôtes différents (Garganese et al. 2016 ; Aloi et al. 2021).

De nos jours, la méthode la plus courante de protection des plantes contre les champignons phytopathogènes est l'utilisation de fongicides chimiques. Ces produits se caractérisent par une grande efficacité, cependant, les préoccupations concernant la sécurité et la santé des aliments conduisent à rechercher des méthodes alternatives de lutte contre les phytopathogènes (Van Lenteren, 2012). Afin de limiter les effets négatifs de l'utilisation

d'agents phytosanitaires non biologiques, des études sont menées pour développer des technologies de culture respectueuses de l'environnement basées sur l'utilisation de microorganismes du sol ou de leurs métabolites et de produits naturels (extraits de plantes) conformément à l'hypothèse de la lutte intégrée contre les ravageurs (IPM) et de l'agriculture biologique (**Ropek et al., 2014 ; Rahman et al., 2018**).

Les traitements par *Asa-foetida* a montré une activité antifongique contre d'*Alternaria* dans le test *in vitro*

La présente étude a démontré également que l'*Asa-foetida* présente un taux d'inhibition moyen sur la croissance mycélienne d'*Alternaria*. Ces résultats suggèrent que l'*Asa-foetida* peut être un outil prometteur pour lutter contre les champignons de l'*Alternaria*, et pourrait être utilisée en complément des méthodes actuelles de lutte contre les maladies fongiques.

L'*Asa-foetida* est une épice et un médicament à base de plantes utilisé pour traiter divers champignons et bactéries. Les huiles volatiles de deux variétés d'*Asa-foetida*, isolées par hydro-distillation ont été étudiées pour leurs propriétés antimicrobiennes contre divers organismes bactériens et fongiques d'origine alimentaire. (**Kavoosi & Rowshan, 2013**).

La propriété antifongique d'*Asa-foetida* a été étudiée contre divers champignons tels que *A. flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *Fusarium moniliforme* et *P. chrysogenum*, selon **Singh, et al (2004)**.

L'activité antibactérienne d'*Asa-foetida* contre Gram positif (*Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Vibrio cholerae*) et des bactéries Gram négatives (*E. coli*, *S. typhi*, *Shigella flexneri*) ont été signalées (**Mujeeb et al., 2008**).

L'*Asa-foetida* rapporte contenir des composés comme le disulfure de *sec*-butyle de propényle, le limonène et le β -pinène comme composés principaux. Les huiles essentielles obtenues à partir d'*Assa-foetida* ; *Ferula fukanensis*, *Ferula latisecta*, *Ferula persica* et *Ferula sinkiangensis* contiennent également de nombreux autres composés soufrés (**Iranshahi et al., 2003**).

Les composés terpénoïdes tels que le limonène se sont également avérés très actifs contre un large spectre de micro-organismes ; sa CMI contre diverses bactéries était dans la plage de dilution de 200 à 3000 fois (**Aggarwal et al., 2002**). De même, l'activité d'*Assa-foetida* contre *A. ochraceus* et *Penicillium* sp. pourrait s'expliquer par la présence des

isomères (E) et (Z) du disulfure de 1-propényle sec -butyle comme composés majeurs qui ont été signalés comme des composants antifongiques efficaces (**Khajeh et al., 2005**)

Conclusion

Conclusion

Un isolat d'*Alternaria* a été déterminé comme étant à l'origine de la tache brune des feuilles d'oranger, dans les une région productrice d'agrumes du Nord-ouest d'Algérie. Ses caractéristiques macro et microscopiques ont été identifiées. Les résultats présentés mettent en évidence la présence du genre *Alternaria* en tant qu'agent pathogène des agrumes dans le nord-ouest d'Algérie avec une certaine répartition géographique.

La colonie sur PDA était brun olive à gris noir et produisaient des conidies grises de forme ovale, divisés par des parois transversales et d'une taille comprise entre 4,5 μm et 14,3 μm . Les conidies en longues chaînes variaient en plusieurs tailles avec 3–5 sept a transversaux et 1–3 longitudinaux. Les hyphes sont brun clair et cloisonnés. Après sept jours de croissance sur PDA, l'isolat génère habituellement une colonie dont le diamètre est supérieur à 70 mm, La présente étude a montré également que l'*Asa-foetida* présente une forte concentration minimale inhibitrice sur la croissance mycélienne d'*Alternaria* $\geq 20\%$.

Même si l'*Asa-foetida* a une très bonne signification antimicrobienne, des études détaillées sont également très nécessaires. De cet effet, et comme perspectives on propose de :

Tester l'efficacité l'*Asa-foetida* contre cet agent pathogène *in vivo*.

Déterminer les doses minimales inhibitrices qui sont nécessaires pour inhiber la croissance mycélienne, sporulation et germination des spores.

Déterminer les doses minimales inhibitrices par utilisation des autres méthodes telles que le test de diffusion en disque.

Évaluer les effets de l'*Asa-foetida* sur d'autres agents pathogènes.

Identifier les composés actifs responsables des effets biologiques de l'*Asa-foetida*.

Étudier la sécurité et la toxicité de l'*Asa-foetida* sur les cellules microbiennes, les animaux et les humains.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Aggarwal, K., Khanuja, SP., Ateeque, S., Ahma, TR., Santha K., Gupta, SK. 2002. Antimicrobial activity profiles of the two enantiomers of limonene and carvone isolated from the oils of *Mentha spicata* and *Anethum sowa*. *Flavour and Fragrance Journal*. 17(1) : 59-63.
- Agrios, GN. 2005. *Plant pathology*. 5ème édition, London. 922: 455.
- Akimitsu, K., Peever, TL., Timmer, L. W. 2003. Molecular, ecological and evolutionary approaches to understanding *Alternaria* diseases of citrus. *Molecular Plant Pathology*, 4: 435-446.
- Allain, F., Charpentier, S., & Ageron, E. 2020. Agrumes: variétés, composition et bienfaits. Sélection du Reader's Digest.
- Aloi, F., Riolo, M., Sanzani, SM., Mincuzzi, A., Ippolito, A., Siciliano, I., Pane, A., Gullino, ML., Cacciola, SO. 2021. Caractérisation des espèces d'*Alternaria* associées à la pourriture du cœur des fruits de la grenade. *J Champignons*. 7(3) :172.
- Amarowicz, R., Ronald, B., Pegg, Gary, A., Dykes, Agnieszka T., and Fereidoon S.2008. Antioxidant and Antibacterial Properties of Extracts of Green Tea Polyphenols. *Phenolic Compounds in Foods and Natural Health Products*. Chapter 9pp 94-106.
- Andersen, B., Nielsen, K F., Pinto, VF. & Patriarca, A. 2015. Characterization of *Alternaria* strains from Argentinean blueberry, tomato, walnut and wheat. *International Journal Food Microbiol*. 196 : 1–10.
- Andrade, LAA., & Peres, NA. 2010. Alternariose des agrumes: Aspects épidémiologiques et méthodes de lutte.
- Araújo, AC. 2020. La fusariose des agrumes. *Revue Plant Pathology*, 69(3), 486-503.
- Augustine, A., Sreeraj, G.2017. Biological activities and medicinal properties of *Asafoetida* : A review. *J Tradit Complement Med*. 7(3) : 347–359.
- Bassimba, DDM., Mira, JL., Vicent, A. 2014. Inoculum sources, infection periods, and effects of environmental factors on *Alternaria* brown spot of mandarin in mediterranean climate conditions. *Plant Disease*. 98: 409-417.
- Bella, G., Marzachi, C., Pazzaglia, M., Gullino, ML. 2001. Fungal Pathogenicity and Toxigenicity of *Alternaria alternata*. *Annals of Applied Biology*, 138(2): 183-194. doi:10.1111/j.1744-7348.2001.tb00123.x
- Benedicte, A & Bache, M. 2002. Agrume. Ed. UgenUlmer. Paris. n° 132. 96 p.
- Bénédicte, B et Baches.2011. Agrumes - Comment les choisir et les cultiver facilement. Edition Eugen Ulmer. Code dewey : 634.304.127 pages.
- Brown, A. 2018. *Citrus: A History*. University of Chicago Press.
- Abou-Gharbia, M., & Al-Hamdani, A. (2012). Nutrition et fertilisation des agrumes. *Les Fertilisants et leur Utilisation*, 3e éd., 127-150.
- Brown, GE et McCornack, AA.1972 .Décomposition causée par *Alternaria citri* . Agrumes de Floride . Usine Dis. Rép. 56 , 909 – 912 .
- Brun, S., Madrid, H., Gerrits VDE., Andersen, B., Marinach-Patrice, C., Mazier D., Sybren, G D H. 2013. Multilocus phylogeny and MALDI-TOF analysis of the plant pathogenic species *Alternaria dauci* and relatives. *Fungal Biol*. 117 (1) : 32–40.

- Camille, B. 2009. Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en poly phénols chez la tomate ; These de Doctorat de l'INPL ; Mention Sciences Agronomiques ; UMR 1121 Nancy Université – INRA, Agronomie et Environnement; pp 227.
- Canihos, Y., Erkilic, A., Timmer, LW. 1997. First Report of *Alternaria* Brown Spot of Minneola Tangelo in Turkey. *Plant Disease*, 81:1214-1214.
- Chegrani-Conan, C. 2009. Les agrumes : citron, orange, pamplemousse... Anagramme.,Paris: Anagramme.
- Cobb, NA. 1903. Letters on the diseases of plants – *Alternaria* of the citrus tribe. *Agricultural Gazette N.S.W.* 14 : 955–986.
- Cook, A. et al. 2005. *Phytophthora* spp. comme agents de maladies des agrumes. *Revue annuelle des pathologistes des plantes*, 54 (1), 323-332.
- De Bellis, P., et al. 2017. Les carences minérales chez les arbres forestiers : Manganèse et zinc. *TechnoFeuillus*.
- Dewdney, MM. 2013. *Alternaria* Brown Spot. Pages 89-91 in: Florida Citrus Pest Management Guide. Univ. Fla. Inst. Food Agric. Sci. Gainesville.
- Dickman, MB. 1993. *Colletotrichum gloeosporioides*. In: Wayne Nishijima's Papaya Compendium. Department of Plant Pathology. CTAHR. University of Hawai'i at Hilo. http://www.extento.hawaii.edu/Kbase/crop/Type/c_gloeo.htm (accessed February 28, 2014).
- Dye, D.W. 1978. Genus IX. *Xanthomonas* Dowson 1939. In: Young, J. M., Dye, D. W., Bradbury, J.F., Panagopoulos, C. G., & Robbs, C. F. A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 21(1): 153-177.
- ELAlaoui Ali C, 2007. Fertilisation minérale des cultures », Bulletin 156 Transfert de la Technologie en Agriculture.
- El-Osta, FM., & Hilbeck, A. 2018. Citrus Variegated Chlorosis Caused by *Xylella fastidiosa*: Current Knowledge and Control Strategies. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1434.
- Erikson, OE., Hawksworth, DJ. 1991. Outline of the ascomycetes. *Syst. Ascomycota*. 9: 39- 271.
- FAOSTAT .2010. Food and Agriculture Organization of the United Nations. In: <http://faostat.fao.org/> (ed). <http://faostat.fao.org/>
- Farooq, M., Siddique, M., Ateeq –Ur-Rehman, Golly, M. K., Zib, B., Khan, I., Khan, S., Khan, I., Bakhtiar, M., & Ilyas, N. 2018. Effectiveness of systemic and contact fungicides against *Alternaria citri* the causal organism of citrus brown spot disease in citrus mangroves of Pakistan. *Journal of Agricultural Science and Practice*, 3: 38-45.
- Garganese, F., Schena, L., Siciliano I., Prigigallo, MI., Spadaro, D., De Grassi, A., Ippolito, A., Sanzani, SM .2016. Caractérisation des espèces d'*Alternaria* associées aux agrumes dans les zones méditerranéennes. *PLoS ONE*. 11(9) : e0163255.
- Ghanim, M., et al. 2012. Caractérisation de la réponse immunitaire de l'huile d'olive *Vitis vinifera* L. contre Citrus yellow mosaic virus». *Annales des sciences phytopathologiques*, vol. 38, n ° 2, pp. 119–128.

- González, L., Tullo, C. 2019. Guía técnica cultivo de cítricos. Proyecto Paquetes Tecnológicos-PPT. Recuperado de. https://www.jica.go.jp/paraguay/espanol/office/others/c8h0vm0000ad5gke-att/gt_03.pdf.html
- Habu, A., J. Kawamoto, et al. 1994. «Le *Ceratitis capitata* (Diptera : Tephritidae) : sa présence en Asie et en Afrique et sa prédation des agrumes.» *International Journal of Pest Management* 40 (4): 269-281.
- Hippler, FWR., Petená, G., Boaretto, RM. et al. .2018. Mechanisms of copper stress alleviation in Citrus trees after metal uptake by leaves or roots. *Environ Sci Pollut Res* 25, 13134–13146.
- Hussain, SZ., Naseer, B., Qadri, T., Fatima, T., Bhat, TA. 2021. Citrus Fruits—Morphology, Taxonomy, Composition and Health Benefits. In: *Fruits Grown in Highland Regions of the Himalayas*. Springer, Cham.
- Imbert, E. 2005. Les agrumes de méditerranée. Un sur deux! *Fruitrop* 122:4-6.
- Imbert, E. 2007. Panorama statistique petits agrumes. *Fruitrop* 150:28-29.
- Iranshahi, MG., AMIN, M., AMINI, A., Shafiee. 2003. Dérivés soufrés de *Ferula persica* var. *latisecte*. *PHYTOCHIMIE*. 63 : 965 – 966.
- Jacquemond, C., Curk, F. and Heuzet, M. 2013. Les clémentiniers et autres petits agrumes Quae., Versailles: Quae.
- Johnson, MW., & Hoddle, M. 2004. *Toxoptera citricida* (Homoptera: Aphididae): Biology, Ecology and Management. *Annual Review of Entomology*, 49(1), 455–487. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.49.061802.123413>
- Kamiri, M. 2011. Biologie de la reproduction des hybrides somatiques tétraploïdes d'agrumes ; implication sur la structure génétique des populations d'hybrides générées dans les croisements diploïdes x tétraploïdes. Thèse université de corse-pascal paoli.
- Kavoosi, G., Rowshan, V. 2013. Activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'huile essentielle obtenue à partir de *Ferula asafoetida* oleo-gum-resin : effet du temps de collecte. . *Composition chimique. Chimie alimentaire*. 138 : 2180–2187.
- Khajeh, M., Yamini Y., Bahraifar, N., Sefidkon, F., Pirmoradei, M. 2005. Comparaison des compositions d'huiles essentielles de *Ferula Assa-foetida* obtenues par extraction au dioxyde de carbone supercritique et méthodes d'hydrodistillation. *Chimie alimentaire*. 91: 639 – 644.
- Khanchouch, K., Pane, A., Chriki, A., Cacciola, SO. 2017. Major and Emerging Fungal Diseases of Citrus in the Mediterranean Region. In H. Gill & H. Garg (Éds.), *Citrus Pathology*. InTech.
- Kohmoto, K. , Itoh, Y. , Shimomura, N. , Kondoh, Y. , Otani, H. , Kodama, M. , Nishimura, S. et Nakatsuka, S. 1993. Isolement et activités biologiques de deux hôtes des toxines spécifiques du pathotype mandarine d' *Alternaria alternata* . *Phytopathologie*, 83 , 495 – 502 .
- Kordali, S., Cakmakci, R., and Vural, S. 2003. Inhibition of *Aspergillus niger* by some plant essential oils and their components. *Mycopathologia*. 156 (2) : 119-124.
- Langsdorf, G., N. Furuichi, N. Doke and S. Nishimura. 1990. Investigations on *Alternaria solani* infections: detection of alternaric acid and a susceptibility inducing factor in the spore-germination fluid of *A.solani*. *Journal of Phytopathology*, 128: 271-282.
- Logrieco A, Bottalico A, Mulè G, Moretti A, Perrone G. 2003.Épidémiologie des champignons toxigènes et de leurs mycotoxines associées pour certaines cultures méditerranéennes . *Journal européen de pathologie végétale*; 109 :645–667.
- Loussert,R. 1989. Les agrumes production ED. sci. univ. vol 2.liban.

- Luro, F., Froelicher, Y., Costantino, G., Dambier, D., Lotfy, S., Risterucci, A. M., & Ollitrault, P. 2003. In : Ollitrault, P., Vernière, C., Froelicher, Y., Cao, VP., Pivot, N., Agostini, D., Curk, F., Luro, F., Jacquemond, C. Séminaire sur l'amélioration de la qualité des agrumes . Montpellier : CIRAD-FLHOR, 4 p..
- Marois, JJ., Hagedorn, HM., Subbarao, KS, and. Lacy, PG. 1991. Citrus canker caused by *Pseudomonas syringae* pv. *acaciae*. *Plant Disease* 75: 741-743.
- Mujeeb, UR, Gul, S., Odhano, EA. 2008. Activités antimicrobiennes de l'huile de *Ferula asrafoetida* contre les bactéries Gram positives et Gram négatives. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*. 4 (2) : 203 – 206.
- Patriarca, A., & Fernández Pinto, V. 2018. *Alternaria*. In Reference Module in Food Science, Elsevier.
- Peever, TL., Ibanez, A., Akimitsu, K., & Timmer, LW. 2002. Worldwide phylogeography of the citrus brown spot pathogen, *Alternaria alternata*. *Phytopathology*. 92(7): 794-802.
- Pegg, KG. 1966. Studies of a strain of *Alternaria citri* Pierce, the causal organism of brown spot of Emperor mandarin. *Queensl. J. Agric. Anim. Sci.* 23 : 15–28.
- Peres, NAR., Agostini, JP., Timmer, LW. 2003. Outbreaks of *Alternaria* Brown Spot of Citrus in Brazil and Argentina. *Plant Disease*, 87: 750-750.
- Pompei, S. et al. 2009. *Aonidiella aurantii* (Homoptera: Diaspididae) : une espèce ravageuse des agrumes», *Annales de la Société entomologique de France*, 45 (2), pp. 163–169.
- Praloran, JC. 1971. Les agrumes, techniques agricoles et productions tropicales. Ed.Maisonneuve et Larose. Paris. 561.
- Pryor BM. 2002. Michailides TJ. Morphological. pathogenic and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of pistachio. *PHYTOPATOLOGY*. 92 : 406–416.
- Rahman, Ab., Singh, SFS., Pieterse, E., Schenk, CMP. 2018. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Science*. 267:102-111.
- Reis, RF., de Goes, A., Mondal, SN., Shilts, T., Brentu, FC., Timmer, LW. 2006. Effect of Lesion ge, Humidity, and Fungicide Application on Sporulation of *Alternaria alternata*, the Cause of Brown Spot of Tangerine. *Plant Disease*, 90: 1051-1054.
- Ropek, D., Krysa, A., Rola, A., Frączek, K. 2014. Effet antagoniste de *Trichoderma viride* sur les champignons entomopathogènes *Beauveria bassiana* , *Isaria fumosorosea* et *Metarhizium anisopliae* *in vitro*. *Pol. J.Agron.* 16 : 57–63.
- Rotem, J. 1994. The genus *Alternaria*: biology, epidemiology, and pathogenicity. *American Phytopathological Society*. 326p.
- Rotimi, VO., Okeke, IN., Okoh, AI., Oyewole, OE., & Nwauzoma, AB. 1988. Minimum inhibitory concentration of some antibiotics for clinical isolates of *Salmonella typhimurium* in Nigeria. *Journal of clinical microbiology*. 26(11) : 2239-2241.
- Sahebkar, A., Iranshahi, M. 2010. Activités biologiques des huiles essentielles du genre *Ferula* (Apiaceae) .*Asian Biomed.* 4 :835–847.
- Shailja , C., Bhawna, W., Gitika, C.2021. *Ferula asafetida* (Hing) : A Review Based Upon its Ayurvedic and Pharmacological Properties. *International journal of Pharmaceutical Sciences, research and review*. 68(2). No. 06. Pages : 31-39.
- Shehata, SF., Mohammed, AK., Mosa, AAA., Ali, MK.2018. Evaluation of some fungicides and biocontrol agents for controlling of *Alternaria* rot on citrus fruits. *Arab Univ. J. Agric. Sci.*, 26(2). 691 – 699.
- Simmons, EG. 2007. *Alternaria: an Identification Manual*. Samson R, editor. Netherlands. (CBS Biodiversity serie 6).

- Singh, G., Maurya, S., Catalan, C. 2004. Études chimiques, antifongiques et antioxydantes de l'huile d'ajwain et de son extrait d'acétone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 : 3292 – 3296.
- Solel, Z. 1991. *Alternaria* brown spot on *Minneola tangelos* in Israel. *Plant Pathology*. 40: 145-147.
- Srinivasan, K. 2011. Épices pour le goût et la saveur : nutraceutiques pour la santé humaine. Dans : De AK, éditeur. Épices : L'élixir de vie. publications originales ; New Delhi. 43–62.
- Story, G., Ponzio, R., Fiseha, G. et Maas, G. 2006. L'origine des agrumes. *Fruits*, 61(5), pp. 373-377.
- Stuart, RM., Bastianel, M., de Azevedo, FA., Machado, M A. 2009. *Alternaria* brown spot. *Citrus. ARANJA, Cordeirópolis*, v.30, n.1-2, p.29-44.
- Teh, S. et al. 2019. Citrus Leaf Rugose Virus : An Update. *Frontiers in Plant Science*, 10.
- Thomma, BP. 2003. *Alternaria* spp. From general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology*, 4: 225-236.
- Timmer LW, Peever TL, Solel ZVI, Akimitsu K. 2003. *Alternaria* maladies des nouveaux pathosystèmes d'agrumes . *Phytopathologia Mediterranea* .42 : 99–112.
- Timmer, LW , Solel, Z. et Orozco-Santos, M. 2000a. *Alternaria* brown spot of mandarins . Dans : *Compendium of Citrus Diseases* (LW Timmer , SM Garnsey et JH Graham , eds), pp. 19 – 21 . St. Paul, MN : APS Press.
- Timmer, LW. 1998. Diseases of fruit and foliage. Pages 107-115 in: *Citrus Health Management*. L. W.
- Tuzel, B., Demirci, B., Aksoy, U., & Sari, N. 2017. Citrus fruits: A review of their health benefits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(9), 2041-2057. doi:10.1080/10408398.2015.1060388
- Van Lenteren, JC. 2012. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl*. 57(1): 1-20.
- Vicent, A., Armengol, J., Sales, R., García-Jiménez, J., AlfaroLassala, F. 2000. First Report of *Alternaria* Brown Spot of Citrus in Spain. *Plant Disease*. 84 : 1044-1044.
- Virbel-Alonso C. 2011. Citron et autres agrumes. Ed. Groupe Eyrolles, 15 p.
- Vloutoglou, I et Kalogerakis, SN. 2000. Effects of inoculum concentration, wetness duration and plant age on development of early blight (*Alternaria solani*) and on shedding of leaves in tomato plants. *Plant pathology*.49;3. 339- 345.
- Whiteside, JD. 1976. A newly recorded *Alternaria* – induced brown spot disease on *Dancy tangerines* in Florida. *Plant Disease Reporter*. 60 : 326-329.
- Wilson, L., & Moore, G. 2005. Root system architecture of citrus trees. *HortScience*, 40(6), pp.1609-1614.
- Yin, Y., Hu, Y., Puchkov, M., Shih, CM. et Li, R. 2014. Diversification génétique et phylogéographique des agrumes et de leurs hybrides. *Philosophie de la génétique des plantes*, 21(5), pp. 1405-1419.
- Zabouri, Y., Cheriguene, A., Chougrani, F., Merzouk, Y., Marchetta, A., Urzì, C., De Leo, F. 2021. Antifungal activity of lactic acid bacteria against phytopathogenic *Alternaria alternata* species and their molecular characterization. *Journal of Food & Nutrition Research* . 60;1. 18-28.
- Zhang, Y. et al. 2009. Biological control of the Asian citrus psyllid, *Dialeurodes citri* (Homoptera: Psyllidae), by the parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) ». *Biological Control*, vol. 50, n° 3, p. 228-234.