

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<sup>elle</sup> YAMANI Marwa Feriel

M<sup>elle</sup> YAMANI Asmaa

M<sup>elle</sup> SLIMI Fatna

***Thème***

*Évaluation in vitro de l'activité antifongique d'huile essentielle  
d'Orange, CaCl<sub>2</sub>, CaOH<sub>2</sub> et CaCO<sub>3</sub> contre un isolat d'Alternaria  
des agrumes*

Soutenu publiquement le 18/06/2023

Devant le Jury

Présidente

Pr. LABDALI. F

Université de Tiaret

Examineur

Dr. BOUFARES. K

Université de Tiaret

Promoteur

Pr. BOUMAAZA B

Université de Tiaret

Année universitaire 2022-2023

## ***Remerciements***

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

À notre encadrant, Pr. Boumaaza B, merci d'être toujours à l'écoute, très disponible tout au long de la réalisation de ce travail, ainsi que pour l'inspiration, son aide précieuse, ses efforts, sa patience et sa gentillesse. Tes recommandations et tes conseils m'ont été précieux. Merci.

Nos vifs remerciements vont aux membres du jury ; M<sup>eme</sup> Labdelli F et Dr Boufares K pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous tenons également à remercier Mr Boubkeur azize M<sup>ed</sup> pour son aide pendant notre période du travail.

Nous remercions également tous nos enseignants de la faculté SNV de l'Université de Tiaret.

Enfin, nous également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## *Dédicace*

Je dédie cet humble et modeste travail avec grand amour et fierté et tout ça a l'aide de dieu Hamdoullah.

Merci à mes parents

A l'homme de ma vie, mon chère père tu as toujours été à mes côtés, me retenir et m'encourager, que ce travail traduit ma gratitude et mon affection. Que dieu le protège, j'espère que serai toujours à la hauteur de ses espérances.

A ma très chère mère quoi que je fasse ou que je dise, je ne serai point te remercier comme il se doit, ton affection me couvre, ta bienveillance, me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon adorable sœur Hidayet, je te souhaite que le bonheur et la réussite dans ta vie qui soit toujours comment procurer la joie pour toute la famille.

Et à ma famille et toutes personnes que j'aime, a tous mes professeurs sans oublier mes collègues Fana et Asma la plus douce pour son entente et sa sympathie.

**MARWA**

## **Dédicace**

A l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a donné la force et la patience pour pouvoir réaliser ce travail.

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance... Aussi, c'est tout simplement que, je dédie cette mémoire...

-A mon très cher père : tu es pour moi l'exemple de la réussite et du grand cœur. Puisse ce mémoire symboliser le fruit de tes longues années de sacrifices consentis pour mes études et mon éducation. Puisse Dieu, le tout puissant, te protéger et t'accorder meilleure santé.

-A ma très chère mère décédée.

-A mes très chères sœurs : Karima, Khadra, Sara, spéciale Widad, Fayrouz et Malika.

-A mes très chères amies : Hayet, Marwa.

-A mes binômes : Marwa et Asmaa

J'implore Dieu qu'il vous apporte bonheur.

***FATNA***

## **Dédicace**

Ce qui ne remercie pas les gens ne remercie pas Dieu.

Avec l'aide et facilitation de Dieu, nous avons atteint un rêve tant attendu

Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents, qui peuvent être fière et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privation pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse dieu faire en sorte que ce travail porte ses fruits.

Mes chers frères Belkassem, Ahmed, Mohamed et Fares

Toute ma famille

Mes binômes Marwa et Fatna qui, j'ai appris beaucoup de choses.

Mon amie proche Bouchra et à tous ceux qui ont contribué de près ou loin pour que.

***ASMAA***

## Résumé

Un isolat de l'*Alternaria* a été identifié comme agent responsable de la tache brune à partir des feuilles d'orange prélevées dans une région du nord-ouest de l'Algérie où l'oranger est également très populaire. Des tests macro et microscopique ont été effectués pour confirmer l'identification. L'activité antifongique d'huile essentielle d'orange (*Citrus sinensis*) et trois sels ont été réalisés *in vitro* sur l'*Alternaria*, agent responsable de la tache brune d'oranger par la méthode de contact direct et de macro dilution en milieu liquide. Les résultats obtenus ont montré que l'isolat était bien une genres *d'Alternaria*. Les résultats ont montré que l'huile essentielle d'orange a également des niveaux faibles d'activité antifongique. En effet, la plus faible concentration d'HE à laquelle 50 % l'inhibition de la croissance mycélienne était supérieure de 10%. Il a également remarqué que les  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaOH}_2$  et  $\text{CaCO}_3$  réduisent la croissance mycélienne *in vitro* ; le taux d'inhibition variait entre 8 et 25 % par rapport au témoin.

**Mots clés :** Activité antifongique, huile essentielle, Agrumes, sels, tache brune.

## **Abstract**

An isolate of *Alternaria* was isolated as the causative agent of brown spot from orange leaves collected in a region of northwestern Algeria where the orange tree is also very popular. Macro and microscopic tests were carried out to confirm the identification. The antifungal activity of essential oil of orange (*Citrus sinensis*) and three salts were carried out *in vitro* on *Alternaria*, the agent responsible for orange brown spot by the method of direct contact and macro dilution in liquid medium. The results obtained showed that the isolate was indeed a species of *Alternaria*. The results showed that orange essential oil also has low antifungal levels. Indeed, the lowest EO concentration at which 50% inhibition of mycelial growth was 10% higher. He also noticed that  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaOH}_2$  and  $\text{CaCO}_3$  reduce mycelial growth *in vitro*; the inhibition rate varied between 8 and 25% compared to the control.

**Keywords:** antifungal activity, essential oil, Citrus, salts, brown spot.

## المخلص

تم عزل الفطر (*Alternaria*) العامل المسبب للبقع البنية في أوراق البرتقال التي جمعت من منطقة شمال غرب الجزائر الغنية بأشجار البرتقال. أجريت اختبارات مخبرية لتأكيد هوية الفطر (*Alternaria*) حيث أظهرت النتائج التي تحصلنا عليها أن الفطر من صنف *Alternaria*. تم اختبار فعالية للزيت الأساسي للحمضيات كمضاد للفطريات وثلاثة أملاح كلسية على نشاط الفطر (*Alternaria*) بالطريقة المباشرة وبالتخفيف في وسط سائل. بينت النتائج أن الزيت الأساسي للبرتقال مضاد للفطريات لكن بمستويات متوسطة الحد الأدنى للتركيز المثبط لهذا الزيت الأساسي اكبر من التراكيز المستعملة في هذا الدراسة 10%. لوحظ أن أملاح الكالسيوم ثببت نمو الفطر بمعدل بين 8 و 25% مقارنة بالشاهد.

**الكلمات المفتاحية:** نشاط مضاد للفطريات - زيت أساسي - حمضيات - أملاح - بقع بنية

## Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	4
PARTIE - I .....	4
Synthèse Bibliographique.....	4
1. Introduction .....	3
2. Définition .....	3
3. Origine des agrumes .....	3
4. Classification botanique .....	4
5. Caractéristique morphologiques des agrumes .....	4
5.1. Les feuilles .....	5
5.2. Fleur .....	5
5.3. Fruits.....	6
5.4. Le tronc et branches .....	6
5.5. Système racinaire .....	7
6. L'Importances et la production économiques des agrumes.....	8
6.1 Dans le monde.....	8
6.2 Dans la région méditerranée.....	8
6.3 En Algérie .....	9
7. Les contraintes biotiques et abiotiques.....	9
7.1 Les principales maladies des agrumes.....	9
7.1.1 Le carence .....	9
7.1.2 Les maladies cryptogamiques .....	10
7.1.3 Maladies bactériennes .....	11
7.1.4 Les maladies virales .....	13
7.2 Les principaux ravageurs des agrumes.....	14
7.2.1. Mineuse des agrumes .....	14
7.2.2. Mouche méditerranéenne des fruits.....	14
7.2.3. Pucerons .....	15
7.2.4. Cochenilles .....	16
7.2.5. Aleurodes .....	16
7.2.6. Acarien .....	17
7.2.7. Thrips .....	17
Chapitre - II .....	19
Alternaria des agrumes.....	19
1. Introduction .....	20
2. Historique .....	20
3. Distribution dans le monde.....	21
4. Classification et biologie .....	21
5. Cycle infectieux.....	22
6. Les principaux agents responsables de l'Alternarioses des agrumes .....	22
7. Symptômes de l'alternarioses.....	23
7.1 Pourriture noire .....	23
8. Caractères morphologiques .....	24
9. Habitat .....	25
10. Epidémie.....	26
11. Méthodes de lutte .....	27
Partie.....	29
expérimentale .....	29
Chapitre - I .....	30

Matériels et méthodes.....	30
I. Matériels .....	31
I.1 Souche fongique.....	31
I.2 Enquêtes sur le terrain et isolement fongique .....	31
I.3 Site d'échantillonnage .....	31
I.4 Isolement.....	32
I.5 Milieu de culture utilisée.....	32
I.6 Matériel végétal et huiles essentielle.....	33
II-Méthodes .....	33
II.1-Détermination de l'espèce.....	33
II.2 Détermination l'activité antifongique d'huile de citrus.....	33
II.2.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice .....	33
II.2.2-Effet d'huile sur la croissance mycélienne (Méthode de contact direct).....	33
II.3 Test de l'efficacité in vitro des sels $\text{CaCl}_2$ , $\text{CaCO}_3$ et $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sur <i>Alternaria</i> sp.....	34
<i>Chapitre II</i> .....	35
<i>Résultats et discussion</i> .....	35
I. Résultats.....	36
I.1 Isolement et identification de champignon .....	36
I.2 Action <i>in vitro</i> d'huile d'orange sur la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> .....	37
I.3 Action des sels sur la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> .....	39
I.3.1 Action d'hydroxyde de calcium ( $\text{CaOH}_3$ ) sur la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> .....	39
I.3.2 Action de chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) sur la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> .....	41
I.3.3 Action de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) sur la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> .....	43
I.1.3- La comparaison entre le pouvoir antifongique des différents sels ( $\text{CaOH}_2$ , $\text{CaCl}_2$ et $\text{CaCO}_3$ ) .....	45
II. Discussion.....	45
Conclusion.....	50
<i>Références bibliographiques</i> .....	51

## Liste des tableaux

Tableau 1. Coordonnées géographiques des localités visitées .....	32
Tableau 2. Matériel végétal et huile essentielle.....	33
Tableau 3 . La quantité des sels de chaque concentration .....	34
Tableau 4. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents sels ; CaOH <sub>2</sub> , CaCl <sub>2</sub> et CaCO <sub>3</sub> .....	45

## Liste des figures

Figure 1. Variabilité morphologique des feuilles de 37 accessions de Citrus L (dos Santos et al., 2015). .....	6
Figure 2. Diversité des fleurs et des fruits chez les Rutacées (Marc et al., 2021). .....	7
Figure 3. Variabilité morphologique des fruits de 37 accessions de Citrus L (dos Santos et al., 2015). .....	8
Figure 4. <i>Phyllocnistis citrella</i> (mineuse des feuilles des agrumes); symptômes sur une feuille d'agrume. (CABI, 2019). .....	14
Figure 5. <i>Ceratitis capitata</i> (mouche méditerranéenne des fruits); adulte. (CABI, 2019). .....	15
Figure 6. Puceron brun des agrumes <i>Toxoptera citricida</i> (Hémiptères : Aphididae); photo de Paul Choate, Département d'entomologie, Université de Floride .....	15
Figure 7. Adultes de l'aleurode des agrumes, <i>Dialeurodes citri</i> (Ashmead). (Smith, 1997). .....	16
Figure 8. Adulte & nymphe de <i>Panonychus citri</i> (McGregor). North Carolina State University ( <a href="https://www.irc-online.org/pests/panonychus-ulmi/">https://www.irc-online.org/pests/panonychus-ulmi/</a> ) .....	17
Figure 9. Thrips des agrumes <i>T. major</i> . (Campos Rivela et al., 2017). .....	18
Figure 10. Cycle de vie d' <i>Alternaria alternata</i> , l'agent causal de la tache brune des agrumes. (Kuang-Ren Chung, 2012). .....	22
Figure 11. Symptômes typiques de la pourriture noire d' <i>Alternaria</i> sur limon. (Aiello et al., 2020). .....	23
Figure 12. Symptômes typiques de la tache brune d' <i>Alternaria</i> sur la mandarine (Khanchouch et al., 2017). .....	24
Figure 13. Lésions de taches brunes sur les feuilles (Dewdney, 2013). .....	24
Figure 14. Caractères morphologiques d' <i>Alternaria citri</i> .....	25
Figure 15. Symptômes de la tache brune (photo original, 2023). .....	31
Figure 16. Localisation de la station d'étude .....	32
Figure 17. Aspect culturel d' <i>Alternaria sp.</i> sur PDA: (a) sommet de la culture; (b) le fond de la culture (c) spores (d) mycélium. .....	36
Figure 18. Effet d'huile essentielle d'orange sur la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> après 5 jours d'incubation. .....	37
Figure 19. Effet d'huile essentielle d'orange sur le taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne après 5 jours d'incubation .....	38
Figure 20. Effet <i>in vitro</i> d'hydroxyde de calcium ( $\text{CaOH}_2$ ) sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> . .....	39
Figure 21. Effet <i>in vitro</i> d'hydroxyde de calcium ( $\text{CaOH}_3$ ) sur la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> . .....	40
Figure 22. Effet <i>in vitro</i> de chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> . .....	41
Figure 23. Effet <i>in vitro</i> chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) sur la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> . ..	42
Figure 24. Effet <i>in vitro</i> de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> . .....	43
Figure 25. Effet <i>in vitro</i> de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) sur la croissance mycélienne d' <i>Alternaria</i> . .....	44

## Liste des Abréviations

- **%** : pourcentage
- **FAO** : l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
- **PFD** : Emergence de la chute post-floraison des fruits d'agrumes
- **Mg** : Magnésium
- **ABS** : alternaria brune spot
- **Mm** : Millimètre
- **Cm** : centimètre
- **CaCl<sub>2</sub>** : chlorure de calcium
- **CaOH<sub>2</sub>** : hydroxyde de calcium
- **CaCO<sub>3</sub>** : carbonate de calcium
- **Sp** : espèce, en anglais species
- **Spp** : espèce en pluriel
- **P** : Phytophthora
- **F** : fusarium
- **CCK** : Cholécystokinine
- **CVC** : Citrus Variegated Chlorosis
- **HLB** :( en anglais) Huanglongbing
- **Las** : Candidatus Liberibacter asiaticus
- **CTV** : Virus de la Tristeza
- **CLRV** : Le virus du cherry leaf roll
- **CPsV** : Citrus psorosis virus
- **CYMV** : Cymbidium mosaic virus
- **Nm** : nanomètre
- **CVV** : Citrus variegation virus
- **A** : Alternaria
- **µm** : micro mètre
- **° C** : degré Celsius
- **Ppm** : partie par million (unité de concentration)
- **EC** : concentré émulsionnable
- **Min** : minute
- **PDA** : Potato Dextrose Agar
- **CMI** : concentration minimal inhibition
- **µl** : micro litre
- **j** : jour
- **I** : inhibition
- **HE** : huile essentielle

# *Introduction générale*

### **Introduction générale**

Les agrumes (*Citrus* spp) sont des cultures fruitières importantes à l'échelle mondiale, produites dans des climats tempérés et tropicaux (**Spiegel-Roy, 2008**). Le Kumquat (*Citrus japonica*), le pamplemousse (*Citrus paradisi*), le citron (*Citrus limon*), le citron vert (*Citrus aurantifolia*), la mandarine (*Citrus reticulata*) et l'orange (*Citrus sinensis*) sont tous des espèces d'agrumes commercialement importantes (**Spiegel-Roy, 2008**). L'Algérie est un important producteur d'agrumes avec des espèces cultivés dans toutes les régions. En 2010, il y avait environ 63 296 ha de production d'agrumes en Algérie (**FAO, 2012**).

Cependant, la production et la commercialisation des produits agrumicoles sont affectées par un certain nombre des phytopathogènes, qui infectent les fruits avant et après la récolte. Les maladies typiques avant la récolte sont la pourriture brune (causée par *Phytophthora citrophthora*), la tache brune (*A. alternata* f. sp. *citri*), et/ou phomosis (*Lasiodiplodia theobromae*, *Diaporthe citri*) et l'anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) (**Azevedo et al., 2019**).

Chez les agrumes, l'alternariose causée par *Alternaria* spp. est une maladie grave limitant la production à l'échelle mondiale. L'alternariose avant la récolte réduit le rendement, tandis que l'alternariose après la récolte affecte la qualité des fruits, ce qui a un impact négatif sur l'exportation et la commercialisation des fruits.

Cette maladie est gérée principalement par l'application de fongicides synthétiques. Cependant, la préoccupation croissante concernant les risques pour la santé et la pollution de l'environnement due à l'utilisation de produits chimiques a nécessité le développement de stratégies alternatives pour le contrôle des maladies des agrumes. La gestion des maladies à l'aide des antagonistes microbiens, de produits naturels dérivés de plantes et de composés généralement reconnus comme sûrs s'est avérée la plus appropriée pour remplacer les fongicides synthétiques, qui soit recommandés pour un usage limité (**Droby et al . 2002**).

Dans ce travail nous essayons d'étudier l'activité antifongique *in vitro* d'huile essentielle d'orange et les sels (**CaCl<sub>2</sub>, CaOH<sub>2</sub> et CaCO<sub>3</sub>**) sur la croissance d'*Alternaria* sp agent responsable de la tache brune 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 - I**

## **Synthèse Bibliographique**

## **1. Introduction**

Les agrumes sont l'une des cultures fruitières les plus cultivées et les plus populaires dans le monde. Les agrumes sont riches en vitamines, minéraux et fibres alimentaires, qui sont essentiels à la santé globale. Les oranges sont les agrumes les plus commercialisés, représentant plus de la moitié de la production mondiale d'agrumes. Les mandarines et les citrons sont les autres variétés les plus couramment cultivées. La production et l'exportation d'agrumes se sont régulièrement développées au cours des trois dernières décennies.

Les agrumes commerciaux sont produits dans environ 140 pays. Les principaux producteurs sont le Brésil, le bassin méditerranéen, les États-Unis et la Chine. Les agrumes se classent au premier rang international en termes de valeur commerciale parmi tous les fruits (Norberg, 2008).

## **2. Définition**

Le genre *Citrus* est l'une des sous-unités taxonomiques les plus importantes de la famille des Rutacées. Les fruits produits par les espèces appartenant à ce genre sont appelés «agrumes». Les agrumes sont communément connus pour leurs précieuses propriétés nutritionnelles, pharmaceutiques et cosmétiques. Le genre *Citrus* comprend des plantes à feuilles persistantes, des arbustes ou des arbres (de 3 à 15 m de hauteur). Leurs feuilles sont coriaces, de forme ovoïde ou elliptique. Certains d'entre eux ont des pointes. Les fleurs poussent individuellement à l'aisselle des feuilles. Chaque fleur a cinq pétales, blancs ou rougeâtres. Le fruit est une baie d'hespéride. Les espèces appartenant au genre *Citrus* se produisent naturellement dans les régions au climat chaud et doux, principalement dans la région méditerranéenne. Ils sont généralement sensibles au gel (Mabberley, 2004)

## **3. Origine des agrumes**

*Citrus* est un genre d'arbres et d'arbustes à fleurs de la famille des Rutacées. Les plantes du genre produisent des agrumes, y compris des cultures importantes telles que les oranges, les citrons, les pamplemousses, les pomelos et les citrons verts. Le genre *Citrus* est originaire d'Asie du Sud, d'Asie de l'Est et d'Australie. Diverses espèces d'agrumes ont été utilisées et domestiquées par les cultures indigènes de ces régions depuis l'Antiquité (vers 3000–1500 avant notre ère); et vers le Moyen-Orient et la Méditerranée (vers 1200 avant notre ère) via la route du commerce de l'encens, puis vers l'Europe et les Amériques (Wu et al., 2018).

#### 4. Classification botanique

La classification des variétés de Citrus a longtemps été débattue par les taxonomistes et les botanistes. L'évolution réticulée combinée à l'apomixie partielle a conduit à des systèmes de classification très différents. La classification antérieure était très difficile en raison du manque d'étude génomique, mais récemment, des données phylogénomiques ont révélé les origines et les mélanges de cultivars modernes et de types sauvages.

Les agrumes (genre Citrus L.), qui appartiennent au genre des agrumes de la famille des Rutacées et de la sous-famille des Aurantioideae selon la classification botanique. Le statut taxonomique des agrumes, selon **Walter, (2018)** est le suivant :

**Règne :** Végétale

**Embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Eudicotes

**Sous classe :** Archichlomydeae

**Ordre :** Germinale (Rutales)

**Famille :** Rutaceae

**Sous-famille:** Aurantioideae

**Genre :** Poncirus, Fortunella et Citrus

#### 5. Caractéristique morphologiques des agrumes

Les agrumes de la famille des Rutacées contient 130 genres avec plusieurs variétés importantes, Citrus est un arbuste aromatique à feuilles persistantes ou de petits arbres originaires d'Asie du Sud-Est, mais maintenant cultivé dans les régions subtropicales et tempérées du monde entier ; Environ 70% de la production mondiale totale d'agrumes est cultivée dans l'hémisphère nord, en particulier dans la région méditerranéenne et aux États-Unis, bien que le Brésil et l'Afrique du Sud soient dans l'hémisphère sud. La production mondiale d'agrumes atteint 124,25 millions de tonnes en 2016, la Chine se classant comme le plus grand producteur d'agrumes, suivie du Brésil, de l'Inde, des États-Unis, de l'Espagne, du Mexique, de l'Égypte, de l'Iran et de l'Afrique du Sud (**FOA, 2017**) . Les agrumes répartis en différents groupes (**Waleed, 2019**) comme suit :

a. **Orange douce** (*Citrus sinensis* L.) : y compris l'orange commune, l'orange navel, l'orange sanguine et l'orange valencienne.

b. **Bigaradier** (*Citrus aurantium*) : bigaradier et ses variétés.

c. **Mandarine** (*Citrus reticulata* de Swingle) ou (*Citrus deliciosa* de Tanaka) : ce groupe est une catégorie d'agrumes faciles à peler, implique des variétés à peau jaune et orange, comme la mandarine Satsuma, la mandarine Dancy, certaines variétés peuvent mûrir dès décembre comme la clémentine et la mandarine satsuma, cependant, les variétés tardives peuvent être récoltées en août ou septembre comme les mandarines Murcott et Pixie.

d. **Citron** (*Citrus limon*): Fruits mûrissent tout au long de l'année, ce groupe comprenant Eureka, Lisbon et Meyer citron.

e. **Citron vert** (*Citrus aurantifolia*): y compris le citron vert mexicain, le citron vert indien, le citron vert tahitien, le citron vert Bearss, le fruit mûrit toute l'année.

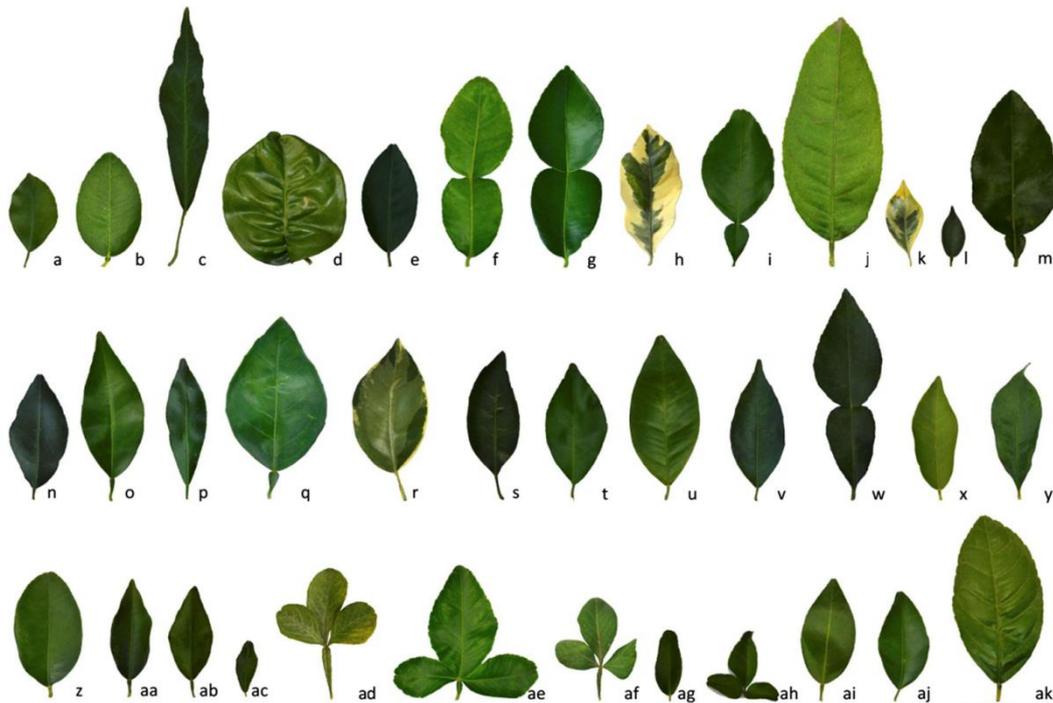
F. **Autres sortes** : comme Citron, Kumquat et Pomelos

### **5.1. Les feuilles**

Elles sont alternes, pétiolées, semi-persistantes, faiblement dentées ou dentelées, parfois semi-intactes, parsemées de nombreuses poches d'essence translucides devant la source lumineuse. (Figure1). Le pétiole, parfois bordé par l'aile qui l'aplatit, est articulé à la base du limbe (comme interrompu par une ligne transversale, formant un point de rupture facile). (Leutagui, 2004)

### **5.2. Fleur**

L'organogenèse florale se déroule de manière acropète, c'est-à-dire de l'organe le plus externe vers le plus interne, de sorte que chaque spire se forme au-dessus et à l'intérieur de la précédente. Ainsi, les sépales sont les premiers à se former, suivis des pétales, et plus tard, intérieurement et concentriquement à eux, les étamines qui forment un simple verticille ; ensuite, le pistil est formé dans la zone la plus interne (Figure 2). Le pistil a un ovaire, avec un verticille de 8 à 10 carpelles contenant 2 à 3 ovules chacun, et un style unique avec un stigmate papillaire (Marc et al., 2021).



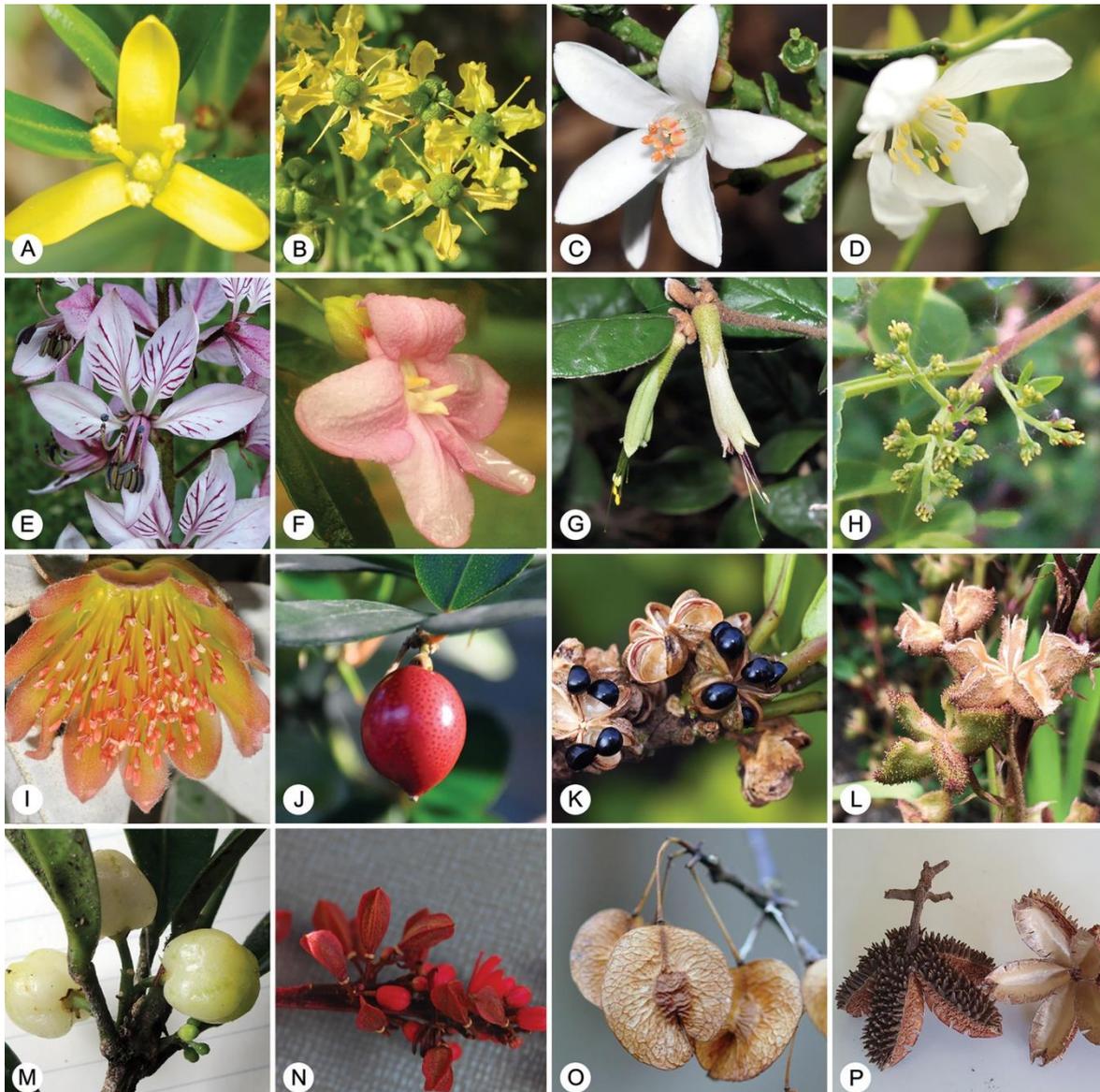
**Figure 1.** Variabilité morphologique des feuilles de 37 accessions de Citrus L (dos Santos et al., 2015).

### 5.3. Fruits

Les fruits des principales espèces et variétés cultivées du genre Citrus diffèrent par leur coloration, leur forme, leur calibre, la composition de leur jus et leur époque de maturité. Cependant, tous les fruits des Citrus cultivés présentent la même structure anatomique (Figure 3).

### 5.4. Le tronc et branches

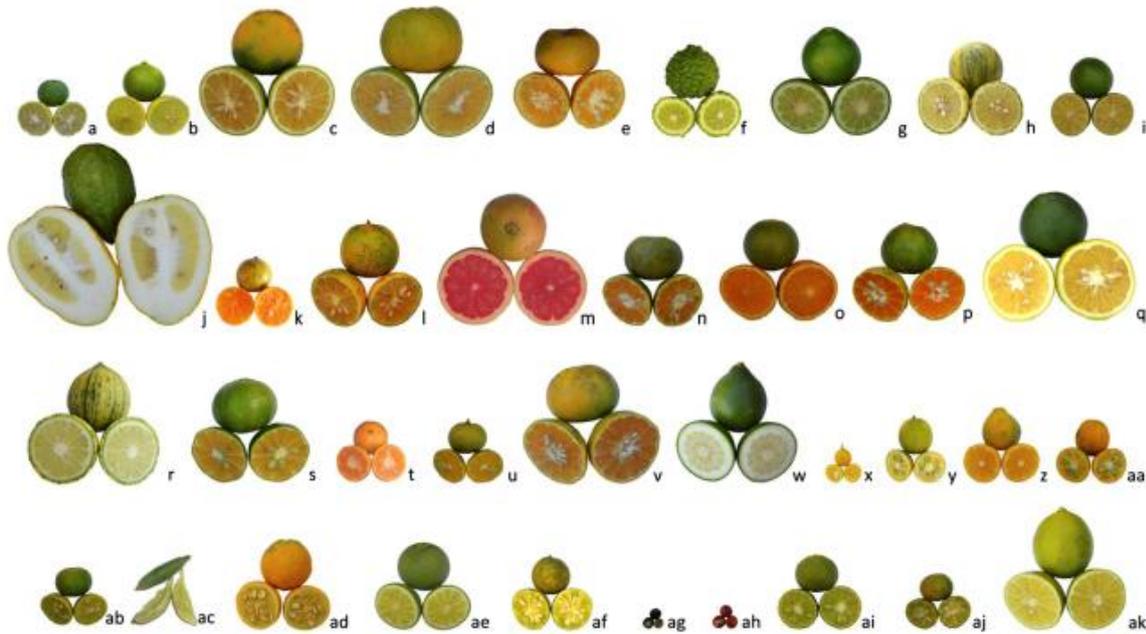
Son développement est limité en hauteur à quelques dizaines de centimètres par la première taille de formation qui a pour effet de favoriser le développement des futures charpentières. Cette dernière constitue l'armature de l'arbre, elles sont limitées à 3, 4 ou 5 par la taille de formation, prennent naissance sur le tronc. Elles se divisent en sous-charpentières qui à leur tour porteront les rameaux végétatifs et les rameaux fructifères. C'est au niveau du tronc que se situe la ligne de greffe résultant l'association de la variété et du porte-greffe (Loussert, 1987).



**Figure 2.** Diversité des fleurs et des fruits chez les Rutacées (Marc et al., 2021).

### 5.5. Système racinaire

Le système racinaire formé par le porte greffe (ou sujet), c'est la partie qui assure à la fois l'ancrage de l'arbre au sol, son alimentation en eau et en sels minéraux (Barboni, 2006). Les racines des agrumes sont généralement courtes, mais elles peuvent atteindre plusieurs mètres de profondeur pour trouver un approvisionnement en eau et en nutriments adéquats.



**Figure 3.** Variabilité morphologique des fruits de 37 accessions de Citrus L (dos Santos et al., 2015).

## 6. L'Importances et la production économiques des agrumes

### 6.1 Dans le monde

Selon les statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la production mondiale totale d'agrumes en 2019 était d'environ 144 millions de tonnes, avec une superficie de plantation de 9,89 millions d'hectares, dont la production et la superficie de culture d'agrumes en Chine ont atteint respectivement 38 millions de tonnes et 2,88 millions d'hectares, se classant au premier rang mondial.

### 6.2 Dans la région méditerranéenne

Les agrumes sont très courants dans la région méditerranéenne. Les principaux agrumes produits dans la région comprennent le citron, le pamplemousse, l'orange, le mandarin, la lime et la bergamote. Les agrumes sont cultivés principalement dans le sud de l'Espagne et du Portugal, le sud de l'Italie et dans la côte méditerranéenne de la France. De nombreux autres pays méditerranéens produisent également des agrumes, notamment la Grèce, la Turquie, la Syrie, l'Algérie et le Maroc.

Les agrumes sont un des piliers de l'agriculture méditerranéenne, avec près d'un million d'hectares cultivés. Selon le rapport de la FAO de 2020, la production mondiale d'agrumes a augmenté de 2,1 % pour atteindre plus de 98 millions de tonnes. La région méditerranéenne a produit environ 7,3 millions de tonnes d'agrumes, ce qui représente 7,4 % de la production

mondiale. La principale production méditerranéenne d'agrumes est concentrée en Espagne avec 4,2 millions de tonnes (57 % de la production régionale), suivie par l'Italie (1,5 million de tonnes), la Turquie (0,8 million de tonnes) et la Grèce (0,6 million de tonnes). Les principaux agrumes produits dans la région sont le citron, la mandarine et l'orange.

### **6.3 En Algérie**

En Algérie, la production des agrumes s'est considérablement accrue au cours de la dernière décennie. En 2018, la production de fruits a atteint un record de 3,2 millions de tonnes, ce qui en fait le deuxième plus grand producteur d'agrumes sur le continent africain, derrière l'Égypte. Elle est dominée par la production de citrons et de clémentines, qui représentent respectivement 62 % et 24 % de la production totale d'agrumes. Les principales régions productrices sont les wilayas de Batna, Blida, Alger, Mostaganem et Tlemcen, qui représentent à elles seules plus de 80 % de la production totale d'agrumes en Algérie. (FAO, 2020)

## **7. Les contraintes biotiques et abiotiques**

Les agrumes sont l'une des cultures fruitières les plus importantes et les plus cultivées dans le monde. La chute des agrumes est due à l'influence de divers facteurs biotiques et abiotiques. Les principaux facteurs biotiques comprennent les insectes comme les mouches des fruits et les maladies telles que l'antracnose et la chute des fruits après la floraison (PFD) due à *Colletotrichum sp.* Les facteurs abiotiques associés sont la température, les précipitations, les orages de grêle, le stress hydrique, le déséquilibre nutritionnel, etc.

### **7.1 Les principales maladies des agrumes**

#### **7.1.1 La carence**

Les carences en minéraux de certaines plantes peuvent se transformer en symptômes de chlorose foliaire. Différentes carences en minéraux dans les agrumes peuvent entraîner des schémas de chlorose distincts. Les symptômes de carence en magnésium peuvent apparaître sous la forme d'une chlorose des feuilles, avec un développement chlorotique et une lésion nécrotique qui survient à des stades ultérieurs, en particulier sous une intensité lumineuse élevée (Guo et al., 2016).

Les agrumes avec une quantité insuffisante de Mg peuvent ne présenter aucun symptôme lors de la poussée de croissance printanière, mais les symptômes foliaires se

développent à mesure que les feuilles vieillissent et que les fruits se développent et mûrissent en été et en automne.

Les plantes déficientes en potassium, (Lavon et al., 1999) ne développent pas de chlorose foliaire, mais entraînent une biomasse moindre et certains changements dans le métabolisme de l'azote.

La carence en calcium était le seul traitement qui a révélé des effets profonds sur l'économie d'azote des feuilles d'agrumes. Un taux d'azote remarquablement bas dans les feuilles et une concentration réduite en nitrates ont été observés chez les déficients en calcium (Lavon et al., 1999). Une carence en calcium avec interférence du métabolisme de l'azote a entraîné une réduction extrême du pool d'acides aminés libres.

### 7.1.2 Les maladies cryptogamiques

**7.1.2.1 Phytophthora** spp. sont les agents responsables de la gommose, de la pourriture fibreuse des racines et de la pourriture brune des fruits qui affectent les racines, le tronc et les fruits des agrumes, entraînant de graves pertes économiques. *P. nicotianae*, *P. palmivora* et *P. citrophthora* sont responsables de la pourriture du collet et de la pourriture des racines chez le citronnier. Les symptômes commencent par une décoloration brune et un dépérissement des racines nourricières. (Erwin et Ribeiro, 1996).

**7.1.2.2 Taches graisseuses (*Mycosphaerella citri*):** la tache graisseuse des agrumes est causée par le champignon *Mycosphaerella citri*, elle est considérée comme la maladie fongique foliaire la plus importante (Showler, 2017), peut entraîner une perte de 22 % de la production d'agrumes (Brentu et al., 2012). La lutte contre ce champignon représente 35 à 45 % du coût total de production (Orozco-Santos et al., 2012). La maladie se manifeste principalement sur les feuilles et dans une moindre mesure sur les fruits, les symptômes foliaires s'expriment sur la face inférieure des folioles matures et des lésions légèrement surélevées de différentes teintes apparaissent. Aux premiers stades de l'infection, la couleur commence par le jaune, puis le brun dans une progression intermédiaire et se termine par des taches noires « nécrotiques » ou chlorotiques aux marges huileuses.

**7.1.2.3 Tache brune alternarienne :** la tache brune *Alternaria* (ABS) est l'une des maladies les plus importantes des mandarines et de leurs hybrides dans le monde. Elle est causée par le champignon *Alternaria citri*, est un agent pathogène nécrotrophe typique. Le parasite induit des lésions nécrotiques sur les fruits et les jeunes feuilles, la défoliation et la chute des fruits chez les génotypes d'agrumes sensibles. (Timmer et al., 2003).

**7.1.2.4. *Botrytis cinerea*** est un champignon pathogène provoquant des maladies sur les rameaux, les feuilles, les fleurs et les fruits des agrumes dans les zones où les conditions humides et fraîches sont prolongées. Généralement, l'organisme est un agent pathogène mineur des agrumes ; les citrons sont infectés plus fréquemment que les autres cultures d'agrumes. Les symptômes comprennent ; la pourriture grise, 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**).

**7.1.2.5. *Néocosmospora (Fusarium) solani***. est l'organisme causal d'une maladie appelée pourriture sèche des racines des agrumes. La chlorose des jeunes feuilles, le flétrissement, l'abscission foliaire et le dépérissement des jeunes rameaux sont les premiers symptômes de cette maladie vasculaire. On observe souvent une exsudation des gencives et une décoloration vasculaire sur les rameaux affectés. De plus, *F. oxysporum* f. sp. *agrumesa* récemment été trouvé causant le flétrissement des agrumes en Tunisie (**Hannachi et al. 2014**).

**7.1.2.6. *Colletotrichum* spp.** sont des agents pathogènes observés sur les vergés des agrumes, provoquant le dépérissement des branches et des maladies post-récolte. À l'échelle mondiale, plusieurs espèces de *Colletotrichum* ont été identifiées comme causant l'anthracnose des agrumes. L'anthracnose avant la récolte réduit le rendement, tandis que l'anthracnose après la récolte affecte la qualité des fruits, ce qui a un impact négatif sur l'exportation et la commercialisation des fruits. Les espèces de *Colletotrichum* sont difficiles à identifier sur la base des caractères morphologiques. La phylogénie moléculaire a revigoré la taxonomie de *Colletotrichum*, avec plus de 220 espèces de *Colletotrichum* dans 14 complexes d'espèces maintenant reconnues (**de Saliva et al., 2019**).

### 7.1.3 Maladies bactériennes

Les maladies bactériennes constituent une menace constante pour la culture des agrumes et ont des impacts économiques substantiels dans toutes les zones de culture du monde. Parmi eux, le chancre des agrumes (CCK), la chlorose panachée des agrumes (CVC) et le Huanglongbing (HLB) entraînent des réductions importantes de la production.

**7.1.3.1. *Xanthomonas citri*** sous-esp. *citri* (Synonymes: *Xanthomonas campestris* pv. *citri*) est l'agent étiologique du chancre des agrumes, cette maladie affecte presque tous les types de cultures commerciales d'agrumes. Il provoque des dégâts sur nombreuses espèces de Rutaceae. La bactérie *Xantomonas citri* ssp. est une bactérie Gram négatif en forme de

bâtonnet avec un seul flagelle polaire. Le cycle de la maladie du chancre bactérien des agrumes commence par le dépôt de l'inoculum à la surface des feuilles par les éclaboussures de pluie. Par la suite, les bactéries se dirigent vers l'ouverture naturelle des feuilles, les stomates, puis, les bactéries atteignent l'espace apoplastique et démarrent le processus d'infection à l'intérieur de l'hôte "mode de vie endophyte". *Xanthomonas citri* pv. *citri* est actuellement distribué en Afrique, en Asie, en Amérique du Nord, en Amérique du Sud, en Amérique centrale et dans les Caraïbes et en Océanie. De nombreuses espèces et hybrides de Citrus sont des hôtes naturels de *X. citri* pv. *citri* avec divers degrés de sensibilité à l'agent pathogène. Les lésions du chancre commencent par des éruptions spongieuses jaune pâle en relief à la surface des feuilles, des rameaux et des fruits. Les lésions grossissent continuellement à partir d'une taille ponctuelle sur plusieurs mois et peuvent être de différentes tailles en fonction de l'âge de la lésion. Au fur et à mesure que les lésions grossissent, les éruptions spongieuses commencent à s'effondrer et des dépressions brunes apparaissent dans leur partie centrale, formant une apparence de cratère. (Al-Dulaimi et al., 2018).

**7.1.3.2. *Pseudomonas syringae*** est une bactérie du genre *Pseudomonas*, qui est un complexe comptant de plus de 60 espèces, toutes à Gram négatif et munies de flagelles polaires. Cette bactérie infecte plus de 180 espèces végétales différentes (Bradbury, 1986), parmi lesquelles Citrus spp. où il provoque l'explosion bactérienne de l'orange (*Citrus sinensis*) et de la mandarine (*Citrus reticulata*). 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).

**7.1.3.3. *Xylella fastidiosa*** est l'agent causal de la chlorose panachée des agrumes (CVC) et a été associée à des pertes importantes dans les vergers commerciaux de tous les cultivars d'orange douce (*Citrus sinensis*). *Xylella fastidiosa* est une espèce bactérienne de la famille des Xanthomonadaceae. *X. fastidiosa* affectent plusieurs cultures spécialisées importantes sur le plan économique, notamment les raisins, les amandes, les agrumes, les olives, les myrtilles, le café et les fruits à noyau (Burbank, 2022).

**7.1.3.4. Le huanglongbing (HLB)**, causé par *Candidatus liberibacter asiaticus* (Las) est l'une des maladies des agrumes les plus destructrices au monde. Elle est due à une bactérie située exclusivement dans les tubes criblés du phloème des plantes atteintes. HLB et son

insecte vecteur Psylle asiatique des agrumes (*Diaphorina citri*) se sont propagées de l'Asie vers d'autres continents, 53 pays signalant jusqu'à présent le HLB (Bove, 2006).

#### 7.1.4 Les maladies virales

**7.1.4.1** Le virus de la **tristeza** des agrumes (CTV) est le pathogène viral le plus destructeur des agrumes. Au cours du siècle dernier, le CTV a provoqué de graves épidémies dans les régions productrices d'agrumes du monde entier, qui ont entraîné la perte de plus de 100 millions d'arbres. À l'heure actuelle, le virus continue de menacer la production d'agrumes dans de nombreux pays différents. Le virus de la tristeza des agrumes (CTV) est un pathogène transmis par les pucerons responsable d'épidémies. Le CTV appartient au genre Closterovirus de la famille des Closteroviridae, qui comprend des virus avec de grands (15 à 20 kb) de génomes à ARN simple brin à sens positif (Karasev, 2000).

**7.1.4.2.** *Citrus leaf rugose virus* (CLRv) est un virus phytopathogène de la famille des closteroviridae. Il infecte un large éventail d'hôtes précieux d'agrumes (citron vert mexicain, citron Eureka et pamplemousse Duncan, par exemple) et bien que son vecteur spécifique soit inconnu, il peut être transmis mécaniquement à des hôtes non agrumes. Provoque des mouchetures sur les jeunes feuilles et une malformation des vieilles feuilles (en particulier des citrons Eureka), des fruits petits et grumeleux. Les symptômes persistent ou varient selon les saisons (Teh et al., 2019).

**7.1.4.3.** Le **psorose** des agrumes a été signalé pour la première fois en Floride en 1896 et a été confirmé comme une maladie transmissible par greffe en 1934. Le virus du psorose des agrumes (CPsV) est l'agent causal présumé de cette maladie. Il est considéré comme une espèce type du genre Ophiovirus, au sein de la famille des Aspiviridae. Cette maladie qui se manifeste par des mouchetures chlorotiques à distribution irrégulière, des marbrures foliaires et des taches chlorotiques rondes surtout sur les jeunes feuilles.

**7.1.4.4.** Le **virus de la mosaïque jaune des agrumes (CYMV)**, genre Badnavirus, famille des Caulimoviridae, est une contrainte clé dans la production d'agrumes (*Citrus sinensis*) qui entraîne une réduction du rendement et affecte la qualité des fruits (Ahlawat 2000). Le CYMV est de forme bacilliforme et sa taille varie de 30 × 120 à 150 nm. La maladie a été initialement signalée sur des orangers doux avec des symptômes caractéristiques de rabougrissement, de chlorose et de mosaïque foliaire (Ahlawat et al. 1996a). L'incidence du CYMV a été signalée dans des cultivars de mandarine, d'orange douce et de lime acide du centre de l'Inde où le virus s'est propagé avec du matériel de plantation infecté.

**7.1.4.5. *Citrus variegation virus* (CVV)**, ce virus est un autre pathogène viral des plantes qui infecte les cultivars d'agrumes. Il appartient à la famille de Bromoviridae, et de genre d'Illarvirus. Ce virus est présent dans les différents types de cultivars d'agrumes. Son symptôme est panaché, mosaïque, malformation sur les feuilles et nanisme (FAO ; 2022). 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.

## 7.2 Les principaux ravageurs des agrumes

### 7.2.1. Mineuse des agrumes

La mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* Stainton (*Lepidoptera* : *Gracillariidae*) est la larve d'un petit papillon originaire d'Asie du Sud-Est et est couramment observée dans les agrumes. La larve infeste le jeune feuillage au début de l'automne, et se nourrit à l'intérieur des feuilles en créant des tunnels ou «mines» argentés distinctifs (Figure 4). Elle peut causer de graves dommages aux feuilles des arbres de moins de trois ans. Les arbres établis sont moins touchés. Les dommages sont généralement pires lorsqu'il y a une nouvelle croissance de rinçage au début de l'automne, selon la température (Hoy & Nguyen, 1997).



**Figure 4.** *Phyllocnistis citrella* (mineuse des feuilles des agrumes); symptômes sur une feuille d'agrumes. (CABI, 2019).

### 7.2.2. Mouche méditerranéenne des fruits

La mouche méditerranéenne des fruits ou mouche méditerranéenne *Ceratitis capitata* (Wiedemann), est le ravageur le plus commun des agrumes. Détectée pour la première fois en Australie-Occidentale dans les années 1890, la mouche méditerranéenne attaque la plupart des agrumes, en particulier les mandarines et les oranges et peut infecter plus de 300 autres espèces de plantes fruitières économiquement importantes dans le monde. La présence de petits trous perçants dans le fruit indique que des œufs ont été pondus sous la peau du fruit et

que des asticots, jusqu'à 8 mm de long, peuvent être présents (Figure 5). Les asticots pénètrent dans les fruits et provoquent la pourriture, entraînant souvent une maturation prématurée et la chute des fruits (Sciarretta et al., 2018).



**Figure 5.** *Ceratitis capitata* (mouche méditerranéenne des fruits); adulte. (CABI, 2019).

### 7.2.3. Pucerons

Les pucerons sont de petits insectes de 1 à 3 mm en forme de poire et au corps mou (Figure 6). Ils peuvent être ailés ou non et se déplacent généralement lentement. Le puceron noir des agrumes (*Toxoptera citricida*) est une espèce exotique que l'on trouve couramment sur les agrumes d'Australie occidentale. Les pucerons sont plus abondants lorsqu'il y a une nouvelle croissance, généralement en septembre/octobre et de février à avril. Les pucerons se regroupent sur les fleurs et la croissance des jeunes pousses, provoquant des torsions et des distorsions. Les pucerons excrètent également du miellat sur lequel la fumagine peut se développer (Xue et al., 2020).



**Figure 6.** Puceron brun des agrumes *Toxoptera citricida* (Hémiptères : Aphididae); photo de Paul Choate, Département d'entomologie, Université de Floride

#### 7.2.4. Cochenilles

Les cochenilles (Hemiptera : Coccoidea) sont considérées comme les plus importants ravageurs des cultures dans le monde. Les cochenilles sont de petits insectes au corps mou, généralement recouverts d'une cire farineuse blanche, qui se nourrissent du phloème des plantes et excrètent le miellat (Franco et al. 2009). Environ 160 espèces de cochenilles farineuses sont reconnues comme des ravageurs des plantes (cultures et autres) dans le monde. Les infestations d'agrumes par les cochenilles farineuses des agrumes peuvent réduire la croissance des plantes et la taille des fruits et entraîner le déclassement des fruits ; des infestations élevées peuvent provoquer une défoliation (jusqu'à 80 %), la division des fruits et la chute des fruits (jusqu'à 100 %).

#### 7.2.5. Aleurodes

Les aleurodes ressemblent à de minuscules papillons blancs comme neige (Figure 7). L'aleurode des agrumes, était autrefois le plus important ravageur des agrumes. Les adultes, les œufs, les larves et les pupes se trouvent souvent sur la face inférieure des feuilles. L'adulte est un minuscule insecte blanc farineux avec quatre ailes blanc farineux qui s'étendent sur moins de 1/8 de pouce. Les adultes des deux sexes ont deux paires d'ailes recouvertes d'une cire blanche et poudreuse qui donne aux insectes leur nom commun. En particulier, six espèces d'aleurodes ont été signalées sur les agrumes au cours des trois à quatre dernières décennies, à savoir *Aleurothrixus floccosus* (Maskell), *Bemisia afer* (Priesner & Hosny), *Bemisia tabaci* (Gennadius), *Dialeurodes citri* (Ashmead), *Parabemisia myricae* (Kuwana) et *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Martin et al., 2000).



**Figure 7.** Adultes de l'aleurode des agrumes, *Dialeurodes citri* (Ashmead).(Smith, 1997).

### 7.2.6. Acarien

Les acariens (Acari) sont des arthropodes, un groupe qui comprend les insectes et les araignées. Certains acariens sont assez gros pour être visibles à l'œil nu tandis que d'autres ne peuvent être vus qu'avec une loupe ou un microscope (Figure 8). Les acariens causent des dommages en aspirant le contenu des cellules des bourgeons, des feuilles et des fruits. Sur les feuilles, les dégâts alimentaires se traduisent par des pointillés (points clairs) qui peuvent parfois prendre une couleur bronzée. Les acariens préfèrent généralement se nourrir de jeunes feuilles rougissantes, mais si les infestations sont graves, ils se nourrissent également de feuilles plus âgées. L'acarien de la rouille des agrumes *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead), l'acarien de la rouille brune des agrumes *Tegolophus australis* Keifer et l'acarien rouge des agrumes *Panonychus citri* (McGregor), est l'un des principaux ravageurs des cultures d'agrumes (Migeon & Dorkeld, 2013).



**Figure 8.** Adulte & nymphe de *Panonychus citri* (McGregor). North Carolina State University (<https://www.irc-online.org/pests/panonychus-ulmi/>)

### 7.2.7. Thrips

Les thrips sont de petits insectes élancés au corps mou juste visibles à l'œil nu. Les adultes ne mesurent qu'environ 2 mm de long (Figure 9). Les thrips des agrumes ont une gamme d'hôtes très large. Il est l'insecte ravageur le plus dommageable économiquement sur agrumes. Sur les fruits, les piqûres des cellules épidermiques deviennent des cicatrices grisâtres ou argentées sur la croûte. Les larves du deuxième stade larvaire sont les plus dommageables car ils se nourrissent principalement sous les sépales de jeunes fruits.



**Figure 9.** Thrips des agrumes *T. major*. (Campos Rivela et al., 2017).

## **Chapitre - II**

### ***Alternaria* des agrumes**

## 1. Introduction

L'alternariose est une maladie fongique causée par le pathotype d'*Alternaria sp.* qui induit des lésions nécrotiques sur les fruits et les jeunes feuilles, la défoliation, la chute des fruits et la pourriture chez les génotypes d'agrumes sensibles (**Akimitsu et al., 2003**). La maladie a été observée pour la première fois en Australie en 1903 sur la mandarine "Emperor" (**Pegg, 1966**) et a ensuite été détectée dans les régions productrices d'agrumes du monde entier (**Wang et al., 2010**). Actuellement, le contrôle de l'alternariose est principalement basé sur l'application de fongicides. Selon le climat de la région et la sensibilité du cultivar, entre quatre et dix pulvérisations de fongicides par an sont nécessaires pour produire des fruits de qualité destinés au marché du frais. Même avec ce grand nombre de pulvérisations, la réduction des dégâts n'est pas toujours satisfaisante. Ces contraintes obligent les producteurs à éliminer les cultivars sensibles tels que les mandarines « Fortune » ou « Nova » (**Cuenca et al., 2013**). Ainsi, la résistance génétique reste la meilleure option pour contrôler la maladie (**Vicent et al., 2007**).

L'alternariose est considérée l'une des maladies endémiques et émergentes dont les agents pathogènes sont potentiellement nocifs pour l'industrie des agrumes dans la région méditerranéenne (**Khanchouch et al., 2017**). La lutte contre cette maladie s'avère difficile vue son occurrence au champ et en post-récolte. Bien que certaines pratiques culturales puissent réduire la sévérité de la maladie, la lutte contre cette maladie dépend encore largement des applications de fongicides (**Vicent et al., 2007**).

## 2. Historique

L'alternariose a été signalée pour la première fois sur des oranges en Australie en 1903 (**Cobb, 1903**), et l'agent causal a été identifié comme une espèce d'*Alternaria* en 1959, après des études de plusieurs agents causaux possibles (**Pegg, 1966**), apparu plus tard aux États-Unis (**Whiteside, 1976**), mais aussi en Israël (**Solel, 1991**), en Turquie (**Canihos et al., 1997**), en Espagne (**Vicent et al., 2000**), au Brésil et en Argentine (**Perez et al., 2003**).

En raison de la morphologie similaire des agents pathogènes de la tache brune et de la pourriture noire, le premier a été identifié comme *A. citri* Ellis & Pierce (**Whiteside, 1976**), une pourriture noire fongique décrite pour la première fois comme un agent pathogène des agrumes. Plus récemment, l'agent pathogène affectant les agrumes a été classé comme *A. alternata* et **Solel (1991)** a désigné l'agent pathogène comme *A. alternata* f.sp *citri*.

### 3. Distribution dans le monde

L'Alternaria, agent causal des taches brunes est répandu dans toutes les zones de production d'agrumes humides 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, l'Italie, la Grèce, la Turquie et Israël (**Bassimba et al., 2014**).

En raison de la similitude morphologique entre les agents pathogènes de la tache brune et de la pourriture noire, le premier a été identifié comme *A. citri* Ellis & Pierce (**Pegg, 1966**), 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* (**Kohmoto et al., 1979**), et **Solel (1991)** a désigné l'agent comme *A. alternata* pv. *citri*. La tache alternarienne du citron rugueux a été signalée pour la première fois en Afrique du Sud (**Doidge, 1929**). La pourriture noire alternarienne a été signalée dès les années 1900 en Californie (**Bliss et Fawcett, 1944**).

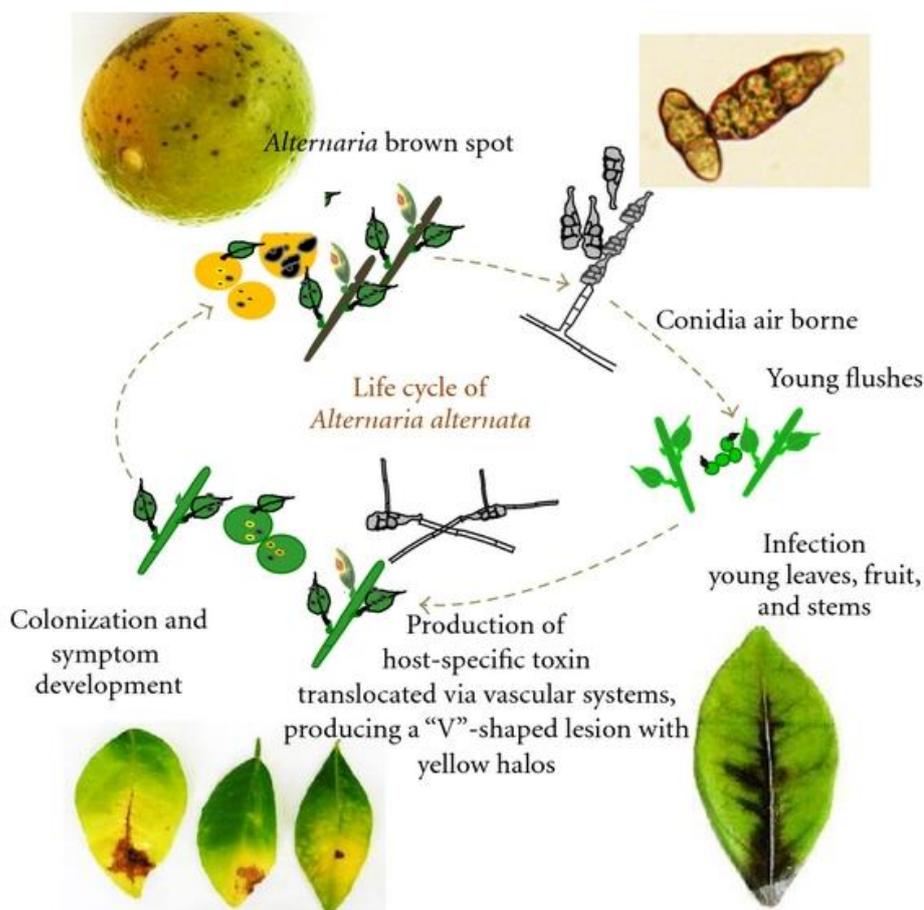
### 4. Classification et biologie

La classification phylogénétique des Alternaria associés aux agrumes n'était pas claire et confuse au fil du temps. Les espèces du genre Alternaria sont des Deuteromycètes (syn. Adélomycètes, fungi imperfecti). Cette classe renferme tous les champignons à mycélium cloisonné dont la forme de reproduction est généralement inconnue mais possèdent un mode de multiplication asexuée, par spores.

Les isolats causant des taches brunes ont été initialement classés comme *A. citri* en raison de leur similitude morphologique avec les isolats causant la pourriture noire (**Kiely, 1964**). Une analyse plus poussée, basée sur les descriptions de la morphologie et de la taille des conidies a révélé leur similitude avec *A. alternata* (Nishimura & Kohmoto, 1983). Ils étaient également appelés *A. alternata* f.sp. *citri* (Solel, 1991) pour les différencier des isolats saprophytes d'*A. alternata*, et comme *A. alternata* f.sp. *citri* tangerine (**Thomma, 2003**) pour les différencier des isolats qui infectent les agrumes.

## 5. 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 10).



**Figure 10.** Cycle de vie d' *Alternaria alternata* , l'agent causal de la tache brune des agrumes. (Kuang-Ren Chung, 2012).

## 6. Les principaux agents responsables de l'Alternarioses des agrumes

Les champignons *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 plusieurs agrumes et la Mancha foliaire du citron vert mexicain. Les trois premières maladies sont causées par l'espèce à petites spores, *Alternaria alternata* et les agents causals ne peuvent être différenciés qu'à l'aide de tests de pathogénicité, de dosages de toxines ou de marqueurs génétiques. Mancha foliar est causée par l'espèce à grandes spores morphologiquement distincte *A. limicola*.

## 7. Symptômes de l'alternarioses

### 7.1 Pourriture noire

La pourriture alternarienne est une maladie fongique qui affecte principalement les oranges navels et les citrons (Figure 11). Les fruits infectés par *Alternaria* changent de couleur prématurément. La pourriture est plus douce sur les citrons que sur les oranges. Les infections se produisent généralement dans le bosquet; la maladie ne se développe souvent qu'après la récolte et la plupart des dommages surviennent pendant l'entreposage. Sur les oranges navels, la maladie est également appelée pourriture noire et se traduit par des taches ou des zones fermes brun foncé à noires à l'extrémité stylaire (fleur) ou dans le nombril. Si vous coupez le fruit en deux, vous pouvez voir la pourriture s'étendre jusqu'au cœur.



**Figure 11.** Symptômes typiques de la pourriture noire d'*Alternaria* sur limon. (Aiello et al., 2020).

### 7.2 Tache brune d'*Alternaria* des mandarines

Les premiers symptômes d'*Alternaria* sont de petites lésions nécrotiques sombres qui apparaissent sur les feuilles plus âgées et qui se propagent à mesure que les plantes vieillissent et que les lésions s'agrandissent, des anneaux concentriques apparaissent, entourés d'une zone jaune (Figure 12,13). La tige est complètement encerclée par la lésion qui affaiblit les plantules et finit par les tuer. **Gardner (1990)**. Sur les fruits mûrs, des taches veloutées, sombres et enfoncées peuvent apparaître à l'extrémité de la tige et parfois ces taches se développent à partir de mycéliums de lésions de tige de taille considérable et peuvent apparaître sur les feuilles (**Sherf et Macnab, 1986**) et les fruits semi-mûrs sont plus sensibles que les fruits mûrs (**Mehta et al., 1975**).



**Figure 12.** Symptômes typiques de la tache brune d'Alternaria sur la mandarine (Khanchouch et al., 2017).



**Figure 13.** Lésions de taches brunes sur les feuilles (Dewdney, 2013).

## 8. Caractères morphologiques

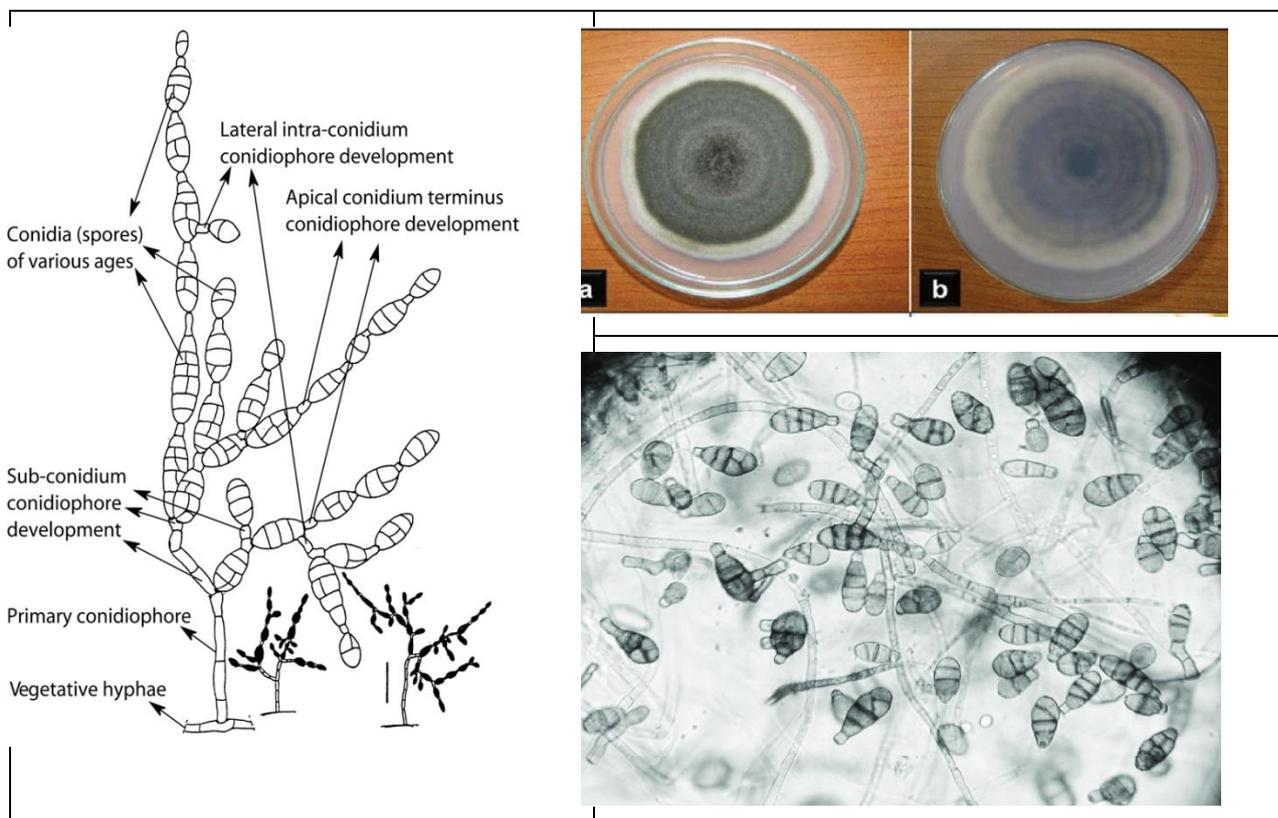
### a- Aspect macroscopique:

- l'aspect : duveteux, laineux, cotonneux, velouté, poudreux, granuleux ou glabre.
- le relief : plat, plissé ou cérébriforme.
- la taille : petite, étendue ou envahissante.
- la couleur: blanche, crème ou colorée (Verte, Brune, Orangée, Violette, Grises,...). La présence d'un pigment diffusant dans la gélose ainsi que certains paramètres telle la vitesse de la pousse des colonies ou la température de développement peuvent être de bons indicateurs pour l'identification d'une moisissure (Lecellier, 2013).

**b- Aspect microscopique:** lors de l'analyse microscopique des colonies, plusieurs structures des champignons filamenteux sont observées comme l'appareil végétatif, les organes de fructification et les spores :

- le thalle végétatif : septé (diamètre étroit et régulier de 2 à 5  $\mu\text{m}$ ) ou siphonné (filaments peu ou pas ramifiés, diamètre large et irrégulier de 5 à 15  $\mu\text{m}$ ), paroi pigmentée (mélanisée) ou non (hyaline). Les organes de fructifications (Figure 14) : présence ou non d'organes protecteurs des conidies, modes de formation des conidies (issues directement du thalle, solitaires (aleuriospores) ou en chaînes (arthrospores), ou produites par bourgeonnement et regroupées soit en grappes, en masse, en têtes ou en chaînes basipètes ou acropètes), modes d'implantation des cellules conidiogènes (sur le filament végétatif, porté sur les conidiophores dispersés ou groupés).

- les spores: endogènes (endospores) ou exogènes (conidiospores ou conidies), l'aspect des spores [améropores (unicellulaires et de petite taille), didymospores (bicellulaires) phragmospores (pluricellulaires à cloisons transversales), dictyospores (pluricellulaires à cloisons transversales et longitudinales), scolécospores (étroites et effilées)], présence ou non de chlamydospores (Lecellier, 2013).



**Figure 14.** Caractères morphologiques d'*Alternaria citri*

## 9. Habitat

Ils sont cosmopolites dans la distribution ou omniprésents (présents dans le sol, l'air et les résidus végétaux). Les espèces d'*Alternaria* existent sous forme de saprophytes, d'endophytes et d'agents pathogènes.

**9.1. Saprophyte :** La majorité des membres appartenant au genre *Alternaria* sont des saprophytes, ce qui signifie qu'ils vivent dans de la matière organique morte en décomposition.

**9.2. Endophyte :** Certaines espèces existent en tant qu'endophytes, ce qui signifie qu'elles habitent différentes parties des cultures, y compris le feuillage, les graines et les fruits.

**9.3. Pathogènes :** Quelques espèces se comportent comme des agents pathogènes opportunistes qui provoquent des infections chez les humains et les animaux.

## 10. Epidémie

Les conidies sont produites au printemps après l'inoculation primaire et la dispersion du vent vers les feuilles inférieures des plantes, où elles germent et infectent. La pluie, le vent et les insectes sont les principaux agents de dissémination du pathogène (**Rotem, 1994**). *A. solani* a des spores dispersées à sec, les conidies ont une paroi de couleur foncée avec des surfaces légèrement rugueuses et les conidies sont produites sur des conidiophores aériens loin de la surface de l'hôte (**Fitt et al., 1989**). **Pscheidt et Stevenson (1988)** ont observé que la sporulation se produit à des températures de 5 à 30°C sur les plants de pomme de terre avec un optimum autour de 20°C. **Rotem (1998)** a montré que l'alternariose causée par *A. solani* sur la pomme de terre et la tomate est plus grave dans les environnements plus chauds que dans les environnements plus frais. **Honda et Nemoto (1984)** ont montré que les conidiophores se forment la nuit ou le jour (à basse température) à l'intérieur des tissus hôtes. **Bashi et Rotem (1975)** ont observé que lorsque les tissus chlorotiques se nécrosent, la sporulation augmente et nécessite une longue période humide (**Rotem, 1998**) causée par la rosée, la pluie et une humidité relative élevée. Pour la production de conidies, les températures minimale (10°C), optimale (22,5°C) et maximale (30°C) sont respectivement requises. **Bashi et Rotem, (1975)** ont montré que la production de conidiophores nécessite une température comprise entre 27,5 et 35°C. **Wagoner et Parlange (1975)** ont observé que les tubes germinatifs pénètrent dans l'épiderme directement ou à travers les stomates qui provoquent l'infection du feuillage. Pour la germination des spores, les températures minimale, optimale et maximale requises sont respectivement de 4, 28 et 40 °C. L'humidité, les longues périodes de mouillage encouragent la germination et la production de toxines par *A. solani*, la cause de l'infection qui sont des toxines non spécifiques à l'hôte. Ces toxines perturbent les processus physiologiques normaux en agissant sur le protoplaste végétal de l'hôte qui maintient la santé de la plante (**Agrios, 1997**).

## 11. Méthodes de lutte

Plusieurs stratégies de gestion ont été proposées pour lutter contre les alternarioses des agrumes. Les pratiques culturales, la résistance des plantes hôtes, l'utilisation des extraits des plantes, la lutte biologique et l'utilisation de fongicides sont les principales méthodes adoptées pour lutter contre cette maladie.

### 11.1 Pratiques culturales

Plusieurs pratiques culturales peuvent réduire la maladie. Dans les pépinières, il est recommandé de cultiver des variétés d'agrumes résistantes pour éviter l'infection des jeunes pousses et empêcher la propagation de l'inoculum dans les nouvelles plantations d'agrumes. Les nouvelles plantations de variétés doivent être établies dans des sites ventilés où les conditions environnementales sont défavorables à l'infection par des agents pathogènes et à la formation de spores sur les jeunes feuilles (**Khanchouch et al., 2017**).

L'utilisation de systèmes d'irrigation sous les arbres ont réduit la sévérité des maladies. Un espacement et une bordure plus larges des arbres permettent une meilleure ventilation et semblent réduire la sévérité de la maladie. Il est recommandé depuis longtemps d'éviter les excès d'irrigation et de la fertilisation azotée pour éviter la production de grandes quantités de tissus sensibles (**Timmer et al., 2000**).

### 11.2 Lutte génétique

La résistance génétique reste le meilleur moyen pour le contrôle des maladies (**Vicent et al., 2004**). En général, la clémentine et la mandarine, les limes, les citrons et les oranges douces résistent à la tache brune d'*Alternaria* au champ. Des études menées par **Cuenca et al. (2016)** ont rapporté que la mandarine Dancy est le parent de la plupart des hybrides et des tangelos qui sont sensibles à la maladie.

### 11.3. L'utilisation des composés naturels et des extraits de plantes

L'effet antifongique des composés naturels dépend de leurs caractéristiques chimiques, des agents pathogènes, de la nature de l'hôte (**Mahdavi et al., 2013**). **Perina et al. (2019)** ont montré que l'huile essentielle de cannelle a diminué l'incidence de la maladie de la tache brune. Une étude menée par **Mahdavi et al. (2013)** a conclu qu'à 25 °C, les huiles essentielles de séné (*Cassia angustifolia*) et du basilic (*Ocimum basilicum*) et celles de la menthe (*Mentha pulegium*) inhibaient la croissance d'*A. Alternata*.

### 11.4 Lutte biologique

Il existe de nombreuses études menées sur la lutte biologique contre *A. Alternata* en utilisant des agents de lutte biologique. L'utilisation de *Trichoderma harzianum*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *Trichoderma album* a diminué l'incidence de la pourriture des agrumes. (Shehata et al., 2018).

### 11.5 Lutte chimique

La lutte contre l'*Alternaria* dépend encore largement des applications de fongicides (Vicent et al., 2007) et, dans certains cas, en fonction de la sensibilité de l'hôte et des conditions météorologiques, les producteurs peuvent appliquer de 2 à 15 pulvérisations de fongicides au cours de la saison de croissance (Vega et Dewdney, 2015).

Le mancozèbe et le métalaxyl + mancozèbe ont présenté une inhibition maximale de la croissance mycélienne d'*A. Citri*. (Farooq et al. 2018). L'azoxystrobine et le difénoconazole a présenté une inhibition maximale de la croissance mycélienne d'*A. Citri* jusqu'à 94,95% à une concentration de fongicide de 300 ppm. En plus, le chlorothalonil, l'hexaconazole, la dodine et le difénoconazole étaient les plus efficaces pour inhiber *A. citri*. L'étude a conclu que le fosétyl aluminium était le fongicide le moins efficace contre *A. citri*.

Score (250%) EC (Difenoconazole), Montoro (30%) EC (Propaconazole-Difenoconazole) et Iprodione (50%) G (Iprodione) étaient les plus efficaces contre *Alternariacitri*. (Shehata et al. 2018). Cependant, la résistance développée à l'Iprodione (Solel et al., 1997) limite son utilisation dans certains vergers. Stuart et al. (2009) ont rapporté que les pulvérisations foliaires de fongicides à base de cuivre sont recommandées pour contrôler et réduire la sévérité de la maladie de l'alternariose sur le terrain.

*Partie*  
*expérimentale*

# **Chapitre - I**

## **Matériels et méthodes**

## I. Matériels

### I.1 L'isolat fongique

L'isolat de l'*Alternaria* a été obtenu par isolement à partir de feuilles présentant des symptômes caractéristiques de la maladie.

### I.2 Enquêtes sur le terrain et isolement fongique

Les symptômes typiques de la tache brune causés par *Alternaria* sp. ont été trouvés sur différents hôtes et ont été identifiés comme étant ceux causés par *Alternaria* sp. Des symptômes ont été détectés sur les feuilles d'orange, dans un verger privé, et sur différents cultivars. Des lésions nécrotiques brunes à noires ont été observées sur les feuilles. Sur les feuilles d'orange, les premiers symptômes consistaient en de petites taches circulaires, devenues irrégulières par la suite, étendues à des lésions sombres entourées d'un halo chlorotique (Figure 15).

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 15.** Symptômes de la tache brune (photo original, 2023).

### I.3 Site d'échantillonnage

Une collection d'isolat fongiques a été établie dans un verger d'agrumes (*Citrus limon* var. et verger d'orange) dans la région de Souaflia (35°50'18.3"N 0°19'10.4"E) dans le nord-ouest d'Algérie. Des échantillons ont été prélevés sur des arbres présentant des symptômes visibles de la maladie. Un échantillonnage aléatoire a été utilisé présentant des lésions brunes et des fruits endommagés (Figure 16).

**Tableau 1.** Coordonnées géographiques des localités visitées

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

#### I.4 Isolement

L'isolat fongique 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 trempés pendant 3 min dans une solution d'hypochlorite de sodium à 1% pour la désinfection de surface et lavés trois fois avec de l'eau distillée stérile. Les morceaux de tissu ont été laissés séchés avec du papier de soie stérile pendant 1 min, ensuite, ceux-ci ont été placés sur des boîtes de Pétri contenant de la Potato-Dextrose Agar (PDA) et incubés pendant 5 jours à 25°C. Identification morphologique préliminaire par sporulation (taille et forme des spores) a été utilisée pour caractériser l'espèce de champignons. L'isolat sélectionné a été conservé dans du PDA à 4°C après son utilisation.



**Figure 16.** Localisation du site d'échantillonnage

#### I.5 Milieu de culture utilisée

Au cours de notre expérimentation on a utilisé le milieu PDA. 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 :

- Pomme de terre.....200g
- Glucose.....20g
- Agar agar.....20g
- Eau distillé.....1000 ml

## I.6 Matériel végétal et huiles essentielle

- L'huile essentielle nous a été fournie par laboratoire de recherche de « *Biologie Végétale* » de l'université d'Abd Elhamid Ibn Badis-Mostaganem

**Tableau 2.** Matériel végétal et huile essentielle

Nom vernaculaire	famille	Espèce	Molécule
Orange	Rutacées	<i>Citrus sinensis L.</i>	Limonène

## II-Méthodes

### II.1-Détermination de l'espèce

Les caractères, la couleur et le diamètre des colonies ont été observés/mesurés. Les cultures ont été examinées au fil du temps pour le développement des conidiophores et des conides. Les caractéristiques morphologiques ont été examinées en montant des structures fongiques à un grossissement de 400X ont été déterminées à l'aide d'un microscope.

### II.2 Détermination l'activité antifongique d'huile de citrus

#### II.2.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice

A l'issue de cette étude préliminaire, 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'huile a été ensuite diluée dans des tubes stériles contenant de l'eau distillée, de manière à obtenir des concentrations de 0.01 ; 0.1 ; 1 ; 3 ; 5 et 10%. La solution obtenue est agitée au vortex pendant 3 min de sorte à avoir une bonne homogénéisation.

#### II.2.2-Effet d'huile sur la croissance mycélienne (Méthode de contact direct)

Dans les boites de Pétri, 200µl par une micropipette de chaque concentration d'huile préalablement préparée sont distribués distinctement sur des boites gélosées puis homogénéisés dans tous les sens de sorte à couvrir toute la surface de la boîte gélosée. Un disque mycélien de 4 mm de diamètre, prélevés à partir de la zone de croissance active d'une culture d'une semaine, est placé au centre d'une boîte de pétri. L'incubation se fait à l'obscurité pendant 6 j 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 mycélium dans les boîtes « témoins positifs »

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

### **II.3 Test de l'efficacité in vitro des sels $\text{CaCl}_2$ , $\text{CaCO}_3$ et $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sur *Alternaria* sp**

Actuellement, la lutte contre *Alternaria* s'effectue principalement au moyen de produits phytosanitaires. Ces produits chimiques sont considérés comme l'arme la plus utilisée pour faire face à ce problème. Cependant, malgré la diversité des produits utilisés, des cas de résistance à divers produits ont été détectés. Ces phénomènes de résistance constituent un problème dans la lutte contre *Alternaria*, justifiant ainsi l'intérêt actuel pour l'étude de méthodes alternatives aux produits de synthèses.

Afin d'évaluer l'effet des éléments minéraux sur la croissance et le développement d'*Alternaria*, le champignon a été cultivé en boîte de Pétri sur gélose nutritive (PDA), amendé par des concentrations croissantes (1 ; 3 ; 6 et 10%) en  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaCO}_3$  et  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .

Pour cette méthode, la croissance mycélienne (CM) a été évaluée hebdomadairement en mesurant la surface de gélose couverte par le mycélium. Elle a été calculée selon la formule (1) et exprimée en cm.

## *Chapitre II*

### *Résultats et discussion*

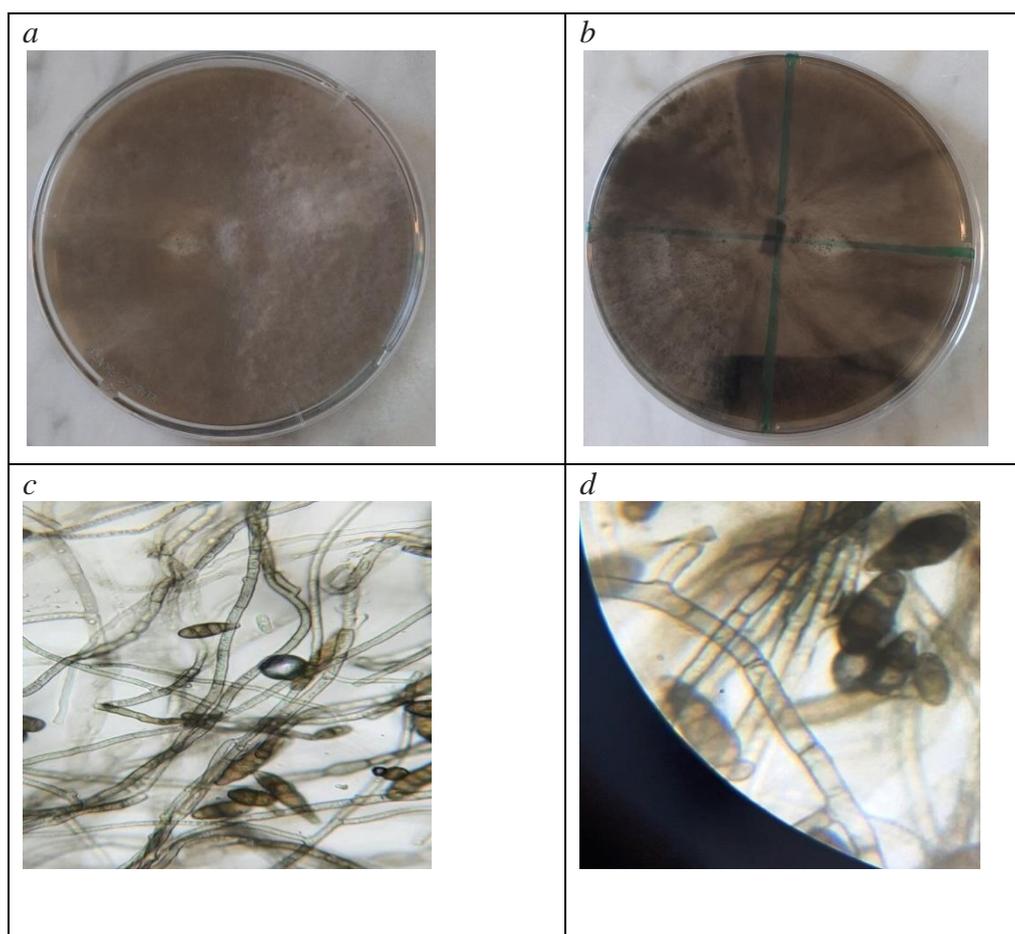
## I. Résultats

### I.1 Isolement et pré-identification de champignon

En particulier, des échantillons de feuilles présentant des symptômes évidents d'*Alternaria* (Des lésions nécrotiques brunes à noires ont été observées sur les feuilles).

Une caractérisation phénotypique générale a été réalisée pour cet isolat, qui présentait des traits morphologiques similaires tels qu'un mycélium gris et des spores. Les résultats morphologiques montrent que les colonies typiques d'*Alternaria* sont brunes à noires lorsqu'elles sont cultivées sur PDA (Figure 1). L'isolat produit généralement une colonie de plus de 80 mm de diamètre après 7 jours avec un mycélium aérien, dense plus ou moins cotonneux et de couleur brun à gris, le revers est gris foncé.

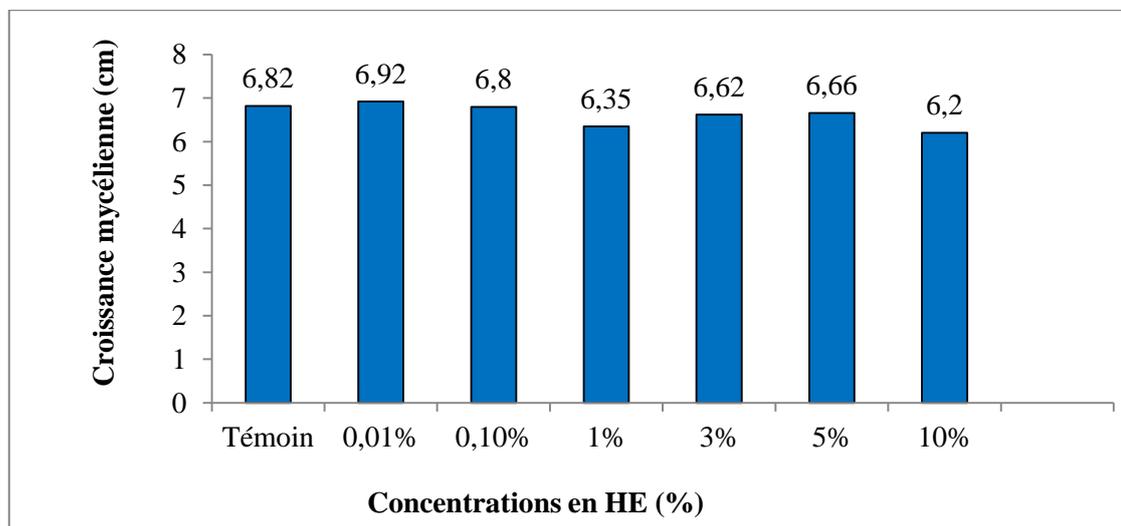
Les spores sont de couleur brune à grise disposées en chaînes ramifiées, forme ovale, avec 1–4 septa transversaux et 1–2 septa longitudinaux. Les hyphes sont gris clair et cloisonnés. La forme de spores ressemblait à celui d'*A. alternata*



**Figure 17.** Aspect culturel d'*Alternaria* sp. sur PDA: (a) sommet de la culture;(b) le fond de laculture(c) spores (d) mycélium.

### I.2 Action *in vitro* d'huile d'orange sur la croissance mycélienne d'*Alternaria*

L'huile d'orange a été testée pour son effet antifongique sur la croissance mycélienne d'*Alternaria* agent responsable de la tache brune d'agrumes. Six doses d'huile essentielle d'orange ont été testées sur la croissance mycélienne d'*Alternaria* sur des plaques PDA pendant 5 jours à 25°C dans l'obscurité.



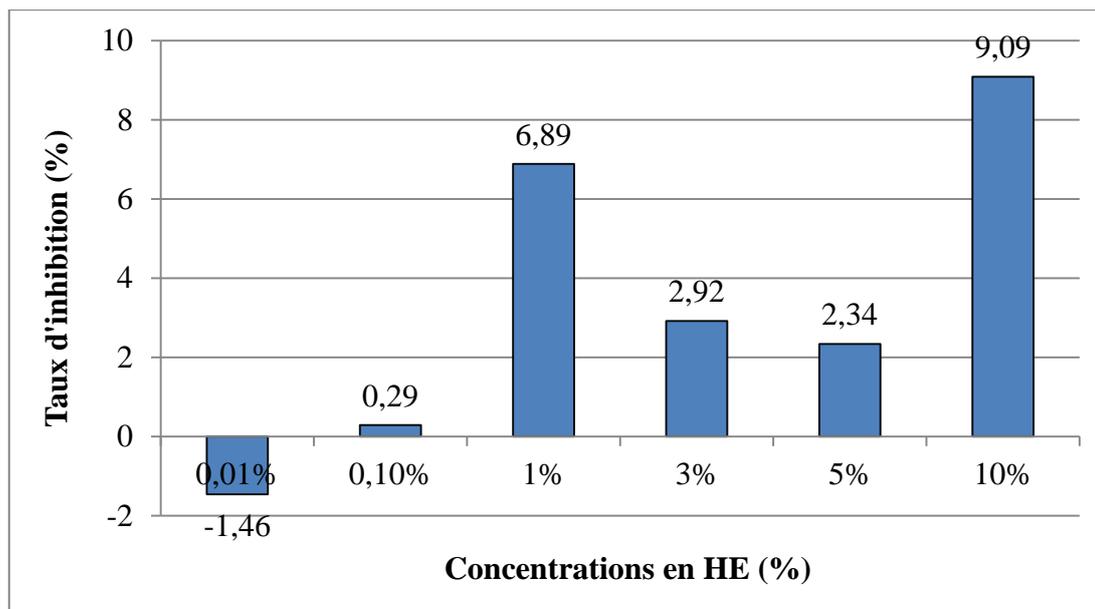
**Figure 18.** Effet d'huile essentielle d'orange sur la croissance mycélienne d'*Alternaria* après 5 jours d'incubation.

Les résultats d'effet inhibiteur d'huile essentielle d'orange sur la croissance mycélienne du champignon sont présentés dans la figure 18. L'effet inhibiteur d'HE dans la méthode de la dilution a montré que d'huile essentielle d'orange est moins efficace pour empêcher la croissance d'*Alternaria* à différentes concentrations. La croissance fongique maximale a été enregistrée par le témoin (6,82 cm) après 5 jours d'incubation. La plus faible croissance mycélienne (6,2 cm) a été obtenue à 10% par rapport au témoin (6,82 cm).

### I.3. Effet d'huile essentielle d'orange sur le taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne après 5 jours d'incubation

L'activité antifongique d'HE a été testée pour identifier l'activité directe d'HE par opposition au contact direct avec l'huile dans la méthode de dilution en gélose. L'effet sur la croissance mycélienne est évalué en comparant les zones de croissance avec celle observée pour le témoin. Les résultats sont exprimés en taux d'inhibition, qui est calculé comme le rapport de la surface d'*Alternaria* en présence et en l'absence de l'HE d'orange, et ils sont résumés dans la figure 19.

Six concentrations ont montré un faible d'inhibition de la croissance mycélienne qui était  $\leq 10$  % pour cet agent pathogène testé dans cette étude.



**Figure 19.** Effet d'huile essentielle d'orange sur le taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne après 5 jours d'incubation

À une concentration de 0.01% d'huile, une stimulation de la croissance mycélienne était de 1.46 %. En effet, une inhibition de la croissance mycélienne a été enregistrée à 6.89 % pour une concentration de 1% d'huile essentielle d'orange; cette valeur était supérieure à celle de 0.29 % d'inhibition chez la concentration de 0.1%.

Les résultats, comme on le voit dans Figure 19, ont montré que le moindre effet a également été observé pour l'ensemble des concentrations. L'huile essentielle d'orange n'est pas considérée comme efficace dans cette étude. En effet, la plus faible concentration d'HE à laquelle 50 % l'inhibition de la croissance mycélienne était absente. Cela implique qu'il n'y a pas eu d'effet antifongique d'HE à une dilution de 0.01; 0.1; 1; 3; 5 et 10% sur le taux d'inhibition.

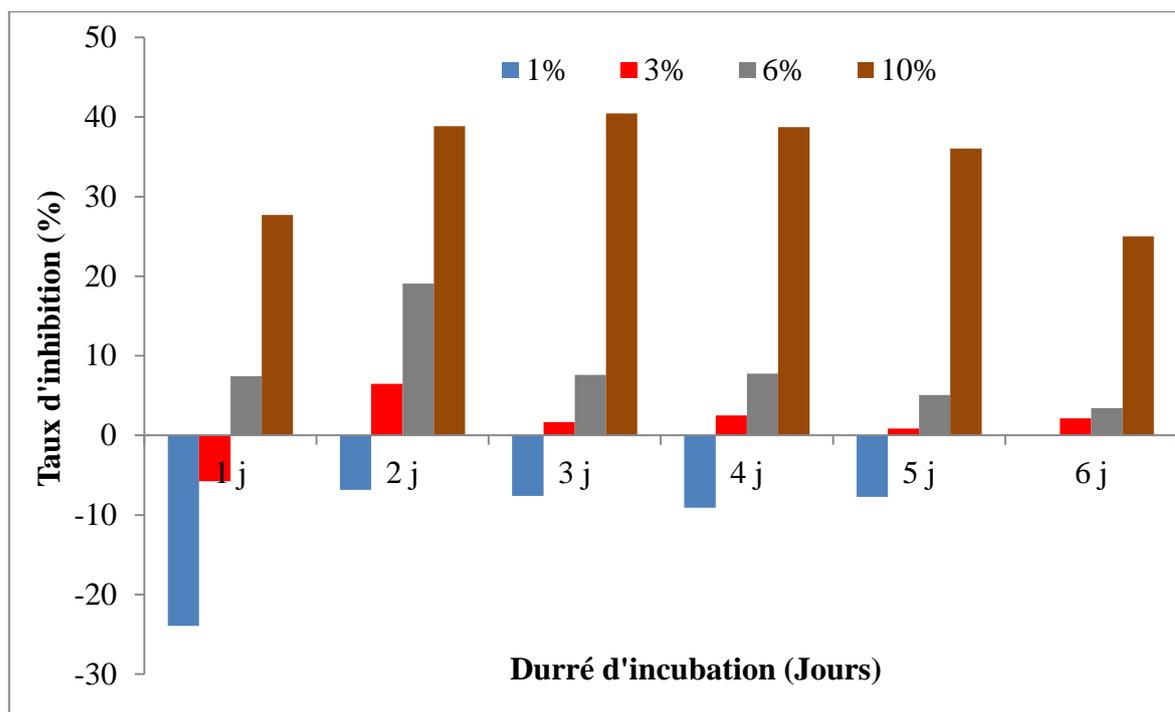
### I.3 Action des sels sur la croissance mycélienne d'*Alternaria*

#### I.3.1 Action d'hydroxyde de calcium ( $\text{CaOH}_2$ ) sur la croissance mycélienne d'*Alternaria*

L'inhibition de la croissance mycélienne d'*Alternaria* testé par hydroxyde de calcium ( $\text{CaOH}_2$ ) après six jours d'incubation varie de 0 % à 25% (Figure 20). Le taux le plus élevé a été obtenu à 10% tant que le plus bas d'inhibition de la croissance mycélienne par  $\text{CaOH}_2$  à une concentration de 1 % (0%).

Au 1<sup>er</sup> jour d'incubation, la croissance mycélienne de champignon testée à 1% avait dépassé le diamètre des boîtes de Pétri de témoin, en effet, le mycélium d'*Alternaria* a pu croître et produire à nouveau son mycélium lentement sur les plaques PDA. Par conséquent, l'évaluation du taux d'inhibition de la croissance n'a pas été observée après 6 jours. Le taux d'inhibition de  $\text{CaOH}_2$  sur la croissance mycélienne était la plus importante après 4 jours (40.47%), tandis que la plus faible a été observée au 1<sup>er</sup> jour.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de  $\text{CaOH}_2$  sur *Alternaria* était supérieure de 10%.



**Figure 20.** Effet in vitro d'hydroxyde de calcium ( $\text{CaOH}_2$ ) sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne d'*Alternaria*

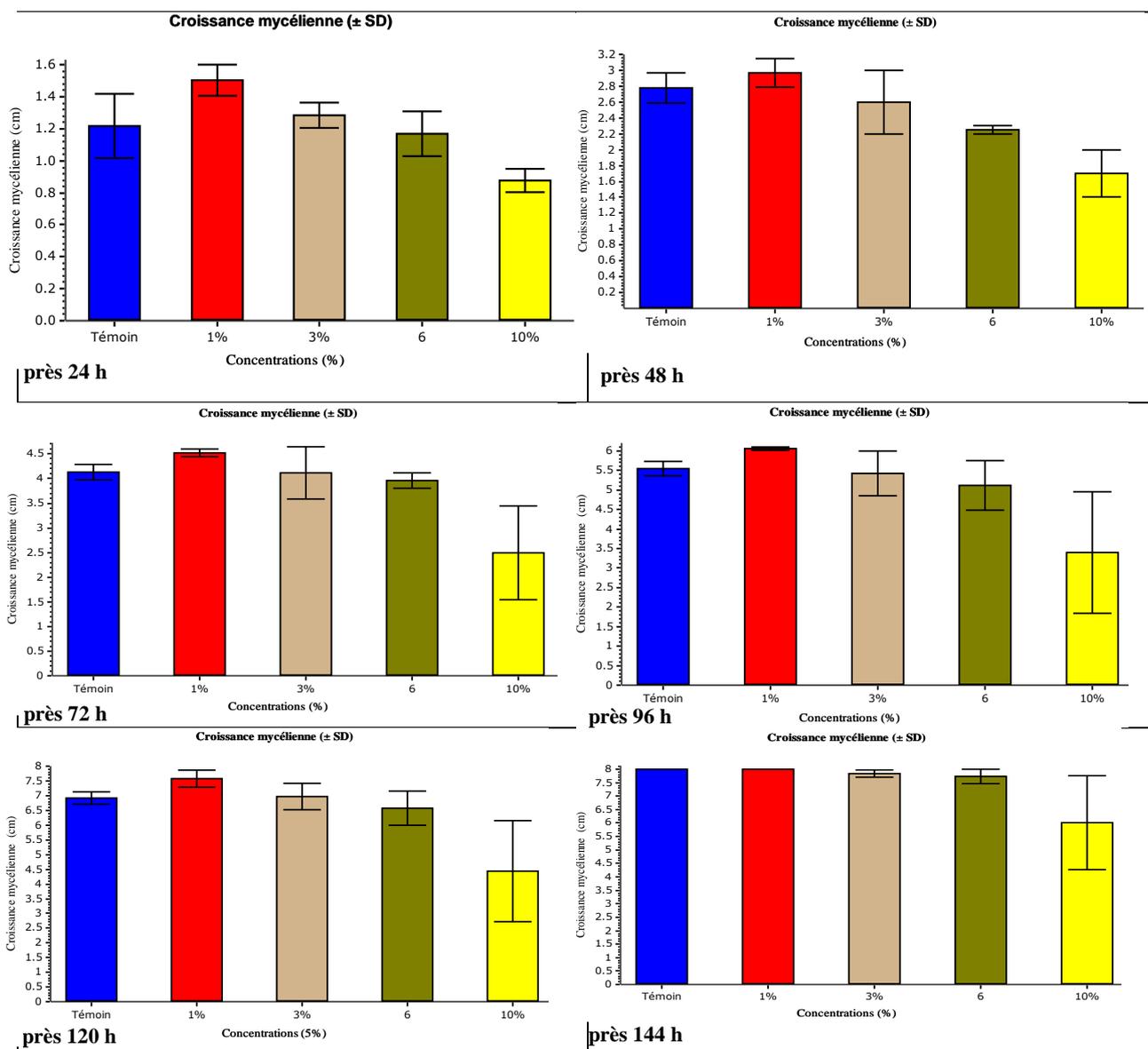


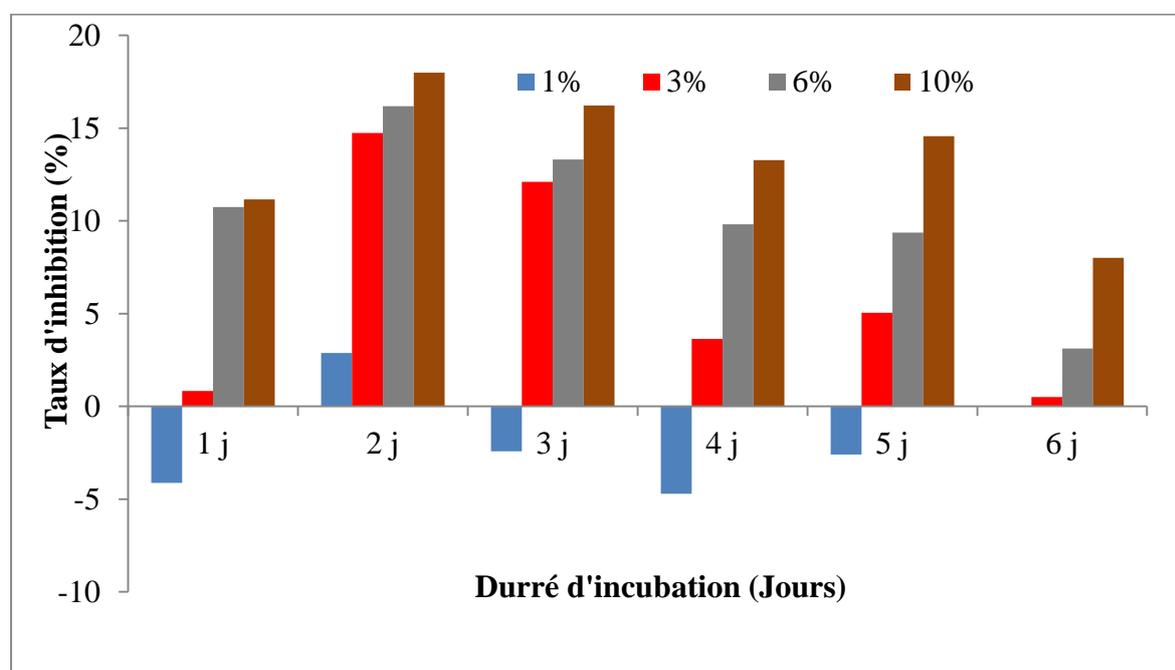
Figure 21. Effet *in vitro* d'hydroxyde de calcium (CaOH<sub>2</sub>) sur la croissance mycélienne d'*Alternaria*.

### I.3.2 Action de chlorure de calcium (CaCl<sub>2</sub>) sur la croissance mycélienne d'Alternaria

Cette étude a évalué l'activité de CaCl<sub>2</sub> contre d'Alternaria *in vitro* à 4 concentrations. L'effet de CaCl<sub>2</sub> à différentes concentrations sur la croissance mycélienne dans le PDA a été observé après 6 jours. Les résultats sont présentés dans la figure 22.

Le chlorure de calcium à 1% a stimulé la croissance mycélienne par rapport au témoin. Cependant, des concentrations plus élevées de chlorure de calcium (3, 6 et 10 %) ont entraîné une réduction de la croissance de 0.5 ; 3.12 et 8% respectivement. La croissance réduite a été corrélée avec l'augmentation du CaCl<sub>2</sub> du milieu.

La figure montre que  $\geq 10\%$  de concentration sont nécessaires pour atteindre la CMI. Des concentrations plus élevées sont nécessaires pour l'Alternaria qui est plus résistante aux ces doses appliqués.



**Figure 22.** Effet *in vitro* de chlorure de calcium (CaCl<sub>2</sub>) sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne d'Alternaria.

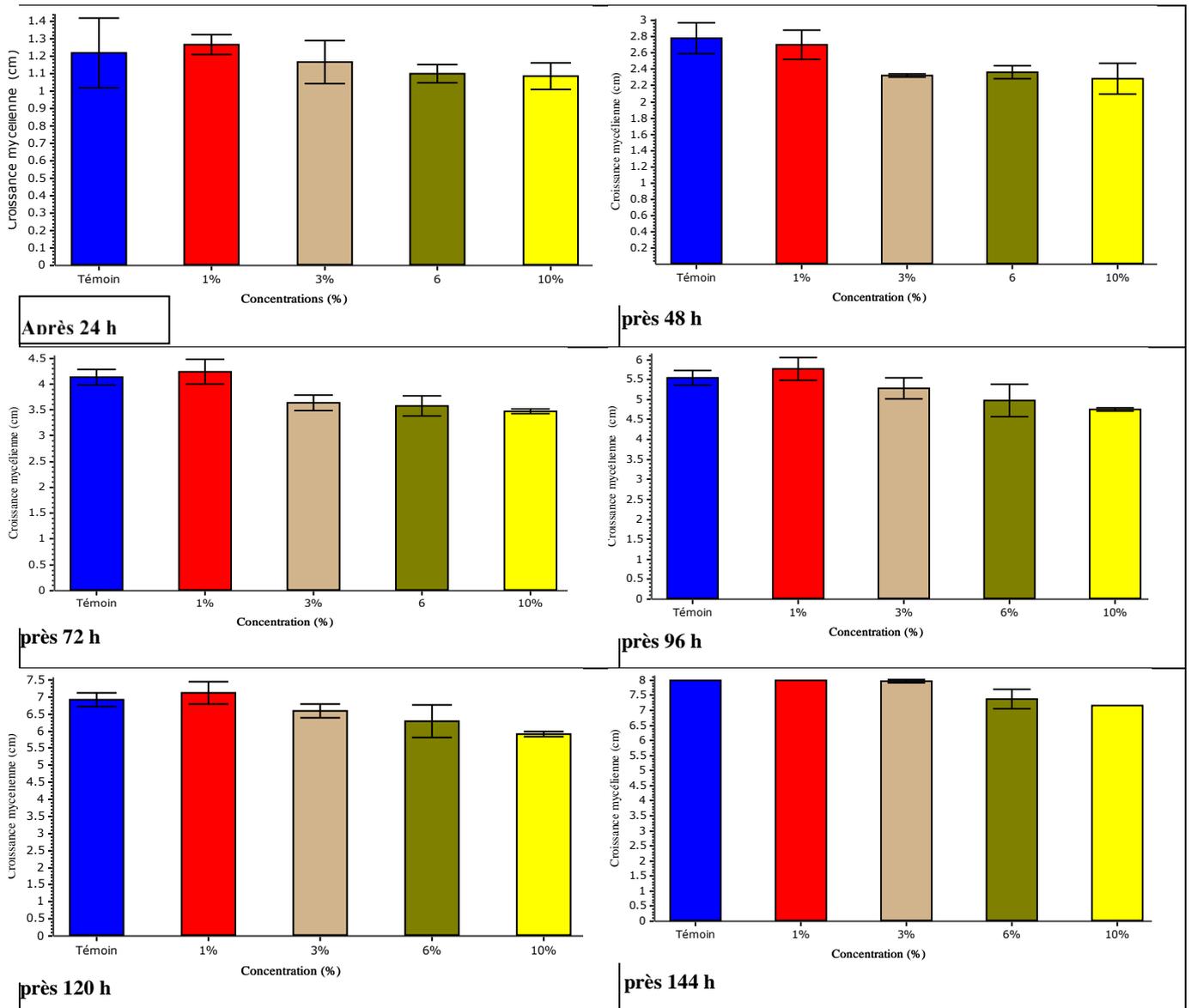
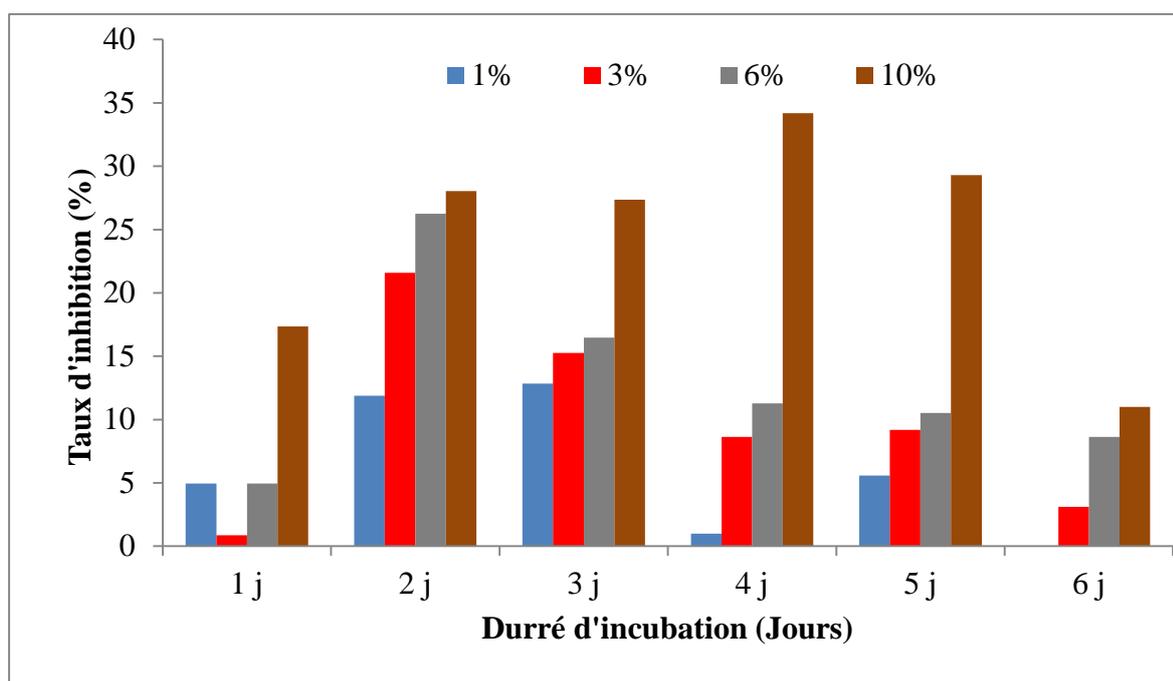


Figure 23. Effet *in vitro* chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) sur la croissance mycélienne d'*Alternaria*.

### I.3.3 Action de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) sur la croissance mycélienne d'*Alternaria*

Les données indiquent également que l'application de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) à des doses comprises de 1 à 10% ne permet pas d'atteindre la CMI. Ces résultats suggèrent que ces doses ne sont pas suffisamment efficaces pour lutter contre les champignons et que des doses plus fortes sont nécessaires pour atteindre la concentration minimale inhibitrice.

Des concentrations de carbonate de calcium (3, 6 et 10 %) ont entraîné des taux d'inhibitions de 3.12 ; 8.62 et 11% respectivement. Des taux d'inhibitions augmente ont été corrélés avec l'augmentation du  $\text{CaCO}_3$  du milieu (Figure24).



**Figure 24.** Effet *in vitro* de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne d'*Alternaria*.

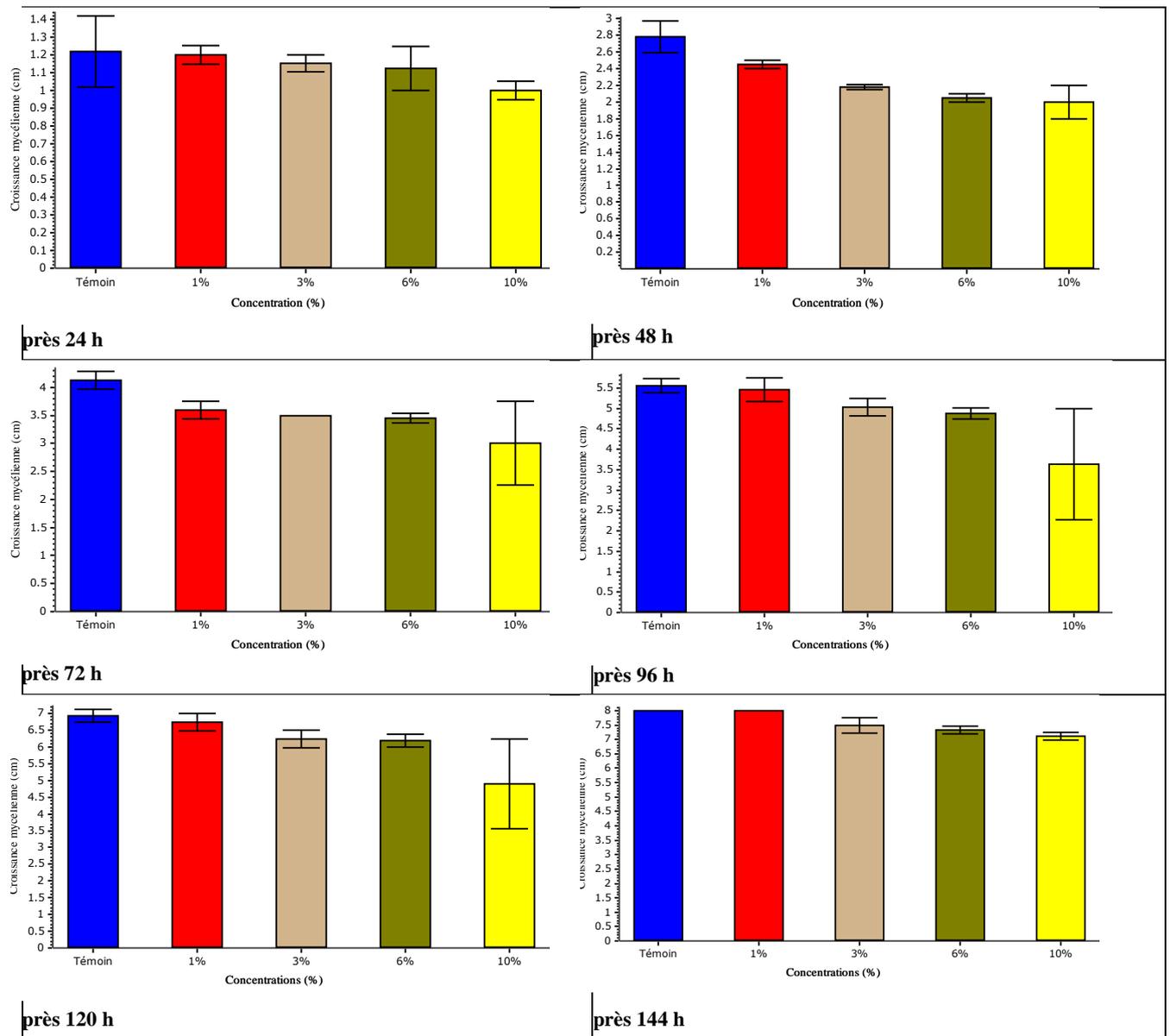


Figure 25. Effet *in vitro* de carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>) sur la croissance mycélienne d'*Alternaria*.

### I.1.3- La comparaison entre le pouvoir antifongique des différents sels (CaOH<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> et CaCO<sub>3</sub>)

La comparaison entre les effets des différents sels sur *Alternaria*, montre qu'hydroxyde de calcium présente le meilleur effet inhibiteur de croissance mycélienne pour un taux d'inhibition de 25%, suivi du CaCO<sub>3</sub> (11%) puis CaCl<sub>2</sub> (8%) (Tableau 03).

Les données montrent que, même à hautes doses (10%), l'application de 3 sels ne parvient pas à atteindre la concentration minimale inhibitrice, ce qui suggère qu'il n'est pas très efficace pour lutter contre l'*Alternaria*. Il semble que la dose recommandée de 3 sels soit supérieur à 10%.

**Tableau 04 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents sels ; CaOH<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> et CaCO<sub>3</sub>

Sels	Concentrations (%)			
	1%	3%	6%	10%
hydroxyde de calcium (CaOH <sub>2</sub> )	0	2.15	3.43	<b>25</b>
Chlorure de calcium (CaCl <sub>2</sub> )	0	0.5	3.12	<b>8</b>
Carbonate de calcium (CaCO <sub>3</sub> )	0	3.12	8.62	<b>11</b>

## II. Discussion

Au cours des dernières décennies, il y a eu une demande croissante pour réduire l'utilisation de substances chimiques dans les industries phytosanitaires et alimentaires; par conséquent, les composés naturels tels que les huiles essentielles ont été étudiés de manière intensive.

Dans cette étude, un isolat d'*Alternaria* a été identifié comme 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, il s'agit du premier signalement d'*Alternaria* causant des taches brunes des feuilles d'orange dans cette région.

Comme seule une approche polyphasique pouvait permettre l'identification précise du genre *Alternaria* (Andersen et al. 2008; Brun et al. 2013), des approches à la fois morphologiques et moléculaires ont été utilisées.

En ce qui concerne les caractéristiques morphologiques, PDA a été utilisé comme recommandé par Simmons (2007) et Pryor et Michailides (2002). Les caractéristiques

macros et microscopiques de cet isolat a été identifié. Cette identification concorde avec d'autres rapports sur le même hôte et d'autres hôtes (**Garganese et al. 2016 ; Aloï et al. 2021**).

La lutte contre les maladies infectieuses peut se faire par différentes méthodes. Les fongicides sont couramment utilisés pour lutter contre l'*Alternaria*. Le criblage de différents produits et la rotation de l'utilisation de fongicides peuvent représenter une approche efficace pour gérer la maladie foliaire causée par *Alternaria* et éviter les pertes économiques.

Dans cette étude deux produits ont été testés, organique (huile essentielle d'orange) et inorganiques ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaCO}_3$  et  $\text{CaOH}_2$ ). Des tests comparatifs *in vitro* ont été effectués pour comparer les concentrations minimales inhibitrices  $\text{CL}_{50}$ . Les résultats ont montré que l'huile essentielle d'orange et 3 sels calciques ont également des niveaux faibles d'antifongique.

L'huile essentielle a également tendance à être naturellement moins toxique et plus sûrs, car il est compatible avec l'utilisation d'ennemis naturels. De nombreuses études ont démontré la capacité de plusieurs huiles essentielles à posséder des activités antibactériennes, antifongiques, antivirales, antioxydantes, et à jouer un rôle important dans la protection des plantes contre les phytopathogènes *in vitro* et *in vivo* (**Mollaei et al., 2011 ; Reddy et al., 2009**).

La présente étude a démontré également que l'huile essentielle d'orange présente un faible taux d'inhibition sur la croissance mycélienne d'*Alternaria*. En effet, la plus faible concentration d'HE à laquelle 50 % l'inhibition de la croissance mycélienne était supérieure de 10%.

**Perczak et al. (2019)** ont démontré l'activité la plus élevée de quelques huiles essentielles, le clou de girofle, le thym et la citronnelle, inhibant complètement la croissance des quatre espèces de *Fusarium* à une concentration de 1000  $\mu\text{l/l}$ . Selon ces auteurs, une réduction la plus faible a été observée pour une combinaison d'HE de mandarine, de pamplemousse et d'orange, ce qui a entraîné une réduction de la croissance du mycélium jusqu'à 25 %. La valeur de CMI la plus basse a été déterminée pour l'huile de citronnelle, qui a inhibé la croissance de *F. oxysporum* et une souche de *F. circinatum* à des concentrations de 0.03% et 0.04%, respectivement.

En comparant notre résultat avec les travaux précédents, les doses appliquées dans cette étude ne produisent aucune CMI par rapport aux autres études, ce qui suggère que cet isolat est résistant à toutes les doses testées. Cependant, nous avons trouvé un léger effet (0.3 à 9%) lorsque l'isolat a été exposé à ces doses

À travers ces résultats, on peut suggérer que l'activité antifongique d'orange est due principalement à son profil chimique riche en *limonène* qui est très actif contre différents micro-organismes (Velázquez-Nuñez et al., 2013).

Fisher et Phillips (2008), ont constaté que les composants des huiles essentielles de citron (*Citrus limon* L.), d'orange (*Citrus sinensis* L.) et de bergamote (*Citrus bergamia*) sont efficaces pour le contrôle des pathogènes dans les fruits ; l'efficacité est due au fait que les huiles d'agrumes présentent dans leur composition chimique des terpènes tels que le limonène (92,52 à 97,3 %) et le  $\beta$ -pinène (1,37 à 1,82 %) (Hosni et al., 2010). De même, DiVaio et al. (2010) ont déterminé que le composant principal de l'huile essentielle de citron était le limonène, qui représentait entre 72,5 et 76,4 %, suivi du  $\beta$ -pinène (11,6-18,7 %). D'autre part, Marei et al (2012) ont rapporté que trois monoterpènes (thymol, (S)-limonène et 1,8-cinéole) ont des propriétés antifongiques efficaces, en inhibant la croissance mycélienne des champignons *Rhizoctonia solani*, *F. oxysporum*, *P. digitatum* et *A. niger*. L'évaluation de l'activité antifongique de ces huiles essentielles a révélé que leur taux d'inhibition varie selon plusieurs facteurs, dont la nature et la concentration de l'huile essentielle ainsi que de la souche fongique utilisée.

Les résultats de la présente étude démontrent qu'il a également été démontré que les sels de calcium réduisent la croissance mycélienne *in vitro* ; le pourcentage de réduction variait entre 8 et 25 % par rapport au témoin.

Plusieurs études ont rapporté que les applications de calcium peuvent supprimer les maladies causées par plusieurs agents pathogènes (Boumaaza et al., 2015a ; Biggs et al., 1997). Notre résultat confirme en outre les résultats de Maouni et al. (2007), qui ont découvert que le chlorure de calcium réduisait significativement la pourriture des poires causée par *A. alternata* et *Penicillium expansum* lorsqu'il était utilisé à 4 et 6 %. Tian et al. (2002) ont rapporté que le chlorure de calcium à 2 % inhibait la croissance et la germination des spores de *R. stolonifer*, bien que  $\text{CaCl}_2$  ait été toléré par *Alternaria alternata* et *P. expansum* *in vitro*.

Dans la comparaison de l'effet inhibiteur des différents sels sur *Alternaria*, Hydroxyde de calcium ( $\text{CaOH}_2$ ) à des concentrations de 10% a réduit la croissance mycélienne à 25 %, suivi du  $\text{CaCO}_3$  (11%) puis  $\text{CaCl}_2$  (8%) .

Des études récentes ont démontré que l'hydroxyde de calcium peut être moins efficace ou inadéquat par rapport à d'autres sels (Zancan et al., 2016). Selon cet auteur, l'hydroxyde

de calcium seul s'est avéré insuffisant pour éliminer les bactéries. En fait, il est bien connu que l'environnement alcalin créé par le pH élevé de l'hydroxyde de calcium est insuffisant pour détruire à lui seul les bactéries.

L'hydroxyde de calcium est un sel généralement utilisé en endodontie et possède une propriété antimicrobienne liée à la libération d'ions hydroxyle (**Ballal et al., 2007**). Bien que l'hydroxyde de calcium élimine efficacement la plupart des agents pathogènes, des études ont démontré que *E. faecalis* et *C. albicans* sont résistants à l'hydroxyde de calcium (**Turk et al., 2009**).

Les ions calcium peuvent réduire l'incidence des infections fongiques en inhibant directement la croissance fongique et en inhibant les enzymes dégradant la paroi cellulaire produites par les agents pathogènes (**Droby et al., 1997**).

## *Conclusion*

## Conclusion

Un isolat d'*Alternaria* a été identifié comme agent responsable de la tache brune des feuilles d'oranger dans les principales régions productrices d'agrumes du Nord-ouest d'Algérie (Mostaganem). Les caractéristiques macros et microscopiques de cet isolat a été identifié.

Dans cette étude deux produits ont été testés, organique (huile essentielle d'orange) et inorganiques ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaCO}_3$  et  $\text{CaOH}_2$ ). Les résultats ont montré que l'huile essentielle d'orange et 3 sels calciques ont également des niveaux faibles d'antifongique. En effet, la plus faible concentration d'HE à laquelle 50 % l'inhibition de la croissance mycélienne était supérieure de 10%.

Ila également montré que les sels de calcium réduisent la croissance mycélienne *in vitro*; le pourcentage de réduction variait entre 8 et 25 % par rapport au témoin. L'étude a révélé que l'utilisation de sels de calcium comme agent antifongique *in vitro* est très prometteuse, car elle permet de réduire la croissance mycélienne d'un pourcentage important. Les résultats suggèrent que le calcium est un antifongique potentiellement efficace pour la prévention des infections fongiques lorsqu'il est utilisé à des concentrations appropriées. De cet effet, et comme perspectives on propose de :

Tester l'efficacité des sels de calcium contre les champignons pathogènes *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 sensibilité à la dilution en double dilution (MST), le test de diffusion en disque (Kirby-Bauer) et le test de sensibilité aux concentrations graduées (MCS).

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

### Références bibliographiques

- Agrios, GN. (2005). Plant pathology, 5th ed., New York, Elsevier.
- Agrios, GN. (1997). Plant Pathology. Academic Press, New York, USA.
- Ahlawat, YS., Pant, RP., Lockhart, BE., Srivastava, M., Chakraborty, NK., Varma, A. (1996). Association d'un badnavirus avec la maladie de la mosaïque des agrumes en Inde. *Usine Dis.* 80, 590-592.
- Ahlawat, YS. (2000). Mosaïque jaune. Dans : Timmer P, Garnsey SM, Graham T, éditeurs. Compendium des maladies des agrumes. 2. Washington, D.C. : APS Press, p. 63–64.
- Ahlawat, YS., Pant, RP., Lockhart, BEL., Srivastava, M., Chakraborty, NK., Varma, A. (1996). Association of badnavirus with citrus mosaic disease in India. *Plant Dis.* 80: 590-592.
- Ahlawat, YS., Baranwal, K., Thinley, DD., & Mazumder, S. (2000). First report of citrus greening disease and associated bacterium *Candidatus Liberibacter asiaticus* from Bhutan. *Plant Dis.* 87, 448.
- Aiello D., Guarnaccia, V., Azzaro, A., Polizzi, G. (2020). Alternaria brown spot on new clones of sweet orange and lemon in Italy. *Phytopathologia Mediterranea* 59(1), 131-145.
- Akimitsu, K., Peever, TL., & Timmer, LW. (2003). Alternaria diseases of citrus-novel pathosystems. *Phytopathologia Mediterranea.* 42, 99-112.
- Al-Dulaimi, FTR., Al-Kaisse, AA., Al-Rubaye, LA., Abdulwadood, MA. (2018). First report of citrus bacterial canker caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in Iraq. *Journal of Biotechnology Research Center*, 12(2) 24-31.
- Aloi, F, Riolo M., Sanzani, SM., Mincuzzi, A., Ippolito, A., Siciliano, I., Pane, A., Gullino, ML., Cacciola, SO. (2021). Characterization of Alternaria species associated with heart rot of pomegranate fruit. *J. Fungi.* 7 : 3, 172; <https://doi.org/10.3390/jof7030172>
- Andersen, B., Dongo, A., & Pryor, BM. (2008). Secondary metabolite profiling of *Alternaria dauci*, *A. porri*, *A. solani*, and *A. tomatophila*. *Mycological Research*, 112 : 2, 241-250.
- Andersen, B., Nielsen, KF., Pinto, VF & Patriarca. (2015). A. Characterization of Alternaria strains from Argentinean blueberry, tomato, walnut and wheat. *Int. J. Food Microbiol.* 196, 1–10.
- Azevedo, FA., de Milaneze, TF., Conceição, PM., da Pacheco, C., Martinelli, R., Bastianel, M. (2019). Winter pruning: Option for management against alternaria brown spot (*Alteraria alternata* f. sp. *Citri*) in Honey *Murcott tangor* [**Citrus reticulata** Blanco x *C. sinensis* (L.) Osbeck]. *Australian Journal of Crop Science*, 13 :10, 1631-1637.

## Références bibliographiques

- Ballal, V., Kundabala, M., Acharya, S & Ballal, M. (2007). Action antimicrobienne de l'hydroxyde de calcium, de la chlorhexidine et de leur association sur les pathogènes endodontiques. *Aust Dent J*, 52 : 2, 118–121.
- Barboni, EM., Kemeny, S., Campos, CA., Vernon. (1987). The purification of acid phosphatase from honey bee venom (*Apis mellifica*). *Toxicon*. 25, Issue 10, 1097-1103.
- Barboni, P. (2006). Citrus production and processing. Boca Raton, Florida : CRC Press.
- Bashi, E. & Rotem, J. (1975). Host and biotic factors affecting sporulation of *Stemphylium botryosum* f. sp. *Lycopersici* on tomatoes and of *Alternaria porri* f. species; solani on potatoes. *Phytoparasitica*. 3,27-38.
- Biggs, AR., El-Kholi, MM., El-Neshawy, S., and Nickerson, R. (1997). Effects of calcium salts on growth, polygalacturonase activity, and infection of peach fruit by *Monilinia fructicola*. *Plant Disease*, 81 :4 : 399–403.
- Bliss, DE & Fawcett, HS. (1944). La morphologie et la taxonomie d'*Alternaria citri*. *Mycologie*. 36 : 5, 469 – 502.
- Boumaaza, B., Benkhelifa, M., & Belkhouidja, M. (2015). Effects of two salt compounds on mycelial growth, sporulation and spore germination of six isolates of *Botrytis cinerea* in Northwest Algeria. *International Journal of Microbiology*, 9 : 24, 1650-1657.
- Bové, JM. (2006) Huanglongbing: A destructive, Newly-Emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology*. 88, 7-37.
- Bove, JM. (2006). *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae): a global pest of citrus. *Annual Review of Entomology*, 51 : 1, 407-430.
- Bradbury, JF. (1986). Guide des bactéries phytopathogènes. Londres, Royaume-Uni : CAB International Mycological Institute. 154 – 77.
- Brentu, F., Weltzien, C., Laimon, M., Picozzi, K., & Ciampitti, I. (2012). *Mycosphaerella citri*: from pathogen to endophyte. *Plant Disease*, 96 :1, 1-12.
- Brun, S., Madrid, H., Gerrits Van Den Ende B., Andersen, B., Marinach-Patrice C., Mazier, D. (2013). Multilocus phylogeny and MALDI-TOF analysis of the plant pathogenic species *Alternaria dauci* and relatives. *Fungal Biol*. 117 : 1, 32–40.
- Burbank, LP & Ochoa, J. (2022). Preuve de l'élicitation d'une explosion oxydative chez *Vitis vinifera* par *Xylella fastidiosa* Cold Shock Protein Peptide csp20. *Phyto-Fraontier*. 2 : 4, 2690-5442.
- Burbank, LP. (2022). Threat of *Xylella fastidiosa* and options for mitigation in infected plants. *Journal of Plant Pathology*, 104 : 1, 1-16.
- CABI (2019) Compendium des espèces envahissantes. CAB International, Wallingford, Royaume-Uni. [www.cabi.org/isc](http://www.cabi.org/isc).
- Campos-Rivela, JM., Martínez, FMT., Navarro-Campos, C., & García Marí, F. (2017). First damage caused by *Chaetanaphothrips orchidii* (Moulton) (Thysanoptera :

## Références bibliographiques

- Thripidae), orchid thrips, in citrus in Spain. Page 28. In : Meeting of the working Group Integrated Control in Citrus Fruit Crops. IOBC-WPRS, Valencia, Spain.
- Canihos, Y., Erkilic, A et Timmer, LW. (1997). Premier signalement de la tache brune *Alternaria* de *Minneola tangelo* en Turquie. *Usine Dis.* 81, 1214.
- Cobb, JN. (1903). The American species of *Alternaria*. *Mycologia*, 5 : 3, 149–170.
- Cuenca, J., Aleza, P., Garcia-Lor, A., Ollitrault, P., Navarro, L. (2016). Fine Mapping for Identification of Citrus *Alternaria* Brown Spot Candidate Resistance Genes and Development of New SNP Markers for Marker-Assisted Selection. *Frontiers in Plant Science.* 7: 1948.
- Cuenca, J., Aleza, P., Vicent, A., Brunel, D., Ollitrault, P & Navarro, L. (2013). La localisation génétique des populations triploïdes et l'ontologie des gènes d'une région du génome de 3,3 Mb liée à la résistance à la tache brune *Alternaria* chez les agrumes révèlent des grappes de gènes de résistance. *PLoS ONE* 8: e76755.
- de Silva, DD., Groenewald, JZ., Crous, PW., Ades, PK., Nasruddin, A., Mongkolporn O., Taylor. PWJ. (2019). Identification, prévalence et pathogénicité des espèces de *Colletotrichum* causant l'antracnose de *Capsicum Annuum* en Asie. *Champignon IMA.* 10, 1–32.
- Dewdney, MM., & Timmer, LW. (2013). *Alternaria* Brown Spot. Florida Citrus Pest Management Guide. Univ. Fla. Inst. Food Agric. Sci. Gainesville. 89-91.
- Doidge, EM. (1929). Une étude de quelques *Alternarias* infectant les agrumes en Afrique du Sud. *Union Afrique du Sud Dept. Agric. Sci. Taureau.* 69, 1-29.
- dos Santos, JA., Brito, JC., Pinto, MA., Carvalho, JM., Sousa, MB., Pereira, JA. (2015). Citrus production in Portugal and its perspectives : a review. *Scientia Horticulturae.* 195, 318–331.
- Droby, S., Vinokur, V., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., Goldschmidt, E., & Porat, R. (2002). Induction of resistance to *Penicillium digitatum* in pamplemousse by the chicken biocontrol agent *Candida oléophile* . *Phytopathologie* 92(4), 393 – 399.
- Droby, S., Wisniewski, ME., Cohen, L., Weiss, B., Touitou, D., Eilam, Y., & Chalutz, E. (1997). Influence du  $\text{CaCl}_2$  sur *Penicillium digitatum* , le tissu de peau de pamplemousse et l'activité de lutte biologique de *Pichia guilliermondii* , *Phytopathologie.* 87 : 3, 310 -315.
- Di Vaio, C., Graziani, G., Gaspari, A., Scaglione, G., Nocerino, S., Ritieni, A. (2010). Essential oils content and antioxidant properties of peel ethanol extract in 18 lemon cultivars. *Sci Hortic,* 126, 50-5.
- Erwin, DC., & Ribeiro, O.K. (1996). *Maladies à Phytophthora dans le monde.* Société américaine de phytopathologie, St. Paul, MN.
- FAO.org. (2020). Algérie : Production de fruits en 2018. Récupéré de <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC>.

## Références bibliographiques

- 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.
- Fisher, K., & Phillips, C. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends Food Sci Technol*. 19 : 3,156-64.
- Fitt, BDL., McCartney, HA. , & Walklate, PJ. (1989). The role of rain in dispersal of pathogen inoculum. *Annual Review of Phytopathology*. 27 :1, 241-270.
- FOA. (2017). Bulletin statistique
- Franco, JC., Zada, A., Mendel, Z. (2009). Nouvelles approches pour la gestion des ravageurs des cochenilles farineuses. Dans : Ishaaya I, Horowitz AR (eds) Contrôle biorationnel des arthropodes nuisibles — application et gestion de la résistance. Springer, Dordrecht, pp 233-278
- Gardner, RG. (1990). Greenhouse disease screen facilitates breeding resistance to tomato early blight. *Hort Science*. 25 : 2, 222-223.
- Garganese, F., Schena, L., Siciliano, I., Prigigallo, M.I., Spadaro, D., De Grassi, A., Ippolito, A., Sanzani, S.M (2016). Caractérisation des espèces d'*Alternaria* associées aux agrumes dans les zones méditerranéennes. *PLoS ONE* 11(9), e0163255.
- German, M., Cuadrado, I. M., Janssen, D. (2009). Bean yellow disorder virus : Parameters of transmission by *Bemisia tabaci* and host plant range. *Insect science*. 18(1), 50-56.
- Guo, W., Nazim, H., Liang, Z., & Yang, D. (2016). Carence en magnésium dans les plantes : Un problème urgent. *Journal des cultures*. 4 : 2, 83-91
- Hannachi, I., Rezgui, S., & Cherif, M. (2014). First report of mature citrus trees being affected by *Fusarium wilt* in Tunisia. *Plant Disease*. 98 : 4, 566.
- Hannachi, S., Van Labeke, MC. (2018). Salt stress affects germination, seedling growth and physiological responses differentially in eggplant cultivars (*Solanum melongena* L.). *Scientia Horticulturae*. 228 :26, 56-65.
- Honda, Y. & Nemoto, M. (1984). An action spectrum for photoinhibition of conidium formation in the fungus *Alternaria solani*. *Canadian Journal of Botany*. 62 : 12, 2865-2871.
- Hosni, K., Zahed, N., Chrif, R., Abid, I., Medfei, W., Karell, M., & Sabei, H. (2010). Composition of peel essential oils from four selected Tunisian citrus species: evidence for the genotypic influence. *Food Chemistry*. 123 : 4, 1098-104.
- Hoy, MA., & Nguyen, RU. (1997). Classical biological control of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): theory, practice, art and science. *Tropical Lepidoptera Research*. 1-19.
- Karasev, A.V. (2000). Genetic diversity and evolution of closterovirus. *Annu. Rev. Phytopathol*. 38 : 1, 293-324.

## Références bibliographiques

- 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.
- Kiely, TB. (1964). Brown spot of Emperor mandarin. *Agricultural Gazette of New South Wales*. 75, 854-856.
- Kohmoto, K., Scheffer, RP., & Whiteside, JO. (1979). Host-selective toxins from *Alternaria citri*. *Phytopathologie*, 69 :6, 667 – 671.
- Kordali, S., Cakir, A., Zengin, H., & Duru, ME. (2003). Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in Turkey. *Fitoterapia*.74 (1–2), 164-167.
- Kuang-Ren, C. (2012). Stress response and pathogenicity of the necrotrophic fungal pathogen *Alternaria alternata*.2012. Hindawi Publishing Corporation.
- Lavon, R., Salomon, R., & Goldschmidt, EE. (1999). Effet des carences en potassium, magnésium et calcium sur les constituants azotés et les composants chloroplastiques chez Agrumes feuilles. *Journal de la Société américaine des sciences horticoles*. 124 :2, 158-162.
- Lecellier, A., Druet, T., Dommes, J., & Kremer, A. (2013). *Alternaria* species: an overview of taxonomy, biology and pathology. *Fungal Biology Reviews*. 27 : 2, 71-82.
- Leutagui, M. J. (2004). Citrus : History, origin and domestication. In : G. L. Teixeira da Silva, J. M. S. Bento, & M. C. Duarte (Eds.), *Citrus : history, origin and domestication* (pp. 3-14). Lisbon: International Society for Horticultural Science.
- Loussert, JM. (1987). Citrus propagation : rootstocks. *Agronomie*, 7 :5, 417-425.
- Mabberley, D.J. (2004). Citrus (Rutacées) : Une revue des avancées récentes en étymologie, systématique et applications médicales. *Taxon végétal Blumea J. Usine Géogr.* 49 ,481–498.
- Mahdavi, S., Zakerin, A., Sadeghi, H., & Niazmand, AR. (2013). Antifungal effects of essential oils of three medicinal plants on post-harvest rot of Valencia oranges at normal and storage temperatures. *Afr. J. Microbiol. Res.* 5-5.
- Maouni, A., Lamarti, A., Aidoun, A., Khaddor, M., & Badoc, A. (2007). Effect of benzimidazole fungicides and calcium chloride on *Alternaria alternata* and *Penicillium expansum* rot during storage of pears,” *African Journal of Biotechnology*. 6 : 11, 1289–1292.
- Marc, S.A., Michael, J. Bayly, MM., Heslewood, MG., Anthony, GV., Paul, I., Forster, JA., Kallunki, M., Duretto, F. (2021). A new subfamily classification of the citrus family (Rutaceae) based on six nuclear and plastid markers. *Taxon*. 70 : 5, 1035-1061.
- Marei, G., Rasoul, MA., Abdelgaleil, SA. (2012). Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. *Pestic Biochem Physiol.* 103,56-61.

## Références bibliographiques

- Marois, JJ., Hagedorn, HM., Subbarao, KS, & Lacy, PG. (1991). Citrus canker caused by *Pseudomonas syringae* pv. *acaciae*. *Plant Disease*. 75,741-743.
- Marois, C., Deslauriers, P., & Bryan, C. (1991). L'étalement urbain et sur les relations urbaines-agricoles dans la frange urbaine : le cas de la région métropolitaine de Montréal, dans le contexte nord-américain. *Espace Populations Sociétés*, 9 : 2, 325-334.
- Martin, JH., Mifsud, D., & Rapisarda, C. (2000). Les aleurodes (Hemiptera : Aleyrodidae) d'Europe et du bassin méditerranéen. *Bulletin de Recherche Entomologique*. 90 : 5, 407 – 448.
- Mehta, P., Vyas, KM., & Saksena, SB. (1975). Production of pectolytic enzymes by *Alternaria solani* and *A. tenuis* on different culture media. *J. Ind. Bot. Soc.* 54, 200-206.
- Migeon, A., Dorkeld, F. (2013). Spider Mites Web : a comprehensive database for Tetranychidae. Available from : <http://www.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb>. Last accessed on November 2016.
- Migeon, A., & Dorkeld, F. (2013). Toile d'acariens : une base de données complète pour les Tetranychidae. Extrait de <http://www.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb>
- Mollaei, M., Izadi, H., Dashti, H., Majidi, A., Ranjbar, KR. (2011). Bioactivity of essential oil from *Satureja hortensis* (Lamiaceae) against three stored-product insect species. *Afr J Biotechnol*. 10, 6620–6627.
- Nishimura, S. & Kohmoto, K. (1983). Host-specific toxins and chemical structures from *Alternaria* species. *Annual Review of Phytopathology*, 21 : 1, 87–116.
- Norberg, J. (2008). Citrus. In *encyclopedia of food and culture* (2nd ed, Vol. 1, pp. 160–163). Charles Scribner's Sons.
- Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Base de données statistiques FAOSTAT. Rome : FAO ; 2022. Disponible à partir de : <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>.
- Orozco-Santos, K., Navarro-Rosas, SE., Rodríguez-Vivas, JA., Morales-Cruz, CO., & Méndez-Lozano, JP. (2012). *Mycosphaerella citri*: First report of the fungus in Mexico and its pathogenicity on Mexican limes. *Plant Pathology*. 61 : 6, 1241–1245.
- Pegg, KG. (1966). Études d'une souche d'*Alternaria citri* pierce, l'organisme causal de la tache brune du mandarinier empereur. *Queensland J. Agric. Anim. Sci.* 23, 14 – 18.
- Perczak, A., Gwiazdowska, D., Marchwińska, K., Jus, K., Gwiazdowski, R., & Waskiewicz, A. (2019). Activité antifongique d'huiles essentielles sélectionnées contre *Fusarium culmorum* et *F. graminearum* et leurs métabolites secondaires dans les graines de blé. *Arch Microbiol*. 201, 1085–1097.
- Peres, NAR., Agostini, JP & Timmer, LW. (2003). Épidémies de taches brunes *Alternaria* des agrumes au Brésil et en Argentine. *Usine Dis*. 87, 750.

## Références bibliographiques

- Perina, FJ., de Andrade, CCL., Moreira, SI., Nery, EM., Ogoshi, C., Alves, E. (2019). Cinnamomun zeylanicum oil and trans-cinnamaldehyde against Alternaria brown spot in tangerine : Direct effects and induced resistance. *Phytoparasitica*. 47,575-589.
- Pryor, BM., & Michailides, TJ. (2002). Morphological, pathogenic and molecular characterization of Alternaria isolates associated with Alternaria late blight of pistachio. *Phytopatology*. 92 : 4, 406–416.
- Pscheidt, JW. & Stevenson, WR. (1988). The critical period for control of early blight (*Alternaria solani*) of potato. *American Potato Journal*. 65,425-438.
- Reddy, MB., Angers, P., Gosselin, A., Arul, J. (1998). Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*. 47 : 8, 1515–1520.
- Rotem, J. (1994). The genus Alternaria biology, epidemiology and pathogenicity. American Phytopathological Society. St. Paul, MV.
- Rotem, J. (1998). The genus Alternaria ; biology, epidemiology, and pathogenicity. American Phytopathological Society Press, USA.
- Rotimi, VO., Laughon, BE., Bartlett, JG., & Mosadomi, HA. (1998). Activities of Nigerian chewing stick extracts against *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides melaninogenicus*. *ASM Journals Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 32 : 4, 598-600.
- Schutte, GC., Lesar, KH., Du Pelsier, PT. & Swart, SH. (1992). L'utilisation du tébuconazole pour le contrôle d' *Alternaria alternata* sur les tangelos 'minneola' et son potentiel de contrôle de la pourriture post-récolte lorsqu'il est appliqué comme une pulvérisation avant récolte . *Proc. Int. Soc. Citrique*.7, 1070 – 1074.
- Sciarretta, A., Tabilio, M.R., Lampazzi, E., Ceccaroli, C., Colacci, M., Trematerra, P. (2018). Analysis of the Mediterranean fruit fly [*Ceratitis capitata* (Wiedemann)] spatio-temporal distribution in relation to sex and female mating status for precision IPM. *PLoS ONE*. 13 :4, e0195097.
- Shehata, AS. F., Mohammed, AK., Mosa, AAA., & Ali, MK. (2018). Evaluation of some fungicides and biocontrol agents for controlling of alternaria rot on citrus fruits. *Arab universities Journal of Agricultural Sciences*. 26 :2, 691-699.
- Sherf, AF. & MacNab, AA. (1986). *Vegetable diseases and their control*. John Wiley and Sons, New York. pp. 634-640.
- Showler, AT. (2017). *Mycosphaerella citri*: a review of its biology, epidemiology, and management. *Annual Review of Phytopathology*. 55, 131-155.
- Simmons, EG. (2007). In : *Alternaria an Identification Manual*. Samson R, editor. Netherlands. No. PA 632.488. S56.
- Smith, VG. (1997). The biology, ecology and management of the citrus whitefly, *Dialeurodes citri* (Ashmead). *Annual Review of Entomology*. 42,409–430.

## Références bibliographiques

- Solel, Z. (1991) Tache brune *Alternaria* sur les tangelos de *Minneola* en Israël. *Phytopathologie*. 40, 145-147.
- Spiegel-Roy, P., Goldschmidt, E.E. (2008). *La biologie des agrumes*. La presse de l'Université de Cambridge ; Cambridge, Royaume-Uni.
- Stuart, R.M., Bastianel, M., Azevedo, F.A., Machado, M.A. (2009). *Alternaria* brown spot. *Laranja*, 30 : 1-2, 29-44.
- Tan, S.H., Osman, F., Bodaghi, S., Dang, T., Greer, G., Huang, A., Hammado, S., Abu-Hajar, S., Campos, R., Vidalakis, G. (2019). Full genome characterization of 12 citrus tatter leaf virus isolates for the development of a detection assay. *PLoS ONE*. 14 : 10, e0223958.
- Teh, S. et al. (2019). Citrus Leaf Rugose Virus : An Update. *Frontiers in Plant Science*, 10.
- Thomma, B.P. (2003). *Alternaria* spp : from general saprophyte to specific parasite. *Molecular plant pathology*. 4 : 4, 225–236.
- Tian, S.P., Fan, Q., Xu, Y., and Jiang, A.L. (2002). Effects of calcium on biocontrol activity of yeast antagonists against the postharvest fungal pathogen *Rhizopus stolonifer*. *Plant Pathology*. 51 : 3, 352–358.
- Timmer, L.W., Peever, T.L., Solel, Z.V.I., Akimitsu, K. (2003). *Alternaria* maladies des nouveaux pathosystèmes d'agrumes. *Phytopathol. Méditerran.* 42 : 99–112.
- Timmer, L.W., Darhower, H.M., Zitko, S.E., Peever, T.L., Ibáñez, A.M., Bushong, P.M. (2000). Environmental factors affecting the severity of *alternaria* brown spot of Citrus and their potential use in timing fungicide applications. *Plant Disease*. 84 : 6, 638-643.
- Turk, B.T., Sen, B.H., Ozturk, T. (2009). Activité antimicrobienne in vitro de l'hydroxyde de calcium mélangé à différents véhicules contre *Enterococcus faecalis* et *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 108 : 2, 297–301.
- 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.
- Vega, B., & Dewdney, M.M. (2015). Sensitivity of *Alternaria alternata* from Citrus to Boscalid and Polymorphism in Iron-Sulfur and in Anchored Membrane Subunits of Succinate Dehydrogenase. *Plant Disease*. 99 : 2, 231-239.
- Velázquez-Nuñez, M.J., Sánchez, J.L., Medina-Navarro, R., Álvarez-Romero, J.G., Ornelas-Paz, J.D., Vázquez-Ovando, J.A., Rodríguez-Herrera, R. (2013). Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. *Food Control*. 32, 95–99.
- Vicent, A., Armengol, J., Sales, R. et Garcia-Jimenez, J. (2000) Premier signalement de la tache brune *Alternaria* des agrumes en Espagne. *Usine Dis*. 84 : 9, 1044.
- Vicent, A., Armengol, J., & García-Jiménez, J. (2007). Rain fastness and persistence of fungicides for control of *Alternaria* brown spot of citrus. *Plant Disease*. 91 : 4, 393-399.

## Références bibliographiques

- Vicent, A., Badal, J., Asensi, MJ., Sanz, N., Armengol, J., García-Jiménez, J. (2004). Laboratory evaluation of citrus cultivars susceptibility and influence of fruit size on fortune mandarin to infection by *Alternaria alternata* pv. *Citri*. European Journal of Plant Pathology. 110, 245-251.
- Wagoner, P. & Parlange, JY. (1975). Studies on *Alternaria* blight of corn. Phytopathology. 65 : 9, 935-939.
- Waleed, FA. (2019). Variétés d'agrumes en Égypte : une impression. Journal de recherche international des sciences appliquées. 1 , 63-66.
- Walter, S. (2018). Citrus : A Global History. London, UK : Reaktion Books.
- Wang, XF., Li, ZA., Tang, KZ., Zhou, CY & Yi, L. (2010). Premier signalement de la tache brune alternarienne des agrumes causée par *Alternaria alternata* dans la province du Yunnan, en Chine. Usine Dis. 94, 375.
- Whiteside, JO. (1976). A newly recorded *Alternaria* induced Brown Spot disease on Dancy tangerines in Florida. Plant Disease Reporter. 60, 326-329.
- Wu,GA.,Terol, J.,Ibanez,V., López-García, A., Pérez-Román, E., Borredá, C., Domingo, C, Tadeo, FR., Carbonell-Caballero, J., Alonso, R., Curk, F., Du, D., Ollitrault, P., Roose, M.L., Dopazo, J ., Gmitter, FG., Rokhsar, DS, Talon, M. (2018). Génomique de l'origine et de l'évolution des Agrumes. Nature. 554 (7692), 311–316.
- Xue, DC., Meeja, S., Timothy, AE., Muhammad, A., Wenquan, Q & Stelinsk, LL. (2020). Hormesis in the brown citrus aphid, *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (Hemiptera : Aphididae) exposed to sublethal doses of imidacloprid," Floride Entomologiste. 103 : 3, 337-343.
- Zancan, RF., Vivan RR., Lopes MRM., Weckwerth PH., de Andrade, FB., Ponce JB., & Duarte MAH. (2016). Antimicrobial activity and physicochemical properties of calcium hydroxide pastes used as intracanal medication. Journal of Endodontics. 42 :12, 1822–1828.