



الجمهورية الديمقراطية الشعبية الجزائرية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Université des Frères Mentouri Constantine

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

كلية العلوم الطبيعية وعلوم الحياة

Département de microbiologie.....المكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Mycologie et biotechnologie fongique

Intitulé :

La recherche des champignons phytopathogènes du citronnier. Essai *in vitro* de lutte biologique par *Trichoderma longibrachiatum* contre ces isolats.

Présenté et soutenu par :

BOULBAIR Chourouk

BELRAMOUL Nouha

Le : 22/09/2021

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Mme LABBANI Fatima-Zohra Kenza (MCB. Ecole Normale Supérieure Assia Djebar de Constantine).

Promotrice : Mme LEGHLIMI Hind (MCA. UFM Constantine 1).

Examinatrice : MmeBOUCHERIT Zeyneb (MAA. UFM Constantine 1).

Année universitaire

2020 – 2021

Remerciements

On rend avant toute chose grâce à Dieu le tout puissant de nous avoir donné la volonté et la patience nécessaires pour réaliser ce modeste mémoire nous lui sommes redevable de nous avoir guidé et soutenu durant notre long cursus scolaire.

Nous tenons à exprimer toute notre gratitude, notre reconnaissance et nos sincères remerciements à Mme. Leghlimi hind, l'encadreur de notre mémoire, pour avoir assuré la direction scientifique de ce travail et de nous avoir fait profiter de ses connaissances scientifiques.

Nos remerciements vont également aux membres du jury Mme. Labbani Fatima-Zohra Kenza et Mme. Boucherit Zeyneb qui nous font le grand honneur d'évaluer ce travail. Qu'elles trouvent, à travers ce travail, l'expression de notre profonde reconnaissance.

On tient à remercier également toutes les personnes qui ont contribué au succès de notre formation et qui nous ont aidées lors de la rédaction de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail en premier lieu aux êtres, les plus chers au monde : mes parents, que dieux les bénisse, et leur accorde longue vie et les protège.

A mes frères

A mes amies : Asma et Dounia

A toute la promotion MBF 2021

A Toute la famille Boulbair et Bousbaa

Chourouk

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes parents qui ont tout sacrifié pour moi, qui ont consacré leur existence pour bâtir la mienne, pour leurs soutiens, leurs encouragements, et pour tout ce qu'ils ont fait pour que je puisse arriver où j'en suis aujourd'hui.

A mes frères et ma sœur

A toutes mes amies

A toute la promotion MBF 2021

A Toute la famille Belramoul et Derouiche

Nouha

Table des matières

Sommaire	Page
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste de tableaux	
Introduction	1
Partie 1 : Revue bibliographique	
Chapitre I : Agrumes et citron	
1. Historique	3
2. Origine et diffusion géographique	3
3. Production des agrumes	5
3.1 Dans le monde	5
3.2 En Algérie	5
4. Importance économiques	6
4.1 Dans le monde	6
4.2 En Algérie	7
5. Description botanique	7
5.1 Agrumes	7
5.1.1 La partie souterraine	8
5.1.2 La partie aérienne	8
5.2 Citron	9
Chapitre II : Maladies phytopathogènes	
1. Maladies fongiques	11
2. Autres maladies	15
2.1 Maladies bactériennes	15
2.1.1 Le stubborn	15
2.1.2 Le chancre bactérien	15
2.1.3 La bactériose	16
2.1.4 Le greening	16

2.2 Maladies virales	16
2.2.1 La tristeza	16
2.2.2 Les psoroses	17
2.2.3 L'exocortis	17
2.3 Ravageurs	17
2.3.1 Acariens	17
2.3.2 Nématodes	18
2.3.3 Insectes	18
2.4 Maladies physiologiques	19
2.4.1 Maladies de carence de nutrition	19
2.4.2 Maladies d'intoxication	20
2.4.3 Asphyxie racinaire	20
2.4.4 Brûlure	20
2.4.5 Affections d'origine génétiques	20
2.4.6 Eclatement des fruits et de l'écorce	20
2.4.7 Chute des fruits	20
3. Lutte biologique	20
3.1 Généralités	20
3.2 Lutte biologique classique	21
3.3 Types de lutte biologique	21
3.3.1 Insectes auxiliaires	21
3.3.2 Bio-insecticides	22
3.4 Méthode de lutte biologique	22
3.5 Avantages et inconvénients de la lutte biologique	23
3.5.1 Avantages	23
3.5.2 Inconvénients	23
Partie 2 : Partie expérimentale	
Matériel et méthodes	
1. Site d'échantillonnage	24
2. Echantillonnage	25
3. Matériel végétal	25
4. Prétraitement et mise en culture des échantillons	26
4.1 Milieu de culture	26

5. Méthodes d'isolement	26
5.1 Désinfection	26
5.2 Séchage et ensemencement	27
6. Purification des isolats fongiques	28
6.1 Caractérisations des isolats fongiques	29
6.2 Etude morphologique et culturale	29
6.3 Examen microscopique	29
7. Antagonisme <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma longibrachiatum</i> , à l'égard des champignons pathogènes isolés	30
7.1 Confrontation directe	30
7.2 Confrontation à distance	30
8. Conservation des souches	31
Résultats et discussion	
1. Résultats	32
1.1 Isolement et purification des agents pathogènes	32
1.2 Identifications des agents pathogènes	32
1.2.1 Isolats fongiques obtenus de citron et des feuilles	34
1.3 Antagonisme <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma longibrachiatum</i> à l'égard des champignons pathogènes isolés	39
1.3.1 Confrontation directe	39
1.3.2 Observation microscopique de la zone de contact direct entre l'isolat pathogène et l'antagoniste	41
1.3.3 Confrontation indirecte	43
2. Discussion	46
Conclusion et perspectives	50
Références bibliographiques	52
Annexes	

Résumé

La culture des agrumes est menacée par de nombreuses maladies et parasites, qui nécessite une attention toute particulière afin de protéger l'agrumiculture. L'objectif de cette étude est d'isoler et d'identifier les champignons phytopathogènes du citronnier, et d'évaluer *in vitro* le potentiel antagoniste de *Trichoderma longibrachiatum* par confrontation directe et à distances contre les isolats phytopathogènes. Les citronniers (feuilles et fruits) analysés sont à provenance d'un champ de culture de la commune El-Harrouch, wilaya de Skikda (Nord Est de l'Algérie). Les résultats ont permis d'obtenir 40 isolats fongiques à partir de deux échantillons prélevés (feuilles et fruits). Les isolats obtenus appartenant à cinq genres : *Alternaria sp* avec 31 isolats (77,5%) ; *Cladosporium sp* 2 isolats (5%) ; *Penicillium camemberti* 2 isolats (5%) ; *Aspergillus fumigatus* 1 isolat (2,5%) ; *Aspergillus versicolor* 1 isolat (2,5%) ; *Fusarium solani* 1 isolat (2,5%) ; *Fusarium moniliforme* 1 isolat (2,5%) et *Penicillium roqueforti* 1 isolat (2,5%). L'étude du pouvoir antagoniste de *Trichoderma longibrachiatum* *in vitro* s'est basée sur sa capacité à inhiber la croissance mycélienne des moisissures phytopathogènes identifiés. La confrontation directe révèle une inhibition maximale évaluée à 100%, vis-à-vis tous les isolats. Par contre, la confrontation à distance indique des taux d'inhibitions qui varient du plus faible (3,5%) mesuré contre *Penicillium roqueforti* au plus élevé (81,48%) contre *Aspergillus fumigatus*. Au vue de ces résultats, la moisissure *Trichoderma longibrachiatum* s'est montrée très efficace et représente un agent potentiel de lutte biologique contre ces phytopathogènes, qui nécessite d'être exploiter.

Mots clés : Citron, champignons phytopathogènes, la lutte biologique, *Trichoderma longibrachiatum*.

Abstract

Citrus cultivation is threatened by many diseases and pests, which requires special attention in order to protect citrus cultivation. The objective of this study is to isolate and identify phytopathogenic fungi of lemon, and to evaluate in vitro the antagonist potential of *Trichoderma longibrachiatum* by direct and remote confrontation against phytopathogenic isolates. The lemon trees (leaves and fruits) analyzed come from a cultivation field in the municipality of El-Harrouch, wilaya of Skikda (North East of Algeria). The results yielded 40 fungal isolates from two samples taken (leaves and fruits). The isolates obtained belonging to five genera: *Alternaria sp* with 31 isolates (77,5%); *Cladosporium sp* 2 isolates (5%); *Penicillium camemberti* 2 isolates (5%); *Aspergillus fumigatus* 1 isolate (2,5%), *Aspergillus versicolor* 1 isolate (2,5%); *Fusarium solani* 1 isolate (2,5%); *Fusarium moniliforme* 1 isolate (2,5%) and *Penicillium roqueforti* 1 isolate (2,5%). The study of the antagonistic power of *Trichoderma longibrachiatum* in vitro was based on its ability to inhibit the mycelial growth of identified phytopathogenic molds. The direct confrontation reveals a maximal inhibition evaluated at 100%, against all the isolates. On the other hand, remote confrontation indicates inhibition rates which vary from the lowest (3,5%) measured against *Penicillium roqueforti* to the highest (81,48%) against *Aspergillus fumigatus*. In view of these results, the mold *Trichoderma longibrachiatum* has been shown to be very effective and represents a potential biological control agent against these phytopathogens, which needs to be exploited.

Keywords: Lemon, phytopathogenic fungi, the biological struggle, *Trichoderma longibrachiatum*.

ملخص

تهدد زراعة الحمضيات العديد من الأمراض والأفات، الأمر الذي يتطلب اهتمامًا خاصًا من أجل حماية زراعة الحمضيات. الهدف من هذه الدراسة هو عزل والتعرف على الفطريات الممرضة للنبات لشجرة الليمون، وتقييم القدرة المضادة لـ *Trichoderma longibrachiatum* في المختبر من خلال المواجهة المباشرة والمسافة ضد العزلات الممرضة للنبات. وتأتي أشجار الليمون (الأوراق والفواكه) التي تم تحليلها من حقل زراعي ببلدية الحروش بولاية سكيكدة (شمال شرق الجزائر). أسفرت النتائج عن 40 عزلة فطرية من عينتين (أوراق وثمار). تم الحصول على العزلات من خمسة أجناس: *Alternaria sp* 31 عزلة (77.5٪)؛ *Cladosporium sp* 2 عزلات (5٪)؛ *Penicillium camemberti* 2 عزلات (5٪)؛ *Aspergillus fumigatus* عزلة (2.5٪)؛ *Aspergillus versicolor* عزلة (2.5٪)؛ *Fusarium solani* عزلة (2.5٪)؛ *Fusarium moniliforme* عزلة (2.5٪)؛ *Penicillium requeforti* عزلة (2.5٪). استندت دراسة القوة المضادة لـ *Trichoderma longibrachiatum* في المختبر إلى قدرتها على تثبيط النمو الفطري للقوالب الممرضة للنبات التي تم تحديدها. تكشف المواجهة المباشرة عن تثبيط أقصى تم تقييمه بنسبة 100 ٪، مقابل جميع العزلات. من ناحية أخرى، تشير المواجهة عن بعد إلى معدلات تثبيط تتراوح من أدنى (3.5٪) مقاسة ضد *Penicillium requeforti* إلى أعلى (81.48٪) ضد *Aspergillus fumigatus*. في ضوء هذه النتائج، فقد ثبت أن العفن *Trichoderma longibrachiatum* فعال للغاية ويمثل عامل تحكم بيولوجي محتمل ضد مسببات الأمراض النباتية، والتي يجب استغلالها.

الكلمات المفتاحية: الليمون، الفطريات الممرضة للنبات، المكافحة البيولوجية، *Trichoderma longibrachiatum*

Liste des abréviations

FAO :L'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

ha : Hectare

°C : Degré Celsius

IC % : Inhibition coefficient

T :*Trichoderma*

FOS :*Fusarium oxysporum f Sp ciceris*

Liste des figures

Figure 1 : Origines phylogéniques des limes et citrons (INRA, 2016).....	4
Figure 2 : Représentation schématique de quelques type de feuilles : 1) Bigaradier 2) Oranger 3) Citronnier 4) Pamelo 5) Poncirus trifoliata 6) Mandarinier 7) Clémentinier (Guenouni et kacemi, 2013)	9
Figure 3 : Localisation de la commune d’El Harrouch, wilaya de skikda. Est Algérien (Google maps 13/08/2021).....	24
Figure 4 : Le champ de prélèvement des échantillons (El Harrouch) avril 2021.....	25
Figure 5 : Désinfection des échantillons à l’hypochlorite de sodium.....	27
Figure 6 : Séchage et ensemencement des échantillons.....	28
Figure 7 : Confrontation directe de l’agent antagoniste <i>Trichoderma longibrachiatum</i> et l’isolat pathogène par contact directe sur milieu PDA (Hibar, 2005).....	30
Figure 8 : Confrontation à distance entre <i>Trichoderma longibrachiatum</i> et l’isolat pathogène (Hamouni, 1996).....	31
Figure 9 : Réparation en pourcentage des genres fongiques isolés à partir du citron et feuilles.....	34
Figure 10: Réparation en pourcentage des genres fongiques isolés à partir du citron et des feuilles.....	47

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classement des huit premiers producteurs d'agrumes dans le monde (FAO, 2013).....	5
Tableau 2 : Les principales maladies fongiques des agrumes(Chapot et Cassin, 1961).....	11
Tableau 3 : Les symptômes des maladies cryptogamiques rencontrés chez le fruit et les feuilles.....	26
Tableau 4 : Quantification des isolats fongique à partir des échantillons étudiés (citron et feuilles).....	32
Tableau 5 : Nombre et pourcentage totale des espèces fongiques isolés à partir du citron et leurs feuilles.....	33
Tableau 6 : Les isolats fongiques obtenus à partir des échantillons prélevés.....	34
Tableau 7 : L'effet inhibiteur de <i>Trichoderma longibrachiatum</i> sur la croissance mycélienne des souches pathogènes (confrontation directe).....	39
Tableau 8 : Observation microscopiques de la zone de contact direct entre les isolats fongiques et <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	41
Tableau 9 : L'effet inhibiteur de <i>Trichoderma longibrachiatum</i> sur la croissance mycélienne des souches pathogènes (test indirect).....	44

Introduction

L'arboriculture fruitière fait partie intégrante de la vie économique et sociale à travers le monde entier. Les agrumes particulièrement, ont une grande valeur dans le développement économique et social des pays producteurs. Ils constituent les produits d'exportation et de transformation en divers dérivés comme les jus, confitures, essences, ils peuvent être aussi une source d'emploi (Loussert, 1987).

Par ailleurs, les agrumes sont les fruits les plus produits dans le monde, la production moyenne mondiale d'agrumes, toutes espèces confondues, s'élève à plus de 110 millions de tonnes par an (Agroligne, 2019). L'Algérie qui a été traditionnellement exportatrice d'agrumes, éprouve à l'heure actuelle des difficultés à satisfaire les besoins de consommation qui ne cessent de croître sous l'effet de la consommation en fruits frais (Boudi, 2005). Parmi ces agrumes, en particulier le citron qui est un anti-oxydant, possède des propriétés antivirales et antibactériennes ainsi que sa capacité à stimuler le système immunitaire sont largement reconnues. L'une des façons les plus courantes de tirer parti des bienfaits du citron est d'en presser le jus.

Cependant, le genre *Citrus* se trouve menacé par certaines contraintes en particulier celles d'ordre biotique. Les agrumes sont sensibles à l'attaque par des agents phyto-pathogènes et souffrent de différentes maladies et ravageurs qui peuvent affecter la récolte en détruisant les fruits et/ou les arbres (Ghelamallah, 2005).

En effet, les maladies parasitaires des plantes sont causées par l'action de différents agents pathogènes (virus, phytoplasmes, bactéries, champignons, protozoaires, etc...). Ces parasites sont infectieux car ils envahissent l'hôte et s'y multiplient et sont aussi contagieux, par leur transmission d'une plante infectée à une autre plante saine. Les champignons phytopathogènes sont responsables de maladies cryptogamiques et de près de la moitié des maladies connues à ce jour chez les plantes cultivées (Lepoivre, 2003). La lutte contre ces maladies par l'application de pesticides dans les sols peut engendrer la pollution de l'environnement, les eaux souterraines et l'apparition de souches pathogènes résistantes. Par conséquent, la lutte chimique ne donne pas des résultats satisfaisants, les méthodes de lutte biologique peuvent contourner la situation et constituer une réponse aux attaques de ces champignons. En effet, le contrôle biologique par des microorganismes utiles permet d'augmenter le rendement et d'améliorer la qualité par l'élimination directe de l'inoculum pathogène et/ou par l'induction de la résistance des plantes. Ce procédé de bio-protection, non polluant permet alors de réguler les attaques des champignons pathogènes, de façon efficace sans effets néfastes à la santé humaine ni à l'environnement.

C'est dans cette préoccupation, que s'insère cette étude, qui porte sur l'isolement de champignons pathogènes du citronnier de la commune d'El-Harrouche, wilaya de Skikda (Nord Est de l'Algérie) et l'étude du rôle de la moisissure *Trichoderma longibrachiatum* dans la régulation des attaques de ces phytopathogènes.

L'approche est effectuée en deux grandes parties :

- La 1ère partie : une synthèse bibliographique, sous forme de deux chapitres : le premier chapitre c'est une description générale des agrumes et citron, le deuxième chapitre étudie les différentes maladies phytopathogènes et autres maladies qui peuvent toucher les agrumes et en dernier, on parle de la lutte biologique.
- La 2ème partie : c'est une description de la méthodologie de travail divisée en deux chapitres, le 1er chapitre est une présentation du protocole utilisé pour l'isolement, la purification et l'identification des champignons accompagnants le fruit et les feuilles du citronnier et essai *in vitro* de lutte biologique contre ces souche phytopathogènes, le deuxième chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus et leur interprétations.

Partie1

Revue bibliographique

Chapitre1

Agrumes et citron

1. Historique des agrumes

LOUSSERT (1989), signale que les agrumes sont originaires des pays du Sud-Est asiatique qui les cultivèrent d'abord pour leurs parfums, puis pour leurs fruits.

Leur culture se confond avec l'histoire des civilisations anciennes de la Chine, c'est avec le rayonnement des civilisations Chinoises et Hindoues que leur culture commença à se propager, au cours du premier millénaire avant notre ère, à l'ensemble des pays du Sud-Est asiatique (Sud du Japon et archipel de Malaisie). Au VII^e siècle les Cédratiers furent probablement les premiers agrumes cultivés en méditerranée à l'époque des Mèdes, LOUSSERT (1989), souligne aussi que c'est à partir de bassin méditerranéen et aux grandes découvertes que les agrumes furent diffusée dans le monde. Dès le X^e siècle, les navigateurs arabes les propagent sur les côtes orientales de l'Afrique jusqu'au Mozambique. Christophe Colomb, à l'occasion de son second voyage (1493), les introduits en Haïti, à partir de laquelle la diffusion se fera vers le Mexique (1518), puis les Etats-Unis d'Amérique (1569 à 1890). Enfin, ce sont les navigateurs Anglo-Hollandais qui en 1654, introduisent les premiers agrumes dans la province du Cap en Afrique du Sud. En Algérie, les invasions arabes avaient bien introduit le bigaradier dans l'empire des Almohades. Toutefois, il embellisse déjà, pendant la période Ottmane (du 16^{ème} au 18^{ème} siècle), les jardins des Beys. L'oranger y fut sans doute apporté quelques siècles après par les maures d'Andalousie. Au début de la colonisation en 1850, le mandarinier fut introduit en Algérie par M. Harby. Au 19^e siècle, le père Clément de l'orphelinat agricole de Misserghin, effectuant un croisement de mandarinier (Commun) avec le bigaradier (Granito) découvrit (Clémentine) (Dehegani, 2020).

2. Origine et diffusion géographique des agrumes

Les agrumes sont originaires du Sud-Est asiatique et en particulier d'un foyer principal comprenant le nord du Myanmar et la région Assam (Tanaka, 1933). Ils se seraient ensuite dispersés vers des centres secondaires à l'ouest (Sud de l'Himalaya et l'Inde), à l'Est (Chine du Sud) et au Sud (péninsule indochinoise). Il existerait deux autres centres secondaires d'origine des agrumes qui sont la région côtière de la Chine du Sud (îles de Haïnan, Taïwan et Sud du Japon) et l'Insulinde jusqu'aux îles Samoa et Fidji.

Il semblerait que l'agrumiculture existe depuis le premier millénaire avant J.-C. en Inde et en Chine.

Cependant, ce ne serait qu'à partir des XIX^{ème} et XX^{ème} siècles qu'elle se serait répandue dans le monde entier (Jacquemond *et al.*, 2013). Le premier agrume introduit dans le bassin méditerranéen serait le cédrat à l'époque d'Alexandre le Grand (III^{ème} siècle avant J.-C.), qui avait des usages cosmétiques et pharmaceutiques. Il semblerait que les autres variétés d'agrumes (en particulier l'oranger, le bigaradier et le citronnier) ne soient arrivées en Occident qu'à partir du X^{ème} siècle, lors des échanges commerciaux entre le bassin méditerranéen et l'Asie. Par la suite, les orangers furent introduits au Maghreb et à l'ouest de la Méditerranée par les Maures. Le second voyage de Christophe Colomb en 1493, a permis l'implantation des agrumes aux Caraïbes qui ont ensuite été dispersés sur tout le continent américain aux XVI^{ème} et XVII^{ème} siècles. Il est à noter que contrairement aux autres agrumes (dont les pamplemousses), les pomelos sont originaires de l'île Barbade dans les Caraïbes (Corazza-Nunes, 2002). Finalement, les mandariniers et clémentiniers ne sont apparus en Europe qu'aux XVIII^{ème} et XIX^{ème} siècles respectivement. Si aujourd'hui la consommation d'agrumes paraît banale, il faut savoir que jusqu'à la moitié du XX^{ème} siècle, les oranges étaient considérées comme un produit de luxe et étaient souvent offertes aux enfants pour Noël (figure 1).

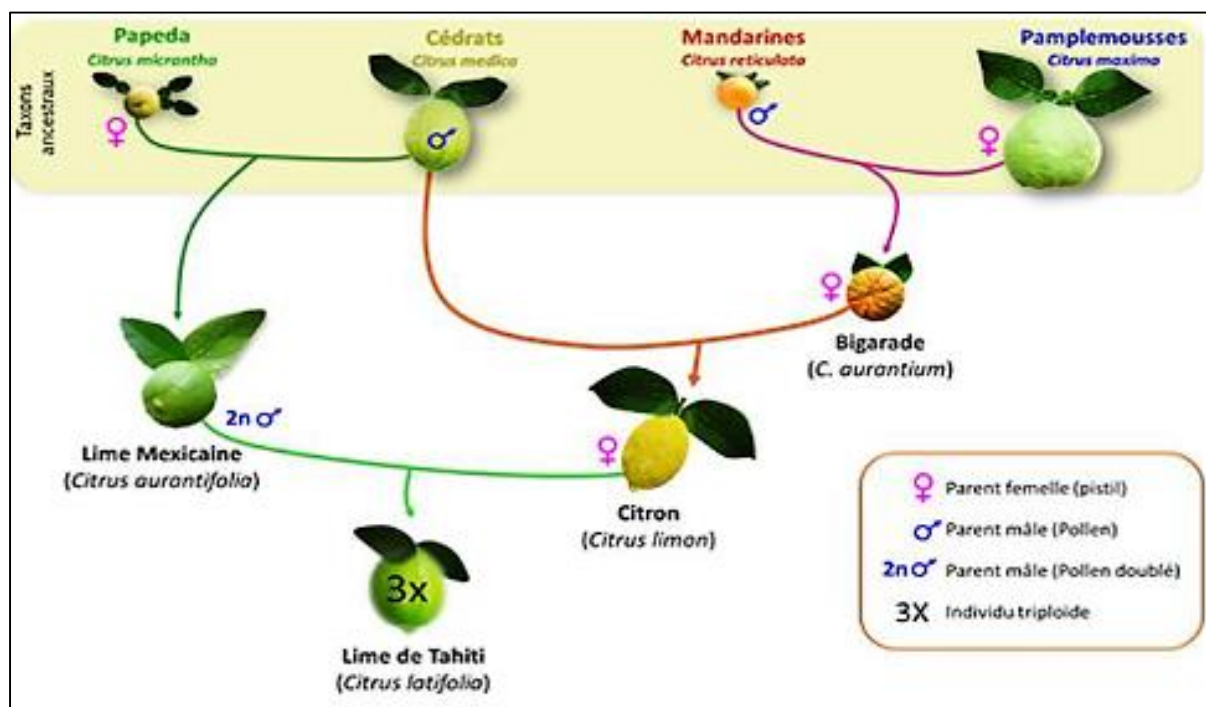


Figure 1 : Origines phylogéniques des limes et citrons (INRA, 2016).

3. Production des agrumes

3.1 Dans le monde

Le nombre de pays producteurs d'agrumes dans le monde augmente actuellement progressivement, la croissance des agrumes peut être observée dans presque toutes les régions du monde. Principalement produit dans les régions méditerranéennes et tropicales possible (Benaissat, 2015).

En 2012/13, la production mondiale d'agrumes a atteint 73 million de tonnes, soit 2 tiers d'orange. La baisse de 5% est principalement due à la baisse de la production par rapport à l'activité précédente, les oranges ont été réduites de 9% (1,7 million de tonnes). La situation est le résultat d'une baisse de la production d'oranges au Brésil, l'Europe et la Turquie sont les principaux pays producteurs d'agrumes au monde (MAPM, 2013). Les oranges représentent la majeure partie de la production d'agrumes, plus de la moitié (63%) en 2012. L'augmentation du rendement est principalement due à l'augmentation des terres agricoles d'agrumes (tableau 1).

Tableau 1 : Classement des huit premiers producteurs d'agrumes dans le monde (USDA, 2017).

Classement	Pays	Production d'agrumes(en tonnes)
1	Chine	29500000
2	Brésil	19217000
3	Union européenne	10766101
4	Mexique	6775000
5	USA	4601311
6	Egypte	3000000
7	Maroc	2315040
8	Turquie	1399000

3.2 En Algérie

L'Algérie comptait 45 000 hectares d'agrumes au moment de l'indépendance. En 2011, la superficie des agrumes était de 63 323 hectares, et actuellement seulement 55 000 hectares. La partie centrale du pays possède 56% de la superficie des agrumes, 30% se trouve à l'Est du pays et 14% à l'Ouest (MADR, 2009).

Les plantations d'agrumes en Algérie couvrent 64 154 hectares, dont 50 873 hectares sont principalement répartis dans la province de Blida (26 %), Chlef (9%) et Alger (8%). Les principales variétés cultivées dans ces régions sont les oranges, les mandarines, les citrons et les pamplemousses.

En termes de rendement, l'Algérie a atteint le niveau de 8.552.654 quintaux, soit le rendement moyen est de 16,8 tonnes par hectare, et les différentes composantes de ce rendement sont : 72% d'orange, limonène 16%, citron 7%, 3% pour la mandarine et 0,1% pour la pamplemousse (MADR, 2009).

4. Importance économique des agrumes

Les agrumes représentent la première catégorie fruitière en termes de valeur en commerce international, cette importance est justifiée par leur :

- Utilisation comme des produits frais ou après leur transformation (jus, sirop...etc).
- Grande valeur nutritive riche en vitamine C, B6, et composent une source de fibres, d'acide ascorbique, du potassium et du calcium.
- Effet bénéfique sur la santé : dans la diminution des risques de maladies cardiovasculaire et d'autres maladies.

4.1 Dans le monde

Les agrumes présentent un intérêt économique pour de nombreux pays à travers le monde.

La production mondiale des agrumes est environ de 115 millions de tonnes en 2011. Les oranges représentent la majeure partie de la production d'agrumes avec 71%. L'augmentation de production est principalement due à la croissance des terres cultivées consacrés aux agrumes, mais aussi à un changement de comportement de la part des consommateurs, dont le revenu progresse et dont les préférences s'orientent de plus en plus vers des produits sains et pratiques. La principale destination de la production agrumicole mondiale est l'autoconsommation.

Ce segment a peu progressé en pourcentage de la production globale, avec une stabilité autour de 60% sur ces quarante dernières années. En revanche, l'autoconsommation s'est forcément accrue en quantité, passant d'environ 25 millions de tonnes au début des années 1970 à plus de 70 millions de tonnes au début des années 2010.

Cette progression est principalement à mettre à l'actif des pays émergents, dont le marché local tend à prendre de l'importance. La croissance est marquée en Chine depuis le début des années 2000.

Les volumes consommés localement ayant progressé de plus de 20 millions de tonnes entre 1970 et 2010. De même, la dynamique est très forte dans d'autres pays d'Extrême-Orient comme l'Inde, l'Indonésie ou le Vietnam.

Enfin, la consommation interne s'est fortement développée dans certains pays méditerranéen comme la Turquie, l'Égypte et le Maroc (Agagna, 2016).

4.2 En Algérie

En 1964, le verger agrumicole Algérien représentait une production de près de 450000 tonnes pour une superficie de 45000ha pour toutes variétés confondues. En 1970, beaucoup d'efforts ont été fournis pour augmenter le niveau de production qui a atteint 530000 tonnes. De la fin des années 80 jusqu'à 1999, l'agrumiculture a connu une régression caractérisée par de faibles productions dont les effets sont : une érosion du savoir-faire due à un délaissement des vergers, un arrêt de développement.

En effet à partir de cette date aucune exportation n'a été enregistrée jusqu'à 1995 ou une légère tentative d'exportation a été constatée avec 12000 tonnes.

Ces dernières années, été enregistré un regain d'intérêts vers l'agrumiculture. Les agrumiculteurs sont fortement encouragés par le programme national du développement agricole. Aussi, la superficie agrumicole totale a connu une progression, elle est passée de 46010 ha en 2000 à 64766 ha en 2013 soit une augmentation de 30% selon les derniers recensements fournis par le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. Ces accroissements en superficie sont accompagnés avec des augmentations sensibles dans la production agrumicole ou la production totale en agrumes de l'année 2013 a atteint 1.204.801 tonnes de toutes variétés confondues (Agagna, 2016).

5. Description botanique

5.1 Agrumes

Les agrumes sont de petits arbres ou arbustes, atteignant 5 à 10 mètres de haut, généralement avec des épines, des feuilles persistantes denses, et peuvent produire des fruits de différentes formes et tailles.

Selon Bounab et Chaabi (2018), les agrumes sont composés de deux parties : la partie souterraine qui forme le porte-greffe et la partie aérienne (greffon) qui porte les fruits de la variété de l'espèce cultivée.

5.1.1 La partie souterraine

- Les racines principales : les racines sont très solides et leur fonction c'est de maintenir au sol un arbre généreux dont la frondaison présente, avec son abondance et sa persistance, une forte prise au vent.
- Les racines secondaires : elles absorbent les éléments minéraux nécessaires à l'alimentation de l'arbre en éléments nutritifs (Bounab et Chaabi, 2018).

5.1.2 La partie aérienne

Selon Bounab et Chaabi, 2004 :

- Le tronc :

On greffera sur ce dernier, à quelques dizaines de centimètres du sol. Le tronc conduit, vers la frondaison, la sève riche en éléments minéraux.

- Les branches charpentières :

Elles prennent naissance sur le tronc et restent limitées par la taille au nombre de trois ou quatre et porteront les sous-mères, qui porteront à leur tour les rameaux végétatifs et les rameaux fructifères.

- Les feuilles :

Les feuilles présentent des formes et des tailles très diverses selon les espèces et les variétés, et selon l'âge et la taille aussi. Plus larges et plus grandes, celles du citronnier sont plus claires que celles de l'oranger, ovales et d'un vert sombre (figure 2).

- Les fleurs :

Le calice de la fleur du citron est composé de 3 ou 5 sépales verts, de 5 pétales pourpres chez le citronnier et de couleur blanche généralement chez l'oranger. Les étamines au nombre de 20 à 30 sont soudées à leur base par groupes de trois ou quatre. Le pistil est formé de plusieurs carpelles. L'ovaire constitue la base du stigmate sur lequel se fixera le pollen libéré au printemps.

- Les fruits :

Ils présentent des poids et des tailles variables, varient selon les espèces et les variétés. Ils sont oblongs ou sphériques. L'écorce est jaune ou verte, contient des glandes riches en huile essentielle qui sont utilisées en aromathérapie.

La pulpe est la chair du fruit qui renferme plus ou moins de jus, se divise par quartier 8 à 11 pour les citrons.

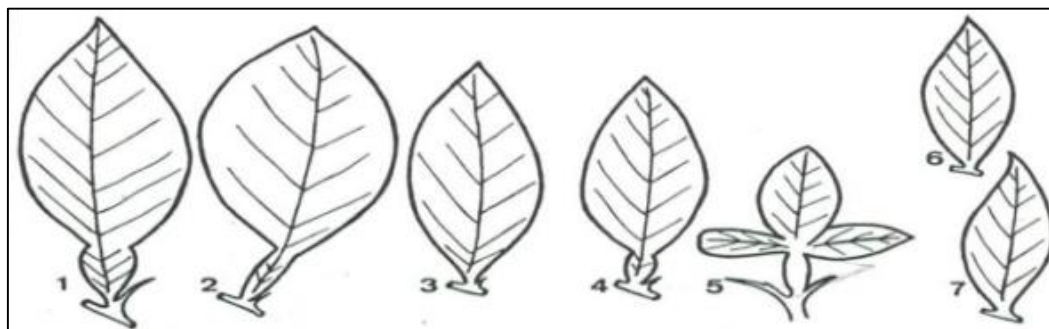


Figure 2 : Représentation schématique de quelques types de feuilles : 1) Bigaradier 2) Oranger 3) Citronnier 4) Pampalo 5) *Poncirus trifoliata* 6) Mandarinier 7) Clémentinier (Guenouni et Kacemi, 2013).

5.2 Citron

Le citronnier fait partie de la famille des Rutacées. C'est un petit arbre vert odorant (arbuste) pouvant atteindre 2 à 10 m de taille et de hauteur variable. Il possède 5 à 6 branches charpentières, très ramifiées, avec une racine peu profonde 80 cm en haut, un réseau se forme dans le sol. Les feuilles des citronniers sont des feuilles vertes, alternées et durables, et très sucrées car elles contiennent beaucoup d'essence visible à l'œil nu (Gollouin et Tonelli, 2013).

Il est composé essentiellement de :

- Le tronc du citronnier est droit, de couleur vert pâle parfois pourvu d'épines.
- Les feuilles du citronnier sont persistantes, coriaces et lancéolées, ovales. Elles sont dentelées, d'une couleur vert luisant, irrégulièrement nervurées et à croissance rapide. Elles ont souvent des épines à leurs aisselles.
- Les fleurs sont très parfumées, blanches à l'intérieur et rouges violacées à l'extérieur. Elles sont rassemblées en bouquets terminaux et elles sont composées de 5 pétales.

- Le fruit du citronnier se caractérise par sa chair acide. Il est cultivé entre les mois de Novembre et Juin. Sa surface extérieure est parsemée de glandes aromatiques chargées d'essence.

Chapitre2

Maladies phytopathogènes



La culture des agrumes est soumise à plusieurs contraintes dues essentiellement à des facteurs abiotiques et biotiques. Ces facteurs sont responsables de diverses maladies qui s'attaquent aux cultures, diminuant ainsi la quantité et déperissant la qualité des agrumes.




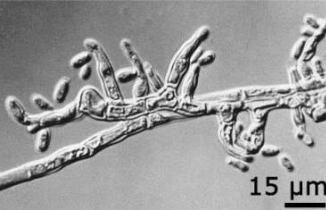
1. Maladies fongiques




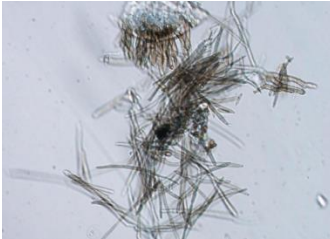
Les agrumes sont exposés à une large gamme de maladies cryptogamiques qui peuvent affecter les feuilles, les racines et les fruits. Les dégâts causés par ces maladies sont importants, que ce soit par leur influence sur la durée de vie des arbres que par les pertes qu'elles entraînent sur la production.



Ces maladies sont résumées dans le tableau n°2.


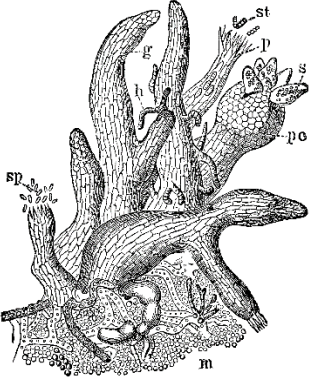
Tableau 2 : Les principales maladies fongiques des agrumes (Chapot et Cassin, 1961).

Maladie	Champignon pathogène	Description	Symptômes
<p align="center">La Moniliose</p> 	<p align="center"><i>Monilia sp.</i></p> 	<p>Une maladie cryptogamique, cela affectant de nombreux arbres fruitiers (citronnier, mais aussi pruniers, pommes, cerises...). Il n'est pas dangereux pour les arbustes, mais il peut endommager les fruits.</p>	<p>Le fruit pendait à l'arbre pour pourrir.</p> <p>-l'apparition d'une tache brune, qui s'est étendue et a finalement atteint l'ensemble du fruit, avec des pustules blanches disposées en cercles concentriques.</p> <p>-Le fruit a fini par pourrir complètement et se dessécher.</p>

<p style="text-align: center;">La gommose</p> 	<p>phytophtora : <i>Phytophthora citrophthora.</i></p> 	<p>une maladie qui est causée par des blessures, des plaies de taille mal cicatrisées ou des champignons comme le <i>Phytophthora</i>, qui touche les troncs, racines, branches. L'arbuste sécrète alors de la gomme, ce qui lui permet de lutter contre les agents pathogènes.</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Des plages d'écorce morte, des exsudations de gomme. -Une coloration brune du bois, elle apparaît généralement à l'emplacement d'une blessure. -L'écorce a tendance à être déformée, boursouflée.
<p style="text-align: center;">Le mal secco</p> 	<p><i>Phoma tracheiphila.</i></p> 	<p>C'est une maladie très grave qui touche les feuilles, qui empêche l'écoulement de la sève à travers la brousse. S'il n'est pas traité, le buisson peut mourir en deux à trois ans au plus. Il attaque différentes sortes d'agrumes.</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Les feuilles changent de couleur et sèchent, et les branches meurent rapidement. -Provoque ensuite la mort de l'ensemble du buisson. -Les arbustes ont tendance à émettre des drageons à la base de leurs troncs. En coupant les branches, peut

			voir une couleur orange dans le bois.
<p>La ménalose</p> 	<p><i>Phomopsis citri.</i></p> 	<p>Une Maladie qui touche les feuilles et surtout développée en saison humide sur pomelos.</p>	<p>-Tâches noires rugueuses à la face inférieure des feuilles et des traînées noirâtres ressemblant à des coulures sales sur fruits.</p> <p>-Des plages ou plus fréquemment à des larmes de couleur brune.</p>
<p>Le greasy-spot</p> 	<p><i>Mycosphaerella citri.</i></p> 	<p>Une maladie qui touche le fruit et les feuilles lorsqu'il y a trop d'humidité.</p> <p>Les dégâts étant très limités on évite en général de traiter. La chute de feuilles paraît insensible et à ce jour on peut considérer le greasy-spot comme une affection sans gravité.</p>	<p>-Des tâches huileuses brunes à la face inférieure des feuilles de taille très variables, couvrant rarement la totalité du limbe, mais confluant parfois en larges plage.</p>
		<p>Maladie qui touche tous les types de sol fait</p>	<p>-Il s'agit généralement</p>

<p style="text-align: center;">Le pourridié</p> 	<p>Le champignon <i>Rosellinia necatrix</i>.</p> 	<p>partie du groupe de champignons à chapeau. Il pénètre dans les racines et les troncs sous forme de filaments blanchâtres entre l'écorce et le bois qui sont attaqués et pourrissent. L'arbre meurt plus ou moins rapidement.</p>	<p>d'arbres fortement irrigués. -Une couche d'argile plus ou moins épaisse courant non loin de la surface. -Ce sont d'abord des filaments blancs microscopiques, appelés mycélium, qui se développent dans le sol pour former par la suite des filaments capables de s'enrouler autour des <u>racines</u> d'un arbre à proximité et de les faire pourrir.</p>
--	--	---	---

<p style="text-align: center;">La fumagine</p> 	<p style="text-align: center;">Le champignon <i>Fumago salicina</i></p> 	<p>Il s'agit d'un champignon qui se développe sur le miellat sécrété par les cochenilles, pucerons et aleurodes. Cette maladie n'est pas très grave mais elle limite la photosynthèse. Ce dépose sur les feuilles et constitue un milieu de culture sur lequel se développe la fumagine.</p>	<p>-Les feuilles se couvrent d'un dépôt noir, ressemblant à de la suie, elles sont également collantes, à cause du miellat produit par les insectes.</p> <p>-Limitant la photosynthèse.</p>
---	---	--	---

2. Autres maladies

2.1 Maladies bactériennes

2.1.1 Le stubbornne

C'est la maladie la plus répandue causée par la bactérie *Spiroplasma citri*, et lorsqu'elle est associée à une autre maladie principalement la psorose elle devient plus grave. Leur transmission se fait soit en pépinière par greffage ou bien par les cicadelles dans le verger à partir d'arbre malade à des arbres sains.

Selon, (Fajinmiet *al.*, (2011), cette maladie présente les symptômes et les dégâts suivants:

- Aspect de feuilles de saule.
- Rameaux courts et coudés.
- Le limbe a tendance à s'enrouler de chaque côté de la cervure médiane.
- Les feuilles deviennent chlorotiques et tombent.
- Variation de l'épaisseur de la peau et les fruits affectés sont glandiformes.
- Dans le cas de gravité, la pulpe a une odeur désagréable et devient aigre-amère.

2.1.2 Le chancre bactérien

Le chancre des agrumes est une maladie bactérienne provoquée par la bactérie *Xanthomonas compestris. pv. Citri*. Cette maladie infecte toutes les parties aériennes de la plante.

Elle provoque des symptômes qui se traduisent par :

- La lésion des feuilles, tiges, et fruit des arbres avec des petites taches translucides.
- Développement de pustules brun et liégeuses sur la tige des plantules.
- Eruptions verticales et horizontales, qui forment des plaquettes rectangulaires (Gottwald *et al.*, 2002).

2.1.3 Bactériose

C'est une maladie causée par la bactérie *Pseudomonas syringae* qu'elle peut provoquer de sévère dommage en année humide et froide (Loussert, 1989).

Elle se manifeste par la présence de taches brun rouge sur les rameaux avec un exsudat bactérien, ces taches on les voit également après la cueillette ce qui fait perdre la valeur et la qualité du fruit (Colombo, 2004).

2.1.4 Greening

Réduction des feuilles prenant un aspect marbré, les nervures exposent parfois un aspect liégeux sur leurs faces supérieurs jaunissement et dessèchement de rameaux entiers.

La transmission de cette maladie intra-phloémique ce fait par certains psylles (homoptères) et lors de greffage. En début d'attaque, ces symptômes se limitent à une fraction de la couronne de l'arbre, en cela ils se distinguent de ceux produits par une carence alimentaire qui touche l'ensemble de la frondaison (Agagna, 2016).

2.2 Maladies virales

2.2.1 La tristeza

Une maladie grave causée par un virus et propagée par des pucerons. La maladie entraîne une réduction importante de la végétation et de la production de fruits (taille et quantité). Les feuilles d'un aspect bronzé, présentent une chlorose au niveau des nervures. Le tronc et les branches font l'objet de desquamation de l'écorce, avec apparitions d'échancrures plus ou moins profondes, parfois directement au niveau de la greffe.

Elle présente les symptômes suivants :

- un dépérissement plus ou moins rapide de la plante car le virus en se multipliant obstrue les vaisseaux de celle-ci.
- Un éclaircissement des nervures foliaires (vein clearing) et cannelures dans le bois des rameaux, des branches et des troncs (stem-pitting).

Les symptômes se traduisent par des nécroses des vaisseaux du liber, tant dans la partie souterraine que dans la partie aérienne (Jamoussi,1955).

En effet, le virus commence son attaques sur le chevelu radulaire (Klotz et Fawceet, 1952), après la nécrose gagne de proche en proche la partie aérienne et à la fin, l'arbre dépérit et meurt (Fajinmi *et al.*, 2011).

2.2.2 Les psoroses

Un groupe des maladies à virus désignés sous le nom de *Citriovirus psorosis*,il rassemble sous le nom de la psorose, dont il existe plusieurs variétés, chacune étant responsable d'une forme de psorose. Leur transmission par greffage (Jamoussi, 1955).

Cette maladie présente des symptômes caractéristiques qui se traduisent par une décolorationpar une couleur vert clair ou des taches jaunâtres des feuilles, du limbe et des nervures centrales qui sont visibles au verger et cette maladie apparait au printemps sur les jeunes feuilles (Loussert, 1989).

2.2.3 L'exocortis

Maladie à viroïde transmise par greffage et par les outils de taille, elle se manifeste juste sur les arbres greffés du porte-greffe sensible (Loussert, 1989).

Cependant, cette maladie ne cause pas pour le moment de grave dommage, car le bigaradier est tolérant à l'exocortis contrairement au citron qui est affecté par cette maladie. Ses symptômes se traduisent par un écaillage plus ou moins prononcé de l'écorce du porte-greffe, le greffon n'étant pas touché (Loussert, 1989).

2.3 Ravageurs

En Algérie, les principaux ravageurs des agrumes sont les cochenilles, la mouche des fruits, les aleurodes et les pucerons. Ce sont également des vecteurs des maladies à virus et à bactéries.

2.3.1 Acariens

Plusieurs espèces d'acariens sont connues comme des parasites d'agrumes. Parmi ces ravageurs on trouve :

- L'araignée rouge :

D'après Colombo (2004), Cet acarien tétranychidés commence ses attaques lorsque le temps est particulièrement chaud et humide.

À cause de sa soustraction de la sève au niveau de la plante, on observe un ralentissement de la croissance et il provoque aussi l'apparition des cloques et une chute importante des feuilles et des fruits.

- L'acarien des bourgeons (*Aceria sheldoni*) :

C'est un phytopte qui s'attaque aux bourgeons des agrumes, entre les sépales et les jeunes fruits ainsi que dans les autres endroits dissimulés de la plante, il provoque des excroissances et des malformations au niveau des feuilles, des fruits et des bourgeons (Bayer, 2018).

2.3.2 Nématodes

Ce sont des verres microscopiques qui se trouvent dans le sol et qui attaquent les racines en causant de graves dégâts qui se traduisent par un jaunissement des feuilles. Leurs attaques sont localisées au niveau des racines et radicelles des arbres sur lesquelles ils provoquent de graves dommages qui se traduisent par des nécroses et jaunissement des feuilles (Paraloran, 1971).

L'humidité élevée de la terre et sa température sont des conditions qui favorisent l'infestation de nématodes, et généralement on trouve ça dans les sols déjà contaminés par les nématodes, (Loussert, 1989).

2.3.3 Insectes

Les insectes pas seulement ils causent des dégâts graves, mais ce sont des vecteurs de maladies virales et bactériennes. Parmi les plus importants de la classe des insectes nous citons : La mineuse des feuilles (*Phyllocnistis citrella*), c'est un lépidoptère qui appartient à la famille des Gracillidae et à la sous famille des Phyllocitinae (Balachowsky, 1935). Les feuilles sont minées entre les deux épidermes.

Cet insecte commence ces attaques principalement aux jeunes pousses qui se trouvent à l'extérieur de la ramure. La larve pond ses œufs à l'intérieur du limbe en formant des galeries argentées qui se nourrit au sucre des feuilles, cela entraîne un ralentissement de la photosynthèse (Courboulex, 2010). Par la suite, les tissus attaqués se nécrosent ce qui entraîne dans la plupart des cas la chute des feuilles.

Les aleurodes sont des homoptères dont leurs larves ont une taille minuscule de l'ordre de 0.8 à 1mm de diamètre (Piguet, 1960).

La mouche méditerranéenne des fruits considérée comme étant l'insecte le plus nuisible sur les agrumes.

D'après (Piguet, 1960), cediptère possède à l'état larvaire une armature buccale composée de deux solides crochets qui lui permettent de dilacérer la pulpe des fruits. Cela provoque l'apparition des taches chlorotique isolées qui donne naissance à un point mou qui devient rapidement brun et pourrit. Son attaque se traduit souvent par le murissement précoce puis la chute des fruits (Guerbouz et Khoudour, 2020).

2.4 Maladies physiologiques

Selon Anonyme (1968), on distingue :

2.4.1 Maladies de carence de nutrition :

- Azote : se traduit par :

-Une réduction de la taille de l'arbre et une coloration vert jaunâtre des feuilles.

-Un port dressé des arbres.

-Un mauvais développement des bourgeons et des pousses.

-Une coulure des fleurs.

-Une diminution de la teneur protéique.

- Phosphore : se manifeste par les symptômes suivants sur les arbres :

-Les feuilles sont généralement avec une couleur foncée, mat, avec des bordures pourprées.

-Réduction de la taille des pousses.

-Retarde la floraison et perturbe la fécondation et la maturation des fruits.

- Potassium :

-Des feuilles avec des tâches qui s'étendent en prenant un aspect bronzé tandis que la base reste verte.

-L'arbre prend un aspect desséché.

-Diminution du calibre (Obtention de petits fruits).

- Oligo-éléments: la carence se manifeste comme suit :

- Décoloration des feuilles.
- Un raccourcissement des jeunes pousses.
- Une diminution de la qualité des fruits.
- Un abaissement du rendement.

2.4.2 Maladies d'intoxication (suite à excès de sel, de calcium, de cuivre, ou de bore dans le sol)

2.4.3 Asphyxie racinaire

2.4.4 Brûlure suite à l'isolation au traitement

2.4.5 Des affections d'origine génétiques telle que les craquelures longitudinales de l'écorce

2.4.6 Eclatement des fruits et de l'écorce

2.4.7 Chute des fruits

3. Lutte biologique

3.1 Généralités

La lutte biologique définie par l'Organisation Internationale de Lutte Biologique (OILB) en 1971, au sens le plus strict, peut être considérée comme « l'utilisation d'organismes ou de leurs produits pour prévenir ou réduire les pertes ou dommages causés par les ravageurs » (Abbou, 2012). Ce concept fait également référence à toute modification de l'environnement, respectant les règles écologiques de stabilité et d'équilibre, entraînant des parasites restant en dessous du seuil économique (Maameri, 2013). En principe, la grande diversité des ressources biologiques pouvant être exploitées en lutte biologique a produit diverses technologies utilisables (Cloutier et Cloutier, 1992). Les auxiliaires qui se nourrissent de pucerons sont nombreux (Cherfaoui, 2010). On distingue les insectes, les arachnides et les champignons entomo-pathogènes.

La façon dont les insectes se nourrissent permet de les diviser en deux catégories : les prédateurs et les parasites (Abbou, 2012). Selon Dajoz (1980), les insectes peuvent être utiles tels que les parasites et les prédateurs, dont le rôle n'est pas négligeable dans la régulation des espèces nuisibles. Les prédateurs de pucerons sont des insectes polyphages, qui se nourrissent de nectar ou pollen, outre les pucerons, et parfois d'autres ravageurs (Malais *et al.*, 2006).

3.2 Lutte biologique classique

C'est l'introduction intentionnelle d'ennemis naturels étrangers pour établir et réguler le nombre de ravageurs de manière durable dans le temps. Il a été développé à la fin du 19^{ème} siècle pour lutter contre les parasites étrangers.

Au fil du temps, le champ d'application de la lutte biologique classique s'est élargi car il est toujours utilisé pour lutter contre les ravageurs locaux, créant ainsi une nouvelle association proie-prédateur (Haje, 2004).

Dans les années 1920, lorsque la coccinelle australienne *Rodolia (Novius) cardinalis (Mulsant)* a été introduite pour lutter contre la cochenille extraterrestre *Icerya purchasi Maskell*, l'Algérie a utilisé la lutte biologique classique. Ce ravageur a détruit presque toutes les plantations d'agrumes du pays à cette époque.

3.3 Types de lutte biologique

3.3.1 Insectes auxiliaires

Le puceron noir de la fève compte plusieurs ennemis naturels. Deux catégories sont à distinguer :

- Les prédateurs, qui sont selon GEORCRET et SCHEROMM (1995) :
 - Les coccinelles (Coléoptères, Coccinellidae) sont à la fois polyphages et insatiable. La femelle pond 20 œufs par jour, près de puceron. Les larves et les adultes sont des prédateurs supérieurs. Ce Le stade larvaire plus âgé peut consommer jusqu'à 100 pucerons par jour.
 - Les chrysopes (Neuroptera, Chrysopidae) ont des larves comestibles, il y a jusqu'à 500 pucerons chaque jour.
 - Mouches caractérisées par le jaune tacheté (Diptera, Syrphidae) et le noir qui les fait ressembler à des guêpes. La recherche de nourriture par les adultes est pollinisatrice, mais les larves avalent 40 à 50 pucerons par jour.
- Les parasitoïdes dont les larves se développent dans les pucerons et vivent au détriment de ces derniers, tels que les *Hyménoptères Chrysididae* (guêpe fousseuse) ou les *Pompilidae* (guêpes solitaires noires). Le parasitoïde le plus utilisé dans la lutte biologique est la guêpe parasitoïde *Aphidius sp.* Dont les

femelles pondent leurs œufs dans tous les stades de pucerons. La morphologie des pucerons parasités change et ils sont alors appelés « momies ».

Un individu de ces auxiliaires parasite jusqu'à 250 pucerons (LECLANT, 1999).

3.3.2 Bio-insecticides

Les insecticides naturels peuvent également être utilisés pour la lutte biologique, à base de pyréthrine, molécule issue de la plante de chrysanthème *Chrysanthemum cinerariifolium*, il agit en paralysant les pucerons par contact.

Le traitement se fait par pulvérisation répétée de toute la feuille et opération jusqu'à ce que les pucerons soient complètement morts (Lambert, 2005).

Une autre méthode de traitement respectueuse de l'environnement peut être utilisée, qui consiste à pulvériser du savon noir dilué à 5%. En effet, le savon noir est alcalin et agit comme un excellent insectifuge. De préférence un savon noir sans colorants, sans parfums et sans pigments. Aucun ingrédient synthétique n'est ajouté (SALIN, 2011). D'autres produits d'huile minérale sont utilisés pour lutter contre les pucerons, ne contenant aucune substance active et ne fonctionnant qu'en tuant les insectes recouvert d'un film d'huile. Ces produits peuvent être utilisés en agriculture biologique, donc sous forme d'extrait de plante telle que la coriandre.

3.4 Méthode de lutte biologique

L'utilisation de méthodes de lutte biologique n'est pas une garantie de production agricole naturelle, mais une production moins polluante. Selon le mode d'utilisation, plusieurs types de lutte biologique peuvent être identifiés. La lutte biologique classique est une technologie qui introduit de nouvelles espèces dans l'environnement pour contrôler les populations de ravageurs (Bovin, 2001). Les phages d'insectes ou les agents pathogènes étrangers sont utilisés pour lutter contre les parasites précédemment introduits ou naturellement présents dans d'autres parties du monde ou dans l'aire de répartition d'origine du parasite (Fraval et Silvy, 1999). Le contrôle biologique des crues est une technologie auxiliaire. En d'autres termes, nous avons augmenté le nombre d'ennemis naturels. Chaque fois que le nombre d'organismes nuisibles augmente dangereusement, il est nécessaire de libérer ou d'inoculer (de grandes quantités) d'organismes antagonistes.

Le concept de la lutte biologique a subi une évolution au cours du temps et intègre toutes les formes non chimiques du contrôle des ravageurs des récoltes, il permet d'intégrer à

l'utilisation des méthodes culturales, défavorisant les ravageurs des récoltes, la résistance variétale qui est la capacité pour une variété de plante d'obtenir une bonne productivité malgré la présence de ravageurs (Fraval et Silvy, 1999). Deux mécanismes sous-tendent à ce concept : l'entixénose, quand la plante, par sa physiologie, sa morphologie ou sa phénologie (structure des organes, goût, odeur, couleur, longueur, de son cycle de développement) repousse ou amoindrit les dommages causés par le ravageur, et l'antibiose, quand la plante est capable de produire une substance pouvant empêcher le développement du ravageur (Fraval et Silvy, 1999).

3.5 Avantages et inconvénients de la lutte biologique

Selon Badji et Abdelmalek, 2017 :

3.5.1 Avantages

- Efficace.
- Permet de restreindre ou d'éliminer l'utilisation des pesticides chimiques.
- Moins toxique que les pesticides chimiques.
- Utilisable en serre.
- Diminution des risques d'apparition de résistances aux produits chimiques.
- Plus grande spécificité d'action.
- Développement moins cher.
- Amélioration de la qualité de vie et de la santé des travailleurs agricole.
- Pas de délai de traitement avant la récolte.
- Pas de contamination des produits (pas de résidus chimiques).
- Diminution des risques de pollution et décomposition rapide des biopesticides.

3.5.2 Inconvénients

- Lutte souvent faite en prévention et moins efficaces lorsqu'elle est curative.
- Effet moins drastique que les pesticides (plus d'application).
- Effets différé.
- Efficacité pas toujours constante d'une production à l'autre.
- Efficace aux conditions climatiques.
- Activité restreinte lors d'une grande pression du ravageur.
- Conditions d'entreposage des produits biologiques (demi- vie et températures plus fraiche).

- Nécessite d'excellentes connaissances de l'écologie des pathogènes cibles et des agents de contrôles biologiques et de relation pathogène cible- agent de contrôle biologique.

Partie2
Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Le travail de la présente étude est réalisé au niveau du laboratoire de Zoologie. Département de microbiologie. Faculté SNV. Université des frères Mentouri Constantine 1. Il porte sur l'isolement et l'identification macroscopique et microscopique des champignons phytopathogènes responsables des maladies cryptogamiques, rencontrées durant la saison agricole 2020-2021 chez les agrumes en particulier le citron cultivé au niveau de la commune d'El Harrouch, wilaya de Skikda.

1. Site d'échantillonnage

La commune d'El Harrouch est située à 30 km de Skikda, 50 km de Constantine, 80 km de Guelma et 90 km d'Annaba. Le fleuve traversant cette commune est l'Oued Ensa. Le barrage le plus près se trouvant à 3 km est le barrage des Zardézas. Son climat est méditerranéen avec été chaud et hiver globalement doux. Le relief, accidenté dans la région d'El Harrouch, introduit des nuances supplémentaires entre la vallée du Saf-Saf et les zones montagneuses. Les saisons été et hiver sont bien définies. Les pluies sont moins importantes en été qu'elles ne le sont en hiver. En moyenne la température à El Harrouch est de 17,4 °C. Il tombe en moyenne 704 mm de pluie par an. Le mois le plus sec est celui de juillet avec seulement 5 mm, avec une moyenne de 126 mm. C'est le mois de janvier qui enregistre le plus haut taux de précipitations. Avec une température moyenne de 26,0°C, le mois d'août est le plus chaud de l'année. Avec une température moyenne de 10, 0°C, le mois de janvier est le plus froid de l'année (figure 3).

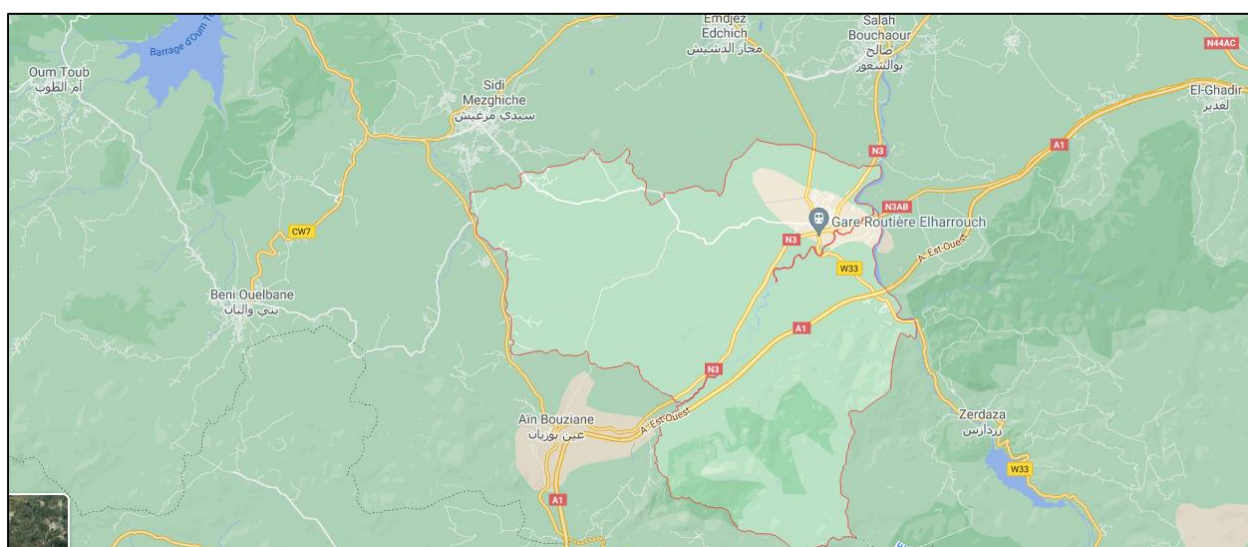


Figure 3 : Localisation de la commune d'El Harrouch, wilaya de skikda. Est Algérien (Google maps ; 13/08/2021).

2. Echantillonnage

Les échantillons sont prélevés à partir du champ de culture de la commune d'ElHarrouch, située dans la wilaya de Skikda (Figure4).L'échantillonnage est effectué de manière précise, réalisé durant la période du mois d'Avril de l'année 2021. Il s'agit de deux fruits de citrons et deux feuilles infectés. Le prélèvement des échantillons est effectué entièrement à la main avec un ciseau stérile, introduit séparément dans des sacs alimentaires en plastique, conservés dans une glacière pour éviter toute modification pendant le transport. En fin, les échantillons sont transportés au laboratoire pour la recherche et l'examen mycologique.





Figure 4 : Le champ de prélèvement des échantillons (El Harrouch) avril 2021.

3. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre analyse expérimentale est le fruit de citron et leurs feuilles. Ces Parties végétales sont caractérisées par des symptômes caractéristiques des maladies, telles que la moniliose et la ménalose (Tableau 3).

Tableau 3 : Les symptômes des maladies cryptogamiques rencontrés chez le fruit et les feuilles.

Fruit de citron	Feuilles
	

4. Pré-traitement et mise en culture des échantillons

4.1 Milieu de culture

Durant le premier isolement des agents phytopathogènes, on a le milieu agar blanc est utilisé. Il s'agit d'un milieu pauvre et donne une croissance lente et disciplinée des champignons. Les colonies apparues sur ce milieu sont directement repiquées sur un milieu plus riche, le milieu *potato dextrose agar* PDA (Annexe 1), additionné de l'antibiotique Gentamicine (150mg/l), pour empêcher tout risque de contamination, jugé comme milieu standard et favorable pour la croissance et la sporulation des champignons microscopiques.

5. Méthodes d'isolement

5.1 désinfection des échantillons

Après l'examen visuel de l'organe affecté par l'agent pathogène, les échantillons (citron et feuilles) sont trempés dans une solution d'hypochlorite de sodium à 1% pendant 10 minutes (Figure 5), les différentes parties désinfectées sont ensuite rincées à l'eau distillée stérile deux fois afin d'éliminer toute trace d'hypochlorite de sodium (Zehhar, 2006).



Figure 5 : Désinfection des échantillons à l'hypochlorite de sodium.

A : Désinfection de citron. **B** : Désinfection des feuilles.

5.2 Séchage et ensemencement des échantillons

Le séchage est effectué dans la zone stérile, à proximité du bec bunsen. Les échantillons désinfectés sont déposés sur du papier absorbant pendant quelques minutes jusqu'à l'obtention des échantillons totalement secs (Figure 6).

La mise en culture est réalisée par ensemencement de fragments des échantillons prétraités (deux citrons et deux feuilles) sur milieu Agar blanc (Figure 7). Pour chaque échantillon, l'ensemencement est réalisé par triplicate (trois boîtes pour chaque fragment).

Les boîtes de Pétri sont incubées à 28°C jusqu'à l'apparition des premiers filaments transparents, qui seront repiqués sur de nouvelles boîtes coulées de milieu PDA, puis incubées à 28°C jusqu'à une bonne sporulation. Ces dernières boîtes font l'objet d'une purification et d'une identification des isolats obtenus (Rémi, 1997).

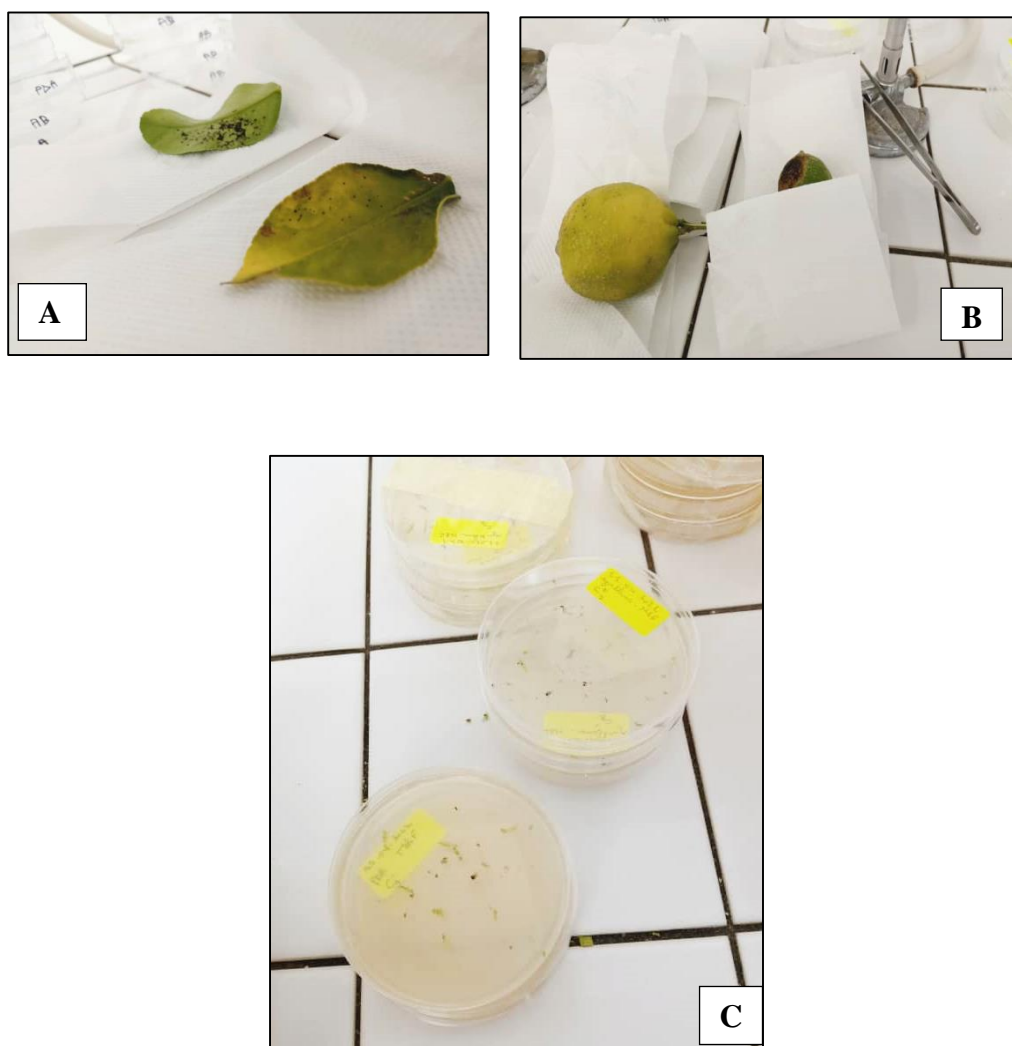


Figure 6 : Séchage et ensemencement des échantillons.

A : Séchage des feuilles. **B** : Séchage des fruits. **C** : Ensemencement sur milieu agar blanc.

6. Purification des isolats fongiques

La purification est réalisée par transfert de colonies fongiques bien isolées, ayant développées sur des boîtes contenant le milieu de culture Agar blanc ou PDA (chaque colonie est récupérée dans une boîte). Le milieu PDA est considéré comme milieu favorable au développement fongique et la sporulation des champignons (Botton *et al.*, 1990).

Les boîtes de repiquage ainsi obtenues, sont incubées à 28C°, pendant 4 à 6 jours. Cette étape est répétée jusqu'à l'obtention de colonies pures.

6.1 Caractérisations des isolats fongiques

6.2 Etude morphologique et culturale

Pour l'observation macroscopique des moisissures, il est nécessaire de caractériser ces isolats sur milieu PDA par :

- **L'aspect des colonies** : qui représente un critère clé d'identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses.
- **La couleur des colonies** : c'est un élément très important pour l'identification. Les couleurs les plus fréquentes sont : blanc, crème, jaune, orange, brun, vert foncé allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*), présence ou absence d'exsudât sous forme des gouttelettes sur le mycélium, temps de sporulation, texture de la surface etc...) (Botton *et al.*, 1990).
- **Le relief des colonies** : il peut être plat ou plissé et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure).
- **La taille des colonies** : Elle peut être très variable en fonction des genres fongiques : petites colonies (*Cladosporium*) ou au contraire, colonies étendues, envahissantes (*Mucor*, *Rhizopus*)(Botton *et al.*, 1990).

6.3 Examen microscopique

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame, lamelle et coloration par le bleu au lactophénol (annexe 2). La manipulation consiste à mettre un petit fragment mycélien sur la lame propre placée entre deux bec Bunsen en présence d'une goutte du liquide de montage bleu au lactophénol, et légèrement le dilacéré, puis le recouvrir délicatement d'une lamelle en évitant de créer des bulles d'air ou des débordements (Botton *et al.*, 1990).

Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants (Chabasse, 2002).

L'observation microscopique permet de détecter la présence du thalle, la présence ou l'absence de septum, la nature de la reproduction et les caractéristiques des fructifications et des spores.

7. Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma longibrachiatum*, à l'égard des champignons pathogènes isolés

L'activité antagoniste de *Trichoderma longibrachiatum* fournie gracieusement de la part de notre encadrante (Leghlimi, 2013), contre les souches pathogènes isolées, est étudiée selon deux méthodes : confrontation directe et confrontation à distance.

7.1 Confrontation directe

Dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA, deux disques de 5 mm de diamètre constitués par l'inoculum du pathogène et celui de l'antagoniste sont placés à 60 mm l'un de l'autre, symétriquement par rapport au centre de la boîte. Pour le témoin, un disque mycélien du pathogène est déposé dans une autre boîte.

Incuber les boîtes pendant cinq jours à l'obscurité et à 28°C (Figure 7) (Attrassi, 1985).

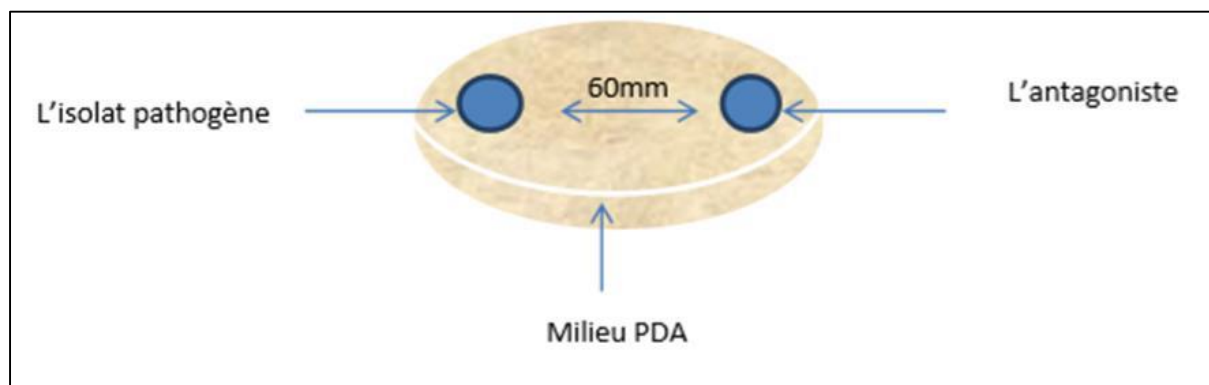


Figure 7 : Confrontation directe de l'agent antagoniste *Trichoderma longibrachiatum* et l'isolat pathogène par contact directe sur milieu PDA (Hibar, 2005).

7.2 Confrontation à distance

Il consiste à repiquer l'antagoniste et le pathogène dans deux boîtes séparées ; par la suite, un assemblage est réalisé par la super position des deux boîtes, *Trichoderma longibrachiatum* en bas et le pathogène en haut. La jonction entre les deux boîtes est assurée par des couches de para film afin d'éviter toute déperdition des substances volatiles. On expose ainsi l'isolat de l'agent pathogène à l'influence des substances volatiles émises par la souche de *Trichoderma longibrachiatum*.

Le témoin est formé par super position de deux boîtes, celle du haut contenant une pastille de l'agent pathogène, alors que celle du bas ne contient que le milieu PDA. Les boîtes sont soumises pendant 5 jours à 28°C dans l'obscurité (Figure 8).

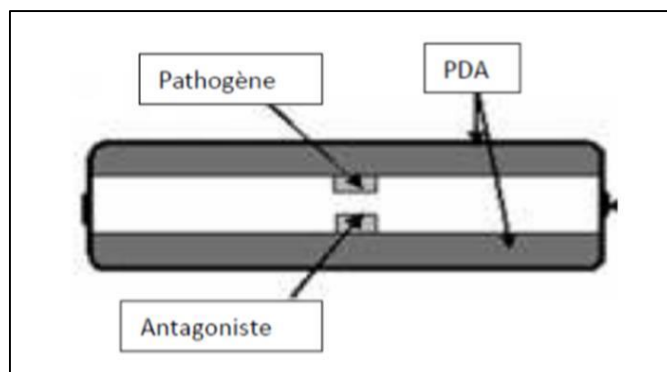


Figure 8 : Confrontation à distance entre *Trichoderma longibrachiatum* et l'isolat pathogène (Hamouni, 1996).

Le pourcentage d'inhibition ($IC\%$) de la croissance mycélienne du pathogène par l'antagoniste, est évalué selon la formule suivante :

$$IC\% = (DT - DPA / DT) \times 100.$$

DT : croissance diamétrale du témoin. DPA : croissance diamétrale mycélienne du pathogène en présence de l'antagoniste (Benhamou et Chet, 1996 ; Comporta, 1985 ; Hibar, 2005).

8. Conservation des souches

La conservation des isolats obtenus sous forme de suspension de spores, est réalisée à partir des cultures fongiques bien sporulées sur milieu PDA. Les suspensions de spores sont récupérées par addition d'une solution d'eau tweenée glycérol 20%, puis conservées à -20°C jusqu'à leur utilisation.

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1 Isolement et purification des agents pathogènes

L'isolement est réalisé à partir de deux échantillons : feuilles et fruit (citron), présentant des symptômes de maladies, font l'objet d'une analyse mycologique, afin d'isoler et d'identifier les agents pathogènes responsables de ces pathologies. Selon les échantillons, l'analyse abouti à des colonies fongiques de divers aspect, texture et couleurs.

Après sept jours d'incubation à 28°C sur milieu PDA, on a pu obtenir 24 boîtes contenant des colonies fongiques à partir des deux échantillons (citron et feuilles), 12 boîtes du premier échantillon (à partir de deux fruit de citron : C1, C1', C2, C2') et 12 boîtes du deuxième échantillon (à partir de deux feuilles : F1, F1', F2, F2').

1.2 Identification des agents pathogènes

L'identification de ces souches étant basée essentiellement sur les clés de détermination des genres à savoir les caractères cultureux et la morphologie microscopique, établies par Botton *et al.*, (1990), Messiaen, (1991) et Rémi, (1997).

L'identification des isolats fongiques nous a permis de les rapprocher à huit genres différents, il s'agit : *Alternaria sp* 31 isolats (77,5%) ; *Cladosporium sp* 2 isolats (5%) ; *Penicillium camemberti* 2 isolats (5%) ; *Aspergillus fumigatus* 1 isolat (2,5%) ; *Aspergillus versicolor* 1 isolat (2,5%) ; *Fusarium solani* 1 isolat (2,5%) ; *Fusarium moniliforme* 1 isolat (2,5%) ; *Penicillium requeforti* 1 isolat (2,5%). (Tableau 4 et 5), (Figure 9).

Tableau 4 : Quantification des isolats fongiques à partir des échantillons étudiés (citron et feuilles).

Echantillons	Isolats fongiques	
	Genre	Nombre d'isolats
1 ^{er} échantillon : citron C1	<i>Alternaria sp</i>	12
	<i>Fusarium solani</i>	1
	Nombre total	13
C1'	<i>Alternaria sp</i>	4
	<i>Fusarium moniliforme</i>	1
	<i>Penicillium requeforti</i>	1
	Nombre total	6

C2	<i>Alternaria sp</i>	9
	<i>Aspergillus versicolor</i>	1
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	1
	<i>Cladosporium sp</i>	2
Nombre total		13
C2'	<i>Alternaria sp</i>	1
	<i>Penicillium camemberti</i>	2
Nombre total		3
2^{ème} échantillon : feuilles		
F1	<i>Alternaria sp</i>	1
F1'	<i>Alternaria sp</i>	1
F2	<i>Alternaria sp</i>	2
F2'	<i>Alternaria sp</i>	1

Tableau 5 : Nombre et pourcentage totale des espèces fongiques isolés à partir du citron et leurs feuilles.

Genre	Nombre d'isolats
<i>Alternaria sp</i>	31
<i>Cladosporium sp</i>	2
<i>Penicillium camemberti</i>	2
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1
<i>Aspergillus versicolor</i>	1
<i>Fusarium solani</i>	1
<i>Fusarium moniliforme</i>	1
<i>Penicillium requeforti</i>	1

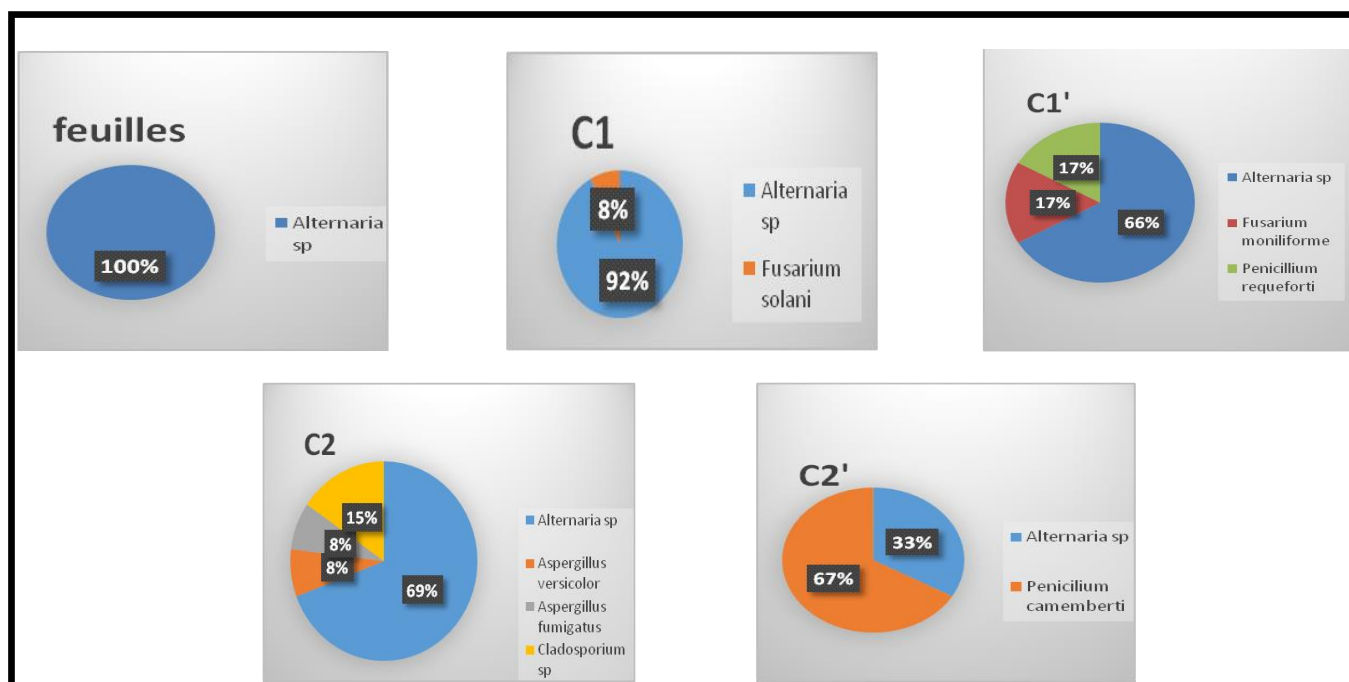



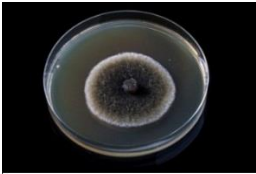
Figure 9 : Répartition en pourcentage des genres fongiques isolés à partir du citron et des feuilles.

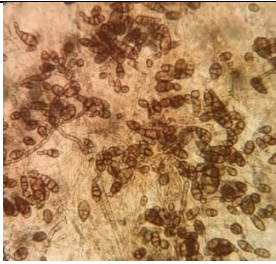
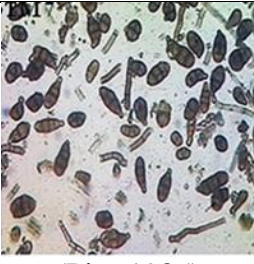

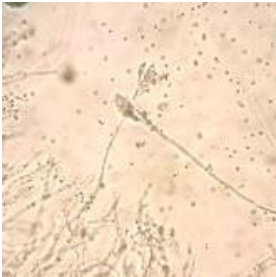

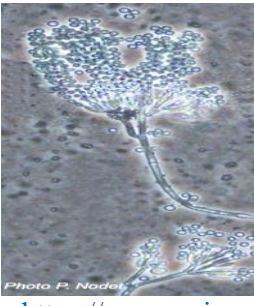
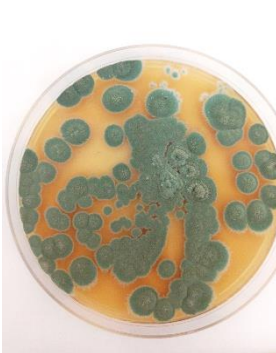

1.2.1 Isolats fongiques obtenus de citron et des feuilles

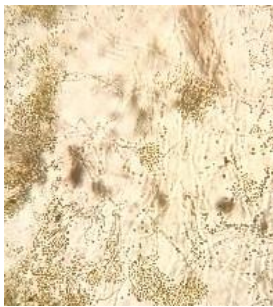



Les caractères macroscopiques des différentes souches obtenus sont étudiés sur le milieu PDA et Sabouraud.



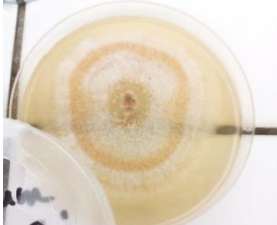


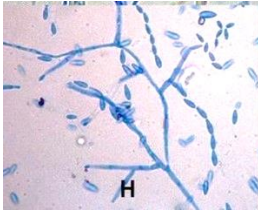
Le tableau 6 résume l'aspect macroscopique et microscopique des souches fongiques obtenues.


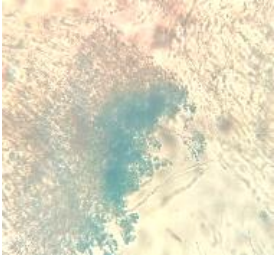





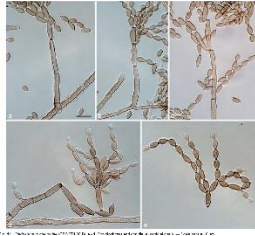
Tableau 6 : Les isolats fongiques obtenus à partir des échantillons prélevés.

Classification des mycètes étudiés	Caractères macroscopiques et microscopiques		
	Photo obtenu (nos résultats)	Photo de référence	Critères macroscopiques
Règne : Fungi Division : Ascomycota Classe : Euascomycetes Ordre : Pleosporales Famille : Pleosporaceae Genre : <i>Alternaria</i>		 https://www.shutterstock.com	Critères macroscopiques - Recto : vert olive et blanc grisâtre -Présence d'exsudat, la couleur du milieu ne change pas, colonies filamenteux, plat, opaque. - Verso : marron foncé. - Croissance : moyenne. Critères microscopiques

		 <p>(Pitt, 1985)</p>	<p>-Conidies : brunes, Pluricellulaires. -Aspect puriforme ou ovoïde, avec une partie basale arrondie et une extrémité apicale allongé. Ce sont des dictyospores.</p>
<p>Règne : Fungi Division : Ascomycota Classe : Eurotiomycètes Ordre : Eurotiales Famille : Trichocomaceae Genre : <i>Penicillium</i> Espèce : <i>Penicillium camemberti</i></p>	 	 <p>https://www.cnrs.fr</p>  <p>https://www.univ-brest.fr</p>	<p>Critères macroscopiques -Recto : vert avec un aspect poudreux. - la couleur du milieu ne change pas. Colonies plates. -Verso : vert clair. -Croissance : moyenne.</p> <p>Critères microscopiques -Mycélium cloisonné. -La présence de conidiophores dressés, plus ou moins ramifiés, terminés par des phialides, l'ensemble de ces derniers donne une image d'un pinceau.</p>
<p>Règne : Fungi Division : Ascomycota Classe : Eurotiomycetes Ordre : Eurotiales Famille : <u>Trichocomaceae</u> Genre : <i>Aspergillus</i> Espèce : <i>Aspergillus</i></p>		 <p>http://www.univ-brest.fr</p>	<p>Critères macroscopiques -Recto : vert-gris avec un aspect velouté et mâte. -Colonies avec bordures blanches. - Verso :jaune-orangé. - Croissance : optimale et rapide.</p> <p>Critères microscopiques -La présence d'une tête</p>

<p><i>fumigatus</i></p>		 <p>(Morin, 1994)</p>	<p>aspergilaire unisériée, en colonne.</p> <p>-Les conidiophores de longueur variable, forment des phialides.</p> <p>-Conidies rondes, unicellulaires, basipétales disposées en chainettes.</p>
<p>Règne : Fungi Division : Ascomycota Classe : Eurotiomycetes Ordre : Eurotiales Famille : Trichocomaceae Genre : <i>Aspergillus</i> Espèce : <i>Aspergillus versicolor</i></p>	 	 <p>https://drupal.aspergillus.co.uk</p>  <p>https://www.univ-brest.fr</p>	<p>Critères macroscopiques</p> <p>-Recto : blanches virant au jaune orangé.</p> <p>-Aspect cotonneux, bombé.</p> <p>-Croissance : lente.</p> <p>-Verso : crème jaunâtre à rose orangé.</p> <p>Critères microscopiques</p> <p>-Conidies globuleuses, échinulées.</p> <p>-La tête aspergilaire bisériée, radiée.</p> <p>-Phialides portées par des métules, couvrant les trois quarts supérieurs de la vésicule.</p>
<p>Règne : Fungi Division : Ascomycota Classe : Sordariomycetes Ordre : Hypocreales Famille : Nectriaceae Genre : <i>Fusarium</i> Espèce : <i>Fusarium</i></p>		 <p>https://sites.kowsarpub.com</p>	<p>Critères macroscopiques</p> <p>-Recto : thalle blanc grisâtre.</p> <p>-Mycélium aérien plus ou moins diffus ou dense et floconneux.</p> <p>-Croissance : peu rapide.</p> <p>-Verso : blanc.</p> <p>Critères microscopiques</p> <p>- Mycélium cloisonné.</p>

<p><i>solani</i></p>		 <p>https://www.elsevier.es/</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Présence de macro et microconidies. - Chlamydospores fréquentes. - Conidiophores ramifiés portant des monophialides.
<p>Règne : Fungi Division : Ascomycota Classe : Sordariomycetes Ordre : Hypocreales Famille : Nectriaceae Genre : <i>Fusarium</i> Espèce : <i>Fusarium moniliforme</i></p>	 	 <p>https://www.flickr.com</p>  <p>https://www.researchgate.net</p>	<p>Critères macroscopiques</p> <ul style="list-style-type: none"> -Recto : blanc à pêche. -Aspect floconneux à feutré, d'abord blanc puis virant au rose pâle. -Croissance : moyenne. -Verso :jaune orangé. <p>Critères microscopiques</p> <ul style="list-style-type: none"> -Conidiophores rarement ramifiés. -Microconidies unicellulaires, étroites en fuseau allongé légèrement incurvées, à cellule terminale légèrement incurvée avec une extrémité arrondie, et cellule basale pédicellée.

<p>Règne : Fungi Division : Ascomycota Classe : Eurotiomycètes Ordre : Eurotiales Famille : Trichocomaceae Genre : <i>Penicillium</i> Espèce : <i>Penicillium requieforti</i></p>	 	 <p>http://biologie.ens-lyon.fr</p>  <p>http://biologie.ens-lyon.fr</p>	<p>Critères macroscopiques</p> <p>-Recto : vert à gris.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Les colonies sont denses, poudreuses et duveteuses. - Absence d'exsudats. <p>-Verso : vert profond.</p> <p>Critères microscopiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Les conidies sont sphériques, elles sont portées en longues colonnes compactes irrégulières. - Les conidiophores sont portés par des hyphes subsurfaux.
<p>Règne : Fungi Division : Ascomycota Classe : Dothideomycetes Ordre : Capnodiales Famille : Davidiellaceae Genre : <i>Cladosporium</i></p>	 	 <p>https://www.alamyimages.f</p>  <p>https://www.semanticscholar.org</p>	<p>Critères macroscopiques</p> <p>-Recto : vert olive à noire</p> <ul style="list-style-type: none"> - colonies un peu bombé, avec un aspect velouté. - Croissance : lente. - Verso : noire. <p>Critères microscopiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Filaments mycéliens cloisonnés pigmentés. - Grands conidiophores bruns plus foncés que les filaments mycéliens. - Petites conidies ovalaires.

1.3 Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma longibrachiatum* à l'égard des champignons pathogènes isolés

Après l'isolement et l'identification des souches fongiques pathogènes obtenues à partir des échantillons de citron et de feuilles infectés. On a procédé à des tests d'antagonisme en moyennant une souche de *Trichoderma longibrachiatum*.


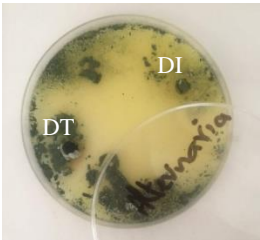
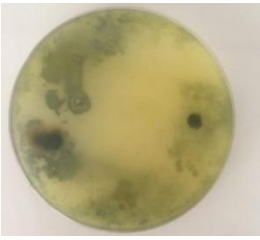
Pour ce faire, deux méthodes sont utilisées : la confrontation directe (technique de double culture) et la confrontation à distance (indirecte) (effet d'inhibiteurs volatils).


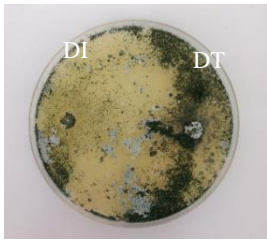
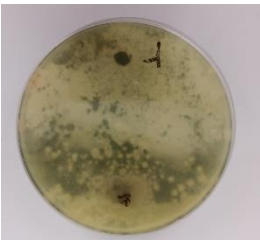



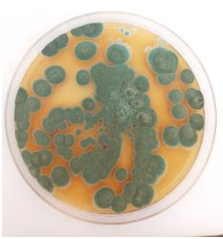
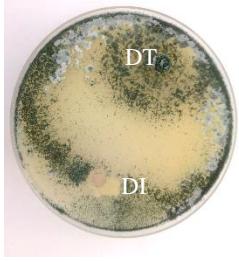
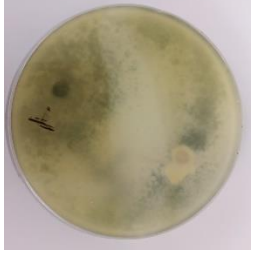

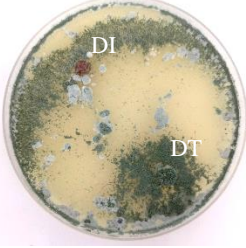
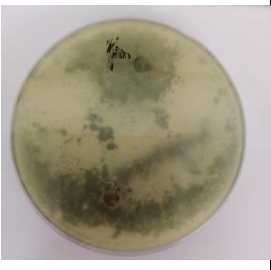

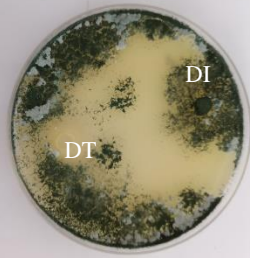
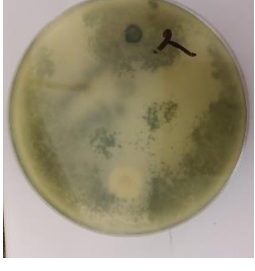
1.3.1 Confrontation directe

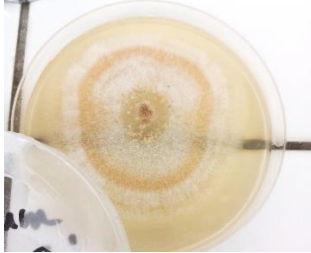
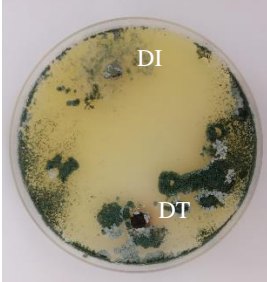
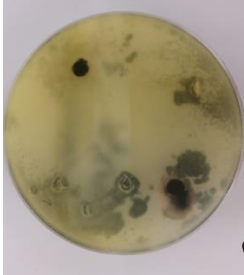


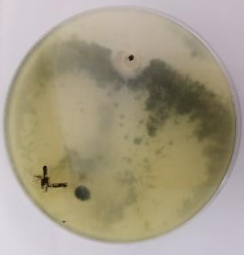
Les résultats obtenues (tableau 6) montrent que la croissance mycélienne des souches témoins est plus importante en comparaison à ceux obtenues avec les différentes confrontations (Pathogène-Antagoniste).

Après 7 jours d'incubation à 28°C, une action inhibitrice est mise en évidence. Les tests de la confrontation directe réalisés *in vitro*, entre l'espèce *Trichoderma longibrachiatum*, et les isolats fongiques pathogènes, ont montré une action inhibitrice de *Trichoderma* contre ces isolats en culture mixte (tableau 7).

Tableau 7: L'effet inhibiteur de *Trichoderma longibrachiatum* sur la croissance mycélienne des souches pathogènes (confrontation directe). DT : disque *Trichoderma longibrachiatum* et DI : disque de l'isolat pathogène.

Isolats fongiques	Témoin	Résultats du test d'antagonisme		Pourcentage d'inhibition
		Recto	Verso	
<i>Alternaria sp</i>				100%

<p><i>Penicillium camemberti</i></p>				<p>100%</p>
<p><i>Penicillium requieforti</i></p>				<p>100%</p>
<p><i>Aspergillus fumigatus</i></p>				<p>100%</p>
<p><i>Aspergillus versicolor</i></p>				<p>100%</p>
<p><i>Fusarium solani</i></p>				<p>100%</p>

<p><i>Fusarium miniliforme</i></p>				<p>100%</p>
<p><i>Cladosporium sp</i></p>				<p>100%</p>

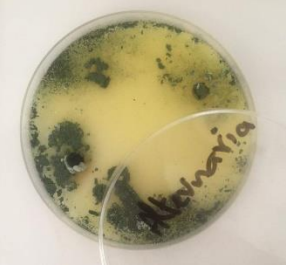
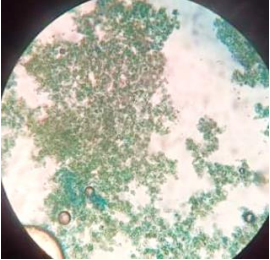
L'analyse des résultats obtenus (tableau 7), montrent également qu'après 7 jours d'incubation l'espèce *Trichoderma longibrachiatum* a provoqué une zone d'inhibition optimale à 100 % vis-à-vis tous les isolats pathogènes.

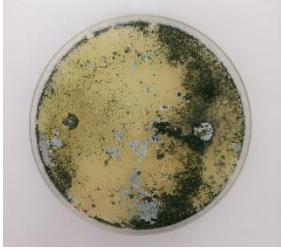
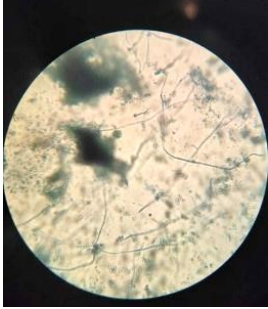
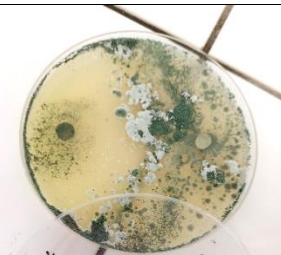
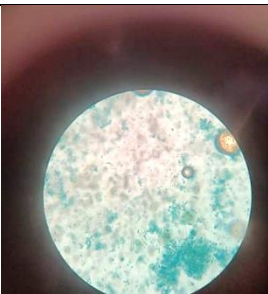



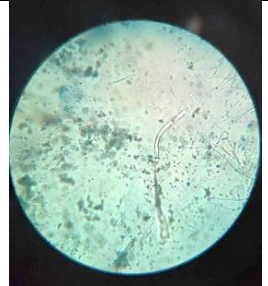

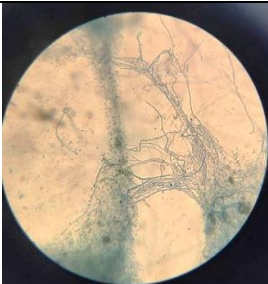
L'inhibition de la croissance de ces isolats par l'espèce de *Trichoderma* est maximale, dont le taux d'inhibition atteint-les 100%, et par conséquent, la souche antagoniste a pu se développer et envahir toute la surface de la gélose.

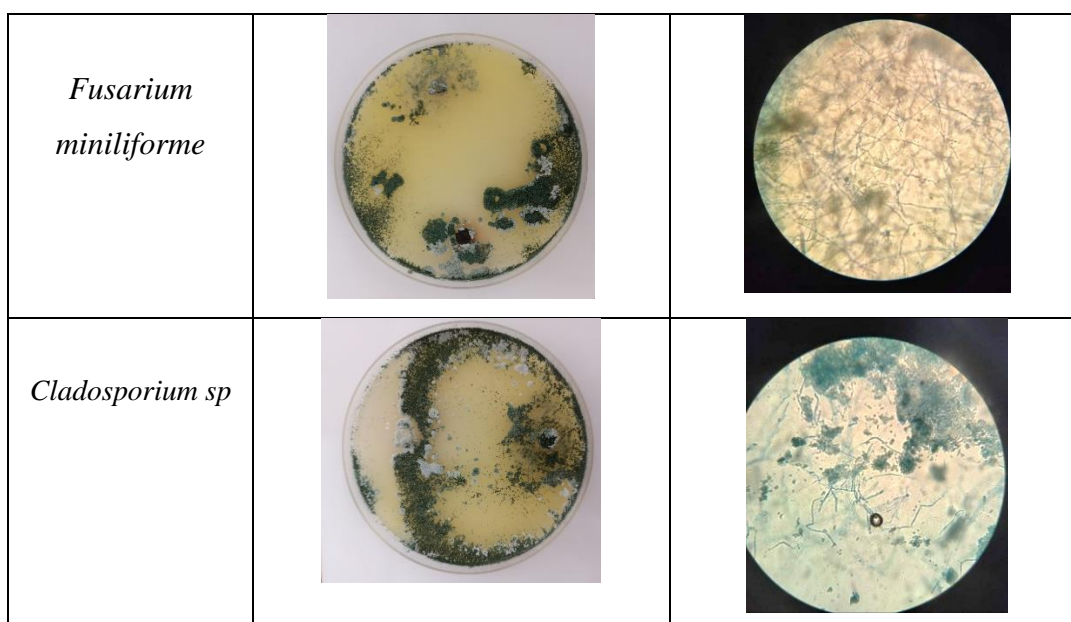
1.3.2 Observation microscopique de la zone de contact direct entre l'isolat pathogène et l'antagoniste

L'examen microscopique de la confrontation directe entre l'antagoniste *Trichoderma longibrachiatum* et les isolats pathogènes est consigné dans le tableau 8.

Tableau 8 : Observation microscopique de la zone de contact direct entre les isolats fongique et *Trichoderma longibrachiatum*.

Souche fongique	Observation macroscopique	Observation microscopique
<p><i>Alternaria sp</i></p>		

<p><i>Penicillium camemberti</i></p>		
<p><i>Penicillium requieforti</i></p>		
<p><i>Aspergillus fumigatus</i></p>		
<p><i>Aspergillus versicolor</i></p>		
<p><i>Fusarium solani</i></p>		



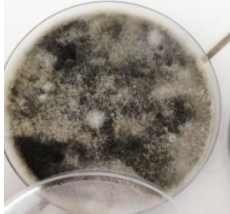
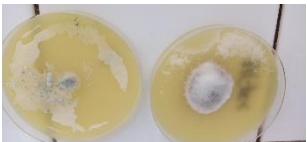



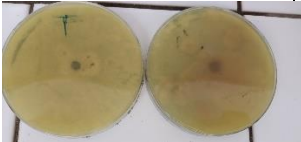

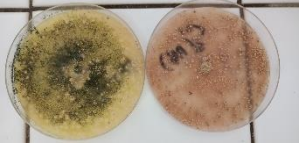
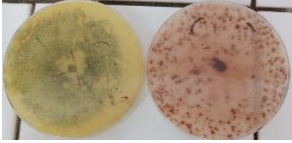
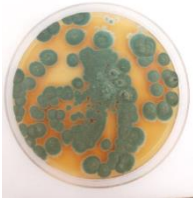
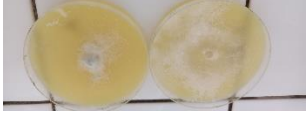




Dans le but d'étudier les modifications structurales qui affectes les isolats fongiques en réaction antagoniste de la souche *Trichoderma longibrachiatum*, les observations ont montré l'attachement du mycélium de *Trichoderma longibrachiatum* à celui du mycélium de souches fongiques isolées, un enroulement massif du mycélium de *Trichoderma* sur celui des isolats fongiques et une lyse des mycéliums de pathogènes, une vacuolisation et une induction du vieillissement précoce par épaissement pariétal et une formation des chlamydospores.


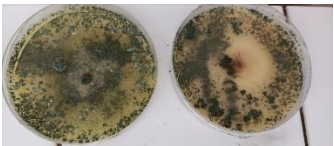
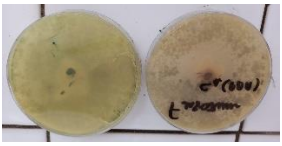
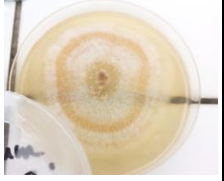



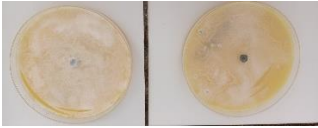
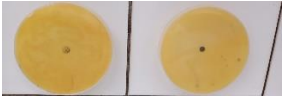
1.3.3 Confrontation indirecte

Cette technique nous a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur à distance de *Trichoderma longibrachiatum* sur les souches pathogènes isolées du citronnier. Les résultats obtenus expliquent l'effet inhibiteur des substances volatiles libérées par la souche antagoniste sur la croissance mycélienne des pathogènes par rapport aux témoins.

Le tableau 9 résume les résultats obtenus, après 07 jours d'incubation à 28°C.

Tableau 9 : L'effet inhibiteur de *Trichoderma longibrachiatum* sur la croissance mycélienne des souches pathogènes (test indirect).

Souches fongiques	Témoin	Résultats du test d'antagonisme		Pourcentage d'inhibition
		Recto	Verso	
<i>Alternaria sp</i>				60%
<i>Penicillium camemberti</i>				56.63%
<i>Penicillium requeforti</i>				3.5%
<i>Aspergillus fumigatus</i>				81.48%
<i>Aspergillus versicolor</i>				76.76%

<i>Fusarium solani</i>				35%
<i>Fusarium moniliforme</i>				30%
<i>Cladosporium sp</i>				24%

Les résultats obtenus montrent un ralentissement de la croissance mycélienne des souches pathogènes exercée par l'espèce *Trichoderma longibrachiatum* comparativement aux témoins. Contrairement au test de la confrontation directe, dont la croissance mycélienne des isolats pathogènes est absente avec une inhibition à 100%.

La croissance mycélienne des témoins est plus importante par rapport à celle obtenue avec les différentes confrontations (Pathogène-Antagoniste). Ainsi que, les taux d'inhibition varient du taux le plus faible 3,5% mesuré contre *Penicillium roqueforti* au taux le plus élevé de 81,48% contre *Aspergillus fumigatus*.

Après 7 jours d'incubation, lors de la confrontation à distance, la plus faible inhibition de la croissance mycélienne est enregistrée avec la souche *Penicillium roqueforti* (3.5%), ce qui signifie que cet isolat s'avère être résistant aux substances volatiles produites par l'antagoniste *Trichoderma longibrachiatum*. Par la suite, viennent les isolats *Cladosporium sp* (24%), *Fusarium moniliforme* (30%) et *Fusarium solani* (35%), dont l'inhibition de leur croissance est comme même faible, par conséquent, on peut dire qu'elles semblent résistantes à l'effet inhibiteur des substances produites par *Trichoderma longibrachiatum*. Les isolats s'avèrent moyennement sensibles sont : *Penicillium camemberti* (56,63%) et *Alternaria sp* (60%). En revanche, les métabolites volatiles de *T. longibrachiatum* se sont avérés très efficaces contre *Aspergillus versicolor* et *Aspergillus fumigatus*, dont le pourcentage d'inhibition est très élevée 76.76% et 81.48%, respectivement.

2. Discussion

Cette étude porte sur l'isolement et l'identification des souches fongiques phytopathogènes du citronnier, à partir de deux échantillons différents de la plante : feuilles et fruits, prélevé de la région agricole de la commune d'El Harrouch. Skikda.

La présente étude, nous a permis d'obtenir différentes souches fongiques entre les deux échantillons, cette différenciation est causé par les conditions climatiques, les conditions de conservation (humidité, température et système de ventilation) ou bien l'installation d'une charge fongique importante, ce qui peut entraîner une modification qualitative et quantitative de la microflore et du taux de germination des échantillons (Pinton, 2007).

La totalité des isolats fongiques (40 isolats) sont obtenus par l'emploi du milieu PDA comme milieu d'isolement. Les isolats obtenus sont identifiés et classés dans 05 genres réparties dans une seule division : les Deutéromycètes «*Cladosporium sp, Alternaria sp, Aspergillus fuumigatus, Aspergillus versicolor, Penicillium camemberti, Penicillium requeforti, Fusarium solani et Fusarium moniliforme* ».

Les espèces identifiées appartiennent à la même division Deutéromycètes : *Alternaria sp* (77,5%), *Cladosporium sp* (2,5%), *Penicillium camemberti* (5%), *Aspergillus fuumigatus* (2,5%), *Aspergillus versicolor* (2,5%), *Fusarium solani* (2,5%), *Fusarium moniliforme* (2,5%) et *Penicillium requeforti* (2,5%). Ces isolats fongiques se sont connus comme étant des parasites secondaires ou opportunistes au cours du stockage. En effet, ils se comportent comme des saprophytes et sont rencontrés dans les lots de semences. Par ailleurs, ces souches fongiques sont parmi celles qui sont responsables des dommages engendrés aux produits agricoles au niveau des champs et aussi, en post-récolte (stockage), elles attaquent les feuilles, les tiges et les fruits.

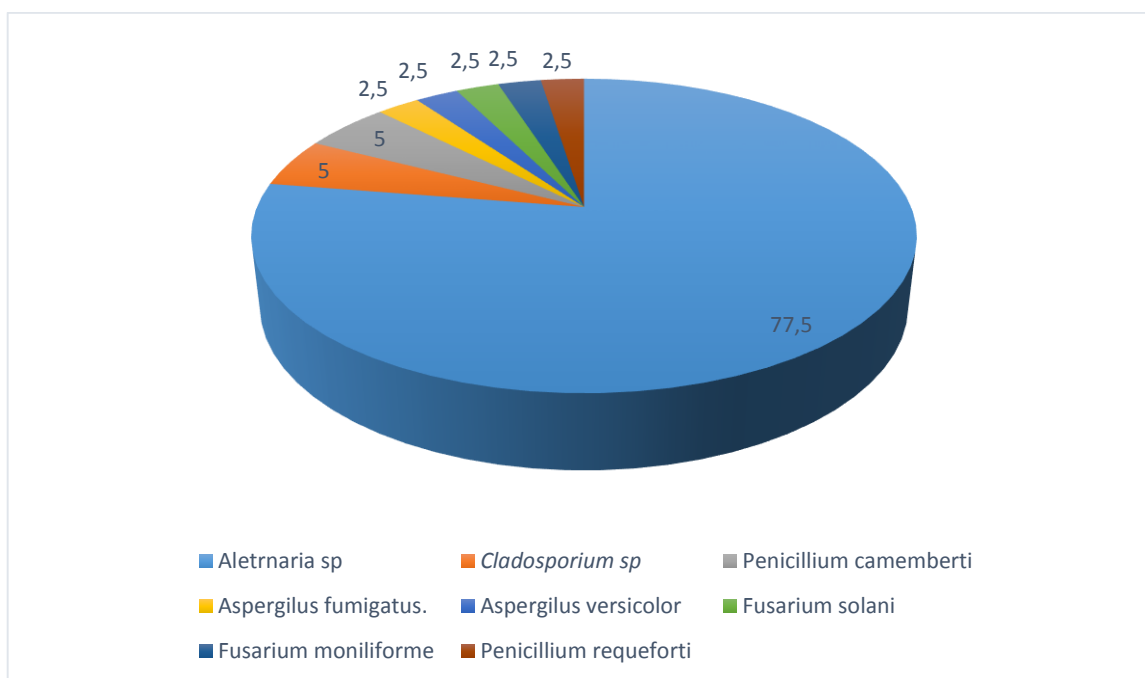


Figure 10 : Répartition en pourcentage des genres fongiques isolés à partir du citron et des feuilles.

C'est ainsi que la lutte biologique s'impose par rapport aux traitements chimiques qui ont des effets néfastes et désagréables sur les agrumes, et par la suite sur la consommation humaine. Aussi, la lutte biologique a un potentiel susceptible pour protéger les cultures des agrumes contre les agents pathogènes.

Nos résultats des tests de l'antagonisme, montrent que la souche *Trichoderma longibrachiatum* a donné une croissance plus rapide que celle des pathogènes testés. De ce fait, elle colonise le milieu nutritif et assimile les éléments nutritifs, c'est le phénomène de compétition (Dubot, 1985. Davet, 1996).

Cependant, Zhihe *et al.* 1988 ont prouvé que *Trichoderma* produit des substances agissant comme des antibiotiques et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène.

Pour le test direct, la croissance mycélienne de toutes les souches fongiques est très lente à presque absente, ceci est justifié par le fait que l'antagoniste *Trichoderma* montre une capacité d'arrêter le développement du pathogène avec formation d'une zone d'inhibition entre les colonies confrontées avec une largeur variable selon l'isolat. Ici le pourcentage d'inhibition pour toutes les souches est évalué à 100%. Ce qui explique le pouvoir très efficace de cette souche à inhiber complètement la croissance de ces isolats, et par conséquent ces derniers s'avèrent très sensibles en contact direct avec l'antagoniste utilisé (*Trichoderma longibrachiatum*).

C'est un résultat original et très important par rapport à d'autres résultats :

Selon Kourta et Chouane,(2019),le taux d'inhibition de l'antagoniste *Bacillus spp* est très important avec le temps, ce qui démontre que l'activité antifongique est proportionnelle à la durée d'incubation de la culture. D'après Bonmatin et *al.*,2003,les souches *Bacillus spp* sont capables de produire des lipopeptides qui permettent d'augmenter l'effet protecteur des plantes contre les pathogènes. Les souches de *Bacillus* mésophile peuvent parasiter les microorganismes phytopathogènes en dégradant leurs parois (Trachuk et *al.*,2008), et la plupart ont été capables d'inhiber la croissance de *Fusarium*, *Aspergillus* et *Penicillium* (Landa et *al.*, 1997).

Par ailleurs, l'observation microscopique dans la zone de contact direct entre l'espèce de *Trichoderma* et les isolats pathogènes montre un aspect de mycoparasitisme dont les mécanismes observés sont représentés par un enroulement perforation, lyse de mycélium et vacuolisation. Les différentes étapes du mycoparasitisme ont été largement discutées par plusieurs auteurs.

En effet, le mycoparasitisme des *Trichoderma* implique l'enroulement des hyphes autour de l'agent pathogène, la pénétration et la lyse des hyphes. Ce phénomène, commence par un développement des hyphes en direction du pathogène, l'établissement de contact, enroulement et pénétration.

En effet,Reithner et *al.*,2007, ont constaté un mycoparasitisme très prononcé de l'espèce *Trichoderma atroviride* contre *Bacillus ceneria* et *Rhizoctonia solani*. Des changements morphologiques profonds ont été apportés sur le mycélium de ces derniers afin de provoquer une zone d'inhibition supérieure à 75%.

Aussi, lors de la confrontation directe, les isolats de *Trichoderma atroviride* avec le *Fusarium oxysporum f Spciceris*(FOS),un pouvoir hautement parasitaire (mycoparasitisme) contre le FOSa été constaté, par leur capacité à envahir les colonies du FOSet à sporuler au-dessus. Ces mêmes isolats sont doués d'une grande capacité à inhiber la croissance lors de la confrontation indirecte (Bouregghda., 2009).

Dans le cas de la confrontation à distance, l'absence de contact direct entre l'agent antagoniste et l'agent pathogène, nous a révélé que *Trichoderma* agit seulement par la production de substances antifongiques volatiles qui provoquent la décoloration de la colonie et la perte d'une sporulation, simultanément.

En outre, des déformations hyphes étaient perceptibles, y compris de plus grandes distances entre les cloisons et les extrémités vides (Bougoufa et Guendouzi, 2018).

D'après nos résultats qui montrent que la croissance mycélienne de souches pathogènes sous l'effet de substances libérées par l'antagoniste *Trichoderma longibrachiatum* est ralentie par rapport aux témoins.

Contrairement au test d'antagonisme direct, on a remarqué que la croissance mycélienne des isolats continue d'évoluer avec le temps, donc il existe un effet inhibiteur exercé par l'agent antagoniste contre ces derniers qui peuvent être limité ou stoppé leur développement malgré l'absence d'un contact direct. Cette action inhibitrice est due à des substances de nature chimique libérées par la souche de *Trichoderma*.

Par ailleurs, Hiber *et al.*, (2005) ont obtenu une inhibition de la croissance de *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* de l'ordre de 63 % en présence de *T. harzianum*. Les travaux de Akrami *et al.*, (2011) ont rapporté que certaines espèces de *Trichoderma* ont réduit la croissance des espèces de *Fusarium oxysporum* par la production des substance volatiles.

La souche S2 de *Fusarium nivale* est sensible à l'agent antagoniste *Trichoderma* en confrontation à distance. Résultat confirmé par Hiber *et al.*, (2005), qui ont conclu que *T. harzianum* peut réduire de 80 % de la fusariose des racines et du collet. Les mécanismes mis en jeu par *Trichoderma in vivo* seraient les mêmes que ceux mis en évidence *in vitro*, à savoir le mycoparasitisme, la sécrétion des substances volatiles qui sont capables de stopper à distance le développement de l'agent pathogène.

Conclusion et perspectives

La présente étude a pour objectif, l'isolement et l'identification des champignons phytopathogènes du citronnier et l'étude de l'effet bio-protecteur de la souche *Trichoderma longibrachiatum* contre ces isolats pathogènes.

Tout d'abord, l'isolement des souches fongiques recherchées est effectué sur le milieu PDA, à partir de deux échantillons (citron et feuilles). Les souches fongiques obtenues, après purification et identification macroscopique et microscopique, appartiennent à cinq genres : *Alternaria sp* 31 isolats (77,5%) ; *Cladosporium sp* 2isolats (5%) ; *Penicillium camemberti* 2isolats (5%) ; *Aspergillus fumigatus* 1 isolat (2,5%) ; *Aspergillus versicolor* 1 isolat (2,5%) et *Fusarium solani* 1 isolats (2,5%) ; *Fusarium moniliforme* 1 isolat (2,5%) ; *Penicillium requeforti* 1 isolat (2,5%). Parmi ces isolats, le genre *Alternaria* est connu comme agent pathogène et capable d'engendrer des maladies sur le champ, l'*Aspergillus* et *Fusarium* se comporte comme des agents de parasitisme et pathogènes, qui provoquent des dégâts au niveau des plantes et fruits. Par contre, les *Penicillium* sont connus comme des souches responsables de nombreux dégâts par dégradation de la matière organique du sol.

La lutte biologique contre ces souches phytopathogènes, est mise en évidence par le test d'antagonisme, *in vitro* (direct et indirect), montrant un résultat fort et encourageant.

Le test de la confrontation directemontre que la souche *Trichoderma longibrachiatum* a la capacité d'inhiber totalement la croissance mycélienne des isolats fongiques avec un pourcentage de 100%. Par contre, les résultats de la confrontation à distances varient selon la sensibilité des souches vis-à-vis l'effet des substances volatils libérées par *Trichoderma longibrachiatum*, à savoir : *Alternaria sp* (60%) ; *Penicillium camemberti* (56,63%) ; *Penicillium requeforti* (3,5%) ; *Aspergillus fumigatus* (81,48%) ; *Aspergillus versicolor* (76,76%) ; *Fusarium solani* (35%) ; *Fusarium moniliforme* (30%) et *Cladosporium sp* (24%).

Ces résultats nécessitent d'être exploiter par des expérimentations en plein champ afin de confirmer l'efficacité de la souche *Trichoderma longibrachiatum* et de valider son efficience dans les conditions climatiques de la région de Skikda, ainsi que dans d'autres régions de l'Algérie. Aussi, ces résultats peuvent contribuer au développement d'un outil de lutte biologique respectueux de l'environnement et efficace pour le contrôle des champignons phytopathogènes. En d'autres termes, le développement d'un insecticide biologique à base de cette souche, peut constituer une solution dans le but d'accroître la productivité des agrumes et de favoriser par conséquent la lutte intégrée contre ces phytopathogènes, tout en réduisant les impacts négatifs liés à l'usage des insecticides chimiques.

Et à la fin nous proposons comme perspectives :

- ✓ Tester l'effet *in vivo* des souches *Trichoderma longibrachiatum* sur la croissance des phytopathogènes.
- ✓ La confirmation de l'identification des souches isolées par biologie moléculaire.
- ✓ La recherche de nouvelles souches microbiennes possédant un pouvoir antagoniste élevé.
- ✓ Tester les résultats obtenus pour cette culture sur d'autres cultures en Algérie, d'importance économique, attaquées par des champignons.

Références bibliographiques

- **Abbou, A. (2012).** Etude du complexe parasitaire de *myzus persicae* sulzer (Homoptera : Aphididae) sur le poivron sous serre.
- **Agagna, Y. (2016).** Role d'*Aphytis melinus* (Hymenoptera, Aphelinidae) dans la régulation des niveaux d'infestation du pou de California *Aonidiella aurantii* (Homoptera, Diaspididae) sur citronnier à Rouiba. Mémoire de Magister : Santé végétale et environnement. Alger: Ecole nationale supérieure d'agronomie-El Harrach-Alger. 91p.
- **Alpes Controles N FR –BIO -15 –Nimes.** Bio-en ligne.com [en ligne]. (consulté le 26/06/2021). <https://www.bio-enligne.com/produits/137-citron.html#Description>.
- **Agroligne.** Vers l'effondrement de la production d'agrumes en méditerranée [en ligne]. (consulté le 28.10.2021). <https://www.agroligne.com/actu/24839-2019-2020-vers-l-effondrement-de-la-production-d-agrumes-en-mediterranee.html>.
- **Badji, T. ; Ait Abdelmalek, C. (2017).** Activité antifongique des bactéries des genres *Bacillus* et *Pseudomonas* et effet de leur inoculation en pots chez la tomate. Mémoire de Master : Biotechnologie microbienne. Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri. 65p.
- **Balachowsky, A., Mensil, L. (1935).** Les insectes nuisibles aux plantes cultivées. Leurs mœurs, leur distribution. Insectes nuisibles aux arbres fruitiers, à la vigne, aux céréales et aux graminées de prairies. Paris. Imprimé sur les presses des établissements Busson. 242-253p.
- **Benaissat, F.Z. (2015).** La caractérisation de la sensibilité des variétés d'agrumes aux pourritures en post-récolte. Mémoire de Master d'université. Fès. 61p.
- **Bounab, D., Chaabi, Y. (2018).** Etude de la variabilité morphologique au sein d'une collection d'agrumes cultivée à l'Est Algérien, W. Skikda. Mémoire de Master : Biologie et physiologie de la reproduction. Constantine: Université des Frères Mentouri Constantine. 55p.
- **Bonmatin JM, Moineau I, Charvet R, Fleche C, Colin ME, Bengsch ER. A LC/APCI-MS/MS (2003).** Method for analysis of imidacloprid in soils, in plants, and in pollens.
- **Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, P. H., Larpent, J. P., Reymond P. Sanglier, J. J., Vayssier, Y. and Veau, P., (1990).** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. France. 428p.
- **Bouregghda, H. (2009).** Recherche de l'effet antagoniste de *Trichoderma spp.* à l'égard de *Fusarium oxysporum f.sp. ciceris*(Padwick) Matuo et K. Sato (FOC), agent du flétrissement

du pois chiche, Thèse de Doctorat : Institut National Agronomique –El Harrach. Algérie . 143p.

- **Boudi. M., (2005).** Vulgarisation agricole et pratiques des agrumiculteurs de la Mitidja. Institut national agronomique, El Harrach, Alger. 133p.

- **Corazza-Nunes, M.J., Machado, M.A., Nunes, W.M.C., Cristofani, M. and Targon, M.L.P.N. (2002).** Assessment of genetic variability in grapefruits (*Citrus paradisi* Macf.) and pummelos (*C. maxima* (Burm. Merr.) using RAPD and SSR markers. *Euphytica*, 126, 169–176.

- **Chapot, H., Cassin, J. (1961).** Maladies et troubles divers affectant les citrus au Maroc [en ligne]. (consulté le 12/08/2021). <https://www.inra.org.ma/sites/default/files/00105.pdf>

- **Colombo, A. (2004).** La culture des agrumes. Vecchi S.A, Paris. 8548.133p.

- **Cloutier et Cloutier C., (1992).** Les solutions biologiques de lutte pour la répression des insectes et acariens ravageurs des cultures In « lutte biologique » pp 62 : 649p.

- **Cherfaoui, K. (2010).** Etude bioécologique de deux espèces de pucerons : *Myzus persicae* s. et *Aphis spiraecola* p. Avec l'inventaire de leur complexe parasitaire dans la région de Mostaganem (Algerie).

- **Dehegani, S. (2020).** Etude de la compatibilité et de l'affinité de quatre variétés de greffond d'agrumes <Washington Navel, Naveline, Orognandé, Nules> sur deux porte-greffes <Citrange, Carrizo, Citrus Volkameriana>. Mémoire Master : Amélioration des productions végétales. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis –Mostaganem. 138p.

- **Dajoz, R., (1980).** Ecologie des insectes forestiers. (Ecologie fondamentale et appliquée) Ed. Gautier, Paris. 489p.

- **Fajinmi A.A., Fajinmi O.B. and Amusa N.A. (2011).** An Overview of Citrus Virus Disease and its Control in Nigeria. *Journal of Advances in Developmental Research* (2). 151-157p.

- **Fraval A .and silvy C. (1999).** La lutte biologique (II). Dossiers de l'Environnement de l'INRA N° 19 paris. ([http : // www. Inra. Fr/ internet / produits / dpenr/ gre god 19.htm](http://www.inra.fr/internet/produits/dpenr/gre%20god19.htm)).

- **FAO, (2009).** Food and alimentation organisation. Sur le site FAO-STAT : [http\\apps.fao.org](http://apps.fao.org).

- **Gollouin F., Tone IliN. (2013).** Des fruits et des graines comestibles du monde entier. Edition Brigitte Peyrot Poos, Paris Lavoisier SAS.PP. 186-195.
- **Gottwald T.R., Graham J.H., Schubert T.S. (2002).** Citrus canker : The pathogen and its impact. Online. Plant Health Progress (42). 152-160p.
- **Guerbouz, M S., Khoudour, H. (2019-2020).** Etude de l'activité antifongique des champignons endophytes isolés à partir de citrus limon vis-à-vis *Penillium digitatum*. Mémoire de Master : protection des végétaux. B B A : Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi. 18p.
- **GEORCRET et SCHEROMM O. (1995).** Lutte contre les insectes ravageurs des cultures : les apports de la biologie. Ed. INRA, France. 42 p.
- **Jacquemond, C., Curk, F. and Heuzet, M. (2013).** Les clémentiniers et autres petits agrumes Quae., Versailles: Quae.
- **Jamoussi, B. (1955).** Les maladies de dépérissement des Agrumes. Laboratoire DE gryptogamie dumuseum national d'histoire naturelle.
- **Klotz L. J. et Fawcett H. S. (1952).** Maladies des Citrus, traduit de l'anglais par A. Comelli et J. Lemaître (I.F.A.C.), 152 p., 40 pl. en coul. Société d'édit. Techn. Coloniales.
- **Loussert R., (1989).** Les agrumes, arboriculture. Ed. Technique agricoles méditerranéennes, Paris. 113p.
- **Leclant F. (1999).** Les pucerons des plantes cultivées. Clefs d'identification. I- Grandes cultures. Ed. ACTA, INRA. Paris. 64p.
- **Lambert L., (2005).** Les pucerons dans les légumes de serre : Des bêtes de sève. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, Québec.
- **Le poivre P. (2003).** Phytopathologie. 1st edition, De Boeck, Bruxelles (Belgium), p111-159.
- **M.L.P.N. (2002).** Assessment of genetic variability in grapefruits (*Citrus paradisi* Macf.) and pummelos (*C. maxima* (Burm. Merr.) using RAPD and SSR markers. Euphytica, 126, 169–176.
- **MADR (Le Ministre de l'Agriculture et du développement Rural). (2009).** La direction des statistiques Agricoles et des systèmes d'information. MADR. Algérie.

- **MAPM (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime). (2013).** Note de veille secteur agrumicole ; Note stratégique n°97.
- **Maameri Esmaa., (2013).** Etude du complexe parasitaire de deux espèces de pucerons *Myzus persicae* et *Aphis gossypii* sur le poivron sous serre. Mémoire d'ingénieur agronome. Spécialité : protection des végétaux. Université de Mostaganem. 76 p.
- **Malais M.H. et Ravensberg W.J., (2006).** Connaître et reconnaître, la biologie des ravageurs des serres et de leurs ennemis naturels. Koppert B.V., Pays-Bas, Reed Business. 290 p.
- **Reithner B., Schuhmacher R., Stoppacher N., Pucher M., Brunner K., Zeilinger S., (2007).** Signaling via the *Trichoderma atroviride* mitogen-activated protein kinase Tmk 1 differentially affects mycoparasitism and plant protection. *Fungal Genet Biol.*44, 1123–1133.
- **Sahraoui, L.** Les coccinelles algériennes (*coleoptera, coccinellidae*) : analyse faunistique et structure des communautés. Thèse de Doctorat : Ecologie, Biodiversité et évolution. France : Université de Toulouse III-Paul Sabatier. 190 p.
- **SALIN, C. (2011).** Lutte biologique contre le puceron du fraisier pour faire face à l'imprévisible diversité des pucerons, associer plusieurs hyménoptères parasitoïdes. Mémoire D'Ingénieur d'état en biologie. Université catholique de Louvain. 62p.
- **Tanaka, T. (1933).** Acclimatation des Citrus hors de leur pays d'origine. *Rev. Bot. Appliq.* 389–398p.

Les sites web :

- <https://www.shutterstock.com>
- <https://www.cnrs.fr>
- <https://www.univ-brest.fr>
- <https://drupal.aspergillus.co.uk>
- <https://sites.kowsarpub.com>
- <https://www.elsevier.es/>
- <https://www.flickr.com>
- <https://www.researchgate.net>
- <http://biologie.ens-lyon.fr>
- <https://www.alamyimages.f>
- <https://www.semanticscholar.org>

Annexes

Annexe(1) : Le milieu de culture.

❖ Milieu PDA

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

- Laver la pomme de terre non pelée.
- Couper en cubes dans 500 ml d'eau distillée.
- Porter à ébullition pendant 30 – 45 min.
- D'autre part faire fondre l'agar dans 500 ml d'eau distillée.
- Écraser la pomme de terre, filtrer puis ajouter le filtrat à la solution d'agar.
- Ajouter le glucose.
- Compléter le volume à 1000 ml.

Autoclavage : 20min à 121°C.

Annexe(2) : la solution de lactophénol

Acide lactique	20 ml
Phénol pur cristallisé	20 g
Glycérol pur.....	40 ml
Eau distillée	20 ml

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**Filière :** biotechnologie des mycètes**Spécialité :** Mycologie et biotechnologie fongique**Titre :** La recherche de champignons microscopiques phytopathogènes du citronnier. Essai *in vitro* de lutte biologique par *Trichoderma longibrachiatum* contre ces isolats.**Résumé**

La culture des agrumes est menacée par de nombreuses maladies et parasites, qui nécessite une attention toute particulière afin de protéger l'agrumiculture. L'objectif de cette étude est d'isoler et d'identifier les champignons phytopathogènes du citronnier, et d'évaluer *in vitro* le potentiel antagoniste de *Trichoderma longibrachiatum* par confrontation directe et à distances contre les isolats phytopathogènes. Les citronniers (feuilles et fruits) analysés sont à provenance d'un champ de culture de la commune El-Harrouch, wilaya de Skikda (Nord Est de l'Algérie). Les résultats ont permis d'obtenir 40 isolats fongiques à partir de deux échantillons prélevés (feuilles et fruits). Les isolats obtenus appartenant à cinq genres : *Alternaria sp* avec 31 isolats (77,5%) ; *Cladosporium sp* 2 isolats (5%) ; *Penicillium camemberti* 2 isolats (5%) ; *Aspergillus fumigatus* 1 isolat (2,5%), *Aspergillus versicolor* 1 isolat (2,5%) ; *Fusarium solani* 1 isolat (2,5%) ; *Fusarium moniliforme* 1 isolat (2,5%) ; *Penicillium roqueforti* 1 isolat (2,5%). L'étude du pouvoir antagoniste de *Trichoderma longibrachiatum in vitro* s'est basée sur sa capacité à inhiber la croissance mycélienne des moisissures phytopathogènes identifiés. La confrontation directe révèle une inhibition maximale évaluée à 100%, vis-à-vis tous les isolats. Par contre, la confrontation à distance indique des taux d'inhibitions qui varient du plus faible (3,5%) mesuré contre *Penicillium roqueforti* au plus élevé (81,48%) contre *Aspergillus fumigatus*. Au vue de ces résultats, la moisissure *Trichoderma longibrachiatum* s'est montrée très efficace et représente un agent potentiel de lutte biologique contre ces phytopathogènes, qui nécessite d'être exploiter.

Mot clés : Citron, champignons phytopathogènes, la lutte biologique, *Trichoderma longibrachiatum*.**Membre du jury :****Présidente du jury :** Mme LABBANI Fatima-Zohra Kenza (MCB. Ecole Normale Supérieure Assia Djébar de Constantine).**Promotrice :** Mme LEGHLIMI Hind (MCA. UFM Constantine 1).**Examinatrice :** Mme BOUCHERIT Zeyneb (MAA. UFM Constantine 1).**Présentée par :** Boulbair Chourouk et Belramoul Nouha*Année universitaire : 2020-2021*