

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RREPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة امحمد بوقرة بومرداس

Université M'Hamed Bougera de Boumerdes
Faculté Des Sciences Département d'agronomie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master Académique en Agronomie

Master : Agro-environnement et bio- indicateurs

Thème

Etude de l'activité antifongique de l'extrait aqueux
des pépins du pomélo *Citrus paradisi* (Rutaceae) vis-à-
vis du *Fusarium tricinctum* du blé dur selon les
modes *in vitro* et *in vivo*

Présenté par :

M^{elle} ALEM Kaouther

M^{elle} AMROUCHE Djaouida

Devant le jury:

M^{me} BISSAAD F.Z.

Maître de Conférences A (UMBB)

Présidente

M^{me} BENDIFALLAH L.

Maître de Conférences A (UMBB)

Promotrice

M^{me} BENKORTEBY H.

Maître assistante B (UMBB)

Examinatrice

Année universitaire: 2015/2016

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*À mes chers parents, pour leurs sacrifices, leur affection et leur encouragement, que ALLAH
me les garde.*

À mes chères sœurs

À mes chers frères

À tous mes amis

À mon binôme dans ce travail Kaouther.

DJAOUIDA.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*À mes chers parents, pour leurs sacrifices, leur affection et leur encouragement, que ALLAH
me les garde.*

À mes chères sœurs

À mes chers frères

À tous mes amis

À mon binôme de ce travail Djaouida.

KAOUTHER

Remerciements

On tient avant tout à remercier Allah tout puissant de nous avoir donné la force, la volonté et la patience pour achever ce modeste travail.

On tient également à exprimer notre profonde gratitude et sincères remerciements à notre promotrice Mme BENDIFALLAH L. d'avoir proposé et dirigé ce travail ; on la remercie infiniment pour ses importantes remarques, ses orientations et ses conseils, sa patience, sa confiance, tout au long de ce travail.

On remercie sincèrement les membres du jury :

Mme BISSAD F.Z. pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Mme BENKORTOBY.H. pour nous avoir fait l'honneur d'examiner notre mémoire.

On remercie Mme DAOUDI R. pour tous ses efforts, son savoir, ses idées, sa confiance et ces encouragements.

On remercie Mr HAZENK. pour tous ses efforts, son savoir, ces conseils et toute l'aide apportée durant ce travail.

Nos remerciements particuliers s'adressent aussi à :

- *Mr DJBAILI, Mr Amine, Mr BELLATRAHE, Mr Hamza, Mm BOURAGHDA, Mm LARABA, Fatiha, Mr Abdou pour toute l'aide qu'ils ont offert afin de réaliser ce modeste travail.*
- *Toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

Djaouida et Kaouther

SOMMAIRE

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Chapitre I. Synthèse bibliographique	01
I.1. Données sur la culture du blé.....	01
I.1.1. Origine du blé.....	01
I.1.2. Classification botanique	01
I.1.3. Les principales zones de production en Algérie	01
I.1.4. Situation du blé en Algérie	02
I.1.5. Etat phytosanitaire du blé	02
I.1.6. Les champignons phytopathogènes	02
I.1.7. Les maladies cryptogamiques ou fongiques	02
I.2. Caractéristiques de phytopathogène.....	03
I.2.1. La fusariose du blé	03
I.2.1.1. Généralité	03
I.2.1.2. Symptomatologie	05
I.2.1.2.1. Symptômes sur la partie basale des plantes du blé	05
I.2.1.2.2. Symptômes sur la tige et les nœuds	05
I.2.1.2.3. Symptômes sur épi et feuilles	06
I.2.1.3. La relation entre la gale de l'épi et la pourriture racinaire	08
I.2.1.4. Cycle de vie de la fusariose	08
I.2.1.5. Les moyens de lutte	09
I.2.1.5.1. Les pratiques culturales	09
I.2.1.5.2. La lutte génétique	10
I.2.1.5.3. La lutte chimique	10
I.2.1.5.4. La lutte biologique	10
I.3. Le pamplemousse	12
I.3.1. Généralités sur Le pamplemoussier	11
I.3.2. Confusion entre le Pamplemousse et le Pomélo	11
I.3.3. les espèces de pamplemoussier	12
I.3.3.1. <i>Citrus maxima</i> ou <i>Citrus grandis</i>	12

I.3.3.2. <i>Citrus paradisi</i>	12
I.3.4. Nomenclature botanique et nom vernaculaire	13
I.3.5. Classification de <i>Citrus paradisi</i>	14
I.3.6. Valeur nutritionnelle du pomelo.....	14
I.3.7. Les variétés ou catégories de pomélo	14
I.3.8. Culture et production	15
I.3.10. Composition chimique	15
I.3.11. les métabolites secondaires	16
I.3.11.1. Les alcaloïdes	16
I.3.11.2. Les terpènes	16
I.3.11.3. Les composés phénoliques	16
Chapitre II- Matériel et méthodes	18
II.1. Matériel	18
II.1.1. Matériel végétal	18
II.1.2. Matériel fongique	19
II.1.3. Matériels du laboratoire	20
II.2. Méthodes	20
II 2.1. Préparation d'extrait aqueux à partir de pépins de pomélo.	20
II 2.1. 1. l'extraction de la poudre de pépins de citrus.	20
II 2.1. 2. Préparation de l'extrais aqueux.	22
II.2.2. Isolement de la souche de <i>Fusarium</i> sp.	23
II.2.3. Identification de la souche <i>Fusarium</i> sp	24
II.2.3.1. Culture monosporale	24
II.2.3.2. Identification microscopique.	24
II.2.4. étude de l'activité antifongique de l'extrait aqueux sur le <i>Fusarium tricinctum</i> <i>in vitro</i>	25
II.2.4.1. Préparation des différentes concentrations d'extrait aqueux.	25
II.2.4.2. Confrontation direct	26
II.2.4.2.1. Evaluation de la croissance mycélienne de <i>fusarium tricinctum</i>	28
II.2.4.2.5. Observation microscopique après la confrontation direct.	29
II.2.5. étude de l'activité antifongique de l'extrait aqueux sur le <i>Fusarium tricinctum</i> <i>in vivo</i>	29
II.2.5. Analyse statistique	31
Chapitre III- Résultats et discussion	32

III.1. Résultats	32
III.1.1. Etude <i>in vitro</i> de l'activité antifongique d'extrait aqueux des pépins du <i>Citrus paradisi</i>	32
III.1.1.1. Evaluation de la croissance mycélienne	32
III.1.1.2. Inhibition de la croissance mycélienne	35
III.1.1.3. Vitesse de la croissance mycélienne de <i>Fusarium tricinctum</i>	37
III.1.1.4. Taux d'inhibition	38
III.1.1.5. Observation microscopique	39
III.1.2. Etude <i>in vivo</i> de l'activité antifongique d'extrait aqueux des pépins du <i>Citrus paradisi</i>	40
Conclusion et perspective	43
Références bibliographiques	44
Annexes	
Résumés	

Liste des abréviations

SAU : Surface agricole utile.

Eq : Extrait aqueux.

T : *Triticum*

GR : Grossissement.

INPV : Institut National de Protection des Végétaux.

ITGC: Institut Technique des Grandes Cultures.

DON :Déoxynivalénol

CMI : Concentration minimal inhibitrice.

ED : Eau distillée.

Fig : Figure.

VC : Vitesse de la croissance mycélienne.

F : *Fusarium*.

ENSA : Ecole Nationale Supérieure Agronomique.

PDA : Potato Dextrose Agar ou pomme de terre glucosée et gélosée.

SRPV : Station Régional de Protection des Végétaux.

Liste des figures

Figure	Page
Figure 1 : Schéma représentant le <i>Fusarium moniliforme</i> - Formation des spores (microconidies et macroconidies) (Champion, 1997).	3
Figure 2 : Mycélium, sporodochia et spores de <i>Fusarium</i> sp. (Champion, 1997).	4
Figure 3 : (A) Brunissement diffus des tiges, (B) Nœud brun violacé, (C) Attaque superficielle de la tige, (D) Tache brune sous forme de trait de plume, (E) Brunissement diffus de la gaine. (Arvalis, 2015).	6
Figure 4 : sur épis (sources de gauche à droite, chambre d'agriculture, (Bayer, INRA, 2013).	7
Figure 5 : Grains de blé fortement contaminés par <i>Fusarium roseum</i> (Champion, 1997).	7
Figure 6 : Cycle parasitaire des fusarioses des céréales.	9
Figure 7 : Arbre du <i>Citrus paradisi</i> (Jadhav <i>et al.</i> , 2013).	11
Figure 8 : Fruit du <i>Citrus maxima</i> (Rolet, 2012).	12
Figure 9 : Fruits du <i>Citrus paradisi</i> (pomélo) (Rolet, 2012).	13
Figure 10 : (A) fruit du <i>Citrus paradisi</i> (pomèlo), (B) coupe transversale du fruit (originale).	13
Figure 11 : Grains de blé dur <i>Triticum durum</i> (Original).	18
Figure 12 : Pépins de <i>Citrus paradisi</i> (originale).	18
Figure 13 : Aspect de la souche de <i>fusarium</i> sp.	18
Figure 14 : Diagramme des différentes étapes de l'extraction.	21
Figure 15 : La poudre des pépins de <i>Citrus paradisi</i> (originale).	22
Figure 16 :(a) : Filtration de la macération ; (b) : L'extrait aqueux des pépins du <i>Citrus paradisi</i> dans un flacon en verre (Original).	22

Figure 17 : Méthode de l'extraction aqueuse à partir des pépins de <i>Citrus paradisi</i> .	23
Figure 18 : (a) : Aspect microscopique du <i>Fusarium tricinctum</i> (<i>M</i> : macroconidie, <i>m</i> : microconidie), (b): Aspect macroscopique du <i>Fusarium tricinctum</i> (Original).	25
Figure 19 : Les étapes de la confrontation directe.	27
Figure 20 : Dispositif expérimental de l'essai <i>in vivo</i> .	30
Figure 21 : La croissance mycélienne après 72h a : témoin ; b : 20% d'Eq ; c :30% d'Eq ; d :40% d'Eq ; e : 50% d'Eq .	33
Figure 22 : La croissance mycélienne après 144h (1 ^{er} essai).	34
Figure 23 : La croissance mycélienne après 144h (2 ^{eme} essai).	34
Figure 24 : Variation du diamètre d'inhibition en fonction des doses.	35
Figure 25 : Variation du diamètre d'inhibition en fonction de temps.	36
Figure 26 : La vitesse de la croissance mycélienne du <i>Fusarium tricinctum</i> sous l'effet de l'augmentation de la concentration d'extrait aqueux des pépins de <i>Citrus paradisi</i> .	37
Figure 27 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne.	38
Figure 28 : Observation microscopique des mycéliums du <i>Fusarium tricinctum</i> pour les différentes concentrations.	39
Figure 29 : Apparition des symptômes sur les plants de blé.	40
Figure30 : Symptômes du <i>Fusarium tricinctum</i> sur les plants après l'arrachage.	41
Figure 31 : La croissance mycélienne d'isolement de témoin (+) et du plant traité d'essai <i>in vivo</i> (a : racine, b : collet, c : nœud)	42

Liste des tableaux

Tableau	Page
Tableau 1 : Valeurs des dilutions utilisées.	26
Tableau 2 : Croissance mycélienne (mm) de <i>Fusarium tricinctum</i> en fonction du temps et de la concentration (C) d'extrait aqueux du <i>citrus paradisi</i> .	32
Tableau 3 : Matériel et produits de laboratoire.	Annexe 02
Tableau 4 : Composition du milieu de culture (Malt).	Annexe 02
Tableau 5 : Composition du milieu de culture (PDA).	Annexe 02
Tableau 6 : Analyse de la variance du diamètre moyen des colonies du <i>Fusarium tricinctum</i> .	Annexe 02
Tableau 7 : la Vitesse de la croissance mycélienne du <i>Fusarium tricinctum</i> .	Annexe 02
Tableau 8 : Le taux d'inhibition.	Annexe 02

INTRODUCTION

Introduction générale

Les céréales constituent un élément fondamental dans les traditions culinaires algériennes. Culturellement et nutritionnellement, elles constituent la source principale des calories alimentaires et le principal élément des rations alimentaires de base pour les différents niveaux de revenu (Hamou *et al.*, 2009).

La production des céréales en Algérie, avec le blé dur comme l'espèce la plus cultivée en occupant 45% de sol céréalière (MADR, 2009), demeure très insuffisante pour satisfaire la demande de ce produit de large consommation estimé à 220Kg/an/habitant (Zaghouane *et al.* 2006). Avec un rendement atteignant 15 q/ha dans le meilleur des cas et face à une demande sans cesse croissante, l'Algérie reste fortement dépendante des importations et fait partie du groupe des plus gros importateurs de blé dans le monde (MADR, 2009).

La cause principale de la faiblesse de la production du blé est le faible niveau de productivité obtenu qui est due à des contraintes abiotiques et des facteurs biotiques telle que les adventices, les ravageurs et les maladies. Ces dernières sont causées principalement par les virus, les nématodes, les bactéries et les champignons qui peuvent attaquer le blé à différents stades de son développement et donc occasionner des pertes considérables. (Ezzahiri, 2001 ; Hamadache *et al.*, 2002).

La maladie de Fusariose présente un sérieux problème de diverses cultures céréalières. Elle cause des dégâts et des pertes de rendements importantes allant jusqu'au 89% (Carver, 2009 ; Ma *et al.*, 2012; Talas *et al.*, 2012). L'importance économique de cette maladie fongique est attribuée aux pertes de rendements considérables et à l'altération de la qualité des grains par les mycotoxines (Lacroix, 2008 ; Lori *et al.*, 2009).

Pour réduire l'impact de cette maladie, diverses méthodes de lutte ont été préconisées. Parmi celles-ci, on peut citer les rotations, l'enfouissement des débris de récoltes par des labours profonds, l'amélioration de la résistance variétale, l'emploi de semences traitées, et l'utilisation de certains fongicides. En outre, la lutte chimique a pris une grande ampleur dans le contrôle des maladies des plantes, mais elle est coûteuse et peut être la cause de l'apparition des phénomènes de résistance c'est pourquoi de nombreux chercheurs s'intéressent aux méthodes de lutte plus économiques, efficaces et moins polluantes de l'environnement telle que l'utilisation des plantes médicinales.

Un grand nombre de plantes, aromatiques, médicinales, des plantes épicées et autres possèdent des propriétés biologiques très intéressantes (Bahorum, 1997). Parmi ces plantes, les agrumes.

Les bienfaits des agrumes sont aujourd'hui reconnus scientifiquement. Les composants de ces plantes sont bénéfiques pour les défenses immunitaires, le système veineux...ect. (Vibre, 2011). Ces composants interviennent à la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes surtout fongiques.

Parmi les agrumes les plus répandus, on cite le citronnier, l'oranger, et le pamplemoussier, l'extraction des composants actifs à partir de ces plantes se fait au niveau de différentes parties à savoir les feuilles, les fruits, les pépins...ect. Les travaux sur les pesticides naturels montrent que les produits dérivés de plantes ou les extraits de plantes sont efficaces dans le contrôle des microorganismes.

Harich (2014) a révélé que l'extrait de pépin de pamplemousse (EPP) est un antimicrobien naturel puissant. Il est actif sur environ 800 souches de bactéries et virus et 100 souches de champignons un grand nombre de parasites unicellulaires, il a fait ses études dans le domaine clinique alors que cet extrait n'est pas encore examiné dans le domaine d'agriculture.

C'est dans ce contexte que ce présent travail, vise à tester l'activité anti fongique d'extraits aqueux des pépins du *Citrus paradisi* contre le *Fusarium tricinctum* du blé dur.

Pour notre étude nous avons procédé à :

- L'extraction aqueuse de la poudre des pépins du *Citrus paradisi*.
- L'isolement de l'agent fongique à partir des grains du blé.
- Purification et identification de l'agent fongique.
- Une évaluation de l'efficacité *in vitro* d'extraits aqueux de la poudre des pépins du *Citrus paradisi* comme agent de lutte biologique à l'égard de *F.tricinctum*. Cette évaluation est réalisée selon la technique de contact direct.
- Etude *in vivo* de l'efficacité d'extraits aqueux de la poudre des pépins du *Citrus paradisi* contre le *F.tricinctum*.

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I – Synthèse bibliographique

I.1. Données sur la culture du blé

I.1.1. Origine du blé

Le blé fut la première espèce domestiquée au Moyen-Orient, voici plus de 10 000 ans. La plupart des archéologues ont confirmé que les origines du blé et de l'orge se situent dans le croissant fertile, zone couvrant la Syrie, l'Irak et une grande partie de l'Iran ; c'est à partir de cette zone que les blés ont été diffusés vers l'Afrique, l'Asie, et l'Europe (Bonjean, 2001).

I.1.2. Classification botanique

Le blé est une culture annuelle appartenant à la famille des *Poaceae* (graminées), sous famille des *Pooideae* et tribu des *Triticeae* (Boulal *et al.*, 2007). Selon Carver (2009), les cultivars de blé du genre *Triticum* se divisent en 2 groupes :

-Le groupe polyploïde où on trouve les espèces Hexaploïdes ($2n=6x=42$ chromosomes) comme exemple nous citons le blé tendre : *T. aestivum*, et les espèces Tétraploïdes ($2n=4x=28$ chromosomes) comme le blé dur : *T. durum*.

-Le groupe diploïde avec $2n=2x=14$ chromosomes comme exemple : *T. monococcum*.

I.1.3. Les principales zones de production en Algérie

En Algérie, les céréales sont cultivées à travers l'ensemble des zones agro-écologiques, les principales zones de production sont :

- La zone sub-aride des hauts plateaux caractérisée par une faible pluviométrie (200-350 mm) et un système à prédominance agro-pastorale avec des altitudes supérieures à 1000m.
- La zone humide et sub-humide des régions littorales et sub-littorales centre-Est du pays, dont la pluviométrie est supérieure à 600 mm et relativement bien distribuée.
- La zone semi-aride des plaines telliennes dont la pluviométrie est comprise entre 350 et 500 mm, mais avec une distribution irrégulière.
- La région du Sud avec les périmètres irrigués et les cultures oasiennes (Boulal *et al.*, 2007).

I.1.4. Situation du blé en Algérie

La surface cultivée par le blé représente 36,66% de la surface agricole utile (SAU), le rendement varie entre 8 et 15q/ha. (MADR, 2009).

I.1.5. Etat phytosanitaire du blé

Le blé est susceptible de présenter de très nombreuses maladies qui peuvent entraîner une baisse de rendement allant parfois jusqu'à la suppression totale de la récolte. Les agents pathogènes peuvent être des nématodes, des virus, des bactéries et des champignons. Parmi ces derniers, il y'a un grand nombre d'espèces du genre *Fusarium* qui sont à l'origine de diverses maladies sur blé.

I.1.6. Les champignons phytopathogènes

Les champignons phytopathogènes sont des espèces de champignons parasites qui provoquent des maladies cryptogamiques chez les plantes. Ces champignons appartiennent aux différents groupes du règne des eumycètes ou « champignons vrais » : ascomycètes, basidiomycètes, chytridiomycètes, zygomycètes et deutéromycètes (champignons imparfaits). (Deacon, 2005). Ils sont capables d'infecter n'importe quel tissu à n'importe quel stade de croissance de la plante, en suivant un cycle biologique complexe qui peut comporter des stades de reproduction sexuée ou asexuée (Garrido, 2012).

I.1.7. Les maladies cryptogamiques ou fongiques

Les maladies cryptogamiques sont considérées comme facteurs limitant de la production des céréales, des cultures maraîchères et forestières, car elles occasionnent des pertes considérables (Azouaoui-Ait Kettout *et al.*, 2007). Parmi ces maladies la fusariose du blé.

1.2. Caractéristiques du phytopathogène

1.2.1. La fusariose du blé

1.2.1.1. Généralités

La fusariose est une maladie des céréales dite « à petits grains » que l'on retrouve partout dans le monde. La fusariose peut être causée par une vingtaine d'espèces du genre

Fusarium (Parry *et al.*, 1995) dont le nom donné est relié à l'allure fusiforme de ses spores (Fig.1, 2) (Pageau et Fillion, 2009).

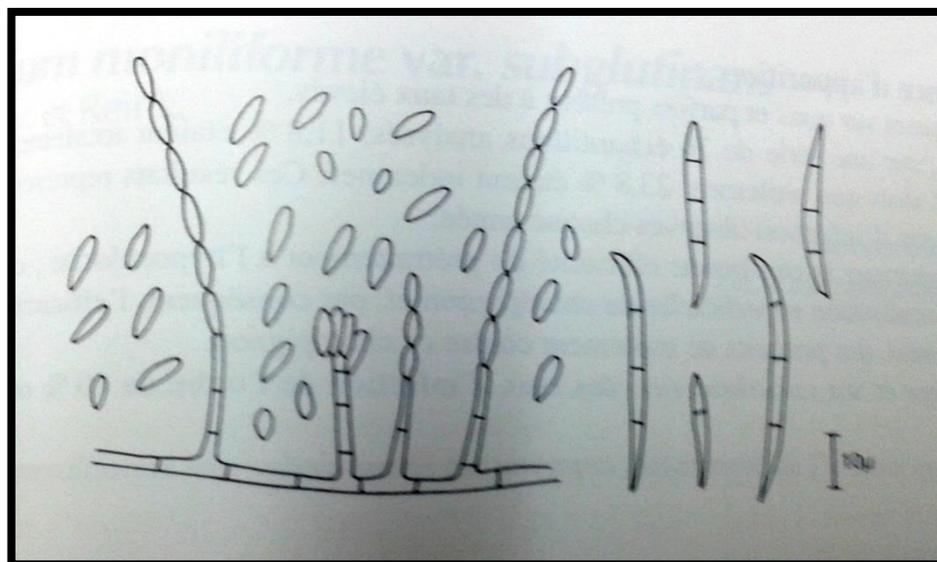


Figure 1: Schéma représentant le *Fusarium moniliforme*- Formation des spores (microconidies et macroconidies)(Champion, 1997)

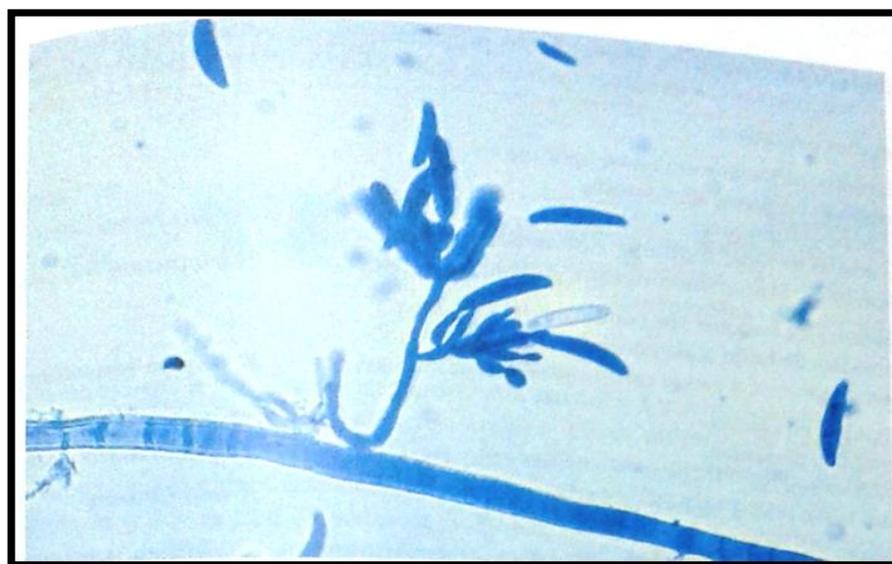


Figure 2 : Mycélium, sporodochia et spores de *Fusarium* sp. (Champion, 1997)

Le genre *Fusarium* tire son nom du latin *fusus* car ses spores sont en forme de fuseau. La première et véritable description du genre *Fusarium* a été réalisée par Link en 1809, ce dernier a créé le genre pour des espèces présentant des spores cloisonnées, fusiformes,

formées sur des stromas ; ses descriptions sont basées de l'observation d'un « *Fusarium roseum* », mais aujourd'hui l'espèce type est *F. sambucinum*. (Champion, 1997)

Ce genre est classé dans les Deutéromycètes, il appartient à la famille des Tuberculariaceae, l'ordre des Moniliales, la classe des Hyphomycetes. Ce genre se rapporte aux Hypocréales (Ascomycota), et les formes sexuées (téléomorphes) de plusieurs espèces appartiennent au genre Gibberella (Nectriaceae, Hypocreales, Hypocreomycetidae, Sordariomycetes, Ascomycota, Fungi) et un certain nombre au genre Nectria (Nectriaceae, Hypocreales, Ascomycètes) (Keith et Seifert, 2001; Leslie et Summerell, 2006).

La fusariose est la principale cause de déclassement pour la commercialisation du blé au Québec. La présence de vomitoxine au-dessus de seuils critiques rend le grain impropre à la consommation, en diminue la qualité, l'usage, la valeur commerciale et le prix. Puisqu'aucun fongicide biologique n'est encore commercialisé, il est opportun de vérifier le potentiel de produits à l'étude et de développer des stratégies intégrées de lutte à la maladie (Vachon, 2011)

Les champignons du genre *Fusarium* sont capables de produire des métabolites secondaires toxiques, les mycotoxines, dont la présence augmente l'incidence de la maladie sur les productions agricoles (Siou, 2013).

Les mycotoxines peuvent être toxiques pour l'homme et les animaux supérieures, mais aussi cancérigène, neurotoxiques, ou ... (Sral auvergne, 2010).

1.2.1.2. Symptomatologie :

Les fusarioses sont des maladies qui peuvent attaquer les céréales du semis à la récolte, des racines aux épis (Caron, 2000).

1.2.1.2.1. Symptômes sur la partie basale des plantes du blé

Les symptômes se manifestent par des nécroses sur les talles inférieures, le collet, entre nœuds, et brunissement de la partie supérieure des racines (Schilling *et al.*, 1996 ; Agrios, 2005) (Fig.3).

1.2.1.2.2. Symptômes sur la tige et les nœuds

On observe les symptômes de la montaison jusqu'à la maturité :

- Taches brunes sous forme de trait de plume. Absence de stroma.
- Le plus souvent, un anneau brun violacé est observé sur les nœuds
- Une tache diffuse entre le plateau de tallage et le premier nœud.
- Plusieurs taches nettes entre le plateau de tallage et le deuxième nœud.
- Nœuds nécrosés avec parfois présence de mycélium rose violacé (Fig.3).

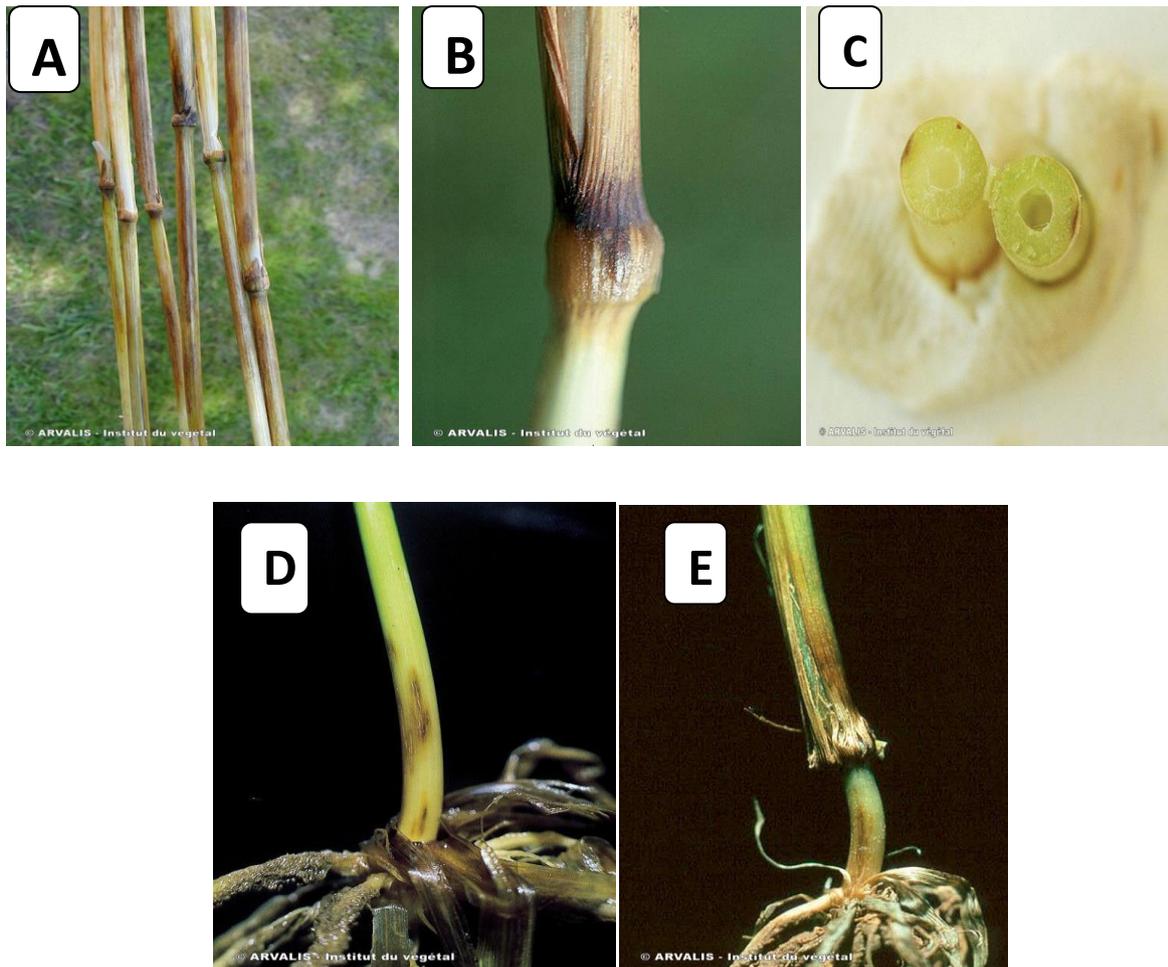


Figure 3 : (A) Brunissement diffus des tiges, (B) Nœud brun violacé,(C) Attaque superficielle de la tige, (D) Tache brune sous forme de trait de plume, (E) Brunissement diffus de la gaine. (Arvalis, 2015)

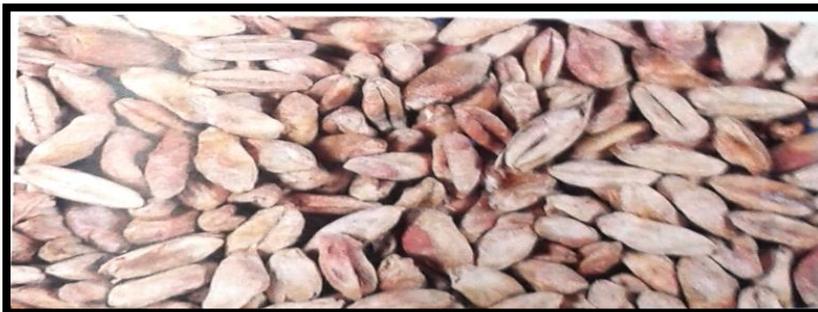
1.2.1.2.3. Symptômes sur épi et feuilles

- **Epi** : une partie ou la totalité des épillets peuvent être échaudées, le champignon peut attaquer les glumes, l'attache d'un épillet, le rachis ou le col de l'épi après la floraison, il peut avoir un dessèchement précoce suite aux attaques des espèces de *Fusarium*. Une coloration rose clair ou saumon peut apparaître à la base ou tout au long des épillets infestés suite à une sporulation abondante du champignon (Fig. 4). L'attaque sur le col et le rachis de l'épi donne une coloration brune violacée (Clavel, 2006 ; Carver, 2009).



Figure 4 : Fusarioses sur épis (sources de gauche à droite, chambre d'agriculture, Bayer, INRA, 2013)

- **Grains** : selon l'attaque, les grains peuvent être peu échaudés (attaque tardive), très échaudés, voir avortés (fortes attaques début floraison) (Fig.5). Les grains peuvent donner un aspect sain mais contiennent



(Dammer *et al.*, 2011).

nt des mycotoxines

Figure 5 : Grains de blé fortement contaminés par *Fusarium roseum* (Champion, 1997)

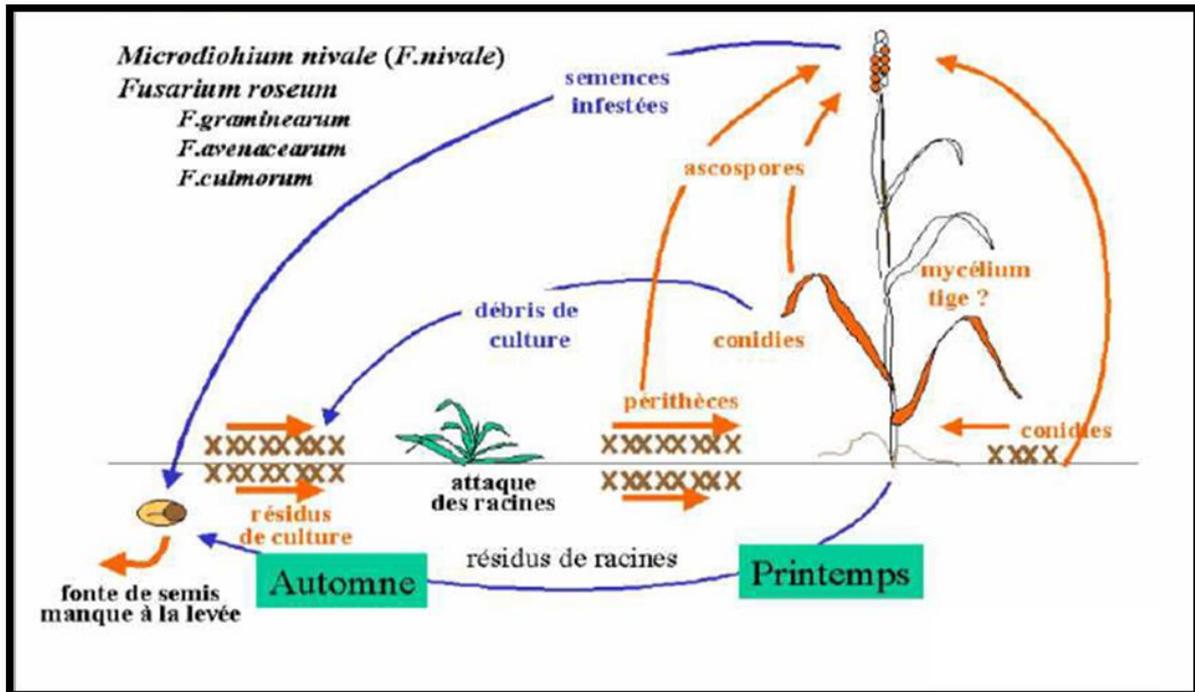
- **Feuilles :** en fin montaison, on peut observer des taches ovales, verdâtres devenant ensuite marron, puis se desséchant souvent au bord de la feuille ; en attaque grave, les taches se rejoignent induisant la déchirure de la feuille dans le sens de la longueur (Clavel, 2006).

1.2.1.3. La relation entre la gale de l'épi et la pourriture racinaire

La gale de l'épi et la pourriture racinaire sont souvent confondues, vu qu'elles sont toutes les deux causées par des espèces de genre *Fusarium* selon Agrios (2005). La fusariose de l'épi est soit accompagnée ou précédée par la pourriture racinaire. Simon *et al.* (1989), rapportent qu'il est difficile de relier les attaques sur pied avec ce qui se passera ultérieurement sur épi. Selon Caron (1993), la fusariose du pied (la pourriture racinaire) et la fusariose de l'épi (gale de l'épi) peuvent être considérées comme des maladies différentes, pratiquement indépendantes. Elles ont seulement en commun le fait qu'elles sont causées par le même champignon phytopathogène. Le niveau et la forme de l'inoculum disponible, aux stades sensibles qui leur correspondent est fonction des conditions climatiques. Il peut y avoir maladie du pied sans maladies des épis, et l'inverse est aussi possible.

1.2.1.4. Cycle de vie de la fusariose

Sur les parcelles de blé, les grains sont la principale source de *Fusarium*. Toutefois, le champignon peut également survivre sur les débris du sol. Lors des périodes de forte hygrométrie pendant la floraison et la formation des grains, les spores sont dispersées par éclaboussures des parties inférieures des plants, ce qui provoque le blanchiment des épis et une infection par les grains. Au cours de ces mêmes périodes, l'infection par les grains peut sérieusement compromettre le développement de la culture, sauf si les grains sont traités par un fongicide dirigé contre *Fusarium*. (Anonyme 2015). (Fig.6).



• Figure 6 : Cycle parasitaire des fusarioses des céréales

1.2.1.5. Les moyens de lutte

1.2.1.5.1. Les pratiques culturales

- L'utilisation des semences saines.
- Etant donné que les Fusaria survivent sur les résidus de culture, il est déconseillé fortement d'ensemencer du blé ou de l'orge l'année qui suit une culture de céréales (maïs, avoine, orge, seigle, triticale) ou de graminées fourragères.
- La réalisation d'une rotation d'au moins deux ans en dehors des céréales (alterner avec légumineuses), cela réduit la densité de l'inoculum (Gillbert et Tekauz, 2000).
- S'il est absolument impossible de pratiquer une rotation avec une espèce non graminée, l'enfouissement profond des résidus de culture contaminés par incinération est une pratique à adopter afin de réduire l'inoculum de *Fusarium spp.*
- La répression des mauvaises herbes graminées est aussi importante.
- Utilisation de la fumure azotée de façon rationnelle (Mauler *et al.*, 1997).
- L'utilisation de la solarisation, qui peut réduire les populations pathogènes et l'incidence de la maladie (Pandy *et al.*, 1996).

1.2.1.5.2. La lutte génétique

La création de variétés résistantes semble la méthode la plus économique et la plus favorable pour la protection de l'environnement (West *et al.*, 2011). La recherche de telle résistance fait depuis longtemps l'objet de plusieurs travaux. Mais étant donné que l'action parasitaire de l'agent pathogène est peu spécifique il ne faut pas s'attendre à l'obtention de variétés complètement résistantes (résistance verticale) mais plutôt à des variétés à résistance variables (résistance horizontale) (Dammer *et al.*, 2011 ; West *et al.*, 2011).

1.2.1.5.3. La lutte chimique

L'utilisation des fongicides cette dernière décennie est devenue très répandue car elle s'est révélée efficace de 50 à 70% dans la réduction de la maladie une fois appliqué aux temps appropriés. Parmi les fongicides utilisés contre la fusariose du blé on peut citer : fludioxonil benomyl, le tubuconazole, l'azoxystrobine et le mancozeb, il se peut que le tubuconazole et l'azoxystrobin pourraient augmenter la production de mycotoxines (DON) ce qui représente l'inconvénient de l'utilisation de ces fongicides (Khan *et al.*, 2011 ; Dammer *et al.*, 2011).

1.2.1.5.4. La lutte biologique

La définition adoptée par l'organisation internationale de lutte biologique (OILB) est : « utilisation par l'homme d'ennemis naturels tels que des prédateurs, des parasitoïdes ou des agents pathogènes pour contrôler des populations d'espèces nuisibles et les maintenir en dessous d'un seuil de nuisibilité » (Suty, 2010).

❖ Biopesticides :

Ce sont des préparations contenant les agents de lutte biologique, agissent en réduisant l'inoculum et/ou interférant avec une ou plusieurs étapes du cycle infectieux du phytopathogène (Jijakli, 2003).

1.3. Le pamplemousse

1.3.1. Généralités sur le pamplemoussier

Le pamplemoussier du genre *Citrus*, appartient à la famille des Rutacées (Fig.6). Ce genre est celui des agrumes. Parmi lesquels on trouve l'oranger et le citronnier. Le pamplemousse fut connu et cultivé bien avant le pomelo, dont la mise en culture ne remonte qu'au début du XX^e siècle. Originaire d'Asie, et il fut introduit à la Jamaïque au XVIII^e siècle par les Anglais ; d'ailleurs dans beaucoup pays, ce fruit est connu sous le nom du capitaine (Shaddouck) qui l'introduisit en Amérique. Aujourd'hui, il est largement supplanté dans le monde par le pomelo (Bonnassieux, 1989).



Figure 7 : Arbre du *Citrus paradisi* (Jadhav *et al.*, 2013)

1.3.2. Confusion entre le Pamplemousse et le Pomélo

On a souvent tendance à confondre le pamplemousse et le pomelo. Ils sont issus tous deux d'un arbre fruitier du même genre et de la même famille. Mais appartenant à deux espèces différentes. Depuis la fin du XX^e siècle, les sources averties font soigneusement la distinction, en utilisant « pamplemousse » pour *Citrus maxima* et « pomélo » pour *Citrus paradisi*. Et même si les banques de taxonomie et de terminologie privilégient ces dénominations scientifiques, le mot pamplemousse est de loin le plus utilisé dans la langue courante.

1.3.3. Les espèces de pamplemoussier

1.3.3.1. *Citrus maxima* ou *Citrus grandis*

Le *Citrus maxima* est originaire d'Asie du Sud-Est. C'est le véritable pamplemoussier, il forme de grands arbres, à port ample et arrondi jusqu'à 5,5m de haut, avec des rameaux d'abord pubescent puis épineux. Les feuilles sont grandes, ovées ou elliptiques avec une base arrondie et un apex pointu, vert foncé et de très grosses fleurs blanches. Ses fruits sont énormes ils pèsent entre 500 g et 8 kg et mesurent entre 10cm et 30cm de diamètre. Ils sont en forme de poire. (Colombo, 2004) (Fig.7).



Figure 8 : Fruit du *Citrus maxima* (Rolet, 2012)

1.3.3.2. *Citrus paradisi*

Le *Citrus paradisi* est celui que nous consommons couramment et qui est cultivé dans tout le bassin méditerranéen. Il s'agit d'un hybride. Ses fruits viennent du pamplemoussier (*Citrus maxima* ou *Citrus grandis*) et de l'oranger (*Citrus sinensis*). Il forme de grands arbres pouvant mesurer 12m de haut, avec un feuillage dense. Les feuilles sont ovées et d'un vert foncé, les fleurs sont grandes, réunies en général en inflorescences axillaires : c'est de cette disposition que dérive le nom anglais grapefruit (qui signifie «fruits réunis en grappe»). Le fruit est assez grand, sphérique, avec une peau lisse et jaune (Colombo, 2004) (Fig.8, 9).



Figure 9 :Fruits du *Citrus paradisi* (pomélo) (Rolet, 2012)

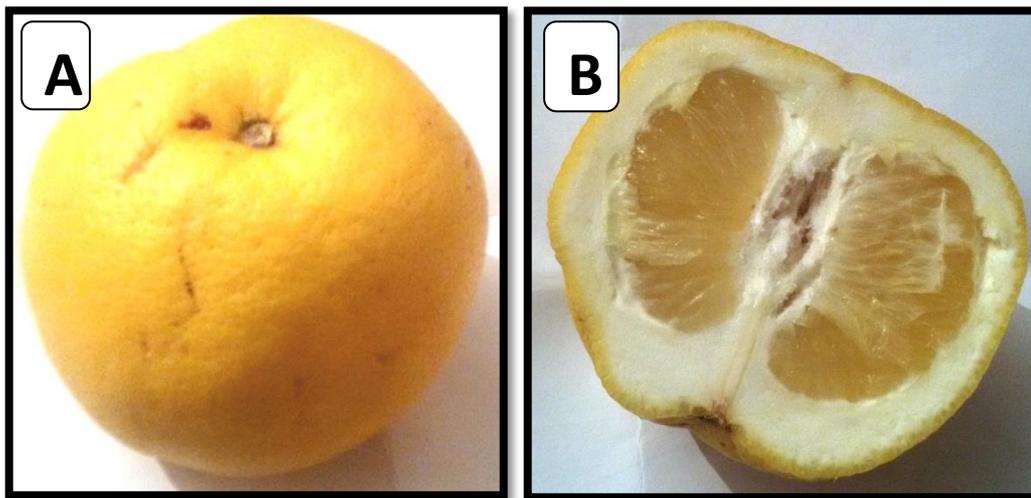


Figure 10 : (A) fruit du *Citrus paradisi* (pomélo), (B) coupe transversale du fruit (originale)

1.3.4. Nomenclature botanique et nom vernaculaire

Nom botanique : *Citrus paradisi*

Anglophones : Grapefruit

Non commun : pomelo

Langue courante : pamplemousse

Nom arabe : En arabe, il semblerait que le fruit du *Citrus paradisi* soit appelé زنباع (*zanbā*), ليمون هندي (*laymūn hindiyy*, « citron indien »), ou encore ليمون الجنة (*laymūn al-jannah*, « citron du paradis »). (Anonyme, 2006).

1.3.5. Classification de *Citrus paradisi*

Règne :	Plantae
Sous-règne :	Viridiplantae
Infra-règne :	Streptophyta
Superdivision :	Embryophyta
Division :	Tracheophyta
Subdivision :	Spermatophytina
Classe :	Magnoliopsida
Superordre :	Rosanae
Ordre :	Sapindale
Famille :	Rutaceae
Genre :	<i>Citrus</i>
Espèce :	<i>Citrus paradisi</i>

1.3.6. Valeur nutritionnelle du pomelo

Pour 100 g de pamplemousse ou de pomelo : 43 Calories Eau : 89 g. Protéines : 0,7 g. Glucides : 9 g. Lipides : 0,1 g. Fibres : 0,3 g. Potassium : 190 mg. Magnésium : 12 mg. Phosphore : 18 mg. Calcium : 20 mg. Fer : 0,3 mg. Vitamine B 1 : 0 mg. Vitamine B 2 : 0 mg. Vitamine B 6 : 0 mg. Niacine : 0,2 mg. Folates : 14 µg. Vitamine C : 40 mg. Carotènes : 16 µg. Vitamine A : 0 µg. Vitamine E : 0,2 mg. (Anonyme, 2008).

1.3.7. Les variétés ou catégories de pomélo

Le pamplemousse peut être divisé en trois grandes catégories selon la couleur de sa pulpe, sa chair et son jus. (Colombo,2004).

- **A pulpe blonde :** (Royal, Marsch) de forme sphérique, aux extrémités légèrement aplaties, sa peau jaune, sa chair croquante et juteuse, à un gout légèrement acidulé et un peu sucré.

- **A pulpe rose :** (Ryby, Red Blush), sa peau jaune, parfois rosée, à la chair rosée, croquante et juteuse et à la saveur parfumée et sucrée.
- **A pulpe rouge :** avec Star Ryby produit en corse, à la peau jaune, à la chair rouge intense cette variété est très parfumée et sucrée.

1.3.8. Culture et production

Le pomelo pas plus sensible au froid que l'oranger, il est par contre plus exigeant en chaleur pour donner des fruits de qualité. Il s'adapte particulièrement bien aux climats chauds et humides, il résiste bien aux températures élevées de l'été (Loussert, 1989).

La floraison se déroule d'avril à mai. Le fruit se développe en hiver et sa récolte commence à partir du mois de février jusqu'au mois de juillet. Le pic de maturité est atteint au mois d'avril. Le pomelo peut donc passer jusqu'à une année sur son arbre (Cubelles *et al.*, 2012).

Aujourd'hui cet hybride est principalement cultivé aux États-Unis, en Israël, en Afrique du Sud et en Argentine. La production annuelle se situe dans les quelque cinq millions de tonnes, le premier producteur mondial étant la Floride.

1.3.9. Composition chimique

Les agrumes en général, contiennent du sucre, des polysaccharide, des acides organiques, des lipides, des caroténoïdes, des vitamines, des minéraux, des flavonoïdes, des flavonoïdes amers et composés volatils (Pandey *et al.*, 2011).

Le Pamplemousse est une excellente source de nombreux nutriments, capables de contribuer à une alimentation saine. C'est une bonne source de sucre, d'acide organique et de composés phénoliques. Sa nature et concentration affecte largement le goût caractéristique et les qualités organoleptiques.

1.3.10. Les métabolites secondaires

Généralité :

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans les parties de la plante. Ils ne sont pas essentielles à la croissance et au développement de base des plantes, mais ils jouent un rôle important dans la survie des plantes en fournissant une protection contre les herbivores et contre les maladies (Nobor, 2009). Ils sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement. (Judd *et al.*, 2002).

Parmi les principaux métabolites secondaires trouvés chez les plantes on distingue : les alcaloïdes, les terpènes et les composés phénoliques. (Lutge *et al.*, 2002).

1.3.10.1. Les alcaloïdes

Le terme alcaloïde a été introduit par W.Meisner en 1818 il est utilisé pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, ce sont des substances azotées, basiques, leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique (Bruneton, 1999).

Les alcaloïdes constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000 structures différentes (Bruneton, 1999).

1.3.10.2. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte. Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide...ect). (Malecky, 2005).

1.3.10.3. Les composés phénoliques

La désignation générale « composés phénoliques » concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux, ou plusieurs fonctions phénoliques (Macheix *et al.*, 2005).

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (allélopathie) et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Macheix *et al.*, 2005).

*MATÉRIEL ET
MÉTHODES*

Chapitre II- Matériel et méthodes

L'objectif de notre travail vise à étudier l'effet antifongique de l'extrait aqueux des pépins de *Citrus paradisi* sur le *Fusarium tricinctum* du blé dur, *in vitro* et *in vivo*.

II.1 Matériel

II.1.1. Matériel végétal

a- blé dur

Pour notre expérimentation, nous avons utilisé le blé dur *Triticum durum*, variété vitron, issu de l'ITGC (institut technique des grandes cultures) (Fig. 11).



Figure 11 : Grains de blé dur *Triticum durum* (Original)

b- pépins de *Citrus paradisi*

Nous avons utilisé les pépins prélevés du fruit de *Citrus paradisi*, provenant du marché des légumes et fruits, de la commune de Khemis El Khechena. (Fig.12.).



Figure 12 : Pépins de *Citrus paradisi* (Original)

II.1.2. Matériel fongique.

✓ *Fusarium tricinctum*

L'espèce fongique *Fusarium tricinctum* a été acquise au niveau du laboratoire de mycologie de la Station Régionale de la Protection des Végétaux d'Alger (SRPV, HAZEN K). (Fig.13.).

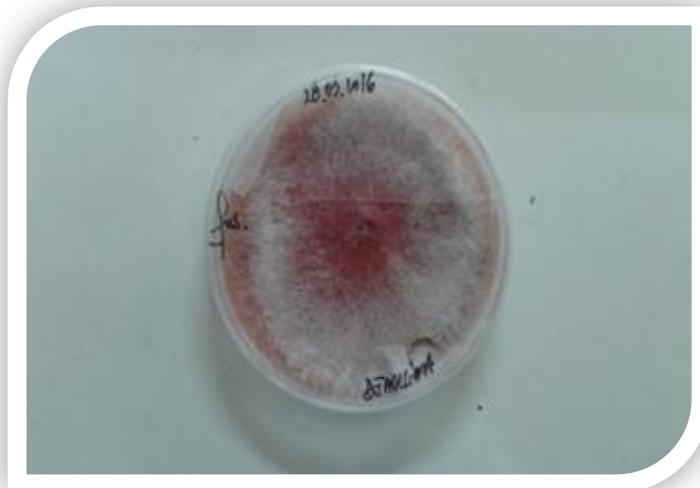


Figure 13 : Aspect macroscopique du *Fusarium tricinctum* (Original)

II.1.3. Matériel de laboratoire

L'appareillage, la verrerie et les réactifs et les milieux de culture utilisés, voir l'annexe(02) tableau (03)

II.2. Méthodes

L'objectif de notre travail est l'étude de l'activité antifongique d'extrait aqueux des pépins de *Citrus paradisi* *in vitro* et *in vivo*.

II .2.1. Préparation d'extrait aqueux à partir de pépins de *Citrus paradisi* (pomélo)

II .2.1. 1. Préparation de la poudre de pépins de *Citrus paradisi*.

La préparation de la poudre à base des pépins de *Citrus paradisi* a été réalisée par plusieurs étapes, (Fig.14).

a. Récolte

Les pépins de *Citrus paradisi* ont été récoltés dans la saison de pomélo, en mois de février 2016.

b. Séchage

Le séchage est un procédé qui consiste à abaisser la teneur en eau, afin que les réactions d'altérations ne puissent plus se reproduire et la prolifération des micro-organismes est limitée.

Les pépins récupérés à partir des fruits de pomélo, sont séchés à l'air libre, à l'abri de la chaleur et de la lumière pendant trois semaines.

c. Broyage et conservation de la poudre

A l'aide d'un broyeur électrique, les pépins sont broyés en poudre fine et conservée à l'abri de l'air, de l'humidité et de la lumière afin d'éviter tout risque de dégradation ou de dénaturation. Son stockage se fait dans un flacon en verre hermétiquement fermé à une température de 4°C. (Fig. 15).

- ✓ Les étapes de l'extraction de la poudre des pépins sont schématisées dans le diagramme suivant :

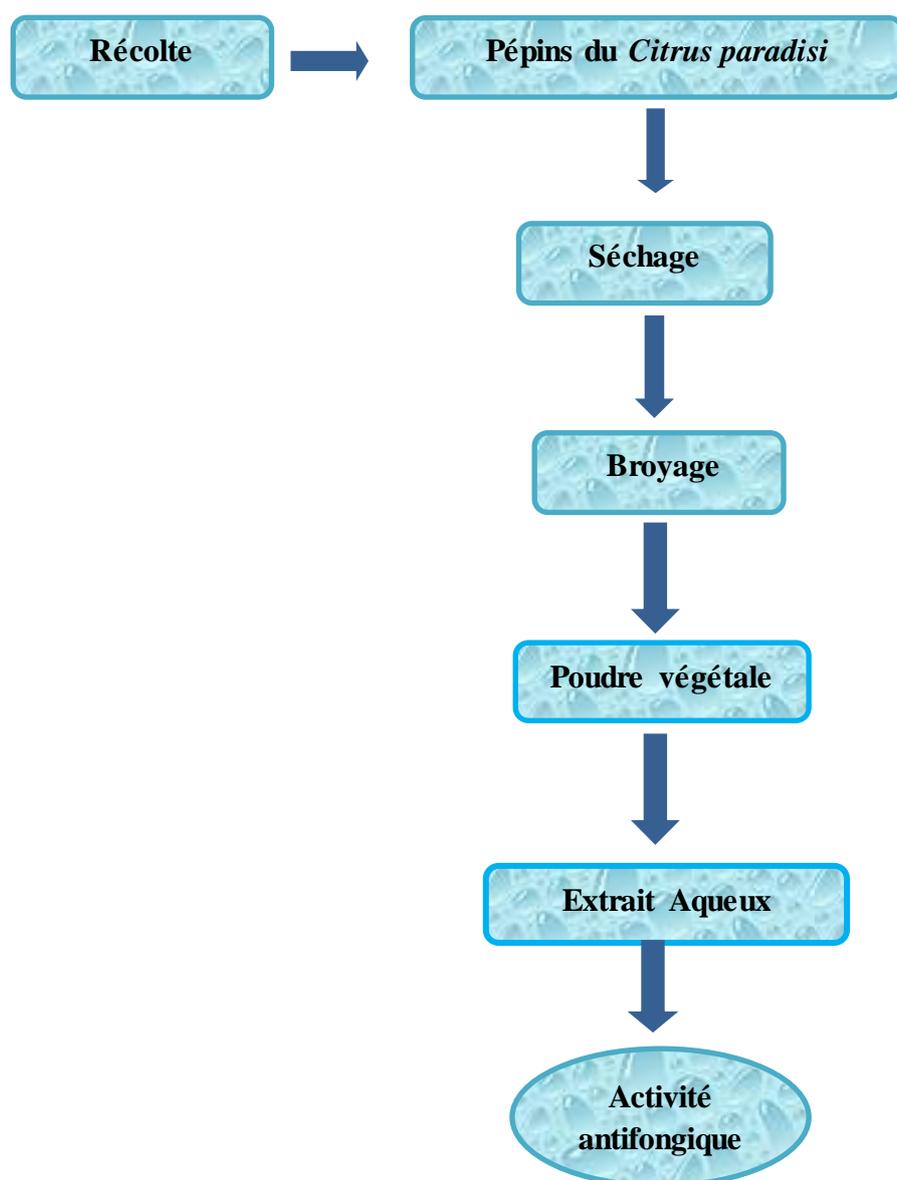


Figure 14 : diagramme des différentes étapes de l'extraction.



Figure 15 : La poudre des pépins de *Citrus paradisi* (Original)

II .2.1. 2. Préparation de l'extrait aqueux.

50g de la poudre de pépin de pomélo est mit dans 500ml de l'eau distillée stérile pendant 72 heures avec agitation. Le surnageant est récupéré par filtration sur papier Wattman, (Fig. 16 a).

Le filtrat obtenu est récupéré dans un flacon en verre (Fig. 16 b) et conservé à 4°C à l'abri de la lumière. (Salhi, 2012).(Fig. 17).



Figure 16 :(a) : Filtration de la macération ; (b) : L'extrait aqueux des pépins du *Citrus paradisi* dans un flacon en verre (Original)

- ✓ La méthode de la préparation d'extrait aqueux est récapitulée dans le diagramme suivant :

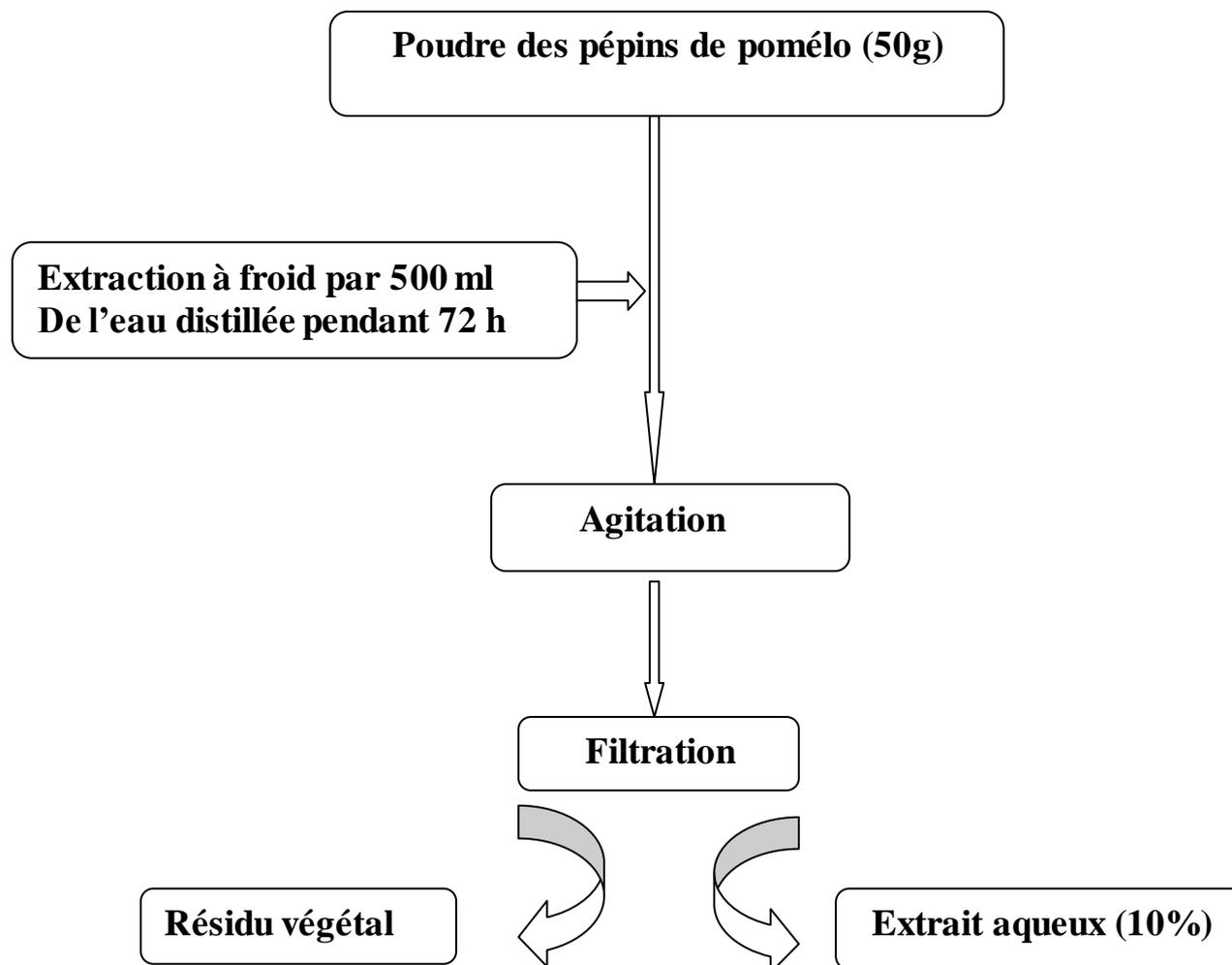


Figure 17 : méthode de l'extraction aqueuse à partir des pépins de *Citrus paradisi* (pomélo)

II.2.2. Identification de la souche *Fusarium sp.*

II.2.2.1. Culture monosporale

Une suspension sporale est préparée à partir d'une culture jeune de 7 jours, en prélevant un explant à partir de la boîte mère mis dans un tube à essai contenant 10 ml de l'eau distillée stérile. Après agitation, une goutte est prélevée à l'aide d'une pipette pasteur stérile et étalée de manière uniforme sur les boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. Les

boîtes sont ensuite incubées dans une étuve, sous lumière blanche continue à une température de 22°C.

Après 48 h d'incubation, les spores individualisées en germination sont prélevées et repiquées chacune à part dans de nouvelles boîtes contenant le milieu PDA. Les boîtes sont ensuite incubées dans une étuve à 22 °C sous lumière blanche continue.

II.2.2.2. Identification microscopique.

L'identification microscopique est basée principalement sur les critères morphologiques établis par Toussoun et Nelson (1976):

- L'aspect et la coloration du mycélium sur milieu PDA
- La taille et la forme des macroconidies (cellule apicale et basale)
- La présence ou l'absence des microconidies

Et les clefs Burgess *et al.* (1994) et sur la description des espèces du genre *Fusarium* établie par Leslie et Summerell (2001)

L'identification a été réalisée au niveau de l'ENSA, département de botanique et laboratoire mycologique de la SRPV d'Alger, qui ont révélé l'exactitude de *Fusarium tricinctum*. (Fig.18).

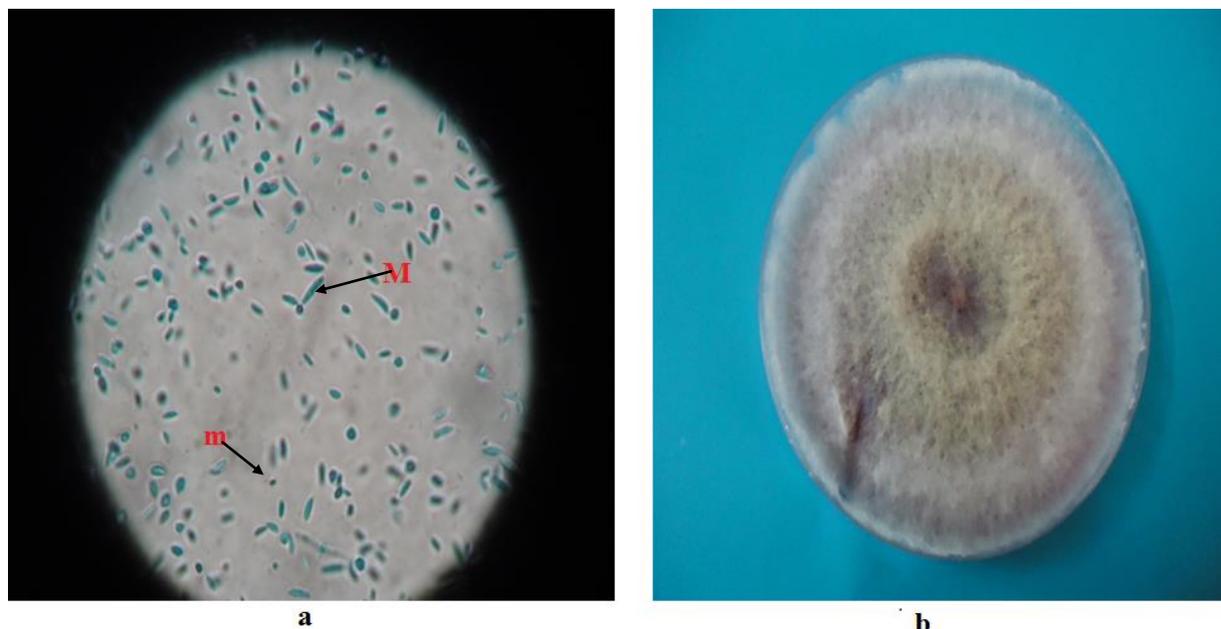


Figure 18 : (a) : Aspect microscopique du *Fusarium tricinctum* (M : macroconidie, m :microconidie), (b): Aspect macroscopique du *Fusarium tricinctum* (Original)

II.2.3. Etude *in vitro* de l'activité antifongique de l'extrait aqueux sur le *Fusarium tricinctum*.

Pour la réalisation de l'activité antifongique des pépins de *Citrus paradisi*, on a adopté la méthode de contact direct.

Les manipulations sont réalisées au niveau du laboratoire de mycologie de la station régionale de la protection des végétaux d'Alger.

II.2.3.1. Préparation des différentes concentrations d'extrait aqueux.

On a utilisé six concentrations différentes d'extrait aqueux des pépins de pomélo à savoir 20%, 30% et 40% ,50%, 60% et 70% pour cela, on a prélevé des différentes quantités d'extrait aqueux (Eq) des pépins de pomélo (10, 15, 20, 25 , 30 et 35 ml) qu' on a ajusté jusqu'à 50 ml avec le milieu de culture Malt et agité pendant 5 minutes afin d'homogénéiser.(Tableau01).

Tableau 01 : Valeurs des dilutions utilisées

Rapport de dilution (Eq/Malt)	0	1/5	3/10	2/5	1/2	3/5	7/10
ml Eq/50ml Malt	0	10	15	20	25	30	35
Concentration d'Eq (%)	0	20	30	40	50	60	70

II.2.3.2. Confrontation direct sur milieu de culture.

Un volume de 15ml de mélange de Malt et extrait aqueux a été coulé dans des boîtes de Pétri (diamètre 85 mm) sous une hotte, après le refroidissement et la solidification de ce mélange, des disques mycéliens d'une culture jeune (10 jours) de *Fusarium tricinctum* de 5mm de diamètre sont mis au centre de chaque boîte à raison d'un disque par boîte. Chaque concentration est répétée trois fois. Les boîtes ont été incubées à température de 25 °C.

Le témoin est réalisé dans les mêmes conditions sans extrait aqueux et les notations ont été enregistrées après chaque 24 h. (Fig. 19).

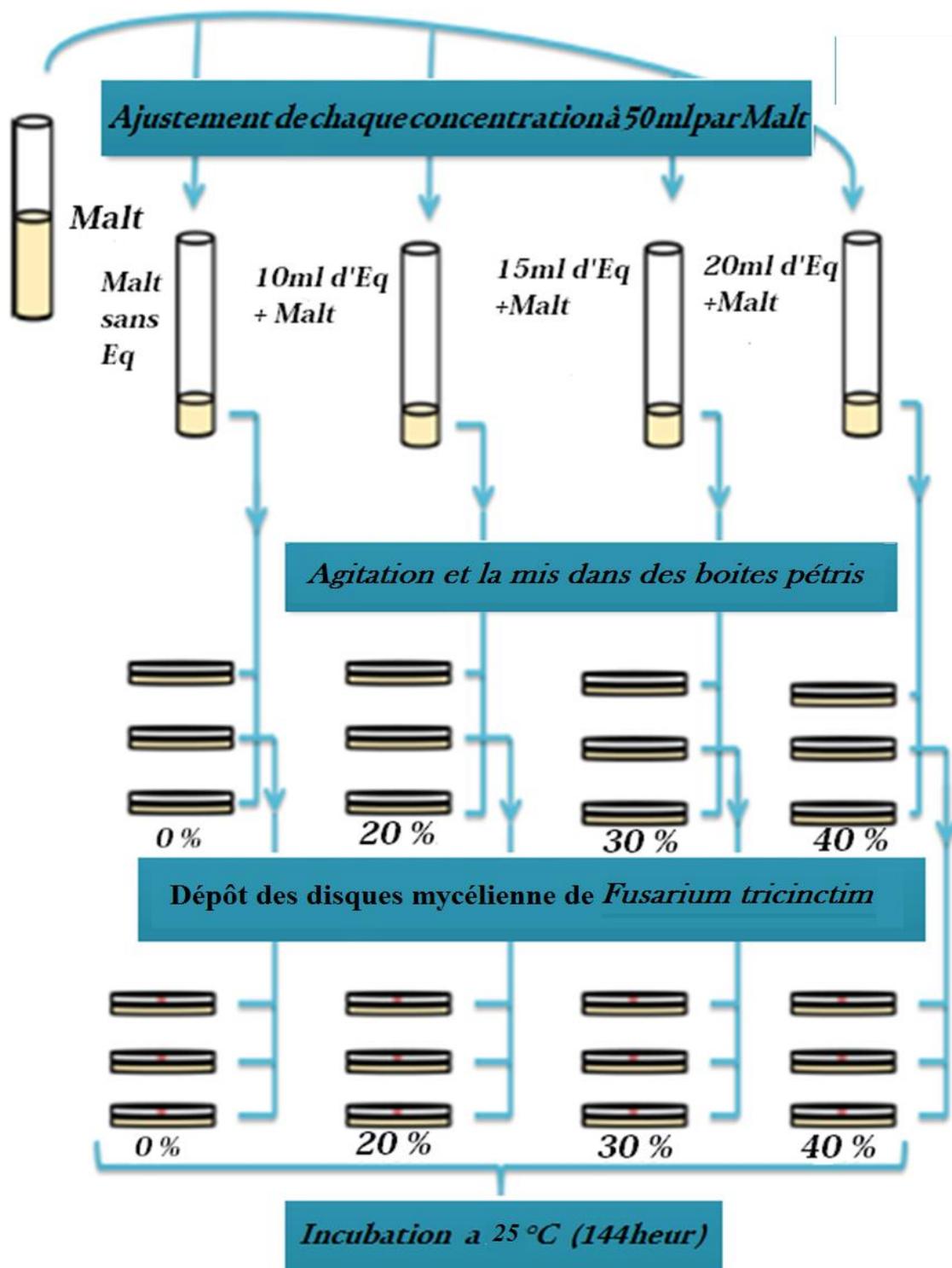


Figure 19 : les étapes de la confrontation directe

- ❖ le même dispositif expérimental est utilisant pour les concentrations 50, 60 et 70%.

II.2.3.2.1. Evaluation de la croissance mycélienne de *Fusarium tricinctum*.

La croissance mycélienne a été évaluée chaque les 24 heures pendant six jours (remplissage de toute la surface de la boîte 85mm), en mesurant la moyenne de trois diamètres (trois répétitions), en comparant avec le témoin. Afin de déterminer la vitesse de croissance mycélienne, le taux d'inhibition et la concentration minimale inhibitrice.

a- Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)

La vitesse de croissance mycélienne de chaque concentration est déterminée par la formule :

$$VC = [D1/Te1] + [(D2-D1) / Te2] + [(D3-D2)/Te3] + \dots + [(Dn-Dn-1)/Ten]$$

D: diamètre de la zone de croissance de chaque jour.

Te : temps d'incubation.

b- Détermination de taux d'inhibition

Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne est déterminé après six jours d'incubation à 25 C°, en utilisant la formule d'Ebbot (Motiéjunaité et Peiculyté, 2004) :

$$T = (Dk - D0) / Dk \times 100$$

Dk : Diamètre de la colonie fongique du témoin (en mm) ;

D0 : Diamètre de la colonie fongique en présence de l'extrait (en mm) ;

T : Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage (%).

L'extrait est qualifié de :

- ✓ Très actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 75 et 100 %, la souche fongique est dite très sensible ;
- ✓ Actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 50 et 75 %, la souche fongique est dite sensible ;
- ✓ Moyennement actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 25 et 50%, la souche est dite limite ;

- ✓ Peu ou pas actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 0 et 25%, la souche est dite peu sensible ou résistante.

c- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Il s'agit en parallèle d'évaluer la plus petite concentration pour laquelle aucun développement n'est visible à l'œil nu.

II.2.3.2.2. Observation microscopique du *Fusarium tricinctum* après la confrontation directe.

Dans des conditions aseptiques, des observations microscopiques ont été réalisées, en prélevant à l'aide d'une anse stérile, un fragment de *Fusarium tricinctum* pour chaque concentration, mis entre lame et lamelle en ajoutant une goutte de Lactophenol.

II.2.4. Etude *in vivo* de l'activité antifongique de l'extrait aqueux sur le *Fusarium tricinctum*.

L'étude *in vivo* a été réalisée à l'air libre dans des conditions non contrôlées, afin de déterminer l'activité antifongique de l'extrait aqueux des pépins de pomélo.

a. Préparation de témoin.

Les graines du blé dur variété vitron, ont été semées dans des pots remplis d'un mélange du sol et de terreau stérilisé à 105 °C pendant 24 h dans l'étuve, répartis dans des pots à raison de 2/3 de terre et 1/3 de terreau par pot. Pour trois répétitions. (Koudri, D et Laraba, I. 2014).

b. Inoculation du *Fusarium tricinctum*.

Le *Fusarium tricinctum* a été inoculé selon la méthode de Ren *et al.* (2015). Les graines de blé désinfectées dans de l'hypochlorite de sodium à 2 %, ont été semées dans des pots à raison de 2 graines par pot, et un fragment mycélien de 5 mm provenant d'une culture jeune de 7 jours est déposé à proximité de chaque graine.

c. Le Dispositif expérimental :

Le dispositif est constitué d'un témoin et deux types de traitements. Il est réalisé avec trois répétitions. (Fig. 20).

- Témoin : graines de blé semées dans un sol non inoculé et irriguées par l'eau.
- Traitement 1 : graines de blé semées dans un sol inoculé par *Fusarium tricinctum* et irriguées par l'eau.
- Traitement 2: les graines de blé semées dans un sol inoculé par *Fusarium tricinctum* et irriguées par l'extrait aqueux des pépins du *Citrus paradisi* à 40%.

Les notations ont été prises dès la levée des graines jusqu'au fin tallage.

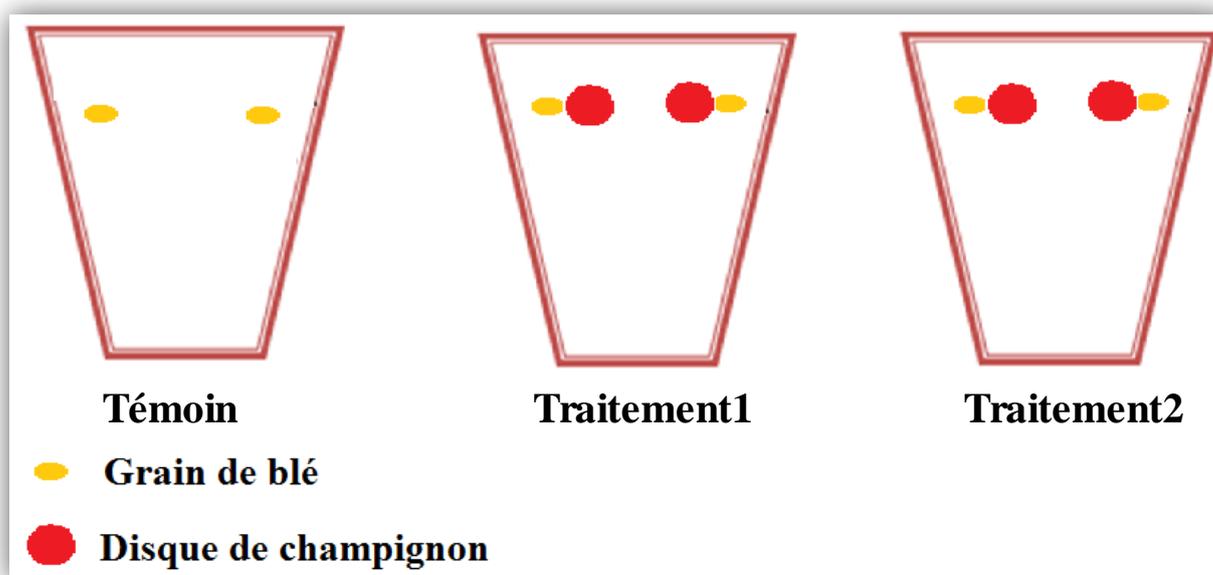


Figure 20 : dispositif expérimental (original)

d. Confirmation de la présence de la Fusariose après le traitement.

Un isolement des échantillons a été réalisé au laboratoire, afin de confirmer la présence ou l'absence du *Fusarium tricinctum* après utilisation de l'extrait aqueux.

II.2.5. Analyse statistique

L'analyse statistique (tableau, histogramme, courbe) des données est traitée par logiciel [systat (07)] pour la détermination de la signification des résultats.

*RÉSULTATS ET
DISCUSSIONS*

Chapitre III- Résultats et discussion

Les résultats de ce présent travail concernent deux parties:

- L'étude *in vitro* de l'activité antifongique de l'extrait aqueux des pépins du *Citrus paradisi* vis à vis du *Fusarium tricinctum* du blé dur;
- L'étude *in vivo* de l'activité antifongique de l'extrait aqueux des pépins du *Citrus paradisi* vis à vis du *Fusarium tricinctum* du blé dur;

III.1. Résultats

III.1. 1. Etude *in vitro* de l'activité antifongique d'extrait aqueux des pépins du *Citrus paradisi*.

III.1.1. 1. Evaluation de la croissance mycélienne

L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne.

Les résultats de diamètre de *Fusarium tricinctum* vis a vis de l'activité antifongique d'extrait aqueux des pépins de *Citrus paradisi* (tableau 02), varient entre 0 et 85 mm.

Tableau 02 : Croissance mycélienne (mm) de *Fusarium tricinctum* en fonction du temps et de la concentration (C) d'extrait aqueux du *citrus paradisi*

Temps (C)	24h	48h	72 h	96 h	120 h	144 h
20%	5	12.33	21.33	28.33	36.66	41
30%	5	13.33	18	24.66	31	36
40%	0	6	15.66	18.33	22.66	27.66
50%	0	0	0	0	0	0
60%	0	0	0	0	0	0
70%	0	0	0	0	0	0
Témoin	11.66	23.66	43	53.66	70.33	85

Par rapport au témoin, Après 24h, seule la concentration de 20% et 30%, où la croissance mycélienne est observée contrairement à la concentration de 40% qui est débutée après 48h, et pour les autres concentrations, elle a restée nulle.

On n'en déduit que l'augmentation de la croissance mycélienne est proportionnelle au temps d'incubation et aux concentrations d'extrait aqueux.

Le test de l'analyse de Variance (Tableau. 06, Annexe02) montre que l'effet de la concentration a une différence très hautement significatif ($P \leq 0.001$) sur la croissance mycélienne du *Fusarium tricinctum*.

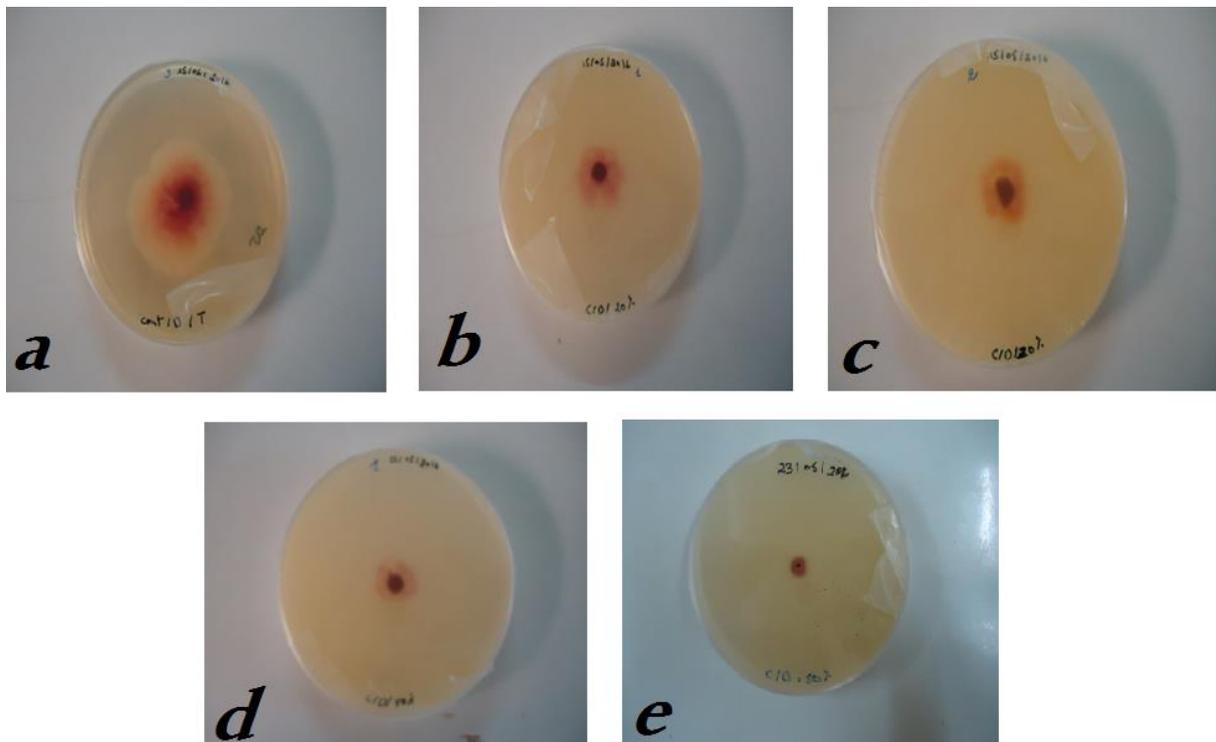


Figure 21 : la croissance mycélienne après 72h

a : témoin ; b : 20% d'Eq ; c :30% d'Eq ; d :40% d'Eq ; e : 50% d'Eq

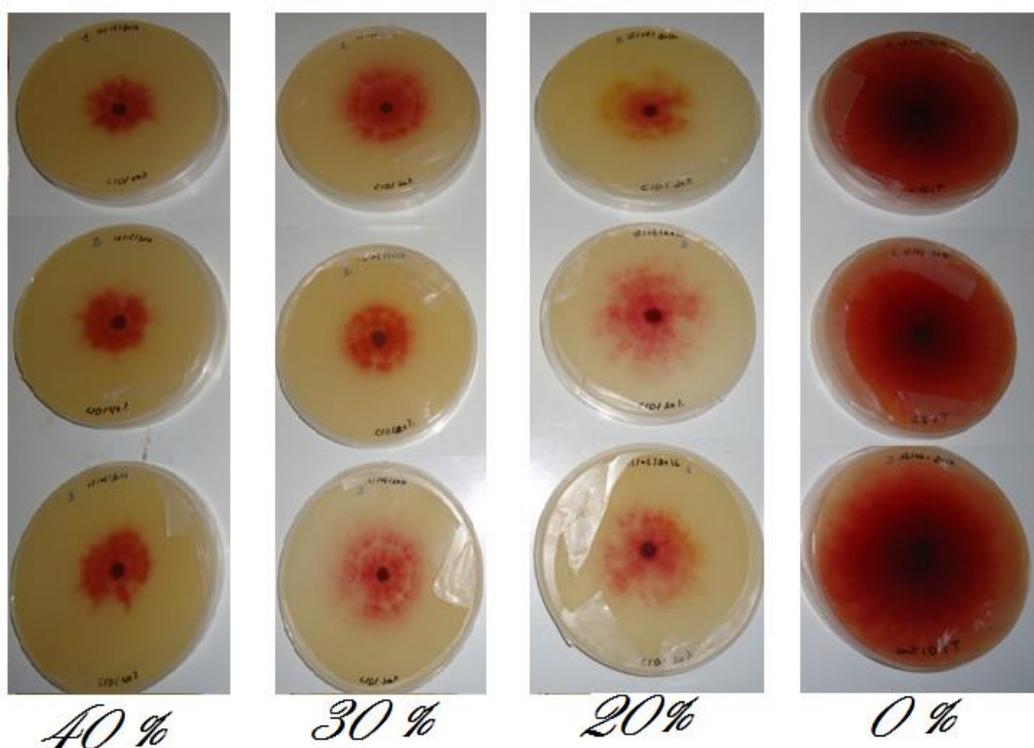


Figure 22 : la croissance mycélienne après 144h (1^{er} essai *in vitro*)

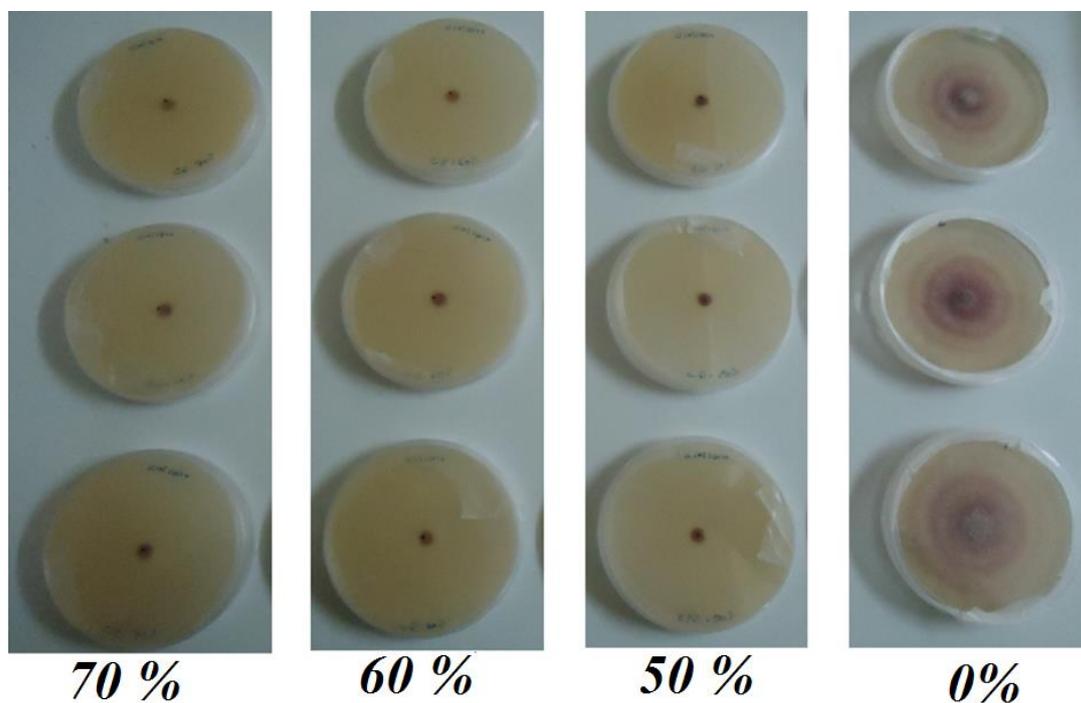


Figure 23 : la croissance mycélienne après 144h (2^{eme} essai *in vitro*)

Discussion :

Les concentrations d'extrait (20%, 30% et 40%), des pépins de *Citrus paradisi* ont empêché partiellement la croissance mycéliennes, ce résultat est corroboré avec ceux de (ANKITA et DWIVEDI, 2012) qui ont trouvé que les concentrations des extraits aqueux (5%, 10% et 15%) de curcuma, ail et poivre noir appliquées sur le *Fusarium sp* ont empêché partiellement la croissance mycéliennes.

Par ailleurs, quand on a augmenté la concentration à 50%, on a enregistré une inhibition totale de la croissance mycélienne, ce résultat s'accorde avec les travaux de (GARKOTI et al., 2013) qui montrent que l'efficacité des extraits des lentilles a augmenté avec l'augmentation de la concentration, et l'inhibition maximale a été enregistrée à 40 %.

III.1.1.2. Inhibition de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne est réduite quand la concentration d'extrait aqueux est augmentée et jusqu'au delà de 50%, la croissance mycélienne est nulle. (Fig. 24).

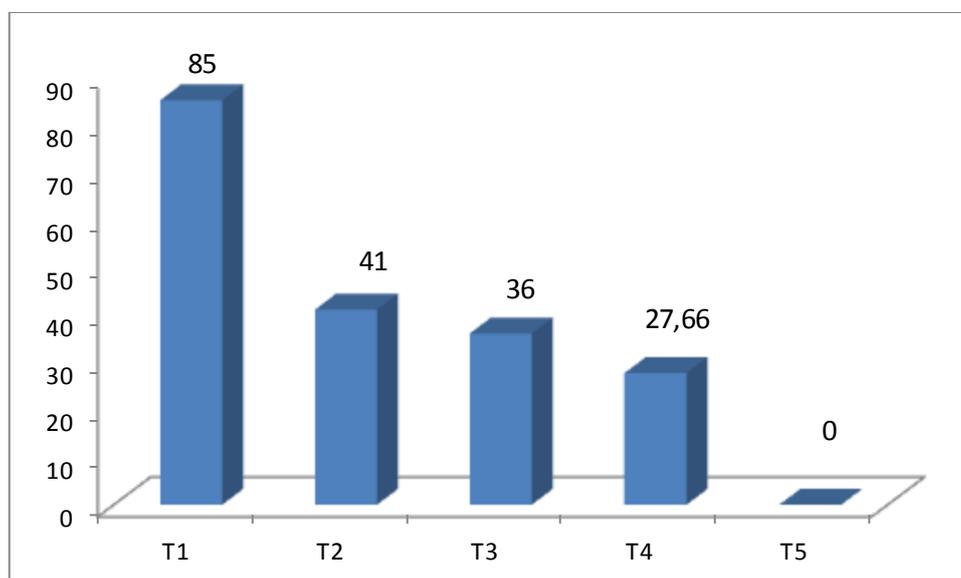


Figure 24 : Variation du diamètre de la croissance en fonction des doses (T1, T2, T3, T4 et T5 sont respectivement :0%, 20%, 30%, 40% et 50%).

Les quatre doses de notre extrait montrent qu'il n'y a pas eu un bon diamètre de croissance. Pour les doses de 20%, 30% et 40%, il a atteint une diamètre de 27,66 à 41mm par contre à la dose de 50% est nulle, en comparant au témoin qui a un diamètre de 85mm.

L'analyse de la variance du diamètre d'inhibition de la croissance mycélienne montre des différences très hautement significatives entre le temps et la dose de traitement ($P=0.000$; $P \leq 0.001$), même pour le facteur interaction temps et dose de traitement (Tableau 05. Annexe 02).

III.1.1.3. Vitesse de la croissance mycélienne de *Fusarium tricinctum*

Les résultats de la figure 26 montrent que plus la concentration d'extrait aqueux de *Citrus paradisi* augmente plus la vitesse de la croissance mycélienne décroît. (Tableau. 07. Annexe02.).

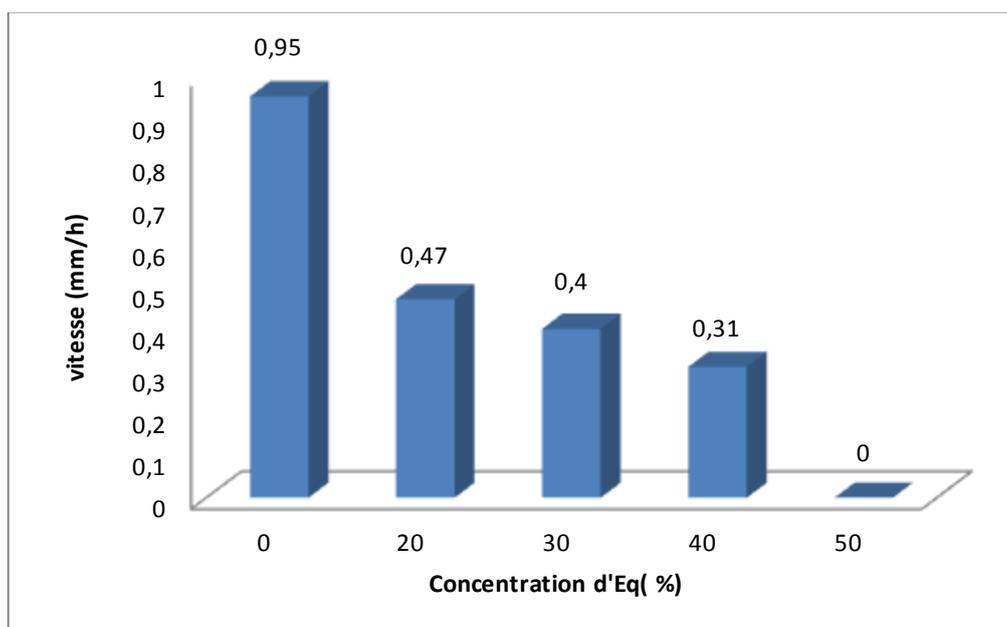


Figure26 : La vitesse de la croissance mycélienne du *Fusarium tricinctum* sous l'effet de l'augmentation de la concentration d'extrait aqueux des pépins de *Citrus paradisi*

La vitesse maximale de la croissance mycélienne de 0.95mm/h est enregistrée à 0% en absence d'extrait aqueux, par rapport aux concentrations de 20%, 30%, 40% et 50% où la

vitesse est chutée respectivement à 0,47mm/h, 0,4 mm/h, 0,31 mm/h et 0 mm/h (tableau 06 Annexe 02).

Discussion

L'extrait aqueux du *Citrus paradisi* a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis du champignon *Fusarium tricinctum*, la vitesse de la croissance de mycélium est diminué chaque fois qu'on augmente la concentration de l'extrait aqueux. Ce ci est en accord avec les travaux de GACEM (2011) sur l'extraits méthanolique et aqueux appliquer sur *Aspergillus fumigatus*.

III.1.1.4. Taux d'inhibition

Les résultats de la figure 27 montrent que plus la concentration d'extrait aqueux de *Citrus paradisi* augmente plus Le taux d'inhibition augmente. (Tableau.08. Annexe 02).

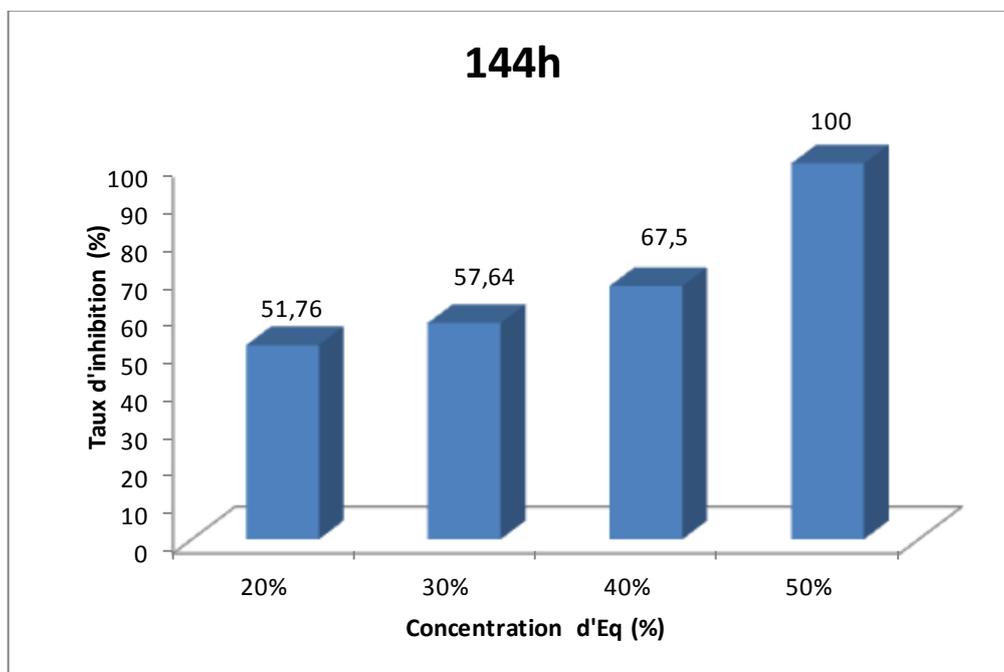


Figure 27: Taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Le taux d'inhibition augmente en fonction des doses. Il est évalué à 51,76%, 57,64% et 67,5% pour les doses 20%, 30% et 40%, par conséquent l'extrait aqueux est actif à ces concentrations, donc la souche fongique est sensible à la dose de 50%.

Le taux d'inhibition totale de 100% est atteint pour la dose de 50%. Ce ci signifie que notre extrait est très actif et la souche fongique est très sensible. D'après Motiéjunaité et Peiculyté (2004).

Donc la CMI est égale à 50%.

III.1.1.5. Observation microscopique

L'observation microscopique est réalisée par comparaison au témoin. Il montre une diminution dans les diamètres, les tailles et le nombre de mycélium (Témoin >20% >30% >40%) (Fig. 28).

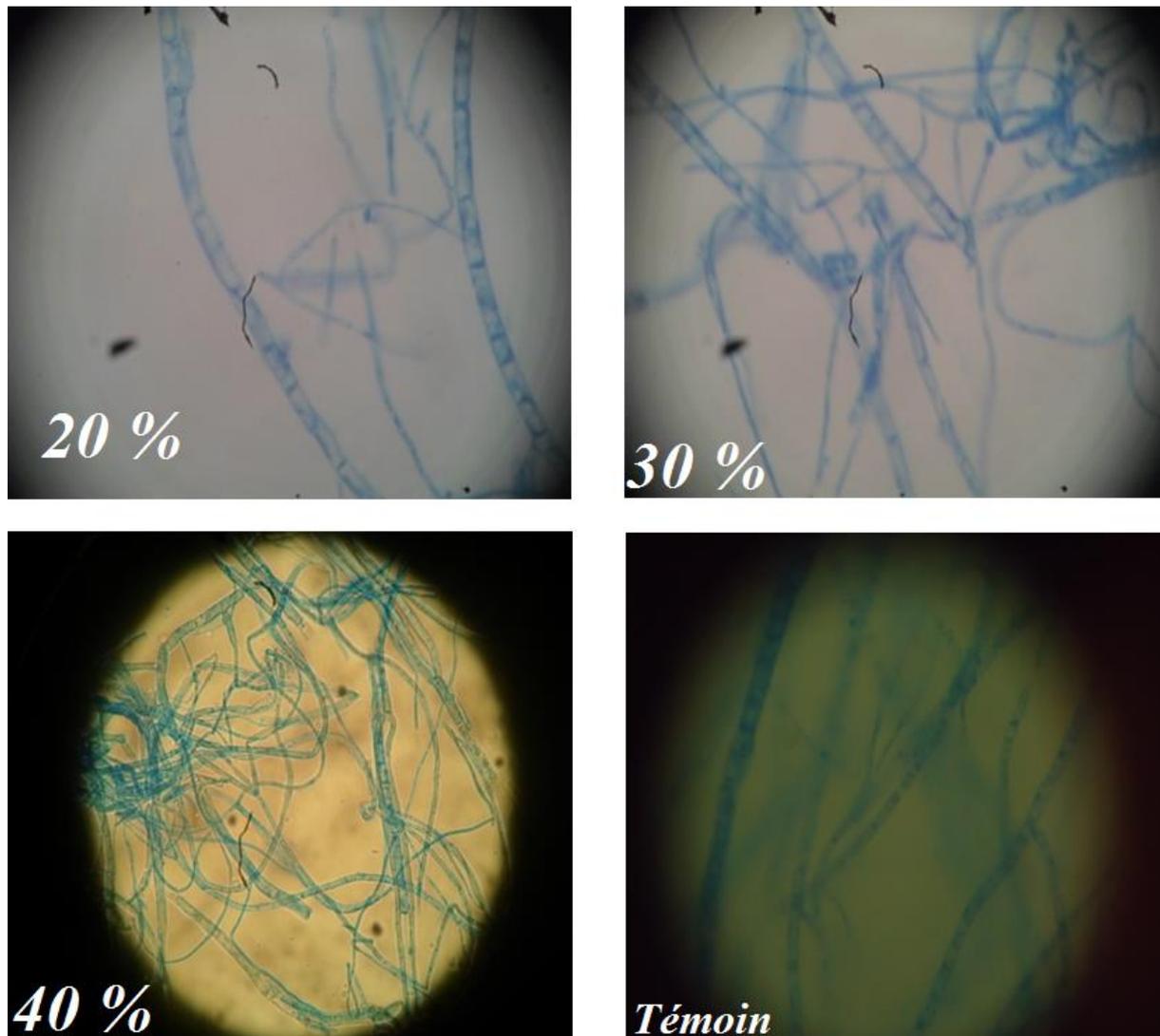


Figure 28 : Observation microscopique des mycéliums du *Fusarium tricinatum* pour les différentes concentrations

Discussion

Les modifications morphologiques (la taille du mycélium) observés sur différentes concentrations étaient comparables aux travaux de **BILLERBECK *et al.*, (2002)** sur le mycélium d'*Aspergillus Niger* sous l'effet des vapeurs d'huile essentielle de *Cymhopogon nordus*.

III.1.2. Etude *in vivo* de l'activité antifongique d'extrait aqueux des pépins du *Citrus paradisi*

Dans le but d'évaluer l'efficacité de l'extrait aqueux des pépins du *Citrus paradisi* dans la protection des plants de blé dur contre le *Fusarium tricinctum*, un essai est réalisé dès la levée des graines jusqu'au fin tallage.

A la levée, on a remarqué une légère coloration brune du collet pour le témoin positif et absence de coloration dans le témoin négatif et le traité (Fig. 29 et 30).



Figure 29 : Apparition des symptômes sur les plants de blé



Figure 30 : Symptômes du *Fusarium tricinctum* sur les plants après l'arrachage

- **Isolement des échantillons au laboratoire**

Les résultats d'isolement de témoin et de plant de traitement2 sur milieu de culture ont révélé la présence de *Fusarium tricinctum*.(Fig. 31.).

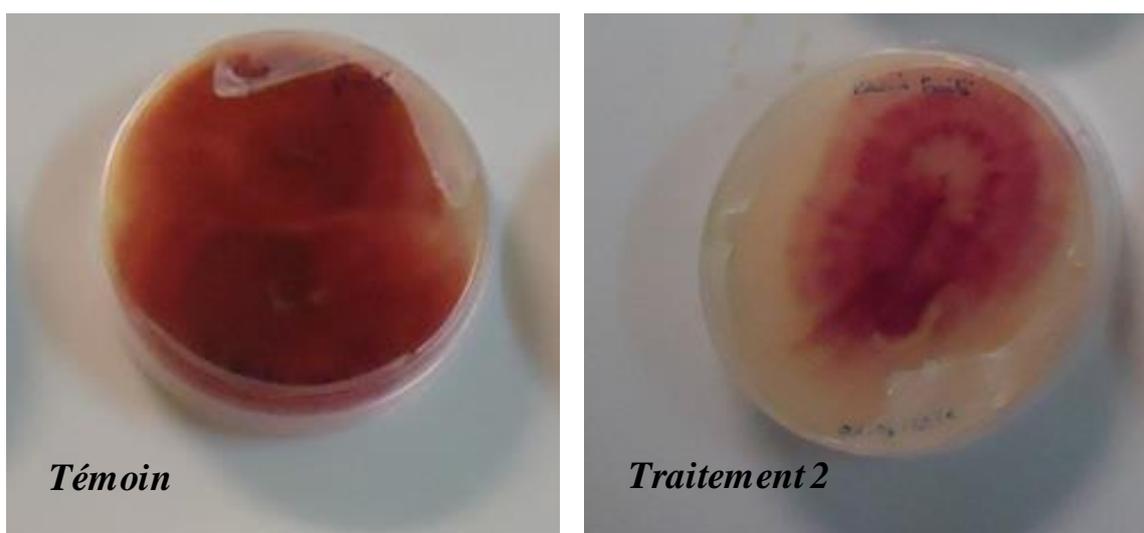


Figure 31 : la croissance mycélienne après isolement de témoin et du plant de traitement 2 d'essai in vivo

Discussion

A l'étude In vivo de l'activité antifongique, une légère différence a été enregistrée pour le témoin et le plant traitement² qui montre qu'il y'a l'influence des autres conditions qui ne sont pas contrôlés.

*CONCLUSION ET
PERSPECTIVES*

Conclusion

L'objectif de notre étude visant l'utilisation d'extrait aqueux des pépins du *Citrus paradisi* contre le *Fusarium tricinctum* agent de la fusariose du blé. La méthode de contact direct nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique de notre extrait vis-à-vis de la souche *F.tricinctum*.

L'activité antifongique d'extrait aqueux des pépins de *Citrus paradisi* est avéré un agent antifongique fortement efficace contre le *F.tricinctum*, le taux d'inhibition entre 51,76%, 57,64% et 67,5% pour les doses 20%, 30% et 40% respectivement alors que pour la concentration de 50% l'activité antifongique de l'extrait est très fortement efficace , le taux d'inhibition est de 100%.

L'essai *in vivo* de la lutte biologique contre la fusariose du blé (*Fusarium tricinctum*) en utilisant l'extrait aqueux de *Citrus paradisi* pour le traitement d'une variété de blé dur (Vitron) a révélé que les plants irrigués par l'extrait à 40% n'ont pas présenté des symptômes de la fusariose par rapport à ceux du témoin positif. Par contre après l'analyse au laboratoire, aucune différence entre le plant traité et le témoin positif n'est enregistrée.

En perspective, il est intéressant de pousser les études pour :

Le traitement de semences du blé avec l'extrait aqueux des pépins de *Citrus paradisi* avant la semi à l'égard de *Fusarium tricinctum*.

Etaler les travaux de lutte jusqu' à le stade d'épiaison.

L'isolement de principal métabolite secondaire actif des pépins de *Citrus paradisi*,

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

- Agrios, G.N. (2005). Plant pathology. Fifth edition, Elsevier Academic Press, San Diego, CA 962 p.
- Ankita et Dwivedi . (2012): Bioefficacy of plant extracts against *Fusarium* species causing wilt in pulses. P 136-144
- Anonyme., (2004). Accompagnement phytosanitaire des fermes pilotes... Garant d'une Agriculture Raisonné. bulletin phytosanitaire. INPV El Harrach, Algérie, N°33, ISSN 1112-25364p.
- Anonyme, 2004 : Extraits de pépins de pamplemousse. Dossier scientifique. Ed. Académie médicale Montaigne, Paris, France. 12 p.
- Anonyme, 2008 : Pamplemousse et pomélo. Guide Diététique Aliments Fruits .
- Anonyme, 2006 : Pamplemousse et pomélo. Centre Municipal de Pomologie.
- Anonyme 2016 .La fusariose : maladie du blé , *Fusarium* spp. And *Microdochium nivale* .
- Arvalice . (2015). Fiche technique : Fusariose de la tige et des nœuds :*Fusarium spp* *Microdochium spp* (en ligne) :http://www.fiches.arvalis-infos.fr/fiches_accidents.php ?mode=fa&type_cul=1&type_acc=4&id_acc=78
- Atalla, M.M., Mohamed-Hassanein, N., Atef-Elbeih, A. & Yoyssef, A. (2003). Mycotoxin production in wheat grains by different *Aspergillus* in relation to different relative humidity and storage periods. Food Nahrung 47, 6-10.
- Azouaoui- Ait Kettout T., Boucenna B., Amgoud M., Rahmania F. (2007)- Essai de lutte *in vitro* par le glyphosate contre des champignons telluriques phytopathogenes : *Fusarium* et *Pythium*. Sciences & Technologie . 26 :75-80.

B

- Ballois N., (2012)-Caracterisation de la diversité des espèces de *Fusarium* et de leur potentiel mycotoxinogène sur céréales françaises. mémoire de stage. 6-7 p .
- Bhatnagar & McCormick . (1988).The inhibitory effect of neem (*Azadirachta indica*) leaf extracts on aflatoxin synthesis in *Aspergillus parasiticus*. Journal of the American Oil Chemical Society 65, 1166–1168.

- Bhattacharya, SK., Bhattacharya, A., Sairam, K. (2007). Anxiolytic-antidepressant activity of *Withania somnifera* glycowithanolides: an experimental study: phytomedicine.463p.
- Billerbeck, Roques, Vanière & Marquier .(2002) : Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Hygiènes* 3(10), 248-251.
- Bonjean, A. (2001) - Histoire de la culture des céréales et en particulier de celle du blé tendre *Triticum aestivum L.*). Eds. Le Perchec S ., Guy P . et Fraval A. Agriculture et biodiversité des plantes. Dossier de l'environnement de l'INRA, n°21, 29-37 p.
- Boulal, H., Zaghouane, O., El mourid, M. et Rezghi, S.(2007). Guide pratique de la cohduite des céréales d'automne (blé et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). ITGC /ICARDA. 176p.
- Bonnassieux, M-P. (1988) - Tous les fruits comestibles du monde. Paris : Marguerite Montange. 75, 78p.
- Boutaleb Joutei A.(2010)- Synthèse des résultats de recherche sur l'utilisation de quelque biopesticides d'origine végétale sur les cultures d'importance économique au Maroc. Proceeding du septieme Congrès de l'association Marocaine de protection des plantes.. Rabat, Maroc Proceedings su septième congréz de l'association marocaine de protection des plantes. Rabat ,Maroc. Vol 2. 377-389 p .
- Bruneton, J. (1999). Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales. France : Ed .Lavoisier. 1120p.
- Burgess L. W., Liddell C. M. and Summerell B. A., Bullock S., Gott K. P. et Backhouse D. 1994. Laboratory manual for *Fusarium* research, 3rd Ed. University of Sydney, Sydney. 135 p

C

- Caron, D. (2000)- Maladies des céréales et des orges. ITCF. Paris. 30-39 p.
- Carver, B.F. (2009)- Wheat science and trade. Ed. Wiley-Blackwell. 6-160 p.
- Charef, S. A. (2001)- Protection intégrée des cultures en Algérie. Atelier sur la protection intégrée des cultures dans les pays de l'Afrique du Nord. Biskra –Algérie, 22-26 Octobre (2001). Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) . . 30-37p.
- Clavel, A.J. (2006). Diagnostic des accidents du blé dur . ARVALIS institut du végétal. Paris. 105p.

- Colombo, A. (2004). La culture des agrumes. Paris : Vecchi S.A. 40, 44p.
- Cubells, J F. et Predali, S. (2012). Activités pédagogiques pour mieux connaître les produits issus de l'agriculture de Corse : Robba Nustrale. 91p.

D

- Dammer, K.H., Mo'ller , B., Rodemann, B. et Heppner, D. (2011)- Detection of head blight (*Fusarium spp.*) in winter wheat by color and multispectral image analyses. Crop Protection 30: 420-428 p.
- Deacon J., (2005) - *Fungi as plant pathogens. Chapter 14.* Ed. Blackwell Publishing.
- Siou, D. (2013) - Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien. Sciences agricoles. Université Paris Sud – Paris XI,. Français.6-7-8-9 p.

E

- Ezzahiri, B. (2001). Les maladies du blé. Bulletin de transfert de technologie en agriculture, MADREF/DERD ed. N°77,4 p.

F

- Fandohan P., Gbenou J. and Gnonlofin B. (2004). Effet of essential oil on the growth of fumonisin contamination in corn.*J.Agric.Food Chem.*,52;pp.6824-6829.
- Field, Jordan & Osboum .(2006) .First encounters-deployment of defense-related natural products by plants. P 193-207.

G

- Gacem, MA., (2011). Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de *citrullus colocynthis* sur la croissance d e quelque moisissure d'altération de blé stoké. Magister, Université Kasdi Merbah Ouargla,p147.
- Garkoti et al., (2013): Management of vascular wilt of lentil through aqueous plant extracts in tarai region of uttarakhand state. P 263-145
- Garido,C., Fernández –Acero Francisco,J., Carbù, M., Gonzalez-Rodriguez Victoria E., Lineiro Eva et Cantoral Jesus, M. (2012)- “Molecular Microbiology Applied to the Study of Phytopathogenic Fungi” , dans Sameh Maghdeldin, Gel Electrophoresis-Advanced Techniques.

- Gilbert, J. et Tekouz, A. (2000)- Effet of *Fusarium* head blight and seed treatment on germination, emergence, and seedling vigour of wheat. Can. J.Plant Path. 17 : 252-259 p.
- Giordani, HadeF, Kaloustian, (2008). Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. Fitoterapia, 79. P 199-203.
- Guignard,J-L. , Cosson.L., Henry.M. Abrégé de phytochimie .(1985) . Ed .Masson, Paris. 06 p.
- Gutzuiller, A., Czeglédé, L. et Stoll,P . (2005). Efficacité d'absorbants contre les mycotoxines de *Fusarium* chez la porc. Revue Suisse Agric. 37 (3) : 121-129.

H

- **Hamadache, A., Abdellaoui, Z. et Aknine M.(2002) .** Facteurs agrotechniques d'amélioration de la productivité du blé dur en Algérie. Cas de la zone sub-humide. Revue Semestrielle 10 : 5-18
- Hamou,M., Labdi, M. et Hamdi, S.(2009). Problématique de la céréaliculture et perspectives de développement de l'agriculture. Mostaganem –Algérie, 12-13 janvier. 8-15.p.

J

- Jjjakli, H.(2003). la lutte biologique en phytopathologie. in : Lepoivre,P phytopathologie. Ed.les presses agronomiques des Gembloux. Pp : 289-311.
- Judd ,W .S., Campbell,C.S., Kellogg,E.A., et sStevensP., (2002). Botanique systématique : une perspective phylogénétique. DEBOECK.84 , 336p.

K

- Keith, A. et Seifert, D. Se. (2001). Systématique of fungal plant disease . (www. BS Spp. Org.uk).
- Koudri ,D .,Laraba, I. 2014.Complexe fongique pourriture racinaire et fusariose de l'épi du blé : Etude de l'influence des variétés du blé sur la protection contre la fusariose par *Trichoderma atroviride* P. Karsten. p35.

L

- **Lacroix, M. (2008)** . Guide d'identification des maladies des céréales. Le bulletin des agriculteurs. 47 p.
- Leslie, J. et Summerell, B. (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual. Firste edition, Blackwell Publishing. 387 pp.
- **Lori, G.A., Sisterna, M.N., Sarando, S.J., Rizzo, I. et Chidichimo, H. (2009)**. Fusarium head blight in wheat: Impact of tillage and other agronomic practices under natural infection. Crop Protection 28 : 495–502.
- Loussert, R. (1989). Les agrumes : arboriculture. France : cedex. 57p.
- Lutge, U., Kluge, M et Bauer, G. (2002). Botanique 3^{ème} Ed : Technique et documentation. Lavoisier. Paris : 211p.

M

- **Ma, J., Yan, G. J. et Liu, C. J. (2012)** .Development of near-isogenic lines for a major QTL on 3BL conferring *Fusarium* crown rot resistance in hexaploid wheat. Euphytica 183 : 147–152.
- Macheix.J., Fleuriet, A et Jay-Allemand.C. Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques. 192p.
- MADR, (2009).Statistiques agricoles, série B. Ministère de l'Agriculture et du Développement rural.
- Mauler-Machnik, A. et Suty, A.(1997). New finding of the epidemiology, importance and control of Fusarium ear blight on wheat. Cereal Res. Commun. 25 : 705-711.
- Molinié, A., Faucet, V., Castegnaro, M. & Pfohl-Leszkowicz, A., (2005). Analysis of some breakfast cereals collected on the French market for their content in OTA, Citrinin and Fumonisin B1. Development of a new method for simultaneous extraction of OTA and Citrinin. Food chemistry 92, 391-400.
- Motiéjunaitė O. et Peiculytė D. (2004). Fungicidal properties of *Pinus sylvestris* L. for improvement of air quality. Medicina (Kaunas) 40(4), 787-794.
- Mouellef, (2010). Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*Triticum durum* Desf.) au stress hydrique. P 1.

N

- Nabors, M. (2009). Biologie végétale, structure, fonctionnements, écologie et biotechnologies. Paris : nouveaux horizons. 614p.

O

- Ortuno, A., Baidez. A., Gomez, P et al.(2006). *Citrus paradisi* and *Citrus siensis* flavonoids : Their influence in the defence mechanism against *penicillium digitatum*: Food Chemistry. 351, 358p.

P

- Pageau D., Fillion P. (2009). Fusariose : réduire les risques aux champs!présentation lors de la journée d'information sur les mycotoxines. (En ligne) ([www. Journeemycotoxines . com/client/myco%ZO-%20 Pageau- Fillion. Pdf](http://www.Journeemycotoxines.com/client/myco%ZO-%20Pageau-Fillion.Pdf)).
- Pandey, A.K., Arora, D.K., Pandey,R.R., et Srivastava, A.K.(1996). Integrated control of *Fusarium* wilt of chickpea by solar heating of soil amended with oilseed meals and fungicides. Indian Phytopathol. 49: 247-253.
- Parry. D., Jenkinson.P., Mcleod. L. « *Fusarium* Ear Blight (scab) in Small-Grain Cereals - a Review ». *Plant Pathology*. avril 1995. Vol. 44, n°2, p. 207-238.
- Pirgozliev S. R., Edwards S. G., Hare M. C., Jenkinson P.(2003). « Strategies for the control of *Fusarium* head blight in cereals ». *European journal of plant pathology. Workshop of the EU COST Action 835 Agriculturally Important Toxigenic Fungi*. Springer. p. 731-742.

R

- Ren R. Yang X. Ray R V.(2015). Comparative aggressiveness of *Microdochium nivale* and *M. majus* and evaluation of screening method for *Fusarium* seedling blight resistance in wheat cultivars. EUR J Plant Pathol 141:281–294.

S

- Salhi, (2012): Allelochemicals from some medicinal and aromatic plants and their potential use as bioherbicides. P 39
- Schilling. A.G., Moller, E.M., et Geiger, H.H., (1996). Polymerase chains reaction based assays for species specific detection of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, and *F.avenaceum*. *Phytopathology* 86 :515-522p.
- Sral Auvergne. (2010). Expérimentation végétale : les expérimentations concernant la santé publique. rapport d'activité internet : lutter contre la fusariose du blé.
- Summerell, B. A., Burgess, L. W., Backhouse, D., Bullock, S. et Swan, L. J.(2001). Natural occurrence of perithecia of *Gibberella coronicola* on wheat plants with crown rot in Australia. *Australas Plant Pathol.* 30: 353–356
- Suty, L. (2010). La lutte biologique vers de nouveaux équilibres écologiques. Ed. Educagri. Pp. 44-45.

T

- Talas, F., Kalih, R. et Miedaner, T.(2012) . Within-Field Variation of *Fusarium graminearum* Isolates for Aggressiveness and Deoxynivalenol Production in Wheat Head Blight. *Phytopathology* 102: 128-134.
- Thanaboripat, Nontabenjawan, Leesin, Teerapiannont, Sukchareon & Ruangrattanamatee, (1997): Inhibitory effects of garlic, clove and carrot on growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. *Journal of Forestry Research* 8, 39–42.
- Toussoun, T. A. et Nelson, P. E. (1976). A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species. Second Ed. The Pennsylvania State University Press, University Park and London. 43p.

V

- Vachon1 .É, Vanasse . A, Rioux .S, Dion .Y, Gauthier. A et Despérier Roux. J. (2011) Lutte biologique à la fusariose de l'épi du blé par culture intercalaire et usage d'agent biologique de contrôle 2010-2011 No de projet : 09-INNO1-23

W

- West, J.S., Holdgate, S., Townsend, J.A., Edwards, S.G., Jennings, P. et Fitt Bruce D.L., (2011). Impacts of changing climate and agronomic factors on *Fusarium* ear blight of wheat in the UK. *Fungal ecology* xxx: 1-9.

Z

- Zia-Ur-Rahman., (2006). Storage effect on nutritional quality of commonly consumed cereals. *Food Chemistry* 95, 53-57.

ANNEXES

Annexe 01



Etuve



La hotte



Microscope optique



Autoclave



Les pots de dispositif

Annexe 2

Tableau n°03 : Matériel et produits de laboratoire

Verreries et petits matériels	Appareils	Produits
Boîte de pétrie	Balance	Eau distillée
Erlenmeyer	Broyeur	Milieu Malt
Eprouvette graduée	Réfrigérateur	Lactophynole
Flacon en verre	La hotte	
Entonnoir	Etuve	
Bécher	Autoclave	
Pissette		
Papier filtre		
Tubes à essai		
Glacière		
Papier aluminium		

Tableau 04: Composition du milieu de culture (Malt) .

Extrait Malt	20 g
Agar	10g
Eau distillée	1000 ml
Autoclavage	120°c/20mn

Tableau 05: Composition du milieu de culture (PDA) .

Pommes de terre	200 g
Agar	10g
Eau distillée	1000 ml
Glucose	20g
Autoclavage	120°c/20mn

Tableau 06 : Analyse de la variance du diamètre moyen des colonies du *Fusarium tricinctum*

Facteurs	Somme des carrés	ddl	Carr moyenne	F	P
Temps	11909.789	5	2381.958	406.789	0.000
Dose d'Eq	21645.289	4	5411.322	924.135	0.000
temps*dose d'Eq	6014.711	20	300.736	51.359	0.000

* $P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,01$, *** $P \leq 0,001$: Respectivement significative, hautement significative et très hautement significative ; $P > 0,05$: non significative (MOUELLEF, 2010).

Tableau 07 : la Vitesse de la croissance mycélienne du *Fusarium tricinctum*

Concentration d'extrait aqueux (%)	Vitesse de croissance (mm/h)
0%	0.95mm/h
20%	0.47mm/h
30%	0.4mm/h
40%	0.31mm/h
50%	0mm/h

Tableau 08 : Le taux d'inhibition

Concentration Eq	Taux d'inhibition
20%	51.76
30%	57.64
40%	67.5
50%	100

Résume

Notre travail porte sur l'étude *in vitro* et *in vivo* de l'effet fongicide d'extrait aqueux de la poudre des pépins du *Citrus paradisi* sur le *Fusarium tricinctum* du *Triticum durum*. L'extraction d'extraits aqueux de la poudre des pépins de pomélo a été réalisée par la méthode de macération. Les résultats *in vitro* montrent que notre extrait possède une forte activité inhibitrice à la dose de 20%, 30% et 40% avec un taux d'inhibition de 51,76% , 57,64% et 67,5% respectivement et un très forte activité antifongique à la dose de 50%. *In vivo* l'effet antifongique est faible par rapport à l'essai *in vitro*.

Mots clés: *Citrus paradisi*, *Fusarium tricinctum*, Effet fongicide, extrait aqueux, taux d'inhibition, activité inhibitrice.

Summary

Our work focuses on the study *in vitro* and *in vivo* aqueous extract fungicidal effect of the powder of seeds of *Citrus paradisi* of *Fusarium tricinctum* of *Triticum durum* . Extraction of aqueous extracts of the powder of grapefruit seed was carried out by maceration method. In vitro results show that our extract has a strong inhibitory activity at the dose of 20%, 30 % and 40 % with an inhibition rate 51.76 % , 57.64 % and 67.5 % respectively and a very strong antifungal activity at a dose of 50%. In vivo antifungal effect is small contribution to the in vitro test.

Keywords: *Citrus paradisi* , *Fusarium tricinctum* , fungicidal effect , aqueous extract of inhibition , inhibitory activity.

ملخص

يركز عملنا على دراسة مخبرية ، للتأثير التضادي السمي للمستخلص المائي من مسحوق بذور *Citrus paradisi* على *Fusarium tricinctum* الذي يصيب القمح القاسي . أجري استخراج المستخلص المائي ل مسحوق بذور *Citrus paradisi* عن طريق النقع . في المختبر أظهرت النتائج أن المستخلص لديه نشاط كايح قوي على جرعة من 20 %، 30 % و 40 % مع معدل تثبيط 51,76 % ، 57.64 % و 67.5 % على التوالي ، و نشاط مضاد قوي جدا عند استعمال جرعة مقدارها 50 % . في الواقع التأثير التضادي هو مساهمة صغيرة مقارنة مع المختبر .

الكلمات الدالة : *Citrus paradisi* , *Fusarium tricinctum* , التأثير التضادي ، المستخلص المائي , تثبيط والنشاط المثبط .