



DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Dahlab Ali Souhil et Sliman Ghzyel

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité: PROTECTION DES CULTURES

THÈME

**ETUDE *IN VITRO* ET *IN VIVO* DES
POTENTIALITES BIO-PESTICIDES DE
L'EXTRAIT DE *CITRUS AURANTIUM AMARA***

Soutenu publiquement le 08/06/2016

Devant les Jury

Président	Dr BOUALEM Malika	MCB U. Mostaganem
Examinatrice	Dr SAIAH Farida	MCB U. Mostaganem
Promotrice	Dr BENOURED Fouzia	MCB U. Mostaganem

*Thème réalisé au Laboratoire de protection des végétaux
D'Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem*

Année universitaire 2015/2016



En préambule à ce modeste travail nous remercions ALLAH le tout puissant et miséricordieux qui nous a aidé et nous a doté de patience et de courage durant ces longues années d'étude.

En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur, BENOURAD FOUZIA, pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'elle trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Mesdames SAIAH FARIDA et Mme BOUALLEM Malika pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous remercions aussi l'ensemble des travailleurs de la ferme expérimentale de l'université de Mostaganem à leur tête Mr AZZEDINE pour leur aide.

Nous souhaitons remercier notre amie OTHMANE Cherif G., avec qui on a partagé tous le travail expérimental, sans oublier BACHIR BEYK, pour ces conseils, son aide et son encouragement durant la période du travail, et n'oublier pas Nabil le technicien de laboratoire de Protection Des Cultures qui a aidé pendant la durée du stage.

A tous mes professeurs et enseignants du département d'agronomie de Mostaganem qui ont contribué à notre formation et plus spécialement ceux de la spécialité protection des cultures.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire. Merci à tous et à toutes.

Dahlab A.S et Sliman G

Liste des Figures

Figure (01) : les déférentes parties de fève	3.
Figure (02) : Clé d'identification de la morphologie des espèces de pucerons	14.
Figure (03) : La forme aptère et ailée d' <i>Aphis fabae</i>	15.
Figure (04) : Cycle biologique de puceron noir (<i>Aphis fabae</i>)	16.
Figure (05) : Pullulation d' <i>Aphis fabae</i>	18.
Figure (06) : Symptôme de jambe noire	22.
Figure (07) : Différentes organes des citrus	26.
Figure (08) : Echantillon des Feuilles de citrus séchés	29.
Figure (09) : Les cages de traitements	30.
Figure (10) : La culture fève	30.
Figure (11): Puceron noir de la fève	30.
Figure (12) : Station expérimentale de l'université de Mostaganem	31.
Figure (13) : dispositif d'extraction soxhlet	31.
Figure (12) : Station expérimentale de l'université de Mostaganem	31.
Figure (13) : dispositif d'extraction soxhlet	31.
Figure (14): dispositif d'évaporation rotatif	32.
Figure (15) : dispositif expérimentale du test	34.
Figure (16) : les pots traités avec les déférentes concentrations	35.
Figure (17): Effet des extraits de <i>citrus</i> sur croissance d' <i>Erwinia carotovora</i>	36.
Figure (18): Taux d'inhibition de différentes concentrations de l'extrait de <i>Citrus aurantium</i> sur croissance de la souche bactérienne <i>Erwinia carotovora</i>	37.
Figure (19): Effet de différentes doses de l'extrait de <i>Citrus aurantium amara</i> sur le taux de mortalité cumulé des pucerons noirs <i>Aphis fabae</i> . (<i>in vitro</i>)	38.
Figure (20) : Adultes d' <i>Aphis fabae</i> morts suites au traitement par les flavonoïdes de <i>Citrus aurantium amara</i>	39.
Figure (21): Taux de mortalité d' <i>Aphis fabae</i> traité par l'extrait de <i>citrus aurantium</i> au cours du temps <i>in vivo</i>	39.

Liste des tableaux

Tableau (01): Production en tonnes de fève	5
Tableau 02: Valeurs nutritionnelles de fève (pour 100g)	7
Résultats du test antibactérien.....	Annexe II
Les Mortalités Cumulés du puceron	Annexe III
Taux de Mortalité.....	Annexe III
Mortalités Corrigés.....	Annexe III
Les Mortalités Cumulés du puceron.....	Annexe IV
Taux de Mortalités	Annexe IV
Mortalités Corrigés	Annexe IV

Résumé

Les extraits des plantes présentent un intérêt très promoteur comme source potentielle de molécules naturelles biologiquement actives.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui porte sur la valorisation des pouvoirs biocides de l'extrait de *Citrus aurantium amara*, une plante médicinale et aromatique vis-à-vis du puceron *Aphis fabae* et la bactérie *Erwinia carotovora*. L'extraction est effectuée par la méthode Soxhlet, une sorte de macération en continu donnant un extrait très concentré et avec un rendement élevé de l'ordre de 36%.

Les résultats obtenus révèlent que la toxicité induite chez l'insecte par l'extrait de *Citrus aurantium* est très importante, une mortalité maximale observée dès le 1^{er} jour après application des traitements. En parallèle, une haute sensibilité est observée pour l'ensemble des concentrations choisies en extrait de *Citrus* sur la croissance de la bactérie *Erwinia carotovora*.

Mots-clés: *Citrus aurantium*, Soxhlet, insecticide, bactéricide, *Aphis fabae*, *Erwinia*.

Resume

Extracts of the plant have a very developed interest as a potential source of biologically active natural molecules.

It is in this context that our study focuses on the valuation of the biocidal power of *Citrus aurantium amara* extract, an herbal and aromatic vis-à-vis the aphid *Aphis fabae* and the bacterium *Erwinia carotovora*. The extraction is carried out by the Soxhlet method, a kind of maceration in continuous content giving a very concentrated extract and a high yield of around 36%.

The results show that the toxicity induced in the insect by the extract of *Citrus aurantium* is very important, a maximum mortality observed from the first day after application of treatments. In parallel, a high sensitivity is observed for all concentrations chosen in citrus extract on the growth of the bacterium *Erwinia carotovora*.

Key words: *Citrus aurantium*, Soxhlet, insecticide, bactericidal, *Aphis fabae*, *Erwinia*.

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction générale

Partie bibliographique

Chapitre I : généralité sur la fève *vicia fabae*

1. Généralités	1.
2. Origine et répartition géographique	1.
3. Variétés de la fève	1.
3.1. Principales variétés actuelles	2.
3.1.1. Variétés très précoces	2.
3.1.2. Variétés précoces	2.
3.1.3. Variétés demi-précoces	2.
3.1.4. Variétés tardives	2.
4. Classification	2.
5. Description botanique	3.
5.1. Composition chimique de la fève	4.
6. Exigences de la culture des fèves	4.
6.1. Exigences pédologiques	4.
a) Eau	4.
b) Sol	4.
6.2 Exigences climatiques	4.
a) Température	4.
b) Lumière	4.
6.3 Exigences agronomiques	5.

a) Préparation du sol	5.
b) Semis	5.
7. Production de la fève	5.
7.1. Intérêt culturaux de la fève	6.
7.1.1. Intérêt agronomiques	6.
7.1.2. La Valeur nutritionnelle	6.
8. Principales contraintes biotiques en Algérie	8.
8.1. Les virus	8.
8.2. Les Maladies cryptogamiques	8.
a) Taches chocolat (<i>Botrytis fabae</i>)	8.
b) Rouille	8.
c) Mildiou	9.
d) L'anthracnose	9.
e) Lixes poudreux des fèves (<i>Lixus algerus</i>)	9.
8.3. Sensibilité aux ravageurs	9.
8.3.1. Nématodes	9.
8.3.2. Insectes	9.
8.3.2.1. Puceron noir de la fève (<i>Aphis fabae</i>)	10.
8.3.2.2. Stone du petit pois (<i>Sitona lineatus</i>)	10.
8.3.2.3. Thrips du poids (<i>Frankliniella robusta</i>)	10.
8.3.2.4. Bruche de la fève (<i>Bruchus rufimanus</i>)	10.
9. Principales mesures de lutte contre les maladies et les ravageurs	11.

Chapitre II : Le puceron noir (*Aphis fabae*)

1. Généralité	12.
2. Systématique	12.
3. Classification	12.
4. Caractéristiques morphologiques des aphides	13.

4.1. La tête	13.
4.2. Le thorax	13.
4.3. L'abdomen	13.
4.3.1. Forme aptère	14.
4.3.2. Forme ailée	14.
5. Biologie	15.
6. Le cycle biologique	16.
7. Reproduction	17.
8. Les dégâts causés par les aphides	17.
9. Les méthodes de lutte	18.
9.1. Lutte préventive	18.
9.2. Lutte curative	18.
9.2.1. Lutte chimique	18.
9.2.2. Lutte biotechnique	19.
9.2.3. Lutte biologique	19.

Chapitre III : *Erwinia carotovora*

1. Généralité	20.
2. la pourriture molle bactérienne causée par <i>Erwinia carotovora</i>	20.
3. Les plantes hôtes	21.
4. Classification	21.
5. Dégâts occasionnés par <i>E. carotovora</i>	21.
6. Les méthodes de lutte	22.
6.1. Moyen de contrôle de la pourriture molle	22.
6.1.1. La lutte chimique	22.
6.1.2. Lutte biologique	23.

Chapitre IV : Présentation de la plante de *Citrus aurantium* L

1. Généralité de la plante	25.
----------------------------------	-----

2. Description de la plante	25.
2.1. Feuilles	25.
2.2. Fruits	25.
2.3. Fleurs	26.
3. Classification systématique	26.
4. Habitat et origine	26.
5. Utilisations	27.
6. Propriétés	28.

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et Méthodes

1. L'objectif de l'étude	29.
2. Matériels	29.
2.1. Matériel végétal	29.
2.2. Matériel animal	30.
2.3. La souche bactérienne	31.
3. Méthode d'extraction	31.
3.1. Procédé de l'Extraction (soxhlet)	31.
3.2. Rendement d'extraction	32.
4. Evaluation de l'activité bio-pesticide de l'extrait de bigaradier (<i>Citrus ariuntum</i>)	32.
4.1. Préparation des doses de l'extrait méthanoïque	32.
5. Testes d'activité de bio pesticide	33.
5.1. Méthode antibactérienne de contact directe (<i>in vitro</i>)	33.
5.1.1. Calcule le taux d'inhibition	33.
5.2. Test d'activité bio insecticide	33.
5.2.1. Conduite de l'essai (<i>in vitro</i>)	33.
5.2.2. Test d'efficacité insecticide par contact (<i>in vivo</i>)	34.

Chapitre II: Résultats et Discussion

I. Résultats	36.
I.1. Les résultat d'effet d'extrait sur la bactérie	36.
I.1.1. Le rendement de l'extraction	36.
I.1.2. Effet de l'activité antibactérienne	36.
I.1.3. Taux d'inhibition	37.
I.2. Pouvoir insecticide de l'extrait de <i>citrus aurantium amara</i> sur <i>Aphis fabae</i>	37.
I.2.1. Pouvoir insecticide <i>vitro</i>	37.
I.2.2 Pouvoir insecticide <i>in vivo</i>	39.
II. Discussion	40
Conclusion générale.....	44.
Annexes	
Références bibliographiques	

Introduction général

Depuis quelques années, les plantes aromatique commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles biologiquement actives. Cet intérêt se manifeste par une demande croissante de produits naturels bioactifs dénués de tout nocif, afin de protéger l'environnement et la santé humaine.

Les molécules naturelles font l'objet de plusieurs études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour la protection des plantes contre les agents phytopathogènes qui sont capable d'infecter les plantes cultivées et causer des dégâts économique considérable

Cette nouvelle variante de la lutte biologique basé sur l'utilisation des extraits végétaux est récemment revient en avant pour pallier les nombreuses contraintes liées à l'emploi des pesticides chimique, et avance rapidement pour renforcer la lutte biologique qui vise à contrôler les agents pathogènes par l'emploi des bio-pesticides.

De nombreuses plantes aromatiques et médicinales produisent naturellement des substances pour se protéger contre les prédateurs, et en particulier les insectes, ces substances sont des métabolites secondaires comme les alcaloïdes, flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques et les huile essentielles, ces métabolites possèdent des propriétés insecticides et antimicrobiennes très intéressantes (Suliman *et al.*, 2003).

C'est dans cette optique que ce travail vise à étudier les potentialités pesticides de l'extrait de *Citrus aurantium* ; dont le pouvoir antimicrobien *in vitro* vis-à-vis la souche *Erwinia carotovora* et le pouvoir insecticide *in vitro* et *in vivo* sur le puceron noir de la fève.

1. Généralités

Les fèves sont des plantes annuelles légumineuses de la famille des *Fabaceae*, sous-famille des *Faboideae*, tribu des *Fabeae*. Comme les féverolles, les fèves cultivées ont comme origine l'espèce botanique *Vicia faba*. Originnaire d'Asie Centrale cultivait il y a près de 10.000 ans. Elle se répandra ensuite à tout l'hémisphère nord (Zaidi et Mahiout, 2012), elle s'accommode à tous les types de sols (Huignard et al. 2011).

On la cultive pour ses graines comestibles, tout particulièrement en Russie où elle constitue un mets traditionnel. Au Québec, elle fait partie de la cuisine traditionnelle, notamment une variété de fèves nommée « *gourgane* ». Le terme désigne aussi la graine qui, consommée à l'état frais ou sec, est l'un des légumes les plus anciennement cultivés.

2. Origine et répartition géographique

La fève est une plante cultivée par l'homme depuis le néolithique (7000 ans avant J.C) (Mathon ,1985), rapporte que la fève ; le pois et lentille sont les plus vieilles espèces légumières introduites en agriculture.

3. Variétés de la fève

Il existe plusieurs sous espèces et variétés de *Vicia faba* dont on reconnaît essentiellement trois groupes définis par la taille des graines, qui peuvent être :

- ✓ *Vicia faba minor* a petites graines correspond au terme «féverole», ce sont des graines de 0,5 à 1,5 cm de long (Atik, (1999) Picard, (1976), Crofts et al, (1980) ; Caberera et Martein ,1986) rappellent qu'au sein de la variété *minor*, il existe une grande diversité de coloration de fleurs, qui peuvent être totalement blanches
- ✓ *Vicia faba equina* : à graines moyennes.
- ✓ *Vicia faba major* à grosses graines que l'on appelle communément «fève» dont la longueur est supérieure à 2 cm.

3.1. Principales variétés actuelles

D'après Chaux et Foury (1994), quatre groupes sont distingués:

3.1.1. Variétés très précoces

On rencontre dans ce groupe le type muchaniel dont les gousses vert clair contiennent 05 à 06 grains blancs.

3.1.2. Variétés précoces

On rencontre dans ce groupe la variété Séville à gousses longues, renfermant 05 à 06 grains, plus volumineux que ceux des types précédents. La plante est de hauteur moyenne (70 cm).

3.1.3. Variétés demi-précoces

Les variétés demi-précoces appartiennent au type fève d'Aguadulce et sont très répandues en culture à végétation haute (1,10 à 1,20 m). Elles ont des gousses vertes, volumineuses et très longues pouvant atteindre 20 à 25 cm, contenant 07 à 09 grains. C'est une variété très reproductrice.

3.1.4. Variétés tardives

Elles ont une hauteur moyenne de 85 cm, elles produisent de nombreuses gousses contenant 04 graines assez fines.

4. Classification

Selon Dajoz (2000) la taxonomie de la fève est comme suite :

- **Embranchement** :Spermaphytes.
- **Classe** :Dicotylédones.
- **Ordre** :Rosales.
- **Famille** :Fabacées(Légumineuses).
- **Sous-famille** :Papilionacées.
- **Genre** :*Vicia*.
- **Espèce** : *Vicia faba* L.

5. Description botanique

Ce sont des plantes herbacées robustes, pouvant dépasser 1 mètre. Selon Maoui et *al.* (1990), la fève possède des inflorescences en grappe de 4 à 5 fleurs en moyenne, situées à l'aisselle des feuilles. Les fleurs sont de couleur blanche ou faiblement violacée (Chaux et Foury, 1994).

Les fruits sont des gousses pendantes noircissant à la maturité (Laumonier, 1979). Les graines sont charnues, elle développe un tégument épais et coriace de couleur brun à blanc verdâtre et prend une forme aplatie à couleur presque circulaire (Chaux et Foury, 1994) (Fig1).

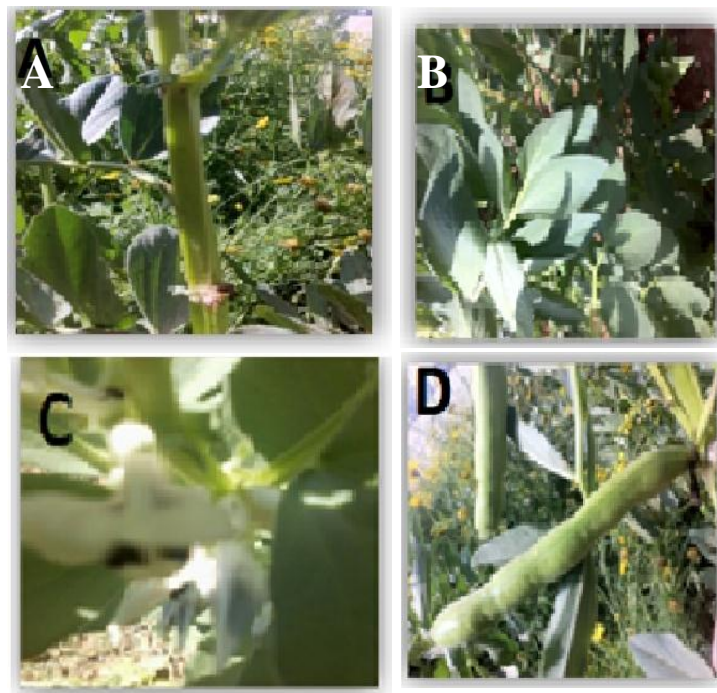


Figure (01) : les différentes parties de fève : **A** : tige ; **B** : feuilles ; **C** : fleurs et **D** : gousses, (Originale, 2016).

La fève occupe la cinquième place parmi les légumineuses alimentaires avec une superficie de 3.2millions d'hectares pour une production de 4.2millions de tonnes .représente à elle seule 50% de la production mondiale des légumineuses (Robertson et Sherbeeney, 1988).

5.1. Composition chimique de la fève

La valeur nutritive de fève a été traditionnellement attribuée à un contenu à haute valeur protéique, qui varie de 25 à 35% malgré le déséquilibre en acides aminés de soufre.

La plupart de ces protéines sont les globulines (60%), les albumines (20%), la glutiline (15%) et les prolalines. C'est aussi une bonne source de sucre, minéraux et vitamines. Ainsi, l'analyse chimique de cette légumineuse révèle un taux de 50 à 60% de teneur en hydrate de carbone (Larralde et Martinez, 1991).

6. Exigences de la culture des fèves

6.1. Exigences pédologiques

a) Eau

L'espèce est très exigeante en humidité du sol surtout pendant les périodes initiales de son développement. Les phases de floraison et développement des gousses présentent une sensibilité élevée vis-à-vis d'un stress hydrique, raison pour laquelle il faut intervenir par arrosage ou irrigation en cas de faibles précipitations (Chaux et Foury, 1994).

b) Sol

Selon Chaux et Foury (1994), la fève ne présente pas d'exigence spécifique à l'égard de la nature des sols. Cependant, la préférence est donnée au sol sablo-argileux humide (PERON, 2006), et un pH neutre à légèrement alcalin (PH 7-8,3).

6.2 Exigences climatiques

a) Température

La fève supporte les faibles gelées ne dépassant pas -3°C . Comme le pois, les fortes chaleurs (au-dessus de $22-25^{\circ}\text{C}$ de moyenne journalière) lui sont néfastes (arrêt de croissance) et peuvent même anéantir complètement la végétation (Chaux et Foury, 1994).

b) Lumière

D'après Laumonier (1979), la fève se comporte comme une plante de jour long qui se traduit par une exigence importante en luminosité.

6.3 Exigences agronomiques

a) Préparation du sol

Afin d'assurer à la plante une bonne autonomie vis-à-vis de ses besoins en eau, et en raison de son enracinement pivotant, un labour profond est conseillé (Chaux et Foury, 1994).

b) Semis

Selon Laumonier (1979), le semis dépend des régions et des variétés, il peut s'effectuer à partir du mois d'Octobre jusqu'à la fin du mois de Février et début du mois de Mars. En Algérie, le semis est réalisé au mois de Novembre afin d'éviter la sécheresse printanière et le développement de l'orobanche.

7. Production de la fève

La récolte mondiale de fèves en 2005 s'élève à 4.75 millions de tonnes (FAO 2002) dont 1,02 million de tonnes de fèves vertes et 3,73 millions de tonnes de fèves sèches (Tableau 01):

Tableau (01): Production en tonnes de fève (FAO Stat, 2002).

Les pays	Fèves vertes		Fèves sèches	
	Quantité (tonnes)	Pourcentage	Quantité (tonnes)	Pourcentage
Russie	564000.00	45%	500000.00	43%
Espagne	131500.00	11%	145100.00	12%
Turquie	124000.00	10%	124000.00	11%
Ukraine	131700.00	11%	98000.00	8%
Mexique	92000.00	7%	92000.00	8%
Ethiopie	83000.00	7%	83000.00	7%
Syrie	33000.00	3%	33000.00	3%
Série et Monténégro	24000.00	2%	25000.00	2%
Lituanie	15000.00	1%	15000.00	1%
Italie	7000.00	1%	8000.00	1%
Autres pays	40239.00	3%	74661.00	4%

7.1. Intérêt cultureaux de la fève

7.1.1. Intérêt agronomiques

V. faba comme toutes la légumineuses alimentaires contribue à l'enrichissement du sol en éléments fertilisants, dont l'incidence est positive sur les performances des culture qui les suivent, notamment le blé (khaldi et *al.* ,2002)

En plus de son intérêt nutritionnel elle est introduite en rotation avec les céréales ,ou elle joue un role non négligeable dans l'enrichissement des sols en azote (Rachef et *al.* ,2005)

Selon Hamadache (2003), la fève améliore aussi sa culture par son système racinaire puissant et dense .Les résidus des récoltes enrichissent le sol en matières organiques.

7.1.2. La Valeur nutritionnelle

L'utilisation de la fève est principalement orienté vers la consommation humaine .Elle est consommée en forte quantité, en gousse fraîche, tôt dans la saison, et également sous forme de grains secs ; la fève grain est aussi incorporée dans l'alimentation du bétail (Maatougui et Merzoug ,1996).

C'est un légume riche en protéines , une portion de 150g de fève fournit plus de 8g de protéines ,soit 10 à 13%de l'apport recommandé pour la journée , riche que ca en calorie (60cal pour 100grammes), riche en vitamine C(Tableau 02), le meilleur moyen pour pouvoir bénéficier de sa richesse en vitamine C est de la consommer crue.

La fève fraîche est relativement riche en matière sèche (18% à l'état cru, contre 6 à 12 ans la plupart des légumes frais) et notamment en glucides, en protides et en fibre.

Tableau 02: Valeurs nutritionnelles de fève (pour 100g)

Composition	Quantité
Energie	64 Kcal
Eau	82 g
Protéines	5,4 g
Glucides	10 g
Lipides	0,3 g
Fibres	6,5 g
Potassium	210 mg
Magnesium	18 mg
Phosphore	105 mg
Calcium	24 mg
Fer	1 mg
Vitamine B1	0,3 mg
Vitamine B2	0,2 mg
Vitamine C	28 mg
Sodium	4mg
Soufre	27mg
Carotènes	0.1mg

8. Principales contraintes biotiques en Algérie

La fève (*Vicia faba*) est la principale légumineuse alimentaire cultivée en Algérie (INRA, 2007). Elle constitue une importante ressource socio-économique, mais cette espèce est soumise à plusieurs maladies et ravageurs parmi lesquelles nous pouvons citer : les insectes, les nématodes etc... qui constituent des contraintes majeures pour son amélioration, son développement et la stabilité de la production.

8.1. Les virus

Un grand nombre de maladies à virus est rencontré sur la fève. Ces virus sont pour la plupart disséminés dans les cultures par les insectes vecteurs (pucerons, coleoptères) ou par la semence.

En Algérie, il a été mis en évidence sur la culture de la fève, l'existence de huit virus dont quatre sont classés parmi les plus importants (BBMV, BVMV, BLRV, AMV) (Bousalem, 1988).

8.2. Les Maladies cryptogamiques

Parmi les maladies fongiques qui peuvent attaquer la fève nous pouvons citer :

a) Taches chocolat (*Botrytis fabae*)

Les études menées durant ces dernières années en Algérie ont montré que *B.fabae* et *B.cinerea* causent des symptômes similaires sur leur plante hôte; la fève (Bouznad et al. 2011). C'est un champignon nécrotrophe et la principale cause de la maladie des taches chocolat de la fève dans le champ, où le champignon forme des lésions brun foncé (Cole et al, 1998).

b) Rouille

Causée par *Uromyces viciae-fabae*, la rouille est une maladie grave à la fève avec des attaques sévères au Moyen-Orient et Afrique Orientale, elle atteint jusqu'à 70% des cultures. Selon Messiaen et al. (1991), la rouille conduit à l'affaiblissement des plantes et à la diminution du nombre et du remplissage des gousses, à des dessèchements prématurés dans les cas les plus graves, qui peuvent être provoqués par un assez grand nombre de champignons.

c) Mildiou

Les agents responsables sont *Peronospora fabae* et *Peronospora viciae* suite aux attaques précoces sur les plantes jeunes, le mildiou entraîne le nanisme et la déformation de la tige et des feuilles (Chaux et Foury, 1994). Les attaques tardives montrent la formation d'un feutrage gris à la face inférieure des folioles (Stoddard et *al.* 2010).

d) L'antracnose

L'antracnose est causée par *Ascohyta fabae*. Planquaert et Girard (1987) rapportent que cette maladie se manifeste par la formation des taches brunes sur l'épiderme des gousses, sur les feuilles et sur les tiges. Les graines sont ensuite contaminées en provoquant l'éclatement des gousses.

e) Lixe poudreux des fèves (*Lixux algerus*)

Ce champignon curculionidé provoque l'affaiblissement de la plantes, réduction du poids moyen des graines ainsi que le dessèchement précoce et diminution du rendement (Maoui et *al.*, 1990).

8.3. Sensibilité aux ravageurs**8.3.1. Nématodes**

Les parcelles de la fève et de féverole présentent des attaques de nématodes par *Ditylenchus dipsaci* communément appelé nématode des tiges. Ils constituent un sérieux problème sur les tiges de fève en Algérie (Sellami et Bousnina, 1996). Ils provoquent le gonflement et la déformation de la tige, avec la décoloration des différentes parties de la plante (Abbas Andaloussi, 2001). Les plantes sont aussi chétives (croissance terminale stoppée), tordues et épaisses (Arvalis et UNIP, 2012).

8.3.2. Insectes

La fève est sujette à des attaques de plusieurs espèces d'insectes parmi lesquels nous citerons : Puceron noir de la fève (*Aphis fabae*) Le puceron noir est le principal ravageur de la fève. Cette espèce forme des colonies en manchon autour des tiges. Il est à l'origine de pertes importantes de rendement.

En présence de grandes colonies, les feuilles se recroquevillent sous l'effet des ponctions de sève, la croissance est altérée et la toxicité de la salive peut faire avorter les fleurs et l'éclatement des gousses fortement attaquées (Didier et Guyot, 2012).

Ce puceron est aussi le vecteur de maladies à virus, il peut transmettre plus de 30 virus pathogènes (Blackman et Eastop, 2007).

8.3.2.1. Puceron noir de la fève (*Aphis fabae*)

C'est un puceron piqueur suceur, il vit en colonies compactes, à l'extrémité des plantes de fève. Il provoque l'enroulement, le dessèchement et la chute des feuilles.

Il attaque en colonies les nouvelles pousses et les jeunes feuilles, et même les gousses. s'il n'est pas traité rapidement il cause de graves chutes de rendement, à cause de dessèchement qu'il provoque en suçant la sève (Blackman et Eastop, 2007).

8.3.2.2. Stone du petit pois (*Sitona lineatus*)

Est un charançon de 3,5 à 5 mm de long de couleur brun-rougeâtre. Les adultes dévorent les feuilles (encoches) sans grande incidence. Les larves de cet insecte consomment les nodosités, ce qui perturbe l'alimentation azotée (Aversenq et al, 2008).

8.3.2.3. Thrips du pois (*Frankliniella robusta*)

Les thrips sont de minuscules insectes parasites de nombreuses plantes. Ils provoquent rarement la mort du végétal, les dommages sont d'ordre esthétique, et ils peuvent nuire à la qualité des récoltes. Les plantes touchées présentent des feuilles gaufrées avec des taches jaunes ou brunes. Elles développent de nombreuses ramifications et restent naines et sans gousses (Arvalis et Unip, 2013).

8.3.2.4. Bruche de la fève (*Bruchus rufimanus*)

L'adulte de couleur noirâtre mesure 3.5 à 5 mm les œufs sont jaunes verdâtre, long de 0.6 mm environ. La femelle pond sur les gousses et les larves de ce Coléoptère se développent aux dépens des graines qui perdent leur pouvoir germinatif et leur poids (Boughdad, 1994).

9. Principales mesures de lutte contre les maladies et les ravageurs

D'après Chaux et Foury (2004), les principales mesures de lutte sont :

- ✓ Ne semer que des graines traitées, notamment contre l'antracnose et le Mildiou ;
- ✓ Ne pas semer à densité excessive.
- ✓ Surveiller l'apparition des premiers symptômes de maladies du feuillage et engager une lutte précoce.
- ✓ Maitriser le développement du puceron noir de la fève, notamment sur les cultures de printemps, par une lutte aphicide précoce.
- ✓ Utiliser des bouillies très mouillantes. En période de floraison : choisir des produits inoffensifs sur insectes butineurs traité de préférence le soir.

1. Généralité

Les denrées alimentaires sont habituellement attaquées par les insectes au cours de leur entreposage. Depuis le début de la civilisation humaine; les paysans pratiquaient des techniques traditionnelles en ajoutant aux denrées les produits locaux tels que les minéraux, les huiles, les feuilles ou extraits de plante pour leur protection contre les infestations multiples depuis des siècles (Regnault-Roger et al, 2008).

Les insectes des denrées stockées peuvent causer des pertes importantes en réduisant la qualité et/ou la quantité des produits stockés. D'après la FAO (organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture) les pertes dues aux insectes nuisibles correspondent à 35% de la production agricole mondiale (Hulle et al, 1999).

Les pucerons infestent, la plupart des plantes cultivées, et constituent un des groupes d'insectes les plus nuisibles en régions tempérées. Les dégâts sont causés par des toxicoses ou des affaiblissements de l'hôte. Les pucerons sont les principaux vecteurs de virus végétaux. Leur contrôle chimique pose souvent des problèmes du fait qu'ils se fixent généralement à la face inférieure des feuilles et qu'ils sont difficiles à atteindre par les traitements, en plus les cas de résistance aux produits chimiques sont de plus en plus fréquents. (Tanya, 2002).

2. Systématique

Les aphides ou pucerons sont classés dans le Super-ordre des Hémiptéroïdes appartiennent à l'ordre des Homoptera au sous-ordre des Aphidinea, et à la Super-famille des Aphidoidea (Fraval., 2006). La famille des Aphididae est divisée en trois sous-familles, celle des Blatichaitophorinae, des Pterocommatinae et des Aphidinae. Les espèces de cette dernière sont réparties entre deux tribus ; les Aphidini et les Macrosiphini (Ortiz-Rivas et Martínez-Torres, 2010)

3. Classification

-**Embranchement** :*Arthropode*

-**Classe** : *Insectes*

-**Ordre** : *Homoptera*

-**Famille** :*Aphididae* Remaudière et al. (1997).

4. Caractéristiques morphologiques des aphides

Les pucerons sont des insectes aux téguments mous de petite taille, mesurant entre 2 à 4mm avec un corps ovale un peu aplati. Ce dernier est partagé en trois parties bien distinctes la tête, le thorax, et l'abdomen (Tanya, 2002).

4.1. La tête

Généralement, elle est bien séparée du thorax chez les formes ailées, mais non chez les aptères; elle porte deux antennes de longueur très variable de 3 à 6 articles, insérées directement sur le front ou sur des tubercules frontaux plus ou moins proéminentes. Certains articles antennaires possèdent des organes sensoriels; leur partie distale amincie est nommée fouet ou processus terminales à l'arrière de l'œil composé (Fraval, 2006).

4.2. Le thorax

Il comprend trois segments : le prothorax, le mésothorax, et le métathorax, porte 3 paires de pattes et primitivement deux paires d'ailes. Cependant, chez la plupart des espèces des pucerons coexistent des formes adultes ailées et des formes adultes aptères, chez certaines espèces, la nervation des ailes peut être caractéristique; les ailes antérieures présentent plusieurs nervures (Hein et al 2005). Ce sont toutes des nervures simples, sauf la nervure médiane qui se manifeste chez la plupart des espèces. Selon Godin et Boivin (2002), la nervation peut être :

- ❖ Non ramifiée.
- ❖ Ramifiée, une seule fois.
- ❖ Ramifiée, deux fois.

4.3. L'abdomen

L'abdomen porte généralement dans sa partie postérieure une paire de cornicules (ou siphons) de forme et de longueur très variables, parfois pourvues d'une réticulation ou surmontées d'une collerette (Hein et al, 2005). Les cornicules manquent dans quelques genres et parfois même selon les formes dans une même espèce (Lien et Sparks, 2001). Le dernier segment abdominal (10ème) forme la queue (cauda) plus ou moins développée et de forme variable selon les espèces (Fredon, 2008).

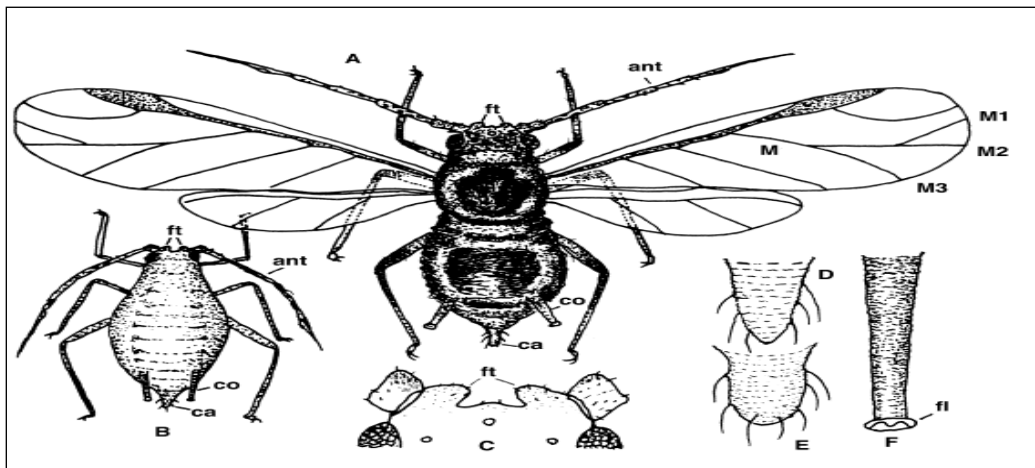


Figure (02) : Clé d'identification de la morphologie des espèces de pucerons.

A : puceron adulte ailé, **B :** puceron adulte aptère, **C :** tubercules frontaux à la base des antennes, **D, E :** cauda (queue), **F :** cornicule, **M :** veine médiane de l'aile. (INPV, 2014)

4.3.1. Forme aptère

La forme aptère du puceron noir de la fève *A. fabae* mesure environ 2 mm (Hulle *et al.* 1999). Elle est de couleur verte olive foncé à noir mat et recouverte d'une forte sécrétion cireuse blanche (Leclant, 1999). Les cornicules sont coniques nettement plus longues que la cauda. Ce dernier est digitiforme et trapu. (Leclant, 1999).

4.3.2. Forme ailée

Sa forme ailée *A. fabae* est plus allongée que l'aptere (HULLE *et al.* 1999). Elle est de couleur sombre, avec des antennes courtes et qui représentent environ les deux tiers de la longueur du corps (Hulle *et Al.* 1999). Leclant (1999), le troisième article antennaire porte un grand nombre de sensoria secondaires disposés irrégulièrement. Parfois il existe quelques sensoria sur le quatrième article antennaire.

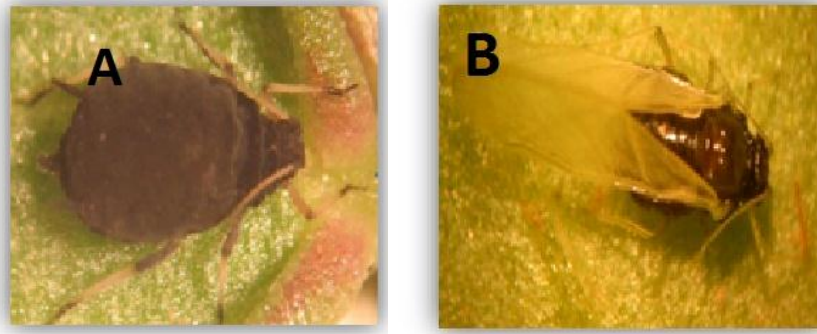
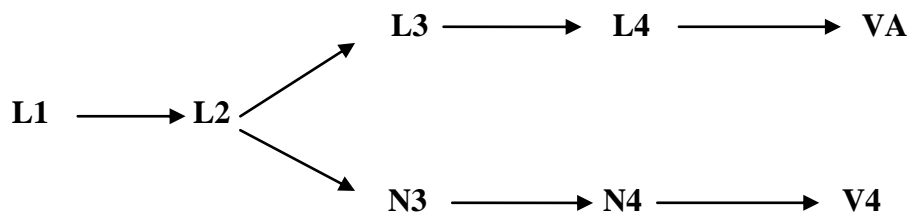


Figure (03) : La forme aptère et ailée d'*Aphis fabae* **A :** *Aphis fabae* ailé, **B :** *Aphis fabae* aptère (originale, 2016).

5. Biologie

Les pucerons sont hémimétaboles, les œufs sont minuscules à peu près sphériques. Habituellement gris foncé ou noir, mesurent environ 0.5 à 1 mm de long et sont pondus en groupe ou isolément selon les espèces (Sutherland, 2006). Les différents stades larvaires ressemblent aux adultes aptères mais de petite taille et certains caractères sont parfois moins prononcés (Fredon, 2008).

On peut schématiser le développement larvaire d'un puceron comme ci-dessous:



L1: 1^{er} stade larvaire

L2: 2^{ème} stade larvaire

L3: Virginipare

N3: 3^{ème} stade nymphale

N4: 4^{ème} stade nymphale

V4: adulte

L4 : 4^{ème} stade larvaire

VL: Virginipare ailée

VA: adulte

Le passage des pucerons par ces stades successifs en se débarrassant de l'exosquelette (Phénomène de mue) est dû à la cuticule rigide qui inhibe la croissance progressive (Dedryver, 1982).

6. Le cycle biologique

Le cycle biologique des pucerons noir est complexe. On peut résumer ce cycle complexe ainsi : œuf d'hiver fécondé subit une éclosion au printemps qui donne femelle « Fondatrices» donnant par parthénogenèse une 1^{ère} génération et aussi des jeunes Pucerons.

Appelés Virgini-pares par viviparité évoluant en aptères ou ailés (plusieurs génération en été), puis en individus sexués (sexupares) en automne dont les femelle, après accouplement, donnent les œufs d'hiver avec ou non changement d'hôte au cours de ce cycle (Lambert.L, 2005).

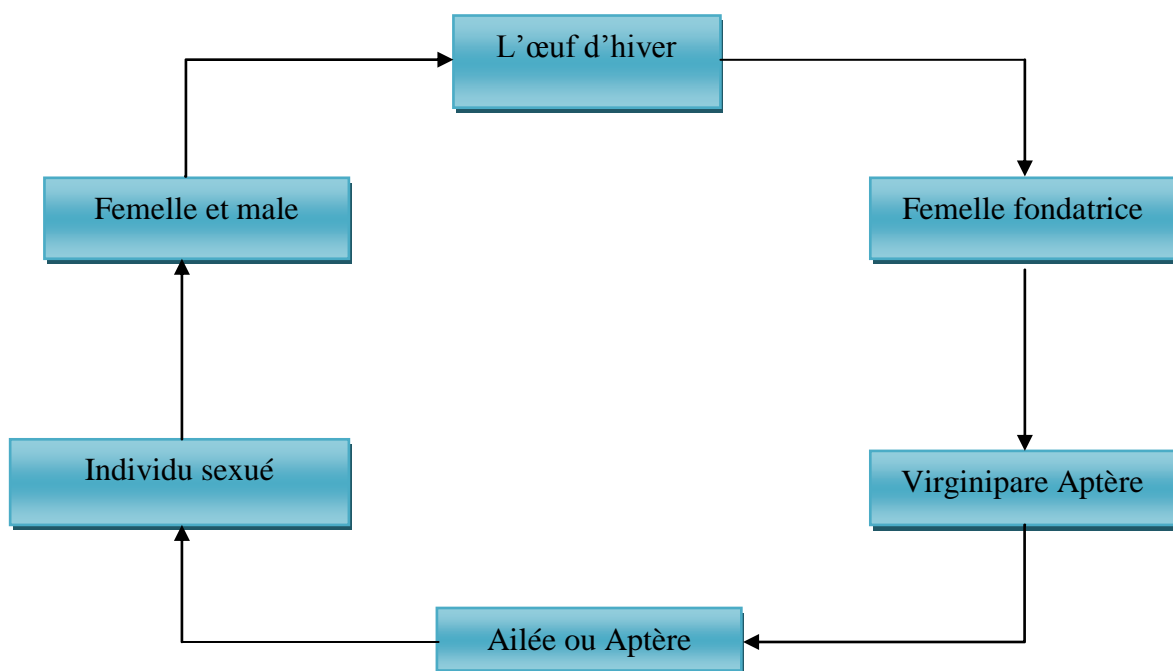


Figure (04) : Cycle biologique de puceron noir (*Aphis fabae*).

7. Reproduction

Les pucerons sont dotés d'une capacité de multiplication très élevée : 40 à 100 descendants par femelle, équivaut aux 3 à 10 pucerons par jour pendant plusieurs semaines (Anonyme ,2006). Selon Brenoit (2006) une femelle aphide est capable d'engendrer jusqu'à 30 à 70 larves comme le puceron vert du pêcher ou le puceron cendré du chou.

8. Les dégâts causés par les aphides

La présence de milliers d'individus sur une même plante ainsi que le mode de nutrition des pucerons peut causer plusieurs types de dommages chez les plantes

- L'émission de salive ou le simple fait d'enfoncer les stylets dans la plante peut être une occasion de transmission de particules virales (Sylvester, 1989).

- La salive sécrétée, entre autres lors de l'insertion des stylets, provoque fréquemment une réaction du végétal.

- les pucerons prélèvent directement dans la sève phloémienne une partie des produits de la photosynthèse, dont les acides aminés essentiels à la plante. Ces prélèvements, lors d'infestations massives par les pucerons, peuvent provoquer un arrêt de la croissance de la plante (Miles, 1989).

- Les produits non assimilés ou transformés par l'insecte forment le miellat rejeté par l'anus sur la plante. Ce miellat non toxique en lui-même, peut, soit agir directement en occultant les stomates, soit, lorsqu'il est trop abondant, provoquer à la surface des feuilles un effet osmotique de nature à créer un appel d'eau à travers la membrane semi-perméable constituée par l'épiderme de la feuille. L'eau ainsi soutirée de la plante s'évapore très facilement, et le miellat agit alors comme un drain dessicant très actif, rapidement mortel dans des conditions favorisant l'évaporation (Comeau, 1992).

- Les pucerons peuvent favoriser la prolifération de maladies fongiques, soit en transportant des spores (Huang et *al*, 1981), soit en occasionnant une plus forte capture de spores lorsque la plante devient gluante de miellat (Comeau, 1992).

- Enfin, le miellat constitue un milieu riche pour le développement de champignons saprophytes qui noircissent notamment les parties consommables des plantes. Ce noircissement créé par les spores des champignons est appelé fumagine et rend impropre la commercialisation des fruits (Multigner, 2005).



Figure (05) : Pullulation d'*Aphis fabae* (Originale ,2016).

9. Les méthodes de lutte

Le niveau des populations de pucerons dans les cultures est extrêmement variable d'une Année à l'autre et évoluer très rapidement au sein d'une même culture .Il dépend des capacités reproductives propres aux différentes espèces mais aussi des nombreux facteurs, ce qui explique les différences rencontrées dans les tentatives de modélisation de leur influence sur le développement des populations de pucerons (Hulle et *al*, 1999).

9.1. Lutte préventive

Elle se base sur les différentes pratiques culturales et l'entretien de la culture car l'enfouissement pendant l'hiver des plantes ayant reçu des œufs d'hiver ainsi que la destruction par des hersages ou sarclages des plantes sauvages susceptibles d'héberger des espèces nuisibles aux plantes cultivées au début du printemps (Wang et *al*. 2000; Lambert, 2005).

9.2. Lutte curative

9.2.1. Lutte chimique

Pour réduire les dégâts d'insectes, l'utilisation des pesticides reste le moyen le plus largement utilisé et le plus efficace aujourd'hui (Ferrero, 2009). Selon Hulle et *al* (1999), les principes de la lutte chimique sont: L'empêchement d'acquisition du virus lors de piqûres. Le choix des produits: ils doivent être avant tout sélectifs afin de préserver la faune utile. Ces produits doivent aussi être dotés d'un effet de choc élevé, et d'une bonne rémanence, en plus ils doivent appartenir à des familles chimiques différentes afin d'éviter ou de retarder le

phénomène de résistance. Il est de préférence que le choix porte sur des produits systémiques qui touchent même les pucerons protégés par l'enroulement des feuilles.

9.2.2. Lutte biotechnique

Ce moyen de lutte est basé sur le comportement de certains insectes qui sont attirés par différents attractifs visuels (couleur) ou olfactifs (aliments, phéromones). Ces couleurs et ces substances peuvent être utilisés pour le piégeage de masse, le piégeage d'avertissement ou des traitements par tâches (Ryckewaert et Fabre, 2001).

9.2.3. Lutte biologique

Des études ont été réalisées pour une meilleure compréhension des facteurs qui agissent sur les populations du puceron, ont démontré que les prédateurs, les parasitoïdes et les entomopathogènes ont la capacité de maintenir les pucerons à de faibles densités (Ragsdale et al, 2011).

La plupart des champignons entomopathogènes appartiennent au groupe des *Deutéromycètes* (ou champignons imparfait). Dans ce groupe, on trouve des genres connus : *Penicillium*, *Fusarium*, et *Aspergillus*, *Beauveria*, *Metarhizium* et *Nomurea* qui sont couramment utilisés en lutte biologique (Ludie suty, 2010).

1. Généralité

Parmi les pathogènes et les ravageurs qui affectent la pomme de terre, les bactéries sont responsables de dégâts potentiellement importants. Parmi ces bactéries les *Erwinia*, ce sont des parasites de qualité qui provoque les symptômes de jambe noire, de pourritures molles; ces derniers sont causés par l'espèce *Erwinia carotovora* spp.

2. la pourriture molle bactérienne causée par *Erwinia carotovora*

La pourriture molle est principalement causée par les bactéries *Erwinia carotovora* spp. (Bergey et al 1994). Cette maladie est rencontrée dans presque toutes les régions productrices de la pomme de terre. *Erwinia carotovora* peut attaquer les feuilles, les tiges et les organes charnus chez plusieurs espèces végétales appartenant à des familles botaniques diverses.

C'est la plus importante maladie bactérienne de la pomme de terre à l'échelle mondiale, et les pertes économique qui lui sont reliées peuvent être particulièrement importantes (De Boer ,1994 ; Sharga et Lyon ,1998).la maladie peut se propager en entrepôt à partir de quelques tubercules infectés au champ (Ranganna et al., 1997 ; Stevenson et al.,2001). Les semences et les soles infectés sont une importante source d'inoculum, et la propagation de l'infection au champ est facilitée par les eaux d'irrigation et de pluie .la dissémination en entrepôt est de son côté assurée par le suintement de tubercules pourris et par les insectes (Stevenson et al.,2001). Les blessures mal cicatrices, les lentilles et le stolon des tubercules sont les principales portes d'entrée des bactéries responsables de cette maladie.

Erwinia carotovora est une bactérie phytopatogène de la famille des enterobactériaceae sous forme de bâtonnets de 0.5-1µm de diamètre sur 1-3µm de longueur, à gram négative ; mobiles grâce à des flagelles péri triches ; anaérobies facultatifs ayant une forte activité pectolytique ; elles sont oxydase négatives ; mais catalase positives.

Ce sont des bactéries psychotropes qui se développent à des températures comprises entre 5 et 36 °C avec un optimum entre 27 et 30 °C ; elles produisent une variété d'enzymes extracellulaires comprenant les pectinases, les cellulases et les protéases.

La paroi des bactéries *E.carotovora* est composée d'environ 95% de phosphatidyl-éthanolamine. Leur membrane externe est principalement composée d'une couche de ces

phospholipides (34% du total) recouverte à l'extérieur d'une couche composée de lipopolysaccharides, alors que la membrane interne est constituée d'une bicouche du même phospholipide (65% du total). La bicouche externe de la paroi de ces bactéries a un ratio protéines/lipides de 1.20, donc elle est moins fluide que la bicouche interne qui a un ratio protéines/lipides de 0.89. Entre les deux membranes se trouve une mince couche de peptidoglycane.

3. Les plantes hôtes

Elle a une large gamme d'hôtes que ce soit des plantes ornementales ou d'intérêt agricole comme la carotte, betterave, navet, tomate, pomme de Terre...etc.

4. Classification

Selon Winslow et *al.* (1920) ; Emend.Hauben et *al.* (1998) la classification de la bactérie *E. carotovora* est comme indiqué dans le tableau en dessous :

- **Règne** : Bacteria.
- **Embranchement** : Proteobacteria.
- **Classe** : Gamma-Proteobacteria.
- **Ordre** :Enterobacterales.
- **Famille** : Enterobacteriaceae.
- **Genre** : *Erwinia*.
- **Espèce** : *Erwinia carotovora*.

5. Dégâts occasionnés par *E.carotovora*

La source primaire d'inoculum de la pourriture molle de la pomme de terre est assurée par des tubercules infectés. Après plantation, et quand les conditions sont favorables à la multiplication de l'agent pathogène, les tubercules pourrissent et les bactéries sont libérées dans le sol. Ces bactéries peuvent infecter les tiges de la plante hôte et induire la pourriture de la partie aérienne.

Les bactéries peuvent aussi se déplacer dans le sol par l'eau d'irrigation et contaminer les jeunes tubercules des plantes voisines. Le taux de contamination de ces tubercules varie considérablement d'une saison à une autre en fonction des conditions environnementales.

Les bactéries pénètrent dans les tubercules à travers les lenticelles, les fissures de l'épiderme ou les blessures produites durant la récolte. Les bactéries peuvent survivre dans les tubercules contaminés durant toute la période de stockage tant que les conditions ne favorisent pas la transition de la bactérie de sa forme latente à sa forme active. Lorsque les conditions deviennent favorables, les bactéries se multiplient et induisent la macération et les pourritures des tubercules.

Les espèces d'*Erwinia* responsables de la pourriture molle de la pomme de terre sont facilement disséminées pendant le découpage des tubercules semences au moment de la plantation, les opérations de travail et aussi par l'eau d'irrigation et de lavage des tubercules.

Elles peuvent entraîner une pourriture molle ; la jambe noire ; des flétrissements, des jaunissements et une énorme baisse de rendements ; les facteurs de stress pour la plante sont des facteurs favorables à la multiplication de la bactérie.



Figure (06) : Symptôme de jambe noire, variant de pourritures humides brun foncé à noire de la base des tiges à des nécroses plus ou moins sèches et/ou tiges creuses. (cité par Zaregui, 2016).

6. Les méthodes de lutte

6.1. Moyen de contrôle de la pourriture molle

Actuellement, un contrôle partiel de la pourriture molle est obtenu principalement par l'application de certaines pratiques culturelles et sanitaires, et indirectement par l'utilisation de fongicides chimiques (CPVQ, 1994. Secor et al, 1996 ; Rodriguez et Wrolstad, 1997).

6.1.1. La lutte chimique

Il n'existe pas de produits chimiques efficaces contre *Erwinia carotovora* ; c'est des mesures prophylactiques qui sont les plus adoptées par les agriculteurs. La désinfection du sol à

l'aide de fumigeant, détruit l'ensemble des agents pathogènes nuisibles aux plantes ornementales. (Taracol et Montagneaux, 2005).

Généralement, le traitement de tubercules avec le formaldéhyde et l'hypochlorite de sodium a permis de réduire la quantité d'inoculum bactérien sur ces dernières (De Boer, 1994). l'application post-récolte d'acétaldéhyde et de benzoate de sodium, mélangés à la tourbe pour enrober les tubercules pendant le transport.

En condition expérimentales une certaine efficacité dans la réduction de la sévérité de la pourriture molle (Wyatte et lud, 1981).

6.1.2. Lutte biologique

La lutte biologique fait partie des méthodes de plus en plus favorisées en phytopathologie pour contrôler les maladies végétales d'importance économique ,avec un impact plus réduit sur l'environnement et la santé humaine ,para port aux pesticides chimique .Toutefois son application aux maladies de la pomme de terre demeure expérimentale. Par exemple, *Bacillus subtilis* BS107 serait actif *in vitro* et *in vivo* contre *Erwinia carotovora subsp carotovora* sur la pomme de terre (Axelrood et al.,1988).

Des souches de *pseudomonas spp* ont permis de contrôlé expérimentalement le développement des bactéries responsables de la pourriture molle, bien que dans certains cas, des résistances à l'agent de lutte biologique aient été rapportées par Colyer et Mount (1984).

Il n'existe donc aucun moyen de lutte efficace contre la pourriture molle de la pomme de terre. Par ailleurs, les problèmes environnementaux et de santé humaine relies à l'utilisation de pesticides synthétique sont de plus en plus graves (Agrios ,1997).

Dans le contexte ou la pomme de terre apparait comme l'une des productions pour laquelle les apports en pesticides sont les plus importants, il s'avère urgent et nécessaire de développer de nouveaux traitements pour le contrôle post –récolte des maladies de la pomme de terre, qui soient à la fois bénéfique pour le producteur, le consommateur et l'environnement.

A cet effet, les résultats de nombreux travaux utilisant divers composés antimicrobiens pour lutter contre les agents pathogènes des plantes (Mecteau et al, 2002) suggèrent que les sels organiques et inorganiques peuvent constituer une alternative intéressante pour contrôler

les maladies des tubercules entreposés. La biocompatibilité des sels, leur faible coût et le fait qu'ils possèdent un large spectre antimicrobien, les rendent intéressants en vue d'une utilisation pour lutter contre les maladies végétales (Horst et *al.* 1992 ; Olivier et *al.*, 1998). Ils sont en outre simples d'utilisation et requièrent relativement peu d'exigence de la part des instances de réglementation en vue de leur acceptation comme agents antimicrobiens (Aharoni et *al.*, 1997).

1. Généralité de la plante

Le bigaradier ou oranger amer (*Citrus aurantium L*), est une espèce d'arbres de la famille des rutacées, arbre plus ou moins épineux selon les variétés peut avoir un port érigé ou compact. Plus grand que l'oranger doux, il peut atteindre 15 mètre de haut. Ces feuilles persistantes sont ovales pointues, vernissées et bien verts. Le fruit les feuilles, les rameaux et la fleur ont de nombreuses applications alimentaires et en parfumerie (ververidis et *al.* ,2007).

Cet arbre fleurit au début du printemps. Il donne des fleurs blanches ou roses très parfumées et des fruits délicieux en confiture, sirop et vin d'orange. Les oranges amères, aussi appelées « bigaradiers», murissent en hiver, à partir de Décembre .Elle peuvent contenir de 15 à 20 pépins par fruit (Eckersberger et *al.* ,2000).

Il produit des agrumes ovoïde et jaune foncé appelés « orange amères», plus petites que ceux d'un orange d'un orange doux. Ces fleurs blanches ou roses, très odorantes, sont la base du Néoli, utilisé en parfumerie, et pour les préparations de l'eau de fleur d'oranger qui agrémentent les pâtisseries orientales. Les Feuilles de couleur vert sombre du bigaradier sont utilisées en phytothérapie. (Gatier et *al.*, 2007)

2. Description de la plante

Le bigaradier est un arbre de 5 à 10 mètres sempervirents (toujours vert). Il s'est répandu au début de l'ère chrétienne en Inde et fut introduit dans le sud de la France par les croisades. Les Maures le cultivèrent intensivement près de Séville en Espagne, ce qui valut au fruit son surnom d'orange de Séville (Teuscheret, 2005).

2.1. Feuilles

Les feuilles du bigaradier sont ovales, d'un vert foncé, possèdent un pétiole ailé-cordiforme caractéristique, luisantes et persistantes avec une épine à l'aisselle des feuilles inférieures.

2.2. Fruits

Le bigaradier porte un fruit, la bigarade également nommé orange amère ce fruit est plus petit que l'orange douce et à une peau rugueuse et jeune .Sa chair est acide, peu juteuse, très amère et contient beaucoup de pépins (Bénédicte et *al.*, 2011)

2.3. Fleurs

Les fleurs d'oranger amer sont blanches ou roses, plus grandes que celles de l'oranger doux et très odorantes elles fleurissent au début du printemps.



Figure (07) : Différentes organes des *Citrus aurantium*: 1. fleurs, 2. feuilles et 3. Fruits (originale ,2016).

3. Classification systématique

- Règne :Plantae.
- Embreuchement :Magnyolophita.
- Classe :Magnyolopsida.
- Ordre :Sapindales.
- Famille :Rutaceae.
- Genre :*Citrus*.
- Nom binominal :*Citrus aurantium L* (Guignard ,2001).

4. Habitat et origine

Les agrumes (*citrus*) font partie des plantes orientales qui arrivèrent les rivages méditerranéens (Cunningham ,1987) .*Citrus aurantium* est originaire des régions tropicales d'Asie, cet arbre est cultivé dans toutes les zones tropicales et subtropicales (Iserin, 2001)

5. Utilisations

Le fruit du bigaradier est surtout utilisé en conserve ou cuit (confiture, sirop, marmelade). La marmelade d'orange est faite uniquement à partir de l'orange amère et non de l'orange douce.

Très parfumée, la fleur de bigaradier sert à la fabrication de l'absolu de fleur d'oranger, de l'eau de fleur d'oranger et de l'essence de néroli utilisée en parfumerie et pour aromatiser les aliments. Ces extraits contiennent une forte proportion d'anthranylate de méthyle responsable de la note typique de la fleur d'oranger amer. Les rameaux sont utilisés pour la fabrication de l'essence de petit grain bigarade, une huile essentielle riche en acétate de linalyle.

Du zeste du fruit on extrait l'essence d'orange amère utilisée pour la fabrication du triple sec, d'amers, du Grand Marnier et du Cointreau, dont on trouve des plantations notamment en Haïti du côté du Cap-Haïtien (Iserin, 2001).

Dans le Sud-Est de la France, on utilise les fruits en macération dans du vin (blanc, rosé ou même rouge) additionné de sucre et d'alcool pour confectionner un apéritif : le vin d'orange.

À Malte, où le bigaradier a été introduit avant l'oranger, la bigarade est aujourd'hui utilisée dans la fabrication du soda maltais, le Kinnie, ce qui lui donne son amertume caractéristique.

La clémentine a d'abord été considérée comme un hybride entre le mandarinier (*Citrus deliciosa* Ten.) et une variété de bigaradier à feuille de saule (*Citrus salicifolia* Raf. 'Granito'). Ce dernier avait été importé d'Espagne comme porte-greffe pour les cultures d'agrumes. Toutefois des études récentes menées par la station INRA de San-Giuliano en Corse consacrée à l'agrumiculture, ont montré à partir de l'analyse des chromosomes qu'il s'agissait en réalité d'un hybride entre le mandarinier et l'orange douce (*Citrus sinensis*).

6. Propriétés

Des études portant sur les huiles essentielles du zeste (essence d'orange amère) et de rameaux (essence de petit grain bigarade) ont confirmé leurs propriétés sédatives et anxiolytiques sur le modèle murin (Pultrini Ade M et *al.*, 2005) (Carvalho-FreitasM et *al.*, 2002).

Traditionnellement, l'huile obtenue à partir des pépins est proposée en cas de cholestérol. Le fruit vert de *Citrus aurantium* L. *spamara* est interdit d'usage dans les préparations magistrales, dans un but d'amaigrissement, par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé depuis mai 2012 (ANSM , ;2012).

La saveur amère et aromatique du bigaradier ouvre l'appétit et facilite la digestion. Des extraits d'écorce d'orange amère ont un effet antispasmodique sur intestin isolé de cobaye.

De nombreux flavonoïdes d'agrumes ont des propriétés anti tumorales. L'usage de flavones des *Citrus* et du jus d'agrumes comme moyen de chimioprévention de maladies cancéreuses, les flavonoïdes des *Citrus* plus précisément *Citrus sinensis* ont donné des résultats forts intéressants sur leur activité biologique (Hellal, 2011) notamment bio-pesticide (Intekhab et Islam, 2009).

En outre, les flavonoïdes des *Citrus* présentent des propriétés antivirales, inflammatoires, analgésique, diurétique, antihypertensives, antithrombotiques et antiartériosclérotique l'huile essentielle d'orange amère est également antimicrobienne.(Teuscher et *al.*, 2005)

1. L'objectif de l'étude

Ce travail est réalisé au sein du laboratoire de biochimie et laboratoire de microbiologie, l'Université Abd El Hamid Ibn Bdis Mostaganem. Dont le but d'étudier les potentialités insecticides et antimicrobien de l'extrait méthanoïque de *citrus aurantium* (Bigaradier) sur la pourriture molle bactérienne et sur l'activité insecticide vis-à-vis de puceron noir *Aphis fabae in vitro* et *in vivo*.

2. Matériels

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *C.aurantium* est récolté au mois de Mars 2016 à l'exploitation expérimentale de l'université de Mostaganem (ITA). L'échantillon est séché dans une étuve à une température de 30°C. Afin d'obtenir un poids constant (Figure 09). Après séchage, le matériel végétal est broyé en poudre fine à l'aide d'un mortier.



Figure (08) : échantillon des Feuilles de citrus séchés (Originale, 2016).

Pour réaliser l'essai de traitement *in vitro* et *in vivo*, nous nous sommes récoltées fève dans des pots au niveau de serre de l'exploitation expérimentale de Mostaganem (Mazagran).et en prépare les cages. (Figure 09).



Figure (09) : Les cages de traitements.

2.2. Matériel animal

Pour cette étude l'insecte choisi est le ravageur *Aphis fabae* appelé communément le puceron noir de la fève (fig^o11). Cet insecte a été récolté à partir de plants de fève mise en place par d'étudiant en Master 2 protection des cultures. La culture a été conduite au niveau de l'atelier expérimental du département d'Agronomie de l'université de Mostaganem.



Figure (10) : La culture fève

(Original 2016)



Figure (11): Puceron noir de la fève

(Original 2016)



Figure (12) : Station expérimentale de l'université de Mostaganem (Google Earth, 2016).

2.3. La souche bactérienne

La souche (*Erwinia carotovora*) est fournie par le laboratoire de protection des végétaux de l'université de Mostaganem.

3. Méthode d'extraction

3.1. Procédé de l'Extraction (soxhlet)

Un échantillon de 4 g de poudre est placé dans un récipient contenant 40 ml d'éther de pétrole pendant (15 à 20 min), mis sous agitation à une température ambiante. Les poudre est transférée ensuite dans une cartouche. En bas un ballon contenant 400 ml de méthanol porté à l'ébullition du dispositif (Figure 13).



Figure (13) : dispositif d'extraction soxhlet

L'extrait obtenu est ensuite mis dans le rota-vapeur pour éliminer le solvant extractant.

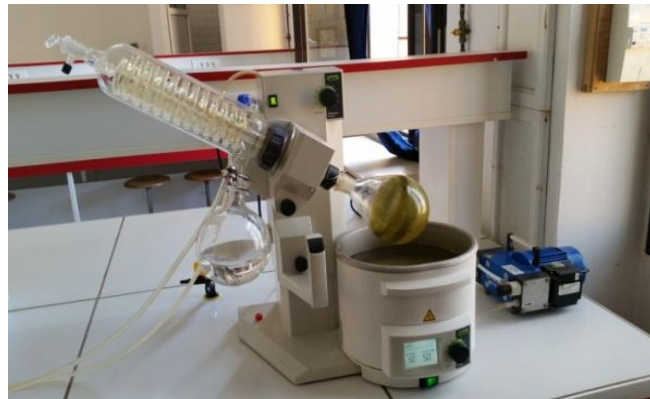


Figure (14): dispositif d'évaporation rotatif.

3.2. Rendement d'extraction

Le rendement est exprimé en pourcentage par rapport au poids de la matière séchée utilisé déterminé par la relation suivante :

$$R(\%) = (M_{\text{ext}} \times 100) / MS$$

- **R** : Rendement (en %).
- **M_{ext}** : mass de l'extrait après l'évaporation du solvant en g
- **MS** : masse de l'échantillon végétale (matière séché) en g (clémence et Dangmo 2009).

4. Evaluation de l'activité bio-pesticide de l'extrait de bigaradier (*Citrus aurantium amara*).

4.1. Préparation des doses de l'extrait méthanoïque

A partir de l'extrait méthanoïque obtenu 3 doses sont préparées par dilution dans l'eau distillée stérile. 25% 50% 75%

5. Testes d'activité de bio pesticide

5.1. Méthode antibactérienne de contact directe (*in vitro*)

Un millilitre d'une culture de 24h de la souche (*Erwinia carotovora*) est prélevée à l'aide d'une pipette et ajoutée au 9 ml de l'eau physiologie dans le premier tube pour une charge microbienne de 10^{-1} et avec des dilutions décimales on obtient les différentes concentrations : 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} .

Un millilitre de chaque doses de l'extrait est ajouté 9 ml de milieu nutritive LPGA. Après solidification, l'ensemencement est réalisé par étalement totale de la surface.

A partir de la dernière dilution 10^{-6} de la souche bactérienne deux gouttes sont prélevé à l'aide d'une pipette pasteur, étalée en surface de boîte de Pétri contenant le milieu GN et trois répétitions sont réalisé pour chaque dose de l'extrait, les boîtes sont incubées pendant 24 h à 37°C.

5.1.1. Calcule le taux d'inhibition

$$Ti = \frac{(Nt - Ne)}{Nt} \times 100$$

- **Ti** : Taux D'inhibition
- **Nt** : moyenne de colonie de la bactérie dans le témoin
- **Ne** : moyenne des colonies de chaque dose.

5.2. Test d'activité bio insecticide

5.2.1. Conduite de l'essai (*in vitro*)

On prépare des boîtes de pétris, dont le fond est recouvert d'une couche de papier absorbant humide, pour permettre le bon développement des pucerons durant la période d'observation. Dans chaque boîte on dépose une feuille de fève et 05 pucerons.

Le traitement des pucerons a été effectué par pulvérisation de l'extrait, quatre répétitions sont retenues pour chaque concentration. De même, quatre boîtes pour le témoin contenant 5 pucerons sont maintenues, soit un totale de 20 pucerons par traitement.



Figure (15) : dispositif expérimentale du test (Original, 2016)

5.2.2. Test d'efficacité insecticide par contact (*in vivo*)

Des pucerons noirs au stade adulte sont utilisés pour l'évaluation de la toxicité de l'extrait de Bigaradie.

Pour cet essai, 20 pucerons sont placés dans les pots, déposés à l'intérieur des cages bien renfermées, et chaque plant est traité par pulvérisation avec une solution d'extraits à l'aide d'un pulvérisateur manuel à pression par différentes dilutions (25% 50% 75%) d'extraits de *citrus* avec le témoin. Trois répétitions sont réalisées pour chaque dilution ainsi que pour le témoin, la mortalité des insectes est relevée d'une manière régulière après le traitement pendant 12 jours.

Et afin d'éliminer tout risque de mortalité naturelle, nous avons déterminé la mortalité corrigée selon la formule d'Abbott (1925).

$$\text{Mortalité corrigée (MC \%)} = \frac{M2 - M1}{100 - M1} \times 100$$

- **M2 :** Pourcentage de mortalité dans le lot traité.
- **M1 :** Pourcentage de mortalité dans le lot témoin.

Et pour estimer la dose létale de 50% de la population d'insectes (DL50), sous l'effet de ces flavonoïdes, des droites de régression ont été construites en dressant le taux de mortalité corrigé en fonction des doses de traitement (Finney, 1971).



Figure (16) : les pots traités avec les différentes concentrations (Original, 2016).

I. Résultats

I.1. Les résultats d'effet d'extrait sur la bactérie

I.1.1. Le rendement de l'extraction

Le rendement d'extraction est de l'ordre de 36.6%, ce rendement est assez suffisant pour effectuer les deux parties de travail *in vitro* et *in vivo*.

I.1.2. Effet de l'activité antibactérienne

L'extrait de *Citrus aurantium* présente un pouvoir antibactérien très important, selon les résultats obtenus l'efficacité de l'extrait de citrus augmente au fur et à mesure que les concentrations augmentent.

La souche *Erwinia carotovora* montre une sensibilité très élevée vis-à-vis les concentrations choisies de l'extrait de *Citrus aurantium*, même pour la plus faible concentration (25%) il n'y a que quelques colonies développées avec un taux d'inhibition de 70% par comparaison avec le témoin (Fig.17). L'inhibition totale de la croissance bactérienne est enregistrée à une concentration de 75% (Figure 17)

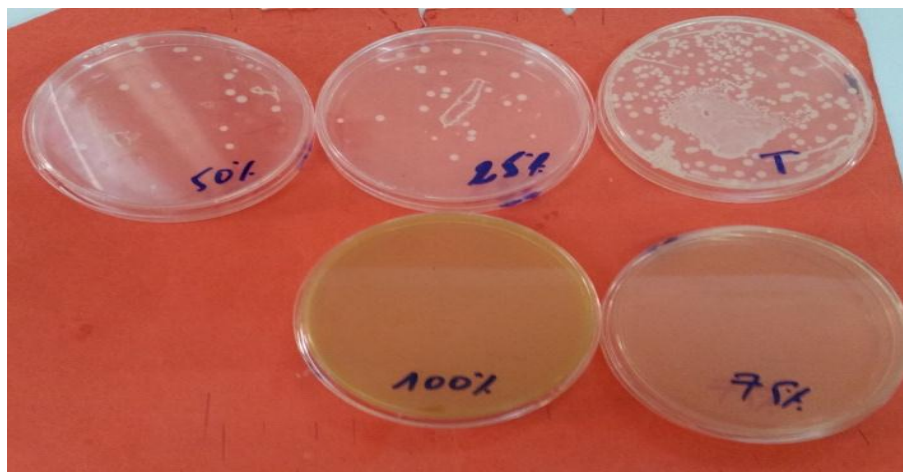


Figure (17): Effet des extraits de *citrus* sur croissance d'*Erwinia carotovora*. (Originale 2016).

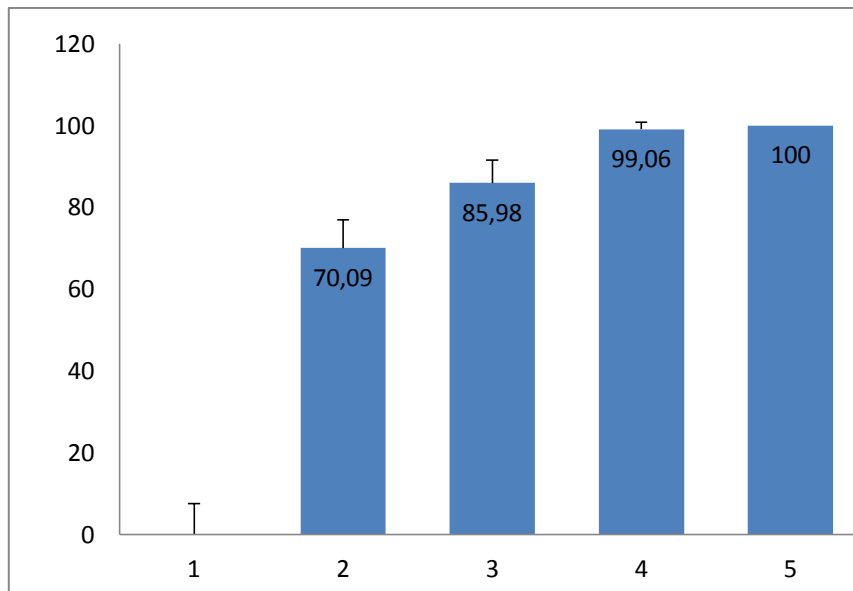


Figure (18): Taux d'inhibition de différentes concentrations de l'extrait de *Citrus aurantium* sur croissance de la souche bactérienne *Erwinia carotovora*.

I.2. Pouvoir insecticide de l'extrait de *citrus aurantium* sur le puceron *Aphis fabae*

I.2.1. Pouvoir insecticide *in vitro* :

Les résultats du test d'efficacité d'extrait de la plante *Citrus aurantium amara* sur les adultes du puceron noir de la fève *Aphis fabae* (*in vitro*) sont très prometteurs (en annexesIII). Les variations de mortalité en fonction des doses montrent clairement l'efficacité des concentrations choisies. Dès le premier jour, on peut voir l'effet dose-réponse c'est-à-dire une différence de niveau de sensibilité des pucerons en fonction des doses appliquées. D'une manière générale et comparé au témoin (eau distillée), toutes les concentrations testées ont montrés une activité insecticide marquée.

La figure 19, montre que l'extrait de *Citrus aurantium* a causée des mortalités importantes sur les adultes d'*Aphis fabae* (*in vitro*). En effet, l'extrait pur a décimé les individus des différents lots le premier jour du traitement. Cent pour cent (100%) de mortalité est également observé le 3^{ème} jour chez les lots traités par la dose 75%; et le 05^{ème} jour pour les lots traités par les doses 25% et 50%.

Le pouvoir insecticide est observé dès le premier jour pour les lots traités par l'extrait pur, cela peut être expliqué par l'absence d'une période de latence. Pour les autres lots les mortalités commencent également dès le premier jour mais avec une intensité moindre.

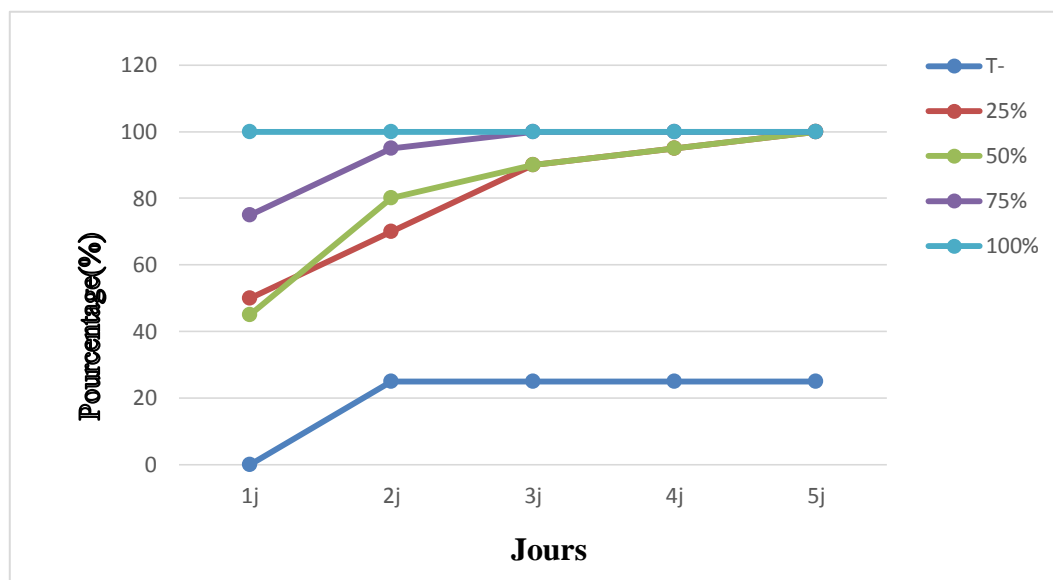


Figure (19): Effet de différentes doses de l'extrait de *Citrus aurantium amara* sur le taux de mortalité cumulé des pucerons noirs *Aphis fabae*. (*in vitro*).

Une relation proportionnelle est observée entre les différentes doses et la mortalité corrigée des pucerons, Cette dernière démontre une corrélation positive entre les doses d'extrait et la mortalité avec un coefficient corrélation de 0,908. On remarque également que la DL50 est de 2,82% (AnnexeIII),.



Figure (20) : Adultes de *Aphis fabae* morts suites au traitement par l'extrait de *Citrus aurantium amara* (Originale, 2016).

I.2.2. Pouvoir insecticide *in vivo* :

Une forte activité insecticide est observée vis-à-vis de l'insecte *A. fabae*, avec un taux de 100% pour les deux concentration 50% et 75% (annexes). Ces derniers mettent en exergue une forte mortalité des individus sous l'effet de cet extrait.

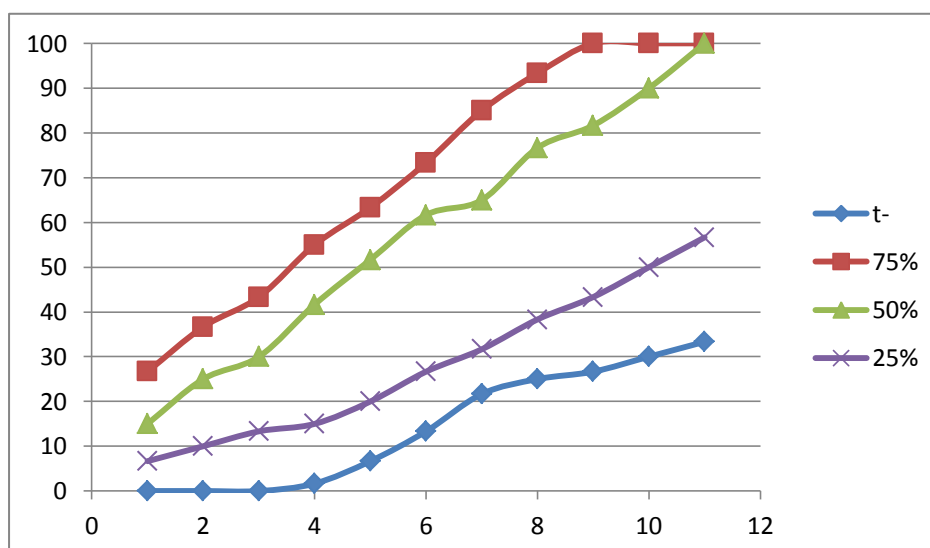


Figure (21): Taux de mortalité d'*aphis fabae* traité par l'extrait de *citrus aurantium* au cours du temps *in vivo*.

La figure 21 montre que l'extrait de *citrus aurantium* (bigaradier) a causé des mortalités importantes sur les adultes d'*Aphis fabae*. En effet, l'extrait à 75% décimé les individus des différents lots au 09^{ème} jour du traitement.

100% de mortalité est également atteint le 11^{ème} jour chez les lots traités par la dose 50%. Par contre, pour l'extrait à 25% le taux de mortalité au 10^{ème} jour n'est que de l'ordre de 50%. (nnexe IV)

Une relation proportionnelle est observée entre les différentes doses et la mortalité corrigée des pucerons *in vivo* (annexe IV), cette dernière démontre une corrélation positive entre les doses et la mortalité avec un coefficient corrélation de 0.0146 et une DL50 de l'ordre de 1.57%.

II. Discussion

Cette étude rentre dans le cadre de la recherche des méthodes et des produits alternatifs aux pesticides chimiques qui sont plus respectueuses de l'environnement et de la santé humaine. Une des formes alternatives est l'exploitation des métabolites secondaires provenant des plantes aromatiques et médicinales dans le but de les utiliser dans la lutte comme un bio-pesticide (phylogene, 1991).

Les biopesticides d'origines végétales constituent une alternative très prometteuse dans la prospection de molécules aux pouvoirs pesticides. Les feuilles du bigaradier (*Citrus aurantium*) sont anciennement utilisées pour leurs vertus thérapeutiques, ses extraits obtenus par macération ou décoction possèdent une activité antioxydante, un potentiel anti-inflammatoire, elles participeraient aussi à protéger les organismes de diverses maladies d'origine cardiovasculaires et cancéreuses (Do-Hoon et al, 2012).

Cette plante est utilisée aussi dans le but de réduire la nervosité aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant, ce sont des sédatives légères ce qui assure que cette plante contient beaucoup de molécules bioactives qui agissent sur le système nerveux des insectes, et donc un effet neurotoxique.

Au terme de ce travail et dans nos conditions expérimentales *in vitro et in vivo*, l'extrait végétal des *Citrus* montre une nette action bactéricide et insecticide vis-à-vis la bactérie *Erwinia carotovora* et le puceron *A. fabae* avec un taux d'efficacité très important.

Le pouvoir antibactérien évalué *in vitro*, montre une efficacité très importante pour l'ensemble des concentrations choisies pour ce test.

L'extrait à 75% possède un taux d'inhibition très important atteint 99.06% dans ce cas on peut dire qu'il s'agit d'une inhibition totale de la bactérie, à 50% le taux d'inhibition atteint 85.98% et 70.09% pour l'application de l'extrait à 25%. Ceci témoigne une sensibilité très élevée de cette souche *Erwinia carotovora* vis-à-vis l'extrait de *Citrus*.

Les résultats de notre étude *in vitro* montrant que l'extrait de *citrus aurantium amara* par la méthode de contact a exercé une importante activité inhibitrice. Ce pouvoir inhibiteur augmente au fur et à mesure que les concentrations en extrait augmentent, pour atteindre l'inhibition totale de la croissance pour des concentrations de l'ordre de 75% et 100%.

Les travaux de Lee et *al.* (2012) montrent que l'huile essentielle de girofle a un effet suppresseur du flétrissement bactérien de la tomate, démontrée par une réduction significative de la croissance de *Ralstonia solanacearum in vitro* et atténuation considérable de la gravité de la maladie *in vivo*, sans aucune phytotoxicité sur les plantules de tomates.

Les tests d'évaluation du pouvoir insecticide *in vivo* montrent que les populations de puceron *A.fabae* soit par la dose 100% ou par 75% ou 50% ou 25% est efficace mais avec des effets différents, la dose 100% est plus efficace puis la dose 75% puis 50% et 25%. Le test *in vitro* en traduira par *DL50* égale à 1,57% mettant la petite toxicité par rapport à d'autre concentration.

Selon Crosby (1966) le fort taux de mortalité observé chez une population de ravageur traité par l'extrait de *Citrus aurantium* est un indicateur la toxicité de cet extrait, les calculs statistiques montre que les trois dose d'extrait de Bigaradier est très significatifs, avec une efficacité très importante de l'extrait brut. C'est résultats concordent avec les résultats des travaux de recherche de Benabderahman (2015).

Le fait marquant de ce test est l'importante mortalité enregistrée au niveau du lot traité par la plus faible dose en l'occurrence 25% ; et qui a réussi à éliminer 100% de la population

aphidienne. Ce qui se traduit par une DL 50 égale à 2,82%, mettant en évidence la grande toxicité du produit sur les adultes d'*Aphis fabae*

Les résultats du test de l'effet de *Citrus aurantium Amara in vivo* sur la mortalité des adultes d'*Aphis fabae* montrent l'efficacité de ce dernier à réduire la pullulation des populations aphidiennes d'une manière significative. Toutes les concentrations testées ont démontré une efficacité satisfaisante, l'idéale serait que ces extrait puissent maintenir les populations au-dessous du seuil de nuisibilité.

Le fait marquant du test *in vivo* est l'importante mortalité enregistrée au niveau du lot traité par la plus faible dose en l'occurrence 25% ; et qui a éliminé 100% de la population aphidienne. Ce qui s'est traduit par une DL50 égale à 1.57% mettant en évidence la grande toxicité du produit sur les adultes d'*Aphis fabae*.

Nos résultats ont confirmés les travaux de recherche de Hellal (2011), dont il montre que les extraits des *Citrus* plus précisément *Citrus sinensis* ont donné des résultats forts intéressant ; des activités biologiques très marquées notamment le pouvoir insecticide (Intekhab et Islam, 2009).

Selon Nsambu et *al.* (2014), Le test d'activité insecticide réalisé à base des alcaloïdes, saponines, terpènes et stéroïdes extraits de *Capsicum frutescens* L dénotent que la mortalité des individus '*Antestiopsis orbitalis ghesquiere* varie très significativement selon le traitement, la concentration (dose) ainsi qu'avec l'interaction des traitements et les concentrations des substances insecticides testées. Ces mêmes chercheurs confirment que les stéroïdes quant ont une efficacité insecticide très importante ; tandis que les saponines et les terpènes avaient un effet minimal aux concentrations et doses choisies dans leurs études.

En général, la plupart des compositions chimiques des huiles essentielles et des extraits polyphénoliques sont déjà reconnus pour leurs activités antibactériennes, antifongiques et insecticides.

D'après les résultats des recherches effectuées sur les extraits de plusieurs plantes aromatiques autochtones, les potentialités biologiques et principalement le pouvoir biocide dépendent essentiellement de la nature chimique des constituants des extraits végétaux, qui varie selon la zone de culture, période la récolte, les solvants utilisés, les méthodes choisies pour l'extraction et la durée de cette dernière.

En plus des composés majeurs, les composants secondaires interagissent entre eux en synergie pour renforcer l'effet biocide. Certaines études ont conclu que les composants mineurs jouent un rôle sur l'activité particulièrement par synergie (Zaghad, 2009).

Les plantes aromatiques méditerranéennes et leurs composants allélochimiques semblent avoir un pouvoir potentiel dans les stratégies de lutte intégrée. Ils contiennent plusieurs familles de molécules allélochimiques, qui ont différents effets insecticides sur de nombreux insectes (Regnault-Roger et *al.*, 2004)

Conclusion

Le bigaradier est un arbre très répandue en Algérie et dans la région de Mostaganem .Ce qui nous a incités à évaluer l'effet de son extrait *in vitro* et *in vivo*.

L'objectif de cette étude est de valoriser les potentialités et les pouvoirs biocides de cette plante autochtone, son extrait de cette plante contient beaucoup de substances bioactives. Nous avons choisi de tester l'effet antibactérien de cet extrait vis-à-vis de la bactérie *Erwinia carotovora* et insecticide sur le puceron noir *d'Aphis fabae*.

La technique d'extraction utilisée a donné un extrait trop concentré de couleur vert dû à la présence des fractions chlorophylliennes, une odeur très forte donnant une idée sur la qualité de notre extrait. Le rendement obtenu de cette plante et par cette technique (Soxhlet) est de l'ordre de 36,6% qui est un rendement assez satisfaisant.

Le test de l'efficacité de l'extrait a fait ressortir que la bactérie *E.carotovora* présente une sensibilité très importante pour une concentration 75% d'extrait de Citrus et l'extrait brut. Concernant l'effet insecticide vis-à-vis de puceron noir *d'aphis fabae* l'extrait a révélé un pouvoir insecticide très important. Dont l'effet augmente à fur et à mesure que les doses augmentent.

Le recours à substances naturelles suscite un intérêt croissant dans la recherche. Le présent travail apporte des données encourageantes sur l'application des extraits naturels comme biopesticides remplaçant les pesticides conventionnels.

En perspective, il est très intéressant de poursuivre cette recherche par d'autre étude afin de dévoilé les potentialités et les pouvoirs biocides des extraits et des huiles essentielles des Citrus. D'étudier la phytotoxicité et la toxicité de différentes de doses qui ont présenté une efficacité considérable *in vitro* et *in vivo*.

ANNEXE I

Composition des milieux de culture :

➤ Milieu de GN :

Composition

Peptone	5g
Extrait de viande	3g
Extrait de levure	3g
Agar bactériologique.....	20g
Na cl	5g
PH du milieu	7.3

➤ milieu de bouillon nutritif

Composition :

Pour un litre d'eau distillé

Extrait de viande	5g
Peptone pancréatique	10g
Chlorure de sodium.....	5g

Ph du milieu prêt a l'emploi à 25° C : 7.2±0.2 .Autoclaver à 120° C/20 minutes.

➤ L'eau physiologie :

Pour 9g Na cl

1000ml d'eau distillé.

Annexe II

Résultats du test antibactérien

		T	25%	50%	75%	100%
Nombre des colonies	01	100	27	16	0	0
	02	107	30	20	3	0
	03	115	40	09	0	0
MOYENNE		107	32	15	01	0
TAUX D'INIBITION			70,09	85,98	99,065	0

Annexe III: Résultats des tests *in vitro*

Les Mortalités Cumulés du puceron :

Les Jours \ Les Doses	1J	2J	3J	4J	5J
T ⁻	0	5	5	5	5
25%	10	14	18	19	20
50%	9	16	18	19	20
75%	15	19	20	20	20
100%	20	20	20	20	20

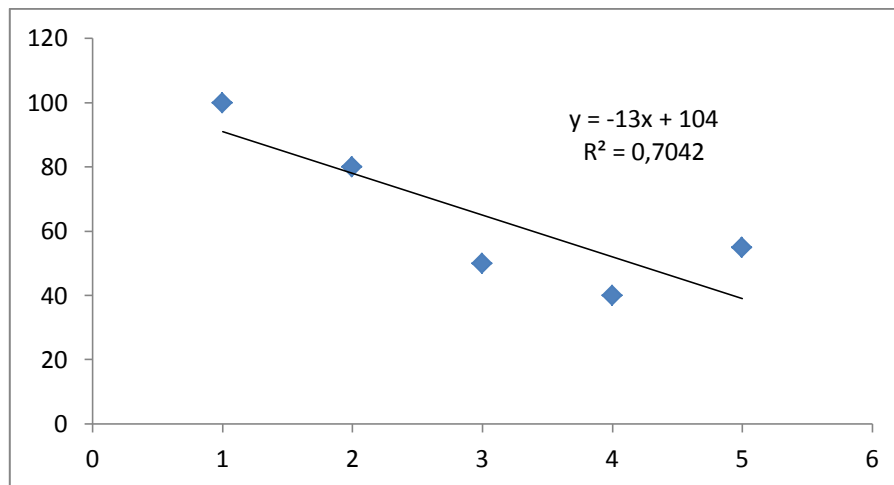
Taux de Mortalité :

Les jours \ Les Doses	1J	2J	3J	4J	5J
T ⁻	0	25	25	25	25
25%	50	70	90	95	100
50%	45	80	90	95	100
75%	75	95	100	100	100
100%	100	100	100	100	100

Mortalités Corrigés

Les Jours \ Les Doses	1J	2J	3J	4J	5J
25%	50	20	40	45	50
50%	45	30	40	45	50
75%	75	45	50	50	50
100%	100	50	50	50	50

Taux de mortalité de puceron noire (*Aphis fabae*) sous l'effet de l'extrait de feuilles *Citrus aurantium amara* enregistré le 01^{ère} jour (*in vitro*).



Annexe IV : Résultats des tests *in vivo*

Les Mortalités Cumulés du puceron :

Les Jours \ Les Doses	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11
Témoin	0	0	0	1	4	8	13	15	16	18	20
75%	16	22	26	33	38	44	51	56	60	60	60
50%	9	15	18	25	31	37	39	46	49	54	60
25%	4	6	8	9	12	16	19	23	26	30	34

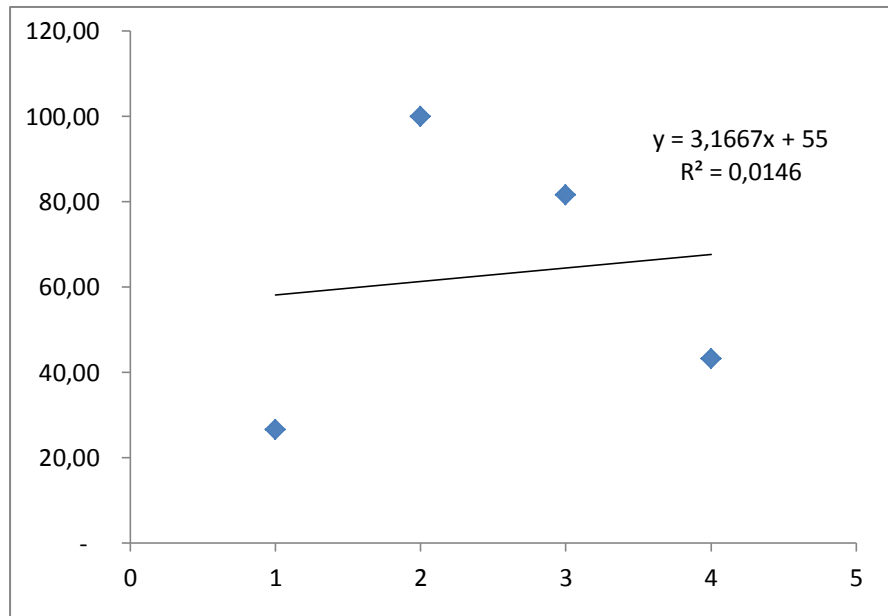
Taux de Mortalités :

Les Jours \ Les Doses	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11
T	0	0	0	1,67	6,67	13,33	21,67	25,00	26,67	30,00	33,33
75%	26,67	36,67	43,33	55,00	63,33	73,33	85,00	93,33	100	100	100,00
50%	15	25	30	41,67	51,67	61,67	65,00	76,67	81,67	90	100
25%	6,67	10	13,33	15	20	26,67	31,67	38,33	43,33	50	56,67

Mortalités Corrigés

Les Jours \ Les Dose	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11
75%	26,67	36,67	43,33	54,24	60,71	69,23	80,85	91,11	100	100	100
50%	15	25	30	40,68	48,21	55,77	55,32	68,89	75	85,71	100
25%	6,67	10	13,33	13,56	14,29	15,38	12,77	17,78	22,73	28,57	35

Taux de mortalité de puceron noire (*Aphis fabae*) sous l'effet de l'extrait de feuilles *Citrus (aurantium amara)* enregistré le 09^{ème} jour (*in vivo*).



Abbas Andaloussi F., 2001. Screening of *Vicia faba* for resistance to the « giant race » of *Ditylenchus dipsaci* in Morocco. *Nematol. Mediterr.*, pp 29-33.

Abbott W., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18 :265-267.

Agrios, 1997; Nutritional plants Growing and diseases of this plants 85p.

Aharoni, deven, O.sylver 1997. Utilisation des méthodes de lutte en phytopathologie sur les maladies végétales édition Sand ;Paris ,p:56.

ans l'est de l'Algérie. *Céréaliculture: spéciale fèves* N° 29, pp 27-30

Aouar-sadli M., 2009. Systématique, éco-éthologie des abeilles (Hyménoptera : Apoidea) et leurs relations avec la culture de fève (*Vicia faba* L.) sur champ dans la région de

Arvalis et Unip, 2012. Féverole de printemps et d'hiver 2011-2012. Guide de culture. 27p.

Arvalis et Unip, 2013 Diagnostiques des accidents de la féverole et du pois. 83 p

Atik F., 1999. Etude des signaux chimiques impliqués dans la symbiose entre *Vicia faba* et *Rhizobium leguminosarum*. Thèse de doctorat, Univ. De Tlemcen. Algérie.

Aversenq P., Goutier J .. et Gueguen . M., 2008. Le truffaut. Anti-maladies et parasites. Larousse. Ed. Octavo. 224p.

Axelrood ., Sylver ; Dyvededon 1988. the biological of *bacillus subtilis*, Ed .Jean. 33p

Benabderrahman fatima 2015 . Etudes de l'activité insecticide des extraits de l'ortie (*Urtica Diocia*) sur les puceron noire de la fève (*Aphis Fabae*).

Bénédicte et Michel Bachés 2011, les agrumes “comment les choisir et les cultiver facilement.

Bergey jones 1994. bactériologie générale . PCE M2 .Faculté de médecine Necker (France) .PP9.

Blackman R.L. et Eastop V.F., 2007. Taxonomic issues (Chapter 1). In: VAN EMDEN H.F., HARRINGTON R. (Eds.), *Aphids as Crop pests*. CABI International, Oxfordshire, U.K. 968-1003.

Bonnemaison.L, 1962- Les ennemis animaux des plantes cultivées. Ed. S.E.P., Paris, 668p

Boughdad A., 1994. Statut de nuisibilité et écologie des populations de *Bruchus rufimanus* Boheman, 1833 sur *Vicia faba* au Maroc : Thèse d'Etat en Sciences, No: 3628, Université de Paris, Orsay, France, 182 p.

Bouhachem S, 2002. Le devenir des légumineuses potagères, légumes, fruits technique et documentation Lavoisier F75384 Paris Cedex 08, PP3-15.

Bousalem M, 1988 Etude d'un virus affectant la fève en Algérie, effet de virus sur la croissance et rendement. Modification cytologique induites par ce virus. Thèse magister, I.N.A El Harrach .

Bouznad., Louanchim., Allala L. et Merbtin., 2011. Les maladies de la fève en Algérie : cas de la maladie à tache chocolat causée par *Bortrytis* spp. Quatrième journées scientifiques et techniques phytosanitaires. I.N.A El Harrach, 2p.

Brenoit, 2006 ., Biodiversité et lutte biologique, Comprendre quelques fonctionnements

Caberera et Martein ,1986.Variation in tannin content in *Vicia faba* L. J.Agric. Sci.106:377-382.

Carvalho-FreitasMI, CostaM 2002.Anxiolytic and sedative effects of extracts and essential oil from *Citrus aurantium* L. Biol Pharm Bull. 2002 Dec;25

Chaux CL. et Foury CL., 1994.Productions légumières secs. Légumineuses

Cole L., Dewey F.M. et Hawes C.R. 1998. Immunocytochemical studies of the infection mechanisms of *Botrytis fabae*: II. Host cell wall breakdown. New Phytologist 139: 597-609.

Colyer et Mount ,1984 the biologie of the bacterium *pseudomonas*spp D.S.614.555-44.

Comeau C., 1992: Different types of resistance against greenbug, *Shizaphis graminus* Rond, and the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* Mordvilko, in wheat. Plant breeding 118:131-137.

Constitutive and Induced Activities of Defense-Related Enzymes in Aphid-Resistant and Aphid-Susceptible Cultivars of Wheat. J. Chem. Ecol., (in press)

CPVQ ,1994 les maladies phytopathogènes et l'utilisation des produits chimiques D.G.123

Crofts H.J., Evans L.E. et M.C Vetty P. B. E.,1980. Inheritance, characterization and selection of tannins-Faba beans, Can. J. Plant. Sci. 60:1135-1140.

cultures. Ed. ACTA, INRA. Paris. 64p.

Cunningham S.,1987.L'encyclopédie des herbes magiques, éditions Sand ,Paris ,P:73.

De Boer ,1994 ,les maladies de pomme de terre.

Dedryver, C.A 1982. –Qu'est-ce qu'un puceron ? Journ. D'info et d'étude « les pucerons des cultures, Le 2,3 et 4 mars 1981. Ed. Bourd, Paris. pp9-20. »

Didie B. et Guyot H., 2012.Des plantes et leurs insectes. Ed. Qu, Paris, 253p

Eberhard Teuscher ,Robert Anton ;Annelise Lobstein 2005 ;Plantes aromatiques; épices ,aromates ,condiments et huiles essentielles

Eckersberger ,Babu , P.V.A . ;Liu,D.Gilbert ;E.R(2000).the journal of nutritional Biochemistry écologique dans une parcelle cultivée ,pour prévenir contre le puceron de la salade .Certificat d'Etude Supérieures en Agriculture Biologique. ENITA C ,10:1-25.

F.A.O .STAT 2004 .

FABRE L., FIORENTINO G., MARINVAL P., PEREZ JORDA G., PRADAT B., ROVIRA N., ALIBERT P., 2001. Historical biogeography of olive domestication (*Olea europaea* L) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archeological material. Journal of Biogeography, 31:63-77p.

Ferrero, M ., 2009-le système tritrophique tomate-tétranyque-tisserand-Phytoseiulus longipes :Etude de la variabilité des comportements alimentaires du prédateur et conséquences pour la lutte biologique .Thèse doctorat ,Montpellier

Fraival., 2006.,-Les pucerons .Insectes 3n°141.

Fredon, 2008-fiche technique sur les pucerons, France.

G

Gatier O., Rou D ., 2007. Botanique pharmacognosie ,phytothérapie, 3^{ème} éditions, Wolters

Gianessi, L.P., C.S. Silver, S. Sankula, Carpenter, J.E. (2002). Plant biotechnology: current and potential impact for improving pest management in U.S. Agriculture an analysis of 40 case studies: Bacterial resistant apple. National Centre for Food and Agricultural Policy, Washington, D.C.

Godin .C et Boivin 2002.G., 2002- Guide d'identification des pucerons dans les cultures maraichères au Québec.

Guignard , 2001., Botanique , systématique moléculaire, édition Masson, p:290

Hamadache A ., 2003 . la féverole , Inst . Techn . Gr.Cult(T.t.G.C)13P.

Han .Y.Wang Y, . Ma., Wang.J., Ren.X., et Zhu.W., 2000 Lambert, 2005.- A study on system optimum control to diseases and insect pests of summer soybean. Acta Ecologica Sinica 20:502-509.

Han Y., Wang Y., Bi J-L., Yang X-Q., Huang Y., Zhao X., Hu Y. and Cai Q-N., 2009.

Hein et al 2005.

Hondt –defrancq Mia ; 1984 : les principales maladies bactériennes et cryptogamiques de pomme de terre .Expert F.A.O .en protection des végétaux

Horst., Mautang et Sylver , 1992. des maladies et des ravageurs des végétaux en Canada .An illustrated compendium .The canadienne phytopathological Society and Entomological of Canada .

<http://ansm.sante.fr/content/download/41310/537574/version/4/file/Point+d'info+DPS+amaigrissement2.pdf> L'ANSM interdit l'utilisation de 3 plantes et de 26 substances actives dans les préparations à visée amaigrissante réalisées en pharmacie », sur ansm.sante.fr,
<https://fr.wikipedia.org/wiki/Citrus?oldid=119796340>

Hullé M; Turpeau-Aitighil E; Robert Y. Et Monnet Y; 1999. Les pucerons des plantes des plantes In: Bernard H; journées d'études et d'informations . Les pucerons des cultures ; paris - 2, 3 et 4 Mars ; Ed; ACTA.350 piologique; p; 19-88. Gaetan Morin ED. Boucherville.

INRA, 2007. Contribution à l'étude des principales maladies, parasites et ravageurs des fèves et féveroles. Institut Technique Des Grandes Cultures, Tiaret. Séminaire N° 10: 123-125

Iserin, 2001. Encyclopédie des plantes médicinales , éditions Larousse p :10, 190

Johnson, K. B., Stockwell, V. O., Sawyer, T. L., & Sugar, D. (2000). Assessment of environmental factors influencing growth and spread of *Pantoea agglomerans* on and among blossoms of pear and apple. Phytopathology, 90(11), 1285-1294

khaldi R , Zekri S , Maatouqui M . Benyassinea ; 2002 : l'Economie des légumineuses alimentaires au Maghreb et dans le monde
Kluwer, p:13, 81.

Kreuschmar Georg, Panopoulos Nickolas October 2007 . "Biotechnology of flavonoid and other phenylpropanoid-derived natural products part 1 : chemical diversity , impact on biology and human health" .biotechnology journal.

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.d ;ACTA.350p.écologie ;p,19-88.Gaetan Morin ED.Boucherville.

Larrald et Martnez, J.A .,1991:nutritionnel value of fabae bean:effef or nutrition utilisation ,protein tunové and immunity .options méditerranéennes :présente staut and future propects of faba bean production ,I.C.A.R.D.A..série A,N°10,pp 111-117

Lateur M., 2002. Perspectives de lutte contre les maladies des arbres fruitiers à pépin au moyen de substances naturelles inductrices d'une résistance systémique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 6(2), 67-77.

Laumonier R, 1979: "Encyclopidie agricole: cultures alimentaires méditerranées, Rennes (France) 20-22 février, pp65-80.

Leclant F., 1999. Les pucerons des plantes cultivées. Clefs d'identification. I- Grandes

Lien et Sparks, 2001 . la morphologie des insectes p15

Ludie suty.2010.la lutte biologique vers de nouveaux équilibres écologiques.Ed.Isabelle Sick.paris.p74.

Maatougui M. E., 1996.Situation de la culture des fèves en Algérie et perspectives de relance. Céréaliculture 29: 6-14.

Maoui R.Say ,B,El Hadj B,Frih A,Et Girarde,1990.la culture de la féve roleen Tunisie .E.D.I.N.R.A.T.O.N.H.A.G.R.O.pd; et ;I.T.C.F.16p Maraichères ,cycle biologique et activité de vol ,ED.ACTA,Paris 136p

Mateos et al .,1990. Survey of the mycobiota of Spanish malting barley and evaluation of the mycotoxin producing potential of species of *Alternaria*, *Aspergillus* and *Fusarium*, *IntJ Food Microbiol*, 108(2), 196-203

Mecteau ;Griver .H.Matang , 2002 .Assainissement microbiologique de l'air Lausanne (Suisse).

Messiaen C.M. ; Blancard D. ; Rouxel F. et Lafnor., 1991.Les maladies des plantes maraichères. 3^{ème} Ed. Qu, 280p

Michel-André Tracol , Gérald montagneux , ; 2005).Les maladies des plantes ornementales .6^{ème} Ed.206p

Mile,1989: The repons of plante to the fanding of *Aphidoidea* principale in Aphide their biologie naturel ennemie and contrôle amsterdam ED Elsvievier 2c : 1-22

Mukondwa Nsambu, Bahananga MUHIGWA, Kituta RUBABURA, Mashimango BAGALWA, And Sanvura BASHWIRA, 2014. Evaluation in vitro de l'activité insecticide des alcaloïdes, saponines, terpenoïdes et stéroïdes extraits de *capsicum frutescens* l.

(solanaceae) contre *Antestiopsis orbitalis ghesquierei*, insectes ravageurs des cafeiers. International Journal of Innovation and Applied Studies; Vol. 8 No. 3, pp. 1231-1243.

Olivier ;Reviri K.Steven.1998 .les maladies de pomme de terre .

Ortiz-Rivas B, Moya A, Martinez-Torres D 2010. Molecular systematic of aphids(Homoptera: Aphididae): new insights from the long-wavelength opsin gene.Molecular Phylogenetics and Evolution.30: 24-37

Péron J-Y 2006. Références productions légumières,Lavoisier 2émeédition, Paris, pp.366-367.

phylogene .,natural pest control agents .in Gould ,R.F(Ed). natural pest control agents 1991.Adv.Chem.Ser.53,p.1-16

Planquaert PH. et Girard G., 1987.La féverole d'hiver, Revue, I.T.C.F.3èmeTrim. 32 p potagères légumes et fruits. Tome 3. Technique et documentation Lavoisier. pp 7-13

Pultrini Ade M, Galindo LA, Costa M 2005.Ef-fects of the essential oil from Citrus aurantium L. in ex-perimental anxiety models in mice.Life Sci. 2006 Mar 6;78(15) :1720-5. Epub 2005 Oct 25.

Rachef S.A.Ouamer R.Et Ouffroukh A .;.,2005 .Inventaire des ravageurs de la féve en Al
Ragsdale DW, Landis DA, Brodeur J ,Heimpl GE,et Desneux N (2011) Ecology and management of the soybean aphid in North Amerca. Annual Review of Entomology 56:p375-399.

Rangananna et Doliver.H.1997. Service microbiologie ,centre Hospitalo-universitaire.

Regnault -Roger ,C ., Philogène ,B.J.R et Vincent,C.2008.Biopesticides d'origine végétale, 2^{ème} édition, Lavoisier, Paris. Edition ,550p.gérie (Identification des caractérisations).I.N.R.A.16:36:41

Remaudière.G.,et Remaudière .M., 1997-Catalogue des Aphidae du monde of the word's Aphididae, Homopterea .Techn.Et prati.Ed.I.N.R.A..

Rodriguez et Wrolstad, 1997.les principales maladies des plantes p65.

Ryckewaert .P., et Fabre, 2001-Lutte intégrée contre les ravageurs des cultures maracheres a la rénion .Food and Agricultural Research Concl, Réduit ,Mauritius.Ed CIRAD,Saint Pierre ,La Réunion.

Sauvions N,Rahbé,Y,Peumans,W,J, Van,Damme,E, Gatehouse,1995 ,effet ofGNA and other mannose binding lecting on development and fecundity of the potato-peatch aphid soumis.

Secor.huiden ;victor, 1996 ;the desease of plants p15

Sellemi S. et Bousnina A.Z., 1996.Distribution de Ditylenchus dispsaci(hunk) sur la fève d

sharga.B.M.Lyon G.D.,1998:Bacillus subillis BS107as an antagonist of potato blackleg and soft rot bacteria .can .J.Microbiol.44:777-783.

Slimani Amina, Djaalane Bakhta, 2013. Etude *in vitro* de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus aurantium* vis-à-vis d'*Erwinia carotovora* *asupsp carotovora* et *Erwinia carotovora subspatroseptica*, mémoire de licence en biochimie et substance naturelle, Université AbdAlhamid Ibn Badis Mostaganem.

Stevenson W.R., Loria R., Franc G.D., Weingartner D.P., 2001 : Compendium of potato diseases, 2nd ed. The American Phytopathological Society. St. Paul, MN .

Stoddard f .L., Nicholas A.H., Rubiales D., Thomas J. et Villegaz-Fernandez A.M., 2010. Integrated pest management in faba bean. Field crops research 115 :308-318.

Suliman R, Saker ,I, Namora ,D. 2003. importance of plant extracts in managing *Aphis fabae* , In: khateeb, N.A.; (ED), Arab scientist Org ; The Eighth Arab Congress of plant protection Omar Al-Mukhtar University , 12-16 oct 2013. El-beida City , Libya.

Sylvester, 1989. Simple estimation of intrinsic increase rates for aphids and tetranychid mites. J. appl. Ecol. 14:757-766.

Tanya, 2002- Aphids . Bio-Intégral Resouce Center, Berkely.

Tizi-Ouzou. Thèse de Doctorat. U.M.M.T.O., 268p.

Ververidis filippos, F ; Trantas Emmanouil, Douglas carl, Vollmer Guenter,

Wyatt .GM., Lud B.M. 1991: L'effet des produits antibactériens sur la porriture de pomme de terre de références 24:315-329.

Zaidi ,A. et Mahiout B., 2012. Voyage au cœur des aliments. 200p

Zarigui et Mozaoui ; 2016. étude *in vitro* de l'activité antibactérienne de huile essentielle de *thymus vulgaris* et *aurnguim vulgar* vis -a –vis de la bactérie *Erwinia carotovora* . mémoire de licence en biochimie et substance naturelle, Université AbdAlhamid Ibn Badis Mostaganem.